



بررسی اثر عصاره چند گیاه دارویی بر باکتری بروسلا آبور توس (*Brucella abortus*) در شرایط *In-vivo* و *In-vitro*

عبدالله قاسمی پیربلوطی^۱، محمدرضا قاسمی^۲، حسن ممتاز^۳، احمدرضا گل پرور^۴، بهزاد حامدی^۵، لهراسب شاهقلیان^۶

۱. استادیار مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دام‌پزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد (ghasemi955@yahoo.com);
۲. دانش آموخته دکتری دام‌پزشکی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛
۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛
۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)؛
۵. کارشناس پژوهشی، مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دام‌پزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛
۶. استادیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد؛

چکیده

مقدمه و هدف: تب مالت یک بیماری عفونی باکتریایی است که عامل آن باکتری به نام بروسلا است که می‌تواند به طور مستقیم یا غیر مستقیم از دام آلوده به انسان منتقل شود. به همین منظور مطالعه حاضر با هدف پیش‌گیری و درمان این بیماری با استفاده از گیاهان دارویی انجام شد.

روش تحقیق: اثرات ممانعتی برخی عصاره‌های گیاهان دارویی نظیر خارشتر (*Alhagi camelorum Fisch.*)، خوشاریزه (*Echinophora platyloba DC.*)، جز کوهی (*Teucrium polium L.*)، گل میمونی بیابانی (*Scrophularia deserti Del.*) و زرشک کوهی (*Berberis integerrima Bunge*) بر روی رشد باکتری بروسلا آبور توس در شرایط *In-vitro* و *In-vivo* انجام شد.

نتایج و بحث: نتایج به دست آمده از روش انتشار دیسک نشان داد که بیش‌ترین اثر ممانعت از رشد باکتری مربوط به عصاره آبی گیاه خارشتر با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و کمترین اثر ممانعتی مربوط به عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی با غلظت ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بود. در مقایسه دو غلظت ثابت عصاره‌ها با آنتی بیوتیک مشخص شد که در غلظت ۶۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر بیشترین اثر مربوط به آنتی بیوتیک اریترومايسين و بعد از آن استرپتومايسين و عصاره آبی خارشتر بود. در بررسی اثر متقابل دوز و نوع عصاره بر نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه موش‌های آزمایشگاهی مشخص شد که بهترین اثر مربوط به گروه دریافت کننده عصاره ترکیبی (شاهد مثبت) با دوز ۴۰۰ mg/kg/day بوده و بعد از آن گروه دریافت کننده عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day بود. اثر متقابل دوزها و عصاره‌های گیاهان دارویی بر نسبت وزن طحال به وزن بدن نشان داد که گروه دریافت کننده عصاره آبی خارشتر با دوز ۲۰۰ mg/kg/day و بعد از آن گروه دریافت کننده داروی سنتزی اریترومايسين با دوز ۲۰۰ mg/kg/day بهترین نتیجه را دارا بودند. در بررسی اثر متقابل دوزها و عصاره‌های گیاهان دارویی بر تیترا آنتی بادی رایب اختلاف معنی داری بین اثر متقابل دوزها و عصاره‌ها بر تیترا آنتی بادی رایب نشان نداد.

توصیه کاربردی / صنعتی: با تلفیق نتایج دو روش، عصاره اندام هوایی گیاه خارشتر و ریشه زرشک کوهی به همراه آنتی بیوتیک ممکن است دارای خاصیت پیش‌گیری کننده بیماری تب مالت در دام باشند.

تاریخ دریافت مقا : / /
 تاریخ پذیرش مقاله: / /
 نوع مقاله: پژوهشی
 موضوع: داروسازی - دام پزشکی

کلید واژگان :

- ✓ بروسلا
- ✓ بروسلا آبور توس
- ✓ شرایط *In-vitro*
- ✓ *Balb/C*

۱. مقدمه

در مطالعه‌ی اثر گیاه مریم نخودی با نام علمی *Teucrium Polium L.* و نام محلی جزکوهی از تیره نعنایان روی باکتری بروسلا آبورتوس مشخص گردید که عصاره آبی گیاه مریم نخودی بر خلاف اعتقاد عشایر استان چهار محال وبختیاری اثر ممانعت کننده چندان بر رشد باکتری بروسلا آبورتوس نداشته است (عنایت زاده، ۱۳۸۴).

در تحقیق دیگری (شاپوری، ۱۳۸۳) اثر عصاره کلروفومی سیر (*Allium sativum L.*) از تیره سوسن بر مورفولوژی و فیزیولوژی بروسلا انجام شد، مشخص گردید که آلیستین، ماده‌ی موثره‌ی موجود در پیازچه سیر که مهمترین ماده ضد عفونی سیر است، اثر ممانعت کننده موثری بر رشد باکتری بروسلا در شرایط *In-vitro* داشته است. هم‌چنین نشان داده شده است که اثر سیر بر روی بروسلا وابسته به شرایط دمایی مختلف نمی‌باشد و اثر کشندگی خود را در همان دو ساعت اول بر روی باکتری مورد نظر نشان می‌دهد.

در تحقیقی (Xing et al., 2004) با موضوع تأثیر ترکیب چند گیاه دارویی بومی ژاپن^۵ بر فعالیت روزانه موش‌های مبتلا به سندرم خستگی مزمن بر اثر القای بروسلا آبورتوس انجام شد، مشخص گردید که هوکو - ایکی - تو می‌تواند اثر مهارکننده مؤثری بر کاهش فعالیت روزانه داشته باشد.

در یک بررسی دیگر توسط (Takashi et al. 2006) در راستای اثرات نوعی مخمر (*Brewers' Yest*) به عنوان یک ماده طبیعی بر روی فعالیت روزانه موش‌های مبتلا به سندرم خستگی مزمن بر اثر القای بروسلا آبورتوس مشخص شد که این مخمر ممکن است از طریق عادی کردن پاسخ ایمنی میزبان، اثر درمانی مؤثری بر سندرم خستگی مزمن داشته باشد.

نتایج تحقیقی (Wanke et al., 2006) روی استفاده از اینروفلوکسازین در درمان بروسلاز سگ‌های سگدانی نشان داد که اینروفلوکسازین می‌تواند به عنوان یک داروی متناوب برای درمان بروسلاز سگی مورد استفاده قرار گیرد.

گیاهان دارویی مورد بررسی در این تحقیق بر اساس دانش بومی و اعتقادات ضد تب مالتی این گیاهان در بین مردم بومی و عشایر استان‌های چهارمحال وبختیاری و کهگیلویه و بویراحمد انتخاب شده‌اند.

۲. مواد و روش‌ها

۱-۲. جمع‌آوری و شناسایی گیاهان

گیاهان مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ آورده شده است. گیاهان مورد بررسی از مناطق زاگرس غربی ایران استان‌های

بروسلاز^۱ یا تب مالت یک بیماری عفونی باکتریایی است که عامل آن باکتری میله‌ای شکل بروسلا^۲ می‌باشد. بروسلا باکتری‌های داخل سلولی اختیاری هستند و تاکنون ۶ گونه و در بعضی گونه‌ها چند بیوتیب شناسایی شده است. هر گونه یک میزبان طبیعی ترجیحی دارد که به عنوان مخزن عفونت شناخته می‌شود و در میزبان‌های دیگر ممکن است ایجاد بیماری نماید. بعضی گونه‌ها می‌توانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم از دام آلوده به انسان منتقل شوند.

بنابراین بروسلا عامل یک بیماری مشترک است که در دنیا حائز اهمیت است و به دلیل اهمیت بیماری در انسان و دام، اغلب کشورها درصدد ریشه کنی بیماری از جمعیت دامی می‌باشند. عفونت ایجاد شده در اثر بروسلا آبورتوس^۳ (بیماری بنگ^۴) باعث سقط در گاو و به میزان کمتر در گوسفند و بز می‌شود (حسنی طباطبایی و فیروزی، ۱۳۸۴).

بروسلا به دلیل این‌که در سیستم ماکروفاژهای عقده‌های لنفاوی، غده پستان و اندام‌های تناسلی زنده می‌ماند و تکثیر می‌یابد، به طور معمول دارای درمان دشواری است و این امر به دلیل عدم توانایی نفوذ دارو از پرده‌های سلولی است. به هر حال تزریق عضلانی اکسی تتراسیکلین همراه با استرپتومایسین داخل وریدی یا عضلانی تا اندازه‌ای اثر بخش گزارش شده است (حسنی طباطبایی و فیروزی، ۱۳۸۴؛ عنایت زاده، ۱۳۸۴).

البته درمان با داروهای شیمیایی و سنتزی علی‌رغم این‌که تا حدودی می‌تواند نتیجه بخش باشند، اما دارای عوارض هستند و هم‌چنین ممکن است مقاومت دارویی ایجاد کنند. بنابراین استفاده از داروهای گیاهی می‌تواند راه‌گشای خوبی برای رفع این مشکلات باشد. طب گیاهی و داروهای گیاهی قدمتی بسیار طولانی دارند و از دیرباز برای درمان بیماری‌های مختلف مورد توجه بوده‌اند. ایجاد عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای سنتزی، عدم ایجاد مقاومت دارویی، سلامت و بهداشت محیط زیست از مزایای استفاده این قبیل داروهاست (قاسمی، ۱۳۸۸).

نتایج یک مطالعه اتنوبوتانی (Ghasemi Pirbalouti, 2009) مشخص کرد که اقوام بومی استان چهارمحال و بختیاری برای درمان بیماری تب مالت از جوشانده گیاه جزکوهی استفاده می‌کنند. در بررسی دیگر اتنوبوتانی توسط جعفری کوخدان (۱۳۸۴) مشخص شد که مردم بومی استان کهگیلویه و بویراحمد برای درمان بیماری تب مالت از ریشه زرشک کوهی استفاده می‌کنند.

^۱ - Brucellosis

^۲ - Brucella

^۳ - *Brucella abortus*

^۴ - bang's disease

^۵ - Hochu- ekki-to (TJ-41)

۳-۲. بررسی خاصیت ضد بروسلایی به روش *In-vitro*

پس از آماده‌سازی عصاره‌ها، غلظت‌های ۵۰۰ میلی گرم در ۱ میلی‌لیتر، ۲۵۰ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر، ۱۲۵ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر و ۶۲/۵ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر از آن‌ها تهیه شد. برای انجام آزمون آنتی بیوگرام از ۳۰ پلیت حاوی محیط کشت بروسلا آگار استفاده شد به این ترتیب که ۷ نوع عصاره شامل عصاره اتانولی خارشتر، عصاره آبی خارشتر، عصاره اتانولی چز کوهی، عصاره اتانولی خوشاریزه، عصاره آبی گل میمونی بیابانی، عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی و عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی و از هر عصاره ۴ غلظت مختلف مورد بررسی قرار گرفت و ۲ پلیت برای آنتی بیوتیک‌های سنتزی استرپتومایسین و اریترومیسین در نظر گرفته شد. پس از کشت باکتری، دیسک گذاری انجام گرفت. در هر پلیت ۳ دیسک قرار داده شد. سپس از عصاره و غلظت‌های مورد نظر مقدار ۲۰۰ µl به دیسک‌های اختصاص یافته اضافه شد. ۳ دیسک استرپتومایسین و ۳ دیسک اریترومیسین هم داخل پلیت‌های مشخص شده، قرار داده شدند و بعد از آن درب پلیت‌ها با نوار پارا فیلم بسته و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور CO₂ دار با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و بعد از مدت مقرر قطر هاله‌های تشکیل شده اطراف هر دیسک در هر پلیت با کولیس مورد سنجش قرار گرفت.

چهارمحال و بختیاری و ایلام در سال ۱۳۸۷ جمع آوری شدند. پس از جمع آوری با استفاده از مجموعه کتب فلور گیاهی ایران و نمونه‌های هرباریومی موجود در مرکز پژوهش‌های گیاهان دارویی و دام پزشکی سنتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مورد شناسایی و تطبیق قرار گرفتند و پس از اطمینان از صحت انتخاب گیاه مورد نظر، اقدام به خشک کردن آن‌ها گردید.

۲-۲. تهیه عصاره

برای خشک کردن گیاهان، اندام هوایی آن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در سایه به همراه تهویه مناسب نگهداری شد. سپس گیاهان خشک شده به وسیله هاون چینی و آسیاب به قطعات ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر خرد شدند و مقدار ۲۰۰ گرم از هر گیاه برای تهیه عصاره توزین گردید. پس از آن اقدام به عصاره گیری به روش خیساندن و تغلیظ عصاره با استفاده از دستگاه روتاری متصل به پمپ خلأ شد. در مرحله بعد با استفاده از فیلتر والتمن با قطر روزه ۱ میکرومتر عصاره‌ها فیلتر شدند.

جدول ۱. نام علمی گیاهان دارویی مورد بررسی در تحقیق حاضر

ردیف	نام فارسی	نام علمی	تیره	اندام مورد استفاده	نوع عصاره
۱	جز کوهی	<i>Teucrium polium L.</i>	نعناعیان	اندام هوایی	اتانولی
۲	گل میمونی بیابانی	<i>Scrophularia deserti Del.</i>	گل میمون	اندام هوایی	آبی اتانولی
۳	خوشاریزه	<i>Echinophora platyloba DC.</i>	چتریان	اندام هوایی	اتانولی
۴	خارشتر	<i>Alhagi camelorum Fisch.</i>	ستاره آسا	اندام هوایی	آبی اتانولی
۵	زرشک کوهی	<i>Berberis integerrima Bunge.</i>	زرشک	ریشه	اتانولی

۴-۲. بررسی خاصیت ضد بروسلایی در شرایط مدل حیوانی

در مرحله آزمایش مدل حیوانی از BALB/c با وزن در حدود ۲۰ تا ۳۰ گرم استفاده شد که پس از گروه بندی به طور تصادفی در گروه‌های زیر، باکتری به آنها تلقیح شد و ۳ روز بعد از تلقیح باکتری مورد درمان با عصاره‌های گیاهان مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از یک هفته درمان با داروهای گیاهی و داروهای سنتزی برخی صفات خونی و بدنی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

گروه ۱: دریافت کننده باکتری و عصاره اتانولی خار شتر با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۲: دریافت کننده باکتری و عصاره اتانولی خار شتر با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۳: دریافت کننده باکتری و عصاره آبی خار شتر با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۴: دریافت کننده باکتری و عصاره آبی خار شتر با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۵: دریافت کننده باکتری و عصاره چز کوهی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۶: دریافت کننده باکتری و عصاره چز کوهی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

درمانی و به‌بودی موش‌ها مد نظر نبود، دوره درمان یک هفته در نظر گرفته شد.

پس از طی دوره درمان به مدت یک هفته اقدام به اندازه‌گیری وزن ثانویه و خون‌گیری به منظور اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی شد. در این تحقیق از روش خون‌گیری از قلب استفاده شد. پس از خون‌گیری از موش‌ها اقدام به کالبد‌گشایی آن‌ها شد، سپس طحال موش‌ها وزن شده و وزن طحال متعلق به هر موش در کنار شماره و نام گروه آن موش یادداشت شد تا در سنجش نسبت وزن طحال به وزن بدن که یکی از موارد مورد بررسی در این تحقیق بود، مورد ارزیابی قرار گیرد. در مرحله بعد، جهت اطلاع از تیتر آنتی‌بادی سرم موش‌ها از آزمون رایت استفاده شد.

۲-۵. تجزیه و تحلیل آماری

در نهایت تجزیه واریانس آزمایش و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SAS 6.12 استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

در طب سنتی از برخی گیاهان به عنوان گیاهان دارای خواص ضد میکروبی نام برده شده که از این گیاهان در موارد ابتلا به تب مالت استفاده می‌شده است. هم‌اکنون نیز برخی از این گیاهان در بین عشایر و مردم بومی برخی نقاط مانند استان چهارمحال و بختیاری، کهکلیویه و بویر احمد و ایلام، برای درمان تب مالت استفاده می‌گردد.

بر اساس این باورها و اعتقادات تحقیق حاضر به منظور تأیید یا رد خواص و اثرات ضد بروسلائی عصاره اتانولی چز کوهی، عصاره اتانولی و آبی گل میمونی بیابانی، عصاره اتانولی خوشاریزه، عصاره اتانولی و آبی خارشتر و عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی در دو شرایط *In-vitro* و *In-vivo* انجام شد. در این تحقیق صفاتی نظیر نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه، وزن طحال، نسبت وزن طحال به وزن بدن و تیتر آنتی‌بادی به روش رایت مورد آزمون قرار گرفت.

۳-۱. مرحله *In-vitro*

پس از انجام آزمون آنتی‌بیوگرام مشخص گردید که بین هر دو غلظت عصاره گیاهان، از نظر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری تفاوت بسیار معنی داری در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$) وجود دارد. هم‌چنین مشخص گردید که در بررسی اثر ممانعت از رشد باکتری، بین عصاره‌های گیاهان دارویی، اختلاف بسیار معنی داری در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$) وجود دارد و بین غلظت‌های عصاره‌ها و نیز اثر متقابل عصاره و غلظت اختلاف معنی

گروه ۷: دریافت کننده باکتری و عصاره خوشاریزه با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۸: دریافت کننده باکتری و عصاره خوشاریزه با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۹: دریافت کننده باکتری و عصاره آبی گل میمونی بیابانی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۰: دریافت کننده باکتری و عصاره آبی گل میمونی بیابانی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۱: دریافت کننده باکتری و عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۲: دریافت کننده باکتری و عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۳: دریافت کننده باکتری و عصاره ریشه زرشک کوهی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۴: دریافت کننده باکتری و عصاره ریشه زرشک کوهی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۵: دریافت کننده باکتری و عصاره ترکیبی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۶: دریافت کننده باکتری و عصاره ترکیبی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۷: دریافت کننده باکتری و داروی سنتزی اریترومايسين؛

گروه ۱۸: دریافت کننده عصاره ترکیبی با دوز ۲۰۰ mg/kg/day

گروه ۱۹: دریافت کننده عصاره ترکیبی با دوز mg/kg/day

گروه ۲۰: دریافت کننده باکتری بدون دریافت گیاه دارویی یا آنتی‌بیوتیک.

حیوانات پس از گروه بندی در گروه‌های سه تایی، علامت‌گذاری و وزن شدند و وزن آن‌ها ثبت گردید. محلول حاوی 10^7 باکتری بروسلا آبورتوس، پس از ضد عفونی محل، به روش داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد (بجز گروه‌های ۱۸ و ۱۹ که فقط عصاره ترکیبی را دریافت کردند). سه روز بعد از تلقیح باکتری با مشاهده اولین علائم بیماری، از جمله دپرسیون و عدم تمایل به حرکت، درمان با گیاهان دارویی برای گروه‌های مورد آزمایش و درمان با داروی سنتزی اریترومايسين برای گروه مورد نظر شروع شد. قبل از شروع درمان، عصاره‌های گیاهی با دوزهای ۲۰۰ mg/kg/day و ۴۰۰ mg/kg/day آماده سازی شد.

چون هدف از انجام این مرحله از تحقیق صرفاً اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی مورد آزمون پس از دریافت عصاره و مقایسه آن با تیتر آنتی‌بادی گروه‌هایی که عصاره را دریافت نکرده بودند، بود و هدف

ثانویه، وزن طحال، نسبت وزن طحال به وزن بدن و آزمون رایت در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$) بود. هم‌چنین اختلاف معنی داری بین اثر متقابل عصاره و غلظت (A×B) در صفت نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه ($p < 0.05$) مشاهده گردید.

جدول ۲. تجزیه واریانس قطر هاله ممانعت از رشد بین ۹ گروه آزمایشی برای دو غلظت

منابع تغییر	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات
عصاره های گیاهان (A)	۶	۲۶۳/۴۸۴**
غلظت های عصاره ها (B)	۱۳	۳۸/۷۱*
اثر متقابل عصاره×غلظت (A×B)	۱۸	۲۹/۵۹*
خطا	۵۶	۱۳/۳۸
ضریب تغییرات (C.V)	-	۲۸/۱۱

** اختلاف بسیار معنی دار در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$)

جدول ۳. تجزیه واریانس عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی و غلظت آن‌ها بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری

منابع تغییر	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (M.S)	غلظت اول	غلظت دوم
بین تیمارها	۸	۱۲۳/۲**	۱۲۳/۲**	۷۴/۵**
خطا	۱۸	۵/۹۶	۵/۹۶	۱۸ / ۱۱
ضریب تغییرات (C.V) %	-	۱۵/۲۳	۱۵/۲۳	۲۸/۴

** اختلاف بسیار معنی دار در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$)، * اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ($p < 0.05$)

باتوجه به جدول تجزیه واریانس هیچ گونه اختلاف معنی داری بین دو غلظت مورد آزمون در هیچ یک از صفات مورد بررسی مشاهده نشد و هم‌چنین اختلاف معنی داری بین اثر متقابل عصاره و غلظت (A×B) در صفات وزن طحال، نسبت وزن طحال به وزن بدن و آزمون رایت مشاهده نگردید.

در بررسی اثر ساده عصاره‌های گیاهان دارویی بر نسبت وزن اولیه نسبت به وزن ثانویه (W_1/W_2)، گروهی که بدون تلقیح باکتری عصاره ترکیبی را دریافت نمودند، افزایش وزن داشتند و پس از آن عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی و بعد از آن عصاره ترکیبی بهترین اثر را روی نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه داشتند. گروهی که دریافت کننده باکتری بود و مورد درمان قرار نگرفت بیشترین کاهش وزن را نشان داد و پس از آن ضعیف‌ترین اثر عصاره بر مربوط به عصاره آبی گل میمونی بیابانی بود.

داری در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) وجود دارد (جدول ۲ و ۳).

در بررسی اثر ساده عصاره‌های گیاهی بر قطر ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس مشخص شد که بیشترین قطر هاله مربوط به عصاره آبی خارشتر و پس از آن عصاره آبی گل میمونی بیابانی و بعد از آن عصاره اتانولی خوشاریزه بود و عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی کمترین قطر هاله را به خود اختصاص داد. نتیجه تحلیل اثر ساده غلظت‌ها بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس مشخص کرد که اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) بین اثر غلظت های مختلف عصاره هر گیاه بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس وجود دارد.

این تحلیل نشان داد که غلظت های 500 mg ml^{-1} و 250 mg ml^{-1} به ترتیب موثرترین غلظت عصاره و کم اثرترین غلظت عصاره بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس بودند. مقایسه میانگین بین ۷ عصاره گیاه دارویی در غلظت‌های مختلف نشان می دهد که بیشترین قطر ممانعت از رشد باکتری مربوط به غلظت 500 mg ml^{-1} عصاره آبی گیاه خارشتر با قطر هاله ۲۷ میلی متر و کمترین آن‌ها مربوط غلظت 250 mg ml^{-1} عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی با قطر هاله ۱ میلی متر بود.

در مقایسه میانگین بین ۷ عصاره گیاه دارویی و ۲ شاهد مثبت (آنتی بیوتیک) در دو غلظت ثابت عصاره‌ها با آنتی بیوتیک‌های اریترومايسين و استرپتومايسين مشخص شد که در غلظت $62/5 \text{ mg ml}^{-1}$ بیشترین اثر مربوط به آنتی بیوتیک

اریترومايسين و بعد از آن استرپتومايسين با قطر هاله‌های $22/67$ و $20/33$ میلی‌متر و سپس عصاره آبی خارشتر و کمترین اثر مربوط به عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی بود و در غلظت 500 mg ml^{-1} بهترین نتیجه مربوط به عصاره آبی گیاه خارشتر و پس از آن آنتی بیوتیک های اریترومايسين و استرپتومايسين و ضعیف‌ترین نتیجه مربوط به عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی بود. بررسی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های گیاهان دارویی نمایانگر اثر مثبت عصاره آبی خارشتر با غلظت 1 mg ml^{-1} و بعد از آن غلظت‌های 125 mg ml^{-1} و 1 mg ml^{-1} گیاه مذکور بر افزایش قطر هاله ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس بود و عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی با غلظت 1 mg ml^{-1} کمترین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری را نشان داد.

۲-۳. مرحله In-vivo

پس از اتمام دوره درمان و تجزیه داده‌ها، جدول تجزیه واریانس نشان دهنده اختلاف بسیار معنی داری بین عصاره‌های گیاهان دارویی مورد آزمون در صفات نسبت وزن اولیه به وزن

جدول ۴. خلاصه تجزیه واریانس اثر عصاره‌های گیاهان دارویی بر باکتری بروسلا آبورتوس در مدل Balb/C

میانگین مربعات (M.S)					منابع تغییر (S.o.V)
نسبت وزن نهایی به وزن بدن (WS/W2)	وزن طحال (WS)	نسبت وزن اولیه به نهایی (W1/W2)	آزمون رایت (Wright)	درجه آزادی (d.f)	
۰/۰۰۰۰۱**	۰/۱۰۵**	۰/۰۶۸**	۲۴/۷۰۳**	۱۰	عصاره گیاهان دارویی (A)
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۲	۰/۳۷۹	۱	غلظت (B)
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۲۴	۰/۰۴۱*	۰/۴۱۲	۱۰	اثر متقابل (A×B)
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۲۷	۰/۰۲۱	۲/۰۹۱	۴۴	خطا
۳۷/۳۵	۶۴/۵	۱۲/۶۶	۲۵/۳۱	۳۷	ضریب تغییرات (C.V) %

** اختلاف بسیار معنی دار در سطح احتمال یک درصد ($p < 0.01$), * اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ($p < 0.05$).

کننده عصاره آبی خار شتر با دوز ۲۰۰ mg/kg/day و بعد از آن گروه دریافت کننده داروی سنتزی اریترومايسين بهترین نتیجه را از آن خود کردند و گروه دریافت کننده عصاره گل میمونی بیابانی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day نتیجه قابل قبولی از نظر کاهش نسبت وزن طحال به وزن بدن نداشت.

در بررسی اثر متقابل (A×B) دوزها و عصاره های گیاهان دارویی بر تیترا آنتی بادی رایت معلوم شد که گروه دریافت کننده عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day پس از گروهی که باکتری دریافت نکرده بودند، کمترین تیترا آنتی بادی را نشان داد. البته تحلیل های آماری اختلاف معنی داری را بین اثر متقابل (A×B) دوزها و عصاره های گیاهان دارویی بر تیترا آنتی بادی رایت نشان نداد. نتایج حاکی از اثر بسیار موثر عصاره آبی گیاه خار شتر بر ممانعت از رشد باکتری بروسلا آبورتوس در روش انتشار دیسک بود. در مدل حیوان آزمایشگاهی نیز خار شتر بیشترین اثر را روی کنترل وزن طحال و نسبت وزن طحال به وزن بدن داشت. عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی در بررسی نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه، اثر بسیار خوبی از خود نشان داد. هر چند بین تیتراهای آنتی بادی سرم موش ها اختلاف معنی داری دیده نشد، اما پایینترین تیترا آنتی بادی متعلق به گروه دریافت کننده عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی بود که این امر نشان دهنده اثر کنترل کنندگی عفونت در مورد این عصاره می باشد.

گل میمونی بیابانی اگر چه در روش انتشار دیسک اثر ممانعتی نسبتاً خوبی داشت و بعد از عصاره آبی خار شتر قرار گرفت، اما در مدل حیوان آزمایشگاهی ضعیفترین نتایج را به خود اختصاص داد. اثرات متناقض برخی گیاهان در این تحقیق، در دو شرایط *In-vitro* و *In-vivo* را می توان به اختلافات بسیار زیاد بین این دو

بررسی اثر ساده عصاره های گیاهان دارویی بر نسبت وزن طحال به وزن بدن (WS/W2) نشان داد که بهترین اثر مربوط به عصاره آبی خار شتر و بعد از آن داروی سنتزی اریترومايسين بود. خوشایزه اثر بسیار ضعیفی بر صفت مورد آزمایش داشت.

بررسی اثر ساده عصاره ها بر وزن طحال نشان می دهد که گروه دریافت کننده عصاره آبی خار شتر دارای کمترین وزن طحال می باشند و گروه های دریافت کننده اریترومايسين و عصاره ترکیبی در رده های بعد قرار گرفتند. گروه دریافت کننده عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی بیشترین وزن طحال را به خود اختصاص داد.

در مطالعه اثر ساده عصاره های گیاهان دارویی بر آزمون رایت مشخص شد گروه آزمونی که پس از تلقیح باکتری با عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی مورد درمان قرار گرفت پایینترین تیترا آنتی بادی را دارد و پس از آن گروه دریافت کننده اریترومايسين و گروه دریافت کننده عصاره اتانولی خار شتر تیترا آنتی بادی کمتری داشتند. گروهی که تنها باکتری را دریافت کرده بود بیشترین تیترا آنتی بادی را به خود اختصاص داد.

در بررسی اثر متقابل (A×B) عصاره و دوز بر نسبت وزن اولیه به وزن ثانویه (W1/W2) بهترین اثر مربوط به گروهی است که بدون دریافت باکتری دریافت کننده عصاره ترکیبی (شاهد مثبت) با دوز ۴۰۰ mg/kg/day و بعد از آن گروه دریافت کننده عصاره اتانولی ریشه زرشک کوهی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day و بعد از آن گروه دریافت کننده اریترومايسين با دوز ۴۰۰ mg/kg/day بود.

ضعیفترین اثر نیز مربوط به گروه دریافت کننده عصاره آبی گل میمونی بیابانی با دوز ۴۰۰ mg/kg/day بود.

نتایج بررسی اثر متقابل (A×B) دوزها و عصاره های گیاهان دارویی بر نسبت وزن طحال به وزن بدن نشان داد که گروه دریافت

منظور مورد استفاده قرار نگیرند. در ریشه زرشک کوهی ترکیباتی هم‌چون بربرین^۱، اوکسیا کانتین^۲ و آلکالوئیدهای دیگری به نام بربامین^۳، پالماتین^۴، ژاتروریزین^۵ یا ژاتروریزین^۶، کلوم بامین^۷ و بربروین^۸ وجود دارد که دارای اثرات ضد باکتری می‌باشد.

بنابراین با توجه به اثر مطلوب ضد بروسلاهی عصاره ریشه گیاه زرشک در تحقیق حاضر می‌توان چنین استنباط نمود که وجود ترکیبات ثانویه به خصوص بربرین موجود در ریشه این گیاه می‌تواند اثرات درمانی موثری بر بیماری تب مالت داشته باشد.

۵. منابع

جعفری کوخدان، ع. ۱۳۸۴. طب سنتی در ایل بزرگ قشقای. مجموعه مقالات همایش ملی توسعه پایدار گیاهان دارویی. مشهد. صفحه: ۶۴۷

حسینی طباطبایی، ع. فیروزی ر. ۱۳۸۴. بیماری‌های باکتریایی دام، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، صفحات: ۳۰۳-۳۲۵.

شاپوری، ر. ۱۳۸۳. بررسی اثر کلرفرمی سیر (Allium sativum L.) بر مورفولوژی و فیزیولوژی بروسلا آبورتوس. فصلنامه گیاهان دارویی، شماره دهم، صفحات: ۱۵-۲۲.

عنایت زاده میمندی، س. ا. ۱۳۸۴. بررسی اثر گیاه مریم نخودی با نام علمی (Teucrium polium) و نام محلی (جزکوهی) روی باکتری بروسلا آبورتوس. پایان نامه دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

قاسمی، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی و معطر شناخت و بررسی اثرات آن‌ها، انتشارات نشر سامان دانش، چاپ اول صفحات: ۹۰-۸۱.

Ghasemi Pirbalouti A. 2009. Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts, Iran. *Herba Polonica*, 55: 669-675.

Iauk, L., Costanzo, R., Caccamo, F., Rapisarda, A., Musumeci, R., Milazzo, I. & Blandino, G. 2007. Activity of *Berberis aetnensis* root extracts on *Candida* strains. *Fitoterapia*, 78: 159-161.

Freile, M. L., Giannini, F., Pucci, G., Sturniolo, A., Rodero, L., Pucci, O., Balzaret, V. & Enriz, R. D. 2003. Antimicrobial activity of aqueous extracts and of berberine isolated

شرایط نسبت داد. چرا که در شرایط درون بدن عوامل بسیاری بر اثر مستقیم گیاه بر باکتری تأثیر می‌گذارند که می‌توان به میزان و چگونگی هضم و جذب عصاره، ایجاد یا عدم ایجاد واکنش بدن به عصاره، ایمنی بدن، نوع و محل زندگی و تکثیر باکتری و بسیاری موارد دیگر اشاره نمود.

عنایت زاده میمندی و هم‌کاران (۱۳۸۴) در تحقیقی با عنوان بررسی اثر گیاه مریم نخودی روی باکتری بروسلا آبورتوس نشان دادند که عصاره به دست آمده از اندام هوایی این گیاه هیچ اثری در کاهش روند رشد باکتری بروسلا آبورتوس نداشت و نمی‌توان از آن در موارد ابتلا به تب مالت استفاده کرد.

فریل و هم‌کاران (Freile et al., 2003) در تحقیقی با عنوان فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی و بربرین استخراج شده از ریشه، ساقه و برگ نوعی زرشک با نام علمی *Berberis heterophylla* فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی استخراج شده از آن را بر باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و قارچ در شرایط *In-vitro* و فعالیت ضد قارچی بربرین استخراج شده را بر روی برخی گونه‌های کاندیدا مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه مشخص کرد که عصاره آبی گیاه مورد آزمایش فعالیت ضد میکروبی معنی داری نداشت است. هم‌چنین آن‌ها گزارش کردند که بربرین فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی معنی داری علیه گونه استافیلوکوکوس اورئوس و چند گونه از کاندیدا (*Candida spp.*) دارد.

ایاک و هم‌کاران (Iauk et al., 2007) در یک تحقیق فعالیت عصاره ریشه نوعی زرشک با نام علمی *Berberis aetnensis* بر گونه‌های کاندیدا را بررسی کردند. در این تحقیق فعالیت ضد قارچی عصاره متانولی و تجزیه قلیایی گیاه مذکور بررسی شد. عصاره متانولی فعالیت خوبی علیه کاندیدا آلیکنس (*C. albicans*) کاندیدا کروس (*C. krusei*) و کاندیدا تروپیکالیس (*C. tropicalis*) نشان داد اما اثر خوبی علیه کاندیدا پاراپسیلوسیس (*C. parapsilosis*) نداشت. فعالیت ضد قارچی مشابهی برای بربرین علیه کاندیدا آلیکنس و کاندیدا کروس و ممانعت بیشتری برای کاندیدا تروپیکالیس مشاهده شد. تجزیه قلیایی، فعالیت ضعیف تری نسبت به عصاره نشان داد. بربامین و هیدراستین هم فعالیت ضد قارچی نداشتند.

۴. نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که خارشتر و ریشه زرشک کوهی اثرات ضد بروسلاهی خوبی از خود نشان داده و می‌تواند در درمان بیماری تب مالت موثر باشند، اما عصاره‌های چز کوهی، خوشاریزه و گل میمونی بیابانی دارای اثرات ضعیف بوده و بهتر است برای این

1 - Berberine
2 - Oxyacanthine
3 - Berbamine
4 - Palmatine
5 - Jatrorrhizine
6 - Jateorrhizine
7 - Columbamine
8 - Berberubine

from *Berberis heterophylla*. *Fitotrapia*, 74: 702-705.

- Rezaee, A., Ansari, M. & Shahpori, R. 2005. Effect of Co-trimazine on the survival of *Brucella abortus* in mouse peritoneal macrophages. *Journal of Medical Science*, 5: 181-185.
- Takashi, T., Fei, Y., Shi-jie, Z., Junji, M., Hiroyuki, S., Shigeto, M., Nobuo, Y & Tsugiyasu, K. 2006. Beneficial effect of Brewers' yeast extract on daily activity in a murine model of chronic fatigue syndrome. *Evidenced-Based Complementary Alternative Medicine*, 3: 109-115.
- Wanke, M. M., Delpoin, M. V, & Baldi, P.C. 2006. Use of Enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in dog kennel (clinical trial). *Theriogenology*, 66: 1573-1578.
- Xing, Q. W., Takashi, T., Shi-jie, Z., Junji, M., Seiichiro, S., Jun'ichi, Y., Kazuya, K. & Tohru Iand Tsugiyasu, K. 2004. Effect of Hochu- ekki-to (TJ-41), a Japanese Herbal Medicine, on daily activity in murine model of chonic fatigue syndrome. *Evidenced-based Complementary and Alternative Medicine*, 1: 203-206.