

بررسی اثر اسانس شش گیاه دارویی در کنترل باکتری سالمونلا در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین

جبار فلاحی^{*۱}، محمدتقی عبادی^{*۲}، پرویز رضوانی مقدم^{*۳}، مهدی هدایتی^{*۴} و سعید طریقی^{*۵}

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۳

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۷

خلاصه

بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی می‌تواند ما را در رسیدن به روشی پایدار در کنترل عوامل بیماری‌زا رهنمون سازد. باکتری سالمونلا یکی از عوامل مهم ایجاد بیماری‌های عفونی در انسان و دام می‌باشد. از این رو آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار و به روش سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک بر اساس روش استاندارد bauer-kirby، بر روی اثرات ضد باکتریایی اسانس خالص شش گونه گیاه دارویی: نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، زیره سیاه (*Bunium persicum*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) و بومادران (*Achillea millefolium*) و همچنین اثر آنتی بیوتیک استرپتومایسین بر روی پنج باکتری سالمونلای جدا شده از پوسته تخم مرغ و دو نمونه استاندارد سالمونلا تایفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) و سالمونلا اینتریتیدیس (*Salmonella enteritidis*) تهیه شده از مؤسسه رازی اجرا گردید. نتایج حاصله نشان دهنده اثرات بازدارندگی معنی‌دار اسانس گیاهان مذکور بر روی رشد باکتری سالمونلا بود. بیشترین و کمترین اثر به ترتیب در اسانس آویشن باغی (میانگین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری، ۲۵/۶ میلی‌متر) و اکالیپتوس (میانگین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری، ۳/۴ میلی‌متر) مشاهده گردید. بر طبق نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌گردد که شاید بتوان از اسانس آویشن باغی در کنترل باکتری سالمونلا استفاده کرد.

کلمات کلیدی: گیاهان دارویی، اسانس، ضد باکتریایی، سالمونلا، استرپتومایسین

مقدمه

جدا شده از طیور صورت گرفت گزارش شد که از ۲۴٪ جدایه‌های مقاوم فقط ۲٪ دارای مقاومت چندگانه بودند، ولی در سال ۱۹۸۸ تعداد جدایه‌های دارای مقاومت چندگانه تا ۷٪ افزایش یافت (۳۱). این نشان دهنده افزایش مقاومت این باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. از این رو ضرورت دارد تا گیاهان دارویی دارای اثرات ضد باکتریایی شناسایی گردند تا بتوان از آنها به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌های مصنوعی استفاده نمود.

بیش از ۵۰ سال است که از مصرف آنتی بیوتیک‌ها در جهت کنترل و درمان بیماری‌های عفونی می‌گذرد ولی استفاده نادرست و مداوم از این مواد باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی بیوتیک و پیدایش سویه‌های مقاوم شده و درمان بیماری‌ها در انسان و دام را با مشکل مواجه کرده است (۲۳ و ۳۳). هر ساله درصد کشورهایی که در مبارزه با عوامل باکتریایی بیماری‌زا به مشکل مقاومت آنتی بیوتیکی بر می‌خورند رو به افزایش است (۳۲). در سال ۱۹۸۵ در تحقیقی که بر روی سالمونلا تایفی موریوم

*۱ دانشجوی دکتری زراعت، گرایش اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

*۲ دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(نویسنده مسئول)

E-mail: prm93@yahoo.com

*۳ استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

*۴ دانشجوی دکتری تخصصی بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

*۵ استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

اگرچه استرپتومایسین در درمان عفونت ناشی از سالمونلا نقشی ندارد با این وجود، تست، برای حساسیت نسبت به استرپتومایسین به طور گسترده‌ای به عنوان یک شاخص اپیدمیولوژیک (Epidemiological marker) مورد استفاده است (۱۷). مثلاً Edrington و همکاران (۲۰۰۲) در نمونه‌های سالمونلای جدا شده از طیور و خوک اقدام به تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) برای استرپتومایسین نمودند (۱۸). همچنین Hayouni و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی نقش آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و اسانس گیاهان دارویی *Salvia officinalis* و *Schius molle* در کنترل باکتری بیماری‌زای سالمونلا پرداختند (۲۱). Oussalah و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه اثر ۲۸ اسانس گیاهی، در کنترل باکتری سالمونلا گزارش کردند که بیشترین اثر بازدارندگی در اسانس حاصل از گیاهان دارویی *Corydothymus Satureja Montana*، *Cinnamomum cassia capitatus* و *Origanum heracleoticum* مشاهده شد (۲۵). Moosavy و همکاران (۲۰۰۸) اثر اسانس گیاه *Zataria multiflora* و *Gündüz* و همکاران (۲۰۰۹) اثر اسانس گیاه *Myrtus communis* را در کنترل باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم مثبت گزارش کردند (۲۰ و ۲۴). Tassou و همکاران (۲۰۰۰) نیز اسانس نعناع را در کنترل باکتری سالمونلا/بیترییدیسیس مؤثر دانستند (۳۰). در مورد مکانیزم عمل اسانس‌ها، در کنترل عوامل میکروبی تحقیقات گسترده‌ای در حال انجام می‌باشد. برخی مطالعات نشان داده است که ترکیبات مونوترپنی مانند سینئول‌ها سبب توقف تقسیم سلولی می‌گردند. با مطالعات اخیر روشن گردیده است که اسانس‌ها به دلیل ماهیت روغنی‌شان، قادر به عبور از غشاهای سیتوپلاسمی بوده و با اختلال در ساختمان پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب و فسفولیپیدها سبب اختلال در عملکرد عوامل میکروبی می‌گردند (۱۶). در سال‌های اخیر افزایش مقاومت باکتری‌های جنس سالمونلا به آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی مشاهده شده است.

سالمونلا از باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه است (۱۴). این باکتری‌ها در آب، خاک، مواد در حال فساد و در دستگاه گوارش انسان، حیوانات و حشرات یافت می‌شوند و به آسانی خود را با شرایط محیطی سازگار می‌کنند (۱۴ و ۱۵). باکتری‌های جنس سالمونلا سال‌هاست که عامل بیماری روده‌ای شناخته شده‌اند و به عنوان یکی از مهمترین عوامل مسمومیت‌های غذایی مطرح هستند (۱۲). صادق‌زاده و همکاران (۱۳۸۵) در تحقیقی نشان دادند که آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های *Salmonella paratyphi A* و *Salmonella paratyphi B* دارای اثرات مهارکنندگی و میکروب‌کشی قابل توجهی است (۷). Rasooli و همکاران (۲۰۰۲) اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را روی *Staphylococcus aureus* بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که این اسانس روی این میکروب، اثری قوی دارد (۲۸). چلبیان و همکاران (۱۳۸۲) در آزمایشی نشان دادند که اسانس بومادران بر میکروب‌های بیماری‌زای *استافیلوکوکوس*، *سالمونلا تیفی*، *شیگلا فلکسنری* و *اشریشیا کلی* اثر میکروب‌کشی دارد (۳). آخوندزاده‌بستی و همکاران (۱۳۸۳) در تحقیقی بر روی آویشن شیرازی نشان دادند که لگاریتم درصد احتمال رشد *سالمونلا تایفی‌موریوم* به طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس قرار می‌گیرد (۱). برخی از محققین اثرات ضد میکروبی و اثرات ضد قارچی گیاه دارویی رزماری را مورد تأیید قرار داده‌اند (۲۶ و ۲۷). نوری‌زاده و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی روی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی پنج گیاه دارویی نتیجه گرفتند که اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره نعناع بیش از سایر گیاهان مورد بررسی بود (۱۱). جلالی و همکاران (۱۳۸۵) در آزمایشی نشان دادند که عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس دارای اثرات ضدباکتریایی روی *لیستریا مونوسیژنوز* است (۲).

آزمایش حاوی سلنیت سیستئین (به عنوان محیط غنی کننده) منتقل گردید. سپس بعد از گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از محیط غنی کننده با آنس استریل بر روی محیط انتخابی آگار سبز درخشان (BGA) کشت گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم‌خانه‌گذاری شد. پرگنه‌های مشکوک پس از آزمایشات رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش کاتالاز و اکسیداز، جهت آزمایشات بیوشیمیایی تفریقی در محیط‌های TSI، LIA، اوره-آز و اندول تلقیح گردید. بر اساس نتایج بدست آمده از تست‌های TSI و LIA، مواردی به عنوان سالمونلا انتخاب شدند (۳۸) که تعداد آنها ۵ نمونه در ۲۵۰ نمونه تهیه شده بود. از دو جدایه استاندارد باکتری سالمونلای تهیه شده از موسسه رازی (باکتری استوک سالمونلا تایفی موریوم (ATCC: 14028) و سالمونلا/اینتریتیدیس جهت کنترل مثبت (CTCC:25903) در کنار ۵ جدایه باکتری جدا شده از تخم‌مرغ که با روش PCR تأیید شده بودند نیز استفاده گردید.

آزمایش‌های سنجش حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک

دیسک‌های استریل شده حاوی ۱۰ میکرولیتر از اسانس خالص گیاهان مذکور مورد استفاده قرار گرفتند و علاوه بر آن از آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نیز به عنوان شاهد استفاده گردید.

تهیه سوسپانسیون استاندارد باکتری

از ۵ باکتری جدا شده که در محیط آگار مغز و قلب (BHI agar) کشت داده شده بودند، با آنس استریل تعدادی پرگنه برداشته شد و در آب مقطر استریل به میزان ۲cc، حل گردید سپس کدورت حاصله با مک فارلند ۰/۵ تنظیم گردید (این کدورت معادل 10^8 واحد تشکیل دهنده کلونی در هر سی سی است).

از این رو هدف از این تحقیق شناسایی گیاهان دارویی دارای اثرات ضد باکتریایی بوده، تا بتوان از آنها به عنوان جایگزینی برای مواد آنتی‌بیوتیک مصنوعی استفاده نمود.

مواد و روش کار

تهیه اسانس

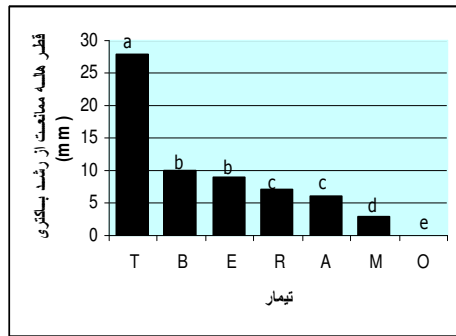
به منظور تهیه اسانس، سرشاخه گلدار نعنای فلفلی و آویشن باغی، برگ رزماری و اکالیپتوس، گل و برگ بومادران و بذر آسیاب شده زیره سیاه توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت ۳/۵ ساعت مورد اسانس‌گیری قرار گرفتند. منبع تهیه گیاهان دارویی از باغ اکولوژیک گیاهان دارویی و معطر دانشگاه فردوسی مشهد بود. ۱۰۰ گرم از هر کدام از نمونه گیاهان ذکر شده بصورت خشک شده جهت عملیات اسانس‌گیری استفاده گردید و به ترتیب از هر گیاه به مقدار ۲، ۳/۵، ۲/۵، ۳، ۰/۷ و ۵ میلی‌لیتر اسانس استحصال شد. اسانس‌های حاصله پس از رطوبت‌زدایی با سولفات سدیم انیدرید، در شیشه‌های تیره رنگ ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری گردید (۱).

نمونه برداری

تعداد ۵۰ نمونه ۵ تایی تخم‌مرغ (جمعاً ۲۵۰ عدد) به روش تصادفی از مراکز توزیع تخم‌مرغ در سطح شهرستان مشهد تهیه گردید.

جداسازی باکتری

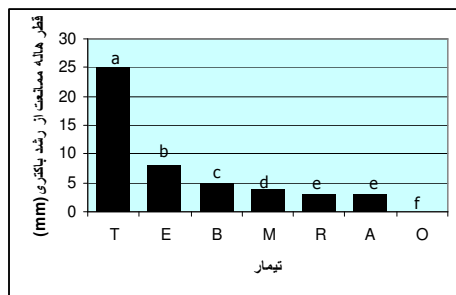
در ابتدا با سوآب استریل که با آب مقطر استریل مرطوب شده بود بر سطح پوسته تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری شده کشیده و سپس هر ۵ عدد سوآب داخل لوله آزمایش حاوی لاکتوزبراث (به عنوان محیط پیش غنی کننده) قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از هر لوله آزمایش ۱ میلی‌لیتر به لوله



شکل ۱: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.1*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماري، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).

* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.01$).

اختلاف بین تیمارهای مورد بررسی بر روی باکتری *Salmonella sp.2* معنی‌دار بود ($P<0.01$). در این مورد نیز اسانس آویشن باغی در سطح بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها قرار گرفت. اسانس گیاه اکالیپتوس روی این باکتری نیز بی‌اثر بود (شکل ۲).



شکل ۲: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.2*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماري، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).

* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.01$).

تیمارهای آزمایش بر روی ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.3* نیز دارای تفاوت معنی‌داری بودند ($P<0.01$). بیشترین تأثیر مربوط به اسانس آویشن باغی بود ولی اسانس اکالیپتوس بر این باکتری بی‌اثر بود (شکل ۳).

آزمایش سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک

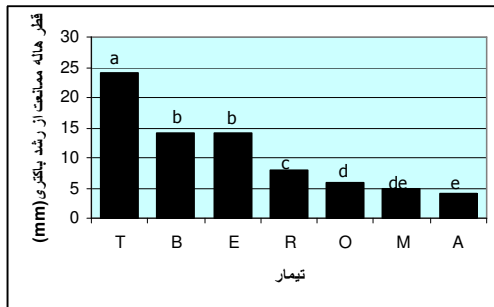
بر اساس روش استاندارد Bauer-kirby، در ابتدا سوآب استریل داخل لوله‌های آزمایش حاوی باکتری با رقت ۰/۵ مک‌فارلند قرار داده شد و بر روی محیط آگار مولر هینتون (MHA) محصول شرکت مرک در تماس با سطح پلیت در دو جهت مختلف کشیده شد. از اسانس هر یک از گیاهان و نیز آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین به میزان ۱۰ میکرولیتر به طور جداگانه روی هفت دیسک ریخته و سپس دیسک‌های حاوی اسانس گیاهان مورد آزمایش و نیز دیسک حاوی استرپتومایسین بر روی محیط MHA در هر یک از ۷ پلیت حاوی باکتری‌های سالمونلا در فواصل مناسب از هم قرار داده شدند و بعد از آن محیط‌های کشت جهت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت قطر هاله ممانعت از رشد اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر تعیین گردید (۱۷ و ۲۹). این آزمایش برای هر اسانس ۳ بار انجام شد.

آنالیز آماری

به منظور آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار MSTAT-C و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد. از آنالیز یک طرفه جهت آنالیز داده‌ها استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و $\alpha = 0.1$ صورت گرفت.

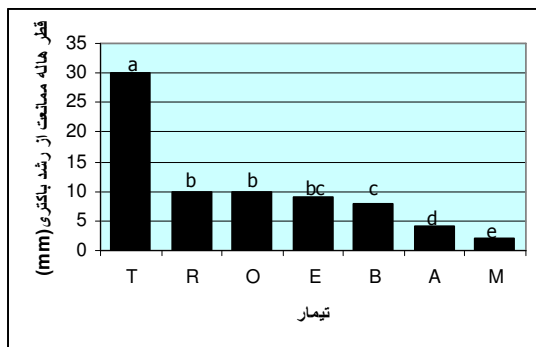
نتایج

در بین تیمارهای مورد استفاده بر روی باکتری *Salmonella sp.1* تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P<0.01$). در این بین آویشن باغی دارای بیشترین اثر بود. ولی بین استرپتومایسین و زیره سیاه و نیز بین بومادران و رزماري تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اسانس گیاه اکالیپتوس بر این باکتری بی‌تأثیر بود (شکل ۱).

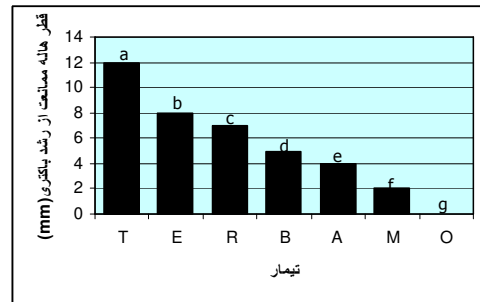


شکل ۵: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.5*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).
* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی دار نمی‌باشد (P>0.01).

تفاوت بین تیمارهای مورد آزمایش روی تشکیل هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella typhimurium* معنی دار بود (P<0.01). نتایج نشان داد که اسانس آویشن باغی بیشترین اثر را بر این باکتری دارد. تفاوت بین اکالیپتوس و رزماری معنی دار نبود و نعناع فلفلی کمترین اثر را بر این باکتری گذاشت. اسانس گیاهان مورد مطالعه در مقایسه با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین اثر قابل ملاحظه‌ای بر مهار رشد این سویه باکتری سالمونلا داشت (شکل ۶).

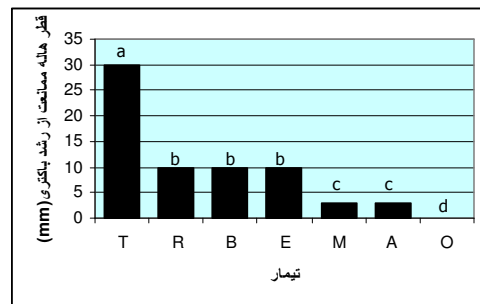


شکل ۶: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella typhimurium*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).
* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی دار نمی‌باشد (P>0.01).



شکل ۳: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.3*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).
* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی دار نمی‌باشد (P>0.01).

در مورد اثر تیمارهای مورد آزمایش بر باکتری *Salmonella sp.4* در بین تیمارها، تفاوت معنی داری وجود داشت (P<0.01). در مورد این باکتری نیز اثر قابل ملاحظه اسانس آویشن باغی در ممانعت از رشد باکتری مشاهده گردید، ولی بین اسانس زیره سیاه، رزماری و استرپتومایسین و نیز بین نعناع فلفلی و بومادران تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۴).

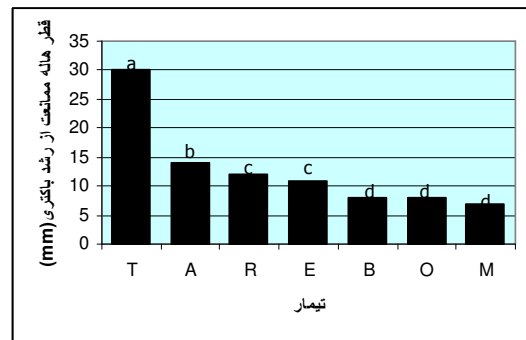


شکل ۴: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.4*. (T=آویشن باغی، B=زیره سیاه، E=استرپتومایسین، R=رزماری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).
* اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی دار نمی‌باشد (P>0.01).

تفاوت بین تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش بر روی ممانعت از رشد باکتری *Salmonella sp.5* معنی دار بود (P<0.01). بیشترین و کمترین اثر به ترتیب مربوط به آویشن باغی و بومادران بود (شکل ۵).

در باکتری *Salmonella typhi* می‌شود (۹). این نشان می‌دهد که اسانس این گیاه در غلظت‌های پایین نیز دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی است. جلالی و همکاران (۱۳۸۵) میانگین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز را با استفاده از عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس با غلظت $30 \mu\text{l/mg}$ را $11/33$ میلی‌متر گزارش نمودند. ولی عصاره گیاهان آویشن و رزماری باعث تشکیل هاله مهار رشد نشد (۴). بنابراین ممکن است اسانس یا عصاره یک گیاه دارویی بر یک میکروارگانیسم اثر قابل توجهی داشته باشد ولی بر میکروارگانیسم دیگری دارای اثر کمتر و یا بدون اثر باشد. البته باید توجه داشت که عوامل مختلفی مانند تعیین غلظت ممانعت از رشد مناسب، روش و حلال به کار برده شده جهت عصاره‌گیری و محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضد باکتریایی، نوع پاسخ دریافتی این گونه آزمایشات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). زهرایی صالحی و همکاران (۱۳۸۴) در تحقیقی قطر هاله ممانعت از رشد باکتری *شریشیا کلی* با استفاده از اسانس آویشن شیرازی با غلظت $109 \mu\text{g/m}$ ، 32 میلی‌متر گزارش نمودند (۸) و این موضوع نتایج تحقیق حاضر، در مورد اثرات آنتی‌باکتریایی قابل توجه اسانس آویشن را تایید می‌کند. عطایی و همکاران (۱۳۸۵) اثرات ضد باکتریایی گیاه بومادران را ثابت کردند (۱۱). همچنین فتحی‌آزاد و لطفی‌پور (۱۳۸۳) اثر مهارکنندگی عصاره اتیل استاتی بومادران را روی *استافیلوکوکوس آئروس* نشان دادند (۱۳). نخعی‌مقدم و همکاران (۱۳۸۵) در یک بررسی نتیجه گرفتند که عصاره آبی و الکلی زیره سبز دارای اثرات ضد هلیکوباکتریلوری است (۱۴). همچنین رنجبریان و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی نشان دادند که عصاره زیره سیاه بر روی ۹ مورد از ۱۴ سویه هلیکوباکتر پیلوری دارای اثر مهارکنندگی است (۶). نوری‌زاده و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی گیاهان نعناع (با غلظت ۲۰۰ - ۳۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و آویشن (با غلظت ۴۰۰ - ۴۵۰

در مطالعه اثر اسانس گیاهان مورد آزمایش بر روی نمونه استاندارد باکتری *Salmonella enteritidis* بین تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.01$). در این میان اسانس آویشن باغی بیشترین اثر را بر جا گذاشت. ولی بین اسانس گیاه رزماری و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و نیز بین اسانس گیاهان زیره سیاه، اکالیپتوس و نعناع فلفلی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در این مورد نیز، اثر قابل توجه اسانس گیاهان مورد بررسی بر روی ممانعت از رشد این سویه سالمونلا در مقایسه با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین مشاهده شد (شکل ۷).



شکل ۷: اثر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella enteritidis*. (T= آویشن باغی، B= زیره سیاه، E= استرپتومایسین، R= رزماری، A= بومادران، M= نعناع فلفلی، O= اکالیپتوس). * اختلاف میانگین‌های با حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.01$).

بحث

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از زمان‌های قدیم برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با توجه به سازگاری این مواد با بدن و اثرات دارویی مفید آنها تحقیق بر روی اثرات ضد باکتریایی گیاهانی که مصرف آنها در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها گزارش شده با ارزش می‌باشد.

شهنازی و همکاران (۱۳۸۶) در آزمایشی نتیجه گرفتند که اسانس آویشن تالشی در غلظت ۱ میکرولیتر باعث ایجاد هاله ممانعت از رشد باکتری به میزان ۱۸ میلی‌متر

می‌دهد اسانس گیاه اکالیپتوس کمترین اثر را بر روی سالمونلا داشت به طوری که بر روی ۴ سویه از سالمونلاهای استخراج شده اثری نداشت. در مورد اثر تیمارهای مورد بررسی بر روی ۲ جدایه استاندارد باکتری سالمونلا نیز اثر قابل توجه اسانس گیاهان مورد بررسی بر روی ممانعت از رشد این باکتری در مقایسه با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین مشاهده شد (شکل ۶ و ۷). زهرایی صالحی و همکاران (۱۳۸۴) نیز نشان دادند اسانس آویشن شیرازی بر روی سویه‌های استاندارد باکتری‌های *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* اثرات قابل توجهی دارد (۸). بررسی شکل‌های ۱ تا ۷ نشان دهنده اثر بالای اسانس آویشن باغی بر سویه‌های مختلف باکتری سالمونلا می‌باشد. همچنین اکالیپتوس بر ممانعت از رشد سویه‌های استاندارد مورد استفاده در مقایسه با سویه‌های استخراج شده از پوسته تخم مرغ اثر قابل توجهی گذاشت.

میکروگرم در میلی‌لیتر) را بر هشت سویه *هلیکوباکتر پیلوری* بررسی کردند، نتایج حاکی از آن بود که میانگین قطر هاله ممانعت از رشد هشت سویه باکتری مورد بررسی، در نعنای و آویشن به ترتیب ۱۴ و ۸ میلی‌متر بود. بنابراین، این گیاهان بر روی باکتری‌های گرم منفی دیگر نیز دارای اثرات قابل توجهی هستند (۱۵).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که در بین گیاهان مورد استفاده، اسانس آویشن باغی بیشترین اثر را بر تمامی جدایه‌های سالمونلای استخراج شده از پوسته تخم مرغ دارد و از این حیث این اسانس برتری قابل توجهی را در مقایسه با سایر اسانس‌های مورد استفاده و نیز آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نشان داد. پس از آویشن باغی به ترتیب استرپتومایسین و اسانس گیاهان زیره سیاه، رزماری، بومادران، نعنای فلفلی و اکالیپتوس، بیشترین اثرات را بر روی ممانعت از رشد سویه‌های مختلف سالمونلا نشان دادند. همان‌طور که شکل‌های ۱ تا ۵ نشان

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت‌های خانم دکتر ماهرخ فلاحتی رستگار، استاد گروه گیاه پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۳- چلبیان فیروزه، نوروزی حسن و موسوی سعیده (۱۳۸۲). بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس هفت گونه گیاهی از تیره‌های مختلف روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زا. فصلنامه گیاهان دارویی. ۸: ۴۲-۳۶.

۴- رنجبریان پروانه، صادقیان سیاوش و شیرازی محمدحسن (۱۳۸۳). مطالعه اثر ضد باکتریایی ۴ عصاره دارچین، زیره سیاه، رازیانه و شوید بر روی *هلیکوباکتر پیلوری* به روش دیسک دیفیوژن و فلوسیتومتری. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان. ۱۱(۳): ۴۲-۴۷.

۱- آخوندزاده‌بستی افشین، رضویلو ودود، میثاقی علی، عباسی فرضا، رادمهر بهراد و خلیقی‌سیگارودی فرحناز (۱۳۸۳). اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد *سالمونلا تیفی موریوم* در محیط آبگوشت مغز و قلب. فصلنامه گیاهان دارویی. ۹: ۹۲-۸۴.

۲- جلالی محمد، عابدی داریوش، قاسمی‌دهکردی نصرالله و چهارمحالی امیر (۱۳۸۵). بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تعدادی از گیاهان دارویی علیه باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*. دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۸(۳): ۳۳-۲۵.

و آویشن بر هلیکوباکتر پیلوری. دوماهنامه دانشور پزشکی. دانشگاه شاهد. ۵۲(۱۱): ۷۲-۷۶.

12- Alcamo E. (1997). Fundamentals of microbiology. Jones and Bartlett Publishers. 5th ed. PP:235-238.

13- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C. and Turck M. (1966), Antibiotic susceptibility testing by a standardization single disk method Journal Clinical Pathology. 45: 493-496.

14- Connie R.M. and Manuselis G. (2000). Text book of microbiology Dig. 2th ed. Chapter 16. pp:463-468 and 479-484.

15- Daoust J.Y. and Purvis U. (1998). Isolation on identification of salmonella from foods. MFHPB-20. Health Protection Branch. Ottawa. Canada. p: 137.

16- Di Pasqua R., Hoskins N., Betts G. and Mauriello G. (2006). Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. Journal Agriculture Food Chemistry, 54: 2745-2749.

17- Doran G., NiChulain M., DeLappe N., O'Hare C., Corbett-Feeney G. and Cormican M. (2006). Interpreting streptomycin susceptibility test results for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. International Journal of Antimicrobial Agents. 27: 538-540.

18- Edrington T.S., Harvey R.B., Farrington L.A. and Nisbet D.J. (2002). Determination of MICs of streptomycin for resistant *Salmonella* isolates in swine and poultry using a micro-broth dilution system. Journal of Food Protection. 65(3): 563-566.

19- Foster S. (1996). Peppermint: *Mentha piperita*. American Botanical Council-Botanical Series. 306: 3-8.

20- Gündüz G.T., Gönül S.A. and Karapinar M. (2009). Efficacy of myrtle oil against *Salmonella Typhimurium* on fresh produce. International Journal of Food Microbiology. 130: 147-150.

21- Hayouni E.A., Chraief I., Abedrabba M., Bouix M., Leveau J., Mohammed H. and Hamdi M. (2008). Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology. 125: 242-251.

22- Madsen L., Aarestrup F.M. and Olsen J.E. (2000). Characterisation of streptomycin resistance determinants in Danish isolates of *Salmonella Typhimurium*. Veterinary Microbiology. 75: 73-82.

۵- زهرابی صالحی محمدتقی، وجگانی مهدی، بیات منصور، ترشیزی حسن و آخوندزاده افشین (۱۳۸۴).

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرزئوس، استریتوکوکوس آگلاکتیه و اشریشیا کلی. مجله دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران. ۶۰(۲): ۱۰۷-۱۱۰.

۶- شهنازی سحر، خلیقی سیگارودی فرحناز، اجنی یوسف، یزدانی داراب، اهوازی مریم و تقی‌زاده فرید رحیم (۱۳۸۶). بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس حاصل از گیاه آویشن تالشی (*Thymus trautvetteri*). فصلنامه گیاهان دارویی. ۶(۳): ۸۰-۸۹.

۷- صادق‌زاده لیلی، سفیدکن فاطمه و اولیاء پرویز (۱۳۸۵). بررسی ترکیب و خواص ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*). پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی. ۷۱: ۵۲-۵۶.

۸- عطایی زهرا، عبدالمهدی حمید، نادری‌پور سمیه و محمدی‌نژاد سیروس (۱۳۸۵). بررسی آزمایشگاهی اثر عصاره گیاهی بومادران، بابونه و ریوند بر قارچ کاندیدا/البیکانوس و باکتری‌های شایع دهانی. مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان ایران. مسلسل ۶۰: ۲۵-۳۱.

۹- فتحی‌آزاد فاطمه و لطفی‌پور فرزانه (۱۳۸۳). بررسی اثر ضد باکتری دم اسبی و بومادران. مجله علوم دارویی. ۱: ۳۷-۴۶.

۱۰- نخعی‌مقدم محبوب، رمضان محمد، خواجه‌کرم‌الدینی مهرانگیز و ملک‌زاده فریدون (۱۳۸۵). اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره‌های آبی و متانولی زیره سبز و ترخون در شرایط آزمایشگاهی. مجله علوم پایه پزشکی ایران. ۹(۳): ۱۹۳-۲۰۰.

۱۱- نوری‌زاده عزت، میرزاپور طوبی، قاسمی کریم‌الله، رضوی مهدی و لطیفی‌نوید سعید (۱۳۸۳). بررسی آثار ضد باکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرین بیان، پونه، بابونه

- 23- Mazel, D., and Davies, J. (1999). Antibiotic resistance in microbes. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 56: 742-754.
- 24- Moosavy M.H., Akhondzadeh Basti A., Misaghi A., Zahraei Salehi T., Abbasifar R., Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Alipour M., Emami Razavi N., Gandomi H. and Noori N. (2008). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. *Food Research International*. 41: 1050–1057.
- 25- Oussalah M., Caillet S., Saucier L. and Lacroix M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18: 414–420.
- 26- Perrucci S., Mancianti F., Cioni P.L., Flamini G. and Macchioni G. (1994). In vitro anti fungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*. *Planta Medica*. 60: 184-187.
- 27- Psnizzi L., Flamini G., Cioni P.L. and Morelli I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediteranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*. 39: 167-170.
- 28- Rasooli I. and Rezaei M.B. (2002). Bioactivity and chemical properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia*, *Journal of Essential Oil Research*. 14: 141-146.
- 29- Suresh T., Hatha A.A.M., Sreeni Vasani D. and Nathan S. (2006). Prevalence and Anti microbial resistance of *Salmonella enteritidis* and other *Salmonella* in the egg and egg storing trays from retails markets of Coimbatore, South Indian. *Food Microbiology*. 23: 294 – 299.
- 30- Tassou C., Koutsoumanis K. and Nychas G.J.E. (2000). Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research International*. 33: 273-280.
- 31- Threlfall E.J. (1989). Multiple drug resistant strains of *salmonella typhimurium* in poultry. *Veterinary Research*. 124: 538.
- 32- Van der Waaij D. and Nord C.E. (2000). Development and persistence of multi-resistance to antibiotics in bacteria; an analysis and a new approach to this urgent problem. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 16:191-197.
- 33- Woo P.C.Y., To A.P.C., Lau S.K.P. and Yuen K.Y. (2003). Facilitation of horizontal transfer of antimicrobial resistance by transformation of antibiotic-induced cell wall-deficient bacteria. *Medical Hypotheses*. 61 : 503-508.