

اولین همایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

بررسی تاثیر اسانس شش گیاه دارویی به همراه آنتی بیوتیک استرپتومایسین در کنترل دو نمونه

استاندارد باکتری سالمونلا

چهار فلاحی^{۱*} - مهدی هدایتی^۲ - پرویز رضوانی مقدم^۳ - سعید طریقی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد ۲- دانشجوی دکتری تخصصی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۳- استاد گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد ۴- استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

شناسایی و مطالعه اثرات گیاهان دارویی بر روی عوامل میکروبی مولد بیماری ها می تواند ما را در رسیدن به روشی پایدار در کنترل عوامل بیماری زا رهنمون سازد و کاربردهای جدیدی را برای این گیاهان ایجاد نماید. باکتری سالمونلا یکی از عوامل مهم ایجاد بیماریهای عفونی در انسان و دام می باشد. از این رو آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار، بر روی اثرات آنتی باکتریال اسانس خالص شش گونه گیاه دارویی: نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، اویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، زیره سیاه (*Bunium persicum*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) و بومادوان (*Achillea millefolium*) به همراه آنتی بیوتیک استرپتومایسین بر روی دو نمونه استاندارد باکتری سالمونلا شامل تایفی موربوم (*Salmonella typhimurium*) و اینترتیدیس (*Salmonella enteritidis*) تهیه شده از مؤسسه رازی اجرا گردید. نتایج حاصله نشان دهنده اثرات بازدارندگی معنی دار اسانس گیاهان مذکور بر روی رشد باکتری سالمونلا بود. اسانس اویشن باغی و نعناع فلفلی به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر روی ممانعت از رشد دو سویه سالمونلا بر جا گذاشت.

واژه های کلیدی: استرپتومایسین - آنتی باکتریال - سالمونلا - گیاهان دارویی

مقدمه

بیش از ۵۰ سال است که از مصرف آنتی بیوتیک ها در جهت کنترل و درمان بیماریهای عفونی می گذرد ولی استفاده نادرست و مداوم از این مواد باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی بیوتیک و پیدایش سویه های مقاوم در باکتری ها شده و درمان بیماریها در انسان و دام را با مشکل مواجه کرده است. افزایش بروز این مقاومت ها سلامت جوامع را مورد تهدید قرار داده به طوری که نابودی باکتری های عامل بیماری را دشوار ساخته است (مازل و دیویس ۱۹۹۹ - وو و همکاران ۲۰۰۳). هر ساله درصد کشورهایی که در مبارزه با عوامل باکتریایی بیماریزا به مشکل مقاومت آنتی بیوتیکی بر می خورند رو به افزایش است (وان در واج و نورد ۲۰۰۰). تا کنون بر روی اثر آنتی بیوتیک ها بر روی باکتریها و نیز مقاومت آنتی بیوتیکی باکتریها مطالعات وسیعی صورت گرفته است (همیلتون ۲۰۰۴). در سال ۱۹۸۵ در تحقیقی که بر روی سالمونلا تیفی موربوم جدا شده از طیور صورت گرفت گزارش شد که از ۲۴٪ جدایه های مقاوم فقط ۲٪ دارای مقاومت چندگانه بودند ولی در سال ۱۹۸۸ تعداد جدایه های دارای مقاومت چندگانه تا ۷٪ افزایش یافت (سرفال ۱۹۸۹). این نشان دهنده افزایش مقاومت این باکتری ها به آنتی بیوتیک ها می باشد. از این رو ضرورت دارد تا گیاهان دارویی دارای اثرات آنتی باکتریال شناسایی گردند تا بتوان از آنها به عنوان جایگزینی برای مواد آنتی بیوتیک مصنوعی استفاده نمود.

سالمونلا از باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه است، اعضای این خانواده گرم منفی بوده و قرابت نزدیکی با هم دارند (کانی و مانوسلیس ۲۰۰۰). این باکتری ها در آب، خاک، مواد در حال فساد و در دستگاه گوارش انسان، حیوانات و حشرات یافت می شوند. باکتریهای جنس سالمونلا هوازی و بی هوازی اختیاری و باسیلی شکل هستند. این میکروارگانیسم ها باکتریهای انعطاف پذیری هستند و به آسانی خود را با شرایط محیطی سازگار می کنند (کانی و مانوسلیس ۲۰۰۰ و دآپوست و پاوریس ۱۹۹۸). باکتری های جنس سالمونلا سالهاست که عامل بیماری روده ای شناخته شده اند و به عنوان مهمترین عامل مسمومیت غذایی مطرح اند (آلکامو ۱۹۹۷).

اولین همایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

نعناع فلفلی گیاهی است چند ساله با ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی متر از خانواده نعنائیان که ترکیبات مهم اسانس آن را منتون، منتول و متیل استات تشکیل می دهند (فوستر ۱۹۹۶ و پیرس ۱۹۹۹). از کاربردهای دارویی آن می توان به درمان سندرم روده تحریک پذیر (IBS)، بیماریهای التهابی روده، نارسایی های سیستم صفراوی و مشکلات کبدی اشاره کرد (فلپینگ ۱۹۹۸ و پلامسال ۱۹۹۸). گیاه رزماری یا اکلیل کوهی از خانواده نعناع (زرگری ۱۳۷۲ و هوفلر و همکاران ۱۹۸۷) دارای خواصی مانند صفرا آور، ضد میکروب و ضد قارچ است (امیدیگی ۱۳۸۳ و هوفلر و همکاران ۱۹۸۷ و تاها و همکاران ۱۹۹۱). زیره سیاه یکی از اعضای خانواده چتریان می باشد و در ایران در آذربایجان، اطراف تهران، الوند، خمین، اراک، کردستان، ارتفاعات البرز، کرمان و مشهد به صورت خودرو وجود دارد (فهرمان ۱۳۷۲). بذر این گیاه دارای مقادیر قابل توجهی اسانس است و از اسانس آن در صنایع دارویی به عنوان ضد نفخ و بادشکن و در صنایع غذایی به عنوان افزودنی مورد استفاده قرار می گیرد (تاها و همکاران ۱۹۹۱). مهمترین ترکیبات اسانس این گیاه "پ-سیمن"، گاماترپین، آلفاپین، بتاپین و آلفاترپین می باشد (امیدیگی ۱۳۸۴). بومادران گیاهی است چند ساله از خانواده کاسنی که اسانس آن حاوی سیمن و کامفور می باشد (امیدیگی ۱۳۸۴). از کاربردهای دارویی این گیاه می توان به مواردی مانند التیام زخم ها، خستگی عمومی، بیماریهای عصبی، هیستری، صرع و بند آوردن خون اشاره کرد. این گیاه همچنین دارای اثرات آنتی هموروئید می باشد (متیم ۱۹۹۵ و ویباسین و گریدنوا ۱۹۹۷). اوکالیپتوس درختی است با ارتفاع ۵ متر (و گاهی به ارتفاع بیشتر) و برگ تازه آن دارای ۳ تا ۵ درصد اسانس می باشد. سینثول (اکالیپتول) مهم ترین و اصلی ترین ماده تشکیل دهنده اسانس اوکالیپتوس می باشد. برگ های این گیاه برای درمان سرماخوردگی، آنفلوآنزا و ضد عفونی مجاری تنفسی کاربرد دارند (امیدیگی ۱۳۸۴). آویشن باغی گیاهی خشبی، چند ساله و متعلق به خانواده نعناع می باشد. منشأ این گیاه نواحی مدیترانه گزارش شده است. ارتفاع این گیاه متفاوت و بین ۲۰ تا ۵۰ سانتی متر است. پیکر رویشی آویشن باغی حاوی اسانس می باشد. مهمترین اجزاء تشکیل دهنده اسانس را تیمول، کارواکرول و پاراسیمول تشکیل می دهد. مواد مؤثره آویشن باغی خلط آور بوده و برای معالجه سرفه مورد استفاده قرار می گیرد. اسانس آویشن باغی همچنین خاصیت شدید ضد باکتریایی و ضد قارچی دارد. از مواد مؤثره این گیاه در صنایع آرایشی و بهداشتی و در تهیه کرم ها، عطرها، لوسیونها، دهانشویه ها و پماد استفاده می شود. از اسانس این گیاه به عنوان آروماترایی (درمان با مواد معطر) استفاده شده و درخمیر دندان نیز به عنوان یک ماده ضد باکتری مورد استفاده قرار می گیرد (امیدیگی ۱۳۸۴).

صادق زاده و همکاران (۱۳۸۵) در تحقیقی نشان دادند که آویشن شیرازی بر روی باکتری های *Salmonella paratyphi A* و *Salmonella paratyphi B* دارای اثرات مهارکنندگی و میکروب کشی قابل توجهی است. رسولی و رضایی (۲۰۰۲) اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را بر روی *Staphylococcus aureus* بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که این اسانس بر روی این میکروب اثری قوی دارد. چلبیان و همکاران (۱۳۸۲) در آزمایشی نشان دادند که اسانس بومادران بر میکروب های بیماری زای استافیلوکوکوس، سالمونلا تیفی، شینگلا فلکسنری و اشریشیا کلی اثر میکروب کشی دارد. آخوندزاده بستی و همکاران (۱۳۸۳) در تحقیقی بر روی آویشن شیرازی نشان دادند که لگاریتم درصد احتمال رشد سالمونلا تیفی موربوم به طور معنی داری تحت تاثیر غلظت های مختلف اسانس قرار گرفت. پسینزی و همکاران (۱۹۹۳) اثرات ضد میکروب و پروسی و همکاران (۱۹۹۴) اثرات ضد قارچی گیاه دارویی رزماری را مورد تایید قرار داده اند. نوری زاده و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی بر روی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی پنج گیاه دارویی نتیجه گرفتند که اثر ضدهلیکتر باکتریلوری عصاره نعناع بیش از سایر گیاهان مورد بررسی بود. جلالی و همکاران (۱۳۸۵) در آزمایشی نشان دادند که عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس دارای اثرات ضد باکتریایی بر روی لیستریا مونوسیژنوز (*Listeria monocytogenes*) بود. در سالهای اخیر شاهد افزایش مقاومت باکتری های جنس سالمونلا به آنتی بیوتیک های مصنوعی می باشیم از این رو هدف از این تحقیق شناسایی گیاهان دارویی دارای اثرات آنتی باکتریال بوده، تا بتوان از آنها به عنوان جایگزینی برای مواد آنتی بیوتیک مصنوعی استفاده نمود.

اولین بایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

مواد و روش

تهیه اسانس: به منظور تهیه اسانس، سرشاخه گلدار نعنای فلفلی و آویشن باغی، برگ رزماری و اکالیپتوس، گل و برگ بومادران و بذور آسیاب شده زیره سیاه توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت ۳/۵ ساعت مورد اسانس گیری قرار گرفتند. ۱۰۰ گرم از هر کدام از نمونه گیاهان ذکر شده بصورت خشک شده جهت عملیات اسانس گیری استفاده گردید و به ترتیب ۲، ۳/۵، ۲/۵، ۳، ۰/۷ و ۵ میلی لیتر اسانس استحصال شد. اسانس های حاصله پس از رطوبت زدایی با سولفات سدیم انیدرید، در شیشه های تیره رنگ ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری گردید.

آزمایش های سنجش حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک: دیسک های استریل شده حاوی ۱۰ میکرو لیتر از اسانس گیاهان مذکور و نیز آنتی بیوتیک استرپتومایسین مورد استفاده قرار گرفتند.

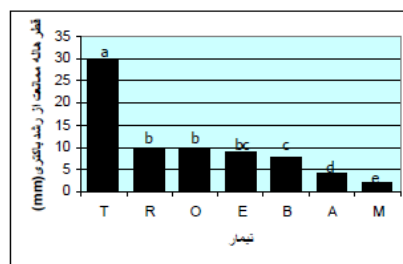
تهیه سوسپانسیون استاندارد باکتری: از ۲ باکتری تهیه شده از موسسه رازی، با آانس استریل تعدادی پرگنه برداشته شد و در آب مقطر استریل به میزان ۲۵۰۰، حل گردید سپس کدورت حاصله با مک فارلند ۰/۵ تنظیم گردید (این کدورت معادل ۱۰^۸ واحد تشکیل دهنده کلونی در هر سی سی است).

آزمایش سنجش حساسیت به روش انتشار از دیسک: در ابتدا سواب استریل شده ای را داخل لوله های آزمایش حاوی باکتری با رقت ۰/۵ مک فارلند قرار داده و بر روی محیط آگار مولیر هنتون محصول شرکت مرک در تماس با سطح پلیت در دو جهت مختلف کشیده شد. از اسانس هر یک از گیاهان و نیز آنتی بیوتیک استرپتومایسین به میزان ۱۰ میکرو لیتر روی دیسک های جداگانه ای ریخته و سپس دیسک های حاوی اسانس گیاهان مورد آزمایش بر روی محیط آگار مولیر هنتون در فواصل مناسب از هم قرار داده شدند و بعد از آن محیط های کشت جهت گرم خانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت قطر هاله ممانعت از رشد اندازه گیری و بر حسب میلی متر گزارش گردید.

آنالیز آماری: برای آنالیز داده های خام حاصل از بررسی انجام شده از نرم افزار MSTAT-C و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ صورت گرفت.

نتایج

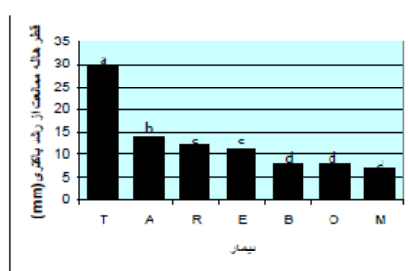
تفاوت بین تیمارهای مورد آزمایش بر روی تشکیل هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella typhimurium* معنی دار بود ($P < 0.01$). نتایج نشان داد که اسانس آویشن باغی بیشترین تاثیر را بر این باکتری داشت. تفاوت بین اکالیپتوس و رزماری معنی دار نبود. و نعنای فلفلی کمترین اثر را بر این باکتری گذاشت. اسانس گیاهان مورد مطالعه در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین تاثیر قابل ملاحظه ای بر مهار رشد این سویه باکتری سالمونلا داشت (شکل ۱).



اولین هایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

شکل ۱- تاثیر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella typhimurium* (T=آویشن باغی، B= زیره سیاه، E= استرپتومایسین، R=رززاری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).

در مطالعه اثر اسانس گیاهان مورد آزمایش بر روی نمونه استاندارد باکتری *Salmonella enteritidis* بین تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی داری وجود داشت ($P < 0.01$). در این میان اسانس آویشن باغی بیشترین اثر را بر جا گذاشت. ولی بین اسانس گیاه رززاری و آنتی بیوتیک استرپتومایسین و نیز بین اسانس گیاهان زیره سیاه، اکالیپتوس و نعناع فلفلی تفاوت معنی داری نبود. در این مورد نیز شاهد اثر قابل توجه اسانس گیاهان مورد بررسی بر روی ممانعت از رشد این سویه سالمونلا در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین بودیم (شکل ۲).



شکل ۲- تاثیر تیمارهای مختلف مورد بررسی بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری استاندارد *Salmonella enteritidis* (T=آویشن باغی، B= زیره سیاه، E= استرپتومایسین، R=رززاری، A=بومادران، M=نعناع فلفلی، O=اکالیپتوس).

نتیجه گیری و بحث

اسانس ها و عصاره های گیاهی از زمان های قدیم برای درمان بیماریها مورد استفاده قرار می گرفته اند. با توجه به سازگاری این مواد با بدن و اثرات دارویی مفید آنها تحقیق بر روی اثرات آنتی باکتریال گیاهانی که مصرف آنها در طب سنتی برای درمان بیماریها گزارش شده با ارزش می باشد.

در مورد اثر تیمارهای مورد بررسی بر روی سویه استاندارد باکتری سالمونلا، شاهد اثر قابل توجه اسانس گیاهان مورد آزمایش بر روی ممانعت از رشد این باکتری در مقایسه با آنتی بیوتیک استرپتومایسین بودیم (شکل ۲ و ۱). زهرایی صالحی و همکاران (۱۳۸۴) نیز در یک بررسی نشان دادند که اسانس آویشن شیرازی بر روی سویه های استاندارد باکتری های اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس ارنوس و استرپتوکوکوس اگالکتیه اثرات قابل توجهی دارد. شهنازی و همکاران (۱۳۸۶) در آزمایشی نتیجه گرفتند که اسانس آویشن نالشی در غلظت ۱ میکرولیتر باعث ایجاد هاله ممانعت از رشد باکتری به میزان ۱۸ میلی متر در باکتری *Salmonella typhi* شد. این نشان می دهد که اسانس این گیاه در غلظت های پایین نیز دارای اثرات آنتی باکتریال قابل توجهی است. جلالی و همکاران (۱۳۸۵) در یک بررسی نشان دادند که مبانگین قطر هاله ممانعت از رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز با استفاده از عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس (با غلظت $30 \mu\text{l}/\text{mg}$)، $11/33$ میلی متر بود. ولی عصاره گیاهان آویشن و رززاری باعث تشکیل هاله مهار رشد نشد. بنابراین ممکن است اسانس

اولین بایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

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 عصاره گیری و محیط کشت مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضد باکتریایی، نوع پاسخ دریافتی این گونه آزمایشات را تحت تاثیر قرار می دهد (جلالی و همکاران ۱۳۸۵). زهرایی صالحی و همکاران (۱۳۸۴) در تحقیقی نشان دادند که قطر هاله ممانعت از رشد باکتری اشریشیا کلی با استفاده از اسانس آویشن شیرازی با غلظت $1.059 \mu\text{g/ml}$ ، ۳۲ میلی متر بود. و این موضوع نتایج تحقیق حاضر، در مورد اثرات آنسی باکتریایی قابل توجه اسانس آویشن را تایید می کند. عطایی و همکاران (۱۳۸۵) اثرات ضد باکتریایی گیاه بومادران را ثابت کردند. همچنین فتحی آزاد و لطفی پور (۱۳۸۳) اثر مهارکنندگی عصاره انیل اسناتی بومادران را روی استافیلوکوکوس ارونوس نشان دادند. نخعی مقدم و همکاران (۱۳۸۵) در یک بررسی نتیجه گرفتند که عصاره آبی و الکلی زیره سبز دارای اثرات ضد هلیکوباکتریپیلوری است. همچنین رنجبریان و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی نشان دادند که عصاره زیره سیاه بر روی ۹ مورد از ۱۴ سویه هلیکوباکتریپیلوری دارای اثر مهارکنندگی است. توری زاده و همکاران (۱۳۸۳) در آزمایشی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی گیاهان نعناع (با غلظت ۲۰۰-۳۵۰ میکروگرم در میلی لیتر) و آویشن (با غلظت ۴۰۰-۴۵۰ میکروگرم در میلی لیتر) را بر هشت سویه هلیکوباکتریپیلوری بررسی کردند، نتایج حاکی از آن بود که میانگین قطر هاله ممانعت از رشد هشت سویه باکتری مورد بررسی، در نعناع و آویشن به ترتیب ۴ و ۸ میلی متر بود بنابراین، این گیاهان بر روی باکتری های گرم منفی دیگر نیز دارای اثرات قابل توجهی هستند.

پیشنهادها

در سالهای اخیر تحقیقاتی در زمینه اثرات بازدارندگی مواد طبیعی در برابر میکروارگانیسمها صورت گرفته ولی کافی به نظر نمی رسد. در این رابطه شناسایی ترکیباتی که برای انسان غیر سمی بوده و اثرات جانبی نداشته باشد ضروری است. همچنین تولید کنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از این مواد به عنوان نگهدارنده های طبیعی به جای مواد شیمیایی در محصولات خود دارند و این موضوع نیز نیازمند تحقیق بیشتری است. در مورد آزمایش انجام شده نیز بررسی اسانس هر یک از گیاهان مورد بررسی، در غلظت های مختلف و نیز بر روی سویه های دیگر سالمونلا و همچنین سایر میکروارگانیسم ها ضروری به نظر می رسد. علاوه بر این بررسی بر روی اثرات ضد میکروبی سایر گیاهان دارویی نیز پیشنهاد می شود.

منابع

- ۱- آخوندزاده بستی، ا.، رضویلو، و.، مینافی، ع.، عباسی فر، ر.، رادمهر، ب. و ف. خلیقی سیگارودی، ۱۳۸۳. اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی احتمال رشد سالمونلا تیفی موربوم در محیط آبگوشت مغز و قلب. فصلنامه گیاهان دارویی. ۹: ۹۲-۸۴.
- ۲- امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۳. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. ج ۳. انتشارات آستان قدس
- ۳- امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. ج ۲. انتشارات آستان قدس.
- ۴- جلالی، م.، عابدی، د.، قاسمی دهکردی، ن. و ا. چهارمحالی، ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تعدادی از گیاهان دارویی علیه باکتری لیستریا مونوسیژنوز. دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۸(۳): ۲۳-۲۵.
- ۵- چلبیان، ف.، نوروزی، ح. و س. موسوی، ۱۳۸۲. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس هفت گونه گیاهی از تیره های مختلف روی برخی از باکتری های بیماری زا. فصلنامه گیاهان دارویی. ۷: ۴۲-۳۹.
- ۶- زرگری، ع.، ۱۳۷۲. گیاهان دارویی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۷۱-۷۴.

اولین بایش ملی فن آوری های نوین در کشاورزی و منابع طبیعی

- ۷- زهرایی صالحی، ت.، وجگانی، م.، بیات، م.، ترشیزی، ح.، و ا.، آخوند زاده، ۱۳۸۴. تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتریهای استافیلوکوکوس آرتوس، استرپتوکوکوس آگالکتیه و اشریشیاکلی. مجله دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران. ۶۰(۲): ۱۰۷-۱۱۰.
- ۸- شهنازی، س.، خلیقی سیگارودی، ف.، اجنی، ی.، یزدانی، د.، اهواری، م.، و ر. تقی زاده فرید، ۱۳۸۶. بررسی ترکیب های شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس حاصل از گیاه آویشن نالشی (*Thymus trautvetteri*). فصلنامه گیاهان دارویی. ۶(۳): ۸۰-۸۹.
- ۹- صادق زاده، ل. سفیدکن، ف. و پ. اولیاء، ۱۳۸۵. بررسی ترکیب و خواص ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*). پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی. ۷۱: ۵۲-۵۶.
- ۱۰- عطایی، ز.، عبدالهی، ح.، نادری پور، س.، و س. محمدی نژاد، ۱۳۸۵. بررسی آزمایشگاهی اثر عصاره گیاهی بومادران، بابونه و ریوند بر فارغ کاندیدا البیکانس و باکتریهای شایع دهانی. مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان ایران. مسلسل ۶۰: ۲۵-۳۱.
- ۱۱- قهرمان، ا. ۱۳۷۲. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ج. ۲. ۱۴۵۰ صفحه.
- ۱۲- فتحی آزاد، ف.، و ف. لطفی پور، ۱۳۸۳. بررسی اثر ضد باکتری دم آسی و بومادران. مجله علوم دارویی. ۱: ۳۷-۴۶.
- ۱۳- نخعی مقدم، م.، رضایی، م.، خواجه کرم الدینی، م.، و ف. ملک زاده، ۱۳۸۵. اثر ضد هلیکوباکتریلوری عصاره های آبی و متانولی زیره سبز و ترخون در شرایط آزمایشگاهی. مجله علوم پایه پزشکی ایران. ۹(۳): ۱۹۳-۲۰۰.
- ۱۴- رنجبریان، پ.، صادقیان، س.، و م. ح. شیرازی، ۱۳۸۳. مطالعه اثر ضد باکتریایی ۴ عصاره دارچین، زیره سیاه، رازیانه و شوید بر روی هلیکوباکتریلوری به روش دیسک دیفیوژن و فلوسیتومتري. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان. ۱۱(۳): ۴۲-۴۷.
- ۱۵- نوری زاده، ع.، میرزاپور، ط.، قاسمی، ک.، رضوی، م. و س. لطفی نوید، ۱۳۸۳. بررسی آثار ضد باکتریایی عصاره های نعناع، شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن بر هلیکوباکتریلوری. دوماهنامه دانشور پزشکی. دانشگاه شاهد. ۵۲(۱۱): ۷۲-۷۷.
- 16- Alcamo, E, 1997. Fundamentals of microbiology. Jones and Bartlett Publisers. 5th edit. P:235-238.
- 17- Blumenthal, M, 1998. The compelet german commission E monographs : therapeutic guide to herbal medicines. Austin: American Botanical Council.
- 18- Connie, R. M. and G. Manuselis, 2000. Text book of microbiology Dig. 2th edit. Chapter16. p:463-468 & p:479-484.
- 19- D'Aoust, J. Y. and U. Purvis, 1998. Isolation on identification of salmonella from foods. MFHPB-20. Health Protection Branch. Ottawa. Cannada.
- 20- Fleming, T, 1998, PDR for herbal medicines. Montvale, NJ: Medicinal Economics Company. Inc.
- 21-Foster, S, 1996, Peppermint: *Mentha pipertia*. American Botanical Council-Botanical Series.306: 3-8.
- 22- Hamilton-Miller, J. M. T, 2004. Antibiotic resistance from tow perspectives : man and microbe. Int. J. Antimicrobi. Agents. 23: 209-212.
- 23- Hoefler, C., Fieurentin, J., Mortier, F., Pelt, J. M. and J. Guillemain, 1987. Coparative choleric and hepatoprotective properties og young sprouts and total plant extracted of *Rosmarinus officinalis* in rats. J.Ethnopharmacol. 19:133-143.
- 24- Mazel, D., and J. Davies, 1999. Antibiotic resistance in microbes. Cell. Mol. Life sci. 56: 742-754.
- 25- Mnimh, P. O, 1995. Complete medicinal herbal. Doring Kindersley. London.pp85.
- 26-Peirce, A, 1999. The American pharmaceutical association practical guide to natural medicines. New York: William Morrow and Company. Inc.
- 27- Perrucci, S., Mancianti, F., Cioni, P.L., Flamini, G. and G. Macchioni, 1994. In vitro anti fungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporium canis* and *Microsporium gypseum*. Planta Med. 60: 184-187.
- 28- Psnizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L. and I. Morelli, 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediteranean Lamiaceae. J.Ethnopharmacol. 39: 167-170.

- 29- Rasooli, I. and M. B. Rezaei, 2002. Bioactivity and chemical properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia*, *J. Essent. Oil Res.* 14: 141-146.
- 30- Thappa, R. K., Ghosh, S. and S. G. Agarwal, 1991. Coparative studies on the major volatiles of kalazira of wild and cultivated sources. *Food Chemistry*. 41: 129-134.
- 31- Threlfal, E. J, 1989. Multiple drug resistant strains of salmonella typhimurium in poultry. *Vet. Res.* 124: 538.
- 32- Van der Waaij, D. and C. E. Nord, 2000. Development and persistence of multi-resistance to antibiotics in bacteria; an analysis and a new approach to this urgent problem. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 16:191-197.
- 33- Vymiathin, Z. K. and V. I. Gridneva, 1997. Effects of Achillea on gastric sceretoty and excretory activity. *EKSP Klin Farmakol*. pp60-122.
- 34- Woo, P. C. Y., To, A. P. C., Lau, S. K. P. and K. Y. Yuen, 2003. Facilitation of horizontal transfer of antimicrobial rasistance by transformation of antibiotic-induced cell wall-deficient bacteria. *Med. Hypoth.* 61 : 503-508.