

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرتوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اش‌ریشیا کلی

دکتر تقی زهرایی صالحی^{۱*}، دکتر مهدی وجگانی^۲، دکتر منصور بیات^۳، دکتر حسن ترشیزی^۴، دکتر افشین آخوندزاده^۵

دریافت مقاله: ۲۰ خردادماه ۱۳۸۳

پذیرش نهایی: ۵ اسفند ماه ۱۳۸۳

Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Extract of *Zataria multiflora*, against the clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli*

Zahraei- Salehi, T.,¹ Vojgani, M.,² Bayat. M.,³ Torshizi, H.,⁴ Akhondzadeh, A.⁵

¹Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran. ²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran.

³Department of Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran. ⁴Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran. ⁵Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran.

Objective: To study the effect of *Zataria multiflora* essential oil on the clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli* isolated from milk of cows with mastitis.

Design: Description study.

Procedure: In this study milk samples from cows affected by mastitis were collected from a farm near Tehran. Using microbiological, biochemical and serological methods, bacteria were isolated, identified and serotyped. The MIC of *Zataria multiflora* essential oil against *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, isolated in this study were evaluated.

Results: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were isolated from 6, 21 and 5 samples respectively. All the isolated strains were more resistant to *Zataria multiflora* essential oil than the standard ones. The MICs of *Zataria multiflora* on isolated strains of *S. aureus* and *Strep. agalactiae* used in this study were 4 and 1.5 times more than the corresponding standard strains.

Conclusion: According to the results of this study, *Zataria multiflora* essential oil had good antibacterial effect on the isolated strains of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*. *J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 60,2:107-110,2005.*

Keywords: *Zataria multiflora*, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*.

Corresponding author's email: zahraei@vetmed.ut.ac.ir

هدف: تحقیق در مورد جایگزینی دارویی مناسب، موثر و باصرفه اقتصادی به جای داروهای متداول در درمان بیماری ورم پستان.

طرح: میدانی و آزمایشگاهی.

مواد و روش کار: در این مطالعه تعداد چهل نمونه شیر از گاوهای مبتلا به ورم پستان متعلق به یکی از دامداری‌های اطراف تهران اخذ شد و بر روی محیط‌های مناسب از جمله ژلوز خوندار و مک‌کانکی کشت گردید. بازمایشات بیوشیمیایی نظیر اکسیداز، کاتالاز، تخمیر قندها و اندل باکتری‌های جدا شده شناسایی و سپس با استفاده از آنتی‌سرم‌های پلی‌والن و منو‌والن سروتیپ بعضی از آنها مشخص گردید. در مرحله بعدی حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس آویشن شیرازی روی استافیلوکوکوس آرتوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اش‌ریشیا کلی جدا شده در مرحله اول تحقیق تعیین گردید.

نتایج: استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استافیلوکوکوس آرتوس و اش‌ریشیا کلی به ترتیب از بیشترین، بیست و یک و پنج نمونه شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان جدا گردید. در مقایسه تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های فوق با سویه‌های استاندارد مشخص گردید که MIC اسانس آویشن شیرازی در باکتری‌های جدا شده بین ۱/۵ تا ۴ برابر بیشتر از سویه‌های استاندارد است.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق اسانس آویشن شیرازی دارای تاثیر ضد باکتریایی مناسبی بر روی باکتری‌ها جدا شده از ورم پستان بویژه استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس آرتوس است. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۲، ۱۱۰-۱۰۷.

واژه‌های کلیدی: آویشن شیرازی، حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)، استافیلوکوکوس آرتوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، اش‌ریشیا کلی.

بهره‌برداری شایسته از گیاهان دارویی و معطر و تهیه داروهای گیاهی به صورت مدرن، ارتقاء جایگاه گیاهان دارویی و معطر و فرآورده‌های ثانویه آنها در صادرات و مصارف صنعتی داخلی نیازمند تحقیقات گسترده‌ای می‌باشد. چرا که با وجود منابع عظیم کشور از لحاظ گیاهان دارویی، به دلیل کمبود امکانات در این زمینه، این گیاهان به صورت خام به کشورهای خارجی صادر گردیده و از عصاره و اسانس آنها داروهای متنوعی ساخته شده و سپس با قیمت بالاتری وارد کشور می‌شود.

لذا با توجه به موارد فوق، به نظر می‌رسد تحقیق روی این گیاهان می‌تواند رهیافت خوبی برای استفاده بهینه از این گیاهان باشد. از طرف دیگر پاسخ‌های درمانی مختلف و در بعضی موارد ضعیف و مایوس کننده آنتی‌بیوتیک‌های متداول در

(۱) گروه میکرو بیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۴) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۵) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

* نویسنده مسؤول: tahraei2000@yahoo.com



استفاده شد. برای تفریق گونه‌های باکتری‌ها از آزمایشات افتراقی متداول در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی استفاده گردید.

۳- **سرو تایپینگ باکتری اشریشیا کلی:** برای سرو تایپینگ اشریشیا کلی‌های جدا شده، ابتدا پرگنه‌های خالص آنها را روی محیط TSI کشت داده و در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد. بعد از خارج نمودن نمونه‌ها از گرمخانه سطح هر کدام از محیط‌های TSI با سرم فیزیولوژی شسته شده و شیرابه به لوله آزمایش استریل منتقل گردید. سپس لوله‌های حاوی شیرابه به مدت یک ساعت در ظرف حاوی آب جوش گذاشته شد. به منظور ثابت کردن آنتی ژنها به شیرابه ۵/ درصد فرمالین اضافه شد. جهت انجام آگلوتیناسیون یک قطره از هر شیرابه به طور جداگانه روی لام قرار داده شد و سپس یک قطره از آنتی سرم (شرکت ولکام) به آن اضافه گردید. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده می‌شد، واکنش مثبت تلقی می‌گردید. در این بررسی شیرابه ابتدا با آنتی سرم‌های چندارزشی (پلی والان) مجاور شد و در صورت بروز واکنش مثبت آزمایش با آنتی سرم‌های تک ارزشی (منو والان) تکرار گردید تا سرو تیپ نهایی مشخص گردد

۴- **تهیه تعلیق باکتریایی:** از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها جهت تهیه تعلیق باکتریایی استفاده شد. به این طریق که ضمن اضافه کردن باکتری به آبگوشت مولر هینتون، کدورت حاصله با کدورت لوله‌های استاندارد نیم مک فارلند برابر شد و به عنوان رقت پایه باکتریایی (بارقت ۲۵۰:۱) در نظر گرفته شد.

۵- **تهیه ترکیب رقیق شده اسانس آویشن:** در بررسی اثرات ضد میکروبی مواد برای رقیق نمودن یک ترکیب باید از ماده‌ای به عنوان امولسیون فایر استفاده شود که علاوه بر همگن کردن فازهای مختلف خاصیت ضد میکروبی نیز نداشته باشد و تعداد باکتری‌ها را تغییر ندهد. حل نشدن اسانس در محیط کشت نیز دلیلی بر استفاده از امولسیون فایر می‌باشد. امولسیون فایر که ضمن همگن کردن فازهای مختلف در نهایت مجموعه را به صورت شفاف در بیور دامولسیون فایر مطلوبی است. که بر همین اساس در این مطالعه ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان ماده امولسیون فایر انتخاب شد و بر اساس آزمایش از رقتی از این ماده استفاده گردید که خاصیت ضد میکروبی نداشته باشد.

۶- **آزمایش حداقل میزان ممانعت کننده اسانس آویشن (MIC):** پس از تهیه سوپانسیون میکروبی بارقت ۲۵۰:۱ از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها و ترکیب رقیق شده اسانس با استفاده از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO)، در ۹ لوله در پیچ دار استریل (به جز لوله شماره ۱۰) به میزان ۱ سی سی از محیط آبگوشت مولر هینتون ریخته شد و در مرحله بعد به میزان ۱ سی سی ترکیب رقیق شده اسانس (۶۳۶/۲ μg/ml) را پس از تکان دادن به لوله شماره ۱ و افزوده و پس از تکان دادن لوله شماره ۲ به میزان ۱ سی سی از محلول این لوله را به لوله شماره ۳ انتقال داده و این روند تا لوله شماره ۹ ادامه یافت و در نهایت ۱ سی سی از محلول لوله شماره ۹ دور ریخته شد. پس از این مرحله به میزان ۱ سی سی سوپانسیون میکروبی بارقت ۱/۲۵۰ مقایسه شده با استاندارد نیم مک فارلند، به لوله‌های ۲ تا آخر افزوده گردید و در لوله‌ها محکم بسته شد و داخل گرمخانه ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید.

عفونت‌های ورم پستان (مانند عفونت ناشی از استافیلوکوکوس آرتوس) و همچنین خسارات ناشی از شیر حاوی آنتی بیوتیک به قدری است که درمان این بیماری را غیر اقتصادی کرده است. از این رو برای درمان رضایت بخش بیماری ورم پستان، لازم است دارویی جایگزین شود که علاوه بر اثرات ضد باکتریایی مناسب علیه عوامل پاتوژن این بیماری و قدرت نفوذ مناسب به بافت پستان، تأثیر سوء روی کیفیت شیر و گوشت از لحاظ باقیمانده دارو نداشته باشد. در سالهای اخیر گیاهان دارویی بومی ایران از نظر جنبه‌های مختلف مورد مطالعه و تحقیق بوسیله محققان قرار گرفته‌اند از جمله خسروی و همکاران در سال ۱۳۸۲ از اسانس گیاه درمنه در درمان درماتوفیتوز سگ و گربه استفاده نموده و اثر آن را با داروهای ضد قارچی مقایسه کرده‌اند که به نتایج مناسبی همراه بوده است.

گیاهان خانواده Labiatae دارای اثرات فارماکولوژیکی مختلف از قبیل خاصیت ضد التهابی، صفر آورو کاهش دهنده فشار خون می‌باشند (۱۶، ۱۵، ۱۴). در این خانواده آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* به طور بومی در نواحی ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید و در طب سنتی ایران به عنوان بی حس کننده، ضد عفونی کننده و شل کننده عضلانی بکار می‌رفته و اسانس آن از تقطیر گیاه با آب به دست آمده و دارای ترکیبات فنلی ضد میکروبی شامل تیمول و کارواکرول می‌باشد (۱۸، ۱۷، ۱۳، ۱۱، ۹). به دلیل اینکه قبل از انتخاب یک ماده به عنوان دارو جهت درمان یک بیماری بایستی ابتدا میزان حساسیت عوامل میکروبی بیماری نسبت به آن ماده در آزمایشگاه بررسی شود. بنابر این در این مقاله به بررسی اثرات آزمایشگاهی اسانس آویشن بر روی باکتری‌های جدا شده از ورم پستان پرداخته شده است.

مواد و روش کار

۱- **نمونه گیری از گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان:** تعداد ۴۰ نمونه شیراز گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی از یکی از دامداری‌های اطراف تهران اخذ شد. بدین ترتیب که بعد از اطمینان از تمیز بودن دست ابتدا سر پستانک‌ها شسته شده و خشک گردید. پس از آماده سازی سر پستانک‌ها، ۷ تا ۱۰ بار با پنبه و الکل، سر پستانک‌ها ضد عفونی شد. جهت خارج کردن باکتری‌های محیطی موجود در مجرا ۴ تا ۶ دوشش اول (پیش دوشش) دور ریخته شد. پس از آن لوله آزمایش را با زاویه ۴۵ درجه نگه داشته تا مستقیماً عمل تخلیه در داخل لوله انجام شود و در هر لوله یکبار دوشش انجام شد (بدون اینکه لوله آزمایش با پستانک تماس پیدا کند). این کار برای همه کارتی‌ها به طور جداگانه انجام شد و سپس مشخصات گاو، پستان روی لوله‌ها نوشته شد. نمونه‌ها در کنار یخ و در دمای ۴ درجه نگهداری شده و ظرف مدت یک ساعت به آزمایشگاه بیمارستان شماره ۱ دانشکده (مردآباد کرج) منتقل گردید.

۲- **جداسازی و تعیین هویت عوامل باکتریایی:** پس از انتقال نمونه‌های گرفته شده به آزمایشگاه با سواپ از نمونه‌ها بر روی محیط‌های متداول و انتخابی نظیر مکانکی (برای باکتری‌های گرم منفی) و آگار خوندار (برای همه باکتری‌ها) و EMB (برای *E.coli*) کشت و پلیت‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. برای تشخیص باکتری‌ها و دیدن شکل باکتری از رنگ آمیزی گرم



جدول ۱- نتایج MIC اسانس استاندارد بیج ۱۰۱. IX آویشن شیرازی روی باکتری های استافیلوکوکوس آرنوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیا کلی جدا شده از شیرگاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان.

باکتری	تعداد نمونه	میانگین MIC ($\mu\text{g}/\text{m}$)	قطر هاله عدم رشد بر حسب میلیمتر
<i>Escherichia coli</i>	۵ نمونه O ₁₁₁	۱۵۹	۳۲
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱ نمونه	۱۵۹	۴۳
	۳ نمونه	۱۱۹	۴۶
	۲ نمونه	۳۲	۴۹
<i>Streptococcus agalactiae</i>	۷ نمونه	۱۵۹	۵۶
	۸ نمونه	۸۰	۵۹
	۶ نمونه	۴۰	۶۲

جدول ۲- نتایج MIC اسانس استاندارد بیج ۱۰۱. IX آویشن شیرازی روی سویه استاندارد و پاتوژن باکتری های مورد مطالعه.

باکتری	سویه های پاتوژن			سویه استاندارد	
	تعداد ($\mu\text{g}/\text{m}$)	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	قطر هاله عدم رشد بر حسب میلیمتر	MIC ($\mu\text{g}/\text{m}$)	قطر هاله عدم رشد بر حسب میلیمتر
<i>Escherichia coli</i>	۵	۱۵۹	۳۲	۸۰	۴۰
<i>Staphylococcus aureus</i>	۶	۱۱۷	۴۵/۵	۱۳۰	۴۵
<i>Streptococcus agalactiae</i>	۲۱	۹۴	۵۹	۵۹	۴۰

است که اختلاف میانگین MIC آن معنی دار است ($P < 0/05$). به عبارت دیگر اثر این اسانس روی این باکتری کم بوده و باکتری مقاوم است. با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن اشریشیا کلی نسبت به اسانس آویشن مقاوم تر از سویه استاندارد است.

نسبت MIC میانگین به MIC سویه استاندارد در مورد باکتری استافیلوکوکوس آرنوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیا کلی به ترتیب ۴، ۲، ۱/۵ برابر بود اما با توجه به قطر هاله عدم رشد، بیشترین قطر مربوط به استرپتوکوکوس آگالاکتیه و کمترین قطر عدم رشد مربوط به اشریشیا کلی بود.

بحث

انتخاب اسانس بیج IX.101 آویشن شیرازی در این مطالعه، بر اساس نتایج بررسی های شرکت باریج اسانس در بخش شناسایی اجزاء اسانس ها در بیج های مختلف آنها بود؛ چراکه در بیج مورد نظر میزان تیمول و کارواکرول (دو جزء اصلی دارای خاصیت ضد میکروبی) نسبت به بقیه بیج های اسانس آویشن شیرازی بیشتر بود. همان طور که قبلاً اشاره شد یکی از معضلات مهم دامداری ها پاسخ های

۷- قرائت MIC: برای قرائت نتایج از سمت لوله شاهد، لوله ها را نگاه کرده و آخرین لوله شفاف به عنوان MIC انتخاب گردید که دلیل بر عدم رشد باکتری در آن لوله است. برای تایید این نتیجه علاوه بر لوله MIC، از یک لوله قبل و یک لوله بعد از آن نیز، بر روی محیط ژل خوندار کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت غلظت لوله ای که یک کلونی یا حداکثر سه کلونی در محیط ایجاد کرده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در این آزمایش لوله شماره یک شاهد منفی (از نظر رشد) است که حاوی یک سی سی سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱/۲۵۰ و یک سی سی ترکیب رقیق شده اسانس آویشن می باشد، که با وجود دارا بودن باکتری، به دلیل حضور اسانس آویشن و نبود محیط کشت شفاف می باشد. لازم به ذکر است جهت اطمینان از نتایج حاصل، آزمایش MIC برای هر نمونه دو بار انجام شد و در هر بار نتایج تقریباً مشابهی به دست آمد.

۸- اندازه گیری قطر هاله عدم رشد: به وسیله سواپ از سوسپانسیون میکروبی (رقت ۱:۲۵۰) معادل شده با محلول استاندارد نیم مک فارلند در محیط کشت آگار مولر هینتون کشت داده شده و میزان ۱۵ میکرولیتر از اسانس روی دیسک خالی به وسیله سرنگ همیلتون تلقیح شد. بعد از ۲۴ ساعت قرار دادن در گرمخانه ۳۷ درجه، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد.

نتایج

الف- باکتری های جدا شده از نمونه شیر: از ۶ نمونه شیر باکتری استافیلوکوکوس آرنوس کوآگولاز مثبت، از ۲۱ نمونه باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه و از ۵ نمونه باکتری اشریشیا کلی جدا شد. در هشت نمونه شیر کشت داده شده باکتری رشد نکرد. برای تفریق استرپتوکوکوس آگالاکتیه از استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه از آزمایش کمپ استفاده شد که در همه موارد این آزمایش مثبت بود. همچنین پس از عمل سرو تایپینگ روی اشریشیا کلی های جدا شده مشخص شد که تمامی آنها سرو تیپ O111 می باشند.

ب- تعیین MIC: پس از قرائت نتایج و انتخاب آخرین لوله شفاف به عنوان MIC نمونه، لوله تعیین رقت شده و قطر هاله عدم رشد نیز اندازه گیری شد که نتایج آن در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. به طور خلاصه از آزمایشات نتایج زیر به دست آمد.

۱- در مورد باکتری استافیلوکوکوس آرنوس؛ MIC سویه پاتوژن چهار برابر MIC سویه استاندارد می باشد و اختلاف میانگین معنی دار است ($P < 0/05$)، با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن نسبت به اسانس مقاوم تر از سویه استاندارد است.

۲- در مورد باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه؛ MIC سویه پاتوژن ۱/۵ برابر MIC سویه استاندارد می باشد و اختلاف میانگین معنی دار است ($P < 0/05$)، با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن نسبت به اسانس مقاوم تر از سویه استاندارد است.

۳- در مورد باکتری اشریشیا کلی؛ MIC سویه پاتوژن ۲ برابر MIC سویه استاندارد بود. به دلیل یکسان بودن عدد MIC سویه های مختلف جدا شده این باکتری، نمی توان انحراف معیار را در مورد این باکتری محاسبه نمود، اما واضح



References

۱. آئینه چی، ی. (۱۳۶۵): مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، صفحه: ۳۲۴.
 ۲. آخوندزاده، ش. (۱۳۷۹): دایره المعارف گیاهان دارویی ایران، پژوهشکده گیاهان دارویی جهادکشاورزی، انتشارات ارجمند، صفحه: ۱۲۹.
 ۳. باباخلو، پ. میرزا، م. سفیدکن، ف. احمدی، ل. براننده، م. عسگری، ف. (۱۳۷۷): تحفیفات گیاهان دارویی و معطر، انتشارات: موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، صفحه: ۱۰۲-۹۲.
 ۴. براتی احمدآبادی، ن. (۱۳۸۲): تعیین MIC اسانس آویشن شیرازی روی آرکانوباکتر پیوژنز و ارزیابی اثرات آن روی آندومتريت. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲۹۰۸، صفحه: ۳۶-۲۸.
 ۵. بلووی، آر. ادمونسون، پی. (۱۳۷۹): کنترل ورم پستان در گله‌های شیری، ترجمه و جگانی - م. قراگزلو - ف. تهران: انتشارات سپهر، صفحه: ۷۰-۱.
 ۶. بنیادیان - م. (۱۳۸۱): تولید پنیر سفید معطر ایرانی با استفاده از عصاره برخی گیاهان سنتی، پایان نامه دکترای تخصصی مواد غذایی، صفحه: ۴۸-۴۹.
 ۷. حاج هاشمی، و. صدراپی، ح. (۱۳۸۰): بررسی اثر ضد اسپاسم اساس آویشن روی انقباضات عضله ایلئوم رت، واحد تحقیق و توسعه شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان (سری ۱۹۵)، صفحه: ۲.
 ۸. خسروی، ع. شیرانی، د. و محمودی، م. (۱۳۸۲): ارزیابی کاربرد اسانس درمنه در درمان حیوانات (سگ و گربه) مبتلا به درماتوفیتوزیس. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۸ (۳) صفحه: ۲۹۳-۲۹۵.
 ۹. زرگری، ع. (۱۳۶۹): گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، جلد چهارم، صفحه: ۴۱-۴۰.
 ۱۰. فره وش، م. کاشانیان، م. دارابی، م. اکبری، ح. (۱۳۸۰): بررسی اثر قطره آویشن در درمان سندرم روده تحریک پذیر (IBS)، واحد تحقیق و توسعه شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان، صفحه: ۲.
 ۱۱. مومنی، ت. (۱۳۷۷): اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آنها، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۱۳-۹.
 12. Alex, O., Sonnen, W. and Leonard, J. (1980): Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagnosis; 8th edition; C.V. Mosby Company, PP: 63.
 13. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L. and Vlietinck, A. J. (2002): Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in Democratic Republic of Congo. J. Ethnopharmacol, 79:213-220.
 14. Cuppett, S. L. and Hall, C. A. (1998): Antioxidant activity of Labiatae. Advance Food Nutrition Research, 42: 245-271.
 15. Hernandez-perez, M., Rabanal, R. M., de la Torre, M. C., Rodriguez, B. (1995): Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and haematologic effect of aethiopione, an O-naphthoquinone diterpenoid from salvia aethiopsis roots and two semisynthetic derivatives. Planta
- مأیوس کننده در استفاده از آنتی بیوتیک‌های متداول در درمان ورم پستان (به ویژه در مورد عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس آرنوس) است؛ که در این مطالعه نتایج به دست آمده در مورد این اسانس نشان دهنده تأثیرات خوب آن روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط Karaman و همکاران در سال ۲۰۰۱ که اثرات ضد میکروبی برخی از گیاهان خانواده Labiatae از قبیل *Thymus revolutus* را بر روی برخی از باکتری‌های گرام مثبت و منفی از جمله استافیلوکوک طلائی، لیستریا منوسیتوزنز، ایشریشیا کلی و یزودوموناس بررسی نموده مطابقت دارد. نتایج مشابهی توسط رسولی در سال ۲۰۰۲ در مطالعه اثر اسانس برخی دیگر از گیاهان خانواده Labiatae همانند *Thymus pubescens* روی استافیلوکوک طلائی و ایشریشیا کلی به دست آمده است (۱۸). همچنین نتایج به دست آمده در شرکت باریج اسانس نشان می‌دهد که داروهای متداول ورم پستان با وجود دارا بودن آنتی بیوتیک‌های گوناگون در شرایط آزمایشگاه روی باکتری ایشریشیا کلی تأثیر نداشته است، اما خواص ضدباکتریایی این اسانس به تنهایی به قدری می‌باشد که حداقل روی این باکتری تأثیر داشته است (۷). البته تعدد نتایج در مورد باکتری استافیلوکوکوس آرنوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه شاید به دلیل اختلاف حدت بین سویه‌های آنها باشد. همچنین شاید بتوان علت آن را چنین بیان کرد که چون باکتری ایشریشیا کلی عامل ورم پستان‌های محیطی در دام است، از این سویه‌های مختلف باکتری در هر دام به طور مستقل و مستقیم از محیط وارد پستان می‌شود. اما باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه عامل ورم پستان‌های واگیردار در دام هستند و انتقال باکتری از دام به دام دیگر صورت می‌گیرد و تعدد سویه در این باکتری‌ها کمتر دیده می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی شرکت باریج اسانس به انجام رسید. لذا نویسنده گان از جناب آقای دکتر دارابی کمال تشکر و قدردانی می‌نماید. همچنین قسمتی از هزینه‌های این طرح توسط قطب علمی بخش میکروبیولوژی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تامین شده است.

Medica, 61:505-509.

16. Hossinzadeh, H., Ramezani, M. and Salmani, G. A. (1998): Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss. extracts in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology, 73: 379-385.
17. Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U. and Ilcim, A. (2001): Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Thymus revolutus* celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 76: 183-186.
18. Rasooli, I. and Mirmostafa, S. A. (2002): Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus sepyllum* essential oils. Fitoterapia, 73:244-250.

