

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی آنغوزه، زنیان و نعنای فلفلی بر
 باکتری های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس حساس و
 مقاوم به متی سیلین، اشریشیاکلی O157H7
 و سالمونلا تیفی موریوم

آسیه امیری^۱، نجمه جمعه پور^{۲*}

(ا) گروه ایمنی و مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران
 (ب) گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۹

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۰

چکیده

مقدمه: افزایش مقاومت دارویی علیه آنتی بیوتیک ها در اکثر باکتری ها منجر به توسعه ترکیب های ضد میکروبی طبیعی شده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر ضد باکتریایی عصاره های هیدروالکلی آنغوزه، زنیان و نعنای فلفلی برسوبه های بیماریزای استاندارد می باشد.

مواد و روش ها: عصاره گیری از گیاهان فوق به روش خیساندن انجام شد. جهت بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاهان فوق بر روی باکتری های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشریشیاکلی O157H7 و سالمونلا تیفی موریوم، از روش های رقیق سازی در چاهک، دیسک دیفیوژن و میکروداپلوشن استفاده گردید.

یافته های پژوهش: حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره های آنغوزه، زنیان و نعنای فلفلی بر استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۳/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و بر استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین به ترتیب ۲۵، ۲۵ و ۳/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره های زنیان و نعنای فلفلی بر اشریشیاکلی O157H7 به ترتیب ۵۰ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد در حالی که عصاره آنغوزه هیچ گونه تاثیری بر روی رشد این باکتری نداشت. هم چنین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره نعنای فلفلی بر سالمونلا تیفی موریوم ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده و در مقایسه با کنترل مثبت استفاده از اسانس ها و عصاره های این گیاهان جهت کنترل رشد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشریشیاکلی O157H7 و سالمونلا تیفی موریوم پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلاتیفی موریوم، اشریشیاکلی O157H7، زنیان، نعنای فلفلی

* نویسنده مسئول: گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران

مقدمه

بهره گیری از گیاهان دارویی طب سنتی یکی از راه های دستیابی به داروهای جدید می باشد (۱). اما جستجوی سیستماتیک مواد موثره این گیاهان بر تمامی بیماری ها امری بسیار طولانی، هزینه بر و محال می باشد. بنا بر این تکیه بر آموزه های بومی یکی از استراتژی های مقبول در دنیا در کشف، کاربرد و تحقیق در مورد گیاهان دارویی است. طب سنتی ایران از پایه های قدیمی علم طب و حاوی اطلاعات گرانبها در به کارگیری گیاهان در درمان می باشد. در بین این گیاهان دارویی می توان به زنیان، نعنای فلفلی و آنغوزه اشاره کرد (۲).

زنیان (*Carom cupticum*) گیاهی علفی، بدون کرک و معطر با ساقه افراشته به ارتفاع ۲۰ الی ۵۰ سانتی متر است (۳). اندام دارویی این گیاه را میوه آن تشکیل می دهد که کوچک، تخم مرغی شکل و زرد رنگ بوده و به صورت خشک و رسیده مصرف می شود (۴). هم چنین مهم ترین ترکیبات شیمیایی آن شامل تیمول (۴۵-۵۵ درصد) (۵)، سیمن، آلفا پینن، دی پنتن، گاما پینن، میرسن و کارواکرول می باشد. در طب سنتی از زنیان به صورت خوراکی به عنوان ضد درد، ضد آسم، ضد تهوع، خلط آور و به صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسم استفاده شده است (۶).

آنغوزه (*Ferula assa-foetida*) دارای بوی تند گوگردی شبیه به بوی سیر متعفن و طعم زننده بوده و گیاهی است دارویی، مرتعی و صنعتی که بسته به نوع گیاه دو نوع آنغوزه تلخ و شیرین از آن برداشت می شود. در طب سنتی تاثیر ضد تشنج، ضد کرم، رفع بیماری های عصبی، اشتها آور، رفع تبلی روده، رفع درد کلیه، تقویت حافظه و ضد روماتیسم برای آنغوزه ذکر شده است (۷، ۸). ترکیبات شیمیایی این گیاه شامل: ۶۲ درصد رزین، ۲۵ درصد صمغ، ۷-۳ درصد اسانس، ۱/۲۸ درصد اسید فرولیک آزاد و به مقدار بسیار جزئی وانیلین می باشد (۹). هم چنین نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L) که در کتب طب سنتی از آن با نام «سوسنبر، سه سنبل یا حاشبری» یاد می شود، گیاه علفی چند ساله ای است که در رده بندی گیاهی از

تیره *Laminacea* راسته *Lamiaceae* و رده *Rosidae* می باشد (۱۰). از خواص دارویی آن می توان به خاصیت ضد اسپاسم، ضد تشنج، پیشگیری کننده از استفراغ، ضد نفخ، ضد باکتری و نیز ضد قارچ اشاره کرد (۱۱). ترکیبات موثره آن شامل ۱ درصد روغن فرار، رزین، فلاوونوئیدها، فنل ها، کاروتن، بتائین و تانن می باشد (۱۲، ۱۳).

امروزه با گسترش روزافزون مقاومت دارویی در بین بسیاری از باکتری ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم توجه بیشتری به یافتن روش های پیشگیری از بروز مقاومت و نیز یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف گردیده است. برای این منظور گیاهان دارویی مورد توجه خاص قرار دارند. از آن جایی که کشور ایران از نظر پوشش و تنوع گیاهی دارای منابع بی نظیری است و طب سنتی ایران نیز یکی از غنی ترین و پر سابقه ترین طب های سنتی دنیا به شمار می رود مطالعه بر روی گیاهان دارویی و بررسی های آزمایشگاهی، بالینی و خصوصیات درمانی آن ها یکی از کارهای مهمی است که در این راستا می توان انجام داد. هدف از این مطالعه نیز بررسی خواص ضد باکتری عصاره های هیدروالکلی گیاهان آنغوزه (صمغ)، زنیان (میوه) و نعنای فلفلی بر سوش های استاندارد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشیریشیاکلی O157H7 و سالمونلا تیفی موریوم می باشد.

مواد و روش ها

تهیه میکروارگانیزم های مورد مطالعه: سوش های استاندارد ۲۹۲۱۳ *Staphylococcus aureus* ATCC: (MRSA) ۳۳۵۹۱ *Staphylococcus aureus* (MSSA) ATCC: ۱۴۰۲۸ *E.coli* ATCC: O157:H7 و ۴۳۸۹۵ *Salmonella typhimurium* ATCC: به صورت لیوفیلیزه از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. به منظور تهیه باکتری از نمونه های لیوفیلیزه، نمونه ها در محیط کشت مایع به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی

گراد کشت داده شدند. بعد از ایجاد کدورت در محیط مایع، نمونه‌ها بر سطح محیط کشت جامد مولر هینتون آگار به منظور اطمینان از خلوص ایزوله شدند.

عصاره گیری هیدروالکلی: به روش خیساندن انجام شد. دانه گیاه زنیان (میوه)، آنگوزه اشکی (صمغ) و نعنای فلفلی از بازار گیاهان دارویی تهیه شدند و توسط کارشناسان مرکز گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یزد مورد تایید قرار گرفتند. سپس توسط ترازوی دیجیتالی به میزان پنجاه گرم توزین شدند. پس از پودر کردن گیاهان بر سطح هر کدام از آن‌ها ۵۰۰ سی سی از حلال (۵۰ درصد اتانول (۹۶ درصد) و ۵۰ درصد آب مقطر) ریخته شد تا کاملاً پودر را بپوشاند. بعد از پوشاندن سر ارلن‌ها با ورقه آلومینیومی به مدت ۷۲ ساعت در محیط تاریک قرار داده شدند، نمونه‌ها در این مدت مرتباً مخلوط گردیدند و سپس توسط کاغذ صافی (واتمن شماره ۴) صاف شدند. حذف حلال توسط دستگاه اواپوراتور انجام گردید. جهت اطمینان از حذف کامل حلال، عصاره‌های باقی مانده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند تا حلال از عصاره به طور کامل خارج گردد. عصاره‌های خالص به دست آمده توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرون فیلتر شده و سپس در ویال‌های استریل جهت انجام آزمایش‌های میکروبی در یخچال نگهداری شدند (۱۴).

تست فعالیت بازدارندگی عصاره‌ها: به منظور به دست آوردن حداقل غلظت مهار (MIC) از پلیت‌های ۹۶ خانه ای استریل و روش برات میکرودايلوشن، طبق پروتکل (CLSI: Clinical laboratory standards institute) استفاده گردید. بر این اساس هر کدام از عصاره‌ها بر روی ۴ سویه باکتری استاندارد شامل: استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، اشریشیاکلی O157 H7 و سالمونلا تیفی موریوم مورد بررسی قرار گرفتند. در این روش ابتدا ۲۰۰ μl از عصاره‌ها با غلظت ۵۰ mg/ml به اولین چاهک و ۱۰۰ μl از محیط مولر هینتون برات (مرک آلمان) به سایر چاهک‌ها اضافه گردید. سپس ۱۰۰ μl از چاهک اول برداشت شده و به چاهک دوم که حاوی ۱۰۰ μl

محیط کشت است اضافه گردید، در ادامه ۱۰۰ μl از چاهک دوم برداشت شد و به چاهک بعدی اضافه گردید و به این ترتیب رقیق سازی تا آخرین رقت مورد نظر انجام شد. در نهایت ۱۰۰ μl از سوسپانسیون باکتریایی معادل (۱/۵×۱۰^۵ cfu/ml) برداشت و به چاهک‌های حاوی محیط کشت و عصاره اضافه گردید و سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. غلظت اولین چاهکی که کدورت در آن مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری توسط آن عصاره در نظر گرفته شد. هم‌چنین چاهک‌هایی که فاقد کدورت بودند در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. محیط کشت به علاوه باکتری به عنوان کنترل منفی و هم‌چنین محیط کشت به علاوه کلرهگزیدین و باکتری به عنوان کنترل مثبت این آزمایش در نظر گرفته شدند.

روش دیسک دیفیوژن آگار: از روش دیسک دیفیوژن نیز برای تعیین حساسیت باکتری‌های مورد نظر نسبت به عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا از تمام سویه‌های باکتریایی سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند (cfu/ml) ۱/۵×۱۰^۸ تهیه گردید و بر سطح محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. دیسک‌های بلانک استریل به مدت ۵ دقیقه در غلظت ۵۰ mg/ml عصاره‌های زنیان، آنگوزه و نعنای فلفلی قرار داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. سپس دیسک‌های تهیه شده با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی سطح آگار قرار گرفتند و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. سپس با اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد در اطراف دیسک‌های حاوی عصاره به وسیله خط کش میلی‌متری نتایج مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت و از دیسک‌های حلال دی‌متیل سولفوکساید به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برای حصول اطمینان این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار گردید و میانگین قطر هاله به عنوان قطر

نهایی ثبت شد.

می تواند با غلظت ۱۲/۵mg/ml از رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم جلوگیری کند. در جدول شماره ۱ نتایج حاصل از این روش آورده شده است. روش دیسک دیفیوژن آگار: نتایج به دست آمده از روش دیسک دیفیوژن نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی نعنای با هاله مهار رشد ۲۵ mm بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین دارای بیشترین هاله مهار رشد در برابر سایر باکتری ها می باشد. عصاره هیدروالکلی زنیان و آنغوزه نیز توانایی مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین را در این روش دارند.

هم چنین هیچ گونه هاله مهار رشدی در مجاورت عصاره هیدروالکلی آنغوزه با غلظت ۵۰ mg/ml در برابر باکتری های اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم دیده نشد در صورتی که عصاره هیدروالکلی زنیان توانسته است از رشد اشیریشیاکلی با تشکیل هاله مهار رشد ۱۰ mm جلوگیری کند. در جدول شماره ۲ نتایج حاصل از این روش آورده شده است.

روش چاهک: نتایج نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی اثر بازدارندگی موثری علیه رشد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم دارد. به ترتیب عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی و آنغوزه با تشکیل هاله مهار رشد ۲۶ mm و ۱۲ mm در برابر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و عصاره زنیان با تشکیل هاله مهار رشد ۱۸ mm در برابر باکتری اشیریشیاکلی بیشترین هاله مهار رشد را در بین باکتری های مورد نظر دارا می باشند. در جدول شماره ۳ نتایج حاصل از این روش آورده شده است.

روش چاهک: در روش چاهک از کشت ۲۴ ساعته هر یک از سویه های باکتریایی سوسپانسیون با کدورت معادل نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ cfu/ml) در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید و سپس با سوآپ پنبه ای استریل به صورت یکنواخت در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. چاهک هایی به قطر ۵ mm و به ضخامت ۴ mm ایجاد شد و سپس از محلول عصاره های مورد نظر که با غلظت ۵۰ mg/ml تهیه شده بود، به هر چاهک مقدار ۱۰۰ μ l (۵mg/well) ریخته شد. محیط های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. سپس قطر هاله مهار رشد توسط خط کش اندازه گیری و ثبت شد. برای اطمینان از نتیجه هر آزمایش سه بار تکرار گردید و میانگین داده های به دست آمده به عنوان قطر هاله مهار رشد در نظر گرفته شد (۱۵).

یافته های پژوهشی

سنجش میزان حداقل غلظت بازدارندگی: نتایج به دست آمده نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی آنغوزه، زنیان و نعنای فلفلی می توانند از رشد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین جلوگیری کنند. عصاره نعنای فلفلی نیز با غلظت ۳/۲۵ mg/ml دارای کمترین غلظت مهارتی در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین می باشد. هم چنین عصاره های هیدروالکلی زنیان و نعنای فلفلی توانایی مهار باکتری اشیریشیاکلی را به ترتیب با غلظت های ۵۰ mg/ml و ۲۵ mg/ml دارا می باشند. در این روش عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی

جدول شماره ۱. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره های نعنای فلفلی، زنیان و آنغوزه بر باکتری های

مورد نظر به روش میکروداپلوشن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر

نوع عصاره نوع باکتری	آنغوزه		
	نعنای فلفلی MIC	زنیان MIC	MIC
MRSA	۳/۲۵	۲۵	۵۰
MSSA	۳/۲۵	۲۵	۲۵
E.coli	۲۵	۵۰	۰
Salmonella typhi murium	۱۲/۵	۰	۰

MIC: Minimum inhibitory concentration, MRSA: Methicillin resistant staphylococcus aureus
MSSA: Methicillin sensitive staphylococcus aureus

جدول شماره ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره های نعنای فلفلی، زنیان و آنغوزه بر باکتری های مورد نظر به روش دیسک دیفیوژن بر حسب میلی متر

نوع عصاره نوع باکتری	نعنای فلفلی	زنیان	آنغوزه
MRSA	۱۴	۰	۰
MSSA	۱۵	۱۰	۰
E.coli	۲۳	۱۳	۰/۸
Salmonella typhi murium	۲۵	۱۴	۰/۹

MSSA: Methicillin sensitive staphylococcus aureus, MRSA: Methicillin resistant staphylococcus aureus

جدول شماره ۳. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره های نعنای فلفلی، زنیان و آنغوزه بر باکتری های مورد نظر به روش چاهک بر حسب میلی متر

نوع عصاره نوع باکتری	آنغوزه	زنیان	نعنای فلفلی
MRSA	۱۲	۱۱	۲۶
MSSA	۷	۹	۲۳
E.coli	۰	۱۸	۲۰
Salmonella typhi murium	۰	۰	۱۳

MSSA: Methicillin sensitive staphylococcus aureus, MRSA: Methicillin resistant staphylococcus aureus

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه عصاره هیدروالکلی نعنای فلفلی نسبت به عصاره های هیدروالکلی آنغوزه و زنیان دارای بیشترین اثر مهارکنندگی بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین، اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم می باشد به طوری که در غلظت ۳/۲۵ mg/ml مانع رشد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین شده است. در مطالعه سینگ و همکاران نیز مشخص گردید که اسانس گیاه نعنای فلفلی اثر بازدارندگی موثری علیه رشد استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین، استرپتوکوک پیوژن، اشیریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب با غلظت های ۱۷/۲، ۱۳/۱، ۵/۱ و ۱۲/۴ µg/ml از خود نشان می دهد (۱۶). هم چنین نقی پور و همکاران به بررسی اثر عصاره متانولی و آبی گیاه نعنای فلفلی، رزماری و اسطوخودوس بر باکتری های اشیریشیاکلی و باسیلوس سرئوس پرداخته اند. نتایج به دست آمده از این پژوهش حاکی از آن است که عصاره متانولی نعنای فلفلی در غلظت ۱۰۰ µg/ml توانایی کاهش ۱/۱۷

سیکل لگاریتمی باکتری اشیریشیاکلی را داشته و افزایش غلظت هر یک از عصاره ها سبب افزایش اثر ضد باکتریایی آن ها و کاهش سیکل لگاریتمی باکتری های مطالعه شده است (۱۷). نتایج نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی زنیان به ترتیب بیشترین اثر مهارکنندگی را بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و اشیریشیاکلی O157H7 دارد ولی توانایی مهار رشد سالمونلا تیفی موریوم را در این غلظت نداشته است. پاندی و همکاران اثر ضد باکتریایی اسانس *carum copticum* (زنیان) را بر باکتری های *Streptococcus haemolyticus*، *Corynebacterium diphtheria aureus*، *Klebsiella proteus vulgaris* و *Escherichia coli* ثابت کردند و گزارش نمودند که اسانس زنیان به ترتیب دارای هاله مهار رشد ۱۰ mm و ۱۱ mm بر سطح باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی می باشد که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد (۱۸).

آنغوزه بر سوش های استرپتوکوک پیوژنز و استرپتوکوک پنومونیه را گزارش کرده اند (۲۱). تاکنون به تاثیر عصاره هیدروالکلی آنغوره بر باکتری های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم اشاره ای در مطالعات نشده است. در مطالعات بسیاری متابولیت های ثانویه گیاهی مورد بررسی قرار گرفته اند و مشخص شده است که اغلب اسانس ها و عصاره های استخراج شده از گیاهان دارای خواص حشره کشی، ضد قارچی، ضد انگل، ضد باکتری، ضد ویروس، آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیک می باشند. بنا بر این اسانس ها و عصاره های گیاهی می توانند در زمینه های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی، فیتوپاتولوژی و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار بگیرند (۲۲). امروزه به علت اثرات سوء استفاده از مواد شیمیایی و ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی به دلیل استفاده نادرست از آنتی بیوتیک ها، جایگزینی این مواد با مواد طبیعی از قبیل اسانس ها و عصاره های گیاهی از جمله گیاهان مورد بررسی در این مطالعه جهت کنترل و پیشگیری از بیماری ها پیشنهاد می گردد.

References

1. Kermanshah H, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinegad M, Karimi M, Ameli F. [In vitro evaluation of antibacterial carum copticum and Salvia officinalis extract against cariogenic microorganisms]. J Islam Dent Asso Iran 2011; 23:10-14. (Persian)
2. Fabricant D, Farnsworth N. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environ Health Perspect 2001; 1:69-75.
3. Kazemi R, Behravan J, Ramezani R. [Chemical composition antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of Carum copticum from Iran]. Avi J Phytomed 2011; 1:83-90. (Persian)
4. Ross I. Medicinal plants of the world: Chemical Constituents, traditional and modern medicinal uses. Human Press Inc 2007; 3:223-34.
5. Tucker A. The Encyclopedia of Herbs: A comprehensive reference to herbs of flavor and fragrance. Timber Press 2009; 32:236-7.

بررسی های حقیرالسادات و همکاران در استان یزد نیز نشان می دهد که گیاه زنیان بومی استان یزد دارای مواد ارزشمند دارویی و صنعتی می باشد که مهم ترین و عمده ترین آن ها ماده ارزشمند تیمول با درصد بسیار بالایی نسبت به مطالعات پیشین بر روی دیگر مناطق ایران و جهان می باشد. هم چنین گزارش نمودند که با توجه به اشتراک موادی مانند کارواکرول و گاماسیمن در اسانس فرار و عصاره هیدروالکلی زنیان می توان این دو ماده را به عنوان عوامل احتمالی بروز اثر ضد باکتریایی این گیاه برشمرد (۱۹).

بررسی ها نشان می دهد که عصاره هیدروالکلی آنغوزه در بین سایر عصاره های مورد مطالعه کمترین توانایی مهار رشد باکتری ها را دارد. عصاره هیدروالکلی آنغوزه در غلظت ۵۰ mg/ml از رشد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی سیلین جلوگیری کرده اما بر رشد باکتری های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم موثر نمی باشد. اثرات ضد باکتریایی آنغوزه در برخی از مطالعات بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین بیان شده است (۲۰). اوناشو و همکاران نیز اثر ضد میکروبی رزین

6. Oroojalian F, Kermanshahi K, Azizi M, Basami M. [Synergistic antibacterial activity of the essential oils from three medicinal plants against some important food-borne pathogens by microdilution method]. Iranian J Med Arom Plant 2010; 26:30-2. (Persian)
7. Zare karizi A, Fallahhoseini H, Yazdani D, Rezazade SH, Irvani N, Oladzade A. [A review of the pharmacological effects of medicinal plants Ferula assa - foetida L]. J Med Plant 2012; 10:67-9. (Persian)
8. Khajeh M, Bahramifar N, Sefidkon F, Pirmoradei MR. [Comparison of essential oils compositions of Ferula assa-foetida obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods]. Food Chem 2005; 91:639-44. (Persian)
9. Bandyopadhyay D, Chatterjee A, Lai TK, Banerji A, Banerji J, Neuman A, et al. Saradaferin, a new sesquiterpenoid coumarin from Ferula assa foetida. Nat Prod Res 2006; 20:961-5.

10. Alvandi K, Aghazadeh Meshghi M. Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. *Patobiology*2010; 7: 355-64.
11. Mehraban R, Hadad M. [Effect of essential oil and extract of *Ziziphora clinopodioides* on yoghurt starter culture activity]. *J Food Sci Technol*2006; 4:47-52. (Persian)
12. Hoffmann BG, Lunder LT. Flavonoids from mentha piperita leaves. *Plant Med* 1984; 51:231-7.
13. Krishnaswamy K. Traditional Indian spices and their health significance. *Asia Pac J Clin Nut*2008; 17:265-8.
14. Hossain MA, Al-Hdhrani SS, Weli AM, Al-Riyami Q, Al-Sabahi JN. Isolation, fractionation and identification of chemical constituents from the leaves crude extracts of *Mentha piperita* L grown in Sultanate of Oman. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. 2014; 4: 368-369.
15. Naseri M, Kamali N, Bazargan M. [Extract and essential oil composition and antibacterial effects of small Thyme]. *Daneshvar J* 2007;14:15-22.(Persian)
16. Singh R, Shushni MA, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian J Chem* 2011; 23: 22-5.
17. Sahraeian B, Tabatabaei yazdi F. [Effects of aqueous and methanol extracts of peppermint, rosemary and lavender On the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*]. *J Inn Food Sci Technol*2012; 4: 15-8. (Persian)
18. Singh G, Pandey SK, Singh W, Singh RK. Studies on essential oil part 10 antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytotherap Res*2002; 16: 680-2.
19. Haghrosadat BF, Azimzadeh M, Kalantar S, Bernard F, Hokmollahi F. [Chemical assessment of active ingredients and anti-oxidant effects of *Trachyspermum copticum* seeds harvested in Yazd Province]. *J Rafsanjan Uni Med Sci*2012; 11:207-9.(Persian)
20. Ray AB, Singh UP. Medicinalis properties of plants anti fungal antibacterial and antiviral activities India. *Int Distrib*2004;1:131-5.
21. Unasho A, Melaku A, Debela A, Mekasha A, Girma S, Kebede T, Fantaw S, Asaminew N. Investigation of antibacterial activities of *Albizia gummifera* and *Ferula communis* on *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. *Ethiop Med J*2009; 47: 25-32.
22. Kotzé M, Eloff J. Extraction of antibacterial compound from *Combretum microphyllum* Combretaceae. *South Af J Botan*2002; 3:62-7.

◆ **Evaluation the Effect of Anti bacterial of *Ferula assa-foetida* L, *Carum copticum*, *Mentha piperita* L Hydroalcoholic Extract on Standard Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157H7 and *Salmonella typhimurium***

Amiri A¹, Jomehpour N²

(Received: March 1, 2015

Accepted: August 31, 2015)

Abstract

Introduction: Increasing drug resistance against different antibiotics in most bacteria the cause is increased interest in the development of natural antimicrobial compound. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effect of ethanol extracts of *Ferula assafoetida*, *Carum copticum* and *Mentha piperita* strains on standard pathogenic bacteria.

Materials & methods: Plant extract was performed by maceration method. Well diffusion, disk diffusion and microdilution method was used to determining the minimum inhibitory concentration (MIC) each of the extracts against four species of bacteria, including methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157: H7 and *salmonella typhimurium*.

Finding: The minimum inhibitory concentrations of *Ferula assa foetida*,

Carum copticum and *Mentha piperita* extract for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was 50, 25, 3.25 mg/ml respectively and for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* was 25, 25, 3.25 mg/ml. The minimum inhibitory concentration of *Carum copticum* and peppermint on *E.coli* O157:H7 was 50, 25 mg/ml while *ferula assa foetida* had no effect. The minimum inhibitory concentration of *Mentha piperita* on *Salmonella typhimurium* was 12.5 mg/ml.

Discussion & Conclusions: Therefore, according to the results, natural compounds such as essential oils and plant extracts recommended to Control disease.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *E.coli* O157 H7, *Carum copticum*, *Mentha piperita*

1. Dept of Health, Faculty of Health, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2. Dept of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran

*Corresponding auther Email: njomehpour@yahoo.com.