

اثرات ضد باکتریایی اسانس رزماری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به

متی‌سیلین جدا شده از بیماران و مواد غذایی

محمد مهدی سلطان دلال^۱، مسعود قربانزاده مشگانی^۲، محمد حسین یزدی^۳، سولماز آقا امیری^۴، گلناز مبصری^۵، ترانه پیمان‌ه عابدی محتسب^۶، فرزانه امین هراتی^۷

۱- استاد، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (مؤلف مسؤول)
تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۹۷۱ soltanirad34@yahoo.com

۲- مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (مؤلف مسؤول)

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

۴- کارشناس ارشد میکروب شناسی، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- کارشناس میکروب شناسی، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) به یک معضل بزرگ در درمان بیماری‌ها تبدیل شده‌اند. این سویه‌ها با ساکن شدن در بینی به شدت موجب افزایش عفونت‌های بیمارستانی و مرگ و میر بیماران می‌شوند. رزماری یک گونه گیاهی است که به طور گسترده در سراسر جهان برای مصارف درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، شناخت خواص ضد میکروبی اسانس رزماری بر روی سویه‌های MRSA جدا شده از بیماران و مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

روش بررسی: ۲۰۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس شامل ۱۰۰ سویه جدا شده از بیماران و ۱۰۰ سویه جدا شده از مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت. ۲۸ سویه مقاوم به متی‌سیلین و سویه‌های مقاوم نسبت به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) از بین این تعداد جداسازی شد. اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری توسط روشهای انتشار دیسک و رقت سازی در لوله، مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته‌ها:** سویه‌های MRSA جدا شده به ترتیب ۲۵٪ و ۶۰٪ از سویه‌های غذایی و بالینی بودند. نتایج بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر روی سویه‌های غذایی و بالینی یکسان بود و قطر هاله عدم رشد آنها در حدود ۲۰ میلی‌متر مشاهده شد. حداقل غلظت مهار کننده و کشنده رشد به ترتیب ۱/۴۰ و ۲/۸۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به مقاوم شدن باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها شده که لزوم به کارگیری ترکیبات جدید با خواص ضد میکروبی را نشان می‌دهد. با توجه به افزایش روز افزون عفونت‌های MRSA و اثرات ناشی از آنها در بیماران و نتایج اثر بخش اسانس رزماری بر روی این سویه‌ها پیشنهاد می‌شود تا از این ترکیب به عنوان درمان عفونت‌های MRSA استفاده شود.

کلید واژه‌ها: رزماری، اثرات ضد میکروبی، MRSA

وصول مقاله: ۸۹/۹/۱۰ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۱۰/۲۹ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۱/۱۰

مقدمه

می‌کنند. اگر چه تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید روز به روز افزایش می‌یابد اما مقاوم شدن باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به یک مشکل بزرگ جهانی تبدیل شده

بیماری‌های عفونی هنوز نقش مهمی را در بیماری و مرگ، به خصوص در کشورهای در حال توسعه ایفا

شیمیایی معرفی گردیده‌اند (۷ و ۶). اسانس رزماری از ترکیباتی است که خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن در بسیاری از موارد به اثبات رسیده است و ترکیبات ضد میکروبی همانند ترکیبات فنولی به وفور در آن یافت می‌شود. از اسانس رزماری در لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود (۸).

در این تحقیق اثر ضد میکروبی اسانس رزماری با کمک روشهای دیسک دیفیوژن Disk Diffusion، رقت سازی در برات و رقت سازی در آگار به صورت همزمان بر روی استافیلوکوکهای مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک که از عفونت‌های انسانی و مواد غذایی جدا شده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

در یک مطالعه توصیفی، از بین ۲۰۰ سویه جدا شده از مواد غذایی و بیماران پس از ارزیابی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها، ۸ سویه غذایی (F) و ۲۰ سویه بالینی (C) مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها جداسازی شد که علاوه بر مقاومت به متی‌سیلین در برابر چند آنتی‌بیوتیک دیگر نیز مقاومت نشان دادند. یک سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 نیز مورد استفاده قرار گرفت.

آماده سازی اسانس

اسانس رزماری به صورت استاندارد از شرکت باریج اسانس کاشان خریداری شد. از آنجا که اسانس‌ها در محیط‌های کشت نامحلول هستند، به یک امولسیفایر که اسانس را بدون داشتن اثرات ضد میکروبی چشم‌گیر در خود حل کند نیاز است. از این رو از ماده دی‌متیل سولفواکساید DMSO به عنوان حلال استفاده شد (۹). و به نسبت ۱ به ۲۰ با کمک این حلال محلول اولیه آماده

است. استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل مهم ایجادکننده عفونت‌های انسانی در جوامع و بیمارستانها به شمار می‌رود (۱).

از طرف دیگر استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌هایی است که از طریق مواد غذایی به سرعت ایجاد بیماری می‌کند (۲). مسمومیت غذایی استافیلوکوکی، بیشترین موارد مسمومیت‌های غذایی باکتریال را شامل می‌شود. طبق گزارشات، ۴۰-۱۴٪ از همه موارد بیماری‌های منتقله از راه غذا را به این باکتری نسبت می‌دهند (۳). در سال ۱۹۵۹ متی‌سیلین به عنوان اولین نسل از پنی‌سیلین‌های نیمه سنتتیک برای درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین معرفی شد. ولی دو سال بعد اولین سویه مقاوم به متی‌سیلین گزارش شد و خیلی زود اپیدمی بیمارستانی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین گزارش شد (۴ و ۵). با توجه به گسترش سریع مقاومت باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید خصوصاً آگراسیلین و متی‌سیلین یک مشکل حاد در درمان را به وجود آورده است. که در اکثر موارد به صورت مقاومت در برابر چندین دارو (MDR) بروز می‌کند که به شدت روش درمان را محدود می‌سازد (۶ و ۷).

استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان عفونت‌ها یک روش قدیمی در قسمت‌های گسترده‌ای از جهان به خصوص کشورهای توسعه یافته است. توجه به گیاهان دارویی با خواص میکروبی می‌تواند مشکلات رایج در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را احیا کند. اسانس‌های گیاهان به عنوان عوامل مهم ضد میکروبی طبیعی گزارش شده‌اند. از جمله، اسانس رزماری به عنوان منبعی از اسانس‌های ضد میکروبی با ترکیبات مشخص

گردید.

دیسک دیفیوژن

و پس از مخلوط کردن به لوله دوم و از لوله دوم به لوله سوم و بدین ترتیب تا آخر اضافه شد. به هر کدام از لوله‌ها به جز لوله شماره ۱۰ که به عنوان کنترل آلودگی مورد استفاده قرار گرفت میزان ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شده و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. آخرین لوله‌ای که از رشد باکتری پس از گرمخانه گذاری جلوگیری کرده است به عنوان MIC در نظر گرفته می‌شد و برای بررسی میزان MBC از تمام لوله‌های شفاف و فاقد رشد میکروبی ۱۰ میکرو لیتر به محیط مولر هیتون آگار منتقل گردید و پس از ۲۴ ساعت آخرین رقتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده نشان داده می‌شد (۱۰).

انجام تکنیک Agar Dilution

برای تعیین میزان MIC در محیط جامد ابتدا محیط مولر هیتون آگار را در حجم‌های مشخص و قبل از اتوکلاو درون ارلن‌های جداگانه تقسیم کرده و پس از اتوکلاو و رسیدن به دمای ۴۵ درجه به آنها حجم‌های مشخصی از اسانس را اضافه کرده تا رقت مورد نیاز بدست آمد. پس از پخش کردن و بسته شدن محیط‌ها از سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند ۱۰ میکرولیتر را به محیط انتقال داده و محیط‌ها انکوبه شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت کمترین رقتی که توانسته از تشکیل کلنی در محیط جامد جلوگیری کند به عنوان MIC در نظر گرفته شد. از محیط کشت حاوی DMSO به عنوان کنترل استفاده گردید (۱۱).

یافته‌ها

همانطور که در جداول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، ۸ سویه جدا شده از مواد غذایی علاوه بر مقاوم بودن به

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره شانزدهم / بهار ۱۳۹۰

برای بررسی میزان هاله عدم رشد اسانس بر روی باکتری‌ها، بدین ترتیب عمل شد که ابتدا ۳ تا ۵ کلنی ۲۴ ساعته باکتری به ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل منتقل شده و سوسپانسونی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و توسط سواپ استریل بر روی پلیت حاوی مولر هیتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. دیسک‌های کاغذی به قطر ۶ میلی‌متر در کنار شعله و توسط پنس استریل بر روی محیط قرار داده شده و ۱۵ میکرولیتر از محلول آماده شده اسانس به آن اضافه گردید و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و پس از آن هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد (۱۰). برای تمام نمونه‌ها دیسک کاغذی حاوی ۱۵ میکرولیتر DMSO به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تهیه شده از شرکت Mast، شامل: سفتریاکسون، تتراساکلین، اگزاسیلین، کوتریموکسازول، کلیندامایسین، اریترومایسین، سیپروفلوکساسین و پنی‌سیلین را به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی‌متر از یکدیگر، بر روی محیط مزبور قرار داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از خط کش، هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و با استانداردهای جهانی (CLSI) مقایسه شد.

اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکننده از رشد و حداقل غلظت کشنده

با کمک تکنیک رقت سازی در لوله میزان MIC و MBC اسانس‌ها بدین ترتیب بدست آمد که ۱۰ لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر از محیط مولر هیتون برآت آماده شده، به لوله اول ۱ میلی‌لیتر از محلول آماده شده اسانس اضافه

متی‌سیلین به چندین آنتی‌بیوتیک دیگر مقاومت نشان دادند. ۱۰ مورد از نمونه‌های بالینی علاوه بر مقاومت نسبت به متی‌سیلین به صورت MDR نیز بودند که از ۱C تا ۱۰C در جدول ۱ الگوی مقاومت آنها مشخص شده است و ۱۰ سویه دیگر فقط MRSA بودند.

جدول ۱: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس‌های غذایی

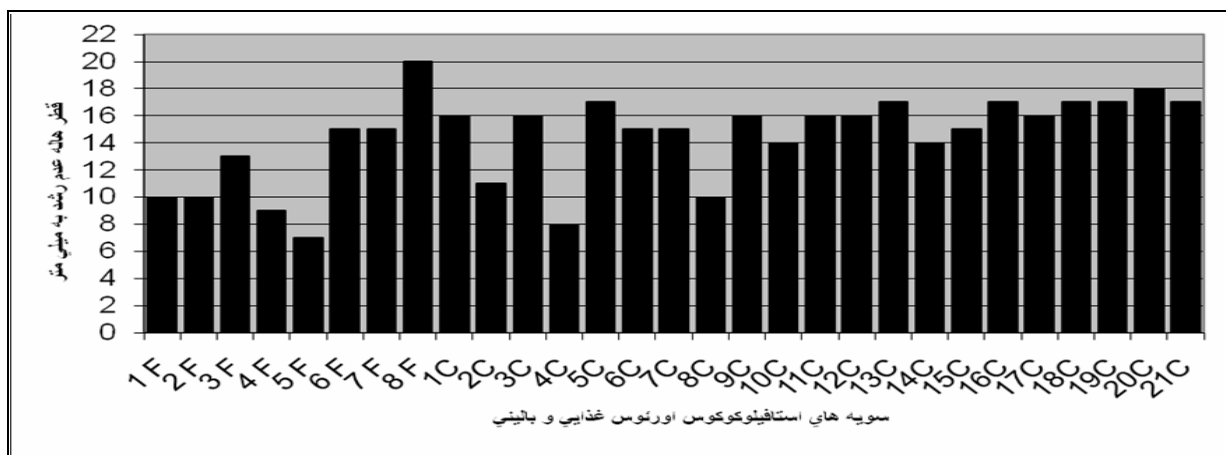
مقاومت دارویی	باکتری
سفتریاکسون، تتراسایکلین	F۱
سفتریاکسون	F۲
اگزاسیلین، سفتریاکسون، تتراسایکلین	F۳
اگزاسیلین، سفتریاکسون، تتراسایکلین	F۴
کو‌تریموکسازول	F۵
کلیندامایسین، اریترومایسین، تتراسایکلین	F۶
کلیندامایسین، اریترومایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین	F۷
سیپروفلوکساسین	F۸

جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس بالینی

مقاومت دارویی	باکتری
اگزاسیلین، پنی‌سیلین	C۱
اگزاسیلین، پنی‌سیلین	C۲
اگزاسیلین، پنی‌سیلین، سفتریاکسون، تتراسایکلین	C۳
اگزاسیلین، پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون، تتراسایکلین، کلیندامایسین، اریترومایسین	C۴
اگزاسیلین، پنی‌سیلین، سفتریاکسون، کلیندامایسین، اریترومایسین	C۵
اگزاسیلین، پنی‌سیلین	C۶
اگزاسیلین، سفتریاکسون، تتراسایکلین	C۷
اگزاسیلین، پنی‌سیلین	C۸
اگزاسیلین، پنی‌سیلین، کلیندامایسین، اریترومایسین	C۹
اگزاسیلین، پنی‌سیلین	C۱۰

مربوط به سویه F8 بود. پراکنندگی قطر هاله ایجاد شده در بین سویه‌های غذایی و بالینی یکسان به نظر می‌رسد که نتایج آن در نمودار ۱ مشاهده می‌شود. سویه استاندارد C21 با ایجاد هاله‌ای به قطر ۱۷ میلی‌متر تفاوتی از لحاظ حساسیت، با سایر سویه‌ها نداشته است.

پس از جدا سازی سویه‌های مقاوم و بررسی هاله عدم رشد اسانس رزماری بر روی آنها مشخص شد که این اسانس توانایی ایجاد هاله‌ای به قطر ۷ تا ۲۰ میلی‌متر را بر روی سویه‌ها دارا می‌باشد کمترین هاله ایجاد شده مربوط به سویه غذایی F6 و بزرگ‌ترین هاله ایجاد شده



نمودار ۱: بررسی هاله عدم رشد اسانس رزماری بر روی استافیلوکوک‌های بالینی C و غذایی F

سویه‌ها بسیار متغییر بوده و از ۱/۴۰ تا ۲۲/۵۵ میلی گرم در میلی لیتر در سویه‌های مختلف تفاوت نشان داده است. و میزان MBC اندازه‌گیری شده بین ۱ تا ۳ رقت بیشتر از میزان MIC بدست آمده است.

نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارنده رشد در محیط مایع و جامد و حداقل غلظت کشنده رشد برای سویه‌های غذایی و بالینی در جداول ۳ و ۴ نشان می‌دهد که MIC بدست آمده از اسانس رزماری بر روی

جدول ۳. تعیین میزان حداقل غلظت مهارکننده رشد MIC حداقل غلظت کشنده رشد MBC در محیط مایع و MIC در محیط جامد اسانس رزماری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس‌های بالینی

Agar dilution (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	باکتری
-	۵/۶۱	۲/۸۱	۱C
-	۵/۶۱	۵/۶۳	۲C
-	۲/۸۱	۲/۸۱	۳C
۵/۶۳	-	۲۲/۵۵	۴C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۵C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۶C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۷C
-	۲۲/۵۵	۵/۶۳	۸C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۹C
-	۲۲/۵۵	۲/۸۱	۱۰C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۱C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۲C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۳C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۴C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۵C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۶C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۷C

-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۸C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۱۹C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۲۰C
-	۵/۶۳	۲/۸۱	۲۱C
C21	۵/۶۳	۲/۸۱	
قابل اندازه گیری			C سویه های بالینی
ATCC 25923 سویه استاندارد			

جدول ۴: تعیین میزان حداقل غلظت مهارکننده رشد MIC حداقل غلظت کشنده رشد MBC در محیط مایع و MIC در محیط جامد سانس رزماری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس های غذایی

Agar dilution (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	باکتری
۵/۶۳	-	۱۱/۲۷	۱F
۵/۶۳	-	۱۱/۲۷	۲F
۵/۶۳	-	۵/۶۳	۳F
۵/۶۳	-	۱۱/۲۷	۴F
۵/۶۳	-	۲۲/۵۵	۵F
۵/۶۳	۵/۶۳	۲/۸۱	۶F
۵/۶۳	۵/۶۳	۲/۸۱	۷F
۵/۶۳	۵/۶۳	۱/۴۰	۸F
-: غیر قابل اندازه گیری			F: سویه های غذایی

استفاده قرار می گرفته اند به عنوان یک انتخاب مناسب برای این نوع تحقیقات به شمار می روند. اسانس های گیاهی با اثرات ضد میکروبی بر روی طیف گستره ای از ارگانسیم ها و همچنین قابلیت مصارف غذایی آنها در برخی موارد و کمتر بودن اثرات جانبی آنها نسبت به آنتی بیوتیک های رایج می توانند در برخی موارد جایگزین آنتی بیوتیک ها شوند (۹).

در راستای بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهی، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری که در مصارف غذایی و آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار می گیرد، بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که هم ایجادکننده مسمومیت های غذایی است و هم یکی از باکتری های مهم در ایجاد عفونت هاست مورد ارزیابی قرار گرفت. به دلیل اهمیت مقاومت های

نتایج ثبت شده از بررسی ها تفاوت قابل ملاحظه ای را در حساسیت یا مقاومت به اسانس، بین سویه های غذایی و بالینی نشان نمی دهد. تفاوت سویه C21 که یک سویه استاندارد بالینی و مقاوم به متی سیلین بود نیز با سویه های جداسازی شده چشم گیر نبود. از آنجا که اسانس ها فرار هستند نتایج بدست آمده در محیط جامد در برخی موارد غیر قابل اندازه گیری بود.

بحث

هر روزه مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها بیشتر می شود. تحقیق در مورد کشف مواد جدید با خواص ضد میکروبی قوی تر همپای افزایش مقاومت در باکتری ها رو به گسترش است و از آنجا که اسانس ها و عصاره های گیاهی از دیر باز در درمان بیماری ها مورد

و آبی عصاره رزماری بر روی استرپتوکوکوس سوبرینوس میزان MIC این ترکیب را ۱/۴۲ میلی گرم در میلی لیتر بدست آورد (۱۲).

اثر ضد میکروبی اسانس رزماری بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی‌ها گزارش شده است. اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی و اسانس رزماری بر اساس مکان برداشت و فصل جمع آوری قابل تغییر است. اثرات ضد میکروبی این اسانس بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اپیدرمیدیس، پروتئوس وولگاریس، سودوموناس آئروجینوزا، کلبسیلا پنومونیه، انتروکوکوس فکالیس، اشرشیا کلی، کاندیدا آلیکنس و باسیلوس سوبتیلیس به اثبات رسیده است (۱۴ و ۱۳ و ۵). وجود برخی تفاوتها در میزان اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه و تحقیقات مشابه می‌تواند به دلیل تفاوت مکانهای رشدی گیاهان تولیدکننده اسانس‌ها، استفاده از روشهای مختلف برای استخراج و ... باشد. تفاوت در اثرات ضد میکروبی نشان دهنده تفاوت‌های موجود در ترکیبات اسانس‌ها می‌باشد (۱۵ و ۸ و ۵).

نتیجه‌گیری

در حال حاضر یکی از عمده مشکلاتی که در درمان عفونت‌ها و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد، ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی است که توجه خاصی را برای درمان می‌طلبد و از آنجا که اثرات ضد باکتریایی اسانس رزماری در تحقیقات مختلف بر روی گونه‌های متعددی از باکتری‌ها به اثبات رسیده است، استفاده از آن در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های مقاوم توصیه می‌گردد.

استافیلوکوکی به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین، این بررسی بر روی باکتری‌هایی انجام شد که به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان داده بودند. باکتری‌های MRAS اکثراً به چندین آنتی‌بیوتیک مقاوم می‌شوند و به سویه‌های دارای چندین مقاومت دارویی MDR تبدیل می‌گردند که در این موارد انتخاب یک آنتی‌بیوتیک مناسب برای مقابله با این نوع عفونت‌ها کار بسیار مشکلی خواهد بود.

این مطالعه بر روی ۲۱ سویه کلینیکی، ۸ سویه غذایی و یک سویه استافیلوکوکوس استاندارد به طور همزمان انجام گرفت.

بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که هاله عدم رشد اسانس رزماری بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بین ۷ تا ۲۰ میلی‌متر بود و میزان MIC بدست آمده بین ۱/۴۰-۲۲/۵۵ mg/ml قابل اندازه‌گیری بود. در تحقیقی که Yujie Fu در سال ۲۰۰۷ انجام داد، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر روی باکتری‌های مختلف بررسی کرده و نشان داد که میزان هاله عدم رشد این اسانس بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۱۸ میلی‌متر و میزان MIC آن ۰/۱۲۵ وزن به وزن است (۱۰). در مطالعه دیگر Aziza Kamal GENENA اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس نشان داد (۱۱). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر روی باکتری‌ها و قارچ‌ها نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی مؤثر این اسانس می‌باشد. Yujie Fu و همکاران نشان دادند که میزان MIC اسانس رزماری بر روی پروپیونی باکتریوم آکنه برابر با ۰/۵۶ میلی گرم در میلی لیتر می‌باشد (۱۰). Tsai و همکاران با بررسی اثرات اتانولی

تشکر و قدردانی

بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به خاطر زحمات بی‌دریغ ایشان در تمامی مراحل و کارخانه باریج اسانس کاشان جهت فراهم نمودن استانداردها، کمال تشکر را داشته باشیم.

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرار داد ۸۲۶۰ مورخ ۱۳۸۸/۸/۲۷ می‌باشد. همچنین بر خود لازم می‌دانیم از کارکنان محترم بخش میکروب شناسی دانشکده

References

1. Gutierrez J, Bourke P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiology* 2009; 26: 142-150.
2. Hammerl KA, 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 1999; 86: 985-990.
3. Manfreda, G., Mioni, R., and Cesare, A., 2005. Surveillance and characterization of enterotoxigenic Staphylococci in foods of animal origin collected in the Veneto region. *Veterinary Research Communication* 2005;29: 331-333.
4. Yesil O, Celiktas EE, Bedir BF, Vardar H, Sukan D, Ozek Q. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* 2007; 100: 553-559.
5. Matkowski, A. Plant in vitro culture for the production of antioxidants - A review. *Biotechnology Advances* 2008; 26: 548-560.
6. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 446-475.
7. Tiwari RP, SKB, Kaur HD, Dikshit R, Hoondal GS. 2006. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. 2006; *Indian J Med Res* 122: 180-186.
8. Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 2009; 16: 97-110.
9. Geoffrey A, McKay SB, Francis F, Arhin T, Adam K, Belley G, and et al. Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against staphylococcus aureus, enterococcus faecalis and enterococcus faecium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009; 63: 1191-1199.
10. Fu Y, Zu Y, Chen LY, Shi XG, Wang Z, Sun S, Efferth T. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination, *Phytotherapy Research* 2007; 21: 989-994.
11. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International* 2006;39: 639-644.
12. Tsai PJ, Tsai TH, Ho SC. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chemistry* 2007; 105: 311-316.
13. Giorgio S, Pintore MU, Pascale B, Bradesi K, Claudia Y, Juliano N, and et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavor and Fragrance Journal* 1997; 17: 15-19.
14. Gislene GF, Nascimento D, Juliana L, Locatelli G, Paulo C, Freitas GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antimicrobial resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* 2007; 31: 247-256.
15. Saleh Abu-Lafi IO, Hasan K, Dewik T, Mohammed F, Qabajah LO, Hanus E. Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian *Majorana syriaca*. *Bioresource Technology* 2008; 99: 3914-3918.