Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳، ۸۸-۷۹

تاثیر ضد باکتریایی اسانس سیر و رزماری بر برخی از پاتوژن‌های اصلی ورم پستان در گاو شیری

مهدی خدایی مطلق .Ph.D*

۱- دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی، کدپستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m-motlagh@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۱

چکیده

هدف: در این پژوهش خواص ضد باکتریایی اسانس ۲ گیاه رزماری و سیر بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آگالاکتیه در درصد غلظت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: اسانس‌ها از گروه گیاهان دارویی و معطر دانشگاه اراک تهیه گردید. با غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد از اسانس‌های سیر و رزماری خاصیت ضد باکتریایی به‌روش انتشار در آگار به‌کمک دیسک بررسی شد. حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت کشندگی نیز با استفاده از درصد غلظت‌های مختلف اسانس‌ها تعیین شد. برای تعیین فعالیت ضد باکتریایی آنتی بیوتیک‌های پنی‌سیلین، باسیتراسین و اریترومایسین از دیسک‌های آماده که آغشته با این آنتی بیوتیک‌ها بودند بر روی محیط کشت باکتری‌ها استفاده شد.

نتایج: تمام غلظت‌های این اسانس‌ها (۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد) دارای اثر ضد میکروبی بودند و تاثیر اسانس‌ها با کم شدن غلظت آن‌ها در دیسک کم شد. حداقل غلظت مهاری و کشندگی بین دو اسانس سیر و رزماری تفاوت چشمگیری وجود نداشت. همچنین مقایسه میانگین هاله عدم رشد بین آنتی بیوتیک‌های مورد بررسی (پنی‌سیلین، باسیتراسین و استرپتومایسین) و اسانس‌ها در غلظت ۱۰ درصد نشان داد بین آنتی بیوتیک‌ها و اسانس‌ها تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

نتیجه‌گیری: اسانس‌های سیر و رزماری با توجه به دارا بودن اثرات آنتی باکتریایی بر علیه باکتری‌های اصلی مولد ورم پستان می‌توانند کاندیداهای مناسبی به‌منظور جایگزین آنتی بیوتیک‌ها در درمان ورم پستان در گاو باشند.

واژگان کلیدی: باکتری ورم پستان، اسانس، رزماری، سیر

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

هر ساله درصد کشورهائی که در مبارزه با عوامل باکتریایی بیماری ورم پستان به مشکل مقاومت آنتی بیوتیکی برخورد می‌کنند رو به افزایش است. استفاده نادرست و پیوسته از آنتی‌بیوتیک‌ها در بحث پیشگیری و درمان این بیماری منجر به باقی ماندن پسماند دارو در شیر تولیدی شده است (۱). تقریبا ۸۰ درصد باقی مانده‌های آنتی‌بیوتیک موجود در شیر، مربوط به درمان‌های ورم پستان، چه در طی دوره‌ی شیردهی و چه در دوره‌ی خشکی است (۲). مقاومت داروئی و انتقال آن به انسان (۳) از بعد غیر اقتصادی و کاهش تولید شیر (۴)، حذف و هزینه‌های جایگزین (۵)، مشکلات تولید مثلی (۶)، دور ریختن شیر (۷)، افزایش نیروی کار (۸)، مستعد شدن دام برای ابتلا به سایر بیماری‌ها (۹) از بعد اقتصادی عواملی هستند که باعث شده محققین به‌دنبال یافتن ترکیباتی باشند که بتوانند از آن‌ها به‌جای آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان ورم پستان استفاده کنند. مواد موثر موجود در گیاهان دارویی به‌دلیل همراه بودن با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار هستند و بنابراین در بدن انباشته نشده و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند (۱۰) و از این‌رو امتیاز و برتری قابل توجهی نسبت به داروهای شیمیایی دارند و می‌توانند به‌عنوان کاندیدای مناسب جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شوند. اسانس رزماری از ترکیباتی است که خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانتی آن در بسیاری از موارد به اثبات رسیده است و ترکیبات ضد میکروبی همانند ترکیبات فنولی به‌وفور در آن یافت می‌شود. رزماری دارای ترکیبات فنولی و از جمله کارنوزول، اسید رزمارینیک، اسید کافئیک، فلاوونوئیدها شامل دیوسمین، لوتئولین، ژنکوانین و مونوترپن‌ها مثل کامفور، سینئول و بورنئول می‌باشد (۱۱). ترکیبات موجود در سیر به دو گروه عمده ترکیبات سولفوره و غیر سولفوره تقسیم می‌شوند. خواص دارویی سیر عمدتا به‌دلیل حضور ترکیب سولفورهای به نام آلیسین می‌باشد (۱۲). حضور ترکیبات آنتی باکتریال در این دو گیاه شرایط لازم برای استفاده از آن‌ها، به‌منظور جایگزین آنتی بیوتیک را فراهم می‌کند. از آنجائی که در بررسی قدرت آنتی باکتریال دو گیاه اسانس قالب بهتری جهت مقایسه می‌باشد (۱۳) و با توجه ضرورت یافتن ترکیبات جایگزین برای آنتی بیوتیک‌ها در درمان ورم پستان به‌منظور مقابله با مقاومت داروئی، این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه خاصیت آنتی باکتریایی اسانس دو گیاه سیر و رزماری و برخی آنتی بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌های مولد ورم پستان در گاو به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس: اسانس‌ها از گروه گیاهان دارویی و معطر دانشگاه اراک تهیه گردید. غلظت‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد از اسانس‌های سیر و رزماری مورد بررسی قرار گرفت.

باکتری‌های مورد بررسی: در این مطالعه از سویه‌های باکتریایی استاندارد و بالینی شامل استافیلوکوکوس اورئوس1113 (PTCC)، اشریشیاکلی(1399 PTCC) و استرپتوکوکوس آگالاکتیه (1768 PTCC) تهیه شده از مرکز تحقیقات و پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران استفاده گردید.

تعیین خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها

روش انتشار در آگار به شیوه بائرکربی(Kirby bauer): از آنجائی‌که در این تکنیک تعداد باکتری تلقیح شده یکی از مهم‌ترین متغیرهایی است که بر نتیجه تحقیق تاثیر می‌گذارد، برای انجام هر آزمون جهت بررسی اثرات ضد باکتری، کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه گردید. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش از کشت ذخیره به محیط کشت آگار مغذی تلقیح گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس کلنی‌های سطح محیط کشت با محلول نرمال سالین شسته شده و سوسپانسیون میکروبی با ۵ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین رقیق شد تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری‌ها مورد نظر به‌دست آمد. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا کدورتی مشابه لوله استاندارد نیم مک فارلند (MacFarLand) ایجاد نمایند. به‌نحوی‌که در این حالت غلظت باکتری‌ها درحدود 1×10^{8}CFU/ml بود (۱۴). سپس از سوسپانسیون‌های مزبور با استفاده ازسوآب استریل پس از آغشته کردن آن به سوسپانسیون میکروبی، تمام سطح مولر هینتون آگار به‌صورت خطوط موازی در سه جهت (عمودی، افقی، مورب) برهم کشت داده به گونه‌ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شد. دیسک‌های بلانک استریل به‌کمک dispenser روی محیط‌های کشت یافته به فواصل مناسب و در ۳ تکرار قرارداده شد. سپس توسط حلال دی متیل سولفوکساید غلظت‌های ۱۰ درصد، ۳۰ درصد و ۵۰

www.SID.ir

Archive of SID

درصد از اسانس‌ها تهیه و به‌میزان ۱۰ میکرولیتر بر روی دیسک‌های استریل ریخته شد سپس پلیت را برگردانده، کشت‌های باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت در شرایط هوازی انکوبه و پس از گذشت مدت زمان لازم، پلیت‌ها را روی یک سطح تیره که نور را منعکس نمی‌کند قرار داده و در حضور نور مناسب قطر هاله‌های ایجاد شده توسط کولیس اندازه گیری و نتایج قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر ثبت گردید (۱۵). به‌منظور تعیین فعالیت ضد باکتریایی آنتی بیوتیک‌های پنی‌سیلین، باسیتراسین و استرپتومایسین از دیسک های آماده که آغشته با این آنتی بیوتیک‌ها (شرکت پایادارو) بودند بر روی محیط کشت باکتری‌ها استفاده شد و بقیه مراحل کار مشابه با اسانس‌ها بود.

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): جهت انجام آزمایشات کمی برای تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC=Minimal Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (MBC=Minimal Bacteriocidal Concentration) اسانس‌ها غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ درصد درمحیط مولر هینتون براث تهیه گردید. سپس به‌هرکدام از غلظت‌ها به‌ازای هر میلی‌لیتر محیط مایع، 1×10^{6}CFU/ml باکتری فعال اضافه گردید. علاوه بر این، ازکنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری بدون عصاره) وکنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) استفاده گردید. در نهایت لوله‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس نتایج قرائت گردید. برای هرکدام از اسانس‌ها آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به‌عنوان MIC در نظرگرفته شد و از تمام لوله‌های بدون کدورت بر روی محیط مولر- هینتون آگار کشت داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد آخرین غلظتی از اسانس‌ها که قادر به مرگ ۹۹ درصد از باکتری‌های زنده اولیه بود به‌عنوان MBC در نظرگرفته شد (۱۵).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از رویه آنالیز واریانس با در نظر گرفتن اثر تیمار به‌عنوان اثر ثابت استفاده شد. طرح مورد استفاده طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در هر تیمار بود. مدل مورد استفاده

$$Y_{ij}= \mu+ T_I+ e_{ij}$$

Y_{ij}: قطر هاله عدم رشد برای تیمار i ام در تکرار j ام

μ: میانگین کلی قطر هاله عدم رشد

T_I: اثر تیمار iام (اسانس یا آنتی بیوتیک)

e_{ij}: خطای آزمایشی

مقایسات میانگین در این مطالعه شامل بررسی تفاوت میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف هر اسانس بود که با روش توکی مورد محاسبه قرار گرفت و نیز تفاوت میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت های مختلف بین اسانس‌های مختلف با آزمون t انجام شد.

نتایج

مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد بررسی در غلظت‌های مختلف اسانس، برای هر اسانس به‌طور جداگانه و بین اسانس‌ها در هر باکتری، میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در آنتی بیوتیک‌های مختلف و نیز مقادیر MIC و MBC برای دو اسانس مورد بررسی در باکتری‌های مد نظردر جداول مربوط به‌هرکدام آورده شده است.

اثر اسانس بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس (Staphylococcus aureus)

در غلظت ۵۰ درصد بین دو اسانس سیر و رزماری تفاوت معنی‌دار وجود نداشت و اسانس سیر کمترین میزان تاثیر را نشان داد. در ۱۰ درصد ($p<۰/۰۰۲$) و درصد۳۰ ($p<۰/۰۰۷$) تفاوت معنی‌دار بین دو اسانس مشاهده شد که در این بین رزماری در هر دو حالت اثر آنتی باکتریال قوی‌تری نشان داد (جدول ۱). از طرفی نتایج تجزیه واریانس میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف هر اسانس نشان داد که برای اسانس رزماری تنها تفاوت معنی‌دار بین غلظت۱۰ با غلظت ۵۰ درصد قابل مشاهده بود ($p<۰/۰۱$). در مورد سیر بین هر ۳ غلظت مورد بررسی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۱$). در هر دو اسانس مورد بررسی با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی‌باکتریایی افزایش یافت (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس آرئوس بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف بین اسانس‌های مورد بررسی

استافیلوکوکوس آرئوس			
غلظت (درصد)	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۵۰ درصد
رزماری	۹/۶۶±۰/۳۳^{a}	۱۰/۶۶±۰/۳۳^{a}	۱۱/۳۳±۰/۳۳^{a}
سیر	۷/۱۶±۰/۱۶^{b}	۸/۸۳±۰/۱۶^{b}	۱۰/۵±۰/۵^{a}

*آزمون مورد استفاده: آزمون t * داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

جدول ۲: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد بررسی بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف اسانس‌ها

باکتری	غلظت (درصد)	سیر				رزماری			
		حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر	حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰ درصد	۷	۷/۵	۷/۱۶±۰/۲۸^{a}	نسبتا فعال	۹	۱۰	۹/۶±۰/۵۷^{a}	نسبتا فعال
	۳۰ درصد	۸/۵	۹	۸/۸۳±۰/۲۸^{b}	نسبتا فعال	۱۰	۱۱	۱۰/۶۶±۰/۵۷^{b}	نسبتا فعال
	۵۰ درصد	۱۰	۱۱,۵	۱۰/۵±۰/۸۶^{c}	نسبتا فعال	۱۱	۱۲	۱۱/۳۳±۰/۳۳^{b}	فعال

*آزمون مورد استفاده: آنالیز واریانس * داده‌های قطر عدم هاله رشد به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

اثر اسانس بر روی باکتری اشرشیاکلی (*Escherichia coli*)

به‌جز غلظت ۱۰ درصد بین دو غلظت دیگر تفاوت معنی‌دار بین اسانس سیر و رزماری مشاهده شد (p<۰/۰۰۳). در هر دو حالت رزماری اثر آنتی باکتریال قوی‌تری از خود نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین، میانگین غلظت‌های مختلف هر اسانس نشان داد در غلظت ۱۰ درصد، اسانس رزماری با هر کدام از غلظت‌های ۳۰ درصد (p<۰/۰۰۱) و ۵۰ درصد (p<۰/۰۰۱) تفاوت معنی‌دار داشت ولی بین غلظت‌های ۳۰ و ۵۰ درصد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. در مورد اسانس سیر بین هر ۳ غلظت مورد بررسی تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۰۰۱) (جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد اشرشیاکلی بر حسب میلی متر در غلظت‌های (درصد) مختلف بین اسانس‌های مورد بررسی

اشرشیاکلی			
غلظت (درصد)	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۵۰ درصد
رزماری	۷/۵±۰/۲۸^{a}	۱۲/۶۶±۰/۱۶^{a}	۱۴±۰/۲۸^{a}
سیر	۷/۶۶±۰/۱۶^{a}	۹/۸۳±۰/۱۶^{b}	۱۱/۶۶±۰/۱۶^{b}

*آزمون مورد استفاده: آزمون t * داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

جدول ۴: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری های مورد بررسی بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف اسانس‌ها

باکتری	غلظت (درصد)	سیر				رزماری			
		حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر	حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر
اشرشیاکلی	۰درصد	۷/۵	۸	۷/۶۶±۰/۲۸^{a}	نسبتا فعال	۷	۸	۷/۵±۰/۵^{a}	نسبتا فعال
	۳۰ درصد	۹/۵	۱۰	۹/۸۳±۰/۲۸^{b}	نسبتا فعال	۱۲,۵	۱۳	۱۲/۶۶±۰/۲۸^{b}	فعال
	۵۰ درصد	۱۱/۵	۱۲	۱۱/۶۶±۰/۲۸^{c}	فعال	۱۳,۵	۱۴,۵	۱۴±۰/۵^{b}	فعال

*آزمون مورد استفاده: آنالیز واریانس * داده‌های قطر عدم هاله رشد به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

www.SID.ir

Archive of SID

اثر اسانس بر روی باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه (streptococcus agalactie)

در غلظت‌های ۱۰ درصد و ۳۰ درصد اسانس‌های رزماری و سیر تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در غلظت ۵۰ درصد بین هر دو اسانس تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ($p<۰/۰۰۹$) و در این میان قدرت آنتی باکتریایی به‌ترتیب متعلق به رزماری و سیر بود (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف هر اسانس نشان داد که در هر دو اسانس بین ۳ غلظت مورد بررسی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۵$) و با افزایش غلظت قدرت آنتی باکتریایی افزایش یافت (جدول ۶).

جدول ۵: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد استرپتوکوکوس آگالاکتیه بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف بین اسانس‌های مورد بررسی

	استرپتوکوکوس آگالاکتیه		
غلظت (درصد)	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۵۰ درصد
رزماری	۷/۸۳±۰/۱۶[a]	۹/۳۳±۰/۳۳[a]	۱۵/۱±۰/۴۴[a]
سیر	۷/۶۶±۰/۳۳[a]	۱۰/۱۶±۰/۱۶[a]	۱۲±۰/۵[b]

*آزمون مورد استفاده: آزمون t * داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

جدول ۶: مقایسه میانگین، میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد بررسی بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف اسانس‌ها

باکتری	غلظت (درصد)	سیر			رزماری		
		حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر	حداقل	حداکثر	قطر عدم هاله	میزان تاثیر
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۱۰ درصد	۷	۸	۷/۶۶±۰/۵۷[a]	نسبتا فعال	۷/۵	۸	۷/۸۳±۰/۲۸[a]	نسبتا فعال
	۳۰ درصد	۱۰	۱۰/۵	۱۰/۱۶±۰/۲۸[b]	نسبتا فعال	۹	۱۰	۹/۳۳±۰/۵۷[b]	نسبتا فعال
	۵۰ درصد	۱۱	۱۲,۵	۱۲±۰,۸۶[c]	فعال	۱۴/۵	۱۶	۱۵/۱۶±۰./۷۶[c]	فعال

*آزمون مورد استفاده: آنالیز واریانس * داده‌های قطر عدم هاله رشد به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند

حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت کشندگی

بین MIC و MBC باکتری‌ها در اسانس‌های مورد بررسی تفاوت برجسته‌ای مشاهده نشد و در هر سه باکتری شاخص‌های فوق تقریبا مشابه بود (جدول ۷). بررسی اثر آنتی بیوتیک‌های رایج در درمان ورم پستان بر روی باکتری‌های مورد بررسی بیانگر عدم تاثیر پنی‌سیلین و باسیتراسین بر روی استرپتوکوکوس آگالاکتیه بود. اثر آنتی باکتریایی پنی‌سیلین بر روی استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیا کلی در مقایسه با دو اسانس دیگر قوی‌تر بود به‌طوری‌که میانگین قطر هاله عدم رشد در این مورد از دو آنتی‌بیوتیک دیگر بیشتر بود. همچنین مقایسه میانگین هاله عدم رشد بین آنتی بیوتیک‌ها و اسانس‌ها در غلظت ۱۰ درصد نشان داد بین آنتی‌بیوتیک‌ها و اسانس‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۸). به‌طوری‌که در بعضی باکتری‌ها برخی آنتی بیوتیک‌ها اثر مهار کنندگی بیشتر و در مواقعی اسانس‌ها اثر مهار کنندگی بیشتر داشتند. نتایج در جدول ۹ آورده شده است.

جدول ۷: حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌های مورد بررسی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس، اشرشیاکلی، استرپتوکوکوس آگالاکتیه

		رزماری	سیر
استافیلوکوکوس آرئوس	غلظت MIC (درصد)	۸ درصد	۷ درصد
	غلظت MBC (درصد)	۹ درصد	۹ درصد
اشرشیاکلی	غلظت MIC (درصد)	۹ درصد	۷ درصد
	غلظت MBC (درصد)	۹ درصد	۸ درصد
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	غلظت MIC (درصد)	۸ درصد	۷ درصد
	غلظت MBC (درصد)	۱۰ درصد	۹ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸: مقایسه غلظت ۱۰ درصد بین اسانس‌ها و آنتی بیوتیک‌ها در باکتری‌های مورد بررسی

		سیر	رزماری	پنی‌سیلین	باسیتراسین	استرپتومایسین
غلظت ۱۰درصد	استافیلوکوکوس اورئوس	۷/۱۶±۰/۲۸^{b}	۹/۶±۰/۵۷^{c}	۴۸^{e}	۰^{a}	۱۹^{d}
	اشرشیاکلی	۷/۶±۰/۲۸^{a}	۷/۵±۰/۵^{a}	۴۶^{d}	۱۹^{c}	۱۱^{b}
	استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۷/۶۶±۰/۵۷^{b}	۷/۸۳±۰/۲۸^{b}	۰^{a}	۰^{a}	۲۲^{c}

*آزمون مورد استفاده: آنالیز واریانس * داده‌های قطر عدم هاله رشد به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند * حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشند*

جدول ۹: جدول آنالیز واریانس میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد بررسی بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های (درصد) مختلف اسانس‌ها

		میانگین غلظت ۱۰ درصد	میانگین غلظت ۳۰ درصد	میانگین غلظت ۵۰ درصد	p-Value
استافیلوکوکوس اورئوس	سیر	۷/۱۶±۰/۲۸	۸/۸۳±۰/۲۸	۱۰/۵±۰/۸۶	۰/۰۰۱
	رزماری	۹/۶±۰/۵۷	۱۰/۶۶±۰/۵۷	۱۱/۳۳±۰/۳۳	۰/۰۳
اشرشیاکلی	سیر	۷/۶۶±۰/۲۸	۹/۸۳±۰/۲۸	۱۱/۶۶±۰/۲۸	۰/۰۰۰۱
	رزماری	۷/۵±۰/۵	۱۲/۶۶±۰/۲۸	۱۴±۰/۵	۰/۰۰۰۱
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	سیر	۷/۶۶±۰/۵۷	۱۰/۱۶±۰/۲۸	۱۲±۰/۸۶	۰/۰۰۰۴
	رزماری	۷/۸۳±۰/۲۸	۹/۳۳±۰/۵۷	۱۵/۱۶±۰/۷۶	۰/۰۰۰۱

داده‌های قطر عدم هاله رشد به‌صورت انحراف معیار± میانگین می‌باشند

بحث

نتایج به‌دست آمده از میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس‌های مورد بررسی نشان از تفاوت اثر آنتی باکتریایی آن‌ها داشت. علاوه بر این نتایج مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف هر اسانس نشان داد در کل با افزایش غلظت اسانس خاصیت آنتی باکتریایی افزایش می‌یابد. در هر ۳ باکتری مورد بررسی اسانس رزماری بالاترین اثر آنتی باکتریایی را دارا بود. از مقایسه نتایج این‌گونه برداشت می‌شود که اسانس رزماری ذاتا خاصیت آنتی‌باکتریایی بالاتری دارد. تفاوت مشاهده شده می‌تواند به‌دلیل نوع و میزان ترکیبات موثره موجود در این اسانس در مقایسه با اسانس سیر باشد. ترکیبات موثره موجود در اسانس سیر بنا برگزارشات آلیسین با نام شیمیائی s-methyl-l-cystein sulfoxide و مواد موثره غالب رزماری تری‌سیکلن و سینئول و کامفور می‌باشند (۱۶). نتایج آنالیز واریانس برای اسانس رزماری نشان داد تنها تفاوت معنی‌دار بین غلظت ۱۰ با غلظت ۵۰ درصد مشاهده شد. در مطالعه سوکوویس و همکاران میانگین قطر هاله عدم رشد برای سینئول و کامفور به ترتیب برابر ۱۸ و ۱۸ میلی‌متر به‌دست آمد (۱۷). تحقیقاتی که توسط Angioni و همکارانش بر روی اثرات روغن های ضروری یک نمونه رزماری (Sardinian rosmary) انجام شد نشان داد که این نوع رزماری اثرات بازدارندگی قابل توجهی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مهم نظیر استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکلی ندارد در صورتی‌که محققین دیگر اثرات بازدارنده نمونه دیگری از رزماری (Argentinian rosmary) را بر روی قارچها گزارش کردند (۱۸). همچنین Okoh و همکاران (۱۸) آزمایشی را بر روی اثرات ضد باکتریایی رزماری انجام دادند که نتیجه آن نشان داد اسانس روغنی گیاه رزماری در محدوده غلظتی معین دارای اثر آنتی باکتریایی است. در مورد سیر بین هر ۳ غلظت مورد بررسی تفاوت معنی‌دار وجود داشت. نتایج این آنالیز نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی‌باکتریایی هم افزایش یافته است. این امر به دلیل افزایش میزان غلظت مواد موثره است که با افزایش غلظت اسانس میزان آن‌ها افزایش می‌یابد. نتایج این بررسی نشان داد از میان گیاهان مورد بررسی پاسخ اسانس سیر به افزایش غلظت اسانس بیشتر از اسانس رزماری می‌باشد. علی‌رغم اینکه آلیسین دارای اثرات آنتی باکتریایی هم بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد دلایل احتمالی این امر می‌تواند یکی کم بودن مواد موثره تاثیر گذار بر روی باکتری‌های مورد بررسی و دیگری اثر پذیری کم ترکیبات موثره اسانس سیر در مقایسه با اسانس رزماری باشد. آلیسین ماده موثره اصلی سیر می باشد و سایر ترکیبات موثره آن dialildisulphide و dialiltrisulphide می‌باشند. در یک بررسی صورت گرفته بر

www.SID.ir

Archive of SID

روی خاصیت ضد میکروبی آلیسین میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر حدودا ۲۵ میلی‌متر بود. در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر میانگین قطر ۳۸ میلی‌متر به‌دست آمد (۱۹). در مطالعه صورت گرفته توسط Benkeblia (۲۰) میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌لیتر در لیتر اسانس سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس بعد از ۴۸ ساعت برابر ۶/۳، ۷/۶، ۷/۹، ۸/۵ و ۹/۳ میلی‌متر بود که با افزایش غلظت اثر آنتی‌باکتریایی افزایش نشان داد. در مطالعه حاضر نیز با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی‌باکتریایی افزایش یافت با این وجود میانگین قطر هاله عدم رشد در مطالعه حاضر بیشتر از مطالعه فوق به‌دست آمد. در مطالعه Durairaj و همکاران (۲۱) که به بررسی اثرات آنتی باکتریایی عصاره سیر در غلظت های ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد پرداخته شد مشاهده شد غلظت ۱۰ درصد فاقد تاثیر بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس آرئوس بود. میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکلی در غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد به ترتیب برابر ۸، ۱۶، ۳۳ و ۱۰، ۱۶، ۳۳ بود که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر اثر آنتی‌باکتریایی بیشتر بود. در مطالعه‌ای به‌منظور بررسی اثر آنتی‌باکتریایی عصاره آبی و الکلی سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکلی هیچکدام از عصاره‌ها دارای اثر بر روی رشد باکتری‌ها نبودند (۲۲). اختلاف موجود بین نتایج این مطالعه و سایر مطالعات می‌تواند به‌دلیل تفاوت ژنوتیپ گیاه سیر مورد استفاده جهت اسانس‌گیری، اکوسیستم محیط رشد گیاه (اقلیم، دما، ارتفاع از سطح دریا)، شرایط محیطی انجام آزمایش از قبیل PH و دما باشد. رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، محیط خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیائی قرار دارد. هر یک از این عوامل می‌توانند تاثیر بسزائی بر کمیت و کیفیت محصول و مواد استحصالی از آن‌ها داشته باشند (۲۳). بر طبق گزارش حبیبی و همکاران (۲۳) بر روی آویشن وحشی منطقه طالقان مقادیر مختلف کربنات با بعضی از مواد موثره رابطه مثبت و بعضی از ترکیبات روغنی با عوامل محیطی همبستگی معنی‌داری داشت. همچنین همبستگی معنی‌داری بین میزان درصد اسانس با مواد ارگانیک خاک وجود داشت. محل رویش بر روی ترکیبات موثره آویشن تاثیر معنی‌دار دارد به‌طوری‌که در مطالعه جاوید نیا در روغن فرار آویشن ماده موثره اصلی کارواکرول و در مرتبه بعد تیمول گزارش شد در حالی‌که در مطالعه خانوی تیمول ماده موثره اصلی و کارواکرول در جایگاه دوم قرار داشت. همچنین غلظت ممانعت از رشد مناسب، روش و حلال مورد استفاده جهت عصاره‌گیری، محیط کشت مورد استفاده جهت کشت‌های میکروبی نوع پاسخ دریافتی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۴). در کنار این عوامل فاکتورهای ژنتیکی نیز می‌توانند بر روی مواد موثره تاثیر معنی‌داری داشته باشند. مشاهده شده است که در اسانس پونه ایرانی میزان ترکیب آلفا ترپینه ال ۱۰ الی ۲۰ برابر بیشتر می‌باشد. همچنین مقدار پوله گون در اسانس ایرانی در مقایسه با اسانس پونه در ترکیه ۴ برابر کمتر گزارش شده است (۲۵). بخشی از تفاوت موجود بین نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات علاوه بر ژنوتیپ گیاه مورد استفاده، شرایط اقلیمی رشد گیاه و روش و شرایط محیط کار می‌تواند به‌دلیل نوع قالب به‌کارگیری مواد موثره باشد. در مطالعه‌ای که توسط سکمن و همکاران (۲۶) صورت گرفت با مقایسه خواص ضد باکتریایی عصاره و اسانس گیاه بومادران نشان دادند که خاصیت بازدارندگی اسانس این گیاه بیشتر از عصاره آن می باشد به‌طوری‌که ۸ میکرولیتر از اسانس در هر دیسک کلیه پاتوژن‌های مورد بررسی را کاملا کنترل نمود در حالی‌که ۸۴ میکروگرم از عصاره اتانولی در هر دیسک نتوانست کلیه پاتوژن‌ها را کنترل نماید، همچنین خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های آبی و متانولی گونه sintenisii با هم مقایسه شد. این تحقیق بر روی ۱۲ سویه باکتری انجام گرفت. در پژوهش مذکور هیچ فعالیت ضد میکروبی در عصاره آبی مشاهده نشد در حالی‌که در عصاره الکلی و اسانس این گونه از بومادران دارای میزان قابل قبولی از خاصیت ضد میکروبی بودند. در مطالعه حاضر مواد موثره در قالب اسانس به‌کار برده شدند در حالی‌که در برخی مطالعات این قالب به‌صورت عصاره آبی، عصاره الکلی، عصاره سرد و گرم بود. Muhamed Mubarak و همکاران (۲۷) در مطالعه‌ای که بر روی اثر آنتی‌باکتریایی عصاره آبی و متانولی چند گیاه داروئی بومی تایلند بر روی باکتری‌های مولد ورم پستان منجمله اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه داشتند تفاوت اثر آنتی باکتریایی عصاره آبی با متانولی را گزارش نمودند به‌طوری‌که اثر آنتی‌باکتریایی عصاره متانولی بیشتر از عصاره آبی بود و بعضا عصاره آبی برخی گیاهان فاقد اثر آنتی‌باکتریایی بود. در مطالعه ای دیگر توسط این محققین (۲۸) نتیجه مشابه با دسته‌ی دیگر از گیاهان داروئی منطقه تایلند به‌دست آمد و در آن خاصیت آنتی‌باکتریایی عصاره متانولی

www.SID.ir

Archive of SID

بیشتر از عصاره آبی بود. همچنین در هر عصاره بین غلظت‌های مختلف تفوت معنی‌دار مشاهده گردید. در مطالعه Chukwu (۲۹) عصاره های اتانولی و عصاره‌های سرد و گرم آبی سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکلی بررسی شد. عصاره الکلی باعث مهار هر دو باکتری شد. عصاره گرم آبی بر روی هیچکدام از باکتری‌ها اثر نداشت در حالی‌که عصاره سرد آبی بر روی باکتری استافیلوکوکوس دارای اثر ولی بر روی اشرشیاکلی فاقد اثر بود. در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثرات آنتی‌باکتریایی سیر بر روی باکتری‌های مولد ورم پستان در گاو توسط Safi thria (۳) انجام شد نتایج نشان داد که در غلظت‌های بالاتر عصاره‌های آبی سیر اثرات مهاری بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه بیشتر است. فعالیت ضد باکتریایی غلظت ۱۰ درصد عصاره آبی سیر بر روی باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه بیشتر از اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس بود. هیچ اثر مهاری از عصاره اتانولی سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس مشاهده نشد. فعالیت ضد میکروبی ۱۰ درصد عصاره اتانولی سیر بر علیه استرپتوکوکوس آگالاکتیه بیشتر از اشرشیاکلی بود.

نتایج به‌دست آمده از MIC و MBC در این مطالعه مشابه با نتایج میانگین قطر هاله عدم رشد تفاوت هائی با نتایج سایر مطالعات گزارش شده داشت. علت تفاوت‌های موجود مشابه با مواردی می‌باشد که در مورد میانگین قطر هاله عدم رشد پیشتر توضیح داده شد. در مطالعه Deresse Daka (۳۰)، MIC عصاره سیر بر روی باکتری استافیلوکوکوس آرئوس ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. اثر اسانس آویشن شهر موروکو بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی با MIC، ۰/۳۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیشتر از باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس آرئوس، استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس اپی‌درمیس با MIC، به ترتیب ۱/۳۳، ۲/۶۷ و ۱/۳۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (۳۱). بر اساس گزارش Safi thria (۳) عصاره آبی سیر بر روی باکتری‌های گرم منفی دارای حداقل غطلقت مهاری ۶ تا ۱۱ میلی‌گرم در میلی لیتر و برای باکتری‌های گرم مثبت دارای حداقل غلظت مهاری ۷ تا ۲۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در انسان می‌باشد. در مطالعه Durairaj (۲۱)، MIC عصاره آبی سیر بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیا، پروتئوس میرابلیس و استافلوکوکوس آرئوس به ترتیب ۷، ۸، ۹ و ۱۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شد.. Jabar (۳۲) در مطالعه‌ای که بر روی ۳ سویه از باکتری استافیلوکوکوس آرئوس انجام داد میانگین مقدار MIC عصاره خالص و عصاره حل شده در آب سیر را ۲۳/۳۷ و ۱۶/۲۳ گزارش نمود این مقدار برای ۲ سویه باکتری اشرشیاکلی ۱۹/۵۳ و ۳۱/۰۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. این نتایج نشان داد که در سویه‌های مختلف یک باکتری مقدار MIC و MBC متفاوت خواهد بود که بخشی از تفاوت نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات به این دلیل می‌تواند باشد همچنین نوع قالبی که مواد موثره در آن‌ها به‌کار گرفته شدند نیز در نتایج موثر خواهد بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه ورم پستان به‌عنوان یکی از مشکلات بهداشتی بسیار مهم، عامل بیشترین ضرر اقتصادی و مصرف وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها در گاوداری‌های شیری است و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها اگرچه باعث بهبود عملکرد در دام می شود ولیکن در دراز مدت منجر به بروز مشکلات جدی از قبیل پیدایش گونه‌های میکروبی مقاوم در مقابل آنتی بیوتیک‌ها و امکان انتقال این مقاومت به سایر گونه‌ها به‌ویژه در سویه‌های مشترک بین انسان و حیوان، باقی ماندن بقایای آن‌ها در محصولات نهائی (شیر و گوشت) و اثرات سوء این مواد بر مصرف کنندگان از جمله برهم زدن تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، خواهد شد نتایج فوق به‌خصوص غلظت‌های بالای اسانس برای حل این مشکل می‌تواند در درمان این بیماری مفید واقع شود. نکته مهمی که از این مطالعه به‌دست می‌آید این است که استفاده از اسانس در بررسی خواص آنتی‌باکتریایی بهتر از فرم عصاره می‌تواند گویای توان بالقوه گیاهان داروئی مختلف در بحث خواص آنتی‌باکتریایی آن‌ها باشد که از این نکته می‌توان در شناخت و گزینش بهتر گیاهان به‌عنوان جایگزین داروهای بی اثر و کم اثر فعلی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از همکار گرامی جناب آقای حسینی که در تهیه اسانس با اینجانب همکاری کردند، تشکر می نمایم.

منابع

1. Mahzoniye MR, Zahraei salehi MT, Karimi A, Shams N, et al. comparative consideration of herbal cream containing essential oils of peppermint (Mentha spicata) with phenyl Bvtazvn ointment and

www.SID.ir

Archive of SID

emollient cream in the treatment of bovine mastitis strength. Journal of Medicinal Plants. 2007; 15: 22-25.

2. Anderson, BB. Genetic studies on growth, development of conformation, and food utilization in Cattle. Report, national institute of animal science. Copenhagen. 1977; 448:134.

3. Safi thria M, Bintanga M, Poeloenganb M. Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria. Media Peternakan. 2011; 155-158.

4. Zamani F, Babaei M, Fazeli MH, Sharifzade A, et al. Economic Evaluation of subclinical mastitis in dairy herds in esfahan Proceedings of the First Congress on Animal and Aquatic Sciences. 31 August-2 September, Tehran, Iran. 2004: PP: 1022-1024.

5. Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Veterinary research. 2003; 34: 475-491.

6. Shams M, Farhodimoghadam M, Naseri D, Babaei G, et al. considering of clinical mastitis on reproductive performance of Holstein dairy cows. Journal of Clinical Veterinary Medicine. 2012; 2:104-115.

7. Østerås O. The cost of mastitis- an opportunity to gain more money. Proceedings of British Mastitis Conference. 2000 (Shepton Mallet); 67-77.

8. Blosser TH. Economic Losses from and the National Research Program on Mastitis in the United States. Journal of Dairy Science. 1979; 62: 119-127.

9. Kremer WDJ, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers, FJ, Schukken YH, et al. Severity of Experimental Escherichia coli Mastitis in Ketonemic and nonketonemic Dairy Cows . Journal of Dairy Science. 1993; 76: 3428-3436.

10. Velag, J, Studlla, G. The Medicinal Plants. Persian Translation by Zaman S. 6th Ed. Tehran; Naghsh Iran publication; 2005.

11. Peng Y, Yuan J, Liu F, Ye J. Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2005; 39: 431-437.

12. Hansel R, Tayler VE. Rational phytotherapy.A physicians` guide to herba medicine. 3 rd ed. Springer, Berlin. 1998; 107-125.

13. Orojalian F, Kasra kermanshahi R. Study of Phytochemical and antibacterial properties of the Achillea eriophora essential oil with Microdilution Method. Journal of Horticultural Science. 2001; 24: 109-115.

14. Soltani nejad SH, Satani mokhtari T, Rahbarian P. The study of antibacterial effect of the essential oil and methanol extracts of ziziphora cliniopodiodes on some pathogenic bacteria. Journal of Microbial Biotechnology. 2010; 2: 1-6.

15. Khosravi A, Malekan MA. Determination of Alcoholic and aqueous extract of Lavender Astvkas on Staphylococcus aureus and other Gram-negative bacteria. The Journal of Qazvin University of Medical Science. 2004; 29: 3-9.

16. Ghanadi AR, Karimzade H, Tavakoli N, Derafsh M, et al. Efficacy of a Combined of Rosmarinus and Lavanda essence in order to Treatment of patients with knee osteoarthritis. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013; 15(6): 29-33

17. Sokovic M, Marin PD, Brkić D, van Griensven LJLD. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. Global Science Books. 2007.

18. Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of Rosmarinus officinalis L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. Food Chemistry 2010; 120:308-12.

19. Cutler RR, Wilson P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. British journal of biomedical science. 2004; 61(2):71-4.

20. Benkeblia N. Antimicrobial activityof essential oil extracts of various onions (Allium cepa) and garlic (Allium sativum). LWT - Food Science and Technology. 2004; 37: 263–268.

21. Durairaj S, Srinivasan S, Lakshmanaperumalsamy P. in vitro Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. Electronic Journal of Biology. 2009; 5. 5-10.

22. Onyeagba RA, Ugbogu OC, Okeke CU, Iroakasi O. Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (Zingiber officinale Roscoe) and lime (Citrus aurantifolia Linn). African Journal of Biotechnology: 2004; 3: 552-554.

23. Habibi H, Mazaheri D, Majnoon Hosseini N, Chaeechi MR, et al. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (Thymus kotschyanus Boiss) Taleghan region. Pajouhesh & Sazandegi. 2006; 73: 2-10.

24. Falahi j, Ebadi MT, Rezvani moghada P, Hedayati M, et al. Comparison of the inhibitory

www.SID.ir

Archive of SID

effect of 6 medial plant essential oils with stereptomycin antibiotic on Salmonella. Iranian journal of veterinary. 2010; 6:25-33.

25. Kamkar A. The study of antioxidant activity of essential oil and extract of Iranian Anethum graveloens. The horizon of medical science. 2009; 15: 11-17.

26. Sokmen A, Vardar-Unlu G., Polissiou M, Daferera D, et al. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. Phytoterapy Research. 2003: 17(9):1005-1025.

27. Muhamed Mubarack H, doss A, Dhanabalan R, Venkataswamy R. Activity of some selected medicinal plant extracts against boving mastitis pathogens. Journal of animal and veterinary advance. 2011; 10: 738-741.

28. Muhamed Mubarack H, doss A, Dhanabalan R, Venkataswamy R. In-Vitro Antimicrobial Effects of Some Selected Plants against Bovine Mastitis Pathogens. Hygeia. Journal for drugs and medicines. 2011; 3: 71 – 75.

29. Chukwu OC, Odu CE, Chukwu ID, Chidozie VN, et al. Carrot (Daucus carrota), garlic (Allium sativum) and ginger (Zingiber officinale) extracts as bacteria selective agents in culture media. African Journal of Microbiology Research. 2012; 6: 219-224.

30. Deresse D. Antibacterial Effect of Garlic (Allium sativum) on Staphylococcu aureus: An in vitro Study. Asian Journal of Medical Sciences. 2010; 2: 62-65.

31. Imelouane B, amhamdi A, wathelet JP, ankit M, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (thymus vulgaris) from eastern morocco. International Journal Of Agriculture And Biology 2009: 11 (2), 205-208

32. Jabar MA, Al-Mossawi A. Susceptibility of some multiple resistant bacteria to garlic extract. African Journal of Biotechnology. 2007; 6: 771-776.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Spring 2014; 5(1): 79-88

Original Article

Antibacterial Effect of *Allium sativum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oil on Major Mastitis Pathogens in Dairy Cattle

Khodaei Motlagh M, Ph.D.*

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, 38156-8-8349, Iran

* Email corresponding author: m-motlagh@araku.ac.ir

Received: 13 Apr. 2013 Accepted: 23 Jul. 2013

Abstract

Aim: In this research, the antibacterial effects of essential oil of two medicinal plants, *Allium sativum* and *Rosmarinus officinalis* were studied on *Staphylococcus agalactiae, S. aureu* and *Escherichia coli*

Material and Methods: Essential oils were prepared from department of medical plants of Arak University. The antibacterial properties of the essences were investigated by disk diffusion method in different concentrations of the essences (10, 30 and 50%). MIC and MBC were determined by using different concentrations of essences. Antibacterial activity of Penicillin, Bacitracin and Erythromycin was determined with the discs that were impregnated with antibiotics.

Results: All concentrations of the essential oil (10, 30 and 50%) had antibacterial effect. Antibacterial effects decreased according to reduction of essential oil concentrations. There were no significant difference between *Allium sativum* and *Rosmarinus officinalis* in MIC and MBC. There were, however, significant differences among mean zones of inhibition found in essential oils and antibiotics (Penicillin, Bacitracin and Streptomycin) at 10% concentration.

Conclusion: According to antibacterial effect of *Allium sativum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils on major bacterial mastitis pathogens in cow these plants has the potential to be evaluated as an alternative or adjunct to antibiotics to treat bovine mastitis.

Keywords: Mastitis bacteria, Essential oil, *Rosmarinus officinalis*, Allium sativum

www.SID.ir