دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال چهارم، شماره‌ی ۱۴
بهار ۱۳۹۲، صفحات ۵۲-۴۷

بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه (melissa officinalis L)

حجت اقبال
کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، بخش تحقیق و توسعه مشکین شهر، ایران
Hojat.eg@gmail.com
لیلا قدرتی
دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی،گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاداسلامی، واحدشیراز، ایران
Ghodrati.b2011@gmail.com
مهدی احمدی سابق
عضو هیئت علمی گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
M-ahmadi@iau-ahar.ac.ir
حسن نورافکن
عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه، میانه، ایران
Hassannourafkan@gmail.com
طالب قبایی
کارشناس ارشدگیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، میانه، ایران
Talebghabaei@yahoo.com

Archive of SID

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس گیاه بادرنجبویه (Melissa officinalis L) انجام گرفت.گیاه دارویی بادرنجبویه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی از خانواده نعناعیان است که اندام‌های هوایی گیاه از مرزعه تحقیقاتی شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز جمع آوری شده و پس از خشک شدن برای اسانس‌گیری مورد استفاده قرار گرفت. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب انجام گرفت. اثرات ضدباکتریایی اسانس بر علیه ۵ نوع باکتری گرم مثبت وگرم منفی براساس ۲ روش دیسک دیفیوژن و میکروبراث دایلویشن انجام گرفت، که اثر ضدباکتریایی برعلیه باکتری‌های گرم مثبت نشان داد که اسانس گیاه باعث ایجاد هاله عدم رشد بیش از ۳۰ میلیمتر روی باکتری‌های گرم مثبت شده، بنابراین اثر قوی بر علیه این باکتری‌ها داشته است و مقایسه اثر ضدباکتریایی اسانس بر علیه باکتری‌های گرم منفی نیز نشان داد اسانس بر این میکروارگانیسم‌ها نیز موثر بوده است اما با اثرات به نسبت کمتر از باکتری‌های گرم مثبت، همچنین نتایج به‌دست آمده نشان داد که هاله‌های عدم رشد ایجاد شده بر علیه باکتری‌های مذکور یکسان نبوده است. بیش‌ترین هاله عدم رشد ناشی از اسانس گیاه بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود است و کم‌ترین اثر بر روی باکتری سراشیا مارسیسنس است. اسانس گیاه بادرنجبویه را می‌توان برای درمان برخی از بیماری‌ها استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: گیاهان دارویی، بادرنجبویه، Melissa officinalis، ضدباکتریایی، اسانس.

www.SID.ir

مقدمه

گیاه بادرنجبویه یکی از مهم‌ترین گونه‌های گیاهان دارویی، از خانواده نعناع‌سانان است. گیاه بادرنجبویه گیاهی است معطر، پایا، ایستاده و علفی، به ارتفاع ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر، ساقه چهارگوش، افراشته و منشعب، سبز کم رنگ، پوشیده از کرک‌های نرم، برگ متقابل، برگ‌های پایینی قلبی و برگ‌های بالایی تخم مرغی شکل، حاشیه برگ دندانه‌دار یا کنگره‌دار، دارای رگبرگ‌های متعدد، به رنگ سبز متمایل به آبی.گل‌های کوچک، به رنگ سفید مایل به صورتی، دارای دمگل کوتاه، مجتمع در چرخه‌های کم و بیش یک طرفه و میوه فندقه کوچک، بذر تخم مرغی، سیاه رنگ و براق است و پیکر رویشی گیاه بوی خاصی تقریباً شبیه به لیمو دارد [۴].

منشاء اصلی این گیاه شرق مدیترانه، جنوب اروپا [۳]، آسیای صغیر، غرب آسیا و شمال آفریقاست. اما امروزه در مناطق مختلف دنیا، به خصوص کشورهای منطقه مدیترانه هم‌چون در کشورهای آلمان، چک، اسلواک، هلند، بلغارستان و مجارستان در سطوح وسیعی کشت می‌شود [۴]، مردم بعضی سرزمین‌ها از مدت‌ها پیش خواص دارویی آن را می‌دانستند و برای درمان برخی بیماری‌ها از آن استفاده می‌کردند. قسمت مورد استفاده این گیاه برگ‌ها و پیکر رویشی جوان و گلدار این گیاه در فارماکوپه‌های معتبر به‌عنوان دارو یاد شده است [۴، ۲،۱]. از مواد موثره این گیاه، داروهایی برای درمان ناراحتی‌های عصبی و هم‌چنین برای مداوای بیماری‌های معده، مسکن، درمان اختلالات گوارشی [۴]، قلبی و روده‌ای با منشاء عصبی و اضطراب، ضدویروس، ضدباکتری، ضداسپاسم، ضدنفخ و آرام‌بخش است و در برخی کشورها از تنتور بادرنجبویه به‌عنوان آرام‌بخش استفاده می‌شود. مواد موثره بادرنجبویه به همراه مواد موثره سنبل الطیب اثر درمانی یکدیگر را تشدید می‌کنند [۳].

اندام‌های هوایی گیاه به خصوص برگ‌ها محتوی اسانس هستند. مقدار اسانس در گونه‌های مختلف متفاوت و بین ۰/۲ تا ۰/۵ درصد است. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را "سیترونلال" (۲۰ تا ۵۰ درصد) تشکیل می‌دهد. از ترکیبات دیگر اسانس می‌توان از "سیترال"، "ژرانیول"، "لینالول" و" استات اوگنول" نام برد. اسانس به مقدار بسیار کم حاوی موادی نظیر"اسید رزماری"، اسیدهای فنولیک یک کربنه و فلاونوئید است. بذرها سه الی چهار سال از قوه رویشی مناسبی برخوردارند [۳]، که در تحقیقات انجام گرفته توسط بغداد و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان داد، میزان اسانس گیاه بادرنجبویه ۰/۰۱ تا ۰/۲۵٪ است که از مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده آن ۳۹٪ سیترونلال، ۳۳٪ سیترال (سیترونلال، لینالول) و ژرانیول است [۵]، این تحقیق به منظور بررسی خواص ضد باکتریایی گیاه بادرنجبویه اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده سازی گیاه

اندام‌های هوایی گیاه بادرنجبویه از مزرعه گیاهان دارویی بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز مشکین شهر در استان اردبیل جمع‌آوری، در سایه و در دمای محیط به صورت کامل خشک و پس از خشک شدن، به قطعات کوچک خرد شدند و به آزمایشگاه منتقل شد.

اسانس‌گیری

استخراج اسانس در آزمایشگاه به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر مدل دارو نامه بریتانیا (BP)[1] انجام شد. ۵۰ گرم از گیاه خرد شده بادرنجبویه توزین کرده و عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت انجام شد. سپس با استفاده از سولفات سدیم آبگیری و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتیگراد در شیشه‌های تیره (ویال) نگهداری گردید [۶].

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه

از بین باکتری‌های گرم مثبت:

Bacillus cereus PTCC1247,
Staphylococcus epidermidis PTCC1435,
Staphylococcus aureus PTCC 1112

و از بین باکتری‌های گرم منفی:

serratia marcescens PTCC 1621,
Escherchia coli PTCC 1399

1-British pharmacopa

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری‌های استاندارد از آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، بندرعباس و دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انتخاب گردید.

تعیین خاصیت ضدمیکروبی اسانس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن

سویه‌های باکتریایی روی نوترینت آگار در دمای 37^0C رشد داده شد. از سویه هر باکتری به سرم فیزیولوژی استریل افزوده شد و کدورت آنها با ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردید. سوسپانسیون باکتریایی (معادل 10^8 CFU/ml^{-1}) آماده بر روی نوترینت آگار تلقیح گردید سپس دیسک‌های کاغذی استریل (۶ میلی متری) غلظت‌های مختلف اسانس که حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO[۲]) حل شده است، بر روی محیط‌های کشت شده قرار داده شد. دیسک حاوی DMSO به عنوان کنترل روی کشت قرار داده شد [۱۰]. کشت‌های باکتریایی ۴۸ ساعت و در دمای 37^0C انکوبه گردید. سپس قطر هاله عدم رشد (بر اساس میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن

در این روش رقتی از اسانس بادرنجبویه در حلال DMSO با غلظت ۱۰۰ µl ml^{-1}–۰/۰۹۷تهیه شد [۱۱]. سپس ۱۰۰ µl از هر رقت به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی افزوده شد. استاندارد تهیه شده (معادل با ۰/۵ مک فارلند) در مرحله قبل رقیق گردید. در مورد باکتری‌ها از محیط نوترینت براث استفاده گردید و ۱۰۰ µl از سوسپانسیون میکروبی به هر چاهک افزوده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردیدند. اولین چاهک که در آن هیچ رشدی مشاهده نمی‌شود به عنوان MIC یا حداقل غلظت مهارکننده رشد تعیین گردید. سپس از رقت MIC و چند رقت بالاتر از آن روی محیط کشت منتقل شد و اولین رقت که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان MBC یا حداقل غلظت کشنده رشد تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

اطلاعات به‌دست آمده توسط آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند و نیز از نرم افزار EXCEL استفاده شد .در تمامی موارد مقادیر p برابر ۰/۰۱ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظرگرفته شد. آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار و نتایج به صورت Mean ±SEM ثبت شد.

بحث و نتایج

بررسی اثرات ضدمیکروبی

در مطالعه حاضر اثر اسانس بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی به دو روش براث میکرودایلوشن و انتشار دیسک مورد آزمایش قرارگرفت که حساسیت و مقاومت متفاوتی از باکتری‌های مختلف مشاهده گردید (جدول۳ و۴). نتایج هر دو روش با هم همخوانی داشتند؛ به‌طوری که هر دو روش استافیلوکوکوس اورئوس را حساس و سراشیا مارسیسنس را مقاوم نشان دادند. طبق جدول تجزیه واریانس روش دیسک دیفیوژن نشان داد که در سطح ۱٪ دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر هستند (جدول۲) و اسانس بادرنجبویه بر استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد اثر قابل ملاحظه مهار رشد و کشندگی از خود نشان داد، به‌طوری که در mg/ml ۰/۱۶ اثر مهارکنندگی و در رقت mg/ml ۰/۳۱ اثر کشندگی داشت (جدول۳). اثر ضداستافیلوکوکوس اورئوس این اسانس با روش انتشار دیسک هم مشاهده گردید، به صورتی که قطر قابل ملاحظه هاله عدم رشد در کشت این باکتری با دیسک حاوی اسانس مشاهده گردید (جدول۴). اثر اسانس بر سراشیا مارسیسنس در mg/ml ۰/۱۶ اثر مهارکنندگی و در رقت mg/ml ۱/۲۵ اثرکشندگی داشت. اثرات ضدباکتریایی این گیاه را می‌توان به موادی چون سیترونلال، سیترال، ژرانیول، لینالول و استات اوگنول مرتبط دانست.

2 -dimethylsulfoxide

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر غلظت‌های مختلف اسانس بادرنجبویه بر اندازه هاله عدم رشد میکروارگانیزم‌های مختلف

منابع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	مجموع مربعات S.S	میانگین مربعات M.S	ارزش فیشر F.S	ضریب تغییرات C.V
میکروارگانیزم (A)	۴	۴۵۶/۶	۱۱۴/۲	۱۷۲/۰**	
غلظت اسانس(B)	۷	۶۳۰۳/۲	۹۰۰/۴	۱۳۵۷/۰**	
اثرمتقابل AB	۲۸	۱۷۷/۵	۶/۳	۹/۵۵**	٪ ۴/۷
خطا	۸۰	۵۳/۱	۰/۷	–	
کل	۱۱۹	۶۹۹۰/۴	–	–	

** معنی دار در سطح ۱٪

جدول ۲- مقایسه اندازه هاله عدم رشد در میکروارگانیزم‌های مختلف تحت تأثیر اسانس بادرنجبویه

نام میکروارگانیزم	اندازه هاله (میلی متر)
E. coli	$۱۶/۰^{c}\pm۱/۴۹^{\Psi}$
S. aureus	$۲۰/۸^{a}\pm۱/۸۰$
S. epidermidis	$۱۶/۰^{c}\pm۱/۳۶$
B. cereus	$۱۸/۲^{b}\pm۱/۶۰$
S. marcescens	$۱۵/۸^{c}\pm۱/۴۰$

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ آزمون دانکن ندارند.

$^{\Psi}$خطای استاندارد

جدول ۳ - مقایسه میکروارگانیزم‌ها از نظر آخرین غلظت اسانس بادرنجبویه

نام میکروارگانیزم	آخرین غلظت اسانس بادرنجبویه(میکرولیتر)
E. coli	$۰/۳۹۰^{b}\pm۰/۰۵۱۹۶^{\Psi}$
S. marcescens	$۰/۷۸۱^{a}\pm۰/۰۰۰۵۸$
S. aureus	$۰/۳۹۰^{b}\pm۰/۰۰۵۷۷$
S. epidermidis	$۰/۱۹۵^{c}\pm۰/۰۰۲۸۹$
B. cereus	$۰/۱۹۵^{c}\pm۰/۰۰۲۸۹$

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ آزمون دانکن ندارند.

$^{\Psi}$خطای استاندارد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- مقایسه اثر متقابل نوع میکروارگانیزم و غلظت اسانس بادرنجبویه بر اندازه هاله عدم رشد

غلظت (میکرولیتر) میکروارگانیزم	۲۰	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۳	۰/۳۱	۰/۱۶
E. coli	$۳۰/۶^{c}\pm۰/۵۴^{\Psi}$	$۲۱/۹^{f}\pm۰/۵۱$	$۱۸/۹^{ij}\pm۰/۳۰$	$۱۵/۱^{lm}\pm۰/۱۹$	$۱۳/۴^{mno}\pm۰/۶۱$	$۱۱/۷^{opq}\pm۰/۶۲$	$۸/۶^{st}\pm۰/۴۷$	$۷/۸^{st}\pm۰/۴۳$
S. aureus	$۳۶/۴^{a}\pm۰/۵۴$	$۲۸/۶^{d}\pm۰/۵۲$	$۲۵/۰^{e}\pm۰/۴۴$	$۲۱/۴^{fg}\pm۰/۶۴$	$۱۹/۵^{hi}\pm۰/۵۵$	$۱۶/۸^{kl}\pm۰/۱۷$	$۱۰/۵^{qr}\pm۰/۲۶$	$۸/۵^{st}\pm۰/۴۵$
S. epidermidis	$۲۹/۱^{cd}\pm۰/۲۱$	$۲۰/۴^{fghi}\pm۰/۵۱$	$۱۸/۸^{ij}\pm۰/۲۸$	$۱۷/۴^{jk}\pm۰/۱۴$	$۱۳/۳^{mno}\pm۰/۶۳$	$۱۲/۳^{nopq}\pm۰/۳۱$	$۹/۵^{rs}\pm۰/۸۱$	$۷/۶^{st}\pm۰/۶۰$
B. cereus	$۳۳/۴^{b}\pm۰/۶۸$	$۲۴/۰^{e}\pm۰/۴۹$	$۲۱/۶^{f}\pm۰/۵۱$	$۱۹/۶^{ghi}\pm۰/۳۱$	$۱۵/۲^{lm}\pm۰/۳۲$	$۱۲/۵^{nopq}\pm۰/۵۶$	$۱۱/۰^{qr}\pm۰/۴۶$	$۸/۶^{st}\pm۰/۳۸$
S. marcescens	$۳۰/۲^{cd}\pm۰/۲۲$	$۲۱/۱^{fgh}\pm۰/۷۴$	$۱۶/۸^{kl}\pm۰/۱۸$	$۱۳/۹^{mn}\pm۰/۲۶$	$۱۲/۵^{nopq}\pm۰/۷۵$	$۱۳/۲^{nop}\pm۰/۱۶$	$۱۱/۳^{pqr}\pm۰/۴۴$	$۷/۰^{t}\pm۰/۰۷$

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ آزمون دانکن ندارند.

$^{\Psi}$خطای استاندارد

نتایج نشان داد که از بین سه باکتری، S.marcescens بیش‌ترین مقاومت را در برابر اثر ضدباکتریایی اسانس داشته است. هایونی و همکارانش بیان کرده‌اندکه باکتری‌های گرم مثبت مثل S. aureus به نظر می‌رسدکه با سهولت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی مثل S.marcescens مهار شوند. این امر ممکن است به لیپوپلی ساکاریدها در غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که آن‌ها را ذاتاً به عوامل خارجی مثل رنگ‌های آب‌دوست، آنتی بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم می‌کند [۹]، در تمامی موارد همراه با افزایش غلظت اسانس قطر هاله ممانعت رشد یا خاصیت ضدمیکروبی نیز افزایش پیدا کرده است، یک نکته در اینجا قابل ذکر است. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق (بالاتر بودن MIC اسانس علیه باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت) نیز حاکی از حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بود. به‌دلیل وجود غشاءهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی منطقی به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها در برابر اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. این غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوباز میان این لایه پوشاننده لیپوپلی ساکاریدی را محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیبات هیدروفوب اسانس‌ها با این فسفولیپید دو لایه‌ایی صورت می‌گیرد. این محل جایی است که این ترکیبات اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر یا به‌صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیبات حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا این که به‌صورت ناتوانی سیستم آنزیمی باکتریایی بروز می‌کند [۱۲]. برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزاء غالب موجود در اسانس‌ها را با فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها گزارش نموده‌اند [۷].

Archive of SID

www.SID.ir

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند اسانس‌ها اثرات ضدباکتریایی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء سلولی اعمال می‌کنند. بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیزم عمل اسانس‌ها اثبات نموده است که این ترکیبات نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهند. اجزای اسانس با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشاءگردیده و فعالیت آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند (کاهش می‌دهند) و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهند شد [۸]. اجزای اسانس نیز اثرات ضد باکتریایی متفاوتی دارند.

نتایج نشان می‌دهد که گیاه بادرنجبویه دارای خاصیت ضد باکتریایی قابل ملاحظه‌ای است. اسانس این گیاه بر علیه باکتری مهم پاتوژن انسانی که عوامل مهم عفونت بیمارستانی هستند موثر است. هم‌چنین می‌توان امیدوار بود که در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

۱- آزاد بخت، م، رده بندی گیاهان دارویی، موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده(نشر طبیب)، ۹۳،۲۶۵،۱۳۷۸.

۲- آئینه چی، ی، مفردات پزشکی و گیاهان دارویی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۲۷،۳۱،۳۵،۱۳۷۰.

۳- امید بیگی،ر، تولید و فرآوری گیاهان دارویی،انتشارات آستان قدس رضوی، چاپ ششم، ۷۹-۸۸، ۱۳۹۰.

۴- علیزاده،ا،گیاهان دارویی اندمیک ایران، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد استهبان، ۱۹، ۱۳۹۲.

5- Bahtiyarca Bagdat ,R, Cosge, B,the essential oil of lemon balm(*Melissa officinalis* L.), its components and using fields, Omu Zir. Fak. Dergisi, 21(1):116-121,2006.

6- Basiri, S, Esmaily, H, Vosough-Ghanbari, S, Mohammadirad, A, Yasa, N, Abdollahi, M, Improvement by *Satureja khuzestanica* essential oil of malathion-induced red blood cells acetylcholinesterase inhibition and altered hepatic mitochondrial glycogen phosphorylase and phosphoenol-pyruvate carboxykinase activities, Pesticide Biochemistry and Physiology, 89 (124): 124-129, 2007.

7- Burt S, Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223–253, 2004.

8- Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T. and Baser K.H.C, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations, Food Chemistry, 100:553-559. 2007.

9- Hayouni El, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts, Food. Chem, 105 (3): 1126 – 34, 2007.

10- Mahboobi, M, Shahcheraghi, F, Feizabadi, M,M, Bactericidal effects of essential oils from Clove, Lavander and geranium on multi-drug resistant isolates of *P.aeruginosa*. Iranian journal of Biotechnology, 4(2): 137-140, 2006.

11- NCCLS, National Committee for Clinical laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; 7th Ed, Approved Standard M7-A7, Wayne, Pennsylvania, 2006.

12- Sandri I. G., Zacaria J., Fracaro F., Delamare A. P. L., andEcheverrigaray S, Antimicrobial activity of theessential oils of Brazilian species of the genus Culina against foodborne pathogens and spoiling bacteria. Foodchemistry, 103: 823-828, 2007.

Archive of SID

www.SID.ir