اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) بر *اشرشیا کلی* در شرایط آزمایشگاهی

فرهاد شرافتی چالشتری*[1]، رضا شرافتی چالشتری**، مریم مومنی***

*مربی گروه میکروبیولوژی – مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، **دکترای دامپزشکی- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ***کارشناس گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۱۳ تاریخ تایید: ۸۷/۱۲/۵

چکیده:

زمینه و هدف: **اشرشیاکلی از عوامل مهم بیماریزای دستگاه گوارشی می باشد که معمولاً از طریق مواد غذایی آلوده خصوصا گوشت گاو منتقل می گردد. در سال های اخیر به استفاده از مواد طبیعی به جای داروهای شیمیایی سنتتیک در پیشگیری و کنترل عفونت های مختلف تاکید شده است. لذا این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) بر روی اشرشیاکلی *O157:H7* انجام گرفت.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی، عصاره اتانولی و آبی گیاه تهیه و اثرات ضد میکروبی آنها با استفاده از روش آگار دیفیوژن و همچنین تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) از روش رقت لوله ای (Macrodilution) بر علیه باکتری *Ecoli O157:H7* انجام شد. آمیکاسین (۳۰µg) به عنوان ماده ضد میکروبی مرجع استفاده و داده ها با استفاده از آزمون آماری توصیفی ارزیابی شد.**

یافته ها: **عصاره اتانولی گیاه گل میمونی در هر دو روش آگار دیفیوژن و ماکرودیلوشن بر روی باکتری *Ecoli O157:H7* دارای اثر مهاری داشته و عصاره آبی این گیاه فاقد فعالیت ضد میکروبی بود. مقدار MIC برابر ۹۰ mg/ml در حالی که مقدار MBC معادل ۱۰۰mg/ml بدست آمد.**

نتیجه گیری: **نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گیاه گل میمونی دارای اثر ضد میکروبی بوده و تحقیقات بیشتری برای شناسایی، تعیین مقدار و تخلیص ترکیبات موثره آن لازم است.**

واژه های کلیدی: *اشرشیا کلی O157:H7*، اثرات ضد میکروبی، گل میمونی.

مقدمه:

اختلالات گوارشی خصوصاً اسهال عامل مهم ابتلا و مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می باشند. *اشرشیاکلی* انتروهموراژیک یکی از شش گروه *اشرشیاکلی* های عامل اتیولوژیک اسهال می باشد. این باکتری سیتوتوکسین هایی تحت عنوان وروسیتوتوکسین یا توکسین های شبیه شیگا توکسین تولید می کنند که عامل کولیت هموراژیک می باشد (۱). این ارگانیسم برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ در یک خانه سالمندان واقع در اونتاریوی کانادا به عنوان عامل بیماری کولیت خونریزی دهنده گزارش گردید (۲،۱). گزارش هایی نیز از موارد اسپورادیک بیماری *اشرشیاکلی* خونریزی دهنده از سال ۱۹۸۲ به بعد موجود است (۳). ظهور اسهال خونی و تب بالا در عفونت حاصل از سروتیپ *اشرشیاکلی O157:H7* به عنوان پیش آگهی سندرم HUS (hemolytic uraemic syndrome) که معمولاً با اسهال و کم خونی همولیتیک، ترومبوسیتوپنی (Thrombocytopenia) و تخریب حاد کلیه همراه است می باشد (۳). انواع ساندویچ و همبرگر خوب پخته نشده

[1] ***نویسنده مسئول:*** *شهرکرد- رحمتیه- دانشکده پزشکی- گروه میکروب شناسی- تلفن: ۰۳۸۱-۳۳۳٤٦۹۱، E-mail:sharafati33@yahoo.com*

www.SID.ir

به عنوان عامل ایجاد بیماری شناخته شده اند. انسان ها به عنوان مخزن عمده (اگر تنها مخزن نباشند) برای سویه های *اشرشیاکلی* انتروتوکسین زا و مهاجم روده ای شناخته شده که این مخزن باعث آلودگی مواد غذایی از طریق تماس با وسایل آلوده عمل آوری و یا آب آلوده به مدفوع انسانی می گردد (۳). بر عکس در مورد سویه های خونریزی دهنده (O157:H7) حیوانات (گاو و شاید طیور، گوسفند و خوک) مخزن میکروب می باشند. لذا مواد غذایی با منشاء دامی ممکن است از طریق کشتار، آلوده و یا بعد از عمل آوری مجدداً آلوده شوند. از طرفی مقاومت آنتی بیوتیکی در تعداد زیادی از انسان های آلوده به *Ecoli O157:H7* بدست آمده است که از گوشت های آلوده نپخته و کم پخته استفاده نموده اند (۴). مرکز کنترل و پیشگیری بیماری ها تخمین زده که گونه *اشرشیاکلی O157:H7* سبب بیماری بیش از ۷۳۰۰۰ نفر و ۶۰ مورد مرگ در سال در آمریکا می باشد. آلودگی انسان با این باکتری در رابطه با آلودگی غذاها، آب، شیر خام، گیاهان و انتقال شخص به شخص است (۵).

گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) از تیره Scrophulariaceae می باشد که اکثراً علفی یا بوته ای و بندرت درختی، برگ های متناوب، متقابل یا فراهم، ساده و بدون گوشوارک، گل های پنج پر، زیگومورف، جام گل دارای لوب و میوه معمولاً بصورت کپسول دارای دانه های متعدد می باشند. از سرشاخه های مخلصه این گیاه به عنوان مقوی معده استفاده می شود (۶).

با توجه به اشارات متعدد مبنی بر اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی بومی ایران (۸،۷)، از جمله گیاه گل میمونی بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* (۹) و با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، در اثر مصرف داروهای ضد میکروبی جهت پیشگیری و درمان عفونت ها و همچنین عوارض جانبی و اثرات سوء متفاوت آنها، بررسی و تحقیق بر روی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی بر علیه عفونت های باکتریایی مورد توجه قرار گرفته است (۱۱،۱۰). در سال های اخیر بر جایگزین نمودن مواد طبیعی در کنترل و درمان عفونت ها و بیماری های مختلف به جای داروهای شیمیایی صناعی که دارای اثرات جانبی نامطلوب می باشند تاکید می گردد (۱۲،۹). گیاهان در مقابل حمله حشرات، جانوران علفخوار و میکروارگانیسم ها، موادی را سنتز می نمایند که اثرات ضد میکروبی آنها بخوبی شناخته شده است.

خواص ضد میکروبی بسیاری از عصاره های گیاهی به علت وجود موادی نظیر تانین ها، ترکیبات فنولی و نظایر آن می باشد (۱۳). تیره گل میمون ترکیباتی نظیر آلکالوئید، رزین گلیکوزید، ایریدوئید و کریپتوفیلیک اسید شناسایی شده (۱۵،۱۴) که این مواد معمولاً در قسمت های مختلف گیاهان نظیر ریشه، برگ، جوانه ها، نهال و پوست یافت می شوند.

عصاره بعضی ادویه جات خوراکی و گیاهان، مانند گیاه حرا، *Entada africana*، Terminalia avicennoides، Mitragina Stipulosa و Lannae acida قادر به جلوگیری و مهار بعضی پاتوژن های روده ای از جمله *E.coli O157:H7* می باشند (۹،۱، ۱۸-۱۶). از آنجایی که در غرب کشور ایران به صورت سنتی و بومی از جوشانده و دم کرده گیاه گل میمونی برای درمان عفونت های سطحی، عمقی و داخلی استفاده می شود (۹)، این تحقیق با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی این گیاه بر روی باکتری *E.coli O157:H7* به صورت آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی:

این مطالعه به صورت توصیفی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. جهت انجام این مطالعه از سویه استاندارد *اشرشیاکلی O157:H7* (ATCC43895) تهیه شده از شرکت مرک استفاده گردید. برای این منظور از کشت ۲۴ ساعته باکتری بر روی محیط ائوزین-متیلن- بلو آگار (EMB)، سوسپانسونی با کدورت معادل لوله ۰/۵ مک

Archive of SID

www.SID.ir

فارلند در نرمال سالین تهیه شد. در این شرایط تعداد باکتری ها حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml (Colony forming unit) می باشد. از این سوسپانسیون در مراحل بعدی آزمایش ها استفاده گردید (۱۹).

عصاره گیاه :

اندام های هوایی گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) از تیره گل میمون با نام محلی تشنه داری از دامنه های کوه های زاگرس (حاشیه شهر ایلام) در بهار سال ۱۳۸۷ جمع آوری و پس از شناسایی و تایید توسط مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان ایلام، هرباریوم تهیه گردید. مواد گیاهی جمع آوری شده پس از تمیز کردن، در سایه خشک شده و توسط آسیاب پودر گردید و در شرایط بهینه و مناسب نگهداری شد. برای تهیه عصاره آبی به ازاء هر گرم پودر ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در بشر ریخته و پس از جوش آمدن، پودر گیاه را اضافه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد، عصاره بدست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده وارد دستگاه روتاری (برای حذف حلال) گردید (۹). عصاره آبی با بازده ۱۵ درصد پس از فیلتراسیون (سرنگ میلی پور) با فیلتر های به قطر ۰/۴۵ میکرون در غلظت های مختلف به روش چاهک دیفیوژن - پلیت مورد آزمایش ضد میکروبی قرار گرفت. برای تهیه عصاره اتانولی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده گیاه با ۵۰۰ سی سی اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتیگراد) نگهداری شد و پس از حذف حلال توسط دستگاه روتاری، عصاره الکلی بدست آمده در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور به صورت پودر در آمد. پس از آن مقدار ۱ گرم از پودر عصاره الکلی گیاه را به ۵ سی سی از حلال دی متیل سولفاکساید (DMSO) اضافه نموده و به وسیله فیلتراسیون استریل گردید.

بررسی حساسیت میکروبی:

برای تعیین حساسیت میکروبی، از آنتی بیوتیک آمیکاسین به عنوان کنترل مثبت و حلال خالص دی متیل سولفاکساید (DMSO) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. برای اطمینان از تاثیر عصاره های آبی و اتانولی بر روی باکتری مورد نظر، باکتری با غلظت های متفاوت عصاره ها، تحت تاثیر قرار گرفت. برای این منظور دو چاهک در محیط کشت مولر هینتون آگار به قطر ۷ میلی متر ایجاد شد که پس از کشت باکتری از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند بر روی محیط، در یکی از چاهک ها آنتی بیوتیک آمیکاسین (غلظت ۳۰µg) و در چاهک دیگر عصاره گیاهی با غلظت های mg/ml ۴۰۰-۲۰۰-۱۰۰-۵۰-۲۰ اضافه شد. سپس پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند و نتایج بر اساس اندازه گیری قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره گیاهی، ثبت شد (کلیه آزمایش ها ۵ بار تکرار گردید) (۲۰).

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) :

آزمایش ها در دو مرحله طراحی و از روش اصلاح شده ماکرودایلوشن توصیه شده توسط NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) استفاده گردید (۲۱) بدین ترتیب که سوسپانسیونی با غلظت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند از باکتری در محیط TSB (Trypticase Soy Broth) تهیه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تحت تاثیر رقت های متوالی در محدوده غلظت از mg/ml ۲۰۰-۲۰ (۲۰-۴۰-۶۰-۸۰-۱۰۰-۱۲۰-۱۶۰-۲۰۰) قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت با مشاهده کدورت لوله ها، مقدار MIC تعیین شد. برای تعیین MBC، از لوله هایی که درآنها کدورت دیده نشد بر روی محیط کشت EMB کشت مجدد داده شد و با روش رقت های متوالی عمل شمارش کلنی صورت گرفت. اولین لوله ای که مقدار کاهش رشد تعداد باکتری ها نسبت به زمان صفر لوله شاهد، بیشتر از یک هزارم بود، به عنوان MBC انتخاب شد. گاهی اوقات غلظت MBC برابر با مقدار MIC است. در مرحله بعدی برای تعیین دقیق مقدار MBC، بین غلظت MBC و غلظت های پایین تر، غلظت های حد واسط نیز به طریق

Archive of SID

www.SID.ir

مشابه آزمایش گردید (۲۰). نتایج آزمایش های بدست آمده از نظر آماری به صورت توصیفی با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته ها :

بر اساس روش چاهک دیفیوژن - پلیت نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) بر رشد باکتری *Ecoli O157:H7* در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/ml دارای اثر مهاری به ترتیب با میانگین هاله عدم رشد ۰/۸±۱۲، ۰/۸±۱۴ و ۰/۸±۱۶ میلی متر بود، لیکن هاله عدم رشد توسط هیچکدام از غلظت های عصاره آبی گیاه مشاهده نگردید و عصاره آبی این گیاه در این مطالعه فاقد فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری *Ecoli O157:H7* بود. نتایج حاصل از تعیین مقدار MIC نشان داد که در غلظت ۹۰mg/ml بعد از گذشت ۲۴ ساعت هیچ گونه کدورتی مشاهده نشد. همچنین مقدار MBC برابر غلظت ۱۰۰mg/ml بود.

بحث:

در سال های اخیر توجه زیادی به *اشرشیا کلی O157:H7*، به عنوان شایع ترین عامل سندرم HUS شده است. بیماری های کولیت خونریزی دهنده و TTP (Thrombotic Thrombocytopenia Purpura) را نیز در انسان بوجود آورده و می تواند از طریق فرآورده های خام دامی همانند گوشت (گاوها به عنوان مخزن اولیه) در آلودگی انسانها موثر باشد (۲۲،۳). به منظور بررسی و مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) بر روی باکتری *Ecoli O157:H7*، ابتدا عصاره های آبی و اتانولی اندام های هوایی گیاه با روش چاهک- دیفیوژن- پلیت مورد آزمایش قرار گرفت که هیچ گونه اثر مهاری از عصاره های آبی گیاه در برابر باکتری *Ecoli O157:H7* مشاهده نگردید و عصاره آبی این گیاه فاقد فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری *Ecoli O157:H7* بود. لیکن عصاره اتانولی گیاه در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/ml بر رشد باکتری اثر مهارکنندگی داشت.

در مطالعه ای که در دانشگاه علوم پزشکی ایلام انجام شده اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *Scrophularia striata* بر روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار گرفته و این گونه نتیجه گرفته اند که عصاره آبی بدست آمده از این گیاه می تواند بعنوان فرآورده ای آنتی سپتیک در درمان عفونت های خارجی حاصله از این دو میکروارگانیسم استفاده گردد (۹). در مطالعه حاضر نیز اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *Scrophularia striata* به اثبات رسید با این تفاوت که عصاره آبی این گیاه بر خلاف عصاره اتانولی بر روی *اشرشیاکلی O157:H7* موثر نبود که نشان دهنده این است که مواد موثره ضد میکروبی علیه *اشرشیاکلی O157:H7* توسط حلال اتانول استخراج گردیده است.

در یک مطالعه دیگر اثرات ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی پوست چهار گیاه *Entada Africana*، *Terminalia avicennoides*، *Mitragina Stipulosa* و *Lannae acida* بر روی ۱۰ سویه *اشرشیاکلی آنتروهموراژیک* (*E.coli O157: H7*) بررسی گردیده و میزان MIC برابر ۱/۵۶ تا ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر و میزان MBC برابر ۶/۲۵ تا ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر گزارش گردید (۱). همچنین در مطالعه دکتر سعید تاجبخش و همکاران، اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه حرا (*Avicennia marina*) بر روی سه سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی و میزان MBC به ترتیب ۷/۹، ۸/ ۱۵و ۳۳/۸ mg/ml گزارش گردیده است (۱۸). در بررسی حاضر، میزان MIC برای میکروارگانیسم *Ecoli O157: H7* ۹۰ میلی گرم در میلی لیتر و میزان MBC برابر ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بود که نشاندهنده اثرات ضد میکروبی کمتر این گیاه نسبت به گیاهان فوق الذکر می باشد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش مقدار عصاره در تمام نمونه ها قطر هاله های ایجاد شده

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش یافته است. شاید این امر ناشی از افزایش حساسیت میکروبی *اشرشیاکلی O157: H7* در برابر مقادیر بالاتری از عصاره گیاهی و یا افزایش خاصیت ضد میکروبی عصاره در مقادیر بالا باشد. البته اثر مورد اشاره نمی تواند رابطه دارو – غلظت را، یعنی شکل خطی را به طور کامل توجیه کند، چرا که با افزایش مقاومت باکتریایی و تغییر سوش ها امکان اثر خطی به مسطح و حتی احتمالاً در غلظت های بالاتر ایجاد مقاومت سازگارتر (Adaptive resistance) وجود دارد. با این حال این نکته را باید اشاره کرد که با افزایش غلظت و افزایش اثر، در ایجاد سمیت نیز ممکن است افزایشی به وجود آید (۲۳،۹).

در مطالعات دیگری اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه *Silene multifida* و عصاره برگ درخت گردو بر روی باکتری های *باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا* و *کاندیدا آلبیکنس* نشان داده شده (۲۵،۲۴) و همچنین اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه *Peperomia tetraphylla* بر روی *کاندیدا آلبیکنس، اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار گرفته و امکان استفاده از این گیاه را در درمان التهاب مثانه (Cystitis) و عفونت های جلدی حاصل از باکتری های فوق پیشنهاد نموده است (۲۶). در بررسی حاضر نیز اثر عصاره *Scrophularia striata* بر روی *اشرشیاکلی O157: H7* مشاهده گردید که با توجه به احتمال وجود ترکیبات موثره بیولوژیکی در این گیاه، اثرات ضد باکتریایی آن امری معقول می باشد و می تواند مسیر را جهت بررسی اثرات ضد میکروبی این گیاه در مدل های حیوانی به منظور استفاده احتمالی در درمان انتریت های ناشی از این باکتری هموارتر سازد.

نتیجه گیری:

نتایج این تحقیق نشان می دهد که گیاه گل میمونی (*Scrophularia striata*) از ویژگی های ضد باکتریایی در شرایط in vitro برخوردار است و این یافته ها می تواند زمینه تحقیقات بیشتری را در آینده برای شناسایی، تعیین مقدار و تخلیص ترکیبات موثره آن در شرایط in vivo فراهم نماید.

تشکر و قدردانی:

از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تامین هزینه و امکانات و همچنین آقای دکتر سلیمان خیری مشاور آماری این طرح و آقای دکتر حسن ممتاز کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع:

1. Aboaba OO, Smith SI, Olude FO. Antibacterial effect of edible plant extract on *Escherichia coli O157:H7*. Pak J Nutr. 2006; 5(4): 325-7.

2. Kokal D. Viability of *Escherichia coli* on English Jglans regia. J Food Sci. 1965; 30(2): 325-32.

3. Razavilar V. [Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of food poisoning. 2nd ed. Tehran: Tehran University Pub. 2002; 84-90.]Persian

4. Galland JC, Hyatt DR, Crupper SS, Acheson DW. Prevalence antibiotic susceptibility and diversity of *Escherichia coli O157: H7* isolates from a longitudinal study of beef cattle feedlots. Appl Environ Microbiol. 2001 Apr; 67(4): 1619-27.

5. Hussein HS. Prevalence and pathogenicity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products. J Anim Sci. 2007 Mar; 85(13 Supple): 63-72.

6. Azadbakht M. [Classification of medical plants. Tehran: Teimorzadeh Pub. 2000; p: 7-276.] Persian

7. Valnet J. Phytotherapy, treatment of disease by plants. Translated to Persian by: Emami A, Shams-Ardekani MR, Nekoei-naeini N. Tehran: Rahe-kamal Pub. 2002; p: 61-358.

Archive of SID

www.SID.ir

8.Zargari A. [Medicinal plants. 7th ed. Tehran: Tehran University Pub.1997; p: 14-59.]Persian

9.Abbasi N, Azizi Jalilian F, Abdi M, Saifmanesh M. [A comparative study of the antimicrobial effect of *Scrophularia striata Boiss*: extract and selective antibiotics against Staphylococcus aureus and Pesudomonas aeroginosa. J Med Plants. 2007; Suppl 1(6): 10-18.]Persian

10. Shirazi MH, Fazli MR, Sultan Dallal MM, Eshraghi S, Jamalifar H, Alamulhoda E. [A comparative study on the antimicrobial effect of some medicinal herbal extracts and selective antibiotics against the clinical isolates of *Helicobacter Pylori*. J Med Plants. 2003; 2(7): 53-60.]Persian

11. Nariman F, Eftekhar F, Habibi Z, Falsafi T. Anti-helcobacter pylori activities of six Iranian plants. Helicobacter. 2004 Apr; 9(2): 146-51.

12. Chalabian F, Norouzi H, Mossavi S. [A study of growth inhibitory effect of essential oils of seven species from different families on some kinds of microbes. J Med Plants. 2003; 2(7): 37-41.]Persian

13. Avijgan M, Saadat M, Nilforoosh Zadeh MA, Hafizi M. [Anti fungal effect of *Echinophora platyloba* extract on some common dermatophytes. J Med Plants .2006; 5(18): 10-16.]Persian

14. Tasdemir D, Brun R, Franzblau SG, Sezgin Y, Calis I. Evaluation of antiprotozoal and antimycobacterial activities of the resinglycosides and the other metabolites of Scrophularia cryptophila. Phytomedicine. 2008 Mar; 15(2): 209-15.

15. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi R, Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai J Pharm Sci. 2008; 32: 17-20.

16. Aboaba OO, Efuwape BM. Antibacterial properties of some Nigerian spices. Biochim Biophys Res Commun. 2001; 13: 183-8.

17. Kim S, Fung DY. Antibacterial effect of water soluble arrow root (puerariae radix) tea extracts on foodborne pathogens in ground beef and mushroom soup. J Food Prot. 2004 Sep; 67(9): 1953-56.

18. Taj-Bakhsh S, Mahmoud Pour M, Haghighi MA. [Anti-bacterial activity of Avicennia marina leaves extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeroginosa*. Iranian South Medical Journal. 2005; 1(8): 1-7.]Persian

19. Baron EJ, Finegold SM. Diagnostic microbiology. 8th ed. NewYork: Mosby Company; 1990. p: 171-86.

20. Baron EJ, Finegold SM. Methods for testing antimicrobial effectiveness, Baily & Scott`s diagnostic microbiology. 8th ed. NewYork: Mosby Company; 1994. p: 171-9.

21. National Commitee for Clinical Laboratory Standard. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard Order No M7-A2. 1990; 1-31.

22. Gansheroff LJ, O'Brien AD. *Escherichia coli O157:H7* in beef cattle presented for slaughter in the U.S. Higher prevalence rates than previously estimated. Proc Natl Acad Sci USA. 2000 Mar; 97: 2959-61.

23. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. 8th ed. Stanford: Appleton & Lang; 2002. p: 812-27.

24. Erturk O, Kati H, Yayli N, Demirbag Z. Antimicrobial properties of silene multifida (Adams) Rohrb. Plants extract. Turk J Biol. 2006; 30: 17-21.

25. Andradeb PB, Ferrerira ICFR, Ferreresc F, Bentoa A, Seabrab R, Estevinhoa L. Juglans regia leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of diffrent cultivars. Food Chem Toxicol. 2007; 45(11): 2287-95.

26. White I, Oshima L, Leswara ND. Antimicrobial activity and micropropagation of Peperomia tetraphylla. Med Biol Sci. 2007; 1(1): 1-7.

Archive of SID

www.SID.ir