

## اثرات متقابل ضد باکتریایی اسانس رزماری و اسانس اسطوخودوس روی دو باکتری گرم مثبت و سه باکتری گرم منفی در محیط آزمایشگاهی

سلمان احمدی اسب چین<sup>۱\*</sup> و محمد جواد مصطفی پور<sup>۲</sup>



<sup>۱</sup> بابلرس، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

<sup>۲</sup> ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۳

### چکیده

اسانسهای روغنی نمونه بعد از خشک شدن گیاه در سایه، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شدند. اثرات ضد باکتریایی این گیاهان توسط روش انتشار از دیسک و تهیه رقت‌های متوالی ارزیابی شدند. به منظور کنترل و استاندارد بودن روش، از دیسک‌های آنتی بیوتیکی و سویه‌های استاندارد باکتریال استفاده شد. اثرات متقابل نشان داد که در رقت‌های ۱، ۱/۲ و ۱/۴ اثر بازدارنده گیاه اسطوخودوس بر روی پنج باکتری مختلف با هم نسبت به گیاه رزماری بیشتر و معنی دار است. مقایسه میانگین اثرات متقابل قطر هاله ممانعت از رشد بین باکتریها و رقت‌های دو گیاه نشان داد که رقت ۱ اسانسها بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری پروتئوس میرابیلیس دارد. همچنین مقایسه اثرات مختلف اسانسهای اسطوخودوس و رزماری روی پنج باکتری مختلف با یکدیگر نشان داد که رقت ۱، ۱/۲ و ۱/۴ اسانس اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری پروتئوس میرابیلیس نسبت به باکتریهای دیگر دارد و اثر بازدارندگی آن نسبت به گیاه رزماری بیشتر و معنی دار بود. تعیین میزان MIC و MBC اسانس اسطوخودوس و رزماری نشان داد که اثر باکتریواستاتیک اسانسها روی باکتریها به جز باکتری انتروباکتر فکالیس مشابه است البته اثر باکتریوسایدی اسانسها روی تمام باکتریها بجز باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مشابه می باشد. نتایج روش انتشار از دیسک نیز در مقایسه با دیسک‌های آنتی بیوتیک جنتامایسین و استرپتومایسین، تأثیر این گیاه را درمقابل رشد پنج سویه مورد مطالعه نشان داد.

واژه های کلیدی: اسطوخودوس، رزماری، اثرات ضد باکتریال، اسانس

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۴۲، پست الکترونیکی: sa.ahmadi@umz.ac.ir

### مقدمه

جدید و آنتی بیوتیکهای مختلف به تدریج اثرات مضر این داروها ظاهر شدند و از دهه ۱۹۵۰ باکتریهای بیماریزای متعددی به آنتی بیوتیکها مقاومت نشان دادند که این مقاومت همچنان در حال گسترش است (۱ و ۳۱). بنابراین بهره گیری از داروهای گیاهی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی بیوتیکها مورد بررسی قرار گرفت که یکی از این گیاهان تیره نعناع (Labiatae) است که در حال حاضر انجمنهای گیاه شناسی معتبر جهان این تیره را با نام لامیاسه

طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها وسیله درمان محسوب می شدند و در عین حال مواد اولیه موجود در آنها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می گرفتند (۶). اوایل قرن بیستم پیشرفت علم شیمی و کشف سیستمهای پیچیده سنتز ترکیبات آلی منجر به توسعه صنعت داروسازی و جایگزینی داروهای صناعی به جای داروهای گیاهی گردید. اما همزمان با پیشرفت در تولید داروهای شیمیایی

رایج در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را احیاء 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 شیمیایی معرفی گردیده‌اند (۳ و ۳۳). رزماری گیاهی است از خانواده نعناع که به صورت درختچه‌های کوچک با دوام و دارای برگ‌های معطر و گل‌های کوچک آبی رنگ است. در ابتدای بهار و انتهای زمستان شکوفه می‌دهد. ارتفاع آن ۵۰ سانتیمتر الی ۱ متر است. ساقه‌های آن چوبی بوده، برگ‌های این گیاه سبز دائمی، متقابل، با کناره‌های برگشته باریک و دراز، نوک تیز و نسبتاً خشن هستند (۱۷). 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 فنلی به وفور در آن یافت می‌شود. از اسانس رزماری در لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود (۱۸). این گیاه حاوی اسانس، اولئورزین و تانن است. اسانس رزماری شامل ۱ و ۸ سینئول، پینن، کامفن، بورنیل استات، D-لیمونن، بورنئول، میرسن، ترپینئول، کامفن، لینالول کاریوفیلین و رزمارن است. دیگر مواد موجود در این گیاه اسید آمیرین، اپی- $\alpha$  کارنوزیک، کارنوزول، کریپتوتانشینون، اپی رزمانول، ایزورزمانول، نیبی‌ترین، رمادپال و اسید رزمارینیک هستند. به طوری که برگ‌ها حاوی ۲/۵-۵ درصد روغن فرار هستند. ماده اصلی روغن شامل هیدروکربن‌های مونوترپنه ( $\alpha$  و  $\beta$ ) پینن، کامفن، لیمونن، کامفر (۱۰-۲۰ درصد) بونئول، سینول، لینالول و وربونیل است. رزماری در واقع شامل مقادیر متغیری از مواد آروماتیک و فرار است. فلاونوئیدها، شامل دیوسمتین، دیوسمین، ژنکوآنین، لوتئولین، هیسپیدولین و آپی ژن هستند. سایر ترپنوئیدهای یافته شده در رزماری شامل تری ترپنوئیدهای اولئانولیک اسیدها و اورسولیک اسیدها و دی‌ترین کارنوزول است. فنلها در رزماری شامل کافئیک، کلروژنیک، لابیاتیک، نئوکلروژنیک و رزمارینیک اسید هستند. رزماری حاوی مقادیر زیادی از سالیسیلاتهاست

(Lamiaceae) می‌شناسند (۳۰). گونه‌های تیره نعناع تقریباً در سراسر جهان پراکنده‌اند و به طور خاصی در مناطق مدیترانه‌ای تجمع دارند. جنس‌های اسطوخودوس (*Lavandula*)، آویشن (*Thymus*)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و رزماری (*Rosmarinus*) از گیاهان اصلی متعلق به منطقه مدیترانه‌ای بوده و در نواحی آفریقا و هند وجود دارد (۲). در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در زمینه اثرات بازدارندگی مواد طبیعی در برابر میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته است. در این رابطه استفاده از ترکیباتی که برای انسان غیرسمی بوده و اثرات جانبی نداشته باشد ضروری است. اسانس‌ها ترکیب‌های معطری هستند که در اندام‌های مختلف گیاه یافت می‌شوند. به علت تبخیر این ترکیب‌ها در اثر مجاورت با هوا و در درجه حرارت عادی، آنها را روغن‌های اتری، روغن‌های فرار و یا روغن‌های اسانسی نیز می‌نامند (۱۸). اسطوخودوس، گیاهی علفی یکساله بوده و به صورت بوته‌های کوچک دیده می‌شود (۱۰). از اسانس‌های روغنی این گیاه جهت مصارف درمانی-آرایشی استفاده می‌شود و اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدقارچی، شل‌کنندگی، آرامبخشی، ضد افسردگی داشته و جهت التیام سوختگی و نیش حشرات کاربرد دارند (۴). اسانس روغنی این گیاه حاوی مواد آلدئید یا فنل دی‌ترین‌الکل است که بالاترین خاصیت ضد میکروبی را دارد که ترکیب‌های مشابه آن را از برگ‌های لاوندولا جدا نموده‌اند (۲۰ و ۳۰). تحقیقات سال ۱۹۹۵ اسپانیا نشان داد که قسمت‌های هوایی گیاه اسطوخودوس نسبت به سایر بخش‌های گیاه اثر ضد میکروبی قوی تری دارد (۲۹). البته مشخص شده که برگ این گیاه علاوه بر دی‌ترین، حاوی مقادیر زیادی الکل‌های حلقوی، فلاونوئیدها و اسیدهای آلی مثل کارنوزیک اسید و ساپونین است که در این بین ساپونین‌ها خاصیت ضد باکتریایی مؤثری دارند (۲۱). 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

آن به مدت ۵ ساعت بعد از تقطیر، جمع‌آوری شد و پس از آب‌گیری با سولفات سدیم و حل شدن در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) اسانس گیاه جهت بررسی‌های ضدباکتریایی مورد استفاده قرار گرفت (۹ و ۲۴).

**سویه های میکروبی:** سویه های استاندارد باکتریهای مورد آزمایش در این تحقیق از گروه میکروب‌شناسی مؤسسه سرم‌سازی رازی کرج توسط دانشکده پیراپزشکی دانشگاه ایلام تهیه شد. این سویه ها شامل: *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 1885 ، *اشرشیا کلی* ATCC 1652 ، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* ATCC 2405 ، *انتروکوکوس فکالیس* ATCC 2321 و *پروتئوس میرابیلیس* ATCC 2601 است.

**تهیه سوسپانسیون میکروبی:** از تمام سویه ها در محیط کشت مایع مولر هیتون براث سوسپانسیون میکروبی تهیه شد به این صورت که برای هر سری آزمایش کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه شد برای این کار یک لوپ از هر میکروب در ۵ cc محلول محیط کشت فوق‌تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سوسپانسیون میکروبی با افزودن نرمال سالین ۰/۹ درصد کدورت آن با محلول ۰/۵ مک فارلند مقایسه و تنظیم شد، سپس از این سوسپانسیون میکروبی برای تلقیح در محیط کشت مولر-هیتون آگار استفاده گردید (۲۳).

**بررسی خاصیت ضد باکتری اسانس:** برای تعیین حساسیت کیفی و کمی از سوسپانسیون تهیه شده استفاده شد در روش کیفی از انتشار در آگار به شیوه بانرکریبی استفاده شد که طی آن از سوسپانسیون میکروبی استاندارد شده به روش چمنی در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار کشت انجام شد و سپس برای بررسی خواص ضد باکتریایی، دیسکهای کاغذی بلانک (ساخت پادتن طب) با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلئیت روی آگار قرار داده شد و حدود ۲۰ میکرولیتر از رقتهای ۱، ۱، ۲، ۴، ۱ به ۸، ۱، ۱۶، ۱، ۳۲ و ۱ به ۶۴ اسانس در محلول

(۱۲، ۲۶، ۱۳ و ۱۹). در طب سنتی از این گیاه جهت اثرات ضد آسم، هضم‌کننده غذا، آرام‌بخش، برطرف‌کننده سردرد (۱۱) اختلالات گردش خون، افزایش قدرت بینایی، ضد رماتیسم (۳۳) و محرک حافظه (۸) استفاده می‌شود. همچنین اثرات فارماکولوژیکی متعددی از جمله اثر آنتی‌اکسیدانته (۲۶) تحریک فاکتور رشد عصبی (۲۵)، فعالیت ضد میکروبی و ضد ویروسی (۲۱) و مهار سمیت کبدی (۲۲) برای این گیاه گزارش شده است. مطالعه‌هایی که در چین صورت گرفته حاکی از استخراج موادی از گیاهان تیره نعناع است که خاصیت ضد میکروبی قوی از خود نشان داده است (۲۷ و ۲۹). در پژوهش کنونی خواص ضد باکتری اسانس اسطوخودوس و اسانس رزماری روی رشد ۵ باکتری گرم مثبت و گرم منفی با استفاده از روش دیسک‌گذاری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

## مواد و روشها

**استخراج اسانس‌های روغنی:** سرشاخه‌های برگ گیاه اسطوخودوس (*Lavandula stoechas*) و گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در بهار ۱۳۸۹ از اطراف کوه‌های استان ایلام جمع‌آوری شد. بعد از شناسایی و تأیید نام علمی دو گیاه توسط گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام بخش‌های هوایی در مرحله گل‌دهی هر یک از آنها در محلی تاریک و خشک نگهداری و به طور کامل خشک شدند پس از خشک کردن جهت استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفتند. اسانس روغنی اسطوخودوس مایعی زرد رنگ یا زرد مایل به سبز و اسانس روغنی رزماری، مایعی زرد رنگ یا زرد روشن و دارای بوی مطبوعی بود به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شدند. در هر بار اسانس‌گیری، یکصد گرم از بخش‌های هوایی هر گیاه به صورت پودر شده در بالون یک لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقداری آب که ۴ تا ۶ برابر وزن گیاه بود، برای نرم شدن بافت‌های گیاه به آن اضافه گردید. سپس اسانس موجود در

**آنالیز آماری:** بررسی خواص ضد میکروبی در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم افزار SAS و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان ۹۹ درصد استفاده شد.

## نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط (جدول ۱) نشان داد که اثر گیاه، باکتری و رقت‌های مختلف و همچنین اثر متقابل بین گیاه و باکتری، گیاه و رقت‌های آن، باکتری و رقت، همینطور اثرات متقابل بین گیاه، باکتری و رقت‌ها در سطح یک درصد معنی دار می‌باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات متقابل بین دو گیاه، باکتری و رقت‌ها

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
گیاه	۱	۷۱/۵۵**
باکتری	۴	۱۰۵/۶۲**
رقت	۸	۸۹۰/۵۴**
گیاه* باکتری	۴	۲۱/۰۹۶**
گیاه* رقت	۸	۱۸/۴۵**
باکتری* رقت	۳۲	۵۲/۴۹**
گیاه* باکتری* رقت	۳۲	۷/۷۸**
خطا	۱۸۰	-
کل	۲۶۹	-
ضریب تغییرات	۸/۳۴	-

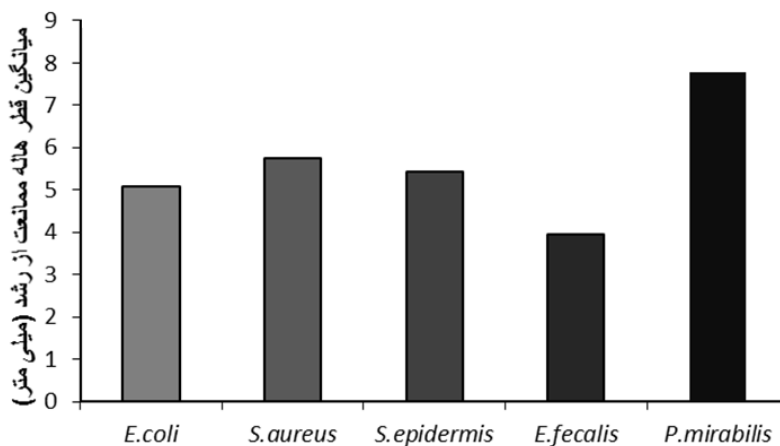
\*\* عدم تشابه حروف به معنای معنی دار بودن آنها است

**تأثیر اثرات متقابل دو گیاه و رقت‌های مختلف دو اسانس**  
بر هر یک از باکتریها: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از اثرات متقابل دو گیاه اسطوخودوس و رزماری و همچنین اثرات متقابل بین رقت‌های مختلف دو اسانس اسطوخودوس و رزماری (به استثنای رقت‌های ۱ به ۱۶ و ۱ به ۳۲) برای پنج باکتری مختلف معنی دار است (جدول ۱، نمودارهای ۱ و ۲). بررسی اثرات متقابل قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از تأثیر دو گیاه و رقت‌های مختلف دو اسانس و آنتی

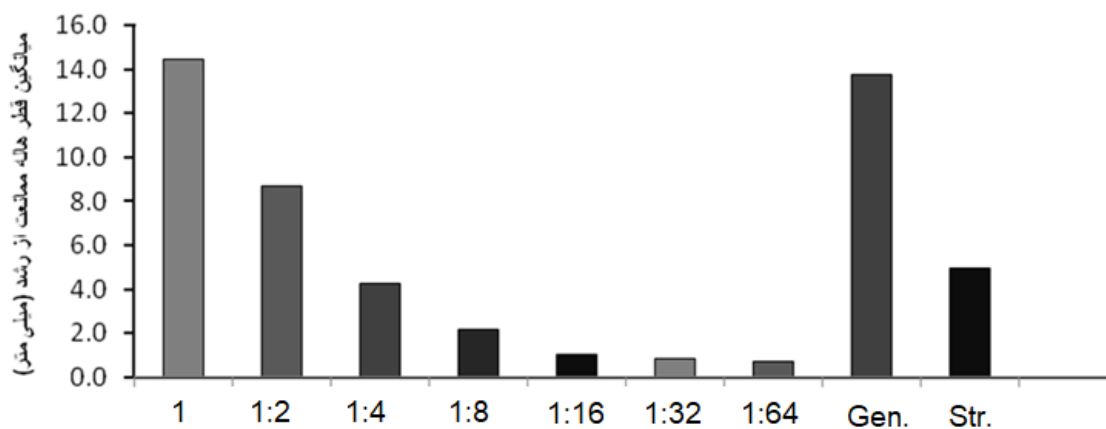
DMSO، روی دیسکها اضافه شد، از دیسکهای آنتی بیوتیک جنتامایسین و استرپتومایسین با غلظت ۱۰ µg/ml به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس محیطهای کشت حاوی باکتریها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس با اندازه گیری قطر هاله های تشکیل شده در اطراف صفحه ها، نتایج مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آنتی بیوتیکها را با جداول استاندارد CLSI مقایسه گردید جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت‌های مختلف اسانس و آنتی بیوتیکها این آزمایشها برای هر سویه باکتریایی سه بار تکرار شد. همچنین آزمایشهای کمی برای تعیین حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشنده اسانسها انجام شد به این ترتیب آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش برات میکرودايلوشن انجام شد (۳۲). ابتدا از مولر هینتون برات (مرک آلمان) ۱۰۰ µl داخل چاهکهای مربوط به رقت‌های مورد نظر میکروپلیت ریخته شد. سپس به اولین چاهک ۱۰۰ µl اسانس اضافه گردید و از خانه دوم و سوم به همین ترتیب تا خانه هفتم رقیق شدند در آخر به همه چاهکهای ۱۰۰µl سوسپانسیون رقیق شده معادل لوله نیم مک فارلند اضافه گردید بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به وسیله پایه پلیت -tray reading stand که به همین منظور ساخته شده، کف پلیت را زیر نور در آینه مشاهده گردید. وجود کدورت را که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری است، در جدول مخصوص یادداشت کرده طبق تعریف غلظت آخرین (رقیق ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده است معادل MIC قرار داده شد، خانه کنترل اسانس، محیط کشت و میکروب نیز جداگانه منظور شد. برای آزمایش MBC همه چاهکهای فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش گردید.

ترین رقت برای هر دو اسانس جهت بازدارندگی از رشد برای کلیه باکتریها است (نمودار ۱).

بیوتیکها روی هر باکتری و سپس مقایسه باکتریها با هم نشان داد که گیاه اسطوخودوس مناسب‌ترین گیاه، باکتری پروتئوس میرابلیس حساس‌ترین باکتری و رقت ۱ مناسب



نمودار ۱- مقایسه میانگین اثرات بین باکتریها



نمودار ۲- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل بین رقت‌های مختلف هر دو اسانس و آنتی بیوتیکها روی پنج باکتری: Gen=Gentamicin; Str=Streptomycin

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس. داشت که اثر متقابل آن نسبت به اثر بازدارندگی گیاه رزماری بر این باکتریها بیشتر بود و تفاوت آنها به جز در گیاه اسطوخودوس مؤثر بر باکتری اپیدرمیدیس و گیاه رزماری مؤثر بر استافیلوکوکوس اورئوس که اثر مشابه ای دارند با هم معنی دار است البته اثر بازدارندگی گیاه رزماری پس از پروتئوس میرابلیس به ترتیب بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اشرشیا کلی بود. همان طور که ذکر شد اثر گیاه رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس با اثر گیاه اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

مقایسه میانگین اثرات متقابل بین دو گیاه و پنج باکتری مختلف با یکدیگر: آنالیز داده ها نشان داد که گیاه اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری پروتئوس میرابلیس داشته است و همچنین اثر متقابل آن نسبت به اثر بازدارندگی گیاه رزماری بر باکتری پروتئوس میرابلیس و باکتریهای دیگر بیشتر است البته هر دو گیاه بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری پروتئوس میرابلیس دارد و تفاوت آنها با هم و دیگر باکتریها معنی دار بود پس از آن گیاه اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و

اسطوخودوس و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین که اثر مشابه ای با هم دارند بیشترین اثر بازدارندگی را نسبت به رقت ۱ به ۴ اسانس رزماری داشته است که تفاوت آن‌ها با هم معنی‌دار بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۸ اسانس اسطوخودوس و رزماری با هم مشابه و تفاوت معنی‌داری در آنها مشاهده نشد. آنالیز داده‌ها نشان داد که کمترین اثر بازدارندگی را رقت ۱ به ۱۶، ۱ به ۳۲ و ۱ به ۶۴ هر دو اسانس داشت که تفاوت آنها با هم معنی‌دار نبود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل قطر هاله عدم رشد بین دو گیاه و رقت‌های آنها

گیاه	رقتها	میانگین
اسطوخودوس	۱ (اسانس خام)	۱۶/۰۷ <sup>A</sup>
	۱ به ۲	۱۰/۷۳ <sup>E</sup>
	۱ به ۴	۴/۹۳ <sup>G</sup>
	۱ به ۸	۲ <sup>I</sup>
	۱ به ۱۶	۱ <sup>J</sup>
	۱ به ۳۲	۰/۸ <sup>J</sup>
	۱ به ۶۴	۰/۶۶ <sup>J</sup>
	جنتامیسین	۱۴/۲ <sup>B</sup>
	استرپتومایسین	۵ <sup>G</sup>
	رزماری	۱ (اسانس خام)
۱ به ۲		۶/۶۶ <sup>F</sup>
۱ به ۴		۳/۵۳ <sup>H</sup>
۱ به ۸		۲/۳۳ <sup>I</sup>
۱ به ۱۶		۰/۹۳ <sup>J</sup>
۱ به ۳۲		۰/۸ <sup>J</sup>
۱ به ۶۴		۰/۸ <sup>J</sup>
جنتامیسین		۱۴/۲ <sup>B</sup>
استرپتومایسین		۵ <sup>G</sup>

مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس دو گیاه بر مهار رشد پنج باکتری مختلف بایکدیگر: آنالیز داده‌ها نشان داد که رقت ۱ (اسانس خام) اسانسها بیشترین اثر بازدارندگی را بر پروتئوس میرابلیس داشته است که تفاوت آن با دیگر باکتریها معنی‌دار بود پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب استافیلوکوکوس اورئوس،

مشابه بود. پس از آن گیاه اسطوخودوس و رزماری بر باکتری انتروباکتر فکالیس کمترین اثر بازدارندگی داشتند اما اثر متقابل بازدارندگی گیاه رزماری نسبت به گیاه اسطوخودوس بر انتروباکتر فکالیس بیشتر بود و تفاوت آنها با همدیگر و با باکتریهای دیگر معنی‌دار بود (جدول ۲ و نمودار ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل بین دو گیاه و باکتریها

گیاه	سویه باکتری	میانگین
اسطوخودوس	شرشیا کلی	۶ <sup>C</sup>
	استافیلوکوکوس اورئوس	۶/۱۸۵ <sup>BC</sup>
	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۵/۵۹ <sup>D</sup>
	انتروکوکوس فکالیس	۳/۸۵۱ <sup>G</sup>
	پروتئوس میرابلیس	۹/۱۸ <sup>A</sup>
	شرشیا کلی	۴/۱۸۵ <sup>F</sup>
	استافیلوکوکوس اورئوس	۵/۷۴ <sup>D</sup>
	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۵/۲۹ <sup>E</sup>
	انتروکوکوس فکالیس	۴/۰۷ <sup>FG</sup>
	پروتئوس میرابلیس	۶/۳۷ <sup>B</sup>
رزماری	شرشیا کلی	۶ <sup>C</sup>
	استافیلوکوکوس اورئوس	۶/۱۸۵ <sup>BC</sup>
	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۵/۵۹ <sup>D</sup>
	انتروکوکوس فکالیس	۳/۸۵۱ <sup>G</sup>
	پروتئوس میرابلیس	۹/۱۸ <sup>A</sup>
	شرشیا کلی	۴/۱۸۵ <sup>F</sup>
	استافیلوکوکوس اورئوس	۵/۷۴ <sup>D</sup>
	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۵/۲۹ <sup>E</sup>
	انتروکوکوس فکالیس	۴/۰۷ <sup>FG</sup>
	پروتئوس میرابلیس	۶/۳۷ <sup>B</sup>

مقایسه میانگین اثرات متقابل بین دو گیاه در رقت‌های مختلف بر مهار رشد پنج باکتری با هم: مقایسه میانگین

اثرات متقابل و تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد که رقت ۱ اسانس اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را بر پنج باکتری مختلف نسبت به سایر رقت‌ها و آنتی‌بیوتیکها داشته و همچنین اثر متقابل بازدارندگی آن نسبت به رقت ۱ اسانس گیاه رزماری و دیگر باکتریها بیستر و معنی‌دار بود. ولی پس از آن رقت ۱ اسانس گیاه رزماری بیشترین اثر بازدارندگی را بر پنج باکتری مختلف نسبت به سایر رقت‌های دیگر هر دو اسانس به جز آنتی‌بیوتیک جنتامیسین دارد. مقایسه میانگین قطر هاله ممانعت از رشد و تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد که رقت ۱ به ۲ از اسانس اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را نسبت به رقت ۱ به ۲ اسانس رزماری بر پنج باکتری و رقت‌های دیگر و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین داشته که تفاوت آنها با هم معنی‌دار بود. آنالیز داده‌ها نشان داد که رقت ۱ به ۴ اسانس

باکتریهاست که تفاوت آن‌ها با هم و با دیگر باکتریها معنی دار بود اما رقت ۱ به ۸ بر روی باکتریهای پروتئوس میرابلیس و استافیلوکوکوس اورئوس اثر مشابه داشت که تفاوت آن با دیگر باکتریها معنی دار بود. در مورد رقت ۱ به ۱۶ بیشترین اثر بازدارندگی اسانسها بر روی انتروکوکوس فکالیس اشیریشیا کولی بیشتر از سایر باکتریها می‌باشد و تفاوت آنها هم با یکدیگر و هم با سایر باکتریها معنی دار بود اما رقت ۱ به ۱۶ بر سایر باکتریها تأثیری نداشت. آنالیز داده‌ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۳۲ به ترتیب بر روی انتروکوکوس فکالیس و اشیریشیا کولی و مؤثر بود و تفاوت آنها با یکدیگر و هم با دیگر باکتریها معنی دار بود. البته این رقت بر سه باکتری دیگر مؤثر نبودند.

آنالیز داده‌ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۶۴ به ترتیب بر روی اشیریشیا کولی و انتروکوکوس فکالیس مؤثر بود و تفاوت آنها با یکدیگر و هم با سایر باکتریها معنی دار بود. البته این رقت بر سه باکتری دیگر مؤثر نبودند. بررسی قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از تأثیر رقت‌های مختلف اسانسها بر روی هر باکتری و سپس مقایسه باکتریها با هم نشان داد که رقت ۱ مناسب‌ترین غلظت جهت بازدارندگی از رشد برای کلیه باکتریها می‌باشد.

مقایسه اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و رزماری اسانس خام با رقت ۱ به ۲ بر مهار رشد پنج باکتری: آنالیز داده‌ها نشان داد که رقت ۱ هر دو اسانس بیشترین اثر بازدارندگی را بر پروتئوس میرابلیس داشته است که تفاوت آن با دیگر باکتریها معنی دار بود. البته اثر بازدارندگی رقت ۱ اسانس اسطوخودوس بر پروتئوس میرابلیس نسبت به اثر بازدارندگی رقت ۱ اسانس رزماری بر پروتئوس میرابلیس بیشتر است و اختلاف معنی داری وجود دارد. پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب اسانس اسطوخودوس بر اشیریشیا کولی، اسانس رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس، اسانس اسطوخودوس بر

اشیریشیا کولی و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس داشت که تفاوت آنها به جز در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اشیریشیا کولی با همدیگر معنی دار بود (جدول ۴). با توجه به آنالیز آماری داده‌ها می‌توان اثر بازدارنده رقت اسانس را بر رشد باکتریها به صورت  $P. mirabilis > S. aureus > E. coli = S. epidermidis > E. faecalis$  با هم مقایسه کرد.

مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس دو گیاه در دو رقت ۱ به ۲ و ۱ به ۴ بر مهار رشد پنج باکتری: مقایسه میانگین قطر هاله ممانعت از رشد و تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد که رقت ۱ به ۲ اسانسها بیشترین اثر بازدارندگی را بر استافیلوکوکوس اورئوس و پروتئوس میرابلیس داشته که تفاوت آنها با هم و همچنین دیگر باکتریها معنی دار بود. پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب بر باکتریهای اشیریشیا کولی، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و انتروکوکوس فکالیس  $P. mirabilis > S. aureus > E. coli > S. epidermidis > E. faecalis$  داشت که تفاوت آنها هم با همدیگر معنی دار بود (جدول ۴).

آنالیز داده‌ها نشان داد که رقت ۱ به ۴ اسانسها بیشترین اثر بازدارندگی را بر پروتئوس میرابلیس و بعد از آن اشیریشیا کولی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس داشته است که تفاوت آنها بجز در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس  $P. mirabilis > E. coli > S. aureus > S. epidermidis = E. faecalis$  با همدیگر معنی دار بود. (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس دو گیاه در رقت ۱ به ۸ الی ۱ به ۶۴ بر مهار رشد پنج باکتری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۸ اسانسها در مورد، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروکوکوس فکالیس اشیریشیا کولی بیشتر از سایر

استافیلوکوکوس اورئوس، اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اورئوس، اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اسانس رزماری بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس/اسانس رزماری بر اشیریشیا کولی و اسانس اسطوخودوس و رزماری بر انتروکوکوس فکالیس داشت که تفاوت آنها به جز در انتروکوکوس فکالیس با همدیگر معنی دار بود (جدول ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل قطر هاله عدم رشد بین باکتریها و رقتهای دو گیاه

باکتری	رقتها	میانگین	باکتری	رقتها	میانگین
اشیریشیا کولی	۱ (اسانس خام)	۱۳/۵ <sup>F</sup>	استافیلوکوکوس اورئوس	۱ (اسانس خام)	۱۴/۶۷ <sup>E</sup>
	۲ به ۱	۷/۶ <sup>J</sup>		۱ به ۲	۱۱/۱۷ <sup>G</sup>
	۴ به ۱	۴/۵ <sup>M</sup>		۱ به ۴	۳/۶۷ <sup>N</sup>
	۸ به ۱	۳/۶۷ <sup>N</sup>		۱ به ۸	۰/۶۷ <sup>S</sup>
	۱۶ به ۱	۲/۸۳ <sup>OP</sup>		۱ به ۱۶	-
	۳۲ به ۱	۲/۳۳ <sup>PQ</sup>		۱ به ۳۲	-
	۶۴ به ۱	۲ <sup>QR</sup>		۱ به ۶۴	-
	جنتامیسین	۹/۸۳ <sup>H</sup>		جنتامیسین	۱۶/۸۳ <sup>B</sup>
	استرپتومایسین	-		استرپتومایسین	۶/۶۷ <sup>JK</sup>
	۱ (اسانس خام)	۱۳ <sup>F</sup>		انتروکوکوس فکالیس	۱ (اسانس خام)
۲ به ۱	۵/۵ <sup>L</sup>	۱ به ۲	۴/۳۳ <sup>M</sup>		
۴ به ۱	۳/۳۳ <sup>NO</sup>	۱ به ۴	۳/۳۳ <sup>NO</sup>		
۸ به ۱	۲/۵ <sup>PQ</sup>	۱ به ۸	۳/۱۶ <sup>NO</sup>		
۱۶ به ۱	-	۱ به ۱۶	۲/۱۶ <sup>QR</sup>		
۳۲ به ۱	-	۱ به ۳۲	۱/۶۷ <sup>R</sup>		
۶۴ به ۱	-	۱ به ۶۴	۱/۶۷ <sup>R</sup>		
جنتامیسین	۱۶ <sup>C</sup>	جنتامیسین	۱۱ <sup>G</sup>		
استرپتومایسین	۸/۶۷ <sup>I</sup>	استرپتومایسین	-		
۲ به ۱	۲۳ <sup>A</sup>	پروتئوس میرابلیس	۲ به ۱		-
۴ به ۱	۱۵/۳۳ <sup>D</sup>		۱ به ۴	-	
۸ به ۱	۶/۳۳ <sup>K</sup>		۱ به ۸	-	
۱۶ به ۱	۰/۸۳ <sup>S</sup>		۱ به ۱۶	-	
۳۲ به ۱	-		۱ به ۳۲	-	
۶۴ به ۱	-		۱ به ۶۴	-	
جنتامیسین	۱۵/۱۷ <sup>DE</sup>		جنتامیسین	-	
استرپتومایسین	۹/۳۳ <sup>H</sup>		استرپتومایسین	-	

دار بود. پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اورئوس، اسانس رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس، اسانس اسطوخودوس بر اشیریشیا کولی، اسانس رزماری بر پروتئوس میرابلیس اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اسانس رزماری بر اشیریشیا

مقایسه میانگینهای قطر هاله ممانعت از رشد و تجزیه و تحلیل داده ها مشخص کرد که رقت ۱ به ۲ از اسانس اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را بر پروتئوس میرابلیس و همچنین نسبت به اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۲ اسانس رزماری بر پروتئوس میرابلیس و باکتریهای دیگر داشته که تفاوت آنها با هم و همچنین دیگر باکتریها معنی



اپیدرمیدیس با اسانس اسطوخودوس مؤثر بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و همین‌طور برای اسانس اسطوخودوس و رزماری مؤثر بر اتروکوکوس فکالیس با همدیگر معنی‌دار بود (جدول ۵).

کولی و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اسطوخودوس و رزماری روی اتروکوکوس فکالیس داشت که تفاوت آنها هم به جز در اسانس اسطوخودوس مؤثر بر اشتریشیا کولی با اسانس رزماری مؤثر بر پروتئوس میرابلیس همچنین اسانس رزماری مؤثر بر اشتریشیا کولی و استافیلوکوکوس

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل قطر هاله عدم رشد بین گیاه، باکتری و رقتها

گیاه	باکتری	رقت	میانگین	گیاه	باکتری	رقت	میانگین
اسطوخودوس	اشتریشیا کولی	۱	۱۷/۳۳ <sup>D</sup>	اسطوخودو	استافیلوکوکوس	۱	۱۴/۳۳ <sup>GH</sup>
		۱ به ۲	۸/۶۲ <sup>N</sup>	س	اورئوس	۱ به ۲	۱۲/۶۷ <sup>I</sup>
		۱ به ۴	۵/۳۳ <sup>P</sup>			۱ به ۴	۴ <sup>QR</sup>
		۱ به ۸	۴/۳۳ <sup>Q</sup>			۱ به ۸	- <sup>Y</sup>
		۱ به ۱۶	۳ <sup>STU</sup>			۱ به ۱۶	- <sup>Y</sup>
		۱ به ۳۲	۲/۶۷ <sup>TUV</sup>			۱ به ۳۲	- <sup>Y</sup>
		۱ به ۶۴	۲ <sup>VWX</sup>			۱ به ۶۴	- <sup>Y</sup>
	جنتامیسین		۱۰/۶۷ <sup>K</sup>		جنتامیسین		۱۸ <sup>D</sup>
	استرپتومایسین		- <sup>Y</sup>		استرپتومایسین		۶/۶۷ <sup>O</sup>
	استافیلوکوکوس	۱	۱۳/۶۷ <sup>H</sup>	اتروکوکوس	فکالیس	۱	۸/۳۳ <sup>N</sup>
	اپیدرمیدیس	۱ به ۲	۵/۶۷ <sup>P</sup>			۱ به ۲	۴/۳۳ <sup>Q</sup>
		۱ به ۴	۳/۶۷ <sup>QRS</sup>			۱ به ۴	۳/۳۳ <sup>RST</sup>
		۱ به ۸	۲/۳۳ <sup>UVW</sup>			۱ به ۸	۳/۳۳ <sup>RST</sup>
		۱ به ۱۶	- <sup>Y</sup>			۱ به ۱۶	۲/۳۳ <sup>UVW</sup>
		۱ به ۳۲	- <sup>Y</sup>			۱ به ۳۲	۱/۳۳ <sup>X</sup>
		۱ به ۶۴	- <sup>Y</sup>			۱ به ۶۴	۱/۳۳ <sup>X</sup>
	جنتامیسین		۱۶/۳۳ <sup>E</sup>		جنتامیسین		۱۱/۶۷ <sup>KL</sup>
	استرپتومایسین		۸/۶۷ <sup>N</sup>		استرپتومایسین		- <sup>Y</sup>
	پروتئوس	۱	۲۶/۶۷ <sup>A</sup>				-
	میرابلیس	۱ به ۲	۲۲/۳۳ <sup>B</sup>				-
		۱ به ۴	۸/۳۳ <sup>N</sup>				-
		۱ به ۸	- <sup>Y</sup>				-
		۱ به ۱۶	- <sup>Y</sup>				-
		۱ به ۳۲	- <sup>Y</sup>				-
		۱ به ۶۴	- <sup>Y</sup>				-
	جنتامیسین		۱۵/۶۷ <sup>EF</sup>		جنتامیسین		-
	استرپتومایسین		۹/۶۷ <sup>LM</sup>		استرپتومایسین		-

ادامه جدول ۵-مقایسه میانگین اثرات متقابل قطر هاله عدم رشد بین گیاه، باکتری و رقتها

گیاه	باکتری	رقت	میانگین	گیاه	باکتری	رقت	میانگین
رزماری	اشریشیا کولی	۱	۹/۶۷ <sup>LM</sup>	رزماری	استافیلوکوکوس	۱	۱۵ <sup>FG</sup>
		۱/۲	۵/۶۷ <sup>P</sup>		اورئوس	۱/۲	۹/۶۷ <sup>LM</sup>
		۱/۴	۳/۶۷ <sup>QRS</sup>			۱/۴	۳/۳۳ <sup>RST</sup>
		۱/۸	۳ <sup>STU</sup>			۱/۸	۱/۳۳ <sup>X</sup>
		۱/۱۶	۲/۶۷ <sup>TUV</sup>			۱/۱۶	- <sup>Y</sup>
		۱/۳۲	۲ <sup>VWX</sup>			۱/۳۲	- <sup>Y</sup>
		۱/۶۴	۲ <sup>VWX</sup>			۱/۶۴	- <sup>Y</sup>
	جتنامیسین		۱۰/۶۷ <sup>K</sup>		جتنامیسین		۱۸ <sup>D</sup>
	استرپتومایسین		- <sup>Y</sup>		استرپتومایسین		۶/۶۷ <sup>O</sup>
		۱	۱۲/۳۳ <sup>II</sup>		انتروکوکوس	۱	۸/۳۳ <sup>N</sup>
	استافیلوکوکوس	۱/۲	۵/۳۳ <sup>P</sup>		فکالیس	۱/۲	۴/۳۳ <sup>Q</sup>
	اپیدرمیدیس	۱/۴	۳ <sup>STU</sup>			۱/۴	۳/۳۳ <sup>RST</sup>
		۱/۸	۲/۶۷ <sup>TUV</sup>			۱/۸	۳ <sup>STU</sup>
		۱/۱۶	- <sup>Y</sup>			۱/۱۶	۲ <sup>VWX</sup>
		۱/۳۲	- <sup>Y</sup>			۱/۳۲	۲ <sup>VWX</sup>
		۱/۶۴	- <sup>Y</sup>			۱/۶۴	۲ <sup>VWX</sup>
	جتنامیسین		۱۶/۳۳ <sup>E</sup>		جتنامیسین		۱۱/۶۷ <sup>KL</sup>
	استرپتومایسین		۸/۶۷ <sup>N</sup>		استرپتومایسین		- <sup>Y</sup>
		۱	۱۹/۳۳ <sup>C</sup>				-
	پروتئوس میرابلیس	۱/۲	۸/۳۳ <sup>N</sup>				-
		۱/۴	۴/۳۳ <sup>Q</sup>				-
		۱/۸	۱/۶۷ <sup>WX</sup>				-
		۱/۱۶	- <sup>Y</sup>				-
		۱/۳۲	- <sup>Y</sup>				-
		۱/۶۴	- <sup>Y</sup>				-
	جتنامیسین		۱۵/۶ <sup>EF</sup>		جتنامیسین		-
	استرپتومایسین		۹ <sup>MN</sup>		استرپتومایسین		-

استافیلوکوکوس / اپیدرمیدیس، اسانس رزماری بر اشریشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس و اسانس اسطوخودوس و رزماری بر انتروکوکوس فکالیس داشته است که تفاوت آنها به جز در اثر اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس / اپیدرمیدیس با اثر اسانس رزماری بر اشریشیا کولی همچنین اسانس رزماری مؤثر بر استافیلوکوکوس اورئوس با اسانس اسطوخودوس و رزماری مؤثر بر انتروکوکوس فکالیس با هم معنی دار بود. همچنین اثر بازدارندگی رقت

مقایسه اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و رزماری در رقت ۱ به ۴ الی ۱ به ۳۲ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: آنالیز داده ها نشان داد که رقت ۱ به ۴ از اسانس اسطوخودوس بیشترین اثر بازدارندگی را روی پروتئوس میرابلیس داشته بعد از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب اسانس اسطوخودوس بر اشریشیا کولی، اسانس رزماری بر پروتئوس میرابلیس، اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اورئوس و

واسانس رزماری و اسطوخودوس مؤثر بر باکتریهای دیگر معنی دار بود ولی رقت ۱ به ۶۴ اسانس اسطوخودوس و رزماری روی سایر باکتریها مؤثر نبودند. بررسی قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از تأثیر رقتهای مختلف اسانس اسطوخودوس و رزماری بر روی هر باکتری و سپس مقایسه باکتریها با هم نشان داد که رقت ۱ مناسب‌ترین غلظت جهت بازدارندگی از رشد برای کلیه باکتریها می‌باشد بنابراین در مراحل بعد برای مقایسه تأثیر ضد باکتریایی اسانس دو گیاه در رقتهای مختلف با تأثیر بازدارنده آنتی‌بیوتیک این رقت مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۳).

**مقایسه تأثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه در رقتهای مختلف با تأثیر بازدارنده آنتی‌بیوتیک:** تجزیه تحلیل آماری داده‌ها طبق جدول ۴ نشان داد که در مورد باکتری پروتئوس میرابلیس اثر بازدارندگی اسانس گیاه اسطوخودوس و رزماری در رقت ۱ بر پروتئوس میرابلیس به طور معنی‌داری از اثر بازدارندگی جنتامایسین و استرپتومایسین بر این باکتری بیشتر بود. در مورد باکتری اشیریشیا کولی، تأثیر بازدارنده رقت ۱ اسانس اسطوخودوس بیشتر از جنتامایسین و استرپتومایسین بود. در حالی که رقت ۱ اسانس رزماری کمتر از جنتامایسین بود و از استرپتومایسین که بر این باکتری اثر بازدارندگی نداشت، به طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۵). برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر بازدارندگی جنتامایسین از رقت ۱ هر دو اسانس به طور معنی‌داری بیشتر بود ولی به طور معنی‌داری از استرپتومایسین بیشتر بود. در مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس اثر بازدارندگی جنتامایسین از رقت ۱ هر دو اسانس به طور معنی‌داری بیشتر بود البته تأثیر رقت ۱ هر دو اسانس از استرپتومایسین که بر این باکتریها اثر بازدارندگی داشت، بیشتر بود (جدول ۵). همچنین آنالیز داده‌ها نشان داد در مورد باکتری انتروکوکوس فکالیس اثر بازدارندگی جنتامایسین از رقت ۱ هر دو اسانس به طور معنی‌داری

۱ به ۸ از اسانس اسطوخودوس در مورد اشیریشیا کولی بیشتر از سایر باکتریها می‌باشد بعد از آن به ترتیب اثر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس بر انتروکوکوس فکالیس، اسانس رزماری بر اشیریشیا کولی، انتروکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اسانس رزماری بر پروتئوس میرابلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بود که تفاوت آنها با هم بجز در اسانس رزماری بر انتروکوکوس فکالیس و اشیریشیا کولی معنی‌دار بود اما رقت ۱ به ۸ اسانس اسطوخودوس بر روی باکتریهای پروتئوس میرابلیس و استافیلوکوکوس اورئوس تأثیری نداشت. همچنین آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی رقت ۱ به ۱۶ اسانس اسطوخودوس بر روی اشیریشیا کولی و اسانس رزماری بر باکتری اشیریشیا کولی و انتروکوکوس فکالیس داشته که تفاوت آنها هم با یکدیگر و هم با سایر اسانسهای مؤثر بر این باکتریها و باکتریهای دیگر معنی‌دار بود اما رقت ۱ به ۱۶ اسانس اسطوخودوس و رزماری بر روی سایر باکتریها تأثیری نداشت. آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب اسانس اسطوخودوس روی اشیریشیا کولی، اسانس رزماری بر انتروکوکوس فکالیس و اسانس اسطوخودوس بر انتروکوکوس فکالیس داشته که تفاوت آنها هم با یکدیگر و هم با سایر اسانسهای مؤثر بر این باکتریها و باکتریهای دیگر معنی‌دار بود. البته این رقت اسانس اسطوخودوس و رزماری بر روی سایر باکتریها مؤثر نبودند.

**مقایسه اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و رزماری در رقت ۱ به ۶۴ بر مهار رشد پنج باکتری:** آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی را رقت ۱ به ۶۴ اسانس اسطوخودوس و اسانس رزماری بر اشیریشیا کولی داشته که تفاوت آنها به جز با هم با دیگر اسانسهای مؤثر بر باکتریهای دیگر معنی‌دار بود. بعد از آن رقت ۱ به ۶۴ اسانس اسطوخودوس بر روی انتروکوکوس فکالیس مؤثر بود که تفاوت آن با اسانس رزماری مؤثر بر این باکتری

جدول ۶- تعیین میزان حداقل غلظت مهارکننده رشد MIC حداقل

غلظت کشته‌شده رشد MBC		باکتری	گیاه
MBC	MIC		
۸ به ۱	۸ به ۱	اشرشیا کلی	اسطوخودوس
۴ به ۱	۴ به ۱	استافیلوکوکوس اورئوس	
۸ به ۱	۸ به ۱	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	
۸ به ۱	۱۶ به ۱	انتروکوکوس فکالیس	
۴ به ۱	۴ به ۱	پروتئوس میرابیلیس	
۸ به ۱	۸ به ۱	اشرشیا کلی	رزماری
۴ به ۱	۴ به ۱	استافیلوکوکوس اورئوس	
۴ به ۱	۸ به ۱	استافیلوکوکوس اپیدرمیس	
۸ به ۱	۸ به ۱	انتروکوکوس فکالیس	
۴ به ۱	۴ به ۱	پروتئوس میرابیلیس	

مطالعات محققین نشان می‌دهد، همه روزه مقاومت باکتریها در برابر آنتی‌بیوتیکها بیشتر می‌شود. تحقیق در مورد کشف مواد جدید با خواص ضد میکروبی قوی تر همپای افزایش مقاومت در باکتریها رو به گسترش است و از آنجا که اسانسها و عصاره گیاهی از دیر باز در درمان بیمارها مورد استفاده قرار می‌گرفتند به عنوان یک انتخاب مناسب برای این نوع تحقیقات به شمار می‌روند. اسانسهای گیاهی با اثرات ضد میکروبی بر روی طیف گسترده ای از ارگانیسرها و همچنین قابلیت مصارف غذایی آنها در برخی موارد و کمتر بودن اثرات جانبی آنها نسبت به آنتی‌بیوتیکها شونند (۲۹ و ۱۵). در راستای بررسی اثرات ضد میکروبی اسانسهای گیاهی، اثرات ضد میکروبی اسانس اسطوخودوس و رزماری که در مصارف غذایی و آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند، بر روی پنج باکتری مختلف به ویژه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس که هم ایجادکننده مسمومیت‌های غذایی است و هم یکی از باکتریهای مهم در ایجاد عفونتهاست مورد ارزیابی قرار گرفتند. به این صورت که اسانس اسطوخودوس و

بیشتر بود و تأثیر رقت ۱ هر دو اسانس از استرپتومایسین که بر این باکتری اثر بازدارندگی نداشت، بیشتر بود. (جدول ۵).

## بحث

همانگونه که نتایج این پژوهش نشان داد، اسانس گیاه اسطوخودوس و رزماری دارای خاصیت ضد باکتریایی هستند که این خصوصیت بسته به رقت اسانس و جنس باکتری متفاوت می‌باشد. به طوری که برحسب تجزیه تحلیل آماری داده‌ها نمودار ۲ نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس و رزماری بر روی باکتری پروتئوس میرابیلیس و کمترین اثر مطابق با نمودار روی باکتری انتروکوکوس فکالیس بود. همچنین اسانس گیاه اسطوخودوس و رزماری، در رقت ۱ به ۸ بر اشرشیاکلی اثر باکتریواستاتیکی ولی اثر باکتریوسیدال اسانس اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اپیدرمیس در رقت ۱ به ۸ اما اسانس رزماری در رقت ۱ به ۴ بود همین طور اثر باکتریواستاتیکی اسانس اسطوخودوس بر باکتری انتروکوکوس فکالیس در رقت ۱ به ۱۶ و اثر باکتریواستاتیکی اسانس رزماری در رقت ۱ به ۸ بود البته اثر باکتریوسیدال هر دو اسانس بر این باکتری در رقت ۱ به ۸ مشاهده گردید. در مورد باکتری پروتئوس میرابیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس، رقت ۱ به ۴ هر دو اسانس بر روی این باکتریها هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال است. اما اسانس گیاه رزماری، در رقت ۱ به ۸ بر اشرشیا کلی و انتروکوکوس فکالیس هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال داشت ولی اثر باکتریوسیدال رقت فوق بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس در رقت ۱ به ۴ مشاهده گردید. در مورد باکتری پروتئوس میرابیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس، رقت ۱ به ۴ هر دو اسانس بر روی این باکتریها هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال است. (جدول ۶).

آکنه برابر با ۰/۵۶ میلی گرم در میلی لیتر می باشد (۱۴). بر اساس نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که اسانس گیاهان لاواندولا و رزمارینوس روی اکثر باکتریهای مورد آزمایش مؤثر بود، در تحقیق پانیز و همکاران تأثیر عصاره روغنی چهار گیاه تیره نعناع روی تعدادی از باکتریها از جمله بعضی باکتریهای مورد استفاده در تحقیق حاضر بررسی شد (۳۶). آنها ابتدا گیاهان را از نظر شیمیایی تجزیه نمودند و سپس توسط روش کمی MBC و MIC آنها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق فوق با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت داشت و نشان دهنده تأثیر آن روی باکتریهای مورد آزمایش بود (۲۸). طبق تجزیه شیمیایی انجام شده ترکیب های ضد میکروبی این گیاهان به طور عمده شامل تیمول، فلاونوئیدها، تری ترپنوئیدها و دیگر ترکیب ها با ماهیت فنولیک یا گروه هیدروکسیل آزاد بود که همگی به عنوان فعال ترین ترکیب های ضد میکروبی شناخته شده اند و این ترکیب ها در گیاه مورد مطالعه این تحقیق نیز به فراوانی وجود دارند (۱). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری و اسطوخودوس بر اساس مکان برداشت و فصل جمع آوری قابل تغییر است. البته اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، پروتئوس و لگاریس، سودوموناس آئروجینوزا، کلبسیلا پنومونیه، انتروکوکوس فکالیس، اشرشیا کلی، کاندیدا آلیکنس و باسیلوس سوبتیلیس به اثبات رسیده است (۱۶، ۱۷ و ۲۴). نتایج به دست آمده از مصرف اسانس اسطوخودوس و رزماری نشان داد هرچه رقت افزایش می یافت تأثیر آنها کمتر می شد. وجود برخی تفاوتها در میزان اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه و تحقیقات مشابه می تواند به دلیل تفاوت مکانهای رشدی گیاهان تولیدکننده اسانسها، استفاده از روشهای مختلف برای استخراج و ... باشد. تفاوت در اثرات ضد میکروبی نشان دهنده تفاوت های موجود در ترکیبات اسانسها می باشد (۳۳، ۲۶ و ۲۵). محققین دیگری از کشور ایران نیز به اثرات مختلف

رزماری در رفتهای بالا بر رشد انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و اشرشیا کلی اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت که نشان دهنده اثر آنتی باکتریال قوی این اسانس به این باکتریها می باشد همین طور اسانس رزماری و اسطوخودوس بر استافیلوکوکوس اورئوس و پروتئوس میرابیلیس هم اثر باکتریوسیدال و هم باکتریواستاتیک داشت که اعداد نزدیک به هم MBC و MIC نیز نشان دهنده اثر قوی باکتریوسیدال اسانس این گیاهها بر این باکتریهاست. تغییر خاصیت ضد میکروبی اسانسها در رفتهای مختلف می تواند به دلیل تغییر مقدار ترکیبات فلاونوئیدی یا اشکال فعال آنها باشد (۱۹). حاج هاشمی و همکارانش با انجام آزمون های مختلف، اثر عصاره های آبی الکلی و پلی فنلی و نیز اسانس اسطوخودوس را به عنوان یک ماده ضد التهاب بررسی و اثبات کردند (۱۹ و ۲۱). با انجام آزمایشات کروماتوگرافی مشخص شد که گیاه اسطوخودوس دارای ۲۶ ماده مختلف می باشد که لینالیل استات و لینالول از جمله بیشترین مواد تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس می باشند (۲۴). لینالول دارای خواص بیولوژیکی متفاوت از جمله اثر آرام بخشی و آنتی اکسیدانی می باشد (۷ و ۱۳). همچنین بر اساس نتایج به دست آمده هاله عدم رشد اسانس رزماری بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلیتر بود و میزان MIC به دست آمده ۱/۴ بود. در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ انجام گردید، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر روی باکتریهای مختلف بررسی گردید و نشان داده شد که میزان هاله عدم رشد این اسانس بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۱۸ میلیتر و میزان MIC آن ۰/۱۲۵ و وزن به وزن است (۱۴). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر باکتریهای گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بررسی گردید (۳۰). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری روی باکتریها و قارچ ها نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی مؤثر این اسانسها می باشد. در تحقیقی نشان داده شد، که میزان MIC اسانس رزماری روی پروپیونی باکتریوم

و از آنجا که اثرات ضد باکتریایی اسانس اسطوخودوس در تحقیقات مختلف روی گونه‌های متعددی از باکتری‌ها به اثبات رسیده است، استفاده از آن در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های مقاوم توصیه می‌گردد (۲۸و۵).

عصاره‌ها بر باکتریها و اثرات درمانی انواع عصاره‌ها پرداختند (۲۲، ۲۷، ۲۶، ۲۷ و ۲۸).

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

## منابع

- ۱- بکائیان م، ر. فرازمنده، س. کی قبادی، س. سعید. ۱۳۹۴. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی سیر (*Allium sativum*) بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف. مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۸(۱): ۳۴-۴۱.
- ۲- نیری ف.د، م. میرحسینی، س. مفاخری، م.م. ضرابی. ۱۳۹۵. بررسی اثرات ضد باکتری و ضد قارچی نانوذرات نقره حاصل از عصاره آبی گیاه کنجد (*Sesamum indicum L.*). مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی، ۳۱(۱)، ۱۵۵-۱۶۵.
- 3- Adam, S.A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998. Antifungal activities of *Origarnum vulgare* subsp. *Hirtum*, *Mentah spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticose* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1739-1745.
- 4- Ali-Shatayeh, M.S., Yaghmour, R.M. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 265-271.
- 5- Arzi, A., Shafie, M. 2002. The effect of hydroalcoholic extract of *Melissa Officinalis* in prevention of convulsions induced by Nicotine in mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 4:18-22.
- 6- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- 7- Cavanagh, H.M., Wilkinson, J.M. 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16: 301-308.
- 8- Darshan, S. 2004. Patented antiinflammatory plant drug development from traditional medicine. *Phytotherapy Research*, 18: 343-357.
- 9- De Feo, V., Senatore, F. 1993. Medicinal plants and phytotherapy in the Amalfitan coast, Salerno province, Campania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 39: 39-51.
- 10- Dorman, D.S, Noble R.C. 1995. Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. *Journal of Essential Oil Research*, 7:645-651.
- 11- Fu, Y., Zu, Y., Chen, L.Y., Shi, X.G, Wang, Z., Sun, S., Efferth, T. 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*, 21: 989-994.
- 12- Geoffrey, A., McKay, S.B., Francis, F., Arhin, T., Adam, K., Belley, G., 2009. Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63:1191-1199.
- 13- Giorgio, S., Pintore, M.U., Pascale, B., Bradesi, K., Claudia, Y., Juliano, N. 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis L.* oils from Sardinia and Corsica. *Flavor and Fragrance Journal*, 17: 15-19.
- 14- Gislene, G.F., Nascimento, D., Juliana, L., Locatelli, G., Paulo, C., Freitas, G.L. 2007. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antimicrobial resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 247-256.
- 15- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B. 2003. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 67-71.
- 16- Heidari, M., Asadi-Pour, A., Sepehri, G., Atapour, N., Esmaili. 1999. Study of the analgesic effect of Pimpinella Anisum extract by Tail-Flick and Formalin test in mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 1:42-51.
- 17- Inouye, S., Yamaguchi, H., Takizawa, T. 2001. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay

- method. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 7: 251-254.
- 18- James, L., Luteyn, Jeffrey B., Harborne, C. and Williams, A. 1980. A Survey of the Flavonoids and Simple Phenols in Leaves of *Cavendishia* (Ericaceae). *Brittonia*, 32:1-16
- 19- Jawetz, E. and Melnick J.L. 1991. *Medical microbiology*. 19<sup>th</sup> ed. 145-155.
- 20- Kiasalari, Z., Khalili, M., Ahmadi, P. 2011. Effect of Alcoholic Extract of *Berberis Vulgaris* Fruit on Acute and Chronic Inflammation in Male Rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 13:28-35.
- 21- Kosaka, K., Yokoi, T. 2003. Carnosic acid, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26: 1620 - 1622.
- 22- Larrondo, J. V., Agut, M. and Calvo, T. M. 1995. Antimicrobial activity of essence from labiates. *Microbios*, 82:171-172.
- 23- Mahasneh, M. A. E. L., Oqlah, A.A. 1999. Antimicrobial activity of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 64:271-276.
- 24- Mahon, C.R., Manoselis, G. 2000. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. W.B Saunders Company., Chapter 3, 62 – 95.
- 25- Martinez-Lirola, M.J., Gonzalez-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J. 1996. Ethnobotanical resources in the province of Almeria, Spain: Campos de Nijar. *Economic Botany*, 50:40-56.
- 26- Matkowski, A. 2008. Plant in vitro culture for the production of antioxidants - A review. *Biotechnology Advances*, 26: 548-560.
- 27- Ozcan, M. 2003. Antioxidant activities of rosemary, sage, and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. *Journal of Medicinal Food*, 6: 267-270.
- 28- Panizze, L., Flamini, G., Cointi, P.T. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*. 39:167-170.
- 29- Roberts, R., Gilbert, J., Rodewald, L. 1974. *An introduction to modern experimental organic chemistry*. New York, Holt Rinehart Winston Inc, 215-220
- 30- Saleh, Abu-Lafi IO, Hasan K, Dewik T, Mohammed F, Qabajah LO, Hanus E. 2008. Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian *Majorana syriaca*. *Bioresource Technology*, 99:3914-3918.
- 31- Sotelo-Felix, J.I., Martinez-Fong, D., Muriel, P., Santillan, R.L., Castillo, D., Yahuaca, P. 2002. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 81:145-154.
- 32- Tiwari, R.P., Kaur, H.D., Dikshit, R., Hoondal, G.S. 2006. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. *Indian Journal of Medical Research*, 122: 80-186.
- 33- Toyoshi, U., Kimiyo, N., Hiroyasu, I., Kiyomi, K., Misao, S., Masatoshi, M. 2006. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 85:713-721.
- 34- Wagner, H., Ulrich-Merzenich, G. 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, 16:97-110.

## Anti-bacterial interactions Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and essential oils of lavender (*Lavandula stoechas*) on two Gram-positive and three Gram-negative bacteria *in vitro*

Ahmady-Asbchin S.<sup>1</sup> and Mostafapour M.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Molecular and Cell Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, Ilam University, Ilam, I.R. of Iran

### Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of lavender and rosemary essential oil has antibacterial. Essential oils samples were isolated after drying in the shade, water distillation with using Clevenger apparatus. The antibacterial effects of Han dilution preparation were evaluated by disc diffusion method. In order to standardize, the method of antibiotic disks and ATCC bacteria were used. Results showed that the interactions between plants and diluted in a dilution of 1, 1:2 and 1:4 deterrent effect of lavender plants on five different bacteria than the rosemary plant more meaningful. As the diameter of growth inhibition compared the interactions between bacteria and dilution of the plant showed the highest inhibitory effect on oil dilution 1 is *Proteus mirabilis* Comparison of the effects of essential oils of lavender and rosemary together on five different bacteria showed that dilution of 1, 1:2 and 1:4 lavender oil *Proteus mirabilis* maximum inhibitory effect on bacteria other than its deterrent effect Rosemary plant was the most significant. Determination of MIC and MBC of lavender and rosemary essential oils showed a bacteriostatic effect on bacteria than similar *Enterococcus faecalis*. The bactericidal effects on all bacteria, but bacteria *Staphylococcus epidermidis* essence is the same. Evaluation of disk diffusion method in comparison with antibiotic discs, the effect of the plant compared to gentamicin disk Streptomycin against five strains of five different bacteria showed. The results of this study and other studies show that the essence of medicinal plants can be used instead of chemical drugs to treat the infection.

**Key words:** *Lavender*, *Rosemary*, anti-bacterial, Oil *Proteus*