

اثرات ضد میکروبی روغن‌های فرار چند گونه گیاه دارویی بر باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس

مجتبی بنیادیان^{۱*}، عبدالله قاسمی^۲، فرشید فتاحی^۳

۱- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد

۳- دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد

*آدرس مکاتبه: شهرکرد، کیلومتر ۲ جاده سامان، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی صندوق پستی: ۱۱۵

تلفن و نمابر: ۴۴۲۴۴۲۷ (۰۳۸۱)

پست الکترونیک: Boniadian@vet.sku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۵

تاریخ تصویب: ۹۰/۵/۲۹

چکیده

مقدمه: کلستریدیوم پرفرنجنس از جمله عوامل باکتریایی بیماری‌زا در حیوانات می‌باشد از طرف دیگر این باکتری یکی از عوامل مهم مسمومیت‌های غذایی در انسان نیز است.

هدف: مطالعه حاضر برای بررسی اثر ضد میکروبی روغن‌های فرار گیاهان آویشن دنايي، گل راعی دیهیمی و انیسون بر باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

روش بررسی: پس از استخراج روغن‌های فرار از گیاهان به روش تقطیر با بخار آب، ابتدا به روش چاهک در محیط آگار مغذی و قرار دادن روغن‌های فرار گیاهان به طور خالص به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در چاهک، قطر منطقه ممانعت از رشد باکتری با کولیس اندازه‌گیری شد. در مرحله دوم به روش رقیق‌سازی در لوله حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) روغن‌های فرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: روغن‌های فرار گیاه انیسون تأثیری بر روی رشد و بقاء باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس نداشت، ولی MIC در ارتباط با روغن‌های فرار گیاهان آویشن دنايي و گل راعی دیهیمی برای باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس به ترتیب ۵ و ۱۵ درصد تعیین شد. در ارتباط با حداقل غلظت کشندگی، روغن‌های فرار آویشن دنايي و گل راعی دیهیمی به ترتیب در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ درصد موجب غیرفعال شدن باکتری شدند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان از روغن‌های فرار به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و یا به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی برای عفونت‌های ناشی از این باکتری استفاده کرد.

کل‌واژگان: کلستریدیوم پرفرنجنس، آویشن دنايي، گل راعی دیهیمی، انیسون، خاصیت ضد میکروبی



مقدمه

استفاده از گیاهان و ترکیبات آنها از زمان های گذشته برای درمان بیماری های مورد استفاده قرار گرفته است و اساس طب سنتی اغلب کشورها بر پایه استفاده از گیاهان پی ریزی شده است. امروزه با وجود پیشرفت های زیادی که در علوم دارویی صورت گرفته است نه تنها گیاهان و خواص درمانی آنها فراموش نشده است بلکه شاهد توجه روز افزون دانشمندان به خواص درمانی و نگهدارندگی گیاهان یا ترکیبات به دست آمده از آنها هستیم. از جمله دلایل این اقبال روزافزون به گیاهان طبیعی بودن آنها و پایین بودن عوارض نامطلوب نسبت به داروهای شیمیایی می باشد. از جمله ترکیبات گیاهی که بسیار مورد توجه محققان است روغن های فرار می باشند.

روغن های فرار ترکیبات پیچیده ای هستند که مخلوطی از استرها، الکل ها، آلدئیدها، ترپن ها و استن می باشند. این ترکیبات وزن مولکولی کمی دارند و تا اندازه ای در آب حل می شوند. تقطیر با آب، تقطیر با بخار آب و جداسازی با بخار از روش های مرسوم استخراج روغن های فرار است [۱].

آویشن دناپی با نام علمی *Thymus daenensis* گیاه آروماتیک از خانواده نعنائیان یا لابیاسه می باشد. ساقه در این گیاه حالت فیبری کوچک و در قسمت پایین به صورت چوبی است. تعداد ساقه گل دهنده در این گیاه ۲۵ تا ۶۰ عدد متغیر است. ارتفاع ساقه گل دهنده حداکثر تا ۳۰ سانتی متر می رسد. برگ ها معمولاً تخم مرغی کشیده و در نیمه پایین حالت پهن دارند. کاسه گل لوله ای تا استکانی است، جام گل به رنگ قرمز و ۵ تا ۶ میلی متر طول دارد. ترکیبات ضدباکتری عصاره گیاه را می توان به ۲ دسته فنولی و غیرفنولی تقسیم کرد. تیمول و کارواکرول از تشکیل دهنده های مواد فنولی و از تشکیل دهنده های غیرفنولی می توان به لینالول اشاره کرد. از آویشن دناپی در طب قدیم به عنوان ضدانگل، ضدنفخ، اشتها آور و آرام بخش استفاده می شد [۲].

انیسون یا بادیان رومی با نام علمی *Pimpinella anisum* گیاهی از تیره چتریان است. گیاهی یکساله، دارای ارتفاع ۳۰ تا

۶۰ سانتی متر، برگ های مرکب شانه ای و بسیار باریک و گل های سفید رنگ کوچک می باشد. از ترکیبات ضدباکتریایی می توان به الکل موجود در دانه های گیاه و ترکیبات مونوترپن، پلی استیلن و فیل پروناتوئید موجود در ریشه های کرک دار گیاه اشاره کرد. گیاه انیسون به عنوان ضداسپاسم، هضم کننده، افزایش شیر مادران و در درمان سرفه و سرماخوردگی کاربرد دارد [۳].

گل راعی دیهیمی با نام علمی *Hypericum scabrum* از خانواده گل راعی یکی از گیاهان دارویی مهم در قرن ۲۱ است به طوری که به این گیاه لقب بوته شفابخش نیز اطلاق می شود. گیاهی یک پایه، دارای برگ های متراکم، ساقه قرمز رنگ به ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتی متر و گل های زرد رنگ است. ترکیبات ضدباکتریایی گیاه شامل *Alphpinene Hyperforin* و *Acetaphonone Hypericin* می باشد. از این گیاه برای درمان افسردگی ها و سرطان و همچنین به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده در سوختگی ها استفاده می شود [۴].

کلستریدیوم ها مهم ترین باسیل گرم مثبت بی هوازی، اسپورزا، متحرک و اجرام میله ای نسبتاً بزرگ و چند شکلی می باشند. هاگ باکتری کروی و بیضی شکل و محل قرار گرفتن آنها معمولاً انتهایی و تحت انتهایی است. هاگ باکتری نه تنها در مقابل حرارت و مواد ضد عفونی کننده مقاوم است بلکه به مدت طولانی در حضور اکسیژن زنده می ماند. این جنس واجد بیش از ۸۰ گونه می باشد [۵].

آنتروتوکسمی ناشی از کلستریدیوم پرفرنژنس (*Clostridium perfringence*) یک عامل شایع مسمومیت غذایی در انسان می باشد. همچنین این باکتری بی هوازی در ایجاد گانگرن گازدار در انسان دخالت دارد، ولی اغلب اوقات با انواع دیگری از باکتری های این گروه مخلوط است و توأم این عارضه را ایجاد می کند [۶].

این باکتری پس از مرگ انسان و حیوانات، جزء اولین گروه باکتریایی است که به بافت های مختلف جسد هجوم می برد و موجب گندیدگی آن می شود. این باکتری به طور



سایه خشک و در نهایت به قطعات ۱ تا ۳ سانتی متری آسیاب شد.

میزان مشخصی از ماده خشک گیاهان به مدت ۲ ساعت در آب مقطر خیسانده شد و روغن‌های فرار آن به روش تقطیر با بخار آب (Distillation Steam) در شرایط خلا استخراج شد [۷]. در داخل بالن جهت جلوگیری از افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه سانتی‌گراد، دماسنج جیوه‌ای تعبیه شد. قابل ذکر است که با استفاده از تنظیم دمای هیتر با قرائت دماسنج و همچنین استفاده از پمپ خلا از افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه سانتی‌گراد و تخریب ساختمان روغن‌های فرار جلوگیری به عمل آمد. روغن‌های به دست آمده توسط فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرون سترون و تا قبل از اعمال تیمارهای آزمایشی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و در ظروف شیشه‌ای تیره نگهداری شدند (جدول شماره ۱).

آزمایش‌ها برای تعیین اثر ضد میکروبی روغن‌های فرار گیاهان بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس

روش چاهک: پس از انجام کشت باکتری بر روی پلیت حاوی آگار مغذی (Neutrient Agar) (مرک آلمان)، توسط پیت پاستور استریل چاله‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر ایجاد کرده و ۰/۱ میلی‌لیتر از روغن‌های فرار گیاه مورد نظر به طور خالص به چاهک اضافه شد. پس از قرار دادن پلیت‌ها داخل جار بی‌هوای به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری با کولیس اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها در این روش در سه تکرار انجام شد.

گسترده در خاک وجود دارد و جزئی از فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان و تقریباً تمام حیوانات خونگرم می‌باشد.

چهار گروه اصلی توکسین این باکتری شامل آلفا، بتا، اپسیلون و یوتا می‌باشد که اساس طبقه‌بندی کلستریدیوم پرفرنژنس، پنج تیپ مختلف از A تا E را تشکیل می‌دهند [۵]. مسمومیت ناشی از این باکتری در انسان و حیوانات درمان دارویی خاصی نداشته و بیشترین اقدامات به منظور پیشگیری از بروز این نوع مسمومیت صورت می‌گیرد. لذا استفاده از گیاهان یا ترکیبات آنها به عنوان مواد ممانعت‌کننده از رشد این باکتری در مواد غذایی می‌تواند به میزان زیادی از بروز این نوع از مسمومیت‌ها پیشگیری کند.

بر این اساس مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی روغن‌های فرار ۳ گونه گیاه دارویی و بومی استان چهارمحال و بختیاری شامل آویشن دناپی، انیسون و گل راعی دیهیمی بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس در شرایط آزمایشگاهی طراحی و به اجرا گذارده شد.

مواد و روش‌ها

روغن‌های فرار

سه گونه گیاهی شامل میوه انیسون به صورت محصول زراعی کشت شده از اطراف اصفهان در اوایل تابستان، اندام هوایی آویشن دناپی از منطقه قرق شده تنگه صیاد در استان چهارمحال و بختیاری و اندام هوایی گل راعی دیهیمی از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان در اوایل خرداد جمع‌آوری شدند. سپس به مدت یک هفته در شرایط

جدول شماره ۱ - میزان و مشخصات روغن‌های فرار به دست آمده از ۳ گونه گیاه آویشن دناپی، انیسون و گل راعی دیهیمی

عصاره	میزان	مشخصات
آویشن دناپی	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۰۰ گرم اندام هوایی	محلول زردرنگ با بوی نافذ مطلوب
انیسون	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۵۰ گرم اندام هوایی	محلول سفید و شیرین رنگ با بوی ملایم
گل راعی دیهیمی	۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر + ۱۵۰ گرم اندام هوایی	محلول قهوه‌ای رنگ با بوی تند و زننده



نتایج

نتایج آزمون‌ها در روش چاهک نشان داد که پس از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در شرایط بی‌هوازی، باکتری در سراسر محیط کشت آگار مغذی حاوی روغن‌های فرار گیاه انیسون رشد کرده و اطراف چاهک را کاملاً پوشانده بود، به طوری که هاله عدم رشد باکتری مشاهده نشد. ولی روغن‌های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری کلستریدیوم پرفرنزنس از خود نشان دادند و میانگین هاله عدم رشد باکتری برای روغن‌های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی به ترتیب به قطر $0/2 \pm 8/1$ و $0/15 \pm 6/3$ میلی‌متر بود (جدول شماره ۲).

نتایج آزمون‌ها برای تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده روغن‌های فرار نشانگر این بود که روغن‌های فرار گیاه انیسون حتی تا غلظت ۵۰ درصد نیز از رشد باکتری ممانعت نکرد ولی روغن‌های فرار گیاه آویشن دناپی در غلظت ۵ درصد از رشد باکتری ممانعت نمود و در غلظت ۲۰ درصد اثر کشندگی بر روی هاگ باکتری از خود نشان داد در صورتی که این نتایج برای روغن‌های فرار گل راعی دیهیمی به ترتیب برابر ۱۵ و ۴۰ درصد مشاهده شد (جدول‌های شماره ۳ و ۴).

بحث

گیاهان اولین ترکیباتی بودند که توسط انسان به عنوان دارو مورد استفاده قرار گرفتند و در طی زمان اثرات دارویی خود را به خوبی نشان دادند. در زمان حاضر نیز اگر چه ترکیبات دارویی متفاوت برای درمان بیماری‌ها کشف شده است ولی رویکرد جدیدی به اثرات دارویی گیاهان شده است. به خصوص اثرات ضد میکروبی گیاهان مورد اقبال بیشتری قرار گرفته به طوری که متخصصان میکروشناسی چه بالینی و چه مواد غذایی مطالعات متفاوتی را بر روی گیاهان مناطق مختلف انجام داده و به اثرات ضد میکروبی آنها اشاره نموده‌اند.

روش تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC):

برای به دست آوردن حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری هریک از روغن‌های فرار، از روش رقت‌سازی در لوله‌های آزمایش استفاده شد. تعداد ۳۰ عدد لوله آزمایش استریل در ۳ تکرار ۱۰ تایی در نظر گرفته شد و محیط کشت مایع تیوگلیکولات (Tioglycolate) (مرک آلمان) به میزان ۱ میلی‌لیتر به هر لوله آزمایش اضافه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر شیرابه حاوی باکتری به محیط کشت مایع تلقیح شد به نحوی که در هر میلی‌لیتر محیط 10^6 باکتری وجود داشته باشد. اولین لوله آزمایش در هر تکرار فاقد روغن‌های فرار گیاه بوده و به عنوان لوله شاهد برای رشد باکتری و میزان کدورت مورد بررسی قرار می‌گرفت.

از لوله دوم به بعد غلظت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان بر حسب درصد حجم به حجم از ۱ در صد اضافه شد و در جاربی‌هوازی برای مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت سری لوله‌ها از سمت لوله شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. غلظت اولین لوله فاقد کدورت که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) در نظر گرفته شد [۸].

روش تعیین حداقل غلظت کشنده (Minimum Bacteriocidal Concentration) (MBC):

محاسبه حداقل غلظت کشنده روغن‌های فرار گیاهان، از اولین لوله فاقد رشد باکتری به بعد، $0/1$ میلی‌لیتر برداشت کرده و بر روی محیط جامد آگار مغذی کشت داده شد و با قرار دادن پلیت‌ها در جاربی‌هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام گرفت.

پس از آن اولین پلیت فاقد پرگنه باکتری به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) که قادر است هاگ باکتری را غیرفعال کند، در نظر گرفته شد.

اطلاعات به دست آمده از آزمون‌ها توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج در غالب جدول‌ها به طور توصیفی آورده شده است.



جدول شماره ۲- نتایج تعیین حساسیت باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس توسط روغن‌های فرار گیاهان مورد مطالعه به روش چاهک

تکرار	گروه	قطر منطقه ممانعت از رشد باکتری (میلی متر)		
		شاهد	انیسون	گل راعی
۱		۰	۰	۵/۹
۲		۰	۰	۶/۲
۳		۰	۰	۶
میانگین $\pm$ انحراف معیار		۰	۰	$6/03 \pm 0/15$
				$8/1 \pm 0/2$

جدول شماره ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) رقت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان انیسون، آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی بر روی

باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس

روغن‌های گیاهان										
رشد باکتری در رقت‌های مختلف روغن‌های فرار (درصد)										
۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = رشد باکتری - = عدم رشد باکتری

جدول شماره ۴- حداقل غلظت کشندگی (MBC) رقت‌های مختلف روغن‌های فرار گیاهان انیسون، آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی بر روی باکتری

کلستریدیوم پرفرنژنس

روغن‌های گیاهان										
رشد باکتری در رقت‌های مختلف روغن‌های فرار (درصد)										
۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

+ = رشد باکتری - = عدم رشد باکتری

در یک بررسی توسط صادق‌زاده و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره آویشن با غلظت‌های ۱، ۲/۵ و ۵ درصد به روش دیسک منتشر بر روی رشد دو نوع باکتری سالمونلاپاراتیفی (A و B) با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد نشان داده شد [۱۰].

بنیادیان در مطالعات خود اثر ضد میکروبی عصاره روغنی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) را بر روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* در محیط آزمایشگاهی و همچنین در پنی‌ر به اثبات رسانید [۱۱، ۱۲].

طبق پژوهشی در ترکیه، اوزلم تورگی اثر ضد میکروبی عصاره ریشه‌های کرک دار گیاه انیسون را بر روی دو باکتری میکروکوکوس لوتئوس و مایکوباکتریوم اسمگماتوس مثبت ارزیابی کرد و آن را مربوط به ترکیب الکل تشکیل‌دهنده عصاره انیسون دانست [۹].

امروزه عصاره گیاهان انیسون به عنوان ضداسپاسم در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی عصاره میوه این گیاه با توجه به نتایج مطالعه حاضر هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی علیه باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس ندارد.



مایکوباکتریوم اسمگماتوس، لیستریا مونوسیتوزنز، کلبسیلا پنومونیا، استافیلوکوکوس آرنوس و پزودوموناس آئروژناز با هاله عدم رشد مشخص شد. شایان ذکر است ترکیب نیدروکسید سدیم موجود در عصاره بیشترین تأثیر ضد میکروبی علیه باکتری های مذکور را نشان می دهد [۴].

با توجه به نتایج مطالعه حاضر بر روی روغن های فرار گیاه گل راعی دیهیمی و آویشن دناپی، هر سه روش چاهک، حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC)، اثر ضد میکروبی روغن های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی را بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنزنس تأیید می کند به طوری که اثر ضد میکروبی آویشن دناپی بیشتر از گل راعی بود ولی روغن های فرار گیاه انیسون خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری مذکور نشان نداد. بر این اساس شاید بتوان از روغن های فرار گیاهان آویشن دناپی و گل راعی دیهیمی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی برای پیشگیری از مسمومیت و یا به عنوان یک ترکیب ضد عفونی کننده در عفونت های ناشی از باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس استفاده کرد. لذا پیشنهاد می شود مطالعات دیگری در محیط غذا و بافت های عفونی به منظور حصول اطمینان از اثرات ضد میکروبی روغن های فرار این گیاهان بر روی باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس طراحی و به اجرا گذارده شود.

تحقیقات نشان می دهد که تیمول، کارواکرول و پارا - سیمن موجود در عصاره آویشن خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه باکتری های استافیلوکوکوس آرنوس و میکروکوکوس دارند، همچنین ترکیب غیر فنولی لینالول موجود در عصاره گیاه خلال دندان (*Ammii visnaga*) بر روی باکتری های استرپتوکوکوس ویریدانس و لاکتوباسیلوس مؤثر است. (در گیاه آویشن در مرحله قبل از گلدهی ترکیبی به نام لینالول وجود دارد که دارای خاصیت ضد میکروبی است [۱۳].

رسولی اثر ضد میکروبی عصاره آویشن را به سه روش دیسک انتشاری، MIC و MBC بر روی باکتری های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس آرنوس، باسیلوس سوبتیلیس، کلبسیلا پنومونیا، پزودوموناس آئروژناز نشان داد. همچنین وی عنوان کرد که روغن های فنولی عصاره آویشن خاصیت ضد باکتریایی قابل توجهی دارند [۱۴].

اوزلم اردوقرول برای یافتن خواص ضد میکروبی عصاره گیاه گل راعی دیهیمی که در مناطق خاصی از ترکیه می روید با استفاده از گاز کروماتوگرافی ترکیبات اتیل استات، متانول، اتانول، اکوا، سدیم نیدروکساید، پیریدین، هایپریسین و هایپرفورین را از گیاه جداسازی کرد و در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش دیسک انتشاری خواص ضد باکتریایی عصاره گیاه بر روی ۱۷ گونه باکتری مورد بررسی قرار داد. در مجموع اثر ضد میکروبی بر روی باکتری های باسیلوس سرئوس، کورینه باکتریوم، میکروکوکوس لوتئوس،

منابع

1. Soltanipoor MA. Comparision the components of essential oils of *Majadae Zhumeria* obtain from Hormozgan province and study on aleopatic potential and antimicrobial effects of extracted essential oils. MS thessis, School of Science, Shiraz University. 2002, pp: 23 - 9.
2. Ghasemipirbalooti A. Study on the charactristics of *Thymus daenensis* gadering from Chaharmahal va bakhtiari province. MS thessis, Science and Research branch of Azad University- Tehran. 2006, pp: 12 - 5.
3. Fazecas M. Studies on the effects of antibacterial & showing data on the yield & essential content *Pimpinella anisum* in the year 1978-1980. *Lucari Agronomic*. 1980; 18: 84 - 91.
4. Erdogrul O, Azirak S, Tosyali C. Antimicrobial activities of *Hypericum scabrum* extracts, *KSU. J. Sci. Eng*. 2004; 7 (2): 2 - 6.



5. Tabatabaie AM, Firoozi R. Animal infectious Diseases. Tehran University Press, 2001, pp: 134 - 41.
6. Varnam AH. Food Borne Pathogens. Wolf Publishing Ltd. 1996, pp: 321 - 30.
7. Jaymandi K, Rezaii MB. Comparison of two steam distillation apparatuses and their effects on essential oils quantity and components. *Pazhoo. Saz. J.* 2003; 60 (3): 2 - 8.
8. Baron EJ. Diagnostic Microbiology. 8th edition, Mosby Com. 1990, pp: 71 - 2.
9. Erdogrul O. Antimicrobial activities of various Medicinal & Commercial plant extracts. *J. F. Sci. Tech.* 2003; 27: 157 - 62.
10. Sadeghzade L, Sefidkan F, Olia P. Study on the antimicrobial effects of *Thymus* Essential oils. 2th conference of Medicinal Plants, 2004, p: 233.
11. Bonyadian M, Karim G. Study on antimicrobial effects of some plant essential oils on *E.coli* in Iranian Feta cheese. *J. Sci. Thec.* 2004; 1 (1): 21 - 8.
12. Bonyadian M, Karim G. Study on some plant essential oils on *E. coli* and *S. aureus* in broth medium. *J. Vet. Res.* 2003; 57 (4): 81 - 3.
13. Farag RS, Daw ZY. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. F. Pro.* 1982; 52 (9): 665 - 7.
14. Rasooli I. Antimicrobial & chemical properties of *Thymus persicus* essential oils at pre & flowering stage. *Phytomed.* 2003; 4: 22.

