

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آلی و آبی دانه‌های گیاه *Triticum sativum* Lam. بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

حسین کمیلی‌زاده^۱، مژده حاکمی‌والا^{۲*}، محمد کمالی‌نژاد^۳، سمیه نشاط آشفته^۴

۱- دانشیار، عضو هیات علمی گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی

۲- دکتری باکتری‌شناسی پزشکی، انستیتو پاستور ایران، بخش بیوتکنولوژی

۳- مربی، گروه فارماکوتوژنی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی

۴- دکتری حرفه‌ای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب، خیابان ۱۲ فروردین، انستیتو پاستور ایران پلاک ۶۹

تلفن: ۶۶۹۵۳۳۱۲ (۰۲۱)، نمابر: ۶۶۴۸۰۷۸۰ (۰۲۱)

پست الکترونیک: mojdeh_hakemi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۷/۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۲۶

چکیده

مقدمه: بیماری‌های باکتریایی از جمله بیماری‌های رایج در زندگی انسان‌ها بوده و از طرف دیگر درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها مسایل دیگری چون مقاومت دارویی و بروز عوارض جانبی را مطرح می‌کند. لذا استفاده از داروهای گیاهی جدید با عوارض جانبی کمتر می‌تواند کمک شایانی در درمان این نوع عفونت‌ها باشد.

هدف: از آنجایی که استفاده از گندم با نام علمی *Triticum sativum* در طب سنتی ایران مرسوم است، در این تحقیق بررسی اثر ضدباکتریایی گیاه گندم علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی شد.

روش بررسی: عصاره‌گیری از گیاه با حلال‌های آب، متانول ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردو پترول به روش ماسراسیون انجام شد. غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه شد و با استفاده از متد Kirby-Bauer و روش دیسک دیفیوژن اثر ضد میکروبی آن بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پیوژنز، اش‌ریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد.

نتایج: عصاره آبی در هیچ یک از غلظت‌های مصرفی (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ mg/ml) بر هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمایش اثر ضدباکتریایی نشان نداد. عصاره متانولی بر باکتری استرپتوکوک پیوژنز اثر قابل توجهی داشته و بر باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضعیفی نشان داد. عصاره کلروفرمی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوژنز و استافیلوکوک اورئوس اثر ضد میکروبی ضعیفی داشت. اثر عصاره اتردو پترولی بر باکتری استرپتوکوک پیوژنز قابل توجه و بر باکتری‌های اش‌ریشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس ضعیف بوده است. هیچ یک از عصاره‌های فوق بر سودوموناس آئروژینوزا اثری نداشتند.

نتیجه‌گیری: عصاره آلی گندم دارای اثر ضدباکتریایی بر روی برخی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد.

کل‌واژگان: *Triticum sativum* Lam.، عصاره‌های آلی و آبی، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی



مقدمه

مواد و روش‌ها

گیاه گندم تحت شماره [$\frac{AyT11342}{9110}$] از مزرعه دانشکده کشاورزی (موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج) در اواخر تیرماه جمع‌آوری شد. اگرچه در مطالعات قبلی به اثرات ضد میکروبی این گیاه اشاره شده بود ولی اطلاعات دقیقی از میزان قطبیت و سایر خصوصیات ماده موثره آن موجود نیست. لذا در این مطالعه برای عصاره‌گیری از گیاه از روش ماسراسیون و حلال‌های مختلف شامل آب، متانول، ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردوپترول استفاده شد. بدین‌منظور، مقدار ۳۰۰ گرم از دانه گیاه خشک بدون سبوس را با ترازو دقیقاً توزین و در داخل یک ارلن بزرگ، ۳۰۰ میلی‌لیتر از حلال اضافه و بعد از ۴۸ ساعت عصاره‌گیری انجام شد. پس از این مدت، محلول توسط کاغذ صافی صاف شده و بر روی باقی‌مانده مجدداً حلال اضافه شد. این عمل را چند بار تکرار کرده و محلول‌های صاف شده به هم اضافه شدند. محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلا^۱ کاملاً تغلیظ شد. در مورد عصاره متانولی در دمای ۷۰ درجه سلیسیوس و در مورد عصاره‌های کلرفرمی و اتردوپترولی در دمای ۶۰ درجه سلیسیوس و در مورد آب در حرارت ۱۰۰ درجه بن ماری عمل تغلیظ انجام شد. عصاره‌های تغلیظ شده به پلیت‌های مخصوصی که هر یک به دقت وزن شده بودند اضافه شد سپس دهانه پلیت‌ها تا حذف کامل حلال توسط پارافیلیم پوشیده شدند.

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی، ۴ غلظت (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از گیاه تهیه شد. برای تهیه هر یک از غلظت‌های فوق مقدار مناسب از عصاره خشک گیاه را دقیقاً توزین و در حلال مناسب خود حل کرده و از آنها برای بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه استفاده شد [۸].

باکتری‌های مورد آزمایش شامل استافیلوکوک اورئوس (PTCC ۱۴۳۱)، استرپتوکوک پیورنز (PTCC ۱۴۴۷)، اشریشیاکلی (PTCC ۱۳۳۵) و سودوموناس آئروژینوزا

گندم با نام علمی *Triticum sativum* Lam. متعلق به جنس *Triticum* و خانواده Poaceae است. تیره گندم از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان گل‌دار است و دارای ۶۰۰۰ گونه است که در ۴۵۰ جنس جای دارند و از اختصاصات آنها این است که در غالب محیط‌ها به صورت اجتماعات خاص پراکندگی دارند [۱].

حدس زده می‌شود که جنوب غربی آسیا مبدای گندم است [۲]. گندم گیاهی است یک ساله که ریشه‌های آن الیافی، افشان و سطحی است. ساقه آن استوانه‌های توخالی و در گره پر می‌باشد. در بعضی انواع، قسمتی از ساقه نیز پر است. هر ساقه به یک خوشه متشکل از سنبله‌ها منتهی می‌شود که پس از ظهور و تلقیح گل‌ها خوشه گندم را تشکیل می‌دهند و برگ‌های آن سبز، باریک و دراز است [۳]. دانه آن اغلب درشت و گاهی پهن، رنگ آن سفید، زرد، نارنجی، قرمز تیره و بندرت آبی است. دانه گندم مخزن مواد غذایی است که بشر از ابتدا مورد استفاده قرار داده است. اهمیت ترکیبات شیمیایی دانه گندم در نخستین مرحله در تغذیه انسان و در مرحله دوم به خاطر استفاده از آن در دامپروری و صنعت است. ترکیبات شیمیایی دانه گندم شامل آب، کربوهیدرات (نشاسته، سلولز، قند)، پروتئین‌ها (گلیادین، گلوتنن، گلوبولین، آلبومین، پیرولامین)، لیپیدها، مواد معدنی، ویتامین‌ها (گروه E, B) می‌باشند [۲].

مطالعات زیادی بر روی گیاه گندم صورت گرفته است و اثرات مختلفی از آن گزارش شده است که عبارتند از:

استفاده موضعی در درمان درماتوزیس [۴]، تهیه ضماد از دانه گندم برای گلو درد [۵]، به صورت موضعی در رفع التهاب [۴]، درمان انواع سرطان‌ها (سرطان لوزه، سرطان پوست، سرطان بناگوش، سرطان طحال، سرطان بیضه، سرطان سینوس، سرطان شکم) [۶] یبوست [۴]، سندرم تحریک‌پذیر روده [۷].

درخصوص خاصیت ضد میکروبی گندم مطالعات اندکی صورت گرفته است و هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره‌های آلی و آبی دانه گندم بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی بود.

¹ Rotary evaporator



ضدباکتریایی آب و توئین ۸۰، در بررسی عصاره متانولی از دیسک بلانک آغشته به آب مقطر استریل حاوی ۱۵ درصد توئین و در بررسی عصاره کلروفرمی و اتردوپترولی از دیسک بلانک آغشته به آب مقطر استریل حاوی ۵ درصد توئین به عنوان شاهد منفی استفاده شد [۹،۱۰].

نتایج

در این مطالعه اثر عصاره گیاه گندم با حلال‌های مختلف (آب، متانول ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردوپترولی) با غلظت‌های ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به روش Kirby - Bauer بر سوش‌های استافیلوکوک اورئوس (PTCC ۱۴۳۱)، استرپتوکوک پیوژنز (PTCC ۱۴۴۷)، اشیشیاکلی (PTCC ۱۳۳۵) و سودوموناس آئروژینوزا (PTCC ۱۴۴۷) بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که گیاه موردنظر دارای اثر ضدباکتریایی است.

در این بین عصاره اتردوپترولی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز و اشیشیاکلی موثر بوده و عصاره‌های کلروفرمی و متانولی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز اثر داشته‌اند. عصاره آبی بر هیچ‌یک از انواع باکتری‌های موردآزمایش اثر ضد میکروبی نشان نداد (جدول شماره ۱).

عصاره متانولی بر روی استرپتوکوک پیوژنز اثر قابل توجهی داشته و با افزایش غلظت عصاره اثر ضدباکتریایی آن افزایش یافت. این عصاره هم‌چنین اثر ضعیف‌تری بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس داشت (جدول شماره ۲).

عصاره کلروفرمی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوژنز و استافیلوکوک اورئوس اثر داشته و با افزایش غلظت عصاره اثر ضدباکتریایی آن افزایش یافت (جدول شماره ۳).

عصاره اتردوپترولی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوژنز و اشیشیاکلی اثر داشت. هم‌چنین این عصاره تنها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری استافیلوکوک اورئوس موثر بود (جدول شماره ۴).

(PTCC ۱۴۴۷) بودند که از مرکز تحقیقات و پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ای مختلف گندم از روش Kirby - Bauer استفاده شد.

از کلنی ۲۴ ساعته هر کدام از باکتری‌های کشت شده در محیط کشت جامد (تریپتیکس سوی آگار و بلاد آگار) به کمک لوپ برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط کرده تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری موردنظر حاصل شد. این لوله به مدت ۳۰ دقیقه در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد تا کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند ایجاد نماید. سپس توسط سوآب استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشت نموده و سوآب آغشته به میکروب راروی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار و مولر هیتون بلاد آگار (در مورد باکتری استرپتوکوک پیوژنز) به صورت خطوط موازی در سه جهت (عمودی، افقی، مورب) بر هم کشت داده به گونه‌ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شد. سپس دیسک‌های حاوی عصاره با غلظت‌های متفاوت روی پلیت‌ها به فواصل مناسب قرار داده شد. جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، دیسک‌های بلانک استریل را به تعداد مشخص در غلظت‌های تهیه شده از عصاره قرار داده و به مدت یک شبانه‌روز به محتویات داخل ظرف زمان داده شد تا عصاره‌ها کاملاً جذب دیسک‌های کاغذی شوند. در نهایت درب پلیت‌های دیسک‌گذاری شده را بسته و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا باکتری‌ها رشد کنند. لازم به ذکر است که در این مطالعه از دیسک آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. هم‌چنین برای تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره‌های تهیه شده، در ابتدا به ۴ عصاره خشکی که حلال آنها کاملاً حذف شده بود، آب مقطر اضافه شد. از آنجایی که عصاره‌های کلروفرمی، متانولی و اتردوپترولی که حلال آنها قبلاً تبخیر شده در آب مقطر کاملاً حل نمی‌شدند به همین دلیل از توئین ۸۰ به عنوان کمک حلال اضافه شد. لذا، جهت اثبات خاصیت ضد میکروبی و عدم تاثیر



جدول شماره ۱- بررسی اثر عصاره آبی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش بر اساس قطر هاله عدم رشد
بر حسب میلی‌متر

شاهد	شاهد	غلظت عصاره (mg/ml)				باکتری
		۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
۲۰	-	-	-	-	-	استافیلوکوک اورئوس
۲۸	-	-	-	-	-	استرپتوکوک پیوژنز
۲۵	-	-	-	-	-	اشریشیاکلی
۲۳	-	-	-	-	-	سودوموناس آئروژینوزا

- بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل

شاهد مثبت: کلرامفنیکل

جدول شماره ۲ - بررسی اثر عصاره متانولی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش بر اساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

شاهد	شاهد	غلظت عصاره (mg/ml)				باکتری
		۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
۲۰	-	-	۱۱	۱۰	۹	استافیلوکوک اورئوس
۲۸	-	۱۸	۲۱	۲۱	۲۳	استرپتوکوک پیوژنز
۲۵	-	-	-	-	-	اشریشیاکلی
۲۳	-	-	-	-	-	سودوموناس آئروژینوزا

- بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل و ۱۵ درصد توئین

شاهد مثبت: کلرامفنیکل

جدول شماره ۳ - بررسی اثر عصاره کلروفرمی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش بر اساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

شاهد	شاهد	غلظت عصاره (mg/ml)				باکتری
		۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
۲۰	-	۹	۱۰	-	-	استافیلوکوک اورئوس
۲۸	-	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	استرپتوکوک پیوژنز
۲۵	-	-	-	-	-	اشریشیاکلی
۲۳	-	-	-	-	-	سودوموناس آئروژینوزا

- بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل و ۵ درصد توئین



شاهد مثبت: کلرامفنیکل

جدول شماره ۴ - بررسی اثر عصاره اتردوپترولی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش بر اساس قطر هاله

عدم رشد بر حسب میلی‌متر

شاهد	شاهد	غلظت عصاره (mg/ml)				باکتری
		۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
۲۰	-	-	-	-	۱۰	استافیلوکوک اورئوس
۲۸	-	۱۰	۱۸	۲۰	۲۲	استرپتوکوک پیوژنز
۲۵	-	۸	۱۰	۱۰	۱۲	اشریشیاکلی
۲۳	-	-	-	-	-	سودوموناس آئروژینوزا

- بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل و ۵ درصد توئین

شاهد مثبت: کلرامفنیکل

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف صورت گرفته است و مشخص شده که بعضی از گیاهان تاثیراتی همانند داروهای شیمیایی یا به مراتب بیشتر از آنها داشته‌اند [۱۱].

محققان دیگری در خارج از کشور بر روی اثر آنتی‌باکتریال گیاه *Triticum sativum* Lam. مطالعاتی انجام داده و آزمایش‌هایی به منظور بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی، اتیل اتری و هگزانی گیاه گندم بر روی چند میکروارگانیسم انجام شد و به ماهیت ضد میکروبی گیاه پی بردند. از نتایج این بررسی مشخص شد عصاره آبی هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی نداشته و به عکس، عصاره‌های آلی بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی اثر بهتری اعمال نموده است [۱].

این نتیجه با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد، به طوری که عصاره اتردوپترولی از میان از باکتری‌های گرم منفی مورد آزمون در این مطالعه، فقط بر اشریشیاکلی اثر ضدباکتریایی داشته و هیچ یک از عصاره‌های فوق بر سودوموناس آئروژینوزا (g-) اثری نداشته‌اند.

احتمال دارد اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی گندم بر استرپتوکوک پیوژنز به علت اتصال به N - استیل گلوکزآمین موجود در دیواره سلولی آن باشد [۱۲].

از آنجایی که مطالعات اخیر نشان داده که اثر ضدباکتریایی بعضی از داروهای گیاهی در حد و یا بیشتر از بعضی از داروهای شیمیایی می‌باشد [۱۲]، امید است در آینده تحقیقات بیشتری در زمینه اثر ضد میکروبی این گیاه بر گونه‌های مختلف میکروبی انجام گیرد تا با یافتن مواد موثره ضد میکروبی گیاه گندم و فرمولاسیون آن تهیه اشکال دارویی مختلف از آن ممکن شده و اقدام ارزنده‌ای جهت بهبود بیماری‌هایی عفونی ناشی از گونه‌های مختلف میکروبی، انجام گیرد. در مطالعه دیگری اثر ضدباکتریایی عصاره‌ای آبی و آلی (هگزان، اتیل اتر، اتانل) گیاهان متعددی از جمله گندم بررسی شد و به طور کلی اثرات ضدباکتریایی این گیاهان بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود [۱۳]. استپکویتس^۱ و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدباکتریایی گندم را در جوجه‌های آلوده شده با *Mycoplasma gallisepticum* بررسی نموده و نشان دادند در گروهی از جوجه‌ها که با عصاره گندم و Tiamulin (نوعی آنتی‌بیوتیک) درمان شدند پس از اتوپسی هیچ‌گونه آلودگی با این باکتری در ارگان‌های داخلی دیده نشد در حالی که جوجه‌های گروه درمان نشده هم‌چنان آلوده بودند [۱۴]. گرچه در مطالعه حاضر بررسی

¹ Stipkovits

سبوس گندم بیشترین اثر را نشان داد. به علاوه اثر مهاری هر دو نوع گندم کامل و تصفیه شده با افزایش pH در کلون بالا رونده و روده کوچک بیشتر شد در حالی که افزایش pH تأثیری بر سبوس نداشته است [۱۵]. در مطالعه حاضر گرچه اثرات مهارکنندگی عصاره‌های آبی و آلی گندم بدون سبوس علیه باکتری‌های اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوزنز و سودوموناس اثرزینوزا و نه سالمونلا بررسی شد ولیکن بین وجود اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس و اشریشیاکولی در عصاره آلی اثر دو پترولی و یا وجود اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس در عصاره‌های کلروفرمی و متانولی با اثر ضدسرطانی و ضدجھشی علیه سالمونلاتیفی موریوم شباهت داشته است.

تشکر و قدردانی

در انتها بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات سرکار خانم فاطمه باقری، مربی گروه میکروبی‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی و مسؤول آزمایشگاه میکروبی‌شناسی آن دانشکده که راهنمایی و همکاری لازم را در انجام این مطالعه مبذول داشتند، کمال تشکر را داریم.

اثرات ضدباکتریایی در شرایط *In vivo* انجام نشده ولی وجود اثرات ضدباکتریایی در مطالعات انجام شده با اثرات ضدباکتریایی در عصاره‌های آلی گیاه گندم بر روی برخی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت در این مطالعه شباهت دارد. نکته قابل توجه از این مطالعه آن است که خاصیت ضدباکتریایی عصاره متانولی و کلروفرمی بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس با افزایش غلظت عصاره کاهش نشان داده است (جدول شماره ۲ و ۳). این امر با وجود ترکیبات مختلف با اثرات متنوع در عصاره گیاهان دور از انتظار نیست. در مطالعه دیگری اثر ضدجھش^۱ و ضدسرطانی^۲ دانه گندم بررسی شد. بدین‌منظور، از دو نوع ترکیب سرطان‌زا و جھش‌زا به نام متیل ایمیداز و کوئی نولین^۳ به صورت کوتاه‌مدت و فنیل‌ایمیدازوپیریدین^۴ به موش نر به صورت مزمن تجویز و متعاقباً، انواعی از تومورها ایجاد شد. در ادامه جهت بررسی اثر ضدسرطان و ضدجھشی از دانه کامل گندم، دانه تصفیه شده گندم و سبوس کامل به موش خوراندند. سپس از قسمت‌های مختلف معده با pH 1.8، کلون بالا رونده با pH 5.5 و روده کوچک با pH 7.0 نمونه‌برداری شد و در آزمون Ames و علیه باکتری سالمونلاتیفی موریوم بررسی شد. از نتایج این مطالعه آن است که اثر ضدسرطانی و ضدجھش دانه گندم تصفیه شده در pH معده قابل توجه نبوده، در حالی که این اثر در گندم تصفیه نشده کامل متوسط و در مورد

¹ Anti mutagenic

² Anti carcinogenic

³ IQ

⁴ PhIP

منابع

1. Zargari A. Plants medicine. 6nd ed. Tehran university Press. vol 4. 1998, pp: 682 - 97.
2. Karimi H. Wheat, 1nd ed, Markaze Nashre Daneshgahi Press. 1982, pp: 1-3 and 505- 12.
3. Mirhaidar H. Plants usage in prophylaxy and treatment of diseases. 2nd ed. Daftare Nashre Farhange Eslami press. vol 1. 1996, pp: 379 - 90.
4. Gruen wald J. P D R for herbal medicines, 2nd ed. Medical Economics co. 2000, pp: 218 - 56.
5. Erdem yesilada, Ekrem sezik. Traditional Medicine in Turkey IX: Folkmedicine in north – West Anatolia. *J. of Ethnopharmacol.* 1999; 64, pp: 195 – 210.
6. Hartwell, J.L. Medicinal plants of the Bible. Trado – medic Books Buffalo. NY. 1983: 182-195.
7. Blumenthal M, Goldberg A and Brinck mann M. Expanded commission E monographs. Integrative medicine communications, Newton. MA. *J. of Herbal Medicine.* 2000, pp: 28 - 35.



8. Shariat Hadi S. Extraction of beneficial materials from medicine plants, identification methods and their evaluation. Mani press. 1998, pp: 6 - 20.
9. Baron, Ellen Jo. Fine gold, Sydney M. diagnostic Microbiology. 8th Ed. Mosby company. 1990, pp: 181- 4.
10. Murray P, Baron R, P fauer EJ, Tenoyer M, Yolken FC, Robert H. Manual of clinical Microbiology. 7th Ed, American society for microbiology. 1999, pp: 1564 - 70.
11. Mohammad pour M. Determination of antibacterial effect of 80% hydro-alcoholic extract of *Eucalyptus globus* on some bacterial agents of respiratory tract infection by MIC and MBC. 2003, pp: 108 - 10.
12. Sadeghi G. Determination of antibacterial effect of *Glycyrrhiza glabra* on *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei*. Thesis No (1249) University of pharmacology sciences of Islamic Azad university. 2002-2003, pp: 10, 11, 91 - 99.
13. Abdel – Naseer M, Safwat MS, Ali MZ. Detection of antibacterial substances in some plant residues and their effect on certain micro-organisms. *Zentralbl mikrobiol*. 1983; 138 (1), pp: 63 - 9.
14. Stipkovit L, Lopis K, Hidveqi M, Kosa E, Glavits R, Resetar A. Testing the efficacy of fermented wheat germ extract against *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Poult. Sci*. 2004; 83 (11), pp: 1844 - 8.
15. Yu Z. The anti mutagenic and anti carcinogenic effects of wheat grains. <http://Ipi.oregonstate.edu/ss03/wheatgrains.html>.

