تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیا کلی

دکتر تقی زهرایی صالحی[1]* دکتر مهدی وجگانی[2] دکتر منصور بیات[3] دکتر حسن ترشیزی[4] دکتر افشین آخوند زاده[5]

دریافت مقاله: ۲۰ خردادماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۵ اسفند ماه ۱۳۸۳

هدف: تحقیق درمورد جایگزینی دارویی مناسب، موثر و باصرفه اقتصادی به جای داروهای متداول در درمان بیماری ورم پستان.

طرح: میدانی وآزمایشگاهی.

مواد و روش کار: در این مطالعه تعداد چهل نمونه شیر ازگاوهای مبتلا به ورم پستان متعلق به یکی ازدامداری‌های اطراف تهران اخذشد وبر روی محیط‌های مناسب ازجمله ژلوزخوندار ومک کانکی کشت‌گردید. باازمایشات بیوشیمیایی نظیر اکسیداز، کاتالاز، تخمیر قندها واندل باکتری‌های جداشده‌شناسایی وسپس با استفاده ازآنتی‌سرمهای پلی والان و منو والان سروتیپ بعضی ازآنها مشخص گردید. در مرحله بعدی حداقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC) اسانس‌آویشن‌شیرازی روی استافیلوکوکوس‌آرئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیاکلی جداشده در مرحله اول تحقیق تعیین گردید.

نتایج: استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیاکلی به ترتیب ازشش، بیست ویک وپنج نمونه‌شیرگاوهای مبتلا به ورم پستان جداگردید. درمقایسه تاثیر اسانس‌آویشن‌شیرازی بر روی باکتری‌های فوق باسویه‌های استاندارد مشخص گردید که MIC اسانس‌آویشن‌شیرازی در باکتری‌های جداشده بین ۱/۵ تا ۴ برابر بیشتر ازسویه‌های استاندارد است.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج به‌دست‌آمده ازاین تحقیق اسانس‌آویشن‌شیرازی دارای تاثیر ضد باکتریایی مناسبی بر روی باکتری‌ها جداشده از ورم پستان بویژه استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس آرئوس است. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۲، ۱۱۰-۱۰۷.

واژه‌های کلیدی: آویشن شیرازی، حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)، استافیلوکوکوس آرئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، اشریشیاکلی.

بهره‌برداری شایسته ازگیاهان دارویی ومعطر وتهیه داروهای گیاهی به صورت مدرن، ارتقاء جایگاه گیاهان دارویی ومعطر و فرآورده‌های ثانویه آنها در صادرات و مصارف صنعتی داخلی نیازمند تحقیقات گسترده‌ای می‌باشد. چرا که با وجود منابع عظیم کشور از لحاظ گیاهان دارویی، به دلیل کمبود امکانات در این زمینه، این گیاهان به صورت خام به کشورهای خارجی صادر گردیده و از عصاره و اسانس آنها داروهای متنوعی ساخته شده و سپس با قیمت بالاتری وارد کشور می‌شود.

۱) گروه میکرو بیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۴) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران
۵) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول: tzahraei2000@yahoo.com

Determination of Minimum Inhibitory Concentrarion (MIC) of Extract of *Zataria,multiflora*, against the clinical isolates of *Streptococcus agalactiae Staphylococcus,aureus and E. coli*

Zahraei- Salehi, T.,[1] Vojgani, M.,[2] Bayat. M.,[3] Torshizi, H.,[4] Akhondzadeh, A.[5]

[1]Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran -Iran. [2]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine,University of Tehran,Tehran -Iran. [3]Department of Mycology,Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran -Iran. [4]Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran -Iran. [5]Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran,Tehran -Iran.

Objective: To study the effect of *Zataria multiflora* essential oil on the clinical isolates of *Streptococcus,agalactiae*, Staphylococcus,aureus and *E. coli* isolated from milk of cows with mastitis.

Design: Discription study.

Procedure: In this study milk samples from cows affected by mastitis were collected from a farm near Tehran. Using microbiological, biochemical and serological methods, bacteria were isolated, identified and serotyped. The MIC of *Zataria multiflora* essential oil against *Streptococcus,agalactiae, Staphylococcus,aureus* and *Escherichia coli,* isolated in this study were evaluated.

Results: Sterptococcus agalactiae, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were isolated from 6, 21 and 5 samples respectively. All the isolated strains were more resistant to *Zataria multiflora* essential oil than the standard ones. The MICs of *Zataria multiflora* on isolated strains of *S. aureus* and *Strep. agalactiae* used in this study were 4 and 1.5 times more than the corresponding standard strains.

Conclusion: According to the results of this study, *Zataria multiflora* essential oil had good antibacterial effect on the isolated strains of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 60,2:107-110,2005.***

Keywords: *Zataria multiflora*, Minimum Inhibitory Concentrarion (MIC), *Sterptococcus*, *agalactiae*, *Staphylococcus* aureus, *E. coli.*

Corresponding author's email: tzahraei@vetmed.ut.ac.ir

لذا با توجه به موارد فوق، به نظر می‌رسد تحقیق روی این گیاهان می‌تواند رهیافت خوبی برای استفاده بهینه از این گیاهان باشد. از طرف دیگر پاسخ‌های درمانی مختلف و در بعضی موارد ضعیف و مأیوس کننده آنتی بیوتیک‌های متداول در

عفونت‌های ورم پستان (مانند عفونت ناشی از استافیلوکوکوس آرئوس) و همچنین خسارات ناشی از شیر حاوی آنتی بیوتیک به قدری است که درمان این بیماری را غیراقتصادی کرده است. از این رو برای درمان رضایت بخش بیماری ورم پستان، لازم است دارویی جایگزین شود که علاوه بر اثرات ضدباکتریایی مناسب علیه عوامل پاتوژن این بیماری و قدرت نفوذ مناسب به بافت پستان، تأثیر سوء روی کیفیت شیر و گوشت از لحاظ باقیمانده دارو نداشته باشد. در سالهای اخیر گیاهان دارویی بومی ایران از نظر جنبه‌های مختلف مورد مطالعه و تحقیق بوسیله محققان قرار گرفته‌اند از جمله خسروی و همکاران در سال ۱۳۸۲ از اسانس گیاه درمنه در درمان درماتوفیتوز سگ و گربه استفاده نموده و اثر آن را با داروهای ضد قارچی مقایسه کرده‌اند که با نتایج مناسبی همراه بوده است.

گیاهان خانواده Labiatae دارای اثرات فارماکولوژیکی مختلف از قبیل خاصیت ضدالتهابی، صفرا آور و کاهش دهنده فشار خون می‌باشند (۱۶، ۱۵، ۱۴). در این خانواده آویشن شیرازی با نام علمی Zataria multiflora به‌طور بومی در نواحی ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید و در طب سنتی ایران به عنوان بی‌حس کننده، ضدعفونی کننده و شل کننده عضلانی بکار می‌رفته و اسانس آن از تقطیر گیاه با آب به‌دست آمده و دارای ترکیبات فنلی ضدمیکروبی شامل تیمول و کارواکرول می‌باشد (۱۸، ۱۷، ۱۳، ۱۱، ۹). به دلیل اینکه قبل از انتخاب یک ماده به عنوان دارو جهت درمان یک بیماری بایستی ابتدا میزان حساسیت عوامل میکروبی بیماری نسبت به آن ماده در آزمایشگاه بررسی شود. بنابر این در این مقاله به بررسی اثرات آزمایشگاهی اسانس آویشن بر روی باکتری‌های جدا شده از ورم پستان پرداخته شده است.

مواد و روش کار

۱- نمونه گیری از گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان: تعداد ۴۰ نمونه شیر از گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی از یکی از دامداری‌های اطراف تهران اخذ شد. بدین ترتیب که بعد از اطمینان از تمیز بودن دست ابتدا سر پستانک‌ها شسته شده و خشک گردید. پس از آماده سازی سر پستانک‌ها، ۷ تا ۱۰ بار با پنبه و الکل، سر پستانک‌ها ضدعفونی شد. جهت خارج کردن باکتری‌های محیطی موجود در مجرا ۴ تا ۶ دوشش اول (پیش دوشش) دور ریخته شد. پس از آن لوله آزمایش را با زاویه ۴۵ درجه نگه داشته تا مستقیماً عمل تخلیه در داخل لوله انجام شود و در هر لوله یکبار دوشش انجام شد (بدون اینکه لوله آزمایش با پستان تماس پیدا کند). این کار برای همه کارتیه‌ها به طور جداگانه انجام شد و سپس مشخصات گاو، پستان روی لوله‌ها نوشته شد. نمونه‌ها درکنار یخ و در دمای ۴ درجه نگهداری شده و ظرف مدت یک ساعت به آزمایشگاه بیمارستان شماره ۱ دانشکده (مردآباد کرج) منتقل گردید.

۲- جداسازی و تعیین هویت عوامل باکتریایی: پس از انتقال نمونه‌های گرفته شده به آزمایشگاه با سواپ از نمونه‌ها بر روی محیط‌های متداول و انتخابی نظیر مکانکی (برای باکتری‌های گرم منفی) و آگار خوندار (برای همه باکتری‌ها) و EMB (برای *E.coli*) کشت و پلیت‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. برای تشخیص باکتری‌ها و دیدن شکل باکتری از رنگ آمیزی گرم استفاده شد. برای تفریق گونه‌های باکتری‌ها از آزمایشات افتراقی متداول در آزمایشگاههای میکروبیولوژی استفاده گردید.

۳- سروتایپینگ باکتری اشریشیا کلی: برای سروتایپینگ اشریشیا کلی‌های جدا شده، ابتدا پرگنه‌های خالص آنها را روی محیط TSI کشت داده و در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد. بعد از خارج نمودن نمونه‌ها از گرمخانه سطح هرکدام از محیط‌های TSI با سرم فیزیولوژی شسته شده و شیرابه به لوله آزمایش استریل منتقل گردید. سپس لوله‌های حاوی شیرابه به مدت یک ساعت در ظرف حاوی آب جوش گذاشته شد. به منظور ثابت کردن آنتی ژنها به شیرابه ۵/ درصد فرمالین اضافه شد. جهت انجام آگلوتیناسیون یک قطره از هر شیرابه به طور جداگانه روی لام قرار داده شد و سپس یک قطره از آنتی سرم (شرکت ولکام) به آن اضافه گردید. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده می‌شد، واکنش مثبت تلقی می‌گردید. در این بررسی شیرابه ابتدا با آنتی سرم‌های چندارزشی (پلی والان) مجاور شد و در صورت بروز واکنش مثبت آزمایش با آنتی سرم‌های تک ارزشی (منووالان) تکرار گردید تا سروتیپ نهایی مشخص گردد

۴- تهیه تعلیق باکتریایی: از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها جهت تهیه تعلیق باکتریایی استفاده شد. به این طریق که ضمن اضافه کردن باکتری به آبگوشت مولر هینتون، کدورت حاصله با کدورت لوله‌های استاندارد نیم مک فارلند برابر شد و به عنوان رقت پایه باکتریایی (با رقت ۱:۲۵۰) در نظر گرفته شد.

۵- تهیه ترکیب رقیق شده اسانس آویشن: در بررسی اثرات ضد میکروبی مواد برای رقیق نمودن یک ترکیب باید از ماده‌ای به عنوان امولسیون فایر استفاده شود که علاوه بر همگن کردن فازهای مختلف خاصیت ضدمیکروبی نیز نداشته باشد و تعداد باکتری‌ها را تغییر ندهد. حل نشدن اسانس در محیط کشت نیز دلیلی بر استفاده از امولسیون فایر می‌باشد. امولسیون فایر که ضمن همگن کردن فازهای مختلف در نهایت مجموعه را به صورت شفاف در بیاورد امولسیون فایر مطلوبی است. که بر همین اساس در این مطالعه ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان ماده امولسیون فایر انتخاب شد و بر اساس آزمایش از رقتی از این ماده استفاده گردید که خاصیت ضدمیکروبی نداشته باشد.

۶- آزمایش حداقل میزان ممانعت کننده اسانس آویشن (MIC): پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱:۲۵۰ از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها و ترکیب رقیق شده اسانس با استفاده از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO)، در ۹ لوله در پیچ دار استریل (به جز لوله شماره ۱۰) به میزان ۱ سی سی از محیط آبگوشت مولر هینتون ریخته شد و در مرحله بعد به میزان ۱ سی سی ترکیب رقیق شده اسانس (۶۳۶/۲μg/ml) را پس از تکان دادن به لوله شماره ۱ و ۲ افزوده و پس از تکان دادن لوله شماره ۲ به میزان ۱ سی سی از محلول این لوله را به لوله شماره ۳ انتقال داده و این روند تا لوله شماره ۹ ادامه یافت و در نهایت ۱ سی سی از محلول لوله شماره ۹ دور ریخته شد. پس از این مرحله به میزان ۱ سی سی سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱/۲۵۰ مقایسه شده با استاندارد نیم مک فارلند، به لوله‌های ۲ تا آخر افزوده گردید و درب لوله‌ها محکم بسته شد و داخل گرمخانه ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید.

۷ـ قرائت MIC: برای قرائت نتایج از سمت لوله شاهد، لوله‌ها را نگاه کرده و آخرین لوله شفاف به عنوان MIC انتخاب گردید که دلیل بر عدم رشد باکتری در آن لوله است. برای تایید این نتیجه علاوه بر لوله MIC، از یک لوله قبل و یک لوله بعد از آن نیز، بر روی محیط ژلوز خوندار کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت غلظت لوله ای که یک کلونی یا حداکثر سه کلونی در محیط ایجاد کرده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در این آزمایش لوله شماره یک شاهد منفی (از نظر رشد) است که حاوی یک سی سی سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱/۲۵۰ و یک سی سی ترکیب رقیق شده اسانس آویشن می باشد، که با وجود دارا بودن باکتری، به دلیل حضور اسانس آویشن و نبود محیط کشت شفاف می باشد. لازم به ذکر است جهت اطمینان از نتایج حاصل، آزمایش MIC برای هر نمونه دو بار انجام شد و در هر بار نتایج تقریبا مشابهی به دست آمد.

۸ـ اندازه گیری قطر هاله عدم رشد: به وسیله سواپ از سوسپانسیون میکروبی (رقت ۱:۲۵۰) معادل شده با محلول استاندارد نیم مک فارلند در محیط کشت آگار مولر هینتون کشت داده شده و میزان ۱۵ میکرولیتر از اسانس روی دیسک خالی به وسیله سرنگ همیلتون تلقیح شد. بعد از ۲۴ ساعت قرار دادن در گرمخانه ۳۷ درجه، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد.

نتایج

الف- باکتری‌های جدا شده از نمونه شیر: از ۶ نمونه شیر باکتری استافیلوکوکوس آرئوس کوآگولاز مثبت، از ۲۱ نمونه باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه و از ۵ نمونه باکتری اشریشیا کلی جدا شد. در هشت نمونه شیر کشت داده شده باکتری رشد نکرد. برای تفریق استرپتوکوکوس آگالاکتیه از استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه از آزمایش کمپ استفاده شد که در همه موارد این آزمایش مثبت بود. همچنین پس از عمل سروتایپینگ روی اشریشیا کلی‌های جدا شده مشخص شد که تمامی آنها سروتیپ O111 می باشند.

ب- تعیین MIC: پس از قرائت نتایج و انتخاب آخرین لوله شفاف به عنوان MIC نمونه، لوله تعیین رقت شده و قطر هاله عدم رشد نیز اندازه گیری شد که نتایج آن در جداول ۲ و ۱ آورده شده است. به‌طور خلاصه از آزمایشات نتایج زیر به‌دست آمد.

۱ـ در مورد باکتری استافیلوکوکوس آرئوس؛ MIC سویه پاتوژن چهار برابر MIC سویه استاندارد می باشد و اختلاف میانگین معنی دار است ($P<0/05$)، با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن نسبت به اسانس مقاومتر از سویه استاندارد است.

۲ـ در مورد باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه؛ MIC سویه پاتوژن ۱/۵ برابر MIC سویه استاندارد می باشد و اختلاف میانگین معنی دار است ($P<0/05$)، با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن نسبت به اسانس مقاومتر از سویه استاندارد است.

۳ - در مورد باکتری اشریشیا کلی؛ MIC سویه پاتوژن ۲ برابر MIC سویه استاندارد بود. به دلیل یکسان بودن عدد MIC سویه‌های مختلف جدا شده این باکتری، نمی توان انحراف معیار را در مورد این باکتری محاسبه نمود، اما واضح است که اختلاف میانگین MIC آن معنی دار است ($P<0/05$). به عبارت دیگر اثر این اسانس روی این باکتری کم بوده و باکتری مقاوم است. با توجه به قطر هاله عدم رشد، سویه پاتوژن اشریشیا کلی نسبت به اسانس آویشن مقاومتر از سویه استاندارد است.

نسبت MIC میانگین به MIC سویه استاندارد در مورد باکتری استافیلوکوکوس ارئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیا کلی به ترتیب ۴، ۲، ۱/۵ برابر بود اما با توجه به قطر هاله عدم رشد، بیشترین قطر مربوط به استرپتوکوکوس آگالاکتیه و کمترین قطر عدم رشد مربوط به اشریشیا کلی بود.

جدول۱- نتایج MIC اسانس استاندارد بچ ۱۰۱. IX آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه واشریشیاکلی جدا شده از شیرگاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان.

باکتری	تعداد نمونه	MIC میانگین (µg/m)	قطر هاله عدم رشد برحسب میلیمتر
Escherichia coli	۵نمونه O_{111}	۱۵۹	۳۲
Staphylococcus aureus	۱نمونه	۱۵۹	۴۳
	۳نمونه	۱۱۹	۴۶
	۲نمونه	۳۲	۴۹
Stereptococcus agalactiae	۷نمونه	۱۵۹	۵۶
	۸نمونه	۸۰	۵۹
	۶نمونه	۴۰	۶۲

جدول۲- نتایج MIC اسانس استاندارد بچ ۱۰۱. IX آویشن شیرازی روی سویه استاندارد و پاتوژن باکتری‌های مورد مطالعه.

باکتری	سویه استاندارد		سویه‌های پاتوژن		
	قطر هاله عدم رشد برحسب میلیمتر	MIC (µg/m)	قطر هاله عدم رشد برحسب میلیمتر	MIC (µg/ml)	تعداد (µg/m)
Escherichia coli	۴۰	۸۰	۳۲	۱۵۹	۵
Staphylococcus aureus	۴۵	۱۳۰	۴۵/۵	۱۱۷	۶
Streptococcus agalactiae	۴۰	۵۹	۵۹	۹۴	۲۱

بحث

انتخاب اسانس بچ IX.101 آویشن شیرازی در این مطالعه، بر اساس نتایج بررسی‌های شرکت باریج اسانس در بخش شناسایی اجزاء اسانس‌ها در بچ‌های مختلف آنها بود؛ چراکه در بچ مورد نظر میزان تیمول و کارواکرول (دو جزء اصلی دارای خاصیت ضدمیکروبی) نسبت به بقیه بچ‌های اسانس آویشن شیرازی بیشتر بود. همان طور که قبلاً اشاره شد یکی از معضلات مهم دامداری‌ها پاسخ‌های

مأیوس کننده در استفاده از آنتی بیوتیک‌های متداول در درمان ورم پستان (به ویژه در مورد عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس آرئوس) است؛ که در این مطالعه نتایج به دست آمده در مورد این اسانس نشان دهنده تأثیرات خوب آن روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط Karaman و همکاران در سال ۲۰۰۱ که اثرات ضد میکروبی برخی از گیاهان خانواده Labiatae از قبیل Thymus revolutus را بر روی برخی از باکتری‌های گرام مثبت و منفی از جمله استافیلوکوک طلایی، لیستریا منوسیتوژنز، ایشریشیا کلی و پزودوموناس بررسی نموده مطابقت دارد. نتایج مشابهی توسط رسولی در سال ۲۰۰۲ در مطالعه اثر اسانس برخی دیگر از گیاهان خانواده Labiatae همانند Thymus pubescens روی استافیلوکوک طلایی و اشریشیا کلی به دست آمده است (۱۸). همچنین نتایج به دست آمده در شرکت باریج اسانس نشان می‌دهد که داروهای متداول ورم پستان با وجود دارا بودن آنتی بیوتیک‌های گوناگون در شرایط آزمایشگاه روی باکتری اشریشیا کلی تأثیر نداشته است، اما خواص ضدباکتریایی این اسانس به تنهایی به قدری می‌باشد که حداقل روی این باکتری تأثیر داشته است (۷). البته تعدد نتایج در مورد باکتری استاقیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه شاید به دلیل اختلاف حدت بین سویه‌های آنها باشد. همچنین شاید بتوان علت آن را چنین بیان کرد که چون باکتری اشریشیا کلی عامل ورم پستان‌های محیطی در دام است، از این رو سویه‌های مختلف باکتری در هر دام به طور مستقل و مستقیم از محیط وارد پستان می‌شود. اما باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه عامل ورم پستان‌های واگیردار در دام هستند و انتقال باکتری از دام به دام دیگر صورت می‌گیرد و تعدد سویه در این باکتری‌ها کمتر دیده می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی شرکت باریج اسانس به انجام رسید. لذا نویسندگان از جناب آقای دکتر دارابی کمال تشکر و قدردانی می‌نماید. همچنین قسمتی از هزینه‌های این طرح توسط قطب علمی بخش میکروبیولوژی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تامین شده است.

References

۱. آئینه چی، ی. (۱۳۶۵): مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، صفحه: ۳۲۴.
۲. آخوندزاده، ش. (۱۳۷۹): دایره المعارف گیاهان دارویی ایران، پژوهشکده گیاهان دارویی جهادکشاورزی، انتشارات ارجمند، صفحه: ۱۲۹.
۳. باباخلو، پ. میرزا، م. سفیدکن، ف. احمدی، ل. برازنده، م. عسگری، ف. (۱۳۷۷): تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، انتشارات: موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، صفحه: ۱۰۲-۹۲.
۴. براتی احمدآبادی، ن. (۱۳۸۲): تعیین MIC اسانس آویشن شیرازی روی آرکانوباکتر پیوژنز و ارزیابی اثرات آن روی آندومتریت. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲۹۰۸، صفحه: ۳۶-۲۸.
۵. بلووی، آر. ادمونسون، پی. (۱۳۷۹): کنترل ورم پستان در گله‌های شیری، ترجمه و جگانی-م، قراگزلو-ف، تهران: انتشارات سپهر، صفحه: ۷۰-۱.
۶. بنیادیان-م، (۱۳۸۱): تولید پنیر سفید معطر ایرانی با استفاده از عصاره برحی گیاهان سنتی، پایان نامه دکترای تخصصی موادغذایی، صفحه: ۴۸-۴۹.
۷. حاج هاشمی، و. صدرایی، ح. (۱۳۸۰): بررسی اثر ضداسپاسم اساس آویشن روی انقباضات عضله ایلئوم رت، واحد تحقیق و توسعه شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان (سری ۱۹۵)، صفحه: ۲.
۸. خسروی، ع.، شیرانی، د. و محمودی، م. (۱۳۸۲): ارزیابی کاربرد اسانس درمنه در درمان حیوانات (سگ وگربه) مبتلا به درماتوفیتوزیس. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۸(۳) صحفه: ۲۹۳-۲۹۵.
۹. زرگری، ع. (۱۳۶۹): گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، جلدچهارم، صفحه: ۴۱-۴۰.
۱۰. فره وش، م. کاشانیان، م. دارابی، م. اکبری، ح. (۱۳۸۰): بررسی اثر قطره آویشن در درمان سندرم روده تحریک پذیر (IBS)، واحد تحقیق و توسعه شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان، صفحه: ۲.
۱۱. مومنی، ت. (۱۳۷۷): اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آنها، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۱۳-۹.
12. Alex, O., Sonnen, W. and Leonard, J. (1980): Gradwohl's Clinical laboratory methods and diagonosis; 8th edition; C.V.Mosby Company, PP: 63.
13. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L. and Vlietinck, A. J. (2002): Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in Democratic Republic of Congo. J. Ethnopharmacol, 79:213-220.
14. Cuppett, S. L. and Hall, C. A. (1998): Antioxidant activity of Labiatae. Advance Food Nutrition Research, 42: 245-271.
15. Hernandez-perez, M., Rabanal, R. M., de la Torre, M. C., Rodriguez, B. (1995): Anlgesic, anti inflammatory, antipyetic and haematologic effect of aethiopione, an O-naphthoquinone diterpenoid from salvia aethioptis roots and two semisynthetic derivatives. Planta Medica, 61:505-509.
16. Hossinzadeh, H., Ramezani, M. and Salmani, G. A. (1998): Antinoceptive, anti inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss. extracts in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology, 73: 379-385.
17. Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U. and Ilcim, A. (2001): Antibacterial and antifungal activity of essential oils of Tahymus revolutus celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 76: 183-186.
18. Rasooli, I. and Mirmostafa, S. A. (2002): Antibacterial properties of Tahymus pubescens and Tahymus sepyllum essential oils. Fitoterapia, 73:244-250.