

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل قرمز
(*Cayenne pepper*)، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*)
و مرزه (*Satureja hortensis*) علیه سویه‌های
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک

سعیده سعیدی^۱

موج خالقی^۲

شهرام پورسیدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۲/۱۶

تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲

چکیده

عفونت‌های ایجاد شده توسط سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک عمدتاً با منشاء بیمارستانی هستند که شیوع آن در بسیاری از کشورهای جهان در حال افزایش است؛ از این رو تلاش‌های بسیاری جهت یافتن ترکیبات جدید به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است. این مطالعه نیز به منظور بررسی اثر ضد باکتریال عصاره الکلی سیر علیه سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم انجام شد. استخراج عصاره فلفل با استفاده از دستگاه روتاری انجام شد. ۱۷ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از نواحی حلق و بینی جدا شده و در نهایت MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) گیاهان فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه به روش میکروتیتر پلیت بر روی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده است.

۱. دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی (نویسنده مسئول) / s.saeedi12@yahoo.com

۲. دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

۳. دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح

نتایج نشان داد که تاثیر عصاره با کم شدن غلظت آن کم می‌شود. عصاره گیاهی فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه در غلظت ۱/۲۵، ۲/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب دارای بیشترین اثر مهاری روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس است که در این میان غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین اثر کشندگی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: *Staphylococcus aureus*، عصاره گیاهی، اثرات ضد میکروبی

مقدمه

یکی از مشکلات بزرگی که طب جدید با وجود امتیازهای ظاهری نسبت به طب سنتی با خود به ارمغان آورده، مصرف روزافزون داروهای شیمیایی است که متأسفانه روز به روز شکل حادثتری به خود می‌گیرد و در این میان گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس یکی از معضلاتی است که پزشکان با آن سر و کار دارند. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل اصلی ایجاد عفونت‌های بیمارستانی بوده که شیوع آن نسبتاً رو به گسترش است. این ارگانیزم در ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها، از جمله اندوکاردیت، استنومیلیت، پنومونی، سندروم شوک توکسیک، کورک یا دمل و غیره نقش دارد (Shopsin and Kreiswirth., 2001). تخمین زده می‌شود که ۲۵ تا ۳۰ درصد افراد در جوامع مختلف ناقل استافیلوکوکوس اورئوس در بینی خود می‌باشند که در بسیاری از موارد به عنوان منشأ عفونت می‌باشند (Kluytmans et al., 1997). گسترش روزافزون سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، یکی از معضلات بهداشتی است که باعث شده است تعداد آنتی‌بیوتیک‌های

مؤثر و در دسترس، در درمان این عفونت‌ها کاهش یابد (Tiemersma et al., 2004). اخیراً با توجه به اثرات جانبی آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی و مقاومتی که پاتوژن‌هایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آن‌ها کسب نموده‌اند، به عملکرد ضد میکروبی عصاره‌ها و ترکیبات طبیعی گونه‌های مختلف گیاهی توجه زیادی شده است. بدین ترتیب شناسایی تعداد بیشتری گیاهان دارای خاصیت ضد میکروبی و جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات مؤثر آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی می‌تواند یکی از راههای مؤثر و مفید در درمان بیماری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باشد. عصاره تعداد زیادی از گیاهان دارویی دارای مواد مؤثر بر علیه قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و حشرات بوده و همچنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند (Kordali et al., 2005; Burt., 2004). عصاره تعدادی از گیاهان نیز در کنترل سلول‌های سرطانی مؤثر بوده (Sylvestre et al., 2006) و یا در نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Faid et al., 1995). ترکیبات ضد میکروبی گیاهان دارای پتانسیل‌های درمانی بی‌شماری در درمان بیماری‌های عفونی بوده و گاه

جنسی و ضد عفونت کاربرد دارد (Sefidkon and Jamzad., 2005; Emami et al., 2004). هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه علیه جدایه‌های استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم به آنتی بیوتیک می باشد.

مواد و روش‌ها تهیه نمونه

گیاهان مورد استفاده در این تحقیق (فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه) از مناطق مختلف استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری و در هرباریوم گیاهی دانشگاه آزاد کرمان تعیین گونه شدند. پس از جمع‌آوری گیاهان، برگ‌ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره با آسیاب خرد شدند.

تهیه عصاره

برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده شد. به این صورت که پس از خرد کردن برگ‌ها، ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در متانول ۸۰ درجه خیس‌انده شده و پس از گذشت این مدت زمان با کاغذ صافی صاف گردید. بعد از اتمام عملیات عصاره‌گیری، عصاره‌های بدست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (تقطیر در خلا) در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و در دمای ۴۰-۵۰ به مدت ۲ روز خشک گردید.

سویه‌های باکتری

سویه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده در این تحقیق از نمونه‌های بیماران شهرستان زابل جداسازی و بر روی محیط‌های کشت اختصاصی مانیتول سالت

به‌طور همزمان، اثرات جانبی ناشی از مصرف آنتی بیوتیک‌ها رانیز، کاهش می‌دهند (Kokoska et al., 2002; Prabuseenivasan et al., 2006). فلفل گیاهی است علفی و دارای ساقه بی‌کرک که از تیره پیپراسه است. برخی از ترکیبات ضد میکروبی استخراج شده عبارتند از: تریپینر، بتا پینن، آلفا پینن، لینالئول و تریپینئول. خواص دارویی آن عبارتند از: خواص ضد انقباضی، ضد عفونی‌کننده، ضد باکتریایی، تب‌بر، مسهل (Newall et al., 1996; Zargari., 1989). تاج خروس از خانواده Amaranthaceae است این خانواده شامل گیاهان پرهاقت، علف‌هرز، علفی سریع‌الرشد و شبه غله است و ۶۰ گونه گیاهی دارد و گیاهی است به ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر و یک ساله، برگ‌های آن سبزرنگ و بیضی شکل هستند و گل آن به شکل تاج خروس و به رنگ قرمز است و دارای خواص درمانی می‌باشد و مرزه گیاهی بومی مدیترانه شرقی و جنوب غرب آسیا است و اولین بار در ایتالیا کشت داده شده است. رویشگاه طبیعی آن در دنیا، جنوب اروپا است و همچنین در شمال آمریکا به طور طبیعی کشت شده است. کاراکرول مهمترین ترکیب اسانس این گونه‌ها است که دارای خاصیت ضد عفونی‌کننده است و در ترکیب برخی مواد آلی استفاده می‌شود (Abbasi et al., 2005). برگ‌های سبز و قسمت علفی ساقه *Satureja hortensis* به صورت تاز خشک شده به عنوان طعم‌دهنده در انواع اغذیه‌های گوشتی، کنسروها، سس‌ها و سبزیجات مورد استفاده قرار می‌گیرد. *S. hortensis* به عنوان گیاهی دارویی، به صورت سنتی به عنوان گیاهی دارویی، به صورت سنتی به عنوان داروی محرک، ضد نفخ، خلط‌آور، مقوی معده و همچنین ضد اسهال و تقویت‌کننده قوای

آگار و بلاد آگار کشت داده شدند. سویه‌های خالص به دست آمده بر روی محیط کشت مصنوعی با استفاده از تست‌های کاتالاز و سایر تست‌های بیوشیمیایی لازم در حد جنس شناسایی و در نهایت با انجام تست کوآگولاز به روش لوله‌ای و لامی و بررسی تشکیل آگلوتیناسیون، گونه استافیلوکوکوس اورئوس تعیین هویت شدند.

فعالیت آنتی‌بیوتیکی

۱۷ سویه خالص شده با روش کربی-بائر آنتی‌بیوگرام شده و حساسیت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این بررسی شامل تری متوپریم-سولفامتوکسازول (SXT)، آمپی‌سیلین (AM)، سفتازیدیم (CAZ)، تتراسیکلین (TE)، اریترومايسين (E)، پنی‌سیلین (P)، سفتریاکسون (CRO)، آمیکاسین (AN) و سفکستین (CF) ساخت شرکت پادتن طب بودند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله‌های بازدارنده اندازه‌گیری شد و حساسیت و مقاومت سویه‌ها تعیین و نتایج آن با جدول استاندارد مقایسه شد.

آزمون ضد میکروبی عصاره

حساسیت جدایه‌های باکتری دارای مقاومت چندگانه نسبت به عصاره اتانولی فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه با استفاده از روش رقت‌سازی در چاهک بررسی شد. به هفت چاهک از پلیت‌های میکروتیتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده عصاره اضافه شده و پس از مخلوط

کردن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه کرده و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام داده شد از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت خارج کرده و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^7 واحد در میلی‌لیتر معادل ۰/۵ مک‌فارلند اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده بود به عنوان (MIC) در نظر گرفته شد و برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته بود ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده نشان داده شد.

نتایج

واکنش باکتری به آنتی‌بیوتیک

فعالیت ضد باکتریایی چند آنتی‌بیوتیک علیه سویه‌های بدست آمده در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمون نشان داد که سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس رفتار تقریباً مشابهی در شرایط حضور آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند، اما با این وجود تفاوت‌هایی در بین جدایه‌ها در مقاومت یا حساسیت به آنتی‌بیوتیک دیده شد به طوری که ۶ سویه (سویه‌های شماره ۲، ۸، ۱۰، ۱۳، ۱۴) نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند (جدول ۱). علاوه بر آن تفاوت‌هایی در مکانیسم بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مشاهده گردید که طی آن آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین P و سفکستین CF کمترین اثر آنتی‌بیوتیکی را از خود نشان دادند (شکل ۱).

جدول ۱. الگوی حساسیت سویه‌های باکتری *S. aureus* مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها

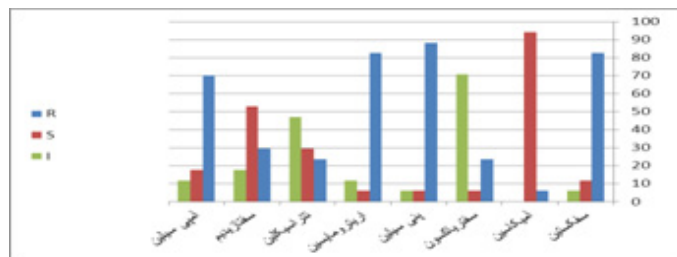
آنتی‌بیوتیک‌ها									*سویه باکتری
CF	AN	CRO	P	E	TE	CAZ	AM	SXT	<i>S. aureus</i>
R	S	I	R	I	S	I	S	R	Sa1
R	S	I	R	R	R	R	R	R	Sa2
R	S	I	R	I	S	S	S	R	Sa3
R	S	I	R	R	I	S	R	R	Sa4
R	S	S	R	R	S	S	R	R	Sa5
R	S	I	R	R	I	S	R	R	Sa6
S	S	I	S	R	R	R	R	R	Sa7
R	S	I	R	R	R	S	R	R	Sa8
S	S	I	R	R	I	S	S	S	Sa9
R	R	R	R	R	I	S	R	R	Sa10
R	S	I	R	R	I	S	R	R	Sa11
R	S	I	R	R	S	R	R	S	Sa12
R	S	I	R	R	R	I	R	R	Sa13
R	S	R	R	R	I	R	I	R	Sa14
R	S	R	R	R	I	I	R	I	Sa15
R	R	R	R	R	I	S	R	S	Sa16
I	S	S	I	S	S	R	I	S	Sa17

Sa: *Staphylococcus aureus* *

R: Resistant

S: Sensitive

I: Intermediate



شکل ۱. الگوی حساسیتی سویه‌های *S. aureus* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها (%)

سفکستین	امیکاسین	سفترایکسون	پنی سیلین	اریترومایسین	تتراسیکلین	سفتازیدیم	آمپی سیلین	تری متوپریم	
۸۲/۴	۵/۹	۲۲/۵	۸۸/۲	۸۲/۴	۲۳/۵	۲۹/۴	۷۰	۷۰/۶	R
۱۱/۸	۹۴/۱	۵/۹	۵/۹	۵/۹	۲۹/۴	۵۲/۹	۱۷/۶	۲۳/۵	S
۵/۹	۰	۷۰/۶	۵/۹	۱۱/۸	۴۷/۱	۱۷/۶	۱۱/۸	۵/۹	I

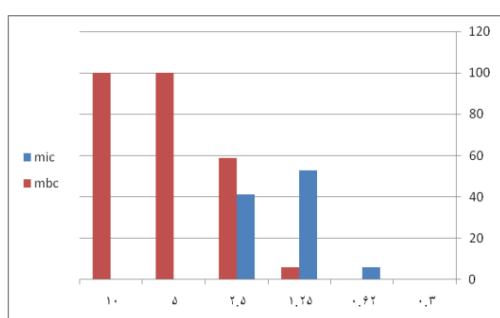
R: Resistant

S: Sensitive

I: Intermediate

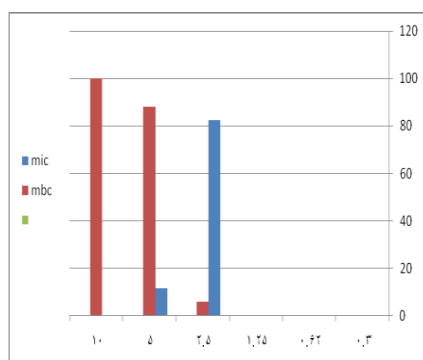
به ترتیب برای عصاره‌های فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه ۱/۲۵ (شکل ۲)، ۲/۵ (شکل ۳) و ۲/۵ (شکل ۴) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. در حالی که به طور تقریبی بیشترین MBC (حداقل غلظت کشندگی) در غلظت‌های 10 ml/mg و 5 ml/mg عصاره‌های فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه می‌باشد (شکل ۲، ۳ و ۴).

بیشترین و کمترین غلظت عصاره‌ها
اثر ضد باکتریایی عصاره گیاهان فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه در غلظت‌های مختلف نشان داد که علی‌رغم مقاومت نسبی اکثر سویه‌ها در غلظت‌های مورد استفاده، بیشترین حساسیت در غلظت‌های 10 ml/mg و 5 ml/mg می‌باشد. به‌طور تقریبی بیشترین MIC (حداقل غلظت بازدارندگی)



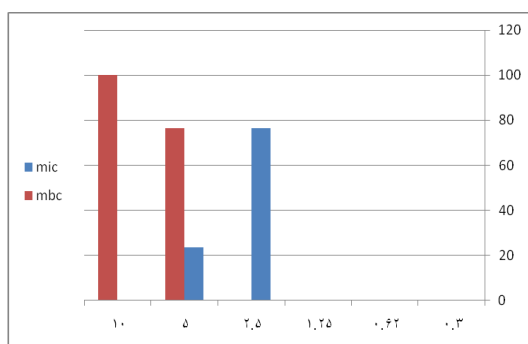
شکل ۲. الگوی حساسیتی سویه‌های *S. aureus* نسبت به رقت‌های مختلف عصاره فلفل قرمز (%).

10Mg	5Mg	2/5Mg	1/25Mg	0/62Mg	0/3Mg	
0	0	41/17	52/94	5/88	0	MIC
100	100	58/82	5/88	0	0	MBC



شکل ۳. الگوی حساسیتی سویه‌های *S. aureus* نسبت به رقت‌های مختلف عصاره تاج خروس (%).

10Mg	5Mg	2/5Mg	1/25Mg	0/62Mg	0/3Mg	
0	11/76	82/35	0	0	0	MIC
100	88/23	5/88	0	0	0	MBC



شکل ۴. الگوی حساسیتی سویه‌های *S. aureus* نسبت به رقت‌های مختلف عصاره مرزه (%).

۱۰Mg	۵Mg	۲/۵Mg	۱/۲۵Mg	۰/۶۲Mg	۰/۳Mg	
۰	۲۲/۵۲	۷۶/۴۷	۰	۰	۰	MIC
۱۰۰	۷۶/۴۷	۰	۰	۰	۰	MBC

و همکاران (۱۳۸۶) نتایج نشان داد عصاره گیاهی فلفل قرمز دارای اثر ضد میکروبی علیه *Staphylococcus aureus* با قطر هاله مهاري (۱۶±۲) است و همچنین عصاره فلفل قرمز در رقت ¼ باعث مهار رشد و مرگ *S. aureus* شده است (زرین قلم مقدم و همکاران، ۱۳۸۶). در مطالعات تیموری (۱۳۸۸) نتایج آنالیز شیمیایی اسانس مرزه نشان داد که ترکیبات اصلی آن شامل کاراکرول (۲۶/۴ درصد)، تیمول (۲۰/۶)، لینالول (۱۶/۱۹)، آلفا-ترپینن (۵/۹۴ درصد)، میرسن (۳/۵۶) و گاما-ترپینن (۲/۳ درصد) است و این گونه از نظر مهارکنندگی رشد و کشندگی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بسیار قوی بوده که به دلیل وجود تیمول موجود در این اسانس است و همچنین غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس گیاهی مرزه برای باکتری‌های *Micrococcus loteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Kellebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Kellebsiella pneumonia* به ترتیب mg/

بحث

گیاهان دارویی از دیرباز برای درمان عفونت‌های باکتریال استفاده می‌شده‌اند. اخیراً به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی، به منابع گیاهی به عنوان مخازن طبیعی توجه بیشتری شده است. میزان بیان متابولیت‌های موجود در اندام‌های مختلف گیاه بر حسب شرایط اکولوژیکی متفاوت است. بر این اساس ارزیابی مواد مؤثر گیاهان دارویی بر حسب مناطق جغرافیایی تحت کشت آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد، همانطور که در این مطالعه مشاهده می‌شود، بیشترین مقاومت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم، آمپی‌سیلین، اریترومايسين، پنی‌سیلین و سفکستین بوده است و کمترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک آمیکاسین بوده است در حالی که عصاره گیاهی فلفل قرمز خاصیت ضد میکروبی بالایی نسبت به تاج خروس و مرزه دارد که این تفاوت ناشی از مواد مؤثر موجود در گیاه است. در مطالعه زرین قلم

آن را در رده داروهای گیاهی فرموله شده در داروخانه در دسترس بیماران قرار داد.

۱۲۵، ۲۵۰، ۲۵۰، ۱۵۰۰، ۲۵۰، ۲۵۰، ۲۵۰ و ml ۲۵۰ است (تیموری، ۱۳۸۸). در مطالعات محبوبي و همکاران (۱۳۸۸) نتایج آنالیز شیمیایی اسانس مرزه نشان داد که این گیاه شامل (۳۸/۹ درصد) کاراکرول است و همچنین غلظت مهارکنندگی (MIC) ترکیب اسانس مرزه و آویشن برای *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* به ترتیب ۱۲۵، ۱۲۵، ۱۲۵ $\mu\text{g/ml}$ و ۶۳ بوده است در حالی که غلظت مهارکنندگی ترکیب اسانس مرزه و مرزنجوش برای *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* به ترتیب ۱۲۵، ۱۲۵، ۱۲۵ $\mu\text{g/ml}$ (محبوبی و فیض آبادی، ۱۳۸۸) کاراکرول موجود در مرزه با غشای سلولی از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های K^+/H^+ واکنش می‌دهد تغییر در شیب یونی منجر به توقف و اختلال عملکردهای اساسی سلول و مرگ می‌شود (Ultee et al., 1999). در مجموع، نتایج حاصل از این پژوهش چنین نشان می‌دهد که پایین‌ترین غلظت از عصاره فلفل قرمز، تاج خروس و مرزه مورد مطالعه می‌تواند از بالاترین دوز مصرفی دارو ارجحیت داشته باشد. به هر حال با توجه به ایجاد مقاومت سویه‌های باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی لازم است دوز مصرف هر یک از آن‌ها برای بیماران، در حد پایین‌تری تجویز شود و به همراه مصرف دارو، جوشانده فلفل سیاه و یا گیاهان دارویی مشابه نیز توصیه شود تا از مقاومت بیشتر سویه‌ها به داروهای شیمیایی جلوگیری شود. آزمایشات کلینیکی بر روی بیماران بعد از مصرف عصاره گیاهی فلفل سیاه جهت تایید این داده‌ها توصیه می‌شود تا در نهایت بتوان

منابع

- تیموری، م. (۱۳۸۸). تجزیه اسانس و بررسی اثر ضد باکتریایی گیاه مرزه (*Satureja bachtiarica*) در استان اردبیل. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره پیاپی ۱۴، سال چهارم، شماره ۲.
- زرین قلم مقدم، م. ستاری، م. زرین قلم مقدم، ج. رضازاده، ش. (۱۳۸۶). اثر عصاره الکلی فلفل سیاه، فلفل قرمز و آویشن شیرازی بر مهار آنزیم DNase استافیلوکوکوس اورئوس. فصلنامه گیاهان دارویی. سال ششم، دوره چهارم، شماره مسلسل بیست و چهارم.
- محبوبی، م. فیض آبادی، م. (۱۳۸۸). بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های آویشن، مرزنجوش، مرزه و اکالیپتوس بر باکتری‌های اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم و قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فلاووس. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، دوره دوم، شماره مسلسل سی‌ام.
- Abbasi, K.H. sefidkon, F, Yamini, Y. (2005). Comparison of oil content and composition of two *Satureja* species (*Satureja hortensis* L. & *Satureja rechingeri*
- Burt, S.(2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology. 94(3):223-53.
- Emami, A. Shams-Ardakani, M.R. Mehregan, I. (2004). Encyclopedia of Medicinal Plants. Traditional Medicine & Materia Medica Research Center (TMRC), Shaheed Beheshti University of Medical Sciences. 449.
- Faid, M. Anchad, M. Bakhy, K. Tantaoui-Elaraki, A.(1995). Almond paste: Physico-chemical and Microbiological characterization and preservation with sorbic acid and cinnamon. Journal of Food Protection. 58 (5) : 547-550
- Kluytmans, J. van Belkum, A. Verbrugh, H.(1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical microbiology reviews. 10(3):505-20.
- Kordali, S. Kotan, R. Mavi, A. Cakir, A. Ali, A.Yildirim, A. (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. Journal of agricultural and food chemistry. 53(24):9452-8.
- Kokoska, L. Polesny, Z. Rada, V. Nepovim ,A. Vanek, T. (2002). Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. Journal of ethnopharmacology. 82(1):51-3.
- Newall, C. (1996). Herbal medicines a guide for health care professionals. The pharmaceutical press. London.
- Prabuseenivasan, S. Jayakumar, M. Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine. 6(1):39.
- Shopsis, B. Kreiswirth, B. N.(2001). Molecular epidmiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging infectioud Disease Journal. 7(2):323-6.

- Sylvestre, M. Pichette, A. Longtin, A. Nagau, F. Legault, J. (2006). Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *Journal of Ethnopharmacology*. 103(1):99-102.
- Sefidkon, F. Jamzad, Z. (2005). Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge, A potential source of carvacrol. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 20 (4): 425-39.
- Tiemersma, E.W. Bronzwaer, S. L.A.M. Lyytikäinen, O. Degener, J.E. Schrijnemakers, P. Bruinsma, N. et al. (2004). European antimicrobial resistance surveillance system participants (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe (1992-2002-)). *Emerging Infectious Disease Journal*. 10(9):1623-7.
- Ultee, A. Kets, E. P. W. Smid, E. J. (1999). Mechanism of action of carvacrol on the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiol*. 65 (10): 4606-10.
- Zargari, A. (1989) Herbal drug. 4th. Tehran university.