اثر ضد میکروبی عصاره آبی و کلروفرمی گیاه Allium Sativum بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

سکینه مرادخانی[۱]، حامد ملاعباس زاده[۲]*

۱-استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران.
۲-دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، مرند، ایران.

***نشانی برای مکاتبه:** حامد ملاعباس زاده، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، مرند، ایران. Hamed_molaabaszadeh@yahoo.com
دریافت مقاله: تیر نود و سه پذیرش برای چاپ: شهریور نود و سه

چکیده

سابقه و هدف: *باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین عوامل عفونت زا برای انسان به شمار می آید و از طرفی با افزایش مقاومت باکتری ها نسبت به داروهای شیمیایی و عوارض جانبی کم گیاهان دارویی، امروزه گیاهان دارویی بیش تر مورد توجه محققین قرار گرفته اند. هدف از این مطالعه تعیین اثر عصاره آبی و کلروفرمی گیاه Allium Sativum بر استافیلوکوکوس اورئوس می باشد.*

روش کار: *در این مطالعه ابتدا عصاره آبی و کلروفرمی گیاه Allium Sativum تهیه شد، سپس میزان MIC و MBC عصاره ها محاسبه و قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در رقت های مختلف عصاره ها اندازه گیری شد و تست حساسیت آنتی بیوتیک های مختلف با روش استاندارد کربی- بائر بررسی شد*

یافته ها: *عصاره کلروفرمی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۳±۲۷، اثر ضد میکروبی قوی تری نسبت به عصاره آبی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲±۱۷ نشان داد و بیش ترین میزان حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به نافسیلین با ۵۸/۹۹ درصد مشاهده شد.*

نتیجه گیری: *اگر چه کاربرد بالینی عصاره ها و اسانس های گیاهی به دلیل عوارض جانبی کم تر نسبت به عوامل درمانی رایج، با ارزش به نظر می رسد، اما جهت کاربرد بالینی ضد میکروبی عصاره آبی و کلروفرمی گیاه Allium Sativum باید تحقیقات بیش تری در زمینه مکانیسم عمل ترکیبات موثر این گیاه بر روی عوامل میکروبی انجام شود.*

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس ، سیر، عصاره آبی، عصاره کلروفرمی، مقاومت دارویی

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها، قرن ها سابقه دارد. امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند اما تخمین زده شده است که دست کم، یک سوم کلیه فرآورده های دارویی منشا گیاهی دارند(۱). از اوایل قرن بیستم با پیش رفت علم شیمی و کشف سیستم های پیچیده سنتز آلی منجر به توسعه صنعت داروسازی و جای گزینی داروهای مصنوعی به جای داروهای گیاهی شد. اما هم زمان با پیش رفت در تولید داروهای جدید و آنتی بیوتیک های مختلف، به تدریج اثرات مضر این داروها ظاهر شدند و از دهه ۱۹۵۰ باکتری های بیماری زای متعددی به آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان دادند که این مقاومت هم چنان در حال گسترش است(۲). استفاده از گیاهان دارویی به خاطر داشتن عوارض و هزینه های کم تر و سازگاری بیش تر بیماران به این داروها در دهه های اخیر مورد توجه بیش تری قرار گرفته است(۳). در کشورهای در حال توسعه که طب سنتی نقش مهمی در حفظ سلامت مردم دارد گیاهان منبع عمده تامین داروها به شمار می آیند(۴).

سیر یا *Garlic* با نام علمی *Allium Sativum* گیاهی است متعلق به خانواده آلیاسه (*Alliaceae*) که بومی آسیای میانه است و امروزه درتمام نقاط دنیا یافت می شود. گونه های مختلف این گیاه از قرن ها قبل به عنوان ادویه، چاشنی غذایی و نیز به عنوان دارو در طب گیاهی در درمان انواع مختلف بیماری ها استفاده می شده است(۵). سیر از خواص آنتی بیوتیکی، ضد سرطانی، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، کاهنده قند خون و محافظت کنندگی از سیستم قلبی-عروقی برخوردار است، اثرات ضد باکتریایی سیر بر باکتری های متفاوتی نیز بررسی و گزارش شده است(۸-۶).

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از مهم ترین کوکسی های گرم مثبت است که عامل عفونت های مختلفی از جمله اندوکاردیت، عفونت های زخم، عفونت پوست، سپتی سمی، بافت نرم، استخوان و پنومونی و باکتریمی می باشد و به عنوان یک پاتوژن بیمارستانی محسوب می شود و می تواند از طریق تماس مستقیم یا از طریق اشیاء منتقل شود(۹و۱۰)، این باکتری به عنوان یکی از برجسته ترین و مهم ترین عوامل ایجاد عفونت های باکتریایی اکتسابی از بیمارستان و جامعه در سطح جهان به شمار می آید(۱۱). مطالعات نشان می دهد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به برخی از آنتی بیوتیک ها مقاومت پیدا کرده است، هم چنین گسترش

روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از معضلاتی است که امروزه پزشکان با آن سر و کار دارند و به علت پیدایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* روز به روز تعداد آنتی بیوتیک های در دسترس برای درمان این عفونت ها کاهش می یابد(۱۲و۱۳). در سال های اخیر افزایش چشم گیری در بروز عفونت های بیمارستانی ناشی از سویه ی *استافیلوکوکوس اورئوس* که غالباً چند مقاومتی نیز می باشند، مشاهده شده است. به طوری که برخی از سویه ها حتی نسبت به تعداد زیادی از ترکیبات ضد میکروبی، اعم از آنتی بیوتیک ها و ضد عفونی کننده ها، مقاومت نشان داده اند. قبل از دوران مصرف آنتی بیوتیک ها یعنی حدود ۶۰-۵۰ سال قبل، پیش آگهی بهبودی برای بیماران مبتلا به عفونت های شدید استافیلوکوکی، بسیار ضعیف بود. با ارائه پنی سیلین جهت استفاده بالینی، دگرگونی ویژه ای به وجود آمد طوری که عفونت های حاد استافیلوکوکی کاملا درمان می شدند ولی بعد از طی چند سال، ظهور استافیلوکوک های مقاوم به پنی سیلین گزارش شدند، طوری که امروزه تقریباً همه سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* به این آنتی بیوتیک مقاوم هستند(۱۴و۱۵).

توجه به مطالب فوق و اثرات ضد باکتریایی گیاه ***Allium Sativum*** و وفور کشت و مصرف آن در کشورمان چه به صورت خام و چه به صورت فرآوری شده، انجام مطالعات تکمیلی در این زمینه می تواند استفاده گسترده تر و هدف مندتر آن را در پی داشته باشد، لذا در این تحقیق به مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره آبی و کلروفرمی گیاه ***Allium Sativum*** بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* پرداخته شد.

روش کار

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه پیام نور واحد خوی انجام گرفت. نمونه های *استافیلوکوکوس اورئوس* پس از جمع آوری از آزمایشگاه های سطح شهر خوی بر روی محیط های بلاد آگار و مانیتول سالت آگار (Merck, Homburg, Germany) کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و از کلنی های رشد یافته مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* برای انجام تست های بیوشیمیایی افتراقی نظیر کاتالاز، کواگولاز، کشت روی محیط ژلوز خون دار و DNase استفاده شد و با استفاده از جداول استاندارد، ایزوله های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا گردیدند. ارزیابی حساسیت ضد میکروبی سویه های جدا شده، با روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Kirby-bauer) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Homburg, Germany) با استفاده از دیسک های آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، تری متو پریم- سولفامتوکسازول (۱۰ میکروگرم)، پنیسیلین (۱۰ میکروگرم)، نافسیلین (۱ میکروگرم) و متی سیلین (۵ میکروگرم) تهیه شده از شرکت Mast انگلستان انجام گرفت(۱۶). برای این کار محیط کشت مولر هینتون آگار و سوسپانسیون میکروبی (کدورت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) تهیه و توسط سوآپ استریل کشت داده شد و بعد دیسک های آنتی بیوتیک با فاصله لازم در کنار هم قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ °C، قطر هاله های رشد یافته شده توسط خط کش (Antiobiotic Zone Scale ruler) اندازه گرفته شد، سپس با کمک جدول استاندارد موجود نتایج برای هر آنتی بیوتیک مطابق با دستورالعمل مربوطه به عنوان حساس (S)، حدواسط (I) و مقاوم (R) ثبت شد. از سویه های استاندارد، *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 به عنوان کنترل کیفی استفاده گردید.

برای تهیه عصاره آبی سیر از روش Bakri و Douglas استفاده شد. ابتدا ۸۰ گرم سیر پس از توزین و شستشو و جداساختن پوسته خارجی آن، له شده و توسط آسیاب برقی، در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل کاملاً مخلوط و هموژنیزه گردید. این مخلوط ۲۰ دقیقه در دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد و پس از برداشتن مایع رویی از فیلتر واتمن شماره یک عبور داده شد و پس از عبور از فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرونی، استریل گردید و با کم کردن وزن مواد غیر محلول از وزن حبه های سیر اولیه، غلظت نهایی سیر در عصاره، ۵۱۲ mg/ml محاسبه شد(۱۷).

برای تهیه عصاره کلروفرمی سیر حاوی آلیسین مطابق منابع انجام شد که به طور خلاصه شامل خرد کردن سیر به هم راه آب مقطر در مخلوط کن، صاف کردن و سپس افزودن کلروفرم به عصاره آبی در دکانتور، جدا کردن فاز پایینی (فاز کلروفرمی) و قرار دادن آن در دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۴۵-۵۵°C برای خالص سازی عصاره و تقطیر کلروفرم بود. سپس عصاره تهیه شده را ۱۸-۱۲ ساعت در انکوباتور ۳۰°C برای حذف بقیه کلروفرم قرار دادیم تا در نهایت یک عصاره زرد تا سبز رنگ غلیظ با بوی تند سیر بدست آمد(۱۸).

برای بررسی اثر عصاره ها باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* کشت شده در محیط کشت مایع، به پلیت های حاوی محیط کشت مولرهینتون آگار انتقال داده شدند. سپس دیسک های آغشته به رقت های خالص، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴ و ۱/۱۲۸ بر روی محیط کشت حاوی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* قرار داده شدند، این آزمایش یک بار برای عصاره آبی و یک بار برای عصاره کلروفرمی انجام شد. پس از انکوبه کردن قطر هاله های عدم رشد باکتری اندازه گیری شدند. جهت جلوگیری از احتمال وقوع خطا در مراحل کار، آزمایش ها سه بار تکرار شدند. میزان حداقل غلظت بازدارنده رشد Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و حداقل غلظت کشنده Minimum Bactericidal Concentration (MBC) با روش رقت در براث تعیین شد. ابتدا از عصاره های تهیه شده مجموعه سریال رقتی، با رقت های ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶،۱:۳۲، ۱:۶۴ و ۱:۱۲۸ در لوله های حاوی ۱ میلی لیتر محیط مولر هینتون براث تهیه و سپس برای هر یک از باکتری های مورد آزمایش یک سری از سریال های رقتی تهیه شده، به کار برده شد. به هر کدام از رقت ها به ازای هر میلی لیتر محیط مایع درون لوله ۵×۱۰^{۵} باکتری فعال اضافه گردید. در کنار هر سریال رقتی از کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری + ۱درصد حلال بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت فاقد باکتری) استفاده گردید. نمونه های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. از تمام لوله های فاقد کدورت به میزان ۰/۵میلی لیتر بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و آخرین رقتی از عصاره ها که قادر به کشتن ۹۹/۹٪ از باکتری های زنده اولیه بود، به عنوان غلظت کشنده (MBC) در نظر گرفته شد(۱۹).

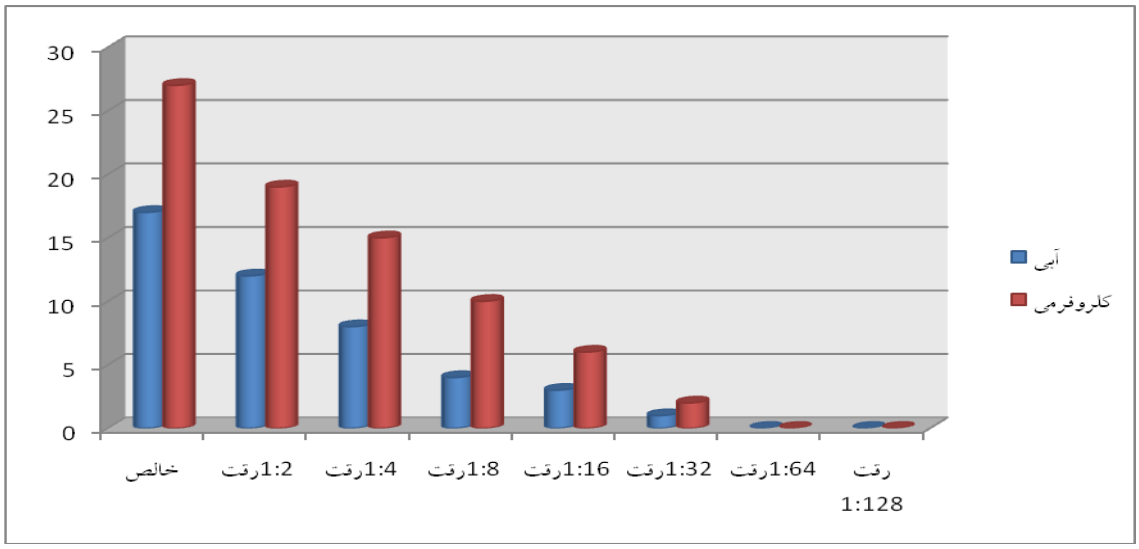
یافته ها

از میان ۲۱۶ سویه مورد آزمایش ۱۳۹ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا گردید، بیش ترین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده مربوط به نمونه های خلط(۷۲ مورد ۵۱/۸٪) و کم ترین آن مربوط به نمونه سون (۳ مورد ۲/۲٪) بود. بیش ترین میزان حساسیت نسبت به نافسیلین با ۵۸/۹۹٪ و

بیش ترین میزان مقاومت نسبت به پنیسیلین با ۱۰۰٪ دیده شد(جدول ۱). عصاره کلروفرمی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۳±۲۷، اثر ضد میکروبی قوی تری بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت، اما عصاره آبی اثر ضد میکروبی ضعیف تر و با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲±۱۷ را نشان داد و با رقیق تر کردن عصاره تهیه شده، اثر ضد میکروبی کاهش یافت به طوری که در رقت ۱:۳۲ عصاره کلروفرمی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱±۲ و عصاره آبی با میانگین قطر هاله عدم رشد تقریباً صفر بدست آمد و در رقت های ۱:۶۴ و ۱:۱۲۸ هیچ گونه حساسیت باکتریایی مشاهده نشد (نمودار ۱). MIC و MBC عصاره آبی۲۲۴ میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره کلروفرمی ۶۵۴ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد.

جدول ۱- نتایج تست آنتی بیوگرام سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس*

آنتی بیوتیک	حساس	بینابینی	مقاوم
	(درصد) تعداد	(درصد) تعداد	(درصد) تعداد
آمیکاسین	۴۸ (۳۴/۵۴)	۲ (۱/۴۴)	۸۹ (۶۴/۰۲)
تری متو پریم- سولفامتوکسازول	۶۹ (۴۹/۶۳)	۳ (۲/۱۶)	۶۷ (۴۸/۲۱)
پنیسیلین	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۳۹ (۱۰۰)
نافسیلین	۸۲ (۵۸/۹۹)	۱ (۰/۷۳)	۵۶ (۴۰/۲۸)
متی سیلین	۷ (۵/۰۴)	۳ (۲/۱۶)	۱۲۹(۹۲/۸۰)



نمودار ۱) میانگین ± انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برحسب میلی متر

بحث

طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی،۸۰٪ از جمعیت کشورهای توسعه یافته، کم و بیش برای درمان از گیاهان دارویی نیز استفاده می نمایند. در این میان ایجاد مقاومت میکروبی روز افزون نسبت به آنتی بیوتیک های موجود سبب گشته که در جهت یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید، گیاهان نیز مورد بررسی قرار گیرند(۲۰). چندین گیاه دارویی وجود دارند که در طب سنتی از آن ها برای درمان عفونت ها استفاده شده است(۲۱). سیر منبع خوب، ارزان و طبیعی آنتی اکسیدان هایی نظیر اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها معرفی نموده اند(۲۲). عمل کرد ضد باکتریایی سیر را عمدتا به آلیسین موجود در سیر نسبت داده اند و اثرات ضد میکروبی آلیسین خالص در چندین بررسی، گزارش شده است. آلیسین، به مقدار زیاد در سیر له شده وجود دارد و به واسطه اثر آلیناز بر آمینو اسید اکسیژنه آلین (Allin) موجود در سیر سالم و له نشده به وجود می آید. این آنزیم، در سیر له نشده به مقدار زیاد وجود داشته و حدود ۱۰ درصد پروتئین های موجود در سیر را تشکیل می دهد. مکانیزم عمل ضد باکتریایی آلیسین مشخص نیست ولی پاره ای از بررسی ها حاکی از خاصیت تغییر دهندگی آن بر گروه های سولفیدریل و مهار آنزیم های حاوی این گروه ها می باشد، عصاره سیر در دمای معمولی از فعالیت باکتری *اشرشیاکولای* و *سالمونلا*، باکتری های گرم مثبت از قبیل *آنتراسیس* تیپ B و *استرپتوکوکوس* تیپ A ممانعت به عمل می آورد و اثرات باکتریسیدی سیر، قوی تر از پنی سیلین می باشد. به طوری که 1mg آلیسین برابر ۱۵ واحد استاندارد پنی سیلین تأثیر دارد. در مطالعه ای اثرات آنتی باکتریال وسیع الطیف سیر روی انواع باکتری های گرم منفی و گرم مثبت تأیید گردید(۲۳).

دانشمندان مطالعاتی را بر روی خواص ضد میکروبی سیر بر روی باکتری های مختلف انجام دادند، از جمله Iwalokun و هم کاران تاثیر عصاره آبی سیر بر روی باکتری های *استرپتوکوکوس پنومونیه*، *پسودوموناس ائروژینوزا*، *اشریشیاکلی* و *شیگلا* (۲۴)، Lemar و هم کاران اثر عصاره سیر بر روی *کاندیدیا* (۲۵)، Fani و هم کاران تاثیر سیر بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*(۲۶)، علیپوریگانه و هم کاران عصاره حاصل از پودر سیر بر باکتری *سالمونلا* و *شیگلا*(۲۷)، کاظمی زاده و هم کاران تاثیر عصاره آبی سیر بر روی باکتری *انتروکوکوس فکالیس*(۲۸)، ساویوم و هم کاران تاثیر عصاره کلروفرمی سیر بر روی باکتری *هلیکوباکتری پیلوری*(۲۹)، دلاها و هم کاران تاثیر عصاره کلروفرمی سیر بر روی باکتری *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*(۱۸) و دشپاند و هم کاران تاثیر عصاره کلروفرمی سیر بر روی باکتری *مایکوباکتریوم آویوم*(۳۰) را می توان نام برد. این مطالعات نشان می دهد که طیف اثرات ضد باکتریایی گیاه سیر وسیع می باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش با کاهش غلظت و افزایش رقت عصاره های آبی و کلروفرمی، اثر ضدمیکروبی کاهش می یابد و در رقت های ۱:۶۴و ۱:۱۲۸ علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ضد میکروبی با عصاره آبی و کلروفرمی مشاهده نگردید این یافته ها با نتایج حاصل از تحقیق تاجیک و هم کاران(۱۳۸۷) که تاثیر عصاره آبی سیر را بر روی میکروارگانیسم های بیماری زا، بررسی کردند، مطابقت دارد(۳۱).

در این مطالعه نشان داده شد که عصاره کلروفرمی دارای اثر ضد میکروبی قوی تری نسبت به عصاره آبی بود که با پژوهش نظام آبادی و هم کاران (۱۳۹۰)، مطابقت دارد(۳۲). میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، تری متو پریم- سولفامتوکسازول و پنیسیلین به ترتیب ۶۴/۰۲ درصد، ۴۸/۲۱ درصد و ۱۰۰ درصد می باشد، این نتایج با مطالعات ملاعباس زاده و هم کاران که بر روی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان آراد تهران انجام گرفت و میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، تری متو پریم- سولفامتوکسازول و پنیسیلین به ترتیب ۶۲/۲۹ درصد، ۴۳/۸۶ درصد و ۱۰۰ درصد ۶۲/۲۹ درصد گزارش شده بود مطابقت داشت(۳۳). در تحقیق دیگر انجام شده توسط ملاعباس زاده و هم کاران بر روی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان امام رضا و شهداء تبریز میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک متی سیلین ۹۶/۲۲ درصد اعلام شد که با نتایج حاصل از این بررسی که ۹۲/۸۰ درصد مشاهده شد هم خوانی داشت(۳۴).

نتیجه گیری

با توجه به اینکه مشکل مقاومت دارویی امروزه به یک مشکل جهانی تبدیل شده است و توسعه مقاومت آنتی بیوتیکی علاوه بر افزایش هزینه های درمانی بالا، موجب ظهور مجدد بیماری هایی شده است که قبلا کنترل شده بودند و این امر، به نوبه خود موجب افزایش عفونت های فرصت طلب ومزمن شده است، بنابراین نیاز به کشف و کاربرد عوامل ضد میکروبی با تاثیر بیش تر و سمیت کم تر ضروری به شمار می آید. لذا بررسی خواص و اجزای ضد باکتریایی موجود در گیاهان که از قرن های گذشته در جوامع بشری کاربرد دارد، یکی از راه های پیش رو در این زمینه می باشد. به نظر می رسد استفاده از ترکیبات دارای عصاره سیر برای جلوگیری از آلودگی های مختلف میکروبی و بیماری های ناشی از آنها مفید خواهد بود، لذا پیش نهاد می شود با بررسی دقیق و مطالعات گسترده تر در مراکز تحقیقاتی بر روی نمونه های مختلف باکتری های تهیه شده از سراسر کشور بتوان گام های اساسی در جهت معرفی بیشتر گیاه سیر به عنوان یک عامل ضد میکروبی بر داشت.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و مسئولین و کارکنان آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه پیام نور واحد خوی که با فراهم نمودن امکانات و وسایل و تجهیزات لازم نویسندگان این مقاله را یاری نمودند؛ نهایت تقدیر و تشکر را دارند.

REFERENCES

1) Eisenberg DM, Davis RB, Ernst SL, Apple S, Wilkey S, Van Rompay M, et al. Trends in alternative medicine use in the U.S.A. 1990-1997, Results of a foollow-up national survey. JAMA. 1998; 280(18): 1569 - 75.

2) Neu HC. The crisis of antibiotic resistance. J Science. 1992; 257(5073): 1061-9.

3) 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.

4) Hayashi H, Hattori S, Inoue K, Khodzhimatov O, Ashurmetov O, Ito M, et al. Field survey of Glycchiza plants in central asia (3). Chemical characterization of *G. glabra* collected in Uzbekistan. J Chem Pharm Bull. 2003; 51(11): 1338-40.

5) Haciseferogullari H, Ozcan M, Demir F, Calisir S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L). J Food Eng. 2005; 68(4): 463-9.

6) Auger J, Arnault I, Diwo-Allain S, Ravier M, Molia F, Magali P. Insecticidal and fungicidal potential of Allium substances as biofumigants. J Agroindustria. 2004; 3(3): 5-8.

7) Sivam GP. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. J Nutr 2001; 131(3): 1106-8.

8) Hosseini-Jazani N, Shahabi S, Abdi-Ali A, Zarrin S, Nasim A. In vitro antibacterial activity of garlic against isolates of *Acinetobacter* spp. J Biol Sci. 2007; 7(5): 819-22.

9) Chambers HF.The changinge epidemiology of *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2001; 7(2): 178-82.

10) Treakle AM, Thom KA, Furuno JP, Strauss SM, Harris AD, Perencevich EN. Bacterial contamination of health care workers' white coats. Am J Infect Control. 2009; 37(2): 101-5.

11) Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol. 2009; 7(9): 629–41.

12) Lindsay JA. Genomic Variation an Devolution of *Staphylococcus aureus*. Int J Med Microbiol. 2010; 300(2-3): 98-103.

13) Scott R, Kathleen O, Daniel M, Andrew R, Donald M, Shelley R. A Real-Time PCR Assay to Detect the Panton Valentine Leukocidin Toxin in Staphylococci: Screening Staphylococcus Schleiferi Subspecies Coagulans Strains from Companion Animals. J Vet Microbiol. 2005; 107(1-2): 139-44.

14) Orth D, Grif K, Erdenechimeg L, Battogtokh C, Hosbayar T, Strommenger B, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Ulaanbaatar, Mongolia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006; 25(2): 104-7.

15) Naimi T S, LeDell K H, Como-Sabetti K, Borchardt S M, Boxrud D J, Etienne J, et al. Comparison of Community and Health Care-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. JAMA. 2003; 290(22): 2976-84.

16) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17th informational supplement, M100-17. Wayne: CLSI, 2007.

17) Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. J Arch Oral Biol. 2005; 50(7): 645-51.

18) Delaha EC, Garagusi VF. Inhibition of *mycobacteria* by garlic extract (*Allium sativum*). J Antimicrob Agents Chemother. 1985; 27(4): 485-6.

19) Izadi Z, Esnaashari M, Ahmadvand Gh, Davoodi P, Piri Kh. Evaluation of Chemical compound and antibacterial effects of Mint Essence. J Armagane Danesh. 2009; 55(14): 45-52. (Full Text in Persian)

20) Moshafi MH, Mehrabani M, Zolhasab H. Antibacterial Activity Studies of *Salvia Mirzayanii* and *Salvia Atropatana* against Six Standard Gram Positive and Gram Negative Bacteria. J KMUS. 2012; 19(6): 511-9. (Full Text in Persian)

21) Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. J Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4): 564-82.

22) Baghalian K, Ziaib SA, Naghavic MR, Naghdi Badi HN, Khalighia A. Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. J Scientia Horticulturae. 2005;103(2): 155-66.

23) Harris J C, Cottrell S L, Plummer s, Lioy D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). J Appl Microbiol Biotechnol. 2001; 57(3): 282-6.

24) Iwalokun BA, Ogunledun A, Ogbolu DO, Bamiro SB, Jimi-Omojola J. In vitro antimicrobial properties of garlic extract against multidrug-resistant bacteria and *Candida* species from Nigeria. J Med Food. 2004; 7(3): 327-33.

25) Lemar KM, Turner MP, Lioyd D. Garlic (*Allium sativum*) as an anti- *Candida* agent: A comparision of the efficacy of fresh garlic and freeze – dried extracts. J Appl Microbiol. 2002; 93(3): 398-405.

26) Fani M, Kohanteb J, Dayaghi M. Inhibitory activity of garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*. J Indian Soc Pedod Prevent Dent. 2007; 25(4): 164-8.

27) Aliporyegane M, Tajik H, Zadehashem E. Inhibitory effect of garlic extract on the growth of *Salmonella typhimurium* and *Shigella* dysenteric. J Knowledge Health. 2008; 4(2): 6-9.

28) Kazemizadeh Z, Tashakori M, Rezaeian M. Comparison of antibacterial effects of garlic extract with two intracanal irrigants on Enterococcus faecalis. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2011; 10(1): 3-13. (Full Text in Persian)

29) Sivam GP, Lampe JW, Ulness B, Swanzy SR, Potter JD. *Helicobacter pylori* in vitro suscep tibity to garlic (*Allium sativum*) extract. J Nutr Cancer. 1997; 27(2): 118-21.

30) Deshpande RG, Khan MB, Bhat DA, Navalkar RG. Inhibition of *Mycobacterium avium* complex isolates from AIDS patients by garlic (*Allium sativum*). J Antimicrob Chemother. 1993; 32(4): 623-6.

31) Tajik H, Shokuhi Sabet Jalali F. In vitro Assessment of Antimicrobial Efficacy of Aqueous Extract of Garlic Against Wound-infecting Microorganisms. JMP. 2008; (2)26: 10-5. (Full Text in Persian)

32) Nezamabadi M, Soltani F, Zeinali H, Azizi A, Mohseni J, Mohajerani MH. Evaluation of antimicrobial effects of hydroalcholic and aquatic extracts of sumac, on gram negative bacteria *E.coli*. The First International & 4th National Congress on health Education & Promotion. 2011. Tabriz. (Full Text in Persian)

33) Molaabaszadeh H, Eslami K, Hamidi M, Bahman Abadi R, Mehrjoian E. Determination of Prevalence Rate and Antibiotic Resistance Pattern in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from clinical samples of Tehran's Araad Hospital in year 2007-2011. IICCOM. 2014; 18(63): 49-53. (Full Text in Persian)

34) Molaabaszadeh H, Mobaiyen H, Mirzaei H. Determination of Prevalence Rate and Antibiotic Resistance Pattern in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from In-patients of Imam Reza and Shohada Hospitals, Tabriz. J Microbiol Biotechno. 2011; 3(9); 45-50. (Full Text in Persian)