اثر عصاره الکلی و آبی برگ لاواندولا استوکاس بر استافیلوکوکوس اورئوس و سایر باکتری های گرم منفی

دکتر آذردخت خسروی* محمدعلی ملکان**

Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria

A.Khosravi M.Malecan

⊥Abstract

Background: By increasing resistance of pathogenic bacteria to antibiotics in last few decades, many attempts have been made by the researchers to find new compounds as a substitute for non-effective antibiotics. Compounds and extracts of the plants could be part of these substitutes.

Objective: In vitro investigation of antibacterial properties of aques-and alcoholic extracts of lavandula stoechas on clinical and standard strains of staphylococcus aureus, salmonella typhi, pseudomonas aeruginosa and escherichia coli.

Methods: The compounds of the plant were extracted by distillation method. The antibacterial property of the extracts were investigated by tube dilution method in broth media. By using different concentrations of the extracts, MIC and MBC were determined. In disc diffusion method, the mean diameter of growth inhibition zones on agar media were determined by preparing discs from defined concentrations.

Findings: Certain concentrations of the extracts showed significant antibacterial effect on the strains. Extracts with 20 mg concentration showed defined growth inhibitory effect and 30 mg concentration showed both inhibitory and bacteriocidal effects on all of the given bacteria.

Conclusion: Since some of concentrations of the extracts showed significant antibacterial activity on given bacteria, more studies on the plant in future, provides more information regarding probable substitution of that for current antibiotics.

Keywords: Lavandula Stoechas, Aques and Alcoholic Extracts, Staphylococcus Aureus, Salmonella Typhi, Escherichia Coli, Psudomonas Aeruginosa

⊥ چکیده

زمینه: با مقاومت روزافزون باکتری های بیماری زا نسبت به داروهای آنتی بیوتیک, محققان در پی یافتن ترکیب ها و داروهای جدید بـه خصوص داروهای گیاهی به عنوان جای‌گزین آنتی بیوتیک های غیر موٴثر هستند.

هدف: مطالعه به منظور تعیین خواص ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه لاواندولااستوکاس بر سویه های بالینی و استاندارد بـاکتری های استافیلوکوکوس اورئوس, سالمونلاتایفی, سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۷۹ در گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز انجام شد. عصاره ها بـه روش تقطیر در خلاء استخراج شدند. خاصیت ضدباکتریایی عصاره ها ابتدا به روش رقت لوله ای در محیط مایع مورد بررسی قرار گرفـت و حداقل غلظت مهارکننده و کشنده با استفاده از درصد غلظت های مختلف عصاره ها تعیین شد. با تهیه صفحه از غلظـت هـای تعیـین شده, در روش آنتی بیوگرام به شیوه انتشار صفحه در آگار, میانگین قطر هاله های عدم رشد روی محیط جامد با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته ها: غلظت های معینی از این عصاره ها دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی روی باکتری ها بودند. تاٴثیر عصاره ها بـا کـم شـدن غلظت آنها در دیسک, کم می شد. عصاره های الکلی با غلظت ۲۰ و۳۰ میلی گرم به طور معنی دار اثر مهاری روی رشـد بـاکتری هـای مورد آزمایش داشتند که در این میان غلظت ۳۰ میلی گرم دارای هر دو اثر مهاری و کشندگی بود.

نتیجه گیری: علی رغم تاٴثیر قابل توجه برخی از غلظت های عصاره این گیاه بر باکتری ها, بـرای معرفـی آن بـه عنـوان جـای‌گـزین داروهای ضد میکروبی, به مطالعه های وسیع تری نیاز است.

کلید واژه ها: عصاره آبی و الکلی, لاواندولااستوکاس, استافیلوکوکوس اورئوس, سالمونلاتایفی, اشرشیاکلی, سودوموناس آئروژینوزا

* استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

* * کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

⊥ مقدمه :

طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها وسیله درمان محسوب می شدند و در عین حال مواد اولیه موجود در آنها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می گرفت.[۵] اوایل قرن بیستم پیشرفت علم شیمی و کشف سیستم های پیچیده سنتز آلی منجر به توسعه صنعت داروسازی و جای گزینی داروهای صناعی به جای داروهای گیاهی شد. اما همزمان با پیشرفت در تولید داروهای شیمیایی 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 همچنان در حال گسترش است.[۲و۱۰] لذا بهره گیری از داروهای گیاهی به عنوان جای گزین داروهای شیمیایی و آنتی بیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفت که یکی از این گیاهان تیره نعناع (Labiatae) است که در حال حاضر انجمن های گیاه شناسی معتبر جهان این تیره را با نام لامیاسه (Lamiaceae) می شناسند.[۸] گونه های تیره نعناع تقریباً در سراسر جهان پراکنده اند و به طور خاصی در مناطق مدیترانه ای تجمع دارند. جنس های اسطوخودوس (Lavandula), آویشن (Thymus), مریم گلی (Salvia officinalis) و رزماری (Rosmarinus) از گیاهان اصلی سواحل مدیترانه ای اروپا هستند.[۱]

تحقیق در مورد خواص دارویی و پزشکی عصاره برگ گیاهان تیره نعناع و گونه خاصی از این تیره یعنی لاواندولا استوکاس از اواخر دهه ۱۹۸۰ شروع شد.[۷و۱۲] جنس لاواندولا در دنیا متجاوز از ۳۰ گونه را در بر می گیرد که در منطقه مدیترانه, هند و نواحی جنوب غرب آسیا پراکنده است.[۱]

تحقیقات سال ۱۹۹۵ اسپانیا نشان داد که قسمت های هوایی گیاه لاواندولا نسبت به سایر بخش های گیاه اثر ضد میکروبی قوی تری دارد.[۷] مطالعه های انجام شده بر روی عصاره سایر گیاهان این تیره از جمله رزمارینوس, اثر مهاری آن را روی قارچ های رشته ای نشان داده است.[۶] دی ترپن های خاصی از ریشه گیاهان تیره نعناع جدا شده است که مسوٴول خاصیت ضد میکروبی آنهاست و ترکیب های مشابه آن را از برگ های لاواندولا جدا نموده اند.[۱۱و۱۳] مطالعه هایی که در چین صورت گرفته حاکی از استخراج موادی از گیاهان تیره نعناع است که خاصیت ضد میکروبی قوی از خود نشان داده است.[۳و۱۳]

متاٴسفانه تحقیقات زیادی بر روی عصاره های آبی و الکلی برگ لاواندولا برای تعیین ترکیب موٴثر موجود در آن از نظر خواص ضد میکروبی انجام نشده است. البته مشخص شده که برگ این گیاه حاوی مقادیر زیادی دی ترپن, الکل های حلقوی, فلانوئیدها و اسیدهای آلی مثل کارنوزیک اسید و ساپونین است که در این بین, ساپونین ها خاصیت ضد باکتریایی موٴثری دارند.[۹] این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره آبی و الکلی این گیاه بر روی تعدادی از باکتری های گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد.

⊥ مواد و روش ها :

سرشاخه های برگ دار گیاه لاواندولا استوکاس (اسطوخودوس) در دو نوبت دی ماه ۱۳۷۸ و اوایل خرداد ۱۳۷۹ از باغ گیاه شناسی دانشکده کشاورزی کرج جمع آوری شدند. این سرشاخه ها در محلی تاریک و خشک نگه داری و به طور کامل خشک شدند. سپس گیاهان به محل اجرای تحقیق در گروه میکروب شناسی

/

دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهـواز انتقـال داده شـدند. پـس از جداسـازی و آسـیاب کـردن بـرگ هـا, عصاره گیری انجام شد. سپس ۱۲/۵ گرم پودر برگ گیـاه به ۱۲۵ میلی لیتر آب مقطر, ۱۲۵ میلی لیتر اتانول به طور جداگانـه اضـافه و هـر دو مخلـوط بـه روش خیـساندن (Maceration) عـصاره گیـری شـدند. بـرای ایـن کـار ظرف های حاوی مخلوط‌های تهیـه شـده بـه مـدت ۱۸ سـاعت روی دسـتگاه چرخاننـده (مخلـوط را یکنواخـت می گرداند) قرار گرفت تا عمل خیساندن به خوبی صورت گیرد. سپس مخلـوط‌هـا درون دسـتگاه تقطیـر ریختـه و عصاره ها تهیه شد. برای تعیین غلظت عـصاره هـا, ابتـدا پیکنومتر به صورت خالی و خشک و سپس پر شده بـا آب مقطر و اتانول وزن شـد. در مرحلـه دوم, پیکنـومتر پـر از عصاره ها وزن شد و با تعیین تفاوت اوزان به دست آمده, جرم عصاره خشک و سپس وزن مخـصوص آن محاسـبه شد. عصاره ها تا زمان استفاده در دمای یخچال نگه داری شـدند. بـرای تهیـه صـفحه هـای حـاوی عـصاره از صفحه های بلانـک (سـاخت پـادتن طـب) اسـتفاده شـد. مقادیر تعیین شده از عصاره به همراه حلال وارد صفحه ها شد و صفحه ها در یک پلیت اسـتریل در دمـای ۳۷ درجـه سانتی گراد به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه قرار گرفتند تـا حـلال آنها خارج شود. محاسبه مقادیر وارد شده در هر صـفحه بـه صورتی بود که پس از تبخیر حلال, صفحه هـا حـاوی ۳۰, ۲۰, ۱۰, ۵, ۲/۵ و ۱/۲۵ میلی گرم عصاره خالص باشند.

باکتری های مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودنـد از استافیلوکوکوس اورئـوس (Staphylococcus aureus), سودوموناس آئروژینوزا (Pseudomonas aeroginosa), اشرشـیاکلی (Escherichia coli) و سـالمونلاتایفی (Salmonella typhi). باکتری ها از نمونه هـای بـالینی در آزمایشگاه بیمارستان گلستان اهـواز جـدا شـدند و بـه بخش میکروب شناسی انتقال یافتند و سپس با استفاده از روش های استاندارد کـشت و آزمـون هـای بیوشـیمیایی مورد تأیـید قـرار گرفتنـد.[۴] سـویه هـای اسـتاندارد ایـن باکتری ها نیز جهـت کنتـرل از گـروه میکـروب شناسـی موٴسسه رازی حصارک کرج تهیـه و همـراه نمونـه هـای بالینی تحت کلیه مراحل آزمایش هـا قـرار گرفتنـد. ایـن سـویه هـا عبـارت بودنـد از : اسـتافیلوکوکوس اورئـوس ATCC 417584 , اشرشـیاکلی ATCC 62463 , سالمونلاتایفی ATCC 25922 و سودوموناس آئروژینـوزا ATCC 1568. ازتمـام سـویه هـا در آبگوشـت تریپتیکازسوی بـراث (Tripticase Soy Broth, TSB) سوسپانسیون میکروبی تهیه شد که پس از ۲ تا ۴ سـاعت رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد, کدورت آن با کدورت استاندارد ۵ درصد مک فارلند مقایسه و تنظیم شـد. بـرای تعیین حساسیت کیفی و کمی از این سوسپانسیون استفاده شد. در روش کیفی از انتشار در آگـار (Disk diffusion) به شیوه بائرکربی (Kirby Bauer) استفاده شد کـه طـی آن از سوسپانـسیون میکروبـی اسـتاندارد شـده بـه روش سـفره ای در سـطح محـیط کـشت مولرهینتـون آگـار (Muller hinton agar) کـشت انجـام شـد و سـپس صفحه های تهیه شـده از عـصاره هـا بـا فاصـله معـین از یکدیگر و از لبه پلیت روی آگار قرار داده شد. پلیت هـا بـه مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گـراد قـرار داده شدند و سپس با اندازه گیری قطر هاله هـای تـشکیل شده در اطراف صفحه ها, نتایج مورد بررسی قـرار گرفـت. جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظـت هـای مختلـف عصاره آبـی و الکلـی, ایـن آزمـایش هـا بـرای هـر سـویه باکتریایی پنج بار تکرار شـد. همچنـین بـه منظـور تعیـین پایداری عصاره ها, قطر هاله عـدم رشـد بـا انجـام مجـدد آزمایش ها در ۶ ماه متوالی یادداشت شد و با مقایسه قطـر هاله های به دست آمـده در مـاه هـای مختلـف پایـداری عصاره ها مورد سنجش قرار گرفت.

جهت انجام آزمایش های کمی برای تعیین حداقل غلظت مهارکننده(MIC=Minimal Inhibitory Concentration) وحداقل غلظت کشنده(MBC=Minimal Bacteriocidal Concentration) عصاره ها, از ۲۰ و ۳۰ میلی گرم عصاره استفاده شد که از این مقادیر در لوله های حاوی میزان معین و مساوی آبگوشت TSB, عمل رقیق سازی انجام گرفت. به کلیه لوله ها ۰/۱ میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی استاندارد شده اضافه و تمام لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و سپس نتایج مورد بررسی قرار گرفت. آخرین لوله ای که در آن عدم رشد مشاهده شد به عنوان MIC تعیین شد و تمام لوله های بدون کدورت نیز روی محیط جامد مولرهینتون آگار کشت داده شدند و آخرین رقتی که در آن هیچ گونه نشانه ای از رشد باکتری در سطح آگار ملاحظه نشد به عنوان MBC باکتری در نظر گرفته شد. چون گیاه مورد مطالعه از گیاهان همیشه سبز مناطق معتدل است, به منظور مقایسه فعالیت ضد میکروبی آن در دو فصل مختلف یعنی زمستان و تابستان, کلیه مراحل تحقیق مجدداً در اواخر بهار نیز تکرار شد و نتایج دو نوبت مورد مقایسه قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آماری ANOVA استفاده شد.

⊥ یافته ها :

در روش انتشار در آگار بیش ترین تأثیر مربوط به عصاره های الکلی ۲۰ و ۳۰ میلی گرم بود, به خصوص این عصاره ها روی استافیلوکوک و اشرشیاکلی بسیار موٴثر بودند(جدول شماره ۱).

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد سویه های باکتری ها بر حسب میلی متر ناشی از تاٴثیر عصاره الکلی برگ لاواندولا

غلظت عصاره (میلی گرم) / نام سویه باکتری	۳۰	۲۰	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵
استاف اورئوس بالینی	۱۵/۵۸	۱۵/۰۶	۱۵	۱۴/۲	۱۲/۵۶	۱۰
استاف اورئوس ATCC	۱۵/۵۱	۱۵/۰۱	۱۴/۷۰	۱۴/۵۲	۱۳/۱۰	۹/۸۸
اشرشیاکلی بالینی	۱۵/۷	۱۴/۸	۱۴/۲	۱۲/۶	۱۱	۹
اشرشیاکلی ATCC	۱۶/۰۳	۱۵/۳۰	۱۴/۸۸	۱۳/۰۴	۱۱/۰۴	۹/۱
سالمونلاتایفی بالینی	۱۵/۱۶	۱۴/۵	۱۴/۰۳	۱۲/۰۹	۱۱/۱	۸
سالمونلاتایفی ATCC	۱۴/۸۷	۱۴/۹۸	۱۳/۰۹	۱۲/۴۸	۱۰/۸	۹/۴
سودوموناس ائروژینوزا بالینی	۱۵/۰۴	۱۳	۱۲/۴۶	۱۰	۸	۰
سودوموناس ائروژینوزا ATCC	۱۴/۰۸	۱۳/۲	۱۳/۰۷	۹/۹	۶/۴۳	۰

/

تاٴثیر عصاره ها با کم شدن غلظت آنها در دیسک کم می شد. تاٴثیر عصاره های گیاه با غلظت بالا به طور کلی روی سودوموناس ضعیف و محدود بود و غلظت های کمتر از ۱۰ میلی گرم عصاره هیچ تاٴثیری نداشت(جدول شماره ۲).

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد سویه های باکتری ها بر حسب میلی متر ناشی از تاٴثیر عصاره آبی برگ لاواندولا

غلظت عصاره (میلی گرم) / نام سویه باکتری	۳۰	۲۰	۱۰	۵	۲/۵
استاف اورئوس بالینی	۱۴/۶۸	۱۴/۰۵	۱۳/۶	۱۱/۸۹	۹/۸
استاف اورئوس ATCC	۱۴/۱	۱۴/۰۳	۱۳/۶۰	۱۳/۰۲	۱۹/۰۲
اشرشیاکلی بالینی	۱۴/۹۵	۱۴/۸۶	۱۲/۱	۱۱/۵	۸/۱
اشرشیاکلی ATCC	۱۵/۰۴	۱۴/۱	۱۲/۶۸	۱۱/۸	۹/۰۴
سالمونلاتایفی بالینی	۱۴/۹۷	۱۴/۴۱	۱۳/۵	۱۱/۲۸	۹/۶
سالمونلاتایفی ATCC	۱۴/۰۸	۱۴/۰۴	۱۳/۰۴	۱۱/۵۸	۹/۰۱
سودوموناس ائروژینوزا بالینی	۱۲/۱۶	۱۰/۹	۰	۰	۰
سودوموناس ائروژینوزا ATCC	۱۱/۰۵	۱۱/۹	۰	۰	۰

بین قطر هاله های به دست آمده در ماه های مختلف, اختلاف معنی داری مشاهده نشد که بیان گر پایداری عصاره ها در مدت آزمایش بود و در ضمن تفاوت معنی داری بین اثر ضد میکروبی گیاه در دو فصل تابستان و زمستان مشاهده نشد.

غلظت های ۲۰ و۳۰ میلی گرم عصاره الکلی در آزمایش های تعیین MIC و MBC , روی همه باکتری ها موٴثر بود, البته اثر غلظت ۳۰ میلی گرم هم به صورت مهاری و هم به صورت کشندگی بود (به جز در مورد سودوموناس ائروژینوزا که هر دو غلظت اثر مهاری صرف داشت). غلظت ۲۰ میلی گرم عصاره الکلی روی کل سویه ها به جز اشرشیاکلی دارای اثر مهاری بود.

اثر غلظت ۳۰ میلی گرم عصاره آبی روی تمامی باکتری ها به صورت MIC بود, اما اثر MBC استافیلوکوک و سودوموناس را شامل نمی شد. اثر غلظت ۲۰ میلی گرم روی تمامی سویه ها به صورت MIC بود, اما این غلظت هیچ گونه اثر کشندگی روی باکتری های مورد آزمایش نداشت (جدول شماره ۳).

جدول ۳- نتایج MIC و MBC عصاره الکلی و آبی برگ لاواندولا با غلظت های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم بر سویه های باکتریایی

غلظت عصاره (میلی گرم) / نام سویه باکتری	۳۰ MIC میلی گرم		۲۰ MIC میلی گرم		۳۰ MBC میلی گرم		۲۰ MBC میلی گرم	
	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی	الکلی	آبی
استاف اورئوس	+	+	+	+	+	−	+	−
اشرشیاکلی	+	+	+	+	+	+	+	−
سالمونلاتایفی	+	+	+	+	+	−	−	−
سودوموناس ائروژینوزا	+	+	+	−	−	−	−	−

⊥ بحث و نتیجه گیری :

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که عصاره آبی و الکلی گیاه لاواندولا روی اکثر باکتری های مورد آزمایش موٴثر بود, در تحقیق پانیز و همکاران تاٴثیر عصاره روغنی چهار گیاه تیره نعناع روی تعدادی از باکتری ها از جمله باکتری های مورد استفاده در تحقیق حاضر, بررسی شد. آنها ابتدا گیاهان را از نظر شیمیایی تجزیه نمودند و سپس توسط روش کمی MIC و MBC آنها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق فوق با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت داشت و نشان دهنده تاٴثیر آن روی باکتری های مورد آزمایش بود.[۱۱]

طبق تجزیه شیمیایی انجام شده ترکیب های ضد میکروبی این گیاهان به طور عمده شامل تیمول, فلاوونوئیدها, تری ترپنوئیدها و دیگر ترکیب ها با ماهیت فنولیک یا گروه هیدروکسیل آزاد بود که همگی به عنوان فعال ترین ترکیب های ضد میکروبی شناخته شده اند و این ترکیب ها در گیاه مورد مطالعه این تحقیق نیز به فراوانی وجود دارند.[۲]

در اکثر تحقیق های مشابه بیش ترین و کم ترین حساسیت به اثر ضد میکروبی را به ترتیب استافیلوکوک و سودوموناس نشان دادند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد و می تواند بیان گر این واقعیت باشد که سودوموناس مقاوم ترین باکتری نسبت به عصاره هاست.[۳و۹] دلیل این امر را شاید بتوان در ساختار چند لایه ای گرم منفی آن و نیز ترشح مواد خارجی متعدد توسط باکتری دانست که متابولیت های گیاهی را از بین می برند.

نتایج نشان داد بیش ترین تاٴثیر عصاره الکلی گیاه با غلظت ۲۰ و ۳۰ میلی گرم بود و هنگامی که این غلظت ها در روش انتشار در آگار مورد مطالعه قرار گرفتند هر دو غلظت به طور معنی دار روی استافیلوکوک و غلظت ۳۰ میلی گرم به طور معنی دار روی سالمونلاتایفی و سودوموناس ائروژینوزا موٴثر بود. این نتایج با نتایج حاصل از آزمایش کمی مطابقت نشان داد.

نتایج به دست آمده از مصرف عصاره آبی گیاه قدری متفاوت از عصاره الکلی بود, البته این اختلاف در مورد غلظت های بالا بسیار ناچیز و شاید غیر قابل مشاهده بود

و هر چه غلظت کاهش می یافت تأثیر آنها کم می شد. اثر این عصاره روی باکتری سودوموناس ائروژینوزا حتی در غلظت های بالا کم بود که اگر MIC و MBC غلظت های ۲۰ و ۳۰ میلی گرم این عصاره با نتایج انتشار در آگار مقایسه شود کاملاً بر هم منطبق و منطقی است. همه سویه ها نسبت به غلظت ۳۰ میلی گرم عصاره الکلی حساس بودند و این غلظت MIC آنها محسوب می شد. ۲۵ درصد سویه های بالینی MBC با غلظت ۳۰ میلی گرم نداشتند که نیمی از آن مربوط عصاره الکلی و نیم دیگر مربوط به عصاره آبی بود.

قطر هاله های عدم رشد در غلظت ۳۰ میلی گرم عصاره آبی و الکلی بین ۱۳ تا ۱۵/۶ میلی متر بود که با توجه به نتایج آزمایش های کمی این میزان هاله را می توان به عنوان حساسیت آنها تلقی نمود.

از آنجا که در کشورهای مختلف مقاومت روز افزون نسبت به آنتی بیوتیک ها دیده می شود, نتایج فوق به خصوص تأثیر غلظت های بالای عصاره الکلی روی باکتری ها می تواند حائز اهمیت باشد و بیان گر آن است که در کنار نتایج موٴثر عصاره روغنی این گیاه, تأثیر عصاره آبی و الکلی برگ آن نیز مطلوب و قابل توجه است. به هر حال کاربرد بالینی این گیاه نیازمند مطالعه های بیش تر و وسیع تر است و در صورت موفقیت آمیز بودن و استاندارد نمودن نتایج آنها, می توان از این گیاه به عنوان جای‌گزین داروهای ضد میکروبی بی اثر و کم اثر فعلی استفاده کرد.

مراجع :

۱. قهرمان احمد. کورموفیت های ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد سوم, تهران, مرکز نشر دانشگاهی, ۱۳۷۳, ۵۶

۲. ولاگ ژان, استودولاژیری. گیاهان دارویی. ترجمه ساعد زمان, تهران, انتشارات ققنوس, ۱۳۷۰, ۱۴۳

3.Ali Shatayeh MS, Yaghmour MR. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. J Ethnopharmacol 1998; 60: 265-71

4.baron ES, Finegold SM. Diagnostic microbiology. 9th ed, St Louis, CV Mosby Co, 1994, 485-91

5.Cecchini T. Encyclopedie des plantes medicinalis. Paris, 1979. 125-30

6.Huang H, Chao QR. A new rosmarinic acid derivative from isodon oresbiu. Planta Med 1999; 92-3

7.Larrondo JV, Agut M, Calvo TM. Antimicrobial activity of essence from labiates. Microbios 1995; 82(332): 171-2

8.Maberley plant Book. A portable dictionary of vascular plants. 2nd ed, Cambridge university press, 1998, 210-15

9.Mahasneh MAEL, Oqlah AA. Antimicrobial activity of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. J Ethnopharmacol 1999; 64: 271-6

10.Neu HC. The crisis of antibiotic resistance. Science 1992; 257: 1061-9

11.Panizze L, Flamini G, Coini Pt. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediteranean lamiaceae. J Ethnopharmacol 1993, 39: 167-70

12.Paris A, Strukelj B, Renko M. Inhibitory effect of carnosic acid on HIV I protease in cell-free assays. J Nat Prod 1993, 56: 1426-30

13.Roberts R, Gilbert J, Rodewald L. An introduction to modern experimental organic chemistry. Newyork, Holt Rinehart Winston Inc, 1974, 215-20