

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی قسمت‌های هوایی روغن فرار گیاه بومادران بر برخی باکتری‌های گرم مثبت جدا شده از اورام پستان گاو در منطقه شهر کرد

• عزیزاله ابراهیمی کهریزسنگی

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

• سعید حبیبیان دهکردی

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
• رضا حکیمی آلنی (نویسنده مسئول)

دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
• مهدی دخت فرج

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

• مجید همتی

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴-۱۲-۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۲-۳۰

Email: r.hakimi91@basu.ac.ir



چکیده

ورم پستان یکی از بیماری‌های مهم گاوهای شیری در سراسر دنیا قلمداد می‌شود و با کاهش تولید شیر موجب ضرر و زیان اقتصادی زیادی می‌شود. تولید متابولیت‌های ثانویه مضر، ایجاد مقاومت ضد میکروبی و بقایای دارو در محصولات دامی در پی درمان ورم پستان با آنتی‌بیوتیک‌ها سبب شده تا استفاده از داروهای گیاهی بیشتر مورد توجه قرار گیرد. هدف از این مطالعه ارزیابی برون تنی فعالیت ضدباکتریایی روغن فرار گل و برگ گیاه بومادران بر برخی پاتوژن‌های عامل ورم پستان گاو در منطقه شهرکرد می‌باشد. برای این کار روغن فرار بومادران با استفاده از دستگاه کلونجر مطابق با دارونامه بریتانیا تهیه، و ترکیبات تشکیل دهنده آن توسط دستگاه GC/MS اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی اثر ضد میکروبی آن بر روی باکتری‌های جدا شده از ورم پستان از دو روش انتشار در آگار و رقت‌سازی سریال استفاده شد. نتایج حاصل از انتشار دیسک نشان داد که روغن فرار بومادران در مقدار ۵ mg/mL اثر مهاری بر روی همه باکتری‌های مورد مطالعه دارد. در روش رقت‌سازی سریال، میزان MIC روغن فرار بومادران علیه استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه و انتروکوکوس فکالیس ۴/۷۳ mg/mL و میزان MBC برابر ۹/۴۶ mg/mL بود. برای استافیلوکوکوس اورئوس MIC و MBC به ترتیب ۲/۳۶۵ mg/mL و ۴/۷۳ mg/mL بود. بر اساس یافته‌ها نتیجه‌گیری می‌شود که از روغن فرار بومادران می‌توان به عنوان عاملی برای از بین بردن باکتری‌های عامل ورم پستان در محیط آزمایشگاهی (In vitro) استفاده کرد.

کلمات کلیدی: روغن فرار بومادران، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه، انتروکوکوس فکالیس

- Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 78-84

Investigation of antibacterial activity of essential oil from arial part of *Achellia millefolium* against some gram-positive bacteria isolated from bovine mastitis in Shahrekord district

By: Ebrahimi Kahrizsangi, A., Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. Habibian Dehkordi, S., Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. Hakimi Alni, R., PhD student of bacteriology, Faculty of Veterinary Science, Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran. Dokhtfaraj, M., MSc of bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. and Hemati, M., MSc of bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: 2016-05-30 Accepted: 2016-05-30

Email: r.hakimi91@basu.ac.ir

Mastitis is one of the major diseases of dairy cows throughout the world which is associated with severe economic losses for dairy producer. Antimicrobial resistance, production of secondary harmful metabolites and drug residues in animal products following use of antibiotics are shifting interests of clinicians into the use of medical plants. The aim of present study was to evaluate in-vitro antibacterial activity of Achillea essential oil extract against some gram positive bacteria isolated from cases of bovine mastitis in Shahrekord. Essential oil was obtained by Clevenger apparatus according to British pharmacopeia protocol. The chemical composition was analyzed by GC/MS. Disk diffusion and macro dilution methods were used for the determination of antibacterial activity. Disk diffusion method showed that the essential oil in concentrations of 5mg/mL may inhibit all bacterial growth. Macro dilution test revealed that for *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Enterococcus faecalis*, the MIC and MBC were 4.73 mg/mL and 9.46 mg/mL, respectively. The MIC and MBC of *Staphylococcus aureus* were 4.73 mg/mL and 2.365mg/mL, respectively. According to the results, it was concluded that essential oil of Achillea extract might be used in vitro as a bactericidal agent for the bacteria that cause mastitis.

Key words: Essential Achillea oil extract, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus faecalis*

وسایل شیردوشی از کارتی‌های بیمار به کارتی‌های سالم انتقال می‌یابد. استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه و انتروکوکوس فکالیس از پاتوژن‌های محیطی بوده و بیشتر در فواصل بین دو شیردوشی از محیط دام وارد سرپستانک و غدد پستانی شده و ایجاد عفونت می‌کنند (۱۳، ۱۸). استفاده از داروهای گیاهی در کنترل بیماری‌ها در ایران از سابقه طولانی و از غنای فراوان علمی برخوردار است (۹). در حال حاضر در بسیاری از بیماری‌های عفونی از داروهای گیاهی برای درمان استفاده می‌شود که این امر بیشتر به خاطر تولید متابولیت‌های ثانویه مضر و مقاومت ضد میکروبی ایجاد شده در پی استفاده از داروهای شیمیایی می‌باشد (۶). در این میان گیاه بومادران یکی از مهم‌ترین جنس‌های متعلق به مرکبان (Asteraceae) می‌باشد که از زمان‌های قدیم به واسطه خواص درمانی‌اش از شهرت و اعتبار بالایی برخوردار بوده و یونانیان در طول جنگ‌ها از خواص درمانی این گیاه استفاده می‌کردند و مردم روستاهای انگلستان در حال حاضر این گیاه را با نام‌های زخم‌بند سرباز و علف بخار می‌شناسند که گواهی بر شفا بخشی این گیاه می‌باشد (۷).

مقدمه

اگر چه ورم پستان در اکثر گونه‌ها به صورت تک‌گیر رخ می‌دهد با این همه یکی از پر هزینه‌ترین بیماری‌های گله گاوهای شیری می‌باشد. ورم پستان با افزایش هزینه‌های تولید و کاهش توانایی تولید، منجر به زیان اقتصادی برای تولید کننده‌ها می‌شود (۱۲).

در منابع مختلف بیش از ۲۰۰ عامل موثر در ایجاد ورم پستان ذکر شده است. براساس مطالعات اپیدمیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی این عوامل در سه دسته پاتوژن‌های اصلی، پاتوژن‌های غیراصلی و پاتوژن‌های غیرمعمول قرار گرفتند (۱۵)

استرپتوکوکوس آگالاکتیه (*Streptococcus agalactiae*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه (*Streptococcus dysgalactiae*) و انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) از پاتوژن‌های اصلی در ایجاد ورم پستان به حساب می‌آید. استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اورئوس جزء بیماری‌زاهای واگیردار بوده و از طریق مکانیکی بادیست‌های شیردوش و

لوله‌های حاوی محیط TSB تهیه شد. سپس برای هر کدام از جدایه‌ها ۹ لوله آزمایش در جا لوله‌ای قرار داده که به ۷ لوله اولی CC ۰/۸ TSB، ۰/۸ CC باکتری مورد نظر و ۰/۸ CC غلظت‌های متوالی روغن بومادران که از پیش تهیه شده بود اضافه گردید. به لوله‌های ۸ (کنترل منفی) و ۹ (کنترل مثبت) به جای روغن بومادران به ترتیب CC ۰/۸ آب مقطر و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین اضافه گردید.

پس از طی زمان انکوباسیون لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌ها سنجش شدند. از میان لوله‌های شفاف (فاقد رشد باکتری) لوله‌ای که کمترین غلظت روغن بومادران را شامل می‌شد به عنوان MIC انتخاب شد. برای تعیین 1 mL^{-1} MBC از لوله‌های شفاف که باکتری در آن رشد نکرده بود به محیط مولر هینتون آگار برده شد و در ادامه پلیتی را که حاوی کمترین غلظت از روغن بومادران بود و در آن رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

نتایج

ترکیبات شناسایی شده و درصد آن‌ها در روغن گیاه بومادران در جدول ۱ آورده شده است. الف-پینین با ۱۸/۲۴ درصد عمده‌ترین ترکیب شناسایی شده بود. نتایج حاصل از اثر ضدباکتریایی مقادیر متفاوت روغن فرار بومادران به روش انتشار دیسک بر روی چهار جدایه عوامل ورم پستان شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* و *انتروکوکوس فکالیس* در جدول ۲ آورده شده است. نتایج حاصل از انتشار دیسک نشان داد که روغن فرار بومادران در مقادیر 5 mg/mL اثر مهار بر روی باکتری‌ها دارد.

از لحاظ قطر هاله عدم رشد در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس*، رابطه معنی‌داری ($p < 0/05$) بین سویه استاندارد با سویه‌های جدا شده از ورم پستان وجود داشت. ولی در مورد بقیه جدایه‌ها رابطه معنی‌داری دیده نشد. انحراف معیار (SD) قطر هاله عدم رشد در بین جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به سایر جدایه‌ها با پراکندگی زیادی همراه بود.

MIC روغن فرار بومادران برای جدایه‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* و *انتروکوکوس فکالیس* در حدود $4/73 \text{ mg/mL}$ بوده و برای جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* $2/36 \text{ mg/mL}$ بود که نشان می‌داد که *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به جدایه‌های دیگر به عصاره روغنی بومادران حساس‌تر می‌باشد (جدول شماره ۳). همچنین MBC روغن فرار بومادران برای *استافیلوکوکوس اورئوس* $4/73 \text{ mg/mL}$ و برای سه جدایه دیگر $9/46 \text{ mg/mL}$ گزارش شد.

بحث

با اینکه درمان آنتی‌بیوتیکی معمولاً برای کنترل ورم پستان به کار می‌رود اما به علت گسترش مقاومت‌های دارویی و بقایای دارو در فرآورده‌های دامی (شیر و گوشت)، محققین در جستجوی مواد جدید ضد میکروبی برای درمان این بیماری می‌باشند (۱۹). این امر سبب گسترش قابل ملاحظه علاقه‌مندی به مطالعه و پژوهش در زمینه استفاده از داروهای طبیعی و فرآورده‌های گیاهی در قالب طب سنتی و طب مکمل شده است (۱). از بین گیاهان دارویی، بومادران به دلیل طیف گسترده

در بررسی حاضر هدف ما تعیین تأثیر گیاه دارویی بومادران بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از عوامل ورم پستان گاو در منطقه شهر کرد می‌باشد.

مواد و روش کار

در اواخر خردادماه ۱۳۸۹ گیاه بومادران از مناطق ییلاقی اطراف شهر تبریز جمع‌آوری و توسط هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز با استفاده از صفات مرفولوژیک و کموناکسونومیکی با نام علمی *Achillea multifida* معرفی شد. در ادامه گل و برگ گیاه در سایه خشک شده و سپس مقدار ۵۰ گرم از پودر خشک شده‌ی گیاه با 250 mL آب مقطر به مدت یک شب خیسانده شد. سپس با کمک دستگاه کلونجر مطابق با دارونامه بریتانیا اقدام به اسانس‌گیری شد. روغن به دست آمده پس از آب‌گیری به وسیله سولفات سدیم خشک شده و تا هنگام تعیین خواص ضد باکتریایی آن در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت شناسایی ترکیبات موجود در روغن از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)، مدل HP-۶۸۹۰/HP۵ استفاده شد. نوع ستون MF-HP۵، طول ستون 30 m و قطر داخلی آن 0.25 mm بود.

باکتری‌های جدا شده از موارد ورم پستان بالینی گاوهای شیری که در 20°C درجه سانتی‌گراد فریز شده بودند در محیط مغذی تریپتیک سوی براث (TSB) احیاء شده و بعد از انتقال به محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA)، از آن‌ها کلنی تکی گرفته شد و برای حصول اطمینان با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفتند. در ادامه، کلنی‌های هر کدام از باکتری‌ها به صورت جداگانه به محیط کشت مایع TSB به لوله‌ی آزمایش در پیچ‌دار منتقل گردیدند و در انکوباتور 37°C درجه سلسیوس به مدت ۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند تا به غلظت $0/5$ مک فارلند برسند.

برای ارزیابی اثر ضدباکتریایی روغن فرار بومادران روش انتشار دیسک (Disk Diffusion Method)، تعیین مقادیر MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC ((Minimum Bactericidal Concentration انجام شد. در روش انتشار دیسک با استفاده از سوآب استریل از هر یک از باکتری‌های ذکر شده بروی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. مقدار ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۴۵ میکرولیتر از عصاره بومادران روی دیسک‌های بلانک ریخته و در نهایت روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی هر یک از باکتری‌های ذکر شده قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد و از دیسک آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین به عنوان کنترل استفاده شد. پس از طی دوره گرماگذاری هاله‌های عدم رشد بررسی و قطر هاله‌های عدم رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها برای هر عصاره و هر باکتری حداقل ۵ بار تکرار و میانگین نتایج گزارش و هم‌چنین میزان انحراف معیار محاسبه گردید. تفاوت اثر ضد باکتری عصاره‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد.

برای تعیین مقادیر MIC و MBC، ابتدا با استفاده از روش رقت‌های سریال (Serial dilution)، رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} از روغن بومادران در

بومادران به دلیل نقشی است که آنها در بروز بیماری‌های مختلف در انسان و دام ایفا می‌کنند (۱۴،۱۰).

یافته‌های این مطالعه بیان‌گر وجود خاصیت ضدباکتریایی روغن فرار بومادران بر باکتری‌های گرم مثبت جدا شده از ورم پستان در شرایط برون تنی می‌باشد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* در بین بقیه جدایه‌ها و سویه استاندارد خودش، نسبت به روغن فرار بومادران بیشترین حساسیت را دارا می‌باشد که این نتایج با نتایج حسین تاجیک و همکاران (۲۱،۲۰). که نشان دادند *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین میکروارگانیسم در برابر اثرات مهاری عصاره آبی والکلی گیاه بومادران می‌باشد مطابقت دارد (۲۰). در این مورد همچنین رسولی و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از موارد عفونی حساسیت بالایی به عصاره گیاه بومادران دارد (۱۶).

البته نتایج سایر پژوهش‌های انجام یافته در این زمینه، بر این نکته تاکید دارد که عصاره‌های تهیه شده از گیاه بومادران دارای اثرات

خواص درمانی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. بومادران گیاه دارویی شناخته شده‌ای است که هزاران سال است که در درمان انواع گوناگونی از اختلالات و بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۳).

با توجه به اینکه تأثیرات ضد میکروبی گیاه بومادران قبلاً به اثبات رسیده است اما مطالعه حاضر به منظور تأثیرات ضدباکتریایی برون‌تنی (in-vitro) این گیاه بر روی چهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس آگلانتیه*، *استرپتوکوکوس دیس گلاکتیه* و *انتروکوکوس فکالیس* که از عوامل مهم ورم پستان در گاو به شمار می‌آیند انجام یافته است البته این بدین معنی نیست که از این گیاه بتوان در حال حاضر برای درمان ورم پستان استفاده کرد بلکه تا رسیدن به آن مرحله نیاز به تحقیقات گسترده و وسیعی در این زمینه می‌باشد از طرفی به دلیل حساس بودن بافت پستان به عوامل ضد میکروبی، نیاز به آزمایشات درون‌تنی مانند استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (خرگوش) می‌باشد. همچنین انتخاب این باکتری‌ها برای بررسی اثر ضد میکروبی گیاه

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده و درصد آنها در روغن گیاه بومادران

ردیف	ترکیب شناسایی شده	درصد در روغن	اندیس کواتس
۱	الفا-پینن	۱۸/۲۴	۹۳۸
۲	بتا-پینن	۱۴/۳۴	۱۰۰۲
۳	آرما دندرن	۱۱/۹۲	۱۴۳۰
۴	کاریوفیلین اکساید	۸/۸۶	۱۵۷۹
۵	کلارمزلون	۷/۷۶	۱۸۰۷
۶	الفا-جورجونن	۷/۳۸	۱۴۸۰
۷	دلتا کادینن	۶/۴۷	۱۵۱۶
۸	کامفر	۵/۴۵	۱۱۶۶
۹	والنسن	۴/۳۳	۱۶۸۰
۱۰	آپلورین	۳/۱۸	۱۵۹۸
۱۱	لینالول	۳/۱۴	۱۰۹۸
۱۲	تیمول	۲/۸۷	۱۲۹۰
۱۳	بورنئول	۲/۱	۱۱۶۵
۱۴	بورنیل استات	۱/۶۸	۱۳۳۵
۱۵	گاما-ترپینن	۱/۳۳	۱۰۹۶
۱۶	ترپینولن	۰/۹۵	۱۱۰۵

A. millefolium و *A. holosericea* فعالیت ضعیفی داشتند (۱۹). تحقیقات هم‌چنین بیانگر آن است که روغن فرار بومادران نیز دارای تاثیرات مهارکنندگی بر باکتری‌های گوناگون است. بومادران قادر است که مانع رشد بیش از ۱۷ نوع باکتری و ۱۰ نوع قارچ شود (۱۶). حسان‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۲، در آزمایشی نشان دادند که اسانس بومادران بر روی باکتری‌های بیماری‌زای استافیلوکوکوس، سالمونلا تیفی، شیگلا فلکسری و اشرشیا کلی اثر میکروب کشی دارند (۹). در مطالعه ما نیز عصاره روغنی بومادران بر رشد کلنی هر چهار عامل باکتریایی ورم پستان اثر مهاری داشت که می‌تواند به عنوان مزیت این گیاه در درمان ورم پستان قلمداد گردد.

تأثیر عصاره هیدروالکلی بومادران بر کاندیدا آلبیکنس و باکتری‌های فرصت طلب ساکن دهان مانند استرپتوکوکوس سانگوئیس، استرپتوکوکوس سالیواریوس (*Streptococcus Salivarius*) و اکتینومایسس ویسکوزوس (*Actinomyces*) *Viscosus* توسط عطایی و همکارانش مورد ارزیابی قرار گرفت. آن‌ها نیز به این نتیجه رسیدند که به دلیل خاصیت ضد میکروبی این عصاره امکان استفاده از آن در ترکیب دهان شویه‌ها وجود دارد

ضدمیکروبی بر علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و با نسبت کمتر علیه باکتری‌های گرم منفی بوده‌اند (۱۷،۱۱،۳). علت تأثیر متفاوت عصاره‌های گل‌های *Achillea millefolium* بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری‌ها باشد (۴،۳) اما اینکه چرا استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به بقیه گرم‌مثبت‌ها به این گیاه حساسیت بیشتری دارد دقیقاً مشخص نیست. از طرفی نوع زیرگونه‌های گیاه بومادران به خاطر تفاوت در ترکیبات فعال سازنده آن از نظر میزان مهار رشد بر باکتری‌ها با هم متفاوت می‌باشند. سمنا و همکارانش در تحقیقی ۱۹ ترکیب را از گل‌های آکیلا ویلهلمسی (*Achellia Wilhelmsii*) به روش گاز کروماتوگرافی جداسازی و شناسایی نمودند که کامفر، سینئول، بورنتول و میرنتول ترکیبات فعال این اسانس را تشکیل می‌دادند (۱۱). اثر ممانعت از رشد عصاره این گونه (*Achellia Wilhelmsii*) توسط گردانا استوژانوویک و همکارانش در ژاپن در روش دیسک دیفیوژن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس با قطر mm۷ و اشریشیاکلی با قطر mm۶ گزارش شد. در حالی که سایر گونه‌های مورد آزمایش شامل *A. clavennae* ، *A. linguata*

جدول ۲- نتایج تعیین حساسیت باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه و استافیلوکوکوس اورئوس توسط روغن فرار بومادران به روش دیسک دیفیوژن

میانگین و انحراف معیار (SD) قطر هاله عدم رشد با پنج تکرار (میلی متر)						مقادیر روغن بومادران (میکرو لیتر) نمونه باکتری
Ampicilin	۴۵μL	۳۰ μL	۲۰ μL	۱۰ μL	۵μL	
۲/۴۱±۲۱/۲	۱/۲۷±۱۶/۵	۱/۰۶±۱۴/۱	۱/۱۱۲±۱۱/۳	۰/۹۷۵±۹/۴	۰/۷۸۶±۶/۵	انتروکوکوس فکالیس
۱/۳۲۰±۲۲/۴	۱/۰۱۱±۱۸	۰/۸۷۶±۱۳/۲	۰/۸۰۲±۱۰	۰/۶۴۳±۸/۱	۰/۴۸۸±۶/۳	انتروکوکوس فکالیس (RTCC۱۹۰۷)
۱/۸۱۲±۲۰/۷	۱/۳۸۰±۱۳/۸	۰/۹۵۱±۱۱/۴	۱/۲۵۳±۹/۳	۰/۵۷۷±۷/۲	۰/۵۳۴±۵/۶	استرپتوکوکوس آگالاکتیه
۱/۱۱۰±۲۱/۲۱	۰/۹۱۲±۱۴	۰/۸۳۰±۱۲/۵	۰/۷۶۵±۱۰/۲	۰/۵۸۰±۸/۱	۰/۵۱۲±۶/۲	استرپتوکوکوس آگالاکتیه (RTCC۱۹۱۳)
۱/۹۴۰±۲۱	۱/۳۶۶±۱۴/۵	۱/۰۳۲±۱۲/۳	۱/۰۳۲±۱۰/۳	۱/۲۱۱±۸/۶	۰/۸۳۶±۶/۷	استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه
۱/۶۵۴±۲۱/۲	۱/۴۵۰±۱۵	۱/۲۱۲±۱۲/۴	۰/۹۴±۱۰/۴	۰/۶۷۸±۸/۱	۰/۴۳۲±۶/۳	استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه (RTCC۱۹۱۷)
۳/۲۴۸±۴۴	۳/۱۶۲±۳۵/۵	۴/۳۸۷±۳۰/۴	۲/۴۸۸±۱۶/۸	۱/۱۱۳±۱۲/۵	۱/۰۱۳±۹	استافیلوکوکوس اورئوس
۱±۴۵	۰/۸۴±۴۴	۱/۴۷±۳۳	۱/۲۷۶±۲۳	۱/۲۳۲±۱۸	۰/۷۹۰±۱۳	استافیلوکوکوس اورئوس (RTCC۱۹۲۳)

در تحقیق اخیر میزان MIC و MBC برای استافیلوکوکوس اورئوس کمتر از سایر جدایه‌ها بود که این نشان دهنده حساسیت زیاد این باکتری به عصاره روغنی بومادران می‌باشد. باتوجه به اینکه استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل شایع و اصلی در ایجاد ورم پستان می‌باشد حساسیت بالای این باکتری به عصاره بومادران می‌تواند نوید بخشی برای استفاده از این گیاه در درمان این بیماری تلقی گردد. البته پیش از آنکه بتوان عصاره‌های بومادران را به عنوان دارویی موضعی برای مصارف درمانگاهی توصیه نمود نیاز به توجه بیشتری به برخی جنبه‌های کاربرد موضعی آن وجود دارد (۲۱،۵). خوشبختانه در مصارف درمانگاهی در هنگام استفاده از بومادران گزارشی از مسمومیت ارائه نشده است ولی مواردی از حساسیت زایی بومادران در هنگام مصرف مقادیر زیاد در دزهای مکرر از آن به صورت راشهای آلرژیک و حساسیت به نور گزارش

(۲). هم چنین در مطالعه دیگری توسط Baser و همکاران، روغن اساسی *Achillea multifida* مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این پژوهش ۵۸ ترکیب که حدود ۹۳/۹ درصد از روغن فرار آن را تشکیل می‌دادند آلفا-توژون (۶۰/۹ درصد)، بتا-توژون (۹/۱ درصد)، ساینن (۴/۱ درصد) و کافور (۳/۷ درصد) به عنوان ترکیب اصلی تشخیص داده شدند. خاصیت میکروب کشی این روغن به روش رقت‌سازی سریال مورد ارزیابی قرار گرفت و MIC آن برای باکتری‌های پاتوژن ۶/۵ mg/mL گزارش شد (۴). بر این اساس در مطالعه فرداکنان و همکاران بر روی عصاره *A. millefolium*، یافته شد که بخش غیر محلول در آب عصاره دارای اثرات متوسط و بخش محلول در آب عصاره فاقد اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس پنومونیا، کلسترویدیوم پرفرینژنس و کاندیدیا آلبیکنس می‌باشد (۵).

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) رقت های مختلف روغن فرار بومادران بر روی باکتری های *انتروکوکوس فکالیس*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

رشد باکتری در رقت های مختلف روغن بومادران (درصد)								
مقادیر روغن بومادران (mg/mL) نمونه باکتری	۹/۴۶	۴/۷۳	۲/۳۶۵	۱/۱۸۲	۰/۵۹۲	۰/۲۹۵	کنترل+	کنترل-
<i>انتروکوکوس فکالیس</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>انتروکوکوس فکالیس</i> (RTCC۱۹۰۷)	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>استرپتوکوکوس آگالاکتیه</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>استرپتوکوکوس آگالاکتیه</i> (RTCC۱۹۱۳)	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه</i> (RTCC۱۹۱۷)	-	-	+	+	+	+	-	+
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	-	-	-	+	+	+	-	+
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> (RTCC۱۹۲۳)	-	-	-	+	+	+	-	+

(+) Inhibition of bacterial growth

(-) Growth of bacteria

millefolium (yarrow) cell suspension cultures: Establishment and growth conditions. *Biotechnology Letters*. 69(4): 498-503.

8. Foster, S., Duke, J.A. (1990). A field guide to medicinal plants. (2nd th) Eastern and Central N America. Houghton Mifflin Co. p: 225-227.

9. Hesanpour, A.k., Amini, F. (2003). Cell Culture and Plant Tissue. (3nded). Isfahan. Jahad Publications. p. 150-181.

10. Lasagno MC, Vissio C, Reinoso EB., Reinoso, E.B., Raspanti, C., Yaciuk, R., Larriestra, A.J., et al. (2012). Development of an experimentally induced *Streptococcus uberis* subclinical mastitis in goats. *Veterinary Microbiology*. 154(3): 376-383.

11. Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M., Khansari, N. (2003). The essential oils composition of *Achillea wilhelmsii* C. Koch leaves and flowers. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2: 55-58.

12. Mosafieri, S. (2003). Mammary disease in domestic animals. (1nd ed). Tabriz. Islamic Azad University of Tabriz Publications. P:35-38.

13. Nourmohammadzadeh, F. (2004). Cattle Diseases. (2nd ed). Tehran. Noor Bakhsh Publications. P:38-40.

14. Quinn P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Leonard, F.c., Hartigan, p., Faninig, S., Fitz Patrick E.S. (1994) Clinical Veterinary Microbiology. (1nd ed). London. mosby London: p: 118-126.

15. Radostits, OM., Gay, C.C, Hinchcliff, K.W. (2006). Veterinary medicine. (10th ed). London, Saunders Elsevier. 5: 673-762.

16. Rasooli, I., Rezaei, M.B. (2002). Bioactivity and chemical properties of essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia*. *Iranian Journal of Parasitology*. 14(2): 141-146.

17. Saeidnia, S., Gohari, A.R., Yassa, N. (2005). Composition of the volatile oil of *Achillea conferta* from Iran. *Daru*. 13(1). 34-36.

18. Shrmn, S.N., Adlakha, S.C. (1997). Text book of veterinary microbiology. (1nd ed). Indian. Vikas Publishing House. P:152-178

19. Stojanovic, G., Radulovic, N., Hashimoto, T. (2005). In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1): 185-190.

20. Tajik, H. (2009). Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of aqueous and alcoholic extracts of yarrow against pathogenic microorganisms. *Urmia Medical Journal*. 4(2): 114-122.

21. Tajik, T., Shokouhi, Sabet., Jalali, F., Sobhani, A., Shahbazi, Y., Soleimanzadeh, M. (2008). In vitro assessment of antimicrobial efficacy of alcoholic extract of *Achillea millefolium* in comparison with Penicillin derivatives. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7(4): 508-11.

شده است (۸). اما باید خاطر نشان کرد که پیشنهاد بومادران برای درمان ورم پستان نیاز به تحقیقات زیادی به صورت *in vivo* می باشد تا ایمنی کار و تأثیرات جانبی و ناخواسته دارو سنجیده شود.

با عنایت به این نکته شایسته است که ارزیابی های گسترده تری در مورد تأثیرات ضد میکروبی این گیاه به ویژه در عرصه های آزمایشگاهی به صورت برون تنی بر روی باکتری های پاتوژن و فلور طبیعی انجام یابد تا اطلاعات پایه زیادی در این زمینه جمع آوری شود. از طرفی با توجه به ارزانی قیمت، آسانی دسترسی و تأثیرات ضدباکتریایی قابل ملاحظه عصاره این گیاه بر روی باکتری های پاتوژن زخم ها و جراحات درمانگاهی، عصاره مذکور می تواند در آینده به عنوان یک فرآورده گیاهی دارویی طبیعی مورد توجه محققان و کاربران قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد و سرکار خانم لطفعلیان و همچنین از آقای سعید آزادی به خاطر همکاری های شان در اجرای این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع مورد استفاده

1. Arias, C., Singh, K., Panesso, D., Murray, BE. (2007). Time-Kill and Synergism Studies of Ceftriaxone against *Enterococcus faecalis*, Including β -Lactamase-Producing and Vancomycin-Resistant Isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(6):2043-2047.
2. Ataei, Z., Abdolahi, H., Naderipour, S., Siros, Mohamadi. (2006). An in vitro study of the effects of Yarrow, Chamomile and Rhubarb herbal extracts on *Candida albicans* and common oral bacteria. *Journal of the Indian Dental Association*. 18(3): 0-0.
3. Barel, S., Segal, R., Yashphe, J. (1991). The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 33(1): 187-191.
4. Baser, KH., Demirci, B., Demirci, F., Koçak, S., Akinci, C., Malyer, H., Güleriyüz, G. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. *Planta Medica*. 68(10): 941-943.
5. Candan, F., Unlu, M., Tepe, B. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. *Journal of Ethnopharmacology*. 87(2): 215-220.
6. Chung, KT., Thomasson, WR., Wu-Yuan, CD. (1990). Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. *Journal of Applied Bacteriology*. 69(4): 498-503.
7. Cristina, A., Figueiredo, S., Salomé, M., Pais, S. (1991). *Achillea*

