

اثر سیر و عصاره آن بر ممانعت از رشد سودوموناس آئروژینوزا

زهرا مولانا^{۱*}، زهرا شاهنده^۲

۱- عضو هیأت علمی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- کارشناس ارشد میکروبیشناسی

سابقه و هدف: سیر یکی از قدیمی ترین گیاهانی است که در طی هزاران سال جهت درمان و پیشگیری از امراض و عفونتهای مختلف استفاده می‌شد. سودوموناس آئروژینوزا مهمترین پاتوژن انسانی است که به چندین داروی ضد میکروبی مقاوم بوده و مشکلاتی را در درمان ایجاد می‌کند. مطالعه بمنظور تأثیر سیر و عصاره آن بر روی باکتری مذکور، انجام گردید.

مواد و روشها: ابتدا سوش‌های استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا تهیه و بعد از آماده‌سازی قطعات سیر با وزنهای مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم (بصورت تازه، منجمد و حرارت دیده) و همچنین تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورتی مطابق با محلول ۰/۵ مک فارلند، باکتری روی محیط مولر هیتون آگار، کشت و قطعات سیر نیز بر روی آن قرار داده و اتوگذاری شد. همینطور عصاره کلروفرمی سیر با غلظت های ۷۰، ۵۰، ۶۰، ۴۰، ۳۰ بروش Nathan agar Well diffusion بر روی باکتری اثر داده شد و نیز MIC عصاره مذکور مورد آزمایش قرار گرفت. در انتها آنتی‌بیوگرام بروش دیسک دیفوزن بر روی سویه های مزبور، انجام شد.

یافته‌ها: عصاره کلروفرمی سیر با غلظت ۴۰ mg/ml بر روی سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا اثر باکتریسیidal و با غلظت ۳۵ mg/ml اثر باکتریوستاتیک بر سویه‌های استاندارد و بالینی و غلظت ۵۰ mg/ml به هاله‌ای به قطر ۱۵ mm معادل هاله عدم رشد در اطراف دیسک ۱۰ میکروگرمی جنتامایسین داشته است. قطعات سیر با وزنهای مختلف سبب مهار رشد باکتری شده، بویژه هاله عدم رشد در اطراف قطعات منجمد، بطرز مشهودی بزرگتر بود. ولی قطعات حرارت دیده، کمترین تأثیر را بر روی سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا داشته است.

نتیجه‌گیری: عصاره کلروفرمی سیر با غلظت ۵۰ mg/ml قادر است. هاله عدم رشدی معادل دیسک ۱۰ میکروگرمی جنتامایسین ایجاد کند و از آنجائیکه قطعات سیر بویژه در حالت انجماد نیز می‌توانند رشد سودوموناس آئروژینوزا را مهار نمایند، توصیه می‌گردد تحقیقات بیشتری در ارتباط با غلظت مؤثره عصاره (آلیسین) بر روی پاتوژنها و نیز استفاده از عصاره بصورت پماد، کرم و صابون جهت ضد عفونی زخمهای میکروبی بویژه سودومونایی انجام گیرد. **واژه‌های کلیدی:** سیر، عصاره‌های گیاهی، سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیک.

مقدمه

سیر یکی از قدیمی‌ترین گیاهانی است که از دیرباز اثرات دارویی آن در درمان دردهایی نظیر ناراحتی‌های قلبی، سردرد، نیش زدگیها، دردهای انگلی و تومورها بکار رفته است. خاصیت ضد

باکتریایی آن در سال ۱۸۵۸ توسط لویی پاستور گزارش داده شد(۲).

□ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۱۳۷۹۲ از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تأمین شده است.

در زمانهای قدیم نیز از سیر برای پیشگیری از آلودگی اماکن به میکروب بیماری ویا، تیفوس، حصه و... استفاده می کردند و حتی یکی از اطباء قدیم مصرف سیر را در موقع شیوع بیماریهای واگیردار بطور روزانه توصیه می نمود (۳). اثر ضد باکتری سیر به دلیل مواد مختلفی مانند آلتین، اهوئین، آلیسین و آلیستائین ۲۱ می باشد و بهمین دلیل بر ضد باکتریهای گرم مثبت و نیز باکتریهای گرم منفی، قارچها، انگلها و ویروسها بکار می رود (۴ و ۵).

همچنین طبق تحقیقات بنظر می رسد اثر عصاره سیر بر روی باکتریهای گرم مثبت بیشتر از باکتریهای گرم منفی است (۶ و ۷). بغیر از اثر ضد میکروبی، سیر دارای اثرات متعدد دیگری از جمله اثر ضدالتهابی، خاصیت آنتی اکسیدان قوی و فعالیت حشره کشی بر علیه حشرات خانگی نیز می باشد (۱). سیر از خانواده زنبق، با نام علمی آلوم ساتیوم است که اولین بار در سال ۱۸۴۴ توسط تنودور ورتهایم شیمیدان آلمانی، مطالعاتی بر روی آن انجام شد. کشف کلیدی بعدی در شیمی سیر در سال ۱۹۴۴ توسط کاوالیتو و همکارانش بود که با استفاده از اتیل الکل به عنوان حلال از ۴ کیلوگرم سیر در دمای اتاق، ۶ گرم روغن با خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی به فرمول $C_6H_{10}S_2O$ بدست آورد و آنرا آلیسین نامید (۴).

سودوموناس آئروژینوزا مهمترین پاتوژن انسانی در گروه سودوموناسها بوده که حالت تهاجمی داشته و عفونت را در بیمارانی با دفاع غیرطبیعی ایجاد می نماید و پاتوژن عمده بیمارستانی می باشد و می تواند سبب فولیکولیت، اوتیت گوش خارجی، عفونت چشم، عفونت متعاقب ضربه، استئومیلیت، اندوکاردیت و عفونت راه تنفسی شود (۸ و ۷).

این باکتری باسیل گرم منفی، متحرک با یک یا چند تازک قطبی و هوازی اجباری می باشد که به چندین داروی ضد میکروبی مقاوم است، بنابراین بهنگام از بین رفتن فلور طبیعی بدن بر اثر تجویز آنتی بیوتیکها، رشد کرده، غلبه یافته و مشکلاتی را در درمان فراهم می سازد (۷). عوارض نامطلوب برخی از آنتی بیوتیکها و پیدایش مقاومت در باکتریها بر اثر استفاده از آنتی بیوتیکهای رایج، توجه محققان را به استفاده از فرآورده های طبیعی جلب کرده است (۹).

در بررسی Tsao و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی سویه سودوموناس آئروژینوزا مشخص گردید که روغن سیر و دی آلیل تری

سولفید و دی آلیل تترا سولفید میتوانند بطور بالقوه برای پیشگیری و یا درمان عفونتهای بیمارستانی باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک بکار رود (۱۰). از آنجائیکه گیاهان دارویی سالهای زیادی است که مورد استفاده قرار می گیرند (۲) و با توجه به اهمیت سودوموناس آئروژینوزا و نیز خواص سیر، بر آن شدیم تا تأثیر سیر و عصاره آن را بر روی باکتری مذکور بررسی نموده تا در صورت مشاهده مهار رشد، از آن در درمان بنحو مطلوب استفاده گردد.

مواد و روشها

در ابتدا سوش استاندارد لیوفیلیزه سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1074 از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه و مراحل کشت میکروبی آن بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام گردید. همچنین میکروارگانیسم های بیمارستانی نیز جهت بررسی، از آزمایشگاههای میکروبیشناسی بیمارستانهای تابعه دانشگاه تهیه شد. آزمایشها در سه مرحله اثر بازدارندگی فرمهای مختلف سیر، عصاره سیر و آنتی بیوگرام بر روی باکتریهای مذکور انجام شد. لازم به ذکر است که جهت تمام مراحل از سوسپانسیون میکروبی که با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسه شده بود، استفاده گردید (۸). در مرحله اول جهت بررسی اثر بازدارندگی از رشد، سه فرم مختلف سیر (تازه، منجمد و حرارت دیده)، برشهای وزنی مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم از قسمت مرکزی هر غده سیر (حتی الامکان با شکل یکسان) تهیه و بر روی پلیت مولر هینتون که از قبل باکتری مورد نظر بر روی آن کشت داده شده بود، قرار داده شد.

در مرحله دوم جهت بررسی اثر بازدارندگی عصاره سیر ابتدا از ۵ کیلوگرم سیر با استفاده از حلال کلروفرم عصاره گیری بعمل آمد و به منظور حذف حلال از دستگاه دوار تقطیر در خلاء و حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد استفاده گردید (۲) و در نهایت ۴ گرم عصاره که ماده ای روغنی، زرد رنگ و غلیظ با بوی تند سیر بود بدست آمد و در ۱۰۰ سی سی آب مقطر استریل حل شد (۴gr/۱۰۰ml). عصاره حاصله از فیلتر ۰/۲ میلی پور عبور داده شد و در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. همچنین جهت تهیه غلظتهای ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۷ گرم در ۱۰۰ سی سی از فرمول $C1V1 = C2V2$ استفاده شد. سپس چاهک هایی با قطری معادل دیسک های آنتی بیوتیکی (۶ میلی متر)

بر روی ژلوز ایجاد گردید (سه چاهک در هر پلیت با فاصله مناسب و کافی). سپس با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظتها، در چاهک‌های یک پلیت تخلیه شد (روش Nathan Agar Well Diffusion) و همه پلیتها در ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۲۴ ساعت انکوبه شده (۱۱) و روز بعد قطر هاله عدم رشد با خط‌کش اندازه‌گیری گردید. جهت اطمینان بیشتر از نتایج، با سواب استریل از هر یک از هاله‌های عدم رشد در اطراف نمونه‌های مورد آزمایش برداشت شده و بر روی محیط مولر هیتون آگار استریل دیگری کشت و در ۳۷ درجه سانتیگراد ۲۴ ساعت اتوگذاری و سپس بررسی گردید. آنتی‌بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی توپرامایسین، جنتامایسین، پیروفلوکساسین و آمیکاسین انجام شد (۸ و ۱۲).

همچنین تعیین MIC بروش Tube - Dilution (۱۲) با استفاده از محیط نوترینت براث استریل و عصاره سیر (غلظت ۱۰۰ gr/۷ و سوسپانسیون میکروبی انجام شد (غلظت عصاره در

لوله اول ۳۵ mg/ml و در لوله نهم ۱۳۷ mg/ml/۰ و در لوله دهم صفر بوده است) پس از اتوگذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت، MIC مشاهده و گزارش گردید. جهت اطمینان از مشاهده چشمی نتایج حاصله، از هر لوله، یک لوپ بر روی محیط مولر هیتون آگار استریل برده و پخش گردید و بعد از اتوگذاری ۲۴ ساعته در ۳۷ درجه سانتیگراد، بررسی شد. آزمایشات فوق برای سویه استاندارد و نیز سویه‌های بیمارستانی همین باکتری بطور مجزا انجام گردید.

یافته‌ها

عصاره سیر با غلظت‌های مختلف بروش چاهک بر روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا غلظت ۴۰ mg/ml سبب ایجاد هاله عدم رشدی معادل ۱۴ mm در اطراف سوش استاندارد گردید، ولی در اطراف غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۱۰، ۵ هاله عدم رشدی مشاهده نشد. از سوی دیگر با افزایش غلظت عصاره از ۴۰ mg/ml به بالا، هاله عدم رشد در اطراف چاهک نیز افزایش یافت (جدول ۱).

جدول ۱. تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره سیر به روش چاهک بر روی سودوموناس آئروژینوزا

غلظت عصاره بر حسب mg/ml		قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر	
		در اطراف سوش استاندارد	در اطراف سویه های بالینی
۴۰	۱۴	۱۰	
۵۰	۱۵	۱۱	
۶۰	۱۶	۱۴	
۷۰	۱۶	۱۴	

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر قطعات سیر تازه، منجمد و حرارت دیده

بر سویه های استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا						
وزن بر حسب گرم	سویه استاندارد			سویه های بالینی		
	سیر تازه	سیر منجمد	سیر حرارت دیده	سیر تازه	سیر منجمد	سیر حرارت دیده
۰/۵	۲۳	۳۱	۲۲	۰	۲۱	۱۹
۱	۲۷	۳۳	۲۶	۰	۲۵	۲۱
۱/۵	۲۶	۳۵	۲۶	۰	۲۶	۲۴
۲	۲۸	۳۶	۲۸	۰	۲۸	۲۸

آن است که MBC عصاره بر روی باکتریهای مزبور با غلظتی معادل ۲۵۰-۱۰۰۰mg/ml و MIC جهت عصاره الکلی معادل ۲۵۰mg/ml و برای آبی ۱۰۰۰-۵۰۰mg/ml بوده است (۱۵). در حالیکه در این تحقیق حداقل غلظت کشنده باکتریها جهت سودوموناس آئروژینوزا ۴۰mg/ml و MIC عصاره، ۳۵mg/ml بدست آمد. تفاوت حاصله در میزان MIC و نیز حداقل غلظت کشنده در دو تحقیق احتمالاً بدلیل تفاوت در روش عصاره‌گیری بوده است (۱۶). همچنین اثر سیر بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف نیز با هم متفاوت می‌باشد بطوریکه حتی با بکارگیری روش یکسان، تأثیر عصاره بر روی باکتریهای مختلف، یکسان نخواهد بود از جمله در پژوهش انجام شده توسط Arora و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در عرض یکساعت ولی سالمونلاتیفی در عرض ۳ ساعت بر اثر مجاورت با عصاره سیر کشته شدند (۶). در تحقیق Dankert و همکاران، اثر مهار رشد عصاره سیر، پیاز و موسیر بطریقه آگار دیفیوژن تست بر روی تعدادی از باکتریها و مخمرها، از جمله سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس آئروس بررسی گردید. مطابق این تحقیق همه ارگانیسم‌ها بوسیله عصاره سیر مهار شدند ولی غلظت بالایی از عصاره سیر دارای اثر باکتریوسید بر روی سودوموناس آئروژینوزا بود (۵) که موافق تحقیق ما بود.

در تحقیق Lastovica و همکاران در ارتباط با اثر آلیسین بر کمپیلوباکتر و هلیکوباکتر، عصاره آبی سیر بر طبق روش تغییر یافته Fromtling and Bulmer تهیه شده و سپس عصاره آبی با غلظت معادل ۵۰mg/ml با روش Nathan agar well diffusion در چاهک‌هایی بقطر ۶mm بمقدار ۱۰۰ میکرولیتر تلقیح شد. همه نمونه‌ها بطور متوسط با قطر ۲۱mm حساسیت نشان دادند (۱۱). از آنجایی که در تحقیق ما هم روش مذکور بکار رفته و با توجه به اینکه آلیسین (جزء موثر سیر) در حلالهای آلی بیشتر از آب محلول است (۱) بنابراین در تحقیق ما عصاره کلروفرمی سیر با غلظت کمتری مؤثر بوده است.

در تحقیق قرچه بیدختی و همکاران عصاره کلروفرمی سیر با اثر ضد میکروبی بالا بر روی سودوموناس آئروژینوزا گزارش شد و اثر عصاره مذکور به روش دیسک با استفاده از دیسک ۱۶۰۰

قطعات سیر تازه، منجمد و حرارت دیده در وزن‌های مختلف بر روی سویه‌های استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا، سیر منجمد بیش از سیر تازه و حرارت دیده مؤثر بوده بطوریکه قطر هاله عدم رشد در اطراف قطعه ۰/۵ گرمی سیر منجمد، ۳۱ میلی‌متر ولی در اطراف سیر تازه با همان وزن، ۲۳ میلی‌متر و در مورد سیر حرارت دیده، ۲۲ میلی‌متر بوده و با افزایش وزن قطعات سیر نیز قطر هاله عدم رشد بزرگتر گردید و همچنین سیر حرارت دیده در مقایسه با سیر تازه و منجمد کمترین تأثیر را بر باکتری‌ها داشت (جدول ۲). در تعیین MIC عصاره حاصله در سوشهای استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا، کمترین غلظتی از عصاره در لوله، که رشد باکتری مشاهده نشد، غلظت ۳۵mg/ml بود. این نتیجه با کشت مجدد سوسپانسیون‌های فوق‌الذکر بر روی محیط مولر هینتون تأیید گردید. بنابراین بنظر می‌رسد با توجه به اثر باکتریسید عصاره با غلظت ۴۰mg/ml، MIC عصاره مذکور در محدوده ۳۵-۴۰mg/ml می‌باشد. در تست آنتی‌بیوگرام نیز سویه استاندارد به جنتامایسین و سیپروفلوکساسین حساسیت به توبرامایسین و آمیکاسین مقاومت نشان داد. اما در بررسی سویه‌های بالینی نتایج متفاوتی بدست آمد بطوریکه یک سویه بطور کامل به همه دیسک‌ها ولی سویه‌های دیگر فقط به آمیکاسین و سیپروفلوکساسین حساس بودند.

بحث

با استفاده از روش چاهک و تأثیر عصاره سیر بر روی سودوموناس آئروژینوزا، حداقل غلظت باکتریسیدال ۴۰mg/ml با قطر هاله عدم رشد برای سویه استاندارد ۱۴mm و برای سویه‌های بالینی بطور متوسط ۱۰mm بوده است. با افزایش غلظت عصاره به میزان ۵۰mg/ml و ۶۰mg/ml قطر هاله عدم رشد افزایش یافت ولی در غلظت ۷۰mg/ml هاله عدم رشدی با قطر معادل غلظت ۶۰mg/ml بدست آمد و این موضوع در مورد سویه‌های بالینی هم بهمین صورت بوده است. MIC بدست آمده برای سودوموناس آئروژینوزا با روش Tube - dilution برای سویه استاندارد و سویه‌های بالینی ۳۵mg/ml بوده است.

در تحقیق انجام شده توسط صادقیان و همکاران تأثیر عصاره سیر به روش پرنکولیشن اصلاح شده و سوکسله بر روی شیگلا بیانگر

میکروگرمی از عصاره با دیسک ۱۰ میکروگرمی جنتامایسین مقایسه گردید و اثر دیسک حاوی عصاره سیر کمتر از جنتامایسین بوده است (۱) که طبق این مطالعه نیز غلظت بالاتری از عصاره یعنی ۵۰ mg/ml می‌تواند همان تأثیر دیسک جنتامایسین را داشته باشد.

مقایسه اثر سیر تازه بر روی سویه استاندارد و بالینی نشانگر آن است که سیر تازه دارای اثر مهار رشد بر روی سویه استاندارد می‌باشد ولی هیچگونه تأثیری بر روی سویه‌های بالینی نداشته است. این موضوع احتمالاً بدلیل آن است که سویه‌های جدا شده از بیماران نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، ژنهای مقاومت نسبت به ترکیباتی مشابه عصاره سیر را از طرق مختلفی مثل دریافت پلاسمید و یا ترانسپوزون کسب کرده‌اند (۷).

مقایسه تأثیر سیر منجمد بر روی سویه‌های مذکور بیانگر آن است که قطعات مورد نظر اثر مهارکننده رشد داشته و با توجه به قطر هاله‌ها روی سویه استاندارد، تأثیر آن واضح‌تر و بیشتر بوده است و این موضوع بدلیل حفظ بهتر و طولانی‌تر خاصیت باکتری‌سیدال آل‌سین در حرارت‌های زیر صفر درجه سانتیگراد بوده و همچنین در سیر منجمد در حین ذوب شدن، عصاره سیر، براحتی در محیط کشت پخش شده و اثر باکتری‌سیدال آن ظاهر گردد (۱۸ و ۱۹).

تأثیر قطعات حرارت دیده سیر بر روی انواع استاندارد و بالینی سودوموناس آئروژینوزا بصورت هاله کاهش رشد ملاحظه گردید و با توجه به حساس بودن آل‌سین به حرارت بالا و اینکه بسرعت توسط حرارت تجزیه می‌شود میتوان اینگونه استنباط کرد که کاهش تأثیر سیر حرارت دیده بر روی باکتری ناشی از تجزیه ماده مؤثره موجود در آن یعنی آل‌سین بوده است (۱۸ و ۲۰).

در تحقیق Chen و همکاران نیز فعالیت ضد باکتریایی سیر بر اثر حرارت دیدن، کاهش یافته است (۱۹). قطر هاله عدم رشد با ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۵۰ mg/ml عصاره سیر با قطر هاله عدم رشد دیسک ۱۰ میکروگرمی از جنتامایسین و توبرامایسین مطابقت می‌کند و در واقع قدرت عصاره سیر با غلظت ۵۰ mg/ml معادل با قدرت دو آنتی‌بیوتیک فوق‌الذکر می‌باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی، کتابخانه دانشکده پیراپزشکی دانشگاه و همچنین آقایان مهندس مرادی، و دکتر صمدی و خانم فرزینوش که در اجرای این مطالعه ما را یاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. قرچه بیدختی ح، ابراهیمی اول ع. بررسی اثرات ضد باکتری و ضد قارچی عصاره‌های مختلف سیاهدانه، زردچوبه و سیر، مشهد، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پایان نامه کارشناسی ارشد (دکترای حرفه ای)، ۱۳۷۱؛ ص: ۱۸-۱۶ و ۸-۷۷ و ۱۱-۱۱۰.
۲. ایمانی فولادی ع، ستاری م، قاضی سعیدی ک. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره کلروفرمی سیر (آل‌سین) بر روی سویه های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (حساس و مقاوم)، تهران، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۳۷۶؛ ص: ۳۰-۲۶ و ۵-۳۲ و ۸-۳۷ و ۶-۴۵.
۳. زرگری ع. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ ششم، ۱۳۷۶؛ ص: ۶۲۰.
۴. صابری نجفی م. بررسی اثر عصاره کلروفرمی حاوی آل‌سین سیر بر توکسین زایی شیکلاهای انتروپاتوژن، تهران، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۳۷۵؛ ص: ۲۰.
5. Dankert J, Tromp TF, De Vries H, Klasen HJ. Antimicrobial activity of crude juices of *Allium ascalonicum*, *Allium cepa* and *Allium sativum*. *Medizinische Microbiologie and parasitologie* 1979; 245(1-2):229-39.
6. Arora DS, Kaur J. Antimicrobial activity of spices. *Int J Antimicrobial Agent* 1999; 12(3):257-62.
۷. نوروزی ج. میکروبیولوژی جاوتز ۱۹۹۸، موسسه فرهنگی انتشاراتی حیان، اباصالح، ۱۳۷۸؛ ص: ۸۰ - ۲۷۸.

8. Forbes Betty A, Sahm Danie IF, Weissfeld Alice S, Balley and Scott S. Diagnostic Microbiology, 10th ed, Mosby 1998; pp: 448-55 .
۹. حسامی ش، ستاری م، بهزادیان نژاد ق. بررسی سیر بر روی سودوموناس آئروژینوزا به کمک میکروسکوپ الکترونی سومین کنگره سراسری میکروبیولوژی ایران، همدان ۱-۳ شهریور ۱۳۷۹. ص: ۱۱۵.
10. Tsao S, Yin M. Invitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant pseudomonas aeruginosa and Klebsiella pneumoniae. J Antimic Chemo 2001; 47(5): 665-70.
11. Lastovica AJ, Dewet PM, Rode H, Sidler D. Allicin a possible answer to antibiotic resistant campylobacter diarrhoeal infection, Arch Dis Child 1999; 81:278 .
۱۲. نادری نسب ن، ناظم م، راشد ط. باکتری شناسی آزمایشگاهی، مشهد، بنیاد فرهنگی رضوی، ۱۳۷۰؛ ص: ۶۶-۲۵۲.
13. Adetumbi MA, Lau BH, Allium sativum (garlic). A natural antibiotic (Review), Med Hypotheses 1983; 12(3):227-37.
14. Lampe Johanna W. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am J Clin Nutr 1999; 70 (3): 475-90.
۱۵. صادقیان ع، قزوینی ک، حریرزاده گ. بررسی اثرات سیر بر روی شیگلا و مقایسه آن با جنتامایسین، خلاصه مقالات چهارمین کنگره میکروبیشناسی با گرایش باکتری شناسی، ۱۵ الی ۱۷ آبان، تهران ۱۳۸۰؛ ص: ۱۹.
16. Sumiysoshi H. New Pharmacological activities of garlic and constituents. (Review) . Nippon Yakurigaku Zasshi-Folia Pharmacologica Japonica. 110 suppl 1997; 1: 93-7.
۱۷. تصاعدی س، جلیل وند یوسفی، قلعه گلاب ن، آسمار م. بررسی اثر ضد باکتری سیر در پیشگیری و درمان سالمونلوز، خلاصه مقالات هفتمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران ۱۴ الی ۱۶ مهرماه بابل ۱۳۷۷؛ ص: ۹-۱۰۸.
18. Hawley Gessner G. The condensed chemical dictionary, 10th ed, by van Nostrand Reinhold Co Inc 1991; p: 33.
19. Chen HC, Chang TJ. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment, J Microbiol Immunol 1985; 18(3): 190-5.