

اثر ضد میکروبی عصاره متانولی رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين جدا شده از بیماران بیمارستان امام رضا در مشهد

علی اکبر مرادیان ایوری^۱، محمد صالحی^{۲*}، معصومه ملک جعفریان^۳

- ۱- کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲- کارشناس ارشد زیست شناسی- میکروبیولوژی، آزمایشگاه تشخیص طبی نیشابور، مرکز خدمات تخصصی تشخیص طبی، آسیب شناسی و ژنتیک، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.
۳- کارشناس ارشد میکروبیولوژی پزشکی، گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۳۰

چکیده

زمینه و هدف

رزماری گیاهی متعلق به خانواده نعنائیان دارای خواص اثبات شده و ترکیبات مختلف است. پیدایش مقاومت به ونکومايسين در استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک معضل جهانی مورد تأیید قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی دوز مؤثر عصاره متانولی برگ رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين جدا شده از بیماران بیمارستان امام رضا مشهد می باشد.

مواد و روش ها

تعداد ۱۵۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از ابتدای آبان ۱۳۹۲ از بیمارستان امام رضا (ع) مشهد جمع آوری شد که پس از بررسی به روش دیسک دیفیوژن و سنجش حداقل غلظت بازدارندگی مقاومت یک نمونه (۰/۶ درصد) به ونکومايسين تأیید شد. عصاره گیری از رزماری به روش ماسراسیون انجام شد و سپس سنجش حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی بر اساس روش مرجع میکرودايلوشن براث انجام شد.

یافته ها

نتایج این مطالعه نشان داد، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی برای عصاره متانولی رزماری علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين به ترتیب برابر با $10^2 \times 0/156$ و $10^2 \times 0/312$ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

نتیجه گیری

مقاوم شدن باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها لزوم بکارگیری ترکیبات جدید با خواص ضد میکروبی را نشان می دهد. عصاره رزماری رشد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين را مهار می کند، بنابراین پتانسیل استفاده در درمان را دارد.

کلیدواژه ها

اثر ضد میکروبی، رزماری، مقاوم به ونکومايسين، استافیلوکوکوس اورئوس، حداقل غلظت بازدارندگی

* نویسنده مسئول: جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، آزمایشگاه تشخیص طبی نیشابور.
پست الکترونیک: Mohammadsalehi73@gmail.com

■ مقدمه

مشکلات پیچیده درمان ارگاناسم‌های مقاوم برخاسته از جامعه که در حال حاضر در محیط‌های مراقبتی پخش شده‌اند، رو به فزونی است (۱). این مسأله باعث شده بشر به فکر جایگزین کردن عوامل ضد میکروبی مؤثر با عوارض جانبی کمتر به جای مواد با اثر کمتر و عوارض ناخواسته بیشتر نظیر گیاهان دارویی باشد (۲). استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت و جزو فلور نرمال پوست و بینی افراد سالم می‌باشد. این پاتوژن فرصت‌طلب از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌آید (۳). پس از کشف پنی‌سیلین، سویه‌های مقاوم به سرعت ظاهر شدند و انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی برای پزشکان محدود شد. پس از آن متی‌سیلین به عنوان آنتی‌بیوتیک جدید علیه این پاتوژن بکار برده شد. اما مدت کوتاهی بعد از معرفی متی‌سیلین، اولین سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در سال ۱۹۶۱ در لندن گزارش شد که متأسفانه در آن زمان این مسأله مهم تا حدودی نادیده گرفته شد. در دهه‌های اخیر افزایش چشمگیری در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین دیده شده است (۴) به عنوان مثال، در ده سال اخیر شیوع MRSA در بسیاری از بیمارستان‌ها به ۵۰ درصد رسیده است (۵). شیوع بالای MRSA، پزشکان را مجبور به استفاده از ونکومايسين کرد که یک آنتی‌بیوتیک گلیکوپپتیدی کشف شده پیش از متی‌سیلین است و علی‌رغم اثرات جانبی آن به عنوان درمان خط اول علیه MRSA تجویز می‌شود (۴).

اولین مورد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين (VRSA) در سال ۱۹۹۷ در ژاپن گزارش شد (۶). همچنین در ده سال اخیر موارد محدودی از VRSA در نقاط مختلف دنیا دیده شده است (۴). با کشف سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که به ونکومايسين مقاومند، نقش آزمون تعیین حساسیت ضد میکروبی در درمان بیماری‌های عفونی مهم و مهم‌تر شد (۷).

اکلیل کوهی یا رزماری گیاهی^۱ متعلق به خانواده نعنائیان^۲، علفی با برگ‌های سبز، معطر و نوک‌تیز می‌باشد (۸). در تجارب آزمایشگاهی اثر ضد درد، آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهاب آن به اثبات رسیده است (۹-۱۰). در اسانس این گیاه موادی از قبیل بورنئول، لیمونن، کامفن، کامفر و ترکیبات دیگر گیاهی همچون اسیدهای

فنولی از جمله اسیدروزماریک، اسیدکافئیک و اسیدکلروژنیک وجود دارند (۱۱).

در سال ۲۰۱۲ یک مورد VRSA جدا شده از مجرای تنفسی بیمار در مشهد با روش PCR تأیید شد (۱۲). در مطالعه دیگری از ۱۶۰ مورد استافیلوکوک اورئوس جدا شده از قسمت‌های مختلف بدن بیماران هیچ مورد مقاوم به ونکومايسينی مشاهده نشد (۱۳). در مطالعه Okoh و همکاران (۱۴) نتایج نشان داد که اسانس روغنی رزماری تنها در محدوده غلظت مشخصی اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بر باکتری‌های مورد آزمایش داشته است. گلشنی و همکاران در بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی برگ رزماری روی سویه‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند عصاره متانولی این گیاه بر استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهاری دارد (۱۵). از آنجا که بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها، عصاره‌ها بصورت انتخابی عمل نمی‌کنند بنابراین می‌توان گفت تأثیری را که بر سویه‌های غیرمقاوم به آنتی‌بیوتیک دارند می‌توانند روی سویه‌های مقاوم نیز داشته باشند. به دلیل اهمیت جهانی این مسأله و عدم اطلاعات لازم در مورد شیوع مقاومت آن در این حوزه جغرافیایی، لزوم انجام چنین مطالعه‌ای احساس شد.

هدف از این مطالعه بررسی دوز مؤثر عصاره متانولی برگ رزماری بر VRSA جدا شده از بیماران و تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و کشندگی (MBC) آن می‌باشد.

■ مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

جمع‌آوری و عصاره‌گیری گیاه

گیاه رزماری از منطقه پارک ملت شهر مشهد جمع‌آوری و بعد از اخذ تأییدیه از دانشکده داروسازی مشهد و خشک نمودن برگ‌های آن در مکانی تاریک، آسیاب و عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام شد.

برای انجام عصاره‌گیری ۵۰ گرم پودر گیاه خشک شده را به مدت ۴۸ ساعت در داخل ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۸ درصد ساخت شرکت Merk آلمان ریخته شد. نمونه بدست آمده از کاغذ صافی عبور

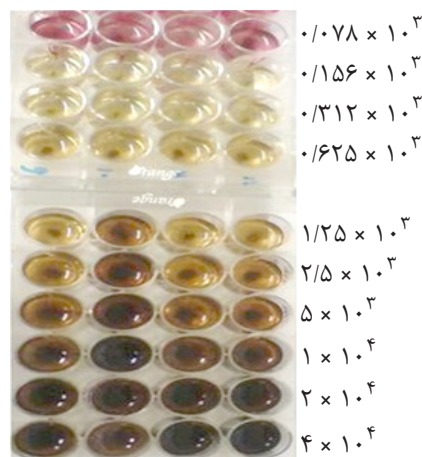
^۱ Rosmarinus Officinalis

^۲ Lamiaceae

تعیین MBC متعاقباً ۱۰ میکرولیتر از چاهک‌های قبل از چاهک MIC روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد، سپس MBC تعیین شد. آزمایش ۴ بار تکرار و میانگین ارائه شد (۱۷).

یافته‌ها

از ۳ نمونه مقاوم به ونکومايسين به روش دیسک دیفیوژن، تنها مقاومت یک نمونه توسط MIC ($MIC \geq 32 \mu g/mL$) تأیید شد. فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی رزماری از طریق محاسبه میانگین MIC و MBC علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين به ترتیب $10^3 \times 0/156$ و $10^3 \times 0/312$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. فعالیت ضد میکروبی رزماری کاملاً وابسته به دوز استفاده شده بود، بطوریکه با بالا رفتن دوز، فعالیت ضد میکروبی نیز افزایش پیدا می‌کرد. چاهک‌های صورتی رنگ نشان‌دهنده زنده بودن باکتری و در نتیجه عدم خاصیت آنتی‌بیوتیکی گیاه در آن رقت بود (ردیف اول از شکل شماره ۱). بطوریکه از دوز 4×10^4 تا $0/312 \times 10^3$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ رشدی مشاهده نشد. در دوز $10^3 \times 0/078$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری کاملاً رشد داشت و پس از اضافه شدن نمک تترازولیوم تغییر رنگ مشاهده شد. همچنین در کنترل مثبت، باکتری کاملاً رشد داشت و با اضافه کردن نمک تترازولیوم به رنگ صورتی تغییر رنگ داد ولی در کنترل منفی هیچ تغییر رنگی مشاهده نشد. مطالعه بر روی ۴۰ سویه غیرمقاوم نیز انجام شد و نتایج بدست آمده در نمونه مقاوم و نمونه‌های غیرمقاوم یکسان بود.



شکل شماره ۱- نمونه ۱ نمونه ۲ نمونه ۳ نمونه ۴

شکل شماره ۱- آزمون میکرودايلوشن بر روی نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين با ۴ بار تکرار

داده شد و پس از حذف حلال در پلیت‌های استریل جمع‌آوری و خشک گردید. در ادامه این مرحله، رقت ۱ به ۲۵ (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از عصاره با حلال ۵ درصد از DMSO^۱ و سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد و در آزمون MIC مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه نمونه‌ها و سوسپانسیون باکتریایی

از بین ۱۳۰۰۰ نمونه باکتریایی تعداد ۱۵۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از ابتدای آبان ۱۳۹۲ تا مرداد ۱۳۹۳ از بیمارستان امام رضا (ع) مشهد جمع‌آوری و سپس تست‌های بیوشیمیایی و آنتی‌بیوگرام دوباره در مورد آنها انجام شد تا از صحت کار اطمینان حاصل گردد. مقاومت به ونکومايسين به روش دیسک دیفیوژن و MIC تأیید شد ($MIC \geq 32 \mu g/mL$) (۱۶). در مرحله بعد برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، چند کلنی از کشت تازه و ۲۴ ساعته باکتری مقاوم به ونکومايسين به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل و کدورتی معادل با نیم مک فارلند (کدورت معادل $10^8 \times 1/5$ باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه گردید. سپس با رقیق کردن آن به نسبت ۰/۰۱، کدورت $10^6 \times 1/5$ باکتری در هر میلی‌لیتر بدست آمد.

سنجش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

تست حساسیت ضد میکروبی بر اساس روش مرجع میکرودايلوشن براث بر طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی^۲ انجام شد. با استفاده از مولر هینتون براث، رقت‌های سریالی ۲ برابر (از محدوده رقت ۱ به $25 \times 10^4 \times 4$ میلی‌گرم در لیتر) تا ۱ به $12800 \times 10^3 \times 0/078$ میلی‌گرم در لیتر) تهیه و ۲۰۰ میکرولیتر از آن با حجم برابری از سوسپانسیون باکتریایی ترکیب گردید. سپس آزمایشات مشابه برای کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری و بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) نیز انجام شد. در ادامه میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت برای ارزیابی MIC به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر رقت (۵ mg/ml) از محلول نمک تترازولیوم اضافه و پس از نیم ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای

^۱ Dimethylsulfoxide

^۲ Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI

■ بحث

مغایرت داشت، بطوریکه گلشنی و همکاران در سال ۲۰۱۳ حداقل غلظت مهارکنندگی را برای استافیلوکوکوس اورئوس حدود ۶/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر گزارش دادند (۱۵).

در مطالعه سلطان دلال و همکاران اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری توسط روش رقت سازی در لوله یا ماکرودایلوشن روی MRSA مورد ارزیابی قرار گرفت که MIC ۱ به ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر و MBC ۲/۸۱ میلی گرم در میلی لیتر گزارش شد (۲۵). Rožman و همکاران اثر عصاره رزماری را روی گونه های مختلف لیستریا بررسی نمودند و MIC، بین ۶۲۵ تا ۵۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بدست آمد. همچنین در این مطالعه مشخص شد مقاومت لیستریا به عصاره رزماری، به عصاره انتخاب شده، گونه های مختلف لیستریا و غلظت های مختلف عصاره بستگی دارد (۲۶).

Tsai و همکاران با بررسی اثرات عصاره اتانولی و آبی عصاره رزماری بر روی استرپتوکوکوس سوپرینوس میزان MIC این گیاه را ۱/۴۲ میلی گرم در میلی لیتر بدست آوردند (۲۷). در مطالعه دیگری Seydim و همکاران اثرات ضد میکروبی رزماری را بر باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس نشان دادند (۲۸). وجود برخی اختلاف ها در نتایج حاصل از پژوهش های مذکور به تفاوت های مربوط به مکان رشد گیاه، میزان مواد مؤثر، نوع میکروارگانیسم، عصاره، فصل برداشت و روش های مختلف بررسی مربوط می باشد.

■ نتیجه گیری

مؤلفین به دلیل اهمیت جهانی این مسئله و عدم اطلاعات کافی در مورد شیوع مقاومت آن در این حوزه جغرافیایی، لزوم چنین مطالعاتی را بر خود لازم دانستند.

مقاوم شدن باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها لزوم بکارگیری ترکیبات جدید با خواص ضد میکروبی را نشان می دهد. عصاره متانولی گیاه رزماری می تواند اثر باکتریوسایدی بر روی VRSA داشته باشد و از آنجا که بر خلاف آنتی بیوتیک ها، عصاره ها بصورت انتخابی عمل نمی کنند بنابراین می توان گفت همان تأثیری را که روی سویه های غیرمقاوم به آنتی بیوتیک دارند می توانند روی سویه های مقاوم نیز داشته باشد. از آنجا که شرایط جهت انجام تست های تکمیلی مانند PCR برای مؤلفین مهیا نبود،

در مطالعه حاضر حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی رزماری روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومايسين $10^3 \times 0.156$ میلی گرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن $10^3 \times 0.312$ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

ونکومايسين مهم ترین عامل ضد میکروبی در دسترس برای درمان عفونت های جدی شکل گرفته توسط MRSA می باشد، با اینحال کاهش حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس به ونکومايسين و جداسازی VRSA در بسیاری از کشورها گزارش شده است (۲۰-۴،۱۸). در نتیجه پس از جداسازی سویه های VRSA در ایالات متحده آمریکا، فرانسه، کره، آفریقای جنوبی و برزیل، پیدایش مقاومت به ونکومايسين در این باکتری به عنوان یک معضل جهانی مورد تأیید قرار گرفت (۲۱).

در مطالعه صادری و همکاران از ۱۳۹ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ۵ سویه (۳/۶ درصد) توسط روش MIC به ونکومايسين مقاومت نشان دادند. مقاومت این جدایه ها توسط Etest نیز تأیید شد (۱۹). طبق مطالعه عسکری و همکاران ۲۴ مورد VRSA تا سپتامبر ۲۰۱۲ در سرتاسر ایران گزارش شده است (۴). انوری، دزفولیان، عظیمیان و همکارانشان در سال ۲۰۱۲ به ترتیب ۳، ۱ و ۱ VRSA را در شهرهای رشت، تهران و مشهد جدا کردند و نتایج حاصل از این مطالعات توسط PCR تأیید شد (۲۳-۱۲،۲۲). در مطالعه حاضر از ۳ مورد VRSA توسط دیسک، تنها یک مورد توسط روش MIC تأیید شد.

ترکیبات گیاهی بر خلاف آنتی بیوتیک ها بصورت انتخابی عمل نمی کنند و عوارض جانبی کمتری ناشی از آنها مشاهده شده است و شاید بتوان گفت از این نظر نسبت به آنتی بیوتیک ها ارجحیت بیشتری دارند. بنابراین همان تأثیری را که بر سویه های مقاوم دارند روی سویه های غیرمقاوم نیز نشان می دهند. نتایجی نزدیک به یافته های حاصل از پژوهش حاضر توسط سایر پژوهشگران بدست آمد که اثر ضد میکروبی رزماری را به اثبات می رساند، بطوریکه در سال ۲۰۰۷ در بررسی ای که روی اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری توسط Fu و همکاران انجام شد، مشخص شد حداقل غلظت مهارکنندگی برای استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۰/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر است (۲۴).

در برخی موارد نیز یافته ها با نتایج مطالعات دیگر پژوهشگران



■ تشکر و قدردانی

مؤلفین از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که در تأیید نمونه و عصاره‌گیری و پرسنل بخش میکروشناسی آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) و همچنین مسئولین محترم آزمایشگاه دانشکده پیراپزشکی مشهد کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آینده از تست‌های تکمیلی جهت تأیید یافته‌ها استفاده شود. با توجه به اینکه نمی‌توان تنها با یک نمونه در مورد خاصیت ضد میکروبی و درمانی گیاه رزماری علیه سویه‌های VRSA اظهار نظر نمود، انجام مطالعات بیشتری در این زمینه ضروری خواهد بود.

■ References

1. Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R, et al. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003. *Clin Infect Dis*. 2006;42(3):389-91.
2. Salehi M, Hashemi Karue SM, Nasrolahi Omran A, Mobini M, Asghar Hedari M. Effect of aqueous and alcoholic extracts of roots of *Ferula gummosa* Boiss. On the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2014;15(4):18-22. [Persian]
3. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004;32(8):470-85.
4. Askari E, Zarifan A, Pourmand MR, Naderi-Nasab M. High-Level Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in Iran: A Systematic Review. *J Med Bacteriol*. 2012;1(2):53-61.
5. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(4):273-82.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin-Japan, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1997;46(27):624-6.
7. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, et al. Infection with vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. *N Engl J Med*. 2003;348(14):1342-7.
8. Zaouali Y, Bouzaine T, Boussaid M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(11):3144-52.
9. Najid A, Simon A, Cook J, Chable-Rabinovitch H, Delage C, Chulia AJ, et al. Characterization of ursolic acid as lipooxygenase and cyclooxygenase inhibitor using macrophages, platelets and differentiated HL60 Leukemic cells. *FEBS Lett*. 1992;229(3):213-7.
10. Chevallier A. *Encyclopedia of Herbal Medicine*. London: Dorling Kindersley; 2007, 188-90.
11. Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*. 2009;16:97-110.
12. Azimian A, Havaei SA, Fazeli H, et al. Genetic characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from respiratory tract of a hospitalized patient in a university hospital in north east of Iran. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3581-5.
13. Soltani R, Khalili H, Rasoolinejad M, Abdollahi A, Gholami Kh. Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Hospitalized Patients in Tehran, Iran. *Iranian J Pharma Sci*. 2010;6(2):125-32.
14. Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem*. 2010;120(1):308-12.
15. Golshani Z, Davoodi V. In vitro study of antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* leaf extract against some pathogens. *Arak Med Univ J*. 2013;16(8):82-9. [Persian]



16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition, 2012.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eight Edition, 2009.
18. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):99-139.
19. Sadari H, Owlia P, Shahrbanooie R. Vancomycin resistance among clinical isolates of *staphylococcus aureus*. *Arch Iranian Med.* 2005;8(2):100-3.
20. Saha B, Singh AK, Ghosh A, Bal M. Identification and characterization of a vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Kolkata (South Asia). *J Med Microbiol.* 2008;57(1):72-9.
21. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis.* 2001;1(3):147-55.
22. Anvari M, Ranji N, Khoshmaslak F. Antibacterial Susceptibility of Three Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain Isolated from Northern Part of Iran. *J Pure Appl Microbiol.* 2012;6(2):671-5.
23. Dezfulian A, Aslani MM, Oskoui M, Farrokh P, Azimi-rad M, Dabiri H, et al. Identification and characterization of a high vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring vanA gene cluster isolated from diabetic foot ulcer. *Iran J Basic Med Sci.* 2012;15(2):803-6.
24. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res.* 2007;21(10):989-94.
25. Soltan Dallal MM, Ghorbanzade Mashkani M, Yazdi MH, et al. Antibacterial effects of *Rosmarinus officinalis* on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients and foods. *Sci J Kurdistan Uni Med Sci.* 2011;16(1):73-80. [Persian]
26. Rožman T, Jeršek B. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agric Slov.* 2009; 93(1):51-8.
27. Tsai PJ, Tsai TH, Ho SC. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chem.* 2007;105(1):311-6.
28. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int.* 2006;39(5):639-44.

Antimicrobial Activity of Rosmarinus Officinalis on Vancomycin -Resistant Staphylococcus Aureus Isolated from Imam Reza Hospital Patients of Mashhad

Ali Akbar Moradian Eivari¹, Mohammad Salehi^{*2}, Masumeh Malek Jafarian³

1- BSc of Laboratory Sciences, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

2- MSc of Biology-Microbiology, Center of Pathological and Medical Diagnostic Services of Neyshabur, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Khorasan Razavi, Mashhad, Iran.

3- MSc of Medical Microbiology, Department of Basic Science, Mashhad university of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Received Date: 20/01/2015

Accepted Date: 10/05/2015

Abstract

Introduction and Aims

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) belongs to *Lamiaceae* family and contains different properties and compounds. With emergence of Vancomycin resistance *Staphylococcus aureus*, it has been confirmed as a global issue. The aim of this study is the survey of methanolic extract of rosemary leaves on Vancomycin -resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients of Imam Reza hospital of Mashhad.

Materials and Methods

150 bacterial samples have collected from Imam Reza hospital of Mashhad at the beginning of 2013 November. One of them was being resistance to Vancomycin antibiotic by Disk Diffusion and MIC (Minimum Inhibitory Concentration). Extracting from Rosemary was performed by Maceration method. The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal concentration) has evaluated by reference method of Microdilution Broth.

Results

The result of this study demonstrated that the MIC and MBC for Methanolic extract of Rosemary on Vancomycin -resistant *Staphylococcus aureus* were 0.156×10^3 and 0.312×10^3 mg/ml respectively.

Conclusion

Bacterial resisting to antibiotics implies necessity of using of new compounds with antibacterial property. The methanolic extract of rosemary can inhibit the growth of Vancomycin resistance *Staphylococcus aureus*. Therefore it can be used as clinical purposes.

Keywords

Antimicrobial Activity, *Rosmarinus Officinalis*, Vancomycin Resistant, *Staphylococcus Aureus*, Minimum Inhibitory Concentration

* **Corresponding Author:** Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Khorasan Razavi, Center of Pathological and Medical Diagnostic Services of Neyshabur.

E-mail: Mohammadsalehi73@gmail.com