

ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس گیاهی آویشن شیرازی بر سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از مواد غذایی

محمد مهدی سلطان دلال^{۱،۲}، منصور بیات^۳، محمد حسین یزدی^۴، سولماز آقامیری^۴، مسعود قربان زاده مشکانی^۵، ترانه پیمانہ عابدی محتسب^۶، پهروز شجاعی سعدی^۶

۱. استاد میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات میکروب شناسی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳. استادیار، گروه قارچ شناسی پزشکی و دامپزشکی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۴. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

۶. هیات علمی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، تلفن: ۰۸۶۱-۳۴۲۲۳۳۱-shojaee_sadi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی سیلین (MRSA) به یک مشکل بزرگ در درمان بیماری ها تبدیل شده اند. این سویه ها با ساکن شدن در بینی به شدت موجب افزایش عفونت های بیمارستانی و مرگ و میر بیماران می شوند. آویشن یک گونه گیاهی است که به طور گسترده در سراسر جهان برای مصارف درمانی مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی خواص ضد میکروبی اسانس آویشن بر روی سویه های MRSA جدا شده از مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش *In vitro* انجام شد، اثر ضد میکروبی به همراه حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به تتراسایکلین، اریترومايسين، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و متی سیلین مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: یافته های ما نشان داد که اسانس آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به تتراسایکلین، اریترومايسين، تری متوپریم-سولفامتوکسازول و متی سیلین ایزوله شده از مواد غذایی اثرات خوبی دارد.

نتیجه گیری: با ساخت داروی مناسب با منشاء گیاهی و عوارض کمتر دارویی می توان به درمان عفونت های استافیلوکوکی امیدوار بود.

کلمات کلیدی: اسانس، آویشن شیرازی، حداقل غلظت مهار کننده رشد، مقاومت آنتی بیوتیکی

وصول مقاله: ۹۰/۷/۱۶ اصلاحیه نهایی: ۹۰/۱۲/۱۱ پذیرش: ۹۱/۱/۲۲

مقدمه

گیاهان دارویی از منابع بالقوه ای هستند که از دیر باز خواص درمانی و دارویی آنها مورد توجه قرار گرفته است (۱). اسانس های گیاهی ترکیباتی فرار و معطر هستند که در اندام های مختلف گیاه وجود دارند و یکی از نقش هایی که در گیاهان به عهده دارند، محافظت از گیاه در برابر عفونت های گیاهی می باشد (۲). این ترکیبات دارای

خواص درمانی و دارویی آنها مورد توجه قرار گرفته است (۱). اسانس های گیاهی ترکیباتی فرار و معطر هستند

بر اثر میکروب کشتی مناسب، روند تولید سویه های مقاوم در آن کاهش یابد و اثرات جانبی کمتری را دارا باشد. اسانس آویشن علاوه بر دارا بودن اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گسترده، دارای مصارف خوراکی نیز هستند که نشان دهنده کم بودن اثرات جانبی مصرف آن نسبت به سایر ترکیبات است و از آنجا که باکتری استافیلوکوکوس اوروئوس نیز هم در عفونت ها و هم مسمومیت های غذایی اهمیت دارد، از این اسانس به طور کامل برای بررسی اثرات ضد میکروبی آن استفاده شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر آنتی باکتریال اسانس آویشن بر سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک استافیلوکوک اوروئوس به روش *In vitro* بوده است.

روش بررسی

محل تهیه سوش های میکروبی

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی است. ابتدا ۸ سویه مقاوم غذایی استافیلوکوکوس اوروئوس (F) از تحقیقات گذشته جمع آوری شد (۹). از این تعداد ۵ سویه، مقاوم به چندین آنتی بیوتیک MDR، که ۲ سویه از آن ها به متی سیلین MRSA مقاوم گزارش شده بودند (۱۰). یک سویه استاندارد استافیلوکوکوس اوروئوس ATCC 25923 نیز مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اوروئوس های جدا شده از مواد غذایی

اجزاء مختلفی در ترکیب خود می باشند که باعث می شود مقاومت باکتری ها در برابر اسانس های گیاهی که به طور کامل استفاده شده است کاهش یابد. اسانس های گیاهی به طور همزمان به بخش های مختلفی از باکتری ها اثر کرده که این امر باعث اهمیت آنها در درمان و عدم بروز مقاومت های زیاد و چشم گیر در آنها گشته است (۳ و ۴).

اسانس آویشن حاوی ترکیباتی مانند تیمول، کارواکرول و ۸۱ سینئول هست که خواص ضد میکروبی اسانس کامل بیشتر از هر یک از ترکیبات آنهاست که این نشان دهنده سینرژیستی هر کدام از ترکیبات درون اسانس با یکدیگر می باشد (۷-۵ و ۳). این گیاه به وفور یافت شده و همچنین آنرا در مراکز پرورشی گیاهان کشت میکنند. از اسانس آن در مواد غذایی استفاده می شود و علاوه بر کاربرد های درمانی و بهداشتی مصرف خوراکی نیز دارند.

باکتری استافیلوکوکوس اوروئوس از طریق بیماری های عفونی و همچنین ایجاد مسمومیت های غذایی سلامت افراد را تهدید می کند. از طرف دیگر این باکتری به سرعت در برابر آنتی بیوتیک ها مقاومت از خود نشان میدهد. علاوه بر مقاوم شدن سریع قابلیت این را دارد که به طور همزمان در برابر چندین آنتی بیوتیک از خود مقاومت نشان دهد (۸ و ۹). این ویژگی ها باعث شده تا روش ها و ترکیبات جدیدی برای درمان آن مورد مطالعه قرار گیرد. ترکیباتی که علاوه

مقاومت دارویی	باکتری
سفتریا کسون، تتراسایکلین	۱ F
سفتریا کسون	۲ F
اگزاسیلین، سفتریا کسون، تتراسایکلین	۳ F
اگزاسیلین، سفتریا کسون، تتراسایکلین	۴ F
کو تریمو کسازول	۵ F
کلیندامایسین، اریترومایسین، تتراسایکلین	۶ F
کلیندامایسین، اریترومایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین	۷ F
سیپروفلوکساسین	۸ F

یک سری ۱۱ تایی از لوله های استریل حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت مایع مولر هیتون از ۱ تا ۱۱ شماره گذاری شد. توسط سمپلر ۱ میلی لیتر از استوک اولیه ساخته شده، آویشن را به لوله اول هر سری اضافه نموده. پس از اینکه توسط سمپلر محلول اسانس و محیط کشت به میزان کافی مخلوط شد، ۱ ml از لوله اول برداشته و وارد لوله دوم نموده. و مخلوط کردن از لوله دوم به سوم و... این عمل را تا لوله شماره ۱۰ تکرار کرده و از لوله شماره ۱۰ پس از مخلوط کردن ۱ ml برداشته و دور ریخته می شد. بدین ترتیب تمام لوله ها حاوی ۱ میلی لیتر مایع بوده با این تفاوت که یک شیب غلظت از لوله اول به سمت لوله شماره ۱۰ ایجاد شده که رقت اسانس در آنها روبه کاهش است و هر لوله حاوی نصف رقت اسانس در لوله قبلی است. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، از کشت ۲۴ ساعته سویه مورد نظر ۴ یا ۵ کلنی توسط آنس استریل در نزدیکی شعله برداشته و به داخل لوله آزمایش حاوی سرم فیزیولوژی استریل برده و سپس داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده می شد. پس از ۲ تا ۵ دقیقه کدورت لوله را با کدورت استاندارد مک فارلند مقایسه نموده و در صورت اختلاف، با افزودن سرم فیزیولوژی استریل یا کلنی باکتری، کدورت محلول باکتریایی را معادل کدورت استاندارد مک فارلند رسانده می شد. تمام مراحل انجام کار در شرایط استریل و به صورت دابلیکیت انجام گرفت. به تمام لوله ها به جز لوله شماره ۱۰ (برای کنترل استریل بودن اسانس در رقت آخر) ۵۰ μl از سوسپانسیون میکروبی اضافه کرده و تمام لوله ها را در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده می شدند.

تکنیک Agar dilution

پس از پخش کردن و بستن محیط ها در دمای آزمایشگاه و خشک شدن آنها به طور کامل، از سوسپانسیون های میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند آماده شده ۱۰ μl یا یک لوپ برداشته و بر روی محیط های کشت که حاوی رقت

محل تهیه اسانس ها

اسانس استاندارد آویش استفاده شده در این تحقیق از شرکت باریج اسانس خریداری شده و در ظروف شیشه ای تیره و در بسته بدون تماس با نور و هوای آزاد، به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال داده شد.

آماده کردن اسانس ها

از آنجا که اسانس آویشن در محیط های کشت نامحلول هست، به یک امولسیفایر که اسانس را بدون داشتن اثرات ضد میکروبی چشم گیر در خود حل کند نیاز است. از این رو از ماده دی متیل سولفواکساید DMSO به عنوان حلال استفاده شد، و با انجام یکسری آزمایش های متناوب بهترین میزان حلالیت برای اسانس آویشن بدست آمد. سپس در لوله های استریل به طور جداگانه میزان ۲۵ میکرولیتر از اسانس آویشن را ریخته و سپس ۹۷۵ میکرولیتر از حلال DMSO اضافه کرده و توسط شیکر به هم زده تا محلول به طور کامل شفاف شود. از این استوک اولیه برای انجام آزمایش های بعدی استفاده گردید.

کشت باکتری در روی محیط های کشت

سویه های استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط مولر هیتون آگار^۱ MHA کشت داده شده و برای انجام آزمایش از کشت های ۲۴ ساعته و کلنی ها تک برداشت انجام شد. کلنی ها مرتباً از لحاظ خالص بودن مورد ارزیابی قرار می گرفت تا احتمال آلودگی و خطا در کار کاهش یابد. برای اندازه گیری MIC اسانس ها بر روی سویه های مقاوم استافیلوکوکوس اورئوس از روش Macro broth dilution و Agar dilution استفاده شد.

بررسی حداقل غلظت مهار کننده رشد
Minimum Inhibitory
Concentration (MIC) به روش
Macro broth dilution (۱۱).

^۱ Muller Hinton Agar

روی محیط قرار داده شد و سپس محیط ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند (۱۲).

بررسی منحنی مرگ اسانس ها Time Kill Curve

در مرحله اول MIC سویه استافیلوکوکوس اورئوس به شماره ATCC 25923 تعیین گردید. در ۴ سری لوله جداگانه سوسپانسیون میکروبی حاوی رقت های $1/2$ MIC، MIC، ۲ برابر MIC اسانس آویشن و یک لوله فاقد اسانس ساخته شد. در همان ابتدا تعداد باکتری های موجود در هر لوله به طور جداگانه به روش زیر شمارش شد:

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به ۹۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی منتقل شده و پس از رقت سازی سریال و رقیق کردن آن، هر رقت بر روی پلیت جامد کشت داده شد و تعداد باکتری های موجود در سوسپانسیون پس از گذشت ۲۴ ساعت با شمارش کلنی های رشد کرده در روی پلیت ها بدست آمد.

در زمان های ۰، $1/5$ ، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت تعداد باکتری ها شمارش شد و تعداد آنها به ثبت رسید و در نهایت بر اساس تعداد باکتری ها منحنی مرگ اسانس ها و منحنی رشد باکتری بدست آمد.

یافته ها

نتایج تست کمی MIC از اسانس های مورد بررسی در مورد ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک بصورت زیر بود. کمترین میزان MIC در مورد اسانس آویشن با ایزوله مقاوم به تتراسایکلین و برابر $312/5$ میکروگرم در میلی لیتر بود (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج MIC آویشن نسبت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده

آنتی بیوتیک	متی سیلین	اریترومایسن	تتراسایکلین	تری متوپریم-سولفامتوکسازول
اسانس آویشن	$625 \mu\text{g/ml}$	$625 \mu\text{g/ml}$	$312/5 \mu\text{g/ml}$	$625 \mu\text{g/ml}$

میزان حداقل غلظت مهار کننده رشد MIC حداقل غلظت کشنده رشد MBC در محیط مایع و MIC در محیط جامد اسانس آویشن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس های غذایی در جدول ۳ نشان داده شده است.

های مختلفی از اسانس هستند به صورت نقطه ای کشت داده شد. از ترکیب حلال DMSO و محیط کشت به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

پس از کشت باکتری در روی این پلیت ها، آنها در انکوباتور قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت نتیجه را با بررسی کلنی های تشکیل شده، در روی پلیت های مختلف، حاوی رقت های سریال بررسی کرده و پایین ترین رقتی که رشد میکرواورگانیزم ها را در محیط جامد مهار کرده به عنوان MIC در نظر گرفته شد. در این تکنیک، مهار رشد با عدم تشکیل کلنی در روی محیط جامد مشخص می گردد.

بررسی حداقل غلظت کشنده (MBC)

Minimum Bactericidal Concentration

برای اندازه گیری حداقل غلظت کشنده رشد از لوله های فاقد نشانه رشد در قسمت MIC یک آنس توسط یک آنس استریل و در نزدیکی شعله برداشته و بر روی محیط جامد مولر هیتون کشت گسترش داده شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه، پلیت ها از لحاظ رشد و تشکیل کلنی بررسی شده و آخرین رقتی که توانسته $99/9\%$ باکتری ها را بکشد به عنوان رقت MBC در نظر گرفته شد.

اندازه گیری قطر هاله عدم رشد:

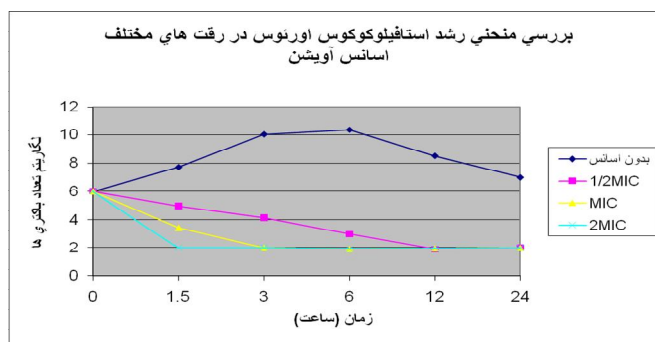
پس از انتقال سوسپانسیون میکروبی مورد نظر با کدورت معادل نیم مک فارلند توسط سوآب بر روی پلیت های حاوی محیط های مولر هیتون آگار، دیسک های کاغذی با قطر ۹ میلی متر آغشته به 10 میکرولیتر از اسانس های مطرح شده (با توجه به غلظت لوله MIC هر باکتری با هر اسانس)

جدول ۳- نتایج MIC و MBC در محیط مایع و جامد اسانس آویشن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس های غذایی

باکتری	MIC آویشن	MBC آویشن	Agar dilution
۱ F	۰/۳۶	۰/۷۳	۰/۳۶
۲ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶
۳ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶
۴ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶
۵ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶
۶ F	۰/۱۸	۰/۳۶	۰/۳۶
۷ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶
۸ F	۰/۱۸	۰/۷۳	۰/۳۶

F=سوش های جدا شده از مواد غذایی

در برابر رقت های مختلف از اسانس آویشن، باکتری استاندارد را کشت داده و در زمان های مختلف تغییرات تعداد آن ها بررسی شد و منحنی رشد و مرگ باکتری در برابر آن بدست آمد (نمودار ۱).



نمودار ۱: بررسی منحنی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به شماره ATCC ۲۵۹۲۳ در برابر رقت های مختلف از اسانس آویشن با MIC برابر ۰/۱۸ میلی گرم در میلی لیتر

بحث

در مطالعه ای که توسط Del campo و همکاران انجام شده بکارگیری عصاره آویشن منجر به بروز خواص سینرژیستی ضد میکروبی تتراسایکلین گردید که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد (۱۶). مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضد باکتریایی اسانس های گیاهی خانواده Laminaceae که گیاه آویشن شیرازی مورد مطالعه ما هم

در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی اسانس آویشن شیرازی با چهار آنتی بیوتیک انتخابی بررسی شد، که نتایج بیانگر وجود خواص آنتی باکتریال اسانس آویشن بود. گزارشات بسیاری از اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی این اسانس در شرایط مختلف بر روی سایر میکروارگانیسم ها وجود دارد (۱۳-۱۵).

اسانس رزماری بر روی سویه های غذایی مورد مطالعه است، بطوریکه حداقل غلظت مهار کننده و کشنده رشد به ترتیب ۱/۴۰ و ۲/۸۱ میلی گرم در میلی لیتر بود (۱۰).

زهراپی و همکاران ۱۳۸۴ بر روی ۶ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پستان گاو مطالعاتی را انجام دادند که قطر هاله عدم رشد اسانس آویشن در این ۶ سویه بین ۴۳ تا ۴۹ میلی متر و MIC بدست آمده در این تحقیق بین ۳۲ تا ۱۵۹ میکروگرم در میلی لیتر بود. در این مطالعه مشخص شد که MIC سویه پاتوژن ۴ برابر سویه استاندارد است و با توجه به قطر هاله عدم رشد سویه استاندارد در برابر اسانس آویشن نسبت به سویه پاتوژن حساس تر است (۱۸).

در بررسی های چیت ساز و همکاران ۱۳۸۶ قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک ۲۰ میکرولیتر اسانس آویشن برابر ۲۴ میلی متر و MIC آن برابر ۹۰۰ میکرولیتر اندازه گیری شد (۱۹). MIC و MBC در بیشتر موارد با هم تفاوت داشتند.

در مرحله سوم کار، میزان MIC agar اسانس ها توسط تکنیک رقت سازی در آگار اندازه گیری شد. میزان MIC agar اسانس آویشن برای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس غذایی برابر ۰/۳۶ mg/ml بدست آمد. MIC agar با MIC اندازه گیری شده در محیط مایع متفاوت بود که دلیل این امر به دلیل فرار بودن اسانس هاست که از دقت کار کم میکند و این میزان را کاهش می دهد.

در مطالعه آخوند زاده و همکاران، اثر اسانس آویشن شیرازی بر احتمال رشد استافیلوکوکوس اورئوس در محیط آبگوشت قلب و مغز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن بیانگر این موضوع بود که لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش غلظت اسانس کاهش پیدا می کند. که آنها نیز با توجه به آنالیز شیمیایی اسانس

در این خانواده قرار دارد و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس های این خانواده از جمله کارواکرول و تیمول وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران در سال ۱۹۹۵، اثرات ضد باکتریایی و محاسبه MIC و MBC کارواکرول بر روی سالمونلا تیفی موریوم و سویه مقاوم به ریفامپسین آن در محیط تریپتیک سوی آگار (با استفاده از دیسک های کاغذی آغشته به غلظت های مورد نظر کارواکرول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط تریپتیک سوی برات (از روی اندازه گیری کدورت رشد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر) و سپس کشت بر روی تریپتیک سوی آگار مورد بررسی قرار گرفت، نشان دادند که کارواکرول اثرات ضد باکتریایی قوی بر هر دو سویه مورد مطالعه، با MIC ۲۵۰ میلی گرم در میلی لیتر داشت (۱۵).

در مطالعه دیگری Karaman و همکاران، اثرات باکتریو استاتیکی قوی اسانس *Thymus revolutus* را بر روی باکتری های گرم مثبت از قبیل استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی از قبیل اشریشیاکلی نشان دادند. آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس بیان نمودند (۱۴).

در بررسی که توسط روان شاد در ۱۳۸۶ انجام گرفت مشخص شد که غلظت ۱ و ۲ درصد اسانس آویشن اثر میکروب کشی بسیار قوی بر روی انتروکوکوس فکالینس دارد (۱۷).

در مرحله بعدی رقت سازی در محیط مایع میزان حداقل غلظت باز دارنده رشد و حداقل غلظت کشنده اسانس ها بر روی تمام سویه ها بدست آمد. میزان MIC آویشن در سویه های غذایی بین ۰/۱۸-۰/۳۶ mg/ml مشاهده شد. همچنین میزان MBC اسانس آویشن در سویه ها بین ۰/۷۳-۰/۳۶ mg/ml نشان داده شد. در حالیکه نتایج تحقیقات قبلی ما بیانگر اثرات ضد میکروبی ضعیف تر

باکتریایی و نگهدارندگی اسانس های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش ها از مدل های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس ها استفاده شده است (۲۵-۲۲).

با توجه به اینکه تحقیقات عمدتاً بر میکروب های خاصی متمرکز نیست، بنابراین بررسی های مقایسه ای بین مطالعات صورت گرفته میسر نمی باشد. با این وجود نتایج این پژوهش بیانگر اثرات مثبت اسانس های آویشن به سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک های استافیلوکوکوس اورئوس بوده و با توجه به این نتایج می توان به ساخت داروهایی مناسب جهت از بین بردن این میکروارگانیسم ها با استفاده از اسانس های مذکور، امیدوار بود.

نتیجه گیری

نتایج این بررسی نشان داد که اسانس آویشن شیرازی اثرات میکروب کشی بسیار مناسب بر استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به آنتی بیوتیک دارند. بنابراین با ساخت داروی مناسب با منشاء گیاهی و عوارض کمتر دارویی می توان به درمان عفونت های استافیلوکوکی امیدوار بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می دانند از کارکنان محترم بخش میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به خاطر زحمات بی دریغ شان در تمامی مراحل کارخانه باریج اسانس کاشان جهت فراهم نمودن استانداردها، کمال تشکر را داشته باشند.

آویشن این اثر را مربوط به میزان بالای کارواکرول موجود در آن میدانند (۲۰).

در تحقیق دیگری که توسط بیات و همکاران در سال ۱۳۸۲ انجام شده نتیجه MIC اسانس های اوکالیپتوس، آویشن و مرزه بر روی میکروارگانیسم های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی و استرپتوکوک فکالینس، نشان داد اسانس آویشن پایین ترین MIC را نسبت به بقیه اسانس ها بر روی هر سه میکروارگانیسم داشته است (۲۱).

همچنین نتایج مطالعه ای که توسط زهرایی و همکاران تحت عنوان تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشیریشیا کلی جدا شده از ورم پستان گاو نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای تاثیر ضد باکتریایی مناسبی روی باکتریهای جدا شده از ورم پستان، بویژه استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اورئوس است (۲۰).

اسانس های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضدباکتریایی می باشند و برای این منظور بسیار موثر و مفید هستند (۷). مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضد باکتری اسانس های مختلف بسیار مشکل می باشد، از دلایل آن می توان به تفاوت در روش های مختلف بررسی خواص ضد باکتری اسانس ها، منابع تهیه آنها و سویه های باکتریایی به کار برده شده، اشاره کرد (۲۰). بطور کلی ترکیبات اسانس های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش گیاه، وارپته گیاهی، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، روش خشک کردن و استخراج اسانس متفاوت است (۷). مدل های مختلفی در مطالعات گوناگون به منظور بررسی اثرات ضد

References

1. Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiol* 2009;26:142–150.
2. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999;86:985–990.
3. Aghel N, Moghimipour E, Ameri A. Characterization of an antidermatophyte cream from *Zataria multiflora* boiss. *Iranian J Pharm Sci* 2007;3:77–84.
4. Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* 2008;15:639–652.
5. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S and et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res* 2007; 21:989–994.
6. Moreno S, Scheger T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res* 2006;40:223-231.
7. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, Linalool and P-Cymene towards *Shigella sonnei* and *S. Flexneri*. *Food Microbiol* 2004;21:33-42.
8. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A and et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol* 2007;115:290-296.
9. Soltan Dallal MM, Salehipour Z, Eshraghi S, Fallah Mehrabadi J, Bakhtiari R. Occurrence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from meat and dairy products by PCR-RFLP. *Ann Microbiol* 2010;60:189–196.
10. Soltan Dallal MM, Ghorbanzade Mashkani M, Abedi Mohtasab TP, Amin Harati F. Antibacterial effects of *Rosmarinus officinalis* on clinical and food Methicillin -resistant of *Staphylococcus aureus* isolates. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2011;16:73-80.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 16th informational supplement (M100-S16). 2006. vol. 26, no. 3. CLSI, Wayne, Pa.
12. Gradwohl RBH, Sonnenwirth AC, Jarett L. *Clinical laboratory methods and diagnosis*. Mosby Company: St Louis. 1980.P.267.
13. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol* 2003;80:223-230.
14. Karaman S, Digrak M, Ravid U, Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *thymus revolutus* celak from Turkey. *J Ethnopharmacol* 2001;76:183-186.
15. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF, Well Cl. Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. *J Food Sci* 1995;60:1346-1368.
16. Del Campo J, Amiot MJ, Nguyen C. Antibacterial effect of rosemary extracts. *J Food Prot* 2000;63:1359-1368.
17. Ravanshad SH, Basiri E, Dastgheib B. Shirazi thyme essential oil concentration on antimicrobial activity of different bacteria, *Enterococcus faecalis*. *Shiraz Univ Dent J* 2007;8 :28-36.
18. Zahraei-Salehi T, Vojgani M, Bayat M, Torshizi H, Akhondzadeh A. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of extract of *Zataria multiflora* against the *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *E.coli*. *J Veter Res* 2005;60:107-110.

19. Chitsaz M, Mahbubi M. Combinations and antibacterial effect of hydroalcoholic oil of thymus vulgaris on select bacteria. J Shahed Univ 2007;14:21-30.
20. Akhundzadeh basti A, Razavilor V, Misaghi A, Radmehr B, Abbasi far R, Yazdani D and et al. Effect of Zataria multiflora Bioss on Staphylococcus aureus growth potential in the brain and heart infusion broth. J Med Plants 2005;10:54-60.
21. Rasooli I and Mirmostafa SA. Antibacterial properties of Thymus pubescens and Thymus serpyllum essential oils. Fitoterapia 2002;73:244- 250.
22. Kout Soumanis K, Lambropoulon K, Nychas G JE. A predictive model for the non-thermal inactivation of Salmonella enteritidis in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. Int J Food Microbiol 1999;49:63-74.
23. Lemay MJ, Choquette J, Delaquis PJ, Gariepy C, Rodrigue N , saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and a cidified chicken meat model. Int J Food Microbiol 2002;78:217-226.
24. Tassou C , Nychas G-JE. Antimicrobial activity of essential oil of mastic gum (Pistacia lentiscus var. Chia) on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system. Int Biodeterioration and Biodegradation 1995;36:411-420.
25. Valero M , Salmeron Mc. Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. Int J Food Microbiol 2003;85:73-81.