



Anti-Bacterial Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil on Eight Gastrointestinal Pathogenic Species

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Zare Bidaki M.¹ PhD,
Arab M.* MSc,
Khazaei M.² BSc,
Afkar E.³ MSc,
Zardast M.⁴ PhD

How to cite this article

Zare Bidaki M, Arab M, Khazaei M, Afkar E, Zardast M. Anti-Bacterial Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil on Eight Gastrointestinal Pathogenic Species. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. 2015;21(3):155-161.

*Clinical Biochemistry Department, Medicine Faculty, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
¹"Hepatitis Research Center" and "Medical Microbiology Department, Paramedics Faculty, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
²Medical Microbiology Department, Paramedics Faculty, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
³Deputy of Research & Technology, Birjand University of Medical sciences, Birjand, Iran
⁴Pathology Department, Medicine Faculty, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Correspondence

Address: South Khorasan, Birjand, Ghaffari Street, Birjand University of Medical Sciences, Medicine Faculty, Clinical Biochemistry Department
Phone: +985632395507
Fax: +985632440388
minaarab70@yahoo.com

Article History

Received: January 5, 2015
Accepted: January 25, 2015
ePublished: September 20, 2015

ABSTRACT

Aims According to the worldwide development of antibiotic resistance in recent years, the tendency of using herbal medicine has grown and plants derived antibacterial substances have found many applications in controlling microorganisms. Thyme (*Zataria multiflora* Boiss.) is one of the medicinal herbs which its pharmaceutical and antibacterial effects have been a matter of research and debate in recent years. This research aimed to study antibacterial effects of *Zataria multiflora* Boiss. essence against 8 standard pathogenic bacterial species.

Materials & Methods In this experimental study, the essential oil was extracted by steam distillation using Clevenger apparatus. Using broth micro-dilution testing, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of thyme essential oil were determined against 8 standard pathogenic bacterial species. Each exam was repeated three times. The results were analyzed by SPSS 16 software using one-way ANOVA and Tukey statistical tests.

Findings The average of MIC for *Zataria multiflora* Boiss. essential oil showed a significant difference among 8 different bacterial species ($p < 0.001$). The highest growth inhibitory effect was found against *Bacillus cereus* and the least one was against *Pseudomonas aeruginosa*. There was no significant difference among the averages of MBCs ($p = 0.073$).

Conclusion *Zataria multiflora* Boiss. essential oil has significant antibacterial effect.

Keywords *Zataria multiflora* Boiss.; Oils, Volatile; Anti-Bacterial Agents; Microbial Sensitivity Tests

CITATION LINKS

[1] Plant products as antimicrobial ... [2] Comparison of antimicrobial effect of different parts of *quercuspersica* against *escherichia coli* ... [3] Antimicrobial activities of various medicinal and ... [4] Herbal medicine: Knowledge, attitude and practice in ... [5] Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines ... [6] Effect of essential oils of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss, and ... [7] Five common herbal remedy ... [8] Evaluation of using herbal medicine in ... [9] The potential application of plant essential oils as ... [10] In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of ... [11] Antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil ... [12] Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* ... [13] Application of natural antimicrobials for ... [14] Antibacterial effect and physicochemical properties of ... [15] Antinociceptive effects of *Zataria multiflora* Boiss fractions in ... [16] Quantitative and qualitative variation of essential oil of ... [17] Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on ... [18] Effects of ... [19] Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and ... [20] Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of ... [21] Antimicrobial activity of essential oils and ... [22] Effect of ... [23] The Combined Effect of ... [24] Antibacterial effects of methanolic extracts of ... [25] Antibacterial and antioxidant effects of the ... [26] The survey of effect of ... [27] Antimicrobial activity of different concentrations of ... [28] Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ... [29] Effects of ... [30] Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. and ... [31] Anti-dermatophyte cream formulation of the hydroalcoholic extract of ... [32] Cytotoxic effects of thyme on *giardia* cyst in ... [33] Effect of essential oils of ... [34] Benefits of *Zataria multiflora* Boiss in experimental model of mouse inflammatory bowel ... [35] Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and ... [36] Total phenolic content, antioxidant activity and antifungal property in two parts of garden thyme ...

اثر ضدباکتریایی اسانس روغنی آویشن شیرازی بر هشت گونه پاتوژن گوارشی

مجید زارع بیدکی PhD

مرکز تحقیقات هیپاتیت و گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

مینا عرب* MSc

گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

محمدرمه خزاعی BSc

گروه میکروبی‌شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

احسان افکار MSc

معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

محمود زردست PhD

گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

چکیده

اهداف: با شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر تمایل به استفاده از طب گیاهی توسعه یافته و مواد ضدباکتریایی مشتق از گیاهان کاربردهای زیادی در کنترل میکروارگانیسم‌ها پیدا کرده است. آویشن یکی از گیاهان دارویی است که در سال‌های اخیر اثرات فارماکولوژیک و آنتی‌بیوتیکی آن مورد بررسی و بحث است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر ۸ گونه باکتری پاتوژن گوارشی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، اسانس آویشن شیرازی به روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. سپس با استفاده از روش میکروداپلوشن‌براث، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس آویشن شیرازی علیه ۸ گونه استاندارد باکتریایی پاتوژن تعیین شد. هر آزمایش سه بار تکرار شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین MIC اسانس آویشن شیرازی در بین باکتری‌های مورد آزمایش، تفاوت معنی‌داری داشت ($p < 0.001$)، به طوری که بیشترین حساسیت نسبت به این اسانس در *باسیلوس سرئوس* و کمترین حساسیت در *سودوموناس آئرروژینوزا* وجود داشت. MBC اسانس آویشن شیرازی در میان باکتری‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت ($p = 0.073$).

نتیجه‌گیری: اسانس آویشن شیرازی اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی دارد.

کلیدواژه‌ها: آویشن شیرازی، اسانس، اثر ضدباکتریایی، حداقل غلظت بازدارنده، حداقل غلظت باکتری کش

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۰۴

*نویسنده مسئول: mina-arab70@yahoo.com

مقدمه

با وجود افزایش روزافزون تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید، مقاوم‌شدن باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به مشکل بزرگ جهانی تبدیل شده است. از این رو امروزه محققان به سمت جایگزین‌های گیاهی روی آورده‌اند که ضمن دارابودن اثرات ضدباکتریایی، فاقد عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی هستند [1-3]. امروزه نسبت تعداد داروهای گیاهی رسمی مورد استفاده در درمان بیماری‌ها در مقایسه با تعداد کل داروهای رسمی در جهان در حال فزونی است. این نسبت در کشورهای همچون چین و هند با حدود بیش از ۷۰٪ در بالاترین مقدار و در کشورهایی همچون ایالات متحده با حدود ۲۰٪ در حد پایینی قرار دارد [4, 5]. متأسفانه در ایران این نسبت در حد پایینی است، به طوری که در حال حاضر در حدود ۵٪ است [6-8]. بعضی از اسانس‌های گیاهان به‌عنوان عوامل مهم ضد میکروبی طبیعی گزارش شده‌اند. اسانس‌ها، مایعات روغنی معطری هستند که از اندام‌های مختلف گیاه نظیر دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، برگ، غنچه و گل به‌دست می‌آیند. به‌طور عمده ترکیبات فنلی مسئول خواص ضد میکروبی اسانس‌ها هستند. اسانس‌ها می‌توانند تا بیش از ۶۰ نوع ترکیب داشته باشند و ترکیبات اصلی ممکن است تا ۸۵٪ اسانس را تشکیل دهند. نتیجه بعضی از بررسی‌ها نشانگر این موضوع است که اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها به‌صورت کامل نسبت به اثرات تک‌تک اجزا بیشتر است [2]. اسانس‌ها با داشتن خاصیت آب‌گریزی موجب نفوذ در لیبید غشایی سلول باکتری می‌شوند و متعاقباً منجر به خارج‌شدن یون‌ها و محتویات سلولی از آن می‌شوند. خروج این مواد از سلول، با ایجاد اختلال در عملکرد سلولی، باعث مرگ آن می‌شود [9].

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) جزء خانواده نعناعیان (لامیاسه) و از گیاهان بومی ایران است که به‌طور سنتی به‌عنوان افزودنی و چاشنی به مواد غذایی افزوده می‌شود [10]. اندام دارویی این گیاه، برگ‌ها و گل‌های آن است و از ترکیبات اصلی موجود در اسانس این گیاه، کارواکرول، تیمول، لینالول و پاراسیمین بوده که اثرات ضد میکروبی آنها قبلاً به‌اثبات رسیده است [11]. اسانس این گیاه به‌دلیل داشتن ترکیبات منوترپنی فنلی، یکی از موثرترین اسانس‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی به‌شمار می‌رود [12]. تیمول یکی از مهم‌ترین ترکیبات منوترپنی اکسیژنه با خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی و جلوگیری‌کننده از رشد و تولید مایکوتوکسین است که در اسانس آویشن و تعداد زیادی از گیاهان یافت می‌شود [13]. این گیاه دارای خواص درمانی مفید مانند تقویت دستگاه هاضمه، ضدنفخ، گندزدایی‌کننده و آرام‌بخش است که به‌عنوان آنتی‌سپتیک مجاری تنفسی - گوارشی، خلط‌آور و ضداسپاسم گوارشی نیز گزارش شده است [14, 15]. همچنین از این گیاه برای درمان دردهای روماتیسمی، گزیدگی حشرات، ضد عفونی‌کردن زخم‌ها و امراض جلدی استفاده

اسانس را بدون داشتن اثرات ضد میکروبی چشمگیر در خود حل کند، نیاز است. از این رو از ماده دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) با غلظت ۵٪ به‌عنوان حلال استفاده شد. از استوک اولیه برای مراحل بعدی استفاده شد [19].

تهیه سوسپانسیون باکتریایی: میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه شامل؛ *اشریشیا کلی* (ATCC 25922)، *باسیلوس سرئوس* (ATCC 11778)، *کلیسیلا نومونیا* (ATCC 700603)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 29213)، *شیگلا فلکسنری* (ATCC 12022)، *سالمونلا انتریکا/انترتیدیس* (PTCC 1709) و *سالمونلا تیفی‌موریوم* (PTCC 1639) بودند. این باکتری‌ها قبلاً به‌صورت جداگانه و لیوفیلیزه از انستیتو پاستور ایران و مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شده و در کرایوبانک، تلقیح و در دمای °C ۷۰- نگهداری شدند. برای احیای این باکتری‌ها ابتدا از هر کرایوبانک یک ساچمه آغشته به محلول باکتری‌های مورد نظر برداشته و در ۳ سی‌سی محیط نوترینت‌براث (مرک؛ آلمان) قرار داده شد. سپس این محیط‌های کشت به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای °C ۳۷ انکوبه شدند تا باکتری‌ها دوباره تکثیر شوند. پس از احیای باکتری‌های مورد مطالعه، به‌منظور به‌دست‌آوردن کلنی‌های خالص، از محیط کشت نوترینت‌براث حاوی باکتری‌های پاتوژن، روی محیط بلاداکار کشت ایزوله به‌عمل آمد تا بتوان از کلنی‌های ظهور یافته بر سطح محیط کشت برای تهیه محلولی معادل با کدورت نیم‌مک‌فارلند (1×10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی (cfu) بر میلی‌لیتر) استفاده کرد.

آزمایش میکرودايلوشن‌براث برای تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC): آزمایش MIC در میکروپلیت ۹۶‌چاهکی استریل و با روش میکرودايلوشن‌براث انجام شد. این میکروپلیت‌ها دارای ۸ ردیف ۱۲‌چاهکی به‌حجم ۲۵ میکرولیتر هستند. ابتدا از محیط کشت نوترینت‌براث، ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد. به اولین چاهک هر ردیف توسط سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از اسانس آویشن شیرازی (که در حلال DMSO حل شده) اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و در چاهک دوم ریخته و بعد از چند بار پر و خالی کردن توسط سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم ریخته شد. این کار تا چاهک شماره ۱۱ ادامه یافت. سپس ۱۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی هر باکتری که معادل کدورت نیم‌مک‌فارلند شده بود، به تمام چاهک‌ها به‌استثنای چاهک شماره ۱۱ هر ردیف اضافه شد. چاهک‌های شماره ۱۱ هر ردیف به‌عنوان شاهد اسانس (کنترل منفی) فقط حاوی محیط کشت و اسانس بود. چاهک‌های شماره ۱۲ هر ردیف به‌عنوان شاهد باکتری (کنترل مثبت) برای تعیین کدورت باکتری حاوی محیط کشت، DMSO و باکتری‌ها بود. پس از تلقیح باکتری‌ها، میکروپلیت روی شیکر به‌مدت ۳۰ ثانیه

می‌شود [16]. تاکنون مطالعات مختلفی برای تعیین اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن انجام گرفته است و تقریباً در همه موارد اثر ضدباکتریایی قوی آویشن مورد تایید بوده است. در مطالعه *آخوندزاده* و همکاران که اثر اسانس آویشن شیرازی را روی احتمال رشد سالمونلاتیفی‌موریوم در محیط آبگوشت قلب و مغز بررسی کردند، مشخص شد که درصد احتمال رشد این باکتری با افزایش غلظت اسانس کاهش پیدا کرده است [17]. رهنما و همکاران اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی و نایسین را به‌تنهایی و ترکیبی با یکدیگر بر علیه لیستریا منوسایتوژنز در آبگوشت قلب و مغز بررسی کردند و نشان دادند که اسانس این گیاه دارای اثرات بازدارندگی بر این باکتری است و این اثرات به‌وضوح در همراهی با نایسین افزایش یافته است [18]. شریفی‌فر و همکاران نیز گزارش کردند که اسانس و عصاره متانولی آویشن شیرازی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی است [10]. محبوبی و *قاضیان‌بیدگلی* در مطالعه خود فعالیت ضداستافیلوکوکوی اسانس آویشن شیرازی را به‌روش میکروبراث‌دایلوژن بررسی کردند. آنان اثر ضد میکروبی این اسانس را در مقابل ایزوله‌های کلینیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ویژه MRSA (استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سلین) نشان دادند و اثر سینرژیستی اسانس آویشن شیرازی را نیز با وانکومايسين به‌اثبات رساندند [19].

برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی در طب مکمل، بررسی اثرات ضد میکروبی آنها در رشد باکتری‌های بیماری‌زا در محیط آزمایشگاهی ضرورت دارد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر ۸ گونه پاتوژن مهم گوارشی به‌صورت "در شیشه" بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شد.

تهیه اسانس: پس از جمع‌آوری آویشن شیرازی و تایید علمی آن توسط کارشناس ارشد گیاهان دارویی در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، استخراج اسانس گیاه فوق‌الذکر به‌روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر انجام شد. بدین ترتیب که ۱۰۰ گرم از برگ خشک گیاه ابتدا آسیاب شده و به بالن ۲ لیتری منتقل شد و مقدار یک لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. عملیات اسانس‌گیری ۳ ساعت به‌طول انجامید. با توجه به اینکه چگالی اسانس از چگالی آب کمتر است، بنابراین اسانس استخراج‌شده روی فاز آبی قرار گرفته و به‌راحتی توسط قیف دکانتور جداسازی شد. اسانس تقطیرشده پس از آگیری با سولفات سدیم‌انیدرید، بلافاصله به یک شیشه تیره و دربسته بدون تماس با نور و هوای آزاد، منتقل شد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. برای آماده‌سازی اسانس، با توجه به عدم حالیت آن در محیط کشت محتوی آب به یک امولسیفایر که

باکتری‌های مورد آزمون شد. حساسیت هر دو گونه سالمونلا نسبت به این اسانس در غلظت ۰/۰۳۲٪ بود. ولی MBC اسانس آویشن شیرازی در میان باکتری‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۰۷۳). با این وجود غلظت‌هایی از این اسانس که باعث مهار رشد باکتری‌های *اشریشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس*، *کلبسیلا نومونیا* و *سالمونلا انتریکا/انتریتیدیس* شده بود، بر آنها اثر کشندگی نیز داشت (جدول ۱).

جدول ۱) میانگین آماری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) اسانس آویشن شیرازی علیه ۸ سویه پاتوژن بر حسب درصد

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) حداقل غلظت کشندگی (MBC)	
<i>اشریشیا کلی</i>	
۰/۰۳۹±۰/۰۰۱	۰/۰۳۹±۰/۰۰۱
<i>باسیلوس سرئوس</i>	
۰/۰۲۵ ± ۰/۰۱۰	۰/۰۲۵ ± ۰/۰۱۰
<i>کلبسیلا نومونیا</i>	
۰/۰۳۹±۰/۰۰۱	۰/۰۳۹±۰/۰۰۱
<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	
۰/۰۳۱±۰/۰۰۱	۰/۱۵۶±۰/۰۰۱
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	
۰/۰۹۱±۰/۰۵۰	۰/۰۷۱±۰/۰۷۰
<i>تسیگلا فلکسنری</i>	
۰/۰۵۲±۰/۰۲۰	۰/۰۳۹±۰/۰۰۱
<i>سالمونلا انتریکا/انتریتیدیس</i>	
۰/۰۳۲±۰/۰۱۰	۰/۰۳۲±۰/۰۱۰
<i>سالمونلا تیفی مورיום</i>	
۰/۰۳۹±۰/۰۰۱	۰/۰۳۲±۰/۰۱۰

MIC اسانس آویشن شیرازی در بین باکتری‌های مورد مطالعه به صورت دو به دو نیز مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲).

قرار داده شد تا کاملاً مخلوط یکنواخت شود. سپس جذب نوری با استفاده از الیزا ریدر در ساعت صفر و با طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد. در مرحله آخر، میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده و نیز جذب نوری توسط الیزا ریدر خوانده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، کمترین غلظتی که کدورتی نداشت و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان عدد MIC منظور شد.

بررسی حداقل غلظت کشنده (MBC): برای اندازه‌گیری حداقل غلظت کشندگی، از چاهک‌های فاقد کدورت (غلظت‌های MIC و بیشتر از آن) مقدار ۱۰ میکرولیتر در شرایط کاملاً استریل و در نزدیکی شعله برداشته و روی محیط بلاداگار تلقیح و کشت داده شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷°C کمترین رقتی که توانست ۹۹/۹٪ باکتری‌ها را بکشد، به عنوان رقت MBC در نظر گرفته شد. کلیه مراحل آزمایش سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ارائه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16 تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در نتایج به دست آمده، آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه همراه با آزمون توکی (برای مقایسه دو به دو نتایج) مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج بیانگر تفاوت معنی‌دار MIC اسانس آویشن شیرازی در بین باکتری‌های مورد آزمایش بود (p<۰/۰۰۱). غلظت ۰/۰۲۵٪ اسانس آویشن شیرازی علیه *باسیلوس سرئوس* بیشترین اثر مهارکنندگی و غلظت ۰/۱۵۶٪ این اسانس علیه *سودوموناس آئروژینوزا* کمترین اثر مهارکنندگی را از خود نشان داد. همچنین اسانس این گیاه در غلظت‌های ۰/۰۳۲، ۰/۰۳۹ و ۰/۰۷۱٪ باعث مهار رشد سایر

جدول ۲) مقایسه دو به دو MIC باکتری‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون توکی

گونه باکتری	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
۱- <i>اشریشیا کلی</i>	-	۰/۹۹۸	۱	۰/۰۰۱*	۰/۸۱۶	۱	۱	۱
۲- <i>باسیلوس سرئوس</i>	۰/۹۹۸	-	۰/۹۹۸	۰/۰۰۱*	۰/۴۷۴	۰/۹۹۸	۱	۱
۳- <i>کلبسیلا نومونیا</i>	۱	۰/۹۹۸	-	۰/۰۰۱*	۰/۸۱۶	۱	۱	۱
۴- <i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	-	۰/۰۲۵*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*
۵- <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۰/۸۱۶	۰/۴۷۴	۰/۸۱۶	۰/۰۲۵*	-	۰/۸۱۶	۰/۶۵۱	۰/۶۵۱
۶- <i>تسیگلا فلکسنری</i>	۱	۰/۹۹۸	۱	۰/۰۰۱*	۰/۸۱۶	-	۱	۱
۷- <i>سالمونلا انتریکا/انتریتیدیس</i>	۱	۱	۱	۰/۰۰۱*	۰/۶۵۱	۱	-	۱
۸- <i>سالمونلا تیفی مورיום</i>	۱	۱	۱	۰/۰۰۱*	۰/۶۵۱	۱	۱	-

p<۰/۰۵*

حاضر مطابقت دارد. *روانشاد* و همکاران فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های متفاوت اسانس آویشن شیرازی را بر *انتروکوکوس فیکالیس* بررسی کردند و نشان دادند که این اسانس در غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ در ازمیان‌بردن این باکتری موثر است [27]. *زهرا بی* و همکاران حداقل غلظت ممانعت‌کننده (MIC) اسانس این گیاه را روی باکتری‌های جدا شده از شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان بررسی کرده و مشاهده نمودند که این اسانس دارای تاثیر ضدباکتریایی مناسبی بر *استرپتوکوکوس آگالکتیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* است [28].

اثرهای ضد میکروبی آویشن شیرازی روی برخی دیگر از عوامل عفونی همچون عوامل قارچی و انگلی نیز مورد بررسی محققان قرار گرفته است. گندمی و همکاران اثر اسانس آویشن شیرازی را روی *اسپریتیلوس فلاووس* بررسی کردند. میزان MIC و MFC به ترتیب ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm به دست آمد، به طوری که اثر اسانس بر اسپورزایی بیشتر از اثر بر رشد میسلیوم بود [29]. در مطالعه اکبری اثرات ضدقارچی اسانس و عصاره گیاهی آویشن علیه ایزوله‌های بالینی *کاندیدا آلبیکنس* مقاوم و حساس به فلوکونازول تایید شد [30]. مقیمی‌پور و همکاران نیز مناسب‌ترین فرمولاسیون کرم ضددرماتوفیت از عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی را حاوی ۲٪ عصاره تعیین کردند [31]. فرستگی و همکاران اثرات کشندگی آویشن را روی کیست ژیراردا در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که غلظت تام اسانس آویشن با میانگین کشندگی ۹۱/۱٪ در مقایسه با داروی مترونیدازول، عصاره جوشانده آویشن و عصاره سوکسیله آویشن بعد از ۶۰ دقیقه، دارای بیشترین اثر کشندگی روی کیست‌های ژیراردا است [32]. در مطالعه *آزادبخت* و همکاران نیز تاثیر چشمگیر اسانس آویشن شیرازی بر *تریکوموناس واژینالیس* مشخص شد [33].

اشارال و همکاران مزایای آویشن شیرازی را در مدل تجربی بیماری التهابی روده موش بررسی کردند و گزارش نمودند که خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی این گیاه سبب حفاظت حیوان در برابر این بیماری شده است [34]. حسین‌زاده و همکاران نیز اثرات ضد التهابی و ضد دردی آویشن شیرازی را تایید نمودند [35].

بعضی مطالعات پیشنهاد می‌کنند که خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی و ضدکرمی آویشن به واسطه حضور مواد فنولی آن مثل تیمول و کارواکرول است که این مواد از اجزای اصلی اسانس آویشن هستند و همین طور تیمول موجود در آن اثرات آنتی‌اکسیدان داشته و تولید آنیون سوپراکسید را در سیستم گزانتین - گزانتین اکسیداز مهار می‌کند [36].

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان از قدرت مهارکنندگی و باکتری‌کشی بالای اسانس آویشن شیرازی (MIC=۰/۰۲۵٪ و MBC روی *باسیلوس سرئوس* دارد، در حالی که *سودوموناس*

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر ۸ گونه پاتوژن مهم گوآرش به صورت "در شیشه" انجام شد. در این مطالعه حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) اسانس آویشن به روش میکرودايلوشن برات تعیین شد. در تحقیق حاضر، دامنه MIC و MBC اسانس آویشن شیرازی به ترتیب بین ۰/۱۵۶-۰/۰۲۵٪ و ۰/۰۹۱-۰/۰۲۵٪ مشخص شد. نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات ضدباکتریایی آویشن شیرازی قابل توجه است. این یافته با گزارشات حاصل از معدود مطالعات انجام شده در این زمینه مشابهت دارد. در مطالعه حسین‌زاده و همکاران که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) لیزوزیم و آویشن شیرازی را بر *اشریشیا کلی* O157:H7 بررسی کردند، میزان MIC اسانس آویشن در دو روش ماکرودايلوشن و میکرودايلوشن ۰/۰۴٪ به دست آمد [20]. در بررسی هامر و همکاران حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس آویشن علیه *اشریشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* به روش میکرودايلوشن برات حدود ۰/۰۳٪ تعیین شد [21] که با نتایج تحقیق حاضر در مورد *اشریشیا کلی* (MIC=۰/۰۳۹) همخوانی دارد. عزیزخانی و همکاران اثر اسانس آویشن شیرازی را بر رشد و تولید انتروتوکسین E *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی کردند و MIC و MBC اسانس آویشن را به روش میکرووول دایلووشن به ترتیب ۰/۰۳ و ۰/۰۴٪ گزارش نمودند [22]، اما در تحقیق حاضر مقادیر MIC و MBC اسانس آویشن علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۰/۰۷۱ و ۰/۰۹۱٪ به دست آمد که ممکن است به دلیل تفاوت در نحوه اسانس‌گیری در این دو پژوهش باشد. در مطالعه مشاک و همکاران اسانس آویشن شیرازی به تنهایی در غلظت‌های ۳۰ و ۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر توانست به طور معنی‌داری موجب کاهش رشد *باسیلوس سرئوس* در دمای ۲۵°C طی مدت نگاه‌داری ۲۱ روزه در نمونه سوپ تجاری شود [23]. هاشمی و همکاران اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی آویشن شیرازی، مورد و اسپند را بر سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های بالینی *سودوموناس آئروژنیوزا* حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع به روش رقت در آگار بررسی کردند و نشان دادند که عصاره آویشن شیرازی اثر قوی‌تری بر باکتری‌ها دارد، به طوری که ۳۷ ایزوله در غلظت ۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره این گیاه حساس بودند [24]. مصحفی و همکاران اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی آویشن شیرازی را در برون تن بررسی کردند. در این مطالعه اسانس آویشن در مقایسه با عصاره متانولی آن اثر ضدباکتریایی قوی‌تری در روش دیسک‌دیفیوژن نشان داد و اثر مهاری اسانس این گیاه روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر بود [25]. در تحقیق موسوی و همکاران اثر اسانس آویشن شیرازی روی میزان رشد *سالمونلا تیفی موربوم* در سوپ تجاری مورد بررسی قرار گرفت و کمترین رشد باکتری در غلظت ۰/۰۳٪ اسانس مشاهده شد [26] که با نتایج حاصل از تحقیق

- 5- Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(2):179-89.
- 6- Abdollahi B, Ziaei F, Shabankhani B, Azadbakht M. Effect of essential oils of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss, and *Myrtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis*. *Iran J Pharm Res.* 2004;3 suppl 2:35-40.
- 7- Azadbakht M, Azadbakht M. Five common herbal remedy anti- protozoan. *J Mazandaran Uni Med Sci.* 2008;18(67):118-32. [Persian]
- 8- Bagheri A, Naghdi Badi H, Maki Zadeh M, Hemati AR, Movahedian F. Evaluation of using herbal medicine in Isfahan women population. *J Med Plant.* 2005;4(15):81-92.
- 9- Smith Palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.* 2001;18(4):463-70.
- 10- Shariffar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control.* 2007;18(7):800-5.
- 11- Eftekhari F, Zamani S, Yusefzadi M, Hadian J, Nejad Ebrahimi S. Antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil against extended spectrum β lactamase produced by urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Jundishapur J Microbiol.* 2011;4(5):S43-9.
- 13- Tiwari BK, Valdramidis VP, O'Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem.* 2009;57:5987-6000.
- 12- Saei Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. From different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(6):1562-7.
- 14- Mansoura A, Enayatb K, Neda MS, Behzad A. Antibacterial effect and physicochemical properties of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. *Asian Pac J Trop Med.* 2010;6(3):439-42.
- 15- Ramezani M, Hosseinzadeh H, Samizadeh S. Antinociceptive effects of *Zataria multiflora* Boiss fractions in mice. *J Ethnopharmacol.* 2004;91(1):167-70.
- 16- Sefidkon F, Rahimi Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation of essential oil of *Thymus kotschyianus* by different methods of distillation and stage of plant growth. *Iran J Med Aroma Plant Res.* 2003;15:1-22. [Persian]
- 17- Basti AA, Misaghi A, Ebrahimzade E, Abbasifar R, Radmehr SH, Akhondzade S. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on lag phase of growth of *Staphylococcus aureus* in a brain heart infusion broth. *J Med Plant.* 2004;3(11):42-7. [Persian]
- 18- Rahnema M, Razavi Rohani SM, Tajik H, Khaleghi Sigarudi F, Rezazad Bari M. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin, alone and in combination against *Listeria monocytogenes* in BHI broth. *J Med Plant.* 2009;4(32):120-31. [Persian]
- 19- Mahboubi M, Bidgoli FG. Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and its synergy with vancomycin. *Phytomedicine.* 2010;17(7):548-50.
- 20- Hosseinzadeh A, Mohajerfar T, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, et al. Determination of minimum inhibitory concentration

آنروژینوزا در غلظت ۰/۱۵۶٪ کمترین حساسیت را نشان داد. این تفاوت‌ها قدرت باکتری‌کشی انتخابی آویشن شیرازی را به‌خوبی آشکار می‌سازد. در عین حال عدم وجود تفاوت معنی‌دار در غلظت‌های MBC آویشن شیرازی برای ۸ گونه باکتریایی پیشنهاد می‌کند که در موارد استفاده عام از این گیاه برای اهداف کنترل عفونت یا پیشگیری از فساد میکروبی مواد غذایی، بهتر است از غلظت‌های MBC این گیاه استفاده شود.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به تعداد محدود باکتری‌های مورد بررسی اشاره کرد و پیشنهاد می‌شود که روی سایر گونه‌های پاتوژن باکتریایی و قارچی مطالعات تکمیلی انجام پذیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود که از اسانس این گیاه در صنایع غذایی (به‌عنوان نگهدارنده) و در صنایع دارویی برای درمان بیماری‌هایی همچون مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های چشمی ناشی از باسیلوس سرئوس استفاده شود. همچنین به‌دلیل محدودیت روزافزون استفاده از مواد شیمیایی، پیشنهاد می‌شود اثر این گیاه بر انواع دیگری از میکروارگانیسم‌ها نیز مطالعه شود.

نتیجه‌گیری

اسانس آویشن شیرازی اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی دارد.

تشکر و قدردانی: این مقاله حاصل نتایج طرح تحقیقاتی مصوب (کد ۴۴/۹۲) شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند است. نویسندگان از جناب آقای مهندس پویان که در تهیه اسانس برای انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند و نیز معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تأییدیه اخلاقی: به‌دلیل کارکردن روی گیاه و جمعیت باکتری‌ها، کار تحقیقاتی حاضر فاقد هرگونه ملاحظه اخلاقی است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان مطرح نشده است.

منابع مالی: این پژوهش با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام گرفته است.

منابع

- 1- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(4):564-82.
- 2- Ebrahimi A, Khayami M, Nejati V. Comparison of antimicrobial effect of different parts of *Quercus persica* against *Escherichia coli* O157:H7. *Q Horizon Med Sci.* 2012;17(4):11-7. [Persian]
- 3- Ates DA, Erdogru OT. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turk J Biol.* 2003;27:157-62.
- 4- Sedighi J, Maftoun F, Ziaei G. Herbal medicine: Knowledge, attitude and practice in Tehran. *J Med Plant.* 2005;4(13):11-8.

- Concentration (MIC) of Extract of *Zataria multiflora*, against the clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. *J Fac Vet Med Univ Tehran*. 2005;60(2):107-10. [Persian]
- 29- Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, Akhondzadeh Basti A, Khosravi A, Bokaei S, Abbasifar R. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on *aspergillus flavus*. *J Med Plant*. 2008;3(27):45-51. [Persian]
- 30- Akbari S. Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. Against Fluconazol-Resistant and Susceptible *Candida albicans* Isolates. *J Med Plant*. 2007;1(Suppl 3):53-62. [Persian]
- 31- Moghimipour E, Aghel N, Ameri A, Saadatzaheh A. Anti-dermatophyte cream formulation of the hydroalcolic extract of *Zataria multiflora* Boiss. *Iran J Basic Med Sci*. 2007;10(1):36-45. [Persian]
- 32- Sahebani NA, Movahhed A, Farsangi MH. Cytotoxic effects of thyme on giardia cyst in vitro. *South Med J*. 2002;4(2):88-95. [Persian]
- 33- Azadbakht M, Ziai H, Abdullahi F, Shabankhani B. Effect of essential oils of *Artemisia*, *Zataria* and *Myrtus* on *Trichomonas vaginalis*. *J Med Plant*. 2003;4(8):35-40. [Persian]
- 34- Ashtaral Nakhai L, Mohammadirad A, Yasa N, Minaie B, Nikfar SH, Ghazanfari G, et al. Benefits of *Zataria multiflora* Boiss in experimental model of mouse inflammatory bowel disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4(1):43-50.
- 35- Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol*. 2000;73(3):379-85.
- 36- Sabetsarvestani MM, Sharafzadeh Sh, Alizadeh A, Rezaeian AA. Total phenolic content, antioxidant activity and antifungal property in two parts of garden thyme shoot. *Int J Farming Allied Sci*. 2013;2(22):1017-22.
- (MIC) of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and lysozyme on *E. coli* O157: H7. *J Med Plant*. 2011;1(8):208-17. [Persian]
- 21- Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*. 1999;86(6):985-90.
- 22- Azizkhani M, Misaghi A, Akhondzadeh Basti A, Gandomi Nasrabadi H, Hosseini H. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and enterotoxin e production of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *J Med Plant*. 2012;4(44):185-93. [Persian]
- 23- Mashak Z, Moradi B, Moradi B. The Combined Effect of *Zataria multiflora* Boiss. and *Cinnamomum zeylanicum* Nees. essential Oil on the Growth of *Bacillus cereus* in a Food Model System. *J Med Plant*. 2012;2(42):62-73. [Persian]
- 24- Hashemi A, Shams S, Barati M, Samedani A. Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. *Arak Med Univ J*. 2011;14(4):104-12. [Persian]
- 25- Moshafi MH, Mansuri S, Sharififar F, Khoshnoodi M. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract of *Zataria Multiflora* Boiss. *J Kerman Univ Med Sci*. 2007;14(1):33-43. [Persian]
- 26- Moosavy MH, Basti AA, Misaghi A, Jabari Khameneh H, Karim G, Zahraei Salehi T. The survey of effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on the growth of *salmonella typhimurium* in a commercial barley soup. *J Med Plants*. 2010;2(34):109-16. [Persian]
- 27- Ravanshad S, Basiri E, Dastgheib B. Antimicrobial activity of different concentrations of essential oil of *Zataria multiflora* on *enterococcus faecalis*. *Shiraz Univ Dent J*. 2007;8(1):28-36. [Persian]
- 28- Zahraei Salehi T, Vojgani M, Bayat M, Torshizi H, Akhondzadeh A. Determination of Minimum Inhibitory