

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of the antibacterial effect of Danai thyme extract on *Streptococcus salivarius*, *Yersinia enterocolitica* and *Shigella flexneri* bacteria

Reza Yadi¹, Fatemeh Haghshenas Gatabi¹, Naeimeh Dehghani^{2*}, Hamed Danesh Pazhouh²

¹Department of Agriculture, Payame Noor University, P.O. Box 19395-3697, Tehran, Iran.

²Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Correspondence

Naeimeh Dehghani

Email: N.dehghani@pnu.ac.ir

How to cite

Yadi, R., Haghshenas Gatabi, F., Dehghani, N., & Danesh Pazhouh, H. (2024). Evaluation of the antibacterial effect of Danai thyme extract on *Streptococcus salivarius*, *Yersinia enterocolitica* and *Shigella flexneri* bacteria. *Experimental Animal Biology*, 12(47), 73-82.

ABSTRACT

Introduction: Due to increasing resistance of pathogenetic bacteria to the new antibiotics, the researchers are seeking of finding the antimicrobial materials with herbal origins as the replacement of ineffective antibiotics. The aim of doing of this study is evaluation of the antibacterial effect of hydro alcoholic extraction of the plant of thymus daensis on the bacteria of shigella flexneri, Yersinia enterocolitica and streptococcus salivarius.

Investigation method: in this practical study, the plant of thymus daensis were collected and the extraction of plant were prepared by the method of maceration and the antimicrobial effects of these plant in the amounts of 0.65, 1.25, 2.5, 5 and 10 mg/l were prepared by using the method of transmission on disk on the bacteria of shigella flexneri, Yersinia enterocolitica and Streptococcus salivarius compared with the antibiotics of Penicillin, Gentamicin, Tetracycline and Vancomycin and drop of halo of lack of growth was measured. Also the minimum concentration of restraining of growth (MIC) and the minimum concentration of lethality (MBC) of extractions against three concerned bacteria were determined.

Results: The obtained results showed that the extraction of thymus daensis on streptococcus salivarius in the concentration of 10mg/l had the most effect and the drop of halo of lack of growth were respectively measured as 20.83, 20.33, 19. Also this extractions didn't have any effect on the bacterium of Yersinia for mutual effect of antibiotic in bacterium the maximum drop of halo of lack of growth for antibiotic of Tetracycline and bacterium of Streptococcus salivarius was achieved but in the mutual effect of antibiotic of Vancomycin and the bacterium of Yersinia any halo wasn't composed. The amount of mic related to thymus daensis on the bacteria of Streptococcus salivarius and Shigella flexneri showed a similar amount the equals to 0.65 mg/l and the amount of mic related to thymus daensis on the bacterium of Yersinia enterocolitica was achieved equals to 1.25 mg/l. the amount of mbc component for the plant of Thymus daensis on the bacteria of Yersinia and Shigella was achieved equals to 2.5 mg/l and for bacteria of Streptococcus salivarius was achieved equals to 1.25 mg/l.

Conclusion: There for, the hydro-alcoholic extraction of thymus daensis has an inhibitory effect, this extractions showed more effect on the bacterium of Streptococcus than two bacteria Yersinia and Shigella.

KEYWORDS

Thymus daensis, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Streptococcus salivarius*.

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

ارزیابی اثر ضد باکتریایی عصاره آویشن دنايي (*Thymus daenensis*) بر باکتری‌های استرپتوکوکوس سالیواریوس، یرسینیا انتروکولیتیکا و شیگلا فلکسنری

رضا یدی^۱، فاطمه حق‌شناس کتابی^۱، نعیمه دهقانی^{۲*}، حامد دانش‌پژوه^۲

چکیده

به دلیل مقاومت روز افزون باکتری‌های بیماریزا به آنتی‌بیوتیک‌های جدید پژوهش‌گران در پی یافتن مواد ضد میکروبی با منشأ گیاهی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های غیر مؤثر هستند. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن دنايي بر روی باکتری‌های شیگلا فلکسنری، یرسینیا انتروکولیتیکا و استرپتوکوکوس سالیواریوس می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، گیاه آویشن دنايي جمع‌آوری و عصاره گیاه به روش خیساندن (ماسراسیون) تهیه و اثرات ضد میکروبی این گیاهان در رقت‌های ۰/۶۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از روش انتشار در دیسک بر روی باکتری‌های شیگلا فلکسنری، یرسینیا انتروکولیتیکا و استرپتوکوکوس سالیواریوس در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، جنتامایسین، تتراسایکلین و نیکومایسین تعیین و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. هم‌چنین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها بر علیه سه باکتری مورد نظر تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که عصاره گیاه آویشن بر استرپتوکوکوس سالیواریوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین اثر را داشته و قطر هاله عدم رشد ۲۰/۳۳ اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین این عصاره‌ها بر روی باکتری یرسینیا هیچ اثری نداشتند. برای اثر متقابل آنتی‌بیوتیک در باکتری حداکثر قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و باکتری استرپتوکوکوس به‌دست آمد، اما در اثر متقابل آنتی‌بیوتیک و نیکومایسین و باکتری یرسینیا هاله‌ای تشکیل نشد. مقدار MIC مربوط به گیاه روی باکتری‌های استرپتوکوکوس سالیواریوس و شیگلا فلکسنری مقدار مشابهی را نشان داد که برابر ۰/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر بود و مقدار MIC روی باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین مقدار مؤلفه MBC برای گیاه آویشن دنايي روی باکتری یرسینیا و شیگلا برابر ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر و برای باکتری استرپتوکوکوس سالیواریوس برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: بنابراین، عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن دارای اثر بازدارندگی بوده و این عصاره بر باکتری استرپتوکوکوس اثر بیش‌تری نسبت به دو باکتری یرسینیا و شیگلا نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی

آویشن دنايي، شیگلا فلکسنری، یرسینیا انتروکولیتیکا، استرپتوکوکوس سالیواریوس.

^۱گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵.
^۲گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

نویسنده مسئول:

نعیمه دهقانی

رایانامه: N.dehghani@pnu.ac.ir

استناد به این مقاله:

یدی، رضا؛ حق‌شناس کتابی، فاطمه؛ دهقانی، نعیمه و دانش‌پژوه، حامد (۱۴۰۲). ارزیابی اثر ضد باکتریایی عصاره آویشن دنايي (*Thymus daenensis*) بر باکتری‌های استرپتوکوکوس سالیواریوس، یرسینیا انتروکولیتیکا و شیگلا فلکسنری. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۲(۴۷)، ۸۲-۷۳.

مقدمه

می‌شود. موسم گلدهی آن خردادماه تا تیرماه می‌باشد (Akbarinia et al., 2010).

این گیاه داروی بسیار خوبی برای دستگاه تنفسی و بیماری‌هایی از قبیل زکام، برونشیت، آسموگریپ است. هم‌چنین این گیاه داروی خوبی برای معده می‌باشد و ناراحتی‌های معده را از نظر هضم، نفخ به طور کلی برطرف می‌کند (Omid Beigi, 1997). خواص ضد باکتریایی ضد قارچی و ضد انگلی اسانس آویشن موجب شده است که این گیاه از قرن ۱۶ رسماً به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی شود (Omid Beigi, 1997).

گونه‌های آویشن از گل‌های دارویی بسیار مهمی هستند که به‌طور فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند. اسانس گل و برگ آویشن دارای اثر ضد اسپاسم ضد نفخ ضد روماتیسم ضد سیاتیک و ضد عفونی کننده قوی است. در داروسازی برای تهیه دهان شویه و شربت‌های سرفه به کار می‌رود (Omid Beigi, 1997).

انتروباکتریاسه گروه بزرگ و ناهمگونی از باسیل‌های گرم منفی می‌باشند که محل طبیعی زندگی آن‌ها روده انسان و حیوانات است. این خانواده از جنس‌های زیادی تشکیل شده است (مانند اشرشیاکالی، شیگلا، سالمونلا، انتروباکتر، کلبسیلا، سراسیا، پروتئوس و غیره) و به‌همراه استافیلوکوک و استرپتوکوک از شایع‌ترین عوامل ایجاد بیماری محسوب می‌شوند. شیگلاها ارگانیزم‌های گرم منفی میله‌ای نازک و دراز هستند. در محیط کشت‌های جوان، شکل‌های کوباسیلاری ایجاد می‌کنند (Jawets, 2014). شیگلاها بی‌هوازی‌های اختیاری هستند، اما در شرایط هوازی بهتر رشد می‌کنند. کولونی‌های محدب، حلقوی و شفاف با حاشیه‌های صاف دارند که طی ۲۴ ساعت، قطرشان به حدود ۲ میلی‌متر می‌رسد (Jawets, 2014). عفونت‌های شیگلایی تقریباً همیشه محدود به دستگاه گوارشی هستند. تهاجم به جریان خون به‌ندرت وجود دارد. شیگلا به شدت آلوده کننده است (Jawets, 2014).

یرسینیا انتروکولیتیکا (*Yersinia enterocolitica*) یک باکتری گرم منفی، فاقد اسپور، سرماگرا و متحرک می‌باشد (هنیفیان و خانی و ۲۰۱۲). این باکتری در دامنه حرارتی ۴ تا ۴۵ درجه سلیسیوس رشد می‌کند. میزان عفونت‌های ناشی از یرسینیا در سال‌های اخیر رو به افزایش است و این باکتری از نیمه دوم دهه هفتاد به دفعات از اختلالات گوارشی انسان جدا شده است (Bonardi et al., 2013).

امروزه با توجه به مقاومت روزافزونی که باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان نیز به‌عنوان ترکیباتی ضد میکروبی که اثرهای کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماریزا دارند بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است (Ranjbar et al., 2019). بنابراین پژوهش‌گران در پی تولید مواد با خصوصیات ضد میکروبی از منابع طبیعی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند (Safarpour Dehkordi et al., 2017).

باکتری‌ها به فراوانی در محیط‌های مختلف طبیعت یافت می‌شوند و می‌توانند غذاهای گوناگون را آلوده کنند. اسانس‌های گیاهی و اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها از مهم‌ترین نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشند که اثرات ضد میکروبی آن‌ها سال‌هاست که کاملاً شناخته شده است، اما در شرایط اقلیمی متفاوت و با توجه به گونه‌های گیاهی موجود در آن منطقه میزان و ترکیبات اسانس موجود در آن‌ها متفاوت بوده که نیاز به مطالعه و بررسی دارند. بررسی اثرات ضد میکروبی ترکیبات تشکیل‌دهنده گیاهان دارویی از قبیل اسانس‌ها و استفاده هرچه بیش‌تر از آن‌ها به‌عنوان نگهدارنده طبیعی می‌تواند بسیار مؤثر واقع شده و از طرفی عوارض ناشی از مواد شیمیایی را کاهش داده و خواص ضد باکتریایی قابل توجهی داشته باشد. پژوهش‌های متعددی در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس گیاهان مختلف روی برخی از باکتری‌های پاتوژن از جمله باکتری‌های اشرشیاکالی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی‌موریوم، لاکتوباسیل رامنوز، اکتینومیسس ویسکوز، استرپتوکوک موتان صورت گرفته است. عصاره آویشن به‌عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی دارای اثرات چشم‌گیری روی سویه‌های اشرشیاکالی انتروهموراژیک می‌باشد (Goudarzi et al., 2006).

لذا شناسایی نوع گیاه دارویی و اسانس و عصاره آن‌ها که بتواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد بسیار مهم بوده و باید در اولویت کارهای پژوهشی در این زمینه قرار گیرد.

آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) گیاهی است متعلق به خانواده نعناعیان با ساقه کوتاه که در پایین کاملاً چوبی است. ارتفاع ساقه گل‌دهنده حداکثر ۳۰ سانتی‌متر است. طول برگ از ۵/۹ تا ۱۶ و عرض برگ از ۴ تا ۴/۲ میلی‌متر متغیر است. برگ‌ها ممکن است به‌صورت همپوش یا کوتاه‌تر از میان‌گروه‌ها باشند (Rechinger et al., 1982). این گیاه از طریق قلمه و بذر تکثیر

بهره‌گیری از داروهای گیاهی به‌عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها برای بررسی اثرات ضد باکتریایی آن بسیار مهم می‌باشد. بنابراین، با توجه به این که گیاه آویشن دنايي بومی ایران بوده و عصاره‌گیری از آن امکان‌پذیر بوده و در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، با توجه به خطرات کم گزارش شده از گیاه دارویی فوق در این تحقیق اثرات ضد میکروبی گیاه آویشن دنايي بر باکتری‌های *شیگلا فلکسنری*، *یرسینیا اتروکولیتیکا* و *استرپتوکوکوس سالیواریوس* مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌شناسی پژوهش

در این مطالعه تجربی، گیاه آویشن دنايي از هر بار یوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران جمع‌آوری و عصاره گیاه به روش خیساندن (ماسراسیون) تهیه گردید. سوبه‌های استاندارد باکتری‌های *شیگلا فلکسنری* (PTCC 1234) و *یرسینیا اتروکولیتیکا* (PTCC 1480) و *استرپتوکوکوس سالیواریوس* (PTCC1448) از سازمان استاندارد پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شده و اثرات ضد میکروبی این گیاه در رقت‌های ۰/۶۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از روش انتشار در دیسک بر روی باکتری‌های *شیگلا فلکسنری*، *یرسینیا اتروکولیتیکا* و *استرپتوکوکوس سالیواریوس* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، جنتامایسین، تتراسایکلین و ونکومایسین تعیین و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. هر سوبه باکتری پس از تعیین هویت نهایی توسط آزمایش‌های میکروبی به روش انتشار در آگار تعیین حساسیت دارویی شد. جهت انجام آزمایش‌های حساسیتی و رسیدن باکتری به تعداد استاندارد و فاز رشد لگاریتمی از سه سوبه فوق سوسپانسیون باکتریایی تهیه و سپس از هر روی محیط جامد کشت داده شد تا تعداد باکتری‌های زنده و فعال در هر میلی‌متر از سوسپانسیون مشخص گردد (برای انجام این آزمایش به دو محیط کشت مولر هیتتون براث و مولر هیتتون آگار نیاز است). پس از مقایسه نمونه‌های سوسپانسیون میکروبی مورد نظر با کدورت معادل نیم مک‌فارلند و انتقال آن توسط سوآپ بر روی پلتهای حاوی محیط کشت مولر هیتتون آگار دیسک کاغذی بلانک را که آغشته به عصاره‌های هیدروالکلی مطرح شده می‌باشد قرار داده شد و سپس در محیط انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند (Gradwohl, 1948).

آزمایش دوم نیز به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش اثر چهار

فونت یرسینیوزی اغلب به صورت گاستروانتریت بروز کرده و شدت عفونت وابسته به سوبه، مقدار میکروب، عوامل ژنتیکی، سن و سلامت میزبان می‌باشد (Rahimi et al., 2014; Rolec et al., 2015).

یرسینیا اتروکولیتیکا می‌تواند یک انتروتوکسین مقاوم به گرما تولید کند اما هنوز نقش این سم در ایجاد اسهال مرتبط با عفونت به خوبی مشخص نشده است. استرپتوکوک‌ها باکتری‌های گرم مثبتی هستند که در هنگام رشد به صورت دوتایی یا زنجیره‌ای قرار می‌گیرند. این باکتری‌ها به طور گسترده‌ای در طبیعت پخش شده‌اند. بعضی از آن‌ها جزو فلور طبیعی بدن انسان محسوب می‌شوند. بقیه آن‌ها بیماری‌های مهمی را در انسان ایجاد می‌کنند. *استرپتوکوک‌های سالیواریس* شایع‌ترین فلور طبیعی دستگاه تنفس فوقانی هستند و نقش مهمی در وضعیت سلامت لایه مخاطی آنجا دارند. آن‌ها به دنبال تروما می‌توانند به جریان خون راه یابند و علت اصلی اندوکاردیت در بیماران دارای دریچه قلبی ناسالم محسوب می‌شوند (Jawets, 2014).

عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم را در خوراک کنترل نمایند (Tajkarimi et al., 2010). امروزه، با تمایل بشر برای تولید محصولات ارگانیک اهمیت شناخت علمی این مواد دو چندان شده است (Burt, 2004) و مطالعات مختلفی در رابطه با اثر میکروبی اسانس‌های مختلف از جمله زنیان، مرزنجوش، آویشن، مرزه و دارچین روی برخی از باکتری‌های مهم مواد غذایی صورت گرفته است.

Khosravipour & Rezaeian-Doloei (2015) اثر فعالیت ضد باکتریایی اسانس زنیان را بر باکتری ایکولای تأیید نمودند. در مطالعه‌ای که توسط Mahboubi & Feizabadi (2009) انجام شد اثر ضد میکروبی اسانس‌های مرزنجوش، آویشن و مرزه اثبات گردید. مطالعه‌ای که توسط Javan (2016) درباره اثر اسانس‌های زنیان و آویشن شیرازی به‌تنهایی و یا ترکیبی بر برخی باکتری‌های آلوده‌کننده مواد غذایی صورت پذیرفت اثر مثبت آن‌ها ثابت و میزان MIC اسانس زنیان در برابر باکتری‌های *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیپیموریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین گردید. هم‌چنین نشان داده شد که دارچین و آویشن می‌توانند مانع رشد باکتری *سالمونلا انتریتیدیس* در مواد غذایی شوند (Javan, 2016).

میانگین اثر ساده آنتی‌بیوتیک بر قطر هاله عدم رشد نشان می‌دهد که بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد با به‌کاربردن تتراسایکلین (۲۳ میلی‌متر) به‌دست آمد. کم‌ترین قطر هاله عدم رشد با افزودن آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حاصل شد که برابر ۱۳ میلی‌متر بود. همچنین، این مؤلفه تحت اثر کاربرد دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و جنتامایسین به‌ترتیب برابر ۲۰/۷۸ و ۱۴/۱۱ میلی‌متر بود. هاله عدم رشد برای دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و ونکومایسین در یک سطح آماری قرار گرفت (شکل ۱).

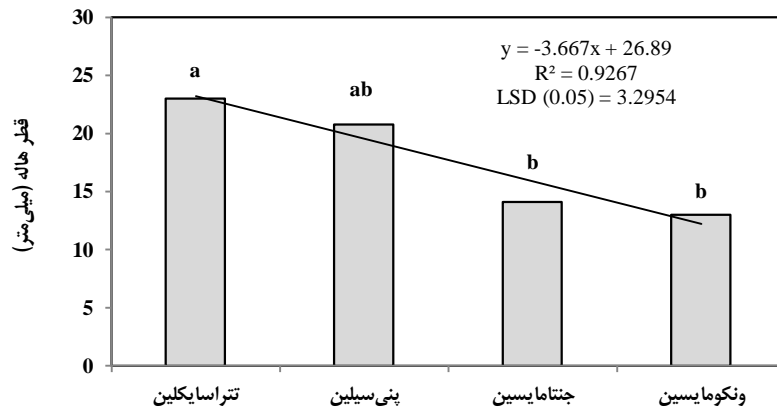
مقایسه میانگین اثر بر قطر هاله عدم رشد باکتری نشان داد که بیش‌ترین مقدار این مؤلفه (۲۱/۸۳ میلی‌متر) برای باکتری استرپتوکوکوس به‌دست آمد. که از نظر آماری با قطر هاله عدم رشد باکتری شیگلا (۱۹/۵۸ میلی‌متر) برابر بود. کم‌ترین قطر هاله عدم رشد (۱۱/۷۵ میلی‌متر) برای باکتری یرسینیا مشاهده شد که در مقایسه با باکتری استرپتوکوکوس و شیگلا به‌ترتیب ۴۶/۱۸ و ۳۹/۹۹ درصد کم‌تر بود (شکل ۲).

آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، پنی‌سیلین، جنتامایسین و ونکومایسین بر سه باکتری شیگلا فلکسنری، یرسینیا انتروکولیتیکا و استرپتوکوکوس سالیواریوس بررسی شد. همچنین با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها علیه سه باکتری موردنظر تعیین گردید.

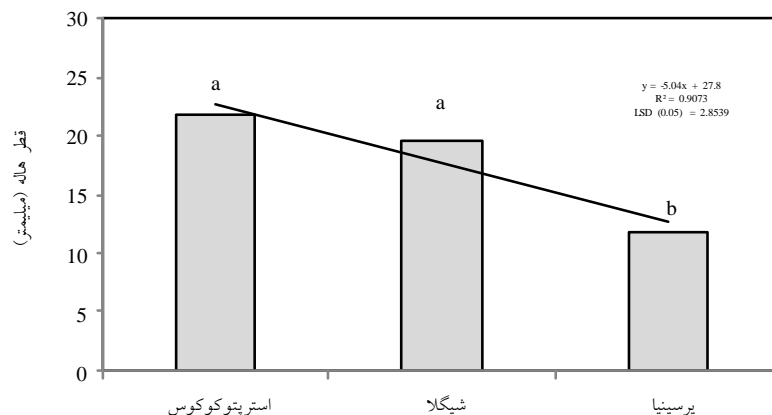
داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت (Soltani Nejad *et al.*, 2010). مقایسه میانگین براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و رسم جدول‌ها و نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

یافته‌های پژوهش

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشاهده می‌شود که قطر هاله عدم رشد تحت اثر ساده آنتی‌بیوتیک و باکتری در سطح احتمال یک درصد اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد. مقایسه

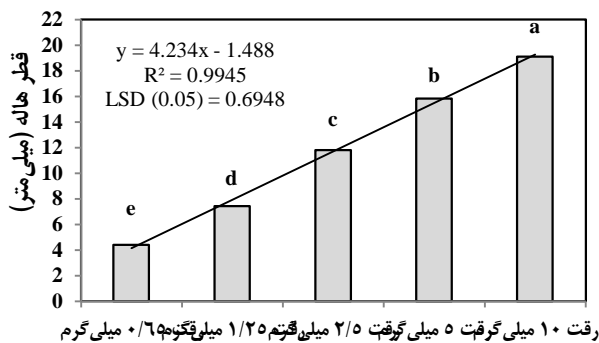


شکل ۱. مقایسه میانگین اثر آنتی‌بیوتیک بر قطر هاله عدم رشد



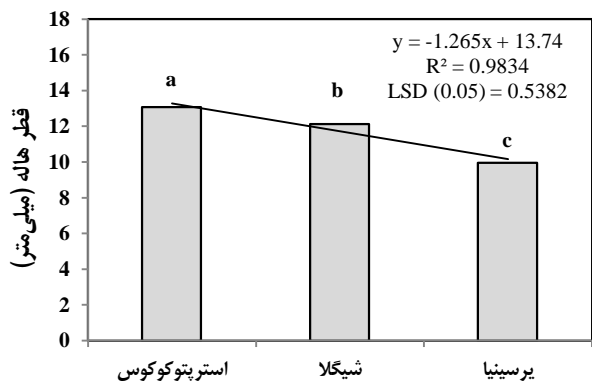
شکل ۲. مقایسه میانگین اثر باکتری بر قطر هاله عدم رشد

احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری را نشان داد. در پژوهش حاضر قطر هاله عدم رشد تشکیل شده برای گیاه آویشن برابر ۱۲/۳۳ میلی متر بود. مقایسه میانگین اثر ساده رقت عصاره نیز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد روند افزایشی داشت که بیشترین قطر هاله عدم رشد (۱۹/۱ میلی متر) برای رقت ۱۰ میلی گرم به دست آمد. کمترین قطر هاله عدم رشد در رقت ۰/۶۵ میلی گرم (۲/۳۶ میلی متر) مشاهده شد. هم چنین این مؤلفه برای رقت های ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میلی گرم به ترتیب برابر ۶/۹۷، ۱۱/۸۱ و ۱۵/۸۳ میلی متر بود (شکل ۴).



رقت ۱۰ میلی گرفت ۵ میلی گرفت ۲/۵ میلی گرفت ۱/۲۵ میلی گرفت ۰/۶۵ میلی گرم
شکل ۴. مقایسه میانگین اثر رقت عصاره بر قطر هاله عدم رشد

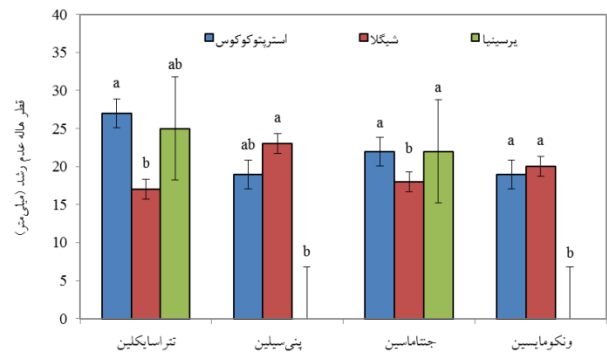
مقایسه میانگین اثر ساده برای باکتری نیز نشان داد قطر هاله عدم رشد در باکتری یوسینیا حداقل (۹/۸۵ میلی متر) و در باکتری استرپتوکوکوس حداکثر (۱۲/۳۸ میلی متر) بود. این پارامتر برای باکتری شیگلا برابر ۱۱/۴ میلی متر به دست آمد (شکل ۵).



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر باکتری بر قطر هاله عدم رشد

مقایسه اثر نوع گیاه بر حداقل غلظت بازدارندگی باکتری (MIC) مربوط به گیاه آویشن دناپی روی باکتری استرپتوکوکوس و شیگلا مقدار مشابهی را نشان داد که برابر ۰/۶۵ میلی گرم بر

مقایسه میانگین اثر متقابل دو گانه آنتی بیوتیک و باکتری نشان داد که حداکثر قطر هاله عدم رشد برای آنتی بیوتیک تتراسایکلین و باکتری استرپتوکوکوس به دست آمده که برابر ۲۷ میلی متر بود. هم چنین، اثر متقابل آنتی بیوتیک تتراسایکلین و باکتری یوسینیا با تشکیل ۲۵ میلی متر قطر هاله عدم رشد در رتبه دوم قرار گرفت. در اثر متقابل باکتری ونکومایسین و باکتری یوسینیا قطر هاله عدم رشد برابر صفر بود، یعنی هاله ای تشکیل نشد (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین آنتی بیوتیک × باکتری بر قطر هاله عدم رشد بر اساس برش دهی اثر متقابل

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر آنتی بیوتیک و باکتری بر قطر هاله عدم رشد

منابع تغییرات (S.O.V.)	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	آزمون F	سطوح معنی داری (Sig)
آنتی بیوتیک (A)	۳	۶۵۲/۷۸	۲۱۷/۵۹	۱۸/۹۷	**
باکتری (B)	۲	۶۷۲/۳۹	۳۳۶/۱۹	۲۹/۳۱	**
A×B	۶	۱۲۱۶/۷۲	۲۰۲/۷۹	۱۷/۶۸	**
خطا	۲۵	۲۷۵/۳۳	۱۱/۴۷		
کل	۳۵	۲۸۱۷/۲۲			
ضریب تغییرات (%)					
					۱۹/۱۱
					۰/۹۰۲۲۶۸
					۳/۳۹
					۱۷/۷۲

** و ***: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان می دهد که قطر هاله عدم رشد از نظر آماری تحت اثر ساده رقت عصاره و باکتری و اثر متقابل باکتری × رقت عصاره در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. هم چنین برای اثر متقابل نوع گیاه × رقت عصاره در سطح

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که اثر ساده آنتی‌بیوتیک و باکتری به‌همراه اثر متقابل آن‌ها بر قطر هاله عدم رشد معنی‌دار شد. برای اثر گیاه، رقت عصاره و باکتری نیز قطر هاله عدم رشد در سطح یک درصد معنی‌دار شد. با افزایش غلظت عصاره قطر هاله عدم رشد روند افزایشی داشت. برای اثر باکتری نیز حداکثر و حداقل قطر هاله عدم رشد، به ترتیب در باکتری استرپتوکوکوس و یرسینیا مشاهده شد. مقدار MIC مربوط به گیاه آویشن دناپی برای باکتری یرسینیا برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و گیاه موردنظر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس و شیگلا برابر ۰/۶۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. مقدار مؤلفه MBC برای گیاه آویشن دناپی تحت باکتری یرسینیا و شیگلا برابر ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد و برای باکتری استرپتوکوکوس برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. برای اثر متقابل آنتی‌بیوتیک × باکتری حداکثر قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و باکتری استرپتوکوکوس به‌دست آمد، اما در اثر متقابل آنتی‌بیوتیک ونکومايسين و باکتری یرسینیا هاله‌ای تشکیل نشد.

در تأیید نتایج مطالعه حاضر، مطالعات نشان داده‌اند که عصاره آویشن عموماً از دو ترکیب مهم تیمول و کارواکرول که اثرات ضد میکروبی زیادی دارند تشکیل شده است (Kowalczyk *et al.*, 2017; Mahboubi *et al.*, 2020). مهم‌ترین ترکیبات ضدباکتریایی موجود در آویشن باغی تیمول (۱۰-۶۴ درصد)، گاما تریپین (۲-۳۱ درصد)، کارواکرول (۲-۱۱ درصد) می‌باشند (Burt, 2004). هم‌چنین Miladi *et al.* (2013) میزان تیمول، سایمن و گاما تریپین موجود در آویشن باغی را به ترتیب ۳۳/۴۱، ۱۸/۰۸ و ۱۲/۱۳ درصد گزارش کردند.

نتایج به‌دست آمده توسط Zahrai Salehi *et al.* (2013) نشان دهنده تأثیرات خوب اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیکه می‌باشد. نتایج این پژوهش با نتایج به‌دست آمده توسط Karaman *et al.* (2001) که اثرات ضد میکروبی برخی از گیاهان خانواده Labiatae از قبیل *Thymus revolutus* را بر روی برخی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی از جمله استافیلوکوک طلائی، لسیتیریا منو سیتوزنز، اشرشیاکلای و پزودوموناس بررسی نموده همخوانی دارد. هم‌چنین نتایج مشابهی توسط Rasouli (2002) در مطالعه اثر اسانس برخی دیگر از گیاهان خانواده Labiatae همانند

لیتر بود و MIC برای باکتری یرسینیا برابر ۱/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۲).

جدول ۲. اثر عصاره هیدروالکلی آویشن دناپی بر حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC)

غلظت باکتری	۰/۶۵	۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰	MIC
استرپتوکوکوس سالیواریوس	+	+	+	+	+	۰/۶۵
شیگلا فلکسنری	+	+	+	+	+	۰/۶۵
یرسینیا اتروکولیتیکا	-	+	+	+	+	۱/۲۵

علامت منفی (-) نشان‌دهنده عدم رشد باکتری در رقت موردنظر و علامت (+) نشان‌دهنده رشد باکتری در رقت موردنظر می‌باشد.

هم‌چنین مقایسه اثر گیاه بر حداقل غلظت کشندگی سه باکتری نشان داد که MBC مربوط به گیاه آویشن دناپی تحت اثر هر سه باکتری برابر ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳. اثر عصاره هیدروالکلی آویشن دناپی بر حداقل غلظت کشندگی (MBC)

غلظت باکتری	۰/۶۵	۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰	MBC
استرپتوکوکوس سالیواریوس	-	+	+	+	+	۱/۲۵
شیگلا فلکسنری	-	+	+	+	+	۱/۲۵
یرسینیا اتروکولیتیکا	-	-	+	+	+	۲/۵

علامت منفی (-) نشان‌دهنده عدم رشد باکتری در رقت موردنظر و علامت (+) نشان‌دهنده رشد باکتری در رقت موردنظر می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه درخصوص اثرات بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی و اسانس‌های گیاهی مطالعات زیادی صورت می‌گیرد که نشان‌دهنده تمایل جامعه به مصرف داروهای با منشأ گیاهی می‌باشد. مصرف گیاهان به‌منظور درمان بیماری‌ها سابقه‌ای به قدمت عمر انسان دارد. در سال‌های اخیر کاربرد گیاهان دارویی با توجه به عوارض و هزینه کم‌تر و سازگاری بیماران به این داروها افزایش یافته است. در ایران هزاران گونه گیاهی می‌روید که اغلب این گیاهان می‌توانند دارای اثرات دارویی باشند. این مسئله سبب می‌گردد تا بررسی دقیق‌تری در مورد اثرات درمانی و بی‌خطر بودن مصرف گیاهان دارویی انجام شود. در این میان ایجاد مقاومت میکروبی روزافزون نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های موجود سبب می‌گردد در جهت یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید، گیاهان مورد بررسی قرار گیرند.

نشان می‌دهد. اگرچه داروهای گروه فلوروکینولون‌ها، کاربانپم‌ها و سفالسپورین‌های نسل سوم اثر بسیار خوبی روی این ارگانسیم داشته و در درمان عفونت‌های ناشی از شیگلا مورد استفاده قرار می‌گیرند.

در مطالعه‌ای که توسط Corrêa *et al.* (2011) در برزیل انجام شد تمامی سویه‌ها نسبت به پنی‌سیلین حساس بودند، در مورد اریترومایسین و کلیندامایسین نیز به ترتیب ۱۳/۲ و ۱۶/۷ درصد مقاومت گزارش شد. در پژوهش دیگری که توسط Seo *et al.* (2010) در کره جنوبی انجام شد حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استرپتوکوک به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت که ۱۰۰ درصد موارد به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین حساس بودند. میزان ۰/۷ درصد حساسیت نسبی به سفازولین در مورد اریترومایسین و کلیندامایسین نیز به ترتیب ۲۶/۹ و ۴۲/۱ درصد مقاومت مشاهده شد. در مطالعه‌ای که توسط Castor *et al.* (2008) در چهار ناحیه از آمریکا انجام شد تمامی ایزوله‌های سویه‌های استرپتوکوک نسبت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و سفازولین حساس بودند و به ترتیب ۲۵/۶ و ۱۲/۷ درصد مقاومت به اریترومایسین و کلیندامایسین گزارش شد.

در مطالعه حاضر اثر بازدارندگی عصاره هیدرو الکلی گیاه آویشن قابل توجه بوده و این عصاره بر باکتری استرپتوکوکوس (گرم مثبت) اثر بیش تری نسبت به دو باکتری یرسینیا (گرم منفی) و شیگلا (گرم منفی) نشان داد. در تأیید این نتایج، مطالعات نشان داده است که دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در مقابل بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات شیمیایی، عوامل ضد میکروبی و حتی داروهای گیاهی حساسیت بیش تری دارند. این امر ممکن است به لیپوپلی ساکاریدها در غشای بیرونی و نیز فضای پری پلاسمیک باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که آن‌ها را ذاتاً به عوامل خارجی مقاوم می‌سازد (Masoumian & Zandi, 2017).

به طور کلی، در مطالعات انجام شده، گذشته از مکان و شرایط کشت بیش ترین میزان ترکیب ضد باکتری در آویشن باغی به تیمول مربوط می‌شود (Javan, 2016; Shahnian & Khaksar, 2013). دلیل احتمالی تفاوت در اثرات ضد میکروبی آویشن در مطالعات مختلف می‌تواند اختلاف در منطقه جغرافیایی، آب‌وهوا، پارامترهای دما، ارتفاع از سطح

Pubescens thymus روی استافیلوکوک طلائی و اشرشیاکلای به دست آمده است. نتایج به دست آمده توسط Parsaeimehr *et al.* (2010) نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای خاصیت ضدباکتریایی می‌باشد و می‌تواند در غلظت‌های پایین تر از ممانعت‌کنندگی از رشد به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مناسب برای ممانعت از تولید انترتوکسین توسط باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در صنعت غذایی استفاده می‌شود. یافته‌های Goudarzi *et al.* (2006) نشان داد که عصاره الکلی آویشن روی انتروهومورائیک اشرشیاکلای اثر مهارکنندگی دارد. در نتایج Fujita *et al.* (2005) مشاهده شد به کارگیری عصاره آویشن منجر بروز خواص سینرژیسمی ضد میکروبی تتراسایکلین می‌گردد. مطالعات Gandomi *et al.* (2009) اثر معنی دار اسانس آویشن شیرازی را بر روی رشد و اسپورزایی اسپرژیلوس فلاووس نشان داد. هم‌چنین میزان MIC و MBC در این مطالعات به ترتیب ۴۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمد. مطالعات Bagamboula *et al.* (2004) روی اسانس آویشن و ترکیبات کارواکرول و تیمول بر روی باکتری شیگلا نشان داد که این ترکیبات اثر باکتریوسیدی بر روی این باکتری دارد. Fazeli *et al.* (2007) اثر ضد میکروبی عصاره آویشن شیرازی و سماق را بر ضدباکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلای، پروتئوس ولگاریس و شیگلا فلکسنری به دو روش دیسک و ول دیفیوژن بررسی کردند. MIC آویشن شیرازی علیه باکتری‌های مورد مطالعه ۰/۴ تا ۰/۸ درصد به دست آمد. در حالی که سالمونلا تیفی در غلظت ۰/۸ درصد عصاره آویشن شیرازی مقاومت نشان داد.

نتایج به دست آمده توسط Soltan Dallal *et al.* (2012) نشان داد که یرسینیا به جنتامایسین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین، کوتریموکازول و سیپروفلوکساسین حساسیت کامل نسبت به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و اریترومایسین مقاومت کامل نشان داد. مطالعات آن‌ها نشان داد که یرسینیا انتروکولیتییکا حساسیت خوبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل کوتریموکسازول، سیپروفلوکساسین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین و جنتامایسین در درمان نشان می‌دهد. آنالیز داده‌های مطالعات Peirano *et al.* (2006) نشان داد که میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری شیگلا رو به افزایش است، به گونه‌ای که این باکتری نسبت به کوتریموکسازول، تتراسایکلین و آمپی‌سیلین مقاومت بالایی

انتروکولیتیک و شیگلا فلکسنری بوده و این عصاره بر باکتری استرپتوکوکوس اثر بیش‌تری نسبت به دو باکتری یرسینیا و شیگلا نشان داد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی توسط نویسندگان وجود ندارد.

دریا، خاک، استفاده از انواع کودها و در نهایت نوع اسانس یا عصاره استفاده شده باشد. هرچند تمام مطالعات تأییدکننده اثر ضد میکروبی انواع آویشن هستند (Alimoradi *et al*, (2022).

عصاره هیدرو الکلی گیاه آویشن دارای اثر بازدارندگی قابل توجه بر باکتری‌های استرپتوکوکوس سالیواریوس، یرسینیا

References

- Akbarinia, A., Sharifi Ashoorabadi, E., & Mirza, M. A. H. D. I. (2010). Study on drug yield and essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under cultivated condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 26(2), 205-212.
- Bonardi, S., Bassi, L., Brindani, F., D'Incau, M., Barco, L., Carra, E., & Pongolini, S. (2013). Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 248-257.
- Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., & Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food microbiology*, 21(1), 33-42.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Castor, M. L., Whitney, C. G., Como-Sabetti, K., Facklam, R. R., Ferrieri, P., Bartkus, J. M., ... & Lynfield, R. (2009). Antibiotic resistance patterns in invasive group B streptococcal isolates. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 2008.
- Corrêa, A. B. D. A., Silva, L. G. D., Pinto, T. D. C. A., Oliveira, I. C. M. D., Fernandes, F. G., Costa, N. S. D., ... & Benchetrit, L. C. (2011). The genetic diversity and phenotypic characterisation of *Streptococcus agalactiae* isolates from Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106, 1002-1006.
- Dakhili, M., Zahraei Salehi, T., Torabi Goodarzi, M., & Khavari, A. (2006). Evaluation of antimicrobial effects of 4 medicinal plants against *Salmonella typhimurium* and comparison them with common antibiotics in veterinary medicine. *Journal of Medicinal Plants*, 5(20), 21-26.
- Fazeli, M. R., Amin, G., Attari, M. M. A., Ashtiani, H., Jamalifar, H., & Samadi, N. (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food control*, 18(6), 646-649.
- Fujita, M., Shiota, S., Kuroda, T., Hatano, T., Yoshida, T., Mizushima, T., & Tsuchiya, T. (2005). Remarkable synergies between baicalein and tetracycline, and baicalein and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and immunology*, 49(4), 391-396.
- Gandomi, H., Misaghi, A., Basti, A. A., Bokaei, S., Khosravi, A., Abbasifar, A., & Javan, A. J. (2009). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. *Food and chemical toxicology*, 47(10), 2397-2400.
- Goudarzi, M., Sattari, M., Najar piraie, S., Goudarzi, G., & Bigdeli, M. (2006). Antibacterial effects of aqueous and alcoholic extracts of Thyme on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Yafte*, 8(3), 63-69. (in Persian)
- Gradwohl, R. B. H. (1948). *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, CV Mosby Co. *St. Louis, Missouri*, 1, 574-654.
- Hanifian, S., & Khani, S. (2012). Prevalence of virulent *Yersinia enterocolitica* in bulk raw milk and retail cheese in northern-west of Iran. *Int J Food Microbiol*, 155, 85-92.
- Javan, A.J. (2016). Combinational effects of *Trachyspermum ammi* and *Zataria multiflora* Boiss essential oils on some pathogenic food-borne bacteria. *Koomesh*, 17(2).
- Jawets, A. (2014). *Medical microbiology*. Translated by H. Jahandideh., H. Jahandideh, Isfahan: Sena. (in Persian)
- Kandian, S., Sattari, M., Nikbin, V., & Aslani, M. M. (2018). Examining the pattern of antibiotic sensitivity and determining the ipaH gene in *Shigella* strains isolated from selected provinces of the country. *Madras Journal of Medical Sciences biological damage*, 14 (1), 81-88. (in Persian)
- Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., & Ilcim, A. (2001). Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of ethnopharmacology*, 76(2), 183-186.
- Khosravipour, S., & Rezaeian-Doloei, R. (2015). Antibacterial activity of *Carum copticum* essential oil against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium.
- Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., & Fecka, I. (2020). Thymol and thyme essential oil-new insights into selected therapeutic applications. *Molecules*, 25(18), 4125.
- Mahboubi, M. O., & Feizabadi, M. M. (2009). The antimicrobial activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and Eucalyptus oils on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *Journal of Medicinal Plants*, 8(30), 137-144.

- Mahboubi, M., Heidarytabar, R., Mahdizadeh, E., & Hosseini, H. (2017). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus* species and *Zataria multiflora* essential oils. *Agriculture and natural resources*, 51(5), 395-401.
- Masoumian, M., & Zandi, M. (2017). Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts against multidrug resistant bacteria. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 19(11).
- Miladi, H., Slama, R. B., Mili, D., Zouari, S., Bakhrout, A., & Ammar, E. (2013). Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens.
- Momtaz, H., Farzan, R., Rahimi, E., Safarpour Dehkordi, F., & Souod, N. (2012). Molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ruminant and donkey raw milk samples and traditional dairy products in Iran. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Omid Beigi, R. (2000). *Approaches to the production and processing of medicinal plants*. Tehran: Mosharan Nash Publications. (in Persian)
- Omidbeigi, R. (1997). *Approaches to the production and processing of medicinal plants*. Tehran: Designers Publishing House. (in Persian)
- Parsaeimehr, M., Akhondzade Basti, A., Misaghi, A., Zahraei Salehi, T., Radmehr, B., & Gandomi Nasrabadi, H. (2010). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil on Enterotoxin Production by *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *J. Med. Plants*, 9(33), 98-102. (in Persian)
- Peirano, G., Souza, F. D. S., & Rodrigues, D. D. P. (2006). Frequency of serovars and antimicrobial resistance in *Shigella* spp. from Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, 245-250.
- Rahimi, E., Sepehri, S., Safarpour, F., Shaygan, S., & Momtaz, H. (2014). Prevalence of *Yersinia* species in traditional and commercial dairy products in Isfahan province, Iran. *Jundishapur J Microbiol*, 7(4), e9249.
- Ranjbar, R., Seif, A., & Dehkordi, F. S. (2019). Prevalence of antibiotic resistance and distribution of virulence factors in the shiga toxigenic *Escherichia coli* recovered from hospital food. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 12(5).
- Ranjbar, R., Yadollahi Farsani, F., & Safarpour Dehkordi, F. (2019). Antimicrobial resistance and genotyping of *vacA*, *cagA*, and *iceA* alleles of the *Helicobacter pylori* strains isolated from traditional dairy products. *Journal of Food Safety*, 39(2), e12594.
- Rasouli, B. (1998). *Investigating the antimicrobial effects of thyme and purple spike from the mint family, sumac and pistachio tuber by in vitro method*. Master thesis of Urmia University. (in Persian)
- Rechinger, K. H., & Iranica F. (1982). Akademische Druck-U: Verlagsanstalt GRAZ, 150, 532-551.
- Safarpour Dehkordi, F., Gandomi, H., Basti, A. A., Misaghi, A., & Rahimi, E. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrobial resistance & infection control*, 6(1), 1-11.
- Seo, Y. S., Srinivasan, U., Oh, K. Y., Shin, J. H., Chae, J. D., Kim, M. Y., ... & Ki, M. (2010). Changing molecular epidemiology of group B streptococcus in Korea. *Journal of Korean medical science*, 25(6), 817-823.
- Shahnia, M., & Khaksar, R. (2013). Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(5), 949-955.
- Sheeladevi, A., & Ramanathan, N. (2012). Antibacterial activity of plant essential oils against food borne bacteria. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(5), 1106-1109.
- Soltan Dallal, M. M., Bayat, M., Yazdi, M. H., Aghaamiri, S., Ghorbanzadeh Meshkani, M., Abedi Mohtasab, T. P., & Shojaee Sadi, B. (2012). Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 17(2), 21-29.
- Soltani Nejad, S., Mokhtari, T., & Rahbarian, P. (2010). Antibacterial effect of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and methanol extract on pathogen bacteria. *J. Mic. Bio. Tech. of Azad Islamic University*, 2(5), 1-6.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218.
- Zahrai Salehi, T., Vejgani, M., Bayat, M., Tarshizi, H., & Akhundzadeh, M. (2013). Determining the minimum inhibitory concentration (MIC) of Shirazi thyme essential oil on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalatae* and *Escherichia coli* bacteria. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran*, 6(2), 110-107. (in Persian)
- Zc N, ra íc , Fi i íc I. (2015). Prac *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in/on tonsils and mandibular lymph nodes of slaughtered pigs. *Folia Microbiol*, 60: 131-135.