

ارزیابی اثر متقابل دارویی و فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

الناز صفاری سامانی¹، حسین جوینده^{2*}، بهروز علیزاده بهبهانی³

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

2- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

3- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

(تاریخ دریافت: 98/12/23 تاریخ پذیرش: 99/03/11)

چکیده

گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss یک گیاه درختچه‌ای معطر ادویه‌ای است که متعلق به خانواده نعناعیان است. در طب سنتی، از این گیاه به‌عنوان طعم‌دهنده، نگهدارنده مواد غذایی و نوشیدنی‌ها، درمان عفونت‌های دستگاه تنفسی، برطرف‌کننده نفخ و همچنین به‌عنوان داروی ضداسپاسم، ضد عفونی کننده و بی‌حس کننده استفاده می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی به‌صورت تنهایی و توأم با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد بود. جهت بررسی اثر متقابل دارویی اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل، از غلظت تحت‌مهارت استفاده شد. از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر) و چاهک آگار برای تعیین قطر هاله عدم رشد استفاده شد. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به‌ترتیب با روش‌های رقیق‌سازی در مایع و پورپلیت انجام گردید. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم منفی دارای هاله عدم رشد بزرگتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت بودند. در حالت ترکیب اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل، هاله عدم رشد به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) برای باکتری لیستریا/اینوکوا افزایش پیدا کرد. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس آویشن شیرازی برای باکتری‌های سودوموناس اثر و ژینوزا، سالمونلا تیفی موریوم، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا به‌ترتیب 0/5، 0/25، 0/5، 0/25 و 0/25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس آویشن شیرازی برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. با توجه به نتایج این تحقیق، گیاه آویشن شیرازی از پتانسیل بالایی به‌عنوان نگهدارنده در صنعت غذا علاوه بر کاربرد آن به‌منظور طعم‌دهنده غذا و استفاده در دم‌نوش برخوردار است.

کلید واژگان: آویشن شیرازی، آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل، رقیق‌سازی در مایع.

*مسئول مکاتبات: hosjooy@asnruk.ac.ir

1- مقدمه

گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss یک گونه گیاه درختچه‌ای معطر ادویه‌ای است که متعلق به خانواده نعنائیان¹ است و از نظر جغرافیایی در مناطق مرکزی و جنوبی ایران، افغانستان و پاکستان رشد می‌کند [1]. این گیاه دارویی با نام سنتی Satar یا Zatar، به‌عنوان گیاهی مؤثر و قوی برای درمان بسیاری از بیماری‌های عفونی شناخته شده است [2]. محبوبیت دیرینه گیاه آویشن شیرازی در طب سنتی ناشی از استفاده همه‌جانبه‌ی آن به‌عنوان طعم‌دهنده، نگهدارنده مواد غذایی و نوشیدنی‌ها، درمان عفونت‌های دستگاه تنفسی، برطرف کننده نفخ، داروهای ضدااسپاسم، ضد عفونی کننده و بی‌حس کننده می‌باشد. علاوه بر این فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی آن نیز به اثبات رسیده است [3]. اجزای اصلی این گیاه ترکیبات فنلی مثل تیمول² و کارواکرول³ است که تیمول نوعی فنل است و به‌عنوان ماده تثبیت‌کننده در فرآورده‌های دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد [4].

یکی از مشکلات امروزی، مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا مقاوم به داروهای شیمیایی می‌باشد. مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها، به‌دلیل استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان روز به روز افزایش یافته، به‌همین دلیل درمان بیماری‌های عفونی را مشکل و هزینه‌بر کرده و سبب تحمیل خسارت‌های مالی و جانی بسیاری شده است [5]. تلاش جهت یافتن عوامل ضد میکروبی ایمن و ارزان و همچنین توسعه آن‌ها به‌دلیل گسترش سریع میکروارگانیسم‌های عامل مسمومیت و عفونت‌ضروری است [6]. از شایع‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا می‌توان به *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیژنوزا* اشاره کرد. *اشرشیا کلی* باکتری‌میله‌ای گرم منفی است. این سویه میکروبی معمولاً بی‌آزار و محدود به مجرای روده هستند. با این حال، برخی از آن‌ها بیماری‌زا بوده و باعث بیماری روده‌ای از اسهال خفیف گرفته تا مرگ را ایجاد می‌کنند [7]. *سودوموناس آئروژینوزا* نوعی باسیل گرم منفی است که یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های

بیماری‌زای فرصت‌طلب بیمارستانی محسوب می‌شود و مقاومت آنتی‌بیوتیکی این ارگانیسم، درمان عفونت‌های ناشی از آن را بسیار دشوار کرده است و ممکن است در افراد مبتلا منجر به مرگ شود [8]. *سالمونلا* باکتری باسیل گرم منفی است. تب روده‌ای یک بیماری عفونی است که به‌طور عمده توسط این باکتری ایجاد می‌شود و در افرادی که با داروهای ضد میکروبی درمان نمی‌شوند میزان مرگ و میر بالایی را به‌دنبال دارد [9]. *استافیلوکوکوس اورئوس* کوکسی گرم مثبت می‌باشد که این باکتری عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی و جهانی محسوب می‌شود [10] و قادر است در انسان‌ها و حیوانات عفونت‌های خطرناکی را ایجاد کند و عوارض و مرگ و میر قابل توجهی را به‌همراه دارد [11]. *لیستریا مونوسیژنوزا* باکتری گرم مثبت می‌باشد که در برابر سرما، خشکی و تنش‌های اسمزی مقاوم است و می‌تواند بیماری‌هایی مانند انسفالیت و سپتی سمی را ایجاد کند [12].

از زمان‌های قدیم انسان‌ها از گیاهان دارویی جهت پیشگیری و درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند. با وجود پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه بهره‌گیری از داروهای شیمیایی، مصرف‌کنندگان همچنان تمایل زیادی به مصرف گیاهان دارویی دارند [13]. به‌طوری که طی سال‌های اخیر تقاضا جهت استفاده از گیاهان دارویی برای معالجه بیماری‌ها روند رو به رشدی داشته است [14]. به‌دلیل وجود شرایط اقلیمی و موقعیت جغرافیایی مناسب در ایران انواع مختلفی از این گیاهان دارویی می‌توانند رشد کنند [15]. در واقع گیاهان دارویی، مواد طبیعی هستند که از ماده غذایی محافظت و سلامتی انسان را تضمین می‌کنند. مطالعات بیانگر آن است که گیاهان حاوی مقادیر قابل توجهی متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌صورت پیش‌سازهای غیرفعال همانند فنول، فلاون و فلاونوئید در بافت‌های گیاهی ذخیره شده‌اند و فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند [16]. از مهم‌ترین مواد اثربخش گیاهان دارویی، اسانس‌های روغنی می‌باشند. این اسانس‌ها ترکیبات فرار و معطری هستند که از اندام‌های مختلف گیاهان دارویی استخراج می‌شوند [17]. پژوهش‌ها نشان داده است که بیشتر اسانس‌های گیاهی دارای خواص حشره‌کشی، ضدقارچی، ضدانگل، ضدباکتریایی، ضد ویروس، مهارکنندگی رادیکال آزاد و ضدسرطانی هستند و

1. Labiatae
2. Thymol
3. Carvacrol

ذخیره بر سطح محیط کشت شیب‌دار مولر هیتون آگار تلقیح انجام شد. پس از 24 ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و رشد کلنی‌ها بر سطح شیب‌دار آگار، سوسپانسیون غلیظ میکروبی با استفاده از محلول رینگر تهیه گردید و سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 625 نانومتر اندازه‌گیری شد و تا برابر شدن کدورت آن با کدورت محلول استاندارد نیم مک فارلند با استفاده از محلول رینگر رقیق شد [19].

2-2-5- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس

آویشن شیرازی

2-2-5-1- دیسک دیفیوژن (کربی_بوئر)

به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی از روش انتشار در آگار به روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید. ابتدا حدود 20 میلی‌لیتر از محیط کشت مولر هیتون آگار درون هر پتری‌دیش ریخته شد و پس از بسته شدن محیط کشت، باکتری‌های بیماری‌زای مورد پژوهش که معادل استاندارد نیم مک‌فارلند تهیه شده بودند با استفاده از میله آل شکل بر سطح مولر هیتون آگار پخش شدند. دیسک‌های کاغذی بلانک با استفاده از پنس استریل و در کنار شعله و با فاصله معین از هم و از کناره‌های پتری بر سطح محیط کشت آغشته به باکتری قرار گرفتند. در ادامه 20 میکرولیتر از اسانس استریل شده به آرامی روی هر یک از دیسک‌های بلانک ریخته شد و جهت عمل پیش انتشار به مدت 15 دقیقه در دمای یخچال قرار گرفتند. از دیسک بدون اسانس به عنوان نمونه کنترل منفی استفاده گردید. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل برای کنترل مثبت استفاده شد. پتری‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد به صورت دقیق با خط‌کش اندازه‌گیری و به صورت میلی‌متر ثبت شدند [20].

2-2-5-2- انتشار چاهک در آگار

در این روش نیز همانند روش انتشار در آگار به کمک دیسک، سوسپانسیون‌های میکروبی نیم مک‌فارلند بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت سطحی کشت داده شدند. 5 چاهک با استفاده از انتهای پی‌پت پاستور استریل درون محیط کشت ایجاد

می‌توانند به عنوان افزودنی در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند [18]. هدف از انجام این پژوهش، بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس شیرازی به صورت تنهایی و توأم با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا* بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- تهیه اسانس آویشن شیرازی

اسانس آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss از شرکت جوهره طعم مشهد (مشهد، خراسان رضوی) خریداری شد. استخراج اسانس با روش تقطیر با آب انجام شده بود.

2-2- تهیه مواد مصرفی

در این پژوهش دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (10 میکروگرم) و کلرومفنیکل (30 میکروگرم) (پادتن طب)، دیسک بلانک (پادتن طب)، تری فینیل تترازولیوم کلراید (سیگما)، دی متیل سولفوکساید (مرک آلمان) و توئین 80 (مرک آلمان) با درجه آزمایشگاهی تهیه شدند. محیط‌های کشت مولر هیتون آگار و مولر هیتون براث از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

2-3- تهیه سویه‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC 27853، *اشرشیا کلی* ATCC 25922، *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923، *لیستریا اینوکوا* ATCC 33090 و *سالمونلا تیفی* موریوم ATCC 14028 از آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شد. لازم به ذکر است به دلیل بیماری‌زا بودن سویه *لیستریا مونوسیژنوزا* در این مطالعه از سویه *لیستریا اینوکوا* استفاده گردید.

2-4- تهیه استاندارد مک فارلند

جهت فعال‌سازی هر یک از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی، 24 ساعت قبل از انجام آزمایش باکتری‌های لیوفلیزه در دمای محیط قرار گرفتند تا از حالت انجماد خارج شوند و سپس از کشت

شدند و پتری‌هایی که در آن‌ها هیچ کلنی رشد نکرد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شدند [23].

2-5-5- بررسی برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک

به‌منظور بررسی اثر ترکیبی اسانس آویشن شیرازی بر دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل از غلظت‌های تحت‌مهری (sub-MIC) استفاده گردید. محیط کشت مولر هیتون آگار با غلظت تحت‌مهری از اسانس آویشن شیرازی تهیه گردید. سپس سوسپانسیون‌های میکروبی نیم‌مک‌فارلند با استفاده از لوله ال شکل بر سطح آن به‌صورت سطحی پخش شدند. در مرحله بعد دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل بر سطح محیط کشت قرار گرفتند. محیط‌های کشت حاوی آنتی‌بیوتیک به‌مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از طی این مدت قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و به‌صورت میلی‌متر ثبت گردید [24].

2-6- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نتایج با نرم افزار SPSS³ ویرایش 20 انجام پذیرفت. از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان 95 درصد ($p \leq 0.05$) جهت تشخیص معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد.

3- نتایج و بحث

نتایج اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی به‌روش دیسک دیفیوژن و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل بر سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی‌موریوم، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا اینوکوا در جدول 1، آورده شده است. نتایج نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای اثر ضد میکروبی بالایی داشته و به‌خوبی توانست از رشد سویه‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی بر سطح محیط کشت جلوگیری به‌عمل آورد. در روش دیسک دیفیوژن بیشترین قطر هاله عدم رشد بر باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی‌موریوم با قطر هاله 40/10 میلی‌متر مشاهده شد.

گردید و ته‌چاهک‌ها با استفاده از محیط کشت آگار مذاب مسدود شدند. 20 میکرولیتر از اسانس آویشن شیرازی استریل درون چاهک‌ها ریخته شد و چاهک بدون اسانس به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. سپس به‌منظور گرمخانه‌گذاری به‌مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از 24 ساعت قطر هاله‌های عدم رشد به‌شکل دقیق با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و به‌صورت میلی‌متر گزارش شدند [21].

2-3-5- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC¹)

از روش رقیق‌سازی در مایع برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد با استفاده از میکروپلیت‌های 96 خانه بهره گرفته شد. در این روش ابتدا 100 میکرولیتر از رقت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی استریل به هر یک از خانه‌های چاهک 96 خانه اضافه شد. در مرحله بعد 10 میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی نیم‌مک‌فارلند به هر خانه اضافه گردید. چاهک‌های حاوی محیط کشت و باکتری به‌عنوان شاهد مثبت و چاهک‌های حاوی محیط کشت و اسانس به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شدند. گرمخانه‌گذاری چاهک‌های 96 خانه به‌مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انجام شد و سپس 10 میکرولیتر نمک تری‌تترازولیم کلراید با غلظت 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و به هر یک از خانه‌ها اضافه گردید و به‌مدت 30 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از طی این مدت اولین خانه‌ای که در آن هیچ باکتری رشد نکرد یعنی هیچ تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد در نظر گرفته شد [22].

2-4-5-2 تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC²)

به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی میزان 100 میکرولیتر از چاهک‌هایی که در آن‌ها هیچ گونه تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی مشاهده نشد بر محیط کشت مولر هیتون آگار به‌صورت سطحی کشت داده شد. پتری‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار به‌مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری

1. Minimum inhibitory concentration

2. Minimum bactericidal concentration

3. Statistical package for social science

شیرازی بر باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد داشت. نتایج برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل نشان داد که فقط در حالت ترکیبی بر باکتری لیستریا اینوکوا قطر هاله عدم رشد نسبت به حالت تنهایی (اسانس آویشن) افزایش پیدا کرد. در شکل 1، نمایی از تاثیر آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شده است.

کم‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری گرم مثبت لیستریا اینوکوا بود. در بیشتر پژوهش‌های انجام شده در مورد اثر اسانس و عصاره‌های گیاهی اثر ضد میکروبی بیشتری بر سویه‌های گرم مثبت مشاهده شده است اما در پژوهش حاضر باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر بودند. نتایج اثر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل بر سویه‌های میکروبی مورد بررسی نشان داد که اثر هر دو نوع آنتی‌بیوتیک نسبت به اسانس آویشن شیرازی کم‌تر بوده است. مقایسه آماری نتایج نشان داد که اثر اسانس آویشن

Table 1 The mean inhibition zone diameter (mm) of *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) and the effects of its interaction with Gentamicin and Chloramphenicol antibiotics on some pathogenic bacteria

Antimicrobial substance Microorganism	ZMEO	Gen	Chl	In (Gen + ZMEO)	In (Chl + ZMEO)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40.10 ± 0.59 ^a	15.30 ± 0.47 ^b	11.00 ± 0.28 ^c	28.40 ± 0.39 ^d	24.40 ± 0.30 ^e
<i>Salmonella typhimurium</i>	39.30 ± 0.39 ^a	14.00 ± 0.29 ^b	14.10 ± 0.76 ^b	16.00 ± 0.44 ^c	16.30 ± 0.54 ^c
<i>Escherichia coli</i>	40.00 ± 0.48 ^a	18.10 ± 0.61 ^b	22.20 ± 0.35 ^c	22.50 ± 0.69 ^c	26.60 ± 0.35 ^d
<i>Staphylococcus aureus</i>	32.70 ± 0.50 ^a	16.20 ± 0.74 ^b	18.30 ± 0.60 ^b	24.10 ± 0.48 ^c	24.00 ± 0.53 ^c
<i>Listeria innocua</i>	20.20 ± 0.20 ^a	11.50 ± 0.66 ^b	13.50 ± 0.46 ^c	26.30 ± 0.50 ^d	22.30 ± 0.16 ^e

-Values are expressed as mean ± standard deviations, n = 3; different letters (a, b, c, d and e) in each row show significant difference at $p \leq 0.05$.

-ZMEO: *Zataria multiflora* essential oil, Gen: Gentamicin, Chl: Chloramphenicol In: Interaction.



Fig 1 The inhibition zone diameter (disk diffusion agar) of Gentamicin and Chloramphenicol antibiotics on *Staphylococcus aureus*.

غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس آویشن شیرازی در جدول 2 آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس آویشن شیرازی برای باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* به ترتیب 0/5، 0/25، 0/5، 0/25 و 0/25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی اسانس آویشن شیرازی برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

Table 2 The well diffusion agar (WDA), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) on some pathogenic bacteria

Microorganism	WDA (mm)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44.10 ±0.42 ^b	0.5	2
<i>Salmonella typhimurium</i>	40.50 ±0.31 ^c	0.25	2
<i>Escherichia coli</i>	50.00 ±0.68 ^a	0.5	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	33.20 ±0.47 ^d	0.25	2
<i>Listeria innocua</i>	32.40 ±0.62 ^d	0.25	2

-Values are expressed as mean ±standard deviations, n = 3; different letters (a, b, c and d) in each column show significant difference at $p \leq 0.05$.

متوقف نمود ولی اثر ضد میکروبی آن بر باکتری‌های *سالمونلا تیفی موریوم* و *استریپتوکوکوس پیوژنز* بیشتر بود. در پژوهش حاضر نیز اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی در روش دیسک دیفیوژن با قطر هاله عدم رشد 40/10 میلی‌متر بر باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* نسبت به سایر باکتری‌ها بیشتر بود. بنابراین میتوان ذکر کرد که نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه ما همخوانی داشت. هرچند قطر هاله عدم رشد میکروبی در پژوهش ما بیشتر بود [26].

برومند و همکاران (1392)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را بر میکروارگانیسم‌های *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که اسانس بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برابر با 250ppm بیشترین تأثیر را داشته و مقادیر ذکر شده برای دو میکروارگانیسم دیگر 500 ppm گزارش شد. در مطالعه ما قطر هاله عدم رشد با باکتری‌های *سالمونلا تیفی موریوم* و *اشرشیا کلی* بیشتر از *استافیلوکوکوس اورئوس* بود [27]. زارع بیدکی و

نتایج اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی به روش انتشار در چاهک آگار در جدول 2 آورده شده است. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی در روش چاهک آگار بیشتر از روش دیسک دیفیوژن بود. نتایج نشان داد که همانند روش دیسک دیفیوژن قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار نیز برای باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* با هاله 50 میلی‌متر بیشترین بود. کم‌ترین هاله عدم رشد میکروبی در روش چاهک آگار برای باکتری گرم مثبت *لیستریا اینوکوا* با قطر هاله 32/40 مشاهده شد. نتایج حداقل

مصحفی و همکاران (1385)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را بر تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت به روش رقت آگار مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد اسانس آویشن شیرازی بر تمام سویه‌های باکتریایی مورد بررسی به‌خصوص باکتری‌های گرم منفی اثر مهاری دارد. در پژوهش ما نیز اثر اسانس آویشن شیرازی بر باکتری‌های گرم منفی نسبت به سویه‌های گرم مثبت بیشتر بود [25]. چیت‌ساز و همکاران (1386)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن را بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استریپتوکوکوس پیوژنز*، *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *سودوموناس ائروژینوزا* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌ها در محدوده‌ی 13-28 میلی‌متر بود و حداقل غلظت بازدارندگی در محدوده 225-1800 میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* با قطر هاله عدم رشد 28 میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی 225 میکروگرم بر میلی‌لیتر از حساسیت بیشتری نسبت به سایر باکتری‌ها برخوردار بود. اسانس رشد همه‌ی باکتری‌های مورد پژوهش را

باسیلوس سرئوس مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد حداقل غلظت بازدارنده اسانس آویشن شیرازی در محدوده $0/39$ تا $1/56$ میلی گرم بر میلی لیتر بود. باکتری استافیلوکوکوساوریوس با حداقل غلظت بازدارنده برابر $0/39$ میلی گرم بر میلی لیتر حساس ترین و باکتری های استرپتوکوکوس پیوژنز و پروتئوسمیرابیلوس با حداقل غلظت بازدارنده برابر $1/56$ مقاوم ترین باکتری ها بودند. در مطالعه ما نیز حداقل غلظت مهارکنندگی برای تمامی سویه های میکروبی در رنج $0/25$ تا $0/5$ میلی گرم بر میلی لیتر بود [6].

ساعی دهکردی و همکاران (2010)، فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی جمع آوری شده از بخش های مختلف ایران را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که باکتری اشرشیا کلی با حداقل غلظت بازدارندگی 16 میلی گرم بر میلی لیتر مقاوم ترین و مخمر کاندیدا آلیکانس با حداقل غلظت بازدارندگی $0/062$ میلی گرم بر میلی لیتر حساس ترین ارگانسیم بود و باکتری های گرم مثبت از حساسیت متوسط برخوردار بودند [3]. وارگا و همکاران (2015)، اثر ضد میکروبی گونه های مختلف اسانس آویشن را به روش دیسک دیفیوژن بر باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا اینوکوا، استرپتوکوکوس پیوژنز مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد همه گونه های آویشن باعث توقف رشد باکتری های فوق شدند. مقایسه نتایج این محققین با یافته های مطالعه حاضر مطابقت داشت [32]. آوایی و همکاران (2015)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را باسیلوس سرئوس با حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی به ترتیب 50 و 200 میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به دو گونه باکتریایی سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس ولگاریس مقاوم تر بود. باکتری باسیلوس سرئوس از نظر دیواره سلولی باکتری گرم مثبت است. در مطالعه ما نیز باکتری های گرم مثبت از مقاومت بالاتری نسبت به باکتری های گرم منفی برخوردار بودند [1]. محبوبی و همکاران (2017)، فعالیت ضد میکروبی گونه های مختلف اسانس آویشن و آویشن شیرازی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که سودوموناس آئروژینوزا از حساسیت بیشتری نسبت به دو میکروارگانسیم دیگر برخوردار بود. میزان حساسیت اشرشیا کلیو استافیلوکوکوس اورئوس

همکاران (1394)، اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی را بر اشرشیا کلی، باسیلوس سرئوس، کلبسیلا نومونیا، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا فلکسنری، سالمونلا انتریکا انتریتیدیس و سالمونلا تیغی موربوم مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد اسانس آویشن شیرازی در غلظت $0/025$ درصد بر باکتری باسیلوس سرئوس بیشترین تأثیر مهارکنندگی و در غلظت $0/156$ درصد بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا کمترین اثر مهارکنندگی را داشته است. از نظر حداقل غلظت کشندگی بین باکتری های مورد پژوهش تفاوت معنی داری وجود نداشت. مقایسه نتایج این پژوهشگران با یافته های مطالعه حاضر نشان داد که در مطالعه ما نیز حداقل غلظت کشندگی برای تمامی سویه های میکروبی برابر بوده و اختلافی بین نتایج مشاهده نشد. با توجه به این که اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره های گیاهی محدود به یک مکانیسم و صرفاً تأثیر بر دیواره سلولی نمی باشد شاید بتوان دلیل این امر را توجه نمود. عصاره ها و اسانس های گیاهی از طریق مکانیسم های مختلفی همانند تأثیر بر دیواره سلولی، ممانعت از ساخته شدن پروتئین ها، ممانعت از عملکرد غشا سیتوپلاسمی و ... می توانند از رشد میکروارگانسیم ها جلوگیری به عمل آورند. در اکثر پژوهش های انجام شده اثر بر دیواره سلولی باکتری ها و اختلاف در نوع دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی دلیل اصلی برای بیشتر بودن اثر ضد میکروبی عصاره و اسانس ها بر باکتری های گرم مثبت ذکر شده است [28-30]. احمدی و همکاران (1395)، تأثیر ترکیبات فنلی را بر فعالیت آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره آویشن شیرازی علیه استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله عدم رشد در هر دو روش چاهک گذاری و انتشار دیسک به ترتیب 32 و 22 میلی متر و در مورد اشرشیا کلی به ترتیب 23 و 16 میلی متر بود. مقایسه نتایج این پژوهشگران با یافته های مطالعه حاضر نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تقریباً مشابه بوده است اما برای باکتری اشرشیا کلی متفاوت بود [31]. امین و همکاران (2010)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، پروتئوس میرابیلوس، استرپتوکوکوس پنومونیه، اشرشیا کلی و

دمنوش‌ها، به‌نظر می‌رسد می‌توان از پتانسیل بالقوه این گیاه در صنعت غذا به‌عنوان نگهدارنده استفاده کرد.

5- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

6- منابع

- [1] Avaei, A., Mohamadi Sani, A., & Mahmoodzadeh Vaziri, B. 2015. Chemical composition and antimicrobial effect of the essential oil of *Zataria multiflora* Boiss endemic in Khorasan-Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 5(3), 181-185.
- [2] Mahboubi, M., HeidaryTabar, R., & Mahdizadeh, E. 2017. The anti-dermatophyte activity of *Zataria multiflora* essential oils. *Journal de Mycologie Medicale*. 27(2), 1-6.
- [3] Saei-Dehkordi, S.S., Tajik, H., Moradi, M., & Khalighi-Sigaroodi, F. 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*. 48(6), 1562-1567.
- [4] Ziaee, E., Razmjooei, M., Shad, E., & Eskandari, M.H. 2018. Antibacterial mechanisms of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil against *Lactobacilluscurvatus*. *Food Science and Technology*. 87, 1-39.
- [5] TabatabaeiYazdi, F., AlizadehBehbahani, B., HeidariSureshjani, M., & Mortazavi, S.A. 2014. The In vitro study of antimicrobial effect of *Teucriumpolium* extract on infectious microorganisms. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*. 21(1), 16-24. [full text in Persian]
- [6] Amin, M., Kalantar, E., Mohammad-Saeid, N., & Ahsan, B. 2010. Antibacterial effect and physicochemical properties of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3(6), 439-442.

براساس نوع اسانس آویشن متفاوت بود. در مطالعه ما نیز حساسیت اسانس آویشن شیرازی بر باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت بود [33]. ضیایی و همکاران (2018)، اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن شیرازی را بر *لاکتوباسیلوس کورواتوس* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس بر باکتری *لاکتوباسیلوس کورواتوس* با قطر هاله‌ی عدم رشد برابر با 26/8 میلی‌متر، حداقل غلظت مهارکنندگی برابر با 6/6 میکرولیتر بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برابر با 9/10 میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود [4]. موجدر لنگرودی و همکاران (2019)، فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بر *سالمونلا تیفی‌موریوم* با حداقل غلظت مهارکنندگی 0/625 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشتر از لیستریا *مونوسیژنوز* با حداقل غلظت مهارکنندگی 1/25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت داشت [34]. الصراف و همکاران (2020)، اثر ضد میکروبی اسانس آویشن عمانی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج اثر ضد میکروبی اسانس آویشن با استفاده از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که باکتری *اشرشیا کلی* نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از حساسیت بیشتری برخوردار بود و اثر ضد میکروبی اسانس آویشن از آمپی‌سیلین دارویی استاندارد بر باکتری‌های مذکور بهتر بود. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های ما مطابقت داشت [35].

4- نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس آویشن شیرازی به‌خوبی توانست از رشد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا جلوگیری کند. قطر هاله عدم رشد میکروبی برای باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشرشیا کلی*) نسبت به باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و لیستریا *اینوکولا*) بیشتر بود. در حالت ترکیبی اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل قطر هاله عدم رشد برای باکتری لیستریا *اینوکولا* افزایش یافت. با توجه به مصرف سنتی آویشن شیرازی به‌عنوان طعم دهنده و همچنین

- activities of *Satureja hortensis* L. essential oil against some food born pathogenic and spoilagemicroorganism. Journal of Food Science and Technology. 15(85), 393-405. [full text in Persian]
- [16] Zarali, M., Hojjati, M., Tahmouzi Didehban, S., Jooynadeh, H. 2016. Evaluation of chemical composition and antibacterial activities of *Echinophora cinerea* Boiss and *Stachys lavandulifolia* Vahl essential oils in vitro. Journal of Food Science and Technology. 13(52), 1-12. [full text in Persian]
- [17] Rasouli, M., Mahmoudi, R., & Kazeminia, M. 2016. A review on the effect of medicinal plant essences on the performance of probiotic bacteria. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 26(144), 411-423. [full text in Persian]
- [18] Seow, Y.X., Yeo, C.R., Chung, H.L., & Yuk, H-G. 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 54(5), 625-644.
- [19] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, A., Zendeboodi, F., Gholian, M.M., & Vasiee, A., 2013. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". Journal of Paramedical Sciences. 4(3), 89-99.
- [20] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A. R., Mortazavi, S. A., & Shahidi, F. 2018. Evaluation antioxidant activity, phytochemical constituents and antimicrobial of *Mentha Piperita* essential oil on some infectious and poisonous microorganisms. Journal of Food Science and Technology. 15(76), 67-76. [full text in Persian]
- [21] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh behbahani, B., & Noshad, M. 2019. In vitro determination of chemical compounds and antibacterial activity of Lavandula Essential oil against some pathogenic microorganisms. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. 27(4), 77-89. [full text in Persian]
- [22] Noshad, M., Hojjati, M., & Alizadeh Behbahani, B. 2018. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic
- [7] Gupta, S.K., & Sharma, A. 2015. Dynamic properties of *Escherichia coli*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(7), 296-307.
- [8] Motaghi, B., & Najafipour, S. 2016. Outer membrane protein D gene in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and its in antibiotic resistance. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 5(4), 501-507. [full text in Persian]
- [9] Thanh, D.P., Karkey, A., Dongol, S., Thi, N.H., Thompson, C.N., Rabaa, M.A. 2016. A novel ciprofloxacin-resistant subclade of H58 *Salmonella typhi* is associated with fluoroquinolone treatment failure. Elife Sciences. 5,1-13.
- [10] Mohajeri, P., Farahani, A., Davoodabadi, A., Ghaderi, O., Rahnema, M., & Heidarzadeh, S. 2014. Prevalence of vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 21(5), 394-404. [full text in Persian]
- [11] Pérez-Montarelo, D., Viedma, E., Murcia, M., Muñoz-Gallego, I., Larrosa, N., Brañas, P. 2017. Pathogenic characteristics of *Staphylococcus aureus* endovascular infection isolates from different clonal complexes. Frontiers in Microbiology. 8,1-13.
- [12] Abdimoghadam, Z., Shamloo, E., Mortazavian, A.M., & Atefi, M. 2015. Frequency of *Listeria* species in raw milk and traditional dairy products in Isfahan, Iran. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 10(3), 101-107. [full text in Persian]
- [13] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A.R., Mortazavi, S.A., & Moradi, S. 2016. Investigation of the extracts antibacterial effect of *Hibiscus Sabdariffa* against strains of antibiotic resistance on pathogenic bacteria "in vitro". Journal of Food Science and Technology. 13(55), 23-31. [full text in Persian]
- [14] Sadeghi, E., Dargahi, A., Mohammadi, A., Asadi, F., & Sahraee, S. 2015. Systematic review study of antimicrobial effect of essential oils. Journal of Food Hygiene. 5(2), 1-27. [full text in Persian]
- [15] Farahani, M., Shahidi, F., & Tabatabaei yazdi, F. 2019. Evaluation of antimicrobial

- [29] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Mortazavi, A. 2014. Investigating the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the *Lavandulastoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". Journal of Paramedical Sciences (JPS). 5(2), 91-101.
- [30] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B. 2013. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on Gram positive and Gram negative bacteria "in vitro". 4(4), 55-61.
- [31] Ahmadi, E., Abdollahi, A., Najafipour, S., Meshkibaf, M.H., & Fasihi-Ramandi, M. 2016. Surveying the effect of the phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: In vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars province. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 6(2), 210-220. [full text in Persian]
- [32] Varga, E., Bardocz, A., Belak, A., Maraz, A., Boros, B., Felinger, A. 2015. Antimicrobial activity and chemical composition of *thyme* essential oils and the polyphenolic content of different *Thymus* extracts. International Journal of Farmacia. 63(3), 357-361.
- [33] 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), 1-18.
- [34] Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H., & Mehdizadeh, T. 2019. Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss essential Oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. Journal of Food Quality and Hazards Control. 6(1), 16-24.
- [35] Alsaraf, S., Hadi, Z., Al-Lawati, W.M., Al Lawati, A.A., & Khan, S.A. 2020. Chemical composition, in vitro antibacterial and antioxidant potential of Omani *Thyme* essential oil along with in silico studies of its major constituent. Journal of King Saud University-Science. 32(1), 1-21.
- strain causing infection. Microbial Pathogenesis. 116, 153-157.
- [23] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. 2017. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. International journal of Biological Macromolecules. 94, 515-526.
- [24] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M.A. 2019. Identification of the chemical compounds and antibacterial activity of *Ocimum basilicum* essential oil and the effects of its interaction with tetracycline and chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning. Journal of Food Science and Technology. 16(90), 113-125. [full text in Persian]
- [25] Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Sharififar, F., Khoshnoodi, M., & Pharm, D. 2007. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract of *Zataria Multiflora* Boiss. Journal of Kerman university of Medical Sciences. 14(1), 33-43. [full text in Persian]
- [26] Chitsaz, M., Pargar, A., Naseri, M., Kamalineghad, M. 2007. Composition of essential oil and antibacterial effects of hydroalcoholic extract and essential oil of *Thyme (Ziziphora clinopodioides: LAM)* on selected bacteria. Daneshvar Medicine. 14(68), 15-22. [full text in Persian]
- [27] Boroumand, A., Hamed, M., Emamjome, Z., & Razavi, H. 2013. Investigation on the antimicrobial effect of caseinate edible film containing the essential oil of *Zataria multiflora*. Journal of Food Science and Technology. 10(41), 13-21. [full text in Persian]
- [28] Zare Bidaki, M., Arab, M., Khazaei, M., Afkar, E., & Zardast, M. 2015. Anti-bacterial effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on eight gastrointestinal pathogenic species. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. 21(3), 155-161. [full text in Persian]

Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some Gram-positive and Gram-negative bacteria

Saffari Samani, E. ¹, Jooyandeh, H. ^{2*}, Alizadeh Behbahani, B. ³

1. MSc. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

(Received: 2020/03/13 Accepted: 2020/05/31)

Shirazi thyme with the scientific name of *Zataria multiflora* Boiss is an aromatic seasoning shrub related to Lamiaceae family. In traditional medicine, this herbal plant has been used as a flavoring agent, food and beverages preservative, respiratory tract infection treatment, preventing fluctuation and as antispasmodic, disinfectant and anaesthetic drug. The aim of this investigation was to assess the antibacterial activity of *Zataria multiflora* essential oil (ZMEO) as alone and in combination with gentamicin and chloramphenicol antibiotics against some foodborne pathogenic bacteria. To determine the mutual pharmaceutical effect of ZMEO with the gentamicin and chloramphenicol antibiotics, the sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) method was used. Disk diffusion agar and well diffusion agar were also used to determine the inhibition zone diameter of ZMEO. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were performed using with microdilution broth and pour plate techniques, respectively. Results showed that Gram-negative bacteria had higher inhibition zone diameter as compare with Gram-positive ones. In case of simultaneous application of ZMEO with gentamicin and chloramphenicol antibiotics, the inhibition zone diameter for *Listeria innocua* was significantly increased. The MIC of ZMEO for *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocua* were determined as 0.50, 0.25, 0.50, 0.25 and 0.25 mg/mm, respectively. The MBC of ZMEO for all the pathogenic strains was 2 mg/mm. According to the result of this study, Shirazi thyme has a great potential as a preservative in food industry in addition to its application as seasoning agent and herbal-tea production.

Keywords: Avishan Shirazi, Gentamicin and chloramphenicol antibiotics, Microdilution broth.

* Corresponding Author E-Mail Address: hosjooy@asnruk.ac.ir