

ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی آویشن شیرازی و رزماری بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک ایزوله شده از مواد غذایی

محمد مهدی سلطان‌دلال^{۱*}، محمدحسین یزدی^۳، سولماز آقامیری^۴، شبلم حقیقت‌خواجوی^۵، ترانه پیمان‌عابدی محتسب^۶، فرزانه امین‌هراتی^۶، مسعود قربان‌زاده مشکانی^۲

۱- استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- استادیار، مرکز توسعه فرآیندهای بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۴- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۶- کارشناس ارشد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

* آدرس مکاتبه: تهران، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۸۸۹۹۲۹۷۱ (۰۲۱)، نامبر: ۸۸۹۵۴۹۱۳ (۰۲۱)

پست الکترونیک: msoltandallal@gmail.com

تاریخ تصویب: ۹۳/۴/۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۱

چکیده

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های منتقل شده از راه غذا می‌باشد که گستردگی وسیعی در محیط و جوامع انسانی و حیوانی، هم به عنوان پاتوژن و هم به عنوان فلور نرمال دارد. حضور استافیلوکوکوس اورئوس در پوست و مخاط تنفسی انسان و حیوانات خونگرم، امکان انتقال این ارگانیسم از انسان یا حیوان به مواد و فرآورده‌های غذایی را فراهم می‌آورد. از طرفی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس، یک مسأله مهم بهداشتی در اکثر کشورها محسوب می‌شود.

هدف: با توجه به خواص مختلف گیاه درمانی و آنتی‌باکتریال گیاه آویشن شیرازی و رزماری، این تحقیق با هدف بررسی این خواص و تعیین اثرات سینرژیستی این اسانس‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های تراسایکلین، اریترومايسين، تری متوپریم - سولفامتوکسازول و متی‌سیلین بر استافیلوکوکوس اورئوس انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش *In vitro* انجام شد، اثر ضد میکروبی به همراه حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به تراسایکلین، اریترومايسين، تری متوپریم - سولفامتوکسازول و متی‌سیلین مورد بررسی قرار گرفت. در محله بعد اثر سینرژیستی هر اسانس با هر آنتی‌بیوتیک به روش Paper disk مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج ما نشان می‌دهد که اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به تراسایکلین، اریترومايسين، تری متوپریم - سولفامتوکسازول و متی‌سیلین ایزوله شده از مواد غذایی اثرات خوبی دارد.

نتیجه‌گیری: با ساخت داروی مناسب با منشاء گیاهی و عوارض کمتر دارویی می‌توان به درمان عفونت‌های استافیلوکوکوسی امیدوار بود.

کل واژگان: آویشن شیرازی، استافیلوکوک اورئوس، حداقل غلظت مهارکننده رشد، رزماری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی



مقدمه

(Carvacrole)، سینئول (Cineol)، سیمن (Cymene)،

آلفاین (α -Pinene) و برنئول (Borneol) می باشد [۸]. با توجه به پراکندگی وسیع گیاهان دارویی در سطح کشور، مطالعه روی این گیاهان از نظر خواص ضد میکروبی آنها، زمینه مناسبی را فراهم می کند که از نتایج این بررسی ها می توان جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشأ طبیعی برای کنترل و درمان عفونت های باکتریایی غیر قابل درمان با آنتی بیوتیک های رایج استفاده نمود، ضمن اینکه این امر می تواند موجب کاهش مصرف

داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن شود [۹-۱۴]. در این مطالعه، هدف تعیین خواص آنتی باکتریال اسانس های آویشن شیرازی و رزماری با ایزوله های استافیلوکوکوس مقاوم به تتراسایکلین، تری متوپریم - سولفامتوکسازول، اریترومايسين و متی سیلین بود که بر اساس غربالگری مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده از مواد غذایی در کار قبلی محققین انتخاب شدند [۱۴]. همچنین رابطه سینرژیستی اسانس های مذکور با این آنتی بیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک

بررسی حاضر بر روی ۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، تری متوپریم - سولفامتوکسازول، اریترومايسين و متی سیلین ایزوله شده از مواد غذایی، صورت گرفت [۱۵].

اسانس ها

اسانس های مورد استفاده شامل *Zataria multiflora* Bioss و *Rosmarinus officinalis* بودند که توسط شرکت باریج اسانس (ایران، کاشان)، تهیه شدند.

تهیه ترکیب رقیق شده اسانس ها

در بررسی اثرات ضد میکروبی مواد برای رقیق نمودن یک

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین پاتوژن های منتقل شده از راه غذا می باشد که گستردگی وسیعی در محیط و جوامع انسانی و حیوانی، هم به عنوان پاتوژن و هم به عنوان فلور نرمال دارد. حضور استافیلوکوکوس اورئوس در پوست و اندام های تنفسی انسان و حیوانات خونگرم، امکان انتقال این ارگانیزم از انسان یا حیوان به مواد و فرآورده های غذایی را فراهم می آورد [۱].

مسأله مقاومت آنتی بیوتیکی در طول دو دهه اخیر چنان افزایش پیدا کرده که تمام پاتوژن های انسانی و تمام کلاس های آنتی بیوتیکی مورد استفاده در بالین را در بر گرفته است [۲].

با توجه به نقش مهم استافیلوکوکوس اورئوس در میان پاتوژن های انسانی و حیوانی و طیف گسترده بیماری های ناشی از آن و گسترش مقاومت های آنتی بیوتیکی به نحوی که علاوه بر مقاومت نسبت به اکثر آنتی بیوتیک های متداول، به بسیاری از کلاس های جدید آنتی بیوتیکی از جمله متی سیلین و ونکومايسين نیز مقاوم شده و همچنین با توجه به احتمال گردش سویه های مقاوم باکتری بین انسان، حیوان و محیط و به دنبال آن احتمال آلودگی آب و مواد غذایی، به کارگیری روش های جدید در مبارزه با این معضل، امری ضروری به نظر می رسد [۳، ۴، ۵].

در منابع مختلف گیاه شناسی و گیاه درمانی، به خواص ضد میکروبی گیاهان مختلف موجود در کشورمان اشاره شده است. در سال های اخیر استقبال ذائقه عمومی نسبت به مصرف ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزین برای داروهای شیمیایی، رو به افزایش می باشد. همچنین اغلب پژوهشگران عقیده دارند که عوارض ناشی از مصرف داروهای گیاهی بسیار کمتر از داروهای شیمیایی است. عمده ترین ترکیبات موجود در رزماری را ۸۱- سینئول (1,8-cineol)، بورنئول (Borneol)، کامفر (Campher)، بورنیل استات (Bornyl acetate)، آلفای نین (α -Pinene) و بتای نین (β -pinene)، تشکیل می دهد [۶، ۷].

عمده ترین ترکیبات موجود در آویشن شیرازی *Zataria multilora* Bioss تیمول (Thymol)، کارواکرول



آغشته به ۱۰ میکرولیتر از اسانس‌های مطرح شده (با توجه به غلظت لوله MIC هر باکتری با هر اسانس) روی محیط قرار داده شد. سپس تمام پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد [۱۸].

بررسی اثر سینرژیستی اسانس‌ها با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی
به منظور بررسی اثر سینرژیستی اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری همراه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی ایزوله‌های مقاوم، پس از انتقال سوسپانسیون میکروبی مورد نظر با کدورت معادل نیم مک فارلند توسط سوآب بر روی پلیت‌های حاوی محیط جامد مولر هیتتون آگار، به جای استفاده از دیسک بلانک آغشته به اسانس، از دیسک‌های تتراسایکلین ($30 \mu\text{g}$)، متی‌سیلین ($5 \mu\text{g}$)، تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول ($23/75 + 1/25$) و اریترومايسين ($15 \mu\text{g}$)، آغشته به ۱۰ میکرولیتر از اسانس (با توجه به غلظت لوله MIC هر باکتری با هر اسانس)، استفاده شد. سپس تمام پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد [۱۹].

نتایج

نتایج تست کمی MIC از اسانس‌های مورد بررسی در مورد ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک به صورت زیر بود. کمترین میزان MIC در مورد اسانس آویشن با ایزوله مقاوم به تتراسایکلین و برابر $312/5$ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همچنین بیشترین میزان MIC در مورد اسانس رزماری با ایزوله مقاوم به اریترومايسين و تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول و برابر 625 میکروگرم در میلی‌لیتر بود (جدول شماره ۱).

همچنین نتایج تست paper disk نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به اسانس آویشن در غلظت MIC با ایزوله مقاوم به متی‌سیلین و برابر ۲۰ میلی‌متر بود (جدول شماره ۲).

در مورد نتایج مربوط به بررسی اثر سینرژیسیم، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به اسانس آویشن با ایزوله مقاوم به متی‌سیلین و برابر ۲۲ میلی‌متر بود (جدول شماره ۳).

ترکیب، باید از ماده‌ای به نام امولسیفایر استفاده شود که علاوه بر همگن کردن فازهای مختلف، خاصیت ضد میکروبی نیز نداشته باشد و تعداد باکتری‌ها را تغییر ندهد. امولسیفایر که ضمن همگن کردن فازهای مختلف، در نهایت مجموعه را به صورت شفاف درآورد، مطلوب است. بر همین اساس، در این مطالعه ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO)، به عنوان ماده امولسیفایر انتخاب شد و بر اساس آزمایش از رقتی از این ماده استفاده شد که خاصیت ضد میکروبی نداشته باشد [۱۶، ۱۲].

آزمایش حداقل میزان ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC)

پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی با رقت $\frac{1}{250}$ از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها و ترکیب رقیق شده اسانس با استفاده از DMSO، در ۱۰ لوله در پیچ‌دار استریل بجز لوله شماره ۱۰ به میزان ۱ سی‌سی ترکیب رقیق شده اسانس‌ها ($873 \mu\text{g/ml}$) از اسانس رزماری و $974 \mu\text{g/ml}$ از اسانس آویشن) را پس از تکان دادن به لوله شماره ۱ و ۲ افزوده و پس از تکان دادن در لوله شماره ۲ به میزان ۱ سی‌سی از محلول این لوله را به لوله شماره ۳ انتقال داده و این روند را تا لوله شماره ۹ تکرار شد و در نهایت ۱ سی‌سی از محلول لوله شماره ۹ دور ریخته شد. لوله اول کنترل منفی و لوله دهم کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. پس از این مرحله به میزان ۱ سی‌سی سوسپانسیون میکروبی با رقت $\frac{1}{250}$ ، مقایسه شده با استاندارد نیم مک فارلند به لوله‌های شماره ۲ تا آخر افزوده شد و درب لوله‌ها محکم بسته شد و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. پس از خواندن نتایج MIC که در آن آخرین لوله شفاف به عنوان لوله MIC در نظر گرفته شد، تست MBC به صورت کشت از لوله MIC و یک لوله قبل و بعد از آن بر روی محیط مولر هیتتون آگار به منظور تأیید نتایج MIC انجام شد. تمام لوله‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد [۱۷].

اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد

محلول باکتریایی با کدورت استاندارد معادل نیم مک فارلند تهیه و توسط سوآب بر روی پلیت‌های حاوی محیط‌های مولر هیتتون آگار کشیده و دیسک‌های کاغذی با قطر ۹ میلی‌متر



جدول شماره ۱- نتایج MIC آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده

آنتی بیوتیک	متی سیلین (µg/ml)	اریترومايسن (µg/ml)	تتراسایکلین (µg/ml)	تری متوپریم - سولفامتوکسازول (µg/ml)
آویشن	۶۲۵	۶۲۵	۳۱۲/۵	۶۲۵
رزماري	۳۱۲۵	۶۲۵	۱۵۶۲/۵	۶۲۵

جدول شماره ۲- نتایج اثر اسانس‌ها روی هاله عدم رشد ایزوله‌های مقاوم به آنتی بیوتیک

ایزوله مقاوم	متی سیلین	اریترومايسن	تتراسایکلین	تری متوپریم - سولفامتوکسازول
آویشن	۲۰ میلی‌متر	۱۰ میلی‌متر	R*	۱۳ میلی‌متر
رزماري	R*	R*	R*	R*

جدول شماره ۳- نتایج اثر سینرژیمی اسانس‌ها با آنتی بیوتیک‌ها در ایجاد هاله عدم رشد

آنتی بیوتیک	متی سیلین	اریترومايسن	تتراسایکلین	تری متوپریم - سولفامتوکسازول
آویشن	۲۲ میلی‌متر	۱۳ میلی‌متر	۱۰ میلی‌متر	۱۵ میلی‌متر
رزماري	۱۶ میلی‌متر	R*	R*	R*

* Resistance

بحث

در مطالعه دیگری که توسط دل کمپو (Del compo) و همکاران انجام شده به کارگیری عصاره آویشن منجر به بروز خواص سینرژستی ضد میکروبی تتراسایکلین شد که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد [۲۰]. مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی خانواده Laminaceae که گیاه آویشن شیرازی مورد مطالعه ما هم در این خانواده قرار دارد و برخی از ترکیبات شناخته شده مهم در اسانس‌های این خانواده از جمله کارواکرول و تیمول وجود دارد. در مطالعه انجام شده توسط کیم (Kim) و همکاران در سال ۱۹۹۵، اثرات ضد باکتریایی و محاسبه MIC و MBC کارواکرول بر روی سالمونلاتیفی موریوم و سویه مقاوم به ریفامپسین آن در محیط تریپتیک سوی آگار (با استفاده از دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های مورد نظر کارواکرول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط تریپتیک سوی برات (از روی

در این مطالعه اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماري به علاوه خواص سینرژستی اسانس‌های نامبرده با چهار آنتی بیوتیک انتخابی بررسی شد، که نتایج بیانگر وجود خواص آنتی باکتریال و در بعضی موارد سینرژستی با آنتی بیوتیک‌ها، بخصوص در مورد اسانس آویشن بود. علی‌رغم مشاهده نشدن اثرات ضدباکتریایی گیاه رزماري با برخی از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس در تحقیق حاضر، گزارش‌های بسیاری از اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی این اسانس در شرایط مختلف بر روی سایر میکروارگانیسم‌ها وجود دارد [۲۳ - ۱۹]. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط مورنو (Moreno) و همکاران صورت گرفت، عصاره متانولی و آبی رزماري، اثرات خوبی را علیه باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و مخمر نشان داد [۲۱].



در مطالعه دیگری توسط سلطان‌دلال و همکاران بر روی ۲۸ سویه استافیلوکوک اورئوس MRSA ایزوله شده از نمونه‌های انسانی (۲۰ سویه) و غذایی (۸ سویه)، اثربخشی اسانس‌های رزماری و آویشن را بر روی این سویه‌های مقاوم نشان دادند [۲۳، ۱۴].

اسانس‌های گیاهی یکی از منابع بالقوه واجد ترکیبات ضدباکتریایی می‌باشند و برای این منظور بسیار مؤثر و مفید هستند. مقایسه نتایج گزارش شده در مورد خواص ضدباکتری اسانس‌های مختلف بسیار مشکل می‌باشد، از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضد باکتری اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی به کار برده شده، اشاره کرد [۱۴، ۹، ۲]. به طور کلی ترکیبات اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش گیاه، واریته گیاهی، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، روش خشک کردن و استخراج اسانس متفاوت است [۲۳، ۲۲]. مدل‌های مختلفی در مطالعات گوناگون به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از مدل‌های آزمایشگاهی مثل محیط کشت و در برخی دیگر از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها استفاده شده است [۲۸ - ۲۵].

با توجه به اینکه تحقیقات عمدتاً بر میکروب‌های خاصی متمرکز نمی‌باشد، بنابراین بررسی‌های مقایسه‌ای بین مطالعات صورت گرفته میسر نمی‌باشد. با این وجود نتایج این پژوهش بیانگر اثرات مثبت اسانس‌های آویشن و بعضاً رزماری به سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های استافیلوکوکوس اورئوس بوده و با توجه به این نتایج می‌توان به ساخت داروهایی مناسب جهت از بین بردن این میکروارگانیسم‌ها با استفاده از اسانس‌های مذکور، امیدوار بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه تحقیقات عمدتاً بر میکروب‌های خاصی متمرکز نمی‌باشد، بنابراین بررسی‌های مقایسه‌ای بین مطالعات صورت گرفته میسر نمی‌باشد. با این وجود نتایج این پژوهش

اندازه‌گیری کدورت رشد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر) و سپس کشت بر روی تریپتیک سوی آگار مورد بررسی قرار گرفت، نشان دادند که کارواکرول اثرات ضدباکتریایی قوی بر هر دو سویه مورد مطالعه، با MIC، ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر داشت [۲۴].

در مطالعه دیگری کارامن (Karaman) و همکارانش اثرات باکتریو استاتیکی قوی اسانس *Thymus revolatus* را بر روی باکتری‌های گرم مثبت از قبیل استافیلوکوک اورئوس و گرم منفی از قبیل اشریشیاکلی نشان دادند. آنها علت احتمالی این اثرات را میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس بیان نمودند [۱۶].

در مطالعه آخوندزاده و همکاران، اثر اسانس آویشن شیرازی بر احتمال رشد استافیلوکوکوس اورئوس در محیط آبگوشت قلب و مغز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن بیانگر این موضوع بود که لگاریتم درصد احتمال رشد استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش غلظت اسانس کاهش پیدا می‌کند، که آنها نیز با توجه به آنالیز شیمیایی اسانس آویشن این اثر را مربوط به میزان بالای کارواکرول موجود در آن می‌دانند [۹].

در تحقیق دیگری که توسط بیات و همکاران در سال ۱۳۸۲ انجام شده نتیجه MIC اسانس‌های اوکالیپتوس، آویشن و مرزه بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی و استرپتوکوک فکاليس، نشان داد اسانس آویشن پایین‌ترین MIC را نسبت به بقیه اسانس‌ها بر روی هر سه میکروارگانیسم داشته است [۱۰].

همچنین نتایج مطالعه‌ای که توسط زهرایی و همکاران تحت عنوان تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشریشیاکلی جدا شده از ورم پستان گاو نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای تأثیر ضد باکتریایی مناسبی روی باکتری‌های جدا شده از ورم پستان، به ویژه استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اورئوس است [۱۲].



تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مدیریت محترم شرکت داروسازی باریج اسانس جهت تأمین اسانس‌های مورد استفاده در این تحقیق تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

بیانگر اثرات مثبت اسانس‌های آویشن و گاهی اوقات رزماری به سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های استافیلوکوکوس اورئوس بوده و با توجه به این نتایج می‌توان به ساخت داروهایی مناسب جهت از بین بردن این میکروارگانیسم‌ها با استفاده از اسانس‌های مذکور، امیدوار بود.

منابع

1. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A and et al. Occurrence, Characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 2007; 115: 290 - 6.
2. Pucci MJ. Use of genomics to select antibacterial targets. *Biochem. Pharmacol.* 2006; 71: 1066 - 72.
3. Enright MC. The evolution of resistant pathogen- the case of MRSA. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2003; 3: 474 - 9.
4. Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A and et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food of animal origin product in Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 2007; 117: 219 - 22.
5. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* 2003; 111: 1265 - 73.
6. The Royal pharmaceutical society. Martindale. The extra pharmacopoeia. 31 th ed. London: The pharmaceutical press. 1996 (vol 2), 1749.
7. Wichtl M. Teedrogen. Stuttgart: Wissenschaftliche verlags gesellschaft MbH, 1989, pp: 405 - 7.
8. Stefanovits – Banyai E, Tulok H M, Hegedus A, Renner C and SzÖllÖsivarga I. Antioxidant effects of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. *Acta biologica szegediensis* 2003; 47 (1 - 4): 113.
9. Akhondzadeh Basti A, Razavilor V, Misaghi E, Radmehr B, Abassifar R, Yazdani D and et al. Effect of *Zataria multiflora* Boiss extract on *S. aureus* in BHI broth. *J. Medicinal Plants* 2005; 10: 54 - 60.
10. Bayat M and KHosravi A. In vitro evaluation effect of some standard essence on post surgery infections. Barij Res Center. 2003, 5th Report: 37 - 43.
11. Jalali M, Abedi D, Ghasemi dehkordi N and Charmahali A. Evaluation of antibacterial activity of ethanol extracts of some medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *J. Shahrekord Univ Med. Sci.* 2006; 8 (3): 25 - 33.
12. Zahrai Salehi T, Bayat M, Vojgani M, Tarshizi H and Akhonzadeh A. Antimicrobial effects of *Zataria multiflora* Boiss against *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and *E. coli* by MIC methods. *J. Vet. Res.* 2005; (1): 108 - 10.
13. Pourmand MR, Yazdi MH, Bayat M and Shahinjafari A. In vitro antimicrobial effects of *Zataria multiflora* Boiss., *Myrtus communis* L. and *Eucalyptus officinalis* against pneumoniae, *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus influenza*. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2008; 23 (4): 477 - 83.
14. Soltan Dallal MM, Ghorbanzade Mashkani M, Yazdi MH, Agha Amiri S, Mobasseri G, Abedi Mohtasab, Farzane Amin Harati TP and Aminharati F. Antibacterial effects of *Rosmarinus officinalis* on Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients and foods. *Scient J. Kurd. Univ. Medical Sci.* 2011; 59: 73 - 80.
15. Soltan Dallal MM, Agha Amiri S, Eshraghian MR, Sabour Yaraghi AA, Faramarzi T, Mahdavi V



- and et al. Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. *J. Zanjan Univ. Med. Sci.* 2008; 16 (64): 65 - 73.
16. Karaman S, Digrak M, Ravid U and Ilcim A. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of thymus revolutus celak from Turkey. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76 (2): 183 - 6.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 16th informational supplement. M100-S16, vol. 26, no. 3. CLSI, Wayne, Pa. 2006.
18. Gradwohl RBH, Sonnenwirth AC and Jarett L. Clinical laboratory methods and diagnosis. The CV. Mosby Company, St Louis., 1980, p: 267.
19. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 80 (3): 223 - 30.
20. Del compo J, Amiot MJ and Nguyen The C. Antibacterial effect of rosemary extracts. *J. Food Prot.* 2000; 63: (10): 1359 - 68.
21. Moreno S, Scheger T, Romano CS and Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosmery extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res.* 2006; 40 (2): 223 - 31.
22. Bagamboula CF, Uyttendaele M and Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, Linalool and P-Cymene Towards shigella sonnei and S. Flexneri. *Food Microbiol.* 2004; 21: 33 - 42.
23. Soltan Dallal MM, Bayat M, Yazdi MH, Aghaamiri S, Ghorbanzade Mashkani M, Abedi Mohtasab TP and Shojaee Sadi B. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from food. *Scient. J. Kurd. Univ. Medical. Sci.* 2012; 17: 21 - 9.
24. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF and Well Cl. Antibacterial activity of carvacrol, citral and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cube. *J. Food Sci.* 1995; 60: 1346 - 68.
25. Kout Soumanis K, Lambropoulon K and Nychas G JE. A Predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a Food model system supplemented with a natural antimicrobial. *Int. J. Food Microbiol.* 1999; 49: 63 - 74.
26. Lemay MJ, Choquette J, Delaquis PJ, Garipey C, Rodrigue N and Saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and a cidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 78: 217 - 26.
27. Tassou C and Nychas G-JE. Antimicrobial activity of essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. Chia) on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system. *Int. Biodeterior Biodegradation* 1995; 36 (3 - 4): 411 - 20.
28. Valero M and Salmeron Mc. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 73 - 81.

