

Original Paper

Effect of an essential oil of native *Thymes* on mutant *Escherichia coli* strain with moderate resistance to Ciprofloxacin

Sakineh Yousofvand (M.Sc), M.Sc in Microbial Biotechnology, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

ORCID ID: 0000-0003-0867-1047

*Razieh Pourahmad (Ph.D), Corresponding Author, Associate professor, Department of Genetics, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. razieh_jaktaji@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0002-5550-5669

Saadollah Houshmand (Ph.D), Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

ORCID ID: 0000-0003-0031-2760

Abstract

Background and Objective: Ciprofloxacin is effective against a wide range of bacteria, particularly Enterobacteriaceae. However, studies have shown that the resistance of *Escherichia coli* to ciprofloxacin is enhanced. Thyme is one of the medicinal plants whose essential oil has anti-microbial effects. This study was aimed to investigate the antimicrobial properties of local Thyme essential oil alone and in combination with ciprofloxacin on *Escherichia coli* mutant strain with intermediate resistance.

Methods: In this descriptive laboratory study, Thyme plants (10 samples) were collected from Lorestan Province, west of Iran during 2016. These samples belonged to *T. eriocali* species. Plant essential oil was extracted by distillation method with Clevenger equipment. The antimicrobial properties of local thyme were determined by measuring minimum inhibitory concentration (MIC) of it alone and in combination with ciprofloxacin using sequential dilution method (macrodilution and microdilution methods) in *Escherichia coli* strains. Minimum bactericidal concentration (MBC) was measured by cultivation method. The interaction between essential oil and ciprofloxacin was determined by calculation of fractional inhibitory concentration index (FICI).

Results: MIC of essential oil for wild type strain MG1655 and mutant strain RE6 was 8 and 10 µl/ml, respectively. MBC was equal to MIC. 0.4 µl/ml of essential oil decreased 45 fold the MIC of ciprofloxacin in mutant strain and produced synergistic interaction (FICI=0.06).

Conclusion: Thyme essential oil in concentration less than its MIC in combination with ciprofloxacin via synergistic interaction reduces antibiotic MIC and antibiotic resistance.

Keywords: Drug resistance, *Escherichia coli*, Thyme plant, MIC, MBC

Received 13 Feb 2018

Revised 29 Apr 2018

Accepted 8 May 2018

Cite this article as: Sakineh Yousofvand, Razieh Pourahmad, Saadollah Houshmand. [Effect of an essential oil of native *Thymes* on mutant *Escherichia coli* strain with moderate resistance to Ciprofloxacin]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Spring; 21(1): 108-112. [Article in Persian]

اثر اسانس آویشن‌های بومی به تنهایی و ترکیب با سیپروفلوکسازین بر روی سویه موتان/اشریشیاکلی با مقاومت متوسط

ORCID ID: 0000-0003-0867-1047

ORCID ID: 0000-0002-5550-5669

ORCID ID: 0000-0003-0031-2760

سکینه یوسفوند، کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

* دکتر راضیه پور احمد، دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

دکتر سعادالله هوشمند، استاد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سیپروفلوکسازین در برابر طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها به‌ویژه در برابر انتروباکتریاسه موثر است. با این حال مطالعات نشان داده که مقاومت باکتری اشریشیاکلی به سیپروفلوکسازین افزایش یافته است. آویشن یکی از گیاهان دارویی است که اسانس آن دارای اثر ضد میکروبی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر اسانس آویشن‌های بومی به تنهایی و ترکیب با سیپروفلوکسازین بر روی سویه موتان اشریشیاکلی با مقاومت متوسط انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی ۱۰ نمونه گیاه آویشن از استان لرستان در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. آویشن‌های جمع‌آوری شده متعلق به گونه *Thymus eriocali* بود. اسانس گیاه به روش تقطیر توسط دستگاه کلونجر استخراج گردید. خواص ضد میکروبی آویشن بومی با تعیین حداقل غلظت مهار (minimum inhibitory concentration: MIC) با روش رقت‌های متوالی به تنهایی و به صورت ترکیب با سیپروفلوکسازین (رقت ماکرو و میکرو) بر روی سویه‌های اشریشیاکلی بررسی شد. میزان حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration: MBC) از طریق کشت دادن تعیین شد. میانگین اسانس و سیپروفلوکسازین با محاسبه شاخص غلظت مهار (Fractional inhibitory concentration index: FICI) تعیین گردید.

یافته‌ها: MIC اسانس برای سویه تیپ وحشی MGI655 و سویه موتان RE6 به ترتیب ۸ و ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود. مقدار MBC مشابه با MIC تعیین شد. مقدار ۰/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس در سویه موتان باعث کاهش ۴۵ برابری MIC سیپروفلوکسازین و ایجاد اثر سینرژیستی شد (FICI=۰/۰۶).

نتیجه‌گیری: اسانس آویشن بومی در غلظتی کمتر از MIC خود، در ترکیب با سیپروفلوکسازین از طریق میانگین سینرژیستی موجب کاهش MIC آنتی‌بیوتیک و کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌گردد.

کلید واژه‌ها: مقاومت دارویی، باکتری اشریشیاکلی، گیاه آویشن، حداقل غلظت مهار، حداقل غلظت کشندگی

* نویسنده مسؤول: دکتر راضیه پور احمد، پست الکترونیکی razieh_jaktaji@yahoo.com

نشانی: شهرکرد، کیلومتر ۲ جاده سامان، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم، گروه ژنتیک، تلفن ۰۳۸-۳۲۲۴۴۰۱ داخلی ۲۲۰۰، نمابر ۳۲۲۴۴۱۹

وصول مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۲۴، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۲/۹، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۲/۱۸

مقدمه

اشریشیاکلی، یک باسیل گرم منفی است که متعلق به جنس *Escherichia* است و ساکن طبیعی در روده حیوانات خونگرم، از جمله روده انسان است و می‌تواند به راحتی مواد غذایی را هنگام انجماد حیوانات ذبح شده و یا هنگام دستکاری مواد غذایی آلوده کند. علاوه بر این اشریشیاکلی می‌تواند ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک خود را به سایر باکتری‌های بیماری‌زا در روده منتقل کند (۲). اشریشیاکلی شایع‌ترین علت عفونت‌های ادراری است (۳). هر ساله ۱۷۵-۱۳۰ میلیون مورد از عفونت دستگاه ادراری (UTI) در سطح جهان رخ می‌دهد که بیش از ۸۰ درصد با باکتری اشریشیاکلی در ارتباط است (۴).

مقاومت چندارویی به عنوان یک تهدید بزرگ برای سلامت

از میان آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کینولون، سیپروفلوکسازین یک آنتی‌بیوتیک قوی است که در پزشکی و دامپزشکی استفاده می‌شود و پس از مصرف به خوبی در سراسر بدن پخش می‌شود. این آنتی‌بیوتیک در برابر طیف گسترده‌ای از میکروارگانیزم‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفی فعال است. هدف اصلی کینولون‌ها DNA توپوایزومراز II (DNA gyrase) و توپوایزومراز IV است. جهش‌های مقاومت در اشریشیاکلی تغییر در یک یا چند نوکلئوتید ژن‌های سازنده توپوایزومرازهای فوق در اشریشیاکلی (parE، gyrA و gyrB parC) را نشان داده است. وقوع جهش‌های ثانویه باعث افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌شود (۱).

اسانس گیری گیاه آویشن با هدف استخراج روغن‌های ضروری:
ابتدا ۱۰ نمونه گیاه آویشن از نواحی اطراف شهرستان الشتر در استان لرستان در خرداد ماه سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. نمونه‌های آویشن در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد با نام علمی *Thymus eriocalix* شناسایی شدند. این نمونه‌ها دور از نور خورشید خشک شدند. سپس برگ‌ها و شاخه‌های آنها توسط دستگاه خردکن پودر و به همراه آب مقطر در ارلن ریخته شد. سپس اسانس به روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. اسانس‌های تهیه شده با فویل پوشانده شد و در یخچال نگهداری گردید (۸).

درصد استحصال روغن اساسی از طریق نسبت حجم اسانس به دست آمده بر حسب میلی‌لیتر به وزن نمونه استفاده شده بر حسب گرم (v/w) محاسبه شد (۹).

تعیین حداقل غلظت مهاري (MIC) اسانس گیاه آویشن: برای تعیین MIC (minimum inhibitory concentration) اسانس گیاه برای تیپ وحشی و کلون RE6، در سه تکرار، به صورت جداگانه در لوله‌های آزمایش کوچک حاوی ۸۵۰ μL محیط کشت مولر هینتون مایع یک سری رقت‌های متوالی (۵۰-۸ میکرولیتر در میلی‌لیتر) از اسانس گیاهی در دی‌متیل سولفوکسید (۰/۴ درصد) تهیه شد. سپس ۵۰ μL کشت تازه باکتری که دارای ۱۰^۶ میکروارگانیسم در میلی‌لیتر بود؛ در لوله‌های آزمایش تلقیح شد. در نهایت توسط انکوباتور معمولی به مدت ۱۶ الی ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمادهی صورت گرفت و سپس جواب MIC بررسی شد. کمترین غلظت از اسانس که در آن رشد مرئی باکتری وجود نداشت؛ به عنوان MIC اسانس در نظر گرفته شد (۱۰).

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس گیاه آویشن: برای تعیین MBC (Minimum Bactericidal Concentration)، کشت‌هایی با مهار رشد، به LB آگار منتقل و بر سطح پلیت پخش شد. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده بود؛ به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۰).

اثر ترکیبی سیپروفلوکسازین و اسانس آویشن بر باکتری: برای تعیین اثر ترکیبی سیپروفلوکسازین و اسانس گیاهی بر باکتری‌های مورد آزمایش، از میکروپلیت ۹۶ چاهکی و روش شطرنجی (Checker Board) استفاده شد. از کشت تازه باکتری با کدورت معادل نیم مک فارلند و محیط کشت مولر هینتون استفاده گردید. از چند غلظت زیر حد مهارتی از اسانس رقیق شده به ترتیب برای سویه تیپ وحشی ۰/۸-۰/۲ $\mu\text{g/ml}$ و سویه RE6 ۱/۶-۰/۴ $\mu\text{g/ml}$ به همراه چند غلظت زیر حد مهارتی سیپروفلوکسازین

عمومی انسان توسط سازمان بهداشت جهانی شناسایی شده است. با این حال، با توجه به این که پروسه عرضه آنتی‌بیوتیک‌های جدید به بازار طولانی است و مقاومت آنتی‌بیوتیکی روز به روز در حال افزایش است؛ تشخیص و شناسایی راهکارهای جدید و انتخاب مولکول‌هایی بدون اثرات جانبی و سمی بر روی سلول‌های جانوران یک نیاز ضروری است (۵).

اسانس‌های گیاهی، ترکیبات فراری هستند که در گیاه تولید شده و به وسیله روش‌های فیزیکی مثل عصاره‌گیری و تقطیر همه گیاه یا بخش‌هایی از گیاه به دست می‌آیند (۶). آویشن از قرن شانزدهم رسماً به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده و در تمام فارماکوپه‌های معتبر ثبت شده است. اندام دارویی این گیاه، برگ‌ها و گل‌های آن است و از ترکیبات اصلی موجود در اسانس این گیاه، کارواکرول، تیمول پاراسیم و ژرانیول بوده که اثرات ضد میکروبی آنها قبلاً به اثبات رسیده است. اسانس این گیاه به دلیل داشتن ترکیبات فنی، یکی از موثرترین اسانس‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی به‌شمار می‌رود. یکی از مهم‌ترین خواص روغن‌های ضروری و اسانس‌های حاصل از گیاهان جنس آویشن، فعالیت آنتی‌باکتریایی آن است. به‌خاطر این که اسانس این گیاه عوارض جانبی کم یا ناچیز دارند؛ فعالیت ضد میکروبی این محصولات مورد توجه خاص هستند (۷).

تاکنون تحقیقات زیادی توسط محققین ایرانی و خارجی بر روی خواص ضد میکروبی اسانس و عصاره آویشن به تنهایی و به صورت ترکیبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی از جمله انواع بالینی و غیر بالینی / شریشیاکلی با مقاومت کم و متوسط به سیپروفلوکسازین انجام شده است (۸-۱۴)؛ ولی مطالعه‌ای در خصوص خواص ضد میکروبی آویشن بر روی موتان‌های / شریشیاکلی با موتاسیون مضاعف *gyrA marR* و مقاومت متوسط به سیپروفلوکسازین صورت نگرفته است. این مطالعه به منظور تعیین اثر اسانس آویشن‌های بومی به تنهایی و ترکیب با سیپروفلوکسازین بر روی سویه موتان / شریشیاکلی با مقاومت متوسط انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی در دانشکده علوم دانشگاه شهرکرد در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. از تیپ وحشی و موتان مربوط به باکتری / شریشیاکلی k12 سویه MG1655 استفاده شد که مشخصات هر کدام در جدول یک آمده است. سویه موتان در تحقیقات قبلی جداسازی و شناسایی شد (۱۵).

جدول ۱: مشخصات باکتری‌های مورد آزمایش

نام باکتری	مشخصات	مقاومت به سیپروفلوکسازین (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
MG1655	تیپ وحشی	۰/۰۳۵
RE6	موتان مضاعف <i>gyrA marR</i>	۴۵

جدول ۲: اثر ترکیبی و میانکنش سیپروفلوکسازین با اسانس آویشن

میانکنش	FICI	MIC ترکیب (اسانس - سیپروفلوکسازین) (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	MIC سیپروفلوکسازین (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	MIC اسانس (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	اسانس (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	سویه / موتان
سینرژیستی	۰/۱۲۵	۰/۰۳۵	۰/۲	۰/۰۳۵	۸	MG1655
سینرژیستی	۰/۰۶	۱	۰/۴	۴۵	۱۰	RE6

آن جایی که اسانس‌های حاصل (۱۰ نمونه) دارای نتایج MIC و MBC مشابه بودند؛ از یک نمونه برای بررسی اثر ترکیبی استفاده شد. MIC ترکیبی همراه با MIC تنه‌های سیپروفلوکسازین با اسانس بومی و همچنین FICI و نوع میانکنش در جدول ۲ آمده است. با توجه به این که شاخص غلظت مهار برای سویه تیپ وحشی و موتان کمتر از ۰/۵ بود؛ واکنش آنتی‌بیوتیک و اسانس به صورت سینرژیستی بود.

بحث

در این مطالعه بر روی سویه تیپ وحشی MG1655 و موتان دارای موتاسیون‌های مضاعف *gyrA* و *marR* که دارای مقاومت متوسط به سیپروفلوکسازین است؛ مطالعاتی از قبیل تعیین MIC و MBC و نیز بررسی اثر ترکیبی و میانکنش سیپروفلوکسازین با اسانس آویشن بومی که از شهرستان الشتر از توابع استان لرستان جمع‌آوری شد؛ انجام شد. نتایج نشان داد که ۱۰ نمونه آویشن جمع‌آوری شده دارای نام علمی *T. eriocalix* بودند. میزان استحصال روغن اساسی آن مشابه اکوتیپ اصفهان (۱/۵ درصد) و تقریباً مشابه مقادیر حاصل برای گونه‌های *T. fallax* و *T. trautvetteri* (۱/۳ درصد) بود (۱۷ و ۱۸). اسانس آویشن بومی به تنهایی دارای اثر ضد میکروبی است. مقدار MIC اسانس بومی مطالعه حاضر برای سویه تیپ وحشی / اشریشیاکلی تقریباً با مقدار MIC به دست آمده توسط Fadli و همکاران بر روی این سویه (۷/۵ $\mu\text{l/ml}$) با استفاده از اسانس گونه بومی مراکش (*T. riatarum*) برابر بود (۱۰). MIC اسانس آویشن بومی مطالعه حاضر برای سویه با مقاومت متوسط (۴۵ $\mu\text{g/ml}$) به طور غیر معنی داری بیشتر از سویه تیپ وحشی بود. همچنین سویه با مقاومت متوسط (۶۰ $\mu\text{g/ml}$) در مطالعه حاضر کمتر از MIC به دست آمده توسط Fadli و همکاران (۱۵ $\mu\text{l/ml}$) بود (۱۰). نمونه اسانس بومی ایرانی در مطالعه ما اثر ضدباکتریایی خوبی نشان داد و احتمالاً مقدار ترکیبات ضدباکتریایی موثر آن بیشتر از نمونه مراکشی (۱۰) است.

ترکیبات اصلی اسانس آویشن مواد فنلی (منو ترین‌ها) نظیر تیمول و کاروکرول است (۱۸ و ۹). البته مقادیر آنها در گونه‌های مختلف آویشن و حتی در اعضای یک گونه در نواحی مختلف جغرافیایی می‌تواند متفاوت باشد (۱۸ و ۹). اثرات ضدباکتریایی آویشن به حضور این ترکیبات نسبت داده شده است.

همچنین اسانس آویشن بومی ایرانی در غلظت زیر MIC به صورت ترکیب با سیپروفلوکسازین دارای اثر مهارتی بیشتری بر

$23-0.035 \mu\text{g/ml}$ استفاده شد. از محیط کشت مایع بدون باکتری به عنوان کنترل منفی و کشت فاقد اسانس و آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس به مدت ۱۶ الی ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور ثابت گرمادهی انجام شد. پس از گذشت زمان لازم به صورت چشمی و با کمک دستگاه خوانشگر الایزا ۶۰۰ OD کشت‌ها اندازه‌گیری شد. پس از اتمام کار دستگاه، تغییر در ۶۰۰ OD کشت‌ها، از مقایسه با ۶۰۰ OD چاهک‌های کنترل بررسی و کمترین غلظت از هر دو ماده که در ترکیب با هم موجب مهار رشد باکتری شدند؛ مشخص گردید. این آزمایش سه بار تکرار شد (۱۰).

ارزیابی میانکنش سیپروفلوکسازین با اسانس گیاه با استفاده از شاخص غلظت مهار (Fractional inhibitory concentration index: FICI): برای ارزیابی میانکنش‌های سیپروفلوکسازین با اسانس از شاخص FICI و فرمول $FICI = FICA + FICB$ استفاده شد (۱۶).

در این فرمول FICA برابر با نسبت MIC ماده سیپروفلوکسازین در ترکیب اسانس - سیپروفلوکسازین به MIC سیپروفلوکسازین به تنهایی است. FICB برابر با نسبت MIC ماده اسانس در ترکیب اسانس - سیپروفلوکسازین به MIC اسانس به تنهایی است. مقدار شاخص غلظت مهار مساوی یا کمتر از ۰/۵ میانکنش سینرژیستی، بین ۴-۰/۵ بدون اثر و بیشتر از ۴ میانکنش آنتاگونیستی در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعیین درصد استحصال MIC و MBC: درصد استحصال ۱۰ نمونه اسانس روغنی تقریباً مشابه هم و ۱/۵ درصد تعیین شد. از اسانس‌های حاصل برای تعیین MIC و MBC استفاده شد.

MIC اسانس‌های گیاهی برای سویه تیپ وحشی MG1655، مقدار $8 \mu\text{g/ml}$ و برای سویه موتان RE6، مقدار $10 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. تفاوتی در مقدار MIC نمونه‌های اسانس مختلف دیده نشد. علت آن تعلق نمونه‌ها به یک گونه (*Thymus eriocalix*) بود.

از کشت‌هایی که در آن مهار رشد برای دو سویه تیپ وحشی و موتان (شامل غلظت‌های MIC و مقادیر بالاتر از آنها) مشاهده شد؛ برای تعیین مقدار MBC استفاده گردید. این مقدار برای دو سویه تیپ وحشی و موتان به ترتیب $8 \mu\text{l/ml}$ و $10 \mu\text{l/ml}$ بود که با مقدار MIC نیز برابر بود.

اثر ترکیبی و میانکنش اسانس آویشن با سیپروفلوکسازین: از

حساس به سیروفلوکسازین / شریشیالیکی (۸ ng/ml) محسوب می‌شود (۱۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن بومی به تنهایی دارای اثر ضدباکتریایی است و در غلظتی کمتر از MIC خود، در ترکیب با سیروفلوکسازین از طریق میانکنش سینرژیسمی موجب کاهش MIC و نیز کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شود. می‌توان از این اسانس به صورت ترکیب با سیروفلوکسازین در درمان عفونت‌های / شریشیالیکی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۴۱۹/۱۶۰) خانم سکینه یوسفوند برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی میکروبی از دانشکده علوم دانشگاه شهر کرد بود. بدین وسیله از کارشناسان محترم دانشکده کشاورزی و علوم دانشگاه شهر کرد تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Helling RB, Janes BK, Kimball H, Tran T, Bundesmann M, Check P, et al. Toxic waste disposal in *Escherichia coli*. J Bacteriol. 2002 Jul; 184(13): 3699-703.
- Mo I, Micle O, Zdranc M, Mure an M, Vica L. Antibiotic sensitivity of the *Escherichia coli* strains isolated from infected skin wounds. Farmacia. 2010, 58(5): 637-45.
- Mobley HL, Alteri CJ. Development of a Vaccine against *Escherichia coli* Urinary Tract Infections. Pathogens. 2015 Dec; 5(1) pii: E1. doi: 10.3390/pathogens5010001
- Mehta M, Bhardwaj S, Sharma J. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of multi-drug resistant *Escherichia coli* isolates from urinary tract infection (UTI) patients. International Journal of Life Sciences and Pharma Research. 2012; 2(4): 6-11.
- Piddock LJ, White DG, Gensberg K, Pumbwe L, Griggs DJ. Evidence for an efflux pump mediating multiple antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Nov; 44(11): 3118-21.
- Chraïbi M, Farah A, Lebrazi S, El Amine O, Houssaini MI, Fikri-Benbrahim K. Antimycobacterial natural products from Moroccan medicinal plants: Chemical composition, bacteriostatic and bactericidal profile of *Thymus satureioides* and *Mentha pulegium* essential oils. Asian Pac J Trop Biomed. 2016; 6(10): 836-40. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.08.002
- Schött G, Liesegang S, Gaunitz F, Gleß A, Basche S, Hannig C, et al. The chemical composition of the pharmacologically active *Thymus* species, its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and the antiadherent effects of *T. vulgaris* on the bacterial colonization of the in situ pellicle. Fitoterapia. 2017 Sep; 121: 118-28. doi: 10.1016/j.fitote.2017.07.005
- Sa d ç O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. LWT - Food Science and Technology. 2003 Aug; 36(5): 467-73. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00037-9
- Nickavar B, Mojab F, Dolatabadi R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. Food Chemistry. 2005; 90(4): 609-11. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.020
- Fadli M, Bolla JM, Mezrioui NE, Pagès JM, Hassani L. First evidence of antibacterial and synergistic effects of *Thymus riatarum* essential oil with conventional antibiotics. Industrial

روی سویه تیپ وحشی و موتان به ترتیب با مقاومت کم و متوسط به سیروفلوکسازین بود. نتایج مشابهی توسط Fadli و همکاران برای اسانس آویشن مراکشی و کلرامفنیکل به دست آمد (۱۰). این مسأله نشان می‌دهد که می‌توان از غلظت‌های کمتر سیروفلوکسازین به صورت ترکیب با اسانس آویشن برای ریشه‌کنی عفونت‌های حاصل از / شریشیالیکی استفاده نمود.

به علاوه در مطالعه دیگر که توسط طالعی و همکاران در سال ۱۳۸۷ (۱۱) بر روی عصاره آویشن‌های بومی استان لرستان (آویشن الیگودرز و خرم آباد) انجام شد؛ این عصاره‌ها دارای اثر ضدباکتریایی بر روی / شریشیالیکی ATCC25922 بودند؛ ولی میزان MIC آنها خیلی بیشتر از مقدار حاصل از مطالعه حاضر است (۱۲۰ µg/ml). علت آن به احتمال زیاد مرتبط با تفاوت مقدار ترکیبات ضدباکتریایی موثر در اسانس و عصاره آویشن یعنی تیمول و کارواکول است (۱۳ و ۱۲). البته سویه‌های مورد آزمایش نیز متفاوت بودند. سویه ATCC25922 جز سویه‌های استاندارد بالینی

Crops and Products. 2014; 61: 370-76. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.029

- Talei G, Meshkatsadat M, Mosavi Z. [Antibacterial activity and chemical composition of essential oils from four medicinal plants of Lorestan, Iran]. J Med Plants. 2007; 1(S3): 45-52. [Article in Persian]
- Goudarzi M, Sattari M, Najar piraieh S, Goudarzi G, Bigdeli M. [Antibacterial effects of aqueous and alcoholic extracts of Thyme on enterohemorrhagic *Escherichia coli*]. Yafte. 2006; 8(3): 63-69. [Article in Persian]
- Rahimpour SA, Golestan L, Kaboosi H, Sharifi A. [Inhibitory effect of essential oil Daenesis of minced beef]. Armaghane-Danesh. 2012; 17(4): 370-78. [Article in Persian]
- Hosseinzadeh A, Mohajerfar T, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A et al. [Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and Lysozim on *E. coli* O157: H7]. J Med Plants. 2012; 1(41): 208-17. [Article in Persian]
- Pourahmad Jaktaji R, Ebadi R, Karimi M. Study of organic solvent tolerance and increased antibiotic resistance properties in *E. coli gyrA* Mutants. Iran J Pharm Res. 2012 Spring; 11(2): 595-600.
- Petersen PJ, Labthavikul P, Jones CH, Bradford PA. In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis. J Antimicrob Chemother. 2006 Mar; 57(3): 573-76. doi: 10.1093/jac/dki477
- Makkizadeh Tafti M, Naghdi Badi H, Rezazadeh S, Ajani Y, Kadkhoda Z. [Evaluation of botanical traits and oil content / chemical composition in Iranian *Thymus carmanicus* Jalas Ecotypes]. J Med Plants. 2010; 4(36): 57-65. [Article in Persian]
- Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. Food Chem. 2017 Apr; 220: 153-61. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.203
- Pourahmad Jaktaji R, Mohiti E. Study of mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. Iran J Pharm Res. 2010; 9(1): 43-48.