بررسی فعالیت ضد میکروبی عطرمایه‌ی زیره سبز، شوید، رازیانه، آویشن شیرازی و نعناع فلفلی بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از مدفوع طیور

بهمن فاضلی‌نسب*[۱]، پانته‌آ رمضان نژاد[۲]، یعثوب شیری[۱]

۱- گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.

دریافت مقاله: ۲۷ اردیبهشت ۱۳۹۹، بازنگری: ۲۵ خرداد ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۲۵ مهر ۱۳۹۹

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر عطرمایه‌های آویشن شیرازی، نعناع فلفلی، زیره سبز، شوید و رازیانه بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از مدفوع طیور است. عطرمایه‌ی گیاهان مورد استفاده با دستگاه کلونجر به دست آمد. جدایه‌های *اشریشیاکلی* از نمونه مدفوع طیور، جداسازی و در نهایت حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی با روش میکرودایلوشن تعیین گردید. تمامی جدایه‌های *اشریشیاکلی* در غلظت، ۱/۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط هر دو گیاه آویشن شیرازی و نعناع فلفلی مهار شده‌اند. کمترین غلظت کشندگی (۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای گیاه آویشن شیرازی و نعناع فلفلی به ترتیب باعث مهار یک و دو جدایه شده است. تمامی جدایه‌های *اشریشیاکلی* در غلظت، ۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توسط هر سه گیاه زیره سبز، شوید و رازیانه مهار شده‌اند. کمترین غلظت کشندگی (۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای گیاه زیره سبز باعث مهار دو جدایه شده است اما این غلظت برای شوید و رازیانه، ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. نتایج نشان داد که به ترتیب عطرمایه‌های زیره سبز، آویشن شیرازی، نعناع فلفلی و سپس رازیانه و شوید با تأکید بر مؤثرتر بودن عطرمایه زیره سبز، می‌توانند به تنهایی یا همراه با سایر عوامل ضد میکروبی برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری *اشریشیاکلی* مفید باشند.

واژگان کلیدی: *آویشن شیرازی، نعناع فلفلی، اشریشیاکلی، زیره سبز، شوید، رازیانه*

*پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: bfazeli@uoz.ac.ir

مقدمه

تاریخچه مصرف گیاهان در امور پزشکی قدمت طولانی دارد (۱). گیاه‌درمانی به دلیل عوارض و هزینه کمتر و سازگاری بیشتر بیماران به این داروها در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است و بر خلاف داروهای سنتتیک که مواد خام آنها از مواد شیمیایی به دست می‌آید گیاهان دارویی به‌طور طبیعی استخراج شده و سبب طبیعی شدن عملکرد فیزیولوژیکی و اصلاح علت اختلال می‌شوند (۲). تخمین زده شده است که بیش از ۱۰ درصد از هزاران گونه گیاهی شناخته شده، کاربرد دارویی دارند. سازمان جهانی بهداشت برآورد کرده است که حدود ۸۰ درصد جمعیت جهان از گیاهان دارویی برای جنبه‌هایی از مراقبت‌های بهداشتی و درمانی استفاده می‌کنند (۳).

گیاهان دارویی به گروهی از گیاهان گفته می‌شود که برای مصارف پزشکی، درمانی و بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرند. وجود موادی به نام ترکیبات یا متابولیت‌های ثانویه در گیاهان از جنبه‌های مختلف سازگاری و بقای گیاهان در برابر شرایط نامناسب محیطی و زیستی، تولید داروهای گیاهی، سموم آفت‌کش و علف‌کش طبیعی، طعم‌دهنده، معطرکننده، نگهداری مواد غذایی و همچنین کمک در بهبود، درمان یا پیشگیری از بیماری‌ها، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند (۴).

متابولیت‌های ثانویه گیاهان، از آغاز زندگی بشر برای درمان عفونت‌ها و بیماری‌ها استفاده شده‌اند. طی صد سال گذشته داروهای شیمیایی ساختگی جایگزین ترکیب‌های طبیعی شده‌اند که برای ساختن داروهای شیمیایی همچون آسپرین و سالیسیلیک اسید نیز از ساختار گیاهان الگوبرداری شده است (۷-۵). تقاضای رو به رشد بازار امروز برای محصولات طبیعی قابل‌تجدید و با در نظر گرفتن گیاهان به‌عنوان کارخانه بالقوه تولیدکننده محصولات بیوشیمیایی، زمینه‌های تحقیقاتی جدیدی برای تولید متابولیت‌های ثانویه ایجاد شده است (۵، ۸). از نیمه دوم قرن گذشته، تحقیقات وسیعی روی گیاهان دارویی در بیشتر کشورهای جهان انجام‌گرفته و در پی آن داروهای گیاهی فراوانی تهیه و به بازار عرضه گردیده است و با توجه به فلور غنی ایران که بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی بوده و تعداد بسیار زیادی از آنها دارویی هستند ضرورت مطالعه بر روی مواد مؤثر دارویی فلور طبیعی ایران را حائز اهمیت کرده است (۹، ۱۰).

تحقیقات نشان داده منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است. برای مثال در کشورهایی همچون ژاپن و چین مصرف چای سبز تأمین‌کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن هست در حالی‌که این مواد در کشورهای غربی با مصرف سیب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزی‌ها و مواد غذایی تخمیری تأمین می‌شوند (۱۱). در کشور ایران به‌طور جامع، نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی‌اکسیدان وجود ندارد اما با تبلیغات مختلف کارهایی از جمله مصرف سبزی‌ها به‌صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به‌صورت دمنوش، عرقیات، اسانس(عطرمایه)، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده (از جمله سدر) و حتی مصرف به‌صورت دلمه و غیره) صورت گرفته که پیرو تحقیقات مختلف باید از اندام‌های مختلف گیاهان که دارای نوع خاص مواد آنتی‌اکسیدانی بوده استفاده خاصی از آنها بشود (۱۲). با توجه به مواد آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی موجود در آویشن شیرازی و نعناع فلفلی که علاوه بر رویش در ایران، جهت درمان بیماری‌های مختلف نیز به‌طور سنتی از آنها استفاده شده است سعی شد در این تحقیق بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از مدفوع طیور مورد ارزیابی قرار گیرند.

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) از تیره نعناعیان است که در ایران می‌روید و دارای اثرات ضد درد، ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب و ضد انگل است. خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آویشن به دلیل حضور ترکیبات فنلی مخصوصاً تیمول و کارواکرول است (۱۳). تیمول ترکیبی فنلی و مهم‌ترین ماده مؤثره آویشن است که به خوبی در الکل و حلال‌های آلی حل گردیده و اثرات ضد عفونی‌کننده عصاره الکلی آن به اثبات رسیده است (Ebrahimi Nejad et al., 2008). نعناع فلفلی(*Mentha piperita* L) گیاهی است علفی، چند ساله، ریزوم دار، هیبرید (2n=48)، متعلق به راسته *Lamiales* از خانواده نعناعیان و از تلاقی بین گونه *M. Aquatic* و *M. spicata* به وجود آمده است. نعناع فلفلی و اجزای آن برای کاهش اشتها، درمان سرماخوردگی، سرفه، تب، تهوع، سردرد، درمان گرفتگی عضلات، نفخ و سوء هاضمه، دارای خواص ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد تومور و ضد حساسیت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶-۱۴).

زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.)، گیاهی علفی یک‌ساله، از خانواده چتریان است که در مناطق مدیترانه‌ای، جنوب غرب و مرکز آسیا می‌روید و جزو گیاهان دارویی مهم و اقتصادی ایران است که در مناطق مختلفی از جمله تبریز، کرمان، یزد و برخی مناطق دیگر کشت می‌شود (۱۷، ۱۸) و جهت درمان بیماری‌های مختلف به‌عنوان ضد تشنج، ضد صرع، تقویت‌کننده معده، ادرارآور، ضد نفخ، ضد دیابت، رفع سوء هاضمه و محرک تعریق مفید است (۱۹). رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill)، گیاهی، علفی و معطر از تیره جعفری است و در طب سنتی از رازیانه به‌عنوان ضد نفخ، آنتی‌سپتیک، خلط‌آور و ضد اسپاسم استفاده می‌گردد (۲۰). شوید (*Anethum graveolens* L.)، گیاهی علفی و یک‌ساله است و به عنوان کاهنده چربی به‌خصوص تری‌گلیسرید خون، پیشگیری و درمان تصلّب شرایین و ناراحتی‌های صفراوی استفاده می‌شود (۲۱).

پرندگان می‌توانند عوامل بیماری‌زای انسانی را در خود جای دهند و در انتقال و گسترش عوامل عفونی مقاوم به دارو به انسان نقش داشته باشند. به‌طوری‌که گزارش شده است که پرندگان، *اشریشیاکلی‌های* مقاوم به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها را در خود جای داده و می‌توانند عامل مهمی در انتقال عفونت‌های مقاوم به دارو از پرندگان به انسان، به‌ویژه کودکان تلقی شوند و خطری بالقوه برای سلامت انسان ایجاد کنند (۲۲). جدایه‌های *اشریشیاکلی*، پاتوژن‌های فرصت‌طلب هستند که عامل برخی عفونت‌ها ازجمله عفونت ادراری، تنفسی، عفونت زخم و اسهال محسوب می‌شوند (۲۳). ضمناً بیماری‌هایی که به‌وسیله *اشریشیاکلی* ایجاد می‌شوند به‌عنوان خسارت مهمی برای انسان و حیوانات مطرح هستند (۲۴). جایگاه اصلی این باکتری، کلون انسان و حیوانات خون گرم است و درصورتی‌که از طریق مدفوعی دهانی منتقل شود، اسهال ایجاد می‌کند (۲۵). با مقاومت دارویی، گسترش وسیعی در بیمارستان‌ها و اجتماع دارند (۲۶) و بر اساس اینکه عوامل ضد میکروبی عمر کوتاهی دارند (۲۷). در نتیجه نیاز به یافتن عوامل ضد میکروبی جدید در برابر جدایه‌های مقاوم افزایش یافته است (۲۸).

مواد و روش‌ها

تهیه عطرمایه: استخراج عطرمایه‌های گیاهی با استفاده از روش تقطیر با بخار و دستگاه کلونجر انجام شد. ۵۰ گرم از پودر خشک گیاه در یک بالن دو لیتری ریخته و حدود دو سوم بالن آب اضافه گردید و بالن‌ها به دستگاه کلونجر متصل شد تا عمل تقطیر به مدت ۴ ساعت انجام شود. پس از

استخراج عطرمایه‌ها، عمل آب‌گیری توسط سولفات سدیم بدون آب انجام شد. عطرمایه‌ها با رقت ۲۰ میلی‌گرم در میکرولیتر در یک سی‌سی DMSO حل شدند. جهت جلوگیری از تجزیه عطرمایه‌ها به‌وسیله‌ی نور و حرارت، از ظرف شیشه‌ای و تیره رنگ به‌منظور نگهداری عطرمایه‌ها استفاده شد. عطرمایه‌های حاصله پس از جمع‌آوری در ظرف یاد شده در یخچال نگهداری شدند (۲۹).

جدایه‌های باکتری: جدایه‌های مختلف *اشریشیاکلی* مورد استفاده در این تحقیق از نمونه‌های مدفوع طیور در شهرستان زابل جداسازی و بر روی محیط‌های کشت نوترینت آگار کشت داده شدند. جدایه‌های باکتریایی جداشده به‌وسیله تنوعی از واکنش‌های بیوشیمیایی، باکتریولوژیک و آزمون‌های رشد (اکسیداز، کاتالاز، حرکت باکتری، آزمون‌های قندی از قبیل: تخمیر لاکتوز، سوکروز، گلوکز) و همچنین آزمون‌های استاندارد از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی اسید فاست، مورفولوژی و رنگ کلنی قابل شناسایی هستند (۳۰) که در تحقیق حاضر بعد از مشاهده رشد کلونی، از رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده کوکسی‌ها و دیپلوکوکسی‌های گرم منفی و همچنین آزمون اکسیداز جهت شناسایی استفاده شد. در مرحله بعد، با استفاده از آزمودن‌های بیوشیمیایی، کشت بر روی مکانکی آگار و انکوباسیون در حرارت‌های ۳۷ درجه و ۴۲ درجه سانتی‌گراد، آزمودن سیترات، آزمودن حرکت و کشت بر روی محیط OF (تخمیر و اکسیداسیون) حاوی قند گلوکز، تشخیص قطعی باکتری‌ها صورت گرفت.

فعالیت آنتی‌بیوتیکی: ۱۰ جدایه خالص از گونه اشریشیاکلی با روش کربی- بائر (۳۱) تعیین آنتی‌بیوگرام شده و حساسیت آنها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. تعیین حساسیت جدایه‌ها با روش آگار دیسک دیفیوژن استاندارد (Kirby-Bauer) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند جنتامایسین(GM)(µg ۱۰)، آزیترومایسین(AZM)(µg ۱۵)، آموکسی‌سیلین کلاوید اسید (AMC)(µg ۳۰)، آمیکاسین(Ak)(µg ۳۰) و سفتازیدیم (CAZ)(µg ۳۰) (پادتن طب- ایران) انجام گرفت (۳۱). بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد برای هر آنتی‌بیوتیک اندازه‌گیری گردید و نتایج برای هر آنتی‌بیوتیک مطابق با دستورالعمل مربوطه به‌عنوان حساس، حد واسط و مقاوم ثبت شد و نتایج آن با جدول استاندارد NCCLS مقایسه گردید (۳۲، ۳۳).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عطرمایه گیاهان مورد استفاده بر اشریشیاکلی: برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC=Minimum inhibitory Concentration) عطرمایه گیاهان مورد استفاده به روش چشمی، ابتدا میزان ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط مولر هینتون براث (Mueller Hinton Broth)(ساخت شرکت Merk-آلمان) به هر چاهک پلیت میکروتیتر اضافه شد (۳۴، ۳۵) سپس در چاهک اول، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۲۰mg/ml عطرمایه اضافه شد و پس از مخلوط کردن، ۱۰۰ میکرو لیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم اضافه شد به همین ترتیب ساخت رقت‌های دو برابری در سایر چاهک‌ها ادامه یافت. لازم به ذکر است در این حالت، چاهک اول حاوی ۲۰ میلی‌گرم در میکرولیتر عطرمایه بوده و بدین ترتیب در چاهک‌های بعدی این مقدار به نصف چاهک قبلی تقلیل پیدا کرد. در نهایت ۱۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی ($cfu=1/5*10^8$ در هر میلی‌لیتر، نیم مک فارلند) به چاهک‌ها اضافه شد. به چاهک شاهد منفی DMSO اضافه شد (بدون عطرمایه) سپس پلیت میکرو تیتر برای ۲۴ ساعت

در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. حداقل غلظت مهاری، به‌عنوان پایین‌ترین غلظتی که برای توقف رشد باکتری‌ها در انتهای ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری نیاز است، تعریف شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی(MBC=Minimum Bactericidal Concentration) ۱۰ میکرولیتر از محتوای چاهک‌ها در انتهای ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری، روی محیط نوترینت آگار (ساخت شرکتMerk- آلمان) کشت ثانویه داده شد و پلیت‌ها به‌منظور بررسی رشد باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند، پایین‌ترین غلظت عطرمایه که در آن ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها رشد نداشتند به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد ۳۴، ۳۵). تمام آزمایش‌های ضد میکروبی ۳ مرتبه تکرار شدند.

نتایج

نتایج نشان داد که دو جدایه *اشریشیاکلی*، در تمام غلظت‌های عطرمایه آویشن شیرازی مهار شده است. کمترین غلظت مهارکنندگی ۱/۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که یک جدایه در این غلظت مهار شده است و بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که یک جدایه در این غلظت مهار شده است. کمترین غلظت کشندگی برابر با ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که یک جدایه در این غلظت کشته شده است و بیشترین غلظت کشندگی برابر با ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (جدول ۱).

سه جدایه *اشریشیاکلی* در تمام غلظت‌های عطرمایه نعناع فلفلی مهار شده است. کمترین غلظت مهارکنندگی عطرمایه نعناع فلفلی برابر با ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که دو جدایه در این غلظت مهار شده است در حالی‌که بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که یک جدایه در این غلظت مهار شده است. کمترین غلظت کشندگی برابر با ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که دو جدایه در این غلظت کشته شده است و بیشترین غلظت کشندگی برابر با ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (جدول ۲).

جدول۱- بررسی فعالیت ضد میکروبی عطرمایه آویشن شیرازی بر روی *اشریشیاکلی* جداشده از طیور(میلی‌گرم/میلی‌لیتر)

جدایه باکتری	شاهد منفی (محیط کشت و عصاره)	شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری)	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶
۱	عدم رشد	رشد			عدم رشد		
۲	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۳	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۴	عدم رشد	رشد			عدم رشد		
۵	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+
۶	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۷	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۸	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۹	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۱۰	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++

++ کاملا رشد کرده؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC)؛ - حداقل غلظت کشندگی(MBC)

جدول۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی عطرمایه نعناع فلفلی بر روی *اشریشیاکلی* جداشده از طیور(میلی‌گرم/میلی‌لیتر)

جدایه باکتری	شاهد منفی (محیط کشت و عصاره)	شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری)	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶
۱	عدم رشد	رشد			عدم رشد		
۲	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+
۳	عدم رشد	رشد			عدم رشد		
۴	عدم رشد	رشد			عدم رشد		
۵	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۶	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۷	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۸	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+
۹	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۱۰	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++

++ کاملا رشد کرده؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC)؛ - حداقل غلظت کشندگی(MBC)

کمترین غلظت مهارکنندگی عطرمایه زیره سبز برابر با ۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که دو جدایه در این غلظت مهار شده است. بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است و یک جدایه در تمام غلظت‌ها رشد کرده است. کمترین غلظت کشندگی برابر با ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (جدول ۳). کمترین غلظت مهارکنندگی شوید برابر با ۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که یک جدایه در این غلظت مهار شده است در حالی‌که بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. بیشترین و کمترین غلظت کشندگی برابر با ۱۰ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (جدول ۴). کمترین غلظت مهارکنندگی رازیانه برابر با ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که ۴ جدایه در این غلظت مهار شده است بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که ۴ جدایه در این غلظت مهار شده است. کمترین و بیشترین غلظت کشندگی به ترتیب برابر با ۱/۲۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (جدول ۵).

جدول ۳- حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) عطرمایه زیره سبز بر روی باکتری *اشریشیاکلی*

جدایه باکتری	شاهد منفی (محیط کشت و عصاره)	شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری)	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۳
۱	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۲	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۳	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۴	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۵	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۶	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۷	عدم رشد	رشد	-	-	-	+	++
۸	عدم رشد	رشد	رشد				
۹	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+
۱۰	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+

++ کاملا رشد کرده؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC)؛ - حداقل غلظت کشندگی(MBC)

جدول ۴- حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) عطرمایه شوید بر روی *اشریشیاکلی*

جدایه باکتری	شاهد منفی (محیط کشت و عصاره)	شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری)	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۳
۱	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۲	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۳	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۴	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۵	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۶	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۷	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۸	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++
۹	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۱۰	عدم رشد	رشد	-	-	-	-	+

++ کاملا رشد کرده؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC)؛ - حداقل غلظت کشندگی(MBC)

جدول ۵- حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) عطرمایه رازیانه بر روی *اشریشیاکلی*

جدایه باکتری	شاهد منفی (محیط کشت و عصاره)	شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری)	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۳
۱	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۲	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۳	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++
۴	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++
۵	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++
۶	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++
۷	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۸	عدم رشد	رشد	-	+	++	++	++
۹	عدم رشد	رشد	+	++	++	++	++
۱۰	عدم رشد	رشد	-	-	+	++	++

++ کاملا رشد کرده؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی(MIC)؛ - حداقل غلظت کشندگی(MBC)

جدایه‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم (۸۰ درصد)، جنتامایسین(۲۰ درصد)، آزیترومایسین(۲۰ درصد) و آموکسی کلاو (۱۰ درصد) مقاوم و به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۷۰ درصد)، آموکسی کلاو (۶۰ درصد)، ازیترومایسین(۶۰ درصد) و آمیکاسین (۳۰ درصد) حساس بوده‌اند (جدول۶).

جدول ۶- الگوی مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* (درصد) به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

شاخص عمل	ازیترومایسین	جنتامایسین	آمیکاسین	آموکسی کلاو	سفتازیدیم
S	۶۰	۷۰	۳۰	۶۰	۰
I	۲۰	۱۰	۷۰	۳۰	۲۰
R	۲۰	۲۰	۰	۱۰	۸۰

S؛ حساسیت، I؛ میانه، R؛ مقاومت

بحث و نتیجه‌گیری

تمامی جدایه‌های *اشریشیاکلی* در کمترین غلظت مهار کنندگی (۱/۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای عطرمایه هر دو گیاه آویشن شیرازی و نعناع فلفلی مهار شده‌اند اما کمترین غلظت کشندگی (۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای عطرمایه گیاه آویشن شیرازی و نعناع فلفلی به ترتیب باعث مهار

یک و دو جدایه شده است. ضمناً عطرمایه آویشن شیرازی در تمام غلظت‌ها باعث مهار دو جدایه ولی عطرمایه نعناع فلفلی در تمام غلظت‌ها باعث مهار سه جدایه *اشریشیاکلی* شده ست. تمامی جدایه‌های *اشریشیاکلی* در کمترین غلظت مهارکنندگی (۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای هر سه گیاه زیره سبز، شوید و رازیانه مهار شده‌اند. کمترین غلظت کشندگی (۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای گیاه زیره سبز باعث مهار دو جدایه شده است. کمترین غلظت کشندگی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای عطرمایه گیاهان شوید و رازیانه به ترتیب باعث کشته شدن چهار و هفت جدایه *اشریشیاکلی* شده است.

با توجه به سطح مقاومت جدایه‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در تحقیق حاضر مانند مقاومت به سفتازیدیم(µg ۳۰)(۸۰ درصد)، حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر آمیکاسین(µg ۳۰)(۳۰درصد)، آموکسی‌سیلین کلاوید اسید(µg ۳۰)، (۶۰ درصد)، ازیترومایسین(µg ۱۵)(۶۰ درصد) و از طرفی کمترین سطح مهارکنندگی گیاهان دارویی مورد استفاده در تحقیق حاضر بر *اشریشیاکلی مانند* آویشن شیرازی و نعناع فلفلی (۱/۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و زیره سبز، شوید و رازیانه (۰/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و همچنین کمترین غلظت کشندگی (۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای گیاه زیره سبز، نشان دهنده توانایی گیاهان دارویی شوید، رازیانه، آویشن شیرازی، نعناع فلفلی و مخصوصاً زیره سبز در درمان عفونت‌های حاصل از *اشریشیاکلی* است.

در مطالعه‌ای اثر عطرمایه آویشن شیرازی (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و۰/۰۳ درصد) بر روی رشد باکتری *E.coli* O157:H7 در گوشت چرخ‌کرده، بررسی و به این نتیجه رسیده‌اند که در غلظت ۰/۰۳ درصد اثر ضد باکتریایی قوی به‌دست آمده است. ضمناً ضریب همبستگی غلظت عطرمایه آویشن شیرازی با لگاریتم تعداد باکتری مورد مطالعه، نشان داده شده است که با افزایش غلظت عطرمایه، میزان رشد باکتری در طی دوره نگهداری کاهش یافته است (۳۶). میزان MIC و MBC عطرمایه آویشن شیرازی برای باکتری *اشریشیاکلی* به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد به دست آمده است (۳۷). در تحقیق حاضر نیز با افزایش غلظت عطرمایه آویشن خاصیت ضد باکتریایی آن بیشتر شده است. ضمناً حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشندگی عطرمایه آویشن شیرازی علیه *اشریشیاکلی برابر با* ۲۵۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش گردیده است (۳۸). در تحقیق حاضر نیز حداقل غلظت کشندگی عطرمایه آویشن شیرازی علیه یک جدایه *اشریشیاکلی برابر با* ۳۱۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر به دست آمد.

عصاره آبی و الکلی گیاه آویشن شیرازی بر روی جدایه‌های بالینی و استاندارد اشریشیاکلی انتروهموراژیک بررسی و مشخص شده است که عصاره الکلی در غلظت ۰/۷۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای اثر مهاری و اثر کشندگی بوده است اما عصاره آبی در هیچ‌کدام از غلظت‌های مورد استفاده بر روی جدایه‌های استاندارد و بالینی مؤثر نبوده است (۳۹). این نتایج متفاوت از نتایج تحقیق حاضر است که از عطرمایه که نوعی عصاره آبی می‌باشد استفاده شده است و باعث مهار و کشندگی باکتری‌ها هم شده گردیده است. هر چند در تحقیقات دیگر با آنکه عصاره آبی کم‌خاصیت‌ترین نوع حلال در استخراج مواد مؤثره بوده است (۴۰) اما مؤثر بوده است به‌طوری که، کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برابر با ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است که باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *شیگلا دیسنتری* مهار کرده است (۴۱) و کمترین غلظت مهارکنندگی عطرمایه نعناع فلفلی در برابر

اسینتو باکتر بومانی و *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است(۴۲).

نعناع فلفلی فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های شیگلا دیسنتری، کلبسیلا پنومونیه نداشته است (۴۳) اما در برابر سالمونلا تیفی‌موریوم بررسی و مشخص شده است که کمترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که یک جدایه در این غلظت مهار شده است و بیشترین و کمترین غلظت کشندگی به ترتیب برابر با ۴۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (۴۴). درصورتی‌که در تحقیق حاضر کمترین غلظت مهار و کشندگی نعناع فلفلی بر اشریشیاکلی به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است.

با بررسی اثرات ضد میکروبی عطرمایه گیاهان نعناع فلفلی، پونه کوهی و زیره سیاه بر روی باکتری‌های جدا شده از مواد غذایی مشخص شده است که عطرمایه استخراج شده از گیاه نعناع فلفلی بیشترین اثر ضد میکروبی را روی اشریشیاکلی و کمترین را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است (۳۷). همچنین ارزیابی خواص ضد میکروبی عصاره هیدرو الکلی آویشن شیرازی، بابونه، بنه، بومادران، زیره سیاه، انشک، آوندول، آویشن وحشی، پونه کوهی، مورد، الوک، رزماری، کلپوره همدانی، زعفران، زوفا، کاکوتی، افسنطین و شاه‌تره بر *اشریشیاکلی* بررسی و مشخص شده است که مؤثرترین عصاره هیدرو الکلی بر قطر هاله عدم رشد *اشریشیاکلی* گیاهان آویشن شیرازی، مورد و رزماری بوده‌اند اما ضعیف‌ترین گیاهان، آوندول، شاه‌تره، زوفا، افسنطین، آویشن کوهی و پونه کوهی بوده‌اند (۱۳) و در بین گیاهان آویشن شیرازی، مورد و رزماری مشخص شده است که عصاره رزماری با میانگین ۱/۶۶ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد باکتری مؤثرترین و عصاره مورد با میانگین ۱/۳۳ سانتی‌متر قطر هاله عدم رشد کم اثرترین عصاره بر باکتری *اشریشیاکلی* بوده‌اند (۴۵). در تحقیق حاضر زیره سبز نسبت به شوید، رازیانه، آویشن شیرازی و نعناع فلفلی مؤثرترین بر *اشریشیاکلی* بوده است و بر اساس نتایج ارائه شده تحقیقات قبلی پیشنهاد می‌گردد که مقایسه‌ای نیز بین زیره سبز و رزماری صورت گیرد تا مؤثرترین عصاره بر *اشریشیاکلی* مشخص گردد.

عصاره متانولی زیره سبز باکتری‌های *باسیلوس سابتی لیس*، *اشریشیاکلی* و *پروتئوس* (۴۶) و عطرمایه زیره سبز باکتری *زانتوموناس* را مهار کرده است (۴۷). ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی عصاره گیاهان زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، زیره سیاه (*Bunium persicum*) و بخش‌های هوایی آرتمیزیا ترکومانیکا (*Artemisia turcomanica*)، آرتمیزیا خراسانیکا (*Artemisia khorassanica*)، آرتمیزیا سینی فرمیس (*Artemisia ciniformis*) و آرتمیزیا کپه داغنسیس (*Artemisia kopetdaghensis*) علیه باکتری *اشریشیاکلی*(ATCC۲۵۹۲۲) بررسی و مشخص شده است که زیره سبز مؤثرترین حداقل غلظت مهاری داشته است (۴۸). در تحقیق حاضر نیز عطرمایه زیره سبز مؤثرترین عامل بر مهار رشد و عدم فعالیت *اشریشیاکلی* بوده است.

گزارش شده است که عطرمایه رازیانه نسبت به عصاره متانولی و اتانولی، فعالیت ضد میکروبی بیشتری داشته است (۴۹). اثر مهاری عصاره آبی شاخ و برگ گیاه رازیانه بر سه میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلاتیفی بررسی و مشخص شده است بیشترین اثر بر روی استافیلوکوکوس طلایی بوده است (۵۰). در مطالعه دیگری که بر روی عصاره دانه گیاه رازیانه بر روی ۱۵ میکروارگانیسم از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلاتیفی انجام شده بود هیچ‌گونه اثر

مهارکننده رشدی مشاهده نشده است (۵۱). همچنین در بررسی اثر عصاره اتانولی آویشن، جعفری، رازیانه، گشنیز و پونه به روش انتشار و دیسک کاغذی، بر مهار رشد کلبسیلا، اشریشیاکلی و سالمونلا، بیشترین اثر مهار رشد بر روی استافیلوکوکوس توسط عصاره آویشن و کمترین اثر مهاری رشد هم مربوط به عصاره رازیانه بر روی استافیلوکوکوس بود (۵۲). در تحقیق حاضر نیز عطرمایه شاخ و برگ رازیانه و شوید اثر کشندگی کمتری بر باکتری *اشریشیاکلی* نسبت به آویشن شیرازی، نعناع فلفلی و زیره سبز داشته‌اند.

بی‌شک مراجعه و استفاده از گیاهان دارویی کهن‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در کشاکش توسعه تمامی تمدن‌های بشری، همواره ارتباطی نزدیک و شانه به شانه‌ای میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با توجه به ثابت شدن اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی مختلف در تحقیقات متعدد، مقاومت دارویی ایجاد شده توسط پاتوژن‌ها و عوارض جانبی داروهای ضد میکروبی شیمیایی، رویکرد تحقیقات علمی، به منابع طبیعی در چند دهه اخیر بسیار زیاد شده است (۵۳) از طرفی نتایج این بررسی پیشنهاد می‌کند که به ترتیب عطرمایه‌های زیره سبز، آویشن شیرازی، نعناع فلفلی و سپس رازیانه و شوید با تأکید بر مؤثرتر بودن عطرمایه زیره سبز، می‌توانند به تنهایی یا همراه با سایر عوامل ضد میکروبی برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری *اشریشیاکلی* مفید باشند. با این‌حال آزمایش در سیستم زنده برای ارزیابی سمیت احتمالی عطرمایه‌ها مخصوصاً عطرمایه زیره سبز، بررسی (*in vivo*) خواص و اثر آنها و به دست آوردن غلظت‌های مناسب این عطرمایه‌ها برای استفاده در بدن موجود زنده لازم است.

References

1- **Vermani K, Garg S.** Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS. J Ethnopharmacol 2002;80(1):49-66. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00009-0

2- Rezaei-Nasab M, Komeili G, Fazeli-Nasab B. Gastroprotective effects of aqueous and hydroalcholic extract of *Scrophularia striata* on ethanol-induced gastric ulcers in rats. Der Pharmacia Lettre 2017;9(5):84-93.

3- Keshavarz R, Majid Mahdiyeh M, Abnosi MH, Amirjani MR. Effect of hydrogen peroxide on induction of secondary metabolites in Periwinkle (*Catharanthus roseus* L) callus. Cell & Tissue Journal 2016;6(3):389-396.

4- Davari A, Solouki M, Fazeli-Nasab B. Effects of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on process of changes of phytochemical and antioxidant in genotypes of *Satureja hortensis* L. Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants 2018;5(4):1-20 (In Persian).

5- Omidi M, Abdollahi P. Biotechnology for large scale production of plants secondary metabolites. Genetics Novin 2014;9(4):391-402.

6- Van Wyk B, Wink M. Medicinal plants of the world. Pretoria: South Africa: Briza Publications, 2004.

7- van Wyk BE, Albrecht C. A review of the taxonomy, ethnobotany, chemistry and pharmacology of Sutherlandia frutescens (Fabaceae). J Ethnopharmacol 2008;119(3):620-629. 10.1016/j.jep.2008.08.003

8- Karuppusamy S. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plants Research 2009;3(13):1222-1239.

9- Zakizadeh M, Nabavi S, Nabavi S, Ebrahimzadeh M. In vitro antioxidant activity of flower, seed and leaves of Alcea hyrcana Grossh. European review for medical and pharmacological sciences 2011;15(4):406-412.

10- Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Eslami S. Effect of Increasing the Polarity of Solvent on Total Phenol and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Myrtle (Myrtus communis

L.). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2015;25(126):68-81 [Farsi with abstract English].

11- Wach A, Pyrzyńska K, Biesaga M. Quercetin content in some food and herbal samples. Food chemistry 2007;100(2):699-704. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.028

12- Jahantigh Haghighi z, fahmideh l, Fazeli Nasab b. Evaluation and comparison of Leaf antioxidant properties and morphological traits of tomato varieties (*Lycopersicon esculentum* L). Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research 2018;13(50):63-76.

13- Fazeli-Nasab B, Rahnama M, Shahriari S. The antimicrobial properties of hydro-alcoholic extracts of 29 medicinal plants on *E. coli* and *Staphylococcus aureus* microbes. New Findings in Veterinary Microbiology 2018;2(2):1-15.

14- Yeşil M, Öztürk I, Duymuş ZY, Özcan MM. Evaluating The Effect of Some Medicinal Plants (*Mentha piperita*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*) on Whitening of the Permanent Teeth. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 2020;8(1):1-6. https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i1.1-6.2508

15- Sharma M, Sharma M, Salgotra R, et al. Development of an effective protocol for in vitro multiplication of peppermint (*Mentha piperita*). Indian Journal of Agricultural Sciences 2019;89(11):223-226.

16- Yaghini H, Sabzalian MR, Rahimmalek M, et al. Seed set in inter specific crosses of male sterile *Mentha spicata* with *Mentha longifolia*. Euphytica 2020;216(3):1-14. https://doi.org/10.1007/s10681-020-2578-z

17- Roomiani L, Rokni N. Study of inhibition effect of *Cuminum cyminum* essential oil and Nisin on the growth of *Streptococcus iniae* in fillets of Rainbow trout using Hurdle Technology. Journal of Food Science & Technology (2008-8787) 2015;12(48):37-46.

18- Janipour l, Fahmideh l, Fazeli-Nasab B. Genetic evaluation of different population of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) using DNA molecular markers. Journal of Cellular and Molecular Researches 2018;31(1):16-32.

19- Moubarz G, Embaby MA, Doleib NM, Taha MM. Effect of dietary antioxidant supplementation (*Cuminum cyminum*) on bacterial susceptibility of diabetes-induced rats. Central-European journal of immunology 2016;41(2):132-137. PMCID: PMC4967646; PMID: 27536197, https://doi.org/10.5114/ceji.2016.60985

20- Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH. *Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. Biomed Res Int 2014;2014(https://doi.org/10.1155/2014/842674

21- Bussmann RW, Batsatsashvili K, Kikvidze Z, et al. Anethum graveolens L. Apiaceae: Ethnobotany of the Mountain Regions of Far Eastern Europe. Ethnobotany of Mountain Regions. Springer, Cham, 2019.

22- Tahmasby H, Barati s, Momtaz H, et al. An Investigation of beta-lactam antibiotics resistance in *Escherichia coli* isolates and molecular detection of *Escherichia coli* O157:H7 in cage birds from Shahrekord, Iran. Biological Journal of Microorganism 2014;3(9):35-44.

23- Ibrahim A-S, Youssef N. Prevalence of CTX-M, TEM and SHV beta-lactamases in clinical isolates of *Escherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* isolated from Aleppo University Hospitals, Aleppo, Syria. Archives of Clinical Infectious Diseases 2015;10(2):e22540. https://10.5812/archcid.22540

24- Hosseini A, Salari S, Rashki A, Jahantigh M. Presence of Two Genes Involved in Serum Resistance of *Escherichia coli* Isolated From Healthy Ostriches in Comparison With Infected Poultry by Colibacillosis. Journal of Veterinary Research 2019;74(1):143-152. https://doi.org/10.22059/jvr.2017.234300.2635

25- Moyo SJ, Maselle SY, Matee MI, et al. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. BMC infectious diseases 2007;7(1):92. https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-92

26- Akram M, Shahid M, Khan AU. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in JNMC Hospital Aligarh, India. Annals of clinical microbiology and antimicrobials 2007;6(1):4. https://doi.org/10.1186/1476-0711-6-4

27- Coates A, Hu Y, Bax R, Page C. The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. Nature reviews Drug discovery 2002;1(11):895-910. https://doi.org/10.1038/nrd940

28- Vahedi A, Baghani A, Baseri Z, Pourmand MR. Frequency and antibiotic resistance patterns of isolated bacteria from positive blood culture of hospitalized patients. Tehran University Medical Journal 2018;75(12):902-912.

29- Ferhat MA, Meklati BY, Smadja J, Chemat F. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. Journal of Chromatography A 2006;1112(1-2):121-126. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.030

30- Shafiee P, SHOJA AS, Charkhabi AH. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by aerobic mixed bacterial culture isolated from hydrocarbon polluted soils. Iranian Journal Of Chemistry And Chemical Engineering(IJCCE) 2006;25(3):73-78 (In Persian).

31- Bauer A, Kirby W, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology 1966;45(4):493-496.

32- Wikler MA. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. CLSI (NCCLS) 2006;26(M7-A7. NII Article ID (NAID): 20001404762

33- Kiehlbauch JA, Hannett GE, Salfinger M, et al. Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories. Journal of clinical microbiology 2000;38(9):3341-3348.

34- Owuama CI. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. African Journal of Microbiology Research 2017;11(23):977-980. https:doi.org/10.5897/AJMR2017.8545

35- Lambert R, Pearson J. Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. J Appl Microbiol 2000;88(5):784-790. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01017.x

36- Noori N, Rokni N, Basti A, A, et al. The antimicrobial effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil against E. coli O157: H7 in minced beef meat during refrigerated storage. Food Hygiene 2011;1(1):1-8.

37- Ataie Kachouei M. Study the antimicrobial effects of the essential oils of Origanum vulgare, Mentha piperita and Carum carvi on the bacteria isolates from food stuffs. Journal of Food Microbiology 2016;3(1):1-10.

38- Masoomi V, Tajik H, Moradi M, et al. Antimicrobial effects of *Zataria multiflora* boiss. essential oil nanoemulsion against *Escherichia coli* O157: H7. The Journal of Urmia University of Medical Sciences 2016;27(7):608-617.

39- Goudarzi M, Satari M, Najar PS, et al. Antibacterial effects of aqueous and alcoholic extracts of Thyme on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. YAFTEH 2006;8(3(29)):63-69.

40- Fazeli-nasab B, Moshtaghi N, Forouzandeh M. Effect of Solvent Extraction on Phenol, Flavonoids and Antioxidant Activity of some Iranian Native Herbs. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2019;27(3):14-26 https:doi.org/10.29252/sjimu.27.3.14 (In Persian)

41- saeidi s, fazeli nasab b. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of various extracts of the Rhazya stricta , Capparis spinosa , cretica Cressa. New Findings in Veterinary Microbiology 2019;2(1):57-66.

42- malayeri fa, yazdanpour z, bandani h, et al. Antimicrobial and anti-biofilm effects of Thyme essential oils and Peppermint on Acinetobacter baumannii and Staphylococcus aureus resistant to different antibiotics. New Findings in Veterinary Microbiology 2020;2(2):42-52.

43- Erfandoust Z, Najafi F, Tavakkoli Z, Rashidbaghan A. Comparison of antibacterial properties of *Mentha longifolia* L. hudson var. chlorodictya rech. f. cultivated in Sabzevar and Gorgan. Research in Pharmaceutical Sciences 2012;7(5):S787.

44- Heydari F, Saeedi S, Hassanshahian M. Antibacterial activity of *Mentha longifolia* against *Salmonella typhimurium*. Advanced herbal medicine 2015;1(3):42-47.

45- Rahnama M, Fazeli Nasab B, Mazarei A, Shahriari S. Evaluation of antimicrobial activity hydro alcoholic extract of some medicinal herbs against a range of Gram-positive and gram-negative bacteria. New Findings in Veterinary Microbiology 2018;2(1):1-19.

46- Soniya M, Kuberan T, Anitha S, Sankareswari P. In vitro antibacterial activity of plant extracts against Gram positive and Gram negative pathogenic bacteria. International Journal of Microbiology and Immunology Research 2013;2(1):1-5.

47- Miri N, Rezaeian-Doloei R, Sadrabadi Haghigh R. The effect of *Cuminum cyminum*, acidity, temperature and inoculums' level on the growth of *Xanthomonas campestris*. Agroecology Journal 2015;11(3):68-57. https://doi.org/10.22034/aej.2015.520861

48- Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M, Zarei Eskikand N. Antibacterial activity of essential oils from *Artemisia* and *Cumin* plants against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences 2011;15(1):6-14.

49- Gulfraz M, Mehmood S, Minhas N, et al. Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*. African journal of biotechnology 2008;7(24):4364-4368.

50- Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. J Nat Med 2007;61(3):313-317. https://doi.org/10.1007/s11418-007-0137-8

51- Sağdıç O, Özcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food control 2003;14(3):141-143. https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00057-9

52- Mazaher Ghorbani M, Ahmady-Asbchin S. Evaluation of Antibacterial Properties of *Coriander*, *Oregano*, *Fennel*, *Thyme* and *parsley* extracts, on Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591) , *Escherichia coli* (ATCC 23591) , Klebsiella (ATCC 10031) and *Salmonella Typhimurium*. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences 2018;25(4):591-598.

53- Saeedi M, Ebrahimzadeh MA, Morteza-Semnani K, et al. Evaluation of antibacterial effect of ethanolic extract of *Foeniculum vulgare* Mill. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2010;20(77):88-91.

Evaluation of antimicrobial activity of *Zataria multiflora* Bioss, *Mentha piperita* L, *Cuminum cyminum* L., *Foeniculum vulgare* Mill and *Anethum graveolens* L. essential oil on *Escherichia coli* isolated from poultry feces

Bahman Fazeli-Nasab[1*]. Pantea Ramazannezhad[2]. Yasoub Shiri[1]

1- Research Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Receive: May 16, 2020; Revise: June 14, 2020; Accept: October 16, 2020

Summary

The aim of this study was to investigate the effect of thyme, peppermint, cumin, dill, and fennel essential oils on *Escherichia coli* isolated from poultry feces. The essential oil of the plants used was obtained with a Clevenger Apparatus. *Escherichia coli* strains were isolated from poultry feces, and finally the minimum inhibitory concentration and the minimum lethal concentration were determined by fine-grained method. All strains of *Escherichia coli* at concentrations of 1.56 mg/ml were inhibited by both thyme and peppermint. The MBC (3.12 mg / ml) for *Zataria multiflora* and peppermint has inhibited one- and two-way, respectively. All *Escherichia coli* strains at concentrations of 0.63 mg/ml were inhibited by all three cumin, dill, and fennel plants. The MBC (1.25 mg / ml) for cumin has led to double-sided control, but the concentration for dill and fennel was 5 mg/ml. The results showed that cumin, thyme, peppermint and then fennel and dill essential oils, respectively, with emphasis on the effectiveness of cumin essential oil, can be useful alone or in combination with other antimicrobial agents to treat infections caused by *Escherichia coli* bacterium.

Key words: *Thyme, Peppermint, Escherichia coli, cumin, dill, fennel*