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

محمدمهدی سلطان‌دلال[۲،۱]*، محمدحسین یزدی[۳]، سولماز آقاامیری[۴]، شبنم حقیقت خواجوی[۵]، ترانه پیمانه عابدی محتسب[۶]، فرزانه امین هراتی[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، انستیتوپاستور 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)، نمابر: ۸۸۹۵۴۹۱۳ (۰۲۱)
پست الکترونیک: msoltandallal@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۱ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۴/۴

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 استافیلوکوکی، 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 وتعیین اثرات سینرژیستی این اسانس‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، اریترومایسین، تری متوپریم- سولفامتوکسازول و متی سیلین بر استافیلوکوکوس اورئوس انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه که به روش **In vitro** انجام شد، اثر ضدمیکروبی به همراه حداقل غلظت مهارکننده رشد **(MIC)** و حداقل غلظت کشنده باکتری **(MBC)** اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به تتراسایکلین، اریترومایسین، 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 تتراسایکلین، اریترومایسین، 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 استافیلوکوکی امیدوار بود.

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

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 اندام‌های تنفسی انسان و حیوانات خونگرم، امکان انتقال این ارگانیسم از انسان یا حیوان به مواد و فرآورده‌های غذایی را فراهم می‌آورد [۱].

مسأله مقاومت آنتی‌بیوتیکی در طول دو دهه اخیر چنان افزایش پیدا کرده که تمام پاتوژن‌های انسانی و تمام کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در بالین را در برگرفته است [۲].

با توجه به نقش مهم استافیلوکوکوس اورئوس در میان پاتوژن‌های انسانی و حیوانی و طیف گسترده بیماری‌های ناشی از آن و گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به نحوی که علاوه بر مقاومت نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های متداول، به بسیاری از کلاس‌های جدید آنتی‌بیوتیکی از جمله متی‌سیلین و ونکومایسین نیز مقاوم شده و همچنین با توجه به احتمال گردش سویه‌های مقاوم باکتری بین انسان، حیوان و محیط و به دنبال آن احتمال آلودگی آب و مواد غذایی، به کارگیری روش‌های جدید در مبارزه با این معضل، امری ضروری به نظر می‌رسد [۵، ۴، ۳].

در منابع مختلف گیاه‌شناسی و گیاه درمانی، به خواص ضدمیکروبی گیاهان مختلف موجود در کشورمان اشاره شده است. در سال‌های اخیر استقبال ذائقه عمومی نسبت به مصرف ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزین برای داروهای شیمیایی، رو به افزایش می‌باشد. همچنین اغلب پژوهشگران عقیده دارند که عوارض ناشی از مصرف داروهای گیاهی بسیار کمتر از داروهای شمیایی است. عمده‌ترین ترکیبات موجود در رزماری را ۱و۸- سینئول (1,8-cineol)، بورنئول (Borneol)، کامفر (Campher)، بورنیل استات (Bornyl acetate)، آلفاپی‌نن (α-Pinene) و بتاپی‌نن (β-pinene)، تشکیل می‌دهد [۷، ۶].

عمده‌ترین ترکیبات موجود در آویشن شیرازی *Zataria multilora* Bioss. تیمول (Thymol)، کارواکرول (Carvacrole)، سینئول (Cineol)، سیمن (Cymene)، آلفاپنن (α-Pinene) و برنئول (Borneol) می‌باشد [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 می‌کند که از نتایج این بررسی‌ها می‌توان جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی غیر قابل درمان با آنتی‌بیوتیک‌های رایج استفاده نمود، ضمن اینکه این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن شود [۱۴ – ۹].

در این مطالعه، هدف تعیین خواص آنتی‌باکتریال اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری با ایزوله‌های استافیلوکوکوس مقاوم به تتراسایکلین، تری متوپریم – سولفامتوکسازول، اریترومایسین و متی‌سیلین بود که بر اساس غربالگری مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس ایزوله شده از مواد غذایی در کار قبلی محققین انتخاب شدند [۱۴]. همچنین رابطه سینرژیستی اسانس‌های مذکور با این آنتی‌بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک

بررسی حاضر بر روی ۴ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، تری متوپریم- سولفامتوکسازول، اریترومایسین و متی‌سیلین ایزوله شده از مواد غذایی، صورت گرفت [۱۵].

اسانس‌ها

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

تهیه ترکیب رقیق‌شده اسانس‌ها

در بررسی اثرات ضدمیکروبی مواد برای رقیق نمودن یک

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 ضدمیکروبی 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 $\frac{۱}{۲۵۰}$ 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 (۸۷۳ µg/ml از اسانس رزماری و ۹۷۴ µg/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 $\frac{۱}{۲۵۰}$، 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 درنظر گرفته شد، تست MBC به صورت کشت از لوله MIC و یک لوله قبل و بعد از آن بر روی محیط مولر هینتون 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 هینتون آگار کشیده و دیسک‌های کاغذی با قطر ۹ میلی‌متر 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 هینتون آگار، به جای استفاده از دیسک بلانک آغشته به اسانس، از دیسک‌های تتراسایکلین (۳۰ µg)، متی‌سیلین (۵ µg)، تری متوپریم – سولفامتوکسازول (۲۳/۷۵ µg + ۱/۲۵) و اریترومایسین (۱۵ µg)، 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 ۳۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همچنین بیشترین میزان MIC در مورد اسانس رزماری با ایزوله مقاوم به اریترومایسین و تری متوپریم – سولفامتوکسازول و برابر ۶۲۵ 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 سینرژیسم، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به اسانس آویشن با ایزوله مقاوم به متی‌سیلین و برابر ۲۲ میلی‌متر بود (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۱- نتایج MIC آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده

آنتی‌بیوتیک / اسانس	متی‌سیلین (µg/ml)	اریترومایسن (µg/ml)	تتراسایکلین (µg/ml)	تری متوپریم- سولفامتوکسازول (µg/ml)
آویشن	۶۲۵	۶۲۵	۳۱۲/۵	۶۲۵
رزماری	۳۱۲۵	۶۲۵	۱۵۶۲/۵	۶۲۵

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

ایزوله مقاوم / اسانس	متی‌سیلین	اریترومایسن	تتراسایکلین	تری متوپریم- سولفامتوکسازول
آویشن	۲۰ میلی‌متر	۱۰ میلی‌متر	R*	۱۳ میلی‌متر
رزماری	R*	R*	R*	R*

جدول شماره ۳- نتایج اثر سینرژیسمی اسانس‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها در ایجاد هاله عدم رشد

آنتی‌بیوتیک / اسانس	متی‌سیلین	اریترومایسن	تتراسایکلین	تری متوپریم- سولفامتوکسازول
آویشن	۲۲ میلی‌متر	۱۳ میلی‌متر	۱۰ میلی‌متر	۱۵ میلی‌متر
رزماری	۱۶ میلی‌متر	R*	R*	R*

* Resistance

بحث

در این مطالعه اثرات ضدباکتریایی اسانس‌های آویشن شیرازی و رزماری به علاوه خواص سینرژیستی اسانس‌های نامبرده با چهار آنتی‌بیوتیک انتخابی بررسی شد، که نتایج بیانگر وجود خواص آنتی‌باکتریال و در بعضی موارد سینرژیستی با آنتی‌بیوتیک‌ها، بخصوص در مورد اسانس آویشن بود. علی‌رغم مشاهده نشدن اثرات ضدباکتریایی گیاه رزماری 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 رزماری، اثرات خوبی را علیه باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و مخمر نشان داد [۲۱].

در مطالعه دیگری که توسط دل کمپو (Del compo) و همکاران انجام شده به کارگیری عصاره آویشن منجر به بروز خواص سینرژیستی ضدمیکروبی 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 موردنظر کارواکرول و تعیین منطقه جلوگیری از رشد) و در محیط تریپتیک سوی براث (از روی

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 فکالیس، 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 اشرشیاکلی 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].

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

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.

تشکر و قدردانی

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

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 SzÖllÕsivarga 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 Bioss extract on *S. aureus* in BHI broth. *J. Medicinal Plants* 2005; 10: 54 - 60.

10. Bayat M and KHosravi A. In vitro evaluation effct 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 aglactiae*, *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 a ctivity 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 com position. *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 entritidis* 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, Gariepy C, Rodrigue N and Saucier L. Antimicrobial effect of natural preservatives in a coocked 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 Microbiool*. 2003; 85: 73 - 81.

Antimicrobial Effect of *Zataria multiflora* and *Rosemarinus officinalis* on Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Food

Soltan Dallal MM (Ph.D.)[1,2*], Yazdi MH (Ph.D.)[3], Aghaamiri S (Ph.D. Student)[4], Haghighat Khajavi SH (Ph.D.)[5], Abedi Mohtasab TP (B.Sc.)[1], Amin Harati F (M.Sc.)[1], Gorbanzadeh Meshkani M (M.Sc.)[2]

1- Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Department of Pharmaceutical Biotechnology, Biotechnology Process Development Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
4- Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Shahid Behesti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Faculty of Food Sciences and Engineering, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
* Corresponding author: Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +98-21-88992971
E-mail: msoltandallal@gmail.com

Abstract

Background: ***Staphylococcus aureuse*** **is one of the important pathogens which transmitted by food and has majority of habitant in human and animal community as a pathogen and normal flora. Antibiotic resistant among** ***Staphylococcus aureuse*** **strains is a global health challenge.**

Objective: Regarding to the different therapeutic and antimicrobial effect of ***Shirazi Zataria multiflora*** **and** ***Rosemarinus officonalis*** **in present work the antibacterial effect of this extract and its synergistic effect with routine antibiotics was investigated.**

Methods: In this in vitro study the antimicrobial effect of ***Shirazi Zataria multiflora*** **and** ***Rosemarinus officonalis*** **extract on methicillin resistant** ***Staphylococcus aureus*** **(MRSA) and other antibiotic resistant strains to tetracycline, erithromycine, trimethoprim, sulfamethoxazol, together with its MIC and MBC were determined. Also synergistic effect of these extracts with these antibiotics was investigated by paper disc method.**

Results: ***Shirazi zataria multiflora*****, had a significant antibacterial effect against MRSA, and other** ***Staphylococcus aureus*** **resistant strain to tetracycline, erithromycine, trimethoprim, and sulfametoxazol, isolated from food.**

Conclusion: Production of a suitable herbal medicine with few side effects will give rise to a promising outlook in the treatment of infections caused by antibiotic resistant strains of ***Staphylococcus aureus*****.**

Keywords: ***Rosemarinus officinalis*****,** ***Staphylococcus aureus*****,** ***Zataria multiform*****, Antibiotic Resistance, Minimum Inhibitory Concentration (MIC)**