پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۶، ویژه نامه ۱، زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۱ تا ۶

مقاله اصلی
(Original Article)

مقایسه اثرات ضد باکتریایی اسانس *Thymbra spicata* با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی

سمیه سبزعلی[۱]، سالار بختیاری[*۱و۲]، آرمان رستم زاد[۳]، مونا زمانیان عضدی[۴]

[۱] مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[۲] گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[۳] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام
[۴] مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به محدودیت‌ها و عوارض شناخته شده داروهای شیمیایی و وجود بعضی نتایج تحقیقات مبنی بر اینکه اسانس گیاه Thymbra spicata حاوی تیمول و کارواکرول بوده که دارای خواص ضد باکتریایی می‌باشند، در این پژوهش خواص ضد باکتریایی اسانس گیاه مذکور که بومی استان ایلام است، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج، مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. گیاه مذکور از کوه‌های زاگرس شهر ایلام جمع آوری و پس از شناسایی و نامگذاری، اسانس به وسیله کلونجر تهیه شد. غلظت‌های مختلف اسانس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری‌ها تاثیر داده شد. از آنتی بیوتیک‌های تشخیصی به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. میزان MIC و MBC نیز مشخص شد.*

یافته‌ها: *بیشترین قطر هاله مهاری در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مربوط به E. faecalis 2321 و کمترین قطر هاله مهاری در همین غلظت مربوط به S. typhi بود. نتایج MIC وMBC نیز نشان داد که به ترتیب کمترین میزان MIC مربوط به E. faecalis 2321 با ۷ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بوده و بیشترین میزان MIC مربوط به S. typhi وS. aureus 1885 با میزان MIC برابر با ۶۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که اسانس گیاه تیمبرا اثر مهاری بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج بر میکروارگانیسم‌های تحت بررسی دارد. اسانس این گیاه تاثیر مشابه روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارد.*

واژگان کلیدی: *Thymbra spicata، اسانس، ضدباکتریایی، آنتی‌بیوتیک.*

مقدمه

Thymbra spicata یا آویشن زوفایی (از خانواده Labiaceae) گیاهی است پایا که ترجیحاً در مناطق خشک و آفتابی تپه‌ها و مرغزارهای خشک می‌روید. ارتفاع این گیاه متفاوت و حدود ۴۰-۱۵ سانتی‌متر است و دارای گل‌های ارغوانی زیباست (۱). ماه‌های اردیبهشت تا خرداد فصل شکوفایی و باروری تیمبرا است. به دلیل وجود تیمول و کارواکرول که برای فعالیت‌های بیولوژیک و دارویی مهم است، گیاه شهرت زیادی دارد. اسانس موجود در قسمت‌های مختلف گیاه منبع خوبی از خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدان است. این گیاه که در طب سنتی ترکیه، یونان، مصر و روم برای درمان آسم و برونشیت استفاده می‌شود، در حال حاضر نیز برای بهبود طعم غذا کاربرد دارد

آدرس نویسنده مسئول: ایلام، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی، سالار بختیاری (**e-mail:** bakhtiyari-s@medilam.ac.ir)

(۲). این گیاه بومی استان ایلام بوده که مصارف سنتی فراوانی داشته و در بین اهالی منطقه از توجه و اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۳).

اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیباتی مانند مونوترپن‌ها، دی‌ترپن‌ها و هیدروکربن‌هایی با گروه‌های عملکردی متفاوت می‌باشند. در سال ۱۹۹۰ مونزا و همکاران تحقیقاتی در مورد پتانسیل فعالیت زیستی اسانس‌ها علیه باکتری‌ها و قارچ‌ها انجام دادند (۴، ۵). همچنین تحقیقات دیگر در مورد خواص ضد میکروبی (۱۰-۵) و ضد قارچی اسانس‌ها صورت گرفته است. از اسانس‌های گیاهی در صنایع غذایی، تحقیقات دارویی و موارد دیگر استفاده می‌شود (۱۴-۱۱).

تاکنون چندین مطالعه در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس تیمبرا انجام شده است. با این وجود تاکنون در مورد اثرات ضد باکتریایی گونه ایلامی این گیاه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. از طرف دیگر هیچ مطالعه چاپ شده‌ای در مورد اثرات گیاه تیمبرا بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس (ATCC 1885)، اشریشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، انترکوکوس فکالیس(ATCC 2321)، مورگانلا مورگانی، سالمونلا تیفی، کلبسیلا نمونیه، انتروباکتر آئروجینوزا و استافیلوکوکوس اپیدرماتیدیس (ATCC 2405) وجود ندارد. لذا، هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد باکتریایی اسانس تیمبرا بومی استان ایلام بر روی باکتری‌های فوق‌الذکر می‌باشد.

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. بخش‌های هوایی گیاه تیمبرا در اواخر اردیبهشت و اوایل خرداد ماه از رشته کوه‌های زاگرس در اطراف شهر ایلام جمع‌آوری شدند. پس از نامگذاری و شناسایی توسط کارشناسان گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در دمای اتاق و در سایه خشک شدند.

بخش‌های هوایی گیاه توسط آسیاب خرد شدند. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر آسیاب شده از اندام‌های هوایی گیاه به روش تقطیر با آب به مدت ۶ ساعت با دستگاه کلونجر (Clevenger apparatus) اسانس گیری به عمل آمد و پس از جداسازی اسانس از سطح آب، توسط سولفات سدیم آب‌گیری و در شیشه های تیره و در بسته نگهداری شد. مقدار ۳ میلی لیتر اسانس به ازای ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه حاصل شد.

باکتری‌های مورد آزمایش شامل استافیلوکوک اورئوس (ATCC 1885)، اشریشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، انترکوکوس فکالیس(ATCC 2321)، مورگانلا مورگانی، سالمونلا تیفی، کلبسیلا نمونیه، انتروباکتر آئروجینوزا و استافیلوکوکوس اپیدرماتیدیس (ATCC 2405) بودند.

باکتری‌های تحت مطالعه روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس از کلنی‌های این محیط توسط سرم فیزیولوژی رقت نیم مک‌فارلند کهOD آن در طول موج ۶۲۰ نانومتر برابر با ۰/۱-۰/۰۸ است، تهیه شد. از سوسپانسیون باکتری‌ها به وسیله‌ی سواپ کتانی استریل کشت چمنی گسترده بر روی محیط مولر هینتون آگار تهیه شد، سپس دیسک‌های کاغذی روی پلیت قرار داده شدند و مقدار ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس بر روی دیسک‌ها ریخته شد. در این تحقیق از آنتی‌بیوتیک‌های تشخیصی کلیندامایسین، استرپتومایسین، کانامایسین، جنتامیسین، متی‌سیلین، سیپروفلوکساسین و وانکومایسین نیز برای مقایسه تاثیر عصاره استفاده شد، سپس پلیت‌ها درون انکباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد به وسیله خط کش میلیمتری اندازگیری شد (۱۶، ۱۵).

به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC)، ابتدا از باکتری‌ها کشت تازه تهیه شد. پس از تهیه نیم مک‌فارلند از باکتری‌ها در محیط مولر هینتون براث، مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده به هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه، که حاوی ۵۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث بودند اضافه شد، سپس به هر چاهک میزان ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده، عصاره اضافه شد. پلیت‌های ۹۶ خانه به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شدند، سپس با مقایسه کدورت چاهک‌های تحت تیمار با چاهک‌های کنترل میزان MIC مشخص شد. به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)، از باکتری‌های تحت تیمار در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه از یک رقت پایین‌تر از حداقل غلظت مهارکنندگی و دو رقت بالاتر از آن بر روی محیط مولر هینتون آگار به صورت خطی کشت داده شد و کمترین غلظتی که در آن خط رشدی بر روی محیط آگاردار دیده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۶،۱۵).

یافته‌ها

تاثیر ۷ آنتی‌بیوتیک رایج و ۷ غلظت اسانس گیاه بر میزان هاله عدم رشد ۴ باکتری گرم مثبت در جدول ۱ و بر ۶ باکتری

جدول ۱. قطر هاله‌های عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) بر حسب باکتری‌های گرم مثبت به تفکیک آنتی‌بیوتیک‌ها و غلظت‌های مختلف اسانس *Thymbra spicata*

		S. aureus ATCC 1885	*E. faecalis ATCC 2321*	*B. cereus*	*S.epidermidis ATCC 2405*
Vancomycin		۶	۱۸	۶	۶
Ciprofloxacin		۲۷/۷	۱۸/۷	۲۴	۲۷/۳
Clindamycin		۹/۳	۸/۳	۶	۸/۷
Sterptomycin		۱۲/۳	۱۷/۳	۱۴/۳	۶
Methicillin		۶	۶	۶	۶
Gentamicin		۲۳	۲۲	۲۴/۳	۱۹/۳
Kanamycin		۲۳	۶	۱۴	۶
Essential oil (µl/ml)	۵۰۰	۳۵	۵۵	۴۰	۴۰
	۲۵۰	۲۸	۵۰	۳۶	۳۵
	۱۲۵	۲۰	۴۵	۲۸	۲۶
	۶۰	۱۲	۴۰	۲۰	۱۸
	۳۰	۱۱	۳۰	۱۴	۱۵
	۱۵	۷	۲۲	۱۰	۱۲
	۷	۷	۱۴	۸	۱۰

جدول ۲- قطر هاله‌های عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) بر حسب باکتری‌های گرم منفی به تفکیک آنتی‌بیوتیک‌ها و غلظت‌های مختلف اسانس *Thymbra spicata*

		P. aeruginosa	*E. coli*	*M. morganii*	*S. typhi*	*K. pneumonia*	*E. aerogenes*
Vancomycin		۶	۶	۶	۶	۶	۱۱
Ciprofloxacin		۲۱	۲۶/۳	۲۴/۷	۲۷/۷	۲۹	۲۵
Clindamycin		۶	۶	۶	۶	۶	۶
Gentamicin		۱۴/۳	۱۹/۳	۱۷/۳	۲۲/۷	۱۹/۷	۲۰/۷
Sterptomycin		۶	۱۲/۷	۱۲/۷	۹/۷	۱۴/۷	۱۵
Methicillin		۶	۶	۶	۶	۶	۶
kanamycin		۲۱	۱۱	۶	۱۲	۲۴	۲۰
Essential oil (µl/ml)	۵۰۰	۴۰	۴۵	۵۰	۳۵	۴۵	۴۵
	۲۵۰	۳۵	۳۷	۴۵	۳۰	۴۰	۴۰
	۱۲۵	۳۰	۲۰	۳۵	۲۰	۳۰	۳۵
	۶۰	۲۰	۱۵	۳۰	۱۳	۲۵	۳۰
	۳۰	۱۰	۱۱	۲۵	۱۲	۱۸	۲۷
	۱۵	۸	۹	۱۸	۱۲	۱۲	۱۹
	۷	۶	۷	۱۲	۹	۷	۱۳

گرم منفی در جدول ۲ ارائه گردیده است و نشان می‌دهد که تمام باکتری‌ها در ۵ غلظت اولیه کاملاً نسبت به اسانس گیاه حساس بودند. بیشترین تاثیر اسانس در غلظت ۵۰۰µl/ml دیده شد. بیشترین قطر هاله مهاری در بین باکتری‌های گرم مثبت در غلظت ۵۰۰µl/ml به باکتری *E. faecalis* ATCC 2321 با ۵۵ میلی‌متر اختصاص داشت و کمترین میزان قطر هاله‌ی مهاری در باکتری *S. aureus* ATCC 1885 با ۳۵ میلی‌متر دیده شد. بیشترین قطر هاله مهاری در بین باکتری‌های گرم منفی در غلظت ۵۰۰µl/ml به باکتری *M. morganii* با ۵۰ میلی‌متر اختصاص داشت و کمترین میزان قطر هاله مهاری در باکتری *S. typhi* با ۳۵ میلی‌متر دیده شد. در همین غلظت میزان هاله عدم رشد از همه آنتی بیوتیکهای مورد مطالعه بیشتر بود.

میزان MIC و MBC در باکتری‌های گرم مثبت در جدول ۳ و برای باکتری‌های گرم منفی در جدول ۴ ارائه گردیده است و نشان می‌دهد که کمترین میزان MIC در باکتری‌های گرم

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشنده اسانس *Thymbra spicata* برای باکتری‌های گرم مثبت

	S. aureus ATCC 1885	*E.faecalis ATCC 2321*	*B. cereus*	*S.epidermidis ATCC 2405*
MIC	۶۰	۷	۱۵	۳۰
MBC	۶۰	۱۵	۳۰	۳۰

جدول ۴- حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشنده اسانس *Thymbra spicata* برای باکتری‌های گرم منفی

	P. aeruginosa	*E. coli*	*M. morganii*	*S. typhi*	*K. pneumonia*	*E. aerogenes*
MIC	۳۰	۳۰	۱۵	۶۰	۱۵	۱۵
MBC	۶۰	۶۰	۳۰	۶۰	۳۰	۳۰

مثبت به باکتری *E. faecalis* ATCC 2321 اختصاص داشت. همچنین کمترین میزان MIC در باکتری‌های گرم منفی به ۳ بـاکتری *M. morganii*، *K. pneumonia* و *E. aerogenes* اختصاص داشت.

بحث

تحقیق نشان داد که اسـانس ایـن گیـاه از نظـر مهـار رشـد و کشندگی باکتری‌های گـرم مثبـت و منفـی در غلظـت ۲۵۰ و ۵۰۰ بیشتر از همه آنتی‌بیوتیک‌های رایج بود. تاکنون چنـدین مطالعه روی اسانس گیـاه تیمبـرا و ترکیبـات آن انجـام شـده است. نگاهی اجمالی به نتایج بدست آمده در مطالعات گذشته، نشان می‌دهد که اسانس استخراج شـده از انـدام هـوایی گیـاه تیمبرا حاوی ترکیباتی مثل تیمول و کارواکرول است (۱۷).

لیپوپلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی مـانع از رسـیدن ترکیب‌های فعال به غشای سیتوپلاسمی باکتریهای گرم منفی می‌شود. تیمول که یک ترکیب غیرقطبـی بـا حلالیـت بـالا در حلال‌های آلی با فرمول عمومی $C_{10}H_{140}$ است (۱۸)، به همراه کـارواکرول کـه یـک ترکیـب فنلـی بـا فرمـول عمـومی $C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$ و بویی شبیه به بوی پونه کـوهی دارد (۱۹)، به غشای بیرونی باکتریهای گرم منفی آسیب مـی‌زنـد و نفوذپذیری غشای سلولی را افزایش داده و باعث خروج ATP از سلول باکتری می‌شوند. کارواکرول اثر مهاری بر فعالیت پمـپ ATPaseدارد. کـارواکرول تولیـد پـروتئین شـوک حرارتـی (HSP60) را در *E.coli* O157:H7 القاء نموده و از سـنتز تـاژه جلوگیری می‌کند (۲۰). اثر سینرژیستیکی تیمول و کارواکرول به عنوان مواد ضد باکتریایی در مورد بعضی از باکتری‌ها دیـده شده است (۲۱). کارواکرول به عنوان یک ترکیب باکتری‌کـش بـوده کـه عملکـرد آن بـه غلظـت و زمـان تمـاس آن بـا میکروارگانیسم بستگی دارد. کـارواکرول بـا غشـای سـلولی از طریق تغییر در نفوذپذیری کانالهای H^+/K^+ واکـنش مـی‌دهـد. تغییر در شیب یونی منجـر بـه توقـف و اخـتلال عملکردهـای اساسی سلول و مرگ آن می‌گردد (۲۲).

آنالیز شیمیایی اسانس تیمبرا اسپیکاتا و بررسـی خـواص ضـد قارچی، ضد باکتریایی و ضد مایکوباکتریومی اسانس تهیه شده از برگهای تازه گیاه نشان داده که اسانس گیاه حاوی ترکیبات مختلفـی از جملـه کـارواکرول، P- سـیمن ، β- میرسـن، γ- ترپینن، α- ترپینن، ترانس- کاریوپیلن است. مشخص شد کـه اسـانس و کـارواکرول خـواص ضـد باکتریـایی و ضـد مایکوباکتریومی قوی دارند (۲۳). در مطالعه‌ای نشان داده شـد که اسانس تیمبرا اسپیکاتا روی بـاکتری‌هـای *B. cereus* و *E. coli* موثر است (۲۴).

تاثیر بیشتر اسانس گیـاه احتمـالاً بـه دلیـل وجـود تیمـول و کارواکرول بالای موجود در آن است. غلظت‌هـای ۲۵۰ و ۵۰۰ µl/ml اسانس دارای بیشترین تأثیر بر باکتری‌های گرم مثبـت و منفی بوده و در این غلظت‌ها قطر هاله‌های عدم رشد از تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این مطالعـه بیشـتر بـود. از آنجایی که امروزه مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی تهدید جدی برای سلامتی موجودات زنده بوده و با توجه به نتایج حاصل از ایـن مطالعه احتمالاً می‌توان از اسانس گیاه *Thymbra spicata* بـه عنوان یک ترکیـب مـوثر و جـایگزین داروهـای شـیمیایی در

درمان بیماری‌های باکتریایی استفاده نمود، اما این امر مستلزم تحقیقات تکمیلی بیشتر و جداسازی ترکیبات مـؤثر اسـانس و مطالعه تاثیر هر یک از ترکیبات بطور جداگانه می‌باشد.

قدردانی و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایـلام کـه بـا تصویب و تأمین هزینه‌های این طرح (شماره ۹۱۹۰۰۱/۱)، مـا را در انجام این پروژه تحقیقاتی یاری رسانیده‌اند، سپاسـگزاری می‌نماییم.

REFERENCES

1. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2000; 88: 308-16.
2. Shtayeh A, Yaniv Z, Mahajna J. survey in the Palestinian area: A classification of the healing potential of medicinal plants. J Ethnopharmacol 2000; 73: 221-25.
3. Tümen G, Ermin N, Özek T, Kürkçüoğlu M, Başer K.H.C. Compositions of Essential Oils From Two Varietes of Thymbra spicata L. Journal of Essential Oil Research 1994; 6: 463-95.
4. Muanza K, Kim BW, Euler KL, William L. Antibacterial and antifungal activities of nine medicinal plants from Zaire. Int J Pharmacol 1994; 32:337–345.
5. Muanza D.N, Euler K.L, William L. Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire. Interna-tional J Pharmacol 1995; 33:98–106.
6. Cowan MM. Plant product sasanti microbiala gents. Clin Microbiol Rev 1999; 12:564–82.
7. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oil sandother plant extracts. J Appl Microbiol 1999; 86: 985–90.
8. Hoffman BR, DelasAlas H, Wiederhold RE, William L. Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana. Pharmaceut Biol 2004; 42: 13–17.
9. Mau JL, Chen CP, Hsieh PC. Antimicrobial effect of extracts from Chines echive, cinnamonand Cornifructus. J Agric Food Chem 2001; 49: 183–88.
10. Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T. Antimicrobial activity of mint essential oil. J Agric Food Chem 1995; 43: 2384–88.
11. Adam K, Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antifungal activities of Origanum vulgare subsp. Hirtum, Menthaspicata, Lavandula angustifolia and Salviafruiticosa essential oil against human pathogenic fungi. J Agric Food Chem 1998; 46: 1739–45.
12. Deferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. GC-MS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Pennicillium digitatum. J Agric Food Chem 2000; 48: 2576–81.
13. Wang S-Y, Chen P-F, Chang S-T. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (Cinnamomumosmophloeum) leaves against wood decay fungi. Bioresource Technology 2005; 96, 813–18.
14. Rakotonirainy MS, Lavedrine B. Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. International Biodeterioration and Biodegradation 2005; 55: 141–47.
15. Baron EJ,Gold F, Sydney M, Editors. Diagnostic Microbiology. 8th ed. New York: Mosby Company; 1990.
16. Murray P, Baron R, Pfauer EJ, Tenoyer M, Yolken FC, Robert H, Editors. Manual of clinical Microbiology. 7th ed. Philadelphia: American Society for Microbiology; 1999.
17. Pauli A, Knobloch K. Inhibitory Effects of essential oil components on growth of food-contaminating fungi. Z Lebensm Unters Forsch 1987; 185: 10-15.
18. Galambosi B, Galambosi Z.S, pessala R, Hupila I, Aflatuni A, Repack M. Yield and quality of selected herb cultivars in Finland. Acta Horticulturae 2002; 576: 139-46.
19. Ultee A, Slump R.A, Steging G, Smid E.J. Antimicrobial activity of carvacrol toward Bacillus cereus on rice. J Food Prot 2000; 63: 620-26.
20. Burt SA, Zee RVD, Koets AP, Graaff AMD, Knapen FV, Gaastra W, et al. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in escherichia coli O157:H7. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 4484-91.

21. Didry N, Dubreuil L, Pinkas M, Activity of anthraquinonic comound on oral bacteria. Pharmazei 1994; 49, 681-684.

22. Ultee A, Kets E.P.W, Smid E.J. Mechanism of action of carvacrol on the food borne patyhogen Bacillus cereus. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 4606-12.

23. Naturforsch Z. Analysis of essential oil composition of Thymbra spicata var. spicata antifungal, antibacterial and antimycobacterial Activities. Turgut Kılıc 2006; 61: 324-28.

24. Akin M, Oguz D, Saracoglu HT. Antibacterial activity of essential oil from Thymbra spicata var. spicata L. and Teucrium polium (Stapf Brig.). Int J Pharmaceut Appl Sci 2010; 1: 55-58.