Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

June 2020. Vol 10. Issue 1

Research Paper

Antimicrobial Effect of Zataria Essential Oil on the Skin Bacteria in Wistar Rats

Soheila Faramarz Isfahanian[1], *Maryam Sadrnia[1], Sima Nasri[1], Hamid Sobhanian[1]

1. Department of Biology, PayameNoor University, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation: Faramarz Isfahanian S, Sadrnia M, Nasri S, Sobhanian H. [Evaluation of Antimicrobial Properties of Zataria Essential Oil on Skin Bacteria for Use in Cosmetics (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2020; 10(1):56-67. https://doi.org/10.32598/cmja.10.1.945.1

https://doi.org/10.32598/cmja.10.1.945.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 27 Sep 2019
Accepted: 13 Feb 2020
Available Online: 01 Jun 2020

Keywords:
Zataria essential oil, Cosmetics, Skin bacteria

ABSTRACT

Objective Zataria is one of the native plants of Iran which is widely used for the treatment of diseases among Iranians. In this study, we investigated the antimicrobial effects of Zataria essential oil on the skin bacteria in rats.

Methods Bacterial strains were isolated from the skin of 6 wistar rats and the antimicrobial effects of Zataria essential oil were evaluated by disk diffusion and microbroth dilution methods. In-vivo tests were performed to evaluate the antimicrobial effect of the essential oil by microbial culture as well as allergy tests on the skin of experimental rats compared to controls.

Results Three bacterial strains were isolated from the skin of rats identified as Staphylococcus aureus, Corynebacterium and Staphylococcus epidermidis. Minimum Growth Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for the two strains of Staphylococcus aureus and Corynebacterium were obtained 0.39 and 0.78 mg/ml, while for Staphylococcus epidermidis, they were 0.195 and 0.39 mg/ml, respectively. In-vivo test results showed the antibacterial effect of the essential oil on the skin bacteria and no inflammatory effects were observed under the allergy test.

Conclusion Zataria essential oil has antimicrobial effects on the skin infections in lower concentrations. The use of this essential oil as an antiseptic and preservative in cosmetics is recommended instead of chemical preservatives that generally have skin side effects.

Extended Abstract

1. Introduction

In cosmetics, preservatives such as parabens, benzyl alcohol, salicylic acid, alcohol sterols and formaldehyde are used to inhibit the growth of bacteria and fungi. Microbial contamination may be present in non-standard cosmetics from the beginning and may be transmitted to the consumer during production and packaging or during consumption and improper storage. The percentage of preservatives in the final product is usually between 0.01% and 5%. These chemicals can cause glandular and hormonal disorders. With the continuation of consumption, the possibility of their carcinogenicity also increases. Recent studies have emphasized the low efficacy of these substances. In this regard, the investigation for herbal ingredients as a preservative in cosmetics has recently become a priority. Zataria is one of the native plants of Iran and its consumption for treatment of diseases is common among Iranians. In this study, the effect of Zataria

* *Corresponding Author:*
Maryam Sadrnia, PhD.
Address: Department of Biology, PayameNoor University, Tehran, Iran.
Tel: +98 (918) 8608302
E-mail: msadrnia@yahoo.com

essential oil on skin bacteria was evaluated to examine its applicability to cosmetics.

2. Materials and Methods

In this study, 6 adult Wistar rats were used. The rats were first temporarily anesthetized by chloroform and then were given an intraperitoneal injection of Ketamine/Xylazine (2:1 dose ratio) to increase the anesthesia time proportional to their weight. The hair on the back of the rats was shaved and disinfected after anesthesia. This place was contaminated with three isolated bacteria including corynebacterium, staphylococcus epidermidis and staphylococcus aureus using a sterile swab with 0.5 McFarland standard concentration. In the three tested rats, 120 minutes after the skin was impregnated with the three bacteria, the essential oil with Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was sprayed to the microbial site. After 60 minutes, the spraying was repeated. At the end, 60 minutes after the second time of spraying, the skin of experimental rats impregnated with the microbe and treated with the essential oil, was sampled and cultured on the nutrient agar medium. Then, the colonies that had grown in this medium were laminated and compared with the lams of the previous stage. Moreover, after 30, 60 and 90 minutes of spraying the essential oil on the skin of rats in the experimental group, their skin reactions were examined.

Bacterial strains were isolated from the skin and the antimicrobial effects of Zataria essential oil were evaluated by disc diffusion and microbroth dilution methods. For isolation and identification of skin bacteria, the back of the rat's hand was washed with soap and dried. A sterile swab moistened with distilled water was applied to the back of the hand, and grass cultivation was performed on the Mueller-Hinton Agar. By conventional microbiological methods including cultivation in different mediums and colonial and staining studies, isolated bacteria were identified. For disk diffusion method, blank discs were placed at appropriate distances on the cultured medium and 20 µl of diluted Zataria essential oil was poured on each disc.

After 24 hours of incubation, the diameters of the zone of inhibitions were measured. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined in sterile 96-well microplates. First, 100 µl of culture media containing bacteria were poured into the all wells. Then, 100 µl of antimicrobial solution was added to the first well. From the second to the third well until the tenth well, 100 µl of solution was transferred each time. Next, 100 µl of pure microbial suspension was added to the 11th well and 100 µl of the antimicrobial solution to the 12th well. The turbidity which indicates the growth or non-growth of the bacterium, was measured by a microplate (Synergy HTX, BioTek Instruments, China) at a wavelength of 545 nm for all three bacteria. The concentration of the last non-growth well was recorded as MIC. The well concentrations were arranged in descending order, from 50 to 0.097 µl/ml. In-Vivo experiments were performed to evaluate the antimicrobial properties of microbial culture and its allergenicity on the skin of 6 rats compared with control mice.

3. Results

Three bacteria isolated from the skin were identified as staphylococcus aureus, corynebacterium, and staphylococcus epidermidis. The MIC and MBC for the two strains of Staphylococcus aureus and Corynebacterium were obtained 0.39 and 0.78 mg/ml, respectively and for Staphylococcus epidermidis, they were 0.195 and 0.39 mg /ml. The results of the MicroBroth dilution showed that Zataria essential oil in very low concentrations was able to inhibit the growth of all three bacteria. It should be noted that Staphylococcus aureus and Corynebacterium had higher MIC than Staphylococcus epidermidis. This means that the essential oil has inhibited the growth of Staphylococcus epidermidis with greater strength and speed. In-vivo test results showed the antibacterial effect of Zataria essential oil on the skin of rats, and no allergic effects were observed in the allergy assessment. In cultures of samples taken from the skin of control rats, all three bacteria grew during culture, but in the cultures of samples taken from the skin of experimental rats, none of them grew, which indicates that they were killed by Zataria essential oil. After 30, 60 and 90 minutes of treatment with Zataria essential oil, no allergic reaction caused by sensitivity to this essential oil was observed in the skin of experimental rats.

4. Conclusion

The Zataria essential oil in low concentrations has long-term antimicrobial effects on the infectious bacteria.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was conducted with the tracking code of: 2545562 and registered in the national committee of ethics in medical researchs: (Code: IR.PNU.REC.1396,6).

Funding

The present paper was extracted from the master thesis of the first author Department of Biology, Payame-Noor University.

Authors' contributions

Conceptualization: Maryam Sadrnia & Sima Nasri; Methodology: Maryam Sadrnia, Sima Nasri, Hamid Sobhanian; Software: Maryam Sadrnia; Validation: Maryam Sadrnia, Sima Nasri ,Hamid Sobhanian; Formal Analysis: Soheila Faramarz Isfahanian, Maryam Sadrnia; Investigation: Soheila Faramarz Isfahanian, Maryam Sadrnia; Resources: Sima Nasri ,Hamid Sobhanian; Data Curation: All Authors; Writing – Original Draft Preparation: Soheila Faramarz Isfahanian & Maryam Sadrnia; Writing – Review & Editing: All Authors; Visualization: Maryam Sadrnia; Supervision: Maryam Sadrnia; Project Administration: Maryam Sadrnia, Sima Nasri, Hamid Sobhanian; Funding Acquisition: Maryam Sadrnia, Sima Nasri, Hamid Sobhanian.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Research Vice Chancellor of Payame Noor University for their cooperation in conducting this research.

ارزیابی خواص ضدمیکروبی اسانس آویشن بر باکتری‌های پوست جهت استفاده در مواد آرایشی

سهیلا فرامرز اصفهانیان[۱]، *مریم صدرنیا[۱]، سیما نصری[۱]، حمید سبحانیان[۱]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۰۵ شهریور ۱۳۹۸
تاریخ پذیرش: ۲۴ بهمن ۱۳۹۸
تاریخ انتشار: ۱۲ خرداد ۱۳۹۹

چکیده

هدف آویشن یکی از گیاهان بومی ایران است که مصرف آن جهت درمان گیاهی بیماری‌ها، در بین ایرانیان رواج دارد. در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های پوست بررسی شده است.

مواد و روش‌ها سویه‌های باکتریایی از پوست جدا شدند و اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی با روش‌های انتشار دیسک و میکروپلیت دایلوشن روی آن‌ها ارزیابی شد. آزمایشات درون‌تنی جهت ارزیابی خواص ضدمیکروبی با کشت میکروبی و نیز ارزیابی آلرژی‌زایی روی پوست شش موش رت، در مقایسه با موش‌های گروه کنترل انجام شد.

یافته‌ها سه سویه باکتری از پوست جدا شدند و به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس، کورینه باکتریوم و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس شناسایی شدند. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای دو سویه استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم به ترتیب ۰/۳۹ و ۰/۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس به ترتیب ۰/۱۹۵ و ۰/۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. آزمایشات درون‌تنی، نمایانگر تأثیر آنتی‌باکتریال اسانس روی پوست رت‌ها بود و در تست آلرژی، هیچ‌گونه اثر التهابی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری نتایج این مطالعه، حاکی از اثرات کشندگی اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های پایین روی باکتری‌های عفونت‌زای پوست بود. استفاده از این اسانس، به عنوان یک عامل آنتی‌سپتیک و نیز نگهدارنده در کرم‌های آرایشی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی که عموماً دارای عوارض پوستی هستند، توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
اسانس آویشن، مواد آرایشی، باکتری‌های پوست

مقدمه

با ظهور عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها و بروز پدیده مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها، توجه دانشمندان و محققین به گیاه‌درمانی و مواد مؤثر در گیاهان دارویی معطوف شده است. آویشن شیرازی بومی کشورهای جنوب غربی آسیا مانند ایران، افغانستان، پاکستان و از گروه گیاهان گل‌دار و از خانواده لامیناسه است.

ترکیبات اصلی گیاه خشک آویشن شیرازی، تیمول و کارواکرول بوده و اجزای اصلی گیاه تازه عبارت‌اند از تیمول، کارواکرول، سیمن، پ ـ سیمن، لینالول و گاما ترپینن، آلفا پینن، اکتانن، بتا میرسن، اکتانل، لیمونن، سینئول، بورنئول و آلفا ترپینئول که مقادیر آن‌ها بر اساس فصل برداشت، سن گیاه، خاک، شرایط اقلیمی، منطقه جغرافیایی، شیوه خشک کردن گیاه و شیوه اسانس گیری متفاوت است. از خواص گیاه آویشن می‌توان به ضدقارچ، ضدحساسیت، ضدالتهاب، ضدکیست هیداتید و لیشمانیا تروپیکا و محافظ سیستم عصبی بودن، اشاره کرد. پماد حاصل از اسانس آویشن در ترمیم و بهبود برخی بیماری‌های جلدی مخصوصاً زونا، اثری مفید دارد [۱-۳].

لوازم آرایشی اغلب در معرض آلودگی‌های باکتریایی بوده و انتقال عوامل بیماری‌زا از این طریق، از مسائل بهداشتی مورد توجه متخصصین است. با توجه به استاندارد نبودن و استفاده گسترده از لوازم آرایشی، احتمال انتقال آلودگی و عفونت همواره از خطرات استفاده از این مواد محسوب می‌شود [۴، ۵].

آلودگی میکروبی ممکن است از ابتدا درون مواد آرایشی غیراستاندارد باشد و در زمان تولید و بسته‌بندی یا حین مصرف و عدم نگهداری صحیح، این مواد آلوده شوند و آلودگی را به مصرف کننده منتقل کنند [۶-۸].

در مواد آرایشی از مواد نگهدارنده از قبیل پارابن، بنزیل الکل، سالیسیلیک اسید، ستو استئاریل الکل و فرمالدهید جهت مهار رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده می‌شود. درصد مواد نگهدارنده در محصول نهایی معمولاً بین ۰/۰۱ تا ۵ درصد است. این مواد

* نویسنده مسئول:
دکتر مریم صدرنیا
نشانی: تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۸۶۰۸۳۰۲ (۹۱۸) ۹۸+
پست الکترونیکی: msadrnia@yahoo.com

شیمیایی می‌توانند باعث اختلالات غددی و هورمونی شوند. ضمن اینکه با تداوم مصرف امکان سرطان‌زایی آن‌ها نیز مطرح است. تحقیقات اخیر بر کارایی اندک این مواد تأکید دارند [۹، ۱۰]؛ بنابراین اخیراً جست‌وجو جهت برای یافتن گیاهی به عنوان نگهدارنده در مواد آرایشی اولویت پیدا کرده است. در این تحقیق، اثر اسانس آویشن بر باکتری‌های پوست با هدف استفاده در مواد آرایشی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و اسانس‌گیری

گیاه آویشن شیرازی از مزرعه گیاهان دارویی تهیه شد. گیاه با آب مقطر شست‌وشو شد و در دمای ۲۶-۳۰ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شد. نام علمی گیاه، اسم جنس و گونه آن توسط هرباریوم گیاهان دارویی صورت تأیید شد. اسانس‌گیری در دستگاه کلونجر و به نسبت ۵۰ گرم در نیم‌لیتر، انجام شد.

جداسازی و شناسایی باکتری‌های پوست

پشت دست با صابون شسته و خشک شد. یک سوآب استریل که با آب‌مقطر مرطوب شده بود به پشت دست کشیده و روی محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت چمنی داده شد. با کمک روش‌هایی معمول شناسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی شامل کشت در محیط‌های مختلف، بررسی کلنی و رنگ‌آمیزی، باکتری‌های جداشده در حد جنس و گونه شناسایی شدند.

روش انتشار دیسک

سوپانسیون باکتری تازه باغلظت ۱۰۸×۱/۵ معادل رقت نیم مک فارلند تهیه و روی محیط کشت مولرهینتون آگار کشت چمنی انجام شد. دیسک‌های بلانک در فاصله‌های مناسب روی محیط کشت قرارداده شده و روی هر دیسک ۲۰ میکرولیتر اسانس رقیق‌شده آویشن به میزان دو میکرولیتر اسانس خالص ریخته شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در ۳۷ درجه، قطر هاله‌های اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده

با کمک روش میکروپلیت دایلوشن، حداقل غلظت مهارکننده[1] با استفاده از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه استریل تعیین شد. ابتدا از محیط کشت مولر هینتون براث درون تمامی ۹۶ چاهک میکروپلیت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر ریخته شد. پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول ضدمیکروبی به اولین چاهک هر ردیف به میزان اضافه شد. از چاهک دوم به سوم تا خانه دهم هربار ۱۰۰ میکرولیتر منتقل و رقیق شدند. از ۱۰۰میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به چاهک یازدهم و به چاهک دوازدهم ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ضدمیکروبی اضافه شد. به میزان ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه انجام شد. کدورت که نشان‌دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود به کمک میکروپلیت ریدر (BioTek Instruments-Synergy HTX- China) در طول موج ۵۴۵ نانومتر برای هر سه باکتری انجام شد. غلظت آخرین چاهک عدم رشد به عنوان MIC ثبت شد. غلظت چاهک‌ها به ترتیب کاهشی از ۵۰ تا ۰/۰۹۷میکرولیتر بر میلی‌لیتر تنظیم شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها[2]، پس از تعیین حداقل غلظت مهارکننده، محتویات همه ۱۲ چاهک در محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پایین‌ترین غلظتی از ماده که در آن رشد صورت نگرفته بود، به عنوان MBC مشخص شد.

آزمایشات درون تنی

در این تحقیق جمعاً از شش موش رت ویستار بالغ استفاده شد. موش‌ها ابتدا توسط کلروفرم به صورت موقت بیهوش شده و سپس جهت افزایش زمان بیهوشی به هر کدام از آن‌ها متناسب با وزنشان از مخلوط ۲:۱ کتامین و زایلازل تزریق صفاقی صورت گرفت. موهای قسمت پشت رت‌ها تراشیده شد و آن ناحیه توسط پنبه الکل ضدعفونی شد. در هر شش موش، محل ضدعفونی شده و به کمک سوآب استریل، با رقت نیم مک فارلند به سه باکتری جداشده از پوست (کورینه باکتریوم، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلوکوکوس اورئوس) آغشته شد. سپس از پوست سه موش گروه کنترل که به میکروب‌ها آغشته شده بود، نمونه‌برداری به عمل آمد و روی محیط نوترینت آگار کشت انجام شد و پتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس از کلنی‌هایی که در این محیط کشت‌ها رشد کرده بودند لام‌گیری شد و باکتری‌ها از نظر خصوصیات سلول و ویژگی‌های کلنی مورد بررسی قرار گرفتند.

در سه موش موردآزمون نیز پس از گذشتن ۱۲۰ دقیقه از آغشته شدن پوست به سه باکتری پیش‌گفته، اسانس با غلظت MBC به موضع آغشته به میکروب، اسپری شد. پس از گذشت ۶۰ دقیقه از اولین مرتبه اسپری کردن اسانس، این کار مجدداً تکرار شد. در انتهای کار، پس از گذشت ۶۰ دقیقه از دومین مرتبه اسپری اسانس، از پوست موش‌های گروه آزمایش که به میکروب آغشته و با اسانس تیمار شده بود، نمونه‌برداری به عمل آمد و روی محیط نوترینت آگار کشت انجام شد. پتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس از کلنی‌هایی که در این محیط کشت‌ها رشد کرده بودند لام‌گیری و با لام‌های

1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

2. Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

مرحله قبل مقایسه شدند. همچنین پس از گذشت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه از اسپری شدن اسانس روی پوست موش‌های گروه آزمایش، واکنش‌های پوستی این سه موش مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

شناسایی جدایه‌ها

باکتری‌های جداشده از پوست تحت عناوین استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم شناسایی شدند.

نتایج آزمایشات برون تنی

نتایج اثر اسانس آویشن بر باکتری‌های جداشده از پوست در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود. اسانس آویشن به طور کامل از رشد باکتری کورینه باکتریوم ممانعت کرد و هیچ رشدی در مقایسه با نمونه گروه کنترل صورت نگرفته است. هاله ممانعت از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلی‌متر و هاله ممانعت از رشد باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ۱۲ میلی‌متر بود.

در بررسی تأثیر غلظت مهارکننده رشد اسانس آویشن بر باکتری‌های پوستی در روش میکروپلیت دایلوشن مشخص شد که MIC آویشن برای باکتری کورینه باکتریوم و استافیلوکوکوس اورئوس یکسان و برابر با مقدار ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر لیتر است.

مقدار MIC برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس نیز برابر با ۰/۰۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول شماره ۲ و تصویر شماره ۱).

حداقل غلظت کشندگی (MBC)، غلظتی از اسانس است که سبب کشته شدن باکتری و عدم رشد آن در چاهک میکروپلیت می‌شود و اگر باکتری را در این غلظت از اسانس، در محیط آگاری کشت دهیم رشدی مشاهده نمی‌شود. مقدار MBC برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم برابر با ۰/۰۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس برابر با مقدار ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (جدول شماره ۳ و تصویر شماره ۲).

نتایج آزمایشات درون تنی

طی کشت نمونه‌های گرفته‌شده از پوست رت‌های گروه کنترل هر سه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و کورینه باکتریوم رشد کردند.

در کشت‌های انجام‌شده از نمونه‌های گرفته‌شده از پوست رت‌های موردآزمون که باکتری‌های مورداستفاده در تحقیق روی آن‌ها قرار گرفته بودند، هیچ‌کدام از باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و کورینه باکتریوم که پوست موش‌ها با آن‌ها آغشته شده بود، رشد نکردند که بیانگر کشته شدن آن‌ها توسط اسانس آویشن بود. البته رشد در محیط‌هایی که نمونه‌های برداشته‌شده از پوست موش‌های گروه آزمایش در آن‌ها کشت داده شده بود، مشاهده شد که طی لام‌گیری، نوع باکتری‌ها متفاوت با باکتری‌های موردآزمون تشخیص داده شده و رشد، مربوط به آلوده شدن پوست به میکروب‌های محیط زندگی موش پس از تیمار توسط اسانس آویشن بود (تصویرشماره ۳ و تصویر شماره ۴). همان‌طور که در تصویر شماره ۵ مشاهده می‌شود، پس از گذشت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه از تیمار پوست موش‌های موردآزمون با اسانس آویشن در پوست این موش ها هیچ‌گونه واکنش آلرژیک ناشی از حساسیت به این اسانس مشاهده نشد.

جدول ۱. بررسی اثر اسانس گیاه آویشن با روش انتشار دیسک

نوع باکتری	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
Staphylococcus epidemidis	۱۲
Staphylococcus aureus	۱۵
Corynebacterium spp.	ممانعت کامل

مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

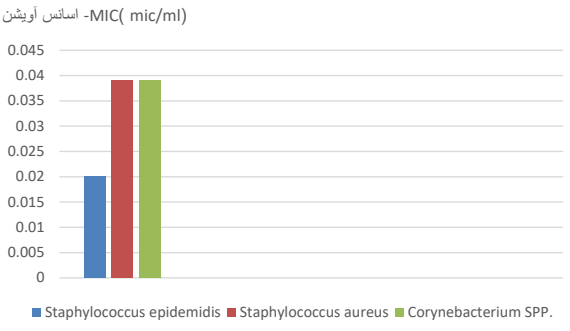
جدول ۲. بررسی حداقل غلظت بازدارندگی رشد به روش میکروپلیت دایلوشن بر باکتری‌های پوست

غلظت اسانس (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	رقت اسانس	نوع باکتری
۰/۱۹۵	۱/۵۱۲	Staphylococcus epidermidis
۰/۳۹	۱/۲۵۶	Staphylococcus aureus
۰/۳۹	۱/۲۵۶	Corynebacterium spp.

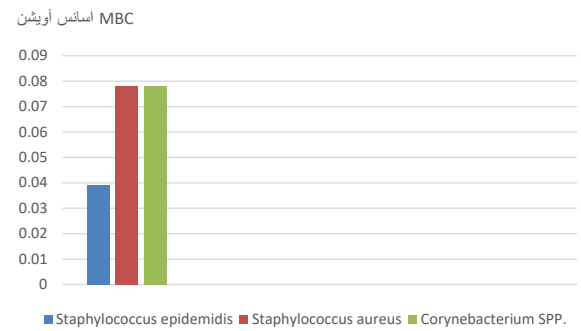
مجله طب مکمل
دانشگاه علوم پزشکی اراک

جدول ۳. بررسی حداقل غلظت کشندگی اسانس به روش میکروپلیت دایلوشن بر باکتری‌های پوست

نوع باکتری	چاهک MBC	رقت اسانس	غلظت اسانس (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
Staphylococcus epidermidis	۸	۱/۲۵۶	۰/۳۹
Staphylococcus aureus	۷	۱/۱۲۸	۰/۷۸۱
Corynebacterium spp.	۷	۱/۱۲۸	۰/۷۸۱



تصویر ۱. مقایسه MIC در سه باکتری موردمطالعه



تصویر ۲. مقایسه MBC سه نمونه باکتری

بحث

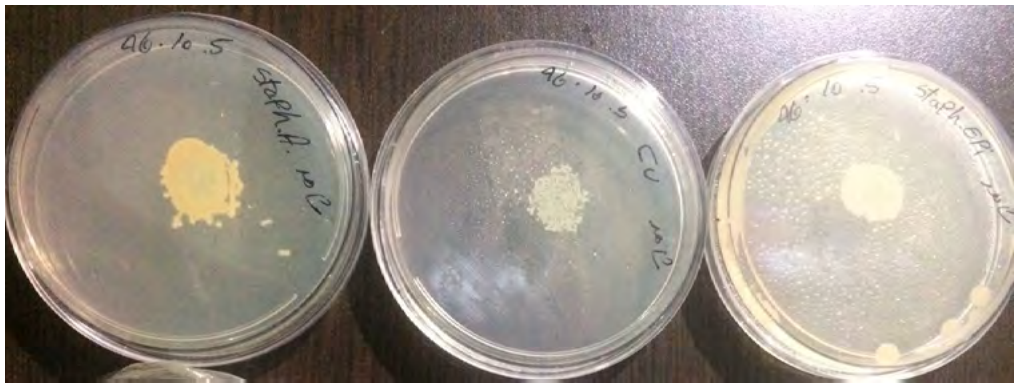
با توجه به مضرات نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد آرایشی، در این تحقیق استفاده از اسانس رقیق‌شده آویشن در کنترل باکتری‌های پوست، به خوبی نشان داده شد.

باکتری‌های ساکن پوست در صورت مناسب بودن شرایط محیطی سبب عفونت و زخم‌های پوستی می‌شوند. علاوه بر این، آلودگی مواد آرایشی قبل و بعد از تولید و حین مصرف، ضرورت استفاده از نگهدارنده را مسجل می‌کنند. استفاده از اسانس‌های گیاهی بهترین گزینه است؛ چراکه همواره و در طول تاریخ حیات انسان، گیاهان بهترین منابع غذا و دارو بوده‌اند [۱۱].

پژوهش‌های گسترده در سراسر جهان روی ترکیبات تشکیل‌دهنده گیاهان دارویی که بسیاری از آن‌ها به عنوان منبع غذایی نیز استفاده می‌شوند، توانایی این ترکیبات در میکروب‌کُشی، اثرات ضدالتهابی، ضدکانسر و ترمیمی را به‌صراحت نشان داده است. حضور ترکیبات مختلف، با قابلیت‌های متفاوت، سبب شده تا بتوان از گیاهان دارویی به صورت یک منبع استفاده کرد و شاید بتوان گفت همین عملکرد در گیاهان سبب شده که علی‌رغم استفاده طولانی از گیاهان، مقاومت دارویی نسبت به آن‌ها مشاهده نشده است؛ بنابراین در این مطالعه، اسانس گیاه آویشن شیرازی که بومی کشور ایران است و از دیرباز به عنوان دارو و ادویه مورد استفاده قرار می‌گرفته، انتخاب شد.

همچنین باید توجه داشت که امروزه رقابت جهانی در تمامی

تصویر ۳. واکنش پوست موش نسبت به اسانس آویشن پس از ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه (به ترتیب از چپ به راست).



تصویر ۴. واکنش پوست موش‌های گروه کنترل نسبت به اسانس آویشن پس از ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه (به ترتیب از چپ به راست).

عرصه‌های علمی، صنعتی، اقتصادی، پزشکی به شکلی بسیار هوشمندانه و به‌سرعت پیش می‌رود و در عرصه گیاهان دارویی و از دیدگاه طب آلترناتیو، نگرشی بسیار فراتر از جمع‌آوری و خشک کردن گیاهان دارویی و عرضه این گیاهان در عطاری‌ها وجود دارد. امروزه افق تازه‌ای در سیاست جهانی در عرصه گیاهان دارویی و فراورده‌های آن‌ها در جهت حفظ ویژگی‌های آن‌ها، بهبود و به نژادی، افزایش مواد مؤثر دارویی، استخراج و فورمولاسیون و عرضه مناسب آن‌ها گشوده شده است [۱۲، ۱۳].

در زمینه گیاهان دارویی و استفاده بهینه از آن‌ها، به جز شرایط کاشت، داشت و برداشت و مدیریت صحیح در توسعه اقتصادی این اقلام، همواره در میان اوراق کتاب‌های گیاه‌شناسی، جایگاه اطلاعات دقیق فتوشیمیایی این گیاهان، خالی است. شناسایی دقیق ترکیبات تشکیل‌دهنده این گیاهان، خواص هریک از ترکیبات، خواص سینرجیک ترکیبات موجود در یک گیاه، خواص مخلوط چند گیاه دارویی، دُز مصرف مؤثر هر گیاه در درمان بیماری‌ها، شناسایی گیاهان مؤثر در پیشگیری از بروز بیماری‌ها، خواص این گیاهان در ابعاد نانو و بسیاری پرسش‌ها در خصوص چگونگی خواص گیاهان دارویی دامنه تحقیقاتی وسیعی را پیش روی جوامع علمی جهان گشوده است. یکی از این گیاهان مطرح در داشتن خواص بسیار و موارد استفاده فراوان در زمینه‌های مختلف، گیاه دارویی آویشن شیرازی است [۱۳].

مصحفی و همکاران، پژوهشی گسترده در زمینه اثرات آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره آویشن شیرازی[3] به صورت برون‌تنی، به انجام رساندند. بر اساس یافته‌های این محققان پراکسیداسیون لیپیدی فرایندی چندمرحله‌ای است که در سلول‌های هوازی رخ داده و به فعل و انفعالات میان اکسیژن مولکولی و اسید چرب غیراشباع منتهی می‌شود. رادیکال‌های آزاد عوامل شناخته شده‌ای هستند که سهم بسزایی در پراکسیداسیون

3. Zataria multiflora

تصویر ۵. واکنش پوست موش نسبت به اسانس آویشن پس از ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه (به ترتیب از چپ به راست)

لیپیدی داشته و باعث نابودی مواد غذایی، ایجاد زمینه رشد میکروارگانیسم‌ها و پیشرفت سرطان می‌شوند. ترکیبات آنتی اکسیدان مانع تولید و فعالیت رادیکال‌های آزاد می‌شوند. مصحفی به توانایی میکروب‌کُشی قابل توجه اسانس آویشن شیرازی در برابر هشت باکتری موردآزمایش اشاره کرد و یافته‌ها در مورد تأثیرات باکتریوسایدال این اسانس را چنین تشریح کرد که اسانس در مقایسه با عصاره متانولی توانایی باکتریوسایدال قوی‌تری را نشان داد که این می‌تواند به دلیل حضور ترکیبات متعددی از جمله فلاونوئیدها و ترکیبات پلی‌فنولیک با قطبیت بیشتر و یا مقاوم در برابر حرارت باشد. علاوه بر این، وجود رزمارینیک اسید در عصاره متانولی گیاه را احتمالاً سبب اثرات ضدباکتری آن دانسته است [۱۴]. در پژوهش حاضر جهت بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس آویشن از روش‌های مختلف invitro و invivo استفاده شد.

با توجه به ضرورت نفوذ اسانس به درون بافت مشبک آگار جهت تأثیر آن بر باکتری‌ها، این نفوذ به‌خوبی صورت نگرفته و بنابراین نتایج مناسبی حاصل نمی‌شود. این امر به‌خصوص در مورد اسانس‌ها که ساختار روغنی دارند، محتمل‌تر است. به همین دلیل ضروری است که پس از انجام روش دیسک دیفیوژن از روش استاندارد میکروپلیت دایلوشن نیزاستفاده شود. در این روش غلظت مؤثر اسانس جهت مهار رشد باکتری‌ها (MIC) مشخص می‌شود. گاهی به علت عدم دقیق بودن تست دیسک دیفیوژن، نتایج این روش مؤید نتایج میکروپلیت دایلوشن نیست که در این شرایط به نتایج روش میکروپلیت دایلوشن اعتماد و استناد می‌شود. همچنین غلظت مناسب اسانس برای کشتن میکروب‌ها (MBC) با کشت دادن حجم کمی از محتویات چاهک‌های دارای غلظت اسانس بالاتر از MIC در محیط کشت آگاری صورت می‌گیرد. در این روش در صورت مشاهده رشد تعداد کم کلنی در یک غلظت می‌توان آن تعداد کلنی را نادیده گرفت و آن غلظت را کشنده فرض کرد.

یزدی و همکاران در پژوهشی تأثیر اسانس گیاهی، Zataria multiflora Boiss. ، Myrtus communis L. و Eucalyptus officinalis روی باکتری‌های استرپتوکوکوس پنومونیه، هموفیلوس آنفلوآنزا و موراکسلا کاتارهالیس را به روش In Vitro بررسی کردند. هدف پژوهش، درمان بیماران مبتلا به سینوزیت و برونشیت به کمک اسانس‌های گیاهی و اجتناب از مصرف آنتی‌بیوتیک بود. در تست دیسک دیفیوژن مشخص شد که بیشترین قطر هاله عدم رشد باکتری استرپتوکوکوس پنومونیه مربوط به آویشن شیرازی (۵۲ میلی‌متر) بوده است. او در خصوص تأثیر اسانس آویشن شیرازی روی باکتری‌های عامل سینوزیت و برونشیت، MIC آویشن را در مورد استرپتوکوکوس پنومونیه برابر با ۱۶۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد موراکسلا کاتارهالیس ۸۱ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کرد [۱۵].

صفری و همکاران، در پژوهشی روی تأثیر تعدادی از اسانس‌های گیاهان بومی ایران روی باکتری Streptococcus iniae (عامل بیماری استرپتوکوکوزیس، مشترک بین آبزیان و انسان)، از اسانس گیاه آویشن شیرازی استفاده کرده است. ایشان اهمیت این پژوهش را به دلیل تأثیر گسترده خسارات این باکتری در حوزه صنعت آبزی‌پروری جهان (ایجاد بیماری در ۵۷ گونه ماهیان آب شیرین، لب‌شور و شور) بیان کرده و با خاطرنشان کردن عوارض بیماری استرپتوکوکوزیس در انسان‌ها (علائمی مانند سپتی سمی، کوری، التهاب سلولی، تهوع و مشکلات گوارشی)، استعداد مقاومت این باکتری به دارو را نیز هشدار داده است. در این پژوهش استفاده از اسانس‌های گیاهی جایگزین مناسبی برای مبارزه با این باکتری خطرناک دانسته شده و جهت جست‌وجوی توانایی باکتری‌کُشی آویشن شیرازی برای باکتری موردآزمایش، تست‌های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری‌کُشی صورت گرفته است و قطر هاله رشد در تست دیسک دفیوژن در مورد اسانس آویشن شیرازی را ۲۷-۲۹ میلی‌متر گزارش کرده است [۱۶].

در تحقیق حاضر بررسی اثر اسانس گیاه آویشن با روش کربی بائر (انتشار دیسک) بر باکتری‌های پوست نشان داد که هر سه باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم دارای حساسیت بالایی نسبت به اسانس آویشن بوده و اسانس توانست از رشد هرسه این باکتری‌ها ممانعت به عمل آورد. البته این تأثیر بر کورینه باکتریوم بیش از دو باکتری دیگر بود. نتایج حاصل از این پژوهش مؤید نتایج پژوهش‌های پیشین در زمینه‌های مشترک با این مطالعه بوده است.

جبلی جوان، در پژوهشی به بررسی تأثیر اسانس‌های زنیان و آویشن شیرازی به‌تنهایی و توأمان روی برخی باکتری‌های عامل فساد مواد غذایی (اشریشیاکولی، سالمونلاتیفی موریوم، لیستریا ـ مونوسایتوژنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس)، پرداخته است. جبلی در این پژوهش، از روش استاندارد میکروپلیت دایلوشن، استفاده کرده و مقدار MIC اسانس آویشن شیرازی را برای باکتری باسیلوس سرئوس ۲۵۰ ppm و برای بقیه باکتری‌ها ۵۰۰ ppm محاسبه کرده است [۱۷].

متوسل و همکاران در سال ۱۳۹۳، اثر باکتریوسایدال آویشن شیرازی بر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین[4]، استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس را بررسی کردند و مقادیر MIC برای سویه‌های یادشده را با روش میکروپلیت دایلوشن به ترتیب ۳۲، ۱۶، ۱۶، ۱۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش دادند. آن‌ها اثبات کردند که عصاره الکلی آویشن شیرازی توانایی نابودی ۶۲/۶ درصد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس

4. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) را دارد و حداقل غلظت باکتری‌کُشی (MBC) استاف اورئوس حساس به متی‌سیلین، استاف اورئوس ATCC25923، استاف اپیدرمایدیس و استاف ساپروفیتیکوس را به ترتیب ۲۵۶، ۵۱۲، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. آن‌ها در این مطالعه پیشنهاد دادند که با توجه به تأثیر باکتریوسیدال مقادیر کم عصاره آویشن شیرازی بر باکتری‌های موردآزمایش، پژوهش‌های بیشتری جهت استفاده از این عصاره در ضمادهای پوستی با هدف باکتری‌زدایی انجام شود [۱۸].

در ادامه تحقیق حاضر، برای حصول نتایج دقیق‌تر و محاسبه مقادیر حداقل غلظت‌های بازدارندگی از رشد و باکتریوسایدال، انجام آزمایشات استانداردی از جمله میکروپلیت دایلوشن و کشت‌های تکمیلی انجام شد.

نتایج میکروپلیت دایلوشن ارائه‌شده در این پژوهش (جدول شماره ۱) نشان داد که اسانس آویشن در غلظت‌های بسیار کم توانایی مهار رشد هر سه باکتری کورینه باکتریوم، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس را داشت. باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم دارای MIC بالاتری نسبت به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بودند. این بدان معنی است که اسانس با قدرت و سرعت بیشتری رشد باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس را مهار کرده است.

در اجرای روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، جذب نوری در ۵۴۰ نانومتر در چاهک شماره ۱ برای هر سه باکتری کمترین مقدار بود و در چاهک‌های بعد، جذب کاهش یافت. وجود جذب نوری در اولین چاهک، مربوط به رنگ اسانس مورد استفاده بود. در چاهک‌های بعدی به علت کاهش غلظت اسانس، جذب نیز کاهش یافت. روند کاهش جذب برای استافیلوکوکوس اورئوس تا چاهک شماره هشت، برای کورینه باکتریوم تا چاهک شماره هشت و برای استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس تا چاهک شماره ۹ ادامه یافت و از چاهک‌های اشاره‌شده به بعد مجدداً افزایش یافت. این افزایش جذب نوری مربوط به رشد باکتری و افزایش مجدد کدورت محیط کشت بود؛ بنابراین مشخص شد که MIC اسانس آویشن برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم در چاهک شماره هشت با غلظت ۰/۰۳۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس و برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در چاهک شماره ۹ با غلظت ۰/۰۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حاصل شده است. یافته‌های فوق مؤید نتایج پژوهش‌های پیشین بود و بیانگر تأثیر بسیار بارز اسانس آویشن شیرازی در ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها و کنترل میکروبی محیط می‌شود.

در ادامه تحقیق مقدار حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس نیز تعیین شد. در این بخش نیز مشاهده شد که هر سه باکتری در غلظت‌های کم اسانس کشته شدند. باکتری استافیلو ـ کوکوس اپیدرمیدیس در مقایسه با دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم حساسیت بیشتری نسبت به اسانس آویشن از خود نشان داد و در غلظت کمتری از آن کشته شد.

می‌توان جمع‌بندی نمود باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس و کورینه باکتریوم دارای حساسیت بالاتری نسبت به اسانس بود و با به‌کارگیری غلظت کمی از آن در محصولات آرایشی و یا استفاده از محلول رقیق آن به‌سرعت نابود می‌شود.

نهایتاً می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به اینکه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، کورینه باکتریوم و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس توانایی نفوذ به لایه‌های زیرین پوست از طریق منافذ یا زخم و خراش پوستی را دارند و در این حالت سبب بروز التهاب و عفونت و نهایتاً ظهور جوش‌ها و دمل‌های چرکی می‌شوند، ممانعت از رشد و همچنین نابودی آن‌ها اهمیت بسیار زیادی از نظر بهداشت پوست دارد. با توجه به وجود چربی در ساختار اکثر لوازم آرایشی که سبب ایجاد شرایط مساعد برای رشد این باکتری‌ها می‌شود، توانایی اسانس آویشن در مهار رشد و نابودسازی باکتری‌های مورد اشاره دو چندان می‌شود.

پیرامون حفظ سلامت با استفاده از اسانس آویشن شیرازی و عدم حصول تظاهرات آلرژیک نیز پژوهش‌های مختلفی انجام شده است. مصحفی و همکاران، در مورد اثرات ضدالتهابی اسانس و عصاره آویشن شیرازی، به اثربخشی عصاره بخش‌های هوایی این گیاه در بهبود التهاب حاد و مزمن در موش رت اشاره کرده‌اند [۱۴].

بررسی اثر اسانس رقیق آویشن بر باکتری‌های مورداستفاده در پژوهش و همچنین بررسی اثر آلرژی‌زایی اسانس بر پوست در شرایط In vivo بر موش‌های نژاد رت ویستار صورت گرفت. نتایج مشخص کرد که کلنی‌های حاصل از نمونه‌برداری پوست موش‌های گرئه کنترل از نظر خصوصیات سلولی و ویژگی‌های ظاهری آن (شکل، اندازه و آرایش سلول‌ها) و همچنین ویژگی‌های ظاهری کلنی با میکروب‌های نمونه‌برداری‌شده از روی پوست موش‌های گروه آزمایش متفاوت بودند. این امر بیانگر از بین رفتن باکتری‌های افزوده‌شده به پوست موش‌های گروه آزمایش توسط اسانس گیاه آویشن بود. باکتری‌های رشدیافته بر پوست موش‌های گروه کنترل به علت عدم تیمار با اسانس، بر پوست موش باقی مانده و پس از نمونه‌گیری و کشت در محیط آگاری رشد یافتند. اما باکتری‌های تلقیح‌شده روی پوست موش‌های گروه آزمایش پس از تیمار پوست با اسانس آویشن به طور کامل از بین رفتند. پس از آن با حذف شدن اسانس از روی پوست و نشستن باکتری‌های محیط بر پوست موش‌های آزمون، باکتری‌های محیطی امکان رشد یافتند.

استفاده از داروهای شیمیایی راه‌حل قطعی درمان آلرژی نیست و استفاده از گیاهان دارویی توصیه و داروی‌های گیاهی به عنوان ضدآلرژی معرفی شده‌اند. دو دسته دارو برای کنترل آلرژی وجود دارد؛ یک دسته از این داروها، داروهای شیمیایی

و آنتی‌هیستامین‌ها هستند که هیستامین‌های خون را خنثی می‌کنند و فرد به حالت عادی برمی‌گردد. منتها این روش تمام طول عمر به افراد توصیه نمی‌شود. دسته دوم داروهای گیاهی برای کنترل آلرژی است. یکی از قوی‌ترین این داروها، آویشن است. آویشن دارای خاصیت آنتی‌هیستامینی خوبی است که به دو شکل می‌توان آن را استفاده کرد. روش اول، روش سنتی و به صورت دم‌کرده آن به صورت تنها یا همراه با سایر گیاهان معطر مثل پونه و نعناع است و روش دوم از طریق فراورده‌های صنعتی که به صورت شربت ارائه شده است [۱۹، ۲۰].

نتایج تحقیق حاضر در خصوص عدم آلرژی‌زایی اسانس رقیق‌شده آویشن بسیار مطلوب بود و هیچ‌گونه تظاهرات آلرژیکی روی پوست رت‌ها مشاهده نشد.

با توجه به ترکیبات موجود در گیاه دارویی آویشن شیرازی، انتظار آنتی‌آلرژیک بودن این گیاه و فراورده‌های آن، دور از ذهن نیست. با حضور ترپن‌های آنتی‌آلرژیک نظیر تیمول، کارواکرول، سیمن، لینالول و گاما ترپینن در عصاره و اسانس آویشن، انتظار می‌رود در تست‌های آلرژی درون‌تنی روی موش‌های رت، تظاهرات آلرژیک ظاهر نشود.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش انجام‌شده، قدرت میکروب‌کُشی اسانس آویشن شیرازی را بر باکتری‌های انتخاب‌شده، اثبات کرد. همچنین غیرآلرژی‌زا بودن این اسانس نیز در مطالعه درون‌تنی به اثبات رسید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد اسانس آویشن شیرازی کاندیدای مناسبی جهت جایگزینی مواد نگهدارنده در ترکیبات آرایشی است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد رهگیری 2545562 و در کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های پزشکی به شماره IR.PNU.REC.1396,6 ثبت شده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول سهیلا فرامرز اصفهانیان در رشته بیوتکنولوژی میکروبی، در گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی: مریم صدرنیا و سیما نصری؛ اعتبارسنجی، روش‌شناسی: مریم صدرنیا، سیما نصری، حمید سبحانیان؛ نرم افزار: مریم صدرنیا؛ تجزیه و تحلیل: سهیلا فرامرز اصفهانیان، مریم صدرنیا؛ منابع، سیما نصری، حمید سبحانیان؛ سازماندهی داده‌ها: تمام نویسندگان؛ آماده‌سازی متن اولیه: سهیلا فرامرز اصفهانیان، مریم صدرنیا؛ نظارت: مریم صدرنیا؛ مدیریت: مریم صدرنیا، سیما نصری، حمید سبحانیان؛ تامین اعتبار: مریم صدرنیا، سیما نصری، حمید سبحانیان.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور جهت همکاری در انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

References

[1] Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Taee H, Azimullah Sh, Ojha SK. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. Frontiers in Pharmacology. 2017; 8:380. [DOI:10.3389/fphar.2017.00380] [PMID] [PMCID]

[2] Martins IM, Rodrigues SN, Barreiro F, Rodrigues AE. Microencapsulation of thyme oil by coacervation. Journal of Microencapsulation. 2009; 26(8):667-75. [DOI:10.3109/02652040802646599] [PMID]

[3] Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology. 2001; 91(3):453-62. [DOI:10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x] [PMID]

[4] Ghazvini K, Safdari H. [Bacterial contamination of eye cosmetics before and after use in Iran (Persian)]. Research in Medicine. 2007; 31(2):159-62. http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-394-en.html

[5] Morse LJ, Williams HL, Grenn FP, Eldridge EE, Rotta JR. Septicemia due to Klebsiella pneumoniae originating from a hand-cream dispenser. The New England Journal of Medicine. 1967; 277(9):472-3. [DOI:10.1056/NEJM196708312770906] [PMID]

[6] Campana R, Scesa C, Patrone V, Vittoria E, Baffone W. Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: Health risk and efficacy of preservative systems. Letters in Applied Microbiology. 2006; 43(3):301-6. [DOI:10.1111/j.1472-765X.2006.01952.x] [PMID]

[7] Güven N, Kaynak Onurdağ F. [Investigation of antimicrobial and antibiofilm effects of some preservatives used in drugs, cosmetics and food products (Turkish)]. Mikrobiyoloji Bülteni. 2014; 48(1):94-105. [PMID]

[8] Halla N, Fernandes IP, Heleno SA, Costa P, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, et al. Cosmetics preservation: A review on present strategies. Molecules. 2018; 23(7):1571. [DOI:10.3390/molecules23071571] [PMID] [PMCID]

[9] Kizhedath A, Wilkinson S, Glassey J. Assessment of hepatotoxicity and dermal toxicity of butyl paraben and methyl paraben using HepG2 and HDFn in vitro models. Toxicology in Vitro. 2019; 55:108-15. [DOI:10.1016/j.tiv.2018.12.007] [PMID]

[10] Lundov MD, Johansen JD, Zachariae C, Moesby L. Low-level efficacy of cosmetic preservatives. International Journal of Cosmetic Science. 2011; 33(2):190-6. [DOI:10.1111/j.1468-2494.2010.00619.x] [PMID]

[11] Cogen AL, Nizet V, Gallo RL. Skin microbiota: A source of disease or defence? The British Journal of Dermatology. 2008; 158(3):442-55. [DOI:10.1111/j.1365-2133.2008.08437.x] [PMID] [PMCID]

[12] Ali B, Al-Wabel NA, Shams S, Ahamad A, Khan SA, Anwar A. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2015; 5(8):601-11. [DOI:10.1016/j.apjtb.2015.05.007]

[13] Ashtaral Nakhai L, Mohammadirad A, Yasa N, Minaie B, Nikfar Sh, Ghazanfari Gh, et al. Benefits of Zataria multiflora Boiss in experimental model of mouse inflammatory bowel disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2007; 4(1):43-50. [DOI:10.1093/ecam/nel051] [PMID] [PMCID]

[14] Moshafi MH, Mansouri Sh, Sharififar F, Khoshnoodi M. [Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract of Zataria multiflora Boiss (Persian)]. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2007; 14(1):33-43. https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?ID=57685

[15] Yazdi MH, Pourmand MR, Bayat M, Shahinjafari A. [In vitro antimicrobial effects of Zataria multiflora Boiss., Myrtus communis L. and Eucalyptus officinalis against Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis and Haemophilus influenza (Persian)]. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2008; 23(4):477-83. https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?ID=73853

[16] Safari R, Adel M, Monji H, Riyahi Cholicheh H, Nematolahi A. [Evaluation of antibacterial effect some of the endemic herbal essential oils on Streptococcus iniae in invitro (Persian)]. Journal of Aquatic Ecology. 2015; 4(4):33-40. https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?ID=292529

[17] Jebelli Javan A. [Combinational effects of Trachyspermum ammi and Zataria multiflora Boiss essential oils on some pathogenic food-borne bacteria (Persian)]. Koomesh. 2016; 17(2):374-83. http://koomeshjournal.semums.ac.ir/article-1-2779-en.html

[18] Motevasel M, Okhovat MA, Zomorodian K, Farshad Sh. [Antibacterial effect of Zataria multiflora extract on MRSA (Persian)]. Iranian South Medical Journal. 2014; 17(5):900-6. http://ismj.bpums.ac.ir/article-1-604-en.html

[19] Ghafourian Boroujerdnia M, Azemi ME, Hemmati AA, Taghian A, Azadmehr A. Immunomodulatory effects of Astragalus gypsicolus hydroalcoholic extract in ovalbumin-induced allergic mice model. Iranian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology. 2011; 10(4):281-8. [PMID]

[20] Nikakhlagh S, Rahim F, Hossein Nejad Aryani F, Syahpoush A, Ghafouryan Brougerdnya M, Saki N. Herbal treatment of allergic rhinitis: The use of Nigella sativa. American Journal of Otolaryngology. 2011; 32(5):402-7. [DOI:10.1016/j.amjoto.2010.07.019] [PMID]