

# Synergistic and antibacterial effect of essential oils (*Zataria Multiflora*, *Salvia mirzayanii*, *Eucalyptus*) and lactic acid bacteria on multi-drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*

Amene Vahid<sup>1</sup>, Elham Moazamian<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSc. Student, Department of Microbiology, Islamic Azad university, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad university, Shiraz, Iran

## Abstract

**Background:** Due to the importance of using probiotics, in this study, the synergy effect of *Lactobacillus* and essential oils of *Zataria Multiflora*, *Salvia mirzayanii*, *Eucalyptus* against the pathogenic bacterium *Acinetobacter baumannii* was investigated.

**Materials and methods:** In this experimental laboratory study, *Acinetobacter* bacteria was isolated from clinical samples and identified using biochemical and molecular tests. The essential oil of the plant was extracted by distillation with water using a Cloninger machine and was used to identify and determine the compounds with a gas chromatography machine connected to a GC/MS mass spectrometer. Well and disc diffusion tests were used to determine the antibacterial effect of cultured lactobacilli and plant extracts on *A. baumannii*.

**Results:** The essential oils of plants do not have inhibitory effects on the pathogenic bacteria *Acinetobacter*. Also, *L. casei* has the ability to inhibit the growth of Baumani, but *L. sanfranciseasis* has no inhibitory effect on this pathogen. In the simultaneous use of plant essential oil and *L. casei* cell-free extract, the greatest synergy effect was obtained in the combination of *Zataria Multiflora* essential oil and casei, which has a greater inhibitory effect than *L. casei* alone.

**Conclusion:** The simultaneous use of *Lactobacillus casei* and *Zataria Multiflora* essential oil showed a suitable inhibitory effect on *Acintobacter* and this effect is comparable to the antibiotics used in the treatment protocol.

**Keywords:** Probiotic, *Lactobacillus*, synergy, Medicinal plant essential oil, *Acinetobacter baumannii*.

**Cited as:** Vahid A, Moazamian E. Synergistic and antibacterial effect of essential oils (*Zataria Multiflora*, *Salvia mirzayanii*, *Eucalyptus*) and lactic acid bacteria on multi-drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2026; 36(1):34-45.

**Correspondence to:** Elham Moazamian

**Tel:** +98 9226069496

**E-mail:** elhammoazamian@gmail.com

**ORCID ID:** 0000-0002-4445-3971

**Received:** 12 Jul 2025 **Accepted:** 14 Oct 2025

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی  
دوره ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات ۳۴ تا ۴۵

## تأثیر هم افزایی و ضد باکتریایی اسانس گیاهان دارویی (آویشن شیرازی، مروه تلخ و اکالیپتوس) و باکتریهای اسید لاکتیک بر روی جدایه های بیمارستانی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو

آمنه وحید<sup>۱</sup>، الهام معظمیان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد گروه میکروب شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه میکروب شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** با توجه به اهمیت به کارگیری پروبیوتیک‌ها، در این پژوهش به بررسی اثر سینرژیستی لاکتوباسیلوسها و اسانس گیاهان آویشن شیرازی، مروه تلخ و اکالیپتوس علیه باکتری بیماری‌زای اسینتوباکتر بومانی پرداخته شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی باکتری اسینتوباکتر از نمونه های بالینی جداسازی و با استفاده از تست های بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی گردید. اسانس گیاهان با روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج گردیده شد و با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی GC/MS، برای شناسایی و تعیین ترکیبات مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین اثر آنتی باکتریال لاکتوباسیلوسهای کشت داده شده و اسانس گیاهان بر باکتری اسینتوباکتر بومانی از تست چاهک و دیسک دیفیوژن استفاده گردید. با توجه به نوع گیاه ۴۷ الی ۶۷ ترکیب در اسانس گیاهان شناسایی شد.

**یافته‌ها:** اسانس گیاهان اثرات بازدارندگی بر روی باکتری بیماری‌زای اسینتوباکتر نداشتند. لاکتوباسیلوس کازئی توانایی مهار رشد بومانی را داشت ولی فزانیسز فاقد اثر مهاری بر روی این پاتوژن بود. در استفاده همزمان اسانس گیاهان و عصاره بدون سلول لاکتوباسیلوس کازئی، بیشترین اثر سینرژیستی در ترکیب اسانس آویشن شیرازی و کازئی حاصل گردید که اثر مهاری آن بیشتر از کازئی به تنهایی بود. **نتیجه گیری:** استفاده همزمان لاکتوباسیلوس کازئی و اسانس آویشن شیرازی اثر مهاری مناسبی بر باکتری اسینتوباکتر نشان دادند و این اثر با آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در پروتکل درمان قابل مقایسه است.

**واژگان کلیدی:** پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، سینرژیسم، اسانس گیاهان دارویی، اسینتوباکتر بومانی.

### مقدمه

شناسایی و بررسی روش‌های درمانی جدید جهت پیشگیری و درمان این بیماری‌ها ضروری به نظر می‌رسد (۱). در این راستا متابولیت‌های حاصل از کشت لاکتوباسیلوس‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های لاکتیک در محصولات حاوی پروبیوتیک و عمده‌ترین باکتری‌ها با توان پروبیوتیکی، می‌توانند به عنوان ترکیب‌های ضد میکروبی طبیعی کاربرد غذایی و دارویی فراوان داشته باشند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که تأثیرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، جلوگیری از استقرار و رشد باکتری‌های

باکتری‌های اسیدلاکتیک مواد ضد میکروبی را تولید می‌کنند که آنها استعداد بازدارندگی از رشد بیماری‌زاهای میکروارگانسیم‌های مضر را دارند. با توجه به عفونت‌های باکتریایی در دنیا و افزایش روزافزون مقاومت دارویی،

آدرس نویسنده مسئول: شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه میکروب شناسی، الهام معظمیان

(email: elhammoazamian@gmail.com)

ORCID ID: 0000-0002-4445-3971

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۴/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۷/۲۲

تعمیم داد. انسان امروزی سعی بر آن دارد تا مهارت‌های پیشینیان خود را در زمینه گیاه درمانی نه تنها احیا نماید، بلکه در تکوین آن نیز قدم‌های مؤثری بردارد و به همین دلیل بیشترین بودجه‌های تحقیقاتی جهان پیشرفته به گیاهان دارویی اختصاص یافته است (۸-۶). استفاده از گیاهان دارویی در کشور ما هنوز در سیطره سنن و روش‌های قدیمی بوده و مداخله علمی و کار آزمایشی‌های بالینی را برای اصلاح رویه‌های معمول لازم دارد و این عزمی ملی را در سطوح دانشگاهی و مراکز پژوهشی طلب کند. هدف از این پژوهش ارزیابی اثر هم افزایی و ضدباکتریایی اسانس گیاهان دارویی (آویشن شیرازی، مروه تلخ و اکالیپتوس) و باکتریهای اسید لاکتیک بر روی جدایه‌های بیمارستانی اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو است.

### مواد و روشها

در پژوهش حاضر پس از ارزیابی توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی شیراز با کد IR.IAU.Shiraz.Rec.1402.304 از بخش میکروب شناسی آزمایشگاه نشاط شهر شیراز، ۳۰ نمونه از باکتری‌های مشکوک به اسینتوباکتر که از نمونه‌های بالینی کشت شده بودند، تهیه گردید و به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز انتقال داده شد. برای جداسازی اولیه از محیط مک کانکی آگار و بلاد آگار حاوی ۰.۵٪ خون گوسفند استفاده شد. نمونه‌ها در این محیط کشت به صورت خطی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند (۹). تمام میکروارگانیزم‌های ایزوله و خالص شده به وسیله مورفولوژی و رنگ‌آمیزی شناسایی شدند. سپس جدایه‌ها به کمک تست‌های اولیه کاتالاز، اکسیداز و آزمایش‌های استاندارد افتراقی - بیوشیمیایی نظیر سیترات، TSI، SIM برای شناسایی باکتری‌ها انجام شد (۱۰، ۱۱).

### شناسایی مولکولی جدایه‌ها

جهت شناسایی مولکولی /اسینتوباکتر از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استفاده شد. برای شناسایی مولکولی /اسینتوباکتر ابتدا استخراج DNA /اسینتوباکتر به روش ذوب و انجماد انجام شد. بدین صورت که تمام ایزوله‌ها در مولر هینتون آگار کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازای انکوبه گذاری شدند و کلنی‌های باکتریایی جهت استخراج DNA استفاده شدند (۱۲). غلظت DNA با استفاده از نانودراپ تعیین گردید. سپس با استفاده از توالی‌های پرایمر اختصاصی از توالی 16S rRNA تهیه شده از شرکت ماکروژن کره که عبارت بودند از 3' TAATGGTTTGATCGGCCTTG و 5' AC-353-F و 3'

بیماری‌زا، کاهش جذب کلسترول و کاهش احتمال ابتلا به سرطان کولون را دارند. امروزه بررسی‌های زیادی جهت افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به مواد غذایی و بررسی تأثیر این باکتری‌ها بر سلامت مصرف کننده صورت گرفته است. استفاده از بعضی گونه‌های باکتریهای اسیدلاکتیک به عنوان پروبیوتیک می‌تواند در درمان و کنترل بعضی بیماری‌ها میسر باشد. اثرات ضدباکتریایی باکتری‌های اسیدلاکتیک علیه باکتری‌های بیماری‌زای مهم بیشتر مربوط به توالی اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی اکسیدکربن، باکتریوسین‌ها و رقابت در چسبندگی به سطح موکوسی سلول روده گزارش شده است. پروبیوتیک‌ها میزبان را از ابتلا به بیماری‌های عفونی مصون می‌دارند و به درمان نسبی این بیماری‌ها نیز کمک می‌کنند (۲، ۳).

باکتری اسینتوباکتر از مهم‌ترین عوامل عفونت بیمارستانی محسوب شده و کوکوباسیل گرم منفی است که از بسیاری منابع انسانی و محیطی قابل جداسازی است و شیوع آن در فصل تابستان بیشتر از فصول دیگر سال است. این باکتری جزء باکتری‌های گرم منفی، غیرتخمیری و هوازای اجباری است که عموماً در خاک، آب و فاضلاب یافت می‌شود. اسینتوباکتر معمولاً از ویرولانسی پایینی برخوردار است و از طریق سیستم‌های مرتبط با دستگاه تنفسی و کاترهای آلوده موجب عفونت می‌شود. عفونت با این باکتری به ویژه در بیمارانی که در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان‌ها بستری هستند، بسیار خطرناک است (۴). عفونت‌های اسینتوباکتر در گذشته به صورت پراکنده در بیماران بیمارستانی و شیوع عفونت بیمارستان در بخش‌های مراقبت ویژه شناسایی می‌شدند، اما امروزه اسینتوباکتر به عنوان مراقبت‌های بهداشتی مرتبط و میکروارگانیزم‌های مقاومت چنددارویی ظاهر شده است. زمانی که از گیاهان دارویی صحبت می‌کنیم، تاریخی به درازای عمر انسان در ذهن ما متبادر می‌شود، زیرا از هنگامی که انسان پای بر کره خاکی گذاشت، تندرستی و زیبایی از جمله مقوله‌هایی بود که انسان به آن فکر می‌کرد، خلقت خداوند در همه ابعاد زنده و غیر زنده بسیار زیبا و دلپذیر است (۵). تجربه به انسان ثابت کرد که در سیستم طبیعی بین انسان و نیازهای غذایی و دردهای او و رستنی‌ها و اقلیم او یک ارتباط معنی‌داری وجود دارد؛ شاید بتوان این مفهوم را چنین تفسیر کرد، مثلاً گیاهان یک منطقه کوهستانی برای نارسایی‌های تغذیه‌ای و بیماری‌های خاص این منطقه ترکیبات ویژه‌ای را در پیکر خود اندوخته دارند که این فرایند را برای گیاهان مناطق حاره‌ای، معتدله و ... می‌توان

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون انجام شد. به‌منظور بررسی فعالیت ضد باکتریایی لاکتوباسیلوس‌ها از محیط مولر هینتون آگار (شرکت مرک آلمان) استفاده شد. برای این منظور از روش‌های چاهک و دیسک دیفیوژن برای تعیین میزان مهارکنندگی لاکتوباسیلوس‌ها استفاده گردید. اثر ضد باکتریایی این لاکتوباسیل‌ها ابتدا بر روی سویه استاندارد/سینتوباکتر بومانی PTCC13302 و سپس بر روی ایزوله بالینی بررسی گردید. به منظور کاهش خطا هر آزمون ۳ بار تکرار شد (۱۶).

#### گیاهان مورد بررسی بر جدایه‌های مقاوم به دارو

گیاهان مورد بررسی در این تحقیق مروه تلخ از منطقه لار، اکالیپتوس از شیراز و آویشن شیرازی از استهبان استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری شد. جهت اسانس‌گیری از روش تقطیر با آب و بخار آب و دستگاه کلونجر استفاده شد. به طوری که ۵۰ گرم گیاه خشک را با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه کلونجر حرارت داده و اسانس جمع‌آوری شد. آنالیز ترکیبات اسانس توسط دستگاه GC/MS با مدل (Agilent Technologies-5975C-MS, 7890A-GC) در دانشگاه شیراز انجام و جهت بررسی اثرات سینرژیستی از اسانس گیاهان و عصاره لاکتوباسیلوس‌ها استفاده شد. از سوش استاندارد سوسپانسیون با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد. سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار بصورت چمنی کشت داده شد و به تعداد رقت‌ها ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶ و ۱/۳۲ بر روی محیط مولر هینتون آگار دیسک بلانک قرار داده و به حجم ۲۰ میکرولیتر بر روی دیسک‌های بلانک ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. این دو ترکیب در غلظت موثر ۲۰۰۰ mg/ml با هم مخلوط شدند (۱۷).

#### تعیین کمترین غلظت بازدارندگی و ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری

تعیین MIC و MBC اسانس گیاه و باکتری‌های لاکتوباسیلوس بر/سینتوباکتر بومانی نیز انجام شد. به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی MIC، ابتدا از باکتری کشت تازه تهیه شد. پس از تهیه نیم مک‌فارلند از باکتری‌سینتوباکتر بومانی در محیط نوترینت برات، مقدار ۵ میکرولیتر با رقت ۱ به ۱۰ سوسپانسیون تهیه‌شده به هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط کشت خام نوترینت برات بودند اضافه شد. سپس میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره سلولی و اسانس گیاهی به طور جداگانه به چاهک اول اضافه شد و بعد از آن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم اضافه کرده و از چاهک دوم ۱۰۰ میکرولیتر با سرسمپلر برداشته و به چاهک سوم اضافه کرده و همین روش تا چاهک ۱۰ انجام داده و خانه‌ای آخر را دور

دما (جدول ۱) که به دستگاه جهت واکنش زنجیره ای پلیمرز داده شد، PCR انجام شد و در نهایت محصولات تکثیر شده به منظور انجام الکتروفورز بر روی نمونه‌های مورد مطالعه ژل آگارز ۲ درصد تهیه و الکتروفورز انجام شد. سپس توسط دستگاه آشکارساز ژل تحت تأثیر نور UV باندهای مربوطه مشاهده و عکسبرداری شدند. برای کنترل مثبت از نمونه استاندارد سینتوباکتر PTCC13302 تهیه شده از کلکسیون میکروبی، استفاده شد (۱۳).

#### جدول ۱. برنامه اجرایی دستگاه جهت واکنش زنجیره‌ای پلی مرز

مرحله	دما(سانتی‌گراد)	زمان(ثانیه)	تعداد سیکل
دناوراسیون اولیه	۹۴	۹۰۰	۱
دناوراسیون	۹۵	۳۰	
چسبیدن آغازگر	۵۰	۶۰	۳۰
مرحله توسعه	۴۷	۶۰	
پایان مرحله توسعه	۷۲	۶۰۰	

#### تعیین الگوی آنتی بیوتیکی جدایه‌ها

بعد از تشخیص نهایی، به‌منظور انجام آزمایش حساسیت ضد میکروبی از روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer) بررسی و بر اساس جدول استاندارد CLSI ۲۰۲۱ نتایج به‌دست‌آمده به سه صورت حساس، مقاوم و حد واسط گزارش شد (۱۴). آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده حاوی جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، ایمنی پنم (۱۰ میکروگرم)، کلیستین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفتری آکسون (۳۰ میکروگرم) ساخت شرکت پادتن طب با پنس استریل برداشته و در فاصله‌های مساوی از یکدیگر و لبه پلیت (به فاصله استاندارد) قرار داده شد. ایزوله‌های سینتوباکتر که به سه یا بیش از سه رده آنتی بیوتیکی مقاومت نشان دادند به عنوان سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) تعریف گردید (۱۵).

#### تأثیر سویه‌های لاکتوباسیلوس بر جدایه‌های مقاوم به دارو

جهت آنالیز سویه‌های لاکتوباسیلوسی بر باکتری‌های مقاوم به داروی سینتوباکتر، دو سویه لاکتوباسیلوس کازئی PTCC 1608 و لاکتوباسیلوس سانفرانسیسز PTCC 1739 از مرکز کلکسیون میکروبی علمی صنعتی ایران خریداری شد. سپس به‌منظور فعال‌سازی، عصاره سویه‌ها در محیط MRS برات و آگار در کندل جار به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند و در

ریخته؛ و در نهایت توسط دستگاه الیزاریدر میزان جذب هر چاهک در طول موج ۴۹۰ نانومتر محاسبه شد. از مقایسه میزان جذب نوری قبل و بعد از انکوباسیون همه چاهکها کمترین میزان رقت به عنوان MIC، در نظر گرفته شد.

بررسی حداقل غلظت کشنده MBC، از چاهکهای فاقد کدورت مقدار ۱۰ میکرولیتر در شرایط کاملا استریل و در نزدیکی شعله برداشته و روی محیط بلاد آگار تلقیح و کشت داده شد. پس از گرمخانه‌گذاری ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کمترین رقتی که توانست ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها را بکشد، بعنوان رقت MBC، در نظر گرفته شد. کلیه مراحل آزمایش ۲ بار تکرار شد.

### تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه و ANOVA با استفاده از نرم افزار آماری اکسل ۲۰۱۳ و SPSS نسخه ۲۶ با سطح اطمینان کمتر از ۰/۰۵ انجام گرفت.

### یافته‌ها

#### شناسایی فنتیک جدایه‌های اسینتوباکتر

از بین ۳۰ جدایه مشکوک به اسینتوباکتر، ۱۰ جدایه به کمک آزمون‌های بیوشیمیایی، شامل کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، الگوی TSI آلکالین/آلکالین و بدون تولید گاز H<sub>2</sub>S، رشد بر روی محیط سیرتات و مثبت و SIM منفی (بدون حرکت) مورد تایید قرار گرفتند.

#### شناسایی مولکولی جدایه‌ها

پس از شناسایی اسینتوباکترها از طریق تست رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی، جهت تایید PCR انجام شد. باند محصول واکنش PCR ایزوله‌های باکتری ۳۵۳ جفت بازی می‌باشد. نتایج شناسایی مولکولی ایزوله‌های اسینتوباکتر بومانی در شکل ۱ آورده شده است. از ۳۰ نمونه به دست آمده، ۱۰ ایزوله که همگی مورد تایید آزمونهای فنتیک قرار گرفتند، از طریق تست مولکولار نیز تایید شده و باند ۳۵۳ جفت بازی حاصل شد (شکل ۱).

#### جداسازی اسینتوباکترهای مقاوم به چند دارو (MDR)

اسینتوباکتر بومانی‌های جداسازی شده نسبت به آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین (۲۰ -/+ میلی متر)، آمیکاسین (۲ -/+ میلی متر)، کلیستین (۱۶ -/+ میلی متر)، حساس و به سفوتاکسیم، امپینم، سپروفلوکسین، سفری آکسون و سفزازیدیم مقاوم می‌باشد. نتایج آنتی بیوگرام سویه استاندارد اسینتوباکتر و ایزوله‌های بالینی در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است.

#### آنالیز اسانس‌های گیاهی با استفاده از GC MASS

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه مروه تلخ توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی تعیین مقدار شد. ۶۷ ترکیب در اسانس گیاه مروه تلخ شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه شامل لینالیل استات (۱۵/۸۳٪)، ۵-نئوسیدرانول (۸/۰۳٪)، ترپینیل استات (۶/۵۹٪)، ان-نونانال (۸/۴۸٪) بودند. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه اکالیپتوس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی تعیین مقدار شد. ۴۵ ترکیب در اسانس گیاه اکالیپتوس شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه شامل کامفنه (۱۷/۸۸٪)، ج-ترپینینی (۵۰/۲۸٪)، ترانس کاروول (۴/۵۹٪)، ارومادنردن (۲/۳۲٪) بودند. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه آویشن شیرازی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی تعیین مقدار شد. ۴۵ ترکیب در اسانس گیاه شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه شامل لینلول (۳۸/۰۵٪)، کارواکرول (۳۶/۸۰٪)، پ-سیمنی (۲/۸۴٪) بودند.

#### اثر سینرژیستی اسانس‌های گیاهان مورد مطالعه و عصاره لاکتوباسیلوس‌ها

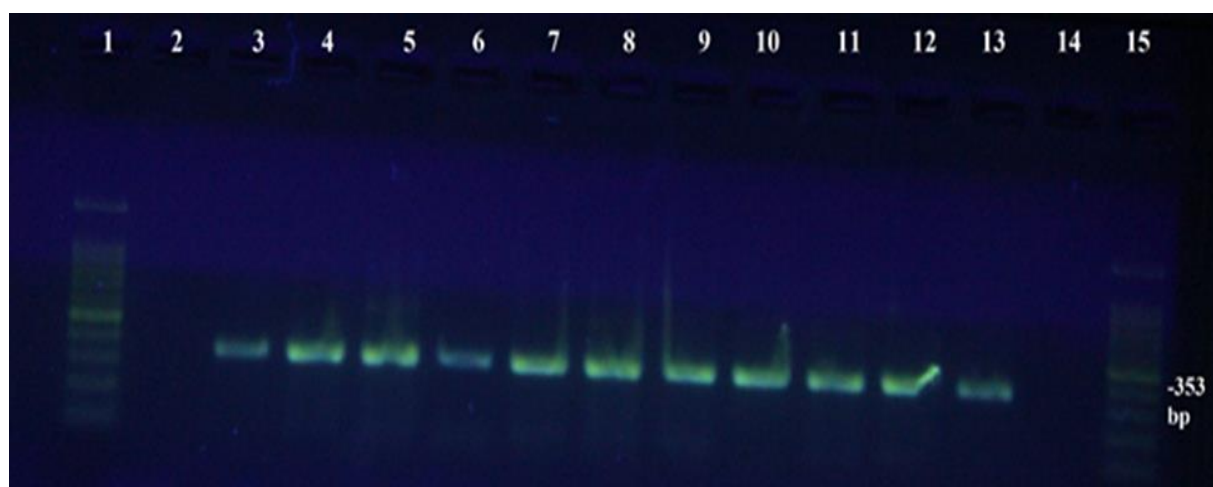
نتایج بررسی اثر اسانس گیاهان و لاکتوباسیلوس کازئی و سانفراسیسز بر اسینتوباکتر در غلظت‌های مختلف بررسی شد. اسینتوباکتر بومانی نسبت به اسانس گیاهان مروه تلخ، اکالیپتوس و آویشن شیرازی در دو غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مقاومت نشان داد. عصاره بدون سلول لاکتوباسیلوس سانفرانسیسز در غلظت ۳۰ میکرولیتر بر دیسک بر علیه باکتری اسینتوباکتر بومانی مقاومت نشان داد و هاله عدم رشد مشاهده نشد. ولی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در این غلظت حساسیت نشان داد و هاله عدم رشد با قطر تقریبی ۱۱ میلی متر در سویه استاندارد اسینتوباکتر و جدایه بالینی مشاهده شد. هاله عدم رشد کلیستین ۱۸ میلی متر و جنتامایسین بیش از ۲۰ میلی متر مشاهده شد. نتایج در نمودار ۳ آورده شده است. نتایج اثر سینرژیستی لاکتوباسیلوس کازئی و اسانس گیاهان مورد مطالعه بر سویه استاندارد و جدایه بالینی اسینتوباکتر بومانی در نمودار ۴ آورده شده است. عصاره بدون سلول باکتری لاکتوباسیلوس کازئی همراه با اسانس گیاه آویشن بیشترین اثر سینرژیستی با قطر هاله عدم رشد تقریبی ۱۷ میلی متر را نشان داد. اثر هم‌زمان کازئی و

شد. اولین چاهکی که کدورت مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد که برای اسانس آویشن و کازئی mg/ml ۳۱ بود. از چاهک MIC و دو چاهک قبل ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و در محیط مولر هینتون کشت داده شد. عدم رشد در هر نمونه MBC گزارش شد. تمامی چاهک‌ها رشد داشتند، بنابراین غلظت موثر ۲۰۰۰ ppm اسانس آویشن و عصاره بدون سلول لاکتوباسیلوس های مورد مطالعه اثری کشندگی بر *اسنیتوباکتر بومانی* نداشتند و فقط اثر بازدارندگی مشاهده شد.

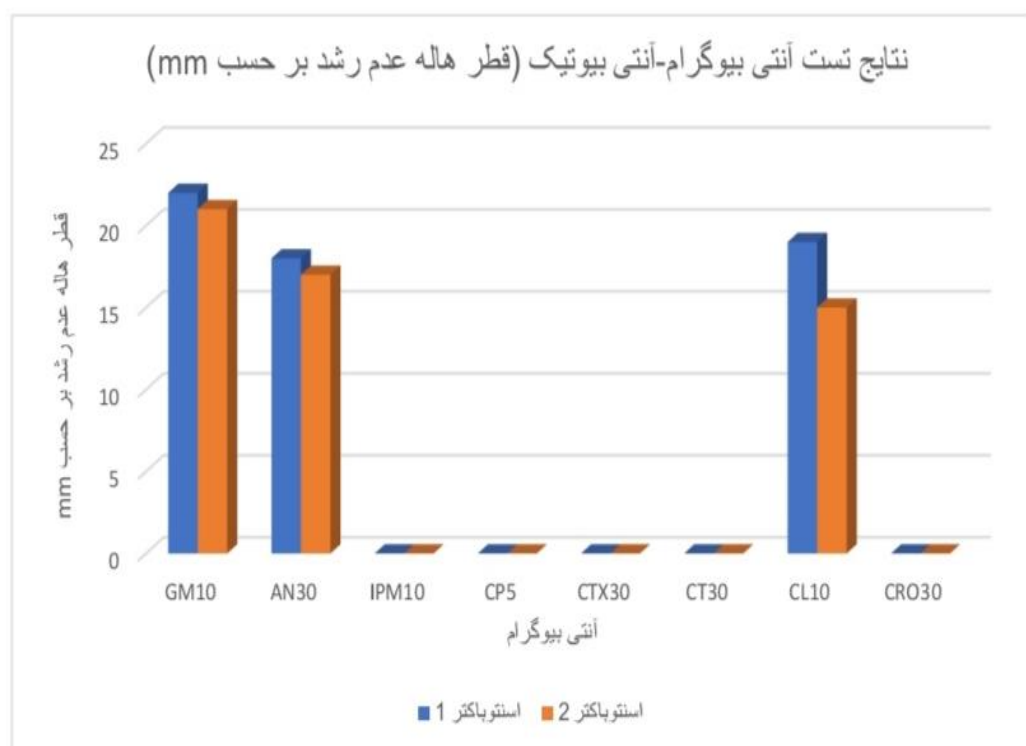
اسانس گیاهان اکالیپتوس و مروه تلخ قطر هاله عدم رشد حدود ۱۴ میلی‌متر را نشان داد که در مقایسه با آویشن شیرازی کمتر بود. در صورتی که قطر هاله عدم رشد لاکتوباسیلوس کازئی به تنهایی حدود ۱۲ میلی‌متر حاصل شد.

#### حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC)

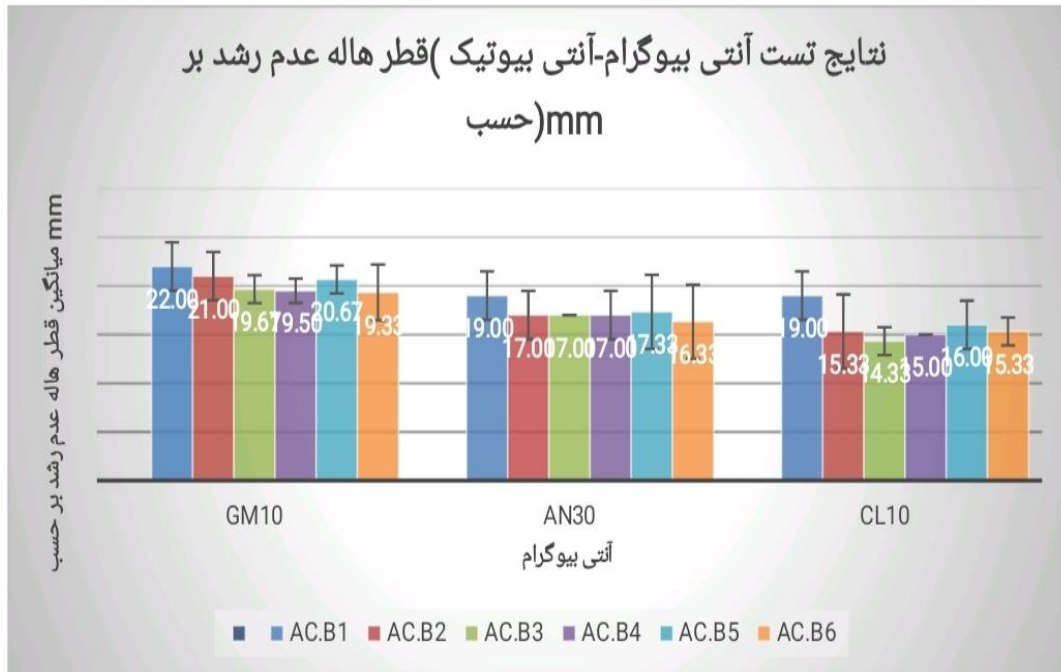
برای انجام این آزمون، غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱، ۱۵/۵، ۷/۷۵ و ۳/۸۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده



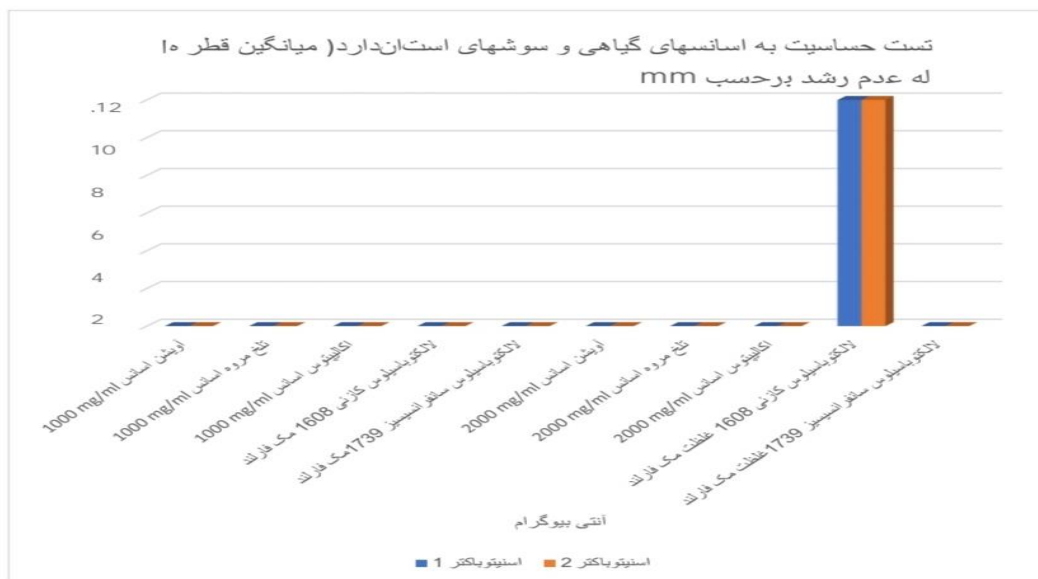
شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز ۱۰ نمونه *اسنیتوباکتر*: ستون ۱ و ۱۵ مارکر 100 bp، ستون ۲ و ۱۴ کنترل منفی، ستون ۳ کنترل مثبت و ستون‌های ۴ تا ۱۳ شامل نمونه‌ها هستند.



نمودار ۱. نتایج تست آنتی بیوگرام *اسنیتوباکتر ۱* (سویه استاندارد) و *اسنیتوباکتر ۲* (جدایه از نمونه‌های بالینی)



نمودار ۲. مقایسه اثر آنتی بیوتیک‌های کلیستین، آمیکاسین و جنتامیسین بر جدایه‌های اسینتوباکتر بومانی

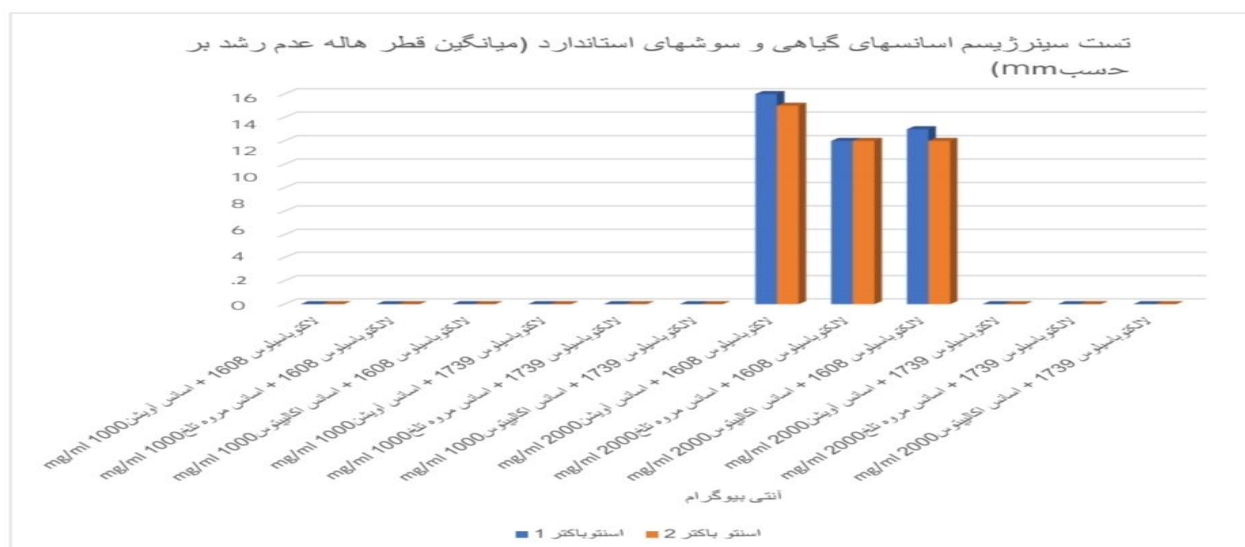


نمودار ۳. تاثیر همزمانی اسانس آویشن و عصاره بدون سلول لاکتوباسیلوس کازئی

بیماری‌زایی در جامعه به‌ویژه افرادی که دارای ضعف سیستم ایمنی هستند، شود. نتایج حاصله نشان از آن دارد که آنتی‌بیوتیک‌های روتین که عملاً در درمان عفونت استفاده می‌شوند، علاوه بر بالا رفتن هزینه‌های درمانی سبب بروز هر چه بیشتر مقاومت دارویی خواهد شد. در نتیجه ضرورتاً پیشنهاد می‌شود که رژیم‌درمانی مورد استفاده توسط پزشکان حتماً بر اساس نتایج آنتی بیوگرام انجام شده توسط آزمایشگاه میکروپشناسی بالینی باشد.

## بحث

امروزه اسینتوباکتر از جمله میکروارگانیسم‌های مهم در بخش درمان به حساب می‌آید. متأسفانه تمامی نتایج حاصل از مطالعه حاضر نگران‌کننده و نشان از افزایش رو به رشد مقاومت‌های دارویی در بین باکتری‌های بیماری‌زای بیمارستانی دارد. انتقال این ایزوله‌های بیمارستانی به افراد جامعه ممکن است سبب گسترش مقاومت دارویی و



نمودار ۴. تست هم افزایی اسانسهای گیاهی و سوشهای استاندارد

لاکتیک بر روی جدایه‌های بیمارستانی اسپنتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو است. سلطان دلال و همکارانش در سال ۱۳۹۴ فعالیت ضد میکروبی لاکتوباسیلوس روتری و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به اسپنتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی ارزیابی نمودند. در این بررسی تجربی اسپنتوباکتر از ۱۰۰ بیمار بستری در بیمارستان میلاد، مسیح دانشوری و مفید شهر تهران جدا و مقاومت آنتی بیوتیکی آن به همراه دو سویه استاندارد لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری بررسی شد. سپس از محلول رویی کشت ۴۸ ساعته دو سویه لاکتوباسیل برای بررسی فعالیت مهارکنندگی آنها بر علیه اسپنتوباکتر بومانی در دو حالت فعال و غیر فعال به روش چاهک در آگار بررسی شد. ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری به آنتی بیوتیک‌های ونکومايسين، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفنازیدیم، مقاوم به پیپراسیلین، کلیستین و کوتریموکسازول حساسیت نشان دادند. همچنین باکتری اسپنتوباکتر نسبت به ونکومايسين، کوتریموکسازول، پیپراسیلین، سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین مقاوم و به کلیستین و ایمی پنم حساسیت نشان داد (۲۱) که با مطالعه موجود مشابهت دارد. سلطان دلال و همکارانش نتیجه گیری کردند که دو باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در شرایط غیرفعال دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری اسپنتوباکتر بومانی نبودند، ولی در حالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیب‌هایی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته

در سال‌های اخیر، به دلیل فشار انتخابی حاصله از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت ایجادشده در پی آن، با افزایش طیف انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مطمئناً پتانسیل بروز مقاومت با سازوکارهای مختلف مقاومتی در باکتری‌ها وجود خواهد داشت. بخصوص در باکتری‌های گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه انتقال افقی ژن به سهولت رخ داده و خصوصیات مقاومت به مواد ضد میکروبی به سرعت در میان جنس‌ها شیوع پیدا می‌کند (۱۹).

انتقال این قبیل مقاومت‌ها در محیط بیمارستانی که باکتری‌ها با تشکیل بیوفیلم نیز جایگاه خود را تثبیت کرده‌اند بسیار شایع است. بیماران بستری که بر اثر ضعف ایمنی و یا کهولت سن دچار عفونت گردیده‌اند، معمولاً در پاسخ به درمان آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم با شکست مواجه شده و میزان مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد. یکی از ایده‌هایی که در این چندساله جهت رفع این مشکلات پدید آمده‌اند، استفاده از دیگر میکروارگانیسم‌ها و متابولیت‌های آنها با خصوصیات ضد میکروبی است. پروبیوتیک‌ها در این میان بسیار پرکاربرد هستند و مطالعات بسیاری بر روی تأثیرات ضد میکروبی آنها بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، هم به صورت سلول‌های زنده و هم مایع شناور انجام شده است. نکته مقاومت پروبیوتیک‌ها به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها است (۲۰). هدف از این پژوهش، ارزیابی اثر هم افزایی و ضدباکتریایی اسانس گیاهان دارویی (آویشن شیرازی، مروه تلخ و اکالیپتوس) و باکتریهای اسید

و یا تحت چنین شرایطی قرار گیرد می تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد و همچنین دو لاکتوباسیلوس فوق تقریباً نسبت به آنتی بیوتیک‌های معمول مقاوم بودند (۲۲). در مطالعه حاضر لاکتوباسیلوس فرانسسز دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری اسینتوباکتر بومانی نیست، ولی کازئی می تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد.

اسینتوباکتر بومانی نوعی پاتوژن بیمارستانی است که می تواند از راه‌های مختلف مانند جریان خون، زخم های باز، مجاری تنفسی مصنوعی و مجاری ادراری وارد بدن شده و در سراسر بدن پخش شود، به ویژه در بیماران دچار نقص ایمنی. افزایش اخیر در سویه‌های مقاوم به دارو نگرانی در حال ظهور برای درمان عفونت است (۲۳). میزان بالایی از مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی کلاس کارباپنم گزارش شده است. اسینتوباکترهای مقاوم به چند دارو تمایل دارد فقط به تعداد محدودی از عوامل ضد میکروبی مانند کولیستین، تیژسیکلین و آمینوگلیکوزیدها حساس باشد. در مطالعه Lee و همکارانش حساسیت به کولیستین و تیژسیکلین در اکثر سویه‌ها مشاهده شد (۲۴).

اخیراً مطالعات زیادی در مورد درمان ترکیبی ضد میکروبی و درمان ترکیبی *in vitro* با افزودن مواد ضد میکروبی طبیعی برای بهبود درمان‌های تک درمانی موجود عفونت‌های اسینتوباکترهای مقاوم به چند دارو و خطر بالای عوارض جانبی مرتبط با چنین درمانی انجام شده است. Lee و همکاران در سال ۲۰۲۳ اعلام کردند که عصاره‌های کشت گونه‌های لاکتوباسیلوس اثر ضد میکروبی بر اسینتوباکتر بومانی داشتند. گونه‌ای که بهترین اثر ضد میکروبی را از خود نشان داد لاکتوباسیلوس پاراکازئی بود که سریع‌ترین و پایدارترین فعالیت ضد میکروبی را نیز از خود نشان داد. لاکتوباسیلوس پلانتروم همچنین اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها هنگامی که با تیگی سایکلین و کلیستین ترکیب می شود، نشان داد (۲۵).

با توجه به تعداد ترکیبات شیمیایی در اسانس گیاهان، نمی‌توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضد باکتریایی آن‌ها در نظر گرفت، بلکه آن‌ها هدف‌های متعددی در سلول خواهند داشت. این مکانیسم‌ها جداگانه عمل نمی‌کنند، بلکه بعضی از آن‌ها توسط سایرین تحت تأثیر قرار می‌گیرند. از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل‌دهنده آن‌ها، خاصیت آبرگریزی آن‌ها است که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری می‌شود و سبب اختلال در ساختمان‌های آن‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد. این مسئله موجب خروج و

نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی می‌شود. اگرچه خروج مقادیر محدود این مواد برای باکتری قابل تحمل است، ولی در قابلیت زیستی آن اثر گذاشته و خروج مقادیر وسیع محتویات سلولی یا خروج یون‌ها و مولکول‌های حیاتی موجب مرگ سلول خواهد شد. به طور کلی هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص آنتی‌باکتریال آن‌ها علیه پاتوژن‌های غذایی بیشتر خواهد بود. این ترکیبات شامل کارواکرول، اوژنول و تیمول هستند. احتمالاً مکانیسم اثر این ترکیبات هم مانند سایر ترکیبات فنولی شامل موارد زیر است: اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویان سلولی. ساختار شیمیایی یک اسانس هم بر مکانیسم آن اثر می‌گذارد. اهمیت حضور گروه هیدروکسیل در ترکیب فنولی مانند کارواکرول و تیمول تأیید شده است. موقعیت نسبی گروه هیدروکسیل در حلقه فنولیک چندان تأثیری در میزان اثر آنتی‌باکتریال آن ندارد (۲۶).

اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس‌های روغنی بر روی ارگانسیم‌های عامل فساد و پاتوژن‌های غذا زاد نشان می‌دهند که اثر اسانس‌های گیاهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت قدری بیش‌تر از تأثیر آن‌ها بر روی باکتری‌های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت‌ها نسبت به اثر آنتی‌باکتریال اسانس‌ها حساس‌ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی‌ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری‌های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپیدی ساکارید می‌شود (۲۷). در پژوهش حاضر اسانس گیاهان مورد مطالعه بر روی باکتری اسینتوباکتر بومانی خاصیت باکتریواستاتیک داشته و تأثیرات سیدال دیده نشده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسینتوباکتر بومانی دارای مقاومت آنتی بوتیکی بالایی است و عصاره باکتری لاکتوباسیلوس کازئی دارای اثر ضد باکتریایی است و همچنین اسانس گیاهان مروه تلخ، اکالیپتوس و آویشن شیرازی به تنهایی خاصیت مهار رشد باکتری را ندارند، ولی آویشن شیرازی همراه با عصاره کازئی دارای اثر سینرژیستی در مهار رشد اسینتوباکتر را دارند.

در مطالعه Tomas و همکارانش (۲۰۰۳) از لاکتوباسیلیوس /سیدوفیلوس جدا شده از فلور واژن، جهت تأثیر بر بیماری‌زاهای ادراری با کشت در دمای بهینه‌شده‌ی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ / ۶ pH با حداکثر تولید لاکتیک اسید استفاده

شد، در صورتی که در این پژوهش بیشترین اثرگذاری توسط لاکتوباسیلوس کازئی بر روی اسینتوباکتر بومانی با میانگین مهاری ۱۲/۲۵ میلی‌متر مشاهده شد (۳۲).

در تحقیق انجام‌شده توسط فرح بخش و همکارانش در سال ۲۰۱۳، به کمک روش چاهک و دیسک مشاهده شد که ۸ گونه باکتری اسیدلاکتیک شناسایی شده شامل لاکتوباسیلوس (کازئی، رامنسوس، پلانتاریوم، اسیدوفیلوس، بولگاریکوس، دلبروکی، فرمنتوم و برویس) از ماست‌های سنتی دارای اثر ممانعت‌کنندگی علیه باکتری‌های بیماری‌زای استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، استرپتوکوک پیوژنز و پروتئوس ولگاریس هستند. توانایی مهارکنندگی گونه‌ها از ۸-۱۵ میلی‌متر متغیر بود و بیشترین اثر ضد میکروبی لاکتوباسیلوس پلانتاریوم مشاهده شد (۳۳). در صورتی که در پژوهش حاضر از میان گونه‌های استاندارد اثر ضد میکروبی مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی است. اثر مهاری گونه‌های لاکتوباسیلوس در برابر باکتری‌های بیماری‌زا می‌تواند به تولید اسید لاکتیک و اسیدهای آلی، کاهش چسبندگی و تجمع آنترو توسط باکتری‌های بیماری‌زا و تولید مواد ضد میکروبی مانند باکتریوسین‌ها نسبت داد (۳۳). در این مطالعه، ما نشان دادیم که خاصیت ضد باکتریایی باکتری‌های اسید لاکتیک با یکدیگر متفاوت است. لاکتوباسیلوس کازئی دارای خاصیت ضدباکتریایی است، ولی فرانسیسز فاقد آن است. گیاهان دارویی مورد مطالعه در این پژوهش به تنهایی فاقد خاصیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو هستند، ولی تیمارهای ترکیبی لاکتوباسیلوس کازئی و آویشن شیرازی اثر ضد باکتریایی سینرژیک در برابر اسینتوباکتر مقاوم به چند دارو نشان دادند. بر اساس این نتایج، اثر هم افزایی استفاده ترکیبی از لاکتوباسیلوس کازئی و اسانس گیاهی تایید شد. از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که لاکتوباسیلوس کازئی یکی از باکتری‌هایی است که عصاره بدون سلول آن به همراه اسانس گیاه آویشن شیرازی با انجام مطالعات تکمیلی می‌تواند علیه باکتری پاتوژن اسینتوباکتر بومانی استفاده شود.

کردند که یافته‌ها حاکی از تأثیر این پروبیوتیک بر روی عوامل ایجادکننده عفونت‌های ادراری بود (۲۸).

مسعودی و همکارانش (۲۰۰۵) این نکته را عنوان کردند که ممکن است اسیدلاکتیک ترشح‌شده از لاکتوباسیلوس‌ها و مولکول‌های غیر اسیدلاکتیکی به‌طور هم‌افزایی بر گرم منفی‌ها مؤثر باشند. اسیدلاکتیک باعث افزایش نفوذپذیری غشای خارجی باکتری‌ها گرم منفی شده و آن‌ها را نسبت به عوامل ضد میکروبی حساس‌تر می‌کند (۲۹).

طبق بررسی براگر و همکارانش (۲۰۱۱)، مهار سوپه‌های دارای مقاومت چند دارویی توسط پروبیوتیک‌ها، می‌تواند به علت ترشح اسیدهای آلی و به‌طور شاخص اسیدلاکتیک باشد، زیرا تولید اسید pH محیط را کاهش داده و شرایط را برای رشد نامناسب می‌سازد. دیگر احتمالات مربوط به ترکیبات ضد میکروبی مانند باکتریوسین‌ها، پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین و هیدروژن پراکسید می‌باشد (۳۰).

امامی و همکارانش نیز مشاهده کردند که ۲ سوپه لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مقاومت زیادی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های معمول خوراکی دارند و محلول کشت رومان آن‌ها نیز فعالیت چشمگیری علیه پاتوژن‌های بیمارستانی نظیر سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی دارند (۳۱). تفاوت مطالعه حاضر با تحقیق فوق در چند نکته است که در مطالعه ما سوش‌های لاکتوباسیلوس استاندارد و سوش پاتوژن از بیماران مبتلا به عفونت بود، ولی در تحقیق امامی و همکاران سوش‌های پاتوژن استاندارد و سوش‌های لاکتوباسیلوس از لبنیات محلی بوده است و نوع سوش‌های کار شده در مطالعه‌ها متفاوت است.

بر اساس تحقیقات انجام‌شده توسط سارانیا و همانشپاگم در سال ۲۰۱۳ فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های اسیدلاکتیک علیه سوپه‌های استاندارد اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پنومونیه و پروتئوس بررسی شد. بیشترین قدرت مهارکنندگی از لاکتوباسیلوس پلانتاریوم با قطر هاله عدم رشد ۲۵ میلی‌متر علیه سودوموناس آئروژینوزا مشاهده

## REFERENCES

1. Cremon C, Barbaro MR, Ventura M, Barbara G. Pre- and probiotic overview. *Curr Opin Pharmacol* 2018;43:87-92.
2. Coleman A, Cervin A. Probiotics in the treatment of otitis media. The past, the present and the future. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2019;116:135-40.
3. Reid G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2016;30:17-25.
4. de Simone C. The Unregulated Probiotic Market. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17:809-17.

5. Zimmermann P, Curtis N. The influence of probiotics on vaccine responses – A systematic review. *Vaccine* 2018;36:207–13.
6. Ksycki MF, Namias N. Nosocomial urinary tract infection. *Surg Clin North Am* 2009;89:475-81, ix-x.
7. Wycislo KL, Piech TL. Urinary Tract Cytology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2019;49:247-60.
8. Phamnguyen TJ, Murphy G, Hashem F. Single centre observational study on antibiotic prescribing adherence to clinical practice guidelines for treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Infect Dis Health* 2019;24:75–81.
9. Rowe TA, Juthani-Mehta M. Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection in Older Adults. *Infect Dis Clin North Am* 2014;28:75–89.
10. Papageorge CM, Kennedy GD. Strategies to Reduce Postoperative Urinary Tract Infections. *Adv Surg* 2016;50:79–91.
11. Najafi F, sarokhani D, dehkordi A hasanpour. The prevalence of kidney scarring due to urinary tract infection in Iranian children: A systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Urol* 2019;15:300-308.
12. Dorri K, Modaresi F, Shakibaie MR, Moazamian E. Effect of gold nanoparticles on the expression of efflux pump mexA and mexB genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains by Quantitative real-time PCR. *Pharmacia* 2022; 69:125-133.
13. Bagherinajafabad M, Bardania H, Moazamian E, Khoramrooz SS. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* genomic DNA using gold nanoprobos. *Gold Bull* 2023;56:111–20.
14. Noori HG, Tadjrobehkar O, Moazamian E. Biofilm stimulating activity of solanidine and Solasodine in *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol* 2023;23:208.
15. Mollazadeh H, Emami SA, Hosseinzadeh H. Razi's Al-Hawi and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Iran J Basic Med Sci* 2015;18:1153-66.
16. Mirzarazi M, Rezatofghi SE, Pourmahdi M, Mohajeri MR. Antibiotic resistance of isolated gram negative bacteria from urinary tract infections (UTIs) in Isfahan. *Jundishapur J Microbiol* 2013;6; e6883.
17. Khosravi AD, Montazeri EA, Ghorbani A, Parhizgari N. Bacterial urinary tract infection in renal transplant recipients and their antibiotic resistance pattern: A four-year study. *Iran J Microbiol* 2014;6:74.
18. Tandogdu Z, Wagenlehner FM. Global epidemiology of urinary tract infections. *Curr Opin Infect Dis* 2016;29:73–79.
19. Madani S hamid, Khazaei S, Kanani M, Shahi M. Antibiotic resistance pattern of E. coli isolated from urine culture in Imam Reza Hospital Kermanshah-2006. *Kermanshah Univ Med Sci* 2008;12:e79965. [In Persian]
20. Kader AA, Kumar A, Dass SM. Antimicrobial resistance patterns of gram-negative bacteria isolated from urine cultures at a general hospital. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2004;15:135-39.
21. Akram M, Shahid M, Khan AU. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in JNMC Hospital Aligarh, India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2007;6:4.
22. Safikhani Mahmoodzadeh A, Moazamian E, Shamsdin SA, Kaydani GA. Altered Cytokine Production in Patients with *Helicobacter pylori* Infection. *Middle East J Dig Dis* 2024;16:235-41.
23. Savadkouhi R, Sorkhi H, Pournasrollah M. Antibiotic resistance of bacteria causing urinary tract infections in hospitalized patients in the pediatric subspecialty Hospital of Amir Kala, Babol, 2002-2005. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2007;39:25–28. [In Persian]
24. Vaezzadeh F, Sharifi-Yazdi M. Laboratory Evaluation of Urine Culture and Drug Resistance in Children Clinically Suspected of Urinary Tract Infection (UTI). *Iranian J Public Health* 2001;123–24.
25. Barakzahi M, Hormozi B, Rashki A, Ghalehnoo ZR. Prevalence of extended spectrum  $\beta$ -Lactamase in *Klebsiella pneumoniae* isolates in a teaching hospital of Zahedan City, Iran. *Avicenna J Clin Microb Infect* 2014;1:e22934.
26. Reid G, Chan R, Bruce A, Costerton J. Prevention of urinary tract infection in rats with an indigenous *Lactobacillus casei* strain. *Infect Immun* 1985;49:320–24.
27. Tomás MSJ, Ocaña VS, Wiese B, Nader-Macías ME. Growth and lactic acid production by vaginal *Lactobacillus acidophilus* CRL 1259, and inhibition of uropathogenic *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 2003;52:1117–24.
28. Heydari L. A comparison between the effects of antibiotics and cell free supernatant of *Lactobacillus* spp. on growth of ESBL positive *K. pneumoniae*. *Iran J Med Microbiol* 2016;10:44–55. [In Persian]

29. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, et al. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011;52:238–50.
30. Fayol-Messaoudi D, Berger C, Coconnier-Polter M, Lievin-Le Moal V, Servin A. pH-, lactic acid- and non-lactic acid-dependent activities against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:6008–13.
31. Emami A, Hashemizadeh Z, Noei AR. Investigating the antibacterial activity of *L. casei* and *L. acidophilus* against common agents of nosocomial infections. *J Inflammatory Diseases*, 2010;14:31. [In Persian]
32. Saranya S, Hemashenpagam N. Purification and characterization of bacteriocin produced by different *Lactobacillus* species isolated from fermented foods. *Int J Microbiol Res* 2013;5:341.
33. Farahbakhsh M, Hakimi H, Bahramabadi R, Zolfaghari M, Doraki N. Isolation of Probiotic *Lactobacilli* from Traditional Yogurts Produced in Rural Areas of Rafsanjan and their Antimicrobial Effects, 2012. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2013;12:733–46. [In Persian]