

ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی بر روی باکتری های پاتوژن جدا شده از عفونت های بیمارستانی

یاسر نوزهور^{۱*}، محمد حسن رسولی فرد^۲، ناهیده قهرمانی گرمی^۳

(۱) گروه دام پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(۲) گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی و آبیاری، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(۳) گروه پرستاری، واحد اربیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اربیل، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۲۲

چکیده

مقدمه: استفاده از خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی می تواند مشکلات رایج در استفاده از آنتی بیوتیک ها را بر طرف کند. هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی بر روی باکتری های جدا شده از عفونت بیمارستانی می باشد. **مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی اسانس پونه کوهی با استفاده از دستگاه کلونجر تهیه گردید و سپس فعالیت ضد باکتریایی به روش انتشار در آگار جهت انجام آزمایش حساسیت میکروبی و از روش رقت لوله ای جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) (Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) Minimum Bactericidal Concentration) به طور جدا گانه استفاده گردید.

یافته های پژوهش: آزمایش حساسیت میکروبی در مورد آنتی بیوتیک های استاندارد تترا سایکلین و آمیکاسین و نیز دیسک آغشته به اسانس پونه کوهی نشان داد که قطر منطقه عدم رشد ایجاد شده توسط این ترکیب در مورد ۴ جدایه ای مورد آزمایش بزرگ تر و در مورد اشربشیا کلی و کلبسیلا نومونیا این اختلاف اندازه معنی داری ($P < 0/05$) بود. هم چنین نتایج حاصل از آزمایشات MIC و MBC هم مشخص کرد که میزان مهار رشد باکتری توسط اسانس با میزان اسانس موجود در رقت ها رابطه مستقیم دارد و با افزایش میزان اسانس در هر رقت از تعداد کلنی های باکتری بعد از کشت کاسته شده و در رقتی که نشان دهنده MBC اسانس پونه کوهی در مورد هر یک از جدایه ها بود، هیچ یک از آن ها اصلاً رشد نکرد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان داد که اسانس پونه کوهی دارای خاصیت ضد باکتریایی می باشد و می تواند به عنوان یک منبع ارزان و در دسترس برای استفاده درمانی در برخی از عفونت های باکتریایی مورد استفاده قرار گیرد. به عبارتی می توان از پونه کوهی به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک های صنعتی جهت مقابله با جدایه های مورد آزمایش در نظر گرفته شود

واژه های کلیدی: ضد باکتریایی، اسانس، پونه کوهی، عفونت های بیمارستانی

* نویسنده مسئول: گروه دام پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

Email: yasar_nozohour@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

گونه های پونه کوهی به عنوان افزودنی اضافه می گردد این گیاه در طب سنتی برای در مان تهوع ، برونشیت ، نفخ و بی اشتها بی کار گرفته می شود (۴) . کاروا کرول و تیمول از جمله ترکیبات اصلی پونه کوهی بوده که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند و روند بهبودی زخم را تسریع می کنند (۶) . ترکیبات ضد میکروبی گیاهان دارویی یکی از منابع با ارزش در پزشکی به شمار می آیند و در نتیجه گسترش بیماری های عفونی ، شناسایی تعداد بیش تری از این گیاهان و خالص سازی ترکیبات موثره آن هادر درمان بیماری ها می تواند مفید باشد. ترکیبات ضد میکروبی با منابع گیاهان دارویی قابلیت درمانی بی شماری دارند. آن ها نه تنها در درمان بیماری های عفونی نقش دارند، بلکه به طور هم زمان تعداد زیادی از اثرات جانبی را که اغلب با مصرف آنتی بیوتیک ها همراه هستند کاهش می دهند (۷) . هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی بر روی باکتری های جدا شده از عفونت بیمارستانی می باشد.

مواد و روش ها

تهیه اسانس

این مطالعه توصیفی از تابستان ۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز آغاز شد، گیاه پونه کوهی بعد از جمع آوری به وسیله گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی از نظر صحت علمی تایید شد. به منظور استخراج اسانس پونه کوهی، بخش گیاهی کاملاً خشک شده کاملاً آسیاب شد و با استفاده از یک دستگاه کلونجر ساخت کشور آلمان (DURAN) به مدت ۳ ساعت روغن های فرار آن به روش تقطیر با آب، استخراج شد. پس از آب گیری به وسیله سولفات سدیم خشک، تا هنگام تعیین خواص ضد میکروبی آن و در ظروف شیشه ای تیره در دمای یخچال نگهداری شد (۷) .

جداسازی سویه های باکتری

جداسازی ۴ نمونه از سطوح بیمارستان با استفاده از روش جمع آوری نمونه های محیطی با سواب و محیط نوترینت برات انجام گردید. پس از انتقال نمونه های جمع آوری شده به آزمایشگاه تحت شرایط استریل با

میکروارگانسیم ها به تعداد زیاد، در اغلب محیط های زیستی و غیر زیستی یافت می شوند اما حضور آنها در دست پرسنل بیمارستان به عنوان محیط زیستی و سطوح بیمارستان به عنوان محیط غیر زیستی، بنا بر جایگاه و اهمیت منابع مزبور در انتقال و انتشار عفونت های بیمارستانی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. وجود سطوحی که توانایی حفظ و نگهداری باکتری ها را دارا باشند و حضور یک عامل انتقال دهنده ی باکتریها از این سطوح از جمله شاخص های ایجاد عفونت های بیمارستانی هستند. این باکتریها انواع مختلفی توکسین تولید می کنند که با دو سندرم اسهال زا و استفراغ آور همراه است (۱). اسانس های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی می باشند که امروزه هم بعنوان طعم دهنده مواد غذایی و هم بعلت تأثیر ضد میکروبی شان کاربرد فراوانی پیدا کرده اند (۲). مطالعه های متعددی در ارتباط با بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس های گیاهی در مواد غذایی مختلف صورت گرفته است (۳). گیاه پونه کوهی با نام علمی *Mentha longifolia* در خانواده Laminaceae قرار دارد. اساساً به صورت وحشی در مکان های مرطوب مانند حاشیه رودخانه ها روئیده و در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می کند. برگ، گل و ساقه گونه های پونه در چای های گیاهی یا به عنوان افزودنی در مخلوط های ادویه های تجارتي برای طعم دادن به غذا ها استفاده می شود. این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، برونشیت، نفخ و بی اشتها بی کار گرفته می شود (۴). امروزه به علت بروز مقاومت های میکروبی به آنتی بیوتیک ها، استفاده از گیاهان و ترکیبات آن ها به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک های رایج مطرح شده است. نتایج بسیاری از مطالعات نشان می دهد که عصاره های برخی از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانسیم ها را دارا می باشند و به این لحاظ ، گیاهان دارویی به عنوان عوامل ضد میکروبی جدید کاربرد های زیادی از جمله در پزشکی، صنایع غذایی و غیره پیدا نموده اند (۵). هم چنین از برگ، گل و ساقه

استفاده از لوپ هم زمان هر نمونه روی محیط های Blood agar و EMB به روش خطی کشت داده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور گرما گذاری شدند و کلنی ها، جدا سازی و خالص سازی گردیدند. شناسایی جنس یا گونه ای باکتری ها، با روش های میکرو بیو لوژیک مانند رنگ آمیزی گرم و تست های بیو شیمیایی نظیر تست های TSI، DNase، IMVic، کاتالاز، اکسیداز و استفاده از محیط های پایه، افتراقی و اختصاصی از جمله محیط های بلاد آگار، نوترینت برات، مک کانکی، اتوزین متیلن بلو انجام گردید. در نهایت باکتری های استا فیلوکوکوس ارتوس، سودو موناس آئروژینوزا، ایشرشیا کلی و کلبسیلا جدا سازی شد (۸).

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی

خواص ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی به روش انتشار در آگار توصیف شده به وسیله آندریوس انجام گردید (۹). بدین منظور سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد نیم مک فارلند در محلول سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. سپس ۰٫۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی 10^8 cfu/ml بر روی محیط مغذی و محیط مولر هیتون آگار کشت داده و به وسیله پیت شیشه ای پاستور خم شده به طور کامل بر روی محیط پخش شد. بعد از خشک شدن سطح محیط روی هر کدام از دیسک های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی متر مقدار ۳۰ میکرو لیتر از هر کدام از غلظت های تهیه شده از اسانس پونه کوهی ریخته شد و در آزمایش مذکور بعد از کشت باکتری در محیط کشت و خشک شدن از آنتی بیوتیک های استاندارد تترا سایکلین و آمیکاسین ۳۰ میکرو گرم استفاده گردید. تمامی پلت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای مناسب گرم خانه گذاری شدند. فعالیت ضد باکتریایی بر مبنای اندازه گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک ها بر حسب میلی متر انجام گرفت (۹). برای تعیین کم ترین غلظت مهاری رشد در این تحقیق، به روش احیای رنگ، انجام گرفت و رنگ مورد استفاده رزازورین Rezazurin بود که از شرکت Aldrich خریداری و به صورت ۰٫۱ گرم در ۱۰۰ سی سی آب استریل حل شد. این رنگ یکی از پر کاربرد ترین رنگ های مورد استفاده در آزمایش هایی

است که نیاز به مصرف رنگی حساس دارند، زیرا به میزان بسیار کم کاهش یا افزایش غلظت نمونه پاسخ می دهد برای تعیین کم ترین غلظت مهاری رشد عصاره، از چهار میکرو پلیت استریل ۹۶ گوده ای مورد استفاده قرار گرفت) در ۸ ردیف و ۱۲ ستون. (به تمامی گود ها به جز گوده ای اول هر ردیف ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت مولر هیتون برات اضافه شد. سه گودی آخر هر ردیف از چپ به راست، نمونه کنترل سوسپانسیون باکتریایی، محیط کشت و عصاره گیاهی بودند. پس از افزودن محیط کشت، مقدار ۱۰۰ میلیکرولیتر عصاره در گودی اول و دوم ریخته) ایجاد رقت ۱۰۰٪ در گودی اول (و سپس به ترتیب از گودی دوم ۱۰۰ میکرو لیتر برداشته و به گودی سوم و از سوم به چهارم الی نه، از گود نه به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر برداشت و دفع شد. به نمونه شاهد عصاره ی گیاهی که گوده آخر هر ردیف بود، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره اضافه شد. سپس هر کدام از نمونه های باکتریایی را با غلظت 0.01 از نیم مک فارلند به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر به هر گوده اضافه گردید) به جز نمونه شاهد محیط کشت و عصاره گوده یازده و دوازده. (در پایان معرف رنگی رزازورین به میزان ۳۰ میکرو لیتر به تمامی گوده ها اضافه شد. رزازورین محیط کشت را به رنگ آبی تیره تغییر داد. سپس میکرو پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ سانتی گراد گرما خانه گذاری شد. بعد از اتمام ۲۴ ساعت تغییرات از نظر رنگ به صورت چشمی بررسی شد. برای تعیین حداقل غلظت باز دارنده رشد کم ترین غلظتی که تغییر رنگ ایجاد نکرده بود، به عبارتی کم ترین غلظتی که جلوگیری از رشد کرده بود به عنوان MIC گزارش شد.

تعیین کم ترین غلظت باکتری کشی

بعد از قرائت نتیجه MIC از گوده ۱ تا یک گود بعدی MIC به وسیله آنس استریل نمونه برداشته و در یک محیط کشت BHI آگار کشت شد. پلت ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرما خانه گذاری شد و در تفسیر اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشده به ستون MBC ثبت شد (۱۰). برای تحلیل آماری ارتباط بین حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها نسبت به ترکیب با خاصیت ضد باکتریایی) آنتی بیوتیک های

استاندارد استفاده شده و اسانس پونه کوهی (از آزمون آماری تی مستقل تحت برنامه آماری SPSS نسخه ۱۸ جهت مقایسه داده ها استفاده شد. تفاوت های مشاهده شده در میزان MIC و MBC هر یک از جدایه ها، از آمار توصیفی استفاده گردید. مقادیر $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهشی

نتایج حاصله از بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی و مقایسه با آنتی بیوتیک های استاندارد تترا سایکلین و آمیکاسین با استفاده از آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک در آگار و هم چنین نتایج مربوط به آزمایشات بررسی اثرات ممانعت از رشد و باکتری کشی اسانس پونه کوهی بر جدایه های مورد آزمایش که به طور جدا گانه انجام شد. آزمایش حساسیت میکروبی در مورد آنتی بیوتیک های استاندارد تترا سایکلین و آمیکاسین و نیز دیسک آغشته به اسانس پونه کوهی نشان داد که قطر منطقه عدم رشد ایجاد شده توسط این ترکیب در مورد جدایه های مورد آزمایش بزرگ تر و در مورد اشیریشیا کلی و کلیسیلا نومونیا این اختلاف اندازه معنی داری ($P < 0/05$) بود و

قطر هاله عدم رشد اسانس بر روی استا فیلوکوکوس ارتوس و سودو موناس آئروژینوزا در مقایسه با آنتی بیوتیک های استاندارد تفاوت معنی داری نداشت. هم چنین نتایج حاصل از آزمایشات MIC و MBC هم مشخص کرد که میزان مهار رشد باکتری توسط اسانس با میزان اسانس موجود در رقت ها رابطه مستقیم دارد و با افزایش میزان اسانس در هر رقت از تعداد کلنی های باکتری بعد از کشت کاسته شده و در رقتی که نشان دهنده MBC اسانس پونه کوهی در مورد هر یک از جدایه ها بود، هیچ یک از آن ها اصلاً رشد نکرد، به طوری که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس بر اشیریشیا کلی در رقت ۲۵ درصد و غلظت باکتری کشی ۱۲٫۵ درصدو حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس بر کلیسیلا در رقت ۵۰ درصد و غلظت باکتری کشی ۲۵ درصدو حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس بر استا فیلوکوکوس ارتوس در رقت ۵۰ درصد و غلظت باکتری کشی ۵۰ درصد و حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس بر سودو موناس آئروژینوزا در رقت ۵۰ درصد و غلظت باکتری کشی ۵۰ درصد بوده و در جدول شماره ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

جدول (۱) میانگین قطر عدم رشد جدایه ها بر حسب میلی متر در آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی (meanSD)

کلیسیلا	اشیریشیا کلی	سودو موناس آئروژینوزا	استا فیلوکوکوس ارتوس	اسانس پونه کوهی 30 میکرو لیتر آمیکاسین 30 میکرو گرم تترا سایکلین 30 میکرو گرم
۳۴۰/۲ ^a	۳۳۰/۲ ^a	۱۲۰/۲	۱۳۰/۲	
.....	۱۱۰/۲	۱۱۰/۲	
۱۲۰/۲ ^b	۱۳۰/۲ ^b	
$P < 0/05$	$P < 0/05$			

حروف غیر مشابه a,b در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی دار می باشد $P < 0/05$
علامت (- - -) نشاندهنده عدم استفاده از آنتی بیوتیک مذکور در مورد جدایه آن ردیف می باشد.

جدول (۲) نتایج آزمایشات تعیین کننده (MIC) اسانس پونه کوهی در مورد هر یک از جدایه ها

رقت های مختلف استفاده شده از اسانس پونه کوهی								جدایه های مورد آزمایش
۱۰۰٪	۵۰٪	۲۵٪	۵/۱۲٪	۲۵/۶٪	۱۲/۳٪	۵۶/۱٪	۷۸/۰٪	
-	-	-	+	+	+	+	+	اشیریشیا کلی
-	-	+	+	+	+	+	+	استا فیلوکوکوس ارتوس
-	-	+	+	+	+	+	+	سودو موناس آئروژینوزا
-	-	+	+	+	+	+	+	کلیسیلا نومونیا

علامت - نشان دهنده ی عدم رشد جدایه ها می باشد.

علامت + نشان دهنده رشد جدایه ها می باشد.

جدول (۳) نتایج آزمایشات تعیین کننده (MBC) اسانس پونه کوهی در مورد هر یک از جدایه ها

رقت های مختلف استفاده شده از اسانس پونه کوهی								
جدایه های مورد آزمایش	% ۷۸/۰	% ۵۶/۱	% ۱۲/۳	% ۲۵/۶	% ۵/۱۲	% ۲۵	% ۵۰	% ۱۰۰
اشریشیا کلی	+	+	+	+	-	-	-	-
استا فیلوکوکوس آرئوس	+	+	+	+	+	+	-	-
سودو موناس آئروژینوزا	+	+	+	+	+	+	-	-
کلبسیلا نومونیا	+	+	+	+	+	-	-	-

علامت - نشان دهنده ی عدم رشد جدایه ها می باشد.

علامت + نشان دهنده رشد جدایه ها می باشد.

بحث و نتیجه گیری

اسانس پونه کوهی دارای خاصیت ضد باکتریایی بسیار خوبی بر روی باکتری های اشریشیا کلی و کلبسیلا جدا شده از عفونت های بیمارستانی بوده و هم چنین بر روی باکتری های استا فیلوکوکوس آرئوس و سودو موناس آئروژینوزا نیز دارای اثر ضد باکتریایی بوده است و در مقایسه با آنتی بیوتیک های سنتتیک امیکاسین و تترا سایکلین اثر ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی بیش تر بوده است. گسترش مقاومت های آنتی بیوتیکی در سال های اخیر اهمیت عفونت های باکتریایی در بیماری های عفونی را هم چنان پر رنگ نگاه داشته است با توجه به این امر مهم در سال های اخیر مطالعات مستمر به منظور شناسایی اثرات ضد میکروبی اسانس ها و عصاره های گیاهی صورت گرفته است که نشان دهنده تاثیر مهاری این ترکیبات بر روی طیف گسترده ای از میکرو ارگانیسم های بیماری زا است. ترکیب های عمده اسانس توسط دستگاه GC/MS شامل پولگون ۳۱،۵۴ درصد، ۱-8 سینئول ۱۵،۸۶ درصد، منتو فوران ۱۱،۸ درصد و سیس ایزو پولگون ۹،۷۴ درصد شناسایی شده است. ترکیبات شناسایی شده دارای خاصیت ضد میکروبی می باشد (۱۱). در مطالعه ای که توسط گولوسه و همکاران روی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی عصار متانولی و اسانس پونه کوهی صورت گرفت و نشان داده است که بیش ترین تاثیر اسانس مربوط ترکیب پولگون می باشد. هم چنین آن ها نشان دادند که تأثیر ضد میکروبی اسانس پونه بیش تر از عصاره آن می باشد (۱۱). در مطالعه گیل و همکاران با بررسی اثر باکتری کشی اسانس پونه کوهی نشان داده اند، روی میکرو

ارگانیسم های استا فیلوکوکوس آرئوس ، اشریشیا کلی ، اثر مهاری دارد که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد (۱۲). در مطالعه پژوهی و همکاران با بررسی ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی پونه کوهی گزارش شده است که اسانس گیاه پونه کوهی بر روی باکتری باسیلوس سرئوس اثر مهاری می باشد که با نتایج ما هم خوانی دارد (۱۳) به طور کلی مطالعات صورت گرفته بر روی اسانس های گیاهی نشان داده است که اسانس ها فاز تأخیری رشد باکتریایی را طولانی کرده در حالی که سرعت رشد در فاز لگار یتمی را کاهش می دهند عملکرد آن ها از یک ساز و کار واحد تبعیت کرده که مربوط به تجمع آن ها در دو لایه لیپیدی غشاسلول و تخریب ساختار آن می باشد (۱۴). ارزیابی اسانس گیاه پونه کوهی بر روی باکتری های اشریشیا کلی ، و استا فیلو کوکوس آرئوس ، سودو موناس آئروژینوزا و کلبسیلا جدا شده از عفونت های بیمارستانی نشان داده است که اثر این اسانس بر باکتری های اشریشیا کلی و کلبسیلا نسبت به آنتی بیوتیک تترا سایکلین بستر بوده و اثر این اسانس بر باکتری های استافیلو کوکوس آرئوس و سودو موناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک امیکاسین تفاوت معنی داری نداشت. در پژوهش محمودی و همکاران در سال ۱۳۹۰ انجام شده است که اسانس پونه کوهی از توان ضد میکروبی بسیار بالای بر خوردارمی باشد. بنابراین می توان از آن در ترکیب با نکه دارنده ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل میکروارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت بهره جست (۱۵). نتایج به دست آمده نشان دهنده آن است که اسانس پونه کوهی دارای خاصیت ضد باکتریایی می باشد و می تواند به عنوان یک منبع ارزان و در دسترس

های بسیار مفید ثابت شده در مورد این گیاهان از یک طرف و نتایج ضد باکتریایی به دست آمده در این مطالعه و تحقیقات مشابه به نظر می رسد که این ماده ها و ترکیبات مختلف آن می توانند جایگاه ویژه ای را جهت استفاده در علوم پزشکی و دام پزشکی داشته باشد.

برای استفاده درمانی در برخی از عفونت های باکتریایی مورد استفاده قرار بگیرد. عبارتی می توان از پونه کوهی به عنوان جایگزین مناسب برای انتی بیوتیک های صنعتی جهت مقابله با جدایه های مورد آزمایش در نظر گرفته شود. البته، در این خصوص مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان اثر ضد باکتریایی پونه کوهی و ترکیبات آن را دقیق تر بررسی کرد. هم چنین با توجه به ویژگی

References

8. Hurst WC, Estes A. Food hands and bacteria. 2th ed. Pubs caes uga edu Publication. 2000; P. 222.
9. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. JAntimicrobial Chemotherap2001; 48: 5-16.
10. Guodarzi M, Satari M, Nagar SH, Guodarzi A, Bigadi M. [The effect of aqueous and alcoholic extracts of thyme plant on entero hemorrhagic Escherichia coli]. Urmia Med J2007;8:63-9. (Persian)
11. Bowles BL, Juneja VK.. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. JFood Safet1998;18: 101-12.
12. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokme A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. Food Chem 2007;103:1449-56.
13. Pajhuohi M, Tajek H, Akhoundzadeh A, Gandomi H, Ahsani A. Evaluate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of oregano and cumin seeds Sbzah alone or combined with nisin. Urmia Med J2010;21:324-31.
14. Valero M, Salmeron MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. Int J Food Microbiol2003;85:73-81.
15. Mahmoudi R, Tajek H, Farshed A, Ahsani A, Zarea P, Moradi M. [Chemical composition and antibacterial effects against *Staphylococcus aureus* oregano essential oil]. Armaghane 2012;16:400-412. (Persian)
1. Schoeni JL, Wong AC. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. J Food Protec2005 ;68: 636-48.
2. Ultee A, Bennik HJ, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol2002;68: 1561-8.
3. Mousavi MH, Akhondzadehbasti A, Misaghi A, Zahraeisalehi T, Abbasifar R, Ebrahimzadehmousavi HA, et al. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and nisin on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in a food model system and on the bacterial cell membranes. Food Res Int 2008; 41:1050-7.
4. Moreno L, Bell R, Primo E, Esplugues J. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. Phytotherap Res 2002; 16: 10-13.
5. Iscan G, Kirimer N, Kurkcuoglu M, Baser KH, Demirci F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. J Agricul Food Chem2002;50:3943-3946.
6. Chitsaz M. [In vitro evaluation of antibacterial effect of *Stachys schtschegleevii*]. Daneshvar Med J 2006; 14: 1-8. (Persian)
7. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejadbrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* from Iran. Biol Pharm Bull 2005; 28: 1892-6.

Evaluation of Antibacterial Properties of Oregano Essence on Pathogenic Bacteria Isolated from Hospital Infections

Nozohour Y^{1*}, Rasoulifard M², Ghahramanigermi N³

(Received: July 12, 2016

Accepted: September 18, 2016)

Abstract

Introduction: The use of antimicrobial properties of medicinal plants can solve common problems in the use of antibiotics. The aim of this study was to evaluate the antibacterial properties of the *Mentha longifolia* essence on bacteria isolated from hospital infections.

Materials & methods: In this experimental study the *Mentha longifolia* essence was extracted using Clevenger device and its antimicrobial activity agar disk diffusion method for determination of bacterial sensitivity and dilution method for determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was used separately.

Findings: The results of bacterial sensitivity test in the case of the standard antibiotics of tetracycline, amikacine, and also disks impregnated with *Mentha longifolia* essence showed that the diameter of the zone of inhibition caused by the

compound being tested on four strains of isolates was far larger and this difference about *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates was significant ($p < 0.05$). Also the results of MIC and MBC tests indicated that the inhibition of bacterial growth by *Mentha longifolia* essence had a direct relationship with the amount of available *Mentha longifolia* essence in the dilution and increasing of *Mentha longifolia* essence in each dilution reduced the number of cultured bacterial colonies and no bacterial growth was observed in the dilution equivalent to MBC of *Mentha longifolia* essence.

Discussion & conclusions: The results suggest that *Mentha longifolia* essence can be used as a source of cheap and accessible replacing chemical drugs to treat some bacterial infections.

Keywords: Antibacterial, *Mentha longifolia*, Hospital infections

1 Dept of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

2. Dept of Food and Aquaculture Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3. Dept of Nursing, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

* Corresponding author Email: yasar_nozohour@yahoo.com