

مقاله تحقیقی

بررسی اثر مهاری اسانس گیاه پونه بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم بستر

فاطمه نوری^۱، سحر هنرمند جهرمی^{۱*}، معصومه مهدوی اور تاکند^۲

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

*مسئول مکاتبات: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران
sahar_hj2@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۱

چکیده

اغلب باکتری های عامل عفونت در زخم بستر به درمان های آنتی بیوتیک رایج مقاومت نشان می دهند. افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها و ناکارآمد شدن درمان علیه عفونت های باکتریایی، به کشف راهکارهای جدید ضد میکروبی نیاز است. یکی از راه های امیدبخش برای حذف میکروارگانیسم های مقاوم به دارو استفاده از گیاهان با خواص درمانی است. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی گیاه پونه *Mentha pulegium* بر علیه باکتری های جدا شده از زخم بستر است. این مطالعه بر روی ۱۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۳ سویه سودوموناس آئروژینوزا جدا سازی و شناسائی شده از نمونه های زخم بستر بیماران بستری در بیمارستانهای تهران صورت گرفت. حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) آنتی بیوتیک های تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین بر اساس CLSI، تعیین شد. اثر ضد میکروبی اسانس گیاه پونه به روش MIC در مقایسه با آنتی بیوتیک های تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین، بر روی این سویه ها بررسی شد. بر اساس نتایج MIC، ۷٪ از سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به تتراسایکلین حساس و ۹۳٪ مقاوم گزارش شدند و ۲۳٪ از سویه های سودوموناس آئروژینوزا به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین حساس و ۷۶٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم گزارش شدند. MIC اسانس گیاه *M. pulegium* بر روی سویه استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۱۶-۰/۱۲ $\mu\text{l/ml}$ و ۲۵۶-۰/۱۲ $\mu\text{l/ml}$ به دست آمد. اسانس گیاه *M. pulegium* بر روی سویه های باکتریایی جدا شده از زخم بستر اثر ضد میکروبی داشت. بررسی اثر ضد بیوفیلم اسانس در مقایسه با اثر ضد میکروبی آن توصیه می شود.

واژه های کلیدی: *Mentha pulegium*، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، زخم بستر

مقدمه

نقطه از بدن گفته می شود. خوابیدن طولانی مدت در یک وضعیت ثابت، سائیدگی در صندلی یا بستر، و یا کشیدگی به ملحفه می تواند به بخشی از پوست یا بافت بدن آسیب بزند

زخم بستر به آسیب بافت بدن (شامل پوست، درم، اپیدرم و ماهیچه) در اثر ایجاد فشار درازمدت بر یک یا چند

میکروارگانسیم‌های مقاوم به دارو استفاده از گیاهان با خواص درمانی است. گیاه پونه معطر (خالواش) با نام علم *Mentha pulegium* متعلق به خانواده نعناعیاء (Lamiaceae) می باشد. این گیاه به شکل بوته های کوته ساقه چهارگوش و برگ های تخم مرغی شکل که با کره کمی پوشیده شده است، می باشد (۷). تحقیقات نشان م دهند که مونوترپن ها از ترکیب اصلی اسانس های ضرور پونه به شمار می آیند. این ترکیب به طور عمده از مونوترپن های اکسیژنه نظیر پولگون (Pulegone)، منتون (Menthone)، و نئومنتون (Neomenthone) تشکیل ش اند. البته ترکیبات دیگری مانند (Piperiton) و اکتانول (Octanol) در مقادیر مختلف در اسانس این گیاه یافت ه شوند (۸). خاصیت ضد میکروبی این گیاه به دلیل وج چنین ترکیباتی است که می توانند با تغییر نفوذپذیری غش سلولی و تخریب دیواره باکتریایی سبب درهم گسیخته ساختار لایه های مختلف پلی ساکارید، اسید های چرب فسفولیپیدهای غشای باکتری شوند (۹).

هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی گیاه پونه *M. pulegium* بر علیه باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم بستر است.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه های میکروبی

این مطالعه بر روی باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم بستر بیماران بستری در بیمارستان ها امام حسین (ع) و رسول اکرم (ص) که در تاریخ ۱۳۹۴ جد آوری شدند، صورت گرفت. برای نمونه گیری ابتدا محل زخ با استفاده از سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و با استفا از سوآپ استریل از مرکز زخم بستر نمونه گیری انجام گرف و به سرعت به درون محیط کشت برین هرت اینفوژن (HI) مایع منتقل شد. سپس این محیط جهت رشد میکروبی مدت ۲۴ ساعت با دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذار شد. جهت شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از تس های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، کشت در محیه های DNase و مانیتول سالت آگار و برای شناسایی باکتر

بیماران بستری شده یا در حال کما، افراد فلج شده یا متحرک با صندلی چرخ داراز افراد در معرض خطر ابتلا به زخم بستر هستند (۱). زخم بستر اغلب در بخش های استخوانی بدن ایجاد می شود زیرا در این قسمت ها فشار بیشتری بر پوست وارد می شود و چربی کمتری برای محافظت از این ناحیه وجود دارد. بیشتر مناطق رایج عبارتند از پاشنه یا باسن، اما سایت های دیگر مانند آرنج، زانو، مچ پا و یا پشت جمجمه می تواند تحت تاثیر قرار بگیرند (۲). زخم بستر به دلیل ایجاد فشار بر روی بافت نرم بدن رخ می دهد که باعث می شود جریان خون به طور کامل یا جزئی مسدود شود. برش ایجاد شده ناشی از زخم نیز یک علت می تواند باشد که بر روی عروق خونی که پوست را تغذیه می کنند اثر بگذارد (۳). باور بر این است که عوامل دیگر می تواند تحمل پوست برای فشار و برش را تحت تاثیر قرار دهد که موجب افزایش خطر ابتلا به زخم بستر می شود این عوامل عبارتند از سوء تغذیه در دریافت کالری و هوا (رطوبت پوست ناشی از عرق کردن) بیماری هایی که جریان خون را در پوست کاهش می دهد مانند تصلب شرایین، و یا بیماری هایی که احساس در پوست را کاهش می دهد، مانند فلج یا نوروپاتی (۴). اغلب این زخم ها قابل درمان هستند به شرطی که زود تشخیص داده شوند، اما درمان زخم بستر می تواند در افراد بد حال، سالمندان ضعیف و کاربران صندلی چرخدار (به خصوص کسانی که دارای آسیب نخاعی هستند) و افرادی با بیماری علاج ناپذیر مشکل باشد. پیشگیری اولیه در توزیع فشار ایجاد شده در بدن فرد با چرخاندن بیمار است (۵).

باکتری های جدا شده از زخم بستر شامل پروتئوس، اشیریشیا کولی، انتروکوک، استافیلوکوکوس و گونه های پسودوموناس هستند. باکتری های غالب ایجاد کننده باکتری می شامل باکترئوئید فراژیلیس، گونه های پیتواسترپتوکوکوس، پروتئوس میرابیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. در ۴۱٪ از موارد، باکتری می چند میکروبی می باشد (۶).

افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها و ناکارآمد شدن درمان های رایج علیه عفونت های باکتریایی، نیاز به یافتن راهکارهای جدید ضد میکروبی را ایجاد کرده است. یکی از راهکارهای امیدبخش برای حذف

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس پونه،

آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس پونه بر اساس استاندارد 2016, CLSI به روش میکروداپلوشن براث انجام شد. در این روش از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای استفاده گردید. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۲۵۶ تا ۰/۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر از اسانس گیاه پونه بر اساس روش سریال داپلوشن به یک ردیف از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ تایی افزوده شد. سوسپانسیون میکروبی که با نیم مک فارلند برابر شده بود، به وسیله محیط کشت مولر هینتون براث به میزان ۱/۱۰۰ جهت به دست آوردن تعداد $10^6 \times 0.5$ CFU/ml رقیق شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک افزوده شد. به میزان میکرولیتر به چاهک‌ها در این آزمون به منظور کنترل محیط کشت، از محیط کشت خالی (بدون اسانس گیاه پونه و سوسپانسیون میکروبی) استفاده گردید. به منظور کنترل زمینه از اسانس گیاه پونه و محیط کشت (بدون سوسپانسیون میکروبی) استفاده شد. یک چاهک هم به منزله کنترل محلول ۵ درصد DMSO در نظر گرفته شد. همچنین سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت بدون اسانس گیاه پونه به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. حجم نهایی تمام چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر بود. در نهایت میکروپلیت بر روی شیکر (۲۵۰ rpm) به مدت ۱ دقیقه قرار داده شده تا مخلوط کاملاً یکنواخت گردد. سپس میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت، پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) تعیین شد. تمام مراحل برای سویه استاندارد و ۳۰ سویه پاتوژن باکتری اشریشیاکلی با ۳ تکرار انجام شد. حداقل غلظت بازدارندگی آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا و آنتی بیوتیک تتراسایکلین برای باکتری استفیلوکوکوس اورئوس نیز به همین روش تعیین شد. سویه های استاندارد *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 و *Staphylococcus aureus* ATCC12228 در تمام مراحل استفاده شدند.

سودوموناس آئروژینوزا از تست تخمیر قند در محیط TSI، سیمون سیترات، SIM، MRVP و اوره آز استفاده شد.

تهیه اسانس گیاه *M. pulegium*

ابتدا گیاه تازه *M. pulegium* خریداری شد و پس از شناسایی، در جریان هوا و به دور از نور خشک شد. به منظور تهیه اسانس اندام‌های هوایی، گیاه به وسیله آسیاب برقی خرد شده و سپس ۲۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده پس از توزین با دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس گیری شد. اسانس با سولفات سدیم بدون آب، آبگیری و در ظرف دربسته تیره رنگ، دور از نور و در یخچال نگهداری شد. استوک اولیه اسانس با رقت ۵۱۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر توسط محلول ۵ درصد DMSO رقیق شد. این محلول توسط ورتکس بهم زده شده تا کاملاً یکنواخت شود. جهت استریل کردن، اسانس رقیق شده از فیلترهای میکروبی سر سرنگی ۰/۲ میکرون عبور داده شد.

آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *M. pulegium*

عمل جداسازی و شناسایی ترکیبات متشکله اسانس بدست آمده توسط روش کروماتوگرافی گازی توام با طیف سنجی جرمی (GC-MS) انجام گردید. مشخصات و شرایط دستگاه GC: 7890A شرکت Agilent Technologies، نوع ستون HP-5MS با قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت فیلم ۰/۳۲ میکرومتر و طول ستون ۳۰ متر، گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ میلی متر در دقیقه بود. مشخصات و شرایط دستگاه MS: مدل 5975C شرکت Agilent Technologies، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای یونیزاسیون ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد بود. برای این منظور طیف‌های جرمی بدست آمده از دستگاه GC-MS با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در منابع مقایسه گردید (۱۰). برای تایید شناسایی‌های انجام شده توسط طیف‌های جرمی، از شاخص بازدارندگی کواتس مطابق GC-MS استفاده شد.

¹ Minimum Inhibitory Concentration

بر اساس نتایج MIC مقایسه آن با استاندارد CLSI, 2016. ۷٪ از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به تتراسایکلین حساس و ۹۳٪ مقاوم گزارش شدند و ۲۳٪ از سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین حساس و ۷۶٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم گزارش شدند. MIC اسانس گیاه پونه بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم بستر به ترتیب $0.12 - 16 \mu\text{l/ml}$ و $256 - 256 \mu\text{l/ml}$ تعیین شد. MBC اسانس گیاه پونه برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس $1 - 64 \mu\text{l/ml}$ (جدول ۲) و برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا $256 - 2 \mu\text{l/ml}$ تعیین شد (جدول ۲ و ۳). آنالیز آماری اختلاف معنا داری را برای MIC اسانس گیاه با MIC تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین به ترتیب در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا نشان داد (P=0/001).

بحث و نتیجه گیری

مطالعات نشان داده که دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس از مهمترین عوامل شایع ایجاد عفونت‌های چند میکروبی در زخم‌های مزمنی همچون زخم بستر هستند (۱۱). بالا بودن میزان قدرت تشکیل بیوفیلم این سویه‌ها در زخم‌های مزمنی مانند زخم بستر می‌توان یکی از عوامل مهم مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها و عدم درمان مناسب زخم‌ها باشد. این پژوهش با هدف بررسی اسانس گیاه پونه بر علیه سویه‌های جدا شده از زخم بستر انجام گرفت. اسانس‌های گیاهی، ترکیبات پیچیده‌ای از اجزای مختلف شیمیایی با مقادیر گوناگون می‌باشند. خواص ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی شناخته شده‌است. از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل‌دهنده آنها خاصیت آبگریزی آنها می‌باشد که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها می‌شود و سبب اختلال در ساختمان‌های آنها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد (۱۲).

تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC) اسانس گیاه *M. pulegium*

جهت تعیین غلظت کشنده از رقت MIC و چند رقت بالاتر از آن (پس از شیک نمودن میکروپلیت)، به میزان ۲۰ میکرولیتر در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباتورگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی گردیده و اولین رقت که در آن رشدی روی محیط کشت دیده نشد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) باکتری‌ها گزارش گردید. این مرحله نیز برای هر باکتری سه بار تکرار شد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. جهت بررسی اختلاف معنا داری بین MIC اسانس گیاه *M. pulegium* با MIC تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا از آزمون مربع کای استفاده شد. سطح معنا داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد ۱۴ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۳ جدایه سودوموناس آئروژینوزا پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی از نمونه‌های زخم بستر بیماران جداسازی و شناسایی شدند.

نتایج آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *M. pulegium*

در آنالیز اسانس، ترکیب زیادی شناسایی شد که بیشترین فراوانی ترکیبات مربوط به pulegone (۴۴/۶ درصد)، Pyridine (۲۰/۱۹ درصد) و Morpholine (۹/۷۰ درصد) بود (جدول ۱).

نتایج MIC و MBC اسانس گیاه *M. pulegium*

² Minimum bactericidal concentration

جدول ۱- درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس *M. pulegium*

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
۱	Pulegone	۴۴/۶	۱۲/۳۳۹
۲	Pyridine	۲۰/۱۹	۱۱/۰۵۷
۳	Morpholine	۹/۷۰	۱۱/۶۵۴
۴	2-Pentene-4-yne	۶/۰۴	۱۲/۵۵۱
۵	.alpha.-selinene	۳/۷۴	۱۳/۰۹۲
۶	Cyclohexane	۳/۰۷	۱۲/۶۸۰
۷	Bicyclo[5.0.1]octane	۲/۷۳	۸/۸۳۸
۸	1-Nonen-3-yen	۰/۸۴	۸/۱۵۵
۹	Ylangene	۰/۷۳	۱۳/۵۱۷
۱۰	1-Pentyne	۰/۶۶	۸/۹۶۱
۱۱	Acetic acid	۰/۵۲	۱۲/۱۰۹
۱۲	1,4-Hexadiene	۰/۵۱	۱۱/۴۲۶
۱۳	1,1-Dicyclopropyl-1-butene	۰/۱۳	۹/۹۳۲
۱۴	3-Octanol	۰/۱۳	۹/۲۲۵
۱۵	Bicyclo[4.1.0]heptanes	۰/۱۲	۱۲/۲۰۷
۱۶	Bicyclogermacrene	۰/۱۰	۱۳/۶۲۷
۱۷	Ammonia	۰/۱۰	۱/۸۵۳
۱۸	CIS-.alpha.-BISABOLENE	۰/۰۹	۱۳/۳۰۸
۱۹	1-Butanone	۰/۰۶	۱۲/۹۰۲
۲۰	Camphene	۰/۰۶	۸/۳۷۰

جدول ۲- مقادیر MIC و MBC اسانس گیاه *M. pulegium* برای سویه های استافیلوکوکوس اورئوس.

<i>S. aureus</i> isolates	MIC <i>M. pulegium</i>	MBC <i>M. pulegium</i>	MIC Tetracycline
1	۱۶	۶۴	۶۴
2	۰/۱	۰/۲	۴
3	۴	۳۲	۱۶
4	۲	۱۶	۳۲
5	۴	۱۶	۱۶۴
6	۱	۱	۱
7	۲	۴	۶۴
8	۴	۱۶	۱۲۸
9	۱	۲	۱۶
10	۴	۴	۶۴
11	۰/۵	۱	۳۲
12	۰/۱	۰/۱	۴
13	۲	۴	۶۴
14	۱	۴	۱۶
Standard Strain ATCC 25923	۰/۵	۰/۵	۱

جدول ۳- مقادیر MIC و MBC اسانس گیاه *M. pulegium* برای سویه های برای سودوموناس آئروژینوزا

<i>P. aeruginosa</i> isolates	MIC <i>M. pulegium</i>	MBC <i>M. pulegium</i>	MIC Cpsopifloxacin
1	۶۴	۱۲۸	۱۶
2	۱	۲	۴
3	۱۶	۶۴	۸
4	۰/۱	۰/۱	۰/۱
5	۱۶	۶۴	۲
6	۸	۱۶	۸
7	۲	۴	۱
8	۴	۳۲	۰/۵
9	۴	۱۶	۸
10	۱۶	۶۴	۱۶
11	۳۲	۶۴	۳۲
12	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶
13	۱۶	۱۶	۱۶
Standard Strain ATCC 27853	۰/۵	۰/۵	۱

بود. با توجه به این تاثیرات بیولوژیک، اسانس ها به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک ها با اهداف درمانی مورد

به طور کلی هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص آنتی باکتریال آنها علیه پاتوژن ها بیشتر خواهد

حساس گزارش شده اند و ۷۶٪ از سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاوم گزارش شدند. همانطور که نتایج نشان داد مقاومت ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به تتراسایکلین و سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سیپروفلوکساسین بالا است.

در تحقیق حاضر اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش میکرودايلوشن براث بررسی شد و MIC و MBC اسانس گیاه *M. pulegium* بر روی ۱۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس (باکتری گرم مثبت) جدا شده از زخم بستر بررسی شد. MIC اسانس گیاه پونه بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم بستر به ترتیب $0.12 - 16 \mu\text{g/ml}$ و $256 - 0.12 \mu\text{g/ml}$ تعیین شد. MBC اسانس گیاه پونه برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس $1 - 64 \mu\text{g/ml}$ (جدول ۲) و برای سویه‌های سودوموناس- آئروژینوزا $2 - 256 \mu\text{g/ml}$ تعیین شد. آنالیز آماری اختلاف معنا داری را برای MIC اسانس گیاه با MIC تتراسایکلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و MIC اسانس گیاه با MIC سیپروفلوکساسین در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا نشان داد (P=0/01). Mahboubi و Haghi در سال ۲۰۰۸ نیز مطالعه‌ای بر روی فعالیت ضد میکروبی و ترکیب شیمیایی اسانس گیاه *M. pulegium* که از دیرباز در درمان بیماری‌های عفونی به عنوان داروی آنتی‌سپتیک کاربرد داشته، انجام دادند. هدف از انجام آن غربالگری و تأیید خاصیت آنتی-باکتریال اسانس حاصل از برگ‌های این گیاه بر روی میکروارگانیسم‌های گوناگون بود. نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از معنادار بودن فعالیت ضد میکروبی اسانس بر روی باکتری‌ها و بویژه باکتری‌های گرم مثبت با MIC در محدوده ۸-۲۱ $\mu\text{g/ml}$ است (۱۳). در تحقیقی که Tutar انجام داد MIC و MBC اسانس گیاه *M. pulegium* بر روی باکتری‌های اسینتوباکتر بومانی به ترتیب $0.16 - 1/25$ و $5 - 1/25 \mu\text{g/ml}$ بود و گزارش داد که اسانس این گیاه فعالیت ضد میکروبی قوی بر روی ایزوله‌های مقاوم چند دارویی اسینتوباکتر بومانی دارد (۱۸). Jazani و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی تأثیرات آنتی‌باکتریال اسانس گیاه *M. pulegium* بر روی مهار ایزوله‌های باکتری کلسیلا پرداختند. ۹ ایزوله از نمونه‌های ادرار جمع‌آوری شده از ۲ بیمارستان آموزشی

توجه هستند (۱۳). جهت بررسی اثر ترکیبات گیاهی بر ایزوله‌های مورد مطالعه از اسانس پونه استفاده شد. ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل پولگون با ۴۴/۶ درصد به دست آمد که یک ترکیب آروماتیک از نوع مونوترپن است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قوی می‌باشد. در مطالعه‌ای که Tutar و همکارانش در سال ۲۰۱۶ انجام داد، بیشترین ترکیبات اصلی اسانس *M. pulegium* را پیپریتون (۱۶/۳۴) و پولگون (۱۳/۷۲) گزارش داد (۱۴). Zanjani و همکارانش در سال ۲۰۱۵ ترکیب شیمیایی اسانس *M. pulegium* را با استفاده از روش GC-MS تعیین نمودند. عمده ترکیبات تشکیل دهنده عبارت بودند از پولگون ۲۰ درصد و پیپریتون ۱۴/۱۵ درصد (۱۵). Agnihotri و همکارانش نیز ترکیبات اصلی اسانس این گیاه را که از مناطق مختلف هند جمع‌آوری شده بود، پولگون (۱/۸۳-۹/۶۵) و منتون (۷/۸) گزارش نمودند (۱۶). اصولاً کمیت و کیفیت ترکیبات متشکله اسانس به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف مانند مناطق جغرافیایی، عوامل ژنتیکی، دوران رشد و نموی گیاه و زمان برداشت بستگی دارد (۱۷). در این مطالعه اثر ضد میکروبی اسانس پونه بر علیه دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از زخم بستر به روش میکرودايلوشن براث بررسی شد و MIC آن برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بین $0.12 - 16 \mu\text{g/ml}$ و برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا $256 - 0.12 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. در بخش دیگر این تحقیق از روش میکروبراث دایلویشن برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین برای سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و سیپروفلوکساسین برای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد و MIC سویه‌های پاتوژن تعیین گردید که نتایج نشان داد بر اساس استاندارد CLSI, 2016، در این تحقیق از روش میکروبراث-دایلویشن برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) آنتی-بیوتیک‌های انتخابی بر روی ایزوله‌های جمع‌آوری شده از باکتری‌های زخم بستر استفاده شد. از بین ۱۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه، ۷٪ از سویه‌ها به آنتی-بیوتیک تتراسایکلین حساس و ۹۳٪ مقاوم گزارش شدند. از بین ۱۳ سویه سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه، ۲۳٪ از سویه‌ها، بر اساس نتایج MIC آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین

ساخت و نشان داد که در صورت استفاده از اسانس گیاه پونه، این گیاه می تواند باعث بازدارندگی و مهار رشد باکتری های موجود در زخم بستر شود. با توجه به این نتایج، بررسی اثر ضد بیوفیلمی اسانس پونه نیز توصیه می شود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا است، بدین وسیله از آقای امید حسینی که در انجام بخش هایی از این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدر دانی می شود.

انسانی در شهر ارومیه به دست آمد. میزان حساسیت این ایزوله ها مشابه تحقیق حاضر به روش میکروداپلوشن براث اندازه گیری شد. نتایج این مطالعه توان گیاه پونه ایرانی را در کنترل عفونت های ناشی از سویه های مختلف کلبسیلای مقاوم به چندین آنتی بیوتیک اثبات نمود (۱۹). یافته های پژوهش حاضر، نشان داد که اکثر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک های رایج تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین که در درمان عفونت های ناشی از این باکتری ها به کار می روند، مقاوم می باشد. همچنین نتایج این تحقیق اثر ضد میکروبی اسانس گیاه پونه بر علیه سویه های پاتوژن استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از زخم بستر را به خوبی آشکار

منابع مورد استفاده

- Beheshti Zavare, Z., Arab, M., Rashidian, A., Golestan, B., 2010. Factors affecting pressure ulcer in the ICU units of Tehran University of Medical Sciences teaching hospitals. J School Pub Health Inst of pub Health Res 8(3): 81-92.
- Frankel, H., Sperry, J., Kaplan, L., 2007. Risk factors for pressure ulcer development in a best practice surgical intensive care unit. The American Surgeon 73(12): 1215-1217.
- Tannen, A., Dassen, T., Bours, G., Halfens, R., 2004. A comparison of pressure ulcer prevalence: concerted data collection in the Netherlands and Germany. Int J of Nurs Stud 41(6): 607-612.
- Thomas, D., R., 2006. Prevention and treatment of pressure ulcers. J Amer Med Dir Ass 7(1): 46-59.
- Vanderwee, K., Clark, M., Dealey, C., Gunningberg, L., Defloor, T., 2007. Pressure ulcer prevalence in Europe: a pilot study. J Eva Clinic Prac 13(2): 227-235.
- Braga, I. A., Ribas, R. M., Gontijo Filho, P. P., Diogo Filho, A., 2013. Bacterial colonization of pressure ulcers: assessment of risk for bloodstream infection and impact on patient outcomes. J Hosp Infec 83(4): 314-320.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira J. M. F., Saraiva, J. A., Nunes, M. L., 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Ind Crop Prod 36(1): 81-87.
- Mahboubi, M., Haghi, G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J Ethnopharmacol 119(2): 325-327.
- Marzouk, B., Fredj, M. B. H., Chraief, I., Mastouri, M., Boukef, K. Marzouk, Z., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium*. J Food Agri Environ 6(1): 78.
- Adams, R. P., 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadropole mass spectroscopy carol stream IL. Allured Publishing Crop, pp. 465.
- Trivedi, U., Parameswaran, S., Armstrong, A., Burgueno-Vega, D., Griswold, J., Dissanaik, S., Rumbaugh, K. P., 2014. Prevalence of multiple antibiotic resistant infections in diabetic versus nondiabetic wounds. J Pathog 17(30):125-132.
- Ghasemi R, Dehkordi, N., Sajadi, S. E., Ghanadi, A. R., Amanzadeh, M., Asghari, Gh R, A. G., 2002. Iran herb Pharmacology 1: 105.
- Mahboubi, M., Haghi, G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. J Ethnopharmacol 119(2): 325-327.
- Tutar, U., Çelik, C., Karaman, İ., Ataş, M., Hepokur, C., 2016. Anti-biofilm and antimicrobial activity of *Mentha pulegium* L. essential oil against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Tropic J Pharmaceut Res 15(5): 1039-1046.
- Zanjani, K., Mohammadi, N., Zojaji, M., Bakhoda, H., 2015. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. and its antimicrobial activity on *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis* and *Zygosaccharomyces rouxii*. J Food Biosci Technol 5(2): 31-40.

16. Agnihotri, V. K., Agarwal, S. G., Dhar, P. L., Thappa, R. K., Baleshwar B. K., Kapahi, R. K., Qazi, G. N., 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the North-Western Himalayas India. Flavour Fragr J 20(6): 607-610.
17. Marzouk, B., Fredj, M. B. H., Chraief, I., Mastouri, M., Boukef, K. Marzouk, Z., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. J Food Agricul Environ 6(1): 78-85.
18. Tutar, U., Çelik, C., Karaman, İ., Ataş, M., Hepokur, C., 2016. Anti-biofilm and antimicrobial activity of *Mentha pulegium* L. essential oil against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Tropical J Pharmaceutic Res 15(5): 1039-1046.
19. Jazani, N. H., Ghasemnejad-Berenji, H., Sadegpoor, S., 2009. Antibacterial effects of Iranian *Mentha pulegium* essential oil on isolates of *Klebsiella* sp. Pakist J Biol Sci 12(2): 183-196.