

بررسی اثر گندزدایی گیاه زنیان بر روی سودوموناس آئروژینوزا

بهرام کمره بی^۱، فاطمه فراش بیرانوند^۲، محسن محمدی^۳، محمد امین کرمی^{۴*}

^۱ مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

^۲ مرکز بهداشت خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

^۳ مرکز تحقیقات هیپاتیت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

^۴ مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: 1400/12/3، پذیرش مقاله: 1401/12/14

چکیده

زمینه و هدف: افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اکثر باکتری‌ها منجر به توسعه ترکیب‌های ضد میکروبی طبیعی شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر گندزدایی گیاه زنیان بر روی سوش استاندارد سودوموناس آئروژینوزا است. مواد و روش‌ها: تهیه اسانس با روش تقطیر انجام شد. اجزای تشکیل‌دهنده با روش‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی شدند. جهت بررسی اثر گندزدایی اسانس گیاه فوق بر روی سوش استاندارد سودوموناس آئروژینوزا از روش‌های رقیق‌سازی ماکروپلیت و انتشار دیسکی استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس زنیان شامل تیمول ۵۰ درصد، پاراسیمن ۲۳/۶ درصد و گاماترپینن ۲۰/۳ درصد بود. میانگین مقدار MIC و MBC مواد آنتی‌باکتریال مورد مطالعه (گیاه زنیان + DMSO، گلو تار آل‌دئید ۰/۲٪) به ترتیب ۸۳، ۱۲۵ و ۱۲۵، ۱۶۶/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. میانگین قطر هاله عدم رشد مواد آنتی‌باکتریال مورد مطالعه در غلظت MIC برابر ۱۱ و ۱۲ میلی‌متر بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، اسانس گیاه زنیان اثر گندزدایی مشابه گندزدای شیمیایی (گلو تار آل‌دئید) دارد و می‌تواند به عنوان یک جایگزین بالقوه برای گلو تار آل‌دئید در مقاصد گندزدایی بیمارستانی باشد.

کلید واژه: گندزدا، زنیان، عفونت بیمارستانی

مقدمه

بیمارستان محل مداوا و درمان بیماران است ولی متأسفانه از آغاز تجمع بیماران در این مکان تا به امروز، همواره بیمارستان کانون بسیاری از عفونت‌ها بوده و مشکلی که از آن به‌عنوان عفونت بیمارستانی یاد می‌شود باعث مشکلات زیادی برای بیماران و کادر درمانی شده است.^۱

در حال حاضر عفونت بیمارستانی یک مشکل بهداشت عمومی جدی است و یکی از معضلات قرن حاضر است.^۲ عوامل بیماری‌زای شایع در عفونت بیمارستانی شامل باکتری‌ها (انتر و باکتریاسه فرصت‌طلب بخصوص استافیلوکوکوس ارئوس، سودوموناس اثرورزینوزا)، قارچ‌ها (آسپرژیلوس، کاندیدا) و پروتوزوا (توکسوپلازما گوندی، پنوموسیس کارینی) می‌باشند.^۴ شواهد موجود نشان می‌دهد که چهار محل مهم عفونت در بیمارستان عبارت از دستگاه ادراری، زخم‌های ناشی از جراحی، قسمت‌های تحتانی تنفسی و پوست می‌باشد.^۵ عفونت‌های بیمارستانی از سه جنبه ابتلا، خسارات اقتصادی و مرگ‌ومیر حائز اهمیت هستند.^۶

بر اساس یک گزارش در سال ۱۹۹۵، عفونت‌های بیمارستانی در هر ۶ دقیقه باعث مرگ یک نفر در آمریکا می‌شوند. این رقم در کشورهای در حال توسعه بیشتر و سالانه ۴-۲ میلیون مورد عفونت بیمارستانی در این کشورها رخ می‌دهد تا آنجا که یازدهمین علت مرگ‌ومیر در جهان و پنجمین علل مرگ‌ومیر در بیمارستان‌ها است.^۳

یکی از راه‌های کنترل عفونت‌های بیمارستانی انجام گندزدایی مناسب است. تعداد مشخصی از عفونت‌های بیمارستانی به علت گندزدایی ناکارآمد سطوح، وسایل و اتاق‌های بیمارستان اتفاق می‌افتد.^۷ از جمله مواد شیمیایی که به‌منظور گندزدایی استفاده می‌شود، گلو تار آلدئید است. گلو تار آلدئید به‌عنوان یک استریل کننده و گندزدای سرد برای تجهیزات حساس به گرما مانند ابزار دیالیز، برونکوسکوپ‌ها، آندوسکوپ‌ها و تجهیزات معاینه گلو، گوش و بینی استفاده می‌شود. این ماده تاثیر

چشمگیری علیه باکتری‌ها و اسپور آن‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها دارد با این وجود تأثیر چندانی روی ویروس‌های پوشش‌دار و اسپور باکتری‌ها ندارد. علاوه بر این، گلو تار آلدئید به‌تنهایی قابلیت نفوذ به داخل سلول را ندارد و بیرون از غشاء سلولی خاصیت میکروب‌کشی خود را اعمال می‌کند، لذا سرعت تأثیر آن کم بوده و بنابراین مدت‌زمان بیشتری برای تأثیر مناسب و اعمال خاصیت میکروب‌کشی آن نیاز است. از طرفی استفاده از گلو تار آلدئید در بخش پزشکی یک خطر جدی برای سلامت افرادی که مدام با آن کار می‌کنند، محسوب می‌شود. گزارش‌های مختلفی مبنی بر ایجاد بیماری‌هایی مثل درماتیت آلرژیک، رینیت، کنژنکتیویت و آسم در افرادی که در معرض این مواد بوده‌اند، وجود دارد.^{۸، ۹} با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در میکروارگانیسم‌ها، راه‌حل مناسب در این موضوع جایگزین کردن موادی با عملکرد مناسب علیه میکروب‌ها است. از جمله این مواد که می‌تواند مورد مصرف انسان قرار گیرد و دارای حداقل اثر جانبی باشند، اسانس‌های گیاهی می‌باشند. اسانس‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات منحصربه‌فرد خود توانایی مقابله علیه طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها، تک‌یاخته‌ها و حشرات را دارا می‌باشند.^{۱۰} گیاه زنیان یا نان خواه (*Trachyspermum ammi*) گیاهی علفی، یک‌ساله، بدون کرک و معطر با ساقه افراشته به ارتفاع ۵۰-۲۰ سانتی‌متر می‌باشد.^{۱۱، ۱۲} محل رویش این گیاهان در ایران، استان‌های سیستان و بلوچستان، آذربایجان، اصفهان، خوزستان، یزد، فارس، کرمان و خراسان است.^{۱۳، ۱۴}

از زنیان به‌صورت خوراکی به‌عنوان ضد درد، ضد آسم، ضد تهوع و خلط‌آور و به‌صورت موضعی در درمان تب‌های روماتیسمی استفاده می‌شود.^{۱۲} ترکیبات موجود در گیاه زنیان به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی، ضداسپاسم و ضد قارچ شناخته‌شده است.^{۱۳} تعداد ترکیبات موجود در اسانس این گیاه در منابع مختلف بین ۱۷-۱۱ مورد گزارش شده است که مهم‌ترین قسمت اصلی اسانس این گیاه تیمول می‌باشد.^{۱۲-۱۵}

نگه‌داشته شد. دمای محل تزریق ۲۳۰ درجه سلسیوس و دمای دتکتور ۲۵۰ درجه سلسیوس پایه تنظیم شد. از گاز هلیوم با سرعت ۰/۹ ml/min با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. شرایط طیف سنج دقیقاً مطابق با کروماتوگرافی گازی بود فقط از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت استفاده گردید.

بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس

به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس استخراج شده، از سوش استاندارد آئروژینوزا با کد ATCC۲۷۸۵۳ استفاده شد. به منظور فراهم کردن کشت تازه و فعال میکروبی از پلیت حاوی سوش استاندارد، چند کلنی با لوپ استریل در کنار شعله و زیر هود برداشته و به محیط کشت نوترینت براث استریل اضافه شد. جهت رسیدن به یک سوسپانسیون یکنواخت، محیط کشت و کلنی‌های باکتریایی کاملاً اختلاط داده شد. در نهایت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شد تا باکتری‌ها در فاز مایع رشد کرده و سوسپانسیون غلیظی به دست آید. جهت استاندارد کردن غلظت تلقیح برای آزمایش تعیین حساسیت میکروبی، از سوسپانسیون غلیظ بدست آمده کدورت استاندارد نیم مک فارلند تهیه گردید.

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC)

جهت تعیین (MIC)، برای مواد مورد آزمایش (زنیان و گلو تار-آلدئید) از یک سری ۱۲ تایی لوله‌های آزمایش شماره‌گذاری شده حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون براث استفاده شد. ۹ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر گندزدا (۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، ۱/۱۲۸، ۱/۲۵۶)، یک لوله به‌عنوان کنترل مثبت (حاوی گندزدا و محیط کشت)، یک لوله کنترل منفی (حاوی سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت) و یک لوله حاوی حلال (دی متیل سولفاکساید، سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت) جهت اطمینان از رشد باکتری‌ها در محیط حاوی دی متیل سولفاکساید (DMSO) استفاده شد. از

باکتری سودوموناس آئروژینوزا به‌عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های باکتریایی و عفونت بیمارستانی در ریه‌ها، خون و مجاری ادراری مورد توجه واقع شده است. حداقل نیازهای تغذیه‌ای و مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک، امکان زنده ماندن در میزبان‌های مختلف را به سودوموناس می‌دهد^{۱۶، ۱۷}. بنابراین تحقیق روی مواد گندزدایی که محاسن گندزدهای شیمیایی مانند گلو تار آلدئیدها را داشته باشد و از طرفی معایب آن مانند سمیت را نداشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به مطالب ذکر شده هدف این مطالعه بررسی اثربخشی اسانس روغنی گیاهان زنیان بر روی سودوموناس آئروژینوزا و مقایسه آن با ماده گندزدای گلو تار آلدئید است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه مورد نظر و استخراج اسانس

گیاه زنیان از دانشکده کشاورزی شهرستان یزد خریداری شد. استخراج اسانس در آزمایشگاه به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجرمدل بریتانیا (BP (British Pharmacopa) انجام شد. اندام هوایی شامل ساقه و برگ گیاه، پس از خشک شدن کامل آن در دمای محیط و در سایه، آسیاب شدند. اسانس استخراج شده با استفاده از سولفات سدیم آبیگری و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سلسیوس در شیشه‌های در پیچ‌دار تیره نگهداری گردید.

آنالیز اسانس گیاهان گل زنیان

جداسازی و اندازه‌گیری نمونه توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Shimadzu-17A (GC/MS) کوپل شده با طیف‌سنج جرمی Shimadzu مدل QP5050A صورت گرفت و جداسازی ترکیبات در ستون موئینه Fused-silica از نوع BP-5 به طول ۳۰ متر و ابعاد داخلی ۰/۲۲mm و ضخامت فیلم ۰/۲۵µm انجام شد. دمای ستون از ۴۰ درجه سلسیوس تا ۲۸۰ درجه سلسیوس با سرعت ۴ درجه سلسیوس بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه در آن دما

روش انتشار دیسک

ناحیه مهار اسانس زنیان و گلو تار آلدئید ۲ درصد با استفاده از روش انتشار دیسک کربی- بائر¹⁸ روی سودوموناس آئروژینوزا تعیین شد. به طور خلاصه، یک کشت از باکتری - های آزمایشی در محیط کشت نوترینت برات در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای رسیدن به کدورت ۰/۵ مک فارلند (10^8 CFU mL⁻¹) رشد کرد.

سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی بر روی صفحات حاوی آگار مولر-هیتون بارگذاری شده و مستقیماً با یک سواب روی صفحه آگار پخش شد. دیسک های کاغذی سفید استاندارد به قطر ۶ میلی متر (شرکت پادتان طب، تهران، ایران) با ۲۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف (MIC، MIC₂ و MIC₄) اسانس زنیان و گلو تار آلدئید ۲ درصد در شرایط استریل اشباع شدند. متعاقباً، دیسک های کاغذی بر روی صفحات آگاری که با باکتری مورد آزمایش کشت داده شد و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. دیسک های بدون برچسب و تغذیه شده با DMSO به عنوان شاهد استفاده شدند.

فعالیت ضد باکتریایی با اندازه گیری قطر ناحیه بازدارندگی رشد (میلی متر) در اطراف هر دیسک کاغذی با استفاده از یک خط کش تعیین شد. فعالیت ضد باکتریایی با میانگین ناحیه بازدارندگی در سه منطقه ۰-۱۰ میلی متر (مقاومت)، ۱۱-۱۵ میلی متر (نیمه حساس) و < ۱۶ میلی متر (حساس) ثبت شد.

یافته ها

آنالیز اجزای تشکیل دهنده اسانس های گیاه

زنیان با استفاده از دستگاه GC/MS

اجزای تشکیل دهنده اسانس های گیاه زنیان در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همانگونه که از جدول مشخص است بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زنیان

استوک گندزداها ۱ میلی لیتر که دارای غلظت ۱ μL/mL بود به لوله اول هر سری اضافه شد. از لوله اول که حاوی ۲ میلی لیتر (۱ میلی لیتر محیط کشت ۱ میلی لیتر استوک) است، ۱ میلی لیتر برداشت به لوله دوم اضافه و مخلوط شد. به همین ترتیب از لوله دوم ۱ میلی لیتر برداشته و به لوله سوم اضافه شد. این عمل تا لوله آخر به همین ترتیب انجام، و در نهایت از لوله آخر ۱ میلی لیتر برداشته و دور ریخته شد.

به این ترتیب در همه لوله ها یک شیب غلظت بوجود آمد. در ادامه به همه لوله ها به جز لوله کنترل مثبت (حاوی گندزدا رقیق شده بعلاوه محیط کشت به منظور کنترل استریل بودن اسانس)، ۵۰ میکرو لیتر سوسپانسیون باکتری رشد یافته (نیم مک فارلند) اضافه شده و به طور کامل محتوی لوله ها اختلاط داده شد.

لوله ها را به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور دمای ۳۷- ۳۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از انکوباسیون لوله ها به صورت چشمی کنترل و اولین لوله ای که حاوی کدورت بوده یادداشت و یک لوله قبل از آن به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (MBC)

برای تعیین MBC از محیط کشت مولر هیتون آگار استفاده شد. بدین منظور حداقل سه پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار در نظر گرفته شد. لوله MIC و دو لوله قبل از MIC را در نظر گرفته و از آن ها ۱۰۰ میکرو لیتر برداشت و کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. حالات زیر بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون وجود دارد:

الف) پلیت اول رشد دیده نمی شود، پس MIC=MBC

ب) پلیت اول رشد دیده می شود، پلیت های دوم و سوم رویت می شود اگر پلیت دوم کلنی دیده نشد MBC؛ در غیر این صورت پلیت سوم را بررسی کرده و به عنوان MBC در نظر می شود.

(که از استان یزد تهیه گردید) شامل تیمول ۵۰ درصد، ماده تشکیل دهنده اسانس ساینین ۰/۰۱ درصد می باشد. پاراسیمن ۲۳/۶ درصد و گاماترپینن ۲۰/۳ درصد و کمترین

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*)

شماره	ترکیب	درصد	شاخص Rt
۱	Alpha-Thujene	۰/۲۸	۱۲/۳۸
۲	Alpha-pinene	۰/۱۵	۱۲/۷۱
۳	Sabinen	۰/۰۱	۱۴/۶۳
۴	Beta-pinen	۱/۵۷	۱۴/۸۶
۵	Myrcene	۰/۴۸	۱۵/۴۰
۶	Delta.3carene	۰/۰۵	۱۶/۲۳
۷	Alpha.Terpinene	۰/۲۱	۱۶/۶۶
۸	P-Cymenen	۲۳/۶۱	۱۷/۲۶
۹	Limonene	۰/۱۵	۱۷/۳۱
۱۰	Beta-Phellanderne	۰/۳۰	۱۷/۳۹
۱۱	1,8-Cineole	۰/۰۷	۱۷/۴۶
۱۲	Gamma-Terpinen	۲۰/۳۱	۱۸/۶۸
۱۳	Cis-Sabinene hydrate	۰/۱۲	۱۹/۲۳
۱۴	Terpinolene	۰/۰۳	۱۹/۶۸
۱۵	Cymenene	۰/۰۳	۲۰/۰۷
۱۶	Linalool	۰/۰۷	۲۰/۴۲
۱۷	Trans Sabinene hydrate	۰/۲۷	۲۰/۵۸
۱۸	p-menth -2-en-1-ol	۰/۱۹	۲۰/۹۸
۱۹	Trans-Pinene hydrate	۰/۰۲	۲۱/۵۴
۲۰	Lsopulegol	۰/۰۵	۲۲/۳۱
۲۱	Alpha-Terpineol	۰/۱	۲۲/۶۵
۲۲	Trans-2-Caren-4-ol	۰/۰۴	۲۳/۱۱
۲۳	Terpinen-4-ol	۰/۲۵	۲۳/۸۶
۲۴	p-Cymen-8-ol	۰/۰۷	۲۴/۵۰
۲۵	Trans-Chrysanthenyl Acetate	۰/۰۲	۲۵/۹۳
۲۶	Carvacrol	۰/۲۱	۲۷/۹۵
۲۷	Thymol	۵۰/۰۱	۲۸/۶۴
۲۸	Piperitenone	۰/۰۲	۳۰/۱۲
۳۰	مجموع	۹۸/۶۹	

تعیین MIC و MBC

نتایج مربوط به تعیین MIC و MBC ماده آنتی‌باکتریال (اسانس و حلال) و گلو تار آلدئید علیه سوش استاندارد سودو - مونس آئروژینوزا در جداول ۲ ارائه شده است. میانگین مقدار MIC ماده آنتی باکتریال و گلو تار آلدئید علیه سوش استاندارد سودو مونس آئروژینوزا به ترتیب برابر با ۸۳/۳۳ و ۱۲۵

میکروگرم بر میکرو لیتر بود. همچنین میانگین مقدار MBC این مواد به ترتیب برابر با ۱۲۵ و ۱۶۶/۶۶ میکروگرم بر میکرو لیتر بود. نتیجه این مطالعه نشان داد که MIC ماده آنتی باکتریال (اسانس و حلال) در مقایسه با گلو تار آلدئید ۲ درصد کمتر بود.

جدول ۲- میانگین MIC و MBC مواد آنتی‌باکتریال علیه سوش استاندارد سودو مونس آئروژینوزا بر حسب میکروگرم بر میکرو لیتر

سوش استاندارد سودو مونس آئروژینوزا		نتایج
MBC	MIC	
انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	ماده گندزدا
125 ± 0	۸۳/۳۳	گیاه زنیان DMSO+
۱۶۶/۶۶	۱۲۵	گلو تار آلدئید ۲٪

قطره‌هاله عدم رشد

نتایج تعیین قطره‌هاله عدم رشد ماده آنتی باکتریال (اسانس و حلال) و گلو تار آلدئید علیه سوش استاندارد سودو مونس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف (MIC، ۲MIC، ۴MIC) در

جدول ۳ ارائه شده است. همان طور که مشخص است تفاوت چندانی در فعالیت آنتی باکتریالی مواد گندزدا علیه باکتری سودو مونس آئروژینوزا دیده نمی‌شود.

جدول ۳- میانگین قطره‌هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف (MIC، ۲MIC، ۴MIC) ماده آنتی باکتریال بر حسب میلی متر

غلظت ۴MIC	غلظت ۲MIC	غلظت MIC	غلظت
انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	مواد گندزدا
$13/66 \pm 1/15$	$12/16 \pm 1/15$	11 ± 1	گیاه زنیان DMSO+
$14/5 \pm 0/5$	$13/83 \pm 0/28$	$12/66 \pm 0/57$	گلو تار آلدئید ۲٪

نتایج مربوط به نوع تأثیر مواد آنتی باکتریال استفاده شده در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس استاندارد کربی بائر، در همه غلظت استوک "گیاه زنیان DMSO+" و گلو تار آلدئید ۲٪ متوسط الاثر هستند

جدول ۴- نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف ماده ضد میکروبی استفاده شده

غلظت ۴MIC	غلظت ۲MIC	غلظت MIC	مواد گندزدا
نیمه حساس	نیمه حساس	نیمه حساس	گیاه زنیان DMSO+
نیمه حساس	نیمه حساس	نیمه حساس	گلو تار آلدئید ۲٪

بحث

توسعه و تولید محصولات جدید ضد میکروبی طبیعی مانند اسانس های گیاهی و اجزای فعال اصلی آنها به عنوان یک روش جایگزین برای مبارزه با باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک در نظر گرفته می شود. علاوه بر این، ترکیب عوامل ضد میکروبی موجود با مواد فعال گیاهی برای افزایش کارایی ضد عفونی کننده ها مفید است^{۱۹}. آنالیز اسانس زنیان در این مطالعه نشان داد بیشترین ترکیب مربوط به تیمول می باشد. مطالعات انجام شده نشان داده اند که در میان ترکیبات شناسایی شده اسانس زنیان، تیمول بیشترین درصد را به خود اختصاص داده است. به عنوان مثال، در مطالعه حقیر السادات و همکاران با موضوع بررسی ترکیب های مؤثر و خواص آنتی اکسیدان گیاه زنیان، نتایج بدست آمده نشان داد که تیمول با مقدار (۶۴/۹ درصد)، سیمن (۲۱/۷۴) درصد و گاما ترپینن (۱۱/۱ درصد) بیشترین اجزای اسانس است^{۱۲}. همچنین مطالعه گودرزی و همکاران نشان داد بیشترین اجزای اسانس زنیان مربوط به تیمول (۳۶/۷ درصد)، گاما ترپینن (۳۶/۵ درصد) و سیمن (۲۱/۱ درصد) بود^{۲۰}. با اینحال نتیجه مطالعه Srivastava و همکاران نشان داد کارواکرول (۴۵/۲ درصد) بیشترین ترکیب شناسایی شده در اسانس گیاه زنیان بود^{۲۱}. اختلاف موجود در کمیت و کیفیت ترکیبات شناسایی شده در مطالعات مختلف می تواند ناشی از تفاوت های ژنتیکی، شرایط فصلی، زمان برداشت، سن گیاه و قسمت های مورد استفاده گیاه، روش اسانس گیری و نوع حلال به کاررفته باشد^{۲۲}.

در این مطالعه، فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان بر روی *P. aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس، فعالیت ضد میکروبی اسانس زنیان با گلو تار آلدئید ۲ درصد مقایسه شد. میانگین مقدار MIC و MBC عصاره زنیان در این مطالعه به ترتیب ۸۳ و ۱۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر بود. آزمایش های ما فعالیت ضد میکروبی بالای اسانس زنیان را در

برابر *P. aeruginosa* با MICs و MBC کمتر نسبت به گلو تار آلدئید ۲٪ (۱۲۵ و ۱۶۶ میکروگرم بر میکرو لیتر) نشان داد.

در مطالعه ای که توسط امیری و همکاران در رابطه با بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدرو الکلی آنغوزه، زنیان و نعناع فلفلی بر باکتری های استاندارد استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین، اثر شیاکلی o157H7 و سالمونلا تیفی موریوم انجام گرفت، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای گیاه زنیان روی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین ۵۰ mg/mL، اثر شیاکلی (o157H7) و سالمونلا تیفی موریوم صفر گزارش شده است^{۲۳}. گودرزی و همکاران فعالیت ضد باکتریایی اسانس زنیان را روی باکتری های عامل مسمومیت غذایی بررسی کردند. نتیجه مطالعه آنها MIC برای استافیلوکوکوس ارئوس ۰/۰۳۱ درصد، پسودوموناس آئروژینوزا ۱ درصد، اثر شیاکلی ۰/۰۳۱ درصد و برای سالمونلا تیفی موریوم ۰/۰۱۵ درصد را نشان داد. MBC برای استافیلوکوکوس ارئوس ۰/۰۳۱ درصد پسودوموناس آئروژینوزا ۲ درصد، اثر شیاکلی ۰/۰۶۲ درصد، سالمونلا تیفی موریوم ۰/۰۳۱ درصد برآورد شد^{۲۴}. همچنین مطالعه خسروی پور و همکاران فعالیت ضد باکتریایی اسانس زنیان بر باکتری *P. Carotovorum* و *E. Coli* در محیط کشت نوترینت آگار را نشان داد. MIC برای باکتری *P. Carotovorum* معادل ۰/۵ و برای *E. coli* ۰/۱۲۵ درصد گزارش شده است. علاوه بر این MBC *E. coli* اسانس زنیان برای *P. Carotovorum* معادل ۱ و برای *E. coli* ۰/۲۵ درصد گزارش شده است^{۲۵}. نتایج مطالعات فوق مشابه با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر می باشد. مطالعات مختلف نشان داده اند که تیمول و پیش سازهای آن، (سیمن و ترپینن) دارای فعالیت ضد میکروبی قوی هستند. گزارش شده است که تیمول ممکن است با اختلال در بخش لیپیدی غشای پلاسمایی میکرو-ارگانسیم، اثر ضد میکروبی خود را القا کند، که منجر به تغییر در نفوذ پذیری غشاء و نشت مواد داخل سلولی می شود.^{۲۰}

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر استفاده بالقوه اسانس زنیان را به عنوان یک ضدعفونی کننده طبیعی در برابر *P. aeruginosa* پیشنهاد می کند. یافته های ما نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی زنیان بیشتر از گلو تار آلدئید ۲ درصد است. با توجه به اینکه داروهای گیاهی بی ضرر هستند و سمیت کمی دارند، استفاده از اسانس زنیان می تواند گزینه مناسبی برای ضدعفونی سرد باشد. همچنین با توجه به فعالیت مهارکنندگی و باکتری کشی امید بخش زنیان استفاده از آن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی توصیه می شود. علاوه بر این، مطالعه کاربرد زنیان با سایر اسانس های گیاهی، امولسیفایر های مختلف و حتی نانوذرات در برابر عفونت های بیمارستانی پیشنهاد می شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد با کد اخلاق IR.LUMS.REC.1397.102 دانشگاه علوم پزشکی لرستان می باشد.

نتایج مربوط به تعیین قطر هاله عدم رشد غلظت های مختلف مواد آنتی باکتریال نشان داد میانگین قطر هاله عدم رشد مواد آنتی باکتریال مورد مطالعه در غلظت MIC به ترتیب برابر 11 ± 1 و $12/66 \pm 0/57$ میلی متر و در غلظت MIC^۴ برابر $12/66 \pm 0/57$ و $14/5 \pm 0/5$ میلی متر بود. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش غلظت ماده گندزا، قطر هاله عدم رشد نیز بیشتر می شود.

بر اساس مطالعه خسروی پور و همکاران، قطر هاله عدم رشد در غلظت معادل MIC اسانس زنیان در باکتری *p.carotovorum* $13/7 \pm 0/51$ و برای باکتری *E.coli* $8/1 \pm 0/81$ میلی متر گزارش شده است.^{۲۵}

در مطالعه امیری و همکاران نتایج به دست آمده از روش دیسک دیفیوژن نشان می دهد که عصاره هیدرو الکلی گیاه زنیان توانایی مهار رشد استافیلوکوکوس حساس (۱۰ میلی متر) و اشرشیاکلی (۱۳ میلی متر) و سالمونلا تیفی موریوم (۱۴ میلی متر) را دارد.^{۲۳}

References

1. Relf MV, Mekwa J, Chasokela C, et al. Essential nursing competencies related to HIV and AIDS. *Journal of the Association of Nurses in AIDS Care* 2011;22(1): e5-e40.
2. Campos GB, Souza SG, Lobão TN, et al. Isolation, molecular characteristics and disinfection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from ICU units in Brazil. *New Microbiologica* 2012;35(2): 183-90.
3. Zazouli MA, Homayoun nasab Langroodi M, Ahanjan M, et al. Efficiency of some disinfectants (Cidex, Deconex, and Creolin) against *E. Coli*. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2015;24(122): 137-46.
4. Ducei G, Fabry J, Nicolle L. Prevention of hospital acquired infections: a practical guide. *Prevention of hospital acquired infections: a practical guide* 2002(Ed. 2).
5. Dadmanesh M, Dormanesh B, GHASEMZADEH S, et al. Evaluation of nosocomial urinary tract infection in the intensive care unit patients at Tehran 501 hospital during 2007. 2008.
6. Mehdi Q, Reza R, Nematollah J, et al. A Study on the Prevalence of Nosocomial Infections in ICU Patients Admitted at Baqiyatallah Hospital. *Journal of Ilam University of medical sciences* 2008;16(1): 1-6.
7. Doosti M, Faghihi MHO, Ramazani A, Saini MR. Comparison of Conventional Culture Methods and Polymerase Chain Reaction (PCR) for Specific Detection of *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of Isfahan Medical School* 2012;30(192).
8. Velazquez-Meza ME, Hernández-Salgado M, Sánchez-Alemán MA. Evaluation of the antimicrobial activity of a super oxidized solution in clinical isolates. *Microbial Drug Resistance* 2015;21(4): 367-72.
9. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews* 1999;12(1): 147-79.
10. Aali E, Mahmoudi R, Kazeminia M, et al. Essential oils as natural medicinal substances. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications* 2017;75(7): 480-9.
11. Eblagh N, Fateh E, Farzane M, Osfuri M. Effect of Cattle Manure Application, Phosphate Solubilizing Bacteria and Different Phosphorous Levels on Yield and Essence Components of *Trachyspermum Ammi L.* *JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE AND SUSTAINABLE PRODUCTION* 2014;23(4.1): 1-15.
12. Haghiroalsadat F, Azhdari M, Oroojalian F, et al. The Chemical Assessment of Seed Essence of Three Native Medicinal Plants of Yazd Province (*Bunium Premium*, *Cuminum Cyminum*, *Trachyspermum Copticum*) and the Comparison of Their Antioxidant Properties. *SSU_Journals* 2015;22(6): 1592-603.
13. Fazeli-nasab B, Fooladvand Z. A review on Iranian *Carum copticum (L.)*: Composition and biological activities. *European J Med Plants* 2016;12(1): 1-8.
14. MURTHY PS, Borse BB, Khanum H, Srinivas P. Inhibitory effects of Ajowan (*Trachyspermum ammi*) ethanolic extract on *A. ochraceus* growth and ochratoxin production. *Turkish Journal of Biology* 2009;33(3 :211--7).
15. Fazeli-nasab B, Fooladvand Z. A review on Iranian *Carum copticum (L.)*: Composition and biological activities. *European Journal of Medicinal Plants* 2016: 1-8.
16. Rossolini G, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and infection* 2005;11: 17-32.
17. Cigana C, Lore NI, Bernardini ML, Bragonzi A. Dampening host sensing and avoiding recognition in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011;2011.
18. Bauer A, Kirby W, Sherris JC, turck. turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology* 1966;45(4): 493.
19. Hasanvand T, Mohammadi M, Abdollahpour F, et al. A comparative study on antibacterial activity of carvacrol and glutaraldehyde on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* isolates: an in vitro study. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 2021;19: 475-82.
20. Goudarzi GR, Saharkhiz M, Sattari M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of Ajowan (*Carum copticum Benth. & Hook*) essential oil. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2011;13(2): 203-8.
21. Srivastava M, Baby P, Saxena A. GC-MS investigation and antimicrobial activity of the

- essential oil of *Carum copticum* Benth & Hook. *Acta Alimentaria* 1999;28(3): 291-5.
22. Bahmani M, Khaksarian M, Rafieian-Kopaei M, Abbasi N. Overview of the therapeutic effects of *Origanum vulgare* and *Hypericum perforatum* based on Iran's ethnopharmacological documents. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2018;12(7)
 23. Amiri A, Jomehpour N. Evaluation the Effect of Anti bacterial of *Ferula assa-foetida* L, *Carum copticum*, *Mentha piperita* L Hydroalcoholic Extract on Standard Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157H7 and *Salmonella typhimurium*. 2016.
 24. Goudarzi GR, Saharkhiz M, Sattari M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of *Ajowan* (*Carum copticum* Benth. & Hook) essential oil. 2011.
 25. Khosravipour Sima, Roya R-D. Antibacterial activity of *Carum copticum* essential oil against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. *Research in Plant Pathology* 2016;3(2): 43-57.

Evaluation of disinfection effect of Ajowan on *Pseudomonas aeruginosa*

Bahram Kamarehie¹, Fatemeh Farash Beiranvand², Mohsen Mohammadi³, Mohammad Amin Karami^{4,*}

¹. Environmental Health Research Center, Lorestan University of Medical sciences, Khorramabad, Iran

². Health Center of Khorramabad, Lorestan University of Medical sciences, Khorramabad, Iran

³. Hepatitis Research Center Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

⁴. Environmental Health Research Center, Lorestan University of Medical sciences, Khorramabad, Iran

*Email: Karami.mohammadamin@yahoo.com

Received: 22 February 2023, Accepted: 5 March 2023

ABSTRACT

Background and objective: Increasing antibiotic resistance in most bacteria has led to the development of natural antimicrobial compounds. The purpose of this study was to investigate the disinfection effect of Ajowan essential oil (EO) on the standard strain of *Pseudomonas aeruginosa*

Methods: In this study, the essential oil was prepared by distillation of Ajowan. The components of the essential oil were separated and identified by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Then the antibacterial effects of two combinations including Ajowan EO +dimethyl sulfoxide (DMSO) and glutaraldehyde 2% on standard strain of *Pseudomonas aeruginosa* were evaluated and determined using dilution broth and disk diffusion methods

Results: The results of the study showed that the most component of the essential oil consist of: Thymol (50%), P-cymene (23.6%), and Terpinen (20.3%). The mean values of MIC in the antibacterial substances (Ajowan EO+DMSO, Glutaraldehyde 2%) were 83 and 125µg/mL respectively. The mean values of MBC for abovementioned substances were 125 and 166 µg/mL respectively. The mean diameter of the inhibition zone in the MIC concentration was 11and 12.66 mm respectively.

Conclusion: According to the obtained results, Essential oils Ajowan has similar effect of glutaraldehyde 2% on *Pseudomonas aeruginosa*. It may be a possible substitute to glutaraldehyde in hospital disinfection purposes.

Keywords: Disinfectant, Ajowan, Nosocomial infection