

## بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه مرزه سهندیکا (*Satureja sahendica*) بر استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از ورم پستان گاو

امیر چراغی<sup>۱\*</sup>، محمد امین ترابی<sup>۲</sup>

۱- دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران.

دریافت مقاله: ۵ اردیبهشت ۱۴۰۱، بازنگری: ۳ خرداد ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۲۹ خرداد ۱۴۰۱

### چکیده

ورم پستان یکی از پرهزینه‌ترین بیماری‌های موجود در صنعت دامپزشکی بوده که علاوه بر خسارات مالی، تبعات بهداشتی فراوانی را برای جامعه انسانی نیز به همراه داشته است. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهمترین علل بروز این بیماری در دامداری‌ها بوده که به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و وجود برخی خواص میکروبیولوژیک مقاومت بسیار بالایی به طیف وسیعی از داروهای صنعتی دارد. در این پژوهش از گیاه مرزه سهندیکا با نام علمی (*Satureja sahendica*) بدین منظور استفاده شد. برای انجام این پژوهش بعد از نمونه‌گیری از شیر دام‌های ورم پستانی، نمونه‌های اخذ شده تحت شرایط استریل و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شده و پس از کشت نمونه در محیط‌های کشت آزمایشگاهی و تأیید وجود باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای این گونه مشخص شد. نتایج حاصل مشخص کرد که اسانس این گیاه در غلظت  $2,3 \pm 0,82$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای (MIC) و  $10,14 \pm 3,66$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای (MBC) بر روی باکتری مذکور مؤثر است. نهایتاً مشخص شد می‌توان از اسانس گیاه مرزه سهندیکا برای جلوگیری از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به جهت کنترل بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ورم پستان، مرزه سهندیکا، MIC، MBC

## مقدمه

از گذشته تاکنون آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و دامپزشکی به‌منظور درمان عفونت‌های باکتریایی کاربرد داشته‌اند، همین استفاده بی‌رویه از داروها سبب ایجاد معضلی به نام مقاومت دارویی شده است (۱).

التهاب بافت پارانشیم غدد پستانی که اصطلاحاً ورم پستان نامیده می‌شود علاوه بر کاهش ترشح شیر، ترکیب آن را نیز دستخوش تغییر می‌کند. بیماری ورم پستان گاو، پرهزینه‌ترین بیماری در صنعت دامداری محسوب می‌شود چرا که میزان کیفیت و کمیت شیر تولید شده توسط گاو ارتباط مستقیمی با بافت پستانی، کارایی سلول‌های ترشح کننده شیر و فراهم بودن مواد مغذی در جیره حیوان دارد (۲).

اثرات اقتصادی بیماری ورم پستان در صنعت شیر و لبنیات بر کسی پوشیده نیست. امروزه به اثبات رسیده است که این بیماری پرهزینه‌ترین بیماری گاو شیری می‌باشد، به‌طوری‌که خسارات اقتصادی آن در آمریکا سالانه حدود دو میلیارد دلار برآورد شده است و در اروپا نیز باعث خسارات اقتصادی مشابه می‌شود (۳).

ورم پستان ناشی از التهاب غدد پستانی است که عمدتاً ناشی از عفونت‌های باکتریایی است. باکتری‌های عامل این بیماری به دو دسته مسری شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و مایکوپلاسما بوویس و عوامل محیطی شامل اش‌ریشیاکلی، استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه و استرپتوکوکوس بوبریس تقسیم‌بندی می‌شوند. از بین تمامی عوامل مسبب ورم پستان در گاو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مهم‌ترین عامل ورم پستان و اگیردار می‌باشد که سلامت گاو را تهدید می‌کند. از این رو به سبب ممانعت از بروز بیشتر مقاومت آنتی‌بیوتیکی، یافتن ماده‌ای مؤثر و کم‌عارضه برای

درمان ورم پستان استافیلوکوکوس گاو ضروری به نظر می‌رسد (۴، ۵).

آمار جهانی نشان می‌دهد که مصرف سالانه گیاهان دارویی به دلیل افزایش مقاومت عوامل بیماری‌زا به داروهای صنعتی در کشورهای اروپایی و حتی کشورهای در حال توسعه در سال‌های اخیر پیشرفت چشمگیری داشته است. داروهای گیاهی به دلیل عواملی نظیر ارزش اقتصادی کم و کم هزینه بودن تولید آنها. نداشتن اثرات جانبی بر محیط زیست، کم بودن عوارض داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروی گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی از بیماری‌ها با داروهای گیاهی و وجود تجربیات مختلف بالینی در رابطه با گیاهان دارویی سبب شده است که این منابع ارزشمند دارویی از جایگاه خاصی در درمان برخوردار باشند (۶).

جنس مرزه متعلق به تیره نعنائیان است که عمدتاً بومی مناطق مدیترانه شرقی و غرب آسیا می‌باشد. به‌طور کلی برای این گیاه خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد التهاب و ضد تهوع و تقویت کننده معده گزارش شده. در مرزه سهندیکا، مهم‌ترین اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس شامل بورنئول و ترکیبات فنولیک نظیر تیمول و کاروکرول می‌باشد. برای ترکیبات فنولیک اثرات ضد میکروبی شاخصی گزارش شده است. همچنین امروزه اثبات شده است که بورنئول خاصیت ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد قارچی دارد به‌طوری‌که در بسیاری از محصولات بهداشتی درمانی از آن استفاده می‌شود (۷).

در پژوهشی مشابه که به بررسی تأثیر سه گونه مرزه (*S. mutica*، *S. bachtiarica*، *S. edmondi*) بر سالمونلا پاراتیفی پرداخته شد، مشخص گردید که اسانس این گیاهان قدرت مهارکنندگی و میکروب‌کشی بالایی دارند. به نظر می‌رسد حضور

آزمایش با زاویه ۴۵ درجه نگهداشته شد تا مستقیماً عمل تخلیه در داخل لوله انجام گیرد و در هر لوله یک بار دوشش انجام شد. این عمل برای هر کارتیبه به صورت جداگانه انجام شد بدون اینکه لوله آزمایش با پستان برخوردی داشته باشد. در نهایت نمونه‌ها در کنار یخ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و ظرف مدت یک ساعت به آزمایشگاه منقل شدند.

**آزمایش باکتریایی:** جهت بررسی اثر ضد میکروبی گیاه مرزه سهندیکا، سویه استاندارد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) و تعداد ۲۱ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمده از ورم پستان گاو مورد آزمایش قرار گرفت. استوک باکتری‌ها ابتدا به منظور تقویت باکتری مورد نظر بر روی محیط کشت آبگوشت مغز و قلب (BHI) کشت شدند. سپس بر روی محیط کشت نوترینت آگار (NA) دوباره کشت داده شده و از کلونی‌های مجزا بر روی محیط کشت مانیتول سالت آگار (MSA) کشت مجدد انجام گردید تا صحت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تأیید گردد. در مرحله بعد از باکتری‌های تأیید شده بر روی محیط کشت مولر هینتون برات (MHB) کشت گردید. بعد از گذشت ۱۸ ساعت، غلظت نیم مک فارلند که کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی حاوی  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml ایجاد می‌کند با دستگاه اسپکتروفتومتر و کووت‌های استریل تهیه گردید (۱۱).

**تهیه اسانس گیاه مرزه سهندیکا:** به منظور اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم گیاه مرزه سهندیکا از دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران (شامل برگ‌های جدا شده بدون ساقه و ریشه) تهیه و در یک لیتر آب مقطر با حرارت ملایم به مدت ۳ الی ۴ ساعت با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. بعد از تهیه اسانس مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی استافیلوکوکوس

تیمول، کارواکرول، پاراسیمین و گاماترپینن در اسانس مورد مطالعه می‌تواند باعث وجود خواص ضد میکروبی در آنها باشد (۸).

غربالگری خواص ضد میکروبی با استفاده از روش انتشار دیسک از روغن‌های فرار تقطیر شده از قسمت‌های هوایی گیاه مرزه باغی و سهندی علیه باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیاکلی انجام شده و نتایج حاکی از توقف رشد تمام میکروارگانیسم‌های کشت شده بود (۹).

در مطالعه دیگر نشان داده شده است که اسانس مرزه باغی از نظر مهارکنندگی رشد و کشندگی باکتری‌های مورد نظر بسیار قوی می‌باشد که این عملکرد احتمالاً به دلیل وجود کارواکرول موجود در این اسانس می‌باشد. کارواکرول عملکرد غشاء سلولی را از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های غشایی مختل می‌کند و با تغییر در شیب غلظت یونی منجر به توقف و اختلال در عملکرد سلول‌های باکتری و مرگ می‌شود (۱۰).

با توجه به مطالب فوق و با تأکید بر یافتن ماده‌ای کم عارضه به منظور جایگزینی با آنتی‌بیوتیک در درمان ورم پستان با منشاء استافیلوکوکوس اورئوس این پژوهش انجام شد، تا علاوه بر شفاف‌سازی کاربرد این گیاه، امکان کاربرد بالینی آن در مزارع را نیز ممکن سازد.

## مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه شیر:** بدین منظور بعد از اطمینان از تمیز بودن دست ابتدا سرپستانک‌ها با آب شسته شده و سپس خشک گردید. پس از آماده سازی سرپستانک‌ها ۷ تا ۱۰ بار با پنبه آغشته به الکل، سرپستانک‌ها ضد عفونی شد. جهت خارج کردن باکتری‌های محیطی موجود در مجرا ۴ تا ۶ دوشش اول (پیش دوشش) دور ریخته شد و پس از آن لوله

اورئوس در میکروپلیت ۹۶ خانه استافیلوکوک با سه تکرار بررسی شد.

#### تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC):

به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری برای اسانس مرزه سهندیکا از روش برات میکروداپلوشن (Microdilution Broth) استفاده شد (۱۲).

بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هینتون برات به داخل هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه اضافه شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مواد مورد آزمایش (اسانس مرزه سهندیکا حل شده در دی‌متیل سولفوکساید با غلظت نهایی ۱۰ درصد)، در چاهک اول اضافه شد و به صورت سریالی two-fold رقیق شد و در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند (600nm=0.1OD) به هر یک از چاهک‌ها اضافه گردید. پس از آن پلیت به‌وسیله پارافیلیم برای جلوگیری از دهیدره شدن پوشانده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. بعد از انکوباسیون ۳۰ میکرولیتر از رزازورین ۰/۰۱ درصد به هر کدام از چاهک‌ها اضافه گردید و دوباره به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. تغییر رنگ محلول رزازورین از رنگ آبی به صورتی روشن نشان‌دهنده احیاء شدن رزازورین و در نتیجه رشد باکتری است.

بعد از انکوباسیون آخرین چاهک با کمترین غلظت از ماده مورد آزمایش که به رنگ آبی است، به‌عنوان مقدار MIC ثبت گردید. این آزمون برای هر نمونه سه بار تکرار گردید. لازم به ذکر است که برای هر میکروپلیت یک سری کنترل نیز در نظر گرفته شد که عبارتند از:

۱- کنترل مثبت (ردیفی که در آن به جای ماده مورد آزمایش، ۱۰۰ میکرولیتر سیپروفلوکساسین (یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه گردید و

رقت‌سازی انجام شد شامل (محیط کشت+آنتی‌بیوتیک+باکتری)

۲- کنترل منفی (ردیفی که در آن به جای ماده مورد آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر حلال شامل (آب مقطر و دی‌متیل سولفوکساید ده درصد) در چاهک اول اضافه گردید و رقت‌سازی انجام شد شامل (محیط کشت+حلال+باکتری)

۳- کنترل استریل بودن مواد مورد آزمایش (ردیفی که در آن ۱۰۰ میکرولیتر از مواد مورد آزمایش در چاهک اول اضافه گردید و رقت‌سازی انجام گرفت شامل (محیط کشت+مواد مورد آزمایش)

۴- کنترل رشد باکتری (ردیفی که در آن ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در چاهک اول اضافه گردید و رقت‌سازی انجام گرفت شامل (محیط کشت+باکتری).

#### تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC):

MBC کمترین غلظت از ماده مورد آزمایش است که قادر به کشتن ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های تلقیح شده طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. برای تعیین این مقدار، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی موجود در چاهک MIC و نیز چاهک‌های حاوی غلظت ماده مورد آزمایش بیشتر از MIC (یعنی همه چاهک‌های آبی‌رنگ)، برداشته شده و سوسپانسیون مربوط به هر یک از رقت‌های مذکور بر روی محیط مولر هینتون آگار متفاوت تلقیح گردید. پلیت‌ها بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از نظر رشد باکتریایی مورد بررسی قرار گرفتند. غلظت چاهکی که قادر به کشتن ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های تلقیح شده بر روی محیط مولر هینتون آگار شده، به‌عنوان MBC ثبت گردید. این آزمون برای هر نمونه سه بار تکرار گردید، لازم به ذکر است در MHA از هر چاهک سه بار کشت

انجام شده است (۱۳).

**آنالیز آماری:** کلیه عملیات آماری این پژوهش به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از آزمون Repeat measure ANOVA در سطح معناداری  $P \leq 0.05$  انجام گرفت.

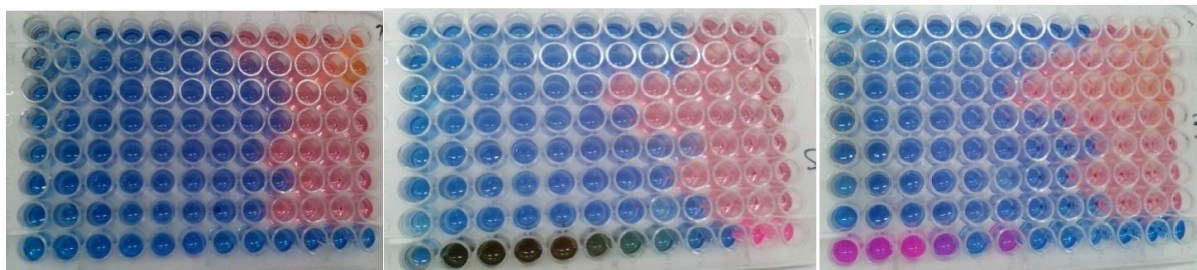
### نتایج

**حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC):** تمامی نمونه‌های پس از کشت در محیط آگوست مغز و قلب (BHI) و نوترینت آگار (NA) و انتقال کلنی‌ها بر روی محیط مانیتول سالت آگار (MSA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین تمامی باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از نظر فنوتیپی به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس مورد تأیید قرار گرفتند. بدین صورت که هر نمونه باکتریایی که در محیط MSA رشد کرده و نیز توانسته بودند قند مانیتول را تخمیر کنند تحت عنوان باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس وارد مطالعه شدند.

نتایج حاصله با نتایج کشت سویه استاندارد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقایسه و ثبت گردید. نتیجه حاصل از تعیین MIC اسانس مرزه سهندیکا در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه با به کارگیری روش برات میکرودايلوشن در جدول شماره یک گزارش شده است.

بر این اساس، میزان MIC برای اسانس مرزه سهندیکا در جدایه استافیلوکوکوس اورئوس  $2,3 \pm 0,82$  میلی گرم در میلی لیتر بود. این مقدار برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱/۲۵ الی ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر بود. نمونه‌ای از محاسبه MIC با استفاده از روش میکرودايلوشن برات و با کارگیری رزازورین در تصاویر شماره دو، سه و چهار گزارش شده است.



شکل ۱- نمونه‌ای از نتیجه تست MIC با استفاده از اسانس مرزه سهندیکا بر روی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه پس از اضافه نمودن اجزاء کننده رزازورین

$10,14 \pm 0,366$  میلی گرم در میلی لیتر بود. این مقدار برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۶۰ و  $< 160$  میلی گرم در میلی لیتر بود.

**نتیجه آزمایش حداقل غلظت کشندگی (MBC):** میزان MBC اسانس گیاه مرزه سهندیکا در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

جدول ۱- مقدار MIC و MBC عصاره گیاه مرزه سهندیکا بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

انحراف معیار	میانگین	استافیلوکوکوس اورئوس
۰,۸۲	۲,۳	MIC(mg/ml)
۳,۶۶	۱۰,۱۴	MBC(mg/ml)

## بحث و نتیجه گیری

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عامل ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های سیستمیک تهدید کننده حیات می‌باشد، این باکتری از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و اکتسابی جامعه است و نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله بتالاکتام‌ها و ماکرولیدها مقاومت نشان می‌دهد، که این مقاومت به دلیل استفاده بیش از حد از داروها، توانایی بالا در تبادلات ژنتیکی و حضور انواع پلاسمیدهای حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد (۱).

این باکتری با تولید بتالاکتاماز نسبت به بسیاری از پنی‌سیلین‌ها مقاوم می‌شود و مقاومت این گونه به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام (نفسیلین، متی‌سیلین، آگازاسیلین) نیز به وسیله تغییر در پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین ایجاد می‌شود. مقاومت پلاسمیدی نسبت به تتراسایکلین‌ها، ماکرولیدها و آمینوگلیکوزیدها نیز در این باکتری شایع است (۱۴).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهان دارویی نظیر سیر و رزماری با توجه به دارا بودن اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های اصلی مولد ورم پستان می‌تواند کاندیدای مناسبی به منظور جایگزین شدن در درمان ورم پستان باشد (۶).

در پژوهشی که برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی اسانس گیاه مرزه و با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکروپلیت دایلوژن انجام شد نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن، با توجه به اندازه قطر هاله عدم رشد باکتری، نشان داد اسانس مرزه خالص (غلظت ۱ گرم بر میلی‌لیتر)، نسبت به اسانس با غلظت ۰/۱ گرم بر میلی‌لیتر، خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری دارد. اسانس خالص بیشترین اثر مهاری را بر رشد استرپتوکوکوس سانگوئیس و ایکنلا کورودنس، به‌طور یکسان و پس از آن

به ترتیب، بر اکتینومایسس ویسکوز و انتروکوکوس فکالیس داشت، نتایج این پژوهش با پژوهش حاضر همپوشانی دارد چرا که در هر پژوهش گیاه مرزه اثر ضد باکتریایی خود را نشان داده و از تکثیر بیشتر گونه‌های کشت شده جلوگیری کرده است (۱۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسانس گیاه مرزه سهندیکا اثر مهاری خوبی بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با حداقل غلظت مهارکنندگی  $2,3 \pm 0,82$  میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی  $10,14 \pm 3,66$  میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارد، اگرچه کارایی اجزاء اسانس هر گیاه به عوامل مختلف جغرافیایی بستگی دارد با این حال این نتایج حاکی از این امر است که اسانس مرزه سهندیکا دارای فعالیت ضد میکروبی نسبتاً قوی در برابر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. این نتایج با مطالعات قبلی همسو تلقی گشته و به نظر می‌رسد اثرات فوق ناشی از وجود کارواکرول و تیمول در اسانس این گیاه می‌باشد.

فعالیت بازدارندگی تیمول ناشی از وجود هیدروکسی فنولیک در آن می‌باشد. وجود گروه هیدروکسی فعال باعث شده که این ماده بتواند به آسانی با جایگاه فعال آنزیم‌ها پیوند هیدروژنی تشکیل دهد، همچنین تیمول سبب تخریب و از بین رفتن یکپارچگی غشاء باکتری و در نهایت مرگ آن خواهد شد (۱۶).

اثر ضد میکروبی عصاره مرزه بر روی برخی باکتری‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، استرپتوکوکوس پنومونیه، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و پروتئوس میرابیلیس مشاهده شده است. همچنین اثر ضد باکتریایی این گیاه بر علیه باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شده است. نتایج مطالعات حاضر نیز تأیید کننده اثرات ضد باکتریایی اسانس مرزه سهندیکا بر روی باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس است که با مطالعه کنونی مطابقت دارد (۷).

در مطالعه دیگری اثرات ضد باکتری و ضد قارچ اسانس گیاه مرزه و آویشن بر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. در این مطالعه مشخص شد اسانس‌های مرزه و آویشن اثرات سمی حتی تا حداقل غلظت کشندگی ده برابر ندارد، بنابراین به نظر می‌رسد مواد مناسبی برای جلوگیری از تشکیل بیوفیلم هستند. نتایج حاصل از پژوهش ما، نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه مرزه بود. با توجه به اینکه باکتری‌های بررسی شده در این مطالعه با مطالعه ما متفاوت بود ولی، می‌توان گفت اسانس مرزه بر رشد طیف وسیع‌تری از باکتری‌ها اثر مهاری دارد (۱۷).

در مطالعه دیگری به بررسی قابلیت ضد باکتریایی و مهار تشکیل بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس به‌وسیله عصاره متانولی مرزه خوزستانی پرداخته شد که نتایج این پژوهش نشان داد مرزه خوزستانی قابلیت ضد باکتریایی بالایی در برابر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس داشته و گاماترپین و کارواکرول ترکیبات مؤثر این گیاه در بروز قابلیت مهار تشکیل بیوفیلم باکتری مذکور می‌باشد (۹).

در تحقیق دیگری که به بررسی اسانس مرزه پرداخته شد، با روش میکرودايلوشن بر اث فعالیت این گونه مرزه علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آیروجینوزا، اشیشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم ارزیابی شد. در این مطالعه سودوموناس آیروجینوزا به اسانس مرزه مقاومت بیشتری نشان داد، در حالی که استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیاکلی نسبت به آن حساس‌تر بودند به‌طوری که میزان MIC برای استافیلوکوکوس اورئوس ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اشیشیاکلی و سالمونلا تیفی موریوم یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سودوموناس آیروجینوزا ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

مطالعه ما نیز با نتیجه این پژوهش در رابطه با اثر اسانس مرزه بر استافیلوکوکوس اورئوس همخوانی دارد (۱۸).

در مطالعه دیگری اثرات ضد میکروبی اسانس اکالیپتوس، زیره سبز و مرزه تابستانی بر استرپتوکوکوس موتانس بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد هر سه اسانس دارای اثر ضد باکتریایی در برابر استرپتوکوک موتانس هستند. اسانس مرزه در مقایسه با دو اساس دیگر قوی‌ترین اثر ضد باکتریایی را در همه زمان‌های قرارگرفتن در معرض اسانس و در تمام غلظت‌ها نشان داد. این مطالعه نیز با وجود تفاوت در گونه باکتری، تأییدی بر یافته‌های مطالعه ماست (۱۹).

در مطالعه مشابه دیگر که به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی مرزه کوهی بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس طی نگهداری گوشت چرخ کرده پرداخته شد، مشاهده شد که غلظت‌های ۰/۲۵ درصد به بالای مرزه می‌تواند باعث ممانعت از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و شمارش کلی میکروب‌ها در گوشت چرخ کرده شود که نتایج پژوهش حاضر نیز بیانگر اثرات بازدارندگی رشد مرزه در برابر باکتری مذکور می‌باشد، البته در مورد مرزه سهندیکا این غلظت از مقدار ۰/۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر شروع می‌شود که این اختلاف در غلظت می‌تواند مربوط به تفاوت در ترکیبات مرزه کوهی و مرزه سهندیکا باشد (۲۰).

کارواکرول اثر ضد باکتریایی وسیع‌الطیف بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت از جمله اشیشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس دارد و با تعویض گروه هیدروکسیل خود با یون پتاسیم به‌عنوان حامل یون‌های یک ظرفیتی در غشاء عمل کرده و با برهم زدن شیب غلظتی در غشاء سیتوپلاسمی اثر ضد باکتریایی خود را اعمال می‌کند. هر چند اثر ضد باکتریایی، حاصل اثر



میکروبی مهمی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارد.

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس تهیه شده از گیاه مرزه سهندیکا، اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از ورم پستان گاو دارد. این امر احتمالاً به علت وجود ترکیبات فنولیک (تیمول و کارواکرول) موجود در اسانس این گیاه می‌باشد، هرچند محتمل است که غلظت اسانس مورد استفاده نیز در خاصیت ضد میکروبی آن دخیل باشد. با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی روزافزون به داروهای صنعتی موجود، به نظر می‌رسد مطالعه بر روی گیاه مرزه سهندیکا برای درمان و جلوگیری از بروز مقاومت‌های دارویی راهگشا باشد.

## References

- 1- **Shawky M, Suleiman WB, Farrag AA.** Antibacterial resistance pattern in clinical and non-clinical bacteria by phenotypic and genotypic assessment. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2021; 15: 7220–7229.
- 2- **Krishnamoorthy P, Goudar AL, Suresh KP, Roy P.** Global and countrywide prevalence of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle and buffaloes by systematic review and meta-analysis. *Research in veterinary science*. 2021; 136: 561–586.
- 3- **Libera K, Konieczny K, Witkowska K, Żurek K, Szumacher-Strabel M, Cieslak A, et al.** The Association between Selected Dietary Minerals and Mastitis in Dairy Cows—A Review. *Animals*. 2021; 11: 2330.
- 4- **Holmes MA, Zadoks RN.** Methicillin resistant *S. aureus* in human and bovine mastitis. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2011; 16: 373–382.
- 5- **Pereira UP, Oliveira DGS, Mesquita LR, Costa GM, Pereira LJ.** Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: a systematic review. *Veterinary microbiology*. 2011; 148: 117–124.
- 6- **Al-Snafi AE.** Medicinal plants alkaloids, as promising therapeutics-A review (part 1). *IOSR J Pharm*. 2021; 11: 51–67.
- 7- **Sefidkon F, Emami Bistgani Z.** Integrative review on ethnobotany, essential oil, phytochemical, agronomy, molecular and pharmacological properties of *Satureja* species. *Journal of Essential Oil Research* 2021; 33: 114–132.
- 8- **Sharchi R, Shayegh J, Hosseinzadeh S.** Anti-quorum sensing and antibacterial activities of *Satureja sahendica* hydroalcoholic extract against avian isolate of *Salmonella Typhimurium*. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2020; 12: 71–79.
- 9- **Khaledi A, Meskini M.** A systematic review of the effects of *Satureja khuzestanica* Jamzad and *Zataria multiflora* Boiss against *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian journal of medical sciences*. 2020; 45: 83.
- 10- **De Sousa R.** Plant-based pesticides: Potential of apiaceae essential oils. 2016; 1: 110.
- 11- **McFarland J.** The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*. 1907; 49: 1176–1178.
- 12- **Weseler A, Geiss HK, Saller R, Reichling**

ترکیبات اصلی و ترکیبات با مقادیر کم می‌باشد ولی اثر ضد باکتریایی بعضی ترکیبات از جمله کارواکرول و تیمول بیشتر است و قویتر بودن اثرات ضد باکتریایی مریم گلی نسبت به مرزه می‌تواند به مقدار بیشتر مجموع کارواکرول و تیمول در مریم گلی (۴۶/۸۱ درصد) نسبت به مرزه (۳۹/۹۵ درصد) مربوط باشد (۱۶).

از آنجایی که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از عوامل مهم دخیل در ورم پستان محسوب می‌شود و مقاومت دارویی در این مورد در حال افزایش است، بنابراین استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با این باکتری در بیماری‌های مختلف از جمله ورم پستان در اولیت قرار می‌گیرند. نتایج این مطالعه نیز نشان داد مرزه سهندیکا از جمله گیاهانی است که اثرات ضد



J. A novel colorimetric broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of antibiotics and essential oils against *Helicobacter pylori*. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005; 60: 498–502.

13- **Owuama CI**. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. *African journal of microbiology research*. 2017; 11: 977–980.

14- **Ali T, Basit A, Karim AM, Lee J-H, Jeon J-H, Rehman S** *et al.* Mutation-based antibiotic resistance mechanism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Pharmaceuticals*. 2021; 14: 420.

15- **Iranpour A, Bayani M, Arjmanzadeghan M, Nokhostin A**. Antibacterial activity and antibiofilm properties of safflower essential oil on bacteria involved in periodontal disease. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2019; 22: 16–27.

16- **Masocatto DC, Matsumoto MA, Coelho TMK, Jardim ECG, de Mendonça JCG, da Silva JCL** *et al.* Comparison of antimicrobial activity of thymol and carvacrol to chlorhexidine in sur-

gery. *Research, Society and Development*. 2021; 10: e4310716310–e4310716310.

17- **Sharifi A, Mohammadzadeh A, Zahraei Salehi T, Mahmoodi P**. Antibacterial, antibiofilm and anti-quorum sensing effects of *Thymus daenensis* and *Satureja hortensis* essential oils against *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of applied microbiology*. 2018; 124: 379–388.

18- **Ghadery L, Aliahmadi A, Ebrahimi SN, Rafati H**. Effective Inhibition and eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by *Satureja khuzistanica* essential oil nanoemulsion. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021; 61: 102260.

19- **Zomorodian K, Ghadiri P, Saharkhiz MJ, Moein MR, Mehriar P, Bahrani F** *et al.* Antimicrobial activity of seven essential oils from Iranian aromatic plants against common causes of oral infections. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015; 8.

20- **Cui H, Wang Y, Li C, Chen X, Lin L**. Antibacterial efficacy of *Satureja montana* L. essential oil encapsulated in methyl- $\beta$ -cyclodextrin/soy soluble polysaccharide hydrogel and its assessment as meat preservative. *Lwt*. 2021; 152: 112427.

## Antibacterial effect of (*Satureja sahendica*) essential oil on *Satureja sahendica* *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis

Amir Cheraghi<sup>1\*</sup>, Mohammad Amin Torabi<sup>2</sup>

1- Graduate in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Graduate in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University of Research Sciences, Tehran, Iran.

Receive: April 25, 2022; Revise: May 24, 2022; Accept: June 19, 2022

### Summary

---

Mastitis is one of the most costly diseases in the veterinary industry which, in addition to financial losses, has many health consequences for human society. *Staphylococcus aureus* is one of the most important causes of this disease in livestock, which has a very high resistance to a wide range of industrial drugs due to the indiscriminate use of antibiotics and the presence of some microbiological properties. In this study, the *Sahendica* sage plant with the scientific name (*Satureja Sahendica*) was used for this purpose. For this study, after sampling the milk of mastitis animals, the samples were taken under sterile conditions and transferred to the laboratory beside the ice, and after culturing the sample in laboratory culture media and confirming the presence of *Staphylococcus aureus*, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MBC) values were determined for this species. The results showed that the essential oil of this plant in the average concentrations of  $2.3 \pm 0.82$  mg/ml for (MIC) and  $10.14 \pm 3.66$  mg / ml for (MBC) is effective on the bacterium. Finally, it was found that *Sahandika* safflower essential oil can be used to prevent the growth of *Staphylococcus aureus* and to control the development of antibiotic resistance.

**Key words:** *Mastitis, Satureja sahendica, MIC, MBC*