

علمی پژوهشی

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه بر تعدادی از پاتوژن‌های غذایی و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل در شرایط محیط کشت

هادی تناور^۱، حسن برزگر^{۲*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۳، محمد امین مهرنیا^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۶)

چکیده

در طب سنتی از گیاه پونه جهت درمان سینوزیت، ناراحتی‌های دستگاه گوارش، اختلالات سیستم تنفسی و رفع مسمومیت‌های غذایی استفاده می‌شود. در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه بر تعدادی از پاتوژن‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی برهمکنش اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل از غلظت‌های تحت‌معمولی استفاده شد. نتایج نشان داد که اسانس پونه توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن را بر سطح محیط کشت داشت. قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) به روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۱۶/۶۰، ۱۰، ۱۴ و ۱۰ میلی‌متر بود. میانگین قطر هاله بازدارندگی به روش انتشار در آگار با استفاده از چاهک برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۱۴/۴۰، ۱۶، ۱۲، ۱۴/۳۰ و ۱۰/۱۰ میلی‌متر بود. نتایج نشان داد که در حالت ترکیب اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین برای تمامی باکتری‌ها حالت سینرژیستی مشاهده شد. در حالت ترکیبی اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناس اثرورژینوزا حالت سینرژیستی مشاهده گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس پونه برای تمامی باکتری‌های ۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان از اسانس پونه جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی استفاده کرد.

کلید واژگان: اسانس پونه، اثر سینرژیستی، پاتوژن‌های غذایی، برهمکنش.

*مسئول مکاتبات: hbarzegar@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

با وجود پیشرفت‌های فراوان در علم پزشکی و افزایش سطح بهداشت در دنیا، آمار افراد مبتلا به مسمومیت و بیماری‌های با منشا غذایی همچنان در سطح نگران کننده‌ای قرار داشته و همواره به‌عنوان یکی از مشکلات جهانی مطرح می‌شود [۱ و ۲]. استفاده از مواد شیمیایی و نگهدارنده‌های سنتتیک از گذشته تا به حال به‌عنوان یک راه حل، برای کنترل و نابودی عوامل بیماری‌زا محصولات غذایی مطرح بوده و مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲]. امروزه با افزایش آگاهی مصرف کنندگان به اثرات و عوارض نامطلوب این مواد همانند حذف بار میکروبی مفید بدن، خطر سرطان‌زایی و سمیت، ایجاد مقاومت در باکتری‌ها و ظهور سویه‌های جدید اقبال عمومی به این دسته از مواد کاهش یافته است [۳ و ۲]. با توجه به عوارض ذکر شده در بالا، نیاز به منابع و جایگزین‌های طبیعی که از سویی دارای اثر ضد میکروبی مناسب بوده و از سوی دیگر فاقد عوارض جانبی باشند بیش از گذشته احساس می‌شود [۳].

گیاهان دارویی از جمله منابع طبیعی هستند که به اثر ضد میکروبی آن‌ها در بسیاری از پژوهش‌های گذشته اشاره شده است. این ترکیب‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر میکروارگانیسم‌ها موثرند که این امر سبب افزایش دامنه‌ی فعالیت بیولوژیکی آن‌ها نیز می‌شود [۴]. ویژگی ضد میکروبی گیاهان بر اثر سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها است [۵]. اسانس‌ها ترکیبات معطر و فرار هستند که در گیاه نقش حفاظتی دارند [۴]. این ترکیبات اغلب بر دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها اثر کرده و با داشتن ماهیت آبگریز و روغنی خود باعث نفوذ در ساختار غشا می‌شوند. در پی این امر خروج یون‌ها، تغییرات فشار اسمزی سلول و در نهایت مرگ میکروارگانیسم رخ می‌دهد [۳].

گیاه پونه از جنس *Mentha* و عضو خانواده *Labiatae* یا *Lamiaceae* است. پونه گیاهی چند ساله بوده و غالباً به صورت وحشی در نواحی مرطوب و معتدله مانند کرانه رودخانه‌ها و بخش بزرگی از اروپا، شمال آفریقا، آسیا و ایران رشد می‌کند [۶]. به دلیل داشتن ترکیبات موثر در عطر و طعم می‌توان از پونه به عنوان چاشنی در مواد غذایی بهره برد [۱]. از بخش‌های گوناگون این گیاه به ویژه قسمت‌های هوایی آن در تهیه و تولید ادویه‌های تجاری استفاده می‌شود [۳]. گیاهان

دارویی به خصوص پونه در طب سنتی جهت درمان سینوزیت، ناراحتی‌های دستگاه گوارش، اختلالات سیستم تنفسی و رفع مسمومیت‌های غذایی استفاده می‌شود [۶]. بسیاری از پژوهش‌های گذشته فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه را تایید نموده و این اثر را به ترکیباتی مانند کاراکرول^۱، منتون^۲ و پولگون^۳ مرتبط دانسته‌اند [۵].

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*^۴ به جهت تولید انترتوکسین‌های ایجاد کننده مسمومیت در صنایع غذایی دارای اهمیت ویژه‌ای است [۷]. لیستریا^۵ یکی از خطرناک‌ترین پاتوژن‌های مواد غذایی است که باعث مرگ ۳۰ درصد از افراد مبتلا می‌شود [۸]. از مشکلات مربوط به این باکتری می‌توان به رشد و تکثیر در دمای یخچال اشاره نمود [۸]. از مهم‌ترین اعضای خانواده انتروباکتریاسه می‌توان به *اشرشیا کلی*^۶ اشاره کرد [۹]. این باکتری در مقادیر بسیار کم نیز سبب بیماری‌های کشنده‌ای نظیر عفونت‌های سیستم ادراری در انسان می‌شود [۹ و ۱۰]. *سودوموناس انروژینوزا*^۷ باکتری گرم منفی است که به دلیل تولید بیوفیلم، مقاومت بالایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و عوامل ضد عفونی کننده از خود نشان می‌دهد [۱۱]. این باکتری در مواردی که سیستم ایمنی بدن تضعیف شود مانند ایجاد سوختگی باعث عفونت‌های شدید می‌گردد [۱۲]. *سالمونلا تیفی*^۸ به دلیل هماهنگی بالایی که با سیستم بدنی انسان پیدا کرده است باعث ایجاد بیماری‌های متنوعی می‌شود [۱۳]. بنابر گزارش‌ها سالانه حدود ۳۵۰۰-۴۵۰۰ فرد در ایالات متحده آمریکا به سالمونلوز مبتلا می‌شوند [۱۴].

یکی از زیستگاه‌های طبیعی گیاه پونه کشور ایران است. لذا باتوجه به قابلیت دسترسی آسان، ارزان بودن این گیاه و همچنین پذیرش طعم و مطابقت آن با ذائقه عموم مردم این پژوهش آزمایشگاهی در راستای بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های جتتامایسین و کلرامفنیکل در شرایط برون‌تنی بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا انجام پذیرفت.

1. Carvacrol
2. Menthone
3. Pulegone
4. *Staphylococcus aureus*
5. *Listeria*
6. *Escherichia coli*
7. *Pseudomonas aeruginosa*
8. *Salmonella typhi*

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد شیمیایی و میکروبی

محیط‌های کشت میکروبی مولر هیتون آگار^۱ و مولر هیتون برات^۲ از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. تری فنیل تترازولیوم کلراید^۳ (سیگما)، دیسک‌های آنتی بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل (پادتن طب)، دیسک بلانک (پادتن طب)، دی متیل سولفوکساید^۴ (مرک آلمان) و توئین ۸۰^۵ (مرک آلمان) نیز با درجه آزمایشگاهی تهیه گردید.

۲-۲- تهیه اسانس گیاه پونه

اسانس پونه با نام علمی *pulegiumMentha* از شرکت جوهره طعم مشهد (مشهد، خراسان رضوی) خریداری شد. لازم به ذکر است نحوه استخراج اسانس به روش تقطیر با آب صورت گرفت.

۲-۳- تهیه سویه‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923، اشرشیا کلی ATCC 25922، سودوموناس اثرورینوزا ATCC 27853، سالمونلا تیفی ATCC 14028 و لیستریا اینوکوا ATCC 33090 از آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شد.

۲-۴- تهیه استاندارد مک‌فارلند

استانداردهای مک‌فارلند در نسبت‌های متفاوتی در ترکیب اسید سولفوریک و کلرو باریم ۱ درصد تهیه می‌شود. جهت تهیه استاندارد نیم مک‌فارلند ۹۹/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد و نیم میلی‌لیتر کلرور باریم ۱/۱۷۵ درصد را با هم ترکیب شد. جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌گردد. در صورتی که میزان جذب در محدوده‌ی ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ باشد کدورت محلول معادل با سوسپانسیون میکروبی حاوی $10^8 \times 1/5$ CFU بود [۱۵ و ۱۶].

۲-۵- تهیه سوسپانسیون نیم مک‌فارلند

جهت انجام تمامی آزمون‌های میکروبی ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمون از کشت ذخیره تلقیح صورت پذیرفت. سوسپانسیون میکروبی از حل کردن مقداری کلنی در سرم فیزیولوژی تا برابر شدن کدورت آن با استاندارد نیم مک‌فارلند در طول موج ۶۲۵ نانومتر انجام پذیرفت. در صورتی که کدورت سوسپانسیون کمتر از استاندارد باشد مقداری کلنی افزوده و در صورت افزایش کدورت میزان اندکی از سرم فیزیولوژی به سوسپانسیون اضافه می‌شود [۱۵ و ۱۶].

۲-۶- روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک

از روش دیسک دیفیوژن در بسیاری از موارد به‌عنوان یک روش ابتدایی جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی متابولیت‌های ثانویه گیاهی استفاده می‌شود. سوسپانسیون معادل نیم مک‌فارلند برای هر سویه باکتریایی بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار پخش گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از اسانس خالص استریل شده به کمک فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ به آرامی بر سطح دیسک‌های بلانک ریخته شد. از دیسک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل نیز جهت مقایسه استفاده گردید. گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. قطر هاله عدم رشد^۷ بر حسب میلی‌متر محاسبه گردید. نتایج حاصل از آنتی‌بیوتیک‌ها با جداول CLSI^۸ مقایسه شد [۱۷].

۲-۷- روش انتشار در آگار با استفاده از

چاهک

روش کلی کار همانند آزمون انتشار در آگار با استفاده از دیسک می‌باشد با این تفاوت که ۲۰ میکرولیتر اسانس استریل خالص در چاهک‌های ایجاد شده به قطر شش میلی‌متر بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار (۲۰ میلی‌متر در پتری دیش) ریخته شد. قطر هاله عدم رشد پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت بر حسب میلی‌متر گزارش شد [۱۸].

1. Mueller hinton agar
2. Mueller hinton broth
3. Triphenyltetrazolium chloride
4. Dimethyl sulfoxide
5. Tween 80
6. Colony-forming unit

7. Inhibition zone diameter
8. Clinical and laboratory standards institute

۲-۸- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد^۱

با استفاده از روش میکرودیالوشن براث^۲ میزان حداقل غلظت اسانس جهت بازدارندگی سویه‌های میکروبی محاسبه شد. ابتدا از اسانس پونه یک محلول مادر با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس رقت‌های متوالی ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول مادر آماده شدند. رقت‌های تهیه شده به‌صورت ستونی و سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد به صورت ردیفی به هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه اضافه شدند. ستون‌های ۱۱ و ۱۲ به‌عنوان شاهد‌های مثبت (محیط کشت مولر هیتون براث همراه با سوسپانسیون میکروبی) و منفی (محیط مولر هیتون براث همراه با اسانس خالص) لحاظ شدند. پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به تمام چاهک‌ها معرف ۵ درصد تری فنیل تترازیولیم کلراید اضافه شد. غلظت اولین چاهکی که پس از نیم ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تغییر رنگ نداد را به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید [۱۹].

۲-۹- تعیین حداقل غلظت کشندگی^۳

باتوجه به نتایج آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد میزان ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های که رنگ قرمز در آن‌ها ظاهر نشده است به‌صورت کشت سطحی بر محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. پس از گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اولین پلیتی که هیچ کلنی در آن مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۲۰].

۲-۱۰- برهمکنش ماده ضد میکروب (اسانس) با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل

جهت بررسی اثر هم‌افزایی و کاهش اسانس با آنتی‌بیوتیک از غلظت‌های تحت مهاری (sub-Mic) استفاده شد. در این پژوهش از غلظت تحت مهاری ۱/۲ استفاده شد. ابتدا

سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارلند بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار حاوی غلظت‌های تحت مهاری اسانس پونه به صورت کشت سطحی پخش گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل بر سطح محیط کشت قرار داده شدند. گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از طی زمان ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر گزارش شد [۲۱].

۲-۱۱- تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

داده‌های حاصل به روش آنالیز واریانس یک طرفه، با استفاده از SPSS^۴ مورد آنالیز قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از روش چند دامنه‌ای دانکن^۵ در سطح ۵ درصد استفاده گردید. تمامی آزمون‌های میکروبی در سه بار یا بیشتر تکرار گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از برهمکنش اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل به همراه فعالیت ضدباکتریایی اسانس به روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک در جدول ۱، آورده شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس پونه توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن را بر سطح محیط کشت داشت. قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) به روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیغی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۱۶/۵۰، ۱۴/۶۰، ۱۰، ۱۴ و ۱۰ میلی‌متر بود. نتایج حاصل از ترکیب اسانس پونه با آنتی-بیوتیک جنتامایسین برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیغی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۱۹/۵۰، ۲۰، ۲۳/۳۰، ۱۸/۲۰ و ۲۰ میلی‌متر بود. نتایج نشان داد که در حالت ترکیب اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین برای تمامی باکتری‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر حالت سینرژیستی مشاهده شد. نتایج حاصل از ترکیب اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیغی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۱۳/۴۰، ۲۱/۴۰، ۲۲/۲۰، ۱۴ و ۱۱/۱۰ میلی‌متر بود. نتایج نشان

4. Statistical package for social science
5. Duncan

1. Minimum inhibitory concentration
2. Micro dilution broth
3. Minimum bactericidal concentration

باکتری‌های لیستریا اینوکوا و سالمونلا تیفی به ترتیب حالت آنتاگونیسمی و بی تفاوت مشاهده شد. در شکل ۱، نمونه‌ای از تاثیر همزمان اثر اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک بر باکتری اثرشیاکلی نشان داده شده است.

داد که در حالت ترکیبی اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اثرشیا کلی و سودوموناسائروژینوزا حالت سینرژیستی مشاهده گردید. در حالت ترکیبی اسانس و آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل برای

Table 1 The mean inhibition zone diameter (mm) of *Menthapulegium* essential oil (MPEO) and the effects of its interaction with Gentamicin and Chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms

Antimicrobial substance Microorganism	MPEO	Gen	Chl	In (Gen + MPEO)	In (Chl + MPEO)
<i>Listeria innocua</i>	16.50 ± 0.16	11.50 ± 0.15	13.50 ± 0.18	19.50 ± 0.10 (Syn)	13.40 ± 0.54 (Ant)
<i>Staphylococcus aureus</i>	14.60 ± 0.41	18.20 ± 0.50	21.30 ± 0.44	20.00 ± 0.22 (Syn)	21.40 ± 0.41 (Syn)
<i>Escherichia coli</i>	10.00 ± 0.20	18.00 ± 0.29	22.00 ± 0.33	23.30 ± 0.20 (Syn)	22.20 ± 0.55 (Syn)
<i>Salmonella typhi</i>	14.00 ± 0.25	14.00 ± 0.28	14.00 ± 0.39	18.20 ± 0.50 (Syn)	14.00 ± 0.46 (Ind)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.00 ± 0.23	15.10 ± 0.18	11.00 ± 0.47	20.00 ± 0.13 (Syn)	11.10 ± 0.25 (Syn)

➤ Values are expressed as mean ± standard deviations, n = 3.

➤ MPEO: *Menthapulegium* essential oil, Gen: Gentamicin, Chl: Chloramphenicol, In: Interaction, Syn: Synergy, Ant: Antagonism, Ind: Indifferent.



Fig 1 The interaction of *Menthapulegium* essential oil with Chloramphenicol antibiotic on *Escherichia coli*.

نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس پونه برای تمامی باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اثرشیا کلی، سالمونلا تیفی و سودوموناسائروژینوزا ۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حاصل از حداقل غلظت کشندگی برای تمامی سویه‌های مذکور نیز بزرگتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. به طور کلی حداقل غلظت کشندگی اسانس پونه برای تمامی باکتری‌های بیماری‌زا بیشتر از حداقل غلظت بازدارندگی از رشد بود. در شکل ۲، نمایی از تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس پونه بر باکتری‌های بیماری‌زا نشان داده شده است.

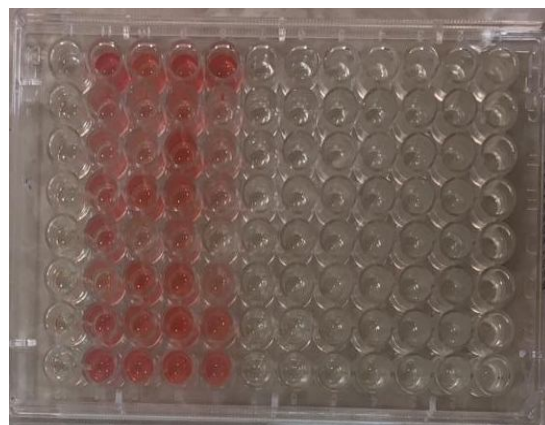
نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش انتشار در آگار با استفاده از چاهک در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که هاله بازدارندگی در این روش برای تمامی سویه‌های بیماری‌زا به جز باکتری لیستریا اینوکوا بیشتر از روش انتشار در آگار به کمک دیسک بود. میانگین قطر هاله بازدارندگی برای باکتری‌های لیستریا اینوکوا، استافیلوکوکوس اورئوس، اثرشیا کلی، سالمونلا تیفی و سودوموناسائروژینوزا به ترتیب ۱۰/۱۰، ۱۴/۳۰، ۱۲، ۱۶، ۱۴/۴۰ میلی‌متر بود. نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (مهارکنندگی) و حداقل غلظت کشندگی اسانس پونه بر باکتری‌های بیماری‌زا در جدول ۲، نشان داده شده است.

Table 2 The well diffusion agar (WDA), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Menthapulegium* essential oil (MPEO) on some pathogenic

Microorganism	WDA (mm)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>Listeria innocua</i>	14.40 ±0.32	6.25	>400
<i>Staphylococcus aureus</i>	16.00 ±0.51	6.25	>400
<i>Escherichia coli</i>	12.00 ±0.28	6.25	>400
<i>Salmonella typhi</i>	14.30 ±0.62	6.25	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.10 ±0.50	6.25	>400

استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دادند که این اسانس بر سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه با هاله ایجاد شده ۲۳ میلی‌متری بیش از دو سویه دیگر موثر است. نتایج این پژوهشگران نشان داد که غلظت‌های ۳۱ و ۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پونه به ترتیب قادر به مهار و کشتن سویه استافیلوکوکوس اورئوس بودند [۲۴]. در پژوهش حاضر نیز میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب ۶/۲۵ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

قربانی و همکاران (۱۳۹۶)، فعالیت ضد میکروبی گروهی از عصاره‌های گیاهی از جمله پونه را بر چهار سویه میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کلبسیلا و سالمونلا تیفی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره پونه به روش انتشار در دیسک تأثیری بر مهار رشد سویه‌های میکروبی نداشته است [۲۵]. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی نداشت، هر چند لازم به ذکر می‌باشد که ماهیت عصاره و اسانس کاملاً متفاوت می‌باشد. رحمانی و همکاران (۱۳۹۶)، فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه را بر چهار سویه باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و سودوموناس سیرینگه به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج به دست آمده نشان داد بیشترین اثر اسانس بر سودوموناس سیرینگه با هاله ۲۹ میلی‌متر و کمترین اثر بر سودوموناس آئروژینوزا با هاله ۱۷ میلی‌متری می‌باشد. میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بین ۱۰-۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد [۶]. در پژوهش حاضر نیز باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز یکی از مقاومترین سویه‌های مورد بررسی در برابر اسانس پونه بود.

**Fig 2** The MIC of *Menthapulegium* essential oil by microdilution broth method.

تاکنون پژوهش‌های اندکی در مورد بررسی اثر اسانس پونه در شرایط برون‌تنی انجام شده است. کرمانشاه و همکاران (۱۳۸۹)، اثر ضد میکروبی عصاره مریم گلی و پونه را بر گروهی از باکتری‌ها مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج این مطالعه حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای استرپتوکوک موتان ۱۲/۵، لاکتوباسیل ۳/۱۲ و اکتینومیسس ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد [۲۲]. عطایی کچویی (۱۳۹۴)، اثر ضد میکروبی اسانس استخراج شده از پونه کوهی را بر باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی موربوم جدا شده از مواد غذایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین و اشرشیاکلی کمترین اثر پذیری را از اسانس پونه بر خود داشتند [۲۳]. در پژوهش ما نیز باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روش چاهک در آگار با قطر هاله بازدارندگی ۱۶ میلی‌متر حساس‌ترین باکتری بود. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت.

نوظهور و همکاران (۱۳۹۵)، فعالیت ضد باکتریایی اسانس پونه کوهی را بر چهار سویه اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه،

مطالعه از سه سویه استاندارد *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* و پنج سویه بالینی استفاده شد. این پژوهشگران گزارش دادند که اسانس پونه بر سویه‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با هاله بازدارندگی از رشد به قطر ۱۵ میلی‌متر بیش‌ترین اثر را داشته است. میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بین ۱/۲۵-۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۳۳].

چرایبی و همکاران (۲۰۱۵)، دو سویه مایکوباکتریوم را در معرض اسانس پونه بومی مراکش قرار دادند و اثر ضد میکروبی این اسانس گیاهی را مورد بررسی قرار دادند. میزان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد حدود ۰/۳۱-۰/۱۲۵ درصد حجمی حجمی گزارش شد [۳۴]. خسروی زنجانی و همکاران (۲۰۱۵)، فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه را بر سه سویه *باسیلوس سوبتیلیس*، *زیگوساکارومیسسروکسیای* و *پروتئوسمیرابیلیس* مورد مطالعه قرار دادند. بیش‌ترین هاله عدم رشد با قطر ۱۷ میلی‌متر به *باسیلوس سوبتیلیس* تعلق داشت. میزان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای *باسیلوس سوبتیلیس* ۰/۵ درصد، *زیگوساکارومیسسروکسیای* ۱/۵ درصد و *پروتئوسمیرابیلیس* ۱/۲۵ درصد گزارش شد [۳۵]. عبدالحکیم بویاهیا و همکاران (۲۰۱۷)، اثر ضد میکروبی اسانس پونه را بر ۱۰ سویه بیماری‌زا مورد ارزیابی قرار دادند. بیش‌ترین اثر این اسانس گیاهی بر *باسیلوس سوبتیلیس* با قطر هاله ۳۰ میلی‌متر و کم‌ترین اثر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بود. میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی از رشد بین ۰/۲۵-۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد [۳۶].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که اسانس پونه اثر ضد میکروبی خوبی بر باکتری‌های بیماری‌زا داشت. اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش‌های مختلف ضد میکروبی (کیفی و کمی) بر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* بیشتر از باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *سودوموناس آئروژینوزا* بود. نتایج نشان داد که در حالت ترکیب اسانس پونه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین برای تمامی باکتری‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر حالت سینرژیستی مشاهده شد. نتایج نشان

غلامی پورناکی و همکاران (۱۳۹۶)، اثر ضد باکتریایی اسانس پونه را علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در مخلوط خمیر سوسیس مورد مطالعه قرار دادند. در این پژوهش از سه سطح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد اسانس در تهیه خمیر سوسیس استفاده شد. در نهایت بیان شد میزان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد ۳۱ و حداقل غلظت کشندگی ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد [۱]. عزیزی تبریززاد و همکاران (۱۳۹۷)، با استفاده از برخی سویه‌های باکتریایی گرم مثبت و منفی اثر ضد میکروبی اسانس پونه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیانگر آن بودند که باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیشتری نسبت به اسانس پونه داشتند [۴]. میثاقی و همکاران (۱۳۹۷)، تاثیر اسانس پونه کوهی و عصاره اتانولی بره‌موم برویژگی‌های ضد باکتریایی فیلم‌های زیست تخریب پذیر مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش از چهار سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریامونوسیتوژنز*، *ویبریویاراهمولیتیکوس* و *اشرشیاکلی* استفاده شد. نتایج این پژوهشگران نشان داد که تاثیر این اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی است [۲۶]. در پژوهش حاضر نیز فعالیت ضد باکتریایی اسانس پونه بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. به طور کلی در پژوهش‌های متعددی تفاوت بین ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت با باکتری‌های گرم منفی علت حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت ذکر شده است [۲۷-۳۱].

چرات و همکاران (۲۰۱۳)، اثر ضد میکروبی اسانس پونه بر سویه‌های میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *لیستریامونوسیتوژنز*، *انتروکوکوس فکالیس*، *سالمونلا سفتنبرگ* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* مورد ارزیابی قرار دادند. بیش‌ترین هاله بازدارندگی از رشد با قطری نزدیک به ۳۰ میلی‌متر مربوط به سویه *لیستریامونوسیتوژنز* و کم‌ترین اثر بر *یرسینیا انتروکولیتیکا* بود. میزان حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای تمامی سویه‌های بین ۱-۴ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شد. و میزان حداقل غلظت کشندگی برای سویه‌های *اشرشیاکلی* و *باسیلوس سوبتیلیس* ۸، سویه *سالمونلا سفتنبرگ* ۲۱ و مابقی سویه‌های میکروبی ۱۴ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شد [۳۲]. سبایو و همکاران (۲۰۱۴)، اثر ضد میکروبی اسانس پونه را با روش‌های دیسک دیفیوژن، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار دادند. در این

- diarrhea and its phytochemical evaluation. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 8, 65-72. [full text in Persian]
- [6] Rahmani, F., Rezaeian-Doloei, R., & Ali Moradi, L. 2018. Evaluation of phytochemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil and its antibacterial activity against several pathogenic bacteria. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 11(6), 167-177. [full text in Persian]
- [7] Farahmandfar, R., & Kordjazi, A. 2019. Antimicrobial effect of cardin (*Biarum bovei*) extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: studies in vitro and hamburger. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 16(86), 1-13. [full text in Persian]
- [8] MohammadpourKanzaq, H., Noroozi, M., Mahmoudi, R., Mohammadpoorasl, A., Zavoshy, R., & AsadiNadari, M. 2015. Antimicrobial effect of stachys lavandulifolia yachl essential oil on *Listeria Monocytogenes*. *Medical Laboratory Journal*. 9(2), 47-53. [full text in Persian]
- [9] Valadbeigi, T., & Chalabzardi, M. 2015. Antimicrobial effect of scrophularia striata extract on *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infection in ilam. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 24(2), 158-166. [full text in Persian]
- [10] Zeinali, T., Mohsenzadeh, M., RezaeianDoloei, R., & Nabipour, R. 2016. In vitro assessment of antimicrobial effect of methanolic extract of peganum harmala against some important foodborne pathogens. *Journal of Food Hygiene*. 5(4), 27-36. [full text in Persian]
- [11] Ghotaslou, R., Saghati, H., Dehnad, A., Salahi Eshlaghi, B. 2016. Antibacterial effects of azerbaijan honey on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 9(4), 40-46. [full text in Persian]
- [12] Behdani, M., Ghazvini, K., Mohammadzadeh, A.R., & Sadeghian, A. 2009. Antibacterial activity of henna extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *GMUHS Journal*. 15(3), 46-52. [full text in Persian]
- [13]. Jalali Nadoushan, M.R., Ghosian Moghadam, M.H., jafari, H., & Fallah, N. 2008. The effect of aqueous garlic extract on

داد که در حالت ترکیبی اسانس پونه با آنتی بیوتیک کلرامفنیکل برای باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سودوموناسائروژینوزا حالت سینرژیستی مشاهده گردید. بنابراین استفاده همزمان اسانس پونه با باکتری های ذکر شده توصیه می شود.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Gholami Pornaki, P., Aghazadeh, M., & Sadeghi, M.R. 2017. Evaluation of chemical composition and in-vitro antibacterial activity of oregano (*Mentha pulegium*) growing wild in maku and its inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* in sausage. *Veterinary Researches & Biological Products*. 117, 69-77. [full text in Persian]
- [2] Pajohi, M.R., Tajik, H., Akhondzade, A., Gandomi, H., Ehsani, A., Shokohi Sabet Jalali, F. 2010. Evaluation of chemical composition and antimicrobial efficacy of *Cuminum cyminum* L. and *Mentha longifolia* L. alone and combined with nisin. *Urmia Medical Journal*. 21, 324-331. [full text in Persian]
- [3] Mahmodi, R., Tajik, H., Farshid, A.A., Ehsani, A., Zaree, P., & Moradi, M. 2011. Phytochemical properties of *Mentha longifolia* L. essential oil and its antimicrobial effects on *Staphylococcus aureus*. *Medical Sciences Journal*. 16(5), 400-412. [full text in Persian]
- [4] Azizi Tabrizzad, N., Seyedin Ardebili, S. M., & Hojjati, M. 2019. Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of pennyroyal, mint and thyme essential oils. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 15(85), 447-457. [full text in Persian]
- [5] Teimoori, P., Yahyaabady, S., Doudi, M. 2018. Antimicrobial effect of *Mentha Longifolia* on different bacteria causing

- [21] Daneshmandi, S., Soleimani, N., Pourfathollah, A.A., & Sattari, M. 2010. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 13(2), 75-82.
- [22] Kermanshah, H., Hashemi Kamangar, S. S., Arami, S., Mirsalehian, A., Kamalinejad, M., Karimi, M. 2011. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Mentha longifolia* against three cariogenic bacteria. *Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences*. 28, 232-237. [full text in Persian]
- [23] Ataie Kachouei, M. 2016. Study the antimicrobial effects of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Mentha piperita* and *Carum carvi* on the bacteria isolates from food stuffs. *Journal of Food Microbiology*. 3(1), 1-10. [full text in Persian]
- [24] Nozohour, Y., Rasoulifard, M., & Ghahramanigermi, N. 2016. Evaluation of antibacterial properties of oregano essence on pathogenic bacteria isolated from hospital infections. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 25(5), 154-160. [full text in Persian]
- [25] Ghorbani, M., Ahmady-Asbchin, S., & Rezaei, H. 2018. Evaluation of antibacterial properties of Coriander, Oregano, Fennel, Thyme and parsley extracts, on pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591), *Escherichia coli* (ATCC 23591), *Klebsiella* (ATCC 10031) and *Salmonella Typhimurium*. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 25(4), 591-598. [full text in Persian]
- [26] Misaghi, A., Saeedi, M., Noori, N., & Rezaeigolestani, M.R. 2018. Study of effect of oregano essential oil and ethanolic extract of propolis on antibacterial properties and some physical characteristics of biodegradable poly-lactic acid films. *Iranian Journal of Health and Environment*. 11(1), 111-122. [full text in Persian]
- [27] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial Pathogenesis*. 136, 1-5.
- [28] Ghani, S., Barzegar, H., Noshad, M., & Hojjati, M. 2018. The preparation, characterization and in vitro application clinical manifestations in *Salmonella typhimurium* infected rabbits. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 24(1), 74-81. [full text in Persian]
- [14] Ghadimipour, R., Sedigh-Eteghad, S., Chalangar, R., Alipoor-yeganeh, M., khadiri, B., & Afkari, G.h. 2015. In Vitro antibacterial properties of aqueous extract of garlic against on common diarrhea causing bacteria. *Journal of North Khorasan University*. 7(1), 357-367. [full text in Persian]
- [15] Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B., & Heidari Sureshjani, M. 2014. The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics *in vitro*. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 17(3), 35-46.
- [16] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Fakhri, S., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. 2017. Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil on some pathogenic bacteria in vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 11(9), 42-51. [full text in Persian]
- [17] Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J.C., & Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45(4), 493-496.
- [18] Hamonnavard, S., Bahrami, AM., Razmjou, M., Asadisamani, M., & Hatamilak, M. 2013. Evaluation of nerium oleander aqueous extract effect on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 15, 46-54. [full text in Persian]
- [19] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S.A, & Mohebbi, M. 2017. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11, 847-863.
- [20] Alizadeh Behbahani, B., & Fooladi, AAI. 2018. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*. 114, 299-303.

- Innovative Food Science and Emerging Technologies. 22, 221-229.
- [33] Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., Zerouali, K., & Amghar, S. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of artemisia herba-alba and *Mentha pulegium* essential oils. Journal of Life Sciences. 8(1), 35-41.
- [34] Chraïbi, M., Farah, A., Lebrazi, S., Elamin, O., Iraqui Houssaini, M., & Fikri-Benbrahim, K. 2016. Antimycobacterial natural products from moroccan medicinal plants: chemical composition, bacteriostatic and bactericidal profile of *Thymus satureioides* and *Mentha pulegium* essential oils. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 6(10), 836-840.
- [35] Khosravi Zanjani, M.A., 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*. Journal of Food Biosciences and Technology. 5(2), 31-40.
- [36] Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbaui, A., Fellah, H., Abrini, J., & Dakka, N. 2017. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. Microbial Pathogenesis. 111, 41-49.
- evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. International Journal of Biological Macromolecules. 112, 197-202.
- [29] Barzegar, H., Alizadeh, V. Characterization of physical, antioxidant and antimicrobial properties of biodegradable soluble soybean polysaccharide films containing *Satureja hortensis* essential oil. Food Science and Technology. 14(71), 35-45. [full text in Persian]
- [30] Kouravand, F., Jooyandeh, H., Barzegar, H., & Hojjati, M. 2018. Characterization of cross - linked whey protein isolate - based films containing *Satureja Khuzistanica* Jamzad essential oil. Journal of Food Processing and Preservation. 42(3). 1-10.
- [31] Alizadeh, V., Barzegar, H., Nasehi, B., Samavati, V. Characterization of physical and antimicrobial properties of chitosan edible films containing *Pistacia atlantica* gum essence. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 13(4), 584-593. [full text in Persian]
- [32] Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pag'an, R., & Laglaoui, A. 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *lavandula stoechas* and *satureja calamintha* scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes.

Evaluation of the antimicrobial activity of *Menthapulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol *in vitro*

Tanavar, H. ¹, Barzegar, H. ^{2*}, Alizadeh Behbahani, B. ³, Mehrnia, M. A. ³

1. MSc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(Received: 2019/11/08 Accepted: 2020/02/05)

In traditional medicine, *Menthapulegium* was used for sinusitis treatment, gastrointestinal disorders, respiratory disorders and food detoxity. In this research, *Menthapulegium* essential oil (MPEO) antibacterial activity on some foodborne pathogens was considered. For research on MPEO interaction with chloramphenicol and gentamicin antibiotic, sub-minimum inhibitory concentration was used. The results showed that in growth medium MPEO able to control pathogen microorganisms. The inhibition zone diameter (IZD), in disk diffusion method for *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* bacteria was 16/50, 14/60, 10, 14, 10 mm respectively. The mean of IZD in well diffusion method for *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* bacteria was 14/40, 16, 12, 14/30, 10, 10/10 mm respectively. The results showed that in combination of MPEO with gentamicin antibiotic, for all bacteria, synergistic was observed. In combination of MPEO, with chloramphenicol antibiotic in *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, synergistic state was observed. Minimum inhibitory concentration in MPEO for all bacteria was 6/25 mg/ml. In general, with regard to acquired results, one can use MPEO for pathogenic microorganisms growth control in foods.

Keywords: *Menthapulegium* essential oil, Synergistic effect, Foodborne pathogens, Interaction.

* Corresponding Author E-Mail Address: hbarzegar@asnruk.ac.ir