دانشور
پزشکی

ارزیابی مقایسه‌ای آثار ضدقارچی سیر، پیاز و تربینافین علیه گونه‌های شایع درماتوفیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی

نویسندگان: دکتر معصومه شمس‌قهفرخی*[1]، نسرین امیررجب[2]، دکتر علی قجری[3] و دکتر مهدی رزاقی‌ابیانه[4]

۱. استادیار گروه قارچ‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد قارچ‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۳. استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴. استادیار بخش قارچ‌شناسی انستیتو پاستور ایران

* نویسنده مسئول: Email: shamsm@modares.ac.ir

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال سیزدهم – شماره ۶۲
اردیبهشت ۱۳۸۵

تاریخ وصول: ۸۲/۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۸۴/۳/۳۰

چکیده

مقدمه و هدف: درماتوفیت‌ها گروه تخصص یافته‌ای از قارچ‌های کراتینوفیلیک محسوب می‌شوند که قادر به تهاجم در نواحی شاخی پوست،مو و ناخن هستند.

روش کار: در تحقیق حاضر آثار ضدقارچی دو عصاره گیاهی سیر و پیاز علیه استرین‌های استاندارد و بومی برخی از گونه‌های مهم درماتوفیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید و با فعالیت ضدقارچی داروی تربینافین مقایسه شد. روش استاندارد رقت در آگار (Agar Dilution Method) برای تعیین فعالیت ضدقارچی ترکیبات فوق‌الذکر مورد استفاده قرار گرفت. استرین‌های قارچی در حضور غلظت‌های مختلف ترکیبات مذکور در محیط سابورو دکستروز اگار کشت داده شدند و مقادیر MIC و MFC هر یک از ترکیبات به‌طور جداگانه تعیین گردید.

یافته‌ها: تمام ترکیبات مورد استفاده، رشد کلیه درماتوفیت‌ها را از طریق وابسته به غلظت مهار کردند. مقادیر MIC تربینافین و عصاره‌های آبی سیر و پیاز برای تمام درماتوفیت‌های تحت بررسی به ترتیب در محدوده ۰/۱۶۵-۰/۰۰۵ (میکروگرم در میلی‌لیتر)، ۳/۹۱-۰/۲۴ (میکرولیتر در میلی‌لیتر) و ۵۰۰-۶۲/۵ (میکرولیتر در میلی‌لیتر) محاسبه شد. مقادیر MFC ترکیبات مذکور نیز به ترتیب برابر ۰/۳۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۳۱/۲۵-۷/۸۱ (میکرولیتر در میلی‌لیتر) و ۱۰۰۰ (میکرولیتر در میلی‌لیتر) تعیین گردید.

بحث: براساس نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، تربینافین بیش‌ترین تأثیر ضدقارچی را علیه *میکروسپوروم کانیس* MC-1 و *میکروسپوروم جیپسئوم* PTCC ۵۰۷۰ در مقایسه با سایر درماتوفیت‌ها نشان داد. دو استرین *میکروسپوروم کانیس* MC-1 و PTCC۵۰۶۹ بیش‌ترین مقاومت را در برابر عصاره‌های آبی سیر و پیاز ازخود نشا ن دادند. در مجموع دو ترکیب، یعنی تربینافین و عصاره آبی سیر فعالیت ضدقارچی مناسبی را در غلظت‌های بسیار پایین‌تر در مقایسه با عصاره آبی پیاز علیه درماتوفیت‌های تحت مطالعه نشان دادند. با توجه به قابلیت بالای مهار رشد درماتوفیت‌ها توسط عصاره‌های آبی سیر و پیاز، بررسی بیش‌تر در خصوص یافتن فراکسیون‌های مؤثر ضد درماتوفیتی عصاره‌های مورد نظر و همچنین بررسی تأثیر عصاره تام و فراکسیون‌های مؤثر در درمان اشکال مختلف درماتوفیتوزیس توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: درماتوفیت‌ها، آثار ضدقارچی، تربینافین، سیر، پیاز

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، مقاومت به داروهای ضدقارچی و در نتیجه شکست در درمان بیماران به فراوانی مشاهده گردیده است. با آغاز پیشرفت‌های وسیع درمانی از ابتدای دهه ۱۹۸۰ نیاز به داروهای مؤثر ضدقارچی که عوارض جانبی کمی داشته باشند و بتوانند به‌مدت طولانی استفاده گردند بیش از پیش احساس شده است. عفونت‌های قارچی پوست و ضمائم آن، نظیر درماتوفیتوزیس از جمله شایع‌ترین بیماری‌های پوست محسوب می‌شوند. درماتوفیتوزیس از جمله مهم‌ترین بیماری‌های پوست، مو و ناخن است و به‌وسیله دسته‌ای از قارچ‌ها تحت عنوان درماتوفیت‌ها (Dermatophytes) در سه جنس تریکوفیتون (Trichophyton)، میکروسپوروم (Microsporum) و اپیدرموفیتون (Epidermophyton) در انسان وحیوانات ایجاد می‌شود. ضایعات جلدی ناشی از عوامل درماتوفیتی در بسیاری از موارد، بخصوص در عفونت‌های مزمن پا و ناخن به درمان‌های ضدقارچی پاسخ نمی‌دهند[۳-۱]. داروهای ضدقارچی مورد استفاده در درمان درماتوفیتوزیس عمدتاً شامل گریزئوفولوین، ترکیبات آزولی و تربینافین از دسته آلیل‌آمین‌ها است. هر چند برخی از استرین‌های درماتوفیتی پاسخ خوبی نسبت به ترکیبات ضدقارچی از خود نشان می‌دهند، اما شدت پاسخ و مدت زمان مصرف دارو بر حسب استرین عامل بیماری و علائم بالینی ایجاد شده متفاوت است. همچنین محدودیت‌هایی در استفاده طولانی مدت از ترکیبات ضدقارچی به‌دلیل عوارض ناشی از آن‌ها مشاهده گردیده است [۶-۴]. تا سال‌های اخیر از داروی گریزئوفولوین برای درمان اشکال بالینی متفاوت درماتوفیتوزیس استفاده می‌گردید؛ اما به‌دلیل عوارض جانبی متعدد دارو، نظیر سر درد، تهوع، سرگیجه و عدم‌توانایی دارو در از بین بردن کامل عناصر ضدقارچی، محدودیت‌هایی در استفاده از آن به‌وجود آمده است [۷و۸]. اخیراً داروی تربینافین به‌دلیل آثار مطلوب علیه قارچ‌ها بخصوص درماتوفیت‌ها و به‌علاوه عوارض جانبی ناچیز نسبت به سایر داروهای ضدقارچی، به‌عنوان داروی انتخابی در درمان درماتوفیتوزیس به‌کار گرفته شده است[۱۲-۹]. همزمان به‌دنبال تحقیقات انجام گرفته در زمینه تهیه داروهای ضدقارچی با حداقل عوارض جانبی، مطالعات گسترده‌ای نیز در زمینه به‌کارگیری گیاهان جهت استفاده به‌عنوان ترکیبات ضدقارچی مؤثر صورت گرفته است. در بررسی‌های محققین مختلف آثار ضدقارچی طیف گسترده‌ای از گیاهان نظیر آویشن شیرازی *(Zataria multiflora)*، سیر *(Allium sativum*; Garlic)، بومادران *(Achillea clavennae L.)*، پیاز *(Allium cepa*; Onion)، دارس *(Guniperus phoceaeni)* و غیره بر روی گروه متنوعی از قارچ‌ها شامل ساپروفیت‌های رشته‌ای و مخمرها بررسی و تأیید گردیده است [۱۶-۱۳]. در همین راستا و با توجه به ضرورت‌های ذکر شده در فوق، تحقیق حاضر با هدف بررسی آثار ضدقارچی عصاره‌های آبی سیر و پیاز بر روی برخی از درماتوفیت‌های نسبتاً شایع و با اهمیت در ایران صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

ارگانیسم‌ها

در تحقیق حاضر، تعداد پنج ایزوله از گونه‌های درماتوفیتی بومی ایران، شامل *تریکوفیتون منتاگروفایتس* TM-1، *تریکوفیتون روبروم* TR-1، *میکروسپوروم کانیس* MC-1، *میکروسپوروم جیپسئوم* MG-1 و *اپیدرموفیتون فلوکوزوم* EF-1، جداسازی شده از بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس مراجعه‌کننده به بیمارستان رازی تهران به همراه سه گونه استاندارد *تریکوفیتون روبروم* PTCC ۵۱۴۳، *میکروسپوروم کانیس* PTCC ۵۰۶۹ و *میکروسپوروم جیپسئوم* PTCC ۵۰۷۰، تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی - صنعتی ایران مورد استفاده قرار گرفتند. برای تشخیص هر یک از گونه‌ها، از تست‌های تشخیصی براساس ویژگی‌های مورفولوژی

Archive of SID

www.SID.ir

ماکرو و میکروسکوپی، توانایی تولید اوره آز، قابلیت تولید پیگمان در محیط کورن میل آگار، تست سوراخ کردن مو و... استفاده گردید.

تهیه سوسپانسیون قارچی برای تلقیح

سوسپانسیون یکنواختی از کشت‌های ۱۴ روزه هر یک از درماتوفیت‌های کشت داده شده بر روی محیط سابورو دکستروز آگار، با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل حاوی ۰/۵ درصد توئین ۸۰ تهیه گردید. سوسپانسیون حاصل به‌منظور حذف ذرات اضافی و قطعات هایفی از چند لایه تنظیف استریل عبور داده شد و بدین‌ترتیب اسپورهای قارچی جداسازی و جمع‌آوری شدند [۶]. سوسپانسیون حاوی اسپور در لوله‌های استریل جمع‌آوری و تعداد اسپورها در میلی‌لیتر با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید و سرانجام غلظتی معادل 10^3 cfu/ml از هر یک از گونه‌ها به‌دنبال انتقال حجم مشخصی از سوسپانسیون‌های قارچی به محیط‌کشت سابورودکستروزآگار و شمارش تعداد کلنی‌ها آماده شد.

تهیه محلول‌های دارویی

برای تهیه استوک دارویی، یک میلی‌گرم از پودر تربینافین (Novartiz) در یک میلی‌لیتر حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) تهیه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. محلول دارویی در حجم‌های ۱۰۰ میکرولیتری در ویال‌های استریل تقسیم و تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه عصاره‌های آبی سیر و پیاز

به‌منظور تهیه عصاره آبی سیر و پیاز از روش مانتیس (Mantis) استفاده گردید [۱۷]، بدین‌ترتیب که حبه‌های سیر پس از جداسازی پوست به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از آن، با ایجاد شکاف در هر یک به مدت یک ساعت در هوای آزمایشگاه قرار داده شدند. آنگاه به ازای هر گرم سیر، یک میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه و به‌وسیله دستگاه هموژنایزر، مخلوط یکنواختی از سیر حاصل گردید. مخلوط حاصل از تنظیف و کاغذ واتمن شماره یک عبور داده شد و ماده حاصل در سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۲۵۰۰۰ در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر استریل گردید و در حجم‌های یک میلی‌لیتری در ویال‌های استریل در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد جهت مصارف بعدی نگهداری شد. برای تهیه عصاره آبی پیاز، ۵۰۰ گرم پیاز سفید از پوست جدا گردید و با استفاده از اسکالپل به قطعات کوچک‌تر تقسیم شد. قطعات پیاز به‌وسیله هموژنایزر به مخلوط یکنواخت تبدیل شد و مراحل بعدی، مشابه با تهیه عصاره آبی سیر دنبال گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد(MIC) به روش رقت در آگار

جهت تعیین حساسیت دارویی درماتوفیت های‌مورد بررسی از روش رقیق‌سازی در آگار (Agar Dilution Method) استفاده گردید [۱۸]. غلظت نهایی تربینافین در محدوده ۰/۶۶-۰/۰۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. به همین ترتیب، رقت‌های متوالی دو برابر از ۱ تا ۱/۱۲۸ از عصاره آبی پیاز و رقت‌های متوالی دو برابر از ۱ تا ۱/۸۱۹۲ از عصاره آبی سیر به‌صورت حجمی/ حجمی با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از رقت دارویی تربینافین و هر یک از عصاره‌های آبی سیر و پیاز به‌صورت جداگانه در پلیت‌های شیشه‌ای استریل با قطر ۱۰ سانتی‌متر ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی حاوی 10^3cfu/ml اسپور به همراه ۲۵ میلی‌لیتر محیط‌کشت سابورو دکستروزآگار مذاب با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به هر یک از پلیت‌های حاوی ترکیبات ضدقارچی اضافه و محتویات پلیت‌ها به آرامی یکنواخت گردید. هر یک از رقت‌ها به‌صورت سه‌تایی تهیه شد. از بیش‌ترین غلظت دی‌متیل سولفوکساید بدون حضور داروی تربینافین به‌عنوان

Archive of SID

www.SID.ir

کنترل حلال استفاده شد. در مورد کنترل عصاره‌های آبی سیر و پیاز، از سرم فیزیولوژی استریل استفاده گردید. پلیت‌های حاوی محیط کشت، عناصر قارچی و رقت‌های متوالی دو برابر از داروی تربینافین و عصاره‌های گیاهی به مدت ۱۴-۱۰ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان MIC براساس شمارش تعداد کلنی‌های گونه‌های درماتوفیتی در هر یک از رقت‌های مورد بررسی و مقایسه آن‌ها با کنترل‌های مربوط محاسبه گردید.

آنالیز آماری

از آزمون تی (t-test) و آنالیز واریانس (ANOVA) بر حسب مورد به‌منظور آنالیز آماری نتایج استفاده گردید.

نتایج

در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف داروی تربینافین بر درماتوفیت‌های مورد بررسی، نشان داده شد که این دارو در تمام غلظت‌های مورد استفاده در محدوده ۰/۶۶-۰/۰۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر قادر به مهار مؤثر رشد قارچ است و این مهار در تمام غلظت‌های دارو در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنادار گزارش گردید ($p<0/05$) (جدول ۱).

مقادیر MIC۵۰ این دارو برای ایزوله‌های مختلف در محدوده ۰/۰۴۱-۰/۰۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. کم‌ترین مقدار MIC۵۰ برای ایزوله‌های *میکروسپوروم کانیس* MC-۱ و *میکروسپوروم جیپسئوم* PTCC ۵۰۷۰ تعیین شد. MIC۵۰ دارو برای *میکروسپوروم جیپسئوم* MG-۱ و *تریکوفیتون روبروم* PTCC۵۱۴۳ برابر ۰/۰۲۰ و برای مابقی ایزوله‌ها برابر ۰/۰۴۱ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. میزان MIC۹۰ دارو درمحدوده ۰/۳۳۰-۰/۱۶۵ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ایزوله‌های میکروسپوروم جیپسئوم MG-۱، برای *اپیدرموفیتون فلوکوزوم* EF-۱، برای *میکروسپوروم کانیس* PTCC۵۰۶۹ و برای مابقی ایزوله‌ها برابر ۰/۱۶۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. میزان MFC دارو برای تمام ایزوله‌های مورد بررسی برابر ۰/۳۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید (تصویر ۱).

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر در محدوده ۳۱/۲۵-۰/۲۴ میکرولیتر در میلی‌لیتر بر رشد درماتوفیت‌های مورد مطالعه نشان داد که این عصاره قادر به مهار رشد درماتوفیت‌ها از طریق وابسته به غلظت در تمام غلظت‌های مورد استفاده است (جدول ۱). این مهار در مورد تمام ایزوله‌ها و در همه غلظت‌های عصاره در مقایسه با گروه‌های کنترل (فاقد عصاره آبی سیر) از نظر آماری در سطح کم‌تر از ۰/۰۵ معنادار گزارش گردید. مقادیر MIC۵۰ عصاره سیر برای ایزوله‌های مختلف در محدوده ۰/۴۹ تا ۱/۹۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر تعیین شد. در این مورد، حداقل میزان MIC۵۰ برای *تریکوفیتون روبروم* PTCC۵۱۴۳ و حداکثرآن برای ایزوله‌های بومی *میکروسپوروم کانیس* MC-۱، *تریکوفیتون منتاگروفایتس* TM-۱ و *تریکوفیتون روبروم* TR-۱ گزارش گردید. مقادیر MIC۹۰ عصاره نیز همانند MIC۵۰ برای ایزوله‌های مختلف متغیر بود و در محدوده ۱/۹۵ تا ۱۵/۶۲ میکرولیتر در میلی‌لیتر محاسبه شد. مقادیر MFC عصاره سیر در مورد ایزوله‌های درماتوفیتی در محدوده ۷/۸۱ تا ۳۱/۲۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر تعیین گردید. در مجموع ۳ ایزوله *تریکوفیتون روبروم* PTCC۵۱۴۳، *میکروسپوروم کانیس* PTCC۵۰۶۹ و *اپیدرموفیتون فلوکوزوم* EF-۱ به‌عنوان حساس‌ترین و ۲ ایزوله *تریکوفیتون منتاگروفایتس* TM-۱ و *تریکوفیتون روبروم* TR-۱ به‌عنوان مقاوم‌ترین ایزوله‌ها در برابر آثار مهارکنندگی عصاره آبی سیر گزارش گردیدند.

بررسی تأثیر مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیاز در محدوده ۶۲/۵ تا ۲۰۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر بر رشد درماتوفیت‌های تحت بررسی نشان داد که این عصاره گیاهی نیز همانند تربینافین و عصاره سیر قادر به مهار رشد درماتوفیت‌ها از طریق وابسته به غلظت است (جدول ۱). در این رابطه، تأثیر مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره گیاه به استثنای غلظت ۶۲/۵ میکرولیتر در میلی لیتر در مقایسه با گروه‌های کنترل (فاقد عصاره) در تمام ایزوله‌های مورد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱. فعالیت ضدقارچی تربینافین و عصاره‌های آبی سیر وپیاز علیه برخی از ایزوله‌های درماتوفیتی در شرایط آزمایشگاهی*

ارگانیسم	دارو	میزان MIC تربینافین ** و میزان MIC عصاره‌های آبی سیر و پیاز***			میزان MFC تربینافین** و میزان MFC عصاره‌های آبی سیر و پیاز***
		میانگین	محدوده	۵۰ درصد	۹۰ درصد	
تریکوفیتون منتاگروفایتس-۱TM	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۴۱	۰/۱۶۵	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۷/۹۳	۰/۲۴-۱۵/۶۲	۱/۹۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
تریکوفیتون روبروم PTCC۵۱۴۳	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۲۰	۰/۱۶۵	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۲/۰۷	۰/۲۴-۳/۹۱	۰/۴۹	۳/۹۱	۷/۸۱
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
تریکوفیتون روبروم TR-۱	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۴۱	۰/۱۶۵	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۷/۹۳	۰/۲۴-۱۵/۶۲	۱/۹۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
میکروسپوروم کانیس PTCC۵۰۶۹	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۴۱	۰/۱۶۵-۰/۳۳۰	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۲/۰۷	۰/۲۴-۳/۹۱	۰/۹۸	۱/۹۵	۷/۸۱
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
میکروسپوروم کانیس MC-۱	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۰۵	۰/۱۶۵	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۴/۰۲۵	۰/۲۴-۷/۸۱	۱/۹۵	۳/۹۱	۱۵/۶۲
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
میکروسپوروم جیپسئوم PTCC ۵۰۷۰	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۰۵	۰/۱۶۵	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۷/۹۳	۰/۲۴-۱۵/۶۲	۰/۹۸	۷/۸۱	۳۱/۲۵
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
میکروسپوروم جیپسئوم MG-۱	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۲۰	۰/۱۶۵-۰/۳۳۰	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۴/۰۲۵	۰/۲۴-۷/۸۱	۱/۹۸	۷/۸۱	۳۱/۲۵
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰
اپیدرموفیتون فلوکوزوم EF-۱	تربینافین	۰/۰۸۵	۰/۰۰۵-۰/۱۶۵	۰/۰۴۱	۰/۱۶۵-۰/۳۳	۰/۳۳۰
	عصاره آبی سیر	۲/۰۷	۰/۲۴-۳/۹۱	۰/۹۸	۳/۹۱	۷/۸۱
	عصاره آبی پیاز	۲۸۱/۲۵	۶۲/۵-۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰۰

* غلظت‌های مختلف دارو در حجم نهایی یک میلی‌لیتر به همراه 10^3cfu/ml اسپور قارچی به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت نیمه مذاب سابورو دکستروز آگار افزوده شد و مقادیر MIC و MFC براساس روش‌های ذکر شده در بخش مواد و روش‌ها تعیین شد.

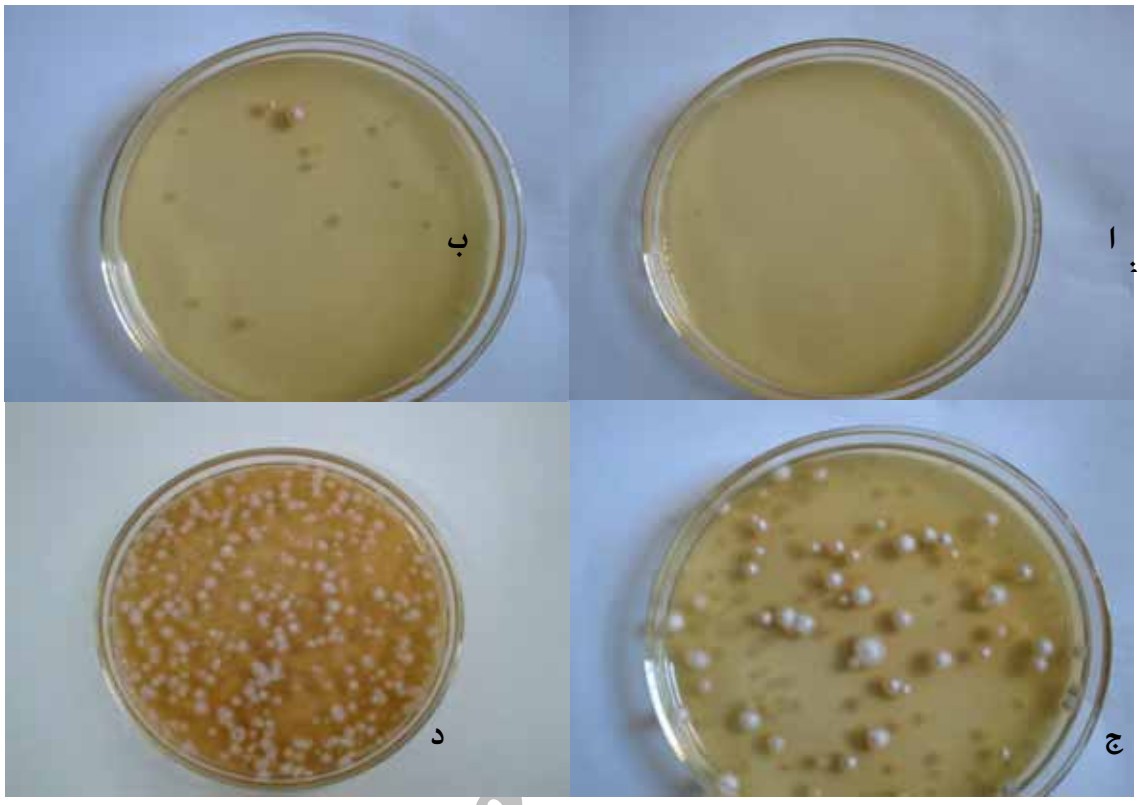
** برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر

*** برحسب میکرولیتر در میلی‌لیتر

بررسی از نظر آماری در سطح کم‌تر از ۰/۰۵ معنادار گزارش گردید. الگوی نسبتاً مشابهی در مورد همه درماتوفیت‌های مورد بررسی در مجاورت عصاره آبی پیاز به‌دست آمد. در این رابطه، مقادیر MIC۵۰ در محدوده ۲۵۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش شد، در حالی‌که مقادیر MIC۹۰ و MFC در مورد تمام ایزوله‌ها به ترتیب برابر ۱۰۰۰-۵۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر و ۱۰۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که عصاره آبی پیاز نیز نظیر سایر ترکیبات مورد بررسی قادر به مهار رشد نسبی و کامل درماتوفیت‌ها در غلظت‌های خاص است.

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر ۱- ارزیابی آثار ضدقارچی براساس شمارش کلنی در محیط کشت جامد به روش رقت در آگار:
الف) حداقل غلظت کشندگی (MFC)
ب) حداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۹۰ درصد (MIC 90)
ج) حداقل غلظت مهار رشد ۵۰ درصد (MIC 50)
د) شاهد (مجاور نشده با ترکیب ضد قارچ)

بحث

استفاده از گیاهان‌دارویی در درمان بیماری‌های مختلف، نظیر بیماری‌های قارچی جلدی از دیر باز تاکنون مورد علاقه و بررسی بشر بوده است. شیوع عفونت‌های قارچی مقاوم به درمان در سال‌های اخیر به شدت رو به افزایش گذاشته و این مسأله، انتخاب پروتکل‌های درمانی مؤثر و مناسب را در یک دوره زمانی مشخص اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. از آن‌جا که درماتوفیت‌ها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های قارچی جلدی در انسان و حیوانات مطرح و دارای اهمیت فراوانند [۳-۱]، عوارض جانبی ناشی از ترکیبات ضدقارچی که برای درمان بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس به‌کار برده می‌شود، نظر محققین را به سمت یافتن ترکیبات ضدقارچی مؤثر با حداقل عوارض جانبی سوق داده است [۸و۷،۶،۳،۲،۱].

توجه به استفاده از گیاهان از دیر باز مورد توجه بشر بوده و کاربرد بسیاری از گیاهان در علوم مختلف بخصوص طب مشاهده گردیده است. استفاده از گیاهانی نظیر سیر، بومادران، دارس، پیاز و... به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی، ضد انگلی وضدقارچی در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته و آثار مثبت آن‌ها در این خصوص به اثبات رسیده است [۱۶و۱۵،۱۴،۱۳].

Archive
www.SID.ir

در همین رابطه، در تحقیق حاضر، آثار مهارکنندگی رشد عصاره‌های آبی سیر و پیاز درمقایسه با تربینافین، با استفاده از روش رقیق‌سازی در آگار [۱۸] بر روی تعدادی از گونه‌های درماتوفیتی شایع در ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. از آن‌جا که عفونت‌های ناشی از درماتوفیت‌ها در ایران از شیوع نسبتاً بالایی برخوردار است، مطالعات برای یافتن ترکیبات ضدقارچی مؤثر با حداقل آثار جانبی در بهبود بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس حائز اهمیت قرار گرفته است. تجارب اولیه ما نشان داد که علی‌رغم وجود روش‌های بررسی حساسیت دارویی درماتوفیت‌ها در محیط‌های کشت مایع [۱۹و۲۰]، استفاده از محیط‌های کشت جامد به‌دلیل توانایی این گروه از قارچ‌ها در تولید انواع مختلف کونیدی، نظیر میکروکونیدی، ماکروکونیدی و کلامیدوکونیدی ارجح است. نتایج به‌دست آمده از بررسی تأثیر عصاره‌های آبی سیر و پیاز بر درماتوفیت‌های تحت بررسی نشان داد که این عصاره‌ها از طریق وابسته به غلظت، قادر به مهار رشد درماتوفیت‌ها هستند. بررسی اثر تربینافین بر رشد درماتوفیت‌های تحت مطالعه نشان داده که محدوده MIC این دارو بین ۰/۱۶۵–۰/۰۰۵میکروگرم در میلی‌لیتر است و در غلظت‌های بالای ۰/۱۶۵میکروگرم در میلی‌لیتر باعث مهار کامل رشد تمام درماتوفیت‌های مورد بررسی می‌شود. حساسیت دو ایزوله *میکروسپوروم کانیس* MC-1 و *میکروسپوروم جیپسئوم* PTCC۵۰۷۰ نسبت به آثار ضدقارچی این دارو بیش از سایر ایزوله‌ها بود. محققین مختلف نیز در بررسی‌های خود آثار ضد درماتوفیتی تربینافین را به اثبات رسانده‌اند [۶،۱۰،۱۱و۱۲].

نتایج به‌دست آمده از بررسی تأثیر عصاره آبی سیر نشان داد که این عصاره در غلظت‌های بسیار پایین (محدوده MIC ۱/۹۵–۰/۲۴ میکرولیتر در میلی‌لیتر) دارای آثار مهارکنندگی از رشد و قارچ کشی برای تمام ایزوله‌های مورد بررسی است. بررسی تأثیر عصاره آبی پیاز بر رشد درماتوفیت‌های تحت مطالعه نشان داد که محدوده MIC برای تمام ایزوله‌ها ۵۰۰–۶۲/۵ است.

در مجموع، نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد عصاره‌های گیاهی همانند داروهای ضدقارچی سنتتیک از قابلیت‌های بالایی در مهار رشد درماتوفیت‌ها برخوردارند. هر چند اطلاعات محدودی از کاربرد عصاره سیر در درمان درماتوفیتوزیس (کچلی پا) وجود دارد، اما بررسی‌های بیش‌تر در خصوص یافتن ترکیبات ضد درماتوفیتی مؤثر این گیاهان برای مصارف درمانی در شرایط آزمایشگاهی توصیه می‌گردد.

منابع

1. Kown-Chung E, Bennett JW. Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1992.
2. Ajello L, Hay JR. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Vol.4. Medical Mycology, 9th edition, London, Oxford University Press, Inc., 1998; pp. 215-217.
3. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 240-259.
4. Oyeka CA, Gugnani HC. In vitro activity of seven azole compounds against some clinical isolates of non-dermatophytic filamentous fungi and some dermatophytes. Mycopathologia 1990; 100: 157-161.
5. Mares D, Romagnoli C, Vicentini CB, Bruni A. Antifungal screening of seven new azole derivatives. Microbios 1996; 86: 185-193.
6. Fernandez-Torres B. Vazquez-veiga H., Liovo X, Pereiro MJ. In vitro susceptibility to itraconazole, clotrimazole, ketoconazole and terbinafine of 100 isolates of *Trichophyton rubrum*. Chemotherapy 2000; 46: 390-394.
7. Artis WM, Odle BM, Jones HE. Griseofulvin resistant dermatophytosis correlates with in vitro resistance. Arch Dermatol 1981; 117: 16-19.
8. Granade TC, Artis WM. Factors affecting griseofulvin susceptibility testing of T. rubrum in microcultures. J Clin Microbiol 1982; 16: 1043-1047.
9. Favre B, Ryder NS. Characterization of squalene epoxidase activity from the dermatophyte *Trichophyton rubrum* and its inhibition by terbinafine and other antimycotic agents. Antimicrob Ag Chemother 1996; 40: 443-447.
10. Avzeni O, Barchiesi F, Compagnucci P, Cellini A. In vitro activity of terbinafine against clinical isolates of dermatophytes. Med Mycol 1998; 36: 235-237.

Archive of SID

www.SID.ir

11. **Jessup CJ, Ryder NS, Ghannoum MA. An evaluation of the in vitro activity of terbinafine. Med Mycol 2000; 38: 155-159.**

12. **Hazen KC. Fungicidal versus fungistatic activity of terbinafine and itraconazole: an in vitro comparison. J Am Acad Dermatol 1998; 38: 537-541.**

13. **Mahajan V. Antimycotic activity of different chemicals, chaksine iodide and garlic. Mykosen 1983; 26(2): 94-99.**

14. ***14- Kim JH. Anti-bacterial action of oniun (*Allium cepa*) extracts against oral pathogenic bacteria. J Nihon Univ Sch Dent 1997; 39: 136-141.***

15. ***Zohri AN, Gawad K, Saber S. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa*) oil. Microbiol Res 1995; 150: 167-172.***

16. ***Appleton J, Tansey M. Inhibiiton of growth of zoopathogenic fungi by garlic extract. Mycologia 1975; 67: 882-885.***

17. **Mantis A. The effect of garlic extract on food poisining bacteria in culture *Staphylococcus aureus*. Lebensum. Wiss. U. Technol. 1978; 12: 26-28.**

18. **Yoshida T, Jono K, Okonogi K. Modified agar dilution susceptibility testing method for determining in vitro activites of antifungal agents, including azole compounds. Antimicrob Ag Chemother 1997; 41: 1349-1351.**

19. **Jessup CJ, Warner J, Isham N, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. J Clin Microbiol 2000 ; 38: 341-344.**

20. **NCCLS document M 38-P. Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi; Approved standard 1998; 22: 1-29.**

Archive of SID

www.SID.ir