

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه خرزهره بر روی میکروارگانیزم‌های بیمارستانی و استاندارد

حسن رخشنده^{۱*} (Ph.D)، محمد طاهر بروشکی^۱ (Ph.D)، علی صادقیان^۱ (Ph.D)، حیدر پارسایی^۱ (Ph.D)
 ۱- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فارماکولوژی گیاهان دارویی
 ۲- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بیمارستان قائم، گروه میکروبی‌شناسی

چکیده

سابقه و هدف: در طب سنتی، از برگ گیاه خرزهره به‌عنوان مقوی قلب و مدر و به‌صورت موضعی در درمان جرب، کچلی و برخی از بیماری‌های پوستی استفاده می‌شده است. در این مطالعه بر آن شدیم تا اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی آن را بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش عصاره‌های آبی، الکلی و کلرفرمی اندام‌های هوایی گیاه، به روش سوکسله و خیساندن تهیه و غلظت‌های مختلفی از آن بر روی میکروارگانیزم‌های بیمارستانی و استاندارد از قبیل استافیلوکوک طلایی کوآگولاز مثبت، پseudomonas آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس، به روش‌های سیلندر پلیت، دیسک و رقت آگار به کار رفت. میکروارگانیزم‌ها از محل‌های مختلف مانند خون، مدفوع، مایع نخاع، زخم، واژن، حلق و... نمونه‌برداری شدند. کلوزاسیلین، جنتامایسین و کلوتریمازول به‌عنوان داروهای استاندارد به کار رفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که عصاره کلرفرمی، فاقد اثر ضد میکروبی و ضد قارچی بوده ولی عصاره‌های آبی در روش رقت آگار، دارای اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی بودند که عصاره متانولی با غلظت کم‌تر اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی بیش‌تری از عصاره آبی نشان داد که با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد قابل مقایسه بود. نتایج به‌دست آمده به شرح زیر است:

اثر بر روی استافیلوکوک طلایی: غلظت ۵۰۰ mg/100ml عصاره متانولی اثری معادل ۱ mg/100ml کلوزاسیلین از خود نشان داد. اثر بر روی پseudomonas آئروژینوزا: غلظت ۵۰۰ mg/100ml عصاره اثری معادل ۲ mg/100ml جنتامایسین از خود نشان داد. اثر بر روی کاندیدا آلبیکانس: غلظت ۲ g/100ml عصاره اثری معادل ۰/۴ mg/100ml کلوتریمازول از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج مذکور می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه احتمالاً بر علیه استافیلوکوک طلایی و پseudomonas آئروژینوزا اثر ضد میکروبی قابل توجهی دارد.

واژه‌های کلیدی: خرزهره، اثر ضد میکروبی، اثر ضد قارچی، جنتامایسین، کلوزاسیلین، کلوتریمازول

مقدمه

شمال آفریقا و همچنین در آسیا و ایران می‌روید. این گیاه حاوی اولتاندرین و دو ترکیب گلیکوزیدی به نام‌های نری‌نین و تری‌آنتین می‌باشد. اولتاندرین از برگ ولی نری‌نین از پوست

گیاه خرزهره (Nerium oleander L)، درختچه‌ای است زینتی، پر شاخه، دارای برگ‌های متقابل، که در جنوب اروپا،

مواد مورد استفاده. متانول و کلروفرم از شرکت مرک، پودر جنتامایسین از شرکت داروپخش، پودرهای کلوگزاسیلین و کلوتریمازول از شرکت پارس دارو، ویال‌های لئوفلیزیه میکرب‌های استاندارد شامل استافیلوکوک طلایی (PTCC 1112)، پَسودومونا آئروژینوزا (PTCC 1430) و کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید.

روش آزمایش:

الف - روش‌های عصاره‌گیری. گیاه خرزهره از مناطق جنوبی خراسان (شهرستان طبس، روستای کوریت) در اردیبهشت ماه جمع‌آوری و توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردید. پس از خشک شدن اندام‌های هوایی آن در سایه و جریان هوا توسط آسیاب خرد شد. از پودر تهیه شده برای عصاره‌گیری به روش‌های مختلف استفاده به عمل آمد.

۱- عصاره‌گیری به روش سوکسله. در این روش از گیاه مورد نظر با دو حلال آب و متانول عصاره‌گیری شد. بدین صورت که ۵۰ گرم از گیاه را داخل کارتوش ریخته شد و با ۳۰۰ ml از متانول یا آب به مدت ۱۰ الی ۱۲ ساعت عصاره‌گیری به عمل آمد. عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی صاف و سپس توسط دستگاه دوار تقطیر در خلأ، حذف حلال صورت گرفت. عصاره به دست آمده به ظروف شیشه‌ای منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت بدون درپوش در اون ۵۰ درجه گذاشته شد؛ تا حتی الامکان حلال باقی مانده تبخیر شود. بدین ترتیب عصاره تهیه شده برای آزمایشات کنترل میکربی در یخچال نگهداری شد.

۲- عصاره‌گیری به روش خیساندن. حدود ۶۰۰ گرم از پودر گیاه داخل بالن ریخته و ۱۵۰۰ ml کلروفرم به آن اضافه شد. به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه نگهداری شد و در این مدت روزانه چند مرتبه عمل هم زدن صورت گرفت. سپس صاف گردید و مانند روش قبل، حذف حلال صورت گرفت و عصاره مورد نظر تهیه شد.

ب - روش‌های بررسی اثرات ضد میکروبی.

ساقه و برگ گیاه به دست می‌آید. برگ خرزهره دارای خاصیت مقوی قلب نظیر استروفانتوس ولی با اثر کم‌تر می‌باشد. هم‌چنین اثر مدر نیز دارد که قوی‌تر از دیژیتال می‌باشد. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه موجب تنظیم و تقویت ضربان قلب می‌شود [۳،۱]. تاکنون تحقیقات متعددی در رابطه با اثرات درمانی این گیاه در دنیا به عمل آمده است که تعدادی از آن‌ها عبارتند از: اثرات ضد سرطان [۹،۱۲]، اثرات سمی بر روی ارگان‌های مختلف بدن [۶،۴،۸]، دپرسیون سیستم عصبی مرکزی [۱۳،۱۰]، اثر بر روی مراحل اسپرماتوزنز [۷]، اثر ضد التهابی و ضد درد [۵] و اثر سمی بر روی موجودات آبی [۱۱].

تاکنون بر روی اثرات ضد میکربی و ضد قارچی این گیاه مطالعه‌ای به عمل نیامده است. لذا بر آن شدیم تا این اثرات را مورد بررسی قرار دهیم. بدین منظور عصاره‌های آبی، الکلی و کلروفرمی اندام‌های هوایی گیاه به روش‌های سوکسیله و خیساندن تهیه و غلظت‌های مختلفی از آن بر روی میکروارگانیسم‌های بیمارستانی و استاندارد شامل استافیلوکوک طلایی کوآگولاز مثبت، پَسودومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس به روش‌های سیندرپلیت، دیسک و رقت آکار به کار رفت. نمونه‌های میکربی از محل‌های مختلف مانند خون، مدفوع، مایع نخاع، زخم، واژن و حلق انتخاب شدند. انتخاب میکروارگانیسم‌های مذکور با توجه به این مسئله صورت گرفت که این باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج نسبتاً مقاوم بوده و امروزه درمان این عفونت‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های موجود با مشکل مواجه می‌باشد. بعلاوه بسیاری از عفونت‌های شایع و بیماری‌های قارچی و هم‌چنین مسمومیت‌های غذایی به این میکروارگانیسم‌ها اختصاص دارد و از طرفی چون کشت قارچ‌ها مشکل می‌باشد در این‌جا کاندیدا آلبیکانس به عنوان نمونه قارچ انتخاب شد، که در صورت مشاهده اثر، تحقیق بر روی سایر قارچ‌ها نیز به عمل خواهد آمد.

مواد و روش‌ها

گذاشته شد، که در ۵ تای آن‌ها ۰/۲ ml عصاره با غلظت‌های مشخص افزوده شد و داخل يك سيلندر به‌عنوان شاهد، ۰/۲ ml حلال و سيلندر ديگر به عنوان شاهد مثبت ۰/۲ ml آنتی‌بیوتیک استاندارد با غلظت مشخص افزوده شد.

به عنوان شاهد مثبت برای استافیلوکوک طلايي، کلوگراسیلین با غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر؛ برای پ سودومونا آئروژینوزا، جنتامایسین با غلظت ۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای کاندیدا آلبیکس، کلوتریمازول با غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از گذشت مدت زمان لازم، هاله عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری شد.

ج- تهیه نمونه میکروارگانيسم‌های بیمارستانی. برای این منظور ۵۰ نمونه از استافیلوکوک طلايي کوآگولاز مثبت، پ سودومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکس از محل‌های مختلف مانند خون، مدفوع، مایع نخاع، زخم، وازن و حلق تهیه شدند.

د- بررسی‌های آماری. جهت مقایسه نتایج به‌دست آمده از اثر عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، از تست نسبت و با سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید.

نتایج

نمونه‌های پاتوژن قارچ و باکتری شامل ۵۰ نمونه از استافیلوکوک طلايي و پ سودومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکس از محل‌های مختلف برداشت شدند. درصد مهار رشد استافیلوکوک طلايي، پ سودومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکس بیمارستانی در غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد به روش رقت آگار در جدول ۱ نشان داده شده است. هم‌چنین اثر عصاره‌های آبی و متانولی این گیاه بر روی میکروارگانيسم‌های بیمارستانی به ترتیب در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

۱- روش رقت آگار. پس از تهیه محیط کشت مولر هیتون آگار، ۱۰۰ ml از محیط کشت را داخل ارلن ریخته و مقادیر معینی از عصاره مورد نظر به محیط کشت اضافه شد تا درصد‌های مختلفی از عصاره در محیط کشت حاصل شود. همین عمل برای آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر انجام شد؛ ۱۵ ml از محیط کشت مخلوط شده با عصاره با غلظت‌های مختلف یا آنتی‌بیوتیک با غلظت‌های مختلف به داخل پلیت ریخته شد و پس از سرد شدن پلیت‌ها در گرم‌خانه، جهت اطمینان از عدم آلودگی در حین کار به مدت ۲۴ ساعت (برای باکتری‌ها) و ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه (برای قارچ‌ها) گذاشته شد. پس از اطمینان از عدم آلودگی، میکروارگانيسم‌های مورد نظر (استاندارد و نمونه بیمارستانی) روی پلیت با آنس به روش زیگزاگ کشت داده شد و پلیت‌ها در گرم‌خانه به روشی که در بالا ذکر شد قرار گرفت و سپس نتایج، به‌صورت رشد یا عدم رشد بررسی گردید.

۲- روش دیسک. برای تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، ابتدا دیسک‌ها در غلظت‌های مختلفی از عصاره قرار گرفت؛ به‌طوری‌که به‌صورت یکنواخت، تمام دیسک‌ها داخل مایع خیس شود. پس از گذشت نیم ساعت، دیسک‌ها از مایع خارج و در داخل لامینار فلو خشک گردید و پس از توزین، میزان عصاره هر دیسک به‌دست آمد.

برای تهیه دیسک شاهد منفی، مراحل فوق فقط با حلال مورد استفاده برای رقیق کردن عصاره انجام شد. پس از این‌که میکروارگانيسم‌های مختلف روی پلیت کشت داده شد؛ دیسک‌های تهیه شده با فاصله مناسب روی محیط کشت قرار گرفت. در هر پلیت علاوه بر دیسک‌های عصاره، دیسک شاهد منفی و شاهد مثبت (آنتی‌بیوتیک استاندارد) نیز به‌کار رفت. سپس هاله عدم رشد، با کولیس اندازه‌گیری گردید.

۳- روش سيلندر. پس از تهیه محیط کشت و کشت میکروارگانيسم‌ها، سيلندر مورد نظر به فواصل ۲۴ mm از يك ديگر داخل پلیت گذاشته شد. در داخل هر پلیت ۷ سيلندر

جدول ۱. درصد مهار رشد استافیلوکوک طلائی، پseudomonas آئروژینوزا و کاندیدا آلیکنس بیمارستانی در غلظت‌های مختلف انی بیوتیک‌های

استاندارد به روش رقت آگار

کاندیدا	غلظت کلوتریمازول µg/ml	استافیلوکوک		پseudomonas	
		درصد مهار رشد	غلظت کلوگزاسپلین µg/ml	درصد مهار رشد	غلظت جنتامایسین µg/ml
۲۳	۱	۱۶	۲/۵	۳۰	۵
۵۴	۲	۶۲	۵	۴۰	۱۰
۸۴	۴	۷۲	۱۰	۵۰	۲۰

حداقل غلظت مهار رشد کلوگزاسپلین بر روی استافیلوکوک طلائی استاندارد ۱/۲۵ µg/ml، جنتامایسین بر روی پseudomonas آئروژینوزا استاندارد ۲/۵ µg/ml و کلوتریمازول بر روی کاندیدا آلیکنس استاندارد ۰/۵ µg/ml بود.

جدول ۲. درصد مهار رشد میکروارگانیسم‌های بیمارستانی در غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه خرزهره به روش رقت آگار

کاندیدا آلیکنس		پseudomonas آئروژینوزا		استافیلوکوک طلائی	
درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc	درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc	درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc
۰	۶	۰	۳	۰	۳/۵
۲۵	۸	۲۸	۴	۷۵	۴
۵۰	۹	۵۴	۵	۹۲	۴/۵
۸۴	۱۱	۸۰	۶	۱۰۰	۵
۱۰۰	۱۲	۱۰۰	۷		

حداقل غلظت مهار رشد عصاره آبی خرزهره بر روی استافیلوکوک طلائی، پseudomonas آئروژینوزا و کاندیدا آلیکنس استاندارد به ترتیب ۳، ۳/۵ و ۶ گرم در صد میلی‌لیتر بود.

جدول ۳. درصد مهار رشد میکروارگانیسم‌های بیمارستانی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه خرزهره به روش رقت آگار

کاندیدا آلیکنس		پseudomonas آئروژینوزا		استافیلوکوک طلائی	
درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc	درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc	درصد مهار رشد	غلظت عصاره g /100 cc
۰	۰/۰۶۲۵	۰	۰/۱۲۵	۰	۰/۰۶۲۵
۴۰	۰/۱۲۵	۲۵	۰/۲۵	۳۷	۰/۱۲۵
۵۰	۰/۵	۵۰	۰/۵	۵۰	۰/۲۵
۷۵	۱	۷۵	۱	۷۸	۰/۵
۸۵	۲	۱۰۰	۲	۸۸	۱
۱۰۰	۲/۵			۱۰۰	۲

حداقل غلظت مهار رشد عصاره متانولی خرزهره بر روی استافیلوکوک طلائی، پseudomonas آئروژینوزا و کاندیدا آلیکنس استاندارد ۰/۱۲۵ گرم در صد میلی‌لیتر بود.

در این پژوهش، اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره‌های آبی، متانولی و کلروفورمی گیاه خرزهره به سه

بحث

متانولی با غلظت کم‌تر نسبت به عصاره آبی، اثر ضد میکروبی و ضدقارچی بیش‌تری داشت (جداول ۳ و ۲) که با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، قابل مقایسه بود. در روش رقت آگار از هر میکروارگانیزم، ۵۰ گونه تهیه و در تمامی غلظت‌ها ۵ بار تکرار شد.

عصاره متانولی گیاه با غلظت ۰/۵ گرم در صد میلی‌لیتر اثری معادل با غلظت یک میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر کلوزاسپلین بر علیه استافیلوکوک طلائی ($Z=0/694$) و برابر با ۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر جنتامایسین بر علیه پseudomona آئروژینوزا از نظر مهار رشد از خود نشان داد ($Z=0/38$). هم‌چنین غلظت ۲ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره متانولی اثری برابر با ۰/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر از کلوتریمازول بر علیه کاندیدا آلبیکنس داشت ($Z=0/138$). حداقل غلظت مهار رشد عصاره متانولی خرزهره بر روی استافیلوکوک طلائی و کاندیدا آلبیکنس بیمارستانی ۰/۱۲۵ گرم در صد میلی‌لیتر بود که دقیقاً برابر با حداقل غلظت مهار رشد آن بر روی میکروب‌های استاندارد می‌باشد. بنابراین حساسیت میکروارگانیزم‌های پاتوژن و استاندارد به عصاره یکسان بود.

در حالی که حداقل غلظت مهار رشد این عصاره بر روی پseudomona آئروژینوزا بیمارستانی ۰/۲۵ گرم در صد میلی‌لیتر بود که بیش‌تر از حداقل غلظت مهار رشد آن بر روی گونه استاندارد می‌باشد؛ لذا برای مهار رشد پseudomona آئروژینوزا بیمارستانی غلظت بیش‌تری از عصاره لازم است، ولی برای مهار رشد پseudomona آئروژینوزا استاندارد غلظت کم‌تری مورد نیاز است.

حداقل غلظت عصاره آبی گیاه بر روی پseudomona آئروژینوزای بیمارستانی معادل ۴ گرم در صد میلی‌لیتر بود که باعث مهار رشد حدود ۲۸ درصد از باکتری‌های مورد مطالعه شد. این عصاره با غلظت ۵ گرم در صد میلی‌لیتر، موجب مهار رشد حدود ۵۴ درصد از پseudomona آئروژینوزای بیمارستانی شد که معادل اثر ۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر جنتامایسین بر علیه پseudomona آئروژینوزا می‌باشد. حداقل غلظت مهار رشد

روش سیلندر، دیسک و رقت در آگار بر روی میکروارگانیزم‌های استاندارد و بیمارستانی استافیلوکوک طلائی، پseudomona آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. میکروب‌های مورد استفاده از نوع گرم مثبت و گرم منفی می‌باشند، تا طیف اثر ضد میکروبی عصاره به راحتی مورد بررسی قرار گیرد. هدف از استفاده نمودن هر کدام از این میکروارگانیزم‌ها به دلیل بیماری‌هایی است که ایجاد می‌کنند؛ به طوری که استافیلوکوک طلائی، عامل ایجاد اکثر عفونت‌های چرکی حاصل از سوختگی‌ها است که انواع مقاوم به آنتی‌بیوتیک آن نیز روز به روز در حال افزایش می‌باشند. باکتری پseudomona آئروژینوزا نیز در بیماران با سیستم ایمنی ضعیف عامل بروز اغلب عفونت‌های بیمارستانی ناشی از گرم منفی‌ها می‌باشد. هم‌چنین قارچ کاندیدا آلبیکنس سبب بیماری کاندیدیازیس می‌شود، که از نظر بالینی دارای اهمیت بوده و ممکن است سبب ضایعاتی در دهان، واژن، پوست، ناخن‌ها و برونش شده و یا به صورت بیماری منتشر در آمده و باعث بروز سپتی‌سمی، آندوکاردیت و مننژیت شود [۲]. بنابراین اگر عصاره‌ای بر روی استافیلوکوک طلائی و پseudomona آئروژینوزا مؤثر باشد، شاید بتوان نتیجه گرفت که طیف اثر ضد میکروبی این عصاره وسیع است. هم‌چنین اثر ضدقارچی این عصاره بر روی کاندیدا آلبیکنس احتمالاً می‌تواند دلیلی بر طیف اثر وسیع این گیاه بر روی سایر قارچ‌ها نیز باشد. لذا با توجه به جداول، انتظار می‌رود که عصاره متانولی خرزهره احتمالاً طیف اثر ضد میکروبی و ضدقارچی وسیعی دارد.

نتایج نشان دادند که عصاره‌های گیاه خرزهره در روش‌های دیسک و سیلندر پلیت فاقد اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی می‌باشند. این مسأله احتمالاً به دلیل عدم قدرت انتشار مواد مؤثره عصاره‌های فوق در این روش‌ها است. فقط در روش رقت آگار عصاره‌های آبی و متانولی، اثر ضدقارچ و ضد میکروبی از خود نشان دادند.

در روش رقت آگار، عصاره کلرفرمی فاقد اثر ضد میکروبی و ضدقارچی بود ولی عصاره‌های آبی و متانولی هم اثر ضد میکروبی و هم اثر ضدقارچی از خود نشان دادند که عصاره

کشت هم احتمالاً می‌تواند از جمله عواملی باشد که موجب مهار رشد میکروارگانیزم‌ها شود. از آن جایی که روز به روز بر تعداد میکروارگانیزم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد مصرف در کلینیک اضافه می‌شود، لذا پیدا کردن جانسین مناسب برای این داروها با منشأ گیاهی شاید بتواند تا حدودی مشکل بروز گونه‌های مقاوم به دارو را برطرف نماید.

منابع

- [۱] ابوعلی سینا. قانون در طب. کتاب دوم، انتشارات سروش، ۱۳۷۰، صفحه ۳۰۷.
- [۲] راشد طاهره. باکتری‌های بیماری‌زای انسان (میکروبیولوژی). چاپ اول. مشهد: انتشارات اترک، ۱۳۶۴، صفحه ۱۰۵.
- [۳] زرگری علی. گیاهان دارویی. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۸، جلد اول، صفحات ۳۲-۲۹.
- [4] Al-Yahya MA, AL-Farhan AH, dam SE. Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of Citrullus colocynthis and Nerium oleander in rats. *Fitoterapia*, 2000 Aug; 71(4): 385-91.
- [5] Erdemoglu N, Kupeli E, Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharmacol*, 2003 Nov; 89(1): 123-9.
- [6] Gupta A, Joshi P, Jortani SA, Valdes R Jr, Thorkelsson T, Verjee Z, et al. A case of nondigitalis cardiac glycoside toxicity. *Ther Drug Monit*, 1997 Dec; 19(6): 711-4.
- [7] Jeong SE, Lee Y, Hwang JH, Knipple DC. Effects of the sap of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera, Noctuidae). *J Exp Biol*, 2001 Nov; 204(22): 3935-42.
- [8] Langford SD, Boor PJ. Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology*, 1996 May 3; 109(1): 1-13.
- [9] Pathak S, Multani AS, Narayan S, Kumar V, Newman RA. Anvirzel, an extract of *Nerium oleander*, induces cell death in human but not murine cancer cells. *Anticancer Drugs*, 2000 Jul; 11(6): 455-63.
- [10] Siddiqui BS, Sultana R, Begum S, Zia A, Suria A. Cardenolides from the methanolic extract of *Nerium oleander* leaves possessing central nervous system depressant activity in mice. *J Nat Prod*, 1997 Jun; 60(6): 540-4.
- [11] Singh D, Singh A. Piscicidal effect of some common plants of India commonly used in freshwater bodies against target animals. *Chemosphere*, 2002 Oct; 49(1): 45-9.
- [12] Smith JA, Madden T, Vijjeswarapu M, Newman RA. Inhibition of export of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) from the prostate cancer cell lines PC3 and DU145 by Anvirzel and its cardiac glycoside component, oleandrin. *Biochem Pharmacol*, 2001 Aug 15; 62(4): 469-72.
- [13] Zia A, Siddiqui BS, Begum S, Siddiqui S, Suria A. Studies on the constituents of the leaves of *Nerium oleander* on behavior pattern in mice. *J Ethnopharmacol*, 1995 Nov 17; 49(1): 33-9.

عصاره آبی خرزهره بر روی پسودومونا آتروژینوزای استاندارد، ۳ گرم در صد میلی‌لیتر بود. لذا پسودومونا آتروژینوزای استاندارد حساسیت بیش‌تری به عصاره داشت. رشد ۷۵ درصد از استافیلوکوک‌های طلائی مورد مطالعه در غلظت ۴ گرم در صد میلی‌لیتر محیط کشت مهار گردید که معادل اثر یک میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر کلوزاسیلین بر علیه استافیلوکوک طلائی می‌باشد. حداقل غلظت عصاره آبی خرزهره که باعث مهار رشد استافیلوکوک طلائی استاندارد شد ۳/۵ گرم در صد میلی‌لیتر بود، که در مقایسه با استافیلوکوک طلائی پاتوزن با غلظت کم‌تر عصاره، مهار رشد دیده شد. عصاره آبی گیاه با غلظت ۸ گرم در صد میلی‌لیتر، حدود ۲۵ درصد موجب مهار رشد کاندیدا آلیکنس بیمارستانی گردید که معادل اثر ۰/۱ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر کلوتریمازول بر روی کاندیدا آلیکنس می‌باشد. حداقل غلظت مهار رشد این عصاره بر روی کاندیدا آلیکنس استاندارد حدود ۶ گرم در صد میلی‌لیتر بود. این نتایج نشان دهنده حساسیت و پاسخ‌دهی بیشتر میکروارگانیزم‌های استاندارد در مقایسه با انواع بیمارستانی نسبت به عصاره‌ها می‌باشد. با توجه به نتایج مذکور می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه احتمالاً بر علیه استافیلوکوک طلائی و پسودومونا آتروژینوزا اثر ضد میکربی قابل توجهی دارد، ولی اثر ضدقارچی آن ضعیف‌تر از اثر ضد میکربی آن می‌باشد.

اثرات ضد میکربی هر گیاه بسته به زمان و محل جمع‌آوری و نیز قسمتی از گیاه که مورد استفاده قرار می‌گیرد تفاوت دارد؛ چرا که هر کدام از این موارد می‌تواند در میزان مواد مؤثره گیاه تأثیر داشته باشد [۳]. البته به‌طور قطع مشخص نیست که کدام ترکیب گیاه دارای این اثرات می‌باشد، لذا لازم است در صورت امکان فراکسیون‌های مختلف عصاره گیاه تهیه شده و بر روی هر کدام از این فراکسیون‌ها آزمایشات ضد میکربی تکرار شود. ایجاد فشار اسمزی حاصل از عصاره گیاه در محیط