Archive of SID

بررسی میزان مهارکنندگی عصاره الکلی دانه گیاه اسپند Peganum harmala بر روی گونه‌های کاندیدا و آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی

دکتر کامبیز دیبا[1]، محسن گرامی شعار[2]، دکتر میترا شربت خوری[3]، لیلی حسین‌پور[4]

تاریخ دریافت ۸۷/۱۰/۲۴، تاریخ پذیرش ۸۸/۰۷/۰۱

چکیده

پیش زمینه و هدف: با رجوع به مطالعات گذشته بر روی فعالیت ضدباکتری و ضدانگلی گیاه اسپند که در موارد سنتی و جدید مورد استفاده قرار گرفته است، ضرورت مطالعه جامع بر روی اثر ضدقارچی آن ایجاب می‌گردد. هدف این مطالعه تعیین حداقل میزان مهارکنندگی رشد عصاره الکلی گیاه اسپند بر روی مخمرهای جنس کاندیدا و کپک‌های آسپرژیلوس بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش کار: نمونه‌های مطالعه شامل گونه‌های کاندیدا و آسپرژیلوس جداسازی شده از نمونه‌های بالینی بودند. مقادیر حداقل غلظت مهار کننده در مقایسه با استاندارد مک فارلند رقیق شده ۰/۵ تعیین شد. برای تعیین حداقل غلظت کشنده عصاره حجم کوچکی از لوله‌های عصاره مجاور شده تست قبلی بر روی محیط‌های کشت جامد سابورود گلوکز آگار ۴ درصد تلقیح شد. مقدار حداقل غلظت کشنده عصاره با مشاهده اولین محیط کشت بدون رشد قارچ تعیین گردید.

یافته‌ها: مهار کننده گی عصاره بر روی گونه‌های کاندیدا تشخیص داده شد. بر اساس یافته‌های ما بیشترین اثر مهار کنندگی رشد بر روی گونه‌های کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا و کم‌ترین آن برگونه کاندیدا آلبیکانس تعیین شد. در همین راستا بالاترین اثر کشنده عصاره بر روی کاندیدا گلابراتا و بر کاندیدا آلبیکانس مشاهده گردید. ما نتوانستیم یک اثر مهارکننده و یا کشنده قابل ردیابی بر روی گونه‌های آسپرژیلوس را تعیین کنیم.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های ما عصاره الکلی دانه‌های اسپند فعالیت مهار کننده و کشنده قابل اندازه گیری بر روی مخمرهای کاندیدا نشان می‌دهد.

کلید واژه‌ها: گیاه اسپند، کاندیدا، مهارکنندگی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیستم، شماره چهارم، ص ۲۷۷-۲۷۱، زمستان ۱۳۸۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۹۶۹

Email: kadiba@umsu.ac.ir

مقدمه

پگانوم هارمالا (گیاه اسپند) یک گیاه بومی مناطق خشک مدیترانه شرقی تا شمال هند می‌باشد. البته این گیاه از آسیای مرکزی منشاء گرفته است ولی در حال حاضر در اکثر نقاط دنیا از جمله آفریقا، آمریکای شمالی، مکزیک و آمریکای جنوبی به‌صورت وحشی می‌روید. دانه‌های این گیاه غنی از کربوهیدرات، لیپید، پروتئین، املاح معدنی، آلکالوئیدها و اسیدهای آمینه می‌باشد، اسیدهای چرب مایع دانه اسپند عبارتند از: اسیداستئازیک، اسید لینولئیک، اسید پالمتیک، اسید لینولنیک و غیره. از اسیدهای چرب جامد گیاه می‌توان به اسید آراشیدونیک اشاره نمود. همچنین مواد استروئیدی اسپند شامل: بتا سیتوسترول، کرپتوژنین، لانوسترول می‌باشد و بالاخره آلکالوئیدهای دانه اسپند که حدود ۴ درصد وزن خشک دانه را تشکیل می‌دهند و دارای اهمیت فراوان صنعتی و پزشکی هستند، از این ترکیبات می‌توان هارمالین، هارمین، هارمالول و وازیسین را نام برد (۱). گیاه اسپند از قدیم الایام در کشورهای هند، مصر، ایران، حاشیه مدیترانه و نیز اسپانیا شناخته شده و مصارف دارویی داشته است. مردم عوام به مناسبت‌های مختلف دانه گیاه اسپند را در آتش می‌ریختند و دود می‌کردند تا از چشم زخم دشمنان مصون بمانند، بسیاری از پیشینیان اسپند را به‌صورت ضماد گرم در تقویت اندام‌ها و تقویت و سیاه کردن موها مورد استفاده قرار داده‌اند. ابن سینا، دانشمند

[1] استادیار قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

[2] مربی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

[3] استادیار انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان

[4] کارشناس ارشد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

www.SID.ir

Archive of SID

بزرگ ایرانی، اولین کسی بود که به خواص دارویی اسپند توجه زیادی مبذول داشته است. یکی از اولین مطالعاتی که به‌صورت اکادمیک بر روی خواص آلکالوئیدهای اسپند صورت گرفت، تحقیقات لوچنکو (۲) می‌باشد که اثرات درمانی گیاه اسپند را در بیماری‌های انگلی بررسی نمود. مطالعات دیگر توسط کانگ (۳) و راشان (۴) انجام گرفته است که به‌ترتیب خواص ضدویروسی و ضد کیست هیداتیک گیاه را گزارش نمودند. همچنین اثرات ضد توموری آلکالوئیدهای اسپند توسط لامچوری (۵) معرفی گردید. در ایران نیز مطالعات مسعود (۶) و رضائی (۷) خواص ضد انگلی عصاره اسپند را اثبات نمود .

اندیشه بررسی خواص ضد قارچی گیاه اسپند با توجه به اثبات اثرات این گیاه بر روی میکروب‌ها و انگل‌ها اتخاذ گردید. از آنجایی که قارچها در دهه‌های اخیر به‌عنوان عوامل میکروبی فرصت طلب عفونت-های خفیف و شدید در انسان و دام اهمیت شایانی یافته-اند و اخیراً مشکلات درمانی با داروهای ضد قارچی مانع معالجه بدون ضرر این دسته از عفونت‌ها شده‌اند، در این مقوله ضرورت پرداختن به خصوصیات ضد قارچی گیاهان مختلف احساس می‌گردد، چرا که همواره استفاده از گیاهان یا مواد استخراج شده گیاهی مقبولیت بیشتری در میان بیماران نسبت به داروهای سنتتیک به‌همراه دارد، همچنین در درمان اغلب عفونت‌های قارچی پوستی و مخاطی معمولا کاربرد داروهای متعدد تجویز می‌گردد و در برخی موارد نظیر کاندیدیازیس ولوواژینال مشکلات استعمال دارویی مشاهده شده است(۸). بعلاوه مقاومت به درمان در ارتباط با گروهی از عفونت‌های پوستی همچون عفونت‌های قارچی ناخن (۹) و درماتوفیتوزیس کف پا (۱۰) مشاهده شده است.

با توجه به اثرات ضد میکروبی و ضد انگلی پگانوم هارمالا چه در کاربردهای درمانی سنتی و چه در مطالعات علمی حاضر نیاز به بررسی‌های وسیع‌تر در زمینه اثرات دارویی این گیاه درحیطه قارچ‌شناسی و بر روی میکروارگانیزم‌های مخمری و کپکی وجود دارد. بررسی حاضر از جمله مطالعاتی است که در ایران کم‌تر بر روی اثرات ضد قارچی اسپند انجام شده است و هدف مطالعه این بود که تا حد ممکن میزان ممانعت از رشد عصاره الکلی دانه گیاه اسپند بر روی مهم‌ترین مخمرهای عامل عفونت‌های انسانی و همچنین تعداد محدودی از گونه‌های بیماری‌زای آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی تعیین گردد.

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع تجربی و در گروه پژوهش‌های بنیادی قرار می‌گیرد. نمونه‌های مورد بررسی شامل ۱۱۱ سویه بالینی از شش گونه کاندیدا بودند بیش از تعداد برآورد شده آماری مورد استفاده قرار گرفتند.

الف)تهیه عصاره

مقدار عصاره خام بدست آمده حدود ۱۱۰ گرم بود. مقدار ۱۰۰۰ گرم دانه اسپند تمیز شده از عطاری تهیه شد و در آسیاب برقی یا گریندر به‌صورت پودر هوموژن درآمد، سپس ۱۰ گرم از پودر را به دقت توزین نموده و در یک بالن ۲۵۰سی سی به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۹۶ درصد به مدت یک ساعت روی اجاق الکتریکی رفلاکس نمودیم. در طول رفلاکس از هم‌زن مغناطیسی جهت یکنواخت کردن محلول حاصل استفاده کردیم. پس از عمل رفلاکس بلافاصله محلول حاصله را به‌صورت گرم با کاغذ فیلتر صاف نموده و روی صافی را سه بار و هر بار با پنج میلی لیتر الکل ۹۶ درجه شست وشو نموده حاصل شست وشو را به محلول حاصل از صافی اضافه کردیم. در مرحله آخر صافی را در بن ماری تا حد خشک شدن و خارج شدن تمامی الکل تبخیر و باقیمانده را توزین نمودیم (۱۱).

ب) استرین‌های مورد مطالعه

استرین‌های مورد بررسی مطابق اهداف پژوهش از گونه‌های کاندیدا انتخاب شدند، این ارگانیزم‌ها از نمونه‌های بالینی ارجاعی به بخش قارچ شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران فراهم گردیدند. گونه‌های کاندیدا شامل: کاندیدا آلبیکانس، کاندیدا دوبلینسیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کفیر و کاندیدا پاراپسیلوزیس بود درضمن یک مطالعه جانبی مختصر بر روی چند گونه از قارچ رشته پاتوژن آسپرژیلوس با استفاده از گونه‌های استاندارد: آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نایجر انجام گرفت. شناسایی این گونه‌ها با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی برای کاندیداها: کروم آگار و کورن میل آگار و برای آسپرژیلوس‌ها مالت اکسترکت آگار و چاپک یست اکستراکت آگار انجام گرفت. در حالی‌که معیار تشخیصی مخمرها خواص بیوشیمیایی و فیزیولوژیک قارچ می‌باشد، در مورد آسپرژیلوس‌ها اختصاصات کشت و مورفولوژی میکروسکوپی مد نظر بود.

ج) تهیه سوسپانسین‌های قارچی

جهت بدست آوردن سوسپانسیون‌های یکنواخت یا همگن با نسبت یکسان از غلظت‌های قارچی، از یک معیار کدورت سنجی سنتی به‌نام استاندارد مک فارلند با درجه ۰/۵ استفاده گردید. این ماده حاوی باریوم کلراید و اسید سولفوریک می‌باشد. سوسپانسیون‌های تهیه شده با کدورت معادل استاندارد مک فارلند ۰/۵ برای گونه‌های کاندیدا تقریباً حاوی 10^5 سلول و برای آسپرژیلوس‌ها حدود 10^3 تخمین زده شدند (۱۲).

www.SID.ir

Archive of SID

د) تهیه رقت‌های سریال از عصاره خام الکلی اسپند

۱- روش سریال رقت در لوله: رقت‌های فرضی مورد نظر برای در بر گرفتن دامنه وسیع از غلظت‌های مختلف قارچ به‌صورت زیر انتخاب شدند: ۱/۱۲۸۰، ۱/۶۴۰، ۱/۳۲۰، ۱/۱۶۰، ۱/۸۰، ۱/۴۰و ۱/۲۰ برای تهیه رقت‌های مذکور، تعداد هفت لوله متوسط استریل در پوش دار حاوی یک میلی لیتر کشت مایع سابورود براث تهیه گردید. سپس رقت اولیه ۱/۱۰ با توزین ۱۰ گرم از عصاره غلیظ اسپند در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. از این رقت، یک میلی لیتر به اولین لوله سریال هر تست اضافه گردید، در این صورت رقت اولین لوله ۱/۲۰ بود و بدین ترتیب با انتقال یک میلی‌لیتر از هر لوله سریال به لوله بعدی و دور ریختن یک میلی‌لیتر از لوله آخر، رقت‌های سریال ۱/۲ کاهنده مورد نظر فراهم گردید.

۲- روش رقت سریال در آگار: در این روش پس از جوشاندن محیط کشت سابورود گلوکز آگار ۴ درصد در ارلن و استریل کردن آن در اتوکلاو قبل از سرد کردن و انجماد به‌میزان ۱۰ میلی لیتر به پلیت‌های هشت سانتی‌متری انتقال یافته سپس از رقت ۱/۱۰ قبلا تهیه شده یک میلی لیتر به پلیت اول و ۰/۵ میلی لیتر به پلیت بعدی و به همین ترتیب مقادیر ۱/۲ قبلی به تیتر بعدی اضافه شده بدین ترتیب سریال آگار دیلوشن تهیه گردید.

۳- مجاور ساختن سوسپانسیون‌های قارچی تهیه شده با رقت‌های عصاره

در شرایط آسپتیک به هر لوله حاوی رقت‌های مختلف عصاره 1ml از سوسپانسیون قارچی با کدورت استاندارد مک فارلند ۰/۵ افزوده شد. همچنین کنترل‌های مثبت و منفی به ترتیب با افزودن یک میلی لیتر از عصاره با رقت ۱/۲ ساخته شدند این روش برای مخمرها و رقت سریال در لوله بکار برده شد.

برای آسپرژیلوس‌ها به‌میزان یک لوپ از سوسپانسیون اسپوری در (۰/۲ درصد آگار و ۰/۰۵ درصد توئین۲۰) به هر پلیت در پنج نقطه جدا از هم تلقیح شده تنها در پلیت کنترل منفی هیچ تلقیحی صورت نگرفت و پلیت حاوی کنترل مثبت فاقد رقت عصاره بود. سپس کشت‌های مخمری در دمای $30^{\circ}C$ و کشت‌های آسپرژیلوسی در دمای $25^{\circ}C$ به‌مدت ۲۴-۷۲ انکوبه شدند.

و) تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی

پس انکوباسیون ۲۴ ساعته لوله‌ها از نظر ایجاد کدورت رشد مورد بررسی قرار گرفتند تعیین چشمی کدورت با مقایسه کدورت استاندارد مک فارلند انجام می‌گردید. بدین ترتیب که کدورت رشد بایستی بیشتر از کدورت استاندارد در نظر گرفته می‌شد و در مقابل عدم کدورت نشانه عدم رشد ارگانیزم و اثر موفق مهار کنندگی رشد عصاره بود.

ز) تعیین حداقل غلظت کشندگی

پس از تعیین MIC یا حداقل غلظت مهار کننده یا حداقل رقت لوله فاقد کدورت رشد یک لوپ از محتوای لوله‌های رقت به پلیت‌های حاوی کشت جامد انتقال یافته پس از ۷۲-۲۴ ساعت رشد مخمرها یا عدم رشد بررسی شد. و محیط کشت حاوی حداقل غلظت عصاره که فاقد رشد کلنی باشد. به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین گردید (۱۲).

یافته‌ها

بررسی اثر مهارکنندگی رشد و کشندگی عصاره الکلی دانه اسپند[1] بر روی شش گونه شناسایی شده از جنس کاندیدا و نیز سه گونه آسپرژیلوس در مدت زمان حدود یک سال در بخش قارچ شناسی دانشکده بهداشت و انستیتیو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. نتیجه اثردهی رقت‌های ۱/۱۰ تا ۱/۱۲۸۰ عصاره بر روی سوسپانسین‌های مخمری با کدورت استاندارد مک فارلند نیم در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. چنان‌که مشاهده می‌شود حداقل غلظت مهار کنندگی رشد عصاره در دامنه رقت‌های ۱/۴۰ تا ۱/۱۶۰ قرار گرفته است. گونه‌ای که بیشتر تحت تاثیر عصاره قرار گرفته است کاندیدا گلابراتا (MIC=0.0625 gr/dl) می‌باشد و کم‌ترین حساسیت گونه کاندیدا آلبیکانس (MIC=0.25gr/dl) نشان داده است.

همچنین مطابق داده‌های بدست آمده حداقل غلظت کشندگی عصاره بر روی استرین‌های کاندیدا در دامنه ۱/۸۰ تا ۱/۳۲۰ قرار گرفت که بالاترین اثر کشندگی عصاره در رابطه با گونه‌های کاندیدا گلابراتا و (MFC=0.0313gr/dl) کاندیا تروپیکالیس مطرح است و کم‌ترین اثر آن در غلظت ۱/۸۰ به گونه (MFC=0.125gr/dl) کاندیدا آلبیکانس نشان داده شده است (جدول۱).

به‌طور کلی ۱۱۱ ایزوله مخمری از گونه‌های کاندیدا آلبیکانس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کفیر، کاندیدا گلابراتا، کاندیا تروپیکالیس و کاندیدا دوبلینسیس از نمونه‌های ارجاعی به آزمایشگاه بدست آمد که همگی تحت تاثیر عصاره الکلی دانه اسپند قرار گرفتند. در تکمیل مراحل این پژوهش اثر زمان در تاثیر عصاره بر رشد مورد مطالعه قرار گرفت. بدین ترتیب که در روش رقت Broth پس از مجاور سازی رقت‌های عصاره و سوسپانسیون‌های مخمری در مدت زمان‌های دو ساعت، شش ساعت و ۲۴ ساعت انتقال به کشت‌های جامد SGA-4% صورت گرفت و نتایج میزان رشد کلنی‌ها پس از مدت زمان ۲۴-۷۲

[1] peganum harmala

www.SID.ir

Archive of SID

ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه اثر زمان دهی مجاورت عصاره با مخمرها در جدول شماره ۲ مشخصات و چنانچه مشاهده می‌گردد تغییر محسوسی در رشد قارچ پس از ۲۴ ساعت مجاورت عصاره با سوسپانسیون مخمری ملاحظه می‌گردد در حالی‌که مجاورت‌های دو ساعته و شش ساعته اثر کم‌تری در کاهش یا توقف رشد داشته اند (جدول ۲).

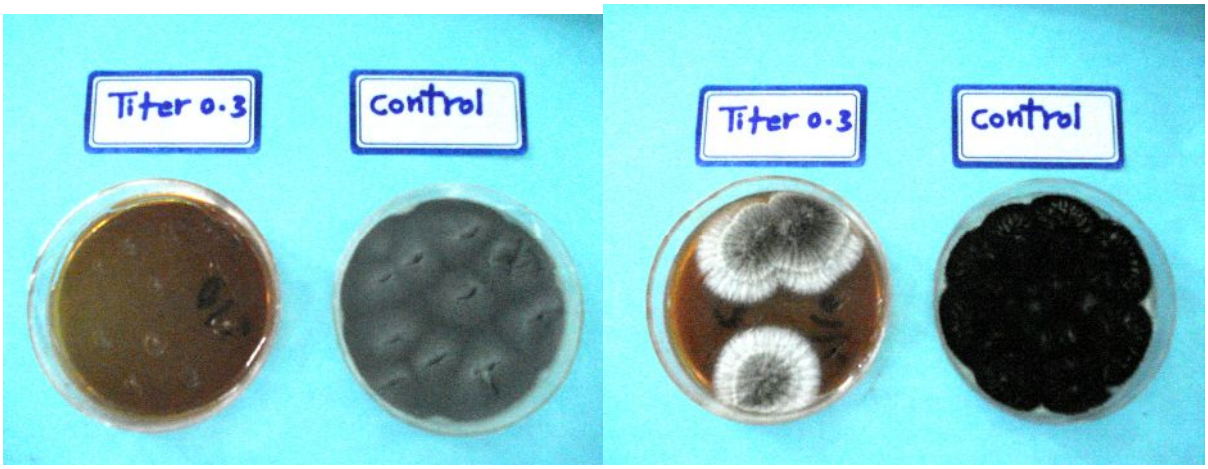
اثردهی رقت‌های مذکور عصاره بر روی چند گونه از قارچ آسپرژیلوس با روش رقت آگار نتایج متفاوتی را با توجه به تفکیک گونه‌ها در برداشت چنان‌که بر روی گونه هایآسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نایجر نتیجه به‌صورت عدم رشد قارچ مشخص گردید (شکل ۱). در صورتی که در مورد آسپرژیلوس فلاووس اثر عصاره به‌صورت تغییراتی در خصوصیات مورفولوژیک کلنی شامل رنگ، میزان اسپوزایی و قطر کلنی بسته به رقت عصاره قابل مشاهده بود(شکل ۲) بعلاوه تغییرات مورفولوژیک در خصوصیات میکروسکوپی این قارچها اثبات نگردید .

جدول شماره (۱): رقت‌های موثر مهار کننده وکشنده عصاره الکلی پگانوم هارمالا به تفکیک گونه‌های مخمری مورد بررسی

گونه‌های مخمری	تعداد ایزوله‌ها	رقت موثر مهار کننده	رقت موثر کشنده
کاندیدا آلبیکانس	۱۰۲	۱/۸۰	۱/۴۰
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۱۱	۱/۱۶۰	۱/۸۰
کاندیدا کفیر	۳	۱/۱۶۰	۱/۸۰
کاندیدا گلابراتا	۲	۱/۳۲۰	۱/۱۶۰
کاندیدا تروپیکالیس	۲	۱/۳۲۰	۱/۸۰
کاندیدا دوبلینسیس	۱	۱/۱۶۰	۱/۸۰

جدول شماره (۲): اثر زمان بر شدت کشندگی عصاره بر مخمرهای مورد بررسی

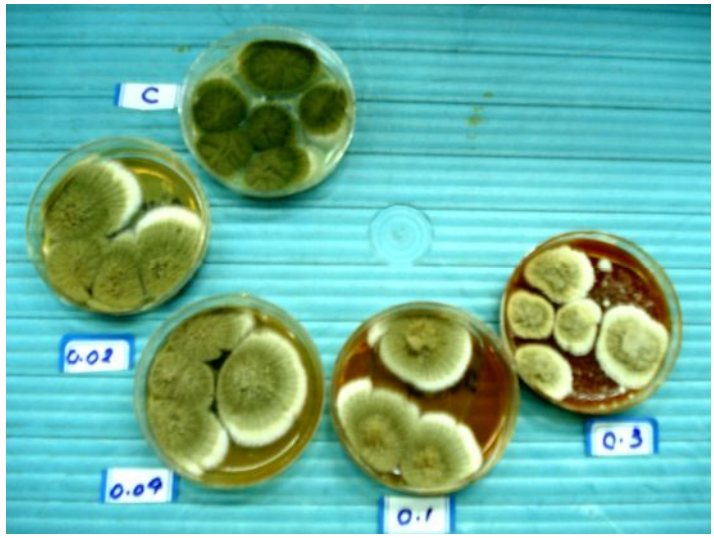
گونه کاندیدایی	تعداد سویه‌ها	رشد بعد از ۳ ساعت	رشد بعد از ۶ ساعت	رشد بعد از ۲۴ ساعت
کاندیدا آلبیکانس	۱۶	+	+	-
کاندیدا گلابراتا	۲	+	-	-
کاندیدا تروپیکالیس	۱	-	-	-
کاندیدا پاراپسیلوزیس	۱	-	-	-
کاندیدا کفیر	۱	-	-	-
کاندیدا دوبلینینسیس	۱	+	+	-



شکل شماره (۱): اثر عصاره الکلی اسپند در غلظت ۰/۳ گرم بر دسی لیتر روی گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نایجر بترتیب بصورت مهار و کاهش رشد مشاهده می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره (۲): اثر عصاره الکلی اسپند در رقت ۰/۳ گرم بر دسی لیتر روی گونه آسپرژیلوس فلاووس تنها بشکل کاهش اسپورولاسیون و تغییر رنگ کونیدی ملاحظه می‌گردد.

بحث و نتیجه‌گیری

دانه گیاه اسپند با وجود ترکیبات موثری چون آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین و هارمالول به‌عنوان یک گیاه با خولص درمانی از قدیم تاکنون مورد توجه قرار گرفته است. با وجود این‌که این گیاه بومی مناطق خشک مدیترانه شرقی و شمال هند می‌باشد ولی گسترش آن اکنون از آسیا مرکزی تا هند و مدیترانه و اکثر نقاط افریقا و آمریکای شمالی مکزیک و آمریکای جنوبی مشاهده می‌شود. ترکیبات استخراج شده از این گیاه خواص درمانی مختلف نشان داده‌اند. از جمله می‌توان خواص ضد التهابی ماده پیتولین بدست آمده از دانه اسپند اشاره کرد که توسط El-saud El-Rifai مطالعه شده است. وی اثرات ضد باکتری، ضد قارچی، ضد تب زایی و ضد انگلی عصاره اسپند را اثبات نمود (۱۳). اکثر مطالعات انجام شده بر روی خواص درمانی دانه اسپند در ارتباط با عفونت‌های انگلی انجام گرفته است. از اولین افرادی که در این زمینه گام‌هایی برداشتند می‌توان به لوچنکو اشاره کرد که در سال ۱۹۷۸ اثرات درمانی آلکالوئیدهای اسپند را درتیلریوز گاوی بررسی نمود (۲). همچنین کانگ و همکاران خواص درمانی دانه اسپند را به میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌های اکینوکوکوس گرانولوزوس بررسی نمودند. و اثر موفقیت آمیز آلکالوئیدهای آن را بر روی کیست هیداتیک مشاهده کردند (۳). ترکیبات مختلف دانه اسپند دارای خواص ضد انگلی و ضد میکروبی هستند از جمله ترکیب توتال آلکالوئیدهای اسپند که تاثیر درمانی آن بر روی گله گاو آلوده به انگل‌های بابزیا دیده شده است (۱۴)، اثرات ضد باکتری و ضد قارچی هارمالین که توسط Abdolfatteh (۱۵)گزارش شده است و همچنین خواص ضد التهابی ترکیب پینولین بدست آمده از دانه اسپند وترکیبات دیگر حاصل استخراج از دانه اسپند در حال بررسی می‌باشد.

اکثر مطالعات انجام شده در این زمینه به‌صورت invivo انجام شده است اما تعدادی از مطالعات پایه‌ای در شرایط invitro نیز مشاهده می‌گردد، از جمله می‌توان به مطالعه اخیر اشاره نمود که فعالیت ضد میکروبی دود حاصل از سوختن دانه‌های اسپند و همچنین عصاره شیمیایی گیاه را بر روی باکتری Staphylococcus epidermidis , و مخمر Cryptococcus neoformans بررسی نمود (۱۵). با توجه به این‌که مطالعات invitro ارزیابی دقیق و مشخصی از اثرات مهارکنندگی و کشندگی ماده موثره بر میکروارگانیزم می‌دهند و اثر تداخل عوامل فیزیولوژیک بدن میزبان بر روی واکنش دارو و میکروارگانیزم که در مطالعات invivo قابل مشاهده است در آن وارد نمی‌شود لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی دقیق خواص مهارکنندگی و کشندگی در محیط invitro انجام گرفت. در مطالعه حاضر فعالیت ضد قارچی عصاره الکلی گیاه اسپند بر روی شش گونه بیماری‌زای کاندیدا و نیز سه گونه سم آسپرژیلوس در شرایط invitro بررسی گردید. این مطالعه اثر مهار کنندگی رشد عصاره الکلی اسپند را به صورت کمی نشان داده است. چنانچه حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) به طور دقیق برای گونه‌های مورد آزمایش مخمری تعیین شده است. آنچه در این مقوله قابل ذکر

www.SID.ir

Archive of SID

می‌باشد این است که بررسی اثرات ضد رشد کاندیدا به تفکیک اجزاء ترکیبی عصاره خام بدست آمده از دانه گیاه اسپند گامی مهم‌تر به جلو برای پی بردن به خواص جزء به جزء این گیاه می‌باشد که البته به‌دلیل ضرورت امکانات تجزیه بیوشیمیایی و دارویی، در این مطالعه به آن پرداخته نشده است هرچند برای مطالعات بعدی نویسندگان این مقاله به عنوان یک هدف باقی خواهد ماند.

با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی حاضر پارامتر MIC برای کاندیدا آلبیکانس بیشترین و برای کاندیدا گلابراتا کم‌ترین مقدار را شامل می‌شود که با توجه به مقاومت دارویی بالایی که در مورد سویه‌های کاندیدا گلابراتا مشاهده شده است (۸) حساسیت مطلوب این قارچ به عصاره الکلی پگانوم هارمالا یک بستر مناسب برای تحقیقات بیشتر در زمینه یافتن داروی مناسب برای درمان عفونت‌های کاندیدیازیس با عامل کاندیدا گلابراتا به‌خصوص ولوواژینیت کاندیدایی ایجاد می‌نماید. در مطالعه ما مقدار MIC با توجه به گونه‌های مختلف کاندیدا رقم متغیر را شامل شد ولی مقدار میانگین این پارامتر gr/dl تعیین گردید. مقدار MIC برای گونه‌های کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کفیر، کاندیدا دوبلینینسیس و کاندیدا تروپیکالیس حدود۰/۱۲۵ گرم بر دسی‌لیتر و برای گونه کاندیدا گلابراتا در حدود ۰/۰۶۲۵ گرم بر دسی‌لیتر بدست آمد.

همچنین در این مطالعه گونه‌های آسپرژیلوس حساسیت کم‌تری را به عصاره الکلی اسپند نشان دادند به‌طوری‌که در مورد گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نایجر ممانعت از رشد تنها در رقت ۱۰ /۳ مشاهده گردید و برای آسپرژیلوس فلاووس مهار رشدی دیده نشد. هر چند در غلظت‌های بالای عصاره تغییراتی در مورفولوژی، رشد و اسپوزایی قارچ دیده شده است. در هیچ یک از مطالعات انجام شده توسط محققان دیگر عامل زمان تاثیر عصاره بر رشد مورد توجه نبوده است و تاکنون به احتمال زیاد گزارش از تاثیر زمان دهی در تاثیر عصاره بر رشد اورگانیزم قارچی مورد مطالعه نبوده است. اما در مطالعه حاضر عامل زمان به عنوان یک فاکتور موثر بر روی رشه مخمرها بررسی شده است که در این رابطه زمان‌های دو ساعت، شش ساعت و ۲۴ ساعت در تاثیر عصاره بر رشد اورگانیوم‌ها بررسی شده که مطابق نتایج‌ها زمان موثر برای تاثیر حداقل غلظت عصاره بر رشد ۲۴ ساعت بوده است و بین زمان‌های ۲۴ ساعت، شش ساعت و دو ساعت از نظر میزان گستردگی اختلاف دیده می‌شود.

References

1. Sharbatkori M. Study of cidal effect of alcoholic extract of Peganum harmala seeds on Echinococcus granulosus protoscolex. (Dissertation) Tehran University of Medical Sciences, 2007.
2. Leuchenko F. Comparative study of 3 chemotherapeutic preparations against natural theilerosis in cattle. Truday – Nauchno Issledovatel, Skogoverterinar Nogo-instituta. 1978; 8: 117-9.
3. Kang JF. In vitro cidal effect of 10 Chinese traditional herbs against Echinococcus granulosus proto scoliosis. Endemic dis-Bul, 1994; 9: 22-4.
4. Rashan LJ. In vitro antiviral activity of the aqueous extracts from the seeds of P. harmala. Fitoterapia 1989; 64: 365-67.
5. Lamchouri F. Anti tumor principles from Peganum harmala seeds. J Therapie 1999; 56: (6): 753-8.
6. Mahdavi M, Masuod J. Sculexicidal effects of alcoholic extract of Peganum harmala on Hidatid protosculex. J Med School 1381; 3: 215-26.
7. Rezaie D. Cidal effect of Peganum alkaloids on Immeria spp. (Dissertation) Tarbiat Modares University of Medical Sciences, 2006.
8. Sobel JD. Management of patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. Drugs 2003; 63(11):1059-66.
9. Zaini F, Mahbod S A, Emami M. Comprehensive Medical mycology. Tehran: Tehran University Press; 2005.
10. Sharbatkori M, Nateghpur M, Edrisian G. Cidal activity of Peganum harmala on Plasmodium falciparum and comparing with Chloroquine in vitro. J Urmia Med Sci Univ 2007; 7(2): 101-8.
11. Evans EGV. Medical mycology a practical approach. 1998. London: IRL Press; 235-59.
12. El-Saad El-Rifaei M. Peganum harmala: its use in certain dermatoses. Int J dermatol 1980; 19: 221-2.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Mirzaei M. Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant Peganum harmala. Korean J Parasitol 2007; 45: 267-71.
14. Abdel-Fattah AF, Matsumoto K, Gammaz HA, Watanabe H. Hypothermic effect of harmala alkaloid in rats: involvement of serotonergic mechanism. Pharmacol Biochem Behav 1995; 52: 421-6.
15. Shahverdi AR, Monsef-Esfahani HR, Nickavar B, Bitarafan L, Khodaee S, Khoshakhlagh N. Antimicrobial activity and main chemical composition of two smoke condensates from Peganum harmala seeds. Z Naturforsch 2005; 60: 707-10.

www.SID.ir