پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره 36، ویژه نامه 1، زمستان 1391، صفحات 19 تا 23

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی اثرمهاری عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه داری *(Scrophularia striata)* بر روی کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی

محمدرضا هواسیان[1] ، جعفر پناهی[1] ، ایرج پاکزاد[2*]، عبداله داودیان[3]،آناهیتا جلیلیان[4]، مونا زمانیان عضدی[5]

[1] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[2] مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[3] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[4] گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام
[5] مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *کاندیدیازیس مهم ترین بیماری قارچی در زنان واژینیت کاندیدایی میباشد. از زمان‌های گذشته تاکنون بطور سنتی از گیاه تشنه داری بصورت وسیع در مناطقی از استان ایلام برای درمان انواع مختلف عفونت ها استفاده شده است، هدف از این مطالعه تعیین اثر مهاری عصاره الکلی و آبی گیاه تشنه داری بر روی کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی میباشد.*

روش بررسی: *تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. گیاه تشنه‌داری را پس از جمع آوری در محیطی گرم، خشک و کم رطوبت به دور از نور مستقیم و درسایه خشک شد. تهیه عصاره هیدروالکلی با استفاده از دستگاه عصاره گیری انجام گرفت، تاثیر عصاره به روش دیسک دیفیوژن و انتشار در آگار با تعبیه چاهک غلظتهای 10، 20، 40، 80 و 100 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره های هیدروالکلی به مقدار 20µl بر روی هر دیسک استاندارد BLANK DISC و روش انتشار در آگار (تعبیه چاهک) در غلظت‌های 10 ، 20 ، 40 و 80 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره هیدروالکلی به مقدار 30µl در هر چاهک 3 بار مورد آزمایش قرار گرفت.*

یافته‌ها: *نتایج قرائت شده در زمان های24 و 48 ساعت پس از کشت در دمای37 درجه سانتی گراد حاکی از بی اثر بودن عصاره الکلی و اثر ضعیف عصاره آبی بر روی کاندیدا بود.*

نتیجه‌گیری: *با مشاهده بی تاثیری عصاره الکلی این گیاه میتوان گفت که عصاره الکلی حاوی ترکیبات ضد قارچی نمی باشد. اما عصاره آبی این گیاه در بالاترین غلظت دارای اثر مهاری ضعیفی بوده که ناشی از وجود ترکیبات موثر در گیاه مبی باشد. پیشنهاد می شود از عصاره فنولی این گیاه در مطالعات دیگر استفاده شود.*

واژگان کلیدی: *عصاره هیدروالکلی ، تشنه داری(Scrophularia striata) ، کاندیدا آلبیکنس.*

مقدمه

گستردگی بیماری های قارچی فرصت طلب در افـراد مسـتعد ازیک سو و افزایش روز افزون مقاومت‌های دارویی و اثرات سوء آن از طرفی دیگر موجب اهمیت در زمینـه بررسـی آثـار ضـد قارچی گیاهان شده اسـت (1). درمـان‌هـای سـنتی ارزانتـر و مؤثرتر از درمانهای مدرن می باشند و در واقع در جوامعی کـه از گیاهان داروئی استفاده می کنند خطر کسب عفونت‌های بـا عوامل پاتوژن مقاوم کمتر است. از دیرباز در مناطق غربی ایران

آدرس نویسنده مسئول: ایلام، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دانشکده پزشـکی، مرکـز تحقیقـات میکـروب شناسی بالینی، دکتر ایرج پاکزاد (**e-mail:** pakzad_i2006@yahoo.com)

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

برای درمان عفونت واژنیال از عصاره گیاهی مختلفی استفاده می‌کردند، در این بین از گیاه تشنه داری هم استفاده شده است. گیاه تشنه داری با نام علمی (*Scrophularia striata*) از تیره گل میمون که در مناطق غربی ایران رشد میکند، در این مطالعه از تمامی قسمت های گیاه از جمله ساقه و ریشه استفاده شده است. مخمر کاندیداآلبیکنس *Candida albicans* ، فلور طبیعی بدن است که در افراد سالم به ندرت باعث بیماری میشود اما به عنوان یک مخمر فرصت طلب در افراد مستعد از قبیل مبتلایان به ایدز و مصرف کنندگان آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و همچنین افرادی که پیوند عضو شده اند ایجاد عفونت می کند. اهمیت بیماری های ناشی از این مخمر ، علاوه بر ایجاد عفونت در افراد مستعد ، به بیماران ایدزی مربوط می شود که شاخص اصل ایدز در آنها، کاندیدیازیس (*Candidiasis*) مری است (2). علاوه بر این گونه های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونت های خونی بیماران بستری شده در بیمارستان ها مطرح شده و موجب مرگ و میر 40 درصد از بیماران بستری در بیمارستان های امریکا شده است (3). کاندیدا آلبیکنس جزئی از فلور طبیعی سطوح مخاطی حفره دهانی ، دستگاه گوارش و واژن است. این قارچ در سطوح مخاطی کلونیزه می شود و بنابراین بیشتر عفونت های درون زاد از این ناحیه ایجاد می شود (5،4).

مقاومت های دارویی روزافزون این قارچ و افزایش دوز مصرفی داروهای متداول و به دنبال آن افزایش عوارض جانبی اثر داروها، موجب شده است تا امروزه بیشترین توجه به عواملی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی با عوارض جانبی خفیف معطوف شود (6-7-8). هدف از این مطالعه ، تعیین اثر مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه داری بر روی کاندیدا آلبیکنس ایزوله شده از نمونه های بالینی جدا شده از واژینیت های قارچی در شرایط آزمایشگاهی بر مبنای یافتن میزان کمترین غلظت مهارکنندگی از 90 درصد رشد قارچ (*MIC90: Minimum Inhibitory Concentration*) و کمترین غلظت کشندگی ضد قارچی (*MFC: Minimum Fungicidal concentration*) است.

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی انجام گرفت.

ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس: پس از نمونه گیری از واژن بوسیله سوآپ استریل و لوله فالکون توسط متخصصین زنان و زایمان، تعداد30 نمونه جدا شده به آزمایشگاه منتقل و بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (*SDA*) و سابورو دکستروز براث (*SDB*) با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده آماده شده بود کشت داده شدند. پس از رشد، از هر نمونه لام تهیه و نمونه های کاندیدایی طبق جداول استاندارد شناسایی و دوباره کشت داده شدند نمونه ها در دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (9).

عصاره آبی: تشنه داری را پس از جمع آوری در محیطی گرم، خشک و کم رطوبت به دور از نور مستقیم و درسایه خشک شد 30 میلی لیتر آب مقطر به 3 گرم پودر گیاه اضافه گردید و به مدت 24 ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. محلول مورد نظر جهت حذف ذرات بزرگتر دکانته و ذرات کوچکتر با عبور از صافی غشائی 0/45*pm* حذف گردیدند (روش نفوذی اصلاح شده). عصاره حاصل در مجاورت هوا به سرعت خشک شد و پودر خشک حاصل پس از وزن کردن در آب مقطر حل گردیده و به عنوان عصاره آبی مورد استفاده قرارگرفت.

عصاره الکلی: برای تهیه عصاره الکلی گیاه از روش خیساندن استفاده شد. در این روش 4 گرم پودر گیاه داخل ظرف شیشه ای تیره ریخته و به آن 500 میلی لیتر اتانول 80 درجه افزوده شد. بعد از 24 ساعت محتویات ظرف سانتریفوژ و رسوبات جدا گردید. با کمک دستگاه حذف حلال در خلاء در دمای 50 درجه سانتی گراد اتانول حذف شد و عصاره تغلیظ شده برای خشک شدن به مدت 24 ساعت در دمای 50 درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن کامل در فریزر 20- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

روش دیسک دیفیوژن: در این روش از دیسک های بلانک استفاده شد بدین صورت که طبق استاندارد مربوطه پس از شمارش دقیق قارچ ها و تهیه سوسپانسیون استاندارد با مقدار معین قارچ (2000 *cfu/ml*) آن را بر روی محیط منتقل و با استفاده از سواپ استریل بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت داده، و بر روی آن دیسک های بلانک قرار داده و مقدار 20 میکرو لیتر بر دیسک از غلظت های مختلف عصاره را بر روی آن ریخته و دیسک فلوکنازول را نیز همراه آن قرار داده شد. در این مطالعه از غلظت های 10- 20 - 40 - 80 – 100 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره الکلی و آبی استفاده شد.

روش انتشار در آگار: در این روش نیز از سوسپانسیون تهیه شده (2000 *cfu/ml*) بر روی محیط کشت سابورو بوسیله سوآپ کشت داده شد وپس از تعبیه چاهک هایی به قطر 5 میلی متر ته چاهک ها بوسیله محیط کشت در شرایط استریل

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

جدول 1– اثر مهاری عصاره آبی گیاه تشنه داری بر کاندیدا آلبیکنس

30 µl of Concentration mg/ml	Inhibition zone (10mm hole size)	Filter disk impregnated (20 µl of Concentration mg/ml)	
10 mg/ml	0 mm	200 µg/disk	0 mm
20 mg/ml	0 mm	400 µg/disk	0 mm
40 mg/ml	0 mm	800 µg/disk	0 mm
80 mg/ml	0 mm	1600 µg/disk	0 mm
100 mg/ml	9 mm	2000µg/disk	6 mm
Candida albicans ATCC 2091 , 100 mg/ml	8 mm	3/2mg/disk	7mm

بسته شد. در این چاهک ها 30 میکرولیتر غلظت های 10 - 20 - 40 – 80 و 100 میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره الکلی و آبی ریخته شد. بعد از کشت دادن وتعبیه چاهک وانتشار در آگار، محیط های کشت به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس نتایج حاصل در 24 و 48 ساعت پس از کشت قرائت وثبت شد. شایان ذکر است که در این آزمایش از سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس *ATCC 2091* استفاده شد. برای تعیین *MIC* و*MFC* نیز از روش براث ماکرو دایلوشن واز محیط کشت *BHI broth* استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج اثر مهاری عصاره آبی

نتایج به دست آمده گویای اثر مهاری بسیار اندک در بیشترین غلظت (100 میلی گرم بر میلی لیتر) یعنی در غلظت های 10 تا 80 میلی گرم بر میلی لیتر در روش انتشار در آگار و غلظت های 160 میکرو گرم بر دیسک تا 2000 میکرو گرم بر دیسک در روش دیسک دیفیوژن از عصاره بر روی نمونه هابود هاله عدم رشدی مشاهده نشد، اما قطر هاله در بالاترین غلظت به اندازه ای نبوده که بتوان در ادامه مطالعه *MIC* و *MFC* را تعیین کرد. این آزمایش برروی سویه های استاندارد نیز انجام گرفت که نتایج حاصل، مشابه نتایج فوق بود. نمونه-های کشت داده شده و همچنین نمونه استاندارد نسبت به داروی ضد قارچی فلو کنازول مقاوم بوده،ودیسک های حاوی این ماده برروی آنها هیچ گونه اثرمهاری نداشت، که این امر نشان دهنده مقاوم بودن آنها نسبت به این دارو می باشد (جدول 1).

نتایج حاصل از عصاره الکلی

غلظتهای 160 میلی گرم بر دیسک تا 320 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره الکلی به مقدار 25 و 35 میکرولیتر به ترتیب برروی دیسک استاندارد*Blank Disk* وچاهک ریخته شد که نتیجه بدست آمده گویای این امر بود که عصاره الکلی تشنه داری هیچ گونه اثر مهاری یر روی کاندیدا آلبیکنس ندارد.

بحث

با توجه به سیر روز افزون ابتلا به بیماری های قارچی در افراد مستعد ازجمله مبتلایان به ایدز، افراد دیابتی، مصرف کنندگان آنتی بیوتیک های وسیع الطیف وافرادی که شیمی درمانی می شوند و از طرفی مقاومت دارویی اعم از ذاتی و اکتسابی، گرایش محققین را نسبت به مطالعه در زمینه داروهای گیاهی به دلیل تاثیر گذاری بهتر وعوارض جانبی کمتر افزایش داده است. در این تحقیق تاثیر مهاری عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه داری بر روی نمونه های کاندیدا البیکنس جداشده از نمونه های واژینیت مورد بررسی قرار گرفت. با وجود اینکه ترکیبات شیمیایی این گیاه تا کنون شناسایی نشده اما در زمینه داروهای گیاهی مطالعات فراوانی برروی کاندیدا آلبیکنس انجام شده است. تنها مطالعه ای که به بررسی ضد میکروبی گیاه تشنه داری را مورد بررسی قرار داده بود مربوط به عباسی و همکاران در سال 1383 است که اثر عصاره تشنه داری را روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در محیط آزمایشگاهی بررسی کرده و به اثر ضد باکتریایی آن که معادل بتادین است پی بردند (10). در مطالعه ای دیگر که توسط شرافتی چالشتری در سال 1387 بمنظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی (*scrophularia striata*) بر اشرشیا کلی انجام شد نشان داد که عصاره آبی گیاه گل میونی فاقد اثر مهاری بر اشرشیاکلی میباشد اما نتایج *MIC* و *MFC*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

عصاره اتانولی این گیاه بترتیب 90 و100 میلی گرم بر میلی لیتر بود (11). در مطالعه ای دیگر که توسط بهمنی در سال 1389 به منظور بررسی مقایسه اثر گیاه گل میمونی بیابانی (*Scrophularia deserti*) با آمفوتریسین *B* بر روی کاندیدا آلبیکنس انجام شد حداقل غلظت ممانعت از رشد سری اول و دوم عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی 59 درصد و 58 درصد و برای آمفوتریسین *B* به میزان 59 درصد مشخص شد (12). در مطالعه شرافتی چالشتری در سال 1388 که به منظور بررسی اثر ضد میکروبی و تعیین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی عصاره اتانولی گل میمونی (*Scrophularia striata*) انجام شد مقادیر *MIC* و *MFC* به ترتیب برابر با 90 و 100 گزارش شد (13). از آنجا که گیاه تشنه داری از تیره گیاه گل میونی است و محققین دیگر اثر ضدباکتریال نسبی آن را تایید نموده اند و آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده این تیره مشخص نموده است که حاوی ترکیبات ضد میکروبی می باشد. نتایج مطالعه حاضر حاکی از بی اثر بودن عصاره آبی و الکلی بر روی کاندیدا می باشد که نشان دهنده عدم وجود ترکیبات ضد قارچی موثر در این عصاره می باشد. نتایج این مطالعه مانند مطالعات دیگر نشان داد که نوع عصاره می تواند در استخراج ترکیبات موثر این گیاه و سایر گیاهان مهم باشد (14). در نتایج حاصل از مطالعه خانم مدنی که به منظور مقایسه تأثیر انواع عصار ه های گیاه آلیوم جسدیانوم بر سویه های مختلف کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت نتایج نشان داد که عصاره اتانلی، متانلی، خیسانده و جوشانده آلیوم جسدیانوم هیچ گونه اثر ضد قارچی ندارند، اما فعالیت ضد کاندیدایی عصاره حاصل از دم کردن گیاه وشیرابه تغلیظ شده بر کاندیدا آلبیکنس، نتایج چشم گیری را به همراه داشته است (15). همچنین مطالعه محمدعلی نیز نشان دهنده اثرمهاری آویشن برروی کاندیدا بود که اثر مهاری این دو عصاره نسبت به عصاره آبی والکلی تشنه داری قابل مقایسه نیست و اثر مهاری این عصاره به مراتب کمتر از دیگر عصاره است (16).

با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه و عدم شناخت از ترکیبات موجود در گیاه تشنه داری میتوان ادعا نمود که احتمالا" عصاره الکی گیاه فاقد مواد موثره است. ترکیباتی که در عصاره آبی این گیاه وجود دارد میتواند دارای خاصیت ضد کاندیدایی ضعیفی باشد پیشنهاد میشود که مطالعاتی بر روی عصاره فنولی این گیاه انجام شود.

REFERENCES

1. Nasrolahi Z, Yadegari MH, Moazeni SM. Antifungal effect green tea polyphenols (Camellia sinensis) on Candida albicans. J Med Sci 2009; 12: 71-77.
2. Menon T, Umamaheswari K, Kumarasamy N, Solomon S, Thyagarajan SP. Efficacy of fluconazole and itraconazole in the treatment of oral candidiasis in HIV patients. Acta Trop 2001; 80: 151-54.
3. Panácek A, Kolár M, Vecerová R, Prucek R, Soukupová J, Krystof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against Candida spp. Biomaterials 2009; 30: 6333-40.
4. Perumal P, Mekala S, Chaffin WL. Role for cell density in antifungal drug resistance in Candida albicans biofilms. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 2454–63.
5. Seneviratne CJ, Jin LJ, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Cell density and cell aging as factors modulating antifungal resistance of Candida albicans biofilms. Antimicrob Agents chemother 2008; 52: 3259-66.
6. 6- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev 2007; 20: 133–63.
7. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. Emerg Infect Dis 2004; 10: 14-19.
8. Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. Clin Infect Dis 2008; 46: 120-28.
9. Otang WM, Grierson DS, Ndip RN. Antifungal activity of Arctotis arctotoides (L.f.) O. Hoffm. and Gasteria bicolor Haw against opportunistic fungi associated with human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome. Pharmacogn Mag 2012; 8: 135-40.
10. Abbasi N, Abdi M, Azizi Jalilian F, Seifmanesh M. Antimicrobial effect of extracts of Scrophularia striata on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa and comparison with selective effective antibiotics [MD thesis]. Ilam: Ilam University of Medical Sciences; 2004. [In Persian]
11. Sharafati-chaleshtori F, Sharafati-chaleshtori R, Momeni M. Antimicrobial effect of ethanolic and aqueous extracts of Scrophularia striata Of E. coli in vitro. Journal of Ilam University of Medical Sciences 2010; 1: S32-37.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

12. Bahmani M, Ghorbani M, Momtaz H, Bahmani E, Rafieian M. The comparison of the in-vitro effects of Scrophularia deserti plant and amphotricin B on Candida albicans. Journal of Arak Medical University 2011; 13: 15-21.

13. Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Sharafati-chaleshtori A, Ashrafi K. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of Scrophularia striata. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2010; 1: S32-37.

14. Ghahfarokhi M, Sattari M, Yadegari MH, Gudarzi GHR, Saharkhiz MJ. Antifungal activity of essential oils and extracts Ajowan against clinical isolates Candida albicans resistant to fluconazole in vitro. Modares J Med Sci 2008; 1: 91-7.

15. Madani M, Khosravi A, Shirani M. Effects of plant extracts Allium jesdianum: the different strains Candida in vitro. Journal of Biological Science Lahijan 2009; 1: 63-71.

16. Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. In vitro antifungal effect of Thymus vulgaris essence on Candida albicans isolated from patients with oral candidiasis. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2011; 13: 44-52.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]