

A comparative survey in vitro effect of aqueous and alcoholic extracts of Sumac fruit on *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans*

Roghaye Allaedini Taleghani, Azar Sabokbar*, Zohreh Momeni

Department of Microbiology, karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran Sabokbar

Abstract

Aim and Background: Plants are a rich source of bioactive chemical compounds that play an important role in the prevention and treatment of infectious diseases. In this study, the ability of aqueous and ethanolic extracts of sumac (*Rhus coriaria*) fruit to inhibit the growth of *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* were investigated in vitro.

Material and methods: Extraction of sumac fruit was done by soaking and stirring with water and ethanol and its antimicrobial effects were evaluated by Broth microdilution method by determining the minimum inhibitory concentration (MIC).

Results: The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of ethanolic extract against *Trichomonas vaginalis* was 1.8 mg/ml and for aqueous extract was 3.55 mg/ml in 24 hours. No concentration of the aqueous extract of Sumac fruit was able to inhibit the growth of *Candida albicans*, while the ethanolic extract at 60 mg/ml inhibited the growth of *Candida albicans* after 24 hours.

Conclusion: Sumac fruit extracts can be considered as a potential alternative to chemical drugs in the treatment of *Trichomonas vaginalis* infections, but these compounds have not shown favorable antifungal results against *Candida albicans*.

Keywords: Sumac fruit, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*, Antimicrobial effects, Iau Science.

۱۱۵

Corresponding author:

Department of Microbiology, karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran Sabokbar

Email: sabokbar@kiaau.ac.ir

مطالعه مقایسه‌ای تاثیر عصاره آبی و الکلی

میوه سماق بر روی تریکوموناس واژینالیس و کاندیدا آلبیکنس

رقیه علاالدینی طالقانی، آذر سبکبار*، زهره مومنی

گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان منبع غنی از مواد شیمیایی فعال و یا مواد مغذی زیستی هستند که نقش مهمی در پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی دارند. در این مطالعه توانایی عصاره آبی و اتانولی میوه گیاه سماق (*Rhus coriaria*) در مهار رشد تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) و کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) در شرایط برون تنی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: عصاره گیری از میوه سماق به روش خیساندن و هم زدن توسط آب و اتانول ۹۶ درصد انجام و اثرات ضد میکروبی آن به طور کمی به روش رقیق سازی سریالی و با تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی اندازه گیری شد.

یافته‌ها: غلظت مهاری ۵۰ درصد (IC₅₀) عصاره الکلی در مقابل تریکوموناس واژینالیس برابر با ۱/۸ میلی گرم بر میلی لیتر و برای عصاره آبی، ۳/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر در ۲۴ ساعت بود. هیچ غلظتی از عصاره آبی میوه سماق توانایی ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس را نداشت اما عصاره الکلی با غلظت ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر رشد کاندیدا آلبیکنس را در مدت ۲۴ ساعت مهار کرد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های حاصل از میوه سماق می‌تواند به عنوان یک جایگزین بالقوه برای داروهای شیمیایی در درمان عفونت‌های حاصل از تریکوموناس واژینالیس به شمار آید اما این ترکیبات نتایج ضد قارچی مطلوبی در برابر کاندیدا آلبیکنس از خود نشان ندادند.

واژگان کلیدی: میوه سماق، کاندیدا آلبیکنس، تریکوموناس واژینالیس، اثرات ضد میکروبی، Iau Science

مقدمه

گیاهان مانند ریشه، ساقه، برگ، گل و یا میوه‌ها تجمع یافته و به وفور یافت می‌شوند. بسیاری از مواد شیمیایی گیاهی، به ویژه مولکول‌های رنگدانه دار، اغلب در لایه‌های خارجی بافت‌های مختلف گیاه متمرکز شده‌اند (۲). این ترکیبات، مواد مغذی ضروری برای حفظ زندگی گیاه نیستند اما دارای خواص مهمی هستند که گیاه را از آسیب در برابر شرایط سخت و استرس‌های محیطی محافظت می‌کند. در زمینه گسترش بیماری‌های مختلف و عفونت‌های نو پدید و مقاوم در سراسر جهان، جستجوی ترکیبات طبیعی جدید برای توسعه داروها بسیار مهم می‌باشد (۳). عصاره‌های گیاهی به دلیل ترکیبات منحصر به فرد خود دارای پتانسیل

ترکیبات شیمیایی گیاهی به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شناخته می‌شوند و دارای خواص زیستی مانند فعالیت آنتی اکسیدانی، اثر ضد میکروبی، تعدیل آنزیم‌های سم زدایی، تحریک سیستم ایمنی بدن، کاهش تجمع پلاکت‌ها، تعدیل متابولیسم هورمونی و خاصیت ضد سرطانی هستند (۱). این ترکیبات در قسمت‌های مختلف

نویسنده مسئول:

گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
پست الکترونیکی: sabokbar@kiaiu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۸

واژینیت‌های کاندیدیایی در حال حاضر از واژینیت‌های تریکومونایی و باکتریایی شایع‌تر می‌باشند. علامت بالینی خاصی ندارد و می‌تواند با علامتی مانند خارش، سوزش، ترشحات پنیری و مقاربت دردناک تظاهر نماید (۹). عوارض مرتبط با تریکومونیاژیس و کاندیدیازیس در زنان شامل زایمان زودرس، تولد نوزادان کم وزن، سقط جنین، پارگی زودرس کیسه آب، حاملگی خارج رحمی، اندومتريت^۷ پس از زایمان، سالپنژیت^۸، سرطان سرویکس و نازایی برگشت پذیر است و در مردان شامل التهاب پروستات، التهاب اپیدیدیم، اورتریت^۹ و حتی ناباروری است (۱۰). داروی انتخابی برای درمان بیماری تریکومونیاژیس و کاندیدیازیس مترونیدازول و تینیدازول است، اما در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر سرطان زا بودن این داروها و همچنین موارد مقاومت دارویی نسبت به مترونیدازول گزارش شده است. اینگونه موارد ضرورت یافتن داروی جایگزین را برای درمان مشخص می‌کند (۱۱). در این مطالعه، اثر مهارکنندگی عصاره آبی و الکلی میوه سماق بر روی کاندیدا/آلبیکنس و تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

روش کار

سویه تریکوموناس واژینالیس موجود در مرکز نگهداری سویه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و کاندیدا/آلبیکنس (ATCC 10231) از شرکت ژن پژوهان شمال تهیه شد.

تهیه عصاره آبی

عصاره آبی به روش خیساندن تهیه شد. بدین منظور، ابتدا مقدار ۵۰ گرم از میوه سماق آسیاب شده به صورت پودر در یک بشر ریخته و مقدار ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. بشر بر روی دستگاه شیکر حرارتی با دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از یکنواخت شدن محتویات، حرارت به ۱۰۰ درجه سلسیوس کاهش و پس از

زیستی، دارویی و درمانی گسترده‌ای هستند و توانایی مبارزه با طیف وسیعی از میکروب‌ها، آفات و حشرات را دارند (۲). گیاه سماق از جنس *Rhus* راسته افراسانان (*Sapindales*) و تیره پسته‌ایان (*Anacardiaceae*) دارای میوه‌هایی است که به رنگ سرخ و گوشت‌های نازک هستند و در انتهای شاخه‌ها خوشه‌های متراکمی تشکیل می‌دهند (۴). حدود ۱۹۱ ترکیب شیمیایی از میوه سماق توسط روش‌های کروماتوگرافی شناسایی شده است که در این بین ۷۸ ترکیب تانن‌های تجزیه پذیر^۱، ۵۹ ترکیب فلاونوئیدی^۲، ۹ ترکیب آنتوسیانین^۳، ۲ ترکیب ایزوفلاونوئیدی^۴، ۲ ترکیب تریپنوئیدی^۵، ۱ دی‌ترین^۶ و ۳۸ ترکیب دیگر هنوز نامشخص هستند (۵). میوه سماق به عنوان یک ترکیب کارآمد و مهم در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی توسط مطالعات متعددی بررسی و اثرات بالقوه ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است اما جهت استفاده گسترده تر از آن در صنایع مختلف، بررسی‌های بیشتری مورد نیاز است (۶). تریکومونیاژیس شایعترین بیماری غیر ویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است. این بیماری توسط تک یاخته بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس به وجود می‌آید. تظاهرات بالینی تریکومونیاژیس در زنان شامل طیف گسترده‌ای از علائم شامل التهابات شدید، خارش، ترشحات فراوان کف آلود، ترشحات موکوسی بد بو و سوزش ادرار است. تظاهرات بالینی در مردان نیز شامل سوزش هنگام دفع ادرار و داشتن ترشحات است. این تازکدار نقش بالقوه ای در ابتلا به عفونت‌های ثانویه مانند ویروس پاپیلوما‌ی انسانی دارد و بروز سرطان گردن رحم و بیماری التهاب لگن نیز در اثر عفونت با تریکوموناس واژینالیس است. میزان شیوع در زنان در بین جمعیت‌های مختلف بین ۵ تا ۷۴ درصد گزارش شده است و شیوع آن در ایران نیز بین ۲ تا ۱۵ درصد برآورد شده است (۷،۸). از سوی دیگر کاندیدیازیس یکی از مهمترین عفونت‌های ناشی از قارچ‌های فرصت طلب می‌باشد که علائمی مشابه با تریکومونیاژیس دارد. کاندیدا/آلبیکنس مسئول ۸۵ تا ۹۰ درصد عفونت‌های قارچی واژن است

⁶ Diterpene

⁷ Endometritis

⁸ Salpingitis

⁹ Urethritis

¹ Hydrolysable tannins

² Flavonoids

³ Anthocyanins

⁴ Isoflavonoids

⁵ Terpenoid

۲ ساعت وجود لوله زایا در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (۱۳).

بررسی کمترین غلظت مهار کنندگی (MIC^{۱۰}) عصاره آبی و الکلی سماق بر روی تریکوموناس واژینالیس

بررسی و تعیین MIC از روش رقیق سازی سریالی^{۱۱} و در غلظت‌های نهایی ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی و الکلی مورد بررسی قرار گرفت. از محیط کشت TYM همراه با انگل و بدون عصاره به عنوان کنترل منفی استفاده شد. هر غلظت عصاره در سه چاهک پلیت و هر آزمایش سه بار تکرار شد. برای محاسبه MIC، از پلیت استریل ۲۴ خانه استفاده گردید. ابتدا در تمامی چاهک‌ها به غیر از چاهک شماره ۲، ۳۰۰ میکرولیتر PBS اضافه شد. سپس عصاره مورد نظر با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر در چاهک دوم به میزان ۳۰۰ میکرولیتر اضافه گردید. ۳۰۰ میکرولیتر عصاره از چاهک شماره ۲ به چاهک شماره ۳ اضافه و پیتاژ شد و سپس از چاهک ۳ به ۴، از چاهک ۴ به ۵، و از چاهک ۵ به ۶ به همان صورت منتقل گردید و در نهایت ۳۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد. در مرحله بعدی، ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل TYM به همه چاهک‌ها اضافه و در انتها ۱۰۰ میکرولیتر از محیط حاوی انگل (با تعداد 6×10^5 در میلی لیتر) به همه چاهک‌ها اضافه گردید (جدول ۱).

پوشاندن بشر با فویل آلومینیومی، به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه شیکر حرارتی قرار گرفت. پس از جداسازی ناخالصی‌ها و ذرات نامحلول با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴ (Whatman, England)، عصاره با استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر (Whatman, England) استریل شد (۱۲).

تهیه عصاره الکلی

مقدار ۵۰ گرم میوه سماق آسیاب شده به صورت پودر در یک بشر ریخته و سپس مقدار ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد به آن اضافه شد. بشر بر روی هیتر با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و با استفاده از مگنت به خوبی مخلوط شد. سپس، بعد از گذشت یک ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و بر روی شیکر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، محلول با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴ صاف و درون پلیت شیشه‌ای ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت و سپس عصاره الکلی خشک شده در ۳۵ میلی لیتر آب مقطر استریل حل و با استفاده از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر استریل شد (۱۲).

تست لوله زایا

به جهت اطمینان کامل برای عدم آلودگی کاندیدا/آلبیکنس، یک لوپ استریل از کشت خالص برداشته و در ۵۰۰ میکرولیتر سرم جنین گاوی (ایده زیست نوترکیب، ایران) به خوبی هموزن شد. سپس سوسپانسیون حاصل در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری و پس از مدت

جدول ۱. شکل شماتیک مراحل انجام رقت سازی سریالی جهت بررسی کمترین غلظت مهار کنندگی عصاره آبی و الکلی سماق بر روی تریکوموناس واژینالیس. چاهک شماره یک به عنوان کنترل منفی می‌باشد.

مرحله		چاهک شماره ۱	چاهک شماره ۲	چاهک شماره ۳	چاهک شماره ۴	چاهک شماره ۵	چاهک شماره ۶
۱	PBS	۳۰۰	-	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰
۲	عصاره	-	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰
۳	محیط کشت TYM	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
۴	انگل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
	غلظت نهایی (میلی گرم بر میلی لیتر)	۰	۱۰	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۲۵

توسط میکروسکوپ معکوس مورد مشاهده شدند. MIC غلظتی از دارو یا عصاره است که انگل در آن غلظت هیچ

نمونه‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و به منظور محاسبه میزان MIC،

¹¹ Broth microdilution

¹⁰ Minimum inhibitory concentration

در هر یک از چاهک‌ها به غیر از چاهک شماره ۱۰ اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و بعد از این زمان به منظور محاسبه میزان MIC مورد بررسی قرار گرفتند. این مراحل برای عصاره الکلی نیز تکرار گردید (۱۵).

محاسبه میزان کمترین غلظت کشندگی (MFC^{۱۳}) عصاره آبی و الکلی سماق بر روی کاندیدا آلبیکنس

برای بررسی کمترین غلظت کشندگی (MFC) عصاره آبی و الکلی سماق بر روی کاندیدا آلبیکنس، چاهک‌های موجود برای محاسبه MIC بر روی محیط کشت ساپروکستروز آگار (ایپرسکو، ایران) کشت و برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. کمترین غلظتی که قارچ در آن رشد نکرده باشد به عنوان کمترین غلظت کشندگی در نظر گرفته می‌شود.

تاثیر آنتی بیوتیک تجاری فلوکلونازول بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس

از آنتی بیوتیک فلوکلونازول به عنوان مهمترین دارو جهت مقابله با کاندیدا آلبیکنس به عنوان کنترل و برای مقایسه با اثر عصاره آبی و الکلی سماق در غلظت‌های ۰.۳۲، ۰.۱۶، ۰.۰۸، ۰.۰۴، ۰.۰۲، ۰.۰۱، ۰.۰۵، ۰.۲۵ و ۰.۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد.

بررسی آماری

بررسی آماری نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism version 9 با استفاده از آزمون two way anova انجام شد. همچنین درصد بازدارندگی رشد به صورت زیر محاسبه گردید:

$$100 * \frac{\text{جذب نمونه-جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} = \text{درصد بازدارندگی}$$

تحركی نداشته باشد (۱۴). از آنتی بیوتیک تجاری مترونیدازول به عنوان داروی اصلی در درمان تریکوموناس واژینالیس در غلظت‌های ۰.۱، ۰.۵، ۰.۲۵، ۰.۱۲۵، ۰.۰۶۲۵، ۰.۰۳۱۲، ۰.۰۱۵۶ و ۰.۰۰۸۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر جهت مقایسه با کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره آبی و الکلی سماق استفاده شد.

محاسبه میزان کمترین غلظت مهار کنندگی عصاره آبی و الکلی سماق بر روی کاندیدا آلبیکنس

برای بررسی MIC ابتدا سوسپانسیونی از قارچ کاندیدا آلبیکنس با مقدار 2×10^6 CFU/ml با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر با طول موج ۵۳۰ نانومتر و ترانس‌میشن ۰.۷۷ در محیط RPMI (زیست ایده، ایران) به همراه MOPS^{۱۲} (مرک، آلمان) تهیه شد. برای محاسبه MIC در میکروپلیت ۲۴ خانه، ابتدا ۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط RPMI (2X) به چاهک اول اضافه گردید. در چاهک‌های ۲ الی ۱۲ نیز ۱۰۰۰ میکرولیتر محیط RPMI (1X) اضافه شد. سپس ۱۷۱۰ میکرولیتر از عصاره آبی سماق (غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به چاهک اول اضافه شد. پس از همگن کردن، ۱۰۰۰ میکرولیتر از چاهک اول به چاهک دوم، از چاهک دوم به چاهک سوم و به همین ترتیب تا چاهک نهم منتقل و در نهایت ۱۰۰۰ میکرولیتر از چاهک نهم دور ریخته شد. ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره آبی به چاهک شماره ۱۰ به عنوان کنترل منفی اضافه و پس از همگن کردن، ۱۰۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد. چاهک شماره ۱۱ به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. در چاهک شماره ۱۲، ۱۰۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه و سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد و در انتها نیز از سوسپانسیون قارچی با رقت ۰/۰۰۱ به مقدار ۱۰ میکرولیتر

¹³ Minimum fungicidal concentration

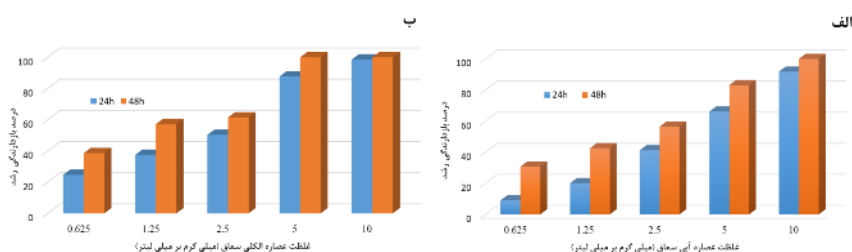
¹² 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid

نتایج

میزان بازدارندگی رشد عصاره آبی و الکلی سماق بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس

پس از شمارش اولیه تعداد انگل‌های تریکوموناس واژینالیس تحت تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره، درصد بازدارندگی رشد این عصاره محاسبه و مشخص شد که افزایش بازدارندگی رشد با افزایش غلظت عصاره رابطه مستقیم داشته و با افزایش غلظت، میزان بازدارندگی نیز افزایش می‌یابد.

غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی سماق در مدت ۲۴ ساعت به ترتیب حدود ۹، ۲۰، ۴۱، ۶۶ و ۹۱ درصد بر روی تریکوموناس واژینالیس اثر بازدارندگی دارند. این مقدار در زمان ۴۸ ساعت به ترتیب به ۳۰، ۴۳، ۵۶، ۸۳ و ۱۰۰ درصد افزایش یافت که اختلاف معناداری را در سطح ۹۵ درصد نشان داد ($p\text{-value} < 0/05$) (شکل ۱. الف). میزان بازدارندگی رشد برای عصاره الکلی به ترتیب حدود ۲۴، ۳۷، ۵۰، ۸۷ و ۹۸ درصد در ۲۴ ساعت بود. این مقدار در زمان ۴۸ ساعت به ترتیب به ۳۸، ۵۷، ۶۱، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد افزایش یافت که اختلاف معناداری را در سطح ۹۵ درصد نشان داد ($p\text{-value} < 0/05$) (شکل ۱. ب).



شکل ۱. مقایسه درصد بازدارندگی رشد عصاره آبی و الکلی سماق بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

سماق وجود دارد و عصاره الکلی تاثیر بیشتری در بازدارندگی رشد دارد ($p\text{-value} < 0/05$) (جدول ۲).

مقایسه اثر بازدارندگی رشد عصاره آبی و الکلی گیاه سماق بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس نشان داد اختلاف معناداری در میزان بازدارندگی رشد عصاره الکلی و آبی گیاه

جدول ۲. مقایسه میزان بازدارندگی عصاره آبی و الکلی میوه سماق بر روی تریکوموناس واژینالیس در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

درصد بازدارندگی				غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	p-value
ساعت ۴۸		ساعت ۲۴			
عصاره الکلی	عصاره آبی	عصاره الکلی	عصاره آبی		
۳۸/۶	۳۰/۶	۲۴/۶	۹	۰/۶۲۵	
۵۷/۱	۴۲/۶	۳۷/۵	۲۰/۱	۱/۲۵	
۶۱/۴	۵۶/۴	۵۰/۲	۴۱/۳	۲/۵	
۱۰۰	۸۳/۲	۸۷/۷	۶۶/۱	۵	
۱۰۰	۱۰۰	۹۸/۵	۹۱/۸	۱۰	
۰/۰۴۵		۰/۰۰۶			

بررسی اثر آنتی بیوتیک تجاری مترونیدازول در غلظت‌های ۰/۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲، ۰/۱۵۶ و ۰/۰۸۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس

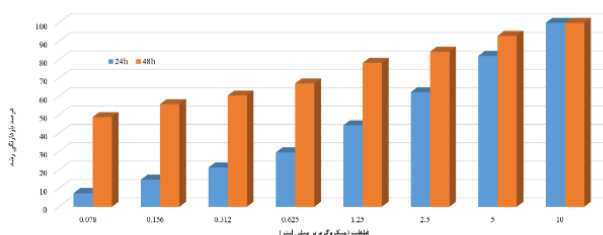
بررسی اثر آنتی بیوتیک تجاری مترونیدازول بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس

بررسی و مشخص شد کمترین غلظت کشندگی و مهار کنندگی آن ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. بررسی‌ها و مطالعات آماری مشخص کرد، غلظت مهاری ۵۰ درصد (IC50) این آنتی بیوتیک تجاری در ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۱/۳ و ۰/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. همچنین

مشخص شد که درصد بازدارندگی رشد مترونیدازول در ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معناداری با یکدیگر دارند ($p < 0.05$). جدول ۳ و شکل ۲ اثر بازدارندگی رشد مترونیدازول را بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس نشان می‌دهند.

جدول ۳. اثر بازدارندگی رشد مترونیدازول بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت

درصد بازدارندگی		غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	
۴۸/۷±۱/۵	۷/۱۴±۱/۱	۰/۰۷۸
۵۵/۸±۱	۱۴/۷±۱/۵	۰/۱۵۶
۶۰/۴±۱	۲۱/۳±۱	۰/۳۱۲
۶۷±۱/۵	۲۹/۵±۱/۵	۰/۶۲۵
۷۸/۲±۱/۱	۴۲/۳۵±۲/۵	۱/۲۵
۸۴/۳±۱/۵	۶۲/۳±۲/۰۸	۲/۵
۹۲/۹±۰/۶	۸۲±۰/۶	۵
۱۰۰	۱۰۰	۱۰
۰/۰۳۲	۰/۰۰۱	p-value



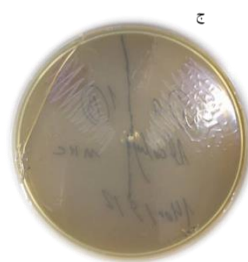
شکل ۲. نمودار حاصل از درصد بازدارندگی رشد غلظت‌های مختلف مترونیدازول بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت

رشد این قارچ شود اما عصاره الکلی در غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس را داشت. بررسی اثر کشندگی غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی محیط کشت ساپروکستروز آگار مشخص کرد که این غلظت علاوه بر مهار رشد قارچ توانایی از بین بردن آن را نیز دارد (شکل ۳).

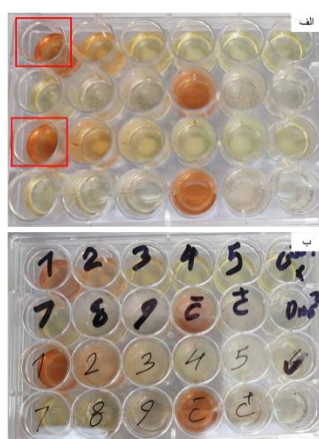
میزان بازدارندگی رشد عصاره آبی و الکلی سماق بر روی کاندیدا آلبیکنس

پس از کشت قارچ کاندیدا آلبیکنس در درون چاهک‌ها و با گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مشخص گردید که هیچ یک از غلظت‌های مورد آزمایش عصاره آبی نمی‌تواند مانع از

کنترل منفی شامل محیط کشت بدون



قارچ و کنترل



شکل ۳. بررسی بازدارندگی رشد عصاره الکلی میوه سماق بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس.

مثبت شامل قارچ و بدون عصاره است. الف) پلیت بررسی بازدارندگی رشد. چاهک حاوی غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشخص شده است. ب) مشخصات چاهک‌های شکل الف که چاهک شماره ۱ غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد ج) کشت چاهک حاوی ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره الکلی میوه سماق. عدم رشد قارچ به

منزله از بین رفتن آن توسط این غلظت از عصاره است. بررسی اثر غلظت‌های ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آنتی بیوتیک فلوکونازول بر روی کاندیدا/آلبیکنس مشخص کرد که غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این دارو توانایی از بین بردن تمام سلول‌های قارچی را در ۲۴ ساعت دارد. مقایسه آماری نتایج حاصل از آنتی بیوتیک تجاری و عصاره آبی و الکلی میوه سماق بر روی قارچ کاندیدا/آلبیکنس در سطح ۹۵ درصد مشخص کرد که اختلاف معناداری در اثر آنتی بیوتیک تجاری با عصاره‌های آبی و الکلی وجود دارد ($p < 0.05$).

بحث

درمان با مترونیدازول و فلوکونازول به عنوان مهمترین ترکیبات مورد استفاده در درمان تریکومونیاژیس و کاندیدیاژیس با عوارض جانبی زیادی همراه است و مقاومت دارویی به آن‌ها نیز در برخی موارد گزارش شده است. افزایش مقاومت به این داروها منجر به یک مشکل جدی در درمان این بیماری‌ها می‌شود. تریکومونیاژیس و کاندیدیاژیس به عنوان یکی از شایع ترین بیماری‌های

مقاربتی در انسان در نظر گرفته می‌شوند و بنابراین روش‌های موثر جدیدی برای درمان این عفونت‌ها مورد نیاز است (۱۶). عصاره سماق بیشتر به دلیل فعالیت ضد میکروبی خود قابل توجه است، اگرچه اطلاعات محدودی در مورد فعالیت ضد قارچی و ضد ویروسی آنها در دسترس است. در مطالعه‌ای توسط McCutcheon و همکاران مشخص شد، عصاره متانولی سماق وسیع‌ترین مناطق بازدارندگی را در یک سنجش دیسکی و هم وسیع‌ترین طیف بازدارندگی رشد را در برابر باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس^{۱۴}، کلبسیلا آئروژینزا^{۱۵}، اشیریشیا کولای^{۱۶}، کلبسیلا پنومونیه^{۱۷}، مایکوباکتر فلئوی^{۱۸}، سودوموناس آئروژینوزا^{۱۹}، سراسیا مارسنس^{۲۰} و استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین^{۲۱} را از خود نشان داد (۱۷). عصاره میوه‌های سماق استخراج‌شده با اتانول ۹۵ درصد طیف وسیعی از فعالیت ضد میکروبی را با مهار رشد باسیلوس سرئوس، سویه‌های مختلفی از اشیریشیا کولای، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس ولگاریس^{۲۲}، سودوموناس آئروژینوزا، شیکلا دیسنتریه^{۲۳}، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس^{۲۴}، استریپتوکوکوس پیوژنز^{۲۵}، انتروکوکوس فکالیس^{۲۶} و یرسینیا انتروکولیتیکا^{۲۷} با کمترین میزان مهارکنندگی در محدوده ۱۰ تا ۲۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بسته به گونه‌های باکتریایی نسبت داده شده، نشان دادند. تصور می‌شود، فعالیت ضد میکروبی مشاهده شده به تانن‌های موجود در عصاره مربوط است (۱۸). نتایج این مطالعه مشخص کرد که عصاره الکلی اثرات بازدارندگی بیشتری در برابر تریکوموناس واژینالیس دارد. عصاره الکلی میوه سماق در ۲۴ ساعت در غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب حدود ۲۴، ۳۷، ۵۰، ۸۷ و ۹۸ درصد بر روی تریکوموناس واژینالیس اثر بازدارندگی نشان داد در حالی که اثر بازدارندگی عصاره آبی

²² *Proteus vulgaris*

²³ *Shigella dysenteriae*

²⁴ *Staphylococcus epidermidis*

²⁵ *Streptococcus pyogenes*

²⁶ *Enterococcus faecalis*

²⁷ *Yersinia enterocolitica*

¹⁴ *Bacillus subtilis*

¹⁵ *Klebsiella aeruginosa*

¹⁶ *Escherichia coli*

¹⁷ *Klebsiella pneumoniae*

¹⁸ *Mycobacterium phlei*

¹⁹ *Pseudomonas aeruginosa*

²⁰ *Serratia marcescens*

²¹ Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*

درگیر با کاندیدیازیس دهانی جدا کرده و اثر مهارى رشد ۵ عصاره اتانولى گیاهان جمبو (*Syzygium cumini*)، سنا (*Senna siamea*)، زيتون تلخ (*Melia azedarach*) و خیار چنبر تلخ (*Momordica charantia*) را بر روی آن‌ها بررسى کردند. مشاهدات آن‌ها نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی برای عصاره همه گیاهان ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۲۲). در حالیکه در مطالعه پیشرو میزان MFC و MIC عصاره اتانولى میوه سماق ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و این تفاوت زیادى با مطالعه عصاره گیاهان فوق داشته است و نشان می‌دهد که عصاره اتانولى میوه سماق تاثیر گذارتر از گیاهان فوق می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در نتیجه این مطالعه می‌توان یاد کرد که تریکومونیاژیس و کاندیدیازیس به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مقاربتی در انسان در نظر گرفته می‌شوند و افزایش مقاومت به داروهایی مانند مترونیدازول و فلوکونازول منجر به یک مشکل جدی در درمان این بیماری‌ها شده است بنابراین روش‌های موثر جدیدی برای درمان این عفونت‌ها مورد نیاز است. میوه سماق با داشتن ترکیباتی از جمله آلکالوئیدها، تریپن‌ها، فلاونوئیدها، لیگنان‌ها، استروئیدهای گیاهی، کورکومین‌ها، ساپونین‌ها، ترکیبات فنلی و گلوکوزیدها، یک گیاه بالقوه برای درمان این عفونت‌ها به شمار می‌آیند. تاکنون هیچ عصاره گیاهی به عنوان داروی تایید شده برای درمان این دو عفونت معرفی نشده است و برای دستیابی به نتایج مطلوب در استفاده از گیاهان در درمان، به مطالعات دقیق و جامع‌تری نیاز است.

در این زمان و غلظت‌های مشابه به ترتیب حدود ۹، ۲۰، ۴۱، ۶۶ و ۹۱ درصد بود. Kashan و همکاران در سال ۱۳۹۳ اثر عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گل شمعدانی (*Pelargonium roseum*) بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند (۱۹). غلظت مهارى ۵۰ درصد (IC_{50}) عصاره آبی و الکلی گیاه گل شمعدانی بر روی رشد تریکوموناس واژینالیس پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۵۴/۶۷ و ۲۷/۶۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. غلظت مهارى ۵۰ درصد (IC_{50}) عصاره الکلی میوه سماق در مقابل تریکوموناس واژینالیس برابر با ۱/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره آبی، ۳/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت بود. Doddanna و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثر عصاره آبی و الکلی برگ چای، پیاز، نعنا، گل جاوید و آلوورا را بر روی کاندیدا آلبیکنس MTCC 183 بررسی و مشاهده کردند که تنها عصاره آبی برگ چای در بین عصاره‌های آبی خاصیت ضد کاندیدایی دارد. در عصاره‌های الکلی نیز همگی دارای اثرات ضد کاندیدایی بودند اما عصاره الکلی برگ گل جاوید بیشترین اثر را از خود نشان داد. غلظت تمامی ترکیبات در این مطالعه ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۲۰). عصاره آبی میوه سماق با غلظت ۶۰ میلی‌گرم هیچ تاثیری بر روی ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس نداشت اما عصاره اتانولی در غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی از بین بردن تمام سلول‌های قارچی را در ۲۴ ساعت داشت. مطالعات زیادى در رابطه با اثرات عصاره گیاهان مختلف بر روی کاندیدا آلبیکنس در ایران و خارج از ایران صورت گرفته است. نتایج Jahani و همکاران در سال ۱۳۹۶ نشان داد که عصاره متانولی گیاهان خوشاریزه (*Echinophora platyloba*)، اسپند (*Peganum harmala*)، گلپر (*Heracleum persicum*) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) دارای فعالیت ضد قارچی خوبی هستند که می‌توان از آن‌ها برای درمان عفونت‌های ناشی از این موارد استفاده کرد (۲۱). در حالی که مطالعه پیشرو عصاره اتانولی میوه سماق تنها با غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر بازدارندگی بر روی کاندیدا آلبیکنس را از خود نشان داد. Prabhakar و همکاران در سال ۲۰۰۸، ۳۵ جدایه کاندیدا آلبیکنس را از ۷۵ بیمار

منابع

1. Hussein RA, El-Anssary AA. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herb Med.* 2019;1:13.
2. Raof GF, Mohamed AW. Exploring the antiparasitic activity OF medicinal plants. *Pharm. Res.*, 2020;5(4):67-71.
3. Jamwal K, Bhattacharya S, Puri S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 2018;9:26-38.
4. Alsamri H, Athamneh K, Pintus G, Eid AH, Iratni R. Pharmacological and antioxidant activities of *Rhus coriaria* L.(Sumac). *Antioxidants.* 2021;10(1):73.
5. Grassia M, Sarghini F, Bruno M, Cinquanta L, Scognamiglio M, Pacifico S, et al. Chemical composition and microencapsulation suitability of sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit extract. *Eur. Food Res. Technol.*. 2021;247(5):1133-48.
6. Özcan M, Haciseferogullari H. A condiment [sumac (*Rhus coriaria* L.) fruits]: some physicochemical properties. *Bulg. J. Plant Physiol.*. 2004;30(3-4):74-84.
7. Van Gerwen OT, Muzny CA. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection. *F1000Research.* 2019;8.
8. Arbabi M, Delavari M, Fakhrieh-Kashan Z, Hooshyar H. Review of *Trichomonas vaginalis* in Iran, based on epidemiological situation. *J. Reprod. Infertil.*, 2018 Apr;19(2):82.
9. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2018;4(1):1-20.
10. Gharehbolagh SA, Fallah B, Izadi A, Ardestani ZS, Malekifar P, M. Borman A, Mahmoudi S. Distribution, antifungal susceptibility pattern and intra-*Candida albicans* species complex prevalence of *Candida africana*: A systematic review and meta-analysis. *PloS one.* 2020;15(8):e0237046.
11. Paladine HL, Desai UA. Vaginitis: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2018;97(5):321-9.
12. Saboora A ,Pourbarat F, FALLAH HH. Comparison of different extraction methods for optimizing antioxidant compounds in *origanum majorana* L. *JSSU.* 2014;21(6):693-704.
13. Kadry AA, El-Ganiny AM, El-Baz AM. Comparison of methods used in identification of *Candida albicans*. *Res. J. Pharm. Technol.*, 2018;11(3):1164-8.
14. Matini M, Bakhtiarnejad S, Dastan D, Maghsood AH, Fallah M. In-vitro efficacy of *Plantago lanceolata* L. extracts on *Trichomonas vaginalis* *J Arak Uni Med Sci.* 2017;20(6):74-82.
15. Gavanji S, Larki B. Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida albicans*. *Chin. J. Integr. Med.*. 2017;23(3):201-7.
16. Kashan ZF ,Delavari M, Arbabi M, Hooshyar H. Therapeutic effects of Iranian herbal extracts against *Trichomonas vaginalis*. *Iranian Biomedical Journal.* 2017;21(5):285.
17. McCutcheon A, Ellis S, Hancock R, Towers G. Antifungal screening of medicinal plants of British Columbian native peoples. *J. Ethnopharmacol.*. 1994;44(3):157-69.
18. Fazeli MR, Amin G, Attari MMA, Ashtiani H, Jamalifar H, Samadi N. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Cont.*. 2007;18(6):646-9.

19. F Kashan Z, Arbabi M, Delavari M, Hooshyar H, Taghizadeh M, Joneydy Z. Effect of *Verbascum thapsus* ethanol extract on induction of apoptosis in *Trichomonas vaginalis* in vitro. Infect. Disord. Drug Targets. 2015;15(2):125-30.
20. Doddanna SJ, Patel S, Sundarrao MA, Veerabhadrapa RS. Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans*: An in vitro study. Indian J Dent Res. 2013;401(4), 24.
21. Jahani S, Bazi S, Shahi Z, Asadi MS, Mosavi F, Baigi GS. Antifungal effect of the extract of the plants against *Candida albicans*. Int. J. Infect.. 2017;4(2).
22. Prabhakar K, Kumar LS, Rajendran S, Chandrasekaran M, Bhaskar K, Khan AS. Antifungal activity of plant extracts against *Candida* species from oral lesions. Indian J. Pharm. Sci.. 2008;70(6):801.