

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

حسن رخشنده*^۱(Ph.D)، محمد طاهر بروشکی^۱(Ph.D)، علی صادقیان^۲(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 میکروب‌شناسی

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 میکروارگانیسم‌های بیمارستانی و استاندارد از قبیل استافیلوکوک طلایی کوآگولاز مثبت، پseudومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس، به روش‌های سیلندر پلیت، دیسک و رقت آگار به کار رفت. میکروارگانیسم‌ها از محل‌های مختلف مانند خون، مدفوع، مایع نخاع، زخم، واژن، حلق و... نمونه‌برداری شدند. کلوزاسیلین، جنتامایسین و کلوتریمازول به عنوان 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 بیش تری 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 پseudومونا 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 پseudومونا 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 اولتاندین و دو ترکیب گلیکوزیدی به نام‌های نری‌ئین و تری‌آنتین می‌باشد. اولتاندین از برگ ولی نری‌ئین از پوست

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

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۵۱۱-۸۴۴۵۹۲۴، فاکس: ۰۵۱۱-۸۴۱۳۵۷۹، E-mail: hasrakhsh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۲/۶/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۹/۱۹

ساقه و برگ گیاه به دست می‌آید. برگ خرزهره دارای خاصیت مقوی قلب نظیر استروفاآتوس ولی با اثر کم‌تر می‌باشد. هم‌چنین اثر مدر نیز دارد که قوی‌تر از دی‌یتال 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 اسپرماتوژنز [۷]، اثر ضد التهابی و ضد درد [۵] و اثر سمی بر روی موجودات آبی [۱۱].

تاکنون بر روی اثرات ضد میکروبی 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، پسودومونا آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکانس به روش‌های سیلندرپلیت، دیسک و رقت آکار به کار رفت. نمونه‌های میکروبی از محل‌های مختلف مانند خون، مدفوع، مایع نخاع، زخم، واژن و حلق انتخاب شدند. انتخاب میکروارگانیسم‌های مذکور با توجه به این مسأله 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 مورد استفاده. متانول و کلروفرم از شرکت مرک، پودر جنتامایسین از شرکت داروپخش، پودرهای کلوزاسیلین و کلوتریمازول از شرکت پارس دارو، ویال‌های لئوفیلزیه میکرب‌های استاندارد شامل استافیلوکوک طلایی (PTCC 1112)، پسودومونا آئروژینوزا (PTCC 1430) و کاندیدا آلبیکانس (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 حقی‌الامکان حلال باقی مانده تبخیر شود. بدین ترتیب عصاره تهیه شده برای آزمایشات کنترل میکروبی 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.

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 آنتی بیوتیک استاندارد با غلظت مشخص افزوده شد.

به عنوان شاهد مثبت برای استافیلوکوک طلايي، کلوزاسيلين با غلظت ۲۵ میکروگرم در ميلي ليتر؛ برای پ سودومونا آئروژینوزا، جنتامایسین با غلظت ۱۵۰ میکروگرم در ميلي ليتر و برای کاندیدا آلبیکس، کلوتریازول با غلظت ۴۰ میکروگرم در ميلي ليتر 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، واژن و حلق تهیه شدند.

د- بررسی‌های آماری. جهت مقایسه نتایج به‌دست آمده از اثر عصاره‌ها با آنتی بیوتیک‌های 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 آنتی بیوتیک‌های 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 مولهینتون 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 آنتی بیوتیک‌های مورد نظر انجام شد؛ ۱۵ ml از محیط کشت مخلوط شده با عصاره با غلظت‌های مختلف یا آنتی بیوتیک 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 زیگراگ 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 (آنتی بیوتیک 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 آلبیکنس بیمارستانی در غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌های

استاندارد به روش رقت آگار

کاندیدا	غلظت	استافیلوکوک	غلظت	پseudomonas	غلظت
	کلوتریمازول µg/ml	درصد مهار رشد	کلوگزاسیلین µg/ml	درصد مهار رشد	جنتامایسین µg/ml
۳۳	۱	۱۶	۲/۵	۳۰	۵
۵۴	۲	۶۲	۵	۴۰	۱۰
۸۴	۴	۷۲	۱۰	۵۰	۲۰

حداقل غلظت مهار رشد کلوگزاسیلین بر روی استافیلوکوک طلائی استاندارد ۱/۲۵ µg/ml. جنتامایسین بر روی پseudomonas آئروژینوزا استاندارد

۲/۵ µg/ml و کلوتریمازول بر روی کاندیدا آلبیکنس 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 آلبیکنس		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 آلبیکنس 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 آلبیکنس		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 آلبیکنس استاندارد ۰/۱۲۵ گرم در صد

میلی‌لیتر بود.

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

بحث

متانولی با غلظت کم‌تر نسبت به عصاره آبی، اثر ضد میکروبی و ضد قارچی بیش‌تری داشت (جداول ۳ و ۲) که با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، قابل مقایسه بود. در روش رقت آگار از هر میکروارگانیسم، ۵۰ نمونه 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 کلوتریمازول بر علیه استافیلوکوک طلائی ($Z=0/694$) و برابر با ۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر جنتامایسین بر علیه پسودومونا 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 میکروارگانیسم‌های پاتوژن و استاندارد به عصاره یکسان بود.

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

حداقل غلظت عصاره آبی گیاه بر روی پسودومونا 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 پسودومونا آئروژینوزای بیمارستانی شد که معادل اثر ۲ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر جنتامایسین بر علیه پسودومونا آئروژینوزا می‌باشد. حداقل غلظت مهار رشد

روش سیلندر، دیسک و رقت در آگار بر روی میکروارگانیسم‌های استاندارد و بیمارستانی استافیلوکوک طلائی، پسودومونا 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 میکروارگانیسم‌ها 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 پسودومونا آئروژینوزا نیز در بیماران با سیستم ایمنی ضعیف عامل بروز اغلب عفونت‌های بیمارستانی ناشی از گرم منفی‌ها می‌باشد. هم‌چنین قارچ کاندیدا آلبیکنس سبب بیماری کاندیدایز 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 پسودومونا آئروژینوزا مؤثر باشد، شاید بتوان نتیجه گرفت که طیف اثر ضد میکروبی این عصاره وسیع است. هم‌چنین اثر ضد قارچی 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 ضد قارچی وسیعی دارد.

نتایج نشان دادند که عصاره‌های گیاه خرزهره در روش‌های دیسک و سیلندر پلیت فاقد اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی 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 ضد قارچ و ضد میکروبی از خود نشان دادند.

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

کشت هم احتمالاً می‌تواند از جمله عواملی باشد که موجب مهار رشد میکروارگانیسم‌ها شود. از آن جایی که روز به روز بر تعداد میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد مصرف در کلینیک اضافه می‌شود، لذا پیدا کردن جانشین 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 آئروژینوزای استاندارد، ۳ گرم در صد میلی‌لیتر بود. لذا پسودومونا آئروژینوزای 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 برعلیه 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 پاتوژن 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 آلبیکنس بیمارستانی گردید که معادل اثر ۰/۱ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر کلوتریمازول بر روی کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. حداقل غلظت مهار رشد این عصاره بر روی کاندیدا آلبیکنس استاندارد حدود ۶ گرم در صد میلی‌لیتر بود. این نتایج نشان دهنده حساسیت و پاسخ‌دهی بیشتر میکروارگانیسم‌های استاندارد در مقایسه با انواع بیمارستانی نسبت به عصاره‌ها می‌باشد. با توجه به نتایج مذکور می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه احتمالاً برعلیه استافیلوکوک طلائی و پسودومونا آئروژینوزا 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