

بررسی اثر عصاره پوسته تازه پسته در جلوگیری از رشد قارچ‌های درماتوفیت و ساپروفیت در شرایط آزمایشگاهی

سوگل کیوانی^۱، فیروزه سلامت^۱، دکتر مسعود امامی^۱، پروانه عدیمی^۲، دکتر غلامرضا امین^۳

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شمال، گروه میکروب شناسی

^۲ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، گروه قارچ وانگل

^۳ دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، گروه فارماکوتوزی

چکیده

سابقه و هدف: هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضد قارچی عصاره پوسته تازه پسته بر روی چند قارچ درماتوفیت و ساپروفیت شایع در ایران به منظور جایگزین کردن یک داروی گیاهی به جای داروهای شیمیایی موجود بود.

روش بررسی: بعد از جمع آوری نمونه‌های پوست پسته و خشک و پودر کردن آن، عصاره گیری به روش پرکولاسیون با حلال‌های متانول و n-هگزان انجام شد. سپس برای آگاهی از اثر ضد قارچی این ماده بر روی قارچ‌های مختلف *تریکوفایتون منتاگروفایتیس*، میکروسپوروم کانیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس و نیز تعیین MIC و MBC احتمالی، رقت‌های مختلف عصاره از ۳۰-۶۰۰ mg/ml بر روی هریک از قارچ‌های مورد آزمایش در محیط کشت اثر داده شد. حداقل غلظت مهار کننده و نیز حداقل غلظت کشندگی آنها در صورت امکان با دو روش *broth dilution* و *disc diffusion* تعیین گردید.

یافته‌ها: عصاره n هگزانی در روش *disc diffusion* بر روی هیچیک از قارچ‌ها نتیجه قابل توجهی نشان نداد، در حالی که در روش *broth dilution* رقت ۳۰ mg/ml باعث توقف رشد اپیدرموفایتون فلوکوزوم شد و MIC آن برای میکروسپوروم کانیس برابر ۴۵۰ mg/ml برآورد گردید. در مورد عصاره متانولی در روش *broth dilution* رقت ۶۰ mg/ml برای اپیدرموفایتون فلوکوزوم و *تریکوفایتون منتاگروفایتیس* و رقت ۲۴۰ mg/ml برای میکروسپوروم کانیس مهارکننده بود. در روش *disc diffusion* در اطراف عصاره خالص در *تریکوفایتون منتاگروفایتیس* هاله عدم رشدی در حدود ۱۷ میلی‌متر مشاهده شد، در حالیکه هاله اطراف سایر دیسک‌ها در حدود ۱ میلی‌متر بود. این عصاره‌ها فاقد اثر بر روی آسپرژیلوس نایجر بودند، اما در مورد کاندیدا آلبیکنس در ۱۲۰ mg/ml مهار رشد و در ۶۰۰ mg/ml اثر کشندگی نشان می‌دادند.

نتیجه‌گیری: عصاره پوسته تازه پسته دارای اثرات ضد قارچی متفاوت بر روی پنج قارچ مورد بررسی می‌باشد.

واژگان کلیدی: پوسته تازه پسته، درماتوفیت، ساپروفیت، اثر ضد قارچی.

مقدمه

از زمان‌های دور که انسان با بیماری‌های مختلف دست به گریبان بوده، همواره به معالجه آنها می‌اندیشیده و در این راه از مواد گوناگون به خصوص گیاهان مختلف بهره می‌جسته است. هر چند این مساله زمینه‌ای برای پی بردن به خواص

مختلف گیاهان شد، اما با گذشت زمان و افزایش اطلاعات بشر به تدریج داروهای سنتتیک جایگزین داروهای گیاهی شدند. امروزه با وجود برخی اثرات جانبی نامطلوب داروهای سنتتیک، به دلیل اثر سریع‌تر و کامل‌تر آنها بر روی بیماری‌ها نسبت به داروهای گیاهی، تلاش‌های زیادی در راه توسعه آنها انجام می‌شود. ولی باید این مطلب را به خاطر داشت که مواد سنتتیک به کاررفته در تهیه داروها غالباً یک معادل گیاهی دارند که می‌توان آن را از گیاهان دارویی استخراج نمود و

آدرس نویسنده مسئول: تهران، سعادت آباد، بلوار ۲۴ متری، خیابان اول شرقی، پلاک ۳، واحد ۴

سوگل کیوانی (email:sougolk81@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۸/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۰/۲۸

زمینه‌های مستعدکننده ابتلا یا اختلال در سیستم دفاعی میزبان دارند.

آسپرژیلوزیس گروه بزرگی از بیماری‌های قارچی است که توسط اعضای جنس آسپرژیلوس ایجاد می‌شود. بیماری ممکن است در اثر مسمومیت غذایی یا به سبب آلرژی در اثر استنشاق کونیدیاهای قارچ رخ داده و یا به صورت آسپرژیلوما (بیماری مهاجم التهابی گرانولوماتوز و نکروز دهنده) در ریه و سایر اعضا و به ندرت بیماری منتشر احشایی مشاهده گردد. نوع بیماری به شرایط موضعی و حال عمومی بیماری بستگی دارد، چون عوامل بیماری در همه جا موجود بوده و فرصت طلب هستند (۴).

در این تحقیق سعی بر آن بود که مطالعه بر روی شایع‌ترین عوامل عفونت‌زا در ایران صورت پذیرد، بنابراین قارچ‌های مورد بررسی عبارت بودند از: تریکوفایتون منتاگروفایتیس، میکروسپوروم کانیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم از درماتوفیت‌ها و آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس از ساپروفیت‌ها.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق که یک پژوهش تجربی بود اثر ضد قارچی عصاره‌های متانولی و n-هگزان‌ی تهیه شده از پوسته تازه پسته بر روی گونه‌های قارچی نام برده شده و تعیین حداقل غلظت و رقت مهارکننده هر عصاره برای هر یک از قارچ‌های تحت بررسی، مطالعه گردید.

تهیه عصاره‌های متانولی و n-هگزان‌ی

عصاره گیری به روش پراکولاسیون صورت گرفت به این ترتیب که پس از خشک و پودر کردن پوست پسته، مقدار معینی از آن را به همراه حلال مورد استفاده که یک مرتبه متانول و یک مرتبه n-هگزان بود در سه مرحله ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته در دکانتور ریخته شد. سپس محلول حاصله جمع آوری و بعد از قرار گرفتن آن در ظرف در حرارت محیط جهت پریدن حلال مصرفی، ماده باقی مانده که صمغ مانند بود به عنوان عصاره مورد آزمایش به دست آمد.

تهیه سوسپانسیون‌های قارچی استاندارد

از هر نمونه کلینیکی قارچ‌ها یک عدد از آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت دانشگاه تهران تهیه شد و بعد از چند بار پاساژ دادن آنها در محیط سابورو دکستروز آگار slant و خالص سازی کلنی‌ها در مورد درماتوفیت‌ها از کشت ۱۴-۱۰ روزه، برای آسپرژیلوس از کشت یک هفته‌ای و برای کاندیدا از کشت ۲۴ ساعته جهت تهیه سوسپانسیون استفاده شد. بدین صورت که مقداری آب

بهتر آنکه در درمان بیماری‌های قارچی که عامل آنها از انتشار جغرافیایی برخوردار است از گیاهان خاص و بومی همان منطقه استفاده گردد. به همین دلیل در این تحقیق بر آن شدیم تا با توجه به مصارف پوسته پسته در طب سنتی به عنوان درمان جهت ضایعات جلدی و مصرف آن توسط بومیان، به بررسی خواص ضد قارچی آن بپردازیم تا در صورت اثبات این خواص بتوان از آنها به عنوان داروی مناسب استفاده کرد (۳-۱).

یکی از گونه‌های مهم تیره پسته که در ایران می‌روید، درخت پسته با نام علمی *Pistacia vera* است. پسته درختی است دو پایه که ارتفاع آن در مناطق حاره به بیش از ۱۰ متر می‌رسد، اما در نواحی معتدله با ارتفاع کمتر و گاهی به صورت درختچه است. پوست میوه در ابتدا سبز، قرمز و نقطه دار است و به تدریج که میوه درشت تر می‌شود پوست هم تغییر رنگ می‌دهد (۱). یکی از ضایعات اصلی پسته پوست سبز رنگی است که روی پسته تازه وجود دارد و از آن جدا می‌شود.

درماتوفیت‌ها گروهی از قارچ‌های بیماری‌زا متعلق به خانواده مونیلیاسه هستند که عفونت‌های قارچی پوست و ضمایم آن (مو و ناخن) و یا به عبارتی کچلی‌ها را ایجاد می‌کنند. هرچند این نوع عفونت محدود به لایه شاخی غیرزنده می‌شود، ولی تغییرات پاتولوژیک متنوعی در میزبان به دنبال دارد که به دلیل حضور عوامل عفونی و محصولات متابولیک آنها می‌باشد.

درماتوفیت‌ها گروه بسیار متشابه و از نظر ساختاری نزدیک به هم از قارچ‌ها هستند که بیماری‌های بالینی بسیار متنوعی را ایجاد می‌کنند. این قارچ‌ها معمول‌ترین عوامل عفونی برای انسان هستند که هیچ جمعیت و منطقه جغرافیایی عاری از آنها نیست. این بیماری‌ها به دلیل وجود عوامل مستعدکننده زیادی از جمله بهداشت فردی در سراسر جهان انتشار فراگیر دارند. سه جنس شناخته شده که این عفونت را در انسان ایجاد می‌کنند، عبارتند از: تریکوفایتون‌ها، میکروسپوروم‌ها و اپیدرموفایتون‌ها که کلا دارای ۴۱ گونه و ۴ واریته‌اند.

درماتوفیتوزیس در ایران از شیوع بالایی برخوردار است و میزان شیوع آن در مناطقی که سطح بهداشت پایین‌تری دارند، بیشتر است. گونه‌های بارز مولد بیماری از منطقه‌ای به منطقه دیگر متفاوت است، بنابراین جهت درمان انواع کچلی در مناطق مختلف بهتر است از داروهای بومی موثر بر آن گونه‌های بیماری‌زا استفاده شود.

کاندیداها ارگانیسم‌های قارچی مخمری تک سلولی هستند که به وسیله جوانه‌زدن تکثیر می‌شوند. این قارچ‌ها در افراد سالم قادر به ایجاد بیماری نیستند و برای ایجاد عفونت نیاز به

شدن ۰/۹ میلی‌لیتر از آن به لوله‌های آزمایش حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های ۳۰-۶۰۰ mg/ml عصاره افزوده شد. T% لوله‌ها در ۵۳۰nm توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و بعد نمونه‌ها در حرارت مناسب به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. بعد از این مدت مجدداً T% ارزیابی شد. جهت حصول اطمینان از عدم آلودگی لوله‌ها با میکروارگانیسم‌های دیگر و نیز مطمئن شدن از نتایج به دست آمده و در صورت امکان تعیین MBC، ۰/۵ میلی‌لیتر از محتویات هر لوله در محیط PDA کشت داده و بعد از انکوباسیون‌های مناسب در حرارت ۳۵°C برای درماتوفیت‌ها و آسپرژیلوس نایجر و ۲۵°C برای کاندیدا/آلبیکنس بررسی شد. در اینجا هم کشت از لوله‌های شاهد حاوی حلال، فاقد عصاره و حلال بر روی پلیت PDA انجام گرفت (۸ و ۷).

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر این مطلب است که در روش دیسک‌گذاری در مورد هر پنج قارچ تحت آزمایش عصاره n-هگزانی در هیچیک از رقت‌های ۳۰-۶۰۰ mg/ml اثر قابل مشاهده‌ای نداشت و این در حالی است که در روش broth dilution رقت ۳۳۷ mg/ml آن باعث توقف رشد /پیدرموفایتون فلوکوزوم شد. حداقل غلظت مهارکننده برای قارچ میکروسپوروم کانیس ۴۵۰ mg/ml بود، اما این دوز اثری بر روی ترایکوفایتون متاگروفایتیس نداشت.

در مورد عصاره متانولی در روش دیسک‌گذاری، در مورد دو قارچ ساپروفیت یعنی کاندیدا/آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر اثر قابل ذکری مشاهده نشد در حالی که در روش broth dilution و در مورد کاندیدا/آلبیکنس؛ در رقت ۱۲۰mg/ml عصاره MIC و در رقت ۶۰۰mg/ml آن MBC به دست آمد. با این حال این عصاره در این روش هم بر روی آسپرژیلوس نایجر اثر ضد قارچی نداشت و تنها اسپورزایی آن را نسبت به نمونه شاهد کم کرد.

در روش دیسک‌گذاری در مورد قارچ میکروسپوروم کانیس بیشترین هاله مهار رشد به قطر ۲۰ میلی‌متر در اطراف دیسک ۶۰۰ mg/ml و کمترین هاله مهار رشد به اندازه ۱۳ میلی‌متر در اطراف دیسک ۳۳۷ mg/ml عصاره متانولی مشاهده شد، با این حال در اطراف دیسک‌های ۲۴۰-۳۰ mg/ml هیچگونه هاله‌ای مشاهده نشد.

در مورد دیسک‌گذاری عصاره متانولی برای قارچ ترایکوفایتون متاگروفایتیس بیشترین هاله مهار رشد به میزان ۲۰ میلی‌متر در اطراف دیسک ۶۰۰ mg/ml و کمترین هاله به اندازه ۸ میلی‌متر در اطراف دیسک ۱۲۰ mg/ml دیده شد. در روش

مقطر استریل به لوله‌ها افزوده شد و سپس سطح کلنی‌ها را توسط پیپت پاستور استریل خراشیده شده، مایع رویی در یک لوله استریل ریخته شد. در مورد درماتوفیت‌ها و آسپرژیلوس transmission آنها را در طول موج ۵۳۰ nm به ۶۵-۷۰٪ رساندیم و در مورد کاندیدا OD آن معادل با OD لوله ۰/۵ مک فارلند در نظر گرفته شد (۵).

محیط‌های کشت مصرفی

محیط‌های کشت مصرفی در روش دیسک‌گذاری شامل محیط‌های SDA و DTM آگار (هر دو متعلق به شرکت Merck) بودند.

در روش broth dilution محیط‌های مصرفی شامل محیط RPMI-1640 تهیه شده از آزمایشگاه بهارافشان، محیط سابورو دکستروز مایع شرکت Merck و محیط PDA (Potato Dextrose Agar) دست ساز بود.

روش‌های کشت

در روش دیسک‌گذاری، روش‌های مختلفی جهت دستیابی به یک کشت هماهنگ قارچی امتحان شد که در نهایت بهترین نتیجه، مربوط به روش افزودن سوسپانسیون قارچی به ارلن حاوی محیط کشت آماده شده طبق دستور شرکت سازنده و استریل شده توسط اتو کلاو با حدود ۳۵ درجه سانتیگراد و سپس shake کردن آن و ریختن محیط در پلیت بود. بعد از بستن محیط جهت بررسی اثر ضد قارچی عصاره، رقت‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۳۷، ۴۵۰ و ۶۰۰ عصاره با استفاده از حلال‌های متانول و n-هگزان تهیه شد و سپس از هر رقت به میزان ۵۰ میکرولیتر بر روی دیسک‌های کاغذی خام قرار داده شد (دیسک‌های کاغذی خام اولیه از شرکت پادتن طب تهیه شدند). پس از خشک شدن دیسک‌ها و پریدن حلال آنها، دیسک‌های آماده شده روی محیط کشت با رعایت فاصله مناسب از یکدیگر و از لبه پلیت جهت بررسی هاله عدم رشد قرار داده شدند. در اینجا علاوه بر دیسک‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره، دیسک‌های حاوی حلال مصرفی به تنهایی، عصاره خالص و دیسک حاوی ماده ضد قارچ کلوتریمازول هم به عنوان شاهد استفاده شدند. سپس پلیت‌ها در حرارت ۳۵ درجه به مدت ۷-۲ روز انکوبه شدند (۵و۶).

لازم به ذکر است که روش کشت کاندیدا به صورت کشت سطحی و مدت انکوباسیون ۲۴ ساعت در ۲۵ درجه بود. در روش broth dilution هم به ازای هر ۴/۵ میلی‌لیتر محیط مایع مصرفی که سابورو مایع برای کاندیدا و RPMI-1640 در مورد سایر قارچ‌هاست، ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی استاندارد به محیط اضافه و بعد از مخلوط

پلیت مربوط به MIC رشد نکند، MIC=MBC خواهد بود. در مطالعه حاضر، برای قارچ‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس و اپیدرموفایتون فلوکوزوم در رقت ۶۰ mg/ml عصاره متانولی MIC دیده شد، در حالیکه MIC برای میکروسپوروم کانیس در رقت ۲۴۰ mg/ml به دست آمد.



شکل ۱- دیسک گذاری روی SDA برای م. کانیس



شکل ۲- دیسک گذاری روی SDA برای ک. آلبیکنس



شکل ۳- MIC و MBC با روش broth dilution پس از کشت روی PDA برای ک. آلبیکنس
جدول ۱- هاله های دیسک گذاری روی محیط SDA برای درماتوفیت ها بر حسب میلی متر

عصاره متانولی پسته (رقت mg/ml)			
م. کانیس	ا. فلوکوزوم	ت. منتاگروفایتیس	
۶۰۰	-	۲۰	
۴۵۰	-	۱۶	
۳۳۷	-	۱۴	
۲۴۰	-	۱۰	
۱۲۰	-	۸	
۶۰	-	-	
۳۰	-	-	

دیسک گذاری برای قارچ اپیدرموفایتون فلوکوزوم هاله قابل ملاحظه‌ای در اطراف دیسک‌ها ایجاد نشد (کمتر از ۱ میلی متر). در روش دیسک گذاری برای کاندیدا آلبیکنس بیشترین هاله مهار رشد به میزان ۱۶ میلی متر در اطراف دیسک ۶۰۰ mg/ml و کمترین هاله به اندازه ۱۰ میلی متر در اطراف دیسک ۳۳۷ mg/ml مشاهده گشت.

در این تحقیق، به عنوان نمونه شاهد از دیسک استاندارد کلوتریمازول استفاده شد که هاله عدم رشد مربوط به آن ۱۲-۱۸ میلی متر بود. در نتیجه از آنجا که هاله‌هایی که ۸۰٪ نمونه کنترل بودند از نظر مهارکنندگی مثبت در نظر گرفته می‌شدند، کلیه رقت‌هایی که در آنها هاله‌هایی با اندازه ۱۴/۵ میلی متر یا بیشتر دیده می‌شد، به عنوان مهار کننده رشد عنوان می‌شدند. بنابراین در مورد میکروسپوروم کانیس، دیسک‌های ۶۰۰ mg/ml و ۴۵۰ mg/ml به ترتیب با هاله‌های مهار رشد ۱۷ و ۲۰ میلی متر، مهارکننده بودند. در مورد ترایکوفایتون منتاگروفایتیس دیسک‌های ۶۰۰ mg/ml و ۴۵۰ mg/ml به ترتیب با هاله‌های مهار رشد ۱۶ و ۲۰ میلی متر مهارکننده بودند و در مورد دیسک ۳۳۷ mg/ml هاله مهار رشدی معادل ۱۴ میلی متر مشاهده شد (جدول ۱).

درمورد کاندیدا آلبیکنس دیسک ۶۰۰ mg/ml با هاله مهار رشد ۱۶ میلی متر مهارکننده بود و در مورد دیسک ۴۵۰ mg/ml هاله مهار رشدی معادل ۱۴ میلی متر مشاهده شد (جدول ۲). لازم به ذکر است که از آنجاییکه ارزش هر کار تحقیقاتی به تکرار پذیر بودن آن است، ما هر یک از آزمایش‌ها را سه مرتبه تکرار کردیم و در هر سه بار هم مقادیر عددی نسبتاً یکسانی به دست آمد و ما میانگین آنها را در جدول‌ها ذکر کرده ایم.

در روش broth dilution، میزان transmission لوله‌ها قبل و بعد از انکوباسیون توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ nm سنجیده شد. در صورت رشد قارچ در لوله، کدورت ایجاد شده، در نتیجه میزان T% لوله نسبت به قبل کاهش می‌یافت اما چنانچه رقت عصاره موجود در محیط می‌توانست جلوی رشد قارچ را بگیرد، محیط شفاف‌تر شده و در نتیجه میزان T% لوله نسبت به قبل افزایش می‌یافت. لوله‌ای را که T% قبل و بعد از انکوباسیون آن تقریباً مساوی بود، به عنوان رقت MIC در نظر گرفته شد و جهت حصول اطمینان از عدم آلودگی محتویات لوله‌ها و نیز تعیین MBC احتمالی، از محتویات هر لوله میزان ۰/۵ میلی لیتر در پلیت PDA کشت دادیم. چنانچه قارچ در پلیت مربوط به لوله MIC رشد کند، MIC ≠ MBC است و باید برای تعیین MBC احتمالی جستجو در رقت‌های بالاتر انجام پذیرد. اما چنانچه قارچ در

جدول ۲- هاله های دیسک گذاری بر روی محیط SDA

برای کاندیدا آلیکس بر حسب میلی متر

ک. آلیکس	عصاره متانولی
۶۰۰	۱۶
۴۵۰	۱۴
۳۳۷	۱۰
۲۴۰	-
۱۲۰	-
۶۰	-
۳۰	-

بحث

هدف اصلی در انجام این تحقیق بررسی اثر ضد قارچی عصاره پوست تازه پسته بر روی عوامل عفونت زای شایع در کشور بود تا در صورت اثبات بتوان از آن جهت مصارف درمانی بهره گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق مبین این مطلب است که این عصاره در مورد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* به طور کلی فاقد اثر بوده و تحت هیچ شرایطی نتوانستیم اثر ضد قارچی آن را بر روی این قارچ به اثبات برسانیم. با توجه به نتایج حاصل از روش *broth dilution* به این یافته رسیدیم که عصاره متانولی پسته دارای اثر بسیار خوبی در مهار کاندیدا/آلیکس بوده و حتی در غلظت های بالاتر دارای اثر کشندگی بر روی این مخمر است و بنابراین می توان پس از انجام مطالعات بیشتر از آن در درمان ضایعات قارچی بهره جست.

نتایج به دست آمده بر روی سه درماتوفیت مورد آزمایش متفاوت بوده، اما به طور کلی می توان گفت که عصاره متانولی در رقت های مختلف دارای اثر مهاری بر روی هر سه درماتوفیت مورد بررسی می باشد. با توجه به بررسی های فیتوشیمیایی که بر روی عصاره متانولی انجام گرفت، معلوم شد که این عصاره حاوی مقادیر متفاوتی از آلکالوئید، تانن و مقادیر بالای فلاونوئید بوده، فاقد ساپونین است. بنابراین احتمال می رود که اثرهای ضد قارچی مشاهده شده مربوط به این ترکیبات یعنی آلکالوئید، فلاونوئید یا تانن باشد. اگرچه قبلاً گزارش هایی راجع به اثر ضد قارچی آلکالوئیدها ارایه شده است (۸)، اما جهت

اطمینان یافتن از اینکه این اثر دقیقاً مربوط به کدام ترکیب موجود در عصاره است، به بررسی های بیشتری نیاز خواهد بود. در گذشته تحقیقاتی بر روی اثر ضد قارچی عصاره پسته بر روی درماتوفیت های میکروسپوروم کانیس و *ترایکوفایتون منتاگروفایتیس* در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران انجام شده که حاکی از توقف رشد این قارچها توسط عصاره مذکور می باشد که نتیج به دست آمده از تحقیق ما با این نتایج مطابقت داشت (۵).

با توجه به نتایج به دست آمده، عصاره های به کار رفته در مطالعه ما نتوانست از رشد *آسپرژیلوس نایجر* جلوگیری کنند، اما به طور واضحی اسپورزایی آن را در مقایسه با نمونه شاهد کاستند که این نتایج با نتایج حاصل از اقدامات انجام شده در دانشگاه صنعتی شریف بر روی *آسپرژیلوس فلاووس*، همخوانی دارد (۹).

تحقیق حاضر در هر دو روش بر طبق استانداردهای ذکر شده در پروتوکل های NCCLS صورت پذیرفته است و این امکان وجود دارد که با کمی دستکاری در این روش ها بتوان به نتایج متفاوتی دست پیدا کرد. همچنین این امکان وجود دارد که ماده موثر ضد قارچی دیگری در پوست تازه پسته وجود داشته باشد که با این روش عصاره گیری و یا با استفاده از این حلال ها قابل استخراج نباشد، بنابراین با تغییر روش عصاره گیری یا تغییر حلال های مصرفی هم احتمال رسیدن به نتایج متفاوت وجود دارد.

نتایج به دست آمده همگی در شرایط آزمایشگاهی بوده و برای بهره جستن در مصارف درمانی نیاز به مطالعات عمیق تر بعدی بر روی سوش های دیگر و نیز تحقیقات *in vivo* می باشد و این تنها گام اول در جهت اثبات خاصیت ضد قارچی پوست پسته تازه است. بر طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، عصاره متانولی پوسته تازه پسته بر روی کاندیدا/آلیکس و درماتوفیت های *ترایکوفایتون منتاگروفایتیس*، میکروسپوروم کانیس و *اپیدرموفایتون فلوکوزوم* اثر ضد قارچی دارد، ولی روی *آسپرژیلوس نایجر* واجد اثر چندانی نیست. در نتیجه پس از انجام تحقیقات بیشتر می توان از آن در درمان بیماری های ناشی از این قارچها بهره جست.

REFERENCES

۱. وزارت جهاد کشاورزی. راهنمای پسته. تهران: سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، ۱۳۸۵.
۲. زرگری علی (مولف). گیاهان دارویی، چاپ چهارم، جلد اول. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۹.
۳. امین غلامرضا (مولف). متداول ترین گیاهان دارویی سنتی ایران. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۸۴.

۴. زینی فریده، سیدعلی مهبد امیر، امامی مسعود. قارچ شناسی پزشکی جامع، چاپ اول. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۷.
۵. اکرمی طهماسب. بررسی اثر ضد قارچی عصاره گیاه پسته بر روی درماتوفیت‌ها در *in vitro*. پایان نامه دکترا، تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، ۱۳۷۰.
6. Nic gabhainn S: The precision and robustness of published protocols for disc diffusion assay of anti microbial agents susceptibility. Aqua culture 2004; 240: 1-18.
7. Renault S. CAY-1, a novel anti fungal compound from cayenne pepper. Med Mycol 2003, 41:75-82.
8. Rojsanga P, Gritsanapan W, Suntornsuk L. Determination of berberine content in the stem extracts of *Coscinium fenestratum* by TLC densitometry. Med Princ Pract 2006; 15(5): 373-8.
9. Available from: URL: <http://www.isna.ir/main/NewsView.aspx?ID=News-271257> 7. NCC M27-A, M38-p