

مقاله اصلی

مقایسه اثر برون تنی ضد قارچی کرومولین سدیم، شربت زوفا، گیاه بارهنگ و صمغ بادام با داروی ضدقارچ وریکونازول بر روی کلنی آسپرژیلوس بدست آمده کشت از مایع برونکوالوئولار بیماران مبتلا به آسم (یک مطالعه پایلوت)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۰۷

خلاصه

مقدمه: قارچ‌ها و خصوصاً آسپرژیلوس‌ها به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده آلرژی و آسم هستند. از طرفی داروهای ضد قارچ بسیار گران و گاهی غیرقابل تحمل هستند. سوال این است که آیا مقایسه چند داروی سنتی با روی رشد کلنی آسپرژیلوس در مقایسه با وریکونازول اثر بهتری دارد یا خیر.

روش کار: نمونه برونکوالوئولار (BAL)، بیماران مشکوک به آسم که توسط پزشک به آزمایشگاه ارسال شده بود به روش اسمیر مستقیم و کشت آزمایش گردید. نمونه‌های مثبت روی محیط کشت که دارای غلظت‌های مختلفی از داروهای سنتی و یا وریکونازول بودند، پاساژ داده شدند. سپس قطر کلنی آسپرژیلوس در زمان‌های مختلف و با توجه به MIC اندازه گیری شد.

نتایج: به غیر از کرومولین سدیم که با غلظت (۱-۰/۵) $\mu\text{g/ml}$ استفاده شد و اثر مهار کنندگی ناچیزی داشت، بقیه داروهای سنتی مانند شربت زوفا (۰/۵-۰/۲۵) $\mu\text{g/ml}$ ، گیاه بارهنگ (۰/۱۲-۰/۵) و پودر صمغ بادام (۱-۰/۵) $\mu\text{g/ml}$ توانستند رشد کلنی آسپرژیلوس فلاووس جدا شده از بیماران مبتلا به آسم را تا حدودی مهار کنند. در حالیکه وریکونازول نسبت به بقیه داروها با غلظت بسیار پایین تری (۱-۰/۲۵) $\mu\text{g/ml}$ رشد آسپرژیلوس‌های یاد شده را بطور واضحی مهار کرد.

نتیجه گیری: آسپرژیلوس فلاووس گونه شایع جدا شده از مایع BAL در بیماران مشکوک به آسم قارچی می‌باشد. هر چند داروهای کرومولین سدیم، شربت زوفا، گیاه بارهنگ و صمغ بادام تا حدودی مهار کننده رشد آسپرژیلوس هستند ولی غلظت‌های آن‌ها از وریکونازول کمتر است.

کلمات کلیدی: کرومولین سدیم، شربت زوفا، گیاه بارهنگ و صمغ بادام، وریکونازول

علی ناصری^{#۱}

مجید میرصدرایی^{#۲}

معصومه سادات کابلی فرشچی^۱

حسین زرینفر^۱

آسیه فاطمی اسفدن^۱

عبدالمجید فتی^{#۱*}

^۱ گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه

علوم پزشکی مشهد

^۲ گروه داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

همتراز نویسنده اول: دکتر مجید میرصدرایی، گروه

داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

نویسنده مسئول: دکتر عبدالمجید فتی، استاد گروه انگل

شناسی و قارچ شناسی، آزمایشگاه مرکزی بیمارستان امام

رضا(ع)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

Email: Fataa@mums.ac.ir

مقدمه

قارچ‌ها و خصوصاً آسپرژیلوس‌ها به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده آلرژی‌ها و آسم هستند (۱). همچنین در عفونت‌های تنفسی و خصوصاً به شکل نفوذی در بافت ریه نقش دارند (۲). در بین گونه‌های آسپرژیلوس، گونه‌های فلاووس، فیومیگاتوس و نایجر بیشترین گونه‌هایی هستند که از مجاری تنفسی انسان جدا شده‌اند (۳). داروهای ضد قارچ که برای عفونت‌های قارچی تنفسی به کار می‌روند غالباً کمیاب و بسیار گران و حتی از نظر عوارض جانبی گاهی غیرقابل تحمل هستند (۴). استفاده برخی از این داروها موجب اشکال در تشخیص می‌گردد (۵). سوال این است که آیا استفاده از چند داروی سنتی روی رشد کلنی آسپرژیلوس در مقایسه با وریکونازول اثر بهتری دارد یا خیر. به همین منظور این مطالعه بصورت پایلوت با استفاده از چند داروی سنتی که غالباً توسط مردم برای عفونت‌های تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرند صورت گرفت و با هدف مقایسه آن با یک داروی ضد قارچ که در فارماکوپه دارویی ایران برای عفونت‌های تنفسی قارچی تجویز می‌شود در آزمایشگاه تحقیقاتی قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

روش کار: تعداد ۲۰ نمونه برونکوالوئولار لاواژ (BAL) که توسط پزشک متخصص داخلی ریه از بیماران مشکوک به آسم در شرایط استاندارد تهیه و در لوله‌های آزمایش استریل به آزمایشگاه ارسال شده بود به روش اسمیر مستقیم و کشت آزمایش گردید. ابتدا نمونه‌های دریافت شده بلافاصله پس از وصول در لوله‌های آزمایش در پیچ دار حاوی محیط کشت سابورو دکستروز آگار، حاوی نیم گرم در لیتر کلرامفنیکل (SC)، کشت داده شدند. سپس یک گستره مستقیم از هر نمونه بال دریافت شده نیز از نظر مشاهده عناصر قارچی تهیه و در زیر میکروسکوپ بررسی گردید. لوله‌های کشت داده شده در اینکوباتور ۲۵ درجه قرار داده شدند و هر روز بدون باز کردن درب لوله از نظر رشد کلنی قارچی بررسی می‌شدند. در صورت رشد کلنی قارچی نمونه‌ای از محیط کشت تهیه می‌شد تا به صورت میکروسکوپی گونه‌ای از آسپرژیلوس به روش

میکروسکوپی مستقیم مورد تایید قرار گیرد. چنانچه کلنی قارچی رشد کرده از نظر جنس آسپرژیلوس مثبت بود، آن کلنی برای ادامه آزمایش انتخاب و در اینکوباتور نگهداری می‌شد. در نهایت از گونه شایع تر آسپرژیلوس که در نمونه‌های بال رشد کرده بودند و شامل *A. flavus* و *A. niger* بودند، که با توجه شیوع بیشتر، آسپرژیلوس فلاوس برای انجام آزمایش انتخاب شد.

از طرف دیگر غلظت‌های مختلفی بین ۱ $\mu\text{g/ml}$ ، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱ از هر کدام از داروهای کرومولین سدیم، شربت زوفا، جوشانده بارهنگ، جوشانده پودر صمغ بادام که از یک عطاری معتبر در مشهد تهیه شده بود تهیه گردید و هر غلظت به یکی از محیط‌های کشت آماده شده در پلیت‌های قطر ۸ سانتی متر اضافه شد. همچنین محلولی از وریکونازول با همان غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۵ میکروگرم تهیه شد تا به محیط کشت‌های کنترل اضافه شود.

در ادامه کار، به‌اندازه سر یک لوپ، از گوشه یک کلنی آسپرژیلوس فلاوس نمونه‌ای برداشت شده و در چهار نقطه محیط کشت به صورت نشا کاری کاشته شد. سپس پلیت‌ها بمدت ۱۰ روز در اینکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر روز از نظر میزان رشد و یا عدم رشد کلنی‌های قارچی بررسی شدند. ضمناً جهت کنترل و به عنوان شاهد در چهار نقطه یک پلیت که فقط محیط کشت SC و کلرامفنیکل داشت با نمونه‌ای از کلنی آسپرژیلوس فلاوس بدون اضافه کردن هیچ دارویی کشت داده شد. سپس در مرحله بعدی قطر کلنی آسپرژیلوس در تمام پلیت‌ها، هر سه روز یکبار تا مدت ۱۵ روز اندازه گیری شد. در پایان نتایج مطالعه با توجه به اینکه مطالعه با حجم کم و بصورت پایلوت انجام شده بصورت کیفی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

به غیر از کرومولین سدیم که با غلظت (۱ $\mu\text{g/ml}$ - ۰/۵) استفاده شد و اثر مهار کنندگی بسیار ناچیزی داشت، بقیه داروهای سنتی مانند شربت زوفا (۰/۵ - ۰/۲۵ $\mu\text{g/ml}$)، گیاه

جدول ۲. میزان مهار رشد کلنی قارچ آسپریژیلوس فلاووس در مقابل غلظت‌های مختلف داروی سنتی ترکیبی و ریکونازول بعد از ۱۵ روز

غلظت	$\mu\text{g}/\text{m}^1$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.5$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.25$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.1$
دارو				
داروی سنتی				
داروی ترکیبی	+/-	++	+++	++++
وریکونازول	-	-	+	+++
کنترل بدون دارو	++++	++++	++++	++++
-	عدم مهار رشد، +ضعیف، ++متوسط، +++قوی، ++++رشد کامل کلنی			

چنانچه در جدول فوق ملاحظه می‌شود اداری ترکیبی با غلظت پائین تر به نسبت اجزای ترکیب اثر بهتری داشته است. هرچند با مقایسه با داروی استاندارد اثر ضعیف تری را نشان داده است.

بحث

استفاده از گیاهان دارویی و طب سنتی مورد توجه تمام یا بسیاری از مجامع علمی و کارخانه‌های دارو سازی و نیز جوامع مختلف می‌باشد. علت اینکه چرا داروهای گیاهی را ترجیح میدهند این است که این داروها را کم عارضه، ارزان و آسان در دسترس عموم هستند و غالب مصرف کنندگان می‌پندارند که عوارض داروهای گیاهی بسیار کمتر از داروهای صنعتی است، اگر چه برخی داروهای گیاهی خود نیز می‌توانند عوارض مهمی را داشته باشند، به ویژه اگر بیش از حد لازم مصرف شوند و یا اینکه از گونه‌های سمی باشند که در ظاهر با گونه‌های غیر سمی قابل تشخیص نیستند.

از طرفی، بسیاری از داروهایی که در کارخانه‌های سازنده دارو تهیه می‌شوند و ظاهر غیر گیاهی دارند می‌توانند از شیرابه و عصاره گیاهان استخراج شده باشند.

بیماری‌های تنفسی و ریوی با عامل قارچی نیز از جمله بیماری‌هایی هستند که در جوامع مختلف شیوع بیشتری دارند.

بارهنگ ($1 - 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) و پودر صمغ بادام ($1 - 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) توانستند رشد کلنی آسپریژیلوس فلاووس جدا شده از بیماران مبتلا به آسم را تا حدودی مهار کنند (جدول ۱).

جدول ۱. میزان مهار رشد کلنی قارچ آسپریژیلوس فلاووس در مقابل غلظت‌های مختلف چند داروی سنتی^۱ بعد از ۱۵ روز

غلظت دارو	$\mu\text{g}/\text{m}^1$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.5$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.25$	$\mu\text{g}/\text{m}^0.1$
داروی سنتی				
کرومولین	+++	+++	+++	++++
سدیم شربت زوفا	-	+	+++	++++
بارهنگ	+	++	+++	++++
صمغ بادام	-	+	+++	++++
کنترل بدون دارو	++++	++++	++++	++++
-	عدم مهار رشد، +ضعیف، ++متوسط، +++قوی، ++++رشد کامل کلنی			

چنانچه در جدول یک ملاحظه می‌شود داروی کرومولین سدیم در غلظت‌های به کار رفته اثر مهار بر رشد کلنی قارچ آسپریژیلوس نداشته و به همین ترتیب اثر مهار بارهنگ نیز ضعیف تر بوده در حالی که شربت زوفا و صمغ بادام اثر بهتری در مهار رشد کلنی قارچ داشته‌اند. همچنین غلظت‌های پائین تر از نیم میکروگرم تقریباً اثری بر مهار رشد نداشته‌اند در حالی که غلظت بالا تر از نیم میکروگرم تاثیر قابل قبولی بر مهار رشد کلنی قارچ داشته است. در حالیکه وریکونازول نسبت به بقیه داروها با غلظت بسیار پایین تری ($1 - 0.25 \mu\text{g}/\text{ml}$)، رشد آسپریژیلوس‌های جدا شده از بیماران مبتلا به آسم را بطور واضحی مهار کرد (جدول ۲).

در مرحله بعد داروها را به نسبتی که پزشک معالج در نسخه تجویز می‌نمود^۱، مخلوط نموده و مجدداً به همان روش که قبلاً ذکر شد اثر داروی ترکیبی را با داروی استاندارد وریکونازول مقایسه نمودیم (جدول ۲).

۱- از ذکر نسبت حجمی و وزنی داروها به علت رعایت اخلاق فعلاً معذوریم.

آسم‌های آلرژیک و عفونت‌های تنفسی ناشی از برخی قارچ‌ها مانند آسپرژیلوس‌ها و انواع خانواده ماکورال‌ها جزو مهم ترین و شایع ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های ریوی و تنفسی هستند. لذا تعداد متقاضیان گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های تنفسی رقم قابل توجهی را تشکیل می‌دهند.

در این مطالعه که بصورت پایلوت انجام شد، اثر برون تنی ضد قارچ چند داروی رایج و شایع گیاهی مورد بررسی قرار گرفت و با داروی وریکونازول مقایسه گردید.

در ابتدا سعی شد که اثر ضد قارچی هر یک از داروها به تنهایی مورد مطالعه قرار گیرد. نتایج نشان داد که برخی از این داروها که در بیماری‌های تنفسی مانند آسم آلرژیک قارچی و پنومونیت مشکوک به عفونت قارچی مورد استفاده قرار می‌گیرند، خاصیت ضد قارچ ندارند. البته دلیل استفاد از آنها می‌تواند هرگونه بیماری تنفسی مانند آسم‌های آلرژیک و یا عفونت‌های ویرال و باکتریال باشد. اما آزمایشات برون تنی نشان داد که برخی از این داروهای گیاهی اثر ضد قارچ دارند و می‌توانند حد اقل در شرایط برون تنی رشد برخی قارچ‌ها از جمله آسپرژیلوس را متوقف سازند (جدول ۱). هرچند بخاطر محدودیت‌هایی که موجود بود فقط از گونه *A. flavus* استفاده شد.

علت اینکه استفاده از گونه فلاووس در دستور کار قرار گرفت، شیوع بیشتر این گونه در مطالعات قبلی در این منطقه می‌باشد. در مرحله دوم این مطالعه از مخلوط تمام داروهای گیاهی برای یافتن اثر سینرجیسم آنها استفاده شد. هرچند به نسبت اثر مهار رشد قارچ بهتر بود، لیکن با این مطالعه پایلوت نمی‌توان با اطمینان و اعتماد کامل این تفاوت را معنی دار دانست.

در حال حاضر و با نتایج بدست آمده بایستی کماکان آزول‌ها را به عنوان داروی انتخاب اول در درمان عفونت‌های تنفسی قارچی به شمار آورد.

از داروهای گروه آزول در مطالعات قبلی نیز استفاده شده بود (۵-۷). در پاندمی کرونایی اخیر نیز آزول‌ها در ردیف اول درمان عفونت‌های قارچی ریوی بودند. اما شاید همیشه نتوانیم به علل مختلف از آزول‌ها و یا دیگر داورهای ضد قارچ استفاده کنیم. مثلاً وجود زمینه آلرژی و یا نارسایی‌های کبدی و کلیوی. در این صورت این مطالعه که نتایج محسوسی در مورد اثرات ضد قارچی برخی از داروهای گیاهی در برداشت می‌تواند پیشگامی برای گام‌های بلندتر بعدی باشد (۸ و ۹).

با توجه به اینکه اثر عصاره‌های استفاده شده در این مطالعه با شربت زوفا مقایسه شده است باید گفت که در مطالعات اخیر مصرف این شربت در بیماران نتیجه بخش بوده است (۱۰).

نتیجه گیری

آسپرژیلوس فلاووس گونه شایع جدا شده از مایع BAL در بیماران مشکوک به آسم قارچی می‌باشد. هرچند داروهای کرومولین سدیم، شربت زوفا، گیاه بارهنگ و صمغ بادام تا حدودی مهار کننده رشد آسپرژیلوس هستند ولی غلظت مهاری آنها از وریکونازول کمتر است. هرچند می‌توان به عنوان داروی مکمل و در شرایط خاص و حساسیت نسبت به داروهای صنعتی از آنها استفاده نمود.

پیشنهاد می‌شود بعد از این مطالعه پایلوت، مطالعه جامع تری با تعداد بیشتری از گونه‌های قارچی عامل بیماری‌های تنفسی انجام شود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش به عنوان یک مطالعه پایلوت حاصل طرح پژوهشی کد ۹۶۰۷۸۱ می‌باشد که با حمایت مالی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گردید که بدینوسیله از ایشان سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Glass D, Amedee D G. Allergic Fungal Rhinosinusitis: A Review. Ochsner J. 2011; 11(3): 271–275.
2. Citron K M. Respiratory Fungus Allergy and Infection. 588 Proc. roy. Soc. Med. 68 Sept. 1975.
3. Samuelson AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. J Ethnopharmacol. 2000;71(1-2),1-21.
4. Kurup V P, Shen H D, Banerji B, Respiratory fungal Allergy, July 2000; 2(9):1101-1110.

5. Fathizad F, Hamedeyazdan S. A review on *Hyssopus officinalis* L: Composition and biological activities. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011; 5(17), 1959-1966, 8.
6. Ghahri M. Fungal infections of the respiratory tract, *Journal of Laboratory & Diagnosis, Seasonal J. Laboratory Diagnosis*. 2021; 52(2):12-23. (English Abstract).
7. Fata A, Boloursaz M, Musavi SH, Pour Badakhshan M, Comparison the efficacy of Griseofulvin and Miconazole (alone and together) on 100 patients suffering from Dermatophytosis in Mashhad, *Medical J. Mashhad Univ of Med*. 2001; 44(72):36-41.
8. McCulloch E. Ramage G et al, Antifungal treatment affects the laboratory diagnosis of invasive Aspergillosis. *J Clin Pathol*. 2011
9. Cornelia Lass-Flörl, In vitro susceptibility testing in *Aspergillus* species: an update, *Future Microbiol*. 2010; 5(5), 789–799.
10. Heydari M, Kazemizadeh H et al. Evaluation of the Effect of “Honey Zufa” Herbal Syrup on Cough in Hospitalized Patients With COVID-19: A Double Blind Randomized Clinical Trial, *Acta Medica Iranica, Acta Medica Iranica*. 2024; 62(3), 144-154 .

Original Article

In vitro antifungal activity of sodium Cromolyn, *Hyssopus officinalis*, *Plantago major*, Almond gum with voriconazole against *Aspergillus spp.* obtained from BAL samples of patients with Asthma (A pilot study)

Received: 06/07/2024 - Accepted: 27/04/2026

Ali Naseri^{1#}
Majid Mirsadraee^{2#}
Hossein Zarrinfar¹
Masoumeh sadat Faboli farshchi¹
Asieh Fatemi Esfadan¹
Abdolmajid Fata^{1*}

¹ Department of medical parasitology and mycology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

² Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Email: fataa@mums.ac.ir

Abstract

Introduction: Fungi, especially *Aspergillus spp.*, are one of the common causes of allergies and asthma. On the other hand, antifungal drugs are very expensive and even unbearable. The aim of this pilot study is to compare some traditional drugs with voriconazole on *Aspergillus* colony growth. The question is whether the efficacy of herbal medicine used in this study is better than voriconazole or not.

Methods: Broncho-alveolar (BAL) samples from patients suspected of having fungal asthma sent to the laboratory by the doctor, were tested by direct smear and culture. Positive samples were passaged on a new plate that had different concentrations of traditional drugs or voriconazole.

Results: *Aspergillus flavus* is a common species isolated from BAL fluid in suspected fungal asthma patients. Although sodium cromolyn, hyssop syrup, barberry plant and almond gum inhibit the growth of *Aspergillus* to some extent, their inhibitory concentration is lower than voriconazole.

Conclusion: *Aspergillus flavus* is a common species isolated from BAL fluid in suspected fungal asthma patients. Although sodium cromolyn, hyssop syrup, barberry plant and almond gum inhibit the growth of *Aspergillus* to a certain extent, their inhibitory concentration is lower than voriconazole.

Keywords: sodium Cromolyn, *Hyssopus officinalis*, *Plantago major*, Almond gum, voriconazole