دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و سوم، شماره ۵، صفحه ۵۰۴ - ۴۹۴ (آذر و دی ۱۳۹۹)

Iran South Med J 2020; 23(5): 494-504

اثرات ضدمیکروبی تعدادی از اسفنج‌های دریایی خلیج‌فارس

سید حسن سراج (PhD)[1*]، سیده ژاله هاشمی (PharmD)[1]، کامیار زمردیان (PhD)[2]، محمودرضا معین (PhD)[1]

[1]گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[2] گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

(دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/۳۰ پذیرش مقاله: ۹۹/۴/۱۷)

چکیده

زمینه: در این مطالعه، اثرات ضد میکروبی ۵ گونه اسفنج دریایی با نام‌های علمی: *Fascaplysinopsis reticulata*، *Callyspongia clavatus*، *Callyspongia siphonella*، *Niphates furcata* و *Pseudosuberites clavatus* جمع‌آوری شده از سواحل جزیره کیش بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین گونه‌های قارچ و مخمر مطالعه شده است.

مواد و روش‌ها: از هر اسفنج با دو نوع حلال دی کلرومتان و متانول به روش خیساندن در ۳ مرحله عصاره‌گیری شد و سپس عصاره‌ها با روش براث میکرودیلوشن مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: میکروارگانیسم‌ها از نظر مقاومت نسبت به عصاره‌ها متفاوت بودند و قارچ‌ها نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مقاوم‌تر بودند. استرپتوکوکوس پیوجنز و استرپتوکوکوس موتانز از سایر باکتری‌ها نسبت به عصاره‌ها حساس‌تر بودند. همه عصاره‌ها حداقل بر یک باکتری مؤثر بودند. اسفنج دریایی با نام *Fascaplysinopsis reticulata*، فعالیت مؤثری بر همه باکتری‌های گرم مثبت حتی گونه‌های مقاوم نشان داد (MIC عصاره دی کلرومتانی و متانولی به‌ترتیب در محدودهٔ ۰/۲۵ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۶ تا ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* دارای اثرات ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد و این اسفنج کاندیدای مناسبی در مطالعات آینده برای جداسازی ترکیبات مؤثر ضد باکتری است.

واژگان کلیدی: اثر ضد میکروبی، اسفنج دریایی، خلیج‌فارس، *Fascaplysinopsis reticulata*

* شیراز، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

Email: serajh@sums.ac.ir
***ORCID: 0000-0002-3937-0127**

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

مقدمه

اسفنج‌ها ابتدایی‌ترین حیوانات چندسلولی هستند. تاکنون هزاران ترکیب مختلف از گونه‌های متعدد اسفنج شناخته شده است (۱). اسفنج‌ها موجوداتی ساده با ساختارهای چسبنده به کف دریا هستند و در طی تکامل به سیستم‌های شیمیایی قوی برای دفاع در مقابل عوامل مهاجم و میکروارگانیسم‌ها مجهز شده‌اند. اغلب گونه‌های این بی‌مهرگان پر سلولی، در محیط‌های دریایی زندگی می‌کنند و تنها حدود یک درصد ساکن آب‌های شیرین هستند. در اسفنج‌ها آب دریا از طریق کانال‌هایی وارد می‌شود و پس از فیلتر شدن، مواد آلی و ارگانیسم‌های بجا مانده هضم می‌شوند (۲ و ۳). در چند دهه گذشته مواد طبیعی قابل توجهی از اسفنج‌ها جدا شده است که توسط خود اسفنج یا میکروارگانیسم‌های همزیست به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه ساخته می‌شوند. به طور خاص در سال‌های اخیر از اسفنج‌ها ترکیبات سایتوتوکسیک جالبی مانند هالوکندرین‌بی، بریوستاتین، دیسکودرمولاید به شکل ماده اصلی یا مشتقاتشان مراحل پیشرفته بالینی را برای ورود به بازار دارویی طی کرده‌اند یا در حال مطالعه بالینی هستند (۴).

از آنجایی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عفونت‌های مقاوم بیمارستانی، امروزه به یک معضل جهانی تبدیل شده است، رویکرد به منابع جدید مواد ضدمیکروبی مورد توجه می‌باشد (۵ و ۶)، اسفنج‌ها با توجه به دارا بودن تنوع زیاد متابولیت‌های ثانویه، پتانسیل مناسبی برای یافتن داروهای ضدمیکروبی جدید دارند. غربالگری‌های مختلف نشان می‌دهد که اسفنج‌های دریایی فعالیت ضدمیکروبی امیدوارکننده‌ای دارند (۱۰-۷). در خصوص خواص ضدمیکروبی اسفنج‌های دریایی ایران مطالعات محدودی انجام شده است. در مطالعه اثرات ضدمیکروبی اسفنج‌های دریایی که به وسیلهٔ صفاییان و همکاران روی ۵ نمونه اسفنج منطقه نی بند بوشهر انجام شده است، حدود ۸۰ درصد از عصاره‌ها اثرات ضدباکتری و ضدقارچ نشان داده‌اند (۱۱). در مطالعهٔ دیگری توسط ناظمی و همکاران، متابولیت‌های ثانویه غیرقطبی- نیمه قطبی محلول در دی اتیل اتر از اسفنج دریایی *Dysidea pallescens* از سواحل جزیره هنگام، فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی و متابولیت‌های قطبی محلول در متانول فعالیت ضدقارچی قابل توجهی را نشان داده‌اند (۱۲). با توجه به بکر بودن منابع دریایی خلیج‌فارس و مطالعات محدود در زمینه اسفنج‌های ایران، بر آن شدیم که غربالگری اثرات ضدمیکروبی تعدادی از اسفنج‌های سواحل جزیره کیش را انجام دهیم. در این مطالعه پنج اسفنج مختلف شامل *Fascaplysinopsis reticulata*، *Callyspongia clavatus*، *Callyspongia siphonella* و *Niphates furcata* و *Pseudosuberites clavatus* جمع‌آوری گردید و عصاره‌های دی کلرومتانی و متانولی جهت ارزیابی میزان فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که پیش از این فعالیت ضدمیکروبی اسفنج‌های انتخاب شده در این مطالعه از سواحل کیش مورد بررسی قرار نگرفته بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، یک مطالعه تجربی می‌باشد که به‌شرح زیر انجام شد.

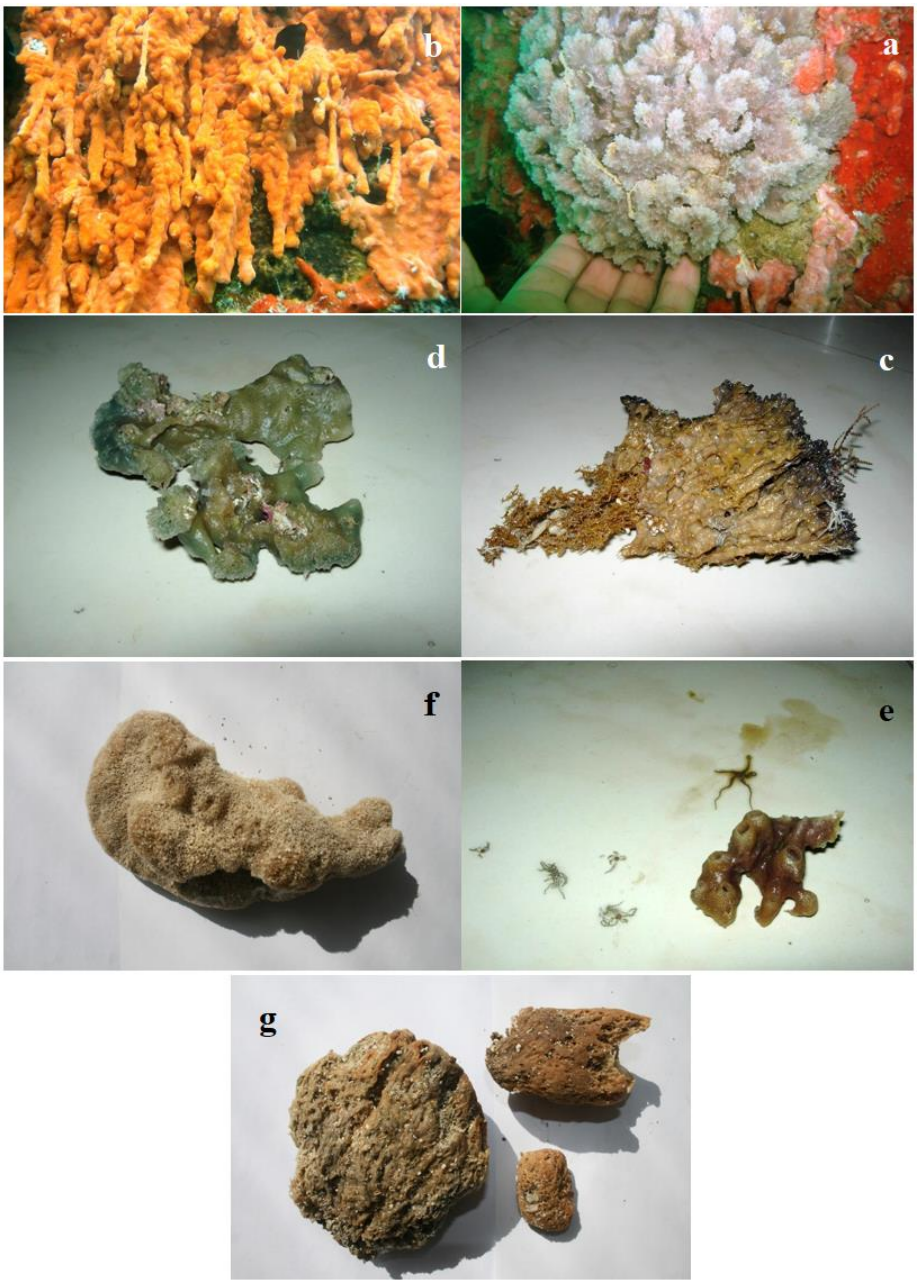
جمع‌آوری اسفنج‌ها و شناسایی گونه‌ها

۵ گونه اسفنج بین سال‌های ۲۰۱۲-۲۰۱۰ از سواحل کیش در خلیج‌فارس جمع‌آوری شد (شکل ۱). پس از شست وشو با آب، اسفنج‌ها در درجه حرارت منفی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. نمونه کوچکی از اسفنج‌ها جدا شد و برای فرآیند شناسایی ابتدا به مدت ۳ روز در یخچال در محلول ۷۰ درصد الکل نگهداری شد و سپس نمونه‌ها از محلول الکل خارج گردیدند و به مؤسسه ملی مطالعات آب و هوا در کشور نیوزلند فرستاده شدند (۱۳).



شکل ۱) a و b: عکس زیر آب دو گونه اسفنج در سواحل جزیره کیش. c: اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* در محیط آزمایشگاه. d: اسفنج *Niphates furcata* در محیط آزمایشگاه. e: اسفنج *Callyspongia siphonella* در محیط آزمایشگاه. f: اسفنج *Callyspongia clavatus* در محیط آزمایشگاه. g: اسفنج *Pseudosuberites clavatus* در محیط آزمایشگاه.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

عصاره‌گیری

جهت عصاره‌گیری، ابتدا اسفنج‌ها به‌وسیله دستگاه فریز درایر به‌طور کامل طی ۳ روز خشک شده، سپس آسیاب شدند. عصاره‌گیری به روش خیساندن در ۳ مرحله هر مرحله به مدت ۲۴ ساعت در محیط تاریک انجام شد. ابتدا پودر اسفنج با حلال دی کلرومتان به‌عنوان حلال غیرقطبی عصاره‌گیری شد و سپس باقیمانده اسفنج از مرحله قبل با متانول به‌عنوان حلال قطبی عصاره‌گیری گردید. به ازای هر ۵ گرم پودر آماده شده، ۲۰ میلی‌لیتر حلال استفاده شد. عصاره‌های آماده شده در هر مرحله، به مراحل قبل اضافه گردید. همه عصاره‌ها به وسیله دستگاه روتاری و اسپید وکیوم در درجه حرارت ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت مناسب خشک شدند. عصاره خشک حاصل برای اثرات ضدمیکروبی استفاده گردید.

بررسی اثرات ضد میکروبی

روش براث (مایع) میکرودیلوشن برای اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی رشد میکروب‌ها انجام شد. در این روش عصاره‌ها در چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱،۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲، ۱۰۲۴ و ۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر رقیق شدند و در مقابل سوسپانسیون‌های میکروبی ثابت (از لحاظ غلظت) آزمایش گردیدند (۱۴).

فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها علیه باکتری‌های گرم مثبت شامل باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و همچنین ۳ نمونه بیمارستانی از استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متیسیلین (MRSA1، MRSA2 و MRSA3)، استرپتوکوکوس پیوجنز، انتروکوکوس فاکالیس، باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس موتانز و ۳ نمونه بیمارستانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک انتروکوکوس (Enterococcus R1، Enterococcus R2 و Enterococcus R3) آزمایش شد.

باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه شامل اشریشیا کلی، سالمونلا پاراتیفی آ، کلبسیلا نومونیا، و سودوموناس اثروژینوزا بود. قارچ‌های مخمری نیز کاندیدا البیکانس و کاندیدا دوبلینینسیس، و قارچ‌های رشته‌ای شامل اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس فومیگاتوس بودند. برای بررسی اثرات ضد مخمری از محیط کشت آر پی ام ای ۱۶۴۰ که به‌وسیله بافر ماپس تهیه شده بود استفاده گردید.

برای تهیه سوسپانسیون قارچ‌ها، از محیط کشت سابورد دکستروز اگار برای قارچ‌های مخمری کاندیدا البیکانس و کاندیدا دوبلینینسیس و از محیط کشت پوتیتو دکستروز اگار برای قارچ‌های رشته‌ای اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس فومیگاتوس استفاده شد. پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه برای ۱ تا ۲ هفته انکوبه شدند. مقداری از کونیدیای تولید شده از قارچ رشته‌ای به‌وسیله یک تیوب که با توین ۲۰ خیس شده بود برداشته شد و به ۳ میلی‌لیتر نرمال سالین اضافه گردید و سپس به وسیله دستگاه کدورت سنج در طول موج ۵۳۰ نانومتر، غلظت آن برابر میزان جذب نوری ۰/۱۱-۰/۰۹ برای قارچ‌های گونه آسپرژیلوس، تنظیم شد. سوسپانسیون قارچی حاصل، در محیط ار پی ام ای به نسبت یک به پنجاه رقیق گردید. مخمرها نیز در طول موج ۵۳۰ نانومتر و جذب نوری ۰/۱۵ به نسبت ۱ در ۱۰۰۰ در محیط ار پی ام ای رقیق گردیدند. برای تعیین فعالیت ضدباکتری عصاره از محیط مولر هینتون و با سری رقت از ۰/۲۵، ۰/۵، ۱،۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲، ۱۰۲۴ و ۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از رشد باکتری، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت نیم

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

مکفارلند در سرم نرمال سالین تهیه شده و به نسبت ۱ به ۱۰۰ در محیط مولر- هینتون رقیق گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های آماده شده به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت‌های حاوی قارچ در دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸-۲۴ ساعت و باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

همچنین در هر پلیت ۹۶ خانه، چاهک کنترل منفی (محلول بلانک حاوی محیط کشت) و جهت کنترل مثبت چاهک کنترل رشد میکروب فاقد عصاره در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی از کشت چاهک‌هایی که رشدی نشان نداده‌اند روی محیط سابورد دکستروز آگار برای قارچ‌ها و مولر- هینتون برای باکتری‌ها استفاده شد. پایین‌ترین غلظتی که کمتر از ۴ کلنی رشد کرده باشد، ۹۸ درصد کشندگی قلمداد می‌شود و به‌عنوان "حداقل غلظت کشندگی یا (MBC)" تعیین گردید (۱۴).

یافته‌ها

نتایج شناسایی گونه‌های اسفنج این مطالعه که توسط مؤسسه ملی مطالعات آب و هوا در کشور نیوزلند انجام شده، در جدول ۱ ارائه شده است. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اسفنج‌ها از ۵ خانواده مختلف بودند.

جدول ۱) نتایج شناسایی گونه اسفنج‌ها

Reference number	Name	Family	Order	Class	Sample sponge
NIWAKD 6666	*Fascaplysinopsis reticulata*	Thoretidae	Dictyoceratida	Demmospongiae	**A**
NIWAKD 6667	*Niphates furcata*	Niphatidea	Haplosclerida	Demmospongiae	**B**
NIWAKD 6669	*Callyspongia siphonella*	Callyspongiidea	Haplosclerida	Demmospongiae	**C**
NIWAKD 6674	*Callyspongia clavatus*	Callyspongiidea	Haplosclerida	Demmospongiae	**D**
NIWAKD 6676	*Psudosuberites clavatus*	Suberitidae	Hadromerida	Demmospongiae	**E**

تست حساسیت که به‌وسیله روش براث میکرودیلوشن صورت گرفت نتایج جالبی را نشان داد (جدول ۲). از بین اسفنج‌ها، اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* (که در جدول‌ها با عنوان Sponge A معرفی شده است) اثرات بسیار مناسب ضدمیکروبی داشت. عصاره دی کلرومتانی این اسفنج با حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در بازه ۵-۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ۱-۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی همه باکتری‌های گرم مثبت حتی گونهٔ مقاوم مورد مطالعه مؤثر واقع شد (جدول ۲) که نشان دهنده فعالیت ضد باکتریایی مناسب ترکیبات غیرقطبی موجود در این اسفنج است. همچنین عصاره متانولی اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* نیز به شکل ضعیف‌تری بر روی همه باکتری‌های گرم مثبت حتی گونه‌های مقاوم مؤثر واقع شد (جدول ۳).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

جدول ۲) حداقل غلظت کشنده و مهارکننده عصاره دی کلرومتانی اسفنج‌های دریایی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

		Sponge E		Sponge D		Sponge C		Sponge B		Sponge A	
		MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
Gram+	*S.aureus*	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۸	۸
	S.pyogenes	۳۲	۳۲	۱۲۸	۱۲۸	۱۲۸	۱۲۸	۵۱۲	۶۴	۱	۰/۵
	E.fecalis	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱۲۸	۰/۵
	B.creus	۱۰۲۴	۲۵۶	۱۰۲۴	۲۵۶	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۰/۵	۰/۲۵
	S.mutans	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۰/۵	۰/۲۵
	MRSA[a] 1	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲	۰/۵
	MRSA[a] 2	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱	۰/۵
	MRSA[a] 3	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱	۰/۵
	Enterococcus[b] R1	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲	۰/۵
	Enterococcus[b] R2	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲	۰/۵
	Enterococcus[b] R3	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲	۰/۵
Gram-	*E.coli*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸
	E.coli o157	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸
	S.parothyphiA	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۴	۲
	P.aeruginosa	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۴	۲
	K.pneumonia	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸

[a] استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متیسیلین. [b] سوش جداشده از نمونه‌های بالینی

جدول ۳) حداقل غلظت کشنده و مهارکننده عصاره متانولی اسفنج‌های دریایی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

		Sponge E		Sponge D		Sponge C		Sponge B		Sponge A	
		MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
Gram+	*S. aureus*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۵۱۲	**۳۲**
	S. pyogenes	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۶۴	۶۴	**۱۶**
	E. fecalis	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۶۴	**۱۶**
	B. creus	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۱۶	**۱۶**
	S. mutans	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۵۱۲	۱۲۸	**۳۲**
	MRSA[a] 1	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
	MRSA[a] 2	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
	MRSA[a] 3	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
	Enterococcus[b] R1	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
	Enterococcus[b] R2	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
	Enterococcus[b] R3	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۳۲	**۳۲**
Gram-	*E.coli*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸<	۲۰۴۸<	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	**۲۰۴۸**
	E.colio157	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	**>۲۰۴۸**
	S.parothyphiA	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۸	**۴**
	P.aeruginosa	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۱۲۸	**۱۲۸**
	K.pneumonia	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	**>۲۰۴۸**

[a] استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متیسیلین. [b] سوش جدا شده از نمونه‌های بالینی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

عصاره دی کلرومتانی دو اسفنج *Niphates furcata* و *Callyspongia siphonella* (که در جدول‌ها به‌ترتیب با عنوان Sponge B و Sponge C معرفی شده‌اند) روی باکتری‌های *Streptococcus pyogenes* و *Streptococcus mutans* اثرات متوسطی را نشان دادند (حداقل غلظت مهار کننده و کشنده عصاره دی کلرومتانی اسفنج B بر علیه استرپتوکوکوس پیوژنز به‌ترتیب عبارتند از: ۶۴ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر علیه استرپتوکوکوس موتانس به‌ترتیب ۵۱۲ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر است و همچنین حداقل غلظت مهار کننده و کشنده اسفنج C بر علیه استرپتوکوکوس پیوژنز به‌ترتیب عبارتند از ۱۲۸ و ۱۲۸ و بر علیه استرپوکوکوس موتانس به‌ترتیب ۵۱۲ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر است). همچنین دو اسفنج *Callyspongia clavatus* و *Psudosuberites clavatus* (که در جدول‌ها به‌ترتیب با عنوان Sponge D و Sponge E معرفی شده‌اند) نیز روی باکتری‌های *Streptococcus pyogenes* و *Bacillus cereus* و *Streptococcus mutans* فعالیت متوسط نشان دادند. همچنین عصاره‌های متانولی این اسفنج‌ها بر علیه باکتری گرم مثبت با و حداقل غلظت کشندگی بیشتر، فعالیت ضعیف‌تری نشان دادند.

در خصوص اثر روی باکتری‌های گرم منفی، عصاره دی کلرومتانی اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* اثر بسیار مناسبی روی *Salmonella paratyphi A* و *Pseudomonas aeruginosa* نشان داد (با حداقل غلظت مهار کننده و کشنده برای سودوموناس آئروژینوزا ۲ و ۴ و برای سالمونلا پاراتیفی A نیز ۲ و ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر). همچنین عصاره متانولی این اسفنج به صورت ضعیف‌تری بر دو گونه باکتری گرم منفی مذکور اثربخش بود. عصاره‌های این اسفنج روی بقیه باکتری‌های گرم منفی مطالعه شده اثر مطلوبی نداشت. از سوی دیگر، سایر اسفنج‌ها روی باکتری‌های گرم منفی بی‌اثر بودند (با حداقل غلظت مؤثر بالاتر از ۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، جدول ۲ و جدول ۳).

مطابق جدول ۴ عصاره‌های اسفنج‌ها روی گونه‌های مختلف مطالعه شده قارچ (مخمر و قارچ رشته‌ای) فعالیت ضعیفی داشتند یا کاملاً بی اثر بودند (فعالیت ضعیف با حداقل غلظت مؤثر بین ۱۰۲۴ تا ۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره و بی اثر بودن به صورت غلظت مؤثر بالاتر از ۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره در نظر گرفته شده است).

جدول ۴) حداقل غلظت کشنده و مهارکننده عصاره دی کلرومتانی و متانولی اسفنج‌های دریایی در برابر قارچ‌ها

		Sponge A		Sponge B		Sponge C		Sponge D		Sponge E	
		MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
عصاره دی کلرومتانی											
Yeast	*C.albicans*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸
	C.dubliniensis	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۰۲۴	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۰۲۴
Mold	*A.flavus*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸
	A. fumigatus	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸
عصاره متانولی											
Yeast	*C.albicans*	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۱۰۲۴
	C.dubliniensis	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	۲۰۴۸	>۲۰۴۸	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۱۰۲۴	۱۰۲۴
Mold	*A.flavus*	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸
	A. fumigatus	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸	>۲۰۴۸

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

بحث

در این مطالعه مؤثرترین اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* از راسته Dictyoceratida بود که روی همه باکتری‌های گرم مثبت مطالعه شده و ۴۰ درصد باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه مؤثر بود و همچنین اثر مناسبی روی باکتری‌های مقاوم بالینی (استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متیسیلین و انتروکوکوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک) جدا شده داشت. در خصوص این اسفنج، عصاره دی کلرومتانی که به‌طور تئوری و با توجه به ماهیت شیمیایی حلال احتمالاً حاوی ترکیبات غیرقطبی‌تری نسبت به متانول می‌باشد، مؤثرتر نشان داده شد. در یک مطالعه انجام شده توسط رول (Roll) و همکاران، روی یک گونه Fascaplysinopsis شناسایی شده در غرب اقیانوس هند، انجام شد که اثرات ضدمیکروبی قوی را آشکار کرد (۱۵). مطالعات پیشین اثرات مختلف بیولوژیک اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* را به اثبات رسانده‌اند (۸ و ۱۶). در مطالعهٔ دیگری توسط کمپس (Campos)، عصاره دی کلرومتان- متانولی از اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* از اقیانوس هند جمع‌آوری و ترکیبات مؤثرهٔ آن شناسایی شد. برخی ترکیبات این مطالعه اثر مهارکنندگی خوبی در برابر باکتری گرم منفی *Vibrio natrigens* و *Vibrio carchariae* نشان دادند (مقدار MIC در محدوده ۰/۰۱ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) (۱۷). در مطالعهٔ شین (Qin)، ترکیبات دی‌ترپن، ترپن، دی‌کتو پیپرازین و استرولی از اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* از جزیره Xisha (چین) جداسازی و تعیین ساختار شدند. با توجه به نتایج، تعدادی از ترکیبات اثر سیتوتوکسیک قابل توجهی بر روی ردهٔ سلولی سرطانی HL-60 نشان دادند (مقدار IC_{50} در محدوده ۸/۸ تا ۱۲/۴ میکرومولار) (۱۸).

همچنین گزارش شده است که از جنس Fascaplysinopsis تنها گونهٔ اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* حاوی ترکیبات آلکالوئیدهای بیس ایندولی می‌باشد (۱۹). با توجه به نتایج این مطالعه ممکن است به جز ترکیبات ترپنی، فعالیت ضدباکتریایی اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* به واسطه حضور ترکیبات آلکالوییدی کم قطبی باشد. در راستای نتایج، مطالعات پیشین نیز ارتباط فعالیت ضدباکتریایی با میزان حضور ترکیبات مختلف غیرقطبی در عصاره‌های اسفنج‌های دریایی را نشان می‌دهد (۲۰ و ۲۱).

نتیجه‌گیری

مطالعات پیشین بیانگر پتانسیل اسفنج‌های خلیج‌فارس به‌عنوان منابع ضدمیکروبی می‌باشند. با توجه به نتایج این مطالعه اسفنج *Fascaplysinopsis reticulata* جمع‌آوری شده از سواحل جزیره کیش به عنوان کاندیدای مناسب مطالعات آینده برای جداسازی ترکیبات مؤثر ضدباکتریایی معرفی می‌گردد. سایر اسفنج‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر، اثرات متوسط تا بی اثر بر روی باکتری‌ها داشتند و کاندیدای مناسبی برای مطالعات پیشرفته‌تر محسوب نمی‌گردند. همچنین برای مشخص نمودن نوع ترکیبات مؤثره و تعیین ساختار مولکولی آن‌ها نیاز به آنالیز عصاره‌ها با روش‌های پیشرفته دستگاهی و کروماتوگرافی می‌باشد. اسفنج‌های مورد مطالعه در برابر قارچ‌ها اثر قابل توجهی نداشتند.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

سپاس و قدردانی

بدینوسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به دلیل حمایت مالی از این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

نویسندگان مراتب تشکر خود را از دکتر میشل کلی از مؤسسه ملی مطالعات آب و هوا در کشور نیوزلند بدلیل شناسایی علمی اسفنج‌ها اعلام می‌دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Tadesse M, Gulliksen B, Strom MB, et al. Screening For Antibacterial And Antifungal Activities In Marine Benthic Invertebrates From Northern Norway. J Invertebr Pathol 2008; 99(3): 286-93.

2.Lee YK, Lee JH, Lee HK. Microbial Symbiosis In Marine Sponges. J Microbiol 2000; 39(4): 254-64.

3.Belarbi EH, Contreras Gomez A, Chisti Y, et al. Producing Drugs From Marine Sponges. Biotechnol Adv 2003; 21(7): 585-98.

4.Thakur NL, Müller WEG. Biotechnological Potential Of Marine Sponges. Curr Sci 2004; 86(11): 1506-12.

5.Archibald LK, Manning ML, Bell LM, et al. Patient Density, Nurse-To-Patient Ratio And Nosocomial Infection Risk In A Pediatric Cardiac Intensive Care Unit. Pediatr Infect Dis J 1997; 16(11): 1045-8.

6.NNIS System, Gerberding J, Gaynes R, et al. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary From January 1990-May 1999. A Report From The NNIS System. Am J Infect Control 1999; 27(6): 520-32.

7.Laport MS, Santos OC, Muricy G. Marine Sponges: Potential Sources Of New Antimicrobial Drugs. Curr Pharm Biotechnol 2009; 10(1): 86-105.

8.Nyan LK, Abas F, Maulidiani M, et al. Chemical Constituents And Biological Activities Of South East Asia Marine Sponges: A Review. Pertanika J Sci Technol 2019; 27(2): 953-83.

9.Mayer AMS, Guerrero AJ, Rodríguez AD, et al. Marine Pharmacology In 2014–2015: Marine Compounds With Antibacterial, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, Antiviral, And Anthelmintic Activities; Affecting The Immune And Nervous Systems, And Other Miscellaneous Mechanisms Of Action. Mar Drugs 2019; 18(1): 5.

10.Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. The Sea, the Future Pharmacy. Iran South Med J 2014; 17(4): 748-88. (Persian)

11.Safaeian S, Hosseini H, Abbas Pour Asadolah A, et al. Antimicrobial Activity Of Marine Sponge Extracts Of Offshore Zone From Nay Band Bay, Iran. J Mycol Med 2009; 19(1): 11-6.

12.Nazemi M, Moradi Y, Rezvani Gilkolai F, et al. Antimicrobial Activities Of Semi Polar-Nonpolar And Polar Secondary Metabolites Of Sponge Dysidea Pallescens From Hengam Island, Persian Gulf. Iran J Fish Sci 2017; 16(1): 200-9.

13.Seradj H, Moein M, Eskandari M, et al. Antioxidant Activity Of Six Marine Sponges Collected From The Persian Gulf. Iran J Pharm Sci 2012; 8(4): 249-55.

14.Zaini F, Mahbod MSA, Emami M. Comprehensive Medical Mycology. 2nd ed. Tehran: Tehran University Medical Sciences Press, 2004. (Persian)

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

15.Roll DM, Ireland CM, Lu HSM, et al. An Unusual Antimicrobial Pigment From The Marine Sponge Fascaplysinopsis Sp. J Org Chem 1988; 53(14): 3276-8.
16.Bibi F, Faheem M, Azhar E, et al. Bacteria From Marine Sponges: A Source Of New Drugs. Curr Drug Metab 2017; 18(11): 11-5.
17.Campos PE, Pichon E, Moriou C, et al. New Antimalarial And Antimicrobial Tryptamine Derivatives From The Marine Sponge Fascaplysinopsis Reticulata. Mar Drugs 2019; 17(3): 167.
18.Qin GF, Tang XL, De Voogd NJ, et al. Cytotoxic Components From The Xisha Sponge Fascaplysinopsis Reticulata. Nat Prod Res 2020; 34(6): 790-6.
19.Wang Q, Tang X, Luo X, et al. (+)- And (−)-Spiroreticulatine, A Pair Of Unusual Spiro Bisheterocyclic Quinoline-Imidazole Alkaloids From The South China Sea Sponge Fascaplysinopsis Reticulata. Org Lett 2015; 17(14): 3458-61.
20.Nazemi M, Motallebi Moghanjoghi AA, Jamili S, et al. Comparison Of Antibacterial Activities Of Ircinia Mutans Extracts In Two Different Seasons From Kish Island, Persian Gulf, Iran. Iran J Fish Sci 2014; 13(4): 823-33.
21.Govinden-Soulange J, Marie D, Kauroo S, et al. Antibacterial Properties Of Marine Sponges From Mauritius Waters. Trop J Pharm Res 2014; 13(2): 249-54.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]

Original Article

Antimicrobial Effects of Some Persian Gulf Marine Sponges

SH. Seradj (PhD)[1*], SZH. Hashemi (PharmD)[1], K. Zomorodian (PhD)[2], MR. Moein (PhD)[1]

[1] Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[2] Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received 19 Feb, 2020 Accepted 7 Jul, 2020)

Abstract

Background: We investigated in vitro antimicrobial activity of five marine sponge species collected from Kish Island in the Persian Gulf: *Fascaplysinopsis reticulata*, *Callyspongia clavatus*, *Callyspongia siphonella*, *Niphates furcata*, and *Pseudosuberites clavatus* against gram positive bacteria, gram negative bacteria, fungi and yeasts.

Materials and Methods: Sponage extracts were prepared by two solvents of dichloromethane and methanol in three steps. The extracts were then tested with broth microdilution method.

Results: Microorganisms varied in their susceptibility to extracts. Fungi were less sensitive than both gram-positive and gram-negative bacteria. *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus mutans* were more sensitive than other bacteria. All extracts showed acceptable antimicrobial activity against at least one bacterial strain. Marine sponge *Fascaplysinopsis reticulata* had the highest activity against all examined gram-positive bacteria including resistant strains (MIC of dichloromethane and methanolic extracts were in the range of 0.25-8 and 16-32 µg/ml, respectively).

Conclusion: The results showed that marine sponge *Fascaplysinopsis reticulata* had significant antimicrobial activity, and is a promising candidate for further purification and identification of antibacterial compounds.

Keywords: antimicrobial activity, Persian Gulf, marine sponge, *Fascaplysinopsis reticulata*

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Seradj SH, Hashemi SZH, Zomorodian K, Moein MR. Antimicrobial Effects of Some Persian Gulf Marine Sponges. . Iran South Med J 2020; 23(5): 494-504

Copyright © 2020 Seradj, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*]*Address for correspondence:* Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. Email: serajh@sums.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-3937-0127

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2024-11-22]

[DOI: 10.52547/ismj.23.5.494]