

مقایسه اثر غلظت های اسانس های گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*) و خالوаш (*Mentha pulegium*) به تنهایی و ترکیب با داروی نیستاتین بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط *invitro*

سمیه منصوری ۱، محمد دخیلی ۲*، محسن زرگر ۳

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران،

۲ عضو هیات علمی گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران،

۳ عضو هیات علمی گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران،

مقدمه و هدف: واژینیت کاندیدیایی در اثر رشد بیش از حد گونه های کاندیدا به ویژه گونه آلبیکنس در دستگاه تناسلی زنان بروز میکند. با افزایش روز افزون مقاومت دارویی، تلاش برای تهیه داروهای ضد قارچی یا ضد میکروبی ضرورت دارد. این مطالعه به منظور مقایسه اثر غلظت اسانس های گیاه آویشن شیرازی و خالواش به تنهایی و ترکیب با داروی نیستاتین بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط آزمایشگاهی و مقایسه آن با سوش استاندارد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی اثرات ضد قارچی دو گیاه دارویی روی کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. سه سری ۱۰ تایی از اسانس گیاهان مورد نظر و یک سری ۱۰ تایی از دیسک آغشته به نیستاتین آماده شد. داخل هر پلیت، ۱ دیسک اسانس گیاهی، ۱ دیسک نیستاتین به عنوان کنترل مثبت و ۱ دیسک خالی به عنوان کنترل منفی گذاشته شد. بعد از ۲۴ ساعت، میزان قطر هاله عدم رشد هر عصاره گیاهی با میزان قطر هاله عدم رشد کنترل مثبت با آنالیز ANOVA مقایسه شد.

یافته ها: قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های آویشن شیرازی و خالواش با ارتباط معنی داری با نیستاتین دیده شد ($p \leq 0.05$).

نتیجه گیری: آویشن شیرازی و خالواش تأثیرات ضد قارچی روی کاندیدا آلبیکنس را نشان دادند. ولی تأثیر خالواش بر روی عدم رشد سویه های کاندیدا آلبیکنس نسبت به آویشن شیرازی بیشتر بود.

واژه های کلیدی: تأثیر ضد قارچی، اسانس آویشن شیرازی، اسانس خالواش، نیستاتین.

کاندیدا آلبیکنس یک قارچ طبیعی ساکن (flora) در بدن حیوان و انسان ها است. این قارچ بسته به طبیعت میزبان، دو گروه عفونت را به وجود می آورد: عفونت های سطحی (مانند: دهانی، مهبلی و کاندیدیازیس جلدی) که در افراد سالم هم دیده می شود، عفونت های عمقی (مانند: ریوی، گوارشی، ادراری و کاندیدی) که در افراد با اختلال شدید ایمنی رخ می دهد (۱).

کاندیدیازیس به عنوان شایع ترین عفونت قارچی مهاجم در بیماران، بحرانی شناخته شده است. اکثر عفونت ها به وسیله کاندیدا آلبیکنس که منشاء داخلی دارد؛ ایجاد می شود و تقریباً در ۶۰ تا ۹۰ درصد عفونت های مربوطه جدا شده است. اغلب افراد این قارچ را در زمان تولد در طی عبور از کانال زایمان کسب می کنند. کاندیدا آلبیکنس در بدن در تعادل با سایر میکروارگانیسم ها زندگی می کند و به صورت ساپروفیت شایع روی سطوح مخاطی به ویژه دهان، دستگاه گوارشی و واژن است؛ اما عوامل مختلف می تواند این تعادل را بهم زده و منجر به بروز بیماری علامت دار پیشرونده فعال گردد (۲).

واژینیت یک بیماری ناحیه ژنیتال می باشد که هر ساله بیش از ده میلیون از مراجعات پزشکی را به خود اختصاص می دهد. تخمین زده میشود که ۷۵ درصد زنان حداقل یکبار در طی سالهای زندگی خود به ولوواژینال کاندیدیازیس مبتلا میشوند و تقریباً در ۴۰-۵۰ درصد موارد برای بار دوم عود بیماری دیده می شود (۳).

شایع ترین عوامل ایجاد کننده واژینیت ها، باکتری ها بوده و کاندیدا آلبیکنس به عنوان دومین عامل ایجاد کننده این عفونت محسوب می شود. همچنین شایع ترین مخمر جدا شده از واژن شامل کاندیدا آلبیکنس (۸۵ تا ۹۰ درصد) می باشد و در زنان با علائمی نظیر تورم، قرمزی، سوزش و خارش لب های مهبل و ترشحات شیری و سفید رنگ بروز می کند (۴).

عفونت های کاندیدا باید درمان شوند؛ زیرا ممکن است در بیماران نوتروپنیک و دچار نقص ایمنی، انتشار یابند. روش درمانی چنین عفونت هایی یک چالش بزرگ است؛ زیرا مقاومت پاتوژن ها نسبت به تعدادی از داروهای که مورد استفاده وسیع هستند؛ افزایش یافته است (۵).

نیستاتین یک تترا ماکرولید تولید شده به وسیله استرپتومایسس نورسئی است. این دارو به صورت پودر زرد رنگی است که آمفوتریک بوده و به مقدار کم محلول در آب است. نیستاتین دارای خاصیت مهار رشد قارچ بوده و در غلظت بالا و pH اسیدی فعالیت قارچ کشی قوی نشان می دهد. این دارو فعالیت بسیار عالی علیه مخمرهای جنس کاندیدا به خصوص کاندیدا آلبیکنس دارد (۶).

درمان کاندیدیازیس به واسطه ظهور سویه های کاندیدایی که به عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده مقاومند؛ مسأله ای پیچیده است. عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده نه تنها تعداد محدودی دارند؛ بلکه خیلی از آنها سمی و بسیارگران قیمت هستند. عود عفونت های کاندیدایی خیلی شایع است و این مسأله بار درمانی این عفونت فرصت طلب و در نتیجه نیاز به توسعه عوامل ضدقارچی جدید به منظور گسترش طیف فعالیت ها علیه کاندیدا و مبارزه با سویه های مقاوم به داروهای ضد قارچ های در دسترس را افزایش داده است(۷).

مقاومت های دارویی روزافزون این قارچ و افزایش دوز مصرفی داروهای متداول و به دنبال آن افزایش عوارض جانبی اثر داروها، موجب شده است تا امروزه بیشترین توجه به عواملی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی با عوارض جانبی خفیف معطوف شود(۸).

درمان های سنتی ارزانتر و مؤثرتر از درمانهای مدرن می باشند و در واقع در جوامعی که از گیاهان دارویی استفاده می کنند خطر کسب عفونتهای با عوامل پاتوژن مقاوم کمتر است(۹). از دیرباز در مناطق غربی ایران برای درمان عفونت واژینال از عصاره گیاهی مختلفی استفاده میکردند.

Zataria multiflora Boiss با نام فارسی آویشن شیرازی جزو خانواده نعنائیان و از گیاهان بومی ایران است که به طور سنتی به عنوان افزودنی و چاشنی به مواد غذایی خصوصاً ماست افزوده می شود و دارای اثرات طعم دهنده، محرک و باد شکن است. فراورده های داروی ماده موثره اسانس این گیاه نیز در بازار موجود است. اسانس این گیاه در درمان عفونت های دستگاه تنفسی همچنن به عنوان آنتی سبتیک، ضد سرفه و در سندروم روده تحریک پذیر کاربرد دارد(۱۰). گیاه آویشن شیرازی گیاهی با بوته هایی به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی متر، سبز متمایل به سفید و معطر، با ساقه های متعدد، محکم و مقاوم، با پوست خاکستری متمایل به سفید یا کمی متمایل به قهوه ای است، برگ آویشن شیرازی کوچک و دارای دمبرگ کوتاه است. گیاه آویشن شیرازی انتشار نسبتاً وسیعی در ایران دارد و در بخش های مرکزی، جنوب و جنوب شرقی ایران، اصفهان، یزد، خوزستان، فارس، بوشهر و بندرعباس دیده می شود(۱۱). بخش دارویی این گیاه را برگ ها تشکیل می دهند. برگ های این گیاه دارای ۲-۱/۵ درصد حجمی عصاره است که قسمت عمده آن را تربینولین، سینئول، لینالول، تربینئول و لینالیل استات تشکیل می دهد. همچنین در برگ گیاه علاوه بر عصاره، تانن و فلاونوئید وجود دارد(۱۲).

گیاه خالواش یا نعنا با نام علمی *Mentha Pulegium* گیاهی متعلق به تیره نعنائیان Labiateae می باشد. نعنا، گیاهی علفی و پایا است که به حالت وحشی در دشت های مرطوب و حاشیه جریان های آب، حتی داخل آب، غالباً نواحی مرکزی، جنوبی و غرب اروپا و جنوب غربی آسیا، شمال آفریقا می روید. در ایران در دامنه های البرز، شمال و شمال شرقی و برخی

نقاط دیگر انتشار دارد. این گیاه دارای ساقه ای با ظاهر تقریباً استوانه ای به ارتفاع ۱۰ تا ۱۵ سانتی متر است. نعنا دارای ریزوم و بن رونده است. برگ های بیضوی به درازای ۴ تا ۷ سانتی متر و به عرض ۲ تا ۳ سانتی متر دارد که معمولاً دارای دمبرگ کوتاه یا فاقد آن هستند. پهنک در قاعده قلبی شکل است و برگها به صورت متقابل بر روی ساقه قرار گرفته اند. گلها نرماده و به صورت دسته های فراهم به رنگ مایل به بنفش در کناره برگ ها دیده می شوند و ظاهری سنبله مانند را ایجاد می کنند(۱۳). خالواش قرنیا در طب گیاهی استفاده می شود، و بعنوان یک تسکین دهنده گوارشی (افزایش ترشح شیرهای گوارشی) و همچنین باعث انقباض عضلات رحم می شود به همین دلیل برای زنان باردار تجویز نمی گردد. این گیاه ضد نفخ ضد اسهال- معرق است و چای ساخته شده از آن بطور سنتی در درمان تب- سردرد- اختلالات گوارشی و شکایات قاعدگی و نیز در درمان آگزما و بیماری مثل نقرس و روماتیسم بکار می رود. اسانس برگ این گیاه دارای خاصیت ضد عفونی کننده می باشد ولی در دوز بالا سمی است (۱۴).

اسانس و عصاره گیاهان آویشن شیرازی و خالواش بعنوان مواد طبیعی محافظت کننده مواد غذایی و داروهای افزایش دهنده سلامتی مطرح هستند و اکثراً ترکیبات آنها با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می کنند (۱۵) و لذا هدف از این مطالعه، مقایسه اثر غلظت اسانس های گیاه آویشن شیرازی و خالواش به تنهایی با داروی نیستاتین بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط *in vitro* و مقایسه آن با سوش استاندارد می باشد.

مواد و روش

تهیه اسانس از گیاه آویشن شیرازی و خالواش: جهت تهیه اسانس از گیاه آویشن شیرازی و خالواش، ابتدا گیاه را در سایه خشک، و بوسیله آسیاب پودر کرده و بمقدار ۵۰ گرم از گیاه خشک پودر شده همراه با ۷۰۰ سی سی (میلی لیتر) آب مقطر در یک بالن ریخته و بمدت ۳ ساعت در دستگاه کلونجر با سرعت تقطیر یک میلی لیتر در دقیقه اسانس گیری می نماییم.

سپس ترکیب اسانسها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی / طیف سنجی جرمی (GC/MS) مشخص میشود و حداقل غلظت باز دارندگی MIC و کشندگی MBC این اسانسها را با رقت های مختلف را بر روی کاندیدا آلبیکنس در آزمایشگاه با روش رقت سازی و انتشار بررسی می نماییم.

اصول کار بر اساس روش استاندارد میکرو دایلوژن است. در اینجا ابتدا از سوسپانسیون تهیه شده از کشت تازه کاندیدا ۲۴-۴۸ ساعته در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر به کدورت معادل نیم مک فارلند (۵×۱۰^۶-۱×۱۰^۶) با استفاده از سوپ پنبه ای استریل، سطح پلیت های آگار را بطور یکنواخت تلقیح کرده و سپس از رقت های مختلف تهیه شده از هر اسانس به مقدار ۳۰

میکرولیترو روی دیسک های بلانک که روی پلت گذاشته ریخته و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت انکوبه کرده و پس از این زمان، تشکیل منطقه عدم رشد در اطراف دیسک ها رو اندازه و نتایج را مورد بررسی قرار داد.

پس از رقیق کردن اسانس ۱۰ درصد و مخلوط یک به یک آنها و داروی نیستاتین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) دو گیاه و مخلوط یک به یک آنها در مقابل قارچ های کاندیدا آلبیکنس جدا شده تعیین می گردد.

تهیه نمونه: در این بررسی از ۶۰ نفر نمونه گیری میشود: در ابتدا جهت زنان مشکوک به واژینیت که باردار نباشند پرسشنامه ای تکمیل میگردد و سؤالی شامل: سن-شغل-میزان تحصیلات-علایم بیماری (خارش-سوزش-ترشح...)...پرسیده میشود.

جهت گرفتن نمونه بیمار را در وضعیت لیتوتومی قرار داده و توسط سوپ استریل از ترشحات آنها نمونه برداری کرده و سوپ را (۱-درون لوله های درپیچ دار حاوی ۵/سی سی نرمالین سالین قرار می دهیم ۲-کشت مستقیم بر روی سابروز دکستروز حاوی کلرامفنیکل می دهیم).

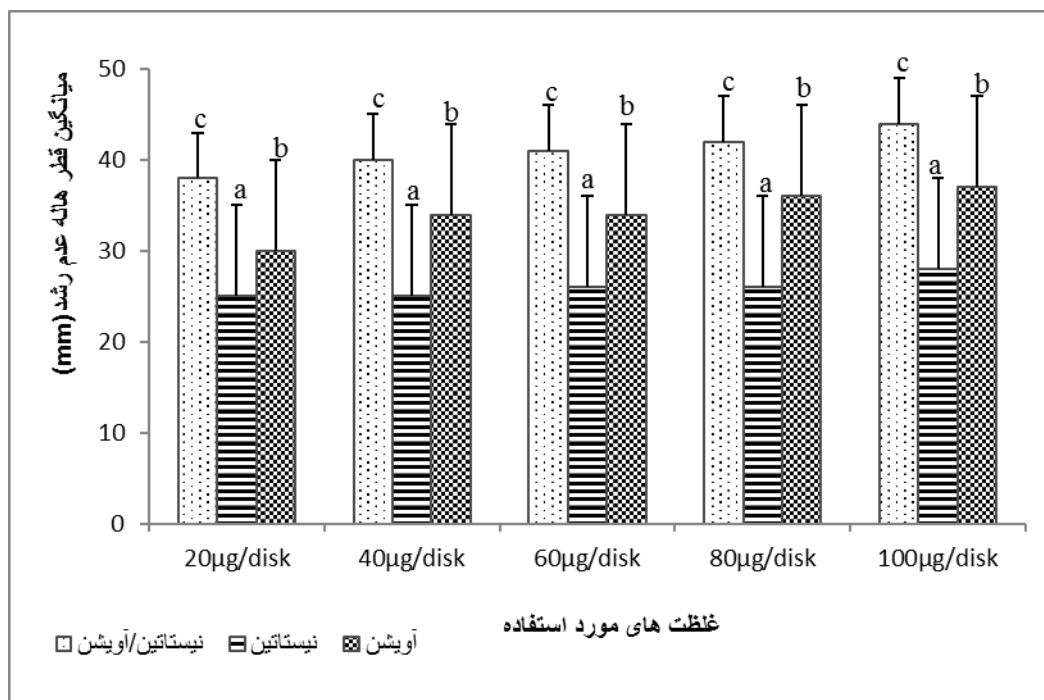
سپس نمونه را بعد از کشت بر روی محیط سابروز دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل، بمدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه کرده، سپس با به بکارگیری تست های مرفولوژی (رنگامیزی گرم جهت مشاهده وجود مخمر دارای جوانه و سودوهایف)- ماکرومیکروسکوپی -توانایی تولید لوله زایا در سرم و کشت بر محیط کروم آگار بمدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه، (ایجاد رنگهای مختلف جهت افتراق کاندیداهای مختلف) در نهایت می توان گونه آلبیکنس را از غیر آلبیکنس جدا نمود.

داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۷ و روش آماری تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه زوج ها (Paired Samples Test) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی دار در همه این حالات $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفته و نمودارهای میانگین به صورت $Mean \pm SEM$ نمایش داده شد.

نتایج

نمودار ۱-۱ : نمودار میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-آویشن، نیستاتین و آویشن

بر اساس نتایج به دست آمده میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد گیاه آویشن شیرازی نسبت به داروی نیستاتین دارای اختلاف معنی داری در سطح ($p \leq 0.05$) می باشد. همچنین میزان هاله عدم رشد ترکیب نیستاتین و آویشن شیرازی نسبت به آویشن شیرازی دارای اختلاف معنی داری در سطح ($p \leq 0.05$) می باشند.



نمودار ۱-۱: نمودار میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-آویشن، نیستاتین و آویشن

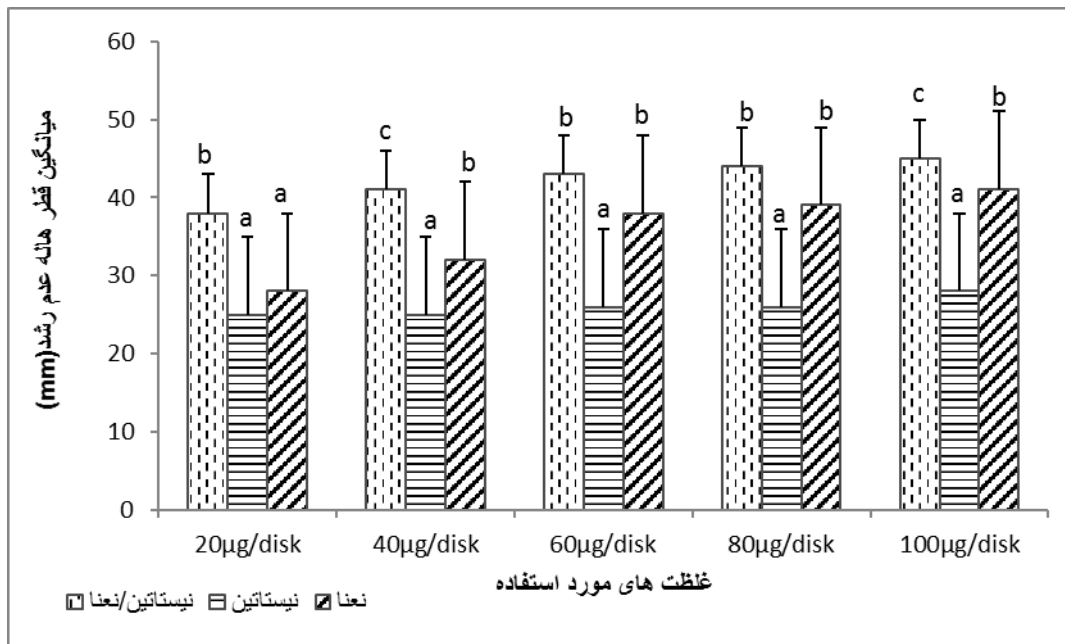
اختلاف معنادار بین تمامی غلظت‌ها وجود دارد ($p \leq 0.05$).

جدول ۱-۱: میانگین تاثیر ترکیب یک به یک اسانس آویشن با نیستاتین (Mg/disk)

		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
غلظت نیستاتین						
غلظت آویشن						
هاله عدم رشد (mm)	حالت ترکیبی	۳۸	۴۰	۴۱	۴۲	۴۴
	نیستاتین به تنهایی	۲۵	۲۵	۲۶	۲۶	۲۸
	آویشن به تنهایی	۳۰	۳۴	۳۴	۳۶	۳۷

نمودار ۱-۲: میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین/خالواش، نیستاتین و خالواش

بر اساس نتایج به دست آمده میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد گیاه خالواش نسبت به داروی نیستاتین دارای اختلاف معنی داری در سطح $(p \leq 0.05)$ می باشد. همچنین میزان هاله عدم رشد ترکیب نیستاتین و خالواش نسبت به خالواش دارای اختلاف معنی داری در سطح $(p \leq 0.05)$ می باشند.

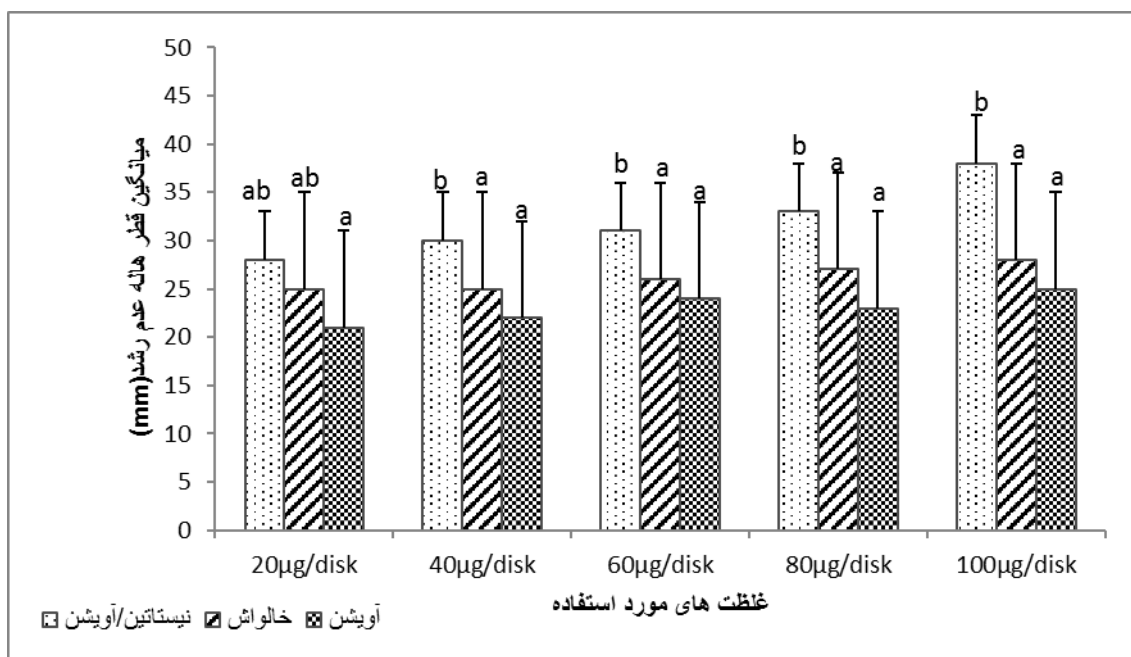


جدول ۱-۲: میانگین تاثیر ترکیب یک به یک اساس خالواش با نیستاتین (Mg/disk)

غلظت نیستاتین		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
غلظت خالواش		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
هاله عدم رشد (mm)	حالت ترکیبی	۳۸	۴۱	۴۳	۴۴	۴۵
	نیستاتین به تنهایی	۲۵	۲۵	۲۶	۲۶	۲۸
	خالواش به تنهایی	۲۸	۳۲	۳۸	۳۹	۴۱

نمودار ۱-۳: میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین/آویشن، آویشن و خالواش

بر اساس نتایج به دست آمده میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد خالواش نسبت به آویشن شیرازی دارای اختلاف معنی داری در سطح (p≤0.05) می باشد. همچنین میزان هاله عدم رشد ترکیب داروی نیستاتین و آویشن نسبت به خالواش دارای اختلاف معنی داری در سطح (p≤0.05) می باشند.



جدول ۱-۳: میانگین تاثیر ترکیب یک به یک اسانس خالواش با آویشن (Mg/disk)

		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
غلظت نیستاتین						
غلظت آویشن		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
هاله عدم رشد (mm)	حالت ترکیبی	۲۸	۳۰	۳۱	۳۳	۳۸
	خالواش به تنهایی	۲۵	۲۵	۲۶	۲۷	۲۸
	آویشن به تنهایی	۲۱	۲۲	۲۴	۲۳	۲۵

بحث

از جمله میکروارگانسیم های فرصت طلبی که امروزه باعث آلودگی وسایل پزشکی و بروز عفونت های شایع بیمارستانی، به خصوص در افراد بستری شده به مدت طولانی می شوند، می توان کاندیدا آلبیکنس را نام برد. این قارچ به علت خصوصیات فیزیولوژیک ویژه، می تواند با آلودگی وسایل پزشکی مانند سوندهای ادراری و کاناترهای درون رگی و دستگاه های مصنوعی استنشاقی، عفونت های شدید و مرگباری را به خصوص در افرادی که جراحی و یا در اثر سوختگی در بیمارستان بستری شده اند، ایجاد نماید (۱۶). از دلایل مهم ایجاد بیماری واژینیت کاندیدایی عودکننده، حذف ناقص کاندیدا از واژن پس از درمان ضدقارچی است، هر چند ممکن است علایم بالینی و التهابات بیمار کم شود، اما ارگانسیم به تعداد کم در واژن می ماند و منجر به ناقل شدن بیمار می گردد (۱۷). عفونت های کاندیدا باید درمان شوند؛ زیرا ممکن است در بیماران نوتروپنیک و نقص ایمنی، انتشار یابند. روش درمانی چنین عفونت هایی یک چالش بزرگ است؛ زیرا مقاومت پاتوژن ها نسبت به تعدادی از داروها یی که مورد استفاده وسیع هستند؛ افزایش یافته است (۱۸).

مشکلات همراه با درمان و مدیریت عفونت های کاندیدا، کشف عوامل ضدقارچی جدید به منظور گسترده تر کردن طیف فعالیت علیه کاندیدا را ضروری می سازد. فرآورده های طبیعی مشتق شده از گیاهان ممکن است به صورت بالقوه منجر به ترکیبات جدید شوند که می تواند سبب مهار رشد این قارچ ها شود (۱۹).

در مطالعه حاضر تاثیر مهاری اسانس گیاه آویشن شیرای و خالواش بر سویه بومی کاندیدا آلبیکنس مورد مطالعه قرار گرفته است .

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه اسانس گیاهان آویشن و خالواش دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی هستند . نتایج بدست آمده از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد نشانگر این است که اسانس این دو گیاه دارای اثر ضد باکتریایی بیشتری در مقایسه با داروی نیستاتین می باشند و اسانس گیاه خالواش نیز دارای اثر ضد باکتریایی قوی تری نسبت به اسانس گیاه آویشن می باشد.

فعالیت های ضدقارچی آویشن به وسیله محققین متعدد به اثبات رسیده است (۲۰). در مطالعه اکبری فعالیت ضدقارچی آویشن علیه ایزوله های کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به فلوکونازول بررسی و نتایج نشان داد که آویشن می تواند از رشد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی ممانعت کند که بابت این موضوع از این تحقیق هم خوانی دارد (۲۱).

بر اساس نتایج مطالعه ای که توسط Zia و همکاران در سال ۲۰۱۴ تحت عنوان مقایسه اثر عصاره آویشن و مورت با نیستاتین بر مهار رشد کاندیدا آلبیکنس صورت پذیرفت، می توان از عصاره آویشن در مقایسه با نیستاتین به عنوان یک داروی ضدقارچی در درمان کاندیدیازیس می تواند مورد استفاده قرار گیرد؛ علاوه بر این بر طبق این مطالعه با کاهش غلظت آویشن

در محیط کشت میزان مشاهده کلنی های حاصل از گسترش رقت های مختلف سوسپانسیون کاندیدا آلبیکنس افزایش یافت . به طوری که با کاهش تعداد سلول های مخمری در سوسپانسیون یا به عبارتی افزایش رقت سوسپانسیون مخمری تعداد کلنی های رشد یافته در محیط های کشت کاهش نشان داد که با نتایج این مطالعه هم سو می باشد (۲۲). علاوه بر این نتایج حاصل از مطالعات Esfandiary و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان داد که آویشن شیرازی دارای فعالیت ضد قارچی بالایی می باشد که این به علت وجود ترکیبات موثر این گیاه دارویی است (۲۳).

در مطالعه ی دیگری در این خصوص که توسط Jafari و همکارانش در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت، اسانس آویشن موجب حذف قارچ کاندیدا به طور موثر تر از داروی نیستاتین شده است که با نتایج به دست آمده با مطالعه ما همخوانی دارد (۲۴).

Abu-Shanab و همکارانش در سال ۲۰۰۶ اثر ضد میکروبی عصاره خالواش را علیه استافیلوکوکوسهای مقاوم به متیسیلین بررسی کردند و نشان دادند هم عصاره آبی و هم عصاره الکلی این گیاه بر روی این قارچ ها موثر می باشد (۲۵). Pietrelli و همکارانش نیز طی مطالعات خود در سال ۲۰۱۱، فعالیت ضد قارچی اسانس خالواش را در مدل عفونت کاندیدیایی واژن در شرایط *in vitro* و *in vivo* بررسی کرده و اثبات کردند که این گیاه دارای قدرت ضد قارچی بالایی می باشد (۲۶). نتایج به دست آمده از این تحقیقات با نتایج مطالعه حاضر ، مشترک می باشد.

بر اساس نتایج تحقیقات Ghazghazia و همکاران در سال ۲۰۱۳، اسانس *M. pulegium* در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها از جمله کاندیدا آلبیکنس دارای فعالیت ضد قارچی که قابل مقایسه با داروهای استاندارد می باشد (۲۷). علاوه بر این در مطالعه دیگری، oragnirt و همکارانش در سال ۲۰۱۴ به بررسی اثر اسانس خالواش به تنهایی و ترکیب با داروهای دیگر بر رشد کاندیدا آلبیکنس پرداخته و بر اساس نتایج آن اسانس خالواش دارای قدرت ضد قارچی بالاتری نسبت به داروهای شیمیایی می باشد و از آنجایی که بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق نیز اسانس خالواش دارای قدرت ضد قارچی قوی تری نسبت به داروی نیستاتین می باشد ، بنابراین از این نظر ، نتایج این مطالعات همسو با نتایج مطالعه حاضر می باشد (۲۸).

در این بررسی میانگین MIC داروی نیستاتین بر ضد نمونه ی کاندیدا آلبیکنس ۰،۱۲۵ میکروگرم بر لیتر ، میانگین MIC آویشن شیرازی بر ضد نمونه ی کاندیدا آلبیکنس ۱۴،۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر و MIC خالواش بر ضد نمونه ی کاندیدا آلبیکنس ۷،۰۳ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شده است.

با مقایسه MIC نیستاتین با MIC اسانس آویشن شیرازی و خالواش به این نتیجه رسیدیم که اسانس آویشن شیرازی و خالواش بسیار قوی تر از داروی نیستاتین می باشد و در غلظت بسیار کمتری بر روی کاندیدا آلبیکنس اثر مهاری دارد و هم

چنین با مقایسه قطر هاله ی عدم رشد در تست آنتی بیوگرام به این نتیجه دست یافتیم که قطر عدم هاله ی رشد در نیستاتین بسیار کمتر از اسانس آویشن شیرازی و خالواش می باشد که این نیز حاکی از قدرت بالای این اسانس ها می باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که اسانس گیاه خالواش بیشترین خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی را در مقایسه با اسانس های گیاهان دیگر مورد آزمایش دارد . با توجه به این نتایج می توان از اسانس این گیاه و فرآورده های آن برای درمان برخی از عفونت ها استفاده نمود که البته این مسئله تحقیقاتی را بر روی نمونه های حیوانی آزمایشگاهی نیاز دارد . از طرفی با توجه به محدودیت های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی نظیر عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی، نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی از جمله اسانس های این گیاهان دارد و می تواند در کنترل بیماری ها مفید باشد.

منابع

1. Mengistie Z, Woldeamanuel Y, Asrat D, Adera A. , Prevalence of bacterial vaginosis among pregnant women attending antenatal care in Tikur Anbessa University Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes* ,2014,7:822 .
2. Thulkar J, Kriplani A, Agarwal N . Probiotic and metronidazole treatment for recurrent bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2010;108:251Y2
3. Ehrstro'm S, Daroczy K, Rylander E, Samuelsson C, Johannesson U, Anze'n B, et al. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Microbes Infect* 2010;12:691Y9.
4. Ronsani MM, Mores Rymovicz AU, Meira TM, Trindade Grégio AM, Guariza Filho O, Tanaka OM, Ribeiro Rosa EA. Microb Pathog. Virulence modulation of *Candida albicans* biofilms by metal ions commonly released from orthodontic devices. 2011 Dec;51(6):421-5.
5. Begnami AF, Duarte MCT, Furletti V, Rehder VLG. Antimicrobial Potential of *Coriandrum sativum* L. against different *Candida* species in vitro. *Food Chemistry*. 2010; 118(1): 74-77.
6. Zarei Mahmoudabadi A. [Antifungal Drugs]. 1st. Ahvaz: Ahvaz University of Medical Sciences. 2003; pp: 90-95.

7. Runyoro DK, Ngassapa OD, Matee MI, Joseph CC, Moshi MJ. Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. *J Ethnopharmacol.* 2006 Jun; 106(2):158-65.
8. Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 120-28.
9. Nasrolahi Z, Yadegari MH, Moazeni SM. Antifungal effect green tea polyphenols (*Camellia sinensis*) on *Candida albicans*. *J Med Sci* 2009; 12: 71-77.
10. Naeini A, Khosarvi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal of Medical Mycology.* 2009; 19(3): 168-72.
11. Lahooji A, Mirabolfathy M, Karami Osboo R. Effect of *Zataria multiflora* and *Satureja hortensis* essential oils, Thymol and carvacrol on growth of *Fusarium graminearum* isolates and deoxynivalenol production. *Iran J Pl Path* 2010; 46(1). 37-50 (Persian).
12. Najib- Zadeh T, Yadegari MH, Naghdi Badi HA, Salehnia AN. [Antifungal efficacy of *Myrtus communis* essential oils on oral candidiasis in immunosuppressed rats]. *J Med Plants.* 2011; 2(38): 102-16.
13. Hassanpour H, Khavari-Nejad R, Niknam V, Najafi F, Razavi Kh. Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). *Acta Physiol Plant* 2012; 34: 1537-49
14. Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(7): 1796-800.
15. Chevallier Andrew , *The Encyclopedia of Medicinal Plants: A Practical Reference Guide to over 550 Key Herbs and Their Medicinal Uses Hardcover* ,1996.
16. Patenaude C, Zhang Y, Cormack B, Koehler J, Rao R. Essential role for vacuolar acidification in *Candida albicans* virulence. *J Biol Chem* 2013; 288: 26256_64.
17. Carvalhinho S, Costa AM, Coelho AC, Martins E, Samoio A. Susceptibilities of *Candida albicans* mouth isolates to antifungal agents, essential oils and mouth rinses. *Mycopathologia.* 2012 Jul;174(1):69-76
18. Begnami AF, Duarte MCT, Furletti V, Rehder VLG. Antimicrobial Potential of *Coriandrum sativum* L. against different *Candida* species in vitro. *Food Chemistry.* 2010; 118(1): 74-77.

19. Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Valentin E, Bakhrouf A. Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010 Jan;29(1):81-8.
20. Jordan M, Martinez R, Goodner K, Baldwin E, Sotomayor J. Seasonal variation of *thymus hyemalis* Lange and Spanish *thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial crops and products*. 2006 Nov;24(3): 253-63.
21. Akbari S. [Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. Against fluconazol-resistant and susceptible *Candida albicans* isolates]. *J Med Plants*. 2007; 6(1): 53-62. [Article in Persian].
22. Zia MA, Bayat, Khalkhali, Saffari S, Effect of *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis* and nystatin on *Candida albicans*, *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, Winter 2014, vol 15, no 4.
23. Esfandiary Mohammad Ali, Mahmoudib Shahram, Zaini Farideh et al., In vitro antifungal activity of *Zataria multiflora* essential oil, fluconazole and ciclopirox olamine against non-*albicans Candida* species isolated from recurrent vulvovaginal candidiasis, *Journal of Mycology Research*, 2015, Vol 2, No 1, March, Page 3-8.
24. Jafari Abbas Ali, Abbas Falah Tafti, Seyed Mehdi Hoseiny, Antifungal Effect of *Zataria multiflora* Essence on Experimentally Contaminated Acryl Resin Plates With *Candida albicans*, *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 2015, 17(1): e16552.
25. Abu-Shanab, B., Adwan, G., Jarrar, N., Abu-hijleh, A. and Adwan, K., Antibacterial activity of four plant extracts used in Palestine in Folkloric Medicine against Methicillin-Resistance *Staphylococcus aureus*. *Turkish Journal of Biology*, 2006, 30: 195-198.
26. Pietrella, D.; Angiolella, L.; Vavala, E.; Rachini, A.; Mondello, F.; Ragno, R.; Bistoni, F.; Vecchiarelli, A. Beneficial effect of *Mentha pulegium* essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by real-time monitoring of infection. *BMC Complement Altern. Med*. 2011.
27. Ghazghazi H, A Chedia, M Weslati, Chemical Composition and in vitro Antimicrobial Activities of *Mentha pulegium* Leaves Extracts against Foodborne Pathogens, *Journal of Food Safety* 33, 2013, 239–246

28.Stringaro, A.; Vavala, E.; Colone, M.; Pepi, F.; Mignogna, G.; Garzoli, S.; Cecchetti, S.; Ragno, R.; Angiolella, L. Effects of *Mentha suaveolens* essential oil alone or in combination with other drugs in *Candida albicans*. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2014.

Abstract:

The comparison of concentration in-vitro effects of *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* Essential Oil plants Composition with one of them Nystatin on *Candida albicans* Isolates of Vaginal Candidiasis and comparing their with standard

Background & Objective: Candidal vulvovaginitis occurs in female genital by the over growth of candida especially candida albicans. Noticing the daily increase of drug resistance, attempts should be made for providing anti-fungal and anti-microbial drugs. This study is to determine the comparison of concentration in-vitro effects of *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* Essential Oil plants Composition with one of them Nystatin on *Candida albicans* Isolates of Vaginal Candidiasis and comparing their with standard.

Materials and Methods : This experimental study assessed the antimicrobial effect of 2 plant extracts on *Candida Albicans*. *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* were selected based on previous researches and traditional usel. On each plate, one plant extract disc, one nystatin disc (as positive control) and one blank disc (as negative controls) were placed. The mean diameter of non-growth halo around each plant extract was compared with the mean diameter of non-growth halo of positive control discs after 24 hours. Data analysis was done by ANOVA statistical test.

Results: There was significant different between the diameter of non-growth halo around the plant extracts and nystation discs. ($p < 0.05$).

Conclusion: *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* exhibited antifungal effects on *C. Albicans* But the effect of *Mentha pulegium* on the lack of growth of *Candida Albicans* strains was greater than that in *Zataria multiflora* Boiss.

Key word: Antifungal, *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil , *Mentha pulegium* Essential Oil, Nystatin .