

ارزیابی اثرات ضد قارچی زنیان و پروپولیس بر روی ایزوله های

میکروسپوروم کنیس

نکیسا سهرابی حق‌دوست*^۱، نازیلا متدین^۱

چکیده

میکروسپوروم کنیس از اصلی ترین عوامل ایجاد کننده درماتوفیتوزیس در گربه ها و سگ ها بوده و معمولترین عامل عفونت در انسان نیز محسوب می شود. مشاهده مشکلاتی در کاربرد داروهای کلاسیک و افزایش روز افزون استفاده از داروهای گیاهی، سبب جایگزینی ترکیبات ضد قارچی موثر با منشا گیاهی به جای داروهای سنتتیک شده است که در بهبود بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس حائز اهمیت فراوان است. از این نظر در تحقیق حاضر به طریق برون تنی اثرات ضد قارچی اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس بر روی ۲۵ جدایه میکروسپوروم کنیس به روش ماکرودایلوژن برات بررسی گردید. همچنین اثر آنها بر روی تغییرات ماکروکونیدی های این قارچ ها به روش میکروسکوپی نیز بررسی شد. نتایج اثرات ضد قارچی ترکیبات مذکور نشان داد که کمترین غلظت مهار کننده اسانس زنیان در محدوده ۵ μg/ml - ۳۰/۰ - ۰/۲ و در مورد عصاره الکلی پروپولیس در محدوده ۴۸۸/۲ - ۰/۲ مشاهده گردید. همچنین در بررسی میکروسکوپی ماکروکونیدی های قارچ ها تغییر شکل آنها تحت تاثیر اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس مشاهده گردید. بنابراین نتایج حاصله نشان داد، اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس هر دو اثر مهاری بر روی رشد تمامی جدایه های قارچی مورد آزمایش دارد.

واژگان کلیدی: میکروسپوروم کنیس، اثر ضد قارچی، عصاره الکلی بره موم، اسانس زنیان.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۱

مقدمه

درماتوفیتوزیس یکی از رایج ترین بیماری های عفونی قارچی است که توسط یک گروه منحصر به فرد از قارچ های کراتین دوست و رشته ای سطحی تحت عنوان درماتوفیتها ایجاد میشود. میکروسپوروم کنیس یکی از عوامل درماتوفیتی حیوان دوست بوده که عامل کچلی در گربه و سگ و عامل کچلی پوست بی مو و مودار در انسان و حیوان می باشد (۱). (۲). وفور روز افزون بیماری های قارچی و عدم درمان مناسب، اثرات جانبی گسترده به ویژه در مصرف مکرر و

طولانی بودن مدت درمان، همچنین گرایش مردم به استفاده از داروهایی با منشا طبیعی، دلایلی برای تحقیق در مورد داروهای ثمر بخش و کم عارضه گیاهی می باشند (۳). در این میان اثرات ضد قارچی اسانس زنیان و عصاره الکلی بره موم که ماده موثر آن به ترتیب تیمول و فلاونوئید می باشد، به اثبات رسیده است (۴). زنیان با نام علمی *Carum copticum* یا *Trachyspermum copticum* از خانواده چتریان (Apiaceae) است. اهمیت گیاه زنیان به علت اسانس و ترکیبات موجود در آن مانند تیمول، ترپینن، فلاندرین، گروه پینن، بوده که عمدتاً از مونوترپن های اکسیژنه هستند (۵).

پروپولیس یک محصول طبیعی مشتق از بره موم تجمع یافته توسط زنبور عسل می باشد. بره موم از ۳۰٪ موم، ۵۰٪ صمغ (عمدتاً فلاونوئیدها و اسید فنلیک) ۱۰٪ چربی های ضروری، آروماتیک، مواد معطر گیاهی و ۵۰٪ پولن تشکیل شده است. فعالیت بیولوژیک پروپولیس به طور عمده به ترکیبات فنولی آن نظیر فلاونوئیدها وابسته است (۶). پلی فنل ها به دلیل قابلیت مهار انواع آنزیم ها از نظر فارماکولوژی جز فعال بره موم بوده و غلظت بالای فلاونوئیدها فعالیت ضد میکروبی گسترده ای را نشان داده است (۷). با توجه به لزوم مطالعات گسترده تر در زمینه معرفی داروهایی با منشا گیاهی، در تحقیق حاضر اثرات ضد قارچی اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس، بر روی ۲۵ جدایه میکروسپوروم کنیس همچنین تغییر شکل ماکروکونیدی های این قارچ ها تحت تیمار اسانس و عصاره نیز بررسی شد.

۱- گروه باتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (sohrabinakisa9@gmail.com)

مواد و روش کار

تهیه عصاره الکی پروپولیس از بره بوم

بره بوم مورد بررسی از کندوهای عسل موجود در کوهستان های استان مازندران تهیه شد. نمونه ها تحت شرایط سردخانه ۴-۸ درجه سانتی گراد ظرف مدت ۱۲ ساعت به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردیدند. جهت تهیه عصاره پروپولیس از بره بوم، ابتدا قطعات بزرگ بره بوم با استفاده از چاقوی استریل کاملاً خرد شده و سپس میزان ۲۵ گرم از آن با ۲۵۰ میلی لیتر محلول اتانول ۸۰٪ تهیه شده به خوبی مخلوط شده محلول حاصله به مدت دو روز در دمای اتاق بر روی استیرر با ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت (۸). در نهایت با استفاده از کاغذ صافی واتمن محلول حاصله دو بار صاف شده و با استفاده از دستگاه روتاری الکل تبخیر شده و عصاره خالص به دست آمده جهت انجام آزمایشات در دمای یخچال قرار گرفت (۹).

تهیه اسانس زنیان

اسانس زنیان از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه گردید.

آنالیز شیمیایی عصاره الکی پروپولیس و زنیان با استفاده

از GC-MS

جهت انجام آنالیز شیمیایی عصاره الکی از دستگاه GC-MS (Agilent، آمریکا) استفاده شد. طول ستون موئینه استفاده شده ۳۵ متر و قطر داخلی آن ۰/۲۳ میلی متر بود. دمای ابتدایی دستگاه ۱۱۰ درجه و سرعت افزایش دما ۲۵ درجه در دقیقه بود و سرعت نهایی استفاده شده در دستگاه به ۲۴۰ درجه سانتی گراد رسید. گاز حامل استفاده شده در دستگاه از جنس هلیوم و با سرعت ۱ ml/min و حجم تزریقی ۱ میلی لیتر بود. در نهایت شاخص بازداری هر ترکیب با زمان بازداری هیدروکربن نرمال (C8-C40) تزریق شده با تزریق

عصاره الکی بره بوم و پروپولیس مقایسه و محاسبه شده و با مقایسه آنها با منابع کتابخانه هر ترکیب شناسایی شد.

تست حساسیت ضد قارچی

قارچ های مورد مطالعه

۲۵ جدایه میکروسپوروم کنیس از کلکسیون قارچی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و همچنین یک نمونه سوش استاندارد میکروسپوروم کنیس (PTCC 5069) از مرکز کلکسیون قارچها وابسته به سازمان پژوهشهای علمی صنعتی تهیه گردید.

تهیه سوسپانسیون قارچی استاندارد

جدایه های قارچ مورد نظر در محیط کشت PDA (مرک آلمان) به مدت ۷ روز در آن ۳۰ درجه سانتی گراد رشد داده شدند. پس از ۷ روز میزان ۱ سی سی از محلول PST (حاوی ۱۰۰ سی سی سرم فیزیولوژی + ۱۰ میلی لیتر توتین ۸۰) به روی محیط کشت اضافه شد و با سواب استریل کاملاً سطح اسپورها شستشو داده شده و سوسپانسیون قارچی را به مدت ۱۵ ثانیه کاملاً ورتکس نموده و ۱۵-۲۰ دقیقه در این شرایط قرار داده تا میسلیم ها ته نشین شده و اسپورها در محلول باقی بمانند. سپس مایع رویی را برداشته و به یک لوله استریل منتقل کرده و با استفاده از لام هماسیتومتری و روش اسپکتروفتومتری شمارش سلولی انجام گرفت و در نهایت غلظت $10^8 \times 1/5$ سلول قارچی برای انجام آزمایش استفاده شد (۶).

آزمون تعیین حساسیت جدایه های میکروسپوروم کنیس

جهت سنجش کمترین غلظت مهار کننده رشد (MIC) از روش استاندارد CLSI M38_A2 ماکرو دایلوژن برات استفاده شد. بدین ترتیب که از محیط کشت سابورد کستروز برات (مرک آلمان) به عنوان محیط کشت پایه استفاده شد و کلرامفنیکل جهت جلوگیری از آلودگی به محیط کشت اضافه گردید. برای هر نمونه قارچ ۱۲ عدد لوله حاوی

جدول ۱- ترکیبات موجود در پروپولیس بر حسب در صد

<i>Compounds</i>	<i>Northern propoli</i>	<i>Southern propolis</i>
Aliphatic acids		
<i>Octadecanoic acid</i>	۰/۱	۰/۲
<i>Oleic acid</i>	۰/۵	۰/۸
<i>Hexadecanoic acid</i>	۰	۰/۵
<i>Butandioic acid</i>	۰/۲	۰/۲
Aromatic acids		
<i>Caffeic acid</i>	۱/۶	۲/۲
<i>Ferulic acid</i>	۰/۳	۰/۲
<i>Isoferulic acid</i>	۱/۱	۰/۱
<i>Cinnamic acid</i>	۰/۶	۰/۴
Other acid		
<i>Phenolic acid</i>	۷۸/۲	۸۹/۸
Sugars		
<i>D- Glucose</i>	۰	۰/۵
<i>D- Xylose</i>	۰/۶	۰/۴
<i>D- Mannitol</i>	۰/۳	۰
<i>Glucopyranose</i>	۲/۱	۰/۶
<i>D- Glucitol</i>	۰/۳	۰/۳
<i>A-D- Galactopyranose</i>	۰	۱
<i>Mannose</i>	۰/۶	۰
<i>Talose</i>	۰/۹	۰
<i>Galactitole</i>	۰/۲	۰
<i>Erythritol</i>	۰/۱	۰/۴
<i>Threitol</i>	۰/۵	۰/۳
Triterpene		
<i>12- β-hydroxypicrasan-3-</i>	۰	۰/۳
Sesquiterpene		
<i>Levomenol</i>	۰	۰/۲
Quinoline		
<i>3-Quinoline carboxamine</i>	۰/۶	۰

محیط کشت سابورودکستروز براث و یک لوله حاوی محیط کشت به عنوان کنترل منفی و یک لوله حاوی محیط و سوسپانسیون قارچی به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. جهت تعیین MIC ۵۰۰ میکرولیتر محیط کشت سابورودکستروز براث به تمام لوله ها اضافه شد و سپس ۵۰۰ میکرولیتر اسانس زنیان و عصاره پروپولیس جداگانه به اولین لوله اضافه کرده و توسط سمپلر مخلوط شد. در ادامه از هر لوله ۵۰۰ میلی لیتر برداشته و به لوله بعدی اضافه گردید و از لوله آخر ۵۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد. در نهایت پس از ۶ روز قرارگیری در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، اولین لوله ای که در آن کدورت و رشد قارچ دیده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. جهت تعیین MFC، از لوله MIC و لوله با غلظت بالاتر اسانس و عصاره ۵۰ میلی لیتر برداشته و به محیط کشت PDA اضافه کرده و به مدت یک هفته انکوبه گردید. در نهایت هر رقتی که در هر پلیت مانع رشد قارچی شده باشد و یا کمتر از ۳ کلنی رشد کرده باشد به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

نتایج

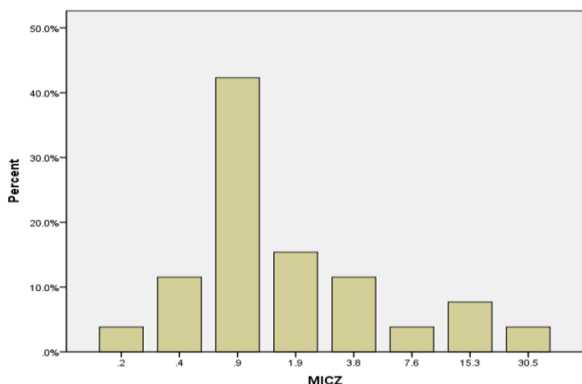
نتایج GC-MS عصاره الکلی پروپولیس و اسانس زنیان

آنالیز نتایج ترکیبات موجود در عصاره الکلی پروپولیس و اسانس زنیان در جدول ۱ و ۲ به ترتیب نشان داده شده است. تجزیه شیمیایی عصاره الکلی بره موم در این تحقیق نشان داد که فنولیک اسید تقریباً ۸۹/۸٪ ترکیبات را شامل می شود. اسانس زنیان مورد استفاده در این تحقیق از باریج اسانس تهیه شده و آنالیز ترکیبات موجود در آن انجام گردید که مهمترین ترکیب آن تیمول بوده و میزان آن ۴۵/۹۴٪ بوده است.

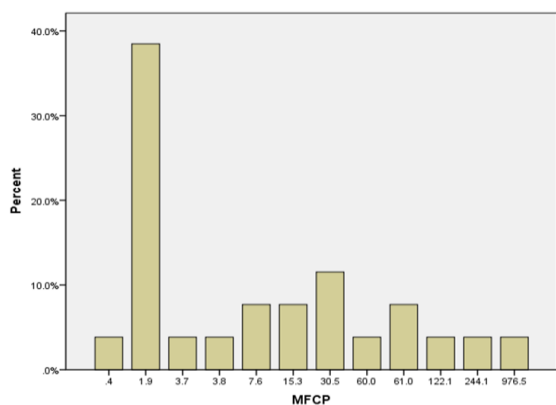
جدول ۲- ترکیبات موجود در اسانس زنیان

No.	Compound	%	No.	Compound	%
۱	Ethanol	۰/۰۳۹	۲۲	Thymol	۴۵/۹۴
۲	Crotonic acid	۰/۰۰۹	۲۳	Ethylene methacrylate	۶/۸۸
۳	alpha-Thujene	۰/۴۴۳	۲۴	Tetradecane	۱/۱۹
۴	alpha-Pinene	۰/۲۸۵	۲۵	Pentadecane	۰/۱۶۸
۵	Camphene	۰/۰۱۳	۲۶	Diethyl phthalate	۰/۱۴۶
۶	beta-Pinene	۱/۹۴۵	۲۷	Hexadecane	۱/۰۷
۷	beta-Myrcene	۰/۷۴۱	۲۸	Heptadecane	۰/۱۴۵
۸	delta-3-Carene	۰/۰۷۳	۲۹	Octadecane	۰/۰۵۴
۹	o-Cymene	۱۹	۳۰	Isopropyl Myristate	۰/۰۳۷
۱۰	beta-Phellendrene	۰/۳۴۸	۳۱	Isobutyl phthalate	۰/۰۴۳
۱۱	1-Limonene	۰/۱۷۹	۳۲	Nonadecane	۰/۱۸۰
۱۲	gamma-Terpinene	۲۰	۳۳	Dibutyl phthalate	۱/۰۲۸
۱۳	Dehydro-p-cymene	۰/۰۱۷	۳۴	Eicosane	۰/۰۳۵
۱۴	alpha-Terpinolene	۰/۰۵۵	۳۵	9-Octadeceneamide	۰/۰۴۴
۱۵	cis-beta-Terpineol	۰/۱۰۷			
۱۶	Linalool L	۰/۰۳۱			
۱۷	4-Terpineol	۰/۱۰۲			
۱۸	cis-Limonene oxide	۰/۶۹۵			
۱۹	Dodecane	۰/۱۸۳			
۲۰	beta-Fenchyl alcohol	۰/۱۲۰			
۲۱	trans-Anethole	۰/۰۷۱			

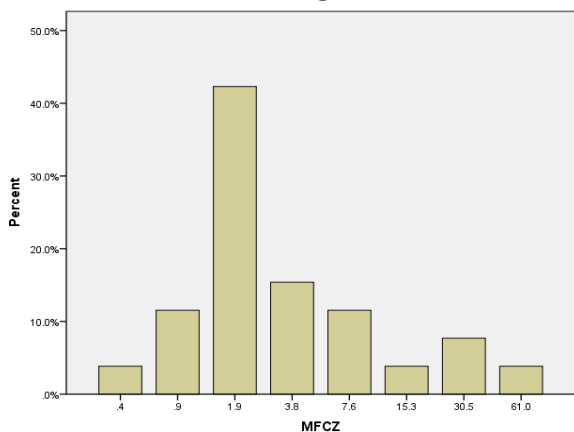
استفاده گردید. بعد از تهیه لام در مجاورت محلول لاکتوفنل بلو، ماکروکنیدیهای دفرمه شده این نمونه ها به وضوح قابل رویت گردید.



نمودار ۲- فراوانی نتایج MIC نمونه‌ها با زنیان



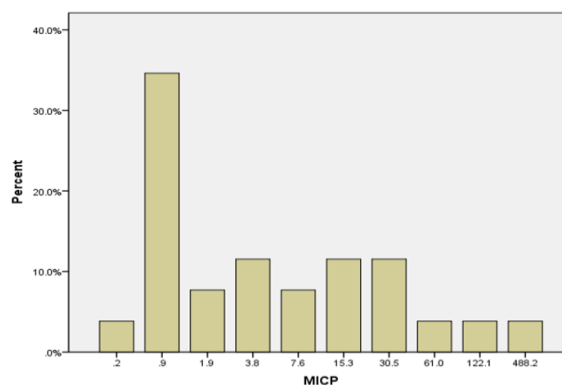
نمودار ۳- فراوانی نتایج MFC نمونه‌ها با پروپولیس



نمودار ۴- فراوانی نتایج MFC نمونه‌ها با زنیان

تست حساسیت دارویی و بررسی میکروسکوپی ماکروکنیدیها

کمترین غلظت مهار کننده رشد در نمونه های قارچ مورد نظر که تحت تاثیر اسانس زنیان قرار گرفته بودند در محدوده $30/5 - 2/0 \mu\text{g/ml}$ و کمترین غلظت مهار کننده رشد عصاره الکلی پروپولیس در محدوده $488/2 - 0/2 \mu\text{g/ml}$ مشاهده گردید. مطابق نمودار ۱ بیشترین میزان فراوانی در آزمون MIC در ارتباط با پروپولیس مربوط به غلظت $0/9 \mu\text{g/ml}$ با $34/6\%$ بود و مطابق نمودار ۲ در آزمون MIC در ارتباط با اسانس زنیان نیز بیشترین میزان فراوانی مربوط به غلظت $0/9 \mu\text{g/ml}$ با $42/3\%$ مشاهده گردید. نتایج آزمون MFC در نمونه های میکروسپوروم کنیس تحت تاثیر اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس به ترتیب در محدوده $61 - 0/4 \mu\text{g/ml}$ و $976/5 - 0/4 \mu\text{g/ml}$ قرار گرفت. همچنین بیشترین میزان فراوانی پروپولیس و زنیان در غلظت $9/1 \mu\text{g/ml}$ با $38/5\%$ و $9/1 \mu\text{g/ml}$ با $42/3\%$ به ترتیب در نمودار ۳ و ۴ مشاهده گردید.

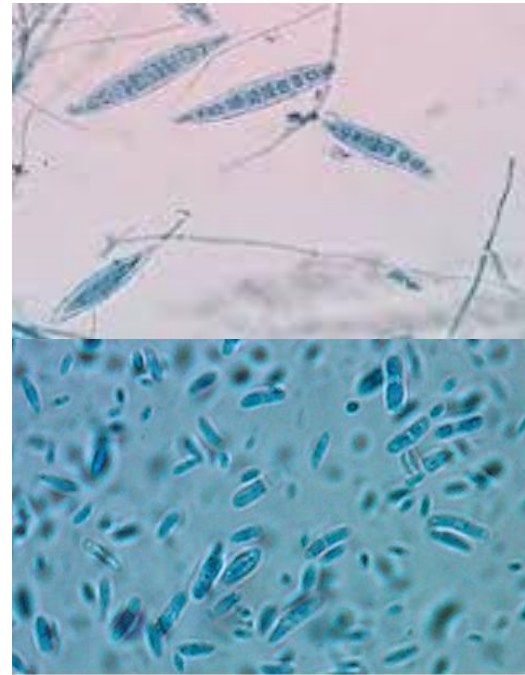


نمودار ۱- فراوانی نتایج MIC نمونه‌ها با پروپولیس

ارزیابی مورفولوژی کنیدی های میکروسپوروم کنیس تحت تاثیر اسانس زنیان و عصاره الکلی بره موم به روش میکروسکوپی

ماکروکنیدی های تحت تیمار اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس نشان از تغییر شکل ماکروکنیدی ها داشت. از کلنی های رشد یافته بر روی پلیت های شاخص MIC و MFC برای بررسی تغییر شکل ماکروکنیدی های میکروسپوروم کنیس

تاثیر بره موم حاصل از کندوهای زنبور عسل آذربایجان غربی را علیه رشد قارچ های درماتوفیت و غیر درماتوفیت بررسی کردند. نتایج نشان داد که MIC بره موم از $500 - 62/5 \mu\text{g/ml}$ در درماتوفیت ها و در مورد قارچ های غیر درماتوفیت از $125 - 62/5 \mu\text{g/ml}$ بود (۸). نتایج بدست آمده از این تحقیق با تحقیق حاضر تفاوت هایی دارد، در تحقیق ما در تعداد زیادی از نمونه ها اثرات خیلی بهتر عصاره الکلی بره موم مشاهده شد و همچنین بر طبق نتایج آماری در غلظت $0/9 \mu\text{g/ml}$ بیشترین فراوانی مشاهده گردید، که 34% نمونه ها را شامل می شد. Soares و همکاران در سال ۲۰۰۰ فعالیت ضد قارچی پروپولیس را بر علیه ایزوله های درماتوفیتی جدا شده از بیماران با کچلی پا را بررسی کردند. میزان MIC پروپولیس از $7/18 \mu\text{g/ml}$ تا $2000 \mu\text{g/ml}$ مشاهده گردید. (۱۱). در تحقیق ما، MIC در غلظت های کمتر از $7/18 \mu\text{g/ml}$ نیز مشاهده گردید. این اختلاف نتایج احتمالا نشان دهنده اثر ضد درماتوفیتی قوی عصاره الکلی بره موم مورد استفاده در تحقیق حاضر می باشد. ترکیب شیمیایی بره موم از نظر کیفی و کمی بسته به پوشش گیاهی هر منطقه متغیر است. همچنین بره موم از تکثیر مولکول DNA جلوگیری کرده و بنابراین به صورت غیر مستقیم مانع تقسیم سلولی در قارچ ها می شود و نیز ثابت شده که خواص ضد قارچی بره موم به طور عمده ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی و اسید سیانیک موجود در آن می باشد (۱۲، ۱۳). نطنزیان و همکاران اثر ضد قارچی اسانس زنیان علیه ایزوله های مقاوم و حساس به فلوکونازول کاندیدا آلبیکنس را بررسی کردند و دریافتند که MIC آن در حدود $0/87 - 0/43 \mu\text{g/ml}$ بوده است در حالیکه تاثیر اسانس در تحقیق ما در رقت های بالاتر از $0/87 \mu\text{g/ml}$ نیز مشاهده گردید (۱۴). Javed و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات ضد قارچی اسانس زنیان بر علیه اپیدرموفایتون فلوکوزوم، میکروسپوروم کنیس و ترایکوفایتون متاگروفایتیس در غلظت $900 \mu\text{g/ml}$ شناسایی شده است و تیمول به عنوان یک ترکیب



نگاره ۱. تصویر میکروسکوپی میکروکنیدی تغییر شکل یافته میکروسپوروم کنیس در نمونه های تیمار با اسانس زنیان و عصاره الکلی بره موم، عکس پایین میکروکنیدی نمونه شاهد میکروسپوروم کنیس.

بحث

در تحقیق حاضر، نتایج آزمون MIC نشان داد که اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس، اثر مهارتی بر روی رشد تمامی گونه های قارچی مورد آزمایش دارد. ولی اختلاف معنی داری بین نتایج تست حساسیت اسانس زنیان و عصاره الکلی پروپولیس مشاهده شد که نشان دهنده تاثیر گذاری بیشتر اسانس زنیان، بر روی نمونه های قارچ مورد نظر دارد. یلفانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ تاثیر فعالیت ضد قارچی پروپولیس را با سویه های کاندیدا آلبیکنس مقاوم به فلوکونازول جدا شده در مبتلایان به بیماران HIV+ بررسی نمود و فعالیت ضد قارچی پروپولیس در محدوده MIC بین $2 - 20 \mu\text{g/ml}$ مشاهده گردید (۱۰). اما در تحقیق حاضر MIC در غلظت های کمتر از $2 \mu\text{g/ml}$ و بیشتر از $20 \mu\text{g/ml}$ هم مشاهده گردید. یافته های این مطالعه با نتایج به دست آمده در مطالعه ما متفاوت بود (۱۰). در مطالعه اوتق و همکاران در سال ۱۳۸۹

- copticum Hiern) seeds. *Journal of Food Science and Technology*. 2000;37(3):277-81.
6. Bankova V, Popova M, Trusheva B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal*. 2014;8(1):28.
 7. Agüero MB, Svetaz L, Baroni V, Lima B, Luna L, Zacchino S, et al. Urban propolis from San Juan province (Argentina): Ethnopharmacological uses and antifungal activity against *Candida* and dermatophytes. *Industrial Crops and Products*. 2014;57:166-73.
 8. Ownagh A, Ebrahimzadeh S, Adibhesam M. Comparative study on the effect of ethanol extract of propolis collected from West Azarbaijan apiaries against dermatophytes and non-dermatophytes fungi. *J Urmia Univ Med Sci*. 2010;21(3):206-14.
 9. Pujirahayu N, Ritonga H, Uslinawaty Z. Properties and flavonoids content in propolis of some extraction method of raw propolis. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014;6:338-40.
 10. Shokri H, Khosravi AR, Yalfani R. Antifungal efficacy of propolis against fluconazole-resistant *Candida glabrata* isolates obtained from women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2011;114(2):158-9.
 11. Soares MMSR, Cury AE. In vitro activity of antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2001;32(2):130-4.
 12. Sforzin JM. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy research*. 2016;30(6):894-905.
 13. Tsai Y-C, Wang Y-H, Liou C-C, Lin Y-C, Huang H, Liu Y-C. Induction of oxidative DNA damage by flavonoids of propolis: its mechanism and implication about antioxidant capacity. *Chemical research in toxicology*. 2011;25(1):191-6.
 14. Natanzian Ghahfarkhi M, Sattari M, Yadegari MH, Goudarzi GR, Saharkhiz MJ. Antifungal activity of essential oil and

ضد سم قارچی در اسانس زنیان شناسایی شد(۲). احتمالاً اختلاف نتایج تست حساسیت اسانس زنیان و پروپولیس، در مطالعات گوناگون، بستگی به نوع گیاه مورد استفاده، متد مورد استفاده برای گرفتن عصاره، نقش حلالها، نوع استرین های استفاده شده، شرایط رشد، نوع محیط کشت، pH، زمان انکوباسیون و درجه حرارت می باشد(۲). با توجه به اثرات ضد قارچی اسانس زنیان و پروپولیس علیه جدایه های میکروسپوروم کنیس، میتوان نتیجه گیری کرد که این دو ماده طبیعی میتوانند برای مطالعات آینده در مورد بیماران درماتوفیتی مفید واقع شوند.

فهرست منابع

1. Rana IS, Rana AS, Rajak RC. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011;42(4):1269-77.
2. Javed S, Shahid AA, Haider MS, Umeera A, Ahmad R, Mushtaq S. Nutritional, phytochemical potential and pharmacological evaluation of *Nigella Sativa* (Kalonji) and *Trachyspermum Ammi* (Ajwain). *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012;6(5):768-75.
3. Sánchez TAC, García PAE, Zamora CIL, Martínez MA, Valencia VP, Orozco AL. Use of propolis for topical treatment of dermatophytosis in dog. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 2014;4(10):239.
4. Falcão SI, Vale N, Cos P, Gomes P, Freire C, Maes L, et al. In vitro evaluation of Portuguese propolis and floral sources for antiprotozoal, antibacterial and antifungal activity. *Phytotherapy research*. 2014;28(3):437-43.
5. Shankaracharya N, Nagalakshmi S, Naik J, Rao L. Studies on chemical and technological aspects of ajowan (*Trachyspermum ammi* (L.) syn. *Carum*



alcoholic extract of *Carum copticum* against
fluconazole-resistant and susceptible

Candida albicans isolated. Pathobiology
Research. 2008;11:0