دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال چهاردهم، شماره‌ی ۵۲
زمستان ۱۴۰۱، صفحات ٦٤-٥٧

مطالعه تاثیر ضد قارچی عصاره‌های هیدروالکلی سه گونه گیاه دارویی تیره نعنائیان از مناطق رویشی مشگین‌شهر علیه ایزوله‌های بالینی کاندیدا آلبیکنس

حجت اقبال*

گروه فیتوشیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
Email: Hojat.eg@gmail.com

مهدی احمدی‌سابق

گروه شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

ندا جهانی

دکترای عمومی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

یوسف جهانی‌جلودار

گروه کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، اردبیل، ایران

ارسال: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۱/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۱

چکیده

کاندیدیازیس عفونت اولیه یا ثانویه‌ای است که به‌طور اعم توسط کاندیدا آلبیکنس ایجاد می‌شود. این قارچ میکروسکوپی جزو میکروارگانیسم-های تشکیل دهنده فلور میکروبی بدن هستند. به‌هم خوردن تعادل محیط زیست فلور میکروبی بدن، سبب رشد بی‌رویه این قارچ می‌شود که در مواردی باعث ایجاد عفونت‌های شدید مخاطی و جلدی، کاندیدیازیس واژن، برفک دهان یا سایر بیماری‌های قارچی می‌گردد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که گیاهان دارویی می‌توانند با اطمینان و به‌طور موفقیت‌آمیز در درمان بیماری‌های باکتریایی بدون بروز اثرات مضر و مقاومت‌های دارویی به‌کار برده شوند به‌همین منظور مطالعه حاضر با هدف پیش‌گیری و درمان عفونت‌های کاندیدایی با استفاده از گیاهان دارویی انجام شده است. گیاهان مورد بررسی در این تحقیق از مناطق مشخص شده جمع‌آوری شده و خشک شدند. سپس به‌وسیله آسیاب برقی و با استفاده از الک قسمت‌های هوایی گیاه به‌صورت پودر تهیه شده و عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام گرفت. جهت انجام آزمایش از ۷ نوع عصاره شامل عصاره هیدروالکلی پونه، عصاره هیدروالکلی نعناع، عصاره هیدروالکلی مرزه، مخلوط دوگانه عصاره‌های پونه-نعناع، پونه-مرزه، مرزه-نعناع و مخلوط سه‌گانه عصاره هیدروالکلی سه گیاه پونه، نعناع و مرزه استفاده شد. عصاره‌های مورد نظر را با پروپیلن گلیکول رقیق و علاوه بر عصاره خالص، غلظت‌های mg/ml ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ از عصاره تهیه شد و جهت مطالعه اثر ممانعتی عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه و مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانه عصاره‌های این سه گیاه بر روی رشد کاندید آلبیکنس از روش‌های آنتی‌بیوگرم و MIC استفاده گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مخلوط سه‌گانه‌ی عصاره‌های پونه، نعناع و مرزه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با قطر هاله ۳۲/۲ میلی‌متر دارای بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد و عصاره هیدروالکلی نعناع با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ایجاد قطر هاله ۷ میلی‌متری کم‌ترین قطر هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکنس را به‌خود اختصاص می‌دهد. هم‌چنین مخلوط سه‌گانه پونه، نعناع نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی نشان داد که کم‌ترین میزان غلظت مهارکنندگی مربوط به آنتی‌بیوتیک فلوکونازول و مخلوط سه‌گانه عصاره هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه و کم‌ترین آن مربوط به عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی نعناع می‌باشد.

کلیدواژه: گیاهان دارویی، پونه، عصاره هیدروالکلی، ضدقارچی، دیسک دیفیوژن، کاندیدا آلبیکنس.

مقدمه

کاندیدیازیس از مهم‌ترین و شایع‌ترین، بیماری‌های قارچی فرصت‌طلب در انسان است، که به‌صورت حاد، تحت حاد و مزمن در پوست، ناخن، مخاط واژن، ریه و دستگاه گوارش به‌صورت سیستمیک همراه با سپتی‌سمی و مننژیت مشاهده می‌شود.

مهم‌ترین عامل بیماری مخمر کاندیداآلبیکنس است [۱]، کاندیدا آلبیکنس مهم‌ترین عامل اتیولوژیک کاندیدیازیس بوده که قریب به۶۰-۷۵ درصد گونه‌های جدا شده از کاندیدیازیس را شامل می‌شود.

این قارچ فلور طبیعی بدن بوده که تحت عوامل مستعد کننده و بیماری‌های زمینه‌ای ایجاد می‌شود. در سال ۱۸۴۷ Rabin تشخیص داد که قارچ عامل برفک دهان می‌تواند سیستمیک شده و آن را ائیدیوم آلبیکنس نامید.

Zopf این مخمر را مونیلیا البیکنس خواند و بالاخره اینکه Brekhout در سال ۱۹۲۳ جنس کاندیدا را پیشنهاد نمود [۳-۲]. جنس کاندیدا شامل یک‌سری از مخمرهای انامورفیک (اسپرژیلوس) و نامتجانس (هتروژنوس) بوده که شامل ۱۱ اسکومایست می‌باشد.

کاندیدا آلبیکنس قابلیت تولید نیترات ردوکتاز را دارا بوده و باعث احیاء نیترات به نیتریت می‌شود در دیواره سلولی دو لایه خود فاقد گزیلوز بوده، از طریق جوانه‌زنی هولوبلاستیک تکثیر یافته و فاقد آنزیم خارج سلولی می‌باشد [۴].

کاندیدیازیس به‌دلیل رشد بیش از حد فلور مخمری تحت شرایط مستعد کننده ایجاد شده و محدودیت زمانی ندارد. در سال‌های اخیر تعدادی از داروهای ضدقارچی موثر جهت درمان به‌کار گرفته شده است.

از میان این داروها می‌توان به داروهای گروه آزول‌ها به‌ویژه فلوکونازول اشاره کرد که یک تری‌آزول دوتایی و فلورینه شده است که در آب محلول بوده و به‌دلیل وزن مولکولی کم، جذب آن سریع و فراهمی زیستی بالایی داشته و به بیشتر بافت‌های بدن منتشر می‌شود [۵]. اما به‌دلیل عوارض جانبی متعدد این دارو از جمله تهوع، درد شکمی، راش‌های پوستی، استفراغ و سردرد، همراه با مقاومت دارویی روزافزون این قارچ [۶]، موجب گشته تا تحقیقات در زمینه یافتن داروهای گیاهی بدون عوارض جانبی ادامه یابد.

این مطالعه به‌منظور مقایسه فعالیت ضد کاندیدایی عصاره‌های هیدروالکلی مرزه، نعناع، پونه، مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانه این عصاره‌ها انجام شد. تهیه عصاره‌ها به کمک حلال مناسب طی عملیات ماسراسیون، پرکوالسیون و یا عملیات مناسب دیگر تهیه می‌شوند.

به طور کلی تهیه عصاره مبنی بر استخراج مواد موثره و فعال به وسیله یک حلال مناسب می‌باشد که از بین این حلال‌ها ترکیب الکل و آب که منجر به تولید عصاره هیدروالکلی می‌شود به‌دلیل استخراج بیش‌تر ترکیبات تشکیل دهنده عصاره مورد توجه قرار گرفته است [۸-۷]. که در این مطالعه نیز از این روش استفاده شد.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری و شناسایی گیاهان

گیاهان مورد استفاده در این تحقیق در جدول شماره ۱آورده شده است. گیاهان مورد بررسی از مناطق مختلف استان اردبیل، واقع در شمال‌غربی ایران، جمع‌آوری شدند.

پس از جمع‌آوری با استفاده از مجموعه کتب فلور گیاهی ایران و نمونه موجود در هر باریوم بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل توسط کارشناسان گیاهشناسی هرباریوم مورد شناسایی و تطبیق قرار گرفتند و پس از اطمینان از صحت انتخاب، اندام‌های هوایی گیاهان مورد نظر خشک شدند.

بعد از خشک شدن گیاهان در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد اتاق و در سایه، به وسیله آسیاب برقی و با استفاده از الک به صورت پودر تهیه گردیدند [۹].

جدول ۱- مشخصات گیاهان دارویی مورد استفاده در تحقیق

ردیف	نام فارسی	نام علمی	تیره	اندام مورد استفاده	شماره هرباریومی	نوع عصاره
۱	پونه	Menthe longifolia L.	نعناعیان	اندام هوایی	۲۹۳-۰۱۰۷-۰۱۸	هیدروالکلی
۲	نعناع فلفلی	Mentha piperata L.	نعناعیان	اندام هوایی	۲۸۹-۰۰۹۲-۰۱۳	هیدروالکلی
۳	مرزه	Satureja hortensis L.	نعناعیان	اندام هوایی	۳۲۳-۰۲۵۱-۰۰۷	هیدروالکلی

ب) تهیه عصاره

پودرهای تهیه شده در داخل بشر ریخته شد. و جهت عصاره گیری به روش خیساندن، به نسبت ۸ به ۱ به آن اتانول ۹۶ درصد اضافه گردید و به‌مدت یک هفته در یخچال قرار داده شد. در طی این مدت ۲ بار بشرهای محتوی عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه بـه منظور استخراج بهتر و بیش‌تر ترکیبات موثر گیاه در دستگاه اولتراسوند قرار داده شدند [۱۱-۱۰]. و پس از آن محتویات داخل بشر به‌وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف گردید. سپس توسط دستگاه روتاری مدل lab tech, Ev ۳۱۱ تغلیظ و جهت خشک شدن داخل پتری-دیش ریخته و زیر هود قرار داده شدند [۹]. بعد از سپری شدن ۴ روز، عصاره‌های خشک به‌دست آمدند.

- رقیق‌سازی عصاره‌ها و تهیه دیسک‌های حاوی عصاره

جهت انجام آزمایش از ۷ نوع عصاره شامل عصاره هیدروالکلی پونه، عصاره هیدروالکلی نعناع، عصاره هیدروالکلی مرزه، مخلوط دوگانه عصاره‌های پونه-نعناع، پونه-مرزه، مرزه-نعناع و مخلوط سه‌گانه عصاره هیدروالکلی سه گیاه پونه، نعناع و مرزه استفاده شد. عصاره‌های مورد نظر را با پروپیلن گلیکول رقیق و علاوه بر عصاره خالص، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ mg/ml از عصاره تهیه شد، سپس جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک را در لوله‌های حاوی رقت‌های تعیین شده عصاره قرار داده شد. بعد از مدت ۵ تا ۳ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا کاملاً خشک شود و جهت دیسک‌گذاری آماده شوند [۱۲].

- سویه‌ها و شرایط رشد

به دنبال کشت ۱۰۰ نمونه جداسازی شده از بیماران مبتلا به اشکال بالینی مختلف کاندید آلبیکنس، بدون در نظر گرفتن سویه خاصی از قارچ مورد مطالعه بر روی محیط سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و انکوباسیون ۴۸ ساعته در دمای ۳۷ درجه و با استفاده از به‌کارگیری تست‌های مورفولوژی ماکرو و میکروسکوپی، توانایی تولید لوله زایا، تولید کلامیدوکونیدی، رشد بر روی محیط کروم آگار و جذب قندها، ایزوله‌های کاندیدا البیکنس شناسایی گردید [۱۳].

- تهیه سوسپانسیون قارچی

ابتدا قارچ کاندیداآلبیکنس جدا شده از بیماران استاندارد روی محیط سابورودکستروز آگار (Sabouraud DextroseAgar) حاوی کلرامفنیکل (Chloramphenicol) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. پس از طی شدن مدت زمـان انکوباسیون و رشد مخمرهای کاندیـدا، از آن سوسپانسیون سلولی تهیه شد. بدین ترتیب که ابتدا در یک میکروتیوب یک میلی‌لیتری مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (pH =۷/۲) استریل ریخته شد. سپس با آنس استریل شده مقدار کمی از کلونی رشد یافته روی محیط SDA در PBS معلق شد. پس از مخلوط شدن مخمر در بافر با استفاده از لام نئوبار (Neubauer lam)، تعداد سلول‌های مخمری در

زیر میکروسکوپ نوری شمارش شـد و از آن سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱×۱۰^{۶} سلول در هر میلی‌لیتر تهیه شد [۱۴].

- تعیین حساسیت کاندیدا آلبیکنس نسبت به عصاره‌های گیاهی و فلوکونازول به روش دیسک‌گذاری در آگار

جهت بررسی فعالیت‌های ضدکاندیدایی عصاره‌های مورد نظر از روش بررسی قطر هاله عدم رشد (Disk deffusion) و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) استفاده شد. از سوسپانسیون کشت سفره‌ای در SDA برای کاندیدا انجام شد.

سپس ۵ عدد دیسک حاوی مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های هیدروالکلی مرزه، نعناع، پونه، مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اضافه گردید. سپس دیسک‌های حاوی این عصاره-ها روی پلیت‌ها قرار داده شد.

بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به‌وسیله‌ی خط‌کش میلی‌متری انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت این عمل برای هر عصاره ۳ بار تکرار شد، در پایان میانگین قطرهای ایجاد شده محاسبه شد [۱۵].

- تعیین MIC

در این آزمایش از پلیت ۹۶ خانه‌ای میکروتیتر استفاده شد. بدین منظور در هر چاهک این پلیت ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت سابورودکستروز براث به همراه ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با تراکم ۱×۱۰^{۶} سلول در هر میلی‌لیتر و مقادیر مختلف (۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۵۰) میکرولیتر از عصاره‌های تهیه شده اضافه شد.

این آزمون به‌صورت سه بار تکرار انجام شد. پلیت ۹۶ خانه‌ای در انکوباتور شیکردار ۳۷ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد.

پس از طی مدت زمان انکوباسیون، کدورت چاهک‌ها با استفاده از شمارش کلونی و رشد یا عدم رشد مخمر ارزیابی شد. چاهک دارای کمترین غلظت جلوگیری کننده از رشد مخمر به‌عنوان MIC آن عصاره در نظر گرفته شد [۱۷-۱۶].

بحث و یافته‌ها

نتایج حاصل از این آزمایش در جداول ۲ و نمودار شماره ۱ نمایش داده شده است. پس از انجام آزمون آنتی‌بیوگرام مشخص گردید که در بررسی اثر ممانعت از رشد باکتری، بین عصاره‌های گیاهان دارویی، اختلاف بسیار معنی‌داری وجود.

در بررسی اثر ساده عصاره‌های گیاهی بر قطر ممانعت از رشد باکتری کاندیدا البیکنس مشخص شد که بیشترین قطر هاله مربوط به مخلوط سه‌گانه‌ی عصاره‌های پونه، نعناع و مرزه و پس از آن مخلوط دوگانه‌ی عصاره‌های پونه و مرزه بعد از آن مخلوط دوگانه‌ی عصاره های پونه و نعناع بود و عصاره هیدروالکلی نعناع کم‌ترین میزان قطر هاله را به‌خود اختصاص داد.

نتیجه تحلیل اثر ساده غلظت‌ها بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری کاندیدا آلبیکنس مشخص کرد که اختلاف معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های هر گیاه بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری کاندیدا آلبیکنس وجود دارد.

این تحلیل نشان می‌دهد که غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب موثرترین غلظت عصاره و کم اثرترین غلظت عصاره بر قطر هاله ممانعت از رشد باکتری کاندیدا آلبیکنس بودند.

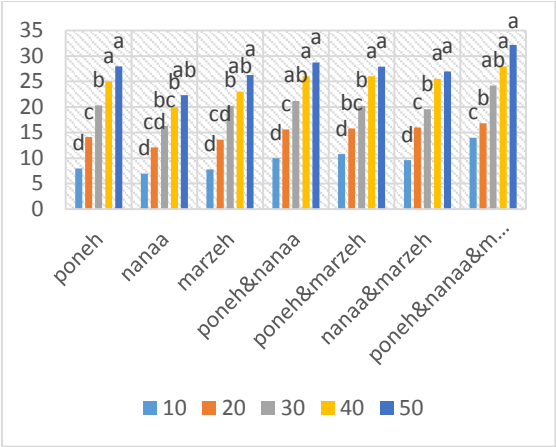
مقایسه نتایج غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد که بیش‌ترین قطر ممانعت از رشد باکتری مربوط به غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مخلوط سه‌گانه‌ی عصاره‌ی هیدرو الکلی پونه، نعناع، مرزه با قطر هاله ۳۲/۲ میلی‌متر و کم‌ترین آن‌ها مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی نعناع می‌باشد. بررسی اثر متقابل غلظت و عصاره‌های گیاهان دارویی نمایان‌گر اثر مثبت عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی پونه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بعد از آن عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی مرزه با همان غلظت ۵۰ میلی‌گرم

بر میلی‌لیتر بر افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری کاندیدا البیکنس بود و عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه دارویی نعناع، اثر نسبتاً کمتری نسبت به عصاره‌های هیدروالکلی پونه و مرزه از خود نشان داد. در این میان فلوکونازول با قطر هاله ۳۷ میلی-متر بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد را به‌خود اختصاص داد. با توجه به نتایج مشاهده شده مشخص شد که مخلوط سه‌گانه پونه، نعناع و مرزه نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به آنتی‌بیوتیک فلوکونازول از خود نشان داد.

نتایج بدست آمده از تست MIC نشان داد که کاندیدا آلبیکنس بیش‌ترین حساسیت را نسبت به آنتی‌بیوتیک فلوکونازول و پس از آن نسبت به مخلوط سه‌گانه پونه، نعناع، مرزه دارد و این در حالی است که گیاه دارویی حساسیت کم‌تری را نسبت به دو گیاه دیگر برای باکتری مورد نظر ایجاد می‌کند. بنابراین با توجه به اثر مطلوب ضدکاندیدایی مخلوط سه‌گانه عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه در تحقیق حاضر، می‌توان چنین استنباط نمود که وجود ترکیبات ثانویه ضدمیکروبی در این گیاهان می‌تواند اثرات درمانی موثری بر عفونت کاندیدایی داشته باشد.

جدول ۲: نتایج قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) در باکتری کاندیدا آلبیکنس با غلظت‌های مختلف عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع، مرزه و مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانه عصاره‌ها.

ردیف	عصاره‌ی مورد مطالعه	غلظت عصاره	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
۱	عصاره گیاه پونه	۱۰	۸
		۲۰	۱۴/۱
		۳۰	۲۰/۳
		۴۰	۲۵
		۵۰	۲۸
۲	عصاره گیاه نعناع	۱۰	۷
		۲۰	۱۲/۱
		۳۰	۱۶/۳
		۴۰	۲۰
		۵۰	۲۲/۳
۳	عصاره گیاه مرزه	۱۰	۷/۸
		۲۰	۱۳/۶
		۳۰	۲۰/۲
		۴۰	۲۳
		۵۰	۲۶/۳
٤	مخلوط عصاره های پونه و نعناع	۱۰	۱۰
		۲۰	۱۵/۶
		۳۰	۲۱/۲
		۴۰	۲۶
		۵۰	۲۸/۷
۵	مخلوط عصاره های پونه و مرزه	۱۰	۱۰/۸
		۲۰	۱۵/۸
		۳۰	۲۰/۲
		۴۰	۲۶
		۵۰	۲۷/۹
٦	مخلوط عصاره های نعناع و مرزه	۱۰	۹/۶
		۲۰	۱۶
		۳۰	۱۹/۶
		۴۰	۲۵/۵
		۵۰	۲۷
۷	مخلوط عصاره‌های پونه، نعناع و مرزه	۱۰	۱۴
		۲۰	۱۶/۸
		۳۰	۲۴/۲
		۴۰	۲۸
		۵۰	۳۲/۲
۸	فلوکونازول	۲۰۰	۳۷



نمودار ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها (MIC)

بحث و نتایج

جنس کاندیدا (Candida genus) نوعی قارچ فرصت طلب است که می‌تواند موجب تظاهرات بالینی فراوانی از قبیل واژنیت (Vagenit)، برفک، عفونت پوست، آندوکاردیت، منتژیت، آبسه مغزی، آرتریت، پیلونفریت و ... در میزبان انسانی می‌شود. کاندیدا آلبیکنس جزئی از فلور طبیعی سطوح مخاطی حفره دهانی، دستگاه گوارش و واژن است. این قارچ در سطوح مخاطی کلونیزه می‌شود و بنابراین بیش‌تر عفونت‌های درون‌زاد از این ناحیه ایجاد می‌شود. اکثر افراد با مکانیسم‌های دفاعی فیزیولوژیک و سیستم ایمنی سالم، رشد و انتشار این قارچ فرصت‌طلب را کنترل می‌کنند، ولی تحت شرایط خاص و با وجود فاکتورهای مستعد کننده از قبیل دیابت، نقص سیستم ایمنی، مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف این فرصت ایجاد می‌شود تا کاندیدا آلبیکنس از شکل همزیست به‌شکل بیماری‌زا تبدیل شود و قابلیت ایجاد عفونت در بافت‌های مختلف و امکان ایجاد بیماری سیستمیک کشنده را داشته باشد [۱۹-۱۸]. مقاومت‌های دارویی روزافزون این قارچ و بنابراین 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 بسیار کم‌تر معطوف شود [۶]. با توجه به مطالعات کتابخانه‌ای و اینترنتی مشخص شد که تاکنون مطالعه اثر ضد قارچی این گیاهان بر روی هیچ یک از سویه‌های کاندیدایی انجام نشده است. بالاترین ترکیب موجود در پونه و نعناع به‌کار رفته در این مطالعه پولگن بود که اثرات ضد میکروبی آن در مطالعه‌های مختلف گزارش شده است. در مطالعه صورت گرفته بر روی خصوصیات اسانس گیاه منتا پیپریتا، ترکیب منتول موجود در اسانس نقش بسیار مهمی در فعالیت ضد میکروبی آن داشت [۲۳-۲۲-۲۱-۲۰]. روغن‌های اسانسی جدا شده از گونه‌های مختلف مرزه خصوصیات زیستی خاصی مثل اثر ضد میکروبی [۲۶-۲۵-۲۴]، ضد HIV-1 [۲۷]، ضدویروسی [۲۸]، آنتی‌اکسیدانی [۲۹]، ضد تشنج و ضد اسهال [۳۱-۳۰] هستند. فعالیت ضد میکروبی و ضد اسهال روغن‌های اسانسی به‌دلیل فنل‌های موجود در اسانس است [۳۲]. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی پونه (Mentha longifolia L.)، نعناع (Mentha piperata L.) و مرزه (Satureja hortensis L.) دارای اثر ضد کاندیدا آلبیکنس می‌باشند. Bashir و همکاران فعالیت ضد قارچی فرولانارتکس را روی کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس فلاووس مورد بررسی قرار دادند. نتیجه مطالعه آن‌ها مهار ۲۰ درصدی آسپرژیلوس‌فلاووس و بی‌تأثیر بودن اسانس روی کاندیدا آلبیکنس را نشان داد [۳۳]. ابراهیم و همکاران که اثرات ضدکاندیدایی سسکوئی‌ترپن‌های جدا شده از فرولاهرمونیس را با استفاده از روش میکرودایلوشن مورد مطالعه قرار دادند که برای تمامی این ترکیبات MIC بیش‌تر از ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد [۳۴]. Sitara و همکاران اثر ضد قارچی اسانس فرولا آسافوتیدا را روی رشد آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس بررسی کردند که اثر مهاری زیادی نشان نداد [۳۵].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مخلوط سه‌گانه پونه، نعناع و مرزه نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به آنتی‌بیوتیک فلوکونازول از خود نشان دادند. نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی نشان داد که کم‌ترین میزان غلظت مهارکنندگی مربوط به آنتی‌بیوتیک فلوکونازول و مخلوط سه‌گانه عصاره هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه و کم ترین آن

مربوط به عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی نعناع می‌باشد. با توجه به مشاهدات انجام شده و توانایی مقابله داروی گیاهی مورد مطالعه با عفونت قارچی مورد مطالعه، هم‌چنین دست-رسی آسان به ترکیبات گیاهی مورد نظر می‌توان بیان نمود که این ترکیب می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای داروی فلوکونازول مطرح شود. جهت تایید صحت نتایج فوق، پیشنهاد می‌گردد مطالعات بالینی نیز انجام گردد.

سپاس‌گذاری

از مسئولین محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل و همکاران بخش تحقیقات گیاهان دارویی و نیز بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در تامین هزینه طرح، فعالیت‌های تولیدی و آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند و هم‌چنین از کارکنان بخش زنان بیمارستان حضرت ولی‌عصر(عج) شهرستان مشکین‌شهر قدردانی می‌نمائیم.

منابع

[1] Eggimann, P., Garbino, J., Pittet, D., 2003, Management of Candida species infections in critically ill patients. Lancet Infect Dis; 3(12): 772-85.

[2] Robin, C., Blanche, F., Cauchois, L., Cameron, B., Couder, M. & Crouzet, J., 1991, Primary structure, expression in Escberichia coli, and properties of methyltransferase from Bacillas megaterium. J Bacteriol 173, 4893- 4896.

[3] Ryley, GF., 1986, Pathologenicity of Candida albicans with particular reference to the vagina. J. Medical and Veterinary Mycology; 24: 5-22.

[4] Bennett, JE., Kown – chung KJ, Lea. and Febiger, London., 1992, Medical Mycology; pp: 134-138.

[5] Rex, J., Rinaldi, MG., 1995, Resistance of candida species to fluconazole. J. Antimicrob. Agents Chemother; 39: 1-8.

[6] Praserts, O., Bourlert, A., 1995, Comparative study of fluconazole and clotrimazole for the treatment of Vulvovaginal Candidiasis. Sex Transm Disease; 22(4): 228 – 230.

[7] Özcan, M., Ünver, A., Ucar, T. and Arslan, D., 2008, Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. Food Chemistry.106(3), 1120-1127.

[8] Yen, G. C., Duh, P.D. and Tsai, H.L., 2002, Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. Food Chemistry. 79(3), 307-313.

[9] Koelzer, J., Pereira, DA., Dalmarco, JB., Pizzolatti, MG., 2009, et al. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of lotus corniculatus.j foodchem; 117(3): 444-450.

[10] Min, BR., Barry, TN., Attwood, GT., McNab, bWC., 2003, The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forage: a review. J food chem.; 9(1):76-81.

[11] Moniee, SH., Giahdarou., 1981, Tehran Iran: Ketabsara press; 75. [Persian].

[12] Mashhadian, NV. and Rakhshandeh, H., 2005, Antibacterial and antifungal effects of Nigella sativa extracts against S. aureus, P. aeroginosa and C. albicans. Pakistan J. Medical Sci; 21 (1): 47 - 52 .12

[13] Yarrow, D., 1993, Methods of the isolation, main tenance and indentification of yeast in the yeast, a taxonomic study. Elsevier; PP: 1-20.

[14] Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, HY., 2006, Evaluation of antioxidant activity of parsley (Petroselinum crispum) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Res; 39(8): 833-9

[15] CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard-10th ed. CLSI publication M02-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.

[16] Androw, JM., 2001, BSAC Standardized disc susceptibility testing method. J. Antimicrobial Chemotherapy; 7 (5): 48 - 57.

[17] Thornsberry, C. and Dougal, L., 1983, Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin resistant Staphylococa. J. Clinical Microbiol. 18 (5): 1084 - 91.

[18] Greer, LA., Cameon, LT., Kitchener, HC., 2001, Obstetric & genecology. Edenburg; mosby, 2001, P246-7.

[19] Sobel, SD., 1985, Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvo vaginal candidiasis. Am. J Ob & Gyn; 152(7): 924 – 935.

[20] Schnelle, FJ. and Hoerst, H., 1960, GLC-Analyse des Aetheris canen Oeles von Mentha requiennii (freiland = grow in open air). Planta Med. 1960; 16: 48 - 53.

[21] Saremi, H., Fusarium, biology., 2005, ecology and taxonomy. Jahade Daneshghahi Press, Mashhad.

[22] Lawrence, BM., 1998, Composition of three oils of M. pulegium produced from plant grown in North Carolina. Perf. Flav; 76 (7 - 8): 691 - 6.

[23] Arques, JL., Rodriquez, E., Gaya, P., Medina, M., Nunez, M., 2005, Effect of combinations of high pressure Treatment and bacteriocin producing lactic acid bacteria on survival of listeria monocytogenes in raw milk cheese. International Dairy Journal; 15: 898-900.

[24] Azaz, A.D., Kurkcuoglu, M., Satil, F., Baser, K.H.C. and Tumen, G., 2005, In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some Satureja essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 20(6): 587-591.

[25] Bezbradica, D.I., Tomovic, J.M., Vukasinovic, M.S., Siler-Marinkovic, S. and Ristic, M.M., 2005, Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja montana* L. collected in Serbia and Montenegro. Journal of Essential Oil Research, 17(4): 462-465.

[26] Gulluce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agar, G., Ozkan, H., Kartal, N., Polissiou, M., Sokmen, A. and Sahin, F., 2003, In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of Satureja hortensis L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(14): 3958-3965.

[27] Yamasaki, K., Nakano, M., Kawahata, T., Mori, H., Otake, T., Ueba, N., Oishi, I., Inami, R., Yamane, M., Nakamura, M., Murata, H. and Nakanishi, T., 1998, Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 21(8): 829-833.

[28] Abad, M.J., Bermejo, P., Gonzales, E., Iglesias, I., Irurzun, A. and Carrasco, L., 1999, Antiviral activity of Bolivian plant extracts. General Pharmacology: The Vascular System, 32(4): 499-503.

[29] Radonic, A. and Milos, M., 2003, Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from Satureja montana L. Free Radical Research, 37(6): 673-679.

[30] Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A.R. and Mohseni, M., 2000, Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of Satureja hortensis L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 71: 187-192. -

[31] Skocibusic, M., Bezic, N. and Dunkic, V., 2006, Phytochemical composition and antimicrobial activities of the

essential oils from Satureja subspicata Vis. growing in Croatia. Food Chemistry, 96: 20-28.
[32] Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Mirza, M., 2004, Chemical variation in the essential oil of Satureja sahendica from Iran. Food Chemistry, 88(3): 325-328.
[33] Bashir, S., Alam, M., Ahmad, B., Aman, A., 2014, Antibacterial, Anti-fungal and Phytotoxic activities of Ferula narthex Boiss. Pak J Pharm Sci; 27(6): 1819-25.
[34] Ibraheim, ZZ., Abdel-Mageed, WM., Dai, H., Guo, H., Zhang L, Jaspars, M., 2012, Antimicrobial antioxidant daucane sesquiterpenes from Ferula hermonis Boiss. Phytother Res; 26(4): 579-86.
[35] Sitara, U., Niaz, I., Naseem, J., Sultana, N., 2008, Antifungal effect of essential oils on in vitro growth of pathogenic fungi. Pak J Bot. 2008; 40(1): 409-14.