Archive of SID

Original Article

Inhibitory Effect of Aquatic and Alcoholic Extracts of Artemisia sieberi on Growth of Candida Albicans: An In Vitro Study

Ali Azam Taheri[1], Issa GholampourAzizi[1], Masoud Hashemi[1], Leyla Farhadi[2,3], Karo Servatyari[2], Samaneh Rouhi[2,3*]

[1]Microbiology Department, School of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran.

[2]Student Research Committee, Kurdistsn Univrsity of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

[3]Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

.

Corresponding Author:
Samaneh Rouhi;
Department of Microbiology, Cellular &Molecular Research Center, Kurdistsn Univrsity of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

Email:
roohi.samaneh@yahoo.com

Received: 5 Aug, 2017

Accepted: 23 Oct, 2017

Abstract

Background and Objectives: *Candida albicans* (*C. albicans*) as an opportunistic pathogen, can causes cutaneous and mucosal infections. Antibiotic treatments for this fungus have multiple adverse effects and cause drug resistance. In this study, the inhibitory effect of *Artemisia sieberi* (*A. sieberi*), was investigated on growth of *Candida albicans*.

Methods: In this experimental study, aqueous and alcoholic extracts were prepared from *A. sieberi* using percolation method. Using disk diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC), were assessed to evaluate the antifungal effects of these extracts on *C. albicans in vitro*.

Results: *C. albicans*, was resistant to hydroalcoholic extracts in the disk diffusion method and grew around the disks containing the extracts. The MIC of aqueous, ethanolic, and methanolic extracts, were determined to be 6250, 3125, and 6250µg/ml, respectively, and MFC of these three extracts, were determined 12500, 6250, and 12500µg/ml, respectively. In the MIC and MFC method, ethanolic extracts had higher antifungal activity.

Conclusion: According to the results of this study, different extracts of *A. sieberi* affect *C. albicans* growth and prevent its growth. Thus, more examinations are needed to survey the composition of this plant and more extensive use in human domains.

Keywords: Aqueous and alcoholic extracts; *Artemisia*; *Candida albicans*; *In vitro* techniques.

www.SID.ir

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دوازدهم ، شماره ششم، شهریور ۹۷
صفحه ۳۹ الی ۴۷

Archive of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر مهاری عصاره‌های آبی و الکلی گیاه درمنه دشتی بر رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنس*: یک مطالعه درون‌آزمایشگاهی

علی اعظم طاهری[۱]، عیسی غلام‌پور عزیزی[۱]، مسعود هاشمی[۱]، لیلا فرهادی[۲،۳]، کارو ثروت‌یاری[۲]، سمانه روحی[۲،۳*]

چکیده

زمینه و هدف: *کاندیدا آلبیکنس* به‌عنوان یک بیماریزای فرصت‌طلب می‌تواند طیف گسترده‌ای از عفونت‌های جلدی و مخاطی را ایجاد کند. درمان‌های آنتی‌بیوتیکی برای این قارچ دارای اثرات جانبی متعددی بوده که مقاومت‌های دارویی را موجب می‌شوند. در این مطالعه اثر مهاری رشد درمنه دشتی بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از گیاه درمنه دشتی به روش پرکولاسیون، عصاره‌های آبی و الکلی تهیه گردید. روش انتشار از دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت‌کشندگی قارچ جهت ارزیابی اثرات ضدقارچی این عصاره‌ها بر *کاندیدا آلبیکنس* در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: *کاندیدا آلبیکنس* در روش انتشار از دیسک، به عصاره‌های هیدروالکلی مقاوم بود و اطراف دیسک‌های حاوی عصاره‌ها رشد کرد. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۶۲۵۰، ۳۱۲۵ و ۶۲۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی این سه عصاره به ترتیب ۱۲۵۰۰، ۶۲۵۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت کشندگی، عصاره اتانولی اثر ضدقارچی بیشتری داشت.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه، عصاره‌های مختلف درمنه دشتی بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* اثر داشته و از رشد آن جلوگیری می‌کنند؛ بنابراین، آزمایش‌های بیشتر جهت بررسی ترکیبات این گیاه و استفاده گسترده‌تر در حیطه‌های انسانی ضروری است.

کلید واژه‌ها: عصاره‌های آبی و الکلی؛ درمنه ؛ *کاندیدا آلبیکنس*؛ تکنیک محیط آزمایشگاهی.

[۱]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، بابل، ایران.

[۲]کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

[۳]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
سمانه روحی؛ گروه میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
roohi.samaneh@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۶/۵/۱۴

تاریخ پذیرش:۹۵/۸/۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Azam Taheri A, GholampourAzizi I, Hashemi M, Farhadi L, Servatyari K, Rouhi S. Inhibitory effect of aquatic and alcoholic extracts of *Artemisia sieberi* on growth of *Candida Albicans*: An in vitro study. Qom Univ Med Sci J 2018;12(6):39-47. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*)، فلور عادی پوست و سطوح مخاطی انسان است و درصورت بروز نقص سیستم ایمنی میزبان، این قارچ می‌تواند به‌عنوان بیماریزای فرصت‌طلب عمل کرده و طیف گسترده‌ای از عفونت‌های جلدی، مخاطی و منتشره را ایجاد کند (۲،۱). از فراوان‌ترین داروهای مورد استفاده برای کاندیدیازیس سطحی می‌توان به پلیان‌ها (نیستاتین و آزول‌ها) و میکونازول اشاره کرد. درمان‌های ضدقارچی معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده که مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدایی را موجب می‌شوند (۴،۳). بررسی فرآورده‌های طبیعی فعال علیه گونه‌های *کاندیدا* به‌منظور درمان عفونت‌های ناشی از قارچ‌ها در ۱۰ سال اخیر با تحقیق بر روی گونه‌های گیاهی، به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است. فرآورده‌های طبیعی مشتق‌شده از گیاهان ممکن است به‌صورت بالقوه منجر به پیدایش ترکیبات جدید شوند که می‌توانند قارچ‌ها را از بین ببرند (۶،۵). ازجمله این گیاهان می‌توان گیاه درمنه دشتی با نام علمی *Artemisia sieberi* را نام برد. این گیاه، گیاهی چند ساله بوده که بیش از ۴۰۰ گونه آن در سطح جهان شناسایی شده است (۸،۷). زیستگاه اصلی این گیاه بوته‌ای، قاره آسیا است و از بین گونه‌های متعلق به جنس درمنه، گونه درمنه دشتی با دارا بودن بیشترین وسعت رویشگاهی در سطح مراتع استپی کشور از نظر تولید علوفه از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۱-۹). در مطالعات مختلف، اثرات دارویی این گیاه ثابت شده است: Kalemba و همکاران (سال ۲۰۰۲) با بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه درمنه دشتی بر روی *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* دریافتند این گیاه با توجه به داشتن ترکیباتی همچون الکل‌های منوترپان باعث مهار قابل‌توجه این میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۱۲). Ahmadvand و همکاران نیز با بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس روغنی گیاه درمنه کوهی، نشان دادند این گیاه منبع قابل‌ملاحظه‌ای از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌توان از آن در فرآورده‌های غذایی، دارویی و صنعتی استفاده کرد (۱۳). همچنین درمطالعه Rostami و همکاران، عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی بر روی زخم‌های حاصل از لیشمانیا ماژور در موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی می‌تواند بر روی کاهش اندازه زخم و شدت عفونت در ضایعه، تأثیر مطلوب بگذارد (۱۴)؛ بنابراین گیاه درمنه، ازجمله گیاهان دارویی است که از آن می‌توان در مصارف دارویی استفاده کرد. در مطالعه حاضر اثر مهاری رشد درمنه دشتی در غلظت‌های متفاوت بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید.

روش بررسی

گیاه درمنه دشتی از شهرستان اراک (واقع در استان مرکزی) در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری و به‌طور کامل چند بار با آب تمیز شست‌وشو داده شد و بعد از حذف کامل آب، در طول مدت یک‌ماه در سایه به‌طور کامل خشک گردید، سپس از نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب برقی پودر تهیه شد. سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* (PTCC 5027)، از مرکز مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های بیماریزای سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. جهت تأیید مجدد مخمر *کاندیدا*، نمونه قارچی روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (مرک، آلمان) همراه با کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید کشت داده شد و در دمای ۳۴ درجه برای ۲۴ ساعت انکوبه گردید {در این محیط، رشد کلنی‌های موکوئیدی، نشان‌دهنده رشد مخمرهای جنس *کاندیدا* می‌باشد (۱۵).}، جهت تأیید *کاندیدا آلبیکنس نیز* از کلنی‌ها بر روی محیط Hicrome Candida Differrential agar (مرک، آلمان) کشت داده شد. برای این عمل، در ابتدا سوسپانسیون مخمری در سرم فیزیولوژی تهیه و یک لوپ از آن بر روی محیط کشت داده شد و در دمای ۳۴ درجه در ۲۴ ساعت انکوبه گردید. تشکیل کلنی سبز مایل به آبی روشن، نشانه وجود *کاندیدا آلبیکنس* بود (۱۶). در مرحله بعد، برای تأیید میکروسکوپی کلنی مذکور، ابتدا یک قطره متیلن‌بلو را بر روی لام ریخته، سپس با آنس یک کلنی از *کاندیدا آلبیکنس* برداشته و روی لام پخش شد و در زیر میکروسکوپ از لحاظ مورفولوژی و شکل *کاندیدا آلبیکنس* بررسی گردید. *کاندیدا آلبیکنس* دارای میسلیوم‌های حقیقی و کاذب، بلاستوسپور و کلامیدوسپور می‌باشد (۱۷).

www.SID.ir

Archive of SID

جهت تهیه عصاره‌های گیاهی از پودرهای تهیه‌شده از گیاه، هریک به‌طور جداگانه به روش پرکولاسیون با استفاده از آب‌مقطر، اتانول ۹۶٪ و متانول ۹۶٪ تهیه و در مرحله بعد حلال حذف، سپس خشک گردید. جهت تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتیگراد به ۳۰ گرم از پودر خشک گیاه اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در بن‌ماری با دمای ۵۰-۴۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت، پس از گذشت ۲۴ ساعت، مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف شده و جهت از بین بردن آب اضافی، با استفاده از هود آب آن کاملاً خشک گردید، سپس عصاره آبی خشک تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد. در ادامه، عصاره متانولی و اتانولی به روش پرکولاسیون تهیه گردید. در این مرحله دو ارلن به‌طور جداگانه به‌کار برده شد که در یکی از ارلن‌ها ۳۰۰ گرم از پودر گیاه خشک در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶٪ و در ارلن بعدی ۳۰۰ گرم از پودر گیاه خشک در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ ریخته شد، سپس دهانه آنها را با ورقه آلومینیوم بسته و به مدت ۲ ساعت کاملاً هم زده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. روز بعد حلال حاوی عصاره با استفاده از کاغذ صافی از مخلوط جدا و مجدداً به آن حلال اضافه شد. این عمل تا ۵ روز انجام و پس از صاف شدن به دستگاه تقطیر در خلأ منتقل گردید تا تقطیر شود. پس از اینکه عصاره غلیظ شد، زیر هود قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. عصاره خشک تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

جهت رقیق‌سازی عصاره‌ها، مقدار ۱ گرم از انواع عصاره‌هایی‌که قبلاً تهیه شده بود را جداگانه و دقیق برداشته و داخل یک لوله آزمایش استریل ریخته شد، سپس ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید ۱۰٪ (Dimethyl sulfoxide, DMSO) (مرک، آلمان) به آن اضافه و مخلوط شد (غلظت ۱ گرم برمیلی‌لیتر). این مخلوط در مرحله بعد به‌وسیله سرنگ میلی‌پور با فیلتر به قطر ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد. کلنی‌های تازه *کاندیدا آلبیکنس* در ۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین رقیق شده، سپس به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شدند. بعد از این مرحله، سوسپانسیون این قارچ به اندازه $1/5\times10^{8}$CFU/ml براساس استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم گردید (۱۹،۱۸).

از روش انتشار در دیسک جهت ارزیابی اثر ضدقارچی درمنه دشتی بر *کاندیدا آلبیکنس* استفاده شد. در این روش غلظت‌های ۶۰،۵۰،۴۰ و ۷۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر از عصاره‌ها تهیه و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (با غلظت ۱/۲۵) به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکسید ۱۰۰٪ به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. در ابتدا از سوسپانسیون این قارچ بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار، کشت سفره‌ای داده شد، سپس ۱۵ میکرولیتر از هرکدام از غلظت‌های کنترل مثبت و منفی به‌وسیله سمپلر بر روی دیسک‌های خالی (پادتن طب، ساخت ایران) و محیط کشت قرار داده شدند (۲۰). جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)، ابتدا در ۱۱ لوله استریل، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت سابورو دکستروز براث (مرک، آلمان) ریخته شد و بعد از شماره‌گذاری آن‌ها از شماره ۱۱-۱، ۱ میلی‌لیتر از عصاره استوک اولیه رقیق‌شده با رقت ۱/۱۰ (غلظت عصاره در این حالت معادل ۰/۱ گرم برمیلی‌لیتر می‌باشد.)، به لوله شماره ۱ (حاوی محیط کشت سابورو دکستروز براث) ریخته شد (غلظت عصاره در این حالت معادل ۰/۰۵ گرم برمیلی‌لیتر یا ۵۰۰۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر می‌باشد.) سپس از لوله شماره ۱، ۱ میلی‌لیتر ماده به لوله شماره ۲ و از لوله شماره ۲ به ۳ و به‌همین ترتیب تا لوله شماره ۹ ادامه یافت؛ بنابراین در هر بار غلظت عصاره به میزان نصف میزان اولیه خود کاهش یافت که به‌ترتیب لوله ۹-۱ شامل غلظت‌های ۱۹۵/۳۱، ۳۹۰/۶۲، ۷۸۱/۲۵، ۱۵۶۲/۵۰، ۳۱۲۵، ۶۲۵۰، ۱۲۵۰۰، ۲۵۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر بود. در مرحله بعد، به تمام لوله‌ها مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی (در هر میلی‌لیتر، 1×10^{6}CFU/ml قارچ) اضافه گردید. در این بخش از آزمایش با توجه به اینکه ارزیابی میزان مهارکنندگی رشد و کشندگی قارچ‌ها توسط عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف مورد نظر بود؛ لذا مقایسه با غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین صورت نگرفت. لوله شماره ۱۰ به‌عنوان کنترل مثبت (۱ میلی‌لیتر سابورو دکستروز براث + ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی) و لوله شماره ۱۱ به‌عنوان کنترل منفی (یک میلی‌لیتر سابورو دکستروز براث) در نظر گرفته شدند. بعد از انکوباسیون (به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۳۴ درجه)، وجود کدورت (قارچ در لوله مورد نظر رشد کرده و تأثیر عصاره

www.SID.ir

Archive of SID

بر روی مهار رشد قارچ کم بوده است.) یا عدم وجود کدورت (قارچ در لوله مورد نظر رشد نکرده و تأثیر عصاره بر روی مهار رشد قارچ بیشتر بوده است.) در لوله‌ها مشاهده و براساس آن کمترین غلظت مهارکنندگی تعیین گردید.

یک لوله قبل از اولین لوله‌ای که وجود کدورت در آن به‌طور چشمی قابل‌رؤیت بود، به‌عنوان کمترین غلظت مهارکنندگی درنظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (Minimum Fungicidal Concentrations, MFC)، مقدار ۱۰ میکرولیتر (واجد 1×10^{5}CFU/ml قارچ) از لوله شامل کمترین غلظت مهارکنندگی و سایر لوله‌های فاقد کدورت را برداشته و در محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۴ درجه، رشد یا عدم رشد در محیط کشت مشاهده و براساس آن کمترین غلظت‌کشندگی تعیین گردید. یک پلیت قبل از اولین پلیتی که باکتری در آن رشد کرده و به‌طور چشمی قابل‌رؤیت بود، به‌عنوان کمترین غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۲۱-۱۸).

یافته‌ها

در این مطالعه، در روش انتشار در دیسک، اطراف دیسک‌های تلقیح‌شده با عصاره‌های آبی و الکلی درمنه دشتی در تمامی غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، رشد *کاندیدا آلبیکنس* مشاهده گردید (شکل شماره ۱). همچنین رشد قارچ در اطراف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، به‌عنوان کنترل مثبت مهار شد که در اطراف دی‌متیل سولفوکساید، به‌عنوان کنترل منفی قابل‌رؤیت بود (شکل شماره ۲). *کاندیدا آلبیکنس* به عصاره‌های اتانولی درمنه دشتی در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ، حساسیت بیشتری داشت. حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد عصاره اتانولی، ۳۱۲۵ و حداقل غلظت کشندگی قارچ آن ۶۲۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر بود (جدول و شکل شماره ۳).

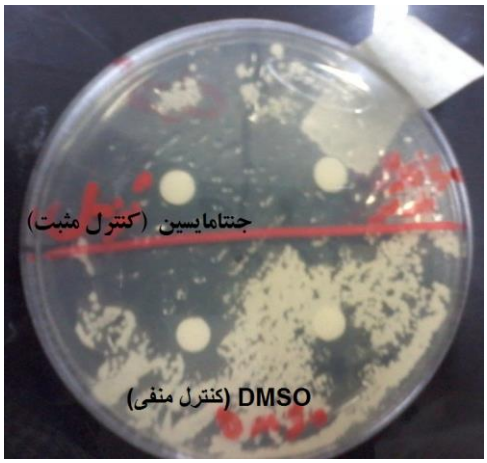
جدول: حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی قارچ عصاره‌های درمنه دشتی (میکروگرم برمیلی‌لیتر)

نوع عصاره	MIC	MFC
آبی	۶۲۵۰	۱۲۵۰۰
اتانولی	۳۱۲۵	۶۲۵۰
متانولی	۶۲۵۰	۱۲۵۰۰

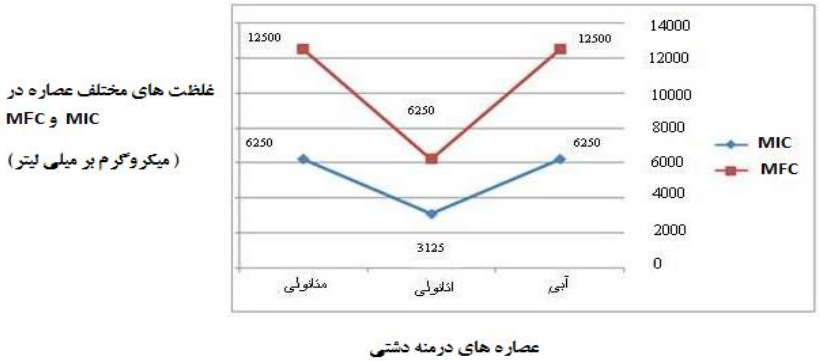
شکل شماره ۱: نتایج روش انتشار در اطراف دیسک‌های تلقیح‌شده با عصاره‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر درمنه دشتی.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره ۲: نتایج روش انتشار در اطراف دیسک‌های تلقیح‌شده با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، (به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، به‌عنوان کنترل منفی.)



شکل شماره ۳: حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) عصاره‌های آبی و الکلی درمنه دشتی بر *کاندیدا آلبیکنس* (میکروگرم برمیلی‌لیتر).

بحث

با توجه به افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی، توجه محققان به سمت داروهای گیاهی به دلیل تأثیرگذاری بهتر و داشتن عوارض جانبی کمتر، افزایش یافته است (۲۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی دارای اثر بازدارنگی رشد و کشندگی *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشند. در مطالعه‌ای‌که Lopes-Lutz و همکاران به روش انتشار در آگار انجام دادند، خاصیت ضدمیکروبی هفت گونه از گیاه درمنه علیه میکروارگانیسم‌های *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *کاندیدا آلبیکنس*، *کربیتوکوکوس نئوفورمانس* و *آسپرژیلوس نایجر* نشان داده شد، همچنین استخراج مواد مؤثره از اندام‌های هوایی گیاه مذکور نشان داد بیشترین ترکیبات استخراج‌شده از این گیاه مربوط به ۸ و ۱- سینول و کامفور می‌باشد (۱۰).

در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعه Lopes-Lutz، درمنه دشتی بر *کاندیدا آلبیکنس* اثر ضد رشد داشت. تحقیقات نشان داده‌اند ترکیبات شیمیایی در گیاهان، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی دارند و محل اثر این ترکیبات غشای سلولی بوده که با از بین بردن و تخریب غشا سبب مرگ میکروارگانیسم می‌شوند (۱۸). از طرفی، نوع و میزان این ترکیبات فیتوشیمیایی در عصاره‌های جنس‌های یک گونه گیاه ممکن است مشابه و یا متفاوت باشد و روی انواع میکروارگانیسم‌ها نیز اثرات متفاوتی بگذارد (۱۸،۲۰).

حواسیان و همکاران با بررسی اثر مهاری عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر روی *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی به روش انتشار از دیسک (در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نشان دادند عصاره الکلی این گیاه بر *کاندیدا آلبیکنس* اثری ندارد، اما عصاره آب دارای اثر بسیار ضعیف ضد رشد می‌باشد (۲۲).

www.SID.ir

Archive of SID

در مطالعه حاضر با انجام روش انتشار در دیسک (در غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)، اثر ضدقارچی علیه *کاندیدا آلبیکنس* توسط هیچ‌کدام از عصاره‌ها مشاهده نشد، اما در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی قارچ، اثر ضدقارچی مشاهده گردید. با توجه به اینکه روش‌های مختلفی جهت کاربرد عصاره‌های گیاهی و سنجش اثرات ضدمیکروبی آن‌ها وجود دارد، ممکن است روش‌های مختلف کاربرد فرآورده‌های گیاهی به‌نوبه خود علت اختلاف در نتایج باشد (۲۳). همچنین مطالعات نشان داده است اثرات ضدرشد عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های بالاتر و زمان بیشتر، اثردهی عصاره بر روی میکروارگانیسم‌ها را بیشتر می‌کند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ممکن است با افزایش غلظت‌های بالاتر بجای غلظت‌های مذکور، اثر ضد رشد مشاهده گردد (۱۸).

در مطالعه نصیری‌پور و همکاران در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا با منشأ غذایی، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی علیه *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* یکسان و به ترتیب ۱۶۰، ۸۰ و ۸۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی درمنه کوهی بر این سه باکتری به ترتیب ۱۶۰، ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به‌دست آمد. همچنین حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی درمنه دشتی نیز علیه *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز*، ۳۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بود، اما بر *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر کشندگی نداشت (۲۴). هدایتی‌راد و همکاران خاصیت ضدمیکروبی فیلم تهیه‌شده از پولولان حاوی اسانس درمنه دشتی را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را در برابر خاصیت ضدمیکروبی اسانس درمنه دشتی نشان دادند و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس درمنه دشتی برعلیه باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتوروم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* به ترتیب در غلظت‌های ۱۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به‌دست آمد (۲۵). در تحقیق حاضر حداقل غلظت بازدارندگی از رشد توسط عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه درمنه دشتی به ترتیب ۶۲۵۰، ۳۱۲۵ و ۶۲۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن‌ها به ترتیب ۱۲۵۰۰، ۶۲۵۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر *کاندیدا آلبیکنس* تعیین شد که نسبت به مطالعه نصیری‌پور و هدایتی‌راد در غلظت‌های کمتر، اثرات بازدارندگی و ضد رشد داشت (۲۵،۲۴). بعضی از میکروارگانیسم‌ها نسبت به میکروارگانیسم‌های دیگر دارای حساسیت بیشتری نسبت به عصاره‌های مختلف گیاهی می‌باشند و این تفاوت به دیواره سلولی میکروارگانیسم بستگی دارد که به چه میزان این مواد را از خود عبور دهند؛ به‌طور مثال لیپوپلی‌ساکاریدهایی که در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی وجود دارند مانع از رسیدن ترکیب‌های فعال به غشای سیتوپلاسمی باکتری‌های گرم منفی شده و آن‌ها را در مقابل مواد ضدمیکروبی مقاوم می‌کنند (۲۶،۲۴). از طرفی، نوع عصاره انتخاب‌شده، گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها، همچنین تعداد و محل گروه‌های هیدروکسیل در فنل موجود در گونه‌های مختلف گیاهان متفاوت است که روی قدرت میکروب‌کشی اثر داشته و به‌نوبه خود می‌تواند یکی از دلایل اختلاف نتایج در مطالعات مختلف باشد (۱۹،۱۸). نتایج مطالعه حاضر اثر عصاره هیدروالکلی درمنه دشتی را روی مهار و کشندگی قارچ *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد؛ لذا این امکان وجود دارد که عصاره‌های مذکور حاوی ترکیبات ضدقارچی بوده و قدرت مهار و کشندگی این قارچ را دارا باشند. بنابراین باتوجه به این مسئله، تحقیقات گسترده‌تر در زمینه جداسازی، شناسایی مواد ضدقارچی و استفاده از عصاره‌های هیدروالکلی درمنه دشتی در درمان‌های تجربی *کاندیدا آلبیکنس* ضروری است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد در روش انتشار از دیسک، عصاره‌های الکلی و آبی درمنه دشتی اثر ضدقارچی ندارند، اما در روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و کشندگی، دارای اثر ضدقارچی بر *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی هستند. باتوجه به این نتایج در آینده باید تحقیقات بیشتری بر روی این گیاه در شرایط *in- vitro* و در پی آن در شرایط *in- vivo* در مدل‌های حیوانی و در مطالعات گسترده روی انسان انجام گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین استخراج ترکیبات ضدمیکروبی این گیاه جهت آزمایش‌های گسترده‌تر مفید است؛ لذا با توجه به این نتایج، امید است در آینده از گیاه درمنه دشتی بتوان جهت درمان بیماری‌های قارچی به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین دانشگاه و کارشناسان محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، همچنین از دانشجویان کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر می‌گردد.

References:

1. Huang YC, Lin TY, Lien RI, Chou YH, Kuo CY, Yang PH, et al. Candidaemia in special care nurseries: Comparison of albicans and parapsilosis infection. J Infect 2000;40(2):171-5. PubMed

2. 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;106(2):158-65. PubMed

3. Johann S, Silva DL, Martins CV, Zani CL, Pizzolatti MG, Resende MA. Inhibitory effect of extracts from Brazilian medicinal plants on the adhesion of Candida albicans to buccal epithelial cells. World J Microbiol Biotechnol 2008;24(11):2459-64. Springer

4. Hoepelman IM, Dupont B. Oral candidiasis: The clinical challenge of resistance and management. Int J Antimicrob Agents 1996;6(3):155-9. PubMed

5. 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;29(1):81-8. PubMed

6. Gadea I, Cuenca M, Gegundez MI, Zapardiel J, Valero ML, Soriano F. Effect of pH and buffer system on the in-vitro activity of five antifungals against yeasts. J Antimicrob Chemother 1997;39(4):453-9. PubMed

7. Pina-Vaz C, Gonçalves Rodrigues A, Pinto E, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, et al. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. J Eur Acad Dermatol Venereol 2004;18(1):73-8. PubMed

8. Zarnivand H, Jafari M, Moghaddam MR, Jalili A, Zare Chahouki MA. The effects of soil characteristics and elevation on distribution of two Artemisia species (case study: Vard Avard, Garmsar and Semnan rangelands). Iranian J Nat Resour 2003:56(1-2):93-100. Sid

9. Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. J Antimicrob Chemother 2001;47(5):565-73. PubMed

10. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry 2008;69(8):1732-8. PubMed

11. Torbati nejad NM, Gharebash AM, Sattarian A. Determination and comparison of feeding value of artemisia aucheri and artemisia siberi in sheep. J Agr Sci Nat Resour 2003;10(2):171-9. [Full Text in Persian] Link

12. Kalemba D, Kusewicz D, Świąder K. Antimicrobial properties of the essential oil of Artemisia asiatica Nakai. Phytother Res 2002;16(3):288-91. PubMed

13. Ahmadvand H, Amiri H, Dalvand H, Bagheri SH. Various antioxidant properties of essential oil and hydroalcoholic extract of Artemisa persica: Short Communication. J Birjand Univ Med Sci 2014;20(4):416-24. Link

www.SID.ir

Archive of SID

14. Rostami M, Nahrevanian H, Farahmand M, Ziaei H, Sharif M, Maghsoudlourad FS. Evaluation of anti-leishmanial efficacy by extract of Artemisia Auchery Bioss. on Leishmania Major in balb/c. J Herbal drugs 2012;2(4):269-74. [Full Text in Persian] Link

15. Sohrabi H, Sarookhani MR, Ezani A. Identification of Candida species associated with vulvovaginal candidiasis by comparison of an innovative molecular method with culture in 2013. Arak Univ Med J 2013;16(8):48-56. [Full Text in Persian] Link

16. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important candida species. J Clin Microbiol 1994;32(8):1923-9. PubMed

17. Afsarian MH, Zaini F, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-albicans candida species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis. Tehran Univ Med J 2007;64(12):38-47. [Full Text in Persian] Link

18. Gholampourazizi I, Rouhi S, Zandi S, Kashefi H, Hassanzadeh Miandasteh S. Antifungal effect of melia azedarach alcoholic and aquatic extract on Malassezia furfur. Novin Health J 2017;1(2):7-11. [Full Text in Persian] Link

19. Gholampour-Azizi I, Rouhi S, Yahyayi F. In vitro antifungal activity of Cucumis melo on Candida albicans. Zahedan J Res Med Sci 2015;17(7):e1019. Link

20. Eesa Gholampourazizi, Samaneh Rouhi, Bijan Nouri, Shaban Hassanzadeh Miandasteh. In vitro study of antifungal effect of walnut (Juglans regia L.) leaf extract on the Malassezia furfur fungus. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2015;20(1):30-9.[Full Text in Persian] Link

21. Yousefi MR, Abuhosseini Tabari M, Sadeghi Hashjin G, Kouhi MK. Antiparasitic efficacy of worm wood (Artemisia absinthium) alcoholic extract on syphacia obvolata. Iran J Vet Med 2012;6(1):47-50. [Full Text in Persian] Link

22. Havasian MR, Panahi J, Pakzad I, Davoudian A, Jalilian A, Zamanian Azodi M. Study of Inhibitory effect of alcoholic and aqueous extract of Scrophularia striata (tashne dari) on candida albicans in vitro. Res Med J 2013;36(5):19-23. Link

23. Golshani Z, Dawoodi V. In vitro study of antimicrobial effects of Rosmarinus officinalis leaf extract against some pathogens. Arak Med Univ J 2013;16(8):82-9. [Full Text in Persian] Sid

24. Nasirpour M, Yavarmanesh M, Mohhamadi Sani A, Mohamdzade Moghadam M. Antibacterial effect of aqueous extract of Artemisia aucheri, Artemisia sieberi and Hyssopus officinalis L. on the food borne pathogenic bacteria. Iranian J Food Sci Tech 2014;12(46):73-84. Link

25. Hedayati rad F, Sharifan A, Khodayian Chegini F, Hosini E. Antimicrobial activity of Pullulan film incorporated with Artemisia sieberi essential oil. J Fasa Univ Med Sci 2013:3(2):130-5. [Full Text in Persian] Link

26. Sabzali S, Bakhtiyari S, Rostamzad A, Zamanian Azodi M. Comparison of antibacterial effect of Thymbra spicata's essential oils with common therapeutic antibiotics. Res Med 2013;36(5):1-6. [Full Text in Persian] Link

www.SID.ir