مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۸۶
صفحات: ۲۱ – ۲۸

مطالعه فعالیت ضد کاندیدایی عصاره اتانولی جعفری مکزیکی (Tagetes Minuta) برضد ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به فلوکونازول

آزاده اسکندری[?] M.Sc. ، مرضیه هلاکوئی[*] M.Sc. ، محمدحسین یادگاری[*] Ph.D. ،
امیر قائمی[**] M.Sc. ، حسین زرین کفش[*] M.Sc.

چکیـده

هدف: بررسی اثر ضد کاندیدایی جعفری مکزیکی بر روی گونه کاندیدا آلبیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول.

روش بررسی: به این منظور عصاره الکلی از پیکره رویشی این گیاه به روش خیساندن (مسراسیون) تهیه و در شرایط خلاء تغلیظ شد. رقتهای مختلف عصاره پس از مجاورت با مخمرهای مقاوم و حساس به فلوکونازول به محیط کشت اضافه و اثرات ضدقارچی آنها ارزیابی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره ضدقارچی بر روی گونه کاندیدا آلبیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول مؤثر است. مقادیر غلظت باز دارندگی از رشد گونه حساس به فلوکونازول کاندیدا آلبیکنس ۳۴/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و گونه مقاوم به فلوکونازول ۶۹ میکرو گرم بر میلی لیتر می‌باشد. نتایج این مطالعه بیان می‌کند که این گیاه ارزش بالقوه در مهار رشد کاندیدا البیکنس در شرایط آزمایشگاهی را دارد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، عصاره گیاهی جعفری مکزیکی بیشترین تأثیر ضدقارچی را علیه ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول در مقایسه با ایزوله‌های حساس به فلوکونازول نشان داد. استفاده گسترده از داروهای ضدقارچی به ویژه ترکیبات ازول در درمان کاندیدیازیس حاد منجر به مقاومت در گونه‌های کاندیدا شده است؛ از این‌رو استفاده از تستهای مناسب ضدقارچی قبل از انتخاب داروی مناسب برای هر یک از عفونتهای ذکر شده ضروری است که این امر منجر به کاهش مقاومتهای ثانویه و انتخاب پروتکل‌های درمانی مناسب می‌گردد. با توجه به نتایج به دست آمده در مورد اثر مهاری عصاره فوق بر روی رشد ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس این عصاره به عنوان منبع ضدقارچی مؤثر در کنترل کاندیدیازیس به شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: جعفری مکزیکی، کاندیدا آلبیکنس، فلوکونازول، فعالیت ضدقارچی.

دریافت مقاله: ۸۵/۵/۲۱، اصلاح مقاله: ۸۶/۴/۱، پذیرش مقاله: ۸۶/۴/۶

? کارشناس ارشد گروه قارچشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران – ایران
* گروه قارچشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
** گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
آدرس پست الکترونیکی: azadeh_myco@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقـدمـه

جعفری مکزیکی با نام علمی Tagetes minuta گیاهی است یک ساله که متعلق به خانواده گل ستاره (Asteraceae) می‌باشد. این گیاه بومی نواحی علفزار و کوهستانی آمریکای جنوبی، شامل کشورهایی نظیر آرژانتین، شیلی، پاراگوئه و بولیوی است. به دلیل تمایل رشد این گیاه در مناطق مختلف گونه‌های بسیاری از آن در نواحی گوناگون دنیا مشاهده می‌شود (۱). Tagetes minuta غنی از ترکیبات ثانویه از قبیل ترکیبات غیرحلقوی، تک حلقه‌ای، دو حلقه‌ای، مونوترپن‌ها، فلاوونوئیدها، تیوفنها و ترکیبات آروماتیک می‌باشد. شواهد نشان داده است که این ترکیبات ثانویه موجود در Tagetes اثرات بازدارنده‌ای بر روی ارگانیسم‌های مختلف مانند قارچها، قارچهای پاتوژن انسانی، باکتریها، کرمهای حلقوی ترماتودها، نماتودها و آفات حشره‌ای از طریق مکانیسم‌های مختلف دارا می‌باشند. این ترکیبات دارای ارزش دارویی در انسانها نیز هستند. مشاهده شده است که پنج ترکیب ثانویه موجود در Tagetes minuta به نامهای (Z)-ocimenone, tageteone, (E) –ocimenone Dehydrotagetone, B-ocimene دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد. هنگامی که ۴۰ گونه این گیاه بر روی باکتریها و قارچها اثر داده شد، مشخص گردید که ترکیبات آنها دارای صد در صد اثر باز دارندگی بر روی باکتریهای گرم مثبت و ۹۵٪ اثر بازدارندگی بر روی باکتریهای گرم منفی و ۱۰۰٪ اثر بازدارندگی بر روی قارچها می‌باشند (۲). Hudson در سال ۱۹۹۰ ترکیبات ثانویه گوناگون این گیاه را در مورد اثر ضد ویروسی مطالعه کرد و ثابت نمود که این گیاه در دوز پائین دارای اثر ضد ویروسی بالایی است و همچنین مشاهده شد که تیوفن‌ها و مولکولهایی که دارای بیش از ۲ بخش تیوفن هستند دارای بیشترین فعالیت ضد ویروسی می‌باشند (۳). Chand Hoke & Ghatak در سال ۱۹۶۹ مطالعاتی بر روی حیوانات تجربی انجام دادند و مشخص کردند که روغن Tagetes minuta باعث کاهش فشار خون، برونکودیلاتور ضد التهاب و دارای خاصیت مسکن است (۳). جنس Tagetes شامل ۵۶ گونه است که تمامی این گیاهان به صورت یک ساله در سراسر جهان قابل رؤیت هستند. چهار گونه مشهور آن T. lunulata, T. erecta, T. patula, T. tenuifolia می‌باشد. این چهار گونه از سالها پیش به مناطق کشاورزی غرب مکزیکو برده شده، و به عنوان داروهای گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات مختلفی بر روی روغن گونه‌های Tagetes انجام شده است که این مطالعات نشان داد گونه‌های Tagetes در ترکیبات شیمیایی و تولید ترکیبات روغنی با هم متفاوت هستند. Ocimene به عنوان مهمترین روغن به دست آمده از T. minuta است که تقریباً ۳۰ تا ۴۰ درصد از ترکیبات آن را شامل می‌شود و نیز این ماده در T. tenufolia به میزان ۵ تا ۱۰٪ موجود است. ترکیبات اصلی که به عنوان روغن گیاهی از T. patula به دست آمده است مربوط به piperitone limonene می‌باشد (۴-۱). کاندیدیازیس بدون شک یکی از مهمترین و شایع‌ترین بیماریهای فرصت‌طلب در انسان است که عامل ایجاد کننده آن در دسته مخمرها قرار دارد. عفونت به صورت حاد، تحت حاد و مزمن در پوست، ناخن، مخاط واژن، برونش، ریه، دستگاه گوارش دیده می‌شود و گاهی نیز منتشر می‌گردد و کلیه، کبد، قلب و غیره را نیز گرفتار می‌سازد. گونه‌های کاندیدایی اکنون چهارمین عامل عفونت منتشره بیمارستانی محسوب می‌شوند (۵). مشکلی که در مورد عوامل کاندیدایی مطرح می‌شود این است که نسبت به داروهای ازولی مقاوم شده‌اند. پس عملاً درمان، در افراد مبتلا به کاندیدیازیس بی‌تأثیر است (۶). از مسایل دیگر، افزایش میزان عفونتهای بیمارستانی است که توسط کاندیدیازیس ایجاد می‌شود و این عفونتها بیشتر توسط جایگزین شدن عوامل کاندیدایی جدید اتفاق می‌افتد که مربوط به مقاومت گونه‌هایی از قبیل گلابراتا، تروپیکالیس و کروزه‌ای نسبت به آزولها است (۷). درمان کاندیدیازیس با استفاده از داروهای شیمیایی ما را دچار مشکل می‌کند (۸)، پس امروزه توجه محققین به داروهای گیاهی جلب شده است. با توجه به اهمیت و نقش گیاهان در درمان بیماریها و این که ایران دارای گذشته غنی در طب سنتی و مقبولیت گیاه درمانی توسط مردم می‌باشد، زمینه مساعدی

Archive of SID

www.SID.ir

جهت توسعه علمی این روش درمان به وجود آورده است (۸). گیاه درمانی تا اواسط قرن ۱۹ میلادی مهمترین ابزار درمان بوده است، ولی به تدریج استفاده از داروهایی که حاوی مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی بوده‌اند، جانشین این شیوه از درمان گردید. به این ترتیب گیاهان دارویی تا حدودی به فراموشی سپرده شد و جای خود را به مواد شیمیایی که تمام یا قسمتی از آنها مصنوعی بود، داد. اما به علت ظاهر شدن عوارض نامطلوب و جانبی ترکیبات سنتتیک و عدم سازگاری آن با طبیعت انسان، بار دیگر توجه دانشمندان و پژوهشگران به گیاه درمانی معطوف گردیده است (۹). در همین راستا و با توجه به ضرورت‌های ذکر شده، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر ضدقارچی عصاره جعفری مکزیکی بر روی ایزوله‌های کاندیداآلبیکنس بومی ایران صورت گرفته است.

روش بررسی

ایزوله‌های مورد استفاده. ایزوله‌های کاندیدایی مورد استفاده در این مطالعه از چند مرکز درمانی تهیه شده است. یک نمونه لیوفیلیزه شده PTCC 5027 کاندیدا آلبیکنس به عنوان نمونه استاندارد، از سازمان پژوهش‌های علمی- صنعتی ایران تهیه گردید.

جداسازی و تشخیص کاندیدا آلبیکنس از نمونه‌های بالینی. پس از انجام نمونه‌گیری از افراد مبتلا به وازینیت کاندیدایی و جمع‌آوری آنها، ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس از سایر ایزوله‌ها جدا شدند. بدین منظور از روش‌های ذیل استفاده گردید.

- **بررسی مستقیم میکروسکوپی.** مقداری از هر نمونه بر روی یک لام تمیز قرار گرفت و با استفاده از پتاس ۱۵٪ شفاف شد. نمونه‌هایی که حاوی عناصر قارچی به شکل سلول‌های مخمری گرد و بیضی به قطر ۵-۳ میکرومتر همراه یا بدون جوانه و میسلیوم بودند، برای کشت و جداسازی و شناسایی گونه‌های کاندیدا مورد استفاده قرار گرفتند.

- **تهیه کشت تازه از کاندیدا.**

- **تهیه محیط کشت.** ۶۵ گرم از پودر محیط سابورودکستروز آگار را در یک لیتر آب مقطر حل کرده، پس از جوشاندن و شفاف شدن محیط، ۵۰ میلی گرم کلر آمفینیکول که در ۱۰۰ سی‌سی الکل خالص حل شده بود، به محیط اضافه کردیم. سپس محیط در اتوکلاو قرار گرفت و در فشار ۱۵پوند بر اینچ مربع و در دمای $121^{o}c$ به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید.

- **کشت اولیه.** نمونه‌های جدا شده از افراد مبتلا به واژینیت کاندیدایی بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار حاوی کلر آمفینیکول تلقیح و در دمای $37^{o}c$ به مدت ۴۸h-۲۴ نگهداری شد. پس از مشاهده کلنی‌های مخمری از تستهای تشخیصی افتراقی برای تفکیک کاندیدا آلبیکنس از سایر ایزوله‌ها استفاده گردید.

شناسایی کاندیدا آلبیکنس

آزمایش تولید لوله زایا. یک لوپ از کلنی مخمر در لوله محتوی ۰/۵ میلی لیتر از سرم انسان یا سرم جنین گاو تلقیح و به مدت ۳-۲/۵ ساعت در دمای $37^{o}c$ نگهداری شد. سپس از نظر تولید لوله زایا مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایش ایجاد کلامیدوسپور. در محیط کورن میل آگار حاوی ۰/۵٪ توئین ۸۰ ایجاد کلامیدوسپور را بررسی نمودیم.

تعیین حساسیت ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس نسبت به فلوکونازول. ابتدا محیط کشت سابورودکستروز آگار تهیه و در پلیت‌ها ریخته شد. سپس ایزوله‌ها توسط سوآپ استریل بر روی این محیط کشت داده شد. سپس ۱۵-۱۰ دقیقه دیسک‌های ۲۵ میکروگرمی فلوکونازول توسط پنس استریل در وسط پلیت قرار گرفت و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. نتایج آنتی بیوگرام بر اساس متد NCCLS قرائت شد.

تهیه عصاره الکلی گیاه جعفری مکزیکی. جهت تهیه عصاره از روش خیسانیدن (مسراسیون) استفاده شد. به این منظور در مرحله زایشی، بوته‌ها از خاک در آورده شد. ریشه آنها از ساقه گیاه جدا گردید. ریشه‌ها به دقت و در چند مرحله جهت بر طرف کردن آلودگیها شسته شدند. سپس میزان ۱۵۰ گرم از ریشه‌ها آسیاب و درون ارلن ریخته شد و مقدار ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درجه به آن اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد (طی این مدت چندین بار ظرف را

Archive of SID
www.SID.ir

تکان داده و به هم می‌زدیم)؛ بعد از مدت مذکور محتویات درون ارلن با کاغذ صافی، صاف گردید. سپس حلال به روش تقطیر در خلأ در دمای ۴۰ درجه از عصاره جدا گردید.

تعیین وزن خشک عصاره الکلی. به منظور تعیین وزن خشک عصاره، میزان ۵ میلی لیتر از محلول صاف شده را درون شیشه ساعت که وزن آن با سه رقم اعشار معلوم شده بود، ریختیم. این محلول ۳ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه قرار گرفت تا کاملاً خشک گردید و پس از خشک شدن مجدداً شیشه ساعت وزن شد و اختلاف وزن آن با وزن شیشه ساعت خالی به عنوان وزن عصاره خشک در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظتهای مهاری (Minimal Inhibitory Concentration) و کشندگی (Minimal Fungicidal Concentration) عصاره الکلی جعفری مکزیکی به روش رقیق‌سازی در محیط مایع. برای این منظور از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد.

ابتدا در هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محیط سابورودکستروز براث ریخته و سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به چاهک اول اضافه شد. پس از مخلوط شدن محیط و عصاره مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول به چاهک دوم برده شد و پس از مخلوط شدن آنها ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک سوم اضافه شد و به همین ترتیب تا آخر ادامه یافت که نهایتاً از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد. در مرحله بعد به هر چاهک ۱۰۰ سلول مخمری افزوده گردید. در هر ردیف شاهد مثبت شامل محیط کشت، مخمر و سرم فیزیولوژی استریل (جهت اطمینان از زنده بودن ارگانیسم و مغذی بودن محیط برای رشد آن) و شاهد منفی شامل محیط کشت و الکل قرار گرفت. به این ترتیب در چاهک اول رقت عصاره یک دوم، در چاهک دوم یک چهارم، در چاهک سوم رقت یک هشتم قرار داشت و هر چاهک حاوی ۱۰۰۰ سلول مخمری بود. سپس میکروپلیت به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای $37^{o}c$ قرار گرفت. اولین چاهکی که پس از آن رشد کلنی صورت گرفت به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MFC نیز از محتویات همه چاهک‌ها مقداری برداشته، بر روی محیط کشت سابورودکستروز آگار کشت داده شد. کمترین غلظتی که در آن ۹۹/۹٪ مخمرها از بین رفته بودند، به عنوان MFC محسوب گردید (۱۱). لازم به ذکر است که هر کدام از آزمایشات حداقل ۳ مرتبه به طور جداگانه تکرار و میانگین نتایج آنها محاسبه شد.

تعیین قطر هاله‌های عدم رشد برای مقادیر حداقل غلظت ممانعت کننده (Minimal Inhibitory Concentration) و کشندگی رشد (Minimal Fungicidal Concentration). برای انجام این آزمایش از محیط سابورودکستروز آگار ۴٪ استفاده شد. در ابتدا از ایزوله‌های مورد نظر توسط سوآپ استریل بر روی محیط سابورودکستروز آگار کشت داده شد. سپس چاهک‌هایی به حجم ۵۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت تعبیه گردید و با استفاده از عصاره الکلی و محیط سابورودکستروز براث استریل، رقتهایی مختلف از عصاره الکلی در حجم ۴۰ میکرولیتر تهیه و به چاهک اضافه شد. همچنین در کنار چاهک‌های تست، از حلال هیدرواتانولی به عنوان شاهد استفاده گردید. پس از ۴۸-۲۴ ساعت انکوباسیون پلیتها در دمای $37^{o}c$، قطر هاله‌های عدم رشد به طور دقیق اندازه گرفته شد.

یافتــه‌هـا

کشت سویه‌ها. برای جداسازی اولیه ارگانیسم از محیط SCC (سابورودکستروز آگار+آنتی بیوتیک ضد باکتری) استفاده شد و پس از ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری در دمای $37^{o}c$، کلنی‌های مخمری بر روی محیط کشت رشد کردند.

نتایج حاصل از تعیین حساسیت سویه‌های کاندیدایی نسبت به فلوکونازول بر اساس اندازه گیری قطر نواحی مهار رشد اطراف دیسک‌های ۲۵ میکروگرمی فلوکونازول مشخص شد و بر اساس استانداردهای تعیین شده در متد NCCLS ایزوله‌های حساس و مقاوم شناسایی شدند. ایزوله‌هایی که قطر هاله عدم رشد آنها کمتر از ۱۲ میلی متر بود مقاوم و ایزوله‌هایی که قطر هاله عدم رشدشان بیشتر از ۲۴/۵ میلی متر بود ایزوله‌های حساس نسبت به دارو طبقه‌بندی شدند. نتایج این آزمایش در جدول ۱ آمده است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. طبقه‌بندی ایزوله‌ها از نظر حساسیت به دارو.

سویه	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	ST
نوع مقاومت	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R

R: مقاوم (قطر هاله کمتر از ۱۲ mm) ST: کاندیدا آلبیکنس استاندارد (PTCC ۵۰۲۷) S: حساس (قطر هاله بیشتر از ۲۴/۵ میلی لیتر)

جدول ۲. میانگین نتایج MIC و MFC عصاره الکلی جعفری مکزیکی به روش رقیق سازی در محیط مایع SD=0.05 mg/ml

اثر مهاری ← / سویه ↓	MIC		MFC	
	غلظت (mg/ml)	رقت	غلظت (mg/ml)	رقت
A,B,D,E,J,I,G,K,N,O,R,TST	۶۹	۱/۶۴	۱۳۸	۱/۳۲
C,F	۱۷/۲۵	۱/۲۵۶	۳۴/۵	۱/۱۲۸
H,L,M,P,Q,S	۳۴/۵	۱/۱۲۸	۶۹	۱/۶۴

جدول ۳. قطر هاله‌عدم رشد ایزوله‌ها بر روی محیط سا بورو دکستروز مایع در مجاورت با رقت‌های مختلف عصاره الکلی (بر حسب میلی متر) در حجم ٤٠ میکرو لیتر از حلال هیدرو اتانولی به عنوان شاهد استفاده گردید.

ایزوله	۱/۲۵٦	۱/۱۲۸	۱/٦٤	۱/۳۲	شاهد الکلی
A	–	–	۱۹/۳ ± ۱	۲۲/۱ ± ۱	–
B	–	–	۱۶/۷ ± ۱	۱۹/۱ ± ۱	–
C	۱۷/۸ ± ۱	۱۷/۳ ± ۱	۲۲/۳ ± ۱	۲۴/۶ ± ۱	–
D	–	–	۲۳/۱ ± ۱	۲۵ ± ۱	–
E	–	–	۲۰/۳ ± ۱	۲۳/۱ ± ۱	–
F	۱۸/۱ ± ۱	۱۹/۱ ± ۱	۲۱/۹ ± ۱	۲۴/۱ ± ۱	–
G	–	–	۲۳/۲ ± ۱	۲۵ ± ۱	–
H	–	۲۰/۲ ± ۱	۲۲/۳ ± ۱	۲۴/۲ ± ۱	–
I	–	–	۲۰/۵ ± ۱	۲۳/۱ ± ۱	–
J	–	–	۲۳/۱ ± ۱	۲۵/۱ ± ۱	–
K	–	–	۲۲/۲ ± ۱	۲۵/۲ ± ۱	–
L	–	۲۱/۶ ± ۱	۲۰/۳ ± ۱	۲۶ ± ۱	–
M	–	۱۹/۳ ± ۱	۲۲/۱ ± ۱	۲۵ ± ۱	–
N	–	–	۲۴/۸ ± ۱	۲۴/۷ ± ۱	–
O	–	–	۲۳/۱ ± ۱	۲۳/۱ ± ۱	–
P	–	۲۲/۶ ± ۱	۲۲/۱ ± ۱	۲۶ ± ۱	–
Q	–	۱۹/۶ ± ۱	۲۰/۴ ± ۱	۲۲/۳ ± ۱	–
R	–	–	۲۳/۳ ± ۱	۲۵/۲ ± ۱	–
S	–	۱۹/۹ ± ۱	۱۹/۱ ± ۱	۲۶ ± ۱	–
T	–	–	۱۹/۷ ± ۱	۲۲/۳ ± ۱	–
ST	–	–	۱۱/۴ ± ۱	۲۱/۶ ± ۱	–

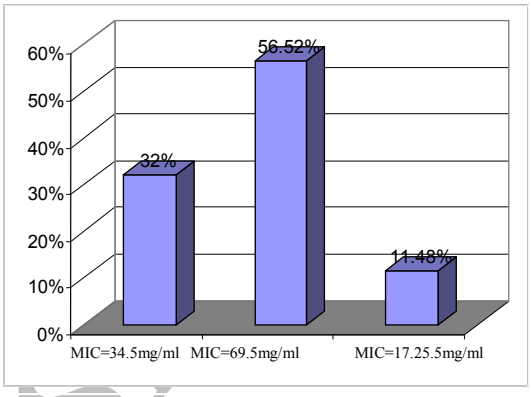
(-)=Inhibition Zone not seen

نتایج تعیین اثرات مهاری عصاره الکلی جعفری مکزیکی به روش آگاردیفیوژن. در این آزمایش در پلیت حاوی محیط سابورودکستروز آگار و غلظت ۶۹mg/ml عصاره الکلی، ایزوله‌های ST، T، R، O، N، K، G، I، D، E، B، J، A رشد نکرده بودند. در پلیت حاوی غلظت ۳۴/۵mg/ml عصاره الکلی ایزوله‌های L، H، M، P، Q، S رشد نداشتند. در پلیت حاوی غلظت ۱۷/۲۵mg/ml رشد ایزوله‌های C و F مهار شده بود (جدول ۲).

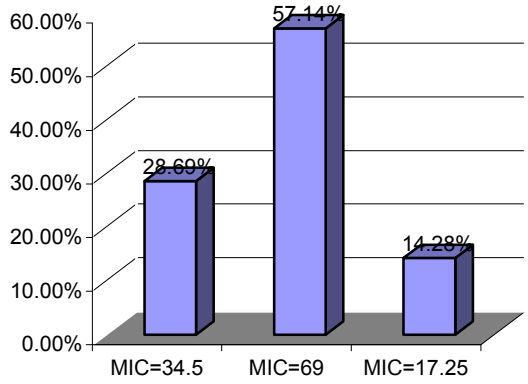
نتایج تعیین وزن خشک عصاره الکلی. میانگین وزن خشک عصاره الکلی ۰/۱۵ ± ۷۳ /۷ میلی گرم در میلی لیتر بود. نتایج حاصل از تعیین MIC و MFC عصاره الکلی جعفری مکزیکی به روش میکرو دایلوشن براث در رقتهای ۱/۳۲، ۱/۶۴ و ۱/۱۲۸ و ... از این قرار بود: ۲۸٪ ایزوله‌ها دارای MIC معادل ۳۴/۵mg/ml، ۶۲/۸٪ دارای MIC معادل ۶۹mg/ml و ۹/۲٪ دارای MIC معادل ۱۷/۲۵mg/ml بودند. در میان ایزوله‌های حساس نسبت به فلوکونازول، ۱۱/۴۸٪ دارای MIC معادل ۱۷/۲۵mg/ml، ۳۲٪ دارای MIC معادل ۳۴/۵mg/ml و ۵۶/۵۲٪ دارای MIC معادل ۶۹mg/ml بودند. در میان ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول ۵۷/۱۴٪ دارای MIC ۶۹mg/ml، ۲۸/۶۹٪ دارای MIC ۳۴/۵mg/ml و ۱۴/۲۸٪ دارای MIC معادل ۱۷/۲۵mg/ml بودند (نمودار۱و۲) (جدول۳).

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج تعیین قطر هاله عدم رشد برای مقادیر MIC و MFC عصاره الکلی. در این آزمایش نیز غلظتهای مختلف عصاره الکلی به چاهک‌ها اضافه شد و قطر هاله عدم رشد تعیین گردید.



نمودار ۱. درصد MIC عصاره الکلی برای ایزوله‌های حساس به فلوکونازول.



نمودار ۲. درصد MIC عصاره الکلی برای ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول.

بحـــث

عفونتهای قارچی گروهی از عفونتهای میکروبی هستند که در اکثر موارد به دلیل افزایش تعداد میزبانهای مبتلا به نقایص سیستم ایمنی رخ می‌دهند.

در دو دهه اخیر به دلایل مختلف نظیر ایدز، انواع بدخیمی‌های خونی و مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیکها و کورتیکواستروئیدها، موارد زیادی مبنی بر افزایش این دسته از عفونتها گزارش شده است (۱۰). در این راستا استفاده از انواع داروهای ضدقارچی به ویژه در مقادیر بالا در درمان عفونتهای سیستمیک و به ویژه در عفونتهای ناشی از کاندیدا آلبیکنس با ایجاد مقاومت نسبت به داروهای مذکور همراه بوده است.

ایمیدازول‌ها ترکیبات میکروب کشی هستند که با اثر بر روی غشای ارگانیسم باعث مرگ آن می‌شوند. مشتقات آزول خاصیت ضد میکروبی و سمی دارند. به طوری که می‌توان چنین ادعا نمود که این داروها به استثنای باکتریهای گرم منفی بر روی بقیه باکتریهای بیماریزای انسانی تأثیر دارد. آزول‌ها ترکیباتی هستند که با اثر و ترکیب با آنزیم‌های سیستم سیتوکروم p450 سلولهای قارچی موجب اختلال در سنتز ارگوسترول و ساخته شدن ناقص دیواره سلولی و نهایتا مرگ سلول های قارچی می‌شوند (۱۱).

از آن جایی که این ترکیبات با سیستم آنزیمی سیتوکروم p450 پستانداران نیز واکنش نشان می‌دهند، مصارف خوراکی و یا تزریقی آنها موجب اختلالات متعددی در سنتز محصولات متابولیکی کلیدی گشته، در نهایت با عوارض مختلف همراه خواهند بود. از جمله مواردی که سنتز آنها بعد از مصارف خوراکی یا تزریقی آزول‌ها مختل می‌شود می‌توان از اندوبیوتیکهایی چون لوکوترین‌ها، ترومبوکسانها، رتینوئیک اسید، گلوکوکورتیکوئیدها، مینرالوکورتیکوئید و آندروژنها نام برد (۱۱).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که عفونتهای مهم قارچی توسط گونه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچی ایجاد می‌شود. این موضوع به خصوص در مورد گونه‌های کاندیدا و مقاومت آنها نسبت به داروهای فلوکونازول مورد تأیید قرار گرفته است (۱۲). در این رابطه مشخص شده است که نتایج یک درمان ضدقارچی به عوامل مختلفی نظیر ویژگیهای قارچ، عامل عفونت، ویژگیهای داروی ضدقارچی و فاکتورهای میزبان وابسته می‌باشد (۱۳).

در مورد ویژگیهای قارچ عواملی مثل مقاومت در برابر داروهای ضدقارچی، نوع قارچ عامل بیماری و میزان حضور قارچ حائز اهمیت است. همچنین داروهای ضدقارچی از جنبه‌های مختلف نظیر قابلیت جذب، توزیع و متابولیسم، تداخل دارویی، دارا بودن

Archive of SID

www.SID.ir

اثرات متوقف کنندگی رشد قارچ یا قارچ کشی و میزان دوز مؤثر دارای اهمیت بالینی هستند. به دلایل فوق و به ویژه ایجاد مقاومتهای دارویی در سالهای اخیر توجه محققین به سمت یافتن ترکیبات طبیعی و گیاهی با خواص مهارکنندگی رشد قارچها معطوف گردیده است. هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر مهاری عصاره الکلی جعفری مکزیکی بر رشد ایزوله‌های مخمر کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. در مطالعه حاضر نشان داده شد که عصاره الکلی جعفری مکزیکی دارای اثر مهارکنندگی بر رشد استرین‌های حساس و مقاوم به فلوکونازول کاندیدا آلبیکنس هستند. نتایج به دست آمده از بررسی تأثیر عصاره الکلی جعفری مکزیکی بر ایزوله‌های مختلف کاندیداآلبیکنس تحت بررسی نشان داد که این عصاره از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد برخی ایزوله‌های کاندیداآلبیکنس می‌باشد. از مجموع ۲۰ ایزوله مورد بررسی، ۱۲ ایزوله نسبت به فلوکونازول حساس و ۸ ایزوله مقاوم بودند و محدوده MIC این عصاره بین ایزوله‌های حساس نسبت به فلوکونازول ۶۹–۱۷/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد و در بین ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول ۱۳۸–۶۹ میکرو گرم بر میلی لیتر است. غلظتهای بالاتر از ۶۹ میکرو گرم بر میلی لیتر باعث مهار کامل رشد ایزوله‌های مورد بررسی کاندیداآلبیکنس می‌شود.

عصاره الکلی جعفری مکزیکی در مقادیر MIC, MFC بالاتر در مقایسه با ایزوله‌های حساس به فلوکوناول موجب مهار رشد ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول کاندیداآلبیکنس گردید.

نتیجه‌گیری. این نتایج نشان می‌دهند که بین مقاومت کاندیداآلبیکنس نسبت به فلوکونازول و مقاومت آن نسبت به اثرات ضدقارچی گیاه جعفری مکزیکی ارتباط مستقیمی بر قرار است. بنابراین این احتمال وجود دارد که گیاه مذکور با مکانیسمی مشابه به داروی فلوکونازول موجب مهار رشد کاندیداآلبیکنس شود. اثبات این امر نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. در مجموع نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره گیاهی جعفری مکزیکی می‌تواند همانند داروهای ضدقارچی سنتتیک از قابلیت‌های بالایی در مهار رشد کاندیداآلبیکنس برخوردار باشد.

References

1. Kumzr A, Dnkel F, Matthew J. Broughton. Effect of root extracts of Mexican marigold Tagetes minuta on six non tatget aquatic macroinvertebrates. Physiological and chemical ecology 2000; 29(2): 140-149.

2. EL Deeb KS, Abbas FA, EL- Fishaway AE, Mossa JS. Chemical composition of the essential oil of T. minuta growing in Saudi Arabia. Saudi pharmaceutical journal 2004; 12(1): 51-53.

3. Cestari IM, Sarti SJ, Waib CM. Evaluation of the potential insecticide activity of Tagets minuta essential oils against the head Lice pediculus humanus capitis. Neotropical Entomology 2004.

4. Camm EL, Twoers GHN, Mitchell JC. UV mediated antibiotic activity of some composition species. Photochemistry; 14: 2007 -2011.

5. Calderon RA, Foniz WA. Virulence factor of Candida albicans. TRE Micro Rev 2001; 327-335.

6. Elie CM, Lott TJ, Rasse E. Rapid identification of Candida species with species-specific DNA probes. JCM 1998; 36(11): 3260-3265.

7. Ahmad S, Kan Z, Mustafa AS. Seminested PCR for diagnosis of candidemia: American society for microbiology. JCM 2002; 40(7): 2483-2489.

۸. طلعت زمان س. بررسی و فعالیت بیولوژیکی ۶ عصاره مختلف بر روی درماتوفیتها.دانشگاه علوم پزشکی تهران.دانشکده داروسازی؛ ۱۳۶۷.

۹. آنیوم ا. پیام یونسکو. ترجمه پیر سیدی. ۱۳۶۸: ص۷.

۱۰. پندونه ع، زهیر مح، الطریحی ت. اثر واکنش جداشده از عصاره سیر بر پیوند روده در موش آزمایشگاهی.مجله پزشکی کوثر ۱۳۷۵؛ (۲)۱: ۱۲۷–۱۱۹.

۱۱. زینی ف، مهبد اسع، امامی م. قارچ شناسی پزشکی جامع. چاپ اول. تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران؛ ۱۳۷۷.

Archive of SID
www.SID.ir

۱۳. زمانی ژ. بررسی تأثیر عصاره پیاز بر ویژگیهای آنزیم لیپاز و نحوه رشد مالاسزیا فورفور در شرایط آزمایشگاهی.پایان نامه کارشناسی ارشد رشته قارچ شناسی پزشکی. دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۸۰.

12. Canoto MM, Rodero FG. Antifungal drug resistance to azole and polyense. Lancet Infect Dis 2002; 2: 550-563

Archive of SID

www.SID.ir