

# مقایسه حساسیت قارچ‌های کاندیدای جدا شده از واژینیت‌های کاندیدایی نسبت به کلوتریمازول، فلوکونازول و محصول دود کلپوره

## چکیده:

**مقدمه و هدف:** تخمین زده می‌شود که ۷۵ درصد زنان حداقل یکبار در طول عمر خود به کاندیدیان ولوواژینال مبتلا شده‌اند. نزدیک به ۴۵ درصد از زنان به مدت ۲ بار یا بیشتر این بیماری را تجربه کرده‌اند. ترکیبات گروه آزول موضعی و خوراکی قابل دسترس‌ترین شیوه درمان می‌باشد. استفاده سنتی مردم به طور تجربی از محصول گیاه کلپوره در درمان علامتی عفونت کاندیدایی واژن دیده شده است. لذا هدف از این مطالعه مقایسه حساسیت قارچ‌های کاندیدای جدا شده از واژینیت‌های کاندیدایی نسبت به کلوتریمازول، فلوکونازول و محصول دود کلپوره بود.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۷ در دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام گردید. ۱۰۵ نمونه مثبت قارچ کاندیدا از بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدایی جدا گردید. تفکیک گونه‌های قارچی بر اساس تست جرم تیوب صورت گرفت. محصول دود کلپوره در غلظت مناسب تهیه گردید. جهت تعیین اثرات ضد قارچ گیاه کلپورره و داروهای فلوکونازول و کلوتریمازول از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. مقادیر مختلف از محصول دود گیاه کلپوره بر روی دیسک‌های استریل فاقد دارو در غلظت‌های ۱۰-۲۴۰ میکرولیتر بر دیسک قرار داده شد. قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در تشخیص گونه‌ها ۷۰/۵ درصد کاندیدا آلبیکنس و ۲۹/۵ درصد کاندیدا غیرآلبیکنس بود. بر اساس میانگین هاله عدم رشد اطراف دیسک دارویی ۶ مورد مقاومت نسبت به داروی کلوتریمازول و ۴۷ مورد به فلوکونازول مقاومت وجود داشت. ۹۴ درصد کل نمونه‌ها به داروی کلوتریمازول، ۵۵/۲ درصد به داروی فلوکونازول و همه نمونه‌های استاندارد و بالینی به محصول دود کلپوره حساس بودند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اثرات نسبی ضد قارچ دود گیاه کلپوره، استخراج ترکیبات مؤثر عصاره گیاه کلپوره (۳ ترکیب دی ترپنوئید) به منظور سنجش دقیق‌تر اثرات ضد قارچی آن لازم به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** واژینیت کاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس، فلوکونازول، کلوتریمازول، دود کلپوره

بتول بنیادپور\*

مرضیه اکبرزاده\*\*

دکتر کیوان پاک شیر\*\*\*

دکتر عبدالعلی محقق زاده\*\*\*\*

فوق لیسانس مامایی، مربی دانشگاه آزاد اسلامی شهر بابک، دانشکده پرستاری و مامایی، گروه مامایی  
فوق لیسانس مامایی، مربی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پرستاری و مامایی، گروه مامایی  
دکترای قارچ‌شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های انگلی و قارچی، گروه انگل شناسی و قارچ‌شناسی  
دکترای فارماکولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۲/۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۴/۲۳

مؤلف مسئول: مرضیه اکبرزاده

پست الکترونیک: akbarzadehmarzieh@yahoo.com

## مقدمه

آلبیکنس واژینال به فلوکونازول و ۱۶ درصد به ایتراکونازول مقاوم بوده اند (۱۱).

میزان حساسیت ایزوله‌های کاندیدایی به داروهای ضد قارچ به ویژه آزول‌ها در حال کاهش و میزان مقاومت ایزوله‌های کاندیدایی غیر آلبیکنس به داروهای ضد قارچ از جمله آزول‌ها متفاوت است (۱۰)، لذا با توجه به رویکرد اخیر در استفاده از طب گیاهی در درمان عفونت‌های دستگاه تناسلی می‌توان به آویشن شیرازی و یا گیاه مورد نظر اشاره نمود. همچنین فعالیت ضد کاندیدایی گیاهان در درمان واژینیت‌ها به وسیله گیرون و همکاران<sup>(۵)</sup> (۱۹۸۸) بر روی گیاه تاجریزی نشان داد که این گیاه در مقایسه با نیستاتین در درمان واژینیت کاندیدایی مؤثرتر بود (۱۲).

استفاده سنتی مردم به طور تجربی از محصول گیاه کلپوره در درمان علامتی عفونت کاندیدایی واژن، التهاب‌ها، دیابت و روماتیسم دیده شده است. نشان داده شده است که عصاره آن دارای خواص کاهش فشارخون، ضد اسپاسم، ضد باکتری، ضد تب، ضد میکروبی و ضد قارچی می‌باشد. در مطالعه‌های مختلف از عصاره گیاه در حالت‌های متفاوت (به غیر از دود) به صورت روغن، اسانس، عصاره آبی، روغن‌های فرار، جوشانده و دم کرده استفاده شده است (۱۳-۱۵).

واژینیت‌ها به طور عمده به وسیله گونه‌های کاندیدا<sup>(۱)</sup>، باکتری گاردنرلا واژینالیس<sup>(۲)</sup> و انگل تریکوموناس واژینالیس<sup>(۳)</sup> ایجاد می‌شوند و مسئول ۱۰ میلیون ویزیت مطبی در سال می‌باشند (۵ - ۱). علت مراجعه ۲۸ درصد از زنان به درمانگاه بیماری‌های مقاربتی را عفونت‌های واژن تشکیل می‌دهند (۵).

برآورد شده است که احتمالاً ۷۵ درصد از خانم‌ها حداقل یکبار در طول عمر خود دچار کاندیدیاز واژینال می‌شوند و حدود ۴۵ درصد آنان سالیانه دچار دو یا چند حمله بیماری می‌شوند که حدود ۵ درصد از آنان به عفونت مزمن و راجعه مبتلا خواهند شد (۶ و ۷).

واژینیت کاندیدایی به خصوص در نوع عود کننده، یک بیماری جسمی - روانی است که سبب ایجاد استرس‌هایی در بیماران می‌گردد (۷).

در درمان واژینیت کاندیدایی، ترکیبات گروه آزول<sup>(۴)</sup> موضعی از جمله کلوتریمازول قابل دسترس‌ترین شیوه درمان است (۸). سایر داروهای آزول موضعی، بوتوکونازول، میکونازول و ترکونازول می‌باشند. فلوکونازول و کتوکونازول از جمله آزول‌هایی هستند که به صورت خوراکی استفاده می‌شوند که در برخی تحقیقات اثر آنها مشابه بوده است. (۹ و ۸). امروزه شاهد افزایش گزارش‌هایی مربوط به افزایش مقاومت فلوکونازول در برخی از گونه‌های کاندیدا هستیم (۱۰). در گزارش‌های اخیر ۲/۶ و ۱۳ درصد موارد کاندیدا

1-Candida  
2-Gardenerlla vaginalis  
3-Trichomonas Vaginalis  
4-Azol  
5-Giron et al  
6-Solanum nigrescens

عفونت‌های تناسلی انجام گردید و ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونت واژینیت کاندیدایی تشخیص داده شد. برای نمونه‌گیری ابتدا بیمار را در وضعیت لیتوتومی قرار داده و سپس ترشحات واژن از لحاظ رنگ، بو، حجم و سایر ویژگی‌های تشخیصی مورد مشاهده و ارزیابی قرار داده می‌شد و به وسیله اسپاکولوم و سواب استریل از ترشحات واژن نمونه‌برداری می‌گردید. از هر بیمار ۲ سواب تهیه گردید که یکی جهت اسمیر مستقیم بر روی لام کشیده می‌شد و جهت رنگ‌آمیزی به روش متیلن بلو مورد استفاده قرار می‌گرفت. از سواب دوم جهت کشت در محیط سابورو دکستروز آگار استفاده می‌شد. مشخصات کلیه نمونه‌های گرفته شده نظیر شماره و تاریخ بر روی پلیت حاوی محیط کشت ثبت می‌گردید و در پایان شیفت به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی منتقل شده و در انکوباتور در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت نگهداری می‌گردید. پس از این مدت کلنی‌ها جهت خالص‌سازی پاساژ (کشت مجدد) داده می‌شدند و نهایتاً در آب مقطر استریل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت آزمایش‌های تکمیلی نگهداری می‌گردیدند.

- 1-Iridoid
- 2-Flavenoid
- 3-Cirziliol
- 4-Diterpenoid
- 5-Teucrium Polium
- 6-Block design Randomized

کلپوره حاوی ترکیبات مختلفی مثل ایریدوئید<sup>(۱)</sup>، فلاونوئید<sup>(۲)</sup> و سیرزیلیول<sup>(۳)</sup> می‌باشد<sup>(۱۵)</sup>. از عصاره گیاه کلپوره ۳ ترکیب دی‌ترپنوئید<sup>(۴)</sup> به دست آمده است که دارای اثر ضد قارچ می‌باشند<sup>(۱۶)</sup>. گونه‌ای از این گیاه که در ایران رویش می‌یابد و مورد استفاده قرار می‌گیرد تکریوم پولیوم<sup>(۵)</sup> است که تا کنون مطالعه‌های کمی بر روی محصول به دست آمده از دود این گیاه انجام شده است<sup>(۱۷)</sup>، لذا هدف از مطالعه حاضر فراهم آوردن زمینه‌های آموزش بیماران مبتلا به عفونت کاندیدایی واژن و مقایسه میزان حساسیت گونه‌های قارچ کاندیدا به داروی کلوتریمازول فلوکونازول و محصول دود کلپوره بود.

#### مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۷ در دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. محیط پژوهش، درمانگاه زنان بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز بوده و نمونه‌ها، بیماران دارای علائم عفونت کاندیدایی واژن بودند که به روش نمونه‌گیری آسان و پس از کسب رضایت آگاهانه و کتبی انتخاب شدند. جهت نمونه‌گیری یکسان از بیماران سعی شد تمام نمونه‌ها از ناحیه فورنیکس خلفی که حاوی بیشترین ترشحات است جمع‌آوری شود. از آنالیز واریانس بلوکی<sup>(۱)</sup> جهت محاسبه حجم نمونه در این مطالعه استفاده گردید و در طول مدت ۷ ماه، نمونه‌گیری از ۴۵۰ بیمار با شکایت مرتبط با

غلظت سوسپانسیون قارچی بر مبنای روش کدورت سنجی ۰/۵ مک فارلند تنظیم و به وسیله سواب استریل بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد.

دیسک‌های فوق به مدت ۴۸ ساعت بر روی محیط قرار داده شدند. سپس، هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها (مبین اثر ضد قارچی دارو) مورد ارزیابی قرار گرفت. اثرات محصول کلپوره بر روی ۵ سوش استاندارد کاندیدا شامل؛ کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروژنی، کاندیدا پاراپسیلوزیس و ۱۰ نمونه بالینی کاندیدای جدا شده از واژینیت کاندیدایی مورد ارزیابی قرار گرفت. تأثیر ضد قارچی دود گیاه بر حسب حضور یا عدم حضور هاله عدم رشدکنی اطراف دیسک‌ها تعیین شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS<sup>(۳)</sup> و آزمون آماری کای دو<sup>(۳)</sup> تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

در طول مدت نمونه‌گیری (۷ ماه) ۴۵۰ بیمار با شکایت مرتبط با عفونت‌های تناسلی مراجعه نموده بودند که از ۲۸۰ نفر از افراد فوق بر اساس شرح حال و ویژگی‌های ترشحات مرتبطه جهت به دست آوردن قارچ کاندیدا نمونه‌گیری انجام گردید و در نهایت ۱۰۵ نمونه مثبت از نظر قارچ کاندیدا به دست آمد. در ۳ مورد از نمونه‌ها نیز ۲ گونه قارچ جدا گردید.

جهت شناسایی گونه‌های مخمر از تست جرم تیوب استفاده گردید. تست لوله زیبا روش استاندارد طلایی برای تشخیص کاندیدا آلبیکنس می‌باشد.

برای تهیه دود کلپوره ابتدا گیاه به وسیله کارشناس گیاهان دارویی تحت عنوان تکریموم پالیوم از خانواده آستراسیا شناسایی و تأیید گردید و سپس جهت تهیه دود کلپوره به آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی انتقال یافت. در آزمایشگاه ابتدا ۱۰۰۰ گرم از گیاه با دستگاه آسیاب پودر گردید. سپس گیاه در دستگاهی که قسمت تحتانی آن از یک بالون ۱۰۰۰ سی‌سی تشکیل شده و قسمت فوقانی آن شامل یک مبدل بود، به مدت ۱ ساعت حرارت داده شد تا گیاه تبدیل به دود شده و به سمت بالا حرکت نموده و در مبدل جمع و تبدیل به مایع گردید. با استفاده از نیتروژن، حلال مایع فوق خارج گردید و دود خالص گیاه جهت انجام تست‌های حساسیت دارویی آماده شد.

جهت تعیین اثرات ضد قارچی گیاه کلپوره و داروهای فلوکونازول و کلوتریمازول از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. ابتدا محصول دود گونه پالیوم گیاه کلپوره در غلظت خالص تهیه و فرم قابل حل در محلول‌های قطبی ساخته شد. دیسک‌های حاوی غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۸۰، ۱۲۰، ۲۱۰ و ۲۴۰ (میکرولیتر بر دیسک) از محصول دود کلپوره تهیه گردید. از دیسک‌های دارویی کلوتریمازول (۱۰ میکروگرم بر دیسک) و فلوکونازول (۲۵ میکروگرم بر دیسک) شرکت هایمدیای هند نیز استفاده گردید.

1-Asteraceae  
2-Statistical Package for Social Sciences  
3-Chi-Square Test

میانگین سن شرکت کنندگان در این مطالعه در محدوده  $9/49 \pm 32$  سال می‌باشد.

برای اختلافاً گونه آلبیکنس از سایر گونه‌ها، روش استاندارد طلایی تست جرم تیوب می‌باشد. طبق نتایج نوع گونه کاندیدا بر مبنای تشکیل لوله‌زایا در آزمایش جرم تیوب شامل؛ ۷۴ مورد (۷۰/۵ درصد) کاندیدا آلبیکنس (جرم تیوب مثبت) و ۳۱ مورد (۲۹/۵ درصد) کاندیدای غیر آلبیکنس (جرم تیوب منفی) بوده است.

با توجه به فراوانی و در دسترس بودن داروهای آزول، بررسی اثر داروهای کلوتریمازول و فلوکونازول بر روی هر ۱۰۵ نمونه مثبت قارچ کاندیدا انجام شد، ولی با توجه به مشکل بودن تهیه محصول دود کلپوره و مطابق نظر مشاورین علمی و آماری طرح، بررسی اثر محصول دود کلپوره بر روی ۱۵ نمونه قارچ کاندیدای هم کفایت می‌نماید، لذا ۱۰ نمونه از کشت های مثبت قارچ کاندیدا بیماران و ۵ سوش استاندارد کاندیدا جهت این بررسی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که  $94/3$  درصد کل نمونه‌ها به داروی کلوتریمازول،  $55/2$  درصد به داروی فلوکونازول و همه ۱۵ نمونه استاندارد و بالینی به محصول دود کلپوره حساس بودند (جدول ۱).

هاله عدم رشد اطراف ۱۰۵ دیسک دارویی کلوتریمازول بر حسب واحد میلی‌متر در محدوده  $40-0$  و به طور متوسط  $5/39 \pm 22$  قرار داشت. کل نمونه‌های کاندیدا آلبیکنس (۷۰/۴ درصد) و  $23/8$  درصد نمونه‌های کاندیدا غیر آلبیکنس نسبت به آن حساس بوده‌اند، در حالی که در گروه آلبیکنس هیچ

مورد مقاومتی به این دارو وجود نداشته است، ولی  $5/7$  درصد از نوع غیر آلبیکنس، مقاومت نشان داده‌اند. این امر نشان دهنده بالابودن میزان مقاومت در گونه‌های غیر آلبیکنس نسبت به این داروست.

اندازه‌گیری هاله عدم رشد اطراف ۱۰۵ دیسک دارویی فلوکونازول در محدوده  $39/5-0$  میلی‌متر و به طور متوسط  $24/37 \pm 27/5$  قرار داشت. نکته قابل توجه این بود که حداکثر هاله عدم رشد در مورد هر دو داروی فلوکونازول و کلوتریمازول مربوط به یک بیمار بود که کاندیدای آن از نوع آلبیکنس می‌باشد. در  $44/8$  درصد مقاومت به فلوکونازول وجود داشت.

$43/8$  درصد از نمونه‌های کاندیدا آلبیکنس به داروی فلوکونازول حساس و  $26/6$  درصد نیز مقاوم بودند. در نوع غیر آلبیکنس فقط  $11/4$  درصد حساس به فلوکونازول وجود داشت، در حالی که  $18$  درصد از گونه های کاندیدا غیر آلبیکنس به فلوکونازول مقاومت نشان داده‌اند. این امر نشان دهنده بالابودن میزان مقاومت نسبت به فلوکونازول در گونه‌های غیر آلبیکنس می‌باشد.

کل نمونه‌های آلبیکنس و ۲۵ مورد از نمونه‌های غیر آلبیکنس به داروی کلوتریمازول، ۴۶ مورد از نمونه‌های آلبیکنس به داروی فلوکونازول حساس بوده‌اند. بین نوع ارگانسیم با داروهای ضد قارچ از نظر آماری ارتباط معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0/02$ ). در مجموع گونه‌های غیر آلبیکنس نسبت به نوع آلبیکنس نسبت به داروها مقاومتر بودند.

در مقایسه اثر ضد کاندیدایی داروی گیاهی کلپوره با داروهای شیمیایی فلوکونازول، کلوتریمازول مشاهده شد که داروی کلپوره در مقابل داروهای شیمیایی مورد استفاده دارای حساسیت نسبی ضد قارچ می‌باشد.

### بحث و نتیجه‌گیری

میزان مقاومت ایزوله‌های کاندیدایی غیر آلبیکنس به داروهای ضد قارچ از جمله آزول‌ها متفاوت و در حال افزایش است (۱۰).

از طرفی عفونت‌های قارچی از چند دهه قبل رو به افزایش هستند، لذا تحقیق ویژه جهت داروهای جدید مؤثر، با مقاومت کمتر از آنچه که امروزه مورد استفاده است ضرورت دارد (۱۹ و ۱۸). این مطالعه نیز با هدف مقایسه فعالیت ضد قارچ محصول دود کلپوره با برخی داروهای رایج در درمان واژینیت کاندیدایی در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

از ۱۰۲ نمونه ترشحات اخذ شده از بیماران، کلنی قارچی استخراج گردید که در ۳ مورد از نمونه‌ها ۲ گونه قارچ رشد کرده بود.

در مورد بررسی اثر ضد قارچی محصول دود گیاه کلپوره نیز مشاهده شد که در دیسک‌های حاوی ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ لامبدای داروی کلپوره، هاله عدم رشد ایجاد نشده بود، اما در اطراف دیسک حاوی ۱۲۰ (میکرولیتر بر دیسک) داروی کلپوره، هاله عدم رشد شروع به تشکیل شده و این بدین معنی است که خواص ضد قارچی دارو از این مقدار می‌شود. در اطراف دیسک حاوی ۱۸۰ و هم‌چنین دیسک ۲۱۰ (میکرولیتر بر دیسک) دارو، هاله عدم رشد به تدریج باز هم بزرگتر شده بود و اندازه آن با هاله عدم رشد اطراف دیسک ۲۴۰ (میکرولیتر بر دیسک) برابر بود، لذا از افزایش مقادیر دارو خودداری شد و دیسک ۱۸۰ (میکرولیتر بر دیسک) به عنوان حداقل غلظت منع رشد قارچ انتخاب گردید. در مرحله بعد تعدادی دیسک خالی با غلظت ۱۸۰ (میکرولیتر بر دیسک) دارو اشباع گردید و جهت افزایش دقت کار بر روی ۵ نوع سوش استاندارد کاندیدا شامل؛ گلابراتا تروپیکالیس، کروزئی، پاراپسیلوزیس و آلبیکنس و هم‌چنین ۱۰ نمونه به دست آمده از بیماران مجدداً امتحان شدند که در همه این نمونه‌ها، با مقدار ۱۸۰ (میکرولیتر بر دیسک) داروی کلپوره، میانگین اندازه هاله عدم رشد ۱۳ میلی‌متر مشاهده گردید.

جدول ۱: توزیع فراوانی میزان حساسیت گونه‌های قارچ کاندیدا ی جدا شده از واژن، به داروهای مورد مطالعه

حساسیت	دارو	کلوتریمازول تعداد(درصد)	فلوکونازول تعداد(درصد)	کلپوره تعداد(درصد)
حساس		۹۹(۹۴/۳)	۵۸(۵۵/۲)	۱۵(۱۰۰)
مقاوم		۶(۵/۷)	۴۷(۴۴/۸)	۰(۰)
جمع		۱۰۵(۱۰۰)	۱۰۵(۱۰۰)	۱۵(۱۰۰)

اتصال قارچ به موکوس واژن است که این چسبندگی در نوع آلبیکنس بهتر از سایر گونه‌ها رخ می‌دهد (۲۲). در تحقیق خورسندی و همکاران (۱۳۷۹) نتایج آزمایشگاهی مثبت، یک هفته و یک ماه پس از درمان در گروه درمانی فلوکونازول و کلوتریمازول با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (۲۳)، که شاید یک علت محتمل برای اختلاف این مطالعه با تحقیق حاضر این باشد که طبق برخی از مطالعه‌های انجام شده، فلوکونازول در محیط داخل بدن مؤثرتر از محیط کشت در آزمایشگاه عمل می‌کند و مقاومت کمتری از خود نشان می‌دهد (۱۱).

در مطالعه ازکان و همکاران<sup>(۳)</sup> (۲۰۰۵) همه نمونه‌ها به فلوکونازول و ایتراکنازول حساس بودند، به استثنای ۱ مورد کروزئی، ۱ مورد گلابراتا و ۱ مورد کاندیدا آلبیکنس که نسبت به فلوکونازول مقاوم بودند (۲۴).

در مطالعه حاضر دیسک ۱۸۰ (میکرولیتتر بر دیسک) به عنوان حداقل غلظت منع رشد قارچ به وسیله دود کلپوره انتخاب گردید. در مطالعه عاصم و همکاران<sup>(۴)</sup> (۲۰۰۴) نیز تأثیر عصاره روغنی گیاه کلپوره بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس آزمایش گردید و در مقابل داروی نیستاتین به عنوان داروی ضد قارچ سنجیده شد. که در این

در مطالعه ریشتر و همکاران<sup>(۱)</sup> (۲۰۰۵) نیز از ۲۷ مورد از ۴۲۹ نمونه مبتلا به کاندیدای واژینال، عفونت مرکب جدا گردید که بیشتر به صورت همراهی کاندیدا آلبیکنس با کاندیدا گلابراتا بود (۱۱). در مطالعه حاضر عفونت مرکب به صورت همراهی کاندیدا آلبیکنس با کاندیدای غیر آلبیکنس مشاهده گردید. از آنجا که غالب گونه‌های غیر آلبیکنس نسبت به داروهای ضد قارچ مقاومند، لذا در چنین اشخاصی، عدم درمان موفق و یا عود مجدد بیماری به دلیل از بین نرفتن گونه مقاوم به دارو می‌باشد. در این شرایط بایستی بیمار مورد پیگیری قرار گرفته و گونه قارچی مجدداً شناسایی و مورد ارزیابی حساسیت دارویی قرار گیرد.

در تحقیق حاضر بیشترین نسبت آلودگی، در گروه سنی ۲۶-۳۵ سال مشاهده شد، که بنا بر به مطالعه اسدی و همکاران (۱۳۷۶) دلیل احتمالی آن می‌تواند فعال‌تر بودن این گروه سنی از نظر جنسی و نیز تغییرات فیزیولوژیک هورمونی و استفاده از روش‌های مختلف جلوگیری از بارداری باشد (۲۰).

جهت اختلاف گونه آلبیکنس در مطالعه عالی و همکاران (۱۳۷۷) نیز ۷۵ درصد از کشت‌ها را کاندیدا آلبیکنس و ۲۵ درصد را گونه‌های غیر آلبیکنس تشکیل داده است که با نتیجه مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد (۲۱). در مطالعه گریگوری و همکاران<sup>(۲)</sup> (۲۰۰۶) علت شیوع بیشتر نوع آلبیکنس این گونه شرح داده شده است که اولین قدم در تثبیت یک عفونت قارچی،

1-Richter et al  
2-Grigoriou et al  
3-Ozcan et al  
4-Ashwin et al

مطالعه اثر ضد کاندیدای مطلوبی از این گیاه مشاهده گردید (۲۵).

در مطالعه حاضر گونه‌های کاندیدا در ۵/۷ درصد موارد نسبت به کلوتریمازول و ۴۴/۶ درصد به فلوکونازول مقاومت نشان دادند، اما داروی کلپوره با غلظت ۱۸۰ (میکرولیتر بر دیسک) در مقابل داروهای شیمیایی مورد استفاده دارای حساسیت نسبی ضد قارچ می‌باشد. با توجه به عدم وجود تحقیقات در ایران بر روی دود کلپوره، همچنین سایر تحقیقات خارج که بر روی سایر فرم‌های کلپوره (اسانس، روغن و جوشانده) می‌باشد، مشاهده میزان حساسیت نسبی در مقایسه با داروهای شیمیایی شایان توجه است و احتمالاً با استخراج ترکیبات آن بتوان در آینده به اثرات ضد قارچی قوی‌تر این گیاه دست یافت.

به علاوه به دلیل هم‌پوشانی علایم کاندیدای ولوواژینال با سایر مشکلات واژن علاوه بر علایم بالینی، استفاده از روش‌های پاراکلینیکی معتبر کشت قارچ در محیط سابورو دکستروز آگار، جهت تشخیص واژینیت کاندیدایی واژن توصیه می‌شود.

با توجه به این که جهت تعیین فعالیت ضد میکروبی هر عصاره، ترکیب یا داروی جدید، ابتدا اثرات آن در شرایط آزمایشگاهی بررسی و سپس در صورت اثردهی دارو یا عصاره مورد نظر نسبت به خالص‌سازی آن اقدام و ماده مؤثره ترکیب مورد نظر تهیه گردیده و مجدداً مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. پس از بررسی سمیت و سایر فاکتورهای جانبی اقدام به انجام آزمایش در شرایط آزمایشگاهی بر روی

موجود زنده که غالباً ابتدا بر روی حیوان آزمایشگاهی و سپس انسان است می‌گردد، این پژوهش منحصراً به مقدمه فرایند فوق پرداخته است، لذا لزوم انجام مطالعه‌های تکمیلی در این زمینه احساس می‌شود.

#### تقدیر و تشکر

کلیه هزینه‌های این طرح به وسیله معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و طرح تحقیقاتی شماره ۳۸۵۳ تأمین گردیده است. محققین از ریاست درمانگاه‌های زنان بیمارستان‌های شهید فقیهی، زینبیه و حرّ ریاحی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز کمال تشکر را دارند.



## In vitro Susceptibility of Fluconazole, Clotrimazole and Toucrium Polium Smoke Product on Candida Isolates of Vaginal Candidiasis

Bonyadpour B\*,  
Akbarzdeh M\*\*,  
Pakshir K\*\*\*,  
Mohagheghzadeh\*\*\*\*.

\*MSc in Midwifery, Department of midwifery, University of Medical Science Azad babak city,....., Iran

\*\*MSc in Midwifery, Department of midwifery, College of Nursing & Midwifery, Shirazj University of Medical Science , Shiraz, Iran

\*\*\*Associate Professor of Medical Mycology, Department of Parasitology & Medical Mycology, Faculty of Medicine, Center Medical college, Shirazj University of Medical Science , Shiraz, Iran

\*\*\*\*Associate Professor of Medical Pharmacy, Department of Pharmaceutical Biotechnology faculty of pharmacy college, Shirazj University of Medical Science , Shiraz, Iran

Received:29/04/2009

Accepted:14/07/2009

Corresponding Author: Akbarzdeh M  
Email: akbarzadehmarzieh@yahoo.com

### ABSTRACT:

**Introduction & Objective:** It has been estimated that up to 75% of women in their child-bearing age have been affected by vulvovaginal candidiasis at least once in their life time. Almost 45% of women experience this infection two or more times. The antifungal azole group, in topical and oral forms, is the common way of therapy. Herbal products are often used for vulvovaginal therapy. Nowadays, Toucrium polium (TP) products are being used as traditional medicine to reduce signs of Candida vaginitis. There is no study regarding to antifungal activity of TP smoke product in Iran. The aim of this study was to evaluate the In vitro activity of TP smoke product against Candida, isolated from women with Candida vaginitis, compared with antifungal drugs which are ordinary used to cure Candida vaginitis.

**Materials & Methods:** The present study was conducted at the University of Medical Sciences of Shiraz in 1387 (2008). During seven months, samples were taken from 450 patients suffering from urogenital infections and 105 Candida vaginitis were detected. Germ tube test was used for identification of fungal species. TP smoke product was prepared in suitable potency. Antifungal activity of fluconazole, clotrimazole and TP product were evaluated by disk diffusion method. Sterile blank disks were loaded by TP smoke product in potency of 10-240 microliter/disk. Inhibition zone around the disks were measured and compared with each other.

**Results:** 105 Candida species were isolated from the patients. Candida species were identified by germ tube test as Candida albicans 74 (70.5%) and Candida non-albicans 31(29.5%).The mean of inhibition zone around the clotrimazole disks was  $22\pm 5.39$  along with one case of resistance. Forty seven species had resistance to fluconazole while 94% and 55.2.% of all samples were sensitive to clotrimazole and fluconazole respectively. All of the clinical isolates and standard Candida species were sensitive to TP smoke product.

**Conclusion:** Considering the resistance of Candida species to antifungal drugs and good antifungal activity of TP smoke product, it is necessary to analyze the main compounds and chemical contents of TP extract for better evaluation of its antifungal activity.

**Keywords:** Clotrimazole, Fluconazole, Candida Vaginitis, Candida Albicans, Toucrium Polium

## REFERENCES

1. Ahmad A, Khan AU. Prevalence of Candida species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in aligarh india. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2009;144(1):68-71.
2. Aly S, Toyhid A. Prevalence of candida vaginitis. GHazvin Journal of Medical Science 1379; 13p: 42-48. (Persian)
3. Sparks JM. Vaginitis . J Reprod Med 1991; 36: 745 –752.
4. Quan M. Diagnosis & management of infectious vaginitis . J AM Board Fam Pract 1990; 3 (3): 195- 205.
5. Kent HL. Epidemiology of vaginitis . AM J Obstet & Gynecol 1991; 65: 1168 – 76.
6. Lanchares JL, Hernandez ML. Recurrent vaginal candidiasis changes in etiopathogenical patterns. Int J Genecol Obstet 2000; 71: S29-S35.
7. Patel HP. Isthrea vole for fluconazole in treatment of vulvovaginal candidiasis. J Ann Pharmacother 1992; 26 (3): 350-3.
8. Vacheva-Dobrevski R, Kovachev S, Nacheva A, Stoev S, Vasilev N. Comparative study of itraconazole and fluconazole therapy in vaginal candidosis]. Akush Ginekol (Sofiiia) 2004;43(1):20-3
9. Pitsouni E, Iavazzo C, Falagas ME . Itraconazole vs fluconazole for the treatment of uncomplicated acute vaginal and vulvovaginal candidiasis in nonpregnant women: a metaanalysis of randomized controlled trials.: Am J Obstet Gynecol 2008;198(2):153-60.
10. Afsarian MH . Invitro susceptibility of common drag on candida isolates of vaginal candidiasis. submitted to the graduate studies in partial fulfillment of requirements for the degree of mater of science in mycology . College of health. Tehran University of Medical Sciences1385. (Persian)
11. Richter S, Galask RP, Messer SA. Antifungal susceptibilities of candida species causing vulvovaginitis & epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbial 2005; 43 : 2155-62.
12. Giron M, Aguilar GA, Caceres A. Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala & clinical trial of a Solanum nigrescens preparation. J Ethno Pharmacology 1988; 22(3): 307 –13.
13. Wassel GM, Ahmed SS. On the essential oil of Teucrium polium L. Pharmazie 1974;29(5): 351-2.
14. Autore G. Capasso F, Defusco R, Fasulo M.P, Lembo M, Mascolo N. Antipyretic & Antibacterial actions of Teucrium Polium . J Pharmacol Res Commun 1984;16 (1): 21-9.
15. Shakhaneh J, Atrouse O. Teucrium pokium inhibits nerve conduction & corraegenan induced inflammation the rat skin. Turk J Med Science 2001; 31: 15-21.
16. Khadem shahzadeh T. Invitro susceptibility Toucrium polium product on level of cholesterol ,triglycerol ,glucose. in male diabetic rat Submitted to the Graduate studies in partial fulfillment of Requirements for the degree of PHD of science in general medicine. College of Medicine. Shahidbeheshti University of Medical Sciences1387; 29: 45 (Persian)
17. Dehghani F, Pangeshahin MR, Karbalaydust S. Toxic histologic niazepoor plant on liver. Berjand journal of Medical Science 1378; 6: p48-50.( persion)
18. Cruss M, Santos P, Barbosa A. Antifungal activity of brazilian medical plants involved in popular treatment of mycoses. J of Ethno pharmacology 2007; 111: 409-12.
19. Pinto E, Salgueiro L, Cavaleiro C . In vitro susceptibility of some species of yeast & filamentous fungi to essential oils of salvia officinal is. J Industrial Crops & Products 2007; 26 (2): 135-141.
20. Asadi A, Rasti S, Arbaby M. Prevalence of Candida vaginitis. Fayze Journal of Medical Science 1376;1: 21-7. (Persian)
21. Aly S, Kariminick A, Bahrampure A. Comparing the effects leaf myrtle methanol product and clotrimazol on Candida isolates of Vaginal candidiasis, Kerman Journal of Medical Science 1377; 2:78-83.( Persian)
22. Grigoriou O, Baka S, Makrakis E, Hassiakos D, Kapparos G, Kouskouni E. Prevalence of clinical vaginal candidiasis in a university hospital & possible risk factors. European J of O BSTET & G Ynecol 2006;126 (1): 121-5.
23. khorsandy M. Modares Gilani M, Kosravi A. Comparing the effect of fluconazol & ciotrimazol on Candida vulvovaginitis. GHazvin Journal of Medical Science 1379;14: 25-9. (Persian)
24. Ozcan S, Budak F, Yucesoy G, Susever S, Willke I. Prevalence, susceptibility profile & proteinase production of yeasts causing vulvovaginitis in turkish women. APMIS 2005; 114(2):139-45.
25. Assem M, Shazly EL, Hussein T. Chemical analysis & biological activities of the essential oil of Teucrium. J Biochemical Systematic & Ecology 2004; 32(7): 665-74.