دوره ۲۳، شماره ۷۴، تابستان ۱۳۹۹، صفحات: ۵۲-۴۴

مقاله پژوهشی: باطل شد

ارزیابی اثرات ضدقارچی گیاهان جاشیر (*Prangos Ferulace*) و بارهنگ (*Plantago Major L*) علیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکانس* مقاوم به فلوکونازول در شرایط برون‌تنی

یدالله عدالت‌پناه[۱]، سوسن رستم‌پور[۲*]، ایمان پولادی[۳]، سجاد رجایی‌نژاد[۴]

[۱] دکترای تخصصی بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

[۲] دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

[۳] کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۴] کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۷ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۳/۰۳

چکیده

مقدمه: گیاهان دارویی به‌دلیل داشتن ترکیبات متنوع ضدقارچی می‌توانند در درمان بیماری‌ها مؤثر باشند. مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضدقارچی گیاهان جاشیر و بارهنگ علیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکانس* مقاوم به فلوکونازول در شرایط برون‌تنی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی بوده است. گیاهان *جاشیر و بارهنگ* در فصل بهار از فروشگاه‌های یاسوج تهیه شدند و شرکت دارویی زردبند یاسوج آن‌ها را ازنظر علمی تأیید کرد و پس از ارسال به مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، عصاره استخراج شد. به‌منظور تهیه‌ی عصاره‌ی آبی گیاهان، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۳ گرم پودر گیاه اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر (بهداد، تهران، ایران) قرار گرفت. سویه‌ی استفاده شده در مطالعه‌ی حاضر *کاندیدا آلبیکانس* ATCC 10231 است که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. در مطالعه‌ی حاضر از غلظت‌های ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی الکلی‌شده‌ی جاشیر و بارهنگ و برای اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد برحسب میلی‌متر از روش انتشار دیسک کاغذی استاندارد استفاده شد. برای اندازه‌گیری حداقل غلظت مهاری از MIC50 و MIC90 استفاده شد. در پایان تعداد سلول‌های زنده شمارش و داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون آنووا تجزیه‌وتحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حداکثر قطر عدم تشکیل هاله مشاهده شد که برای جاشیر ۱۵/۳ میلی‌متر و بارهنگ ۱۲/۴ میلی‌متر بوده است. درخصوص حداقل غلظت مهارکننده نتایج نشان داد MIC50 و MIC90 به‌ترتیب برای جاشیر ۱۹ و ۳۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای بارهنگ ۱۴ و ۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد ($P<0/05$). درخصوص شمارش زنده نتایج نشان داد در رقت ۱۰ کمترین تعداد سلول زنده تشکیل شد که برای جاشیر میانگین ۷/۳ CFU/ml و برای بارهنگ ۴/۲ CFU/ml به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: جاشیر و بارهنگ به‌دلیل داشتن ترکیبات دارویی مؤثر، مانع فعالیت *کاندیدا آلبیکانس* می‌شوند.

کلمات کلیدی: *کاندیدا آلبیکانس*، بارهنگ، جاشیر، فلوکونازول

* **نویسنده مسئول:** سوسن رستم‌پور، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. تلفن: ۰۹۱۹۰۵۳۰۸۹۹؛ ایمیل: susanrostampur@yahoo.com

مقدمه

کاندیدیازیس نوعی بیماری قارچی عفونی ناشی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب گونه‌های *کاندیدا آلبیکانس* است. به‌دنبال افزایش تعداد بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و درمان طولانی با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، شیوع کاندیدیازیس رو به افزایش است (۱). به‌طورکلی *کاندیدا آلبیکانس* به‌عنوان چهارمین عامل عفونت‌های خونی بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده‌اند که تقریباً ۴۰ درصد از موارد مرگ‌ومیر را شامل می‌شود (۲). قارچ *کاندیدا آلبیکانس* تعداد زیادی عامل بیماری‌زایی دارد و علت تغییر مورفولوژی از حالت مخمر به ریسه است (۳). قارچ *کاندیدا آلبیکانس* عفونت دوره‌ای کاندیدیازیس را ایجاد می‌کند. تعداد محدودی داروی ضدقارچ برای درمان بیماری‌های ناشی از گونه‌های *کاندیدا* وجود دارند و استفاده‌ی بیش‌ازحد از این داروها به پیدایش سوش‌های مقاوم منجر می‌شود (۴).

کاندیدا آلبیکانس عوامل بیماری‌زای بسیاری دارد؛ ازجمله چسبندگی به سلول‌های اندوتلیال و اپی‌تلیال انسان، توانایی ترشح آنزیم‌های هیدرولیزکننده که بیشتر پروتئینازها و فسفولیپازها هستند، تغییر فنوتیپی و همچنین فرار از فاگوسیتوزشدن توسط سلول‌های ایمنی میزبان. علاوه‌براین، از عوامل مهم بیماری‌زایی *کاندیدا آلبیکانس*، چندشکلی‌بودن با توانایی تغییر برگشت‌پذیر شکل‌های مخمری، ریسه‌ی حقیقی، ریسه‌ی کاذب و تشکیل بیوفیلم هستند. شکل ریسه‌ای و بیوفیلم *کاندیدا آلبیکانس* قادر به نفوذ به درون بافت میزبان، فرار از سیستم ایمنی و ایجاد عفونت است (۵).

جنس Prangos به تیره‌ی چتریان متعلق است و ۱۵ گونه‌ی مختلف در ایران دارد. جاشیر گیاهی پایا و بلند است که عمدتاً به‌عنوان علوفه‌ای غنی در تغذیه‌ی دام‌ها استفاده می‌شود. از طرف دیگر، اسانس‌ها از متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی هستند که به‌طور وسیعی در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی به‌عنوان ترکیباتی با خاصیت ضدمیکروبی استفاده می‌شوند (۶).

بارهنگ با نام علمی *Plantago Major* گیاهی متعلق به خانواده پلانتاژیناسه است که در اروپا و آسیا به‌فراوانی یافت می‌شود. بارهنگ گیاهی علفی با ارتفاع ۴۰ تا ۴۵ سانتی‌متر است که برگ‌ها و دم‌برگ‌های بلندی دارد. طول برگ‌ها ۳۰ تا ۳۵ سانتی‌متر و تخم‌مرغی‌شکل و پهن است. گل‌ها در یک گل‌آذین استوانه‌ای قرار گرفته‌اند و کوچک و سفید مایل به زرد و نامشخص هســـتند (۷).

بررسی آلودگی به کاندیدا آلبیکنس و عوامل مرتبط با آن در زنان مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی‌درمانی شهر جیرفت نشان داد شیوع کاندیدیازیس بر اساس کشت مثبت *کاندیدا آلبیکانس* در ترشحات واژن زیاد است و در گروه‌هایی از زنان با عوامل خطر خاص بیشتر است. دانستن این عوامل خطر می‌تواند در تشخیص و درمان زنان مبتلا کمک کند (۸).

بررسی تأثیر اسانس آویشن بر *کاندیدا آلبیکنس* جداشده از بیماران مبتلابه کاندیدیازیس دهانی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد اسانس آویشن اثر ضدقارچی بسیار خوبی علیه *کاندیدا آلبیکنس* دارد و در مقادیر نسبتاً کم می‌تواند از رشد *کاندیدا آلبیکنس* در محیط کشت جلوگیری کند (۹).

نتایج بررسی اثرات اسانس‌ها و عصاره‌های ۵۰ گیاه دارویی ایران روی یک سویه‌ی استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل‌توجهی ناشی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی گیاه مذکور است. علاوه‌براین، عصاره‌ی گیاه بارهنگ اثر ضدکاندیدیایی بیشتری نسبت به باکتری نشان داده است (۱۰).

باطل شد

در حال حاضر از داروهای ضدقارچی نظیر فلوکونازول برای درمان عفونت‌های قارچی ازجمله کاندیدیازیس استفاده می‌شود. (۱۱). مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضدقارچی گیاهان جاشیر (*Prangos ferulace*) و بارهنگ (*Plantago major L*) علیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکانس* مقاوم به فلوکونازول در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی بود که به‌صورت مقطعی در سال ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج صورت گرفت. نمونه‌های گشت استفاده‌شده در مطالعه‌ی حاضر شامل نمونه‌های بررسی‌شده‌ی ۵ نمونه‌ی بالینی *کاندیدا آلبیکانس* بود. گیاهان بارهنگ و جاشیر در فصل بهار از فروشگاه‌های یاسوج تهیه شد و شرکت دارویی زردبند یاسوج آن‌ها را ازنظر علمی تأیید کرد.

مواد استفاده‌شده شامل محیط‌های کشت ائوزین متیلن بلو آگار (سیگما: آمریکا)، تریپتیکیس سوی براث (مرک: آلمان)، مولر هینتون آگار (سیگما: آمریکا)، سابورو دکستروز آگار (سیگما: آمریکا)، حلال‌های اتانول (رازی، ایران) و استون (رازی، ایران)، کلرید باریوم (سیگما: آمریکا)، اسیدسولفوریک (مرک: آلمان)، آب مقطر و فلوکونازول (فوجی: ژاپن)، دی‌متیل سولفوکساید (سیگما: آمریکا) هستند. تجهیزات استفاده‌شده شامل پلیت (صنایع پزشکی ایران تولید)، لام نئوبار (پارس آزمون)، دستگاه لیوفلیزاتور (ورتمین: آلمان)، دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر، مدل دارونامه: بریتانیا)، بالن (صنایع پزشکی ایران تولید)، هیتر برقی (امرسان)، کاغذ صافی واتمن (صنایع پزشکی ایران تولید)، اتوکلاو (صنایع پزشکی ایران تولید)، الیز ریدر (هیستاران)، انکوباتور (پارس آزمون) هستند.

سویه قارچی

قارچ مخمری *کاندیدا آلبیکانس سویه‌ی* ATCC 10231 است که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد.

روش تهیه‌ی اسانس بارهنگ و جاشیر

اسانس به روش تقطیر با آب تهیه شد. بدین منظور ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک و پاک‌شده‌ی گیاهان جاشیر و بارهنگ جمع‌آوری‌شده با استفاده از آسیاب برقی خرد و پودر شد. سپس داخل بالن ژوژه دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر، مدل دارونامه: بریتانیا) ریخته و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس جریان آب سرد مبرد برقرار و بالن ژوژه درون هیتر برقی دستگاه جا داده و دستگاه روشن شد. اجازه داده شد مدت دو ساعت فرایند تقطیر انجام شود. بعد از دو ساعت، هیتر دستگاه خاموش و حجم اسانس جمع‌شده با کمک درجات روی بورت دستگاه، مشخص و یادداشت شد. برای ذخیره‌سازی اسانس، یک شیشه‌ی رنگی کوچک توزین و وزن با درپوش آن یادداشت شد و اسانس در شیشه‌ی رنگی جمع‌آوری و تا زمان استفاده داخل یخچال قرار داده شد (۱۲).

روش تهیه‌ی عصاره‌ها

الف. روش تهیه‌ی عصاره‌ی اتانولی و استونی از بارهنگ و جاشیر

عصاره‌گیری به روش خیساندن و با استفاده از حلال‌های اتانول و استون انجام گرفت. بدین منظور ۱۰۰ گرم از گیاه پس از آسیاب‌کردن درون ظروف عصاره‌گیری ریخته و ۴ برابر وزن گیاه، حلال استون (۱۰۰ درصد) و یا اتانول (۸۰ درصد) اضافه و ۳ تا ۴ روز روی شیکر در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس محلول به‌دست‌آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و برای تبخیر حلال، درون بن‌ماری ۶۰ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

باطل شد

عمل تغلیظ تا رسیدن به حدود ۵ درصد مقدار اولیه‌ی هر عصاره ادامه یافت (۱۲).

ب. روش تهیه‌ی عصاره‌ی آبی از بارهنگ و جاشیر

بدین منظور مقدار لازم از گیاه آسیاب‌شده (۱۰۰ گرم) داخل ظرف عصاره‌گیری ریخته و ۴ برابر آن آب مقطر اضافه شد. ظرف مدنظر روی حرارت ملایم قرار گرفت و دائماً مخلوط شد تا اولین نشانه‌های جوشیدن دیده شود. پس از جوشاندن محلول به‌مدت ۱۵ دقیقه صاف شد (کاغذ صافی واتمن ۴۲) و با استفاده از دستگاه لیوفلیزاتور به‌مدت ۹۶ ساعت در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد و ۰/۰۴ mbar لیوفلیزه شد (۱۳).

باطل شد

دارو

در این مطالعه از فلوکونازول (شرکت فوجی [illegible]) حل‌شده در دی‌متیل سولفوکساید (شرکت سیگما) و آب مقطر استفاده شد که در مقادیر کم تا زمان مصرف در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۴).

بررسی خاصیت ضدقارچی جاشیر، بارهنگ و فلوکونازول

الگوی حساسیت ضدقارچی جدایه‌های قارچ کاندیدا آلبیکانس با آزمایش آنتی‌بیوگرام (انتشار دیسک) تعیین شد. بدین منظور، ابتدا با اضافه‌کردن ۰/۵ میلی‌متر محلول کلرید باریوم ۱/۵ درصد به ۹۹/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک یک درصد، محلول نیم مک فارلند تهیه شد. برای تهیه‌ی سوسپانسیون قارچی مقداری از کلونی‌های موجود در محیط ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) در لوله‌های حاوی محیط تریپتیکیس سوی براث (TSB) تلقیح شد و لوله‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور قرار گرفت تا به کدورت مدنظر برسد. سپس با مقایسه‌ی کدورت آن با کدورت محلول استاندارد نیم مک فارلند، سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه شد (جذب نوری سوسپانسیون در طول موج ۶۲۵ نانومتر صورت می‌گیرد) (۱۵).

در مرحله‌ی بعد، به کمک سواپ پنبه کشت سفرهای از سوسپانسیون قارچی روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه از کشت سفرهای، دیسک‌های ضدمیکروبی روی محیط کشت قرار داده شدند. ۱۵ دقیقه بعد از قراردادن دیسک‌ها، پلیت‌ها در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه و پس‌ازآن قطر هاله‌ی عدم رشد با خط‌کش اندازه‌گیری و نسبت به کنترل مقایسه شد (۱۶).

میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration) از طریق آزمایش رقت‌های دو برابری از عصاره‌های تهیه‌شده‌ی بارهنگ و جاشیر تعیین شد. به‌منظور بررسی نتایج در موارد لازم آزمایش‌ها به‌صورت سه‌تایی انجام و نتایج میانگین گزارش شد. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد از روش ماکروتیتر استفاده شد (۱۵ و ۱۶).

برای بررسی تعداد کلنی‌ها ابتدا سلول‌های مخمری به تعداد 10^3 وسط لام نئوبار برای هرکدام از ایزوله‌ها شمارش شد. در ادامه و درون پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای، ۲۰۰ میکرولیتر از هرکدام از سلول‌های مدنظر در ته پلیت ریخته و حدود ۱۰۰ میکرولیتر نیز از سلول‌های مخمری مدنظر اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون ابتدا سوپ رویی برداشته و به مقدار ۱۱ لاندا از آن روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. از رقت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر عصاره‌ی جاشیر، بارهنگ و فلوکونازول علیه *کاندیدا آلبیکانس* استفاده شد. تعداد مخمرها بر اساس واحد سازنده‌ی کلنی (CFU) با استفاده از روش شمارش

زنده (Viable Count) در فواصل زمانی ۲ تا ۴۸ ساعت پس از شروع گرم‌خانه‌گذاری محاسبه شد (۱۷).

برای تجزیه‌وتحلیل آماری این تحقیق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان داد عصاره‌ی جاشیر نسبت به بارهنگ و فلوکونازول بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکانس* اثرگذارتر بوده که در غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین تأثیر بازدارندگی مشاهده شده است. همچنین بارهنگ نسبت به فلوکونازول اثر مهاری بیشتری داشته است (P<۰/۰۵) (جدول ۱ و ۲).

نتایج اندازه‌گیری حداقل غلظت مهاری نشان می‌دهد جاشیر نسبت به بارهنگ در MIC50 و MIC90 خاصیت ضدکاندیدایی بیشتری از خود نشان می‌دهد که برای MIC90 این بازدارندگی بیشتر است. جاشیر و بارهنگ نسبت به فلوکونازول اثر مهاری بیشتری بر رشد *کاندیدا آلبیکانس* دارند (P<۰/۰۵) (جدول ۳ و ۴).

نتایج شمارش زنده نشان داد کاهش رقت از رشد

باطل شد

جدول ۱: میانگین و انحراف‌معیار عدم تشکیل قطر هاله‌ی *کاندیدا آلبیکانس* در غلظت‌های مختلف

عصاره‌ی استفاده‌شده	۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	سطح معنی‌داری
جاشیر	۱۵/۳±۲/۱	۱۱/۸±۲/۲	۹/۵±۲/۱	
بارهنگ	۱۲/۴±۱/۶	۸/۲±۱/۳	۶/۳±۲/۱	۰/۰۱۱
فلوکونازول	۵/۸±۱/۴	۵/۳±۲/۱	۴/۹±۱/۴	

جدول ۲: نتایج آزمون توکی درخصوص عدم تشکیل قطر هاله

گروه (الف)	گروه (ب)	سطح معنی‌داری
جاشیر	بارهنگ	٭۰/۰۰۱
	فلوکونازول	٭۰/۰۰۱
بارهنگ	فلوکونازول	٭۰/۰۰۱

در سطح کمتر از ۰/۰۱ معنی دار می باشد.

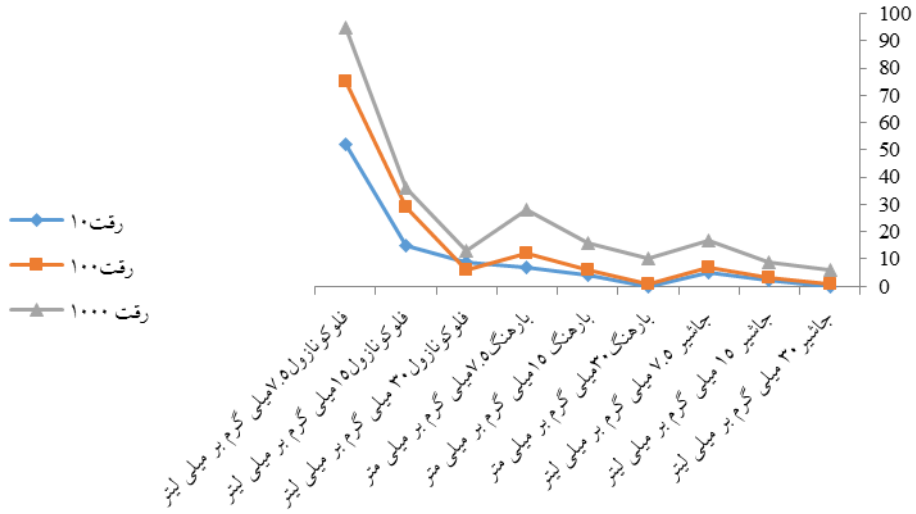
جدول ۳: نتایج اندازه‌گیری حداقل غلظت مهاری عصاره‌های گیاهی بارهنگ، جاشیر و فلوکونازول بر رشد *کاندیدا آلبیکانس*

عصاره‌ی استفاده‌شده	محدوده‌ی آزموده‌شده	حداقل غلظت مهاری		سطح معنی‌داری	
		MIC50	MIC90	MIC50	MIC90
جاشیر	۰/۰۳-۲۹۵	۱۹	۳۸		
بارهنگ	۰/۰۵ -۲۶۰	۱۴	۲۹	٭۰/۰۰۱	٭۰/۰۰۱
فلوکونازول	۰/۰۶ -۲۵۶	۰/۲	۰/۴		

٭ در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار است.

جدول ۴: نتایج آزمون توکی درخصوص حداقل غلظت مهاری

گروه (الف)	گروه (ب)	سطح معنی‌داری
جاشیر	بارهنگ	٭۰/۰۰۱
	فلوکونازول	٭۰/۰۰۱
بارهنگ	فلوکونازول	٭۰/۰۰۱



شکل ۱: نتایج شمارش زنده عصاره‌های گیاهی بارهنگ، جاشیر و فلوکونازول بر رشد *کاندیدا آلبیکانس*

کاندیدا آلبیکانس جلوگیری می‌کند، به‌طوری‌که از میان رقت‌های استفاده‌شده در مطالعه‌ی حاضر، رقت ۱۰ میلی‌لیتر و غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین تأثیر را بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکانس* داشته است. در رقت ۱۰ میلی‌لیتر و غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعداد کلنی‌های مشاهده‌شده برای جاشیر، بارهنگ و فلوکونازول به ترتیب ۷/۳ CFU/ml، ۴/۲ CFU/ml و ۱۵/۶ CFU/ml بوده است (شکل ۱).

بحث

نتایج دیسک‌گذاری نشان داد جاشیر خاصیت ضدقارچی‌تری نسبت به بارهنگ داشته است. جاشیر و بارهنگ در مقایسه با فلوکونازول خاصیت ضدقارچی قوی‌تری داشته‌اند. غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی گیاهی جاشیر و بارهنگ نسبت به غلظت‌های ۱۵ و ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر خاصیت ضدکاندیدایی قوی‌تری داشته‌اند.

نتایج این مطالعه با یافته‌های موقری‌پور و همکاران (۱۳۹۷) همسو است. آنان اثر ضدقارچی عصاره‌ی گیاه پونه‌ی کوهی با نیستاتین را بر *کاندیدا آلبیکنس* بررسی کردند (۱۸). نتایج این مطالعه با مطالعه‌ی Valeh-Silva و همکاران (۲۰۱۲) همسو است. آنان خاصیت ضدمیکروبی اسانس *Origanum Vulgare* را علیه پاتوژن‌هایی هم چون *کاندیدا آلبیکنس* بررسی کردند (۱۹).

نتایج MIC نشان دادجاشیر در MIC90 بیشترین خاصیت ضد*کاندیدایی* را داشته و فلوکونازول در حداقل غلظت مهاری MIC50 کمترین خاصیت ضدکاندیدایی را داشته است. برای بررسی تفاوت بین اسانس‌های گیاهی بارهنگ، جاشیر و فلوکونازول نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی نشان داد این تفاوت معنادار است و این معناداری به‌کمک آزمون توکی بررسی شد که نتایج نشان داد جاشیر نسبت به بارهنگ و فلوکونازول و بارهنگ نسبت به فلوکونازول خاصیت ضد*کاندیدایی* قوی‌تری داشته‌اند. نتایج این مطالعه با یافته‌های امینیان و همکاران (۱۳۹۷) همسو است. آنان اثر ضدباکتریایی عصاره‌ی هیدروالکلی بارهنگ کبیر و ناخنک را بر تعدادی باکتری گرم منفی و گرم مثبت بررسی کردند (۲۰).

نتایج شمارش زنده *کاندیدا البیکنس* نشان داد در رقت ۱۰ کمترین تعداد کلنی و در رقت ۱۰۰۰ بیشترین تعداد کلنی تشکیل شد. درخصوص اسانس‌های گیاهی بارهنگ،

باطل شد

جاشیر و فلوکونازول نتایج نشان داد جاشیر کمترین تعداد کلنی زنده *کاندیدا البیکنس* و فلوکونازول بیشترین تعداد کلنی زنده *کاندیدا البیکنس* را داشته است. درخصوص غلظت‌های استفاده‌شده از اسانس‌های گیاهی و فلوکونازول نتایج نشان داد غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کمترین تعداد کلنی زنده *کاندیدا البیکنس* را تشکیل داده و بیشترین تعداد کلنی زنده *کاندیدا البیکنس* مربوط به غلظت ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. نتایج این مطالعه با یافته‌های اکبری و همکاران (۱۳۸۵) همسو است. آنان اثرات ضدقارچی عصاره‌های گیاهی آویشن و مرزنجوش را علیه ایزوله‌های بالینی *کاندیدا آلبیکانس* مقاوم و حساس به فلوکونازول بررسی کردند (۲۰). نتایج این مطالعه با یافته‌های کفاش فرخ و همکاران (۱۳۹۲) همسو است. آنان ترکیبات ثانویه و اثرات فارماکولوژیکی گیاه دارویی جاشیر را به‌صورت مروری بررسی کردند (۲۲).

نتیجه‌گیری

در تحلیل یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان گفت که گیاهان دارویی به‌دلیل داشتن مواد آنتی‌اکسیدان و شیمیایی مانع از فعالیت عوامل میکروبی و قارچ‌های بیماری‌زا می‌شوند. جاشیر ازنظر داشتن ترکیبات دارویی گیاه مستعدی است که می‌تواند در مبارزه با عوامل قارچی مؤثر باشد. مهم‌ترین موادی که در جاشیر علیه میکروب‌ها فعالیت می‌کند آلفاپینن، بتاپینن، سزکوئی‌ترپن و مونوترپن است که با مهارکردن فعالیت قارچی مانع فعالیت آن‌ها می‌شود. بارهنگ یکی دیگر از گیاهان دارویی است که می‌تواند در ازبین‌بردن قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر باشد. این گیاه در این مطالعه همچون مطالعات پیشین، در ازبین‌بردن فعالیت قارچی نسبت به جاشیر مؤثرتر بوده است.

حمایت مالی

این طرح با حمایت مالی دانشگاه پیام‌نور دهدشت صورت گرفته است.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در این پژوهش وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر از یک طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه پیام‌نور (به‌عنوان حامی مالی) گرفته شده و با همکاری مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج (برای انجام آزمایش‌ها) انجام شده است. بدین‌وسیله از تمام افرادی که در انجام این طرح با پژوهشگران همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

باطل شد

References

1. Edalat Panah Yadolah, Enayati Parvar Fariba, Rajaee Nejad Sajjad. Investigating the effect of local rangeland honey on Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Provinces on the activity of *Candida albicans*. J Navid No. 2020; 22(72):44-54.
2. Vandenbosch D, Braeckmans K, Nelis HJ, Coenye T. Fungicidal activity of miconazole against *Candida* spp. Biofilms. J Antimicrob Chemother. 2009; 65(4):694-700.
3. Al-Waili NS. Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of Staphylococcus aureus and Candida albicans. Arch Med Res. 2005; 36(1):10-3.
4. Khodavandi A, Tahzir NA, Cheng PW, Chen PY, Alizadeh F, Hrmal NS, et al. Antifungal activity of Rhizome coptidis and Alpinia galangal against Candida species. J Pure Appl Microbiol. 2013; 7:1725-30.
5. Kruppa M. Quorum sensing and *Candida albicans*. Mycoses. 2009; 52(1):1-10.
6. Amiri H. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of Prangos ferulacea (L.) Lindl. J Med Plants. 2007; 1(21):36-41.

7. Guo Y, He Y, Guo N, Gao J, Ni Y. Variations of the composition of the leaf cuticular wax among Chinese populations of Plantago major. Chem Biodivers. 2015; 12(4):627-36.
8. Khanjani N, Zamanian M, Molazadeh P, Sadeghi M. The prevalence of *Candida albicans* infection and related factors in women referring to health centers of Jiroft in 2010: a short report. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2014; 13(6):569-76.
9. Zia M, Bayat M, Khalkhali H. In vitro antifungal effect of Thymus vulgaris essence on *Candida albicans* isolated from patients with oral candidiasis. J Shahrekord Univ Med Sci. 2011; 13(3):44-52.
10. Naeini A, Khosravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. J Mycol Med. 2009; 19(3):168-72.
11. Banaean-Boroujeni S, Rasti-Boroujeni M, Moghim H, Validi M, Mobini G, Kazemian A. In vitro effect of honey on *Candida albicans* and lactobacillus. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 11(4):52-8 [in Persian].
12. Sayyah M, Moaied S, Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of Heracleum persicum seed. J Ethnopharmacol. 2005; 98(1-2):209-11.
13. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honey. J Pharm Pharmacol. 1991; 43(12):817-22.
14. Shareyat SH. Qualitative and quantitative evaluation of the active constituents and control methods for medicinal plants. 1st ed. Isfahan: Mani Pub; 1998. P. 10-27.
15. Omran M, Maliji GH, Sefidgar A, Yosefi MR, Haji Ahmadi M, Moosavi S, et al. effect of honey from north of Iran on *Candida albicans*. J Babol Univ Med Sci. 2008; 10(5):15-22.
16. Nazemi Salman B, Yazdinejad A, Salah S, Sajedinejad N. Antifungal activity of essential oils of Prangos frulacea, Ziziphora tenuior, Ferula gummosa and Dracocephalum moldavica against *Candida albicans*. J Qazvin Univ Med Sci. 2017; 21(1):4-11.
17. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence. 2013; 4(6): 119-28.
18. Melo AS, Bizerra FC, Freymuller E, Arthington-Skagges BA, Colombo AL. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. Med Mycol. 2011; 49(3):253-62.
19. Movaghari Pour A, Sheikh Fathollahi M, Poor Zamani M, Abedin S, Jamali Z. Comparison of anti-fungal effect of origanum vulgare extract versus nystatin on *Candida albicans*; an in vitro study. J Mashhad Dent Sch. 2018; 42(3):277-1.
20. Vale-Silva L, Silva MJ, Oliveir D, Goncalves M, Cavaleiro C, Salgueiro L, et al. Correlation of the chemical composition of essential oils from Origanum vulgare subspecies. virens with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. J Med Microbiol. 2012; 61(2):252-60.
21. Aminian R, Mardani M, Davoodnia B. The effect of hydro alcoholic extract of Plantago major and Astragalus hamosus on some gram-positive and gram-negative bacteria. J Plant Res. 2018; 31(3): 956-67.
22. Akbari S. Antifungal activity of thymus vulgaris L. and Origanum vulgare L. against fluconazol-resistant and susceptible *Candida albicans* isolates. J Med Plants. 2007; 6(Suppl 3):53-62.
23. Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M, Khaledifar B. A review on secondary metabolites and pharmacological effects of Prangos ferulacea (L.) Lindl. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013; 15(3):98-108.

نسخه اولیه

Volume 23, Issue 74, Summer 2020, Pages: 44-52

Original Article

Evaluation of Antifungal Effects of *Prangos ferulace* and *Plantago major L* Plants Against Fluconazole-resistant *Candida albicans* Species in Extracorporeal Conditions

Yadolah Edalatpanah[1], Susan Rostampur[2*], Iman Puladi[3], Sajjad Rajaeenejad[4]

[1] PhD in Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center of Yasuj University of Medical Sciences, Iran
[2] PhD Student of Medical Biotechnology, Student Research Committee, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Msc in Microbiology, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
[4] Msc in Agriculture, Yasuj University, Yasuj, Iran

Received: 10 March 2020 **Accepted:** 16 April 2020

Abstract

Introduction: Medicinal plants can be effective in treating diseases due to having various antifungal compounds. The aim of this study was to evaluate the antifungal effects of *Prangos ferulace* and *Plantago major L* against fluconazole-resistant *Candida albicans* in extracorporeal conditions.

Materials and Methods: This study was experimental. *Prangos ferulace* and *Plantago major L* plants were prepared from stores in Yasuj, Iran, in the spring and then scientifically approved by the Zardband Pharmaceutical Company in Yasuj. The extract was extracted after sending the plants to the Research Center for Medicinal Plants of Yasuj University of Medical Sciences. In order to prepare the aqueous extract of the plants, 3 g of plant powder was added to 30 ml of distilled water and placed on a shaker (Behdad, Tehran, Iran) for 24 h. The strain used in the present study was *Candida albicans* ATCC 10231, which was prepared by Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. In the present study, the alcoholic extracts of *Prangos ferulace* and *Plantago major L* were used at the concentrations of 7.5, 15, and 30 mg/ml. The non-growth halo diameter (in millimeters) was measured using the standard paper disc diffusion method. The minimum inhibitory concentrations (MICs) required to inhibit the growth of 90% and 50% of organisms were also evaluated. Finally, the number of living cells was counted, and the data were analyzed using ANOVA test in SPSS software (version 23).

Results: The results showed that at a concentration of 30 mg/ml, the maximum diameters of the non-growth halo were 15.3 mm for *Prangos ferulace* and 12.4 mm for *Plantago major L*. Regarding the MIC value, the MIC_{50} and MIC_{90} were respectively obtained as 19 and 38 µg/ml for *Prangos ferulace* and 14 and 29 µg/ml for *Plantago major L* ($P<0.05$). Considering the live cell count, the lowest number of live cells was formed at a dilution of 10. The mean value of this variable was obtained as 7.3 and 4.2 CFU/ml for *Prangos ferulace* and *Plantago major*, respectively.

Conclusion: *Prangos ferulace* and *Plantago major L*. prevented the activity of *Candida albicans* due to their effective medicinal compounds.

Keywords: *Candida albicans*, Fluconazole, *Plantago major L*, *Prangos ferulace*

باطل شد

***Corresponding Author:** Susan Rostampur, Student Research Committee, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Tel: 09190530899; Email: susanrostampur@yahoo.com