

Original article

## Evaluation of the Antimicrobial Effects of the Alcoholic and Aqueous Extracts of *Chenopodium Album* and *Chenopodium Botrys* against *Candida Albicans*

Azita Malekpour<sup>1</sup>, Babak Delnavaz Hashemlouian<sup>2\*</sup>

1. MSc, School of Agriculture, Biology Department of Plant Sciences, Department of Plant Physiology, Islamic Azad University, Saveh Branch, Iran
2. Associate Professor, School of Agriculture, Biology Department of Plant Sciences, Department of Plant Physiology, Islamic Azad University, Saveh Branch, Iran

**Corresponding Author:** Babak Delnavaz Hashemlouian, School of Agriculture, Biology Department of Plant Sciences, Department of Plant Physiology, Islamic Azad University, Saveh Branch, Iran

**Email:** delnavaz@iaue-saveh.ac.ir

Received: 4 December 2015

Revised: 9 January 2016

Accepted: 25 January 2016

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** In recent decades, rate of infections caused by opportunistic fungi, such as *Candida albicans*, has increased dramatically. Treatment of fungal diseases is associated with limitations such as rare and expensive antifungal drugs and their side effects, drug resistance and reduced susceptibility of fungi to drugs. Therefore, researchers have been concerned with finding new antifungal drugs, especially herbal medicines, to treat fungal infections.

**Materials and Methods:** In this study, aqueous and alcoholic extracts of *Chenopodium album* and *Chenopodium botrys* were used to evaluate the anti-*Candida* effects of *C. albicans* yeast PTCC 5027 and 10 clinical isolates of this species. After obtaining the herbal essence using the soxhlet method, anti-fungal properties of the extract were evaluated using the disk diffusion and broth dilution methods. Moreover, fluconazole was used as positive control.

**Results:** Comparison of the protective effects of the aqueous and alcoholic extracts of *Chenopodium album* and *Chenopodium botrys* against *C. albicans* indicated that the highest halo diameter was mostly in the aqueous extract of *Chenopodium botrys* leaves and *Chenopodium album* roots. In addition, fluconazole was found to exert anti-*Candida* and inhibitory effects against the fungi, which were similar in both plants.

**Conclusion:** Considering the rising prevalence of fungal infections, further investigation of medicinal herbs with anti-*Candida* effects is of paramount importance. It is hoped that different medicinal plants and therapeutic compounds could replace conventional treatments for fungal infections.

**Keywords:** Alcoholic and aqueous extracts, Antimicrobial activity, *Candida albicans*, *Chenopodium album*, *Chenopodium botrys*

► **Citation:** Malekpour A, Delnavaz Hashemlouian B. Evaluation of the Antimicrobial Effects of the Alcoholic and Aqueous Extracts of *Chenopodium Album* and *Chenopodium Botrys* against *Candida Albicans*. Tabari J Prev Med. Winter 2015;1(3):33-40.

## بررسی آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس

آزیتا ملک پور<sup>۱</sup>، بابک دلنواز هاشملویان<sup>۲\*</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** در دهه‌های اخیر عفونت‌های ناشی از قارچ‌های فرصت‌طلب نظیر کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) افزایش چشمگیری یافته است. وجود محدودیت‌هایی در درمان بیماری‌های قارچی از قبیل کمبود و گرانی داروهای ضد قارچی، عوارض جانبی آن‌ها و نیز مقاومت داروها و یا کاهش حساسیت قارچ‌ها به این نوع داروها موجب شده تا توجه پژوهشگران به جستجوی داروهای ضد قارچی جدید به‌ویژه داروهای گیاهی معطوف شود.

**مواد و روش‌ها:** عصاره‌های آبی و الکلی گیاه دارویی سلمک و درمنه ترکی جهت بررسی اثرات ضد کاندیدایی مخمر کاندیدا آلبیکنس با PTCC ۵۰۲۷ و تعداد ۱۰ ایزوله بالینی کاندیدا آلبیکنس جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف مورد آزمایش قرار گرفت. پس از استخراج عصاره گیاهان به روش سوکسیله اثر ضدقارچی (Antifungal) به روش دیسک‌گذاری و برات میکروداپلوشن (Broth Microdilution) استفاده شد. فلوکونازول نیز به‌عنوان گروه شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی درمنه ترکی و سلمه تره بر کاندیدا آلبیکنس نشان داد که بیشترین اندازه هاله ایجاد شده در درمنه ترکی مربوط به عصاره آبی برگ و در گیاه سلمه تره مربوط به عصاره آبی ریشه بود. همچنین استفاده از فلوکونازول به‌عنوان شاهد نیز اثرات ضدقارچی بر کاندیدا داشته و بازدارندگی بر این قارچ را از خود نشان داد که اثرات آن بر هر دو گیاه یکسان بود.

**نتیجه‌گیری:** تحقیق حاضر نشان داد که گیاهان مورد آزمایش اثرات ضدکاندیدایی خوبی دارند و می‌توان امیدوار بود که در آینده با جایگزین کردن این عصاره به جای داروهای ضدقارچی شیمیایی که اثرات جانبی زیادی دارند، بتوان عفونت‌های کاندیدایی را درمان نمود.

**واژه‌های کلیدی:** درمنه ترکی، سلمک، عصاره آبی و الکلی، فعالیت ضد میکروبی، کاندیدا آلبیکنس

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران  
۲. دانشیار، دانشکده کشاورزی، گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران

نویسنده مسئول: بابک دلنواز هاشملویان، دانشکده کشاورزی، گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران

پست الکترونیک:

Delnavaz@iau-savch.ac.ir

دریافت: ۹۴/۸/۱۳

اصلاحیه: ۹۴/۱۰/۱۹

ویراستاری: ۹۴/۱۱/۵

◀ **استناد:** ملک پور، آزیتا؛ دلنواز هاشملویان، بابک. بررسی آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس. مجله طب پیشگیری طبری، زمستان ۱۳۹۴؛ ۱(۳): ۳۳-۴۰.

در سال‌های اخیر، استفاده زیاد، نابه‌جا و خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها سبب ظهور سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (Multiple Drug Resistance: MDR) شده است؛ بنابراین با گسترش روزافزون سویه‌های مقاوم به عوامل آنتی‌میکروبیال، عوارض جانبی (Side Effects) عوامل شیمیایی، شکست درمانی و هزینه‌های بالای متحمل شده بر بیمار و نظام سلامتی توجه پزشکان، محققین و شرکت‌های داروسازی به استفاده از گیاهان دارویی بیشتر شده است (۱). تنوع بسیار زیاد و وفور ترکیبات دارای خواص درمانی در گیاهان سبب شده از آن‌ها بتوان به‌عنوان یک منبع مهم به منظور جستجوی عوامل جدید دارویی و ساخت داروهای ضد میکروبی استفاده نمود (۲). درمنه یا آرتمیس، درختچه‌ای با شاخه‌های گسترده و پر از برگ‌های خطی از خانواده کاسنی‌ها بوده که به‌دلیل خواص چندجانبه‌اش کاربرد زیادی در طب سنتی دارد (۳). سینئول بعد از آلفاپینن فراوان‌ترین جزء تشکیل‌دهنده درمنه در ترکیبات اسانس‌ها بوده و به‌طور گسترده در تهیه مواد داروئی کاربرد دارد. سینئول در اسپری‌های خانگی، مواد شستشو دهنده و در انواع روغن‌های پوست و مو مصرف می‌شود. لیمونن جزء اصلی اسانس مرکبات است و در فرمول فرآورده‌ای داروئی نظیر قرص بی‌کربنات سدیم، پمادهای ضد عفونی‌کننده و ساخت ویتامین A وارد می‌شود. از اجزای دیگر اسانس می‌توان کریزانتون و مسیتیلن را نام برد (۴). از درمنه برای دفع کرم، ضدنفخ، رفع سرفه و سردرد، ضد عفونی‌کننده، اشتها آور، تب‌بر و مسکن دردهای احشایی، بیماری تابس دورسالیس، درمان هیپاتیت و به‌عنوان حشره‌کش استفاده می‌شود. اسانس درمنه به‌واسطه مسدود نمودن کانال‌های کلسیم دارای اثرات آنتی‌اسپاسمودیک بوده و به‌گشاد کردن برونش‌ها کمک می‌کند. اسانس این گیاه بر روی تعدادی از میکروبه‌ها از قبیل: درماتوفیت‌ها (Dermatophytes)، مننگوکوک (Neisseria meningitidis)، سالمونلا (Salmonella)، پنوموکوک (Streptococcus pneumoniae)

و استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus) مؤثر است. همچنین رشد باکتری‌های مسبب بوی نامطبوع عرق را مهار می‌کند (۵).

نوعی از درمنه که به درمنه ترکی (Chenopodium botyris L.) معروف است در خراسان، کرمان و بلوچستان می‌روید. سلمک یا سلمه تره با نام علمی Chenopodium album گیاهی دو لپه و یک‌ساله می‌باشد که به‌عنوان یک علف هرز شناخته می‌شود و ارتفاع آن به ۳۰ تا ۱۸۰ سانتی‌متر می‌رسد (۶). تقریباً تمامی قسمت‌های سلمک از جمله برگ، ساقه‌های جوان، اندام‌های رویشی و عصاره دارای خواص درمانی از قبیل: دفع‌کننده کرم روده، ضدالتهاب و دردهای مفصلی، ملین، تسکین‌دهنده دردهای دندان، درمان آفتاب‌سوختگی و کک و مک روی پوست، درمان اسهال‌های خونی (دیسانتری) و عفونت ادراری می‌باشد (۷). گونه‌های کاندیدا به‌ویژه کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans) از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های قارچی هم در انسان و هم حیوانات محسوب می‌شوند. این مخمر به‌طور طبیعی بر روی پوست، دهان، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی زنان زندگی می‌کند و بخشی از فلور میکروبی بدن محسوب می‌گردد. بهم خوردن تعادل میکروبیوتای طبیعی بدن و یا ایجاد شرایط زمینه‌ای مانند: سرطان، لوسمی، دیابت ملیتوس، مصرف کورتیکواستروئیدها، ایدز و بارداری سبب بروز طیف فراوانی از عفونت‌های مختلف مانند: کاندیدیازیس جلدی-مخاطی، کاندیدیازیس واژینال و برفک دهان و... می‌شود (۸، ۹). امروزه در درمان این عفونت‌ها از داروهای مختلف از قبیل: داروهای گروه آزول، داروهای پلی‌ان‌ها و اکینوکاندین‌ها استفاده می‌شود. بررسی‌های مختلف مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا را نسبت به داروهای ضدقارچی نشان می‌دهد (۱۰)؛ بنابراین هدف از مطالعه حاضر ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی سلمک (Chenopodium album L.) و درمنه ترکی (Chenopodium botyris L.) بر کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

## مواد و روش ها

به منظور انجام این مطالعه‌ی تجربی (Experimental Study)، در اواخر بهار (خرداد) سال ۱۳۹۴ گیاه کامل سلمک و درمنه ترکی از بخش مرکزی شهرستان ساوه گردآوری شد. پس از تأیید نام علمی گیاهان و برای جلوگیری از تغییر در ساختار شیمیایی مواد مؤثر موجود در گیاهان مذکور، قسمتهای مختلف گیاهان از قبیل: ساقه، ریشه و برگ جدا و مدت ۲۴ ساعت در آون و در شرایط عاری از نور قرار داده تا خشک شود. این قسمت‌های جدا و خشک شده در آسیاب پودر و از آن‌ها عصاره‌های آبی و الکلی تهیه شد. فرایند عصاره‌گیری براساس روش سوکسیله (Soxhlet Extraction) صورت گرفت (۱۱). به منظور تهیه عصاره‌های الکلی و آبی گیاهان مورد بررسی، ۲۰ g از قسمت‌های مختلف این گیاهان توزین و در سایه خشک گردیدند و سپس به کمک آسیاب برقی کاملاً مخلوط و به صورت پودر درآمدند. سپس ۲۰۰ ml اتیلیک الکل ۷۰ درصد (اتانول ۷۰ درصد) و آب مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در بن‌ماری شیکردار (لب‌تک، کره) و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. مخلوط حاصله از کاغذ صافی واتمن شماره یک (واتمن، انگلستان) عبور داده شد. عصاره‌گیری در شرایط خلاء با استفاده از دستگاه فریز-درایر (خشک‌کن انجمادی یا همان خشک‌کن تصعیدی) (ایلا، ژاپن) انجام شد. برای تبخیر الکل، مایع حاصله درون چند بشر تقسیم و در انکوباتور ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا الکل تبخیر شود. سپس مخلوط غلیظ حاصل درون چند پلیت تقسیم و در دمای اتاق قرار داده شد تا در معرض هوا در طی چند روز کاملاً خشک شود. در نهایت هر دو نوع عصاره حاصل از گیاهان پس از توزین، درون ظروف شیشه‌ای استریل در یخچال نگهداری شدند.

## قارچ‌های مورد مطالعه

در این مطالعه از یک ایزوله استاندارد کاندیدا آلبیکنس PTCC ۵۰۲۷ و تعداد ۱۰ ایزوله بالینی کاندیدا البیکنس جدا شده از بیماران استفاده گردید.

## تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش برات میکرودایلوشن انجام شد.

ابتدا ایزوله‌های بالینی و استاندارد بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (Saborad Dextrose Agar) کشت داده شد و در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا کلنی‌های تازه قارچ به دست آید. سپس با حل نمودن یک کلنی تازه کاندیدا در ۳ ml سرم فیزیولوژی استریل با کمک لام نئوبار سوسپانسیون  $10^3 \times 2$  تهیه کرده و برای آزمایش حساسیت دارویی در یخچال نگهداری گردید.

## انجام تست حساسیت دارویی سلمک و درمنه ترکی با روش برات دایلوژن (CLSI M۲۷-A۳)

جهت انجام تست حساسیت دارویی از روش برات میکرودایلوشن مطابق با دستورالعمل (Clinical and Laboratory Standards Institute) از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای الایزا استفاده شد. بدین ترتیب که رقت‌های مختلف از ۱۷,۵-۰,۱۸۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هریک از عصاره‌ها در محیط RPMI-۱۶۴۰ (Roswell Park Memorial Institute-۱۶۴۰) با pH برابر ۷ داخل لوله‌های استریل تهیه شد. سپس به میزان ۱۰۰  $\mu$ l از غلظت‌های تهیه‌شده را به صورت دو نسخه‌ای در داخل چاهک‌های میکروپلیت الایزا ریخته و پس از آن میزان ۱۰۰  $\mu$ l از سوسپانسیون  $10^3 \times 2$  سلولی کاندیدا به تمامی چاهک‌ها اضافه شدند. سپس بعد از گذاشتن درپوش، میکروپلیت را بر روی شیکر (۱۰۰ rpm) به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون نموده و MIC هر یک از ایزوله‌ها با مقایسه رشد ایزوله‌ها نسبت به گروه کنترل (چاهک‌های منفی و مثبت) تعیین گردید. همچنین در این تست از داروی فلوکونازول به‌عنوان شاهد استفاده گردید (۱۲).

## انجام تست حساسیت دارویی سلمک و درمنه ترکی با روش انتشار دیسک (CLSI M۴۴-S۲)

برای این منظور کدورتی معادل  $1 \times 10^6$  سلول از کشت

### نتایج

نتایج حاصل از دیسک‌گذاری دو عصاره آبی و الکلی سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس نشان داد که عصاره‌های آبی ریشه سلمک و برگ درمنه ترکی در غلظت ۲۰ mg/ml بیشترین و در غلظت ۵ mg/ml کمترین اثر ضدقارچی را نشان دادند. تجزیه واریانس‌های اثرات غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی اندام‌های مختلف گیاهان سلمک و درمنه ترکی (ساقه، ریشه و برگ) بر کاندیدا آلبیکنس به روش کشت در محیط پتیتو دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar: PDA) و دیسک‌گذاری در محیط مولر هینتون آگار نشان داد که تفاوت بین آن‌ها در سطح ۰/۰۵ معنادار است (جدول ۱). این نتیجه نشان داد که نوع گیاه، نوع عصاره و غلظت عصاره در اثرات ضدقارچی عصاره‌های آبی و الکلی اندام‌های مختلف سلمک و درمنه ترکی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس تأثیر داشته و اثر بازدارندگی دارد. نتایج واریانس اثرات عصاره‌های آبی و الکلی اندام‌های مختلف سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس به روش شمارش کلنی نشان داد که تفاوت بین آن‌ها معنادار است (جدول ۲). این نتیجه نشان داد که نوع گیاه و رقت عصاره، در اثرات ضدقارچی عصاره‌های آبی و الکلی اندام‌های مختلف

۲۴ ساعته ایزوله‌های بالینی و استاندارد کاندیدا آلبیکنس PTCC ۵۰۲۷ تهیه شده از انستیتو پاستور در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. به منظور انجام انتشار در دیسک، کشت سفره‌ای از سویه قارچی تحت مطالعه بر روی محیط مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) حاوی مکمل‌های گلوکز به میزان ۲ درصد و متیلن بلو به میزان ۰/۵ µg/ml (مرک، آلمان) انجام شد. برای تهیه دیسک از غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره آبی و الکلی گیاه سلمک و درمنه ترکی استفاده گردید. بعد از جذب شدن کامل عصاره بر روی دیسک، دیسک‌ها خارج شد و پس از خشک شدن در انکوباتور ۳۵ درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گرفتند. از دیسک فلوکونازول (۲۵ µg) به‌عنوان کنترل استفاده گردید. پس از طی دوره گرمخانه‌گذاری، هاله‌های عدم رشد بررسی و قطر هاله عدم رشد با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد (۱۳). آزمون‌ها برای هر عصاره و هر میکروارگانیسم حداقل سه بار تکرار و میانگین نتایج گزارش و میزان انحراف‌معیار محاسبه گردید. تفاوت اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف توسط آزمون تعقیبی Tukey و با کمک نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جدول ۱: تجزیه واریانس نتایج بررسی تأثیر عصاره آبی و الکلی با روش دیسک‌گذاری

P	F	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
*.۰۰۰/۰	۱۳۳/۹۳	۱۵۱۰/۰۹	۱۵۱۰/۰۹	۱	گیاه
*.۰۰۰/۰	۱۰۹۰/۹۵	۱۲۳۰۷/۲	۳۶۹۲۱/۶	۳	غلظت
*.۰۰۰/۰	۳۸/۷۹	۴۳۷/۶	۲۱۸۷/۹	۵	عصاره
*.۰۰۰/۰	۵۹/۰۰	۶۶۵/۶	۱۹۹۶/۷	۳	گیاه × غلظت
*.۰۰۰/۰	۸۷/۱۸	۹۸۳/۵	۴۹۱۷/۶	۵	گیاه × عصاره
*.۰۰۰/۰	۳۴/۱۱	۳۸۴/۸	۵۷۷۱/۵	۱۵	عصاره × غلظت
*.۰۰۰/۰	۲۹/۴۳	۳۳۲/۰	۴۹۸۰/۰	۱۵	عصاره × غلظت × گیاه
		۱۱/۳	۷۵۸۰/۹	۶۷۲	خطاها
			۶۵۸۶۷/۰۱	۷۱۹	کل

\*وجود اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵، P=p-value و آزمون آنالیز واریانس F=(ANOVA)

جدول ۲: تجزیه واریانس نتایج بررسی تأثیر عصاره آبی و الکلی با روش شمارش کلنی

P	F	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
*/۰.۰۱	۱۰/۷۲	۵۲۷/۰۲	۵۲۷/۰۲	۱	گیاه
*.۰۰۰/۰	۱۰/۷۲	۵۲۷/۰۲	۲۶۳۵/۱۱	۵	رقت
۲۳۶/۰ <sup>n.s</sup>	۱/۴۱	۶۹/۰۶	۲۷۶/۲۶	۴	عصاره
*.۰۰۰/۰	۱۰/۷۲	۵۲۷/۰۲	۲۶۳۵/۱۱	۵	گیاه×رقت
۲۳۶/۰ <sup>n.s</sup>	۱/۴۱	۶۹/۰۶	۲۷۶/۲۶	۴	گیاه×عصاره
۱۳۳/۰ <sup>n.s</sup>	۱/۴۱	۶۹/۰۶	۱۳۸۱/۲۸	۲۰	عصاره×رقت
۱۳۳/۰ <sup>n.s</sup>	۱/۴۱	۶۹/۰۶	۱۳۸۱/۲۸	۲۰	عصاره×رقت×گیاه
		۴۹/۱۶	۵۸۹۸/۶۷	۱۲۰	خطاها
			۶۵۸۶۷/۰۱	۱۷۵	کل

\* وجود اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵

### بحث و نتیجه گیری

برای شمارش کلنی‌ها، کمترین و بیشترین مقدار عصاره‌های مؤثره تهیه سپس در پلیت ریخته و از رقت-های مختلف به آن اضافه شد. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین مقدار هاله ایجاد شده در گیاه درمنه ترکی مربوط به عصاره آبی برگ و در گیاه سلمه تره مربوط به عصاره آبی ریشه می‌باشد. دکتر رسولی و همکاران مشخص نمودند که گیاه سلمک معطر تأثیر ضد میکروبی ضعیف‌تری را در مقایسه با برگ دارد (۱۴). این پژوهشگران مشخص نمودند که مقدار اسانس لازم برای ایجاد هاله عدم رشد یا

سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس تأثیر داشته و اثر بازدارندگی دارد. نتایج کلی بررسی‌ها نشان داد که در گیاه سلمک، عصاره آبی ریشه بیشترین مقدار هاله عدم رشد را در محیط نوترینت آگار (Nutrient Agar) داشته (شکل ۱) و عصاره آبی برگ در گیاه درمنه، نیز بیشترین اثر ضدقارچی را داشته (شکل ۲) و در کل اثر بازدارندگی بر قارچ کاندیدا از خود نشان دادند. همچنین نتایج حاصل از روش برات دایلووشن دو عصاره آبی سلمک و درمنه ترکی بر کاندیدا آلبیکنس نشان داد که عصاره‌های آبی ریشه سلمک و برگ درمنه ترکی در غلظت  $74 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  بیشترین اثر ضدقارچی را از خود نشان دادند.



شکل ۲: بیشترین مقدار هاله عدم رشد عصاره آبی برگ گیاه درمنه ترکی



شکل ۱: بیشترین مقدار هاله عدم رشد عصاره آبی ریشه گیاه سلمه تره

را بر کاندیدا داشته و در سلمک مربوط به عصاره‌آبی ریشه بود که بیشترین اثر بازدارندگی را بر قارچ ایجاد کرده است. همچنین استفاده از فلوکونازول به‌عنوان شاهد نیز اثرات ضد قارچی بر کاندیدا داشته و بازدارندگی بر این قارچ را از خود نشان داد که اثرات آن بر هر دو گیاه یکسان بود. با توجه به اینکه استفاده از گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی ارزان‌تر بوده و عوارض جانبی کمتری دارند؛ بنابراین با بررسی بیشتر بر روی این گیاهان و خالص‌سازی و بهبود روش‌های استخراج و تعیین ماده مؤثره آن‌ها و انجام آزمایش‌های تکمیلی می‌توان در آینده به نتایج خوبی دست یافت. شایان توجه است که در طی چند سال اخیر گزارش‌های زیادی مبنی بر مقاومت یک سری از گونه‌های کاندیدا به داروهای ضدقارچی شیمیایی مطرح شده است که می‌بایست جهت مقابله با آن تدابیری اندیشیده شود؛ در نتیجه انجام تحقیقات تکمیلی بر روی گیاهان بررسی شده در این تحقیق و نیز مواد مؤثره آن‌ها می‌تواند در این زمینه راه‌گشا باشد.

در آخر با توجه به اینکه کاندیدا به‌عنوان یک عامل عفونی فرصت‌طلب به‌ویژه در افراد با ضعف سیستم ایمنی مطرح است و به‌دلیل افزایش مقاومت دارویی و ظهور سوبه‌های مقاوم به چند دارو، توجه بیشتری به سمت استفاده از گیاهان دارویی جلب شده است و به نظر می‌رسد که درمنه، سلمک و آویشن اثر ضدقارچی مناسبی دارند؛ بنابراین پیشنهاد می‌گردد که اثرات ضدکاندیدی هر یک از گیاهان مورد مطالعه بر روی تعدادی از نمونه‌های بالینی به‌خصوص گونه‌های مقاوم به فلوکونازول بررسی شود. اثرات ضدکاندیدی هر یک از گیاهان مورد مطالعه بر روی گونه‌های استاندارد سایر کاندیداها بررسی شود. اثرات ضدقارچی هر یک از گیاهانی که دارای اثرات قوی بودند علیه سایر گونه‌های قارچی نیز بررسی گردد.

### تشکر و قدردانی

از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پروژه یاری نموده‌اند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تأثیر مهارکنندگی و یا اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها در یک اسانس نسبت به نوع میکروارگانیسم‌ها متفاوت می‌باشد. آن‌ها این تفاوت را نشان‌دهنده اثربخشی متفاوت ترکیبات مختلف شیمیایی اسانس‌ها بر میکروارگانیسم‌ها دانستند. محبوبی و بیدگلی در پژوهشی بیان داشتند که خاصیت ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی با افزایش غلظت افزایش می‌یابد (۳). آن‌ها نشان دادند که اسانس حاصل از اندام هوایی گیاه، اثر ضدقارچی بسیار خوبی دارد. اثر ضدقارچی اسانس از اثر ضدباکتریایی بیشتر و باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت مقاوم‌تر هستند. محققین مختلفی اثرات متفاوتی را برای اجزای درمنه ترکی گزارش نمودند. به‌عنوان مثال ژرانیل دارای اثر ضدباکتریایی به‌ویژه در مقابل سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) و اثر ضدقارچی می‌باشد. مونوترپنی به نام ژرانیل استات دارای فعالیت ضدقارچی ضعیفی است. لینالول ترکیبی دیگر از اجزای درمنه ترکی بوده که دارای اثرات ضدمایتی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدکک می‌باشد (۱۵)؛ بنابراین اثر ضد میکروبی اسانس درمنه به هر یک از اجزای اصلی اسانس یا هر یک از اجزای فرعی یا سینرژیسیم یا آنتاگونیست بین آن‌ها مربوط می‌شود. دکتر نائینی و همکاران در مطالعه‌ی خود ۵۰ نوع عصاره گیاهان دارویی مختلف را بر روی سوبه استاندارد کاندیدا آلبیکنس اثر دادند و دریافتند که اسانس گیاهان آویشن کوهی و شیرازی، درمنه، مرزه و نعنای دارای بیشترین اثر ضدکاندیدی هستند (۱۶).

فرزانه و نگهبان در مطالعات خود بر روی اسانس درمنه، اثرات ضدقارچی (ضد فوزاریوم) و ضدحشرات را بررسی کردند (۵، ۱۷). در تحقیق پیش رو از فلوکونازول که جهت درمان کاندیدیازیس مصرف روزانه دارد، به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی درمنه ترکی و سلمه تره بر کاندیدا آلبیکنس نشان داد که بیشترین مقدار هاله ایجادشده در گیاه درمنه ترکی مربوط به عصاره آبی برگ بود که بالاترین اثر بازدارندگی

## References

1. Farjami B, Nematollahi MA, Moradi Y, Irajian G, Nazemi M, Ardebili A, et al. Antibacterial activity of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Inter J Molecul Clin Microbiol* 2013; 1:225-230.
2. Sefidgar AA, Taghizadeh Armaki M, Pournajaf A, Ardebili A, Omidi S, Abdian Asl A. Evaluation of antimicrobial activity of alcoholic and aqueous extracts from common hop (*Humulus lupulus*) and oak (*Quercus castaneifolia*). *Arak Med Univ J* 2015; 17(12):39-46 (Persian).
3. Mahboubi MO, Bidgoli Q. Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia aucheri* Boiss. Essential oil. *Iran J Med Aromatic Plants* 2009; 25(3):429-440.
4. Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Hadian J, Tehrani AS. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil borne phytopathogens. *Commun Agricul Appl Biol Sci* 2005; 71(3):1327-1333.
5. Negahban M, Moharramipour S, Sefidkon F. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *J Stored Product Res* 2007; 43(2):123-128.
6. Chalabian F, Monfared A, Larijani K, Saldoosi S. Comparison of the essential oils of *Chenopodium botrys* L., *Ferulago subvelutina* Rech F., *Rosa gallica* L. and antimicrobial activity of the oils against some microbes. *Iran J Med Aromatic Plants* 2006; 22(2):146-154.
7. Bedrossian AG, Beauchamp PS, Bernichi B, Dev V, Kitaw KZ, Rechtshaffen H, et al. Analysis of North American *Chenopodium botrys* essential oil isolation and structure of two new sesquiterpene alcohols. *J Essent Oil Res* 2001; 13(6):393-400.
8. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* 2013; 4(2):119-128.
9. Mahmoudabadi AZ, Zarrin M, Miry S. Phospholipase activity of *Candida albicans* isolated from vagina and urine samples. *Jundishapur J Microbiol* 2010; 3(4):169-173.
10. Calderone RA, Clancy CJ. *Candida* and Candidiasis. Washington: American Society for Microbiology Press; 2002. P. 349-373.
11. Hawthorne SB, Grabanski CB, Martin E, Miller DJ. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. *J Chromatogr A* 2000; 892(1-2):421-433.
12. Espinel-Ingroff A, Canton E, Peman J, Rinaldi M, Fothergill A. Comparison of 24-hour and 48-hour voriconazole MICs as determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution method (M27-A3 document) in three laboratories: results obtained with 2,162 clinical isolates of *Candida* spp. and other yeasts. *J Clin Microbiol* 2009; 47(9):2766-2771.
13. Clinical and laboratory standards institute. Zone diameter interpretive standards, corresponding minimal inhibitory concentration (MIC) interpretive breakpoints, and quality control limits for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; informational supplement, CLSI document (M44-S2). 2nd ed. Wayne PA, US: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
14. Rasooli I, Gachkar L, Yadegarinia D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Fakour M, et al. Relation of antioxidative property and free radical scavenging capacity to the antimicrobial characteristics of essential oils from *Mentha spicata* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. *Iran J Med Aromatic Plants* 2008; 23(4):492-503.
15. Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, JF III PR, Wei CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cubes. *J Food Sci* 1995; 60(6):1364-1368.
16. Naeini A, Naseri M, Kamalnejad M, Khoshzaban F, Rjbian T, Esmailzadehnami H, et al. Effects of essential oils and extracts of medicinal plants of the findings of 50 standard strains of *Candida albicans* in vitro. *J Med Plants* 2011; 10(2):163-173 (Persian).
17. Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Hadian J, Tehrani AS. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil borne phytopathogens. *Commun Agricul Appl Biol Sci* 2005; 71(3):1327-1333.