

بررسی اثرات ضدقارچی عصاره‌های گیاهی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) و مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) علیه ایزوله‌های بالینی کاندیدا البیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول

سپیده اکبری

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه قارچ‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
آدرس مکاتبه: تهران، بلوار فردوس غرب، خیابان ورزی جنوبی، کوچه ۱۷ غربی، پلاک ۱، واحد ۱۰
تلفن: ۴۴۱۴۶۷۵۶ (۰۲۱)

پست الکترونیک: SPH_AKBARI@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۵/۹/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۴/۹/۱۳

چکیده

مقدمه: کاندیدایزیس عفونت اولیه یا ثانویه‌ای است که به طور اعم توسط کاندیدا البیکنس ایجاد می‌شود. سیر بالینی آن به اشکال حاد، تحت حاد یا مزمن و عفونت منحصراً به دهان، گلو، پوست، واژن و... بوده و یا ممکن است به صورت سپتی سمی، اندوکاردیت و مننژیت مشاهده گردد.

هدف: افزایش قابل ملاحظه مقاومت ذاتی یا اکتسابی گونه‌های کاندیدا نسبت به ترکیبات ضدقارچی لزوم استفاده از ترکیبات جایگزین به ویژه از میان گیاهان دارویی را اجتناب‌ناپذیر ساخته است. تاثیر عصاره‌های آبی و تام متانولی گیاهان آویشن و مرزنجوش بر روی ایزوله‌های کاندیدا البیکنس حساس و مقاوم به فلوکونازول هدف این بررسی بوده است.

بحث و نتایج: نتایج حاصل از ارزیابی حساسیت ۳۳ ایزوله کاندیدا البیکنس به فلوکونازول به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که ۷۸ درصد ایزوله‌ها نسبت به دارو حساس، ۱۲/۱ درصد ایزوله‌ها حساسیت وابسته به دوز و ۹/۹ درصد ایزوله‌ها نسبت به دارو مقاوم بودند. بررسی تاثیر عصاره تام متانولی و عصاره آبی، دو گیاه دارویی آویشن و مرزنجوش بر روی ایزوله‌های کاندیدا البیکنس حساس و مقاوم فلوکونازول به روش رقیق‌سازی در محیط مایع در شرایط آزمایشگاه نشان داد که اسانس و عصاره از هر دو نوع گیاه قادر به مهار رشد ایزوله‌های حساس به فلوکونازول قارچ از طریق وابسته به غلظت بودند، که از این میان عصاره تام متانولی آویشن بیشترین اثر ضدقارچی را داشت (محدوده ۱۲۵ - ۰/۴۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). و پس از آن به ترتیب اسانس مرزنجوش و عصاره آبی آویشن و مرزنجوش در رده‌های بعدی قرار داشتند.

در حالی که تنها عصاره تام متانولی آویشن توانایی مهار رشد ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول را داشت. بنابراین بین مقاومت قارچ به دارو و مقاومت آن به اثرات ضدقارچی این دو گیاه دارویی ارتباط مستقیمی وجود دارد و احتمال می‌رود اسانس و عصاره این دو گیاه با مکانیسمی مشابه داروی فلوکونازول رشد قارچ را مهار کنند. بنابراین جایگزینی داروهای ضدقارچی واجد آثار جانبی شدید با ترکیبات دارویی طبیعی توصیه می‌گردد.

کل واژگان: کاندیدا البیکنس، حساسیت و مقاومت به فلوکونازول، آویشن، مرزنجوش، اثرات ضدقارچی



مقدمه

کاندیدا آلبیکنس مهم‌ترین عامل اتیولوژیک کاندیدیازیس بوده که قریب به ۷۵-۶۰ درصد گونه‌های جدا شده از کاندیدیازیس را شامل می‌شود. این قارچ فلور طبیعی بدن بوده که تحت عوامل مستعدکننده و بیماری‌های زمینه‌ای ایجاد می‌شود. در سال ۱۸۴۷ Rabin تشخیص داد که قارچ عامل برفک می‌تواند سیستمیک شده و آن را ائیدیوم البیکنس نامید.

Zopf این مخمر را مونیلیا البیکنس خواند و بالاخره اینکه Brekhout در سال ۱۹۲۳ جنس کاندیدا را پیشنهاد نمود [۱]. جنس کاندیدا شامل یک‌سری از مخمرهای انامورفیک (اسپرزیلوس) و نامتجانس (هتروژنوس) بوده که شامل ۱۱ اسکوماست می‌باشد. کاندیدا البیکنس قابلیت تولید نیترا ر دوکتاز را دارا بوده و باعث احیا نیترا به نیتريت می‌شود. در دیواره سلولی دو لایه خود فاقد گزیزیلوبوده، از طریق جوانه‌زنی هولوبلاستیک تکثیر یافته و فاقد آنزیم خارج سلولی می‌باشد [۲]. کاندیدیازیس به دلیل رشد بیش از حد فلور مخمری تحت شرایط مستعدکننده ایجاد شده و محدودیت زمانی ندارد. در سال‌های اخیر تعدادی از داروهای ضدقارچی موثر جهت درمان به کار گرفته شده است.

از میان این داروها می‌توان به داروهای گروه ازول‌ها به ویژه فلوکونازول اشاره کرد که یک تری ازول دوتایی و فلورینه شده است که در آب محلول بوده و به دلیل وزن مولکولی کم، جذب آن سریع و فراهمی زیستی بالایی داشته و به بیشتر بافت‌های بدن منتشر می‌شود [۳].

اما به دلیل عوارض جانبی متعدد دارو از جمله تهوع، درد شکمی، راش‌های پوستی، استفراغ و سردرد، همراه با مقاومت دارویی روزافزون این قارچ، موجب گشته تا تحقیقات در زمینه یافتن داروهای گیاهی بدون عوارض جانبی ادامه یابد. آویشن و مرزنجوش به علت دارا بودن ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول فعالیت ضدقارچی بر روی ایزوله‌های کاندیدا البیکنس داشته و خاصیت آنتی‌اکسیدانتی برای آنها ثابت شده است. به همین علت در صنایع غذایی، به عنوان یک نگهدارنده سبزیجات کنسرو شده، فرآورده‌های گوشتی، و به عنوان چاشنی به کار می‌رود [۴، ۵].

مواد و روش‌ها

الف) سویه‌ها و شرایط رشد

به دنبال کشت ۱۰۰ نمونه جداسازی شده از بیماران مبتلا به اشکال بالینی مختلف کاندید یازیس، بر روی محیط سابورو دکستروزاگار حاوی کلرامفنیکل و انکوباسیون ۴۸ ساعته در دمای ۳۷ درجه، و با استفاده از به کارگیری تست‌های مورفولوژی ماکرو و میکروسکوپی، توانایی تولید لوله زایا، تولید کلامیدوکونیدی، رشد بر روی محیط کروم اگارو جذب قندها، تعداد ۳۳ ایزوله کاندیدا البیکنس شناسایی گردید [۶].

ب) تهیه دیسک‌های دارویی

طبق استاندارد NCCLS، برای تهیه دیسک‌های ۲۵ میکروگرمی فلوکونازول، ۲ میلی گرم پودر آن را در ۱ میلی لیتر بافر فسفات سالین حل کرده بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه استریل و توسط فیلتر سرنگی، فیلتر و به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر از استوک دارویی بر روی دیسک‌ها با قطر ۵ میلی متر تلقیح و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شده و بعد از خشک شدن در دمای ۴ درجه نگهداری گردید [۷].

ج) تعیین حساسیت دارویی ایزوله‌های کاندیدا البیکنس

نسبت به فلوکونازول با روش دیسک دیفیوژن

در این روش از ایزوله‌های ۴۸-۲۴ ساعته کاندیدا البیکنس رشد کرده بر روی پلیت‌های حاوی سابورو دکسترواگار، سوسپانسیونی از سرم فیزیولوژیک استریل حاوی ۰/۵ درصد توئین ۸۰ به تعداد 5×10^6 cfu/ml معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند استاندارد تهیه و به وسیله اسپکتروفتومتر تایید گردید.

سپس با استفاده از سواب استریل از این سوسپانسیون بر روی محیط مولر هیتون اگار حاوی ۲ درصد گلوکز و ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر متیلن بلو تلقیح شد. دیسک‌های ۲۵ میکروگرمی فلوکونازول را روی پلیت‌ها قرار داده و بعد از ۴۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه، قطر نواحی مهار رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری گردید. براساس استانداردهای تعیین شده در متد NCCLS ایزوله‌ها با قطر نواحی مهاري کمتر از ۱۴ میلی متر مقاوم، بین ۲۱ - ۵ میلی متر دارای



حساسیت وابسته به دوز، و بیشتر از ۲۲ میلی متر حساس نسبت به دارو طبقه‌بندی شدند. از سوش ۶۴۶۵۸ ATCC کاندیدا البیکنس به عنوان کنترل حساس به فلوکونازول و از سوش ۶۵۵۰ ATCC به عنوان کنترل مقاوم به فلوکونازول استفاده گردید [۸].

د) تهیه عصاره تام متانولی و عصاره آبی آویشن و مرزنجوش

جهت تهیه عصاره تام متانولی آویشن و مرزنجوش (جمع‌آوری شده از مزارع گیاهان دارویی استان همدان) برگ‌ها و سرشاخه‌های گیاهان مذکور در مجاورت هوا و در سایه، خشک و سپس پودر شده آنگاه ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده و آسیاب شده هر کدام را به طور جداگانه در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر متانول ریخته و در دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت تحت عمل رفلو قرار گرفت. محلول حاصل استخراج و از طریق فیلتراسیون، با فیلترهای ۰/۲۲ میکرون استریل و نهایتاً توسط دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و با تفاضل وزن نهایی (بالن حاوی نمونه) از وزن اولیه (بالن بدون نمونه) درصد عصاره تام اولیه گیاه محاسبه و اسانس در دمای ۴ درجه نگهداری گردید [۹، ۱۰].

برای تهیه عصاره آبی این دو گیاه، ۱۰۰ گرم پودر خشک شده و آسیاب شده هر کدام را به طور جداگانه در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته و بعد از نیم ساعت خیس خوردن، بالن بر روی هیتر برقی به طور آرام آرام تا دمای ۸۰ - ۷۰ درجه گرمادهی، سپس عصاره آبی از مبرد جمع‌آوری و در دمای ۷۰- درجه جهت مصارف بعدی نگهداری شد [۱۱].

ه) تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد^۱ و تعیین حداقل غلظت کشندگی^۲ به روش رقت در برات

۳۰ ایزوله کاندیدا البیکنس حساس به فلوکونازول و ۳ ایزوله مقاوم به فلوکونازول برای بررسی آثار ضدقارچی اسانس و عصاره‌های گیاهی مذکور استفاده شد.

رقت‌های متوالی دو برابر، از غلظت ۲۵۰-۱۵/۶۲ میلی گرم از عصاره تام متانولی آویشن و غلظت ۵۰۰ - ۳۱/۲۵ میلی گرم از عصاره تام متانولی مرزنجوش به صورت وزنی/ حجمی و غلظت ۱۰۰۰ - ۱۲۵ میکرولیتر از عصاره آبی آویشن و غلظت ۱۰۰۰-۲۵۰ میکرولیتر از عصاره آبی مرزنجوش به صورت حجمی / حجمی با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. از ایزوله‌های کاندیدا البیکنس رشد کرده بر روی محیط سابورو دکستروز آگار، سوسپانسیونی در سرم فیزیولوژیک استریل حاوی ۰/۵ درصد تواین ۸۰ به تعداد 3×10^3 cfu/ml تهیه و به میزان ۵۰ میکرولیتر به هر یک از لوله‌های حاوی محیط کشت سابورو برات و رقت‌های متوالی دو برابر از اسانس و عصاره آویشن و مرزنجوش تلقیح گردید. هر یک از رقت‌های متوالی به صورت سه تایی تهیه شد و از بالاترین غلظت دی متیل سولفوکساید به عنوان شاهد استفاده شد. پس از انکوباسیون ۴۸ ساعته، ۱۰ میکرولیتر از رقت‌ها در محیط سابورو دکستروز آگار تلقیح و پلیت‌ها به مدت ۴۸ - ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه و براساس شمارش تعداد کلنی قارچ مقدار MIC و MFC تعیین گردید.

نتایج

نتایج حاصل از حساسیت ۳۳ ایزوله کاندیدا البیکنس نسبت به فلوکونازول نشان داد که ۷۸ درصد ایزوله‌ها (۲۶ ایزوله) نسبت به دارو حساس، ۱۲/۱ درصد ایزوله‌ها (۴ ایزوله) دارای حساسیت وابسته به دوز و ۹/۹ درصد ایزوله‌ها (۳ ایزوله) نسبت به دارو مقاوم بود (جدول شماره ۱).

ضمن بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره آویشن و مرزنجوش بر رشد ایزوله‌های کاندیدا البیکنس مورد بررسی نشان داد که مقادیر MIC ۵۰، MIC ۹۰ و MFC، برای عصاره آبی مرزنجوش برای ایزوله‌های حساس به فلوکونازول به ترتیب در محدوده ۲۵۰ - ۱۲۵، ۵۰۰ - ۲۵۰ و ۱۰۰۰ - ۵۰۰ میکرولیتر محاسبه و مقادیر MIC برای این عصاره ۱۰۰۰ - ۱/۹۵ میکرولیتر محاسبه شد. مقادیر MIC ۵۰، MIC ۹۰ و MFC برای عصاره تام متانولی مرزنجوش به ترتیب در محدوده ۱۵/۶۲-۶۲/۵، ۱۲۵ - ۳۱/۲۵ و ۲۵۰ - ۱۲۵

^۱ MIC

^۲ MFC



فلوکونازول به ترتیب در محدوده ۳۱/۲۵ - ۷/۸۱، ۶۲/۵ - ۳۱/۲۵ و ۱۲۵ - ۶۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر و محدوده MIC برای عصاره روغنی آویشن ۱۲۵ - ۰/۴۹ میلی گرم در میلی لیتر تعیین گردید. عصاره آبی آویشن فاقد هرگونه تاثیر بر روی رشد ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول، اما اسانس آن دارای مقادیر MIC ۵۰، MIC ۹۰ و MFC به ترتیب برابر ۲۵۰ - ۱۲۵، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر محاسبه و محدوده MIC برابر ۱۰۰۰ - ۶۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر تعیین گردید (جدول شماره ۲ و ۳).

میلی گرم در میلی لیتر محاسبه و محدوده MIC عصاره تام متانولی ۲۵۰ - ۰/۹۷ میلی گرم در میلی لیتر تعیین گردید. عصاره و اسانس مرزنجوش فاقد هرگونه تاثیر بر روی ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول بود. مقادیر MIC ۵۰، MIC ۹۰ و MFC عصاره آبی آویشن بر روی ایزوله‌های حساس به فلوکونازول به ترتیب در محدوده ۱۲۵ - ۶۲/۵، ۲۵۰ - ۱۲۵ و ۵۰۰ - ۲۵۰ میکرولیتر و محدوده MIC عصاره آبی آویشن برای ایزوله‌ها برابر ۵۰۰ - ۰/۹۷ میکرولیتر بود. مقادیر MIC ۵۰، MIC ۹۰ و MFC عصاره تام متانولی آویشن برای ایزوله‌های حساس به

جدول شماره ۱- نتایج حاصل از تاثیر عصاره‌های آبی و روغنی مرزنجوش و آویشن بر روی ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول کاندیدا/لیکنس به روش رقیق‌سازی در محیط مایع

شماره ایزوله	عصاره‌های گیاهی	میانگین	میزان MIC			میزان MFC
			محدوده	۵۰ درصد	۹۰ درصد	
C.alb-۱	مرزنجوش	AE	-	-	-	-
		EO	-	-	-	-
	آویشن	AE	-	-	-	-
		EO	۶۲/۵-۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
C.alb-۲	مرزنجوش	AE	-	-	-	-
		EO	-	-	-	-
	آویشن	AE	-	-	-	-
		EO	۶۲/۵-۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
C.alb-۳	مرزنجوش	AE	-	-	-	-
		EO	-	-	-	-
	آویشن	AE	-	-	-	-
		EO	۶۲/۵-۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰

عصاره‌های آبی (AE) بر حسب میکرولیتر و عصاره‌های روغنی (EO) بر حسب میلی گرم در میلی لیتر تهیه شده است.

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از تاثیر عصاره‌های آبی و روغنی مرزنجوش و آویشن بر روی ایزوله‌های حساس به فلوکونازول کاندیدا البیکنس

به روش رقیق‌سازی در محیط مایع

شماره ایزوله	عصاره‌های گیاهی	میانگین	میزان MIC			میزان MFC
			محدوده	۵۰ درصد	۹۰ درصد	
C.alb-۱	مرزنجوش	AE	۷/۸۱-۵۰۰	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳/۹-۲۵۰	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۱/۹۵-۱۲۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۲	مرزنجوش	AE	۱/۹۵-۱۰۰۰	۱۲۵	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۰/۹۷-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱/۹۵-۱۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۳	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱۲۵	۱۲۵	۱۰۰۰
		EO	۰/۹۷-۲۵۰	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱/۹۵-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۴	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۰/۹۷-۲۵۰	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۰/۴۹-۱۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۵	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۰/۴۹-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۶	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۱۲۵	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۰/۴۹-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۷	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۱۰۰۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۵۰۰
		EO	۰/۴۹-۱۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۸	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸-۶۲/۱۵	۳۱/۲۵	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۹	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۱۲۵	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۰/۴۹-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۱۰	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸۱	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵



ادامه جدول شماره ۲- نتایج حاصل از تاثیر عصاره‌های آبی و روغنی مرزنجوش و آویشن بر روی ایزوله‌های حساس به فلوکونازول
کاندیدای البیکنس به روش رقیق‌سازی در محیط مایع

شماره ایزوله	عصاره‌های گیاهی	میانگین	میزان MIC			میزان MFC
			محدوده	۵۰ درصد	۹۰ درصد	
C.alb-۱۱	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۱۲۵	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۶۲/۱۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸ - ۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۱۲	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸ - ۱۵/۶۲	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۱۳	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۱۵/۶۲ - ۳۱/۲۵	۱۲۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۷/۸ - ۱۵/۶۲	۱۵/۶۹	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۱۴	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۷/۸ - ۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲ - ۳۱/۲۵	۱۲۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۷/۸ - ۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۱۵	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲	۱۲۵	۱۲۵-۲۵۰	۲۵۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۱۶	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱۲۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۷/۸۱	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵
C.alb-۱۷	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰-۵۰۰	۵۰۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱۲۵	۱۲۵-۲۵۰	۲۵۰
		EO	۷/۸۱	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۶۲/۵
C.alb-۱۸	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰-۵۰۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۱۹	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۶۲/۵	۲۵۰	۵۰۰
		EO	۷/۸۱	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۶۲/۵
C.alb-۲۰	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰-۵۰۰	۵۰۰
		EO	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
		EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵

ادامه جدول شماره ۲- نتایج حاصل از تاثیر عصاره‌های آبی و روغنی مرزنجوش و آویشن بر روی ایزوله‌های حساس به فلوکونازول
کاندیدای البیکنس به روش رقیق‌سازی در محیط مایع

شماره ایزوله	عصاره‌های گیاهی	میزان MIC				میزان MFC
		میانگین	محدوده	۵۰ درصد	۹۰ درصد	
C.alb-۲۱	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱/۹۵-۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰
	EO	۱۵/۶۲	۱/۹۵-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۰/۹۷-۵۰۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸۱	۰/۴۹-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۲۲	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱/۹۵-۱۰۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸۱	۰/۴۹-۱۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۲۳	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱/۹۵-۲۵۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۲۴	مرزنجوش	AE	۶۲/۵	۳/۹-۱۰۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱/۹۵-۲۵۰	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۲۵	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۲۶	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۱/۹۵-۱۰۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۲۷	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۰/۹۷-۵۰۰	۶۲/۵	۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۷/۸۱	۳۱/۲۵	۱۲۵
C.alb-۲۸	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۱۲۵	۵۰۰
	EO	۱۵/۶۲	۰/۹۷-۲۵۰	۳۱/۲۵	۱۲۵	۲۵۰
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱/۹۵-۲۵۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸۱	۰/۹۷-۶۲/۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵
C.alb-۲۹	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵-۶۲/۵	۳/۹-۵۰۰	۲۵۰	۲۵۰-۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۱/۹۵-۲۵۰	۶۲/۵	۲۵۰
	EO	۷/۸۱	۰/۴۹-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
C.alb-۳۰	مرزنجوش	AE	۳۱/۲۵	۱/۹۵-۵۰۰	۲۵۰	۲۵۰-۵۰۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۶۲/۵	۱۲۵
	آویشن	AE	۱۵/۶۲-۳۱/۲۵	۰/۹۷-۵۰۰	۱۲۵	۲۵۰
	EO	۷/۸-۱۵/۶۲	۰/۹۷-۱۲۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۲۵

عصاره‌های آبی (AE) بر حسب میکرولیتر و عصاره‌های روغنی (EO) بر حسب میلی گرم در میلی لیتر تهیه شده است.



جدول شماره ۳- تعیین ایزوله‌های حساس، دارای حساسیت وابسته به دوز و مقاوم کاندیدا آلیکنس نسبت به داروی فلوکونازول براساس قطر نواحی مهار رشد در اطراف دیسک دارو

شماره ایزوله	قطر نواحی مهار رشد برحسب میلی‌متر		ارزیابی حساسیت
	پس از ۲۴ ساعت	پس از ۴۸ ساعت	
C.alb-۱	۳۳±۰/۰۱	۳۱±۰/۰۰۵	حساس
C.alb-۲	۲۹±۰/۰۰۸	۲۹±۰/۰۰۸	حساس
C.alb-۳	۳۵±۰/۰۱	۳۳±۰/۰۰۵	حساس
C.alb-۴	۲۴±۰/۰۱	۲۴±۰/۰۱	حساس
C.alb-۵	۲۷±۰/۰۲	۲۷±۰/۰۲	حساس
C.alb-۶	۳۰±۰/۰۰۵	۲۹±۰/۰۱	حساس
C.alb-۷	۲۲±۰/۰۲	۲۲±۰/۰۲	حساس
C.alb-۸	۲۱±۰/۰۰۱	۲۰±۰/۰۰۵	حساسیت وابسته به دوز
C.alb-۹	۲۰±۰/۰۳	۲۰±۰/۰۳	حساسیت وابسته به دوز
C.alb-۱۰	۳۰±۰/۰۲	۲۹±۰/۰۷	حساس
C.alb-۱۱	۲۹±۰/۰۱	۳۴±۰/۰۱	حساس
C.alb-۱۲	۳۴±۰/۰۲	۳۴±۰/۰۲	حساس
C.alb-۱۳	۳۱±۰/۰۰۴	۱۹±۰/۰۰۱	حساس
C.alb-۱۴	۱۹±۰/۰۰۱	۳۳±۰/۰۰۷	حساس وابسته به دوز
C.alb-۱۵	۳۴±۰/۰۲	۳۱±۰/۰۱	حساس
C.alb-۱۶	۳۱±۰/۰۱	۳۱±۰/۰۱	حساس
C.alb-۱۷	۳۳±۰/۰۳	۳۴±۰/۰۳	حساس
C.alb-۱۸	۳۲±۰/۰۰۵	۳۱±۰/۰۰۶	حساس
C.alb-۱۹	۲۷±۰/۰۲	۲۷±۰/۰۲	حساس
C.alb-۲۰	۳۶±۰/۰۰۱	۳۴±۰/۰۰۹	حساس
C.alb-۲۱	۳۳±۰/۰۰۶	۳۱±۰/۰۱	حساس
C.alb-۲۲	۳۵±۰/۰۰۱	۳۵±۰/۰۰۱	حساس
C.alb-۲۳	۲۷±۰/۰۰۴	۲۶±۰/۰۰۶	حساس
C.alb-۲۴	۳۱±۰/۰۱	۳۱±۰/۰۱	حساس
C.alb-۲۵	۳۴±۰/۰۱	۳۴±۰/۰۱	حساس
C.alb-۲۶	۳۱±۰/۰۰۵	۳۱±۰/۰۰۵	حساس
C.alb-۲۷	۲۵±۰/۰۱	۲۵±۰/۰۱	حساس
C.alb-۲۸	۱۹±۰/۰۲	۱۸±۰/۰۰۵	حساسیت وابسته به دوز
C.alb-۲۹	۳۲±۰/۰۰۱	۳۲±۰/۰۰۱	حساس
C.alb-۳۰	۳۴±۰/۰۱	۳۲±۰/۰۰۲	حساس
C.alb-۳۱	۹±۰/۰۰۵	۸±۰/۰۰۱	مقاوم
C.alb-۳۲	۷±۰/۰۰۲	۷±۰/۰۰۲	مقاوم
C.alb-۳۳	۸±۰/۰۰۱	۸±۰/۰۰۱	مقاوم



بحث

که اسانس مرزنجوش به علت دارا بودن مقدار زیادی تیمول و کارواکرول فعالیت ضدکاندیدیایی بسیار بالایی دارد [۱۵]. کارامان، تاثیر مهاری اسانس به دست آمده از بخش‌های هوایی آویشن بر رشد کاندیدا البیکنس، کاندیدا ترو پیکاليس، وساكارومایسس سرویسیه را تایید نمود [۱۶].

در تحقیق حاضر اسانس و عصاره مرزنجوش برخلاف دارا بودن تاثیر مهاری بر رشد استرین‌های حساس به فلوکونازول کاندیدا البیکنس فاقد هر گونه تاثیر مهاری بر رشد استرین‌های مقاوم به فلوکونازول بودند. در حالی که این تحقیق برای اولین بار نشان داد که عصاره تام متانولی آویشن توانایی مهار رشد استرین‌های مقاوم به فلوکونازول کاندیدا البیکنس را نیز دارا می‌باشد. با این حال عصاره تام متانولی آویشن نیز در مقادیر MIC و MFC بسیار بالاتر در مقایسه با استرین‌های حساس به فلوکونازول موجب مهار رشد استرین‌های مقاوم به فلوکونازول گردید.

این نتایج نشان می‌دهد که بین مقاومت کاندیدا البیکنس نسبت به فلوکونازول و مقاومت آن نسبت به اثرات ضدقارچی گیاه آویشن و مرزنجوش ارتباط مستقیمی برقرار است. این احتمال وجود دارد که دو گیاه با مکانیسمی مشابه داروی فلوکونازول منجر به مهار رشد کاندیدا البیکنس شوند و نهایتاً آنکه این دو گیاه به عنوان یک ترکیب ضدقارچی می‌توانند مورد استفاده کاربردی قرار گیرند.

عفونت‌های قارچی سیستمیک ناشی از گونه‌های کاندیدا در طی سالیان اخیر به دلیل افزایش بیماری‌های تضعیف‌کننده سیستم ایمنی نظیر ایدز، بدخیمی‌های خونی، مصرف بی‌رویه داروهای کورتیکواستروئید، آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و... یکی از عوامل مرگ و میر به خصوص برای بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است.

شیوع عفونت‌های حاد و سیستمیک کاندیدیایی و متعاقب آن درمان با استفاده از داروهای ضدقارچی به ویژه ترکیبات ازولی مانند داروی فلوکونازول و مقاومت گونه‌های کاندیدا نسبت به آن، از جمله مهم‌ترین موارد مقاومت دارویی محسوب می‌شود. لذا استفاده از ترکیبات جایگزین به ویژه گیاهان دارویی جهت درمان، پیشگیری از ایجاد مقاومت ثانویه، شناسایی ایزوله‌هایی با مقاومت ذاتی نسبت به داروها توصیه می‌گردد.

مارینو و همکارانش نشان دادند که اسانس آویشن فعالیت باکتری‌کشی بسیار بالایی داشته و بیشترین تاثیر را بر روی اشرشیا کلی دارد [۱۲]. مانوهار و همکارانش مهارکنندگی اسانس مرزنجوش بر روی اسپرژیلوس، هنسولا و قارچ‌های درماتوفیت رشته‌ای مانند ترایکوفایتون روبروم و کاندیدا البیکنس را نشان دادند [۱۳]. اوکازاکی و همکاران بیان کردند که اسانس به دست آمده از گیاه آویشن مانع از انعقاد پلاکت‌ها شده و جنبه درمانی دارد [۱۴]. زینگ در سال ۲۰۰۱ اعلام کرد

منابع

1. Ryley GF. Pathogenicity of *Candida albicans* with particular reference to the vagina. *J. Medical and Veterinary Mycology* 1986; 24: 5-22.
2. Bennett JE, Kown – chung KJ, Lea and Febiger London. *Medical Mycology* 1992; pp: 134-138.
3. Rex J, Rinaldi MG. Resistance of *candida* species to fluconazole. *J. Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39: 1-8.
4. Picuric –Jouvanovic K. *Thymus vulgaris* as a

Source of natural antioxidant. *J. Agriculture Belgrade* 1995; 40: 141-146.

5. Salgueiro LR, Caraleiro C, Pinto E. Chemical composition and antifungal activity of The essential oil of *Origanum virens* on *candida* species. *Planta. Med.* 2003; 69: 871-874.

6. Yarrow D. Methods of the isolation, main tenance and indentification of yeast in the yeast, a taxonomic study. *Elsevier* 1993; PP: 1-20.



7. Ghannoum MA, Rex GH. Susceptibility testing of fungi, current status of correlation of invitro data with clinical results. *J. clinmicrobiol.* 1996; 34: 489-495.
8. Entenza JM. Sangland D. Fluconazole plus cyclosporine a fungicidal combination effective against experimental endocarditis due to *Candida albicans*. *J. Antimicrobial. Agents and chemotherapy* 2000; 44 (11): 2932-2938.
9. Salaby AS. Razin AM. Dense cultivation and fertilization for higher yield of *Thymus vulgaris*. *J. Agronomy and Crop Science* 1992; 168: 243-248.
10. Proter NG. Lammerink JP. Effect of temperature on the relative densities of essential and water. *J. Essential oil Research* 1994; 6 (3): 269-277.
11. Hornok L. Akademiai Kiado Budapest Hungary. Cultivation and processing of Medicinal Plants. 1992; pp: 200-205.
12. Marino M. Bersani C. Antimicrobial activity of The essential oil of *Thymus vulgaris*. *J. Food prot.* 1999; 62 (9): 1017-23.
13. Manohar V. Ingram C. Antifungal activities of origanum oil against candida albicans. *J. Physiology and Biology* 2001; 228 (1-2): 111-117.
14. Okazaki K, Kawazoe K, Tokaishi Y. Human Platelet aggregation inhibitors from *Thymus Vulgaris*. *J. Phytother. Res.* 2002; 16 (4): 398-9.
15. Zeng W. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agricultural and food chemistry* 2001; 49: 5165-5170.
16. Karaman S, Digrak M. Antibacterial and Antifungal activity of the essential oils of *Tymus Revolutus* celak from Turkey. *J. Ehnopharmacology* 2001; 76: 183-186.

