طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال سیزدهم
شماره: سوم
مرداد و شهریور ۱۳۹۳
شماره مسلسل: ۴۵

تاریخ وصول : ۱۳۹۲/۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۲۹

فعالیت ضد قارچی عصاره تام آبی سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه(ferula assa foetida) بر رشد کاندیدا آلبیکنس و مقایسه ان با فلوکونازول در شرایط برون تنی

نویسندگان: عباسعلی جعفری[۱]، حسین جعفری[۲]، امین دهقان بنادکوکی[۳]، مهروباغبانیان[۳]

۱. دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۲. نویسنده مسئول: دانشجوی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
تلفن تماس:۰۹۱۳۳۵۱۹۲۱۲ Emai: jaabno@gmail.com
۳. دانشجوی کارشناسی ارشدمیکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

چکیده

مقدمه:کاندیدیازیس از شایعترین بیماریهای قارچی انسانی است که با توجه به افزایش روز افزون جمعیت ایمنوساپرس، دیابتی و سرطانی، روز به روز بر میزان شیوع این بیماری و مقاومت دارویی عوامل بیماری آن افزوده می شود. کاندیدا آلبیکنس از قارچهای مخمری فلور نرمال بدن انسانی بعنوان شایعترین عامل این بیماری شناخته می شود. هدف از انجام مطالعه حاضرارزیابی خواص ضد کاندیدایی عصاره تام آبی سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه و مقایسه آن با فلوکونازول در شرایط In vitro است.

روش بررسی:در این مطالعه تجربی ابتدا عصاره تام آبی mg/ml ۳۵ از سرشاخه های هوایی گیاه ا نغوزه بومی ایران تهیه و سپس با کمک روش Broth microdilution، میزان حساسیت دارویی سوش استانداردکاندیدا آلبیکنس نسبت به غلظتهای مختلف این عصاره درشرایط برون تنی بررسی و مقادیر حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی این عصاره و داروی فلوکونازول برروی سوسپانسیون کاندیدا محاسبه گردید.

یافته ها:غلظت mg/ml ۸/۷۵ از عصاره سرشا خه های هوایی انغوزه توانست بطور کامل از رشد کاندیدا آلبیکنس جلوگیری کرده و تمامی سلولهای زنده کاندیدا در این غلظت را از بین ببرد (MFC). بعلاوه غلظت های mg/ml و۰/۲۷۳ mg/ml ۴/۴ عصاره آبی انغوزه به ترتیب به عنوان حداقل مقادیر مهارکنندگی رشد ۵۰٪ و ۹۰٪ کاندیدا بدست آمد. در رابطه با فلوکونازول غلظت µg/ml ۱۲۸ به عنوان MFC و غلظت µg/ml ۰/۵ به عنوان MIC_{50} بدست آمد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که عصاره تام آبی برگ و سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه اثر مهاری و کشندگی بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط برون تنی داشته و پیشنهاد می شود مطالعات بیشتر در شرایط درون تنی نیز انجام شود.

واژه های کلیدی: انغوزه، کاندیدیازیس،کاندیدا آلبیکنس، اثرضدقارچی، فلوکونازول

مقدمه

افزایش میزان بقا و جمعیت بیماران ایمنوساپرس،افراد مبتلا به دیابت، بدخیمی ها و ایدزی های ناشی از پیشرفتهای جدید تکنولوژی پزشکی مانند رادیوتراپی، کموتراپی،پیوند اعضا منجر به گسترش و شیوع بیماریهای فرصت طلب میکروبی از جمله عفونتهای قارچی فرصت طلب در طول چنددهه گذشته شده است(۱). کاندیدیازیس ازجمله بیماریهای قارچی فرصت طلب و دارای علایم بالینی بسیار متنوع است که می تواند نقاط مختلف بدن از پوست و ناخن تا مخا ط دهان، واژن و ارگانهای داخلی (کاندیدیازیس سیستمیک) را درگیرنماید (۲،۳).گونه های مختلف کاندیدا از جمله کاندیدا آلبیکنس بخشی ازفلورنرمال میکروبی بدن انسان است که در سطوح جلدی و مخاطی، پوست، دهان، دستگاه گوارش و واژن انسان به صورت فلور نرمال وهم زیست وجود دارد. گونه های مختلف کاندیدا ازجمله کاندیدا آلبیکنس می تواند زمانی که سیستم ایمنی بدن ضعیف شده و یا تعادل میکروبی فلورنرمال بدن به هم خورده است، تغییر حالت داده، تبدیل به فرم میسلیال بیماریزا و مهاجم شود. بعلاوه کاندیدا یکی ازعوامل بیماریزای مهاجم قارچی در دیابتی ها، بدخیمی ها، نوزادان نارس وافراد مبتلا به ایدز می باشد (۳).

گونه کاندیدا آلبیکنس مهمترین گونه تهاجمی (ویرولانت) بیماری کاندیدیازیس بوده که دارای تعدادی ازعوامل ویرولانس می باشدکه به صورت تجربی نیزاثبات شده است. اخیرا گونه های مختلف کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونت زای بیمارستانی در ایالات متحده شناخته شده اند (۱)که موارد زیادی از مقاومت دارویی به داروهای ضد قارچی شیمیایی رایج نیز در درمان این بیماری مشاهده شده است(۴،۵). گزارش موارد متعددی از شکست درمان باعث تشویق محققان به انجام تحقیقات گسترده جدید جهت بررسی داروهای جدید ضد قارچی از جمله عصاره های گیاهان دارویی به تنهایی و یا بصورت ترکیب با داروهای ضد قارچی برای دستیابی به نتایج بهتر در درمان این بیماری شده است(۶). هر چند طب جدید در درمان بسیاری از بیماریها موفق بوده است ولی از مشکلات بزرگ مصرف روزافزون داروهای شیمیایی از جمله آنتی بیوتیکها، بروز مقاومت دارویی و در بسیاری از موارد ایجاد عوارض جانبی در بیماران می گردد که بعضا ممکن است از خود بیماری نیز خطرناکتر باشد(۶).

انغوزه گیاهی است چند ساله قطر ریشه گیاه بر حسب سن گیاه متفاوت است می تواند از هفت تا ده سانتی متر متغیر می باشد وتا عمق ۳۰ تا۴۰ سانتیمتر از خاک فرو می رود. این گیاه بومی در استانهای مرکزی وشرق کشور از جمله در استان یزد در مناطق معتدل مانند دامنه های شیر کوه در تفت وکوه های جنوبی وغرب در شهرستان ابرکوه ودیگر ارتفاعات استان به صورت خودرو می روید (۷). انواع شیره حاصله از گیاه انغوزه دارای ترکیب شیمیایی متفاوتی است که عبارت است از ۶۲ درصد رزین، ۲۵ درصد صمغ، ۳تا۷ درصد اسانس، ۱/۲۸درصد اسید فرولیک آزاد و به مقدار جزئی وانیلین تشکیل شده است (۸).

در طب سنتی خواص متعددی از جمله خواص ضد تشنج، ضد انگل، رافع بیماریهای عصبی، گوارشی، کبدی. برای انغوزه عنوان شده که اخیرآ مواردی از مطالعات تحقیقاتی جدید خواص ضد

انگلی، ضد ویروسی، اثر کاهنده چربی خون آن اثبات شده است. ازانغوزه در دامپزشکی در رفع بیماری های انگلی و تهیه بعضی از فراورده های غذایی نیز استفاده می گردد(۱۱-۹).

محمدی و همکاران در مطالعه ای با هدف بررسی خواص ضد قارچی اسانس انغوزه بر علیه ۲۵ ایزوله بالینی بیماری موکورمایکوزیس، مقدار ۱/۰۸ میکروگرم در هر میلی لیتر اسانس این گیاه را برای مهار رشد این قارچها گزارش نمودند (۱۲).

علاوه بر این خواص ضد باکتریال اسانس و عصاره انغوزه بر علیه باکتریهایی مانند سالمونلا، شیگلا (۱۳)، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدر میس (۱۴) و گونه های پاتوژن کلبسیلا و ویبریو کلرا (۱۵) هم گزارش شده است.

همچنین علاو بر خواص ضد کرمی، موثر بودن عصاره انغوزه بر انگلهای تک یاخته ای مانند ژیاردیا لامبلیا (۱۶) و تریکوموناس واژینالیس(۱۷) نیز به اثبات رسیده است.

خواص ضد قارچی عصاره دانه های گیاه انغوزه نیز بر علیه قارچهای ساپروفیتی مانند گونه هایی از آسپرژیلوس، فوزاریوم، درکسلرا و آلترناریا در مقایسه با داروی ضد قارچی شیمیایی Ridomyl goldنشان داده شده است (۱۸)

هدف از طراحی تحقیق حاضر تعیین خواص ضد کاندیدایی عصاره تام آبی سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه (ferula assa foetida) بر روی مهار رشد کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با فلوکونازول درشرایط In vitro می باشد

روش بررسی

در این مطالعه تجربی (lab-trial) ابتدا عصاره تام آبی ازسرشاخه ها و گل گیاه انغوزه تهیه و سپس حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت مهار کنندگی این عصاره در مقایسه با فلوکونازول در مجاورت با سوسپانسیون سلولی کاندیدا آلبیکنس تعیین شدند.

الف: تهیه عصاره آبی گیاه انغوزه:

مقدار۲۰گرم ازسرشاخه ها و گل گیاه انغوزه (شرکت گل دارو، ایران) را با آسیاب برقی کاملاً آسیاب نموده وپودر حاصله را به ۵۰ میلی لیترآب مقطر استریل اضافه کرده وآن را به مدت ۷۲ ساعت درانکوباتورباددمای۳۷درجه سانتیگراد قرارداده و روزانه ۴ بار شیکر گردید.

پس ازمدت۷۲ساعت محلول حاصله را ازدو لایه کاغذصافی واتمن شماره ۱صاف شده و سپس محلول صاف شده را با استفاده از فیلتر سرسرنگی (Millipor, Germany) استریل گردید. با خشک کردن و توزین مواد باقی مانده برروی صافی و محاسبه تفاوت آن، میزان پودر حل شده در آب محاسبه تا میزان غلظت نهایی عصاره آبی انغوزه بدست آید. عصاره آبی تام تهیه شده برای مراحل بعدی مورد استفاده قرارگرفت (۱۰).

ب)تهیه سوسپانسیون سلولی کاندیدا البیکنس:

ابتدا از سوش استاندارد کاندیدا البیکنس۵۰۲۷ PTCC (معادل ATCC 10231) تهیه شده از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران که اغلب از ضایعات بیماری جدا شده، جهت تهیه کشت تازه بر روی محیط کشت سابورودکستروزاگار (Oxoid ،Uk) کشت داده و در انکوباتور ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری تا کلنی های تازه قارچ بدست آید. سپس با حل نمودن یک کلنی تازه کاندیدا در یک میلی لیتر سرم فیزیولوژِی استریل به

کمک لام نئوبار سوسپانسیون^{3}۱۰×۲ تهیه کرده وبرای ازمایش حساسیت دارویی در یخچال نگهداری می شود(۱۹).

ج)انجام تست حساسیت دارویی عصاره انغوزه (۲۰، ۱۹):

جهت انجام تست حساسیت دارویی از روش Broth microdilution مطابق با دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) از میکروپلیت ۹۶ خانه ای الیزا استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا رقت های ۱/۲، تا ۱/۶۴ یا به عبارتی غلظت های ۱۷/۵، ۸/۷۵، ۴/۴، ۲/۲، ۱/۱، ۰/۵۵، ۰/۲۷۳ و ۰/۱۸۶ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره سرشا خه های هوایی انغوزه در محیط Yeast extract broth استریل (pH معادل ۶) (Germany،Merck) داخل لوله های آزمایش استریل تهیه می شوند. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های تهیه شده را بصورت تریپلیکیت (سه تکرار) در داخل چاهک های میکروپلیت الیزا به ترتیب ریخته و پس از آن میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون^{3}۱۰×۲ سلولی کاندیدا به تمامی چاهک ها اضافه می شوند. سپس با گذاشتن درپوش میکروپلیت را برروی شیکر (100RPM)بمدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد انکوباسیون نموده و در پایان با کشت ۱۰ میکرولیتر از محصول آزمایش از هر چاهک، میانگین تعداد سلول های زنده کاندیدا (CFU/ml) در ۳ چاهک مربوط به هر غلظت محاسبه(Viable Cell counting) و با یکدیگر مقایسه گردیدند. با مقایسه میانگین تعداد کلنی های کاندیدا جدا شده از هر غلظت انغوزه و مقایسه با میانگین تعداد کلنی های کاندیدا جدا شده از چاهکهای کنترل منفی بدون دارو و بدون عصاره انغوزه مقادیر MFC (هر غلظتی از عصاره انغوزه که در آن هیچ گونه رشد کاندیدا مشاهده نشد) محاسبه شد. لازم به ذکر است که در اینگونه مطالعات (۲۱) جدا شدن هر کلنی نشان دهنده و معادل یک سلول زنده (Viable) در نظر گرفته می شود (Colony forming units).

د: انجام تست حساسیت دارویی فلوکونازول

جهت انجام تست حساسیت دارویی فلوکوناول و محاسبه مقادیر MIC و MFCاین دارو براساس دستورالعمل CLSI ابتدا با حل نمودن ۸۱۹۲ میکروگرم پودر فلوکونازول (پارس دارو، ایران) در ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (سیگما، انگلستان) محلول استوک فلوکونازول تهیه شد. سپس از محلول استوک برای تهیه رقت های سریالی (Two fold serial dilution) در محیط RPMI 1640درpH برابر۷ از غلظت ۱۰۲۴ تا ۰/۵ میکروگرم در هر میلی لیتر تهیه و سپس مشابه عصاره انغوزه در میکروپلیت الیزا تست براث میکرودایلوشن انجام شد. بدین منظور برای هر غلظت دارو (غلظت نهایی ۵۱۲ تا ۰/۲۵ µg/ml) سه تکرار با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون۱۰۳×۲ سلولی کاندیدا و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت دارو تست حساسیت انجام شد.

مقادیر MFC، ۹۰ MIC وMIC۵۰داروی فلوکونازول نیز مانند قبل با مقایسه میانگین شمارش کلنی های کاندیدا جدا شده از کشت محلول چاهک های هر رقت با نتیجه کشت چاهک های کنترل برروی محیط سابورو دکستروز آگار محاسبه شد (۲۲) .

یافته ها

غلظت ۸/۷۵ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره سرشا خه های هوایی انغوزه توانست به طور کامل از رشد کاندیدا آلبیکنس در محیط

Yeast extract broth جلوگیری کرده و تمامی سلول های زنده کاندیدا در این غلظت را از بین ببرد. به عبارت دیگر از کشت نمونه چاهک های این غلظت و غلظت های بالاتر آن مشابه چاهک های کنترل مثبت (فلوکونازول ۱۲۸ µg/ml) هیچ کلنی از کاندیدا رشد نکرد و به عبارتی این غلظت معادل MFC یا حد اقل غلظتی که توانست تمامی سلول های کاندیدا را از بین ببرد. غلظت های ۴/۴ و ۰/۲۷۳ میلی گرم در هر میلی لیتر عصاره آبی انغوزه به ترتیب به عنوان MIC۵۰ و MIC۹۰ یا غلظتی که به ترتیب توان مهار رشد ۹۰٪ و ۵۰٪ سلول های زنده در مقایسه با چاهک کنترل منفی (آب مقطر استریل) را داشتند بدست آمد (جدول ۱).

در خصوص فلوکونازول غلظت ۱۲۸ µg/ml فلوکونازول به عنوان MFC این دارو بدست آمد. هم چنین غلظت های ۰/۵ µg/ml و ۸ µg/ml فلوکونازول به ترتیب بعنوان مقادیر MIC۵۰ و MIC۹۰ برای فلوکونازول بدست آمد (جدول ۲).

در رابطه با فلوکونازول نیز غلظت ۱۲۸ µg/ml به عنوان MFC و غلظت ۰/۵ µg/ml به عنوان ۵۰ MIC بدست آمد.

جدول ۱: نتایج کشت محلول چاهکها (تعداد کلنیهای حاصل از کشت در یک میلی لیتر) در تست حساسیت دارویی عصاره انغوزه در سه تکرار

غلظت عصاره (به درصد)	٪۱۰۰	۱/۲	۱/۴	۱/۸	۱/۱۶	۱/۳۲	۱/۶۴	۱/۱۲۸	Nystatin کنترل مثبت	آب مقطر کنترل منفی
غلظت عصاره (mg/ml)	۱۷/۵	۸/۷۵	۴/۴ $MIC_{۹۰}$	۲/۲	۱/۱	۰/۵۵	۰/۲۷۳ $MIC_{۵۰}$	۰/۱۸۶	(Positive Control)	(Negative Control)
۱	۰	۰	۱۵۰	۴۵۰	۵۸۰	۷۳۰	۹۱۰	۱۲۸۰	۰	۱۵۴۰
۲	۰	۰	۱۳۰	۴۸۰	۵۴۰	۶۲۰	۸۲۰	۱۳۷۰	۰	۱۶۰۰
۳	۰	۰	۲۱۰	۴۲۰	۶۰۰	۵۹۰	۷۵۰	۱۵۷۰	۰	۱۸۲۰
میانگین	۰	۰	۱۶۳/۳	۴۵۰	۵۷۳/۳	۶۴۶/۷	۸۲۶/۷	۱۴۰۶/۷	۰	۱۶۵۳/۳

جدول ۲: نتایج کشت محلول چاهکها (تعداد کلنیهای حاصل از کشت در یک میلی لیتر) در تست حساسیت دارویی فلوکونازول

فلوکونازول (µg/ml)	۵۱۲	۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸ $MIC_{۹۰}$	۴	۲	۱	۰/۵ $MIC_{۵۰}$	۰/۲۵	آب مقطر (کنترل منفی)
۱	۰	۰	۰	۲	۱۱	۳۰	۱۷۵	۲۷۵	۳۴۰	۶۵۰	۸۴۰	۱۳۴۰	۱۴۷۵
۲	۰	۰	۰	۰	۹	۲۸	۱۶۰	۱۹۰	۲۷۵	۵۸۰	۷۲۰	۱۹۰	۱۵۸۰
۳	۰	۰	۰	۱	۱۳	۳۵	۱۵۲	۲۸۸	۳۶۰	۶۱۰	۸۱۰	۲۵۰	۱۶۹۲
میانگین				۱	۱۱	۳۱	۱۶۲/۳	۲۵۱	۳۲۵	۶۱۳/۳	۷۹۰	۱۲۶۰	۱۵۸۲/۳

جدول ۳: مقایسه مقادیر MFC، MIC_{90} و MIC_{50} عصاره آبی انغوزه و فلوکونازول بر علیه کاندیداآلبیکنس

موادمورد مطالعه	MFC	MIC90	MIC50
عصاره انغوزه	۸/۷۵ mg/ml	۴/۴ mg/ml	۰/۲۷۳ mg/ml
فلوکونازول	۱۲۸µg/ml	۸ µg/ml	۰/۵ µg/ml

بحث و نتیجه گیری

گستردگی سریع مقاومت دارویی قارچی به خصوص قارچ های جنس کاندیدا به داروهای ضد قارچی رایج نظیر فلوکونازول که برای درمان عفونت های منتشره کاندیدیازیس کاربرد دارد از مشکلات بالقوه و جدی بیماران و پزشکان معالج در سال های اخیر می باشد. علاوه برشکست های درمانی، عوارض جانبی داروهای شیمیایی مانند آمفوتریسین B برسلول ها و بافت های بدنبه همراه هزینه های سنگین و قیمت بالای این داروها، محققان را به فکر استفاده از داروهای گیاهی برای درمان این بیماری ها انداخته است. از آنجایی علاوه بر ترکیبات آزولی (مانند فلوکونازول) که جهت درمان کاندیدازیس منتشره بکار می رود و موارد متعددی از مقاومت گونه های کاندیدا به این دارو گزارش شده (۵،۶)، آمفوتریسین B تنها داروی جایگزین مناسب و موثر می باشد که متاسفانه آثار مخرب این دارو بر کلیه ها (نفروتوکسیسیتی) و کبد به اثبات رسیده است (۲۳). با توجه به انجام مطالعاتی در رابطه با بررسی خواص ضد میکروبی (۱۵-۱۳)، ضد قارچی (۱۲،۱۸) و ضد انگلی (۱۶،۱۷) صمغ گیاه انغوزه، و عدم بررسی خواص ضد میکروبی عصاره سرشاخه های هوایی این گیاه، در مطالعه حاضر سعی شده است که از محلول عصاره قسمت های هوایی گیاه انغوزه (ferula assa foetida) بر علیه کاندیدا آلبیکنس، بعنوان شایع ترین گونه بیماری زا کاندیدازیس، بررسی شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت ۸/۷۵ mg/ml عصاره تام سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه توانست بطور کامل سلول های کاندیدا زنده در محیط آزمایش را کاملاً از بین برده بطوریکه هیچ گونه رشدی از کلنی های قارچ با کشت محصول آزمایش در این غلظت مشاهده نشد و به عبارتی این غلظت حداقل غلظت کشندگی قارچ کاندیدا آلبیکنس(MFC) می باشد. بعلاوه غلظت های ۴/۴ و ۰/۲۷۳ میلی گرم در هر میلی لیتر عصاره آبی انغوزه به ترتیب به عنوان مقادیر MIC۵۰ و MIC۹۰ یا غلظتی که به ترتیب توان مهار رشد۹۰٪ و ۵۰٪ سلول های زنده در مقایسه با چاهک کنترل منفی (آب مقطر استریل) را داشتند بدست آمد(جدول ۱). نتایج مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعه نایینی و همکاران که در مطالعه مشابه ی با هدف بررسی اثرات اسانس هاوعصاره های چندگیاه دارویی ایران از جمله اسانس صمغ انغوزه روی سوی های استانداردکاندیدا آلبیکنس (۲۴)، دارای خواص ضد کاندیدایی قوی تر و موثرتری بود هرچند در مطالعه مذکور از صمغ گیاه و با روش انتشار از دیسک در محیط کشت و محاسبه هاله عدم رشد استفاده شده و خاصیت ضد کاندیدایی ضعیفی گزارش شده، درحالی که در مطالعه حاضر از عصاره سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه و با روش براث دایلوشن که از روش های سنجش حساسیت دارویی جدید تر و دقیق تر است استفاده شده است.

محمدی و همکاران نیز در تحقیقی با استفاده از اسانس انغوزه تهیه شده از صمغ گیاه با روش براث دایلوشن بر روی گونه هایی از قارچهای کپکی موکور و ریزوپوس، غلظتهای ۱۷/۲ µg/ml اسانس صمغ این گیاه را به عنوان MIC گزارش کردند (۱۲) که در مقایسه با نتایج حاضر ضمغ آن دارای قدرت ضد قارچی قویتری در مقایسه با مطالعه حاضر گزارش شده است. البته لازم به ذکر است که نوع قارچ مورد بررسی در مطالعه محمدی و همکاران از گونه های کپکی موکور و ریزوپوس و اسانس صمغ گیاه انغوزه بوده است در حالی که در مطالعه حاضر از قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنس و عصاره تام بخش های هوایی گیاه استفاده شده که می تواند دلیلی بر تفاوت نتایج باشد.

فعالیت ضد میکروبی و از جمله ضد قارچی عصاره انغوزه احتمالاًمربوط به ترکیبات و اجزای ضد میکروبی آن نظیر Carvacrol Phenol،Thymol و Carvacrol Methyl Ether می باشد (۲۵). بعلاوه رابطه معنی داری بین میزان ترکیبات فنلی در برگ های گیاه انغوزه و فعالیت آنتی اکسیدانی و کشندگی نیتریک اکساید گزارش شده است (۲۶).

غلظت۱۲۸ µg/ml داروی فلوکونازول در مطالعه حاضر توان از بین بردن کامل سلول های کاندیدا را نشان داد که به عنوان حداقل غلظت کشندگی کامل (MFC) در نظر گرفته شد. همچنین غلظت های ۸ و ۰/۵ میگروگرم در هر میلی لیتر فلوکونازول نیز به ترتیب به عنوان مقادیرMIC۵۰ و MIC۹۰ بدست آمد که با مطالعات مشابه همخوانی دارد (۲۸،۲۷). بعلاوه مقادیر غلظت های مهار کنندگی و کشندگی فلوکونازول در رابطه با گونه کاندیدا آلبیکنس در مطالعه مشابه ی که در سال ۲۰۰۸ در شهر یزد با هدف ارزیابی میزان حساسیت گونه های مختلف کاندیدای جدا شده از ضایعات بیماران مبتلا به کاندیدیازیس انجام شده (۲۹)، با نتایج مطالعه حاضر هما هنگی دارد.

مطالعه حاضر در راستای انجام تحقیقاتی برای کمک به حل مشکلات درمانی با داروهای شیمیایی ضد قارچی مانند عوارض جانبی و مقاومت دارویی آنها با جایگزینی و معرفی داروهای با منشاء گیاهی می باشد. از آنجایی که عصاره تام آبی برگ و سرشاخه های هوایی گیاه انغوزه اثر مهاری و کشندگی بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط برون تنی (In vitro) نشان داد، این تحقیق می تواند مقدمه ای برای انجام مطالعات بیشتر در شرایط درون تنی (In vivo)، بررسی تاثیر دما وسایر شرایط فیزیولوژیک بدن انسان بر این عصاره و هم چنین احتمال پیدایش مقاومت دارویی تحقیقات بیشتری انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل از نتایج انجام یک طرح تحقیقاتی مصوب کمیته تحقیقاتی دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می باشد و هزینه آن توسط معاونت فن آوری و تحقیقات دانشگاه تامین شده است.

References

1-Bennett JE, Lea KJ. Medical Mycology. London: CRC press; 1992: 134-38

2-McManus BA, Coleman DC. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of Candida albicans. Infect Genet Evol 2014; 21:166-178.

3-Lotta TJ, Fundyga RE, Kuykendall RJ, Arnold J. The human commensal yeast, Candida albicans, has an ancient origin. Fungal Genetics and Biology 2005; 42: 444–51

4-Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS,Hollis RG, Messer SA. International surveillanceof bloodstream infections due to Candida species:frequency of occurrence and antifungalsusceptibilities of isolates collected in 1997 in theUnited States, Canada, and South America for theSENTRY program. J Clin Microbiol 1998; 36(7):1886–9.

5-Boken DJ, Swindells S, Rinaldi MG. Fluconazole resistant candida albicans. Clin Infect Dis 1993;17(6):1018-21.

6-Lynn L. Silver .Challenges of Antibacterial Discovery .Clin Microbiol Rev2011; 24(1): 71–109

7-Zargari A. Medicinal Plants.6th. Tehran: Tehran University Press1996: 592-602. [Persian]

8-Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal medicines: a guide for health-care professionals. 1st ed. London: Pharmaceutical Press; 1996.

9-Emami A, Fasihi S, Mehregan I. Medicinal Plants. 1sted. Tehran: Andisheh Avar Press; 2010. 140-145

10-Camberlain D, Rechinger KH, Editors. Flora Iranica. Graz: Akademische Druke–U. Verlagsanstalt; 1987: 387-427.

11- Duke JA. CRC handbook of medicinal herbs. 4th ed. Boca Raton: CRC Press; 1985:125-130

12-Mohammadi R, Shokouh Amiri MR, Sepah vand A, Roodbar Mohammadi S, Shadzi S, Mirsafaei Hj. Antifungal Activity of Ferula assa- foetida AgainstClinical Agents of Mucormycosis. Journal of Isfahan Medical School 2009; 27(100):581-88.

13-Vaishnavi C, Kaur S, Kaur M. Bactericidalactivity of kitchen spices and condiments onenteropathogens. Natural product radiance 2007;6(1): 46-9.

14-Sasikumar JM, Thayumanavan T, SubashkumarR, Janardhanan K, Lakshmanaperumalsamy P. Antibacterial activity of some ethnomedicinalplants from the Nilgiris, Tamil Nadu, India. Nat Prod Radiance 2007;6(1):34-9.

15-Martinez MJ, Betancourt J, Alonso-Gonzalez N,Jauregui A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. JEthnopharmacol 1996; 52(3): 171-4.

16-Rezaiemanesh MR, Shirbazou Sh. In-vitro giardicidal effect of aqueous and alcoholic extracts of Asafoetida on Giardia lamblia cyst. Journal of Birjand University of Medical Sciences 2012; 19 (1): 22-33

17-Sarkari B, Tadaion H, Askarian SH, Farnia E, As;arian M. Effect of garlic and Ferrula assa faotida on the growth of Trichomonas vaginalis. Journal of Gorgan University of Medical Sciences 2009: 11(3):13-17

18-Sitara U, Niaz I, Naseem j, Sultan N. Antifungal effect of essential oils on in vitro growth of pathogenic fungi. Pak. J. Bot, 2008; 40(1): 409-14

19-Galgiani JN, Rinaldi MG, Polak AM, PfallerMA. Standardization of antifungal susceptibilitytesting. J Med Vet Mycol 1992; 30(Suppl 1):213-24.

20-Arthington-Skaggs BA, Motley M, WarnockDW, Morrison CJ. Comparative evaluation ofPASCO and national committee for clinicallaboratory standards M27-A broth microdilutionmethods for antifungal drug susceptibility testingof yeasts. J Clin Microbiol 2000; 38(6): 2254-60

21-Lee HJ, Ho MR, Bhuwan M, Hsu CY, Huang MS, Peng HL, Chang HY. Enhancing ATP-based bacteria and biofilm detection by enzymatic pyrophosphate regeneration. Anal Biochem 2010;399:168–73

22-Sandven P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. Acta Odontol. Scand. (1990) 48: 27-36

23-Messori A, Fadda V, Maratea D, Trippoli S, Marinai C. Nephrotoxicity of Different Formulations of Amphotericin B: Summarizing Evidence by Network Meta-analysis. Clin Infect Dis. 2013; 57(12):1783-84

24-Naeini A, Khosarvi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Mycmed 2009 June; 19(3): 168-72.

25-Bamoniri A, Mazoochi A. Determination of bioactive and fragment molecules from leaves and fruit of Ferula assa-foetida growingin central Iran by nano scale injection. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 2009; 4(2): 323 –28

26-Ebrahimzadeh A, Nabavi SF, Nabavi SM Pourmorad F.Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. African Journal of Biotechnology2010; 9(32):5212-17.

27-Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW and Webb CD. Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of non-neutropenic patients with candidemia. Antimicrob. Agents Chemother1995; 39: 40-4

28-Anaissie E, Paetznick V and Bodey GP. Fluconazole susceptibility testing of Candida albicans: microtiter method that is independent of inoculum size, temperature, and time of reading. Antimicrob. Agents Chemother1990; 35: 1641-46

29-Jafari AA, Kazemi AH, Mirzaeii F, Deghani M. Fluconazole Susceptibility Profile of Candida isolates Recovered from Patients Specimens Admitted to Yazd Central Laboratory. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2008; 7 (1): 69-75.

Antifungal Activity of Aqueous Extracts from Ferula Assa foetida Aerial parts on Candida Albicans and its Comparison with Fluconazole in vitro

Jafari AA (ph.D)[1], Jafari H (Pharma. DS) [2], Deghanbanadkoki A (M.Sc)[3], Baghbanian M (M.Sc) [3]

1. Associate professor, Department of Basic Science, International Campus,Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
2. Corresponding Author: Pharmacy student, Shahid Sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.
3. M.Sc students of bacteriology, Department of Microbiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Candidiasisis the most common human opportunistic disease with the prevalence and resistance of etiologic agents being increased as a result of increasing the immunosuppressed diabetics and malignancies. Candida albicans known as the most common agent of disease is one of the human body's normal floras. The aim of the present study was to evaluate anti-Candida properties of the aerial parts of Ferula assafoatida compared with Fluconazole in vitro.

Methods: In the current experimental lab-trial study a 35 mg/ml aqueous extracts ofIranian Ferula assafoatida aerial parts were prepared and then used for evaluation of their susceptibility against a standard Candida albicans using broth microdilution method. Different concentrations of this herbal extract and Fluconazole were used for determining the minimum inhibition concentration and killing on Candidasuspensions.

Results: Concentrations of 8.75 mg/ml aerial parts of Ferula assafoetida completely inhibited the growth of Candida albicans and killed all viable cells (MFC). Concentrations of 0.273 and 4.4 mg/ml Ferula aqueous extracts were also determined as MIC_{50} and MIC_{90}. In case of Fluconazole, 128 µg/ml concentrationis determined as MFC and 0.5 µg/ml concentration is also known as MIC_{50}.

Conclusion: Results of the current study showed that the aqueous extract of Ferula assafoetida aerial parts has inhibitory and candidacidal effect against Candida albicans and further in vivo studies are suggested.

Keywords: Ferula assafoetida, Candidiasis, Candida albicans, Antifungal effect, Fluconazole