View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by kashan university of medical sciences

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

Original Article

Comparing the effects of alcoholic extract of ginseng with itraconazole against *Candida albicans* and *Candida krusei*

Tajik-Ijdan F[1], Kazemi A[2*], Nowrozi H[3]

1- Department of Microbiology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, I. R. Iran.
2- Department of Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, I. R. Iran.
3- Department of Laboratory Science, Faculty of Para-Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received January 3, 2016; Accepted September 1, 2016

Abstract:

Background: Candidiasis is a prevalent disease which is caused by different species of *Candida*. Herbal drugs (e.g. ginseng) were traditionally administrated for the treatment of different diseases. This study was carried out to compare the effect of alcoholic extract of ginseng with Itraconazole against *Candida albicans (C. albicans*) and *Candida krusei (C. krusei*).
Material and Methods: This cross-sectional study was crried out on 22 and 8 species *of C.albicans* and 8 *C.krusei*, respectively which were isolated from vagina, urine and sputum of the patients. Using the CLSI M27 and disk diffusion methods the susceptibility test was done by Itraconazole (10 µg) and ginseng extract (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128 $mg.ml^{-1}$). The standard species of *C. albicans* (PTCC 5027) and *C. Krusei* (PTCC 5295) were used for the quality control purposes.
Results: The lowest and highest minimum inhibitory concentration (MIC) for *C. albicans* and *C. Kruzei* was 0.0625 and 0.5 $\mu g.ml^{-1}$, respectively for Itraconazole using the microdilution method. However, the lowest MIC and minimum fungal concentration (MFC) for alcoholic extract was 64 $mg.ml^{-1}$ .The highest inhibition zone for *C. albicans* was 14 and 14-32 mm for alcoholic extract and Foritraconazole, respectively. Using the two methods no significant difference was seen between the alcoholic extract of ginseng (64 and 128 $mg.ml^{-1}$) and the drug. ($P<0.05$)
Conclusion: Considering the MICs and disk diffusion results, the ginseng extract (64,128 $mg.ml^{-1}$) shows considerable antifungal effects compared to Itraconazole.

Keywords: Ginseng extract, *Candida albicans*, *Candida Krusei*, Itraconazole

*** Corresponding Author.**
Email: alikazemi611@gmail.com
Tel: 0098 912 716 0052
Fax: 0098 21 883 01550

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2017; Vol. 21, No 3, Pages 211-217

Please cite this article as: Tajik-Ijdan F, Kazemi A, Nowrozi H. Comparing the effects of alcoholic extract of ginseng with itraconazole against *Candida albicans* and *Candida krusei*. ***Feyz*** 2017; 21(3): 211-7.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

مقایسه اثر ضد قارچی عصاره الکلی گیاه جینسینگ با داروی ایتراکونازول روی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای*

فاطمه تاجیک ایجدان [۱]، علی کاظمی [*۲]، حسین نوروزی [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: کاندیدیازیس یک بیماری شایع است که توسط سویه‌های مختلف کاندیدا ایجاد می‌گردد. گیاهان دارویی هم‌چون جینسینگ از دیرباز به‌منظور درمان انواع بیماری به‌کار رفته‌اند. این مطالعه به‌منظور مقایسه اثر ضد قارچی عصاره الکلی گیاه جینسینگ با ایتراکونازول روی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این مطالعه مقطعی تعداد ۲۲ سویه *کاندیدا آلبیکنس* و ۸ سویه *کاندیدا کروزه‌ای* استفاده شد که از واژن، ادرار و خلط بیماران جدا شده بود. تست حساسیت دارویی به‌روش میکرودایلوشن (CLSI M27-A) و انتشار روی دیسک توسط داروی ایتراکونازول (۱۰µg) و عصاره جینسینگ با رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انجام شد. سویه‌های استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* PTCC5027 و *کاندیدا کروزه‌ای* PTCC5295 به‌منظور ارزیابی کنترل کیفی استفاده شدند.

نتایج: کمترین و بیشترین میزان MIC (Minimum Inhibitory Concentration) در *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* به‌ترتیب ۰/۰۶۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ایتراکونازول به‌روش میکرودایلوشن بود، درحالی‌که کمترین میزان MIC و MFC (Minimum Fungicidal Concentration) در مورد عصاره الکلی ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین قطر هاله برای سویه *کاندیدا آلبیکنس* در مورد عصاره الکلی، ۱۴ میلی‌متر و محدوده قطر هاله در مورد ایتراکونازول ۳۲-۱۴ میلی‌متر بود. اختلاف معنی‌داری میان عصاره الکلی با رقت‌های ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با دارو در دو روش مذکور مشاهده نشد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به میزان MIC و هاله عدم رشد اطراف دیسک، عصاره الکلی جینسینگ با رقت‌های ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای اثر ضد قارچی قابل مقایسه با ایتراکونازول می‌باشد.

واژگان کلیدی: عصاره جینسینگ، *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا کروزه‌ای*، ایتراکونازول

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۶، صفحات ۲۱۷-۲۱۱

مقدمه

در سال‌های اخیر عوامل قارچی مخمری و در راس آن‌ها گونه‌های کاندیدا، شایع‌ترین عوامل قارچی هستند که از عفونت-های انسانی جدا می‌شوند. شیوع این عفونت‌ها در دو دهه گذشته رشد چشمگیری داشته و در بین گونه‌های کاندیدا، *کاندیدا آلبیکنس* شایع‌ترین عامل کاندیدیازیس است، گرچه بروز کاندیدیازیس با گونه‌های دیگر نظیر *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزه‌ای* نیز رشد روزافزونی یافته است [۱]. در شرایط طبیعی این قارچ بیماری‌زا نیست، ولی عوامل مستعدکننده موضعی یا سیستمیک مانند دیابت، لوسمی، آنمی، مصرف طولانی-مدت داروهای کورتونی و آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، نقص سیستم ایمنی سیستمیک و موضعی، و مصرف داروهای خوراکی جلوگیری کننده از بارداری منجر به بیماری‌زا شدن عوامل قارچی می‌گردد. اشکال مختلف بیماری به فرم‌های حاد، تحت‌حاد و مزمن در نواحی مختلف بدن از جمله پوست، ناخن، مخاط واژن، برونش، ریه و دستگاه گوارش مشاهده می‌شود. این عفونت‌ها معمولا به‌دلیل نقص سیستم ایمنی و سایر فاکتورهای مستعد کننده منتشر می‌گردد و اندام‌های داخلی نظیر کلیه و کبد را نیز درگیر می‌کند [۲]. داروهای ضد قارچی با فرمولاسیون‌های متفاوت جهت درمان بیماری وجود دارد که در بسیاری از موارد به‌دلیل عدم پاسخ مناسب، بیماری به شکل مزمن و گاهی عود مکرر مشاهده می‌شود. در میان داروهای ضد قارچی، داروی ایتراکونازول به‌دلیل انتشار مناسب در اکثر بافت‌های بدن میزبان، استفاده گسترده‌تری در درمان اشکال موضعی و منتشره بیماری دارد. آزول‌ها (فلوکونا-زول، کتوکونازول و ایتراکونازول) در برابر قارچ‌ها سمیت انتخابی دارند، زیرا در سنتز ارگوسترول (استرول منحصربه‌فرد غشای سلولی قارچ‌ها) تداخل می‌نمایند. آزول‌ها با مهار تولید ارگوسترول نفوذپذیری غشای سلولی قارچ را مختل می‌کنند و بدین‌ترتیب آن

[۱] کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین

[۲] استادیار، گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین

[۳] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، ورامین

تلفن: ۰۹۱۲۷۱۶۰۰۵۲ **دورنویس:** ۰۲۱۸۸۳۰۱۵۵۰

پست الکترونیک: alikazemi611@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۵/۶/۱۱

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

را از بین می‌برند [۳]. در سال‌های اخیر گزارشات متعددی از شکست درمان در مبتلایان به اشکال بالینی کاندیدیازیس گزارش شده است [۵،۴]. نتایج مطالعات متعدد اثر ممانعت کنندگی گیاه موسیر بر رشد *کاندیدا آلبیکانس* [۶]، خواص ضد کاندیدایی عسل [۷] و هم‌چنین فعالیت قوی ضد کاندیدایی اسانس دانه رازیانه را در محیط آزمایشگاه ثبت نموده‌اند [۸]. به دلیل افزایش مقاومت دارویی در بین گونه‌های کاندیدیایی و هم‌چنین اثرات نامطلوب این ترکیبات بر بیماران، تحقیقات بیشتری در جهت جایگزینی ترکیبات گیاهی با ترکیبات شیمیایی و یا سنجش هم‌اثری این ترکیبات با آنتی‌بیوتیک‌ها، جهت کاهش سمیت داروهای شیمیایی ضروری می‌باشد. ریشه گیاه جینسینگ یک داروی چینی است که از دیرباز برای تحریک اشتها، از بین بردن افسردگی، تقویت سیستم ایمنی، تخفیف انواع درد و بهبود عملکرد ذهنی و جسمی استفاده می‌شود. ریشه این گیاه حاوی ساپونین‌های تری‌ترپنی، روغن‌های ضروری، پلی‌استیلن، پلی‌ساکارید، پپتیدوگلیکان، ترکیبات نیترو-ژنی، اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها و ترکیبات فنولی می‌باشد [۹]. مطالعات اندکی در زمینه اثر گیاه جنسینگ بر روند ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. در این تحقیق به مطالعه اثر ضد قارچی عصاره الکلی گیاه جینسنگ با داروی ایتراکونازول روی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* به‌صورت برون‌تنی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

الف – نمونه‌گیری:

مطالعه به‌صورت مقطعی در هشت ماهه اول سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین انجام شد. در این مطالعه تعداد ۱۱۱ نمونه از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان رسول اکرم(ص) تهران به‌دست آمد که از این تعداد ۴۶ نمونه واژن، ۲۵ نمونه ادرار، ۲۳ نمونه خلط و ۱۷ نمونه از زخم بودند که نمونه‌ها با رعایت شرایط استریل به‌طور سریع مورد آزمایش مستقیم قرار گرفت و سپس نمونه‌ها به تفکیک در محیط کشت پایه و انتقالی SC (سابورو دکستروز آگار+کلرامفنیکل) کشت داده شدند. از محیط‌های کشت هفت‌گانه تغذیه، محیط کشت حاوی توین ۸۰ برای ایجاد کلامیدوکونیدی، تولید لوله زایا در لوله حاوی سرم، آزمایشات تخمیر و جذب قندها، دید ماکروسکوپی و میکروسکپی برای آنالیزهای تفریقی گونه‌ها استفاده گردید و در نهایت تمام قارچ‌های مخمری به‌دست آمده تعیین گونه شدند و ۳۰ مورد کاندیدا توسط متخصص قارچ‌شناسی پزشکی به تفکیک *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* جدا گردید.

ب –تهیه سوسپانسیون قارچی:

تست حساسیت دارویی سویه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* نسبت به داروی ایتراکونازول به روش انتشار روی دیسک و روش میکرودیلوشن پروتوکل CLSI M-27 انجام شد [۱۰]. مقدار سه میلی‌لیتر نرمال سالین استریل روی محیط کشت ۲۴ ساعته کاندیدا ریخته شد و با خراش پی‌پت پاستور روی سطح کلونی و تکان آرام محیط، سلول‌های مخمری معلق شده و پس از انتقال به لوله استریل به‌وسیله دستگاه شیکر مخلوط شد. جذب نوری (Optical Density; OD) سوسپانسیون قارچی با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر بررسی و نتایج ثبت گردید. جذب نوری بین ۰/۱-۰/۰۸ از لحاظ تعداد سلول قارچی مورد نظر مطلوب بود. میزان کونیدی‌ها حدود $۲/۵\times۱۰^{۳}$-۰/۵ CFU بر میلی‌لیتر بر اساس استاندارد CLSI M-27 A تعیین شد.

ج- تهیه رقت دارویی:

پودر استاندارد داروی ایتراکونازول (شرکت روز دارو، تهران) تهیه گردید. جهت تهیه رقت دارویی از ایتراکونازول چون رقت ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیاز بود، ۱۶ میلی‌گرم از داروی مذکور توزین شده با ترازوی آنالیتیکال با درجه خلوص ۹۹/۹ در ۱۰ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل گردید تا محلول استوک دارویی با رقت حدود ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل شد. سپس به‌منظور تهیه رقت‌های دارویی از محیط کشت RPMI 1640 حاوی گلوتامین فاقد بیکربنات به نسبت ۱ به ۵۰ استفاده گردید و ۱۰ رقت سریالی از داروی ایتراکونازول (رقت-های ۳۲ تا ۰/۰۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد.

د- تهیه عصاره الکلی ریشه گیاه جینسینگ:

پنجاه گرم ریشه گیاه جینسینگ تهیه، با هاون خرد و توسط دستگاه آسیاب پودر شد. میزان ۱۷ گرم پودر ریشه گیاه جینسینگ را در ۱۰۰ میلی لیتر الکل ۹۷ درصد برای تهیه عصاره الکلی خیسانده شد. الکلی گیاه با دستگاه روتاری با حلال الکل ۹۷ درصد جدا و توسط فیلتر سرسرنگی ۴۴ درصد فیلتر شد تا استریل گردد. عصاره درون ظرف استریل ریخته شد و در یخچال در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اطراف لوله آزمایش توسط فویل برای جلوگیری از رسیدن نور به عصاره پوشانده شد. عصاره جینسینگ توسط DMSO با غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رقت‌سازی شدند.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

ه- ارزیابی تاثیر دارو و عصاره روی قارچ‌ها به‌روش میکرو-دایلوشن:

به‌منظور ارزیابی تاثیر داروی ایتراکونازول، میکروپلیت-های ۹۶ خانه‌ای ته‌صاف به ابعاد ۱۲×۸ سانتی‌متر استفاده گردید. در هر سری یک چاهک کنترل در نظر گرفته شد که محتوی ۰/۱ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI 1640 و ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی رقیق شده بود. در چاهک اول بالاترین رقت دارویی به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر ریخته شد تا چاهک ۱۰ که کمترین رقت دارویی ریخته شد. سپس، در هر چاهک ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچ مورد نظر افزوده شده و با حرکت رفت و برگشت پی‌پت مخلوط شد. رقت‌های دارویی ایتراکونازول در مجاورت قارچ‌ها ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و رقت‌های عصاره در چاهک‌ها ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. تمام میکروپلیت‌ها بدون هیچ‌گونه حرکتی در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. زمان کدر شدن لوله کنترل به‌عنوان زمان خواندن نتایج و تعیین میزان MIC_{90} به‌عنوان عدم رشد سلول قارچی در نظر گرفته شد. از سویه‌های استاندارد *کاندیدا کروزه‌ای* PTCC5295 و *کاندیدا آلبیکنس* 5027PTCC به‌منظور صحت عملکرد و کنترل کیفیت کار استفاده شد.

و- ارزیابی تاثیر دارو و عصاره روی قارچ‌ها به‌روش دیسک:

روش دیسک‌گذاری طبق متود CLSI انجام شد. سوسپانسیون قارچی در مراحل قبل به‌صورت کشت متراکم روی محیط کشت مولر-هینتون آگار کشت داده شد. بعد از حدود ۱۵ دقیقه دیسک‌های استریل ایتراکونازول (Rosco، دانمارک) حاوی گرانول‌های حفاظت کننده دارو و دیسک‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره جینسینگ به‌میزان ۳۰ میکرولیتر به کمک پنس استریل روی محیط کشت به‌صورت جداگانه قرار داده شد. سپس، قطر هاله ممانعت از رشد پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های ANOVA و t تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

تعداد ۳۰ نمونه مورد مطالعه از ۲۱ زن (۷۰ درصد) و ۹ مرد (۳۰ درصد) بودند. میانگین سنی زنان ۴/۴±۵۲/۸۵، کمترین سن ۲۶ و بیشترین سن ۸۸ سال بود. میانگین سن مردان ۶/۵±۶۳/۳۳، کمترین سن ۱۷ و بیشترین سن ۸۰ سال بود. از ۳۰ نمونه کاندیدا، تعداد ۲۲ سویه *کاندیدا آلبیکنس* و ۸ سویه *کاندیدا کروزه‌ای* بود و بیشترین نمونه قارچی مربوط به نمونه ادرار بود (جدول شماره ۱-۱).

الف - تاثیر داروی ایتراکونازول و عصاره الکلی روی مخمرها به روش میکرودایلوشن:

کمترین و بیشترین میزان MIC_{90} (انهدام ۹۰ درصدی سلول قارچی در چاهک مورد تحقیق نسبت به چاهک کنترل) به‌ترتیب برای سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* ۰/۰۶۲۵ و ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. کمترین و بیشترین میزان MFC به‌ترتیب برای *کاندیدا آلبیکنس* ۰/۰۶۲۵ تا ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای *کاندیدا کروزه‌ای* ۰/۰۶۲۵ تا ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در ارزیابی تاثیر عصاره گیاه جینسینگ روی مخمرها به روش میکرودایلوشن، کمترین میزان MIC_{90} و MFC برای سویه *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* در مورد عصاره الکلی با رقت ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، درحالی‌که در مورد رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره الکلی تاثیری در ممانعت رشد قارچی مشاهده نشد (جدول شماره ۲-۱).

ب- تاثیر داروی ایتراکونازول و عصاره الکلی روی مخمرها به روش انتشار روی دیسک

کمترین و بیشترین میزان قطر هاله به روش انتشار روی دیسک ایتراکونازول در سویه *کاندیدا آلبیکنس* به‌ترتیب ۱۴ و ۳۲ میلی‌متر، و هم‌چنین کمترین و بیشترین میزان قطر هاله در سویه *کاندیدا کروزه‌ای* به‌ترتیب ۱۴ و ۳۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل شماره ۱). عصاره الکلی جینسینگ در رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ‌گونه تاثیری در ممانعت رشد قارچی نشان نداد، اما رقت ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مورد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* قطر هاله ۹ میلی‌متر و رقت ۶۴ میلی‌گرم بر میلی-لیتر عصاره در مورد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* قطر هاله ۱۳-۱۰ میلی-متر و در مورد قارچ *کاندیدا کروزه‌ای* ۱۲-۱۰ میلی‌متر بود که تاثیر قابل توجهی در ممانعت رشد قارچی داشت (شکل شماره ۲). بر اساس جدول استاندارد متعلق به شرکت سازنده دیسک دارویی، ارزیابی سویه‌ها نسبت به داروی ایتراکونازول با روش انتشار روی دیسک قطر هاله مساوی یا بیشتر از ۱۳ میلی‌متر به‌عنوان سویه مقاوم، قطر ۱۴-۲۲ میلی‌متر به‌عنوان سویه‌های وابسته به دوز و قطر بالاتر از ۲۳ به‌عنوان سویه حساس تلقی می‌گردد. لذا، در این مطالعه اکثر نمونه‌های مخمری به دیسک ایتراکونازول حساس بوده

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

و تنها ۴ نمونه وابسته به دوز (۱ نمونه *کاندیدا کروزه‌ای* جدا شده از ادرار، ۲ نمونه *کاندیدا آلبیکنس* جدا شده از خلط و ۱ نمونه *کاندیدا آلبیکنس* جداشده از ادرار) بودند (جدول شماره ۳-۱). با توجه به آنالیز نتایج، سویه‌ها نسبت به عصاره الکلی با رقت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مقاوم بود. همه قارچ‌ها به داروی ایتراکونازول حساس و یا نیمه حساس بودند و هیچ مقاومتی در خصوص این دارو وجود نداشت. قارچ‌ها نتایج متفاوتی را نسبت به دارو و عصاره نشان دادند و ۳ نمونه *کاندیدا آلبیکنس* در برابر ۱ نمونه *کاندیدا کروزه‌ای* نسبت به داروی ایتراکونازول نتایج وابسته به دوز از خود نشان داد که این اختلاف نیز معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). در روش میکرودایلوشن همه سویه‌ها حساس تلقی گردید و هیچ موردی که مقاومت نسبت به دارو داشته باشد، دیده نشد، اما در روش دیسک وضعیت وابسته به دوز دیده شد که این امر حاکی از اختلاف جزئی میان این دو روش بود، اگرچه اختلاف معنی‌دار نبود.

جدول شماره ۱- نمونه‌های به‌دست آمده به تفکیک جنسیت و محل برداشت نمونه از بیماران

محل جداشدن / جنس	واژن	درصد	خلط	درصد	ادرار	درصد	زخم	درصد	مجموع	درصد
زن	۵[A]	۱۶/۶۶	۴[B]	۱۳/۳۳	۱۱[C]	۳۶/۶۶	۱	۳/۳۳	۲۱	۷۰
مرد	–	۰	۵	۱۶/۶۶	۴[D]	۱۳/۳۳	–	۰	۹	۳۰
مجموع	۵	۱۶/۶۶	۹	۳۰	۱۵	۵۰	۱	۳/۳۳	۳۰	۱۰۰

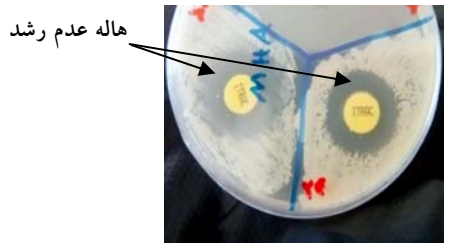
A :(۳ نمونه *کاندیدا آلبیکنس*، ۲ نمونه *کاندیدا کروزه‌ای*)، B: (۴ نمونه *کاندیدا آلبیکنس*)، C: ۴ نمونه *کاندیدا کروزه‌ای* ،۷ نمونه *کاندیدا آلبیکنس* ، D: (۲ نمونه *کاندیدا آلبیکنس*، ۲ نمونه *کاندیدا کروزه‌ای*)

جدول شماره ۲- مقایسه تاثیر داروی ایتراکونازول و عصاره الکلی جینسینگ روی سویه‌ها به روش میکرودایلوشن

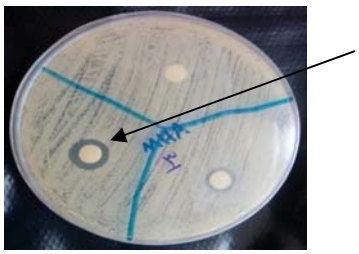
سویه قارچی	داروی ایتراکونازول		عصاره الکلی جینسینگ	
	MIC $^{\mu g}_{.ml^{-1}}$	MFC $^{\mu g}_{.ml^{-1}}$	MFC $^{mg}_{.ml^{-1}}$	MIC $^{mg}_{.ml^{-1}}$
کاندیدا کروزه‌ای	۵	۰/۰۶۲۵-۰/۵	۶۴	۶۴
کاندیدا آلبیکنس	۰/۰۶۲۵-۰/۵	۰/۰۶۲۵-۱	۶۴	۶۴

جدول شماره ۳- مقایسه تاثیر داروی ایتراکونازول و عصاره آبی والکلی جینسینگ روی سویه‌ها به‌روش انتشار روی دیسک

سویه	دیسک ایتراکونازول ۱۰ µg	عصاره الکلی جینسینگ							
		۱ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۲ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۴ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۸ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۱۶ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۳۲ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۶۴ $^{mg}_{.ml^{-1}}$	۱۲۸ $^{mg}_{.ml^{-1}}$
کاندیدا کروزه‌ای	۱۴-۳۰	۶	۶	۶	۶	۶	۹	۱۰-۱۳	۱۴
کاندیدا آلبیکنس	۱۴-۳۲	۶	۶	۶	۶	۶	۹	۱۰-۱۲	۱۴



شکل شماره ۱- هاله عدم رشد مخمر کاندیدا در حضور دیسک داروی ایتراکونازول (۱۰ میکروگرم)



شکل شماره ۲- هاله عدم رشد مخمر کاندیدا در حضور عصاره الکلی جینسینگ ($۶۴mg.ml^{-1}$)

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

بحث

مهم‌ترین عامل عفونت‌های قارچی بیمارستانی مخمر کاندیدا می‌باشد [۴]. این قارچ فرصت‌طلب می‌تواند موجب تظاهرات بالینی فراوانی از قبیل برفک دهان، واژنیت، عفونت پوست، اندوکاردیت، منتژیت، آبسه مغزی، آرتریت پیلونفریت در میزبان انسانی در شرایط مساعد شود. مقاومت میکروارگانیسم‌ها به عوامل ضد میکروبی در حال افزایش است. لذا، شناخت ترکیبات ضد میکروبی جدید با عوارض جانبی کمتر دارای اهمیت به‌سزایی است. وجود محدودیت‌هایی هم‌چون تعداد کم داروهای ضد قارچی، سمی بودن آنها برای سلول‌های بدن یا کاهش حساسیت یک سری از گونه‌های کاندیدا به این داروها، همواره به‌عنوان معضل اساسی در درمان مطرح بوده است. ازهمین‌رو، کاربرد ترکیبات گیاهی برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها، راه‌کار مفیدی می‌باشد. در این تحقیق به مطالعه اثر ضد قارچی عصاره الکلی گیاه جینسنگ با داروی ایتراکونازول روی سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا کروزه‌ای* در شرایط برون‌تنی پرداخته شد. کیوانی و همکاران اثر عصاره پوست تازه پسته در جلوگیری از رشد قارچ‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس نایجر* را ارزیابی و عنوان کردند اگرچه عصاره مذکور نمی‌تواند از رشد *آسپرژیلوس نایجر* جلوگیری کند، اما اسپورزایی آن را متوقف می‌نماید هم‌چنین، عصاره پوست پسته رشد *کاندیدا آلبیکس* را متوقف کرده که این نتایج با نتایج ما هم خوانی داشت [۱۱]. در مطالعه حقیقی و همکاران در زمینه اثرات ضد کاندیدایی اسانس‌های آویشن، زیره سبز و زیره سیاه، MIC به‌ترتیب ۲۵، ۷۲ و ۱۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد که رقت‌های ۷۲ و ۱۳۰ حدودا با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی داشت [۱۲]. بشیر و همکاران فعالیت ضد قارچی *فرولا نارتکس* را روی *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس فلاووس* بررسی و عنوان کردند *فرولا نارتکس* مهار ۲۰ درصدی *آسپرژیلوس فلاووس* و بی تاثیر بودن روی کاندیدا را نشان داد که در زمینه اثر ضد کاندیدایی با نتایج ما مغایرت داشت [۱۳]. نائینی و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که فعالیت ضد کاندیدایی اسانس رازیانه قوی بوده و MIC و MFC آن به‌ترتیب ۳۰۰ و ۳۰۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده که در مقایسه با نتایج ما درمورد عصاره جینسنگ بالاتر بود [۸]. هواسیان و همکاران عنوان کردند عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اثری روی *کاندیدا آلبیکنس* ندارد. در مطالعه دیگر اثر مهاری آویشن روی کاندیدا ارزیابی شد که اثر مهاری این عصاره نسبت به عصاره الکلی جینسنگ در این مطالعه قابل مقایسه بود [۱۴]. Lee و همکاران عنوان کردند شیرین بیان از طریق تقویت سیستم ایمنی و افزایش میزان سلول‌های T می‌تواند از عفونت کاندیدیا-زیس جلوگیری کند [۱۵] که مشابه اثرات عصاره جینسینگ به‌صورت بالینی می‌باشد. در مطالعه کاظمی و همکاران در زمینه تست حساسیت دارویی *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به داروهای ایتراکونازول MIC، ۰/۰۳۱۳ تا ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل شد که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی داشت [۱۶]. با توجه به قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی ریشه گیاه جینسینگ (۱۴ میلی‌متر)، کم بودن قطر هاله نسبت به دارو می‌تواند ناشی از عدم انتشار مناسب در آگار باشد. درستی این موضوع را با مطالعه نائینی و همکارانش در خصوص اثر داروی آمفوتریسین B که قطر هاله‌ای حدود ۱۶ میلی‌متر ایجاد کرد، می‌توان اثبات کرد. اگرچه اثرات ضد قارچی داروی ایتراکونازول نسبت به عصاره جینسینگ قوی‌تر ارزیابی شد، اما این نکته قابل ذکراست که یکی از دلایل قوی‌تر بودن داروهای شیمیایی، خالص بودن آنها است. بنابراین با تحقیقات بیشتر روی ترکیبات عصاره جینسینگ و خالص سازی و کشف ماده مؤثره ضد قارچی آن می‌توان به نتایج مشابهی مانند داروهای شیمیایی دست یافت. از طرفی در دسترس بودن و کم‌خطر بودن گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی، از مزیت‌های دیگر به‌شمار می‌رود. در فعالیت ضد قارچی ترکیبات اسانس‌ها، ویژگی‌های چربی‌دوستی ساختمان هیدروکربنی و نیز آب‌دوستی گروه‌های تابع آنها دارای اهمیت است. فعالیت ضد قارچی اسانس‌ها مرتبط با ترکیبات فنولی، آلدهیدی، کتونی، الکلی، اتری و هیدروکربنی می‌باشد که بیشترین فعالیت برای فنول‌های تیمول، کارواکرول و اوژنول گزارش شده است [۱۷]. احتمالا ترکیبات موجود در عصاره الکلی نقش موثری در مهار رشد کاندیدا از خود نشان می‌دهند. به‌کارگیری عصاره الکلی گیاه جینسینگ به‌تنهایی و همراه با داروی ضد قارچی در بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی توصیه می‌گردد. زیرا عصاره جینسینگ به‌دلیل تقویت سیستم ایمنی از لحاظ بالینی از یک‌سو و عملکرد قارچ کشی آن از سوی دیگر منجر به بهبود وضعیت بیمار می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به MIC و هاله عدم رشد اطراف دیسک، عصاره الکلی جینسینگ با رقت‌های ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای اثر ضد قارچی قابل مقایسه با ایتراکونازول می‌باشد. لذا، عصاره جینسینگ در پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی به‌خصوص بیماری‌های قارچی مفید می‌باشد.

Downloaded from feyz.kaums.ac.ir at 9:01 +0430 on Tuesday August 8th 2017

تشکر و قدردانی

با سپاس از مسئولین آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، خاطر نشان می‌گردد این مقاله برگرفته از نتایج پایان‌نامه با همین عنوان، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا می‌باشد.

References:

[1] Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiologyand outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapyalliance registry. ***Clin Infect Dis*** 2009; 48(12): 1695-703.

[2] Worth LJ, Blyth CC, Booth DL, Kong DC, Marriott D, Cassumbhoy M, et al. Optimizing antifungal drug dosing and monitoring to avoid toxicity and improve outcomes in patients with haematological disorders. ***Intern Med J*** 2008; 38(6b): 521-37.

[3] Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of etiological and predisposing factors - a large cohort. ***J Oral Rehabil*** 2007; 34(6): 448-55.

[4] Clark TA, Slavinski SA, Morgan S, Lott T, Arthington-Skaggs BA, Brandt ME, et al. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of Candida parapsilosis bloodstream infections in a community hospital. ***J Clin Microbiol*** 2004; 42(10): 4468–72.

[5] Khan ZU, Chandy R, Metwali KE. Candida albicans strain carriage in patients and nursing staff of an intensive care unit: A study of morphotypes and resistotypes. ***Mycoses*** 2003; 46(11-12): 476-86.

[6] Moghin H, Rafieian M, Taghipoor S, Shahin fard N. In Vitro comparative antifungal effect of extracts of Allium ascalonicom, Marticaria chamomillae (Chamaemelum nobile) and Stachys lavandulifolia against Candida albicans. 6 th Clinical Microbiology Mashhad 2012, Iran.

[7] 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]

[8] Naeini A, Naseri M, Kamalinejad M, Khoshzaban F, Rajabian T, Nami H, et al. Study on Anti_Candida Effects of Essential Oil and Extracts of Iranian Medicinal Plants, In vitro. ***J Med Plant*** 2011; 2 (38): 163-72.

[9] Salehi Surmaghi H. Medicinal plants and phytotherapy: ***Donyaee Taghzie***; 2006; 4(40):36-37. [in Persian]

[10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved standard, M27-A. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. Available at*:* https://clsi.org/

[11] Keivani S, Salamat F, Emami M, Adimi P, Amin G. In vitro evaluation of the susceptibility of dermatophytic and saprophytic fungi to Pistaciavera's pericarp extract. ***Med Sci J*** 2006; 16(3): 135-40.

[12] Minooeian Haghighi MH, Khosravi A. The Effects of the Herbal Essences on the two important species of aspergillus. ***Horizon Med Sci*** 2010; 15(4): 5-15. [in Persian]

[13] Bashir S, Alam M, Ahmad B, Aman A. Antibacterial, Anti-fungal and Phytotoxic activities of Ferula narthex Boiss. ***Pak J Pharm Sci*** 2014; 27(6): 1819-25.

[14] Havasian M, Panahi J, Pakzad I, Davoudian A, Jalilian A, Zamanian Azodi M. Study of Inhibitory effect of alcoholic and aqueous extract of Scrophularia striata (tashne dari) on candida albicans in vitro. ***Res Med*** 2013; 36(5): 19-23. [in Persian]

[15] Lee JY, Lee JH, Park JH, Kim SY, Choi JY, Lee SH, et al. Liquiritigenin, a licorice flavonoid, helps mice resist disseminated candidiasis due to *Candida albicans* by Th1 immune response, whereas liquiritin, its glycoside form, does not. ***Int Immunopharmacol*** 2009; 9(5): 632-8.

[16] Nowrozi H, Kazemi A, Teshfam M, Teimorian Sh, Adimi P, Bashashati M. Efficacy of ultraviolet radiation on drug susceptibility of Candida Spp. to itraconazole, fluconazole and amphotericin B. ***J Gorgan Uni Med Sci*** 2013; 15(4): 53-8. [in Persian]

[17] Ozcan M, Boyraz N. Antifungal properties of some herb decoctions. ***Euro Food Res Tech*** 2000; 212(1): 86-8.