

تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان مریم‌گلی (*Salvia*)*Nasturtium officinale* و علف چشمه (*Nasturtium*)*officinale* بر روی ایزوله‌های مختلف کاندیدا در

مقایسه با داروی فلوکونازول

مارال قرقانی^۱، آرش اسفرم^۱، نرگس روستایی^۱، سهام انصاری^۲، فرزانه رحمانی^۳، هاشم طاهری^۴، امین... سعادت نیا^۱،
صادق نوری پور سی سخت^{۱*}

^۱مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، ^۴مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۲/۰۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: امروزه با توجه به استفاده گسترده از داروهای ضد قارچی و ناتوانی درمان در بیماران کاندیدایی دارای عفونت، عود بیماری در بیماران افزایش یافته است، همین امر موجب شد که پژوهش‌گران در جهت استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های قارچی ترغیب شوند. لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان مریم‌گلی (*Salvia officinalis* Labiatae) و علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر روی ایزوله‌های مختلف کاندیدا در مقایسه با داروی فلوکونازول بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۸ بر روی ۳۱ ایزوله بالینی و استاندارد جنس کاندیدا شامل ۱۱ ایزوله کاندیدا آلبيکنس و ۱۰ ایزوله کاندیدا گلابراتا و ۱۰ ایزوله کاندیدا پاراپسیلوسیس جدا شده از واژینیت کاندیدایی، عفونت ادراری و اتومایکوزیس شهر یاسوج انجام شد. بعد از جمع‌آوری گیاه مریم‌گلی و علف‌چشمه عصاره هیدروالکلی آن‌ها تهیه و برای تعیین حساسیت قارچی به روش برات میکرودايلوشن مورد استفاده قرار گرفتند. بدین منظور، طبق دستورالعمل رقت‌های سوسپانسیون مخمری مطابق استاندارد به همراه هر یک از عوامل دارویی و عصاره‌های گیاهی به پلیت‌های ۹۶ خانه اضافه و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در نهایت، کمترین غلظت مهار کننده رشد برای هر ایزوله محاسبه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار اکسل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه در مجموع از میان سه دارو و عصاره مورد بررسی MIC50 برای عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی بر روی سه گونه کاندیدا/آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوسیس به ترتیب: ۲۵۰۰۰، ۱۲۵۰۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MIC50 برای عصاره متانولی علف‌چشمه بر روی سه گونه به صورت یکسان، ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MIC50 برای فلوکونازول برای سه گونه به ترتیب: ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: در مقایسه با فلوکونازول عصاره‌های هیدروالکلی مریم‌گلی و علف‌چشمه تأثیر بسیار کمتری بر روی ایزوله‌های بالینی و استاندارد کاندیدا داشتند. گونه شایع مسبب کاندیدیازیس، کاندیدا/آلبیکنس می‌باشد که با توجه به نتایج این مطالعه عصاره‌های هیدروالکلی مریم‌گلی و علف‌چشمه در شرایط آزمایشگاهی دارای اثرات نسبتاً کمی می‌باشد و استفاده از عصاره این گیاه جهت درمان کاندیدیازیس توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا/آلبیکنس، فلوکونازول، مریم‌گلی، علف چشمه

* نویسنده مسئول: صادق نوری پور سی سخت، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

Email: nooripoor8561@gmail.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

موارد آنها در حال افزایش می‌باشند (۱۲-۹ و ۷، ۳). امروزه داروهایی که در طب جدید برای درمان بیماری کاندیدیازیس به کار می‌روند، متعلق به دو گروه پلی‌ان‌ها و آزول‌ها می‌باشند. گروه پلی‌ان‌ها، از قبیل آمفوتریسین‌ب و نیستاتین دارای عوارض سمیت کلیوی و کبدی می‌باشند. گروه آزول‌ها، از قبیل ایتراکونازول و فلوکونازول با وجودی که سمیت کمتری دارند، اما به سبب مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا به ویژه کاندیدا گلابراتا، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا کروزه‌ای و کاندیدا آلبیکنس نسبت به آزول‌ها میزان موفقیت در درمان با این گروه عوامل ضدقارچی کاهش یافته است (۱۳). وجود محدودیت‌هایی همچون تعداد کم داروهای ضدقارچی، سمی بودن آنها برای سلول‌های بدن یا کاهش حساسیت یک سری از گونه‌های کاندیدا به این داروها همواره به عنوان معضلات اساسی در درمان بیماری مطرح بوده‌اند (۱۴)، کمبود داروهای ضد قارچی و مشکل مقاومت نسبت به داروهای ضدقارچی ماموریت جهت یافتن داروهای ضدقارچی جدید را دوچندان می‌کند (۱۵).^۱

علف چشمه با نام علمی *Nasturtium officinalis*

گیاهی است چند ساله از خانواده شب‌بو^(۵) با نام‌های فارسی آب‌تره، بولاغ اوتی، شاهی‌آبی، در اغلب نقاط ایران، آسیای معتدله و اروپا می‌روید. این گیاه در

کاندیدیازیس عفونت فرصت طلب ناشی از گونه‌های مختلف کاندیدا می‌باشد (۱). از سال ۱۹۷۰ با افزایش شرایط مستعدکننده عفونت‌های قارچی فرصت طلب شامل؛ بدخیمی‌ها، افراد با ضعف سیستم ایمنی و مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین بهبود روش‌های تشخیص شناسایی قارچ‌های مسبب عفونت بیمارستانی، شیوع کاندیدیازیس افزایش یافته است (۲ و ۳). گونه‌های مخمری جنس کاندیدا، به صورت همزیست بر روی پوست، دهان، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی وجود دارند (۶-۴).

بهم خوردن تعادل فلور میکروبی بدن سبب رشد بی‌رویه این قارچ می‌شود که در مواردی باعث ایجاد عفونت‌های جلدی، مخاطی و احشایی کشنده شامل ولو و اژنیت کاندیدایی حاد و مزمن، برفک دهان، اتومیکوز، اونیکومایکوزیس^(۱)، کاندیدوری، آبسه مغزی، آندوکاردیت، منژیت، التهاب مفصل، عفونت خون و کلیه می‌گردد (۸ و ۷، ۲).

جنس کاندیدا شامل بیش از ۱۵۰ گونه شناخته شده، تقریباً ۲۰ گونه عامل بیماری در انسان می‌باشد که گونه شایع مسبب بیماری، کاندیدا آلبیکنس^(۲) می‌باشد، ولی سایر گونه‌های غیر آلبیکنس که دارای حساسیت کمتری نسبت به داروها می‌باشند مانند؛ کاندیدا گلابراتا^(۳)، کاندیدا تروپیکالیس^(۴)، کاندیدا کروزه‌ای، کاندیدا گیلرموندی، کاندیدا کفایر، کاندیدا اوریس، کاندیدا دابلینسیس، کاندیدا فماتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس نیز در ایجاد بیماری نقش دارند و

1-Onychomycosis
2-Candida albicans
3-Candida glabrata
4-Candida tropicalis
5-Blasicacea

قسمت‌های شمالی ایران، به وفور در مناطق مرطوب و اطراف چشمه‌ها و کنار رودخانه‌ها یافت می‌شود. گیاه علف چشمه به عنوان سبزی نیز مصرف شده و استفاده‌ی خام یا پخته آن در سالادها، سوپ‌ها برای کم کردن دردهای شکمی، درمان دیابت و برونشیت توصیه شده است. علف چشمه یک منبع غنی از ویتامین‌ها، مواد کانی و مواد فیتوشیمیایی مانند لوتئین و زی‌گزانتین است. هم‌چنین میزان زیادی ویتامین C داشته که این ویتامین تأثیر آنتی‌اکسیدانی دارد و بدین طریق باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود (۱۶). گیاهان ریشه‌دار مانند علف چشمه منابع غنی از گلوکوزینولات هستند که به وسیله میروزینان گیاهی یا میکروفلورهای روده‌ای به فنیل اتیل ایزوتیوسیانات^(۱) تبدیل می‌شوند و غنی از بتاکاروتن، لوتئین و ترکیبات فنولی است که دارای خاصیت ضد سرطانی می‌باشد (۱۷). آنالیز فیتوشیمیایی گیاه علف چشمه نشان داده که ترکیبات گلوکوزینولات‌ها (۱۸)، فلاونوئیدها و فنول‌ها ترکیبات اصلی موجود در عصاره گیاه می‌باشند (۱۷). پژوهش‌های محدودی جهت فعالیت ضد میکروبی این گیاه انجام شده است، هر چند که فعالیت ضدباکتریایی آن بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی گزارش شده است (۱۹).

مریم‌گلی با نام علمی *Salvia Officinalis*، گیاه بومی کشورهای حوزه مدیترانه و در ایران نیز رشد می‌کند، قسمت‌های مورد استفاده برگ‌های گیاه

می‌باشد که به صورت دم‌کرده مصرف می‌شود. خاصیت‌های دارویی متعددی از جمله توقف خون‌ریزی و تمیز نگه‌داشتن زخم‌ها، کاهش شیر، ضد تشنج، تسکین‌دهنده آنتی‌اسپاسمودیک، آنتی‌سپتیک و آنتی‌بیوتیک و آنتی‌اکسیدان برای آن گزارش شده است (۲۰). در طب سنتی این گیاه با نام‌های مریمی یا سلوی نیز شناخته شده است و از روزگاران گذشته مورد استفاده قرار گرفته است. بیشترین ترکیبات مؤثره این گیاه در برگ‌های آن است. این گیاه تلخ مزه و دارای اسانس و رایحه مشخص می‌باشد. در طب سنتی به منظور درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌های گوارشی و سل مورد استفاده قرار گرفته است. پژوهش‌های متعدد بر روی گونه‌های مختلف جنس سالویا حاکی از خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد توموری، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن است (۲۱).^۲

با توجه به مطالب ذکر شده در ارتباط با اهمیت استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌های قارچی و با توجه به این که تا کنون در مورد حساسیت ایزوله‌های کاندیدا نسبت به عصاره گیاه مریم‌گلی و علف چشمه در شهر یاسوج مطالعه‌ای انجام نشده است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر عصاره هیدروالکی گیاهان مریم‌گلی (*Salvia Nasturtium officinalis Labiatae*) و علف چشمه (*Nasturtium*)

1-Phenyl isothiocyanate

بویراحمد و مریم‌گلی از مزرعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه (بذر کاشته شده) جمع‌آوری و مراحل شناسایی گیاهان در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. در مرحله بعد اندام هوایی آن‌ها تمیز و به مدت چند روز در هوای اتاق دور از نور مستقیم قرار داده، تا خشک شوند، سپس خرد و آماده عصاره‌گیری شدند. به این صورت که ۱۰۰ گرم از هر گیاه خشک‌شده به روش خیساندن با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر حلال شامل اتانول: آب با نسبت ۸۰ به ۲۰ خیسانده شد. مخلوط حاصل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس محلول ایجاد شده با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. مخلوط حاصل به وسیله روتاری تحت شرایط خلا تا حد ممکن تغلیظ شد. در نهایت، عصاره به دست آمده در انکوباتور ۴۵ درجه خشک شد و در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۴).^۳

در این مطالعه از روش استاندارد برات میکرودایلوشن^(۲) بر اساس دستورالعمل CLSI M27^(۱) جهت بررسی و ارزیابی حساسیت هر یک از سویه‌های بالینی و استاندارد جنس کاندیدا در مقابل داروی فلوکونازول و عصاره‌های هیدروالکلی مریم‌گلی و علف‌چشمه استفاده شد. بدین منظور، از کشت مخمری ۲۴ ساعته هر ایزوله قارچی سوسپانسیونی با آب

(*officinale*) بر روی ایزوله‌های مختلف کاندیدا در مقایسه با داروی فلوکونازول بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۸، بر روی ۳۱ ایزوله بالینی و استاندارد جنس کاندیدا شامل ۱۱ ایزوله کاندیدا آلبیکنس و ۱۰ ایزوله کاندیدا گلابراتا و ۱۰ ایزوله کاندیدا پاراپسیلوسیس جدا شده از واژینیت کاندیدی، عفونت ادراری و اتومایکوزیس شهر یاسوج انجام شد.

نمونه‌گیری به روش نمونه‌گیری در دسترس و مبتنی بر هدف انجام شد. ۲۸ ایزوله بالینی کاندیدا جداشده از مبتلایان به اتومایکوزیس، ولوواژنیت کاندیدی و کشت ادرار که در پژوهش‌های قبلی جداسازی و به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس آنزیم برش دهنده محدودالانتر (PCR-RFLP)^(۱) شناسایی شده بودند، به همراه ۳ ایزوله استاندارد کاندیدا مورد استفاده قرار گرفتند (۲۳ و ۲۲). تمامی ایزوله‌ها در تیوب‌های حاوی آب مقطر استریل نگهداری شده بودند و برای آماده‌سازی نمونه‌ها، تمامی ایزوله‌ها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. ایزوله استاندارد دارویی کاندیدا پاراپسیلوسیس ATCC22019 نیز به عنوان کنترل استفاده شد.

دو گیاه علف‌چشمه (شماره هر‌باریوم: (HYU30230)، از شهرستان دنا در استان کهگیلویه و

1- Poly Merase Chain Reaction- Restriction Fragment Length polymorphism
2-Broth microdilution
3-Clinical Laboratory Standards Institute

غلظت ممانعت کنندگی رشد به ترتیب ۵۰ و ۹۰ درصد ایزوله‌ها و MIC_{GM} یا میانگین هندسی متمایل به مرکز MICها برای دارو و عصاره‌ها به تفکیک گونه با استفاده از نرم افزار اکسل محاسبه گردید.^۴

یافته‌ها

جدول ۱ مقادیر حداقل غلظت مهارى به دست آمده برای هر گونه قارچی را به تفکیک گیاه مورد بررسی نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول آمده است در تمامی ایزوله‌های کاندیدا/مورد بررسی فلوکونازول دارای کمترین میزان دامنه MIC (۰/۵۰-۰/۶۲۵) بوده است. این در حالی است که برای عصاره گیاه علف‌چشمه MIC₉₀ برای تمامی ایزوله‌ها برابر با ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. برای گیاه مریم‌گلی نیز به استثنای ایزوله‌های کاندیدا/آلبیکنس در ایزوله‌های غیر آلبیکنس مورد بررسی MIC₅₀ برابر با ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. مقایسه تاثیر ضد قارچی عصاره‌ها و داروی فلوکونازول به تفکیک ایزوله‌ها نشان داد که بر اساس معیار MIC_{GM} کمترین غلظت بازدارندگی عصاره مریم‌گلی مربوط به ایزوله کاندیدا گلابراتا (۳۹۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اما در عصاره علف‌چشمه و داروی فلوکونازول در کاندیدا کروزه‌ای (۰/۰۸۲ و ۲۰۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بوده است.

مقطر استریل تهیه گردید. سپس سوسپانسیون به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر معادل استاندارد نیم مک فارلند (۱۰° x ۰/۵) تنظیم شد. در مرحله بعد، سوسپانسیون استاندارد قارچی به دست آمده با محیط RPMI ۱۶۴۰ به میزان ۱ به ۱۰۰۰ مطابق دستورالعمل رقیق گردید (۲۵).

به منظور تعیین حساسیت نسبت به داروی ضدقارچی و عصاره‌ها رقت‌های سریال برای هر داروی فلوکونازول شامل ۰/۰۶۲۵-۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره‌ها ۴۸/۵-۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از محیط کشت RPMI 1640 تهیه گردید. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌ها به ترتیب درون چاهک هر کدام از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ریخته شد و در پایان مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی رقیق شده که در مرحله قبل تهیه شده بود به آن اضافه گردید. در هر پلیت کنترل مثبت شامل سوسپانسیون قارچی بدون دارو به همراه RPMI 1640 و کنترل منفی شامل دارو بدون سوسپانسیون قارچی جهت کنترل صحت تست قرار داده شد. تمامی پلیت‌ها در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند (۲۵).

در این مطالعه MIC^(۱) (کمترین غلظت دارو برای مهار رشد قارچ) برای کلیه ایزوله‌های بالینی و استاندارد محاسبه شد. سپس MIC₅₀ و MIC₉₀ یا کمترین

1-Minimum Inhibitory Concentration(MIC)

جدول ۱: MIC، MIC₅₀، MIC₉₀ و MIC_{GM} ایزوله‌های کاندیدیایی برای داروی فلوکونازول، عصاره مریم‌گلی و علف‌چشمه

گونه کاندیدا (تعداد ایزوله)	داروی ضد قارچی	دامنه حداقل غلظت مهاری	حداقل غلظت GM مهاری	حداقل غلظت مهاری	حداقل غلظت مهاری ۹۰ درصد
	فلوکونازول	۰/۵-۰/۰۶۲۵	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۵
کاندیدا آلبیکنس (۱۱)	عصاره هیدروالکی مریم‌گلی	۲۵۰۰۰-۶۲۵۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰
	عصاره هیدروالکی علف‌چشمه	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰
کاندیدا گلابراتا (۱۰)	فلوکونازول	۱۶-۰/۰۳۱۲	۰/۵۳	۰/۵	۸/۸
	عصاره هیدروالکی مریم‌گلی	۳۹۰-۲۵۰۰	۳۹۳۵	۱۲۵۰۰	۱۵۰۰۰
	عصاره هیدروالکی علف‌چشمه	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰
	فلوکونازول	۰/۰۱۵۶-۰/۵	۰/۰۸۲	۰/۱۴	۰/۵
کاندیدا پاراپسیلویزیس (۱۰)	عصاره هیدروالکی مریم‌گلی	۲۵۰۰۰-۳۱۲۵	۸۲۴۶	۱۲۵۰۰	۱۲۵۰۰
	عصاره هیدروالکی علف‌چشمه	۲۵۰۰۰-۶۲۵۰	۲۰۳۰۰	۲۵۰۰۰	۲۵۰۰۰

بحث

در سال‌های اخیر افزایش قابل توجهی از شکست درمان در بیماران کاندیدیایی که به صورت طولانی از داروهای ضدقارچ استفاده می‌کردند، دیده شد که یکی از دلایل آن عود عفونت‌های فرصت طلب بوده است (۲۷)، لذا هدف از این مطالعه تعیین و تأثیر عصاره هیدروالکی گیاهان مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر روی ایزوله‌های مختلف کاندیدا در مقایسه با داروی فلوکونازول بود.

عفونت کاندیدیایی یک عفونت فرصت‌طلب با اشکال مختلف جلدی مخاطی تا سیستمیک و منتشره است، علاوه بر شرایط زمینه‌ای ایجاد شده در بیماران مستعد، فاکتورهای متعددی دیگر وابسته به کاندیدای مسبب بیماری در ایجاد بیماری نیز دخالت دارند که از جمله عوامل وابسته به کاندیدا تغییر مورفولوژیکی بین اشکال مخمر و هیف، چسبندگی و هجوم به سطح سلول، تشکیل بیوفیلم، تعویض فنوتیپی و ترشح

آنزیم‌های هیدرولیتیک شامل پروتئینازها و لیپازها به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی در کاندیدا آلبیکنس نقش دارند. بیماری به وسیله گونه‌های مختلف کاندیدا ایجاد می‌شود، ولی شایع‌ترین گونه مسبب بیماری کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. بعضی از اعضای این جنس دارای مقاومت ذاتی یا اکتسابی نسبت به داروهای ضدقارچی سیستمیک هستند. در بین داروهای آزولی، فلوکونازول دارویی با عوارض جانبی و سمیت کمتر و قابلیت جذب بهتر و همچنین قابل دسترس در ایران می‌باشد (۲۶ و ۹). استفاده گسترده و طولانی مدت از داروهای آزول باعث پیشرفت سریع مقاومت چند دارویی شده است که یک مسئله بزرگ در درمان ضدقارچی است. در سال‌های اخیر یک افزایش قابل توجه از شکست درمان در بیماران کاندیدیایی که به صورت طولانی مدت از داروهای ضد قارچ استفاده می‌کردند دیده شده که یکی از دلایل آن عود عفونت‌های فرصت‌طلب بوده است (۲۷).

در مطالعه حاضر، MIC₅₀ نمونه‌های کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس استاندارد و بالینی برای داروی فلوکونازول به ترتیب برابر؛ ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۱۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. همچنین، این مقدار برای علف‌چشمه برابر با ۲۵۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد مریم‌گلی نیز به ترتیب؛ ۲۵۰۰۰، ۱۲۵۰۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس بوده است.

بررسی‌های زیادی هم راستا با مطالعه حاضر برای مقایسه تأثیر فلوکونازول و عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی انجام شده است. سلیم پور و همکاران نیز خواص ضد میکروبی چهار گونه گیاه دارویی مریم‌گلی بر روی کلبسیلا، اشرشیاکلی، شیگلا، کاندیدا آلبیکنس و گونه‌های دیگر کاندیدا را بررسی کردند و نشان دادند که اسانس ۵ درصد گونه مریم‌گلی الیگفیل بر روی کاندیدا آلبیکنس بیشترین اثر مهارکنندگی را دارد. این در حالی است که در مطالعه حاضر عصاره مریم‌گلی دارای اثر بازدارندگی بر رشد ایزوله‌های کاندیدایی در مقادیر غلظتی بالا بوده است (۲۸). در مطالعه میررضایی و همکاران حداقل غلظت مهارتی اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار بر روی ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان ۲۱۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۸۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در فصل زمستان بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان ۲۰۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۰۷۰۰ میکروگرم بر

میلی‌لیتر گزارش شده است. علت این تفاوت می‌تواند ناشی از افزایش مقاومت دارویی در ایزوله‌های مورد بررسی، اکوسیستم گونه گیاهی مورد بررسی و تفاوت در ترکیبات اسانس و عصاره باشد (۲۹).

در مطالعه مدنی و همکاران حداقل غلظت مهارتی شیرابه تغلیظ شده ساقه، برگ و پیاز اسانس آلیوم جسدیانوم بر کاندیدا آلبیکنس ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت‌کشندگی ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. همچنین این محقق بیان کرده است که شیرابه تغلیظ شده آلیوم جسدیانوم دارای فعالیت ضد کاندیدایی بر علیه ایزوله کاندیدا آلبیکنس بوده در حالی که فاقد فعالیت ضد کاندیدایی بر علیه کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس می‌باشد. در بررسی حاضر حداقل غلظت مهارتی مریم‌گلی و علف‌چشمه برای کاندیدا آلبیکنس ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کاندیدا گلابراتا به ترتیب ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. در مقایسه با مطالعه مدنی و همکاران در این مطالعه مقادیر MIC بالاتر بوده است، اما این مطالعه مانند مطالعه حاضر عصاره‌ها بر روی کاندیدا گلابراتا اثری نداشته‌اند (۲۰).

در مطالعه بروجنی و همکاران حداقل غلظت مهارتی مریم‌گلی ۲۴/۰۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کلوتریمازول ۶۵/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر علیه کاندیدا آلبیکنس گزارش شده است. همچنین، این مقدار در سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس غلظت ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است. از این رو این محقق

نشان داده است که عصاره مریم‌گلی رشد کاندیدا/آلبیکنس را مهار می‌نماید و ممکن است در درمان واژینیت ناشی از این قارچ مؤثر باشد. در مطالعه حاضر نوع داروی ضد قارچ فلوکونازول بوده است که با حداقل غلظت مهاری ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رشد کاندیدا/آلبیکنس را مهار نموده که با مطالعه بروجنی و همکاران مغایرت دارد (۳۰).

مطالعه فتاحی‌نیا و همکاران به بررسی اثرات عصاره زنجبیل بر تغییرات بافتی در موش‌های مبتلا به کاندیدیازیس احشایی پرداخته است. عصاره زنجبیل با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (۱۰۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به خوبی توانست باعث کاهش بار میکروبی کلیه‌ها، کبد و صفاق و افزایش شمارش ماکروفاژهای صفافی در مقایسه با گروه کنترل مثبت (فلوکونازول) شود. نتایج بیانگر آن بود که عصاره زنجبیل به خوبی می‌تواند به عنوان یک عامل ضدقارچی مؤثر با کارایی خوب در برابر کاندیدیازیس منتشر عمل کند. در مطالعه حاضر بیان شد که حداقل غلظت مهاری مریم‌گلی و علف چشمه بر روی کاندیدا آلبیکنس ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است، در حالی که در این مطالعه حداقل غلظت مهاری ۱۰۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که نسبت به مطالعه حاضر بیشتر است یعنی عصاره زنجبیل با غلظت بیشتری توانسته رشد کاندیدا را مهار کند (۲۷).

در مطالعه دیگر، میررضایی و همکاران که به بررسی اثرات ضد قارچی گیاه سداب (*Rue*) بر کاندیدا

آلبیکنس‌های جدا شده از بیماران مبتلا به واژینیت در شرایط برون‌تنی و مقایسه با دو آنتی‌بیوتیک طی دو فصل بهار و زمستان پرداخته است، حداقل غلظت مهاری اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان ۲۱۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۸۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در فصل زمستان بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان ۲۰۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۲۰۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است که طبق نتایج حاصل از این مطالعه اسانس گیاه سداب بر رشد کاندیدا آلبیکنس اثر مهار کننده دارد. در این مطالعه از ۱۴۰ نمونه کاندیدا آلبیکنس جدا شده از واژینیت استفاده شده است. در مطالعه حاضر حداقل غلظت مهاری مریم‌گلی و علف چشمه بر روی گونه کاندیدا آلبیکنس ۲۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شده است که نسبت به این مقاله غلظت بیشتری استفاده شده است که می‌تواند به علت افزایش مقاومت گونه کاندیدا آلبیکنس باشد و همچنین در مقاله میررضایی و همکاران از تعداد نمونه بیشتری نسبت به مقاله حاضر استفاده شده است (۲۹).

عطایی و همکاران نیز در یک بررسی رقت ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره مریم‌گلی را دارای اثر مهارکنندگی رشد ایزوله‌ی کاندیدا آلبیکنس استاندارد عنوان کرده‌اند؛ هر چند که رقت ۱/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای فعالیت قارچ‌کشی بوده است (۳۱). از آن جا که قارچ مورد مطالعه در مطالعه

عطایی تنها محدود به یک ایزوله استاندارد کاندیدا آلبيکنس است، لذا دلیل تفاوت در نتایج را می‌توان در منشا و تعداد ایزوله‌های مورد بررسی دانست.

در بررسی نیکان و خاوری غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان بهترین غلظت عصاره علف چشمه در بازدارندگی رشد فوزاریوم سولانی عنوان شده است (۳۲). این در حالی است که دامنه غلظت‌های ۲۵۰۰۰-۲۰۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مطالعه حاضر قادر به مهار رشد ایزوله‌های کاندیدایی بوده است. از آن جایی که ایزوله‌های مورد مطالعه در بررسی حاضر از ایزوله‌های بالینی هستند، لذا یکی از دلایل تفاوت در نتایج میان بررسی حاضر و مطالعه نیکان این مطلب می‌تواند باشد. از آن جا که مطالعه‌ای هم راستا با مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر ضدکاندیدایی گیاه علف چشمه تاکنون انجام نشده است، لذا مقایسه نتایج به دست آمده دارای محدودیت است. پیشنهاد می‌شود با توجه به عدم تأثیر مطلوب مهارکنندگی عصاره مریم‌گلی و علف چشمه بر گونه‌های کاندیدا، انجام پژوهش‌های بیشتر برای سایر اشکال دارویی بر پایه این دو گیاه انجام شود.

نتیجه‌گیری

در مقایسه با فلوکونازول عصاره‌های هیدرولکی مریم‌گلی و علف چشمه تأثیر بسیار کمتری بر روی ایزوله‌های بالینی و استاندارد کاندیدا داشتند. گونه شایع مسبب کاندیدیازیس، کاندیدا آلبيکنس می‌باشد که با توجه به نتایج این مطالعه عصاره‌های

هیدرولکی مریم‌گلی و علف چشمه در شرایط آزمایشگاهی دارای اثرات نسبتاً کمی می‌باشد و استفاده از عصاره این گیاه جهت درمان کاندیدیازیس توصیه نمی‌شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهت همکاری در انجام طرح تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در این پژوهش وجود ندارد

حمایت مالی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به انجام رسیده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکترای عمومی رشته پزشکی از دانشگاه یاسوج با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1398.106 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان این مقاله در تمامی مراحل همکاری و مشارکت داشته‌اند.

REFERENCES

1. Gharaghani M, Ashrafzade Z, Razmjoue D, Sadeghi Mansourkhani H, Salahi M, Yousefi Mehryan H, et al. Comparison of the antifungal and antibacterial activity of ballota aucheri essential oil and fluconazole. *Journal of Clinical Care and Skills* 2023; 4(1): 27-31.
2. Gharaghani M, Taghipour S, Halvaezadeh M, Mahmoudabadi AZ. Candiduria; a review article with specific data from Iran. *Turkish Journal of Urology* 2018; 44(6): 445.
3. Macias-Paz IU, Pérez-Hernández S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra-Cárdenas JE, Reyna-Beltrán E. Candida albicans the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Revista Argentina de Microbiología* 2023; 55(2): 189-98.
4. Mayer FL, Wilson D, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence* 2013; 4(2): 119-28.
5. Rekha S, Vidyasagar G. Anti-Candida activity of medicinal plants. A Review. *Int J Pharm Sci* 2013; 5: 9-16.
6. Patel M. Oral cavity and Candida albicans: Colonisation to the development of infection. *Pathogens* 2022; 11(3): 335.
7. Gharaghani M, Rezaei-Matehkolaei A, Shokoohi G, Taghavi J, Nouripour-Sisakht S. In vitro activity of seven antifungals against different clinical candida species. *Journal of Clinical Care and Skills* 2021; 2(4): 195-9.
8. Hashemi Karoui M. Occurrence rate determination of candidian denture stomatitis in patients of dentistry centers and survey susceptibility them to antifungal agents. *Journal of Applied Biology* 2017; 31(3): 143-54.
9. Deorukhkar SC, Saini S, Mathew S. Non-albicans Candida infection: an emerging threat. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases. Hindawi Publishing Corporation* 2014; 6(11): 15958.
10. Kaki R. Risk factors and mortality of the newly emerging Candida auris in a university hospital in Saudi Arabia. *Mycology* 2023; 14(3): 256-63.
11. Gharaghani M, Ghatee M, Aramesh S, Mousavizadeh A, Shokoohi G, Ansari S. Antifungal susceptibility profile and molecular epidemiology of recurrent vulvovaginal candidiasis in Yasuj, southwestern Iran. *Acta Microbiol* 2021; 66(2-3): 167-75.
12. Barantsevich N, Barantsevich E. Diagnosis and treatment of invasive candidiasis. *Antibiotics* 2022; 11(6): 718.
13. Clancy C, Nguyen MH. Non-culture diagnostics for invasive candidiasis: Promise and unintended consequences. *Journal of Fungi* 2018; 4(1): 27.
14. Rodrigues CF, Silva S, Henriques M. Candida glabrata: a review of its features and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2014; 33(5): 673-88.
15. Ravichandran S, Muthuraman S. Examining the anti-candidal activity of 10 selected Indian herbs and investigating the effect of Lawsonia inermis extract on germ tube formation, protease, phospholipase, and aspartate dehydrogenase enzyme activity in Candida albicans. *Indian Journal of Pharmacology* 2016; 48(1): 47.
16. Manik A, Bahl R. A review on oral candidal infection. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research* 2017; 5(3): 54.
17. Gill CI, Haldar S, Boyd LA, Bennett R, Whiteford J, Butler M, et al. Watercress supplementation in diet reduces lymphocyte DNA damage and alters blood antioxidant status in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007; 85(2): 504-10.
18. Engelen-Eigles G, Holden G, Cohen JD, Gardner G. The effect of temperature, photoperiod, and light quality on gluconasturtiin concentration in watercress (Nasturtium officinale R. Br.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54(2): 328-34.
19. Derhami SF, Rad MG, Mahmoudi R. Evaluation of Antibacterial Effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of Nasturtium Officinale on Some Pathogenic. *Medical Laboratory Journa* 2016; 10(6): 1.
20. Madani M, Khosravi A, Shirani M. Comparison of the effects of Allium jedsianum plant extracts on different strains of Candida *in vitro*. *Lahijan Journal of Biological Sciences* 2009; 3(1): 63-71.
21. Najarnezhad V, Abdolghafar O, Mirzakhani N, Reisi H. Assessment on therapeutic effects of water extract of garlic on experimental cutaneous candidiasis in goats. *Veterinary Researches & Biological Products* 2018; 124: 74-88.
22. Gharaghani M, Ahmadi B, Taheripour Sisakht M, Ilami O, Aramesh S, Mouhamadi F, et al. Identification of candida species isolated from vulvovaginal candidiasis patients by polymerase

- chain reaction-restriction fragment length polymorphism (pcr-rflp) in Yasuj southwestern Iran. Jundishapur Journal of Microbiology 2018; 11(8): :e65359.
- 23.Sabz G, Gharaghani M, Mirhendi H, Ahmadi B, Gatee MA, Sisakht MT, et al. Clinical and microbial epidemiology of otomycosis in the city of Yasuj, southwest Iran, revealing *Aspergillus tubingensis* as the dominant causative agent. Journal of Medical Microbiology 2019; 68(4): 585-90.
- 24.Doustimotlagh AH ,Kokhdan EP, Vakilpour H, Khalvati B, Barmak MJ, Sadeghi H, et al. Protective effect of *Nasturtium officinale* R. Br and quercetin against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. Molecular Biology Reports 2020; 47(7): 5001-12.
- 25.Clinical and Institute LS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of Yeasts. 3thed. CLSI document M27-A2 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008; 1-45.
- 26.Rençber S, Karavana SY, Yilmaz FF, Eraç B, Nenni M, Gurer-Orhan H ,et al. Formulation and evaluation of fluconazole loaded oral strips for local treatment of oral candidiasis. Journal of Drug Delivery Science and Technology 2019; 49: 615-21.
- 27.Fatahinia M, Ghamari A, Mansori E. Effect of Zingiber officinale extract on tissue changes in balb/c mice with systemic candidiasis. Jundishapur Scientific Medical Journal 2019; 18(2): 143-51.
- 28.Salimpour F, Mazoji A, Mazhar F, Barzin G. Comparison of the antibacterial properties of the essential oil of four types of the medicinal plant Maryam Galli (*Salvia*. L). J Research Med 2013; 37(4): 205-10.
- 29.Mirrezaee N, Mehrpour S. Effects of antifungal Rue on the candida albicans isolated from patients with vaginitis on in vitro during spring and winter seasons and comparison with two antibiotics. Yafte 2017; 19(2): 50-59.
- 30.Banaeian-borojeni S, Mobini G, Rafeian-kopaei M, Rasti-borujeni M, Sereshti M, Validi M. Comparative study of the laboratory effect of sage plant extract and clotrimazole on *Candida albicans* isolated from the vagina of women with candidal vaginitis. Yafteh Quaterly Research Journal 2014; 1(17): 95-103.
- 31.Ataei Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. Laboratory study of antifungal effect of wormwood, eucalyptus, onion, cinnamon, turmeric, *Salvia officinalis*, mint and always spring on candida albicans standard strain is not compared to mouthwash. Journal of Islamic Dental Association of Iran 2007; 19(2): 91-7.
- 32.Nikan J, Khavari H. In vitro anti-fungal activity of watercress (*Nasturtium officinale*) extract against *Fusarium solani*, the causal agent of potato dry rot. Journal of Herbal Drugs 2014; 5 (1): 19-24.

The Effect of Hydro-alcoholic Extracts of *Salvia Officinalis Labiatae* and *Nasturtium Officinale* on Different Clinical and Standard Candida Isolates of Candida in Comparison with Fluconazole Drug

Garghani M¹, Asfaram A¹, Roustae N², Ansari S³, Rahmani F⁴, Taheri H⁴, Saadat Nia AA¹, Nooripoor Sisakht S^{1*}

¹Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ²Department of Statistics and Epidemiology, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Department of Medical Mycology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ⁴Student Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 17 Nov 2023 Accepted: 03 Aug 2024

Abstract

Background & aim: Currently, due to the widespread use of antifungal drugs and the inability to treat candida patients with infection, the recurrence of the disease has increased in patients; therefore, this has caused researchers to use medicinal plants to treat fungal diseases. The aim of the present study was to investigate the effect of methanolic extract of *Nasturtium officinale* and *Salvia officinalis* on the clinical and standard isolates of *Candida* in comparison with the antifungal drug fluconazole.

Methods: In the present experimental study conducted in 2019 on 31 clinical and standard *Candida* isolates, including 11 *Candida albicans* isolates, 10 *Candida glabrata* isolates, and 10 *Candida parapsilosis* isolates isolated from candidal vaginitis, urinary tract infection, and otomycosis in Yasuj, Iran. Once collecting sage and spring grass, their hydroalcoholic extracts were prepared and used to determine fungal sensitivity by broth microdilution method. For this purpose, according to the standard yeast suspension dilutions along with each of the medicinal agents and plant extracts were added to the 96-well plates and incubated at 35°C. To conclude, the lowest concentration of growth inhibitor was calculated for each isolate. The collected data were analyzed using Excel software.

Results: In the present study, among the three drugs and extracts examined, the MIC₅₀ for hydroalcoholic extract of sage on three species of *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida parapsilosis*, respectively; 25,000, 12,500 and 12,500 µg/ml and MIC₅₀ for the methanol extract of spring grass on three species in the same way, 25,000 µg/ml and MIC₅₀ for fluconazole for three species; 0.25, 0.5 and 0.125 µg/ml were obtained respectively.

Conclusions: Compared to fluconazole, hydroalcoholic extracts of sage and spring grass had much less effect on clinical and standard *Candida* isolates. The common species that causes candidiasis is *Candida albicans*, and according to the results of the present study, the hydroalcoholic extracts of sage and spring grass have relatively little effects in laboratory conditions; therefore, the use of this plant extract for the treatment of candidiasis is not recommended.

Keywords: *Candida albicans*; Fluconazole; *Nasturtium officinale*; *Salvia officinalis* L.

*Corresponding author: Nooripoor Sisakht S, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Email: nooripoor8561@gmail.com

Please cite this article as follows: Garghani M, Asfaram A, Roustae N, Ansari S, Rahmani F, Taheri H, Saadat Nia AA, Nooripoor Sisakht S. The Effect of Hydro-alcoholic Extracts of *Salvia Officinalis Labiatae* and *Nasturtium Officinale* on Different Clinical and Standard *Candida* Isolates of *Candida* in Comparison with Fluconazole Drug. Armaghane-danesh 2024; 29(4): 512-523.

The scientific research journal Armaghane Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal