

Inhibitory Effect of Aquatic and Alcoholic Extracts of *Artemisia sieberi* on Growth of *Candida Albicans*: An In Vitro Study

Ali Azam Taheri¹, Issa GholampourAzizi¹, Masoud Hashemi¹, Leyla Farhadi^{2,3},
Karo Servatyari², Samaneh Rouhi^{2,3*}

¹Microbiology Department,
School of Nursing and
Midwifery, Islamic Azad
University Babol Branch,
Babol, Iran.

²Student Research
Committee, Kurdistan
University of Medical
Sciences, Sanandaj, Iran.

³Cellular and Molecular
Research Center, Research
Institute for Health
Development, Kurdistan
University of Medical
Sciences, Sanandaj, Iran.

*Corresponding Author:
Samaneh Rouhi;
Department of Microbiology,
Cellular & Molecular
Research Center, Kurdistan
University of Medical
Sciences, Sanandaj, Iran.

Email:
roohi.samaneh@yahoo.com

Received: 5 Aug, 2017

Accepted: 23 Oct, 2017

Abstract

Background and Objectives: *Candida albicans* (*C. albicans*) as an opportunistic pathogen, can cause cutaneous and mucosal infections. Antibiotic treatments for this fungus have multiple adverse effects and cause drug resistance. In this study, the inhibitory effect of *Artemisia sieberi* (*A. sieberi*), was investigated on growth of *Candida albicans*.

Methods: In this experimental study, aqueous and alcoholic extracts were prepared from *A. sieberi* using percolation method. Using disk diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC), were assessed to evaluate the antifungal effects of these extracts on *C. albicans in vitro*.

Results: *C. albicans*, was resistant to hydroalcoholic extracts in the disk diffusion method and grew around the disks containing the extracts. The MIC of aqueous, ethanolic, and methanolic extracts, were determined to be 6250, 3125, and 6250 µg/ml, respectively, and MFC of these three extracts, were determined 12500, 6250, and 12500 µg/ml, respectively. In the MIC and MFC method, ethanolic extracts had higher antifungal activity.

Conclusion: According to the results of this study, different extracts of *A. sieberi* affect *C. albicans* growth and prevent its growth. Thus, more examinations are needed to survey the composition of this plant and more extensive use in human domains.

Keywords: Aqueous and alcoholic extracts; *Artemisia*; *Candida albicans*; *In vitro* techniques.

تأثیر مهاری عصاره‌های آبی و الکلی گیاه درمنه دشتی بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس: یک مطالعه درون آزمایشگاهی

علی اعظم طاهری^۱، عیسی غلام‌پور عزیزی^۱، مسعود هاشمی^۱، لیلا فرهادی^۲، کارو ثروت‌یاری^۲، سمانه روحی^{۳*}

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدا آلبیکنس به‌عنوان یک بیماری‌زای فرصت‌طلب می‌تواند طیف گسترده‌ای از عفونت‌های جلدی و مخاطی را ایجاد کند. درمان‌های آنتی‌بیوتیکی برای این قارچ دارای اثرات جانبی متعددی بوده که مقاومت‌های دارویی را موجب می‌شوند. در این مطالعه اثر مهاری رشد درمنه دشتی بر رشد کاندیدا آلبیکنس بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از گیاه درمنه دشتی به روش پراکولاسیون، عصاره‌های آبی و الکلی تهیه گردید. روش انتشار از دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی قارچ جهت ارزیابی اثرات ضدقارچی این عصاره‌ها بر کاندیدا آلبیکنس در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: کاندیدا آلبیکنس در روش انتشار از دیسک، به عصاره‌های هیدروالکلی مقاوم بود و اطراف دیسک‌های حاوی عصاره‌ها رشد کرد. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۶۲۵۰، ۳۱۲۵ و ۶۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی این سه عصاره به ترتیب ۱۲۵۰۰، ۶۲۵۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت کشندگی، عصاره اتانولی اثر ضدقارچی بیشتری داشت.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه، عصاره‌های مختلف درمنه دشتی بر رشد کاندیدا آلبیکنس اثر داشته و از رشد آن جلوگیری می‌کنند؛ بنابراین، آزمایش‌های بیشتر جهت بررسی ترکیبات این گیاه و استفاده گسترده‌تر در حیطه‌های انسانی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: عصاره‌های آبی و الکلی؛ درمنه؛ کاندیدا آلبیکنس؛ تکنیک محیط آزمایشگاهی.

^۱گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، بابل، ایران.

^۲کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

^۳مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

سمانه روحی؛ گروه میکروبی‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
roohi.samaneh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Azam Taheri A, GholampourAzizi I, Hashemi M, Farhadi L, Servatyari K, Rouhi S. Inhibitory effect of aquatic and alcoholic extracts of *Artemisia sieberi* on growth of *Candida Albicans*: An in vitro study. Qom Univ Med Sci J 2018;12(6):39-47. [Full Text in Persian]

مقدمه

کاندیدا آلبیکانس (*Candida albicans*)، فلور عادی پوست و سطوح مخاطی انسان است و در صورت بروز نقص سیستم ایمنی میزبان، این قارچ می‌تواند به‌عنوان بیماریزای فرصت طلب عمل کرده و طیف گسترده‌ای از عفونت‌های جلدی، مخاطی و منتشره را ایجاد کند (۲،۱). از فراوان‌ترین داروهای مورد استفاده برای کاندیدیازیس سطحی می‌توان به پلین‌ها (نیستاتین و آزول‌ها) و میکونازول اشاره کرد. درمان‌های ضدقارچی معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده که مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدیایی را موجب می‌شوند (۴،۳). بررسی فرآورده‌های طبیعی فعال علیه گونه‌های کاندیدا به‌منظور درمان عفونت‌های ناشی از قارچ‌ها در ۱۰ سال اخیر با تحقیق بر روی گونه‌های گیاهی، به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. فرآورده‌های طبیعی مشتق شده از گیاهان ممکن است به‌صورت بالقوه منجر به پیدایش ترکیبات جدید شوند که می‌توانند قارچ‌ها را از بین ببرند (۶،۵). از جمله این گیاهان می‌توان گیاه درمنه دشتی با نام علمی *Artemisia sieberi* را نام برد. این گیاه، گیاهی چند ساله بوده که بیش از ۴۰۰ گونه آن در سطح جهان شناسایی شده است (۸،۷). زیستگاه اصلی این گیاه بوته‌ای، قاره آسیا است و از بین گونه‌های متعلق به جنس درمنه، گونه درمنه دشتی با دارا بودن بیشترین وسعت رویشگاهی در سطح مراتع استپی کشور از نظر تولید علوفه از اهمیت زیادی برخوردار است (۹-۱۱). در مطالعات مختلف، اثرات دارویی این گیاه ثابت شده است: Kalembe و همکاران (سال ۲۰۰۲) با بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه درمنه دشتی بر روی باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، کاندیدا آلبیکانس و اسپیریلیوس فومیگاتوس دریافتند این گیاه با توجه به داشتن ترکیباتی همچون الکل‌های منوتریان باعث مهار قابل توجه این میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۱۲). Ahmadvand و همکاران نیز با بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس روغنی گیاه درمنه کوهی، نشان دادند این گیاه منبع قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌توان از آن در فرآورده‌های غذایی، دارویی و صنعتی استفاده کرد (۱۳). همچنین در مطالعه Rostami و همکاران، عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی بر روی زخم‌های

حاصل از لیشمانیا ماژور در موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی می‌تواند بر روی کاهش اندازه زخم و شدت عفونت در ضایعه، تأثیر مطلوب بگذارد (۱۴)؛ بنابراین گیاه درمنه، از جمله گیاهان دارویی است که از آن می‌توان در مصارف دارویی استفاده کرد. در مطالعه حاضر اثر مهارى رشد درمنه دشتی در غلظت‌های متفاوت بر رشد کاندیدا آلبیکانس در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید.

روش بررسی

گیاه درمنه دشتی از شهرستان اراک (واقع در استان مرکزی) در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری و به‌طور کامل چند بار با آب تمیز شست‌وشو داده شد و بعد از حذف کامل آب، در طول مدت یک‌ماه در سایه به‌طور کامل خشک گردید، سپس از نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب برقی پودر تهیه شد. سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس (PTCC 5027)، از مرکز مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های بیماریزای سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. جهت تأیید مجدد مخمر کاندیدا، نمونه قارچی روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (مرک، آلمان) همراه با کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید کشت داده شد و در دمای ۳۴ درجه برای ۲۴ ساعت انکوبه گردید (در این محیط، رشد کلنی‌های موکونیدی، نشان‌دهنده رشد مخمرهای جنس کاندیدا می‌باشد (۱۵)). جهت تأیید کاندیدا آلبیکانس نیز از کلنی‌ها بر روی محیط Hicrome Candida Differential agar (مرک، آلمان) کشت داده شد. برای این عمل، در ابتدا سوسپانسیون مخمری در سرم فیزیولوژی تهیه و یک لوپ از آن بر روی محیط کشت داده شد و در دمای ۳۴ درجه در ۲۴ ساعت انکوبه گردید. تشکیل کلنی سبز مایل به آبی روشن، نشانه وجود کاندیدا آلبیکانس بود (۱۶). در مرحله بعد، برای تأیید میکروسکوپی کلنی مذکور، ابتدا یک قطره متیلن‌بلو را بر روی لام ریخته، سپس با آنس یک کلنی از کاندیدا آلبیکانس برداشته و روی لام پخش شد و در زیر میکروسکوپ از لحاظ مورفولوژی و شکل کاندیدا آلبیکانس بررسی گردید. کاندیدا آلبیکانس دارای میسلیم‌های حقیقی و کاذب، بلاستوسپور و کلأمیدوسپور می‌باشد (۱۷).

از روش انتشار در دیسک جهت ارزیابی اثر ضدقارچی درمنه دشتی بر *کاندیدا آلبیکس* استفاده شد. در این روش غلظت‌های ۶۰، ۵۰، ۴۰ و ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ها تهیه و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (با غلظت ۱/۲۵) به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکسید ۱۰۰٪ به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. در ابتدا از سوسپانسیون این قارچ بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار، کشت سفره‌ای داده شد، سپس ۱۵ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌های کنترل مثبت و منفی به‌وسیله سمپلر بر روی دیسک‌های خالی (پادتن طب، ساخت ایران) و محیط کشت قرار داده شدند (۲۰). جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)، ابتدا در ۱۱ لوله استریل، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت سابورو دکستروز برات (مرک، آلمان) ریخته شد و بعد از شماره‌گذاری آن‌ها از شماره ۱۱-۱، ۱ میلی‌لیتر از عصاره استوک اولیه رقیق‌شده با رقت ۱/۱۰ (غلظت عصاره در این حالت معادل ۰/۱ گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد)، به لوله شماره ۱ (حاوی محیط کشت سابورو دکستروز برات) ریخته شد (غلظت عصاره در این حالت معادل ۰/۰۵ گرم بر میلی‌لیتر یا ۵۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد). سپس از لوله شماره ۱، ۱ میلی‌لیتر ماده به لوله شماره ۲ و از لوله شماره ۲ به ۳ و به‌همین ترتیب تا لوله شماره ۹ ادامه یافت؛ بنابراین در هر بار غلظت عصاره به میزان نصف میزان اولیه خود کاهش یافت که به‌ترتیب لوله ۹-۱ شامل غلظت‌های ۱۹۵/۳۱، ۳۹۰/۶۲، ۷۸۱/۲۵، ۱۵۶۲/۵۰، ۳۱۲۵، ۶۲۵۰، ۱۲۵۰۰، ۲۵۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مرحله بعد، به تمام لوله‌ها مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی (در هر میلی‌لیتر، 1×10^6 CFU/ml قارچ) اضافه گردید. در این بخش از آزمایش با توجه به اینکه ارزیابی میزان مهارکنندگی رشد و کشندگی قارچ‌ها توسط عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف مورد نظر بود؛ لذا مقایسه با غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین صورت نگرفت. لوله شماره ۱۰ به‌عنوان کنترل مثبت (۱ میلی‌لیتر سابورو دکستروز برات + ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی) و لوله شماره ۱۱ به‌عنوان کنترل منفی (یک میلی‌لیتر سابورو دکستروز برات) در نظر گرفته شدند. بعد از انکوباسیون (به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۳۴ درجه)، وجود کدورت (قارچ در لوله مورد نظر رشد کرده و تأثیر عصاره

جهت تهیه عصاره‌های گیاهی از پودرهای تهیه‌شده از گیاه، هریک به‌طور جداگانه به روش پرکولاسیون با استفاده از آب‌مقطر، اتانول ۹۶٪ و متانول ۹۶٪ تهیه و در مرحله بعد حلال حذف، سپس خشک گردید. جهت تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتیگراد به ۳۰ گرم از پودر خشک گیاه اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در بن‌ماری با دمای ۴۵-۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت، پس از گذشت ۲۴ ساعت، مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف شده و جهت از بین بردن آب اضافی، با استفاده از هود آب آن کاملاً خشک گردید، سپس عصاره آبی خشک تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد. در ادامه، عصاره متانولی و اتانولی به روش پرکولاسیون تهیه گردید. در این مرحله دو ارلن به‌طور جداگانه به کار برده شد که در یکی از ارلن‌ها ۳۰۰ گرم از پودر گیاه خشک در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶٪ و در ارلن بعدی ۳۰۰ گرم از پودر گیاه خشک در ۱۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ ریخته شد، سپس دهانه آن‌ها را با ورقه آلومینیوم بسته و به مدت ۲ ساعت کاملاً هم زده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. روز بعد حلال حاوی عصاره با استفاده از کاغذ صافی از مخلوط جدا و مجدداً به آن حلال اضافه شد. این عمل تا ۵ روز انجام و پس از صاف شدن به دستگاه تقطیر در خلأ منتقل گردید تا تقطیر شود. پس از اینکه عصاره غلیظ شد، زیر هود قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. عصاره خشک تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

جهت رقیق‌سازی عصاره‌ها، مقدار ۱ گرم از انواع عصاره‌هایی که قبلاً تهیه شده بود را جداگانه و دقیق برداشته و داخل یک لوله آزمایش استریل ریخته شد، سپس ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید ۱۰٪ (Dimethyl sulfoxide, DMSO) (مرک، آلمان) به آن اضافه و مخلوط شد (غلظت ۱ گرم بر میلی‌لیتر). این مخلوط در مرحله بعد به‌وسیله سرنگ میلی‌پور با فیلتر به قطر ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد. کلنی‌های تازه *کاندیدا آلبیکس* در ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین رقیق شده، سپس به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس شدند. بعد از این مرحله، سوسپانسیون این قارچ به اندازه $1/5 \times 10^6$ CFU/ml براساس استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم گردید (۱۹، ۱۸).

یافته‌ها

در این مطالعه، در روش انتشار در دیسک، اطراف دیسک‌های تلقیح‌شده با عصاره‌های آبی و الکلی درمنه دشتی در تمامی غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، رشد کاندیدا آلبیکنس مشاهده گردید (شکل شماره ۱). همچنین رشد قارچ در اطراف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، به‌عنوان کنترل مثبت مهار شد که در اطراف دی‌متیل سولفوکساید، به‌عنوان کنترل منفی قابل‌رؤیت بود (شکل شماره ۲). کاندیدا آلبیکنس به عصاره‌های اتانولی درمنه دشتی در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ، حساسیت بیشتری داشت. حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد عصاره اتانولی، ۳۱۲۵ و حداقل غلظت کشندگی قارچ آن ۶۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول و شکل شماره ۳).

بر روی مهار رشد قارچ کم بوده است). یا عدم وجود کدورت (قارچ در لوله مورد نظر رشد نکرده و تأثیر عصاره بر روی مهار رشد قارچ بیشتر بوده است). در لوله‌ها مشاهده و براساس آن کمترین غلظت مهارکنندگی تعیین گردید. یک لوله قبل از اولین لوله‌ای که وجود کدورت در آن به‌طور چشمی قابل‌رؤیت بود، به‌عنوان کمترین غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (Minimum Fungicidal Concentrations, MFC)، مقدار ۱۰ میکرولیتر (واجد 1×10^5 CFU/ml قارچ) از لوله شامل کمترین غلظت مهارکنندگی و سایر لوله‌های فاقد کدورت را برداشته و در محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۴ درجه، رشد یا عدم رشد در محیط کشت مشاهده و براساس آن کمترین غلظت کشندگی تعیین گردید. یک پلیت قبل از اولین پلیتی که باکتری در آن رشد کرده و به‌طور چشمی قابل‌رؤیت بود، به‌عنوان کمترین غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۲۱-۱۸).

جدول: حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی قارچ عصاره‌های درمنه دشتی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

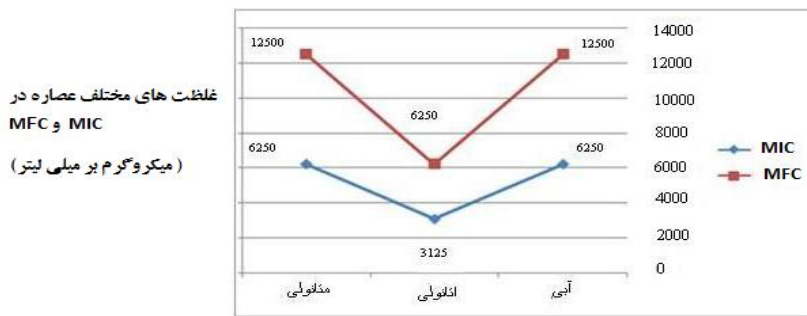
نوع عصاره	MIC	MFC
آبی	۶۲۵۰	۱۲۵۰۰
اتانولی	۳۱۲۵	۶۲۵۰
متانولی	۶۲۵۰	۱۲۵۰۰



شکل شماره ۱: نتایج روش انتشار در اطراف دیسک‌های تلقیح‌شده با عصاره‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درمنه دشتی.



شکل شماره ۲: نتایج روش انتشار در اطراف دیسک‌های تلقیح شده با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، (به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفو کساید (DMSO)، به‌عنوان کنترل منفی).



عصاره‌هاى درمنه دشتی

شکل شماره ۳: حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) عصاره‌های آبی و الکی درمنه دشتی بر کاندیدا آلیکنس (میکروگرم بر میلی لیتر).

بحث

در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعه Lopes-Lutz، درمنه دشتی بر کاندیدا آلیکنس اثر ضد رشد داشت. تحقیقات نشان داده‌اند ترکیبات شیمیایی در گیاهان، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارند و محل اثر این ترکیبات غشای سلولی بوده که با از بین بردن و تخریب غشا سبب مرگ میکروارگانیسم می‌شوند (۱۸). از طرفی، نوع و میزان این ترکیبات فیتوشیمیایی در عصاره‌های جنس‌های یک گونه گیاه ممکن است مشابه و یا متفاوت باشد و روی انواع میکروارگانیسم‌ها نیز اثرات متفاوتی بگذارد (۱۸، ۲۰).

حواسیان و همکاران با بررسی اثر مهارى عصاره هیدروالکی گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر روی کاندیدا آلیکنس در شرایط آزمایشگاهی به روش انتشار از دیسک (در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان دادند عصاره الکی این گیاه بر کاندیدا آلیکنس اثری ندارد، اما عصاره آب دارای اثر بسیار ضعیف ضد رشد می‌باشد (۲۲).

با توجه به افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی، توجه محققان به سمت داروهای گیاهی به دلیل تأثیرگذاری بهتر و داشتن عوارض جانبی کمتر، افزایش یافته است (۲۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی دارای اثر بازدارندگی رشد و کشندگی کاندیدا آلیکنس می‌باشند. در مطالعه‌ای که Lopes-Lutz و همکاران به روش انتشار در آگار انجام دادند، خاصیت ضد میکروبی هفت گونه از گیاه درمنه علیه میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، کاندیدا آلیکنس، کریپتوکوکوس نئوفورمانس و آسپرژیلوس نایجر نشان داده شد، همچنین استخراج مواد مؤثره از اندام‌های هوایی گیاه مذکور نشان داد بیشترین ترکیبات استخراج شده از این گیاه مربوط به ۸ و ۱- سینول و کامفور می‌باشد (۱۰).

درمنه دشتی به ترتیب ۶۲۵۰، ۳۱۲۵ و ۶۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی آن‌ها به ترتیب ۱۲۵۰، ۶۲۵۰ و ۱۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاندیدا آلیکنس تعیین شد که نسبت به مطالعه نصیری‌پور و هدایتی‌راد در غلظت‌های کمتر، اثرات بازدارندگی و ضد رشد داشت (۲۵، ۲۴). بعضی از میکروارگانیسم‌ها نسبت به میکروارگانیسم‌های دیگر دارای حساسیت بیشتری نسبت به عصاره‌های مختلف گیاهی می‌باشند و این تفاوت به دیواره سلولی میکروارگانیسم بستگی دارد که به چه میزان این مواد را از خود عبور دهند؛ به‌طور مثال لیپوبلی‌ساکاریدهایی که در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی وجود دارند مانع از رسیدن ترکیب‌های فعال به غشای سیتوپلاسمی باکتری‌های گرم منفی شده و آن‌ها را در مقابل مواد ضد میکروبی مقاوم می‌کنند (۲۶، ۲۴). از طرفی، نوع عصاره انتخاب‌شده، گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها، همچنین تعداد و محل گروه‌های هیدروکسیل در فنل موجود در گونه‌های مختلف گیاهان متفاوت است که روی قدرت میکروب‌کشی اثر داشته و به‌نوبه خود می‌تواند یکی از دلایل اختلاف نتایج در مطالعات مختلف باشد (۱۹، ۱۸). نتایج مطالعه حاضر اثر عصاره هیدروالکلی درمنه دشتی را روی مهار و کشندگی قارچ کاندیدا آلیکنس نشان داد؛ لذا این امکان وجود دارد که عصاره‌های مذکور حاوی ترکیبات ضدقارچی بوده و قدرت مهار و کشندگی این قارچ را دارا باشند. بنابراین با توجه به این مسئله، تحقیقات گسترده‌تر در زمینه جداسازی، شناسایی مواد ضدقارچی و استفاده از عصاره‌های هیدروالکلی درمنه دشتی در درمان‌های تجربی کاندیدا آلیکنس ضروری است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد در روش انتشار از دیسک، عصاره‌های الکلی و آبی درمنه دشتی اثر ضدقارچی ندارند، اما در روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و کشندگی، دارای اثر ضدقارچی بر کاندیدا آلیکنس در شرایط آزمایشگاهی هستند. با توجه به این نتایج در آینده باید تحقیقات بیشتری بر روی این گیاه در شرایط *in-vitro* و در پی آن در شرایط *in-vivo* در مدل‌های حیوانی و در مطالعات گسترده روی انسان انجام گیرد.

در مطالعه حاضر با انجام روش انتشار در دیسک (در غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، اثر ضدقارچی علیه کاندیدا آلیکنس توسط هیچ‌کدام از عصاره‌ها مشاهده نشد، اما در روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی قارچ، اثر ضدقارچی مشاهده گردید. با توجه به اینکه روش‌های مختلفی جهت کاربرد عصاره‌های گیاهی و سنجش اثرات ضد میکروبی آن‌ها وجود دارد، ممکن است روش‌های مختلف کاربرد فرآورده‌های گیاهی به‌نوبه خود علت اختلاف در نتایج باشد (۲۳). همچنین مطالعات نشان داده است اثرات ضد رشد عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های بالاتر و زمان بیشتر، اثردهی عصاره بر روی میکروارگانیسم‌ها را بیشتر می‌کند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت ممکن است با افزایش غلظت‌های بالاتر بجای غلظت‌های مذکور، اثر ضد رشد مشاهده گردد (۱۸). در مطالعه نصیری‌پور و همکاران در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا با منشأ غذایی، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصاره آبی درمنه کوهی و دشتی علیه *اشرشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیژنر* یکسان و به ترتیب ۱۶۰، ۸۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی درمنه کوهی بر این سه باکتری به ترتیب ۱۶۰، ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. همچنین حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی درمنه دشتی نیز علیه *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسیژنر*، ۳۲۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، اما بر *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر کشندگی نداشت (۲۴). هدایتی‌راد و همکاران خاصیت ضد میکروبی فیلم تهیه‌شده از پولولان حاوی اسانس درمنه دشتی را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را در برابر خاصیت ضد میکروبی اسانس درمنه دشتی نشان دادند و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد اسانس درمنه دشتی بر علیه باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتوروم*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* به ترتیب در غلظت‌های ۱۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (۲۵). در تحقیق حاضر حداقل غلظت بازدارندگی از رشد توسط عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین دانشگاه و کارشناسان محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، همچنین از دانشجویان کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر می‌گردد.

همچنین استخراج ترکیبات ضد میکروبی این گیاه جهت آزمایش‌های گسترده‌تر مفید است؛ لذا با توجه به این نتایج، امید است در آینده از گیاه درمنه دشتی بتوان جهت درمان بیماری‌های قارچی به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی استفاده کرد.

References:

- Huang YC, Lin TY, Lien RI, Chou YH, Kuo CY, Yang PH, et al. Candidaemia in special care nurseries: Comparison of albicans and parapsilosis infection. *J Infect* 2000;40(2):171-5. PubMed
- Runyoro DK, Ngassapa OD, Matee MI, Joseph CC, Moshi MJ. Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of Candida infections. *J Ethnopharmacol* 2006;106(2):158-65. PubMed
- Johann S, Silva DL, Martins CV, Zani CL, Pizzolatti MG, Resende MA. Inhibitory effect of extracts from Brazilian medicinal plants on the adhesion of Candida albicans to buccal epithelial cells. *World J Microbiol Biotechnol* 2008;24(11):2459-64. Springer
- Hoepelman IM, Dupont B. Oral candidiasis: The clinical challenge of resistance and management. *Int J Antimicrob Agents* 1996;6(3):155-9. PubMed
- Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Valentin E, Bakhrouf A. Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral Candida strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29(1):81-8. PubMed
- Gadea I, Cuenca M, Gegundez MI, Zapardiel J, Valero ML, Soriano F. Effect of pH and buffer system on the in-vitro activity of five antifungals against yeasts. *J Antimicrob Chemother* 1997;39(4):453-9. PubMed
- Pina-Vaz C, Gonçalves Rodrigues A, Pinto E, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, et al. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18(1):73-8. PubMed
- Zarnivand H, Jafari M, Moghaddam MR, Jalili A, Zare Chahouki MA. The effects of soil characteristics and elevation on distribution of two Artemisia species (case study: Vard Avard, Garmsar and Semnan rangelands). *Iranian J Nat Resour* 2003;56(1-2):93-100. Sid
- Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J Antimicrob Chemother* 2001;47(5):565-73. PubMed
- Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry* 2008;69(8):1732-8. PubMed
- Torbati nejad NM, Gharebash AM, Sattarian A. Determination and comparison of feeding value of artemisia aucheri and artemisia siberi in sheep. *J Agr Sci Nat Resour* 2003;10(2):171-9. [Full Text in Persian] Link
- Kalembe D, Kusewicz D, Świąder K. Antimicrobial properties of the essential oil of Artemisia asiatica Nakai. *Phytother Res* 2002;16(3):288-91. PubMed
- Ahmadvand H, Amiri H, Dalvand H, Bagheri SH. Various antioxidant properties of essential oil and hydroalcoholic extract of Artemisa persica: Short Communication. *J Birjand Univ Med Sci* 2014;20(4):416-24. Link

14. Rostami M, Nahrevanian H, Farahmand M, Ziaei H, Sharif M, Maghsoudlourad FS. Evaluation of anti-leishmanial efficacy by extract of *Artemisia Auchery* Bioss. on *Leishmania Major* in balb/c. *J Herbal drugs* 2012;2(4):269-74. [Full Text in Persian] [Link](#)
15. Sohrabi H, Sarookhani MR, Ezani A. Identification of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis by comparison of an innovative molecular method with culture in 2013. *Arak Univ Med J* 2013;16(8):48-56. [Full Text in Persian] [Link](#)
16. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida* a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1994;32(8):1923-9. PubMed
17. Afsarian MH, Zaini F, Kordbacheh P, Mahmoudi M, Rezaii S, Safara M. Identification and study of non-albicans *Candida* species which isolated from clinical materials of patients with candidiasis. *Tehran Univ Med J* 2007;64(12):38-47. [Full Text in Persian] [Link](#)
18. Gholampourazizi I, Rouhi S, Zandi S, Kashefi H, Hassanzadeh Miandasteh S. Antifungal effect of melia azedarach alcoholic and aquatic extract on *Malassezia furfur*. *Novin Health J* 2017;1(2):7-11. [Full Text in Persian] [Link](#)
19. Gholampour-Azizi I, Rouhi S, Yahyayi F. In vitro antifungal activity of *Cucumis melo* on *Candida albicans*. *Zahedan J Res Med Sci* 2015;17(7):e1019. [Link](#)
20. Eesa Gholampourazizi, Samaneh Rouhi, Bijan Nouri, Shaban Hassanzadeh Miandasteh. In vitro study of antifungal effect of walnut (*Juglans regia* L.) leaf extract on the *Malassezia furfur* fungus. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2015;20(1):30-9. [Full Text in Persian] [Link](#)
21. Yousefi MR, Abuhosseini Tabari M, Sadeghi Hashjin G, Kouhi MK. Antiparasitic efficacy of worm wood (*Artemisia absinthium*) alcoholic extract on *Syphacia obvolata*. *Iran J Vet Med* 2012;6(1):47-50. [Full Text in Persian] [Link](#)
22. Havasian MR, 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 J* 2013;36(5):19-23. [Link](#)
23. Golshani Z, Dawoodi V. In vitro study of antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* leaf extract against some pathogens. *Arak Med Univ J* 2013;16(8):82-9. [Full Text in Persian] [Link](#)
24. Nasirpour M, Yavarmanesh M, Mohhamadi Sani A, Mohamdzade Moghadam M. Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria. *Iranian J Food Sci Tech* 2014;12(46):73-84. [Link](#)
25. Hedayati rad F, Sharifan A, Khodayian Chegini F, Hosini E. Antimicrobial activity of Pullulan film incorporated with *Artemisia sieberi* essential oil. *J Fasa Univ Med Sci* 2013;3(2):130-5. [Full Text in Persian] [Link](#)
26. Sabzali S, Bakhtiyari S, Rostamzad A, Zamanian Azodi M. Comparison of antibacterial effect of *Thymbra spicata*'s essential oils with common therapeutic antibiotics. *Res Med* 2013;36(5):1-6. [Full Text in Persian] [Link](#)