

The comparison of the in-vitro effects of *Scrophularia deserti* plant and amphotricin B on *Candida albicans*

Bahmani M(Vet)¹, Ghorbani M(MSc)², Momtaz H(PhD)³, Bahmani E(MSc)⁴, Rafieian M(PhD)^{5*}

1- Member of Young Researchers Club of Shahrekurd, Shahrekurd, Iran

2- Department of Health and Social Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Golestan, Iran

3- Department of Microbiology, Islamic Azad University of Shahrekurd, Shahrekurd, Iran

4- Department of Agriculture, Islamic Azad University of Dezfoul, Dezfoul, Iran

5- Medicinal Plants Research Center, Shahrekurd University of Medical Sciences, Rahmatie, Shahrekurd, Iran

Received 18 March 2010 Accepted 22 Apr 2010

Abstract

Background: *Candida* species are among the most important factors in development of fungal infection in human beings and animals. Noticing the daily increase of drug resistance, attempts should be made for providing anti-fungal and anti-microbial drugs. Hence, this study was conducted to investigate the in-vitro effects of *Scrophularia deserti* ethanolic extract and amphotricin B on *Candida albicans*.

Materials and Methods: In an experimental trial, anti-*Candida* effects of *Scrophularia deserti* ethanolic extract and amphotricin B on *Candida albicans* were evaluated using serial dilution method. Data analysis was done using SPSS, through paired and independent t-tests.

Results: Minimum inhibition capacity (MIC) of *Scrophularia deserti* extract on *Candida albicans* in the first and second trials were OD₆₀₀=1.56(59%) and OD₆₀₀=1.68(59%), respectively, whereas this value for amphotricin B was 59%. The difference between minimum growth inhibition capacity of *Scrophularia deserti* and amphotricin B was not significant.

Conclusion: The findings of this study indicated that ethanolic extract of *Scrophularia deserti* has anti-fungal properties comparable to amphotricin B.

Keywords: Amphotricin B, Anti-fungal agents, *Candida albicans*, *Scrophularia deserti*

*Corresponding author:

Address: Medicinal Plants Research Center, Shahrekurd University of Medical Sciences, Rahmatie, Shahrekurd, Iran

Email: rafieian@yahoo.com

مقایسه اثر گیاه گل میمونی بیابانی (*Scrophularia deserti*) با آمفوتریسین B بر روی کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی

محمود بهمنی¹، مصطفی قربانی²، حسن ممتاز³، احسان بهمنی⁴، محمود رفیعیان^{5*}

- 1- دانش آموخته دکترای دامپزشکی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
- 2- مربی، کارشناس ارشد، گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران
- 3- استادیار، دکترای میکروبیولوژی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
- 4- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، دزفول، ایران
- 5- استاد، دکترای فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت 88/12/27، تاریخ پذیرش 89/2/1

چکیده

زمینه و هدف: گونه های کاندیدا از مهم ترین عوامل عفونت های قارچی در انسان و حیوان می باشند. با افزایش روز افزون مقاومت دارویی، تلاش برای تهیه داروهای ضد قارچی یا ضد میکروبی ضرورت دارد. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر بخشی عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی در مقایسه با آمفوتریسین B بر روی مخمر کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاه صورت پذیرفت.

مواد و روش ها: در یک مطالعه آزمایشگاهی تجربی، اثرات ضد کاندیدیایی عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی و آنتی بیوتیک آمفوتریسین B با استفاده از روش رقت سازی در محیط مایع (رقت سازی در لوله) تعیین گردید. آنالیز داده ها در نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون های تی زوجی و تی مستقل بررسی گردید.

یافته ها: حداقل غلظت مهاري (MIC) عصاره گل میمونی بیابانی بر کاندیدا آلبیکنس برابر 1/56 در OD600 در تکرار اول بود که برابر با 59 درصد می باشد. MIC عصاره اتانولی گل میمونی برای OD600 برابر 1/68 معادل با 58 درصد در تکرار دوم به دست آمد و برای آمفوتریسین B برابر با 59 درصد بود و بین حداقل غلظت ممانعت از رشد سری های مختلف گل میمونی و آمفوتریسین اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی نیز اثرات ضدقارچی نزدیک و مشابه به آمفوتریسین B دارد.

واژگان کلیدی: آمفوتریسین B، داروهای ضد قارچ، کاندیدا آلبیکنس، گیاه گل میمونی بیابانی

*نویسنده مسئول: شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

Email: rafieian@yahoo.com

مقدمه

شدند. یکی از گیاهان دارویی بومی ایران گل میمونی بیابانی است. گل میمونی بیابانی گیاهی دوساله یا چند ساله به ارتفاع 10 تا 50 سانتی متر، ساقه‌های غیر واضح چهار گوشه، برگ‌های ضخیم، سخت و شکننده و کم و بیش سبز کلمی است (14، 15). بررسی‌های قبلی نشان داده است گونه‌های مختلف این گونه گیاهی دارای اثرات ضد میکروبی (ضد قارچی و ضد باکتری) می‌باشد (6، 16). از آنجایی که در استان ایلام از جوشانده گیاه گل میمونی بیابانی برای درمان عفونت‌های دستگاه ژنیتال استفاده می‌شود، در این مطالعه ما بر آن شدیم تا اثر عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی را در مقایسه با آمفوتریسین B بر روی مخمر کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مداخله‌ای از نوع آزمایشگاهی تجربی می‌باشد. از اندام‌های هوایی گیاه (ساقه، برگ، گل) گل میمونی بیابانی که در فصل پائیز (مهر و آبان) از مناطق جنوبی استان ایلام جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان ایلام تأیید گونه گردید، استفاده شد. نمونه هر بایومی گیاه تهیه و نگهداری شد. گیاه در آون خشک گردید و از گیاه خشک، برای تهیه عصاره اتانولی استفاده شد. برای تهیه عصاره، 100 گرم از اندام هوایی گیاه گل میمونی بیابانی توسط دستگاه میکسر (Molinox®, Italy) پودر گردید. سپس به 100 گرم از پودر گیاه گل میمونی 250 میلی‌لیتر اتانول 96 درجه اضافه و پس از 48 ساعت صاف و این عمل دو مرتبه تکرار گردید. در طول این مدت برای چند مرتبه ظرف حاوی پودر و الکل روی شیکر تکان داده شد. سپس توسط سیستم تقطیر در خلاء (Zirbus302®, Germany) الکل از سوسپانسیون جدا و عصاره تغلیظ گردید. عصاره توسط فیلترهای واتمن 0/2 میکرون استریل و برای انجام آزمایش‌های میکروبیولوژی آماده گردید.

جهت انجام مطالعه مداخله‌ای فوق از سوش بومی کاندیدا آلبیکنس استفاده گردید. این سوش از زنان مبتلا به واژینیت عود کننده مراجعه کننده به بیمارستان هاجر

گونه‌های کاندیدا مهم‌ترین عوامل عفونت‌های قارچی در انسان و حیوان هستند. این عفونت‌های در افرادی که واجد فاکتورهای زمینه‌ای از قبیل سرطان و لوسمی، دیابت ملیتوس، درمان‌های طولانی مدت با آنتی بیوتیک‌ها و کورتیکواستروئیدها، ایدز و بارداری، سوختگی و دریافت پیوند هستند، رایج‌تر است. طیف این عفونت‌های از کلونیزاسیون مخاطی تا عفونت‌های مهاجم و کشنده متغیر است. از میان اشکال بالینی مختلف عفونت‌های کاندیدیایی، کاندیدایازیس جلدی و مخاطی از شیوع بالاتری برخوردارند. کاندیدایازیس واژینال و برفک دهان در بین اشکال مخاطی شایع‌تر است (1). واژینیت یک بیماری ناحیه ژنیتال می‌باشد که هر ساله بیش از ده میلیون از مراجعات پزشکی را به خود اختصاص می‌دهد. شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده واژینیت‌ها، باکتری‌ها بوده و کاندیدا آلبیکنس به عنوان دومین عامل ایجاد کننده این عفونت محسوب می‌شود. همچنین شایع‌ترین مخمر جدا شده از واژن شامل کاندیدا آلبیکنس (85 تا 90 درصد) می‌باشد و در زنان با علائمی نظیر تورم، قرمزی، سوزش و خارش لب‌های مهبل و ترشحات شیری و سفید رنگ بروز می‌کند (4-2). مخمر کاندیدا آلبیکنس در بیماران ایمنوساپرس (مثل افراد مبتلا به ایدز و سرطان‌های مختلف) گاهاً با سپتی سمی کشنده همراه است و نیز در خانم‌ها یکی از عوامل مهم واژینیت‌های قارچی است که با داروهای فعلی مشکل ریشه کن می‌گردد (5، 6). امروزه در درمان این عفونت‌های از داروهای مختلف از قبیل داروهای گروه آزول (کلوتریمازول، کتوکونازول، فلوکونازول و...)، داروهای پلی ان (نیستاتین) و اکینوکاندین (کاسپوفازین) استفاده می‌شود ولی بررسی‌های مختلف مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا را نسبت به داروهای ضد قارچی نشان می‌دهد (7-13).

انسان از هزاران سال پیش از گیاهان دارویی در ابعاد مختلف استفاده می‌کرده و قدمت استفاده از گیاهان دارویی به قدمت تمدن بشری است و تا قبل از قرن 19 از داروهای گیاهی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌شده است، اما پس از آن داروهای شیمیایی جایگزین داروهای گیاهی

سنجی (OD600) گردید و با فرمول زامپینی 2005 درصد ممانعت از رشد به صورت زیر محاسبه شد (6). لوله‌ای که درصد ممانعت از رشد آن با استفاده از فرمول، کمتر و یا مساوی 50 درصد ($\leq 50\%$) بود به عنوان حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) در نظر گرفته شد.

$$\text{درصد ممانعت از رشد} = \frac{[\text{OD}_c - \text{OD}_t]}{\text{OD}_c} \times 100$$

ODc: کنترل منفی (لوله فاقد عصاره)

ODt: لوله‌ای که دارای ترکیب ضد میکروبی

است (لوله حاوی آنتی بیوتیک یا عصاره).

آنالیز داده‌ها در نرم افزار SPSS و با استفاده از

آزمون‌های تی زوجی (سری‌های مختلف گل میمونی با

هم) و تی مستقل (سری‌های مختلف گل میمونی با

آمفوتریسین B) صورت پذیرفت. سطح معنی‌داری در

تمامی آزمون‌ها 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از مقدار 100 گرم پودر عصاره میزان 12 میلی

لیتر عصاره به دست آمد. حداقل غلظت ممانعت از رشد

عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی برای تکرار اول برابر با 59

درصد (45 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و برای تکرار دوم عصاره

برابر با 58 درصد (22/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و برای آنتی

بیوتیک آمفوتریسین B برابر با 59 درصد به دست

آمد (جدول 1).

شهرکرد جدا و در بخش انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تایید گونه گردید؛ سپس بر روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) کشت داده شد و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز انکوبه گردید. از کاندیدا آلیکنس در محیط نوترینت برات سوسپانسیون معادل لوله 1 مک فارلند به تعداد 3×10^8 تهیه و برای انجام آزمایش رقت سازی در لوله مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه در طول موج 600 نانومتر سوسپانسیون با کدورت 1/38 - 1/68 که حاوی 3×10^8 مخمر تهیه و برای آزمایش رقت سازی در لوله استفاده گردید.

حداقل غلظت مهار کننده رشد عصاره اتانولی و

آمفوتریسین B بر روی کاندیدا آلیکنس با استفاده از روش

رقت سازی در لوله تعیین گردید. به این ترتیب که میزان 1

سی سی از سوسپانسیون قارچی که حاوی 3×10^8 مخمر بود

به لوله‌های استریل حاوی 5 سی سی محیط مایع اضافه

گشت. سپس عصاره را رقت سازی نموده و رقت‌های 1/40

تا 720 میکروگرم در میلی‌لیتر (رقت‌های عصاره اتانولی گل

میمونی بیابانی و آمفوتریسین B در جدول 1) به لوله‌های 1

تا 10 اضافه گردید. یک لوله نیز به عنوان کنترل منفی در

نظر گرفته شد که فاقد عصاره یا آمفوتریسین B بود (5). پس

از 48 ساعت گرمخانه گذاری تمامی لوله‌ها با استفاده از

اسپکتروفتومتر در طول موج 600 نانومتر کدورت

جدول 1. درصد ممانعت از رشد عصاره گیاه گل میمونی بیابانی و آمفوتریسین B

سری اول عصاره ی گل میمونی بیابانی		سری دوم عصاره ی گل میمونی بیابانی		آمفوتریسین B (5 میلی گرم / میلی لیتر)	
OD 600= 1/56		OD 600= 1/68		OD600= 1/38	
میکروگرم / میلی لیتر	درصد ممانعت از رشد	میکروگرم / میلی لیتر	درصد ممانعت از رشد	میکروگرم / میلی لیتر	درصد ممانعت از رشد
720	84%	720	85%	600	88%
360	76%	360	77%	540	84%
180	71%	180	73%	480	78%
90	68%	90	65%	420	74%
45	59%	45	63%	360	65%
22/5	44%	22/5	58%	300	59%
11/25	42%	11/25	45%	240	43%
5/62	38%	5/62	41%	180	25%
2/81	35%	2/81	38%	120	13%
1/40	33%	1/40	32%	60	5%

همکاران، عصاره گیاه خوشاریزه بر تعدادی از درماتوفیت‌ها و مخمر کاندیدا آلیکنس تاثیر مناسبی داشته است (20، 21). در مطالعه‌ای که توسط بهمنی و همکاران انجام شد مشخص گردید که حداقل غلظت ممانعت از رشد عصاره ی اتانولی گل میمونی بیابانی بر ساپروولگنیا پارازیتیکا در غلظت 480 میکروگرم بر میلی لیتر به میزان 61 درصد و برای داروی شاهد استاندارد فرمالین به میزان 57 درصد (200ppm) می‌باشد که دال بر اثرات ضد میکروبی گیاه گل میمونی بیابانی می‌باشد (15). در مطالعه‌ای که توسط اکبری انجام شد عصاره های تام متانولی و عصاره آبی دو گیاه دارویی آویشن و مرزنجوش بر ایزوله های کاندیدا آلیکنس حساس و مقاوم به فلوکونازول باعث مهار رشد ایزوله های حساس به فلوکونازول وابسته به غلظت شد و عصاره متانولی آویشن در دوزهای 0/49 تا 125 میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر مهاری را داشت (22). در مطالعه‌ای که مومن بیت الهی و همکاران انجام دادند مشخص گردید که عصاره متانولی پروپولیس 30 درصد اثرات ضد میکروبی مناسبی بر میکروارگانیسم های دهانی شامل کاندیدا آلیکنس، استرپتوکوک موتانس و آکتیوباسیلوس اکتیوسینوم کومیتانس دارد (23). در مطالعه دیگر که توسط آویژگان و همکاران که بر روی کاندیدا آلیکنس صورت پذیرفت، MIC و MBC در مورد آمفوتریسین B به ترتیب برابر با 2 و 8 میکروگرم بر میلی لیتر بود در حالی که برای عصاره اتانولی 5 درصد خوشاریزه برابر با 3125 و 1569 میکروگرم بر میلی لیتر و برای ترکیب عصاره و آمفوتریسین B به ترتیب برابر با 2 و 1 میکروگرم در میلی لیتر بود، همچنین قطر هاله ممانعت از رشد برای عصاره خوشاریزه 13 میلی متر، آمفوتریسین B معادل 18 میلی متر و برای ترکیب هر دو 22 میلی متر مشخص گردید که نشان از اثرات ضعیف خوشاریزه در مقایسه با آمفوتریسین B است (20). در این مطالعه حداقل غلظت ممانعت از رشد سری اول و دوم عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی 59 درصد و 58 درصد و برای آمفوتریسین B به میزان 59 درصد مشخص شد. عصاره گیاه گل میمونی بیابانی اثرات نزدیک به آمفوتریسین B

مقایسه حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) سری های مختلف گل میمونی و آمفوتریسین B در جدول 1 نمایش داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌گردد حداقل غلظت ممانعت از رشد بین سری های مختلف گل میمونی و آمفوتریسین B اختلاف معنی داری مشاهده نمی‌گردد، که در جدول 2 مشخص شده است ($p>0/05$).

جدول 2. مقایسه حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) سری های مختلف گل میمونی و آمفوتریسین B (n=10)

سری های مختلف	میانگین (انحراف معیار)	p
سری اول گل میمونی	(0/18)0/54	0/07*
سری دوم گل میمونی	(0/18)0/57	
سری اول گل میمونی	(0/18)0/54	0/757**
آمفوتریسین B	(0/25)0/57	
سری دوم گل میمونی	(0/18)0/57	0/984**
آمفوتریسین B	(0/25)0/57	

* بر اساس آزمون تی زوجی

** بر اساس آزمون تی مستقل

بحث

سیر روز افزون ابتلا به بیماری‌های کاندیدیایی در افراد مستعد (تحت درمان آنتی بیوتیک، افراد ایدزی و...) و از طرفی مقاومت‌های ذاتی و اکتسابی دارویی و همچنین گرایش به داروهای گیاهی به دلیل تاثیر گذاری مناسب و عوارض جانبی کم، استفاده از آن را افزایش داده است. در مطالعه حاضر تاثیر مهاری عصاره اتانولی گل میمونی بیابانی بر سویه بومی کاندیدا آلیکنس به اثبات رسیده است. در طب سنتی از گیاه گل میمونی بیابانی برای ضد عفونی کردن زخم بدن و چشم استفاده می‌شود (15). گل میمونی بیابانی از گیاهانی است که به عنوان ضد تب، مشکلات کلیوی و تومور و سرطان ریوی استفاده می‌شود (17). مطالعه پارک (Park) و همکاران نشان می‌دهد اپی گالوکاتشین (Epigallocatechin) موجود در چای سبز اثر مناسب مهاری بر مخمر کاندیدا آلیکنس دارد (18). مطالعه هیروساوا (Hirasawa) و همکاران روی اثرهای چای سبز، نشانگر تاثیرات ضد قارچی چای سبز بر کاندیدا آلیکنس می‌باشد (19). طی دو مطالعه آزمایشگاهی آویژگان و

منابع

1. Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical mycology. 2003;4(8):195-227.
2. Fidel Jr PL. Immunity to candida. 2002; 8(s2): 69-75.
3. Medline Plus Encyclopedia. Vaginal yeast infection Pappas PG. Invasive candidiasis". Infect. Disease Clinics of North America. 2006;20(3): 485-506.
4. Volak J, Stola J. Medicinal plants. 4th ed. Ghoghnoos. 1990.
5. Avijgan M, Saadat M, Nilforoshzadeh MA, Hafizi M. Antifungal effect of Echinophora platyloba's extract against Candida albicans. Iranian Journal of Pharmacological Research. 2006; 4:285-9.
6. Bahmani M, Zamani P, Raiee M, Bahmani F, Mohebnasab M, Alizadeh N. Effect of Anti Saprolegnia parasitica of Wild Snapdragon (*Scrophularia deserti*) in comparison with formalin. Proceedings of the First National Congress of Economic Diseases of Rainbow trout. Islamic Azad University of Shahrekord. Iran. 2009; 5(4):68.
7. Gualco L, Debbia EA, Bandettini R, Pescetto L, Cavallero A, Ossi MC, et al. Antifungal resistance in Candida spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. International Journal of Antimicrobial Agents. 2007;29(2):179-84.
8. Saag M, Van der Host C, Powderly WG. Refractory Mucosal candidiasis in advanced human immunodeficiency virus infection. Clinical Infectious Diseases. 2000;30:749-56.
9. He X, Tibbali RN, Zarins LT, Bradly SF, Sangeorzan JA, Kaffman CA. Resistance in oropharyngeal Candida albicans strains isolated from patients infected with human immunodeficiency virus. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(6):2495-7.
10. Fan-Havard P, Capano D, Smith SM, Mangia A, Eng RH. Development of resistance in candida isolates from patients receiving prolonged antifungal therapy. Antimicrob Agents. 1991;35(11):2302.
11. Boken DJ, Swindells S, Rinaldi MG. Fluconazole-resistant Candida albicans. Clinical Infectious Diseases. 1993;17(6):1018-21.

دارد. در مطالعه حاضر تاثیر مهاری عصاره اتانولی گیاه گل میمونی بیابانی همانند انواع عصاره ها و اسانس های سایر مطالعات بر مخمر کاندیدا آلبیکنس تأیید شد، به طوری که MIC در رقت های 22/5 و 45 میکرو گرم بر میلی لیتر برای تکرار اول و دوم گل میمونی بیابانی به ترتیب 59 و 58 درصد بود و با افزایش رقت عصاره میزان ممانعت از رشد عصاره بر کاندیدا آلبیکنس بیشتر می گردد. این مطالعه نشان داد که بین حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) عصاره سری های مختلف گل میمونی اختلاف معنی داری وجود ندارد و عصاره این گیاه در غلظت های قابل استفاده در مورد مخمر کاندیدا، اثر ممانعتی مناسبی دارد. نتایج این مطالعه نشان می دهد با افزایش رقت عصاره میزان ممانعت از رشد عصاره بر کاندیدا آلبیکنس بیشتر می گردد و این اثر در مقایسه با داروهای ضد قارچی دیگر مثل آمفوتریسین B نسبتاً مناسب است.

نتیجه گیری

با توجه به اثر این گیاه در صورتی که بتوان مواد موثر عصاره فوق را مشخص نمود، ممکن است بتوان از داروی فوق برای اهداف ساخت فرآورده های دارویی ضد قارچ استفاده نمود و به افقی نگاه کرد که احتمالاً با محلولی از عصاره در کنار آمفوتریسین B، با اثر ادیتیو یا سینرژیستی و کاهش دوز مصرفی آمفوتریسین B، از عوارض کشنده ای مثل سمیت کلیوی آمفوتریسین B کاست که البته این هدف زمینه ساز مطالعات آتی خواهد بود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می دانند از حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جهت استفاده از وسایل و آزمایشگاه دانشگاه، از آقای پروفیسور مجید آویژگان جهت تهیه سوش کاندیدا آلبیکنس و همچنین از آقای مهندس ایوب پیرانی کارشناس ارشد منابع طبیعی استان ایلام جهت گردآوری و تأیید جنس و گونه گیاه کمال تشکر و قدردانی را مبذول دارند.

12. White A, Goetz MB. Azole-resistant *Candida albicans*: report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clinical Infectious Diseases*. 1994;19(4):687-92.
13. Troillet N, Durussel C, Bille J, Glaouser MP, Chave JP. Correlation between in vitro susceptibility of *Candida albicans* and fluconazole-resistance oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 1993; 12:911-5.
14. Mozafarian VL. *Flora of Ilam*. 2008; 15(5): 902.
15. Bahmani M, Nekoei SH. Ethnoveterinary of medicinal plants of southern area in Ilam Province (Iran). 6th Iranian national congress of veterinarian clinical science, Tabriz. 2006; 4(3): 17.
16. Stavri M, Mathew KT, Gibbons S. Antimicrobial constituents of *Scrophularia deserti*. *Antimicrobial constituents of Scrophularia deserti*. 2006; 67(14): 1530-3.
17. Ahmed B, Al-Rehaily AJ, Al-Howirini TA, El-Sayed KA, Ahmad MS. *Scrophularia D2* and *Harpagoside-B*: two new iridoid glycosides and their antidiabetic and anti-inflammatory activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2003; 26: 462-467.
18. Park BJ, Park JC, Taguchi H, Fukushima K, Hyon SH, Takatori K. Antifungal susceptibility of epigallocatechin 3-O-gallate (EGCg) on clinical isolates of pathogenic yeasts. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;347(2):401-5.
19. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004; 53(2): 225-9.
20. Avijgan M, Saadat M, Nilforoshzadeh MA and Hafizi M. Antifungal effect of *Echinophora platyloba* extract on some common dermatophytes. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2006;5(18):56-62.
21. Avijgan M, Hafizi M, Saadat M. Anti fungal effect of hydroalcoholic extract of *Echinophora platyloba* DC on *Candida albicans*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatical plants*. 2006; 21: 545-2.
22. Akbari S. The survey antifungal effects of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. extracts against clinical isolates *Candida albicans* resistant and susceptible to fluconazole. *Journal of Medicinal Plants*. 1385; 6(1): 53-62.
23. Momen-Beytollahi J, Mansourian A, Esmaili M, Amanloo M., Mohamadni MER, Bahrami N. Antimicrobial effect of propolis on common oral pathogen microorganisms (*Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus*). *Journal of Dental Society*. 1388; 21(1):39-33.