جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۷
صفحات: ۱۱۳-۱۰۳

بررسی اثرات ضدقارچی پیاز و برخی از داروهای آزولی به صورت منفرد و در ترکیب با یکدیگربر روی مخمرهای بیماریزا

آتوسا رزاق پرست* M.Sc، معصومه شمس قهفرخی✍ Ph.D،
محمد حسین یادگاری** Ph.D، مهدی رزاقی ابیانه*** Ph.D

چکیده

هدف: در سالهای اخیر، عفونتهای سیستمیک قارچی که به وسیله مخمرهای بیماریزا ایجاد شده است، از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان بوده است و درمانهای ضدّ قارچی رایج با استفاده از داروهای متداول کاملاً مؤثر نمی‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که اشکال مختلفی از داروهای ضدّ قارچی ترکیبی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند که در برابر برخی از قارچهای بیماریزا اثرات هم افزایی خوبی را نشان داده‌اند

تحقیق حاضر به منظور تعیین حساسیت برخی از مخمرهای بیماریزا نسبت به عصاره آبی گیاه پیازبصورت جداگانه و در ترکیب با داروهای گروه آزول شامل فلوکونازول، ایتراکونازول وکتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی برروی مخمرهای بیماریزا شامل *کاندیدا آلبیکنس* PTCC5057، *کاندیدا دوبلینینسیس* CD36، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* CNE1 و *مالاسزیا فورفور* MF1 انجام شد.

مواد و روش ها: روش رقیق‌سازی در محیط کشت مایع جهت ارزیابی فعالیت ضدّ قارچی ترکیبات مذکور در دو محیط کشت سابورودکستروز براث (برای همه قارچها به جز *مالاسزیافورفور*) و محیط دیکسون براث تغییریافته (فقط برای *مالاسزیا فورفور*) مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر MIC و MFC برای هر یک از ترکیبات بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های قارچی در مقایسه با گروه شاهد۱(به جای دارو سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید)و شاهد۲(به جای دارو از بالاترین غاظت حلال استفاده شد) محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره آبی گیاه پیاز وداروهای مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد عوامل‌قارچی می‌باشند؛ به طوری که میزان محدوده MIC داروی فلوکونازول برای *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دابلینینسیس*،*کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور* به ترتیب برابر ۲۵۶-۱، ۳۲-۰/۵، ۶۴-۰/۵ و ۱۲۸-۱ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید؛ میزان محدوده MIC داروی ایتراکونازول نیز به ترتیب برابر ۱۶-۰/۵،۸-۰/۱۲۵، ۳۲-۰/۱۲۵ و ۶۴-۱ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه گردید. میزان محدوده MIC داروی کتوکونازول ۶۴-۰/۵، ۸-۰/۵، ۶۴-۰/۲۵ و ۳۲-۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید و میزان محدوده MIC عصاره پیاز نیز به ترتیب برابر ۱۲۸-۰/۵، ۱۲۸-۱، ۱۲۸-۰/۵، ۱۲۸-۴ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید .بررسی تأثیر ترکیب داروها و عصاره نشان داد که فعالیت ضدّ قارچی در همه اشکال ترکیبی در مقایسه با شکل منفرد دارو و عصاره افزایش می‌یابد ($P< ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: در نتیجه مطالعات نشان داد که تاثیر عصاره پیاز (در غلظت یکسان)بر روی *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با فلوکونازول بیشتر است، همچنین عصاره پیاز و فلوکونازول دارای اثر یکسانی برروی *مالاسزیا فورفور* می باشند اما در *کاندیدا دابلینینسیس* وکریپتوکوکوس *نئوفرمنس* تاثیر فلوکونازول بیشتر از عصاره پیاز است.فعالیت پیاز در مقایسه با ایتراکونازول و کتوکونازول نیز پایین‌تر می‌باشد. ترکیب عصاره پیاز و داروهای آزولی بیشترین تاثیر را برروی مالاسزیافورفور دارد.

واژه‌های کلیدی: *آلیوم سپا*، فلوکونازول؛ ایتراکونازول؛ کتوکونازول؛ حساسیت ضدقارچی؛ اثرات هم افزایی داروها؛ مخمرهای بیماریزا

دریافت مقاله: ۸۷/۴/۱۳ پذیرش مقاله: ۸۷/۶/۲۰

✍ نویسنده مسئول: استادیارگروه قارچ شناسی،دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس shamsm@modares.ac.ir
* دانش آموخته کارشناسی ارشد قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
** استادیارگروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
*** دانشیار بخش قارچ شناسی، انستیتو پاستور ایران

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

افزایش عفونتهای قارچی ناشی از قارچهای بیماری‌زا و فرصت‌طلب، بویژه در بیماران با ضعف سیستم ایمنی از اوایل‌دهه ۹۰، به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است. پاتوژن‌های فرصت‌طلب مهم مانند *کاندیدا آلبیکنس*[1] و سایر گونه‌های کاندیدا در این میان نقش بسزایی دارند؛ هر چند کاندیدا آلبیکنس به عنوان یک بیماریزای فرصت‌طلب دهانی، همچنان فراوانترین گونه جداشده نسبت به سایر عوامل قارچی است (۱) امّا سایر گونه‌های کاندیدا، بخصوص *کاندیدا دابلینینسیس*[2] در بیماران با نقص سیستم ایمنی (بیماران مبتلا به ایدز، سرطان و بیماران پیوندی) سبب ایجاد عفونتهای سیستمیک می‌شوند و گونه‌های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونتهای خونی بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده‌اند که مسؤول تقریباً ۴۰٪ موارد مرگ و میر می‌باشند (۲). عفونتهای سیستمیک ناشی از *کریپتوکوکوس نئوفرمنس*[3] و کاندیدا در بیماران مبتلا به ایدز افزایش چشمگیری داشته است؛ همچنین عفونتهای سیستمیک ناشی از گونه‌های مالاسزیا[4] و بخصوص *مالاسزیا فورفور*[5] در نوزادان به دنبال آلودگیهای بیمارستانی و در افرادی که از طریق کاتترهای وریدی ترکیبات چربی دریافت می‌کنند، به وفور مشاهده گردیده است که این گونه عفونتها اصولاً با داروهای ضدّ قارچی آزولی بویژه فلوکونازول درمان می‌شوند. درمان طولانی و تکراری، سبب ظهور و پیدایش ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول[6] در میان گونه‌های کاندیدا شده است؛درمانهای ضد قارچی رایج با استفاده از داروهای ضدقارچی متداول کاملا موثر نمی‌باشد و این امر بدلیل وجود اثرات متعدد جانبی و مقاومت دارویی به عوامل پاتوژن،پس از استفاده طولانی مدت دارو می‌باشد.

از طرف دیگر از یکسو به علت ظاهر شدن عوارض نامطلوب و جانبی ترکیبات سنتتیک و عدم سازگاری آنها باطبیعت انسان،و از سوی دیگر بدلیل هزینه بالا و ارزبری داروها و ناتوانی بسیاری از کشورهای جهان سوم برای خرید چنین داروهایی توجه خاصی به سمت تهیه داروا گیاهانی که اثرات درمانی سالم و ارزان بودن آنها ثابت شده،معطوف گردیده است (۴و۳). استفاده از گیاهان دارویی همراه با هم یا با داروهای مدرن امروزی جهت کاهش عوارض‌جانبی دارو، به صورت ترکیب برای اهداف درمانی مورد استقبال قرار گرفته است (۵). لذا استفاده از داروهای‌ضد قارچی بصورت ترکیب با عصاره گیاهی می‌تواند سبب پیشگیری و یا تعویق گسترش مقاومت عوامل‌قارچی نسبت به داروهای ضد قارچی گردد. همچنین مصرف مقادیر ترکیبی از داروهای ضد قارچی سبب‌کاهش سمیت ناشی از مصرف دوزهای بالا و منفرد هر یک از ترکیبات می‌گردد. گزارشاتی در استفاده از گیاهانی مانند سیر، پیاز، اوکالیپتوس، زیتون تلخ، حنا، سدر، آویشن و غیره در درمان بیماریهای قارچی وجود دارد بنابراین بکارگیری این ترکیبات که دارای اثرات جانبی کمتر و هزینه پایین تری نسبت به داروهای ضد قارچی می‌باشند، قابل توجه است.. تاکنون مطالعات فراوانی بر روی فعالیت ضدقارچی گیاهان مختلف نسبت به عوامل بیماریزا در دنیا صورت گرفته است که مختصری از آن در ذیل آورده شده است:

در سال ۱۹۹۷ تاثیرعصاره پیاز را بر روی *استرپتوکوکوس موتانس*[7]، *ستریپتوکوکوس موبرینوس*[8]، *پوروفیرومونـاس ژنژیوالیس*[9] و *پروتلا اینترمدیا*[10] بررسی کردند (۶)

در سال ۱۹۹۸فعالیت ضدقارچی روغن پیاز،عصاره سیر و چند عصاره دیگر را برروی ۱۰ گونه قارچی بررسی نمودند. (۷)

در سال ۱۹۹۹ اثرعصاره‌های مختلف گیاهان گونه آلیوم[11] را در شرایط مختلف بر روی سه گونه قارچ آسپرژیلوس[12] یررسی نمودند (۸)

در سال ۲۰۰۰ ترکیب ضدقارچی به نام ۳و۴-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید را از پوست قهوه ای پیاز جدا کردند (۹)

در سال ۲۰۰۱ تاثیر مصرف مواد غذایی حاوی پیاز را بر روی ۴۳ فرد

1 *Candida albicans*
2 *Candida dubliniensis*
3 *Cryptococcus neoformans*
4 Malassezia
5 *Malassezia furfur*
6 Fuconazole

7 *Streptococcus mutans*
8 *Streptococcus mubrinus*
9 *Porfirimonas gengivalis*
10 *Protella intermedia*
11 Allium
12 Aspergillus

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مبتلا به هپاتیت A ارزیابی کردند (۱۴۱).

در سال ۲۰۰۳ فعالیت ضدقارچی ۲۴ گیاه دارویی سنتی را در آفریقای جنوبی در مقابل کاندیدا آلبیکنس بررسی کردند (۱۱).

در سال ۱۳۸۲ اثرات ضدقارچی عصاره آبی پیاز برروی اولتراساستر کچر *تریکوفیتون منتاگروفایتس*[13] و *تریکوفایتون روبروم*[14] بررسی کردند (۱۲).

در سال ۱۳۸۲ تاثیر ضدقارچی عصاره‌های آبی سیر،پیاز و گیاه زیتون تلخ را برروی برخی از درماتوفیتهای شایع بررسی کردند (۱۳).

در سال ۱۳۸۳ نیز تاثیر ضدقارچی عصاره‌های آبی سیر،پیاز و گیاه زیتون تلخ را برروی۲۵ ایزوله *مالاسزیا فورفور* و همچنین گونه‌های کاندیدای جداسازی شده از بیماران مبتلا به ولوواژینیت[15] بررسی کردند (۱۵و۱۴).

تحقیق حاضر از نظر ترکیب عصاره گیاهی با داروها و بررسی اثرات هم‌افزایی ترکیبات مذکور بر روی مخمرهای بیماریزا اولین مطالعه‌ای است که صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

ارگانیسم‌ها

به منظور تعیین حساسیت دارویی عوامل مخمری نسبت به عصاره آبی پیاز و داروهای ضد قارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر از مخمرهای بیماریزا *کاندیدا آلبیکنس* PTCC5057، *کاندیدا دابلینینسیس* CD36، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* CNE1 و *مالاسزیا فورفور* MF1 که از موارد بالینی جداسازی شده‌بودند، استفاده گردید.

داروهای ضد قارچی

به منظور تهیه محلول‌های دارویی، ۲۰۴۸ میکروگرم از پودر فلوکونازول و ۲۰۴۸ میکروگرم نیز از پودر ایتراکونازول[16] و ۲۰۴۸ میکروگرم از پودر کتوکونازول[17] (که از شرکت پارس دارو خریداری شده بود)، هر یک در یک میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید[18] به طور جداگانه حل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا استوک‌های دارویی استریل گردد و سپس حجم‌های یک میلی‌لیتر از استوک‌های دارویی در ویال‌های استریل تهیه گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد جهت مصارف بعدی نگهداری شد.

تهیه پودر پیاز

جهت تهیه پودر پیاز ابتدا پوست یک کیلوگرم پیاز سفید جداسازی شد و پس از شستشو پیازها توسط اسکالپل به قطعات کوچکتر تقسیم گردید و با استفاده از هموژنایزر عصاره آبی گرفته شد و عصاره آبی ازچند لایه تنظیف عبور داده شد سپس با استفاده از استوانه مدرج حجم آن اندازه‌گیری شد. عصاره آبی پیاز درسانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۲۵۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی جداسازی گردید و در دمای منهای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس توسط دستگاه فریز درایر عصاره آبی پیاز کاملاً خشک شد و پودر پیاز تهیه گردید. پس از وزن کردن پودر حاصل در منهای ۷۰ درجه سانتیگراد جهت‌مصارف بعدی قرار گرفت.

تهیه سوسپانسیون قارچی جهت تلقیح

سوسپانسیونی از هر یک از کشت‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا دوبلینینسیس* و کشت۴۸ ساعت *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و کشت ۵ روزه *مالاسزیا فور فور* توسط سرم فیزیولوژی استریل‌تهیه گردید. عناصر قارچی با استفاده از لام نئوبار شمارش شد و غلظتی معادل $1/5\times10^3$ cells/ml تعیین‌گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد با استفاده از روش میکروبراث[19]

روش بررسی حساسیت دارویی در حقیقت روش رقیق‌سازی در محیط مایع می‌باشد؛ این روش به دو صورت ماکرو و میکرو دایلوشن[20] انجام می‌شود که در این تحقیق از روش دوم استفاده

13 *Tricophyton mentagrophytes*
14 *Tricophyton rubrom*
15 Vulvovaginitis
16 Itraconazole
17 Ketoconazole
18 Di Methyl Solfoxide
19 Microbroth
20 Macro and Microdilution

شـد. این روش توسط کمیته استانداردهای بین‌المللی برای مخمرها (NCCLSM27-A)[21] و قارچهای رشـته‌ای (NCCLS M38-P) ارائه گردیده است (۱۵،۱۴).

جهـت تهیه رقت‌هـای متوالـی دو برابـر از داروهـای ضدقارچی فلوکونـازول، ایتراکونـازول و یا کتوکونازول، ابتـدا ۵۰ میکرولیتر از اسـتوک داروی مورد نظر با غلظت ۲۰۴۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سـرم فیزیولوژی اسـتریل بود، افزوده شـد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید؛ سـپس ۱۰۰ میکرولیتر از محیط دیکسون تغییر یافته مایع[22] جهت تلقیح مالاسـزیا فورفـور و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط سـابورو بـراث[23] جهت تلقیح سـایرمخمرها به هر گوده اضافه شـد؛ پس از آن، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های مخمری در حجم‌های معادل $1/5\times10^{3}$ cells/mL به همه گوده‌های پلیت تلقیح گردید.

سـپس پلیت‌های حاوی *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دابلینینسـیس* و *کریپتوکوکـوس نئوفرمنس*، به مدت ۴۸ سـاعت در دمای ۳۵درجه سـانتیگراد و پلیت‌های حاوی *مالاسـزیا فورفور* به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سـانتیگراد در داخل شیکرانکوباتور با ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند.

لازم بـه ذکـر اسـت که هر یـک از رقت‌هـای دارویـی و عصاره گیاهی به صورت سـه‌تایی تهیه‌گردید و از بیشـترین غلظت حلال بدون حضور دارو به عنوان شـاهد۲ اسـتفاده شـد؛ همچنین از سرم فیزیولوژی اسـتریل در مواردی که دارو نیاز به حلال آلی نداشـت، به عنوان شـاهد ۱ اسـتفاده گردیـد. پس از زمان انکوباسـیون ۱۰ میکرولیتـر از محتویات هر یک از گوده‌ها برداشـته شـد و در مورد *مالاسزیا فورفور* بر روی محیط دیکسون آگار تغییریافته[24] و در مورد سـایر مخمرها بر روی محیط سـابورو دکسـتروز آگار[25] کشت داده شد و سـپس پلیت‌های مربوط به *مالاسزیافورفور* به مدت ۵ روز در دمای ۳۲ درجه سـانتیگراد و پلیت‌های مربـوط به *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا دابلینینسـیس* به مدت ۴۸-۲۴ ساعت و پلیت‌های مربوط به *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* به مدت ۷۲-۴۸ سـاعت در دمای ۳۲ درجه سـانتیگراد قرار گرفتند و پس از طی زمان بر اسـاس شمارش تعـداد کلنی‌های قارچـی در هر یک از رقت‌های عصـاره گیاهی و داروهای مذکورنسبت به گروه شاهد، میزان MIC[26] (حداقل غلظت ممانعت کننده از رشـد) و MFC[27] (حداقل غلظت قارچ کشی دارو) محاسبه گردید.

تعیین حساسـیت مخمرهای مذکور نسـبت بـه ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی فلوکونازول

بـه منظور تهیه رقت‌های متوالـی دو برابر از ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی فلوکونـازول ابتـدا ۲ میلی‌گرم از پـودر فلوکونازول در یک میلی‌لیتـر دی متیل سولفوکسـاید حل گردید و بـه مدت ۳۰ دقیقه در دمای‌آزمایشـگاه قرار گرفت تا اسـتریل گردید. پس از آن غلظت ۱۰۲۴ میکرو گرم در میلی لیتر تهیه گردید. سـپس۱۰۲۴ میکروگرم از پـودر پیـاز در یک میلی لیتر آب مقطر اسـتریل حـل گردید و با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲میکرومتر استریل شد. سپس میزان ۲۵ میکرولیتـر از داروی فلوکونازول‌و۲۵ میکرولیترازمحلول پیازبه اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی‌استریل بود، افزوده شـد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید و بقیه مراحل مطابق قبل انجام گرفت.

تعیین حساسـیت مخمرهای مذکور نسـبت بـه ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی ایتراکونازول

جهـت تهیـه رقت‌های متوالی دو برابر از ترکیـب عصاره آبی پیاز و داروی ایتراکونـازول ابتـدا ۱ میلی‌گرم‌از پـودر ایتراکونازول در یک میلی لیتر دی متیل سولفوکسـاید حل گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای‌آزمایشـگاه قرار گرفت تا استوک دارویی استریل گردد. پس از آن غلظت ۱۰۲۴ میکروگـرم در میلی لیتر تهیه‌گردید. میزان ۱۰۲۴ میکروگـرم نیز از پودر پیاز در یک میلی‌لیتر آب مقطر اسـتریل حل گردید و با اسـتفاده ازفیلتر سـرنگی ۰/۲۲ میکرومتر اسـتریل شد. سـپس ۲۵ میکرولیتر از داروی ایتراکونـازول و ۲۵ میکرولیتر نیز از

21 National Committee for Clinical Laboratory Standards
22 Modified Dixon Broth
23 Sabouraud broth
24 Modified Dixon agar
25 Sabouraud dextrose agar
26 Minimum inhibitory concentration
27 Minimum fungicidal concentration

محلـول پیاز به اولین گوده پلیت ۹۶ خانــه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی‌استریل بود، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید و بقیه مراحل مطابق قبل انجام گرفت.

تعیین حساسـیت مخمرهای مذکور نسـبت بـه ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی کتوکونازول

بـه منظور تهیه رقت‌های متوالـی دو برابر از ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی کتوکونـازول ابتدا ۲میلی‌گرم از پـودر کتوکونازول در یک میلی‌لیتـر دی متیل سولفوکسـاید حل گردید و بـه مدت ۳۰ دقیقه در دمای‌آزمایشـگاه قرار گرفت تا اسـتوک دارویی اسـتریل شود و پـس از آن غلظـت ۱۰۲۴ میکروگرم در میلی لیتر تهیه‌شـد. میزان ۱۰۲۴ میکروگـرم از پـودر پیاز در یک میلی‌لیتر آب مقطر اسـتریل حل گردید و با اسـتفاده از فیلترسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر استریل شد. سـپس میزان ۲۵ میکرولیتر از داروی کتوکونازل و۲۵ میکرولیتر نیز از محلـول پیازبه اولین گوده پلیت ۹۶ خانه که حاوی ۵۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی‌استریل بود، افزوده شد و به ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر تهیه گردید و بقیه مراحل مطابق قبل انجام گرفت..

نتایج:

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به عصاره آبی پیاز

بررسی اثرات غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیاز در محدوده ۲۵۶ – ۰/۰۳ میکروگرم درمیلی‌لیتر بر رشـد مخمرهای‌مذکور نشان داد که این عصاره در تمامی غلظت‌های بکار گرفته شـده قادر به مهار رشد ارگانیسم‌ها می‌باشد (جدول ۱)

این مهار رشد از طریق وابسته به غلظت انجام می‌گیرد. نتایج بدست آمده در تمامی غلظت‌های موردبررسـی به اسـتثناء غلظت‌های ۲– ۰/۰۳ میکروگرم در میلی لیتر در مورد *کاندیدا آلبیکنس*، غلظت‌های ۰/۱۲۵– ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا دوبلینینسیس، غلظـت ۰/۰۳ میکروگـرم در میلـی لیتـر در موردکریپتوکوکـوس *نئوفرمنـس* و غلظت‌هـای ۰/۲۵ – ۰/۰۳ میکروگـرم در میلی لیتر در مورد *مالاسـزیا فورفور* درمقایسه با گروه شاهد۱ و شاهد۲ از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید(P< ۰/۰۵).

مقادیر MIC ۵۰، ۰/۵، ۱، ۰/۵ و ۴ میکروگرم در میلی لیتر MIC90، ۲، ۲، ۰/۵ و ۳۲ میکروگـرم درمیلی‌لیتـر و MFC، ۱۲۸، ۱۲۸، ۱۲۸ و ۱۲۸ میکروگـرم در میلی‌لیتـر به ترتیب بـرای *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدادوبلینینسـیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور* تعیین گردید (جدول ۱)

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب عصاره آبی پیاز و دارو فلوکونازول

بررسـی اثـرات غلظت‌های مختلـف ترکیب عصاره پیـاز و داروی فلوکونـازول در محـدوده ۱۲۸– ۰/۰۱۵میکروگـرم در میلی لیتر از عصـاره گیاهی و دارو به نسـبت مسـاوی ۱:۱ بر رشـد مخمرهای مذکور نشان داد که‌ترکیب مذکور در تمامی غلظت‌های به کار گرفته شده‌از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانیسم‌ها می‌باشد (جدول ۱)

نتایج بدسـت آمـده در تمامی غلظت‌های موردبررسـی به اسـتثناء غلظت‌هـای ۲ – ۰/۰۳ میکروگـرم در میلی‌لیتـر در مـورد *کاندیدا آلبیکنـس* و غلظت‌های ۰/۰۶–۰ ۰/۰۱۵ میکروگـرم در میلی‌لیتر در مورد *کاندیدا دوبلینینسـیس* و غلظت ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی لیتر درمـورد *کریپتوکوکـوس نئوفرمنس* و غلظت‌هـای ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ میکروگـرم در میلـی لیتر در مورد *مالاسـزیافورفور* برای هر یک از ترکیبات در مقایسـه با گروه شاهد۱ و شاهد۲ از نظر آماری معنی‌دار گـزارش گردید (P< ۰/۰۵). مقادیر MIC50، ۰/۲۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میکروگـرم در میلـی لیتـر، MIC90، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۲ میکروگـرم در میلـی لیتـر و MFC، ۳۲،۳۲، ۳۲ و ۸ میکروگرم در میلـی لیتر برای هر یک از ترکیب دارویی و عصاره گیاهی به ترتیب در مـورد *کاندیداآلبیکنـس*، *کاندیدا دوبلینینسـیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور* تعیین گردید. (جدول ۱)

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی ایتراکونازول

بررسـی اثـرات غلظت‌های مختلـف ترکیبی عصاره پیـاز و داروی ایتراکونـازول در محدوده ۱۲۸– ۰/۰۱۵میکروگـرم در میلی لیتر از

عصاره گیاهی و دارو به نسبت مساوی ۱:۱ بر رشد مخمرهای مذکور نشـان داد که‌ترکیب مذکور در تمامی غلظت‌های بکار گرفته شـده از طریق وابسـته به غلظت قادر به مهار رشـد ارگانیسم‌هامی‌باشـد (جدول ۱)

نتایج بدسـت آمده نشـان داد که در تمامی غلظت‌های مورد بررسی به اسـتثنای غلظت‌های ۱ – ۰/۰۱۵میکروگرم در میلی لیتر در مورد *کاندیدا آلبیکنس* و غلظت‌هـای ۰/۰۳ و ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی لیتر درمورد *کاندیدا دوبلینینسـیس* و غلظـت ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی لیتر در مورد *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* برای هر یـک از ترکیبات (غلظت هر یک از ترکیبـات بطور جداگانه) در مقایسـه با گروه شـاهد ۱و ۲ از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید ($P< ۰/۰۵$).

مقادیرMIC50، ۰/۲۵، ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، MIC90 ۰/۵، ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۲۵ میکروگـرم درمیلی‌لیتـر و MFC، ۳۲، ۸، ۳۲ و ۱ میکروگـرم در میلی‌لیتـر بـرای هر یکـی از ترکیب دارویـی و عصاره گیاهی به‌ترتیب در مورد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دوبلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور*محاسبه شد (جدول ۱)

نتایج حاصل از تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به ترکیب عصاره آبی پیاز و داروی کتوکونازول

بررسـی اثرات غظت‌هـای مختلف ترکیبـی عصاره پیـاز و داروی کتوکونـازول در محـدوده ۱۲۸ – ۰/۰۵میکروگـرم در میلی لیتر از عصاره گیاهی و دارو نسـبت مساوی ۱:۱ بر رشد مخمرهای مذکور نشـان داد که‌ترکیب مذکور در تمامی غلظت‌های بکار گرفته شـده از طریق وابسـته به غلظت قادر به مهار رشـد ارگانیسم‌هامی‌باشـد

جدول ۱- بررسی اثرات ضدقارچی پیاز و برخی از ازول هابه صورت منفرد و در ترکیب با یکدیگر بر روی مخمرهای بیماریزا

ارگانیسم	عصاره گیاهی و دارو	محدوده غلظت (میکروگرم/میلی‌لیتر)	میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر) MIC50	MIC90	میزان MFC (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
***کاندیدا آلبیکنس*- PTCC5057**	Acp	۰/۰۳-۲۵۶	۰/۵	۲	۱۲۸
	Acp+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۱	۳۲
	Acp+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۳۲
	Acp+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۰۱۲۵	۰/۵	۱۶
***کاندیدا دابلینینسیس* 36-CD**	Acp	۰/۰۳-۲۵۶	۱	۲	۱۲۸
	Acp+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۳۲
	Acp+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۸
	Acp+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۴
***کریپتوکوکوس نئوفرمنس* 1-CNE**	Acp	۰/۰۳-۲۵۶	۰/۵	۰/۵	۱۲۸
	Acp+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۳۲
	Acp+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۳۲
	Acp+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۱۶
***مالاسزیا فورفور*1-MF**	Acp	۰/۰۳-۲۵۶	۴	۳۲	۱۲۸
	Acp+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۲	۸
	Acp+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۱
	Acp+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۰۶	۰/۱۲۵	۱

Flu: (fluconazole) **It:** (Itraconazole) **Kcz:** (ketoconazole) **Acp:** (*Allium cepa* extract)

(جدول ۱)

نتایج بدست آمده در تمامی غلظت‌های مورد بررسی به استثناء غلظت‌های ۰/۰۶– ۰/۰۱۵ میکروگرم درمیلی لیتر برای *کاندیدا آلبیکنس* و غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی لیتر برای *کاندیدادوبلینینسیس* و غلظت ۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی لیتر برای *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور*برای هر یک از ترکیبات (غلظت هر یک از ترکیبات بطور جداگانه) در مقایسه با گروه شاهد۱و۲ از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید ($P > ۰/۰۵$) مقادیر MIC50، ۰/۱۲۵، ۰/۱۲۵/۱۲۵، ۰/۰۶ و ۰/۰۶ میکروگرم در میلی لیتر، MIC90، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر و MFC،۱۶، ۴، ۱۶ و ۱ میکروگرم در میلی لیتر برای هر یک از ترکیب دارویی و عصاره گیاهی به ترتیب برای *کاندیداآلبیکنس*، *کاندیدا دوبلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* محاسبه گردید (جدول ۱).

بحث

عفونتهای سیستمیک ناشی از مخمرهای بیماریزا در طیّ چهار دهه اخیر به دلیل افزایش بیماریهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی نظیر بیماری ایدز، انواع بدخیمی‌های خونی و همچنین مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و... به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص برای بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است که این مسأله انتخاب روشهای درمانی مناسب و مؤثر را در یک دوره زمانی مشخص اجتناب‌ناپذیر می‌سازد (۱۹–۱۶).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که عفونتهای با اهمیت قارچی عمدتاً به وسیله گونه‌های مقاوم به داروهای ضدقارچی ایجاد می‌شود. این موضوع بویژه در مورد گونه‌های کاندیدا در رابطه با تأثیر داروی ضدقارچی فلوکونازول مورد تأکید قرار گرفته است.

بنابر دلایل فوقِ و بویژه ایجاد مقاومت دارویی، گرایش نسبت به یافتن ترکیبات ضدقارچی جدید افزایش یافته است؛ همچنین استفاده از ترکیب داروهای ضدقارچی منجر به جلوگیری یا تأخیر در گسترش عناصر قارچی نسبت به داروی ضدّ قارچی می‌گردد و به جای استفاده از دوزهای منفرد سمّی سبب استفاده از مقادیر غیر سمّی دو یا چند داروی ضدقارچی مورد نیاز می‌گردد (۲۲–۲۰, ۲۹–۳۱).

مقاومت نسبت به فلوکونازول به فراوانی در میان بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی و مبتلایان به ایدز مشاهده می‌شود و ممکن است با ایتراکونازول تداخل مقاومت داشته باشد. گزارشاتی از مقاومت بالینی کاندیدا آلبیکنس در شرایط In-vitro نسبت به فلوکونازول در مبتلایان به ایدز وجود دارد. عوامل زمینه‌ساز برای ایجاد ایزوله‌های مقاوم، مهار شدید سیستم ایمنی و استفاده قبلی فلوکونازول مطرح شده‌اند؛ بخصوص در برخی مطالعات مقادیر بیشتر از ۱۰ گرم (در مجموع) بیان شده است،دربیماران دیگر (غیر ایدزی) مقاومت نسبت به فلوکونازول شایع نیست (۲۳).

حساسیت *کاندیدا دابلینینسیس* در شرایط آزمایشگاهی نسبت به تری‌آزول‌های[28] جدید بررسی و مشاهده شده است که حساسیت نسبت به فلوکونازول در این گونه کاهش یافته است MIC (ساوی یا بیشتر از ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر)، میزان MIC در ایتراکونازول مساوی و یا کمتر از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۶).

حساسیت آزمایشگاهی *کاندیدا دابلینینسیس* نسبت به عوامل ضدّقارچی مختلف بررسی شده است؛ بیشتر ایزوله‌ها به داروهای ضدّقارچی حساس بودند که در این میان ۷۵/۹٪ به کتوکونازول حساس و ۸۶/۲٪ به فلوکونازول و ایتراکونازول حساس بودند (۲۳).

فعالیت چند داروی ضدقارچی نظیر کتوکونازول، میکونازول[29]، وریکونازول[30]، ایتراکونازول و فلوکونازول نسبت به *مالاسزیا فورفور* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است و نتایج نشان داد که داروها دارای فعالیت قابل توجهی می‌باشند؛ کتوکونازول و ایتراکونازول از سایر داروها فعالیت بیشتری داشتند (۲۵).

در مطالعه‌ای دیگر حساسیت دارویی *مالاسزیا فورفور* نسبت به عوامل ضدّقارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول بررسی شد؛ میزان MIC کتوکونازول نسبت به *مالاسزیا فورفور* ۰/۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای ایتراکونازول و فلوکونازول به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (۲۶).

در یک بررسی حساسیت دارویی ایتراکونازول و فلوکونازول نسبت

28 Triazoles
29 Miconazole
30 Voriconazole

بـه ایزوله‌های بالینـی کریپتوکوکوس ارزیابی شـد؛ حساسـیت به ایتراکونازول و فلوکونازول ۹۳/۲٪ و ۸۴/۱٪ تعیین گردید (۲۷).
گاهی ممکن اسـت در برخـی از قارچها وجود تـوأم دو دارو باعث تضعیف اثرات یکی از آنها یا هر دو شود؛ به طور مثال در حالی که هر دو داروی مایکونازول و آمفوتریسین B[31] از فعالیت ضدقارچی بالایی برخوردارند ولی وجود مایکونازول در محیط به علت ممانعت از سنتز ارگوسترول نوسط سلول قارچی موجب تضعیف فعالیت آمفوتریسین B می‌گردد (۲۸).
فعالیـت ضدقارچـی فلوکونـازول در ترکیب با لواسـتاتین[32] و تأثیر آنها بر روی بیان ژن در مسـیر بیوسـنتز ارگوسترول و پرینیلیشن[33] در کاندیـدا آلبیکنس ارزیابی شـد. مطالعات بـر روی حداقل غلظت ممانعت‌کنندگـی از رشـد نشـان داد کـه لواسـتاتین بـه صـورت سینرژیستیکی[34] با فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی عمل می‌کند. بیان ژن‌ها در بخش اول مسـیر استرول مانند HMG1 و ERG20 در حضور ترکیب فلوکونازول با لواسـتاتین تغییری نمی‌کند؛ در حالی که بیان ژن‌های دخیل در مرحله بعدی مسیر استرول مانند ERG9 و ERG11 در پاسخ به این داروها افزایش می‌یابد (۲۹).
همچنیـن افزایش فعالیت فلوکونازول در ترکیب با آنتی‌اکسـیدان‌ها بر روی ارگانیسـم‌های مقاوم به فلوکونازول مورد بررسی قرار گرفت و مشـاهده شـد که فلوکونازول بـه تنهایی هیچ فعالیتـی بر روی ارگانیسم‌های مقاوم ندارد و آنتی‌اکسیدان‌ها فعالیت فلوکونازول را از طریق افزایش نفوذپذیری غشای سلولی افزایش می‌دهند (۳۰).
بررسـی تاثیر عصاره آبی و روغن پیاز بر الگوی رشـد و تولید آنزیم کراتیناز در تریکوفایتون منتاگروفایتس نشان می‌دهد که ارتباط معینی میان غلظت‌های خاصی از عصـاره با مهار فعالیت آنزیم وجود دارد. عصاره آبی پیاز و سیر باعث مهار رشد تریکوفایتون منتاگروفایتس از طریق وابسـته به غلظت می‌شوند و در غلظت‌های مشخص فعالیت ویژه آنزیم کراتیناز خارج سلولی را مهار می‌کند (۲۲).
همچنیـن تاثیـر عصاره پیـاز بـر روی *اسـترپتوکوکوس موتانس*، *اسـترپتوکوکوس سـوپرینوس*، *پورفیرومونـاس ژنژیوالیس و پروتلا اینترمدیا* بررسی شد و نتایج نشان داد که تعداد باکتریهای مذکور در افرادی که بطور روزمره از پیاز استفاده می‌کنند کمتر است (۶).
تاثیر عصاره آبی پیاز،سـیر و موسـیر بر روی برخی از ارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچها با اسـتفاده از تکنیک انتشار در آگار بررسی شـد و مهار رشـد معنی داری در اغلب ارگانیسم‌ها مشاهده گردید (۳۱).
همچنین در یک مطالعه فعالیت ضدقارچی روغن پیاز،عصاره سـیر و چند عصاره دیگربر روی ۱۰ گونه قارچی مورد بررسـی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روغن پیاز اثر ممانعت کنندگی بالایی علیه بیشتر قارچهای تست شده اعمال می‌کند (۷).
در یک مطالعه اثر مهارکننده عصاره خام پیاز در ۲ گونه از مخمرها و ۵ باکتری گرم منفی و ۳ باکتری گرم مثبت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشـان داد که عصاره پیاز بـرروی باکتریهای گرم منفی هیچ تاثیری نداشت (۳۲).
اثر مهارکنندگی پیاز سبز و چند عصاره دیگر برروی رشد *آسپرژیلوس نایجر* و *آسـپرژیلوس فلاووس* در شـرایط مختلف موردبررسی قرار گرفت و نتایج نشـان داد که پیاز سبز پس از قرار گرفتن در دماهای ۶۰ و ۸۰ درجـه سـانتیگراد خاصیـت ضدقارچی خـود را در مقابل *آسـپرژیلوس نایجر* بطور موثری از دست می‌دهد در حالیکه فعالیت ضدقارچی پیاز سبز در مقابل *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به حرارت مقاوم است (۸).
در مطالعـه دیگری اثـر عصاره‌های مختلف گیاهـان گونه آلیوم در شـرایط مختلف برروی ۳ گونه قارچ آسـپرژیلوس مورد بررسی قرار گرفت.استفاده از کلرید سدیم در غلظتهای ۰/۰۲و ۰/۰۴ مولار برای تهیـه عصاره‌های مذکور هیچ تأثیری یـر روی اثرمهارکنندگی این عصاره‌ها نداشـت،در حالیکه افزایش دما و زمان انکوباسـیون سبب کاهش فعالیت ضدقارچی این عصاره‌ها می‌شود (۳۳).
در همین راسـتا تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی گیاه پیاز بصورت جداگانه و در ترکیب باداروهای فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول بر روی مخمرهای بیماریزا شـامل *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدادابلینینسـیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* صورت گرفته اسـت. نتایج بدست آمده نشـان‌داد که ترکیبات مورد اسـتفاده از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار نسبی یا کامل رشد

31 Amphotericin B
32 Lovastatin
33 Prenylation
34 Synergistical

عوامل مخمری‌می‌باشند و میزان مهار رشد بر حسب نوع ارگانیسم و غلظت و نوع ترکیب مورد استفاده متفاوت است.

در این رابطه میزان محدوده MIC90، MIC50 و MFC عصاره‌آبی پیاز برای عوامل قارچی به ترتیب برابر ۴- ۰/۵، ۳۲- ۰/۵ و ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

در صورت ترکیب عصاره آبی پیاز (به نسبت ۱:۱) با داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول وکتوکونازول میزان MIC90، MIC50 و MFC ترکیبات نسبت به زمانی که بطور جداگانه استفاده می‌شوندکاهش می‌یابد (جدول۱).

نتایج این بررسی نشان داد که عصاره پیاز در مقایسه با داروی فلوکونازول بر روی *کاندیدا آلبیکنس* مؤثرتر است. ترکیب عصاره پیاز و داروی فلوکونازول دارای اثر یکسانی برروی مالاسزیافورفور می‌باشند اما در مورد *کاندیدا دابلینینسیس* و *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* تاثیر فلوکونازول بیشتر از عصاره پیاز است.داروهای ایتراکونازول و کتوکونازول نیز در مقایسه با عصاره پیاز بر روی مخمرهای مذکور موثرتر می‌باشند و ترکیب عصاره پیاز با داروهای آزولی بیشترین تاثیر را برروی مالاسزیافورفور دارد.

نتیجه گیری:

در مطالعات سایر محققان نیز اثرات ضد قارچی پیاز بر روی رشد عوامل قارچی نظیر گونه‌های کاندیدا،کریپتوکوکوس و *مالاسزیا فورفور* با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر همخوانی دارد و در مجموع نشان‌می‌دهد حساسیت دارویی بر حسب نوع ترکیبات ضد قارچی و نوع ایزوله قارچی متفاوت است. هر چنداستفاده مرکب از ترکیبات ضد قارچی بطور مناسبی منجر به افزایش فعالیت ضد قارچی هر یک از ترکیبات به‌تنهایی می‌گردد و بدنبال استفاده از ترکیبات گیاهی که دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند اثرات سمی ناشی‌از ترکیبات ضد قارچی سنتتیک کاهش یافته است و با استفاده از مقادیر غیر سمی دارو مهار رشد ارگانیسم‌مشاهده می‌شود، لذا بررسی و یافتن عصاره‌های گیاهی با خواص ضد میکروبی که منجر به افزایش فعالیت‌داروهای ضد قارچی گردد بدلیل کاهش محدودیت در استفاده و کاهش عوارض جانبی ناشی از آنها می‌تواندراهگشای درمان بسیاری از عفونتهای قارچی گردد.

References

1. Kantarcioglu AS, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant *Candida dubliniensis* strain among *Candida albicans* isolated from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. Rev Iberoam Mycol 2002; 19: 44-8.

2. Anaissie EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. United Kingdom 2003. pp. 195-6.

۳. آنیوم، آ.پیام یونسکو ترجمه پیرسیدی م. ۱۳۶۸،صفحه ۷.

4. Bannerman RH, Burton J, Wen C. Traditional Medicine and health care coverage. England. MAC Millan/Spoottis Wood 1983. pp. 9-17, 90, 99-100.

5. Bently R,and Triman H. Medicinea Plants. Indian (Eehli). Reptint I Davendra Gahlot 1981; 3: 172.

6. Kim JH. Anti-Bacterial action of onion (*Allium cepa*) extracts against oral pathogenic bacteria. J Nihon Univ Sch Dent 1997; 39: 136-41.

7. Bagy MM, CI-Shanawany AA, Abdel-Mallek AY. Saprophytic and cyclohexamide resistant fungi isolated ffom golden hamster. Acta Microbial Immunol Hung1998; 4:195-207.

8. Yin M, Cheng W. Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and species. J Food Protect 1998; 61: 123-5.

9. Takahama U,Hirota S.Deglucosilation of quercetin glucosides to the aglycone and formation of food microbiology 2000; 49: 49-56.

10. Dentinger CM, Bower WA. An outbreak of hepatitis associated with green onion. J Infect Dis 2001; 183: 1273-6.

11. Motsei ML, Lindsey KL. Screening of traditionally used soughofrican plants for antifungal activity against *Candida albicans*. Journal of Ethnopharmacology 2003; 86: 235-41.

12. Shams-Ghahfarokhi M., Goodarzi M., Al-Tiraihi T., Razzaghi-Abyaneh M and Seyedipour GH. Morphological evidences for onion-induced growth inhibition of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* . Fitoterapia 2004; 75: 645-655.

13. Shams-Ghahfarokhi M., Shokoohamiri MR., Amirrajab N., Moghadasi B, Ghajari A., Zeini F., Sadeghi G and Razzaghi-Abyaneh M. In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. Fitoterapia 2006; 77: 321-323.

14. NCCLS document M27-A. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved 1977; 17: 1-29.

15. NCCLS document M38-P. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of condition-forming filamentous fungi. Approved standard 1998; 22: 1-29.

16. Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sulliveun DJ. In- vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new Triazole and echinocandin Antifungal agents. J Clinical Microbiol 1999; 37: 870-2.

17. Gutierrez J, Morales P, Gonzalez MA, Quindos G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. J Basic Microbial 2002; 42: 207-27.

18. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, Warnock DW. Comparative evaluation of fungitest and broth microdilution methods of antifungal drug susceptibility testing of candida species and *Cryptococcus neoformans*. J Clinical Microbiol 1998; 36: 926-30.

19. Zaini F, Mahbod ASA, Emami M. Comprehensive Medical Mycology. First edition. Tehran, 1377 :330-48

20. Hassan HA, Mahmoud Al. Inhibitory effects of spice oil on lipase and mycotoxin production. Zentralbl Microbiol 1993; 148: 543-8.

21. Zohri AN, Gawad K, Saber S. Antibacterial antidermatophytic and antitoxinogenic activities of Onion (Allium cepa) oil. Microbiol Res 1995; 150: 167-72.

22. Shams M, Razafsha M, Allameh A, Razzaghi M. Inhibitory effects of aqueous onion and garlic extracts or growth and keratinase activity in *Trichophyton mentagrophytes*. Iran Biomed J 2003; 7: 113-8.

23. Quindos G, Carrillo Munoz AJ, Arevalo MP, Salgado J, Alonso Va R, Rodrigo JM, et al. In-vitro susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and antifungal agents.Chemotherapy 2000; 46: 395-401.

24. Canton E, Peman J, Carrillo-Mucoz A, Orero A, Vbeda P, Gobernado M. Fluconazole susceptibilities of blood stream candida spp.isolates and determined by national Committee for clinical laboratory standards method M27-A and two other methods. J Clinical Microbiol 1999; 37: 2197-200.

25. Gupta AK, Kohli Y, Li A, Faergemann J, Summerbell RC. In-vitro susceptibility of the seven Malassezia species to Ketoconazole, Voriconazole, Itraconazole and Terbinafine. Br J Dermatol 2000; 42: 758-65.

26. Zissova LG, Kantarjiev TB, Kuzmanov AH. Drug

susceptibility testing of *Malassezia furfur* strains to antifungal agents. Folia Med (Plovdiu) 2001; 43: 10-2.

27. Datta K, Jain N, Sethi S, Rattan A, Casadevall A, Banerjee U. Fluconazole and Itraconazole susceptibility of clinical isolates of *Crypyococcus neoformans* at a tertiary care center in India: a need for care. Antimicrobe Chemother 2003; 52: 683-6.

28. Graybill JR, Mitchell L, Levine HB. Treatment of Experimental Murine Crypotococcosis: a Comparison of Miconazole and Amphotericin B. Antimicrob Agents Chemother.1978; 13: 277-283.

29. Song JL, Lyons CN, Holleman S, Oliver BG, White TC. Antifungal activity of fluconazole in combination with lovastatin and their effects on gene expression in the ergosterol and prenylation pathways in *Candida albicans*. Med Mycol 2003; 41: 417-25.

30. Simonetti G, Villa A, Simonetti N. Enhanced contact activity of Fluconazole in association with antioxidants against fluconazole-resistat. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2002; 50: 257-259.

31. Elnina EL, Ahmed SA, Mekkawi AG, Mossa JS. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. Pharmazie 1983; 38: 747-8.

32. Dankert J, Tromp TF, Uries H, klasen HJ. Antimicrobial activity of crude juices of Allium as calonicum, *Allium cepa* and *Allium sativum*. Zentrabial Bakteriol 1979; 245: 229-39.

33. Yin MC, Tsaos M. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. Int Food Microbial 1999; 49: 49-56.