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 علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / بهار ۱۳۸۸ / دوره ۱۱ / شماره ۱ (پی در پی ۲۹) / صفحات ٤٩ تا ٥٦

تحقیقی

اثر ضدقارچی عصاره آبی گیاه سیر *(Allium sativum)* به صورت مجزا و در ترکیب با فلوکونازول ، ایتراکونازول و کتوکونازل روی مخمرهای بیماری‌زا

آتوسا رزاق پرست[1]، دکتر معصومه شمس قهفرخی*[2]، دکتر محمد حسین یادگاری[2]، دکتر مهدی رزاقی ابیانه[3]

۱- کارشناس‌ارشد قارچ‌شناسی پزشکی. ۲- استادیار گروه قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس. تهران.

۳- دانشیار گروه قارچ‌شناسی، انستیتو پاستور ایران. تهران.

چکیده

زمینه و هدف : *افزایش عفونت‌های قارچی سیستمیک ناشی از مخمرهای بیماری‌زا ، همچنین مقاومت این عوامل نسبت به داروهای ضدقارچی، یافتن ترکیبات ضدقارچی با کارایی بالا را ضروری می‌نماید. این مطالعه به منظور تعیین اثر ضدقارچی عصاره آبی گیاه سیر به‌صورت مجزا و در ترکیب با داروهای ضدقارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول روی برخی از مخمرهای بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی عصاره آبی سیر با دوز ۲۵۶-۰/۰۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌صورت مجزا و در ترکیب با داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول روی مخمرهای بیماری‌زا شامل کاندیداآلبیکنس PTCC۵۰۵۷، کاندیدا دوبلینینسیس CD۳٦، کریپتوکوکوس نئوفرمنس (CNE) و مالاسزیا فورفور (MF) از روش رقیق‌سازی در محیط کشت مایع در دو محیط کشت سابورو دکستروز براث و محیط دیکسون براث تغییریافته استفاده گردید. مقادیر حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) برای هریک از ترکیبات براساس شمارش تعداد کلنی‌های قارچی (CFU) در مقایسه با گروه های شاهد و کنترل دارویی محاسبه شد.*

یافته‌ها : *میزان محدوده MIC عصاره آبی سیر برای کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس،کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور برابر ٦٤-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. در حالی که میزان محدوده MIC آن در ترکیب با فلوکونازول به ترتیب برابر ۸-۰/۱۲۵، ۱٦-۰/۰۲۵، ۱٦-۰/۱۲۵ و ۸-۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، در ترکیب با ایتراکونازول به ترتیب برابر ۸-۰/۲۵، ۲-۰/۱۲۵، ۱٦-۰/۱۲۵ و ٤-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان محدوده MIC این عصاره در ترکیب با کتوکونازول به ترتیب برابر ٤-۰/۱۲۵، ۱-۰/۱۲۵، ۸-۰/۱۲۵ و ۲-۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. مقایسه میان میزان MICs داروهای ضدقارچی و ترکیب آنها با عصاره آبی سیر نشان داد که فعالیت ضدقارچی در همه اشکال ترکیبی در مقایسه با به‌کارگیری شکل مجزا دارو افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *ترکیب عصاره آبی سیر با داروهای فوق، منجر به افزایش فعالیت ضدقارچی داروها و کاهش مقادیر حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی آنها علیه عوامل قارچی مورد مطالعه در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *مخمرهای بیماری‌زا ، آلیوم ساتیوم ، فلوکونازول ، ایتراکونازول ، کتوکونازول ، اثرات هم‌افزایی*

* *نویسنده مسؤول : دکتر معصومه شمس قهفرخی ، پست الکترونیکی : shamsm@modares.ac.ir*

نشانی : تهران ، دانشگاه تربیت مدرس ، دانشکده پزشکی ، گروه قارچ‌شناسی ، تلفن : ۸۲۸۸۴۵۰۵ (۰۲۱) ، نمابر : ۸۲۸۸۴۵۵۵

وصول مقاله : ۸۶/۱۰/۳۰، اصلاح نهایی : ۸۷/۱۰/۲۲، پذیرش مقاله : ۸۷/۱۲/۱۱

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

در سال‌های اخیر افزایش عفونت‌های سیستمیک قارچی ناشی از مخمرهای بیماری‌زا از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر به‌خصوص در بیماران بستری در بیمارستان بوده است و درمان‌های ضدقارچی رایج با استفاده از داروهای متداول برای درمان این بیماران کاملاً مؤثر نمی‌باشد. در این میان پاتوژن‌های بیماری‌زا و فرصت‌طلب مهم مانند *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) و سایر گونه‌های کاندیدا، به‌خصوص *کاندیدا دابلینینسیس* (*Candida dubliniensis*) و *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* (*Cryptococcus neoformans*) نقش به‌سزایی را در ایجاد عفونت‌های سیستمیک در بیماران با نقص سیستم ایمنی نظیر بیماران مبتلا به ایدز، سرطان و بیماران پیوندی به‌عهده دارند. همچنین عفونت‌های سیستمیک ناشی از گونه‌های مالاسزیا (Malassezia) و به‌خصوص *مالاسزیا فورفور* (*Malassezia furfur*) در نوزادان به دنبال آلودگی‌های بیمارستانی و در افرادی که از طریق کاترهای وریدی ترکیبات چربی دریافت می‌کنند، به وفور مشاهده شده است (۱و۲). بیشتر این عوامل قارچی با داروهای ضدقارچی آزولی به‌ویژه فلوکونازول درمان می‌شوند. درمان‌های ضدقارچی رایج با استفاده از داروهای ضدقارچی متداول کاملاً موثر نمی‌باشد و این امر به‌دلیل وجود اثرات متعدد جانبی و مقاومت دارویی به عوامل پاتوژن پس از استفاده طولانی مدت دارو می‌باشد (۱و۲).

به علت ظاهرشدن عوارض نامطلوب و جانبی ترکیبات سنتتیک و عدم سازگاری آنها با انسان و همچنین به‌دلیل ارزبری و هزینه بالای تهیه داروها و ناتوانی بسیاری از کشورهای جهان سوم برای خرید چنین داروهایی توجه خاصی به سمت تهیه ترکیبات دارویی موثر و بی‌خطر از گیاهان معطوف شده است (۳و۴). استفاده از گیاهان دارویی همراه با هم یا با داروهای مدرن امروزی به منظور کاهش عوارض‌جانبی دارو به صورت ترکیب برای اهداف درمانی مورد استقبال قرار گرفته است (۵). مطالعات دارویی دهه اخیر نشان می‌دهد که عوامل ضدقارچی به‌دست آمده از منابع طبیعی مانند گیاهان، دارای عوارض جانبی محدود و تاثیرات به‌سزایی می‌باشند. گزارش‌هایی در استفاده از گیاهانی مانند سیر (*Allium sativum*) در درمان بیماری‌های قارچی وجود دارد که به پاره‌ای از آنها اشاره می‌شود.

ترکیبات آلیل سولفیدی سیر به عنوان عوامل ضدمیکروبی معرفی شده است (۶). تاثیر عصاره سیر در کاهش و جلوگیری از فعالیت‌های آنزیمی قارچی به اثبات رسیده است (۷). اثر عصاره سیر تازه در ممانعت از رشد *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به پودر سیر موثرتر بیان شده و استفاده از ترکیبات سیر برای ساخت داروهای ضدکاندیدایی پیشنهاد گردیده است (۸).

حساسیت *سدوسپوریوم پرولیفیکنس* نسبت به آجوئن، آلیتیریدیوم و عصاره خام سیر در شرایط ازمایشگاهی بررسی شده و نتایج نشان داده است که هم عصاره خام سیر و هم مشتقات نامبرده آن دارای فعالیت مهارکنندگی علیه *سدوسپوریوم پرولیفیکنس* می‌باشند (۹).

تاثیر ضدقارچی عصاره‌های آبی سیر و پیاز در مقایسه با کتوکونازول روی ۲۵ ایزوله *مالاسزیا فورفور* و گونه‌های مختلف کاندیدا که از بیماران مبتلا به ولوواژینیت جداسازی شده بودند، بررسی گردیده است (۱۰). همچنین اثرات ضدقارچی عصاره آبی سیر و ترکیب آن با فلوکونازول علیه گونه‌های کاندیدای شایع جداشده از کاندیدیازیس در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته است (۱۱).

فعالیت ضدقارچی ۲۴ گیاه دارویی سنتی در آفریقای جنوبی بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* بررسی شده است (۱۲).

فعالیت ضدقارچی روغن پیاز، عصاره سیر و چند عصاره دیگر روی ۱۰ گونه قارچی بررسی شده است (۱۳).

از آنجایی که عفونت‌های قارچی سیستمیک عمدتاً به وسیله مخمرهای مقاوم به داروهای ضدقارچی نظیر فلوکونازول و ایتراکونازول ایجاد می‌شود، لذا بررسی و مطالعه در زمینه یافتن عصاره‌های گیاهی با خواص ضدمیکروبی بالا و حداقل اثرات جانبی روی میزبان و خالص‌سازی مواد موثره آنها، می‌تواند راهگشای درمان بسیاری از عفونت‌های قارچی مقاوم به داروهای ضدقارچی سنتتیک گردد (۲۰-۱۴). همچنین استفاده از داروهای ضدقارچی در ترکیب با یکدیگر منجر به جلوگیری یا تأخیر در گسترش عناصر قارچی مقاوم به یک نوع داروی ضدقارچی می‌گردد و به جای استفاده از دوزهای منفرد سمی سبب استفاده از مقادیر پایین‌تر دو یا چند

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

داروی ضدقارچی می‌گردد (۱۷-۱۴). لذا استفاده از داروهای‌ضدقارچی به‌صورت ترکیب با عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت ضدمیکروبی می‌تواند، سبب پیشگیری و یا تعویق گسترش مقاومت عوامل قارچی نسبت به داروهای ضدقارچی و کاهش سمیت ناشی از مصرف دوزهای بالا و منفرد آنها گردد (۲۰-۱۸).

در همین راستا تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره آبی گیاه سیر به صورت جداگانه و در ترکیب با داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول روی مخمرهای بیماری‌زا شامل *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دوبلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* به منظور افزایش اثرات هم‌افزایی گیاه در استفاده از داروهای ضدقارچی آزولی معمول صورت گرفته است.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی در دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران طی سال ۱۳۸۳ انجام گردید.

ارگانیسم‌ها

به منظور تعیین حساسیت دارویی عوامل مخمری بیماری‌زا نسبت به عصاره آبی سیر به‌طور منفرد و در ترکیب با داروهای ضدقارچی فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول از مخمرهای *کاندیدا آلبیکنس* PTCC۵۰۵۷، *کاندیدا دابلینینسیس* CD۳۶، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* (CNE) و *مالاسزیا فورفور* (MF) که از موارد بالینی جداسازی شده بودند، استفاده گردید.

تهیه محلول‌های دارویی

به منظور تهیه محلول‌های دارویی، ۲/۰۴۸ میلی‌گرم از پودر فلوکونازول ، ۲/۰۴۸ میلی‌گرم از پودر ایتراکونازول و ۲/۰۴۸ میلی‌گرم از پودر کتوکونازول (داروها از شرکت پارس دارو تهیه گردید)، هر یک در یک میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید (Dimethyl sulfoxide: DMSO) به‌طور 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 منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای مصارف بعدی نگهداری شد.

تهیه عصاره آبی سیر

برای تهیه عصاره آبی سیر ابتدا پوست یک کیلوگرم از حبه‌های سیر (*Allium sativum L.*) که از بخش گیاه‌شناسی موسسه جنگل‌ها و مراتع جهاد کشاورزی تهیه شده بود، جدا گردید. پس از شستشو با استفاده از هموژنایزر به‌خوبی هموژن گردید و عصاره آبی سیر با استفاده از تنظیف استریل گرفته شد. سپس با استفاده از استوانه مدرج حجم آن اندازه‌گیری گردید. عصاره آبی سیر در سانتریفوژ یخچال‌دار با ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۳۰دقیقه سانتریفوژ شد و سپس مایع رویی جداسازی شد و در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. با استفاده از دستگاه فریز درایر عصاره آبی سیر کاملاً خشک و پودر سیر تهیه گردید. میزان ۲/۰۴۸ میلی‌گرم از پودر سیر در یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل گردید و با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر استریل شد و برای مصارف بعدی در منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه سوسپانسیون قارچی

سوسپانسیونی از هر یک از کشت‌های ۴۸ - ۲۴ ساعت *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا دوبلینینسیس* و کشت ۴۸ ساعت *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و کشت ۵ روزه *مالاسزیا فورفور* با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. عناصر قارچی با استفاده از لام نئوبار شمارش شد و غلظتی معادل ۳×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر تعیین گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد محلول‌های دارویی و عصاره آبی سیر با استفاده از روش رقیق‌سازی میکروبراث (Microbroth dilution method) و بررسی حساسیت دارویی براساس روش پیشنهاد شده توسط کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی برای مخمرها (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (NCCLSM27-A) انجام گرفت (۲۱). به منظور تعیین حساسیت مخمرهای مذکور نسبت به عصاره آبی سیر، داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول و ترکیب این داروها با عصاره آبی سیر، رقت‌های متوالی دو برابر از استوک اولیه داروها در محدوده غلظت ۱۲۸-۰/۰۱۵ و عصاره آبی سیر در محدوده غلظت ۲۵۶-۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر

در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. میزان ۵۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌ها (به صورت منفرد و در ترکیب با عصاره آبی سیر به میزان ۵۰:۵۰) به گوده‌های پلیت ۹۶ خانه حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از محیط دیکسون تغییر یافته مایع (Modified dixon broth) برای تلقیح *مالاسزیا فورفور* و ۱۰۰میکرولیتر از محیط سابورو براث (Sabouraud broth) برای تلقیح سایر مخمرها اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلول‌های مخمری در حجم‌های معادل 3×10^5 سلول در هر میلی‌لیتر به همه گوده‌های پلیت تلقیح گردید.

پلیت‌های حاوی *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دابلینینسیس* و *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی *مالاسزیا فورفور* به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در داخل شیکرانکوباتور با ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند. لازم به ذکر است که هر یک از رقت‌ها به صورت سه‌تایی مورد بررسی قرار گرفتند. از سرم فیزیولوژی استریل در مواردی که دارو نیاز به حلال آلی نداشت، به عنوان شاهد گروه ۱و از بیشترین غلظت حلال بدون حضور دارو به عنوان شاهد گروه۲ استفاده گردید. پس از زمان انکوباسیون ۱۰ میکرولیتر از محتویات هر یک از گوده‌ها برداشته شد و در مورد *مالاسزیا فورفور* بر روی محیط دیکسون آگار تغییریافته (Modified dixon agar) و در مورد سایر مخمرها بر روی محیط سابورو دکستروز آگار (Sabouraud dextrose agar) کشت داده شد و سپس پلیت‌های مربوط به *مالاسزیافورفور* به مدت ۵ روز در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های مربوط به *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا دابلینینسیس* به مدت ۲۴-۴۸ ساعت و پلیت‌های مربوط به *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این مدت میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) و حداقل غلظت قارچ کشی دارو (Minimum Fungicidal Concetration: MFC) هر یک از رقت‌های عصاره آبی سیر و داروهای مذکور و ترکیب آنها با عصاره آبی سیر نسبت به گروه شاهد بر اساس شمارش تعداد کلنی‌های قارچی (CFU) محاسبه گردید.

یافته‌ها

بررسی اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف عصاره آبی سیر در محدوده ۲۵۶ - ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که این عصاره قادر به مهار رشد عوامل قارچی از طریق وابسته به غلظت می‌باشد (جدول ۱).

نتایج به‌دست آمده در تمامی غلظت‌های مورد بررسی به‌جز غلظت‌های ۰/۱۲۵- ۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد کاندیدا و *کاندیدا دوبلینینسیس*، غلظت ۰/۲۵-۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و غلظت‌های ۰/۵-۰/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد *مالاسزیا فورفور* در مقایسه با گروه شاهد ۱ و شاهد ۲ از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید ($P<0/05$). میزان محدوده MIC عصاره آبی سیر برابر ۶۴-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (جدول ۱).

غلظت‌های مختلف ترکیبی عصاره سیر و داروی فلوکونازول در محدوده ۱۲۸-۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (عصاره گیاهی و دارو به نسبت مساوی ۱:۱ به‌کار رفته است.) بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد عوامل قارچی می‌باشد (جدول ۱).

نتایج به‌دست آمده از میزان محدوده MIC این عصاره در ترکیب با داروی فلوکونازول در مورد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دوبلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* که به ترتیب برابر ۸-۰/۱۲۵ ، ۱۶-۰/۲۵، ۱۶-۰/۱۲۵ و ۸-۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید، در مقایسه با گروه‌های شاهد و دارویی مربوطه از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید ($P<0/05$) (جدول ۱).

غلظت‌های مختلف ترکیبی عصاره سیر و داروی ایتراکونازول در محدوده ۱۲۸-۰/۰۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (عصاره گیاهی و دارو به نسبت مساوی ۱:۱ به‌کار رفته است.) بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد عوامل قارچی می‌باشد (جدول ۱).

نتایج به‌دست آمده از میزان محدوده MIC این عصاره در ترکیب با داروی ایتراکونازول در مورد *کاندیدا آلبیکنس*،

جدول ۱ : میزان اثرات ضدقارچی عصاره آبی سیر به صورت مجزا و در ترکیب با داروهای فلوکونازول ، ایتراکونازول و کتوکونازول روی مخمرهای بیماری‌زا

ارگانیسم	عصاره آبی سیر و داروها	محدوده غلظت (میکروگرم/میلی‌لیتر)	میزان MIC (میکروگرم بر میلی‌لیتر) MIC۵۰	MIC۹۰	میزان MFC (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
کاندیدا آلبیکنس PTCC۵۰۵۷	AGE	۰/۰۳-۲۵۶	۰/۵	۲	۶۴
	Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۴	۱۲۸
	AGE+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۸
	It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۲	۳۲
	AGE+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۸
	Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۴	۶۴
	Acp+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۵	۸
کاندیدا دابلینینسیس CD-۳۶	AGE	۰/۰۳-۲۵۶	۰/۵	۱	۶۴
	Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۱	۳۲
	AGE+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۱۶
	It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۸
	AGE+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۲
	Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۱	۸
	AGE+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۱
کریپتوکوکوس نئوفرمنس CNE-۱	AGE	۰/۰۳-۲۵۶	۰/۲۵	۰/۵	۶۴
	Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۰/۵	۶۴
	AGE+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۱۶
	It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۳۲
	AGE+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۱۶
	Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۰/۲۵	۶۴
	AGE+Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۸
مالاسزیا فورفور MF-۱	AGE	۰/۰۳-۲۵۶	۴	۱۶	۶۴
	Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۱	۸	۶۴
	AGE+Flu	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۲	۸
	It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۱	۴	۶۴
	AGE+It	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۲۵	۱	۴
	Kcz	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۵	۲	۳۲
	AGE+Kcz z	۰/۰۱۵-۱۲۸	۰/۱۲۵	۰/۵	۲

AGE : عصاره آبی سیر ، Flu : فلوکونازول ، It : ایتراکونازول ، Kcz : کتوکونازول

کاندیدا دوبلینینسیس، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا فورفور* که به ترتیب برابر ۸-۰/۲۵، ۲-۰/۱۲۵، ۱۶-۰/۱۲۵ و ۴-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید، در مقایسه با گروه‌های شاهد و دارویی مربوطه از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

غلظت‌های مختلف ترکیبی عصاره سیر و داروی کتوکونازول در محدوده ۱۲۸-۰/۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (عصاره گیاهی و دارو به نسبت مساوی ۱:۱ به‌کار رفته است.) بر رشد مخمرهای مذکور نشان داد که ترکیب مذکور از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد ارگانیسم‌ها می‌باشد (جدول ۱).

نتایج به‌دست آمده از میزان محدوده MIC این عصاره در ترکیب با داروی کتوکونازول در مورد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دوبلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفرمنس* و *مالاسزیا*

فورفـور بـه ترتیـب برابـر ۴-۰/۱۲۵، ۱-۰/۱۲۵، ۸-۰/۱۲۵ و ۲-۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید که در مقایسه با گـروه‌هـای شـاهد و دارویـی مربوطـه از نظـر آمـاری معنـی‌دار گزارش گردید (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

بحث

در این مطالعـه میـزان محـدوده MIC۵۰، MIC۹۰ و MFC عصاره‌آبی سیر برای عوامل قـارچی بـه ترتیـب برابـر ۴-۰/۲۵، ۱۶-۰/۵ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردیـد کـه تقریباً مشابه اثر ضدقارچی داروی کتوکونازول مـی‌باشـد (جـدول۱). به‌دنبـال ترکیـب عـصاره آبـی سیر بـا داروهـای فلوکونـازول، ایتراکونـازول و کتوکونـازول (بـه نـسبت ۱:۱) کـاهش میـزان MIC۵۰، MIC۹۰ و MFC نـسبت بـه زمـانی کـه هـر یـک از ترکیبات به‌طور جداگانه استفاده می‌شوند، بـه‌وضـوح مـشاهده گردید (جدول ۱).

مطالعـات سـایر محققـین نـشان داده اسـت کـه حـساسیت گونه‌های مختلف کاندیدا که از بیمـاران مبـتلا بـه ولوواژینیـت جداسازی شده بودند، نسبت به داروی کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی متفاوت است (۲۲). همچنین در مبتلایان به ایـدز گزارشـاتی از مقاومـت بـالینی *کاندیـدا آلبیکـنس* نـسبت بـه فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی وجود دارد (۲۳).

در بررسـی حـساسیت *کاندیـدا دابلینینـسیس* در شـرایط آزمایـشگاهی نـسبت بـه تـری‌آزول‌هـای (Triazoles) جدیـد مشاهده شد که حساسیت نسبت بـه فلوکونـازول در ایـن گونـه کاهش یافت و ۷۵/۹درصد ایزوله‌ها به کتوکونازول حساس و ۸۶/۲درصد ایزوله‌هـا بـه فلوکونـازول و ایتراکونـازول حـساس بودند (۱۵و۲۴).

فعالیـت داروهـای ضـدقارچی کتوکونـازول، میکونـازول (Miconazole)، وریکونازول (Voriconazole)، ایتراکونازول و فلوکونـازول نـسبت بـه *مالاسـزیا فورفـور* در شـرایط آزمایشگاهی بررسی شده و نتایج نـشان داده اسـت کـه اثـرات ضـدقارچی داروهـای کتوکونـازول و ایتراکونـازول روی ایزوله‌های *مالاسزیا فورفور* از سایر داروها بیشتراست (۲۵).

نتایج حاصل از بررسـی حـساسیت دارویـی ایتراکونـازول و فلوکونازول نسبت به ایزوله‌هـای بـالینی کریپتوکوکـوس نـشان داد که به ترتیب حدود ۹۳/۲درصد و ۸۴/۱درصد از ایزولـه‌هـا نسبت به ایتراکونازول و فلوکونازول حساسیت داشتند (۲۶).

در رابطه با مطالعاتی که در زمینه اثـرات ضـدمیکروبی سـیر صورت گرفته، نتایج نشان داده که عـصاره‌هـای آبـی و روغـن گیـاه سـیر حـاوی اسـیل سـولفیدها و سـایر ترکیبـات آلـی گوگرددار است که می‌توانـد در تـشدید اثـرات ضـدمیکروبی آن نقش داشته باشد (۶و۹).

استفاده از پماد ۴درصد از ترکیب آجوئن مشتق از گیاه سیر منجر به بهبودی کامل ۲۷ بیمار از ۳۴ بیمار مبـتلا بـه کچلـی پـا بعد از گذشت ۷ روز شده است (۲۷).

اثرات ضدقارچی عصاره آبی سـیر روی آسـپرژیلوس‌هـای جدا شده از عفوت اتومایکوز نشان داد که ایـن عـصاره نـسبت به داروهایی که به‌طور عمومی در درمان ایـن بیمـاری مـصرف می‌شوند، موثرتر است (۲۸) و اثرات ضـدقارچی عـصاره‌هـای آبی سیر در مقایـسه بـا کتوکونـازول روی ۲۵ ایزولـه *مالاسـزیا فورفور* و گونه‌های مختلف کاندیدا و درماتوفیـت‌هـا بـه‌خـوبی مشاهده شده است (۱۰).

فعالیت ضـدقارچی سـیر علیـه ۸۸ سـویه بـالینی درماتوفیـت مورد مطالعه نشان داد که سیر می‌تواند، به عنوان یـک ترکیـب ضددرماتوفیتی موثر مورد استفاده قرار گیرد (۲۹).

اثر ضدقارچی عصاره آبی سیر و ترکیب آن با فلوکونـازول علیه گونه‌های کاندیدای شایع جداشده از کاندیدیازیس نـشان داد کـه عـصاره سـیر دارای فعالیـت ضـدقارچی بـالایی علیـه *کاندیـدا تروپیکـالیس* مـی‌باشـد. *کاندیـدا گلابراتـا*، *کاندیـدا آلبیکـنس* و *کاندیـدا پاراپـسیلوزیس* بـه ترتیـب حـساسیت متوسطی نسبت به عصاره سیر نشان دادند، در حالی که *کاندیدا کروزئی* مقاوم‌ترین گونه در مطالعه حاضر بود. ترکیب عصاره سـیر بـا فلوکونـازول باعـث کـاهش MIC در تمـام گونـه‌هـای کاندیدای مـورد آزمـایش شـد (۱۱). نتـایج بـه‌دسـت آمـده از تحقیق حاضر نـشان داد کـه ترکیبـات مـورد اسـتفاده از طریـق وابسته بـه غلظـت قـادر بـه مهـار نـسبی یـا کامـل رشـد عوامـل مخمـری شـامل *کاندیـدا آلبیکـنس*، *کاندیـدا دوبلینینـسیس*، *کریپتوکوکـوس نئـوفرمنس* و *مالاسـزیا فورفـور* مـی‌باشـند و اسـتفاده تـوام عـصاره آبـی سـیر بـا داروهـای فلوکونـازول، ایتراکونازول و کتوکونازول (تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثـرات هم‌افزایی دو داروی اخیر با عصاره آبـی سـیر صـورت نگرفتـه

است.)، منجر به افزایش فعالیت ضدقارچی داروها و کاهش مقادیر حداقل غلظت ممانعت کنندگی آنها علیه عوامل قارچی مورد مطالعه در شرایط آزمایشگاهی می گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که عصاره آبی سیر با داروهای فلوکونازول، ایتراکونازول و کتوکونازول دارای فعالیت ضدقارچی نسبتاً بالایی است و مقادیر حداقل میزان مهارکنندگی داروهای ضدقارچی به دنبال استفاده توام آنها با عصاره آبی سیر کاهش می‌یابد. این اثر هم‌افزایی عصاره آبی سیر منجر به کاهش محدودیت در استفاده از داروهای ضدقارچی سنتتیک به دلیل توکسیسیتی آنها و به دنبال آن کاهش عوارض جانبی ناشی از آنها می گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بود. بدین وسیله از اساتید و کارکنان محترم گروه قارچ‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس و انستیتو پاستور ایران که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر می‌نماییم.

References

1) Kown-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. 1st. Philadelphia: Lea and Febiger. 1992; pp: 81-102.

2) Anaissie EJ, Mc Ginnis MR, Pfaller MA. Clinical Mycology. 1st. United Kingdom: Churchill Livingstone. 2002; pp: 1-14.

3) WHO traditional medicine strategy 2002-2005. World Health Organization. Geneva. 2002; pp:19-26.

4) Bannerman RH, Burton J, Wen C. Traditional medicine and health care coverage. UK: MAC. Millan/Spoottis Wood. 1983; pp:99-100.

5) Pengelly A. The Constituents of Medicinal Plants: An Introduction to the Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicines. 2nd. UK: CABI publishing. 2004; pp: 1-12, 25, 78, 101.

6) Avato P, Tursil E, Vitali C, Miccolis V, Candido V. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. Phytomedicine. 2000;7(3):239-43

7) Muhsin TM, Al-Zubaidy SR, Ali ET. Effect of garlic bulb extract on the growth and enzymatic activities of rhizosphere and rhizoplane fungi. Mycopathologia. 2001;152(3):143-6.

8) Lemar KM, Turner MP, Lloyd D. Garlic (*Allium sativum*) as an anti-Candida agent: a comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts. J Appl Microbiol. 2002;93(3):398-405.

9) Davis SR, Perrie R, Apitz-Castro R. The in vitro susceptibility of *Scedosporium prolificans* to ajoene, allitridium and a raw extract of garlic (*Allium sativum*). J Antimicrob Chemother. 2003;51(3):593-7.

10) Shams-Ghahfarokhi M, Shokoohamiri MR, Amirrajab N, Moghadasi B, Ghajari A, Zeini F, et al. In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. Fitoterapia. 2006;77(4):321-3.

11) Jafari Nodoushan A, Dehghani M, Mirbagheri S. [In vitro antifungal effect of aqueous garlic (*Allium Sativum*) extract and its combination with fluconazole against five common clinical candida isolated from candidiasis lesions] Journal of Kerman University of Medical Sciences (JKMS). 2007; 14(3):153-162. [Article in Persian]

12) Motsei ML, Lindsey KL, Van Staden J, Jager AK. Screening of traditionally used South African plants for antifungal activity against *Candida albicans*. Journal of ethnopharmacology. 2003; 86(2-3): 235-241.

13) Karunyal Samuel J, Andrews B, Shyla Jebashree H. In vitro evaluation of the antifungal activity of *Allium sativum* bulb extract against *Trichophyton rubrum*, a human skin pathogen. World J Microbiol Biotech. 2000; 16(7):617-620.

14) Spanakis EK, Aperis G, Mylonakis E. New agents for the treatment of fungal infections: clinical efficacy and gaps in coverage. Clin Infect Dis. 2006;43(8):1060-8.

15) Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sullivan DJ, et al. In vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new triazole and echinocandin antifungal agents. J Clin Microbiol. 1999;37(3):870-2.

16) Nishi I, Sunada A, Toyokawa M, Asari S, Iwatani Y. In vitro antifungal combination effects of micafungin with fluconazole, voriconazole, amphotericin B, and flucytosine against clinical isolates of Candida species. J Infect Chemother. 2009;15(2):123-4.

17) Hughes CE, Harris C, Moody JA, Peterson LR, Gerding DN. In vitro activities of amphotericin B in combination with four antifungal agents and rifampin against Aspergillus spp. Antimicrob Agents Chemother. 1984;25(5):560-2.

18) Shin S, Lim S. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against Trichophyton spp. J Appl Microbiol. 2004;97(6):1289-96.

19) Shin S. Anti-Aspergillus activities of plant essential oils and their combination effects with ketoconazole or amphotericin B. Arch Pharm Res. 2003;26(5):389-93.

20) Pyun MS, Shin S. Antifungal effects of the volatile oils from Allium plants against Trichophyton species and synergism of the oils with ketoconazole. Phytomedicine. 2006;13(6):394-400.

21) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard M27-A. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1997; pp:1-29.

22) Moghaddasi B, Shams-Ghahfarokhi M, Zeini F, Razzaghi-Abyaneh M. [In vitro antifungal effects of ketoconazole against clinical isolates of candida from vulvovaginal candidiasis]

Daneshvar Medical Journal. 2009; 16(78):75-82. [Article in Persian]

23) Quindós G, Carrillo-Muñoz AJ, Arévalo MP, Salgado J, Alonso-Vargas R, Rodrigo JM, et al. In vitro susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and new antifungal agents. Chemotherapy. 2000;46(6):395-401.

24) Cantón E, Pemán J, Carrillo-Muñoz A, Orero A, Ubeda P, Viudes A, et al. Fluconazole Susceptibilities of Bloodstream Candida sp. Isolates as cetermined by national committee for clinical laboratory standards method M27-A and Two Other Methods. J Clin Microbiol. 1999;37(7): 2197–2200.

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;142(4):758-65.

26) Datta K, Jain N, Sethi S, Rattan A, Casadevall A, Banerjee U. Fluconazole and itraconazole susceptibility of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* at a tertiary care centre in India: a need for care. J Antimicrob Chemother. 2003; 52(4): 683-686.

27) Ledezma E, DeSousa L, Jorquera A, Sanchez J, Lander A, Rodriguez E, et al. Efficacy of ajoene, an organosulphur derived from garlic, in the short-term therapy of tinea pedis. Mycoses. 1996;39(9-10):393-5.

28) Pai ST, Platt MW. Antifungal effects of *Allium sativum* (garlic) extract against the Aspergillus species involved in otomycosis. Lett Appl Microbiol. 1995;20(1):14-8.

29) Venugopal PV, Venugopal TV. Antidermatophytic activity of garlic (*Allium sativum*) in vitro. Int J Dermatol. 1995;34(4):278-9.