تأثیر عصارهٔ اتانولی گیاه *توکریوم پولیوم* بر کلنیزه‌کردن *کاندیدا گلابراتا* در کبد و طحال و کلیه‌ها

مریم السادات زارعی[1]، محبوبه مدنی*[2]

۱. کارشناسی‌ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران
۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۰۵
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۰

چکیده

اهداف *توکریوم پولیوم* گیاهی دارویی است که گونه‌های آن بیش از دوهزار سال است که در طب سنتی استفاده می‌شود. *کاندیدا گلابراتا* یکی از شایع‌ترین گونه‌های جنس کاندیداست که به‌دلیل توانایی کسب مقاومت دارویی، شناسایی سریع آن در درمان عفونت‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. در این تحقیق، تأثیر عصارهٔ اتانولی گیاه *توکریوم پولیوم* بر کلنیزه‌کردن *کاندیدا گلابراتا* در کبد و طحال وکلیه‌ها بررسی شد.

مواد و روش‌ها در این مطالعهٔ تجربی ۹۰ سرموش ماده از نژاد NMRI در نه گروه ده تایی تقسیم شدند. گروه شاهد نرمال سالین، گروه کاندیدا سوسپانسیون مخمر، و گروه‌های تیمار آلوده به کاندیدا عصارهٔ اتانولی *توکریوم پولیوم* را به‌طور جداگانه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت یک روز در میان و به‌مدت ۲۰ روز دریافت کردند. در پایان آزمایش، مایع هموژنیزهٔ اندام‌های کبد، طحال و کلیه روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت و شمارش کلنی انجام شد.

یافته‌ها بر اساس نتایج این تحقیق در نمونهٔ کبد تحت تیمار با کاندیدا- عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در نمونه‌های طحال و کلیه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیچ کلنی‌ای مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری بر اساس نتایج تحقیق، گیاه *توکریوم پولیوم* تأثیر قابل‌توجهی در ایمنی بر علیه *کاندیدا گلابراتا* دارد.

کلیدواژه‌ها:
توکریوم پولیوم، *کاندیدا گلابراتا*، کبد، طحال، کلیه‌ها.

مقدمه

سال‌هاست که گیاهان دارویی مهم‌ترین و حتی در برخی موارد تنها راه درمان عفونت‌ها محسوب می‌شود. مردم در سراسر جهان به‌وسیلهٔ انواع گوناگون بیماری‌ها و عفونت‌ها، از جمله عفونت‌های قارچی، احاطه شده‌اند [۱]. *توکریوم پولیوم* یا کلپوره گیاه دارویی قدیمی‌ای است که به‌علت خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی آن استفاده می‌شود. تحقیقات در مورد ترکیبات ضدقارچی آن اخیراً افزایش یافته است [۲]. نقش گیاهان دارویی در درمان اختلالات پاتولوژیکی مختلف در دهه‌های گذشته ثابت شده است [۳]..

توکریوم پولیوم گیاهی از خانوادهٔ نعناع است که با بیش از ۳۰۰ جنس در سراسر جهان پخش شده است [۴]. کلپوره

* **نویسندهٔ مسئول: محبوبه مدنی**
نشانی: ؟؟/
تلفن: ؟؟؟, **دورنگار:** ؟؟؟
رایانه: m.madani66@gmail.com
شناسه ORCID: ؟؟؟

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷، ص 151-160.
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

گیاهی است پایا، کرکینه‌پوش و خزی، با تقریباً تمام ضمایم پوششی متفاوت در قاعدهٔ چوبی، به ارتفاع ۱۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، با ساقه‌های متعدد، از قاعده و پایین منشعب، با شاخه‌های خیزان یا ایستاده و گاهی خوابیده، غالباً پیچ و تابدار و کم‌وبیش در پایین چوبی‌شده، با برگ‌های باریک، دراز و پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای در هر دو سطح پهنک و در حاشیه کنگره‌ای، دندانه‌دار به طول ۸ تا ۱۶ میلی‌متر. این گیاه گل‌های مجتمع در گل‌آذین نیمه کروی یا تخم‌مرغی به قطر ۱۰ تا ۲۰ میلی‌متر و مختصراً دم‌گل و کاسه به طول ۳/۵ تا ۴/۵ میلی‌متر به شکل لوله‌ای، استکانی دارد. رنگ گل‌های گیاه سفید، سفید مایل به زرد، زرد یا حتی ارغوانی گزارش شده است و بسیار خوشبوست، اما طعم بسیار تلخی دارد. در گونه‌های این گیاه تفاوتی در ساقه‌های گیاه نیز مشاهده می‌شود، به‌طوری که گاهی پرپشت و خیزان و گاهی خوابیده است [۵-۷].

این گیاه معمولاً در نواحی بایر، سواحل سنگلاخی و ماسه‌زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقهٔ مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب‌غربی آسیا، از جمله ایران می‌روید و در مصر، عربستان، قطر و اردن یافت شده است [۸].

گیاه کلپوره ترکیبات مونوپرن، پلی‌فنیک، استرول، ساپونین، ایریدول، فلاونوئیدها، پلی‌فنولی، آلکالوئیدها و روغن‌های ضروری دارد [۹]. این ترکیبات ضدالتهاب، کاهش‌دهندهٔ درد، قند و چربی خون است [۱۰].

مصرف کلپوره تنها برای کوتاه‌مدت مجاز است. تجویز طولانی‌مدت آن موجب بروز مسمومیت کبدی و کلیوی و افزایش آنزیم‌های کبدی، اوره و کلسترول خون می‌شود [۱۱]. کلپوره حاوی آلکالوئیدی است که در کبد توسط آنزیم سیتوکروم P_{450} به متابولیت فعال اکسید می‌شود. این متابولیت سمی است و سبب تخریب سلول‌های کبدی می‌شود. استفاده مداوم یا متناوب از گیاه کلپوره موجب ایجاد آسیب کبدی می‌شود و به‌صورت هپاتیت مزمن یا حاد بدون انسداد مجاری صفراوی است [۱۱].

اخیراً درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌وسیلهٔ داروهای گیاهی افزایش یافته است [۱۲]. کمبود عوارض، امکان استفاده از دوزهای بالا، و مقرون‌به‌صرفه‌تربودن گیاهان دارویی از یک‌طرف و افزایش عوارض داروهای شیمیایی از طرف دیگر، به استفادهٔ انسان از داروهای طبیعی انجامیده است [۱۳، ۱۴].

تحقیقات حشمتی و همکاران [۱۷]، ندیمی و همکاران [۸]، بهزادی و همکاران [۱۶] و اربابی و همکاران [۱۵]، آثار ضدکاندیدایی بسیاری از گیاهان از جمله پنیرک، سماق، *توکریوم پولیوم* و آویشن بر علیه *کاندیدا آلبیکنس* را نشان داده است.

طی دهه‌های اخیر، افزایش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، کورتیکواستروئیدها، داروهای سرکوب‌کنندهٔ سیستم ایمنی، شیمی‌درمانی، رادیوتراپی، افزایش بیماری‌های نقص ایمنی، دیابت و ایدز راه را برای گسترش طیف وسیعی از عفونت‌های فرصت‌طلب مخاطی، جلدی، گوارشی، ریوی و سیستمی قارچی از جمله کاندیدا هموار کرده است [۱۸]. عفونت کاندیدایی، در صورت تهاجم شدید، حتی ممکن است به مرگ بیمار منتهی شود [۱۹، ۲۰].

کاندیدیاز بی‌شک یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های قارچی فرصت‌طلب در انسان است. جنس کاندیدا شامل حدود ۱۵۰ گونه است [۲۱]. عفونت به‌صورت حاد، تحت حاد یا مزمن در پوست، ناخن، مخاط واژن، برونش، ریه و دستگاه گوارش دیده می‌شود. گاهی نیز منتشر می‌شود و کلیه، ریه، کبد و قلب را گرفتار می‌سازد. واکنش میزبان در برابر بیماری از خارش و التهاب مختصر تا فرم مزمن، حاد چرکی یا گرانولوماتوز (Granulomatous) در تغییر است [۲۲].

عواملی نظیر آسیب سطوح مخاطی (به‌علت شیمی درمانی)، جراحی، نوتروپنی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع، ایدز، اختلالات نئوپلاستی و شکنندگی پوست خطر ابتلا به عفونت کاندیدایی را افزایش می‌دهد [۲۳، ۲۴].

در سال ۲۰۰۹، *کاندیدا گلابراتا* پس از *کاندیدا آلبیکنس* دومین عامل کاندیدیازیس سطحی و مهاجم بزرگسالان در ایالات متحده گزارش شد [۲۵]. این قارچ از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی است و در بیماران مستعد، رتبهٔ چهارم را دارد [۲۶]. *کاندیدا گلابراتا* یکی از شایع‌ترین گونه‌های جنس کاندیداست که به‌دلیل توانایی کسب مقاومت دارویی، شناسایی سریع آن در درمان عفونت‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد [۲۷].

از ویژگی‌های آزمایشگاهی این قارچ، وجود بلاستوکونیدی‌های بیضی‌شکل و عدم‌توان تولید میسلیوم کاذب (pseudohyphae)، لولهٔ زایا و کلامیدوکونیدی است [۲۶].

داروی آمفوتریسین B که در درمان کاندیدیاز سیستمی استفاده می‌شود، بسیار سمی است [۲۸]. با وجود اینکه داروهای ضدقارچی جدیدی شناخته شده است، مرگ ناشی از کاندیدیازیس همچنان بالاست [۲۹].

نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها به سلول‌های مخمر، هایف‌ها و شبه‌هایف‌های کاندیدا آسیب می‌رساند و آن‌ها را از بین می‌برند [۲۴].

با توجه به توانایی گیاه *توکریوم پولیوم* در مهار رشد برخی گونه‌های کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی، بر آن شدیم تا

اثر عصارهٔ اتانولی گیاه *توکریوم پولیوم* را بر کلنیزه‌کردن *کاندیدا گلابراتا* در کبد، طحال و کلیه‌ها بررسی کنیم.

روش شناسی

تهیهٔ گیاه

گیاه کلپوره از ارتفاعات کلاه‌قاضی استان اصفهان جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تأیید شد. سپس، نمونهٔ هرباریوم آن در بخش گیاه‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان کدگذاری و با کد ۱۱۴/۰۳۹/۰۰۱ تأیید و ثبت شد. پس از پاکسازی و جداسازی اندام‌های زیرزمینی، قسمت‌های هوایی گیاه سه مرتبه با آب شستشو و برگ‌ها، ساقه‌ها، ریشه‌ها و گل‌های گیاه جدا شد و در معرض هوای آزاد دور از نور خورشید قرارگرفت تا کاملاً خشک شود. بعد از اطمینان کامل از خشک‌شدن گیاه، در جای خنک و سایه بسته‌بندی و هنگام نیاز با آسیاب برقی تمیز و عاری از هر گونه آلودگی پودر و پودر حاصل در شیشه‌های قهوه‌ای مات نگهداری شد [۳۰].

تهیهٔ عصارهٔ اتانولی

به‌منظور تهیهٔ عصارهٔ اتانولی، ۱۰۰ گرم از اندام‌های هوایی پودرشدهٔ گیاه به درون ارلن استریل منتقل شد. سپس، به میزانی اتانول به گیاه پودرشده اضافه شد تا جایی که مخلوط گیاه به‌همراه حلال به‌صورت سوسپانسیون درآید. به‌منظور عدم‌دسترسی نور به سوسپانسیون درون ارلن، اطراف آن با فویل آلومینیمی نازک پوشانده و در ارلن با پنبه محکم بسته شد و روی شیکر به‌مدت ۴۸ ساعت قرارگرفت. سپس، تفاله‌گیری و صاف‌کردن عصارهٔ اتانولی به‌کمک کاغذ واتمن شمارهٔ ۲۰ انجام شد. به‌منظور حذف اتانول، عصاره در دمای محیط قرارگرفت تا خشک شود. سپس، عصارهٔ خشک‌شده از کف ظرف جدا و پودر حاصل در شیشهٔ قهوه‌ای تا زمان استفاده نگهداری شد. به‌منظور محاسبهٔ وزن پودر گیاه حل‌شده در حلال، وزن کاغذ صافی از وزن کاغذ صافی حاوی تفالهٔ گیاه کسر شد. بدین ترتیب وزن تفاله به‌دست می‌آید. سپس، عدد به‌دست‌آمده از وزن اولیهٔ گیاه کم شد. عدد حاصل نشان‌دهندهٔ میزان پودر حل‌شدهٔ گیاه در حلال است [۳۱].

تهیهٔ محلول عصاره به‌منظور تزریق به موش

برای رقیق‌کردن عصاره، سدیم کلراید ۰/۹ درصد تزریقی استفاده شد و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره تهیه شد. عصارهٔ به‌دست‌آمده از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده و در شیشهٔ مات قهوه‌ای در یخچال در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد [۳۲].

آماده‌کردن حیوان آزمایشگاهی

در این تحقیق از موش سوری بالغ نژاد NMRI و دارای محدودهٔ وزنی ۵±۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها پس از انتقال به لانهٔ حیوانات آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، در داخل قفس‌های مجزا به‌صورت تصادفی تقسیم‌بندی و نگهداری شدند. موش‌ها در تمام مدت تحقیق، دسترسی آزاد به آب تازه و غذای مخصوص (کنسانتره گیاهی) داشتند. نمونه‌ها تحت دمای ۲۵ تا ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد و در دوره‌های منظم ۱۲ ساعته، روشنایی/ تاریکی نگهداری شدند. تعویض بستر پوشالی و نظافت ظروف آب به‌طور مداوم انجام شد. به‌منظور سازگاری با محیط جدید و اطمینان از عدم‌بارداری، موش‌های تحت آزمایش به‌مدت دو هفته در شرایط ذکرشده نگهداری شدند و پس از این مدت، تزریقات انجام گرفت [۳۰، ۳۳].

تهیهٔ محیط کشت سابورو دکستروز آگار

برای کشت قارچ از محیط کشت سابورو دکستروز آگار استفاده شد. ۶۵ گرم از پودر سابورو دکستروز آگار به ارلن استریل انتقال داده و میزان ۱ لیتر آب مقطر به آن اضافه و در آن محکم با پنبه بسته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد قرارگرفت. هنگامی که دما به حدود ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد رسید، محیط کشت به پلیت‌ها منتقل شد [۳۰].

فراهم‌کردن میکروارگانیسم

مخمر *کاندیدا گلابراتا* سوش ATCC 90030، از دانشگاه تهران تهیه شد. از *کاندیدا گلابراتا* روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده و پس از ۲۴ ساعت از کلنی‌های ایجادشده سوسپانسیون مخمری برابر 1×10^6 cfu/ml، تهیه و برای تزریقات استفاده شد [۳۴].

تقسیم‌بندی حیوانات مورد آزمون

موش‌های آزمایشگاهی مورد مطالعه در این تحقیق ۹۰ سر بودند، که به نه گروه ده‌تایی تقسیم شدند. هر گروه در درون قفس‌های جداگانه نگهداری شدند [۲۸].

گروه‌های مورد آزمون

گروه تیمار اول. به نمونه‌های این گروه به‌مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصارهٔ اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۵۰ به‌روش درون صفاقی در حدود ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار دوم. به نمونه‌های این گروه بـه‌مـدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصارهٔ اتانولی کلپـوره بـا دوز mg/kg ۱۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار سوم. به نمونه‌های این گروه به‌مـدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصارهٔ اتانولی کلپـوره بـا دوز mg/kg ۲۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار چهارم. به نمونه‌های این گروه با دریافت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر *کاندیدا گلابراتا* پـس از پنجمـین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به‌مدت ۲۰ روز بـه‌صـورت یک روز در میان عصارهٔ اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۵۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار پنجم. به نمونه‌های این گروه با دریافـت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر *کاندیدا گلابراتا* پـس از پنجمـین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به‌مدت ۲۰ روز بـه‌صـورت یـک روز در میـان عصـارهٔ اتـانولی کلپـوره بـا دوز mg/kg ۱۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار ششم. به نمونه‌های این گروه با دریافـت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر *کاندیدا گلابراتا* پـس از پنجمـین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به‌مدت ۲۰ روز بـه‌صـورت یـک روز در میـان عصـارهٔ اتـانولی کلپـوره بـا دوز mg/kg ۲۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه *کاندیدا گلابراتا*. در ایـن گـروه عفونـت تجربـی *کاندیـدا گلابراتا* ایجاد شد.

گروه کنترل. نمونه‌های این گـروه هـیچ‌گونـه تزریقـی دریافـت نکردند [۲۸، ۳۰].

گروه دارونما. به نمونه‌های این گروه ۰/۵ سی‌سـی سـرم فیزیولوژی تزریقی به‌مدت ۲۰ روز به‌صـورت یـک روز در میـان تزریق شد. هدف از این عمـل اطمینـان از عـدم‌تـأثیر اسـترس تزریق طی آزمایش بود [۲۸، ۳۰].

تشریح حیوان آزمایشگاهی

بـه‌منظـور بررسـی وجـود مخمـر *کاندیـدا گلابراتـا* در اندام‌های کبد، طحال و کلیه‌ها تشریح حیوان پس از قطـع سـر انجام شد.

نخست، قسمت شکمی موش بـا الکـل ۷۰ درصـد تمیـز شد. سپس، به‌وسیلهٔ تیغهٔ بیستوری پوست بـدن حیـوان بـرش داده و به کمک قیچی تیز و پنس استریل بافت‌ها جـدا شـد. بـا استفاده از سرم فیزیولوژی اسـتریل بافـت‌هـای کبـد، طحـال و کلیه‌ها شستشو یافت تا خون اضافی پاک شود. سپس، هر بافت در شیشه‌های استریل حـاوی ۳ میلـی‌لیتـر سـرم فیزیولـوژی و پنی‌سیلین قرارگرفت و در شیشه‌ها بسـته شـد. مشخصـات هـر لوله نوشته و برای اطمینان از عدم‌تکثیر مخمر در بافت تا شروع عمل هموژنیزه‌کردن و کشت بافت، نمونه‌ها در یخچال نگهداری شد [۳۰، ۳۵].

کشت اندام‌های کبد، طحال و کلیه‌ها

بـرای لـه‌کـردن بافـت در سـرم فیزیولـوژی از میکسـر هموژنایزر استفاده شد. این دستگاه دارای یک سری تیغـه‌هـای چنگ‌مانند است که با سـرعت بـالا قابلیـت لـه‌کـردن بافـت در مایعـات را دارد و باعـث مـی‌شـود بافـت در سـرم بـه‌حالـت سوسپانسیون درآید. سپس، از مایع هموژنیزه بافـت‌هـا بـه‌طـور جداگانه رقت سریال به نسبت $\frac{1}{10}$ تهیه شد.

رقت‌های تهیه‌شده از نمونـهٔ همـوژنیزه بـه‌ترتیـب 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6}، 10^{-7}، 10^{-8}، 10^{-9} و 10^{-10} بود. از هر رقت به‌طور جداگانه مقدار ۱ میلی‌لیتر برداشـت و در محیط کشت سـابارو دکسـتروز آگـار کشـت چمنـی داده شـد. محیط‌های کشت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گـراد بـه‌مـدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس، تعداد کلنی‌هـای رشـدیافته در هـر محیط کشت شمارش شد [۳۰].

یافته ها

بررسی تعداد کلنی *کاندیدا گلابراتا* در بافت کبـد در رقـت‌هـای مختلف در تمامی گروه‌ها

بر اساس نتایج جدول ۱، در سوسپانسـیون اصـلی تهیـه شده از کبد و رقت‌های ۱ تـا ۸ از آن، اخـتلاف معنـاداری بـین چهار گـروه کاندیـدا و کاندیـدا-عصـاره در تمـامی غلظـت‌هـای عصارهٔ ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ مشاهده شد ($P<0/001$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در سوسپانسیون اصلی و رقت‌هـای ۱ و ۲ نشـان داد. میانگین تعداد کلنـی‌هـای کبـد در گـروه کاندیـدا بـه‌طـور معناداری بیشتر از سه گـروه کاندیـدا-عصـاره بـود ($P<0/05$). همچنین، میانگین تعداد کلنی موجود در کبد در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰ بـه‌طـور معنـاداری کمتـر از سـه گـروه دیگـر بـود ($P<0/05$). عـلاوه‌بـر ایـن، تعـداد کلنـی کبـد در غلظـت ۲۰۰ کاندیدا-عصاره به‌طور معنـاداری کمتـر از غلظـت ۵۰ کاندیـدا-عصاره بود ($P<0/05$).

جدول ۱. میانگین تعداد کلنی در رقت‌های مختلف در بافت هموژنیزهٔ کبد

شاخص گروه	کاندیدا		کاندیدا-عصارهٔ ۵۰		کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰		کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰	سطح معناداری

	میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار	
کبد	غیرقابل‌شمارش			۵۰/ ۱۷۷	۸/۸۱		۳۵/۶۳	۱/۴۸		۵۹/۳۷	۱/۱۸	<۰/۰۰۱
رقت ۱	غیرقابل‌شمارش			۲۵/ ۱۳۱	۳/۸۷		۲۱/۲۵	۰/۸۲		۴۳/۱۳	۰/۹۱	<۰/۰۰۱
رقت ۲	۳۲۵/۰۰	۹/۴۵		۰۰/ ۱۱۰	۲/۳۱		۷/۶۳	۰/۶۸		۲۳/۳۷	۱/۲۵	<۰/۰۰۱
رقت ۳	۲۱۸/۷۵	۹/۱۵		۷۸/۷۵	۲/۰۶		۰/۰۰	۰/۰۰		۵/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۴	۱۷۵/۵۰	۳/۶۶		۷۸/۱۳	۲/۱۰		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۵	۱۰۳/۷۵	۱/۵۷		۶۳/۷۵	۰/۸۲		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۶	۸۱/۸۸	۰/۹۱		۵۱/۸۸	۰/۹۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۷	۴۲/۵۰	۰/۹۴		۳۶/۲۵	۱/۵۷		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۸	۲۸/۱۳	۱/۶۲		۲۳/۱۳	۰/۹۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱

بررسی تعداد کلنی *کاندیدا گلابراتا* در بافت طحال در رقت‌های مختلف در تمامی گروه‌هابر اساس نتایج جدول ۲، در سوسپانسیون اصلی تهیه‌شده از کلیه و رقت‌های ۱ تا ۸ اختلاف معناداری بین چهار گروه کاندیدا و کاندیدا-عصاره در تمام غلظت‌های عصارهٔ ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در تمامی رقت‌ها مشابه بود، به‌طوری که میانگین تعداد کلنی‌های موجود در طحال در گروه کاندیدا به‌طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بود ($P<۰/۰۵$). همچنین، میانگین تعداد کلنی طحال در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰ و کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰ تفاوت معناداری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). میانگین تعداد کلنی در این دو گروه به‌طور معناداری کمتر از میانگین تعداد کلنی در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۵۰ بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲. میانگین تعداد کلنی در رقت‌های مختلف بافت هموژنیزهٔ طحال

شاخص گروه	کاندیدا			کاندیدا-عصارهٔ ۵۰			کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰			کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰		سطح معناداری
	میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار		میانگین	خطای‌معیار	
طحال	غیرقابل‌شمارش			۱۱۶/۲۵	۱/۸۳		۶۵/۶۳	۱/۴۸		۶۶/۸۸	۱/۳۲	<۰/۰۰۱
رقت ۱	غیرقابل‌شمارش			۱۰۰/۶۳	۰/۶۲		۴۳/۱۳	۰/۹۱		۴۳/۱۳	۰/۹۱	<۰/۰۰۱
رقت ۲	۳۵۱/۲۵	۱۲/۴۶		۸۵/۶۳	۱/۱۳		۲۳/۱۳	۰/۹۱		۲۲/۵۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۳	۲۶۲/۵۰	۸/۱۸		۷۲/۵۰	۰/۹۴		۷/۶۳	۰/۷۵		۷/۵۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۴	۱۶۶/۲۵	۵/۹۶		۶۱/۸۸	۰/۹۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۵	۸۷/۵۰	۲/۸۳		۴۷/۵۰	۲/۳۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۶	۴۵/۰۰	۱/۳۴		۳۱/۸۸	۰/۹۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۷	۲۳/۱۳	۰/۹۱		۱۸/۱۳	۰/۹۱		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۸	۱۲/۷۵	۰/۸۸		۹/۳۸	۰/۶۳		۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

بررسی تعداد کلنی *کاندیدا گلابراتا* در بافت کلیه در رقت‌های مختلف در تمامی گروه‌هابر اساس نتایج جدول ۳، در سوسپانسیون اصلی تهیه‌شده از کلیه و رقت‌های ۱ تا ۸ اختلاف معناداری بین چهار گروه کاندیدا و کاندیدا-عصاره در تمامی غلظت‌های تهیه شده از عصارهٔ ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ کاندیدا-عصاره مشاهده شد ($P<۰/۰۰۱$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در سوسپانسیون اصلی و رقت‌های ۱ تا ۳ بدین‌صورت بود که میانگین تعداد کلنی‌های کلیه در گروه کاندیدا به‌طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بود ($P<۰/۰۵$). همچنین، میانگین تعداد کلنی کلیه در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰ به‌طور معناداری کمتر از سه گروه دیگر بود ($P<۰/۰۵$). علاوه‌بر این، تعداد کلنی کلیه در غلظت ۱۰۰ کاندیدا-عصاره به‌طور معناداری کمتر از غلظت ۵۰ کاندیدا-عصاره بود ($P<۰/۰۵$).ولی در رقت‌های ۴ تا ۸، میانگین تعداد کلنی‌های کلیه در گروه کاندیدا به‌طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بوده است ($P<۰/۰۵$). همچنین، میانگین تعداد کلنی کلیه در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰ و کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰ تفاوت معناداری نداشت ($P>۰/۰۵$) و میانگین تعداد کلنی در این دو گروه به‌طور معناداری کمتر از میانگین تعداد کلنی در گروه کاندیدا-عصارهٔ ۵۰ بوده است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳. میانگین تعداد کلنی در رقت‌های مختلف بافت هموژنیزهٔ کلی

شاخص گروه	کاندیدا		کاندیدا-عصارهٔ ۵۰		کاندیدا-عصارهٔ ۱۰۰		کاندیدا-عصارهٔ ۲۰۰		سطح معناداری
	میانگین	خطای‌معیار	میانگین	خطای‌معیار	میانگین	خطای‌معیار	میانگین	خطای‌معیار	
کلیه	غیرقابل‌شمارش		۱۷۷/۵۰	۸/۸۱	۶۷/۵۰	۰/۹۴	۳۹/۳۸	۱/۷۵	<۰/۰۰۱
رقت ۱	غیرقابل‌شمارش		۱۲۴/۳۷	۴/۲۷	۵۳/۷۵	۰/۸۲	۲۱/۲۵	۰/۸۲	<۰/۰۰۱
رقت ۲	غیرقابل‌شمارش		۹۸/۱۳	۰/۹۱	۲۸/۱۳	۰/۹۱	۶/۸۸	۰/۹۱	<۰/۰۰۱
رقت ۳	۳۷۵/۰۰	۹/۴۵	۸۳/۱۳	۰/۹۱	۱۷/۱۳	۰/۶۷	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۴	۲۲۳/۷۵	۸/۲۲	۷۱/۲۵	۰/۸۲	۸/۱۳	۰/۹۱	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۵	۱۴۳/۷۵	۳/۱۰	۵۶/۸۷	۱/۶۲	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۶	۱۰۳/۷۵	۱/۸۳	۳۶/۸۷	۱/۳۲	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۷	۹۲/۵۰	۰/۹۴	۲۳/۱۳	۰/۹۱	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
رقت ۸	۷۸/۱۳	۰/۹۱	۸/۸۸	۰/۵۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

بحث

نتایج این تحقیق کاهش تعداد کلنی را در بافت‌های کبد، کلیه و طحال نشان داد. با توجه به ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ گیاه *توکریوم پولیوم*، به‌نظر می‌رسد که عصارهٔ اتانولی *توکریوم پولیوم* عامل مهار رشد کاندیدا در میزبان بوده است. تعداد کمتر کلنی در کلیه‌ها نسبت به کبد، علاوه‌بر درنظرگرفتن تفاوت اندازهٔ کلیه‌ها و کبد ممکن است به این دلیل باشد که به‌طور مداوم از کلیه‌ها جریان ادرار و مواد اکساید عبور می‌کند. این امر به کاهش تعداد کلنی در بافت کلیه نسبت به کبد می‌انجامد. همچنین، میزان کلنی کاندیدا در طحال نسبت به کبد و کلیه بسیار کمتر است. با توجه به اینکه کلیرانس ایمنولوژی در طحال رخ می‌دهد، به‌دنبال انتقال قارچ توسط ماکروفاژهای طحال کشتن میکروارگانیسم‌ها رخ داده است و کاهش ارگانیسم را شاهدیم. تحقیقات نشان داده است که گیاه *توکریوم پولیوم* باعث کاهش میزان قند خون می‌شود. با توجه به قنددوست‌بودن قارچ‌ها نیز احتمال دارد که کاهش کاندیدا در بافت‌های حیوان به این دلیل باشد.

در بررسی‌های انجام‌شده، عصارهٔ *توکریوم پولیوم* و *زنجبیل* اثر مهارکنندگی بر رشد گونه‌های بالینی *کاندیدا آلبیکنس* دارد، ولی هیچ‌گونه اثری بر گونه‌های *کاندیدا تروپیکالس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزئی* ندارد [۳۶].

تأثیر داروی MS14 (دارویی که منشأ گیاهی–دریایی دارد) بر سپتیس کاندیدایی ایجادشده در موش‌های Balb/C نشان داد تعداد ماکروفاژهای صفاقی در موش‌های گروه مصرف‌کنندهٔ دارو افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت واین داروی گیاهی دارای اثر حفاظت‌کنندگی در مقابل مخمر *کاندیدا آلبیکنس* است [۳۷].

فرحنژاد و همکاران تأثیر عصارهٔ گیاه *آلوئه‌ورا* را بر تحریک پاسخ ماکروفاژها بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصارهٔ گیاه باعث افزایش فعالیت ماکروفاژی در حضور مایتوژن در موش آلوده به کاندیدا می‌شود [۳۸].

بررسی آثار ضدکاندیدایی و ایمونومدولاتوری اسانس و عصاره‌های گیاه *رازیانه* نشان داد عصارهٔ استونی *رازیانه* با تحریک ماکروفاژهای صفاقی موش سبب تولید نیتریک اکسید و واسطه‌های فعال اکسیژنی می‌شود. در نتیجه، اثر ایمونومدولاتوری روی دستگاه ایمنی ذاتی دارد [۳۹].

بررسی انجام‌شده روی عصارهٔ هیدروالکلی گیاه *ترخون* نشان داد که این عصاره باعث کاهش *کاندیدا آلبیکنس* در بافت کبد و کلیه می‌شود [۳۰].

در اردن فعالیت ضد کاندیدایی عصارهٔ متانولی ۱۹ گیاه اردن در برابر *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا کروزی* بررسی شد. بیشتر عصاره‌های متانولی گیاهان اثر ضدکاندیدایی نشان دادند، ولی گیاه *توکریوم پولیوم* هیچ گونه فعالیت ضدکاندیدایی نشان نداد [۴۰].

اثر عصاره‌های کلروفرمی، اتانولی و آبی گیاهان دارویی از جمله پنیرک در شرایط آزمایشگاهی روی باکتری‌ها و قارچ‌های جداشده از عفونت زخم نشان داد که عصارهٔ آبی و کلرفرمی در غلظت کم اثر مهاری بر *کاندیدا آلبیکنس* دارد. عصارهٔ اتانولی گیاه تأثیر کمتری داشت [۴۱].

در بررسی انجام‌شده روی گیاه پنیرک مشخص شد که این گیاه باعث افزایش تعداد مونوسیت‌ها در موش آلوده به *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. به این ترتیب ایمنی در حیوان ایجاد می‌کند [۴۲].

تأثیر *اکالیپتوس گلوبولوس* بر کلونیزه‌کردن کاندیدایی

در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی نشان داد که *اکالیپتوس* موجب کاهش معنادار غلظت *کاندیدا آلبیکنس* در هموژنهٔ کبد و کلیه‌ها می‌شود. نتایج نشان داد گیاه *اکالیپتوس* موجب بهبودی عفونت کاندیدایی در رت‌های سالم و دیابتی می‌شود [۴۳].

تحقیقات انجام‌شده روی گیاه *توکریوم پولیوم* نشان داد که نمونه‌های استاندارد کاندیدا شامل *کاندیدا گلابراتا* به عصارهٔ *توکریوم پولیوم* حساس‌اند. همچنین، تأثیر دود این گیاه بر نمونه‌های بالینی و استاندارد قارچ نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی دود *توکریوم پولیوم* قادر به مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس* است [۴۴].

اثر عصارهٔ آبی *سیاه‌دانه* بر علیه کاندیدیازیس در موش‌های آلوده نشان داد عصارهٔ این گیاه با دوز تزریقی داخل وریدی ۶/۶ ml/kg، ۲۴ ساعت پس از تلقیح باعث کاهش رشد *کاندیدا آلبیکنس* به میزان ۵ برابر در کلیه‌ها، ۸ برابر در کبد و ۱۱ برابر در طحال می‌شود [۴۵].

گیاه کلپوره باعث افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در گروه‌های تیمار با عصارهٔ آبی در مقایسه با گروه *کاندیدا آلبیکنس* می‌شود. همچنین، تعداد لنفوسیت‌ها در گروه‌های تیمار با عصارهٔ آبی کلپوره در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش می‌یابد. افزایش سلول‌های ذاتی نشان‌دهندهٔ عامل کنترل عفونت در موش است [۴۶]. همچنین، کلپوره دارای ترکیبات فلانوئیدی و آثار ضد کاندیدایی است [۴۷].

فلاونوئیدها دارای ترکیبی به نام ۷- هیدروکسی-۳ و ۴- فلاوان و مؤثر بر ضد مخمر *کاندیدا آلبیکنس* است [۴۷].

گیاه *توکریوم پولیوم* مشابه با گیاه *اکسی دنتالیس* ترکیبات فلانوئیدی دارد. ترکیبات فلاونوئیدی قادر به تحریک ایمنی سلولی و هومورال است. این امر به کاهش تعداد *کاندیدا گلابراتا* در بافت‌های مختلف می‌انجامد. فلاونوئیدها ترکیبی به‌نام ۷- هیدروکسی-۳ و ۴- فلاوان دارد که بر ضد مخمر *کاندیدا آلبیکنس* مؤثر است [۴۷].

ندیمی و همکاران در بررسی تأثیر عصارهٔ آبی و اتانولی کلپوره بر *کاندیدا آلبیکنس* و دو گونه *ملاسزیا*، تأثیر مهاری عصارهٔ کلپوره در سویه‌های مختلف و متفاوت و اثر مهاری وابسته به دوز را گزارش کردند، به‌طوری که در *کاندیدا آلبیکنس* NCPF 3153 با افزایش غلظت عصاره از تعداد کلنی‌های موجود در محیط کشت کاسته و در غلظت mg/ml ۸ کاملاً از رشد قارچ جلوگیری شد [۸].

بکائیان و همکاران [۴۸] به بررسی تأثیر عصارهٔ سیر بر *کاندیدا آلبیکنس* پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در بافت‌های کبد و کلیه در موش‌های دیابتی تعداد کلنی *کاندیدا آلبیکنس* کاهش یافته است.

کاندیدیاز تجربی باعث ایجاد عفونت تحت حاد می‌شود که در موش قابل‌تحمل است. در واقع، نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها مسئول دفاع میزبان بر علیه *کاندیدا آلبیکنس* است [۲۹].

استعداد کبد به کلونیزه‌کردن قارچی ممکن است ناشی از ورود منوسیت‌ها و سلول‌های PMN نابالغ از مغز استخوان باشد. بر همین اساس، این سلول‌ها حاوی تعداد بیشتری لیزوزوم‌های غیرطبیعی غول‌آساست که در فرایند ادغام فاگوزوم- لیزوزوم کارآمد نیستند. این وضعیت فرصتی را برای رشد مخمرها و ایجاد کانون‌های عفونت در کبد فراهم می‌آورد [۴۳].

شوهام و همکاران به این نتیجه رسیدند که سلول‌های دفاعی دارای رسپتورهای سطحی است که مادهٔ خارجی را در خون یا بافت تشخیص می‌دهد و باعث فعال‌شدن مسیر فاگوسیتوز می‌شود. *کاندیدا آلبیکنس* باعث غیرفعال‌شدن سازوکار اکسایش و غیراکسایش می‌شود [۲۴].

در جدول ۱، در رابطه با کلنی‌های کبدی می‌توان دید میزان کلنی در گروه شاهد و عصاره صفر است. در گروه کاندیدا بالاترین تعداد مشاهده می‌شود که امری طبیعی است. بهترین نتایج در کبد تحت بیمار با دوز mg/kg ۱۰۰ مشاهده می‌شود. در بافت طحال در جدول ۲ شاهد نتایج متناسب با نتایج گروه‌های کبدی هستیم با این تفاوت که بهترین نتیجه مربوط به دوزهای mg/kg ۱۰۰ و ۲۰۰ است، هر چند تعداد کلنی کاندیدا در کبد بیش از طحال است. همچنین، بر اساس جدول ۳، در بافت کلیه بهترین دوز مربوط به mg/kg ۲۰۰ است. تعداد کلنی کاندیدا در کلیه نسبت به دو بافت دیگر بیشتر است. لذا، بر اساس نتایج این تحقیق، گیاه *توکریوم پولیوم* در شرایط *in vivo* قادر به حذف *کاندیدا گلابراتا* شده است. این امر ممکن است ناشی از تأثیر مستقیم گیاه بر قارچ یا ناشی از تحریک سیستم ایمنی و شرایط هموستازی بوده باشد یا مجموع این عوامل در این امر نقش داشته است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامهٔ دانشجویی با کد ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۳۱۰۴۷ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان جهت اخذ کارشناسی‌ارشد است. از تمامی افرادی که در انجام این تحقیق همکاری کرده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

[1] Ubulom P, Akpabio E, Ejikeme Udobi C, Mbon R. Pharmaceutical Biotechnology. 2011; 3(5): 57- 60.

[2] Moussa A, Saad A, Djebli ND, Meslem A, Benhalima EK. International Journal of Microbiological Research. 2011; 2(3): 276-279.

[3] Sarris J. Phytotherapy Research. 2007; 21: 703-716.

[4] Stefkov G, Kulevanova S, Miova B, Dinevska-Kjovkarovska S, Mølgaard P, Jäger AK, Josefsen K. Informa Healthcare. 2011; 49(2): 885-892.

[5] Zargari A. Iranian medicinal plants. Publishing and Printing Institute of Tehran University. 1997.

[6] Ghahreman A. Kuromophit of plant systematics, center of academic publishing printing. 1995; Volume 3.

[7] Khoocheki A, Azizi G. Effect of different treatments on breaking dormancy of Teucrium polium. Journal of Agricultural Research Iran. 2006; 3(1): 81-88.

[8] Nadimi M, Zia M, Madani M. The effect of aqueous and ethanolic extracts of teucrium polium on candida albicans and two species of Malassezia. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013; 15(8): 34-38.

[9] Elmasri WA, Hegazy MEF, Aziz M, Koksal E, Amor W, Mechref Y, Hamood AN, Cordes DB, Pare PW. Phytochemistry. 2014; 103: 107-113.

[10] Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Journal of Ethno- Pharmacology. 2005; 97: 207-210.

[11] Soheili Khah M, Salman Roghani S, Mohammadi H. A case of hepatitis, cholestasis by drugs agronomic criteria. University of Medical Sciences and Health Services-Health Yazd Sadoughi. 2007; 15(3): 9-97.

[12] Ziaee T, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron reduced toxic effects of its constituent, safranal, in acute and subacute toxicities in rats. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2014; 9(1): 3-8.

[13] Hesmati M, Izadi L, Mard-Soltani M. Effect of matricaria recutita Hy- droalcoholic extracton anxiety behaviorin mice by hole-board test. Zahedan J Res Med Sci. 2014; 16(3): 21-4.

[14] Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. Phar- Macogn Rev. 2012; 6(11): 1-5.

[15] Arbabi kalani F, Shirzaee M, Poor zamani M, Dabiri S. Journal of Research in Dental Sciences. 2012; 8(4).

[16] Behzadi Salehi Sirjani M, Madani M. In vitro inhibitory effects of Rhus Coriaria aqueous and alcoholic extracts on Candida Albicans. Complementary Medicine Journal. 2015; 5(1).

[17] Heshmati S, Mahboobeh M, Amjad L. Study of inhibitory effect of echinops cephalotes on candida Spp. isolated from vulvovaginal candidiasis patients in Isfahan. Zahedan J Res Med Sci. 2016; 18(6): e7355.

[18] Burket LW, Greenberg M, Glick M. Burket's oral medicine: diagnosis and treatment. Hamilton, Ont: BC Decker 2003.

[19] Koc M, Aktas E. Prophylactic treatment of mycotic mucositis in radiotherapy of patients with head and neck cancers. Jpn J Clin Oncol. 2003; 33(2): 57-60.

[20] PErlroth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. Med Mycol. 2007; 45(4): 321-46.

[21] Ayatollahi Mousavi SA, Khalesi E, Shahidi Bonjar GH, Aghighi S, Sharifi F, Aram F. Rapid molecular diagnosis for Candida species using PCR-RFLP. Biotechnol. 2007; 6: 583-587.

[22] Shadzi SH. Medical mycology laboratory diagnostics and treatment methods. Publications of SID Unit Esfahan 2009; 11st ed.

[23] Bineshian F, Yadegari MH, Sharifi Z, Akbari Eidgahi M, Nasr R. Identi- fication of Candida Species Using MP65 Gene and Evaluation of the Candida albicans MP65 gene expressionin BALB/CMice. Jundishapur JMicrobiol. 2015; 8(5).

[24] Shoham S, Levitz SM. The immune response to fungal infections. Br J Haematol. 2005; 129(5): 569-82.

[25] Dongari-Bagtzoglou A, Dwivedi P, Ioannidou E, Shaqman M, Hull D, Burleson J. Oral candida infection and colonization in solid organ transplant recipients. Oral Microbiol Immunol. 2009; 24(3): 249-54.

[26] Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. Clin Infect Dis. 1992; 15(3): 414-21.

[27] Einloo A, Dehghan P, Saluti M, Mirzaahmadi S. Qualitative identification of Candida glabra by gold nanoparticle colorimetric method. Journal of Isfahan Medical School. 2015; 33(325). 1st Week.

[28] Dhuley JN. Hamycin treatment of candidiasis in normal and dia- betic rats. FEMS Immunol Med Microbiol. 1999; 26(2): 175-80.

[29] Stuyt RJ, Netea MG, van Krieken JH, van der Meer JW, Kullberg BJ. Recombinant interleukin-18 protects against disseminated Candida albicans infection in mice. J Infect Dis. 2004; 189(8): 1524-7.

[30] Alasvand Zarasvand M, Madani M, Modaresi M. The effect of hydroalcoholic extract of artemisia dracunculus L. (Tarragon) on candida albicans infection in mice. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2016; 11(4): e29911.

[31] Samsam shariat S. Extraction and extraction of effective substances of medicinal plants and its identification and evaluation methods. First edition, Manni Publishing, Isfahan, Iran. 1992; 3-20. [in Persian]

[32] Samsam shariat S. Selection of medicinal plants. Second Edition, Manni Publishing, Isfahan, Iran. 2007; 235. [in Persian]

[33] Mobasher M, Sasani P, Al davood J, Aramesh K, Larijani B. Reload moral guide working with laboratory animals. Iranian Journal of Medical Ethics and History, Special Issue on Research Ethics. 2012; 5.

[34] Bokaeian1 M, Iqbal-Qureshi M, Dabiri S. Antibiotic resistance of Neisseria gonorrhoeae isolated from gonorrhoeae patients. Journal of Research in Medical Sciences. 2009; 12(2): 18-23.

[35] Mobasher M, Nakhaei N, Sheibani V. Check the ethical treatment of animals research laboratory qualitative methods. Journal of Ethics in Science and Technology, Special Issue on Medical Ethics. 2007.

[36] Shoaie N, Mohammadi P, Roudbar Mohammadi SH. Antifungal effect of teucrium polium and zingiber officinale extracts on clinical isolates of candida species. Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ). 2012; 17(5): 71.

[37] Eghtedar doost M, Barani R, Naseri M. Effect of MS14 on hematopoiesis and blood cells in Balb / c mice. Quarterly Journal of Medicinal Plants. 11(42).
[38] Farahnejad Z, Ghazanfari T, Yaraee R. Immunomodulatory effects of Aloe vera and its fractions on response of macrophages against Candid albicans. Immunopharmacol Immunotoxic. 2011; 33(4): 676-81.
[39] Naeini A, Khosravi A, Tajbakhsh H, Yaraie R. Antidiabetic and immunomodulatory effects of essential oil and extract of anise in laboratory conditions. Scientific-Research Journal of Shahed University. 2009, 82: 7-20. [in Persian]
[40] Darwish RM, Aburgia TA. Antimicrobial activity of some medicinal plants against different candida species. Jordan Journal of Pharmaceutical Science. 2011; 1: 70-80.
[41] Doost mohamadi M. Evaluation of antibacterial effects of aqueous and ethanolic extracts of juice and nano particles on Staphylococcus epidermidis and Pseudomonas aeruginosa under laboratory and animal models. Journal of Microbiological Biotechnology. 2012; 4(14): 29-38. [in Persian]
[42] Hajyani S, Modaresi M, Madani M. Effect of Malva sylvestris L. extract on blood cell parameters in mice with Candida albicans Infection. Der Pharma Chemica. 2015; 7(5): 302-305.
[43] Bokaeian M, Eghbal ghorayshi M, Dabiri S. Antibiotic resistance of Neisseria gonorrhoeae strains isolated from gonorrhea. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2010; 12(2). [in Persian].
[44] Bonyadpour B, Akbarzdeh M, Pakshir K, Mohagheghzadeh A. In vitro susceptibility of fluconazole, clotrimazole and toucrium polium smoke product on candida isolates of vaginal candidiasis. Armaghane Journal. 2009; 14(2): 87-96.
[45] Khan MAV, Zuberi NS, Ashfag MK, Mahmood MS and Gilani AH. 2003. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. Phytother. Res. 17: 183-6.
[46] Salbi M, Madani M, Modaresi M. Effects of Teucrium polium aquatic extract on blood cell parameters of Candida albicans infected in mice. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2015; 7(5): 398-401.
[47] Cushnie TP, Lamb Aj. antimicrobial activity of flavonoids. Intj Antimicrob Agents. 2006; 27(2): 181.
[48] Bokaeian M, Nakhaee A, Moodi B, Farhangi A, Akbarzadeh A. Effects of garlic extract treatment in normal and streptozotocin diabetic rats infected with Candida albicans. Indian J Clin Biochem. 2010; 25(2): 182.

The effect of ethanolic extract of *Teucrium polium* on *Candida glabrata* colonization in the liver, spleen and kidneys

؟؟؟؟؟

Abstract

Backgrond: *Teucrium polium* is a medicinal plant which species have been used for over 2000 years in traditional medicine. *Candida glabrat* is one of the most common Candida species, which is critical for the treatment of diseases due to the ability to use a resistant drug. The aim of this study was evaluation of the effect of ethanolic extract of *Teucrium polium* on *Candida glabrata* colonization in mice tissue.

Materials and Methods: The study was performed on 90 mature male mices (9 per group), that were devided into ten groups: normal, placebo, three treatment group (candida- extract), control positive (*Candida glabrata*) and control negative (extract). Treatment groups were received 50, 100 and 200 mg/kg dosages of extract for 20 days (every other day) by intraperitoneal injection. At the end of injections, homogenized liver, spleen and kidney were cultured on SDA medium and then colony count were performed.

Results: The results showed that liver in 100 mg/kg, spleen and kidney in 200 mg/kg haven't any yeast.

Conclusion: According to the results, *Teucrium polium* extract, perhaps can stimulat the immunity against *Candida glabrata*.

Received:2017/07/12
Accepted:2017/09/01

Keyword: Candida glabrata, kidney, Teucrium polium, liver, spleen.