

تأثیر عصاره اتانولی گیاه توکریوم پولیوم بر کلنیزه کردن کاندیدا گلابراتا در کبد و طحال و کلیه‌ها

مریم السادات زارعی^۱، محبوبه مدنی^{۲*}

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

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۰۵
 تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۱۰

اهداف توکریوم پولیوم گیاهی دارویی است که گونه‌های آن بیش از دوهزار سال است در طب سنتی استفاده می‌شود. کاندیدا گلابراتا یکی از شایع‌ترین گونه‌های جنس کاندیداست که به دلیل توانایی کسب مقاومت دارویی، شناسایی سریع آن در درمان عفونت‌ها ضروری است. هدف از این تحقیق ارزیابی اثر عصاره اتانولی گیاه توکریوم پولیوم بر کلنیزه کردن کاندیدا گلابراتا در بافت‌های کبد، طحال و کلیه‌هاست.

مواد و روش‌ها این مطالعه تجربی بر روی ۹۰ سر موش ماده بالغ که به ۹ گروه شامل: گروه شاهد، نرمال سالین، کاندیدا-عصاره (۳ گروه تیمار)، کاندیدا گلابراتا (کنترل مثبت) و عصاره (۳ گروه کنترل منفی) تقسیم شدند، انجام شد. عصاره اتانولی توکریوم پولیوم با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت یک روز در میان و به مدت ۲۰ روز به صورت صفاقی و کاندیدا گلابراتا در روز یازدهم تزریق شد. سپس مایع هموژنیزه اندام‌های کبد، طحال و کلیه روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت و شمارش کلنی انجام شد.

یافته‌ها بر اساس نتایج این تحقیق، در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از تیمارهای کاندیدا-عصاره هیچ مخمری در بافت‌های کبد، طحال و کلیه وجود نداشت.

نتیجه‌گیری احتمالاً عصاره اتانولی گیاه توکریوم پولیوم می‌تواند ایمنی بر علیه کاندیدا گلابراتا را تحریک کند.

کلیدواژه‌ها:

توکریوم پولیوم، کاندیدا گلابراتا، کبد، طحال، کلیه‌ها.

مقدمه

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 خانواده نعناع است که با بیش از ۳۰۰ جنس در سراسر جهان پخش شده است [۴]. کلیپوره گیاهی است پایا، کرکینه‌پوش و خزی، با تقریباً تمام ضمایم پوششی متفاوت در قاعده چوبی، به ارتفاع ۱۰ تا ۴۰ سانتی‌متر،

سال‌هاست که گیاهان دارویی مهم‌ترین و حتی در برخی موارد تنها راه درمان عفونت‌ها محسوب می‌شود. مردم در سراسر جهان به‌وسیله انواع گوناگون بیماری‌ها و عفونت‌ها، از جمله عفونت‌های قارچی، احاطه شده‌اند [۱]. توکریوم پولیوم یا کلیپوره گیاه دارویی قدیمی‌ای است که به‌علت خواص ضد میکروبی و ضدقارچی آن استفاده می‌شود. تحقیقات در مورد ترکیبات

* نویسنده مسئول: محبوبه مدنی

نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان

تلفن: ۰۳۱۳۷۴۲۰۱۳۵، دورنگار: ۳۶۲۸۵۵۵۳

رایانه: m.madani66@gmail.com

شناسه ORCID: محبوبه مدنی 0000-0003-3961-8409، مریم السادات زارعی 0000-0001-8630-1776

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۷، ص 151-160.

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

کورتیکواستروئیدها، داروهای سرکوب‌کننده 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 به صورت 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 (به علت شیمی‌درمانی)، 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 کاندیدیاژیس سطحی و مهاجم بزرگسالان در ایالات متحده گزارش شد [۲۵]. این قارچ از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی است و در بیماران مستعد، رتبه چهارم را دارد [۲۶]. کاندیدا گلابراتا یکی از شایع‌ترین گونه‌های جنس کاندیدا است که به دلیل توانایی کسب مقاومت دارویی، شناسایی سریع آن در درمان عفونت‌ها ضروری به نظر می‌رسد [۲۷].

از ویژگی‌های آزمایشگاهی این قارچ، وجود بلاستوکونیدی‌های بیضی‌شکل و عدم توان تولید میسلیم کاذب (pseudohyphae)، لوله زایا و کلامیدوکونیدی است [۲۶].

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

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

با توجه به توانایی گیاه توکریوم پولیوم در مهار رشد برخی گونه‌های کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی، بر آن شدم تا اثر عصاره اتانولی گیاه توکریوم پولیوم را بر کلنیزه کردن کاندیدا گلابراتا در کبد، طحال و کلیه‌ها بررسی کنیم.

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، 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، به طوری که گاهی پرپشت و خیزان و گاهی خوابیده است [۵-۷].

این گیاه معمولاً در نواحی بایر، سواحل سنگلاخی و ماسه‌زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه 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، کاهش‌دهنده 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 P450 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 به صورت هیپاتیت مزمن یا حاد بدون انسداد مجاری صفراوی است [۱۱].

اخیراً درمان بسیاری از بیماری‌ها به وسیله داروهای گیاهی افزایش یافته است [۱۲]. کمبود عوارض، امکان استفاده از دوزهای بالا، و مقرون به صرفه‌تر بودن گیاهان دارویی از یک طرف و افزایش عوارض داروهای شیمیایی از طرف دیگر، به استفاده 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،

روش شناسی

تهیه گیاه

در این تحقیق از موش سوری بالغ نژاد NMRI و دارای محدوده وزنی 30 ± 5 گرم استفاده شد. موش‌ها پس از انتقال به لانه حیوانات آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، در داخل قفس‌های مجزا به صورت 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 درجه 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 عدم بارداری، موش‌های تحت آزمایش به مدت دو هفته در شرایط ذکرشده نگهداری شدند و پس از این مدت، تزریقات انجام گرفت [۳۰، ۳۳].

تهیه 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 به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. هنگامی که دما به حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید، محیط کشت به پلیت‌ها منتقل شد [۳۰].

فراهم کردن 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 به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۵۰ به روش درون صفاقی در حدود ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار دوم. به نمونه‌های این گروه به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۱۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار سوم. به نمونه‌های این گروه به مدت ۲۰ روز

گیاه کلپوره از ارتفاعات کلاه‌قازی استان اصفهان جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تأیید شد. سپس، نمونه هر بار یوم 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 قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. بعد از اطمینان کامل از خشک شدن 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].

تهیه عصاره اتانولی

به‌منظور تهیه عصاره اتانولی، ۱۰۰ گرم از اندام‌های هوایی پودر شده گیاه به درون ارلن استریل منتقل شد. سپس، به میزانی اتانول به گیاه پودر شده اضافه شد تا جایی که مخلوط گیاه به همراه حلال به صورت سوسپانسیون درآید. به‌منظور عدم دسترسی نور به سوسپانسیون درون ارلن، اطراف آن با فویل آلومینیمی نازک پوشانده و در ارلن با پنبه محکم بسته شد و روی شیکر به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. سپس، تفاله‌گیری و صاف کردن عصاره اتانولی به کمک کاغذ واتمن شماره ۲۰ انجام شد. به‌منظور حذف اتانول، عصاره در دمای محیط قرار گرفت تا خشک شود. سپس، عصاره خشک شده از کف ظرف جدا و پودر حاصل در شیشه قهوه‌ای تا زمان استفاده نگهداری شد. به‌منظور محاسبه وزن پودر گیاه حل شده در حلال، وزن کاغذ صافی از وزن کاغذ صافی حاوی تفاله گیاه کسر شد. بدین ترتیب وزن تفاله به دست می‌آید. سپس، عدد به دست آمده از وزن اولیه گیاه کم شد. عدد حاصل نشان‌دهنده میزان پودر حل شده گیاه در حلال است [۳۱].

تهیه محلول عصاره به‌منظور تزریق به موش

برای رقیق کردن عصاره، سدیم کلراید ۰/۹ درصد تزریقی استفاده شد و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره تهیه شد. عصاره به دست آمده از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده و در شیشه مات قهوه‌ای در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد [۳۲].

آماده کردن حیوان آزمایشگاهی

پنی‌سیلین قرارگرفت و در شیشه‌ها بسته شد. مشخصات هر لوله نوشته و برای اطمینان از عدم تکثیر مخمر در بافت تا شروع عمل هموژنیزه‌کردن و کشت بافت، نمونه‌ها در یخچال نگهداری شد [۳۰، ۳۵].

کشت اندام‌های کبد، طحال و کلیه‌ها

برای له کردن بافت در سرم فیزیولوژی از میکسر هموژنایزر استفاده شد. این دستگاه دارای یک سری تیغه‌های چنگ‌مانند است که با سرعت بالا قابلیت له کردن بافت در مایعات را دارد و باعث می‌شود بافت در سرم به حالت سوسپانسیون درآید. سپس، از مایع هموژنیزه بافت‌ها به‌طور جداگانه رقت سریال به نسبت $\frac{1}{10}$ تهیه شد.

رقت‌های تهیه‌شده از نمونه هموژنیزه به ترتیب 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 برداشت و در محیط کشت سابارو دکستروز آگار کشت چمنی داده شد. محیط‌های کشت در دمای 30°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس، تعداد کلنی‌های رشدیافته در هر محیط کشت شمارش شد [۳۰].

یافته‌ها

بررسی تعداد کلنی کاندیدا/گلابراتا در بافت کبد در رقت‌های مختلف در تمامی گروه‌ها بر اساس نتایج جدول ۱، در سوسپانسیون اصلی تهیه شده از کبد و رقت‌های ۱ تا ۸ از آن، اختلاف معناداری بین چهار گروه کاندیدا و کاندیدا-عصاره در تمامی غلظت‌های عصاره ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ مشاهده شد ($P < 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در سوسپانسیون اصلی و رقت‌های ۱ و ۲ نشان داد. میانگین تعداد کلنی‌های کبد در گروه کاندیدا به‌طور معناداری بیشتر از سه گروه کاندیدا-عصاره بود ($P < 0/05$). همچنین، میانگین تعداد کلنی موجود در کبد در گروه کاندیدا-عصاره ۱۰۰ به‌طور معناداری کمتر از سه گروه دیگر بود ($P < 0/05$). علاوه بر این، تعداد کلنی کبد در غلظت ۲۰۰ کاندیدا-عصاره به‌طور معناداری کمتر از غلظت ۵۰ کاندیدا-عصاره بود ($P < 0/05$).

به‌صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۲۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار چهارم. به نمونه‌های این گروه با دریافت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر کاندیدا/گلابراتا پس از پنج‌مین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۵۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار پنجم. به نمونه‌های این گروه با دریافت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر کاندیدا/گلابراتا پس از پنج‌مین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۱۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه تیمار ششم. به نمونه‌های این گروه با دریافت ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون مخمر کاندیدا/گلابراتا پس از پنج‌مین تزریق عصاره به حیوانات تزریق شد. به مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان عصاره اتانولی کلپوره با دوز mg/kg ۲۰۰ تزریق شد [۲۸، ۳۰].

گروه کاندیدا/گلابراتا. در این گروه عفونت تجربی کاندیدا/گلابراتا ایجاد شد.

گروه کنترل. نمونه‌های این گروه هیچ‌گونه تزریقی دریافت نکردند [۲۸، ۳۰].

گروه دارونما. به نمونه‌های این گروه ۰/۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی تزریقی به مدت ۲۰ روز به‌صورت یک روز در میان تزریق شد. هدف از این عمل اطمینان از عدم تأثیر استرس تزریق طی آزمایش بود [۲۸، ۳۰].

تشریح حیوان آزمایشگاهی

به‌منظور بررسی وجود مخمر کاندیدا/گلابراتا در اندام‌های کبد، طحال و کلیه‌ها تشریح حیوان پس از قطع سر انجام شد. نخست، قسمت شکمی موش با الکل ۷۰ درصد تمیز شد. سپس، به‌وسیله تیغه بیستوری پوست بدن حیوان برش داده و به کمک قیچی تیز و پنس استریل بافت‌ها جدا شد. با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل بافت‌های کبد، طحال و کلیه‌ها شستشو یافت تا خون اضافی پاک شود. سپس، هر بافت در شیشه‌های استریل حاوی ۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی و

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

شاخص گروه	کاندیدا		کاندیدا-عصاره ۱۰۰		کاندیدا-عصاره ۵۰		کاندیدا-عصاره ۲۰۰	
	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار
کبد	غیر قابل شمارش		۳۵/۶۳	۱/۴۸	۱۷/۵۰	۸/۸۱	۱/۱۸	< ۰/۰۰۱

رقت ۱	غیر قابل شمارش	۱۳/۲۵ ۱	۳/۸۷	۲۱/۲۵	۰/۸۲	۴۳/۱۳	۰/۹۱	<۰/۰۰۱
رقت ۲	۳۲۵/۰۰	۹/۴۵	۲/۳۱	۷/۶۳	۰/۶۸	۲۳/۳۷	۱/۲۵	<۰/۰۰۱
رقت ۳	۲۱۸/۷۵	۹/۱۵	۲/۰۶	۷۸/۷۵	۰/۰۰	۵/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۴	۱۷۵/۵۰	۳/۶۶	۲/۱۰	۷۸/۱۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۵	۱۰۳/۷۵	۱/۵۷	۰/۸۲	۶۳/۷۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۶	۸۱/۸۸	۰/۹۱	۰/۹۱	۵۱/۸۸	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۷	۴۲/۵۰	۰/۹۴	۱/۵۷	۳۶/۲۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱
رقت ۸	۲۸/۱۳	۱/۶۲	۰/۹۱	۲۳/۱۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱

بررسی تعداد کلنی کاندیدا/گلابراتا در بافت طحال در رقت‌های مختلف در تمامی گروه‌ها بر 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 عصاره ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ مشاهده شد ($P < 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در تمامی رقت‌ها مشابه بود، به طوری که میانگین تعداد کلنی‌های موجود در طحال در گروه کاندیدا به طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بود ($P < 0/05$). همچنین، میانگین تعداد کلنی طحال در گروه کاندیدا-عصاره ۱۰۰ و کاندیدا-عصاره ۲۰۰ تفاوت معناداری نشان نداد ($P > 0/05$). میانگین تعداد کلنی در این دو گروه به طور معناداری کمتر از میانگین تعداد کلنی در گروه کاندیدا-عصاره ۵۰ بود ($P < 0/05$).

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

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

بررسی تعداد کلنی کاندیدا/گلابراتا در بافت کلیه در رقت‌های مختلف در تمامی گروه‌ها بر 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 عصاره ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ کاندیدا-عصاره مشاهده شد ($P < 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی دانکن در سوسپانسیون اصلی و رقت‌های ۱ تا ۳ بدین صورت بود که میانگین تعداد کلنی‌های کلیه در گروه کاندیدا به طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بود ($P < 0/05$). همچنین، میانگین تعداد کلنی کلیه در گروه کاندیدا-عصاره ۲۰۰ به طور معناداری کمتر از سه گروه دیگر بود ($P < 0/05$). علاوه بر این، تعداد کلنی کلیه در غلظت ۱۰۰ کاندیدا-عصاره به طور معناداری کمتر از غلظت ۵۰ کاندیدا-عصاره بود ($P < 0/05$). ولی در رقت‌های ۴ تا ۸، میانگین تعداد کلنی‌های کلیه در گروه کاندیدا به طور معناداری بیش از سه گروه کاندیدا-عصاره بوده است ($P < 0/05$). همچنین، میانگین تعداد کلنی کلیه در گروه کاندیدا-عصاره ۱۰۰ و کاندیدا-عصاره ۲۰۰ تفاوت معناداری نداشت ($P > 0/05$) و میانگین تعداد کلنی در این دو گروه به طور معناداری کمتر از میانگین تعداد کلنی در گروه کاندیدا-عصاره ۵۰ بوده است ($P < 0/05$).

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

شاخص	کاندیدا		کاندیدا-عصاره ۵۰		کاندیدا-عصاره ۱۰۰		کاندیدا-عصاره ۲۰۰	
	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار	میانگین	خطای معیار
سطح معناداری								

گروه									
کلیه	غیرقابل شمارش	۱۷۷/۵۰	۸/۸۱	۶۷/۵۰	۰/۹۴	۳۹/۳۸	۱/۷۵	<۰/۰۰۱	
رقت ۱	غیرقابل شمارش	۱۲۴/۳۷	۴/۲۷	۵۳/۷۵	۰/۸۲	۲۱/۲۵	۰/۸۲	<۰/۰۰۱	
رقت ۲	غیرقابل شمارش	۹۸/۱۳	۰/۹۱	۲۸/۱۳	۰/۹۱	۶/۸۸	۰/۹۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۳	۳۷۵/۰۰	۹/۴۵	۸۳/۱۳	۱۷/۱۳	۰/۶۷	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۴	۲۲۳/۷۵	۸/۲۲	۷۱/۲۵	۸/۱۳	۰/۹۱	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۵	۱۴۳/۷۵	۳/۱۰	۵۶/۸۷	۱/۶۲	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۶	۱۰۳/۷۵	۱/۸۳	۳۶/۸۷	۱/۳۲	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۷	۹۲/۵۰	۰/۹۴	۲۳/۱۳	۰/۹۱	۰/۰۰	۰/۰۰	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	
رقت ۸	۷۸/۱۳	۰/۹۱	۸/۸۸	۰/۵۵	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 تشکیل‌دهنده گیاه توکریوم پولیوم، به نظر می‌رسد که عصاره اتانولی توکریوم پولیوم عامل مهار رشد کاندیدا در میزبان بوده است. تعداد کمتر کلنی در کلیه‌ها نسبت به کبد، علاوه بر در نظر گرفتن تفاوت اندازه 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، به دنبال 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 قنددوست بودن قارچ‌ها نیز احتمال دارد که کاهش کاندیدا در بافت‌های حیوان به این دلیل باشد.

در بررسی‌های انجام‌شده، عصاره 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 مصرف‌کننده دارو افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت و این داروی گیاهی دارای اثر حفاظت‌کنندگی در مقابل مخمر کاندیدا/آلبیکنس است [۳۷].

فرح‌نژاد و همکاران تأثیر عصاره گیاه آلونه‌ورا را بر تحریک پاسخ ماکروفاژها بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره گیاه باعث افزایش فعالیت ماکروفاژی در حضور مایتوتزن

در موش آلوده به کاندیدا می‌شود [۳۸].

بررسی آثار ضدکاندیدایی و ایمونومدولاتوری اسانس و عصاره‌های گیاه رازیانه نشان داد عصاره 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 عصاره هیدروالکلی گیاه ترخون نشان داد که این عصاره باعث کاهش کاندیدا/آلبیکنس در بافت کبد و کلیه می‌شود [۳۰].

در اردن فعالیت ضدکاندیدایی عصاره متانولی ۱۹ گیاه اردن در برابر کاندیدا/آلبیکنس، کاندیدا/گلابراتا و کاندیدا/کروزئی بررسی شد. بیشتر عصاره‌های متانولی گیاهان اثر ضدکاندیدایی نشان دادند، ولی گیاه توکریوم پولیوم هیچ‌گونه 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 عصاره آبی و کلروفرمی در غلظت کم اثر مهاری بر کاندیدا/آلبیکنس دارد. عصاره 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 کلونیزه کردن کاندیدایی در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی نشان داد که اکالیپتوس موجب کاهش معنادار غلظت کاندیدا/آلبیکنس در هموزنه کبد و کلیه‌ها می‌شود. نتایج نشان داد گیاه اکالیپتوس موجب بهبودی عفونت کاندیدایی در رت‌های سالم و دیابتی می‌شود [۴۳].

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

استعداد کبد به کلونیزه کردن 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 ماده خارجی را در خون یا بافت تشخیص می‌دهد و باعث فعال شدن مسیر فاگوسیتوز می‌شود. *کاندیدا/آلبیکنس* باعث غیرفعال شدن 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 ۱۰۰ mg/kg 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 ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg است، هر چند تعداد کلنی *کاندیدا* در کبد بیش از طحال است. همچنین، بر اساس جدول ۳، در بافت کلیه بهترین دوز مربوط به ۲۰۰ mg/kg 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/گلایراتا* 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 پایان‌نامه دانشجویی با کد ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۳۱۰۴۷ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان جهت اخذ کارشناسی ارشد است. از تمامی افرادی که در انجام این تحقیق همکاری کرده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

تحقیقات انجام شده روی گیاه توکریوم پولیوم نشان داد که نمونه‌های استاندارد *کاندیدا* شامل *کاندیدا/گلایراتا* به عصاره 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 عصاره آبی سیاه‌دانه بر علیه *کاندیدایزیس* در موش‌های آلوده نشان داد عصاره 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 عصاره آبی در مقایسه با گروه *کاندیدا/آلبیکنس* می‌شود. همچنین، تعداد لنفوسیت‌ها در گروه‌های تیمار با عصاره آبی کلپوره در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش می‌یابد. افزایش سلول‌های ذاتی نشان‌دهنده عامل کنترل عفونت در موش است [۴۶]. همچنین، کلپوره دارای ترکیبات فلاونوئیدی 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 *اکسی‌دنتالیس* ترکیبات فلاونوئیدی دارد. ترکیبات فلاونوئیدی قادر به تحریک ایمنی سلولی و همورال است. این امر به کاهش تعداد *کاندیدا/گلایراتا* در بافت‌های مختلف می‌انجامد. فلاونوئیدها ترکیبی به نام ۷-هیدروکسی-۳ و ۴-فلاوان دارد که بر ضد مخمر *کاندیدا/آلبیکنس* مؤثر است [۴۷].

ندیمی و همکاران در بررسی تأثیر عصاره آبی و اتانولی کلپوره بر *کاندیدا/آلبیکنس* و دو گونه *مالاسزیا*، تأثیر مهارتی عصاره کلپوره در سویه‌های مختلف و متفاوت و اثر مهارتی وابسته به دوز را گزارش کردند، به طوری 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 عصاره 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.

References

- [1] Ubulom P, Akpabio E, Ejikeme Udobi C, Mbon R. Antifungal activity of aqueous and ethanolic. *flavus*, *Candida albicans* and *Microsporum canis*. *Pharmaceutical Biotechnology*. 2011; 3(5): 57- 60.
- [2] Moussa A, Saad A, Djebli ND, Meslem A, Benhalima EK. Antifungal Activity of Four Honeys of Different Types from Algeria Against Pathogenic Yeast: *Candida albicans* and *Rhodotorula sp.* *International Journal of Microbiological Research*. 2011; 2(3): 276-279.
- [3] Sarris J. Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: a systematic review. *Phytotherapy Research*. 2007; 21: 703-716.
- [4] Zarezadeh A, Rezaee MB, Mirhosseini A, Shamszadeh M. Ecological investigation of some aromatic plants from Lamiaceae family in Yazd province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2007; Vol 23, No 3.
- [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] Khoochehi 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, Koksai E, Amor W, Mechref Y, Hamood AN, Cordes DB, Pare PW. Biofilm Blocking Sesquiterpenes from *Teucrium polium*. *Phytochemistry*. 2014; 103: 107-113 .
- [10] Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Roghani-Dehkordi F. Antinociceptive Effects of *Teucrium polium* Leaf Extract in the Diabetic Rat Formalin Test. *Journal of EthnoPharmacology*. 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. Safron 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] Heshmati M, Izadi L, Mard-Soltani M. Effect of *matricaria recutita* Hydroalcoholic extract on anxiety behavior in mice by hole-board test. *Zahedan J Res Med Sci*. 2014; 16(3): 21-4.
- [14] Petrovska BB. Historical review of medicinal plants usage. *PharMacogn Rev*. 2012; 6(11): 1-5.
- [15] Mohammadi A, Sanaei Z. Study of antifungal properties and chemical composition of essential oil of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry of Iran*. 2015; 2(1).
- [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. Identification of *Candida* Species Using MP65 Gene and Evaluation of the *Candida albicans* MP65 gene expression in BALB/CMice. *Jundishapur J Microbiol*. 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 dracuncululus* 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 *Candida 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 .
- [42] Hajyani S, Modaresi M, Madani M. Effect of *Malvasylvestris 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) .
- [44] Bonyadpour B, Akbarzadeh M, Pakshir K, Mohagheghzadeh A. In vitro susceptibility of fluconazole, clotrimazole and toucrum polium smoke product on candida isolates of vaginal candidiasis. Armaghane Journal. 2009; 14(2): 87-96.
- [45] Khan MAV, Zuberi NS, Ashfaq MK, Mahmood MS and Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. Phytother. 2003;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

Maryam alsadat Zarei¹, Mahboobeh Madani^{1*}

1. Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Background: *Teucrium polium* is a medicinal plant with species that have been used for over 2000 years in traditional medicine. *Candida glabrata* is one of the most prevalent *Candida* species, which is critical for the treatment of diseases due to being resistant against drugs. The aim of this study is to evaluate the effect of ethanolic extract of *Teucrium polium* on *Candida glabrata* colonization in liver, kidney and spleen.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 90 mature male mice which were divided into 9 groups including: normal, placebo, candida-extract (three treatment), *Candida glabrata* (positive control) and extract (three negative control). Treatment and negative groups were received 50, 100 and 200 mg/kg dosages of extract for 20 days (every other day) by intraperitoneal injection. *Candida glabrata* was injected in the eleventh day. Then homogenized liver, spleen and kidney were cultured on SDA medium and colony count were performed.

Results: According to the results, in 100 and 200 mg/kg of ethanolic extract of *Teucrium polium*, there exist no yeast in liver, kidney and spleen..

Conclusion: It is likely that ethanolic extract of *Teucrium polium*, can stimulate the immunity against *Candida glabrata*.

Received:2017/07/12

Accepted:2017/10/01

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