

بررسی اثرات ضد قارچی گیاه سداب بر کاندیدا آلبیکنس های جدا شده از بیماران مبتلا به واژینیت در شرایط invitro و مقایسه با دو آنتی بیوتیک، طی دو فصل بهار و زمستان

نوشین میررضایی^۱، محمد دخیلی^{۲*}، شهین مهرپور^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

یافته / دوره نوزدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۶ / مسلسل ۷۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۱/۱۴ پذیرش مقاله: ۹۶/۲/۲۲

مقدمه: افزایش مقاومت باکتری ها به عوامل ضد باکتری یکی از مشکلات مهم در پزشکی است. گیاهان دارویی در طب سنتی و منابع غنی گیاهی در دسترس، عاملی برای بررسی دقیق تر داروهای گیاهی بوده است. برخی از اسانس های گیاهی از جمله گیاه سداب دارای اثرات ضد قارچ بوده و از آن می توان به عنوان عوامل ضد میکروب در درمان عفونت ها استفاده کرد. این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضد قارچی اسانس حاصل از گیاه سداب انجام شد. مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، گیاه سداب از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان قم جمع آوری شد. سپس اسانس و عصاره گیری شدند. قطر هاله مهار و حداقل غلظت مهارکننده از رشد و حداقل غلظت کشندگی (MIC، MFC)، ۱۴۰ جدایه کاندیدا آلبیکنس از زنان مراجعه کننده به کلینیک زنان مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: میانگین هاله عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار بر روی جدایه ها به ترتیب برابر با ۱۸/۳۲±۲/۲ mm و ۲۱/۱۶±۳/۷ mm و در زمستان به ترتیب برابر با ۱۶/۱۹±۱/۹ mm و ۱۹/۷۱±۲/۵ mm بود.

نتیجه گیری: طبق نتایج این مطالعه، اسانس این گیاه بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس اثر مهار کنندگی دارد.

واژه های کلیدی: سداب، کاندیدا آلبیکنس، واژینیت، خاصیت ضد قارچی، اسانس، عصاره.

*آدرس مکاتبه: قم، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی.

پست الکترونیک: dr_dakhili@yahoo.com

مقدمه

عفونت های قارچی اگرچه در گذشته شیوع کمتری نسبت به عفونت های باکتریایی و ویروسی داشته اند، ولی در چند دهه اخیر مسئول افزایش چشمگیری در میزان بروز بیماری بوده اند. در بررسی انجام شده طی سال های ۱۹۷۹ تا ۲۰۰۰ در آمریکا بروز عفونت های قارچی ۲۰۷ درصد افزایش داشته است (۱).

مخمر کاندیدا آلبیکنس (*Candida Albicans*) فلور طبیعی بدن است که در افراد سالم به ندرت، باعث بیماری می شود اما به عنوان یک مخمر فرصت طلب در افراد مستعد از قبیل مبتلایان به ایدز و مصرف کنندگان آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و همچنین افرادی که پیوند عضو شده اند ایجاد عفونت می کند. اهمیت بیماری های ناشی از این مخمر، علاوه بر ایجاد عفونت در افراد مستعد، به بیماران ایدزی مربوط می شود که شاخص اصلی ایدز در آنها کاندیدیازیس (*Candidiasis*) مری است (۲). علاوه بر این گونه های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونت های خونی بیماران بستری شده در بیمارستان ها مطرح شده و موجب مرگ و میر ۴۰ درصد از بیماران بستری در بیمارستان های آمریکا شده است (۳). کاندیدا آلبیکنس جزئی از فلور طبیعی سطوح مخاطی حفره دهانی، دستگاه گوارش و واژن است. این قارچ در سطوح مخاطی کلونیزه می شود و بنابراین بیشتر عفونت های درون زاد از این ناحیه ایجاد می شود (۴،۵).

مقاومت های دارویی روزافزون این قارچ و افزایش دوز مصرفی داروهای متداول و به دنبال آن افزایش عوارض جانبی اثر داروها، موجب شده است تا امروزه بیشترین توجه به عواملی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی با عوارض جانبی خفیف معطوف شوند (۶-۸). استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها قرن ها سابقه دارد. امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند، اما تخمین زده شده که دست کم یک سوم کلیه

فرآورده های دارویی منشأ گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته اند (۹).

یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری را برای آن ذکر کرده اند، گیاه سداب با نام علمی *Ruta graveolens L* است. ارزش درمانی این گیاه به قدری زیاد بوده که از آن به عنوان «درمان کننده جمیع بیماری ها» نام برده شده است (۱۰).

روتا گراوولنس یک گیاه چند ساله، بومی منطقه مدیترانه است اما در سراسر اروپا و بسیاری از کشورهای آسیایی از جمله چین، هند و ژاپن وجود دارد. روتا گراوولنس که گیاهی دارویی از دوران باستان است شناخته شده و در حال حاضر، به ویژه در کشورهای آسیایی، برای درمان انواع اختلالات مانند درد، مشکلات چشمی، روماتیسم و درماتیت استفاده می شود (۱۱،۱۲). سداب یکی از گیاهان شایعی است که در اروگوئه برای سقط جنین استفاده می شود (۱۳). از این گیاه در ترکیب با سایر گیاهان در درمان انگل های گوارشی در چهارپایان نیز استفاده می شود (۱۴). همچنین اثر کشنده بر لارو نرم تن حلزون دارد (۱۵). استفاده از آن به عنوان یک حشره کش طبیعی نیز نتایج خوبی داشته است (۱۶). برگاپتن، زانتوکسین و گراولین استخراج شده از این گیاه مسئول اثرات مهاری آن بر تقسیم سلولی دانسته شده است (۱۷).

عصاره این گیاه شامل بیش از ۱۲۰ ترکیب از گروه های مختلف محصولات طبیعی مانند آلکالوئیدهای Acridone، کومارین ها، روغن های ضروری، مسیرهای فلاونوئیدها و فرکوئینون می باشند (۱۸). گونه های *R. graveolens* ترکیبات مورد نظر زیادی در شیمی دارویی هستند که این ترکیبات طیف گسترده ای از فعالیت های بیولوژیکی را نشان می دهند و تعدادی از آنها در حال حاضر در پزشکی استفاده می شوند. عصاره های

دستگاه، آن را از قسمت بالین بر روی هیتر قرار دادیم. بعد از گذشت ۳-۴ ساعت، اسانس در قسمت مدرج دستگاه بر روی آب موجود در آن قسمت جمع شده که این بدین علت است که اسانس روغنی است و بالاتر از آب قرار می گیرد. بعد از خارج کردن آب دستگاه، اسانس سبز رنگ جدا شد. اسانس تهیه شده را در شیشه های تاریک و در بسته تا زمان استفاده، در یخچال نگهداری نمودیم.

در عصاره گیری، از روش خیساندن استفاده کردیم در این روش ۱۰۰ گرم پودر گیاه داخل ظرف شیشه ای تیره ریخته و به آن ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درجه افزوده شد. بعد از ۷۲ ساعت محتویات ظرف با عبور دادن از کاغذ صافی واتمن جدا گردید. با کمک دستگاه حذف حلال در خلاء (روتاری) اتانول حذف نموده و عصاره تغلیظ شده برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن کامل، آن را تا زمان استفاده در فریزر قرار دادیم.

جهت انجام مطالعه حاضر از سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans ATCC 10231) که از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شده بود، استفاده گردید، سپس بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت دو روز انکوبه شد.

تعیین خاصیت ضد قارچی گیاه سداب با استفاده

از روش انتشار دیسک (Disk Diffusion)

جهت بررسی اثر ضد میکروبی گیاه سداب بر مخمر کاندیدا آلبیکنس از روش NCCLS و محیط سابورو دکستروز آگار استفاده نمودیم. کاندیدا آلبیکنس را ۴۸ ساعت قبل از شروع آزمایش کشت داده و ۲ کلنی از آن را به سرم فیزیولوژی استریل افزوده و سپس ۲-۳ کلنی از آن را به سرم فیزیولوژی استریل افزوده و کدورت آن معادل نیم مک فارلند تنظیم گردید، از سوسپانسیون مورد نظر با سوآپ استریل روی محیط سابورو دکستروز آگار

الکلی *R.graveolens* به خاطر اثر ضد پرولیفراتیو در انواع مختلف سلول های سرطانی آزمایش شده که اشاره به سمت یک اثر درمانی بالقوه در سرطان دارند (۱۹-۲۴).

هدف از انجام این مطالعه، تعیین اثر ضد قارچی اسانس و عصاره الکلی ساقه و برگ سداب بر کاندیدا آلبیکنس با روش های دیسک دیفیوژن و تعیین مقدار حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) می باشد.

مواد و روش ها

پس از نمونه گیری از واژن به وسیله سوآپ استریل، تعداد ۱۴۰ نمونه جدا و به آزمایشگاه منتقل شده و بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) که با توجه به دستورالعمل کارخانه سازنده آماده شده بود کشت داده شدند. پس از رشد، از هر نمونه لام تهیه کرده و نمونه های کاندیدایی طبق جداول استاندارد شناسایی و دوباره کشت داده شدند. نمونه ها سپس با تست لوله زایا، بررسی ایجاد کلامیدوکنیدی در محیط کورن میل آگار، بررسی رنگ کلنی در محیط کروم آگار کاندیدا، بررسی رنگ در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد، بررسی جذب قندهای ترهالوز و گزیلوز (اگزانوگرافی)، نمونه های کاندیدا آلبیکنس شناسایی شده و بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت دادیم.

در این مطالعه از اندام های هوایی گیاه (ساقه، برگ، گل) استفاده کردیم. نمونه گیاهی از جهاد دانشگاهی استان قم در فصول زمستان و بهار جمع آوری کرده و پس از جمع آوری و خشک کردن گیاه در سایه، آن را به وسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل نموده و برای تهیه اسانس و عصاره استفاده شد. برای تهیه اسانس، از روش تقطیر با دستگاه کلونجر استفاده کردیم. ابتدا ۱۰۰ گرم از پودر خشک گیاه سداب را در بالن ۲۰۰۰ ml دستگاه ریخته و سپس پودر مورد نظر همراه با آب مقطر به حجم ۱۲۰۰ سی سی رساندیم. پس از اتصال قسمت های مختلف

کشت داده، سپس از دیسک های ۶ میلی متری حاوی ۲۰ میکرولیتر عصاره و اسانس به طور جداگانه، که در حلال دی متیل سولفوکساید حل شده و استوک ۱۰٪ تهیه گردید، استفاده نمودیم. از دیسک های آنتی بیوتیک نیستاتین و فلوکونازول و دیسک حاوی دی متیل سولفوکساید به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. سپس پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری و قطر هاله عدم رشد را بر حسب میلی متر اندازه گیری کردیم.

تعیین MIC و MFC

به منظور تعیین MIC (Minimum Inhibitory Concentration) اسانس گیاه سداب، از روش میکرودايلوشن استفاده کردیم. در این روش با استفاده از میکروتیتر پلیت ۹۶ خانه، غلظت های مختلف اسانس و در مقابل قارچ قرار دادیم و رشد قارچ ها در مقابل اسانس، مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ابتدا در ۹۶ خانه میکروپلیت به مقدار مساوی ۹۵ میکرولیتر محیط سابورو دکستروز براث ریختیم. به لوله اول به مقدار ۱۰۰ ml اسانس با غلظت ۱۰٪ اضافه کرده سپس ۱۰۰ μl از لوله اول برداشته و به لوله دوم اضافه نموده و رقت اسانس در لوله دوم بعد از مخلوط شدن به ۵٪ رسید. به این ترتیب تا لوله آخر سری رقتی تهیه شد که رقت اسانس در هر لوله نصف لوله ماقبل بود. چاهک آخر حاوی ۱۹۵ میکرولیتر نوترینت براث و ۵ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی ولی فاقد ترکیب مورد آزمایش بود. این چاهک را به عنوان کنترل منفی در نظر گرفتیم.

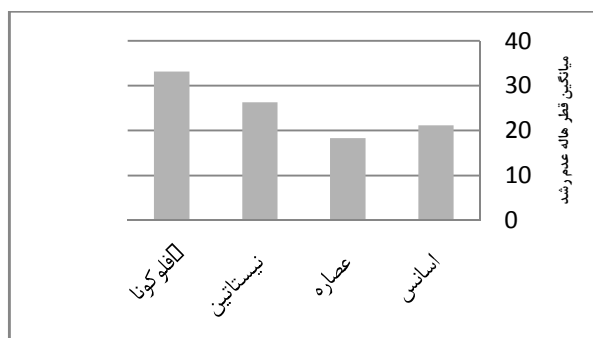
چاهک شماره ۱۱ حاوی محیط سابورو دکستروز براث و اسانس را به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفتیم. سپس به تمام چاهک ها به غیر از چاهک شماره ۱۲، ۵ μl از سوسپانسیون میکروبی 1×10^8 Cfu/ml تلقیح شد پس از بسته شدن درب، میکروتیترها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۰°C انکوبه شدند. آنگاه کدورت چاهک ها به

صورت چشمی خوانده و رشد یا عدم رشد قارچ در آنها مورد بررسی قرار گرفت. متعاقب تعیین MIC، جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس یا MFC (Minimum Fungicidal Concentration)، از چاهک های فاقد کدورت که در آنها رشد مهار شده بود و چاهک های دارای کدورت به کمک لوپ استریل بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده و در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه نمودیم. کمترین غلظتی از اسانس که هیچ قارچی در آن زنده نمانده به عنوان MFC در نظر گرفته می شود. در این مطالعه تأثیر اسانس مورد آزمایش روی نمونه های بالینی و نمونه استاندارد سه مرتبه تکرار شد. برای تعیین MIC و MFC عصاره نیز به همین روش عمل کردیم، ولی به جای اسانس ۱۰٪ از عصاره اتانولی ۱۰٪ رقیق شده به وسیله DMSO ۱۰٪ استفاده نمودیم.

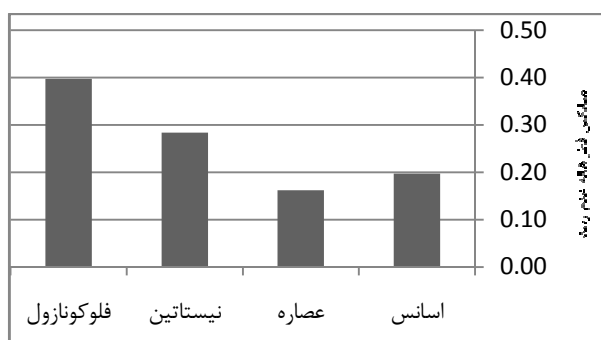
یافته ها

نتایج این مطالعه نشان می دهد که میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد، در روش دیسک دیفیوژن اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار بر روی نمونه های بالینی به ترتیب برابر با $19/71 \pm 2/5$ و $16/19 \pm 1/9$ میلی متر و بر روی نمونه استاندارد به ترتیب برابر ۲۳ و ۱۹ میلی متر می باشد و در فصل زمستان این نتایج برای اسانس و عصاره برابر با $21/16 \pm 3/7$ و $18/32 \pm 2/2$ میلی متر به دست آمد. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد ناشی از تأثیر فلوکونازول و نیستاتین بر روی نمونه های بالینی به ترتیب برابر با $39/74 \pm 7/4$ میلی متر و $28/39 \pm 3/2$ میلی متر به دست آمد. میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از تأثیر فلوکونازول و نیستاتین بر روی نمونه استاندارد به ترتیب برابر با ۴۱ و ۳۶ میلی متر بود.

نتایج حاصل از MIC اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار، بر روی جدایه های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان $2/19 \times 10^3$ μg/ml و $1/88 \times 10^4$ μg/ml



نمودار ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد ثبت شده در نتیجه تأثیر داروهای مورد بررسی بر کاندیدا آلبیکنس (در فصل زمستان).



نمودار ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد ثبت شده در نتیجه تأثیر داروهای مورد بررسی بر کاندیدا آلبیکنس (در فصل بهار).

مقدار MIC و MFC اسانس در فصل بهار و در فصل زمستان بیشتر از سویه استاندارد بوده است. مقادیر MIC و MFC عصاره در فصل بهار بیشتر از سویه استاندارد و در فصل زمستان کمتر از سویه استاندارد بوده است.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار MIC ناشی از تأثیر عصاره و اسانس بر روی جدایه های کاندیدا آلبیکنس ($\mu\text{g/ml}$).

عصاره	اسانس	فصل
$1/88 \times 10^2 \pm 0/62 \times 10^4$	$2/19 \times 10^2 \pm 2/27 \times 10^2$	بهار
$2/07 \times 10^4 \pm 0/59 \times 10^4$	$2/03 \times 10^2 \pm 0/78 \times 10^2$	زمستان
0/038	0/64	P-value

نتایج حاصل از MFC اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل بهار، بر روی جدایه های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان $3/78 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ و $3/03 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$ و به میزان $3/79 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ و $3/92 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$ در فصل زمستان، دارای اثر کشندگی و بر روی نمونه استاندارد اسانس هر دو فصل به میزان مساوی و برابر با $2625 \mu\text{g/ml}$ و عصاره فصل بهار $25000 \mu\text{g/ml}$ و عصاره

بر روی نمونه استاندارد به میزان $1312/5 \mu\text{g/ml}$ و $12500 \mu\text{g/ml}$ دارای اثر مهارکنندگی می باشد و نتایج MIC اسانس و عصاره اتانولی سداب در فصل زمستان، بر روی جدایه های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب به میزان $2/03 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ و $2/07 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$ بر روی نمونه استاندارد به میزان $1312/5 \mu\text{g/ml}$ و $25000 \mu\text{g/ml}$ دارای اثر مهارکنندگی می باشد.

طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه گیاه سداب دارای اثر ضد قارچی می باشد و نشان می دهد که قطر هاله عدم رشد تولید شده در نتیجه تأثیر فلوکونازول بر کاندیدا آلبیکنس در تمام فصول بیشتر از قطر هاله تولید شده از سایر داروها بوده است. در این بین قطر هاله عدم رشد تولید شده از اسانس در تمام فصول بزرگتر از قطر هاله عدم رشد عصاره بوده است.

طبق جدول ۱ مقدار MIC اسانس نسبت به عصاره در دو فصل زمستان و بهار کمتر بوده است و این تفاوت ها به لحاظ آماری معنی دار است ($P < 0/01$) و همچنین نشان می دهد که مقدار MIC اسانس در فصول بهار و زمستان یکسان بوده است ($P < 0/05$). همچنین این نتایج نشان می دهد که مقدار MIC ثبت شده برای عصاره در فصل زمستان بیشتر از فصل بهار بوده است ($P < 0/05$).

جدول ۲ نشان می دهد که مقدار MFC اسانس در فصول بهار و زمستان یکسان بوده است ($P < 0/05$). همچنین این نتایج نشان می دهد که مقدار MFC ثبت شده برای عصاره در فصول بهار و زمستان متفاوت بوده و در فصل بهار کمتر بوده است ($P < 0/05$).

به لحاظ قطر هاله عدم رشد عملکرد اسانس در فصل بهار، برابر با سویه استاندارد و در فصل زمستان کمتر از قطر هاله عدم رشد عملکرد اسانس بر سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس بوده است. قطر هاله عدم رشد عصاره در فصل بهار و زمستان کمتر از سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس بوده است.

بر قارچ کاندیدا آلبیکنس در طی دو فصل زمستان و بهار بررسی شده و اثرات آن در دو فصل با هم و همچنین با اثر دو آنتی بیوتیک ضد قارچ مقایسه شد.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ نشان داده شد که اسانس سداب بر روی کاندیدا آلبیکنس در غلظت ۴٪ و بر روی کاندیدا کروژی در غلظت ۲٪ دارای تأثیر مهارکنندگی از رشد می‌باشد (۳۱).

اثرات ضد باکتریایی این گیاه نیز مورد مطالعه قرار گرفته است، از جمله در یک مطالعه تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی برگ سداب بر سودوموناس آئروجینوزا نشان داده شده است (۳۲). در دو مطالعه دیگر نیز تأثیر عصاره‌های برگ سداب بر باکتری‌های مختلف از جمله استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است (۳۳، ۳۴).

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه مشخص شد که اسانس و عصاره اتانولی اندام‌های هوایی گیاه سداب اثر بازدارندگی بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس دارد؛ که ممکن است به دلیل وجود مواد ضد قارچی در گیاه مذکور باشد. بررسی اثر اسانس و دیگر عصاره‌های این گیاه بر سایر گونه‌های کاندیدا و قارچ‌های دیگر و در نهایت بررسی اثرات درمانی آن در مدل‌های حیوانی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از جناب آقای دکتر محمد دخیلی به عنوان استاد راهنما و همچنین از جناب آقای دکتر مهدی خجسته کی کمال تشکر و قدردانی را دارم.

فصل زمستان به میزان $5000 \mu\text{g/ml}$ دارای اثر کشندگی می‌باشد.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار MFC فصول مختلف در نتیجه تأثیر عصاره و اسانس بر روی کاندیدا آلبیکنس ($\mu\text{g/ml}$).

فصل	اسانس	عصاره
بهار	$3/78 \times 10^3 \pm 3/32 \times 10^3$	$3/03 \times 10^4 \pm 1/29 \times 10^4$
زمستان	$3/79 \times 10^3 \pm 1/45 \times 10^3$	$3/92 \times 10^4 \pm 1/24 \times 10^4$
P-value	۰/۹۶	۰/۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت‌های قارچی اگرچه در گذشته شیوع کمتری نسبت به عفونت‌های باکتریایی و ویروسی داشته‌اند، ولی در چند دهه اخیر مسئول افزایش چشمگیری در میزان بروز بیماری بوده‌اند.

گسترده‌ی بیماری‌های قارچی فرصت طلب در افراد مستعد از یک سو و افزایش روزافزون مقاومت‌های دارویی و اثرات سوء آن از طرفی دیگر موجب اهمیت در زمینه بررسی آثار ضد قارچی گیاهان شده است (۲۵، ۲۶). گیاه درمانی به عنوان یک طب مستقل یا در کنار طب غربی می‌تواند در درمان بیماری‌های قارچی، کمک کننده باشد (۲۷).

تاکنون در مطالعات مختلف خواص ضد قارچی سداب مورد بررسی قرار گرفته است (۲۸، ۲۹). اثرات ضد باکتریایی گیاه سداب بر علیه استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس نیز در مطالعات مختلف نشان داده شده است (۳۰). در این مطالعه نیز اثرات ضد قارچی اندام‌های هوایی گیاه سداب

References

1. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *NEJM*. 2003; 348(16): 1546-1554.
2. Menon T, Umamaheswari K, Kumarasamy N, Solomon S, Thyagarajan S. Efficacy of fluconazole and itraconazole in the treatment of oral candidiasis in HIV patients. *Acta tropica*. 2001; 80(2): 151-154.
3. Panáček A, Kolář M, Večeřová R, Pruček R, Soukupová J, Kryštof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*. 2009; 30(31): 6333-6340.
4. Perumal P, Mekala S, Chaffin WL. Role for cell density in antifungal drug resistance in *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(7): 2454-2463.
5. Seneviratne C, Jin L, Samaranayake Y, Samaranayake L. Cell density and cell aging as factors modulating antifungal resistance of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(9): 3259-3266.
6. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20(1): 133-136.
7. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10(1): 14-19.
8. Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(1): 120-128.
9. Omidbeigi R. Production and processing of medicinal plants. 4th ed. Mashhad: Astan-e-Ghods-e-Razavi Press. 2007; 256-267.
10. Zargari A. Medicinal plants. Tehran: Tehran University. 1996; 464-467.
11. Conway GA, Slocumb JC. Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New Mexicans. *J Ethnopharmacol*. 1979; 1(3): 241-261.
12. Kuzovkina I, Al'terman I, Schneider B. Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tips of transformed roots of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*. 2004; 65(8): 1095-1100.
13. Ciganda C, Laborde A. Herbal infusions used for induced abortion. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003; 41(3): 235-241.
14. Lans C, Turner N, Khan T, Brauer G. Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada. *Vet Parasito*. 2007; 148(4): 325-340.
15. Hmamouchi M, Lahlou M, Agoumi A. Molluscicidal activity of some Moroccan Medicinal Plants. *Fitoterapia*. 2000; 71(3): 308-314.
16. Hadis M, Lulu M, Mekonnen Y, Asfaw T. Field trials on the repellent activity of four plant products against mainly *Mansonia* population in western Ethiopia. *Phytotherapy research*. 2003; 17(3): 202-205.
17. Hale AL, Meepagala KM, Oliva A, Aliotta G, Duke SO. Phytotoxins from the leaves of *Ruta graveolens*. *J Agri Food Chemist*. 2004; 52(11): 3345-3349.

18. Gutiérrez-Pajares JL, Zúñiga L, Pino J. Ruta graveolens aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development. *Reprod Toxicol*. 2003; 17(6): 667-672.
19. Ratheesh M, Shyni G, Sindhu G, Helen A. Inhibitory effect of Ruta graveolens L. on oxidative damage, inflammation and aortic pathology in hypercholesteromic rats. *Experim Toxicol Pathol*. 2011; 63(3): 285-290.
20. Ratheesh M, Sindhu G, Helen A. Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from Ruta graveolens. *Inflamm Res*. 2013; 62(4): 367-376.
21. Fadlalla K, Watson A, Yehualaeshet T, Turner T, Samuel T. Ruta graveolens extract induces DNA damage pathways and blocks Akt activation to inhibit cancer cell proliferation and survival. *Anticancer Res*. 2011; 31(1): 233-241.
22. Brower V. Back to nature: extinction of medicinal plants threatens drug discovery. *J Natl Cancer Inst*. 2008; 100(12): 838-839.
23. Li JW-H, Vederas JC. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science*. 2009; 325(5937): 161-165.
24. Pollio A, De Natale A, Appetiti E, Aliotta G, Touwaide A. Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: Ruta spp.(rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *J Ethnopharmacol*. 2008; 116(3): 469-482.
25. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29(7): 1303-1310.
26. Nasrolahi Z, Yadegari MH, Moazeni SM. Antifungal effect green tea polyphenols (Camellia sinensis) on Candida albicans. *J Med Sci*. 2009; 12(3): 71-77.
27. Meng N, Lan-ying L, Yun-dong Y. Anti-fungal test of composite agastache lotion on seven pathogenic fungi and its clinical application. *Chinese J Integrat Med*. 2003; 9(3): 236-236.
28. Oliva A, Lahoz E, Contillo R, Aliotta G. Fungistatic activity of Ruta graveolens extract and its allelochemicals. *J Chemical Ecology*. 1999; 25(3): 519-526.
29. Oliva A, Meepagala KM, Wedge DE, Harries D, Hale AL, Aliotta G, et al. Natural fungicides from Ruta graveolens L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *J Agricult Food Chem*. 2003; 51(4): 890-896.
30. Ivanova A, Mikhova B, Najdenski H, Tsvetkova I, Kostova I. Antimicrobial and cytotoxic activity of Ruta graveolens. *Fitoterapia*. 2005; 76(3): 344-347.
31. Nogueira JC, Diniz Mde F, Lima EO. In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008; 74(1): 118-120.
32. Olia P, Saderi H, TabatabaiNejad S. Comparison of antimicrobial effect of Ruta graveolens and gentamicin against Pseudomonas aeruginosa. *Iranian J Med Aromatic Plants Res*. 2004; 20(2): 171-180. (In Persian)
33. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants

- commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol.* 2003; 80(3): 223-230.
34. Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, et al. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *J Ethnopharmacol.* 2000; 73(1): 299-305.

Effects of antifungal Rue on the candida albicans isolated from patients with vaginitis on in vitro during spring and winter seasons and comparison with two antibiotics

Mirrezaee N¹, Dakhili M^{2*}, Mehrpour Sh²

1. MSc Student of Biology Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Qom Branch, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences Islamic Azad University, Qom Branch, Iran, n.mirrezaee2012@gmail.com

Received: 3 April 2017 Accepted: 17 May 2017

Abstract

Background : Fungi resistance to antifungal agents is one of the most common problems in medicine. Herbal remedies increased use in the traditional medicine an interesting and unexplored source of assessing new drug. Some plant essential oils, including Rue (*Rue officinalis* L) have anti- fungaleffects and they can be used as antimicrobial agents in treatment of infections. Hence, the aim of this study was to evaluate the compounds of essential oil and the anti – microbial properties of its essential oil.

Materials and Methods: In this experimental study, Ruta graveolens of Agriculture Research Center in Qom were collected . The essential oils were extracted, the inhibitory zone diameter and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MIC, MFC), 140 candida isolates from patients referred to the clinic in women.

Results: The mean inhibition in the disk diffusion method essential oils and ethanol extract in the spring on the isolates, 19.71 ± 2.50 mm and 16.19 ± 1.9 mm were respectively, and in the winter 21.16 ± 3.7 mm and 18.32 ± 2.2 mm, respectively.

Conclusion: The results of this study, Rue essential oil and extract on candida albicans inhibitory effect .

Keywords: Rue, Candida, Vaginitis, Anti-fungal, Essential oils, Extracts.

***Citation:** Mirrezaee N, Dakhili M, Mehrpour Sh. Effects of antifungal Rue on the candida albicans isolated from patients with vaginitis on in vitro during spring and winter seasons and comparison with two antibiotics. Yafte. 2017; 19(2):50-59.