Evaluation of the Antifungal Effect of Fluconazole Separately and with *Coriander* Essential Oil on *Candida* Species Isolated from the Mouth of HIV-Positive Individuals

Vida Abdi[1], Parvin Dehghan[2]. Behzad Zolfaghari[3], Mehrnoush Maheronnaghsh[4], Asghar Heidarian[5]

1 MSc student, Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-6163-3827

2. Associate Professor, Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran., (Corresponding Author), Tel: +98-31-37929108, Email:dehghan@med.mui.ac.ir. ORCID ID: 0000-0002-0000-6643

3. Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. .ORCID ID: 0000-0001-7087-2590

4. Assistant Professor, Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3597-6463

5. Staff, Isfahan Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-0527-6423

ABSTRACT

Background and Aim: *Candida* species are opportunistic yeasts that can cause opportunistic infections when the host becomes debilitated or immunocompromised. *Coriander* is a plant belonging to the Umbelliferae family and its leaves and seeds are widely used in traditional medicine. *Coriander* essential oil (E.O.) has shown antibacterial, antifungal, and antioxidant activities. This study aimed to evaluate the antifungal effect of fluconazole alone and with *coriander* E.O on 39 *Candida* species isolated from the mouth of Human Immunodeficiency Virus (HIV) positive individuals.

Materials and Methods: In this study, the broth microdilution tests according to the CLSI M27-S3 were applied to find the amount of Minimum inhibitory concentration (MIC) of fluconazole alone and together with coriander E.O (synergism) for each *Candida* isolate. For this purpose, the E.O. of *Coriander* seeds was extracted using a Clevenger apparatus by steam hydro-distillation, and then the synergism effect of E.O. and fluconazole on *Candida* isolates was investigated. Data were analyzed by SPSS-25 software. Mann-Whitney, and Tukey post hoc tests, and the one-way analysis of variance were used to analyze the results.

Results: Susceptibility of fluconazole was determined as follows: 69.2% of the *Candida* isolates were sensitive, 17.9% were resistant and 12.9% were susceptible dose-dependent (SDD). The MIC mean was 27.3 µg/ml for fluconazole, 32.7 µg/ml for coriander E.O, and 9.39 µg/ml for the combined effect of fluconazole and *Coriander* E.O (synergistic effects).

Conclusion: The fact that *Coriander* E.O has an inhibitory effect on all *Candida* isolates used in this study, it can be considered a capable antifungal, especially in combination with fluconazole (synergistic effects), and the antifungal effect of *Coriander* E.O is proposed to investigate in treating candidiasis for future clinical trials.

Keywords: *Candida* species, AIDS, *Coriander*, Antimicrobial, Fluconazole.

Received: April 13, 2021 **Accepted:** Oct 20, 2021

How to cite the article: Vida Abdi, Parvin Dehghan. Behzad Zolfaghari, Mehrnoush Maheronnaghsh, Asghar Heidarian. Evaluation of the Antifungal Effect of Fluconazole Separately and with *Coriander* Essential Oil on *Candida* Species Isolated from the Mouth of HIV Positive Individuals.ŚJKU 2023;27(1):20-29.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

بررسی اثر ضدقارچی فلوکونازول به صورت جداگانه و همراه با اسانس گشنیز بر روی گونه های کاندیدا جدا شده از دهان افراد HIV مثبت

ویدا عبدی[۱]، پروین دهقان[۲]، بهزاد ذوالفقاری[۳]، مهرنوش ماهرالنقش[۴]، اصغر حیدریان[۵]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران. کد ارکید: ۳۸۲۷-۶۱۶۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲- دانشیار، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران، پست الکترونیک :dehghan@med.mui.ac.ir ، تلفن: ۳۷۹۲۹۱۰۸-۰۳۱،کد ارکید: ۶۶۴۳-۰۰۰۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۳. استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی وعلوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران. کد ارکید: ۲۵۹۰-۷۰۸۷-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۴. استادیار، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران. کد ارکید: ۶۴۶۳-۳۵۹۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۵. کارشناس ارشد، مرکز بهداشت اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران. کد ارکید: ۶۴۲۳-۰۵۲۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: گونه های کاندیدا ازمخمر های فرصت طلب بوده که در صورت مناسب شدن شرایط و ضعف سیستم ایمنی می توانند ایجاد بیماری کنند. گیاه گشنیز از خانواده امبلی فرا بوده و اسانس ، عصاره برگ ها و دانه های این گیاه دارای فعالیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی می باشد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضدقارچی فلوکونازول به تنهایی و همراه با اسانس گشنیز بر روی۳۹ گونه از کاندیدا های جدا شده از دهان افراد HIV مثبت می باشد .

مواد و روش‌ها: در این تحقیق با استفاده از روش میکرودایلوشن براث طبق استاندارد CLSI M27-S3 کمترین غلظت بازدارندگی(MIC) داروی فلوکونازول به تنهایی و همراه با اسانس گشنیز(سینرژیسم) ، برای هر ایزوله کاندیدا تعیین گردید . برای این منظور با استفاده از دستگاه کلونجر و با روش تقطیر با بخار آب، اسانس دانه های گیاه گشنیز استخراج شد و سپس تاثیر سینرژیسم اسانس و فلوکونازول بر ایزوله های کاندیدا ی جداشده از دهان افراد HIV مثبت بررسی گردید. داده ها پس از جمع آوری با استفاده از نرم افزار SPSS-25 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت تحلیل نتایج از آزمون من ویتنی، آزمون تعقیبی توکی و آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: از تعداد ۳۹ کاندیدای مورد بررسی در این تحقیق ۶۹/۲٪ ایزوله ها به فلوکونازول حساس، ۱۷/۹٪ مقاوم و ۱۲/۹٪ حساس وابسته به دوز تشخیص داده شد. میانگین MIC کل ایزوله های کاندیدا در فلوکونازول ۲۷/۳ µg/ml ، در اسانس گشنیز µg/ml ۳۲/۷ و سینرژیسم ۹/۳۹ µg/ml بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه اسانس گشنیز بر روی همه ی ایزوله های بکار رفته در این تحقیق اثر مهاری داشته می توان آن را اسانسی موثر، به ویژه همراه با فلوکونازول، بر روی قارچ کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی معرفی و بررسی های بالینی و اثرات ضدقارچی آن را توصیه نمود.

کلمات کلیدی: گونه های کاندیدا، ایدز، ، گشنیز، آنتی میکروبیال، فلوکونازول

وصول مقاله:۱۴۰۰/۱/۲۴ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۰/۶/۸ پذیرش:۱۴۰۰/۷/۲۸

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

مقدمه

بیماری های عفونی ناشی از باکتری ها و قارچ ها در سرتاسر دنیا به ویژه در کشورهای درحال توسعه رو به افزایش می باشد (۱). انواع کاندیدا بصورت فلور نرمال در دهان، پوست، دستگاه گوارش و واژن انسان وجود دارد(۲). این مخمر جزو ارگانیسم های فرصت طلب بوده که در صورت مناسب شدن شرایط می توانند ایجاد بیماری کند (۳). شیوع بیماری های تضعیف کننده سیستم ایمنی از جمله ایدز، به عنوان عامل زمینه ای گسترش ابتلا به عفونت های قارچی فرصت طلب از جمله کاندیدیازیس رو به افزایش است. به طوری که تعداد افراد مبتلا به ایدز در سال ۲۰۱۰ در ایران با توجه به جمعیت ۷۴ میلیون نفری ، بین ۵۳ تا ۱۱۰ هزار نفر تخمین زده شده است (۴) . حدود ۹۰٪ مبتلایان به HIV حداقل یک بار در دوره بیماری شان به ضایعات ناشی از این قارچ مبتلا می شوند(۵). امروزه با وجود پیشرفت هایی در زمینه علوم دارویی و داروهای ضد قارچی، عفونت های قارچی تهاجمی موجب مرگ و میر بسیاری از بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی می شوند. قارچ های فرصت طلب از جمله کاندیدا، منجر به ایجاد عفونت های منتشره و تهاجمی در این افراد می شوند. کاندیدیازیس دهانی ناشی از کلونیزاسیون گونه های مختلف کاندیدا درحفره دهان می باشد. میزان شیوع آن حتی در قرن بیست و یکم در بیماران مبتلا به ایدز به وفور گزارش شده است(۶-۹). علی رغم وجود انواع داروهای ضد قارچی به شکل موضعی و یا به صورت سیستمیک، برای درمان کاندیدیازیس ، ایجاد مقاومت به درمان های ضدقارچی موجود در حال افزایش است. با توجه به استفاده گسترده و طولانی مدت داروهای ضد قارچی در مبتلایان به ایدز، عود بیماری کاندیدیازیس در این افراد و مشاهده مقاومت دارویی انواع کاندیدا به داروهای موجود، نیاز به درمان های ضد قارچی جایگزین و جدید کاملا محسوس می باشد (۷ و۳) . فلوکونازول اغلب داروی انتخابی برای درمان کاندیدیازیس در بیماران مبتلا به ایدز می باشد که به صورت تجربی تجویز می گردد. استفاده وسیع فلوکونازول منجر به ظهور مقاومت به آزول ها در استرین های *کاندیدا آلبیکنس* که قبلا به فلوکونازول حساس بوده اند، شده است. این مقاومت مانع از تجویز تجربی فلوکونازول برای درمان کاندیدیازیس شده است(۹). نیاز به مصرف طولانی مدت داروهای ضدقارچی که خود منجر به بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف آن ها می گردد و شناسایی بعضی از فاکتورهای ژنتیکی در ارتباط با مقاومت دارویی نسبت به فلوکونازول، محدودیت هایی را در استفاده از این ترکیبات ضدقارچی به وجود آورده است (۱۱و۱۰) . داده های جمع آوری شده نشان می دهد که میزان مقاومت *کاندیدا آلبیکنس* به فلوکونازول در بیماران مبتلا به ایدز از ۹/۳ ٪ تا ۵۶/۷٪ می باشد (۷). گستردگی بیماری های قارچی فرصت طلب در افراد مستعد از یک سو و افزایش روز افزون مقاومت های دارویی و اثرات سوء آن از سویی دیگر موجب اهمیت یافتن ترکیبات ضدقارچی موثر با منشاء طبیعی و اثرات جانبی کمتر شده است (۸). از لحاظ تاریخی، اسانس های مختلف به طور گسترده ای به دلیل قابلیت های بالقوه آنتی بیوتیکی مورد پذیرش قرار گرفته اند. پژوهش های مختلفی اثر ضد قارچی، ضد میکروبی و ضد ویروسی و اسانس های گیاهی را به اثبات رسانده است (۱۲) .

گشنیز (*Coriander sativum* L.) گیاهی یک ساله، علفی و متعلق به خانواده چتریان است. مطالعات فارماکولوژیک اثر ضد دیابتی و ضد سرطانی گشنیز را در مدل های حیوانی به اثبات رسانده است. دانه گشنیز در پزشکی عمدتا به عنوان یک دارو برای سوء هاضمه، ضد کرم، روماتیسم و درد مفاصل مصرف می شود. گشنیز یکی از سودمندترین گونه های حاوی اسانس است که به خاطر کاربردهای دارویی و غذایی اش با ارزش می باشد. برگ های و دانه های گیاه گشنیز به طور وسیع در طب سنتی استفاده می شود و اسانس و عصاره آن دارای فعالیت های ضد باکتریایی ، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی می باشد (۱۳) . بنابر این با توجه به خواص ضد قارچی این گیاه و از طرفی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

ایجاد مقاومت گونه های کاندیدا به داروهای موجود آزولی همانند فلوکونازول از طرف دیگر و عوارض زیاد داروهای ضد قارچی ، نیاز به درمان های جایگزین ویافتن متابولیت ها و طراحی فرمولاسیون های جدید دارویی برای درمان کاندیدیازیس کاملا محسوس می باشد.

در این مطالعه پس از تایید تشخیص گونه های کاندیدا جدا شده از دهان افراد HIV مثبت، اثر ضدقارچی فلوکونازول به صورت مجزا برروی گونه های کاندیدا و نیز تاثیر این داروی تجارتی همراه با اسانس گشنیز به صورت سینرژیسم بر رشد آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ایزوله های کاندیدا:

تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی می باشدکه بر روی گونه های مخمری جدا شده از دهان افراد HIV مثبت انجام شد. محاسبه حجم نمونه با استفاده از فرمول آماری مربوطه و رفرنس شماره (۱۴) تعداد۲۶ نمونه تعیین گردید، با احتمال ریزش نمونه ها به دلیل عدم رشد گونه و یا از دست دادن نمونه در طول انجام آزمایش، مطالعه حاضر برروی ۳۹ گونه جداشده و شناسایی شده از پژوهش پیشین انجام گرفت (۱۵).

معیار ورود به مطالعه، نمونه های کاندیدای جدا شده از دهان افراد HIV مثبت در پژوهش پیشین و معیار خروج از مطالعه ازدست رفتن نمونه و عدم رشد آن در نظر گرفته شد.

گونه های جدا شده در مطالعه قبلی، پس از کشت بر روی محیط سابورو دکستروز آگار: Sabouraud dextrose agar (SDA) با استفاده از روش های استاندارد قارچ شناسی نظیر تولید لوله زایا و تمایز براساس رنگ کلنی برروی محیط کشت CHROMagar Candida و روش های مولکولی PCR- RFLP با استفاده از آنزیم محدودالاثر *MSP1* و افتراق گونه های *کاندیدا آلبیکنس* از کاندیدا *دابلینیسیس* به روش Duplex PCR تایید گونه شده اند (۱۵).

تهیه محلول مادر (استوک، Stock) فلوکونازول:

به منظور تهیه محلول استوک ۱۲۸۰ µg/ml فلوکونازول طبق راهنمای CLSI ۰/۰۰۶ گرم پودر خالص فلوکونازول (شرکت Merck ، آلمان) توزین و در ۵ ml آب مقطرو به میزان مشخص از حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO: Dimethyl sulfoxide) جهت حلالیت بهتر استفاده گردید و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد.

محلول استوک در حجم های ۱ cc تقسیم شد و در فریزر ۲۰°c- جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد. جهت استفاده از دارو هربار یکی از ویال های مربوطه را به کمک RPMI-1640 به نسبت مورد نیاز رقیق نموده و مراحل بعدی آزمایش انجام شد (۱۶).

تهیه و استخراج اسانس دانه گشنیز:

پس از تایید نام علمی گیاه در گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اصفهان ، عمل استخراج اسانس انجام گردید. به این منظور مقدار ۳۵۰ گرم دانه گشنیز خشک به دستگاه کلونجر که اساس کار آن بر تقطیر آبی است منتقل و به مدت ۳ ساعت اسانس موجود استخراج و پس از جمع آوری و آب گیری با سولفات سدیم در ظروف تاریک و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. یک میلی لیتر اسانس ۰/۸ گرم وزن داشت.

تهیه سوسپانسیون قارچی:

سوسپانسیونی از هر یک از کشت های تازه (۲۴-۱۸ ساعته) قارچی توسط سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. بدین صورت که مقداری از کلنی تازه کشت داده شده در محیط SDA را برداشته و در مقداری سرم فیزیولوژی مخلوط نموده پس از ورتکس، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نوری آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. جذب نوری نمونه بایستی بین ۰/۱۳-۰/۰۸ باشد. به این طریق سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند تهیه نموده که حدود

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

$۱۰^{۶}$ × ۵ سلول مخمری در هر میلی لیتر آن سلول مخمری موجود می باشد. سپس سوسپانسیون حاصله را جهت انتقال به چاهک میکروپلیت، طی دومرحله به میزان ۱/۵۰۰ رقیق نموده، در مرحله اول با سرم فیزیولوژی به نسبت ۱ به ۱۰ و سپس با استفاده از محیط RPMI-1640 به نسبت ۱ به ۵۰ رقیق سازی شد . تعداد سلول های سوسپانسیون حاصله با استفاده از لام نئوبار ۱۰۰۰ سلول مخمری در هر میلی لیتر شمارش شد.

تست حساسیت دارویی به روش میکرودایلوشن براث (Microdilution broth):

در این مطالعه روش استاندارد میکرودایلوشن براث مطابق استاندارد CLSI-M27-S3 با استفاده از میکروپلیت های ۹۶ خانه ای انجام گرفت. طبق راهنمای CLSI محلول استوک فلوکونازول تهیه شد و جهت رقیق سازی آن از RPMI-1640 (با گلوتامین و فنل رد و بدون بی کربنات با شناساگر pH) استفاده شد. جهت انجام تست میکرودایلوشن ۱۰ رقت از فلوکونازول از رقت ۲۵۶ تا ۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر تهیه گردید.

تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) یا Minimum inhibitory concentration:

در ابتدا درون چاهک های ردیف اول ۱۰۰میکرولیتر از رقت های سریال فلوکونازول ریخته شد به طوری که چاهک اول حاوی بیشترین غلظت (۲۵۶ µg/ml) و چاهک دهم حاوی کمترین غلظت (۰/۵ µg/ml) دارو بود. در ادامه ۱۰۰ µl از سوسپانسیون آماده تلقیح که حاوی ۱۰۰۰ سلول مخمری در هر میلی لیتر بود به هر چاهک اضافه شد. چاهک یازدهم حاوی ۱۰۰ µl دارو و ۱۰۰ µl محیط RPMI و فاقد ارگانیسم به عنوان کنترل منفی و چاهک دوازدهم حاوی ۱۰۰ µl محیط RPMI بدون دارو و ۱۰۰ µl از سوسپانسیون گونه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) حساس به فلوکونازول، به عنوان کنترل مثبت جهت مقایسه رشد با سایر چاهک ها در نظر گرفته شد.

در مورد اسانس پس از انجام آزمایشات متعدد به صورت پایلوت با مقادیر مختلف اسانس، غلظت اولین چاهک ۱۰۰µg/ml در نظر گرفته شد. به همین منظور برای حلالیت بهتر آن، ابتدا اسانس و DMS به میزان ۱:۲۰ مخلوط نموده ، سپس محلول به دست آمده را با محیط RPMI به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق کرده تا اسانس به به میزان یک دوهزارم رقیق شود. در مرحله بعد با استفاده از میکروپلیت های ۹۶ خانه ای به هر چاهک پلیت ۱۰۰ µl محیط RPMI اضافه شد. پس از آن میزان ۱۰۰ µl از رقیق شده به چاهک اول افزوده شد و با انتقال به چاهک های بعدی رقت های متوالی از اسانس تهیه گردید. در پایان به هر چاهک ۱۰۰ µl سوسپانسیون مخمری افزوده شد. در نتیجه اسانس در اولین چاهک به میزان یک هشت هزارم رقیق شد. یک میلی لیتر اسانس گشنیز برابر ۰/۸ گرم توزین شد. بنابراین غلظت اسانس در اولین چاهک ۱۰۰ µg/ml و چاهک های بعد به ترتیب ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه شد. تعداد ۸ نمونه در سری دوتایی کار شد. در ادامه میکروپلیت ها پس از شیک (shake) ملایم در دمای ۳۵ c° ، به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس نتایج از نظر وجود کدورت در چاهک ها در مقایسه با چاهک کنترل مثبت، بررسی گردیدند.کمترین غلظتی که در آن رشد مخمرها مهار شده بود یعنی چاهک قبل از اولین چاهکی که در آن کدورت مشاهده شده به عنوان « حداقل غلظت مهارکننده » در نظر گرفته شد.

ملاک حساسیت یا مقاومت طبق پروتکل پیشنهادی CLSI-M27-S3 به صورت زیر می باشد. MIC کمتر یا مساوی ۸ µg/ml به عنوان حساس، ۳۲-۱۶ µg/ml به عنوان حساس وابسته به دوز و MIC معادل ۶۴ µg/ml به عنوان مقاوم شناخته می شود.

جهت بررسی تاثیر داروی فلوکونازول همراه با اسانس گشنیز، استوک فلوکونازول را به میزان ۲۵۶ µg/ml رقیق نموده ، سپس به میزان مساوی از اسانس با غلظت µg/ml ۵۰ به آن اضافه گردید. بیشتر ایزوله ها به غلظت ۵۰ µg/ml

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

اسانس حساس بودند به همین دلیل برای ترکیب با دارو از این غلظت اسانس استفاده شد. در ادامه در هر یک از چاهک های میکروپلیت ۹۶ خانه ای مقدار µl ۱۰۰ محیط RPMI ریخته سپس µl ۱۰۰ از مخلوط آماده شده دارو و اسانس را به چاهک اول اضافه نموده و با انتقال به چاهک های بعدی رقت های متوالی از ترکیب اسانس و دارو تهیه گردید. در مرحله بعد µl ۱۰۰ از سوسپانسیون مخمری اضافه نموده و بعد از شیک ملایم و ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای c^{o} ۳۵ ، نتایج از نظر ایجاد کدورت بررسی و MIC برای هر ایزوله تعیین گردید .

تعیین MFC یا کمترین غلظت کشندگی قارچ (Minimum fungicidal concentration) :

پس از تعیین MIC برای تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) ، میزان ۲۰ میکرولیتر از محتویات چاهک MIC و چاهک های قبل از آن را روی محیط SDA تلقیح و توسط سواپ استریل پخش و پلیت ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای c° ۳۵ انکوبه کردیم سپس بر اساس شمارش تعداد کلنی های رشد کرده MFC تعیین شد و کمترین غلظتی که در آن ۹۹/۹ درصد مخمرها رشد نداشتند MFC محسوب شد.

داده ها پس از جمع آوری با استفاده از نرم افزار SPSS-25 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت تحلیل نتایج از آزمون من ویتنی، آزمون تعقیبی توکی و آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

پس از انجام آزمون های افتراقی روی ایزوله ها مشخص شد. از مجموع ۳۹ ایزوله، ۲۰ (۵۱,۳٪) ایزوله کاندیدا آلبیکنس، ۱۳(۳۳,۳٪) ایزوله *کاندیدا گلابراتا*، ۴ (۱۰,۳٪) ایزوله *کاندیدا دابلینینسیس*، ۱ (۲,۶٪) ایزوله *کاندیدا تروپیکالیس* و۱ (۲,۶٪) ایزوله *کاندیدا کفیر* می باشد. جدول ۱ نتایج آزمایش بررسی حساسیت دارویی بر روی ایزوله ها را نشان می دهد. برابر نتایج بدست آمده، میزان حساسیت در سه گروه فلوکونازول، گشنیز و ترکیب فلوکونازول-گشنیز به ترتیب ۶۹/۲، ۱۷/۹ و ۷۹/۵درصد بود. فراوانی نمونه های وابسته به دوز در سه گروه به ترتیب ۱۲/۸، ۷۹/۵ و ۱۵/۴ درصد بود. همچنین فراوانی نمونه های مقاوم، در سه گروه به ترتیب ۱۷/۹، ۲/۶و ۵/۱ درصد بوده و طبق آزمون من ویتنی، فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه ها در سه گروه، اختلاف معنی دار داشته (P<۰/۰۰۱) و میزان حساسیت ضد قارچی در گروه فلوکونازول-گشنیز بالاتر بود.

حساسیت آنتی بیوتیک	گروه			P
	فلوکونازول	گشنیز	فلوکونازول-گشنیز	
حساس	۲۷(۶۹/۲)	۷(۱۷/۹)	۳۱(۷۹/۵)	<۰/۰۰۱
وابسته به دوز	۵(۱۲/۸)	۳۱(۷۹/۵)	۶(۱۵/۴)	
مقاوم	۷(۱۷/۹)	۱(۲/۶)	۲(۵/۱)	
جمع	۳۹(۱۰۰)	۳۹(۱۰۰)	۳۹(۱۰۰)	

جدول ۱. توزیع فراوانی حساسیت دارویی ایزوله های کاندیدای جداشده از دهان افراد HIV مثبت در سه گروه مورد مطالعه . ملاک حساسیت یا مقاومت طبق شیوه نامه پیشنهادی CLSI به صورت زیر می باشد که MIC مساوی یا کمتر از µg/ml ۸ به عنوان حساس، µg/ml ۳۲-۱۶ : MIC به عنوان حساس وابسته به دوز و MIC مساوی یا بیش از µg/ml ۶۴ به عنوان مقاوم شناخته می شود.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

جدول ۲ میانگین MIC و MFC در هر سه گروه مداخله شامل فلوکونازول، اسانس گشنیز و ترکیب سینرژیسم فلوکونازول- اسانس را به تفکیک گونه کاندیدا نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود، میانگین MIC کل، بترتیب ۲۷/۳، ۳۲/۷ و ۹/۳۹ µg/ml می باشد. طبق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، میانگین MIC در سه گروه، تفاوت معنی دار داشت(P=۰/۰۰۵). مقایسه دو به دوی گروه ها با آزمون تعقیبی توکی نشان داد حداقل قدرت مهارکنندگی فلوکونازول با گشنیز اختلاف معنی دار نداشته (P=۰/۸۱)، بنابراین می توان نتیجه گرفت اسانس گشنیز در غلظتی تقریبا معادل فلوکونازول می تواند اسانسی موثر علیه قارچ کاندیدا باشد ولی قدرت مهارکنندگی ترکیب فلوکونازول-گشنیز نسبت به فلوکونازول (P=۰/۰۳۴) و نسبت به گشنیز (P=۰/۰۰۶) بطور معنی دار بالاتربود که نشان می دهد استفاده از فلوکونازول به همراه اسانس گشنیز تاثیر بهتری در مهار قارچ کاندیدا دارد.

جدول ۲. میانگین MIC و MFC ایزوله های کاندیدای جدا شده از دهان افراد HIV مثبت به تفکیک گونه، در هر سه مداخله دارویی(بر حسب میکروگرم در میلی لیتر) . F : فلوکونازول، E: اسانس گشنیز، F+E: ترکیب فلوکونازول و اسانس گشنیز. مقدار *P* کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است.

گونه کاندیدا	تعداد ایزوله	میانگین MIC F (محدوده MIC)	میانگین MIC E (محدوده MIC)	میانگین MIC F+E (محدوده MIC)	میانگین MFC F	میانگین MFC E	میانگین MFC F+E
کاندیدا آلبیکنس	۲۰	۳۱/۱۵ (۱۲۸ – ۰/۵)	۳۳/۴۲ (۱۰۰ –۶/۲۵)	۱۰/۹۷ (۶۴ – ۰/۵)	۳۵/۳	۴۱/۱۵	۱۹/۲
کاندیدا گلابراتا	۱۳	۲۸/۷ (۱۲۸ – ۱)	۳۲/۳ (۵۰ –۶/۲۵)	۹/۶۵ (۳۲ – ۰/۵)	۳۴/۱	۳۹/۰۳	۱۵/۴
کاندیدا دابلینینسیس	۴	۴/۵ (۱۲۸ – ۰/۵)	۲۱/۸۷ (۵۰ –۶/۲۵)	۱/۳۷ (۲–۰/۵)	۶/۱۲	۳۱/۲۵	۲/۷۵
کاندیدا تروپیکالیس	۱	۸ (۸)	۲۵ (۲۵)	۸ (۸)	۱۶	۵۰	۱۶
کاندیدا کفیر	۱	۱۶ (۱۶)	۵۰ (۵۰)	۸ (۸)	۱۶	۵۰	۱۶
میانگین کل	۳۹	۲۷/۳	۳۲/۷	۹/۳۹	۳۰/۹۳	۳۹/۸۸	۱۸/۵۹

بحث

عفونت های قارچی گروهی از عفونت های میکروبی هستند که در اکثر موارد به دلیل افزایش تعداد میزبان های مبتلا به نقایص سیستم ایمنی رخ می دهند. در دو دهه اخیر به دلایل مختلف نظیر ایدز، انواع بدخیمی ها خونی و مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و کورتیکواستروئیدها موارد زیادی مبنی بر افزایش این دسته از عفونت ها گزارش شده است (۱۷) . در این راستا استفاده از انواع داروهای ضد قارچی به ویژه در مقادیر بالا در درمان عفونت های سیستمیک و به ویژه در عفونت های ناشی از کاندیدا ها با ایجاد مقاومت ذاتی یا اکتسابی نسبت به داروهای مذکور همراه بوده است. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که عفونت های مهم قارچی توسط گونه های مقاوم به داروهای ضد قارچی ایجاد می شود. این موضوع به خصوص در مورد گونه های کاندیدا و مقاومت آن ها نسبت به داروی فلوکونازول مورد تاکید قرار گرفته است(۱۸). به دلایل فوق و به ویژه ایجاد مقاومت های دارویی، در سال های اخیر توجه محققین به سمت یافتن ترکیبات طبیعی و گیاهی با خواص

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

مهارکنندگی رشد قارچ ها معطوف شده است و انواع مختلفی از گیاهان و عصاره های آبی، الکلی و اسانس های روغنی آن ها با موفقیت در مهار رشد قارچ ها در شرایط آزمایشگاهی به کار گرفته شده است. ما نیز در این طرح فعالیت ضدقارچی اسانس گشنیز روی گونه های کاندیدا را بررسی نمودیم شاید در طراحی فرمولاسیون جدید برای درمان کاندیدیازیس مفید باشد. محصولات طبیعی زمانی تاثیر ضد میکروبی قوی دارند که میزان MIC آن ها کمتر از ۵۰۰ µg/ml باشد (۱۹) . در مطالعه ای که Almeida Freires و همکاران بر روی اثرات ضد قارچی گیاه گشنیز بر روی گونه های کاندیدا انجام دادند، میزان MIC اسانس گشنیز به مقدار ۱۵/۶ µg/ml -۳۱/۲ و میزان MFC آن ۳۱/۲ µg/ml -۵/ ۶۲ بدست آمد (۸) . نتایج این پژوهشگران با یافته های مطالعه حاضر تا حدود خیلی زیادی همخوانی داشت. Begnami و همکاران اثر ضد میکروبی گشنیز علیه گونه های مختلف کاندیدا را بررسی نمودند که اسانس گشنیز علیه همه ی گونه های کاندیدا تست شده به جز *کاندیدا تروپیکالیس* فعالیت ضد میکروبی نشان داد (۲۰). نتایج این پژوهش نیز با نتایج مطالعه ما مطابقت داشت با این تفاوت که در مطالعه حاضر اسانس گشنیز علیه گونه تروپیکالیس نیز اثر مهاری نشان داد. Silva و همکاران به بررسی فعالیت آنتی فونگال اسانس گشنیز، نحوه اثر آن برگونه های کاندیدا و اثر سینرژیسم آن با آمفوتریسین B پرداختند که مشخص شد اسانس گشنیز باعث کاهش تشکیل جرم تیوب در استرین های *کاندیدا آلبیکنس* شده و همچنین بین اسانس گشنیز و آمفوتریسین B اثر سینرژیسم وجود دارد (۲۱). برخلاف پژوهش Silva و همکاران، در مطالعه حاضر روی گونه های مختلفی از کاندیدا کار شد و اثر سینرژیسم اسانس را با داروی فلوکونازول بررسی نمودیم که مشخص شد نتایج به دست آمده با نتایج آنها مطابقت دارد و اسانس گشنیز اسانسی موثر بر روی گونه های کاندیدا می باشد و همچنین بین اسانس گشنیز و فلوکونازول اثر سینرژیسم وجود دارد. نتایج این پژوهش با گزارش های Bersan و همکاران نیز که فعالیت ضدمیکروبی ۲۰ اسانس گیاهی از جمله گشنیز بر پاتوژن های دهانی از جمله *کاندیدا آلبیکنس* را بررسی نمودند مطابقت داشت و نشان داد که در غلظت µg/ml ۱۰۰ -۰/۵ از اسانس، نتایج مشابهی بدست آمد (۲۲) . Beikert و همکاران به بررسی درمان موضعی کچلی پا با استفاده از روغن گشنیز ۶٪ پرداختند و به این نتیجه رسیدند که روغن گشنیز در درمان درماتوفیتوز کف پا موثر می باشد (۲۳). در ایران نیز یحیی آبادی و همکاران به مطالعه تاثیر تعدادی از عصاره های گیاهی بر روی رشد دو گونه از قارچ آسپرژیلوس پرداختند که نتایج این تحقیق نشان داد که در تمامی موارد عصاره ها موجب کاهش رشد کلنی قارچ ها گردید و با افزایش غلظت عصاره ها این اثر افزایش یافت (۲۴) . در صورت به کار بردن عصاره نیاز به استفاده از غلظت بیشتری نسبت به اسانس می باشد بنابراین در مطالعه حاضر ترجیح بر استفاده از اسانس بود. پژوهش های مختلفی اثر ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد ویروسی و همچنین در صنایع غذایی خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس گشنیز را به اثبات رسانده است. در مطالعه حاضر پس از تایید تشخیص گونه های کاندیدا جدا شده از دهان افراد HIV مثبت، اثر ضدقارچی فلوکونازول به تنهایی و همراه با اسانس گشنیز بر رشد آن ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج حاصله نشان می دهد که میانگین MIC در فلوکونازول و اسانس گشنیز نزدیک به هم می باشد بنابراین می توان نتیجه گرفت اسانس گشنیز در غلظتی تقریبا معادل فلوکونازول می تواند اسانسی موثر علیه قارچ کاندیدا باشد، همچنین در مقایسه میانگین MIC در حالت سینرژیسم با حالت فلوکونازول به تنهایی تفاوت چشمگیری مشاهده شد که نشان می دهد استفاده از فلوکونازول به همراه اسانس گشنیز تاثیر بهتری در مهار قارچ کاندیدا دارد. در تحقیق حاضر تاثیر اسانس دانه گیاه گشنیز بر رشد قارچ کاندیدا

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

تایید شد. از آنجایی که این اسانس بر ۳۹ ایزوله کاندیدا به کار رفته در این تحقیق اثر مهارکنندگی داشت بنابراین می توان این اسانس را اسانسی موثر، به ویژه همراه با فلوکونازول، در جلوگیری از رشد قارچ کاندیدا (در شرایط آزمایشگاه) معرفی کرد و جهت به کارگیری این اسانس در درمان کاندیدیازیس، پژوهش های بالینی تکمیلی نیاز است.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد طرح تحقیقاتی شماره ۳۹۸۶۱۶ با کد اخلاق IR.MUI.MED.REC.1398.455 حاصل تلاش همکاران گروه قارچ و انگل شناسی دانشکده پزشکی اصفهان و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد که از همکاری کلیه این عزیزان تقدیر و تشکر بعمل می آید. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

منابع

1.Noshad M, Hojjati M, Behbahani BA. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. Microb Pathog. 2018;116:153.

2.Jackson BE, Wilhelmus KR, Mitchell BM. Genetically regulated filamentation contributes to *Candida albicans* virulence during corneal infection. Microb Pathog. 2007;42(2-3):88.

3.Africa CWJ, dos Santos Abrantes PM. *Candida* antifungal drug resistance in sub-Saharan African populations: A systematic review. F1000Research. 2016;5.

4.Haghdoost AA, Mostafavi E, Mirzazadeh A, Navadeh S, Feizzadeh A, Fahimfar N, et al. Modelling of HIV/AIDS in Iran up to 2014. JAHR. 2011;3(12):231.

5.Schwarcz L, Chen M-J, Vittinghoff E, Hsu L, Schwarcz S. Declining incidence of AIDS-defining opportunistic illnesses: results from 16 years of population-based AIDS surveillance. Aids. 2013;27(4):597.

6.Terças AL, Marques SG, Moffa EB, Alves MB, de Azevedo CM, Siqueira WL, et al. Antifungal drug susceptibility of *Candida* species isolated from HIV-positive patients recruited at a public hospital in São Luís, Maranhão, Brazil. Front Microbiol. 2017;8:298.

7.Patil S, Majumdar B, Sarode SC, Sarode GS, Awan KH. Oropharyngeal Candidosis in HIV Infected Patients–An Update. Front Microbiol. 2018;9:980.

8.de Almeida Freires I, Murata RM, Furletti VF, Sartoratto A, de Alencar SM, Figueira GM, et al. *Coriandrum sativum* L(*coriander*) essential oil: antifungal activity and mode of action on Candida spp and molecular targets affected in human whole-genome expression. PLoS One. 2014;9(6):e99086.

9.Osaigbovo II, Lofor PV, Oladele RO. Fluconazole resistance among oral *Candida* isolates from people living with HIV/AIDS in a Nigerian tertiary hospital. J Fungi 2017;3(4):69.

10.Morschhäuser J. The genetic basis of fluconazole resistance development in Candida albicans. Biochim Biophys. Acta Mol Ba. 2002;1587(2-3):240.

11.Dassanayake R, Ellepola A, Samaranayake Y, Samaranayak L. Molecular heterogeneity of fluconazole resistant and susceptible oral *Candida albicans* isolates within a single geographic locale. Apmis. 2002;110(4):315.

12.Azhdarzadeh F, Hojjati M. Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (*Citrus aurantium*) essential oils. Nutr Food Sci. 2016;3(1):43.

13.Eikani MH, Golmohammad F, Rowshanzamir S. Subcritical water extraction of essential oils from *coriander* seeds (*Coriandrum sativum* L). J Food Eng . 2007;80(2):735.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]

14.Menezes RdP, Borges AS, Araujo LBd, Pedroso RDS, Röder Dvddb. Related factors for colonization by *Candida* species in the oral cavity of HIV-infected individuals. Rev Inst Med Trop Sao Paulo .2015;57(5):413.
15.Heidarian A, Dehghan P, Chadeganipour M, Tayeri K. Frequency of *Candida* species isolated from the Oral Cavity of HIV-Infected Patients referring to Behavioral disease Counseling Center of Isfahan in 2017-2018. Sci J Kurd Univ Med Sci.2019;24(5):30.
16.Fothergill AW. Antifungal susceptibility testing: clinical laboratory and standards institute (CLSI) methods. Interactions of yeasts, moulds, and antifungal agents: Springer. 2012. p. 65.
17.Patel PK, Erlandsen JE, Kirkpatrick WR, Berg DK, Westbrook SD, Louden C, et al. The changing epidemiology of oropharyngeal candidiasis in patients with HIV/AIDS in the era of antiretroviral therapy. AIDS Res Ther . 2012;2012.
18.Goulart LS, Souza Wwrd, Vieira CA, Lima JSd, Olinda RAd, Araújo Cd. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. Einstein (São Paulo). 2018;16(3).
19.Eyres G, Dufour JP, Hallifax G, Sotheeswaran S, Marriott PJ. Identification of character impact odorants in *Coriander* and wild *Coriander* leaves using gas chromatography olfactometry (GCO) and comprehensive two dimensional gas chromatography time of flight mass spectrometry (GC× GC–TOFMS). J Sep Sci. 2005;28(9-10):1061.
20.Begnami A, Duarte M, Furletti V, Rehder V. Antimicrobial potential of *Coriandrum sativum* L against different *Candida* species in vitro. Food chemistry. 2010;118(1):74.
21.Silva F, Ferreira S, Duarte A, Mendonca DI, Domingues FC. Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. Phytomedicine. 2011;19(1):42.
22.Bersan SM, Galvão LC, Goes VF, Sartoratto A, Figueira GM, Rehder VL, et al. Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. BMC Complement Altern Med . 2014;14(1):1-2.
23.Beikert F, Anastasiadou Z, Fritzen B, Frank U, Augustin M. Topical treatment of tinea pedis using 6% *Coriander* oil in unguentum leniens: a randomized, controlled, comparative pilot study. Dermatology. 2013;226(1):47.
24.Yahyaabadi S, Zibanejad E, Doudi M. Effect of some of plant extracts on the growth of two *Aspergillus* species. J Herb Drug 2011;2(1):69.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-10-19]

[DOI: 10.61186/sjku.28.1.20]