مقاله پژوهشی

مقایسه تأثیر ضد قارچی عسل و فلوکونازول علیه *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی و در کاندیدیازیس گوارشی در مدل حیوان آزمایشگاهی

موسی مجیدی پویا[۱]، علیرضا خداوندی[۲*]

۱- گروه زیست‌شناسی_میکروبیولوژی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران
۲- گروه زیست‌شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۰۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۵/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدیازیس در بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی موردتوجه قرار گرفته است. داروهای ضد قارچی نظیر فلوکونازول و آمفوتریسن ب برای درمان عفونت‌های کاندیدیایی مورداستفاده قرار می‌گیرند. افزایش مقاومت دارویی باعث شده است که استفاده از ترکیبات با منشأ طبیعی موردتوجه بیشتری قرار گیرد. هدف از پژوهش حاضر ارزیابی اثر نمونه‌های عسل بومی استان کهگیلویه و بویراحمد و فلوکونازول بر *کاندیدا آلبیکنس* در کاندیدیازیس گوارشی در مدل حیوان آزمایشگاهی بوده است.

مواد و روش‌ها: تأثیر ضد قارچی نمونه‌های عسل از منابع مختلف بر مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. سنجش زمان مرگ سلولی برای ارزیابی تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل موردمطالعه، انجام شد. در پایان، تأثیر مؤثرترین نمونه عسل علیه *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با فلوکونازول در کاندیدیازیس گوارشی در حیوان آزمایشگاهی موردسنجش قرار گرفت.

نتایج: نتایج حاصل تأثیر نمونه‌های عسل مورد آزمایش را علیه *کاندیدا آلبیکنس* را نشان داده است. داده‌های به‌دست‌آمده نشان داد که عسل بلوط تأثیر قابل توجهی ($p\leq ۰/۰۰۱$) علیه *کاندیدا آلبیکنس* داشت. تیمار موش BALB /c آلوده به کاندیدیازیس ناشی از *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد که تیمار با عسل بلوط ازلحاظ کاهش بار آلودگی قارچی اگرچه اندکی کمتر از فلوکونازول بود ولی علیه *کاندیدا آلبیکنس* تأثیرگذار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده تأثیر ضد کاندیدیایی عسل هم در شرایط آزمایشگاهی و در مدل حیوانی کاندیدیازیس را نشان می‌دهد و پتانسیل عسل به‌عنوان کمک درمانی در عفونت‌های کاندیدیایی پیشنهاد می‌دهد.

کلمات کلیدی: عسل، *کاندیدا آلبیکنس*، کاندیدیازیس گوارشی

مقدمه

در شرایط طبیعی *کاندیدا آلبیکنس* میکروبیوم دستگاه گوارش است ولی هنگامی‌که سیستم ایمنی میزبان دچار اختلال گردد، موجب ایجاد کاندیدیازیس گوارشی خواهد شد (۱). *کاندیدا آلبیکنس* پتانسیل همزیستی و بیماری‌زایی را داراست. این قارچ توانایی رشد مخمری، ریسه حقیقی، ریسه کاذب و بیوفیلم را دارد و به همین دلیل قارچ پلی مورف نامیده شده که از مهم‌ترین فاکتورهای بیماری‌زایی است. علاوه بر این، توانایی اتصال و تهاجم قارچ به سلول‌های بدن میزبان، ترشح آنزیم‌های هیدرولیز کننده، احساس تماسی و تیگموتروپیسم و تعویض فنوتیپی از ویژگی‌های *کاندیدا آلبیکنس* در پتانسیل بیماریزایی است (۱ و ۲).

*نویسنده مسئول: **علیرضا خداوندی**، گروه زیست‌شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران
Email: alireza_khodavandi@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0001-9498-9822

افزایش مقاومت قارچها به داروهای ضد قارچی رایج و از سویی عوارض جانبی متعدد در پی استفاده از آن‌ها، استفاده از ترکیبات طبیعی با منشأ بیولوژیک را رونق داده است. هزاران سال است که بشر از مخلوط بزاق زنبور و شهد گل که عسل نام دارد، به‌عنوان دارویی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کند. عسل حاوی ترکیبات اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، پلی فنل‌ها، ویتامین‌ها و ترکیبات معطر است. علاوه بر این، فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عسل به دلیل فعالیت آنزیم‌هایی ازجمله گلوکز اکسیداز و کاتالاز و همچنین ترکیبات فیتوشیمیایی نظیر اسید آسکوربیک، فلاونوئیدها، اسید فنولیک، مشتقات کاروتینوئید، اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پروتئین‌ها است (۶-۳).

مطالعات نشان داده که عسل دارای خواص ضد میکروبی است. علاوه بر این، عسل تأثیر مهاری علیه *کاندیدا آلبیکنس* دارد (۳ و ۹-۶). مطالعه Banaeian-Borujeni و همکاران در مقایسه تأثیر ضد کاندیدیایی عسل و میکونازول علیه *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که عسل در غلظت ۸۰٪ به میزان زیادی موجب جلوگیری از رشد *کاندیدا آلبیکنس* شد درحالی‌که میکونازول به‌طور کامل موجب مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس* گردید (۳). مطالعه Estevinho و همکاران نشان دادند که عسل اسطوخدوس با غلظت ۳۱٪، ۱۶/۸٪ و ۲۳٪ به ترتیب موجب مهار ۱۰ درصد رشد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا کروزی* و *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* شد. در مقایسه عسل سنتزی با غلظت ۵۸٪ موجب مهار ۱۰ درصد رشد *کاندیدا کروزی* گردید درحالی‌که در غلظت ۶۰-۱۰٪ عسل سنتزی، *کاندیدا آلبیکنس* و *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* مقاوم بودند؛ بنابراین با توجه به شواهد حاصل نتیجه گرفتند که تأثیر ضد قارچی عسل اسطوخدوس مربوط به ترکیبات غیر قندی بوده است (۹).

با توجه به افزایش جمعیت بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی و شیوع عفونت‌های کاندیدیازیس در بیماران مذکور و از طرفی مقاومت دارویی به داروهای ضد قارچی رایج، لزوم یافتن ترکیبات طبیعی ضد کاندیدیایی ضروری است. در مطالعه حاضر تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل بومی استان کهگیلویه و بویر احمد در شرایط آزمایشگاهی سنجیده شد. همچنین تأثیر مؤثرترین نمونه عسل در مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس* در کاندیدیازیس گوارشی ایجادشده توسط *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با فلوکونازول در مدل حیوان آزمایشگاهی موردسنجش قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌ها

سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* ATCC 14053 از آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج تهیه گردید و در محیط کشت سابوراد دکستروز مایع (SDB, Merck, Germany) حاوی ۳۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر کلرامفنیکل کشت داده شد و سپس در دمای منهای ۲۰ درجه سلسیوس ذخیره شد. برای هر مطالعه دو کلنی از *کاندیدا آلبیکنس* بر روی محیط کشت تازه سابوراد دکستروز آگار (SDA, Merck, Germany) حاوی کلرامفنیکل دو بار کشت مجدد داده و در ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری نموده تا از رشد در فاز لگاریتمی مخمر اطمینان حاصل شود. مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج (کد ۳۱-۱-۹۵) پذیرفته شد.

تهیه نمونه‌های مختلف عسل

ده نمونه از ۷ نوع از عسل‌های تجاری و بومی تولیدشده در استان کهگیلویه و بویراحمد شامل گون گرمسیری (دهدشت)، راک (دهدشت)، گون سردسیری (دنا)، بلوط (یاسوج)، جوکار (یاسوج)، چهل گیاه سردسیری (یاسوج) و چهل گیاه گرمسیری (گچساران) تهیه گردید.

تهیه غلظت‌های مختلف عسل

دامنه غلظت نمونه‌های عسل ۲۵۶-۰/۰۶ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر بود. علاوه بر این، از فلوکونازول (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO) با دامنه رقت ۶۴-۰/۰۳۱ میکروگرم/ میلی‌لیتر به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. برای استریل نمودن نمونه‌های عسل و فلوکونازول از میلی پور فیلتر (Millipore ۰/۲۲µm durapore,) استفاده شد.

تست حساسیت سنجی

تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل در شرایط آزمایشگاهی مطابق دستورالعمل CLSI برای مخمرها (CLSI- M_{44}-A_2, M_{27}-A_3) با اندکی تغییر سنجش شد. بر این اساس، تست غربالگری دیسک دیفیوژن نمونه‌های عسل با *کاندیدا آلبیکنس* $1-5\times10^6$CFU/ml بر روی محیط کشت SDA انجام شد. غلظت

ماده تلقیحی با استفاده از اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV, USA) با اندازه‌گیری میزان جذب نوری دامنه ۰/۱-۰/۰۸ در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر (معادل 10^6×۵-۱ CFU/ml) استاندارد شد. ۱۰۰ میکرولیتر از ماده تلقیحی مخمری بر روی محیط کشت SDA کشت چمنی داده شد. سپس دیسک‌های خالی با غلظت‌های مختلف (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵ درصد و خالص) از نمونه‌های عسل آغشته نموده و بر روی محیط کشت قرار داده شدند. دیسک‌های حاوی ۲۵ میکروگرم فلوکونازول (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) به‌عنوان کنترل مثبت و دیسک‌های خالی استریل به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند و سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها ثبت گردید.

در ادامه کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) نمونه‌های عسل با ماده تلقیحی 10^3×۵-۰/۵ CFU/ml در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی (Brand 781660, Wertheim, Germany) محاسبه گردید. ماده تلقیحی اولیه (10^6×۵-۱ CFU/ml) به میزان ۱:۱۰۰ با سرم فیزیولوژی و ۱:۲۰ در محیط کشت SDB رقیق گردید و درنهایت سوسپانسیون حاصل دارای 10^3×۵-۰/۵ CFU/ml بود که با استفاده از روش ویبل کانت تائید گردید (۱۲-۱۰). از محیط کشت و ماده تلقیحی میکروبی به‌عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی استفاده گردید. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد و توسط الایزا ریدر (Awareness Technology, Inc., USA) در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر میزان جذب نوری اندازه‌گیری شد. میزان MIC_{90} به‌عنوان کمترین غلظت که از ۹۰ درصد رشد در مقایسه با کنترل مثبت ممانعت نماید، تعریف شد (۱۰ و ۱۱).

سنجش زمان مرگ سلولی

دو اندازه مختلف ماده تلقیحی اولیه *کاندیدا آلبیکنس*، 10^6، 10^4 CFU/ml در محیط کشت SDB تهیه شد. نمونه‌های عسل در ۹ غلظت مختلف ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵ درصد و خالص استفاده شد. سپس در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد و در فواصل زمانی متوالی ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت از نمونه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت SDA کشت چمنی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس تعداد کلنی‌ها شمارش شدند. فلوکونازول در غلظت برابر MIC به‌عنوان کنترل مثبت و کنترل بدون تیمار به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد (۱۳).

ایجاد کاندیدیازیس گوارشی در مدل حیوانی و تیمار با عوامل ضد قارچی

در این راستا تمام روش‌های مراقبت از حیوانات تحت نظارت و مورد تائید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج (کد ۳۱-۱-۹۵) قرار گرفت. تعداد ۴۸ حیوان از موش‌های آزمایشگاهی با مشخصه BALB/c با جنسیت ماده، سن ۴ تا ۶ هفته و وزن تقریبی ۲۵ گرم مورداستفاده قرار گرفت. برای اطمینان از عدم ابتلا موش‌ها به کاندیدیازیس گوارشی با سواب از دهان موش‌ها نمونه‌گیری شد و بر روی محیط SDA کشت داده شد. موش‌های مناسب برای کاندیدیازیس گوارشی در ۴ گروه ۱۲ تایی دسته‌بندی شدند. ۲ گروه مربوط به حیوانات آلوده به *کاندیدا آلبیکنس* و تحت تیمار با دو نمونه از مؤثرترین نمونه‌های عسل با توجه به نتایج آزمایشگاهی (عسل بلوط و چهل گیاه گرمسیری)، گروه سوم به‌عنوان کنترل دارو و تیمار شده با داروی استاندارد فلوکونازول و گروه چهارم حیواناتی بودند که به‌عنوان کنترل مثبت و پس از ایجاد کاندیدیازیس گوارشی تحت هیچ تیماری قرار نگرفته‌اند. ماده تلقیحی اولیه *کاندیدا آلبیکنس*، 10^6 CFU/ml برای ایجاد کاندیدیازیس گوارشی استفاده شد. حجم ماده تلقیحی اولیه با استفاده از آب مقطر استریل به ۳۶۰ میلی‌لیتر رسانده و به ۳۰۰ گرم غذای استریل موش آزمایشگاهی اضافه شد و در آون ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. سپس به مدت یک هفته به‌عنوان غذای روزانه حیوانات موردمطالعه به‌عنوان غذای اصلی استفاده شد. علاوه بر این، جهت اطمینان از آلودگی غذا به سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* با استفاده از روش ویبل کانت تائید گردید.

پس از اطمینان از آلودگی حیوانات مورد آزمایش به کاندیدیازیس گوارشی، ارائه غذای آلوده به حیوانات متوقف و تیمار آغاز گردید. برای این منظور ۵ میلی‌گرم از هرکدام از نمونه‌های عسل موردمطالعه و فلوکونازول/ ۱ کیلوگرم از وزن حیوانی/ یک‌بار در روز به مدت ۳ هفته انجام شد و طی این مدت میزان دفع *کاندیدا آلبیکنس* از طریق کشت مدفوع بررسی گردید. علاوه بر این، برای بررسی تغییرات بافتی، ۲ حیوان از هر گروه در روزهای ۲، ۴، ۷، ۱۴، ۲۰ و ۳۰ پس از عفونت به‌طور تصادفی انتخاب و پس از معدوم نمودن آن‌ها، کلیه‌ها با رعایت

اصول بهداشتی خارج و جهت مطالعات بار آلودگی قارچی و هیستوپاتولوژی موردبررسی قرار گرفت.

برای این منظور حیوانات در گروه‌های مطالعه به روش جابجایی مهره‌های گردنی ۳ بی‌هوش شـــدند، کلیه حیوان خارج شـــد و پـــس از بررسی مشخصات ظاهری، نمونه‌های بافت کلیه در فرمالین ۱۰٪ فیکس شـــدند. علاوه بر این، از نمونه‌های بافت کلیه پس از هموژنیزه کردن در نرمال سیلین بر روی محیط کشت SDA کشت داده شد و بار آلودگی قارچی سنجش گردید. در خصوص آنالیز هیستوپاتولوژی، مراحل پاساژ بافتی مطابق برنامه ۲۰ ساعتی پیشنهادی شرکت سازنده دستگاه پردازش بافت (Shandon-citadel 1000, UK) شامل آبگیـــری، فیکساســـیون، شفاف‌سازی و آغشته سازی انجام شد. در ادامه از نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتـــوم دوار (Shandon -UK) برش‌های ســـریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد و پس از تهیه اسلایدهای میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن- ائوزین از ســـه میـــدان دید از هـــر اسلاید به‌طور تصادفی انتخاب و بـــا دوربین دیجیتال (Coolpix-4500, Japan) با درشتنمایی ۴۰ میکروسکوپ (Olympus, AH2, Japan) تصویر تهیه شد. لازم به ذکر است که برای مشاهده عناصر قارچی در بافت‌های موردمطالعه نیز از رنگ‌آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف استفاده گردید (۱۴).

طرح مطالعه و آنالیز آماری

این مطالعه مقطعی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و آزمایش‌ها به‌صورت ۲ تکرار ۳ تایی انجام گرفت. تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ (SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد. اختلاف درون گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیب توکی انجام گرفت. مقدار p-value کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج ارزیابی تأثیر ضد کاندیدیایی (هاله ممانعت از رشد) نمونه‌های عسل با توجه تست غربالگری دیسک دیفیوژن نشان داد که بین انواع مختلف عسل در سطح $p \leq 0.001$ تفاوت معنی‌دار وجود داشت. قوی‌ترین هاله ممانعت از رشد علیه *کاندیدا آلبیکنس* مربوط به نمونه‌های عسل بلوط در مقایسه با انواع عسل‌های دیگر بود (جدول ۱). نمونه‌های عسل چهل گیاه گرمسیری در غلظت خالص با میانگین ۰/۱۴ ± ۲۸/۲۰ میلی‌متر

جدول ۱- هاله ممانعت از رشد (میلی‌متر) نمونه‌های عسل بلوط در غلظت‌های مختلف علیه *کاندیدا آلبیکنس*

غلظت‌های مورد آزمایش / نمونه‌ها	خالص	٪۷۵	٪۵۰	٪۴۰	٪۳۰	٪۲۰	٪۱۵	٪۱۰	٪۵	فلوکونازول
نمونه ۱	۳۲/۰۰±۰/۶۰	۳۰/۰۰±۰/۳۱	۲۸/۱۰±۰/۸۱	۲۷/۲۳±۰/۶۱	۲۴/۴۴±۰/۴۰	۲۱/۳۳±۰/۳۰	۱۸/۳۰±۰/۸۰	۱۶/۳۲±۰/۹۰	۱۴/۲۶±۰/۶۰	۳۲/۲۳±۰/۱۰
نمونه ۲	۳۴/۰۰±۰/۷۰	۳۱/۰۰±۰/۴۲	۲۷/۰۰±۰/۳۳	۲۶/۰۰±۰/۷۰	۲۲/۶۷±۰/۷۰	۲۱/۰۰±۰/۱۲	۲۰/۰۰±۰/۱۰	۱۷/۰۰±۰/۴۲	۱۲/۰۰±۰/۴۰	۳۴/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۳	۳۱/۰۰±۰/۳۱	۳۰/۰۰±۰/۶۱	۲۷/۰۰±۰/۳۳	۲۸/۱۱±۰/۳۲	۲۳/۰۰±۰/۱۱	۲۰/۶۷±۰/۴۴	۱۷/۲۰±۰/۱۰	۱۶/۵۵±۰/۳۰	۱۲/۰۰±۰/۴۰	۳۳/۴۰±۰/۳۲
نمونه ۴	۳۲/۰۰±۰/۴۰	۳۱/۰۰±۰/۸۰	۲۵/۲۲±۰/۶۳	۲۷/۰۰±۰/۴۰	۲۴/۰۰±۰/۲۱	۲۱/۰۰±۰/۱۲	۲۰/۰۰±۰/۴۰	۱۷/۳۲±۰/۱۱	۱۲/۲۴±۰/۳۰	۳۵/۰۰±۰/۱۲
نمونه ۵	۳۱/۰۰±۰/۳۰	۲۹/۰۰±۰/۷۰	۲۵/۰۰±۰/۴۲	۲۸/۰۰±۰/۴۰	۲۴/۲۳±۰/۳۲	۲۱/۰۰±۰/۷۰	۱۹/۳۴±۰/۷۰	۱۸/۲۱±۰/۳۰	۱۲/۰۰±۰/۱۰	۳۴/۴۵±۰/۲۱
نمونه ۶	۳۲/۰۰±۰/۴۱	۲۸/۰۰±۰/۵۱	۲۶/۵۰±۰/۷۰	۲۷/۰۰±۰/۷۱	۲۵/۰۰±۰/۴۲	۲۰/۴۰±۰/۳۰	۲۰/۰۰±۰/۷۴	۱۵/۰۰±۰/۱۲	۱۱/۰۰±۰/۳۳	۳۲/۵۶±۰/۴۵
نمونه ۷	۳۱/۰۰±۰/۶۰	۲۷/۰۰±۰/۳۰	۲۸/۳۲±۰/۴۰	۲۶/۶۷±۰/۸۰	۲۴/۵۴±۰/۳۳	۱۹/۸۹±۰/۳۲	۱۹/۰۰±۰/۶۱	۱۶/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۳۴±۰/۵۳	۳۲/۰۰±۰/۲۶
نمونه ۸	۳۰/۰۰±۰/۴۰	۲۸/۰۰±۰/۴۰	۲۸/۰۰±۰/۷۰	۲۶/۰۰±۰/۴۰	۲۴/۰۰±۰/۷۰	۲۰/۰۰±۰/۴۰	۱۸/۲۱±۰/۴۳	۲۰/۳۰±۰/۳۳	۱۱/۰۰±۰/۷۰	۳۲/۰۰±۰/۲۱
نمونه ۹	۳۵/۰۰±۰/۳۱	۲۹/۰۰±۰/۳۱	۲۷/۰۰±۰/۴۱	۲۷/۳۴±۰/۳۲	۲۴/۰۰±۰/۶۱	۲۱/۰۰±۰/۶۱	۱۷/۰۰±۰/۴۴	۱۸/۰۰±۰/۱۲	۱۴/۱۱±۰/۲۱	۳۲/۵۰±۰/۲۱
نمونه ۱۰	۳۲/۰۰±۰/۱۱	۲۸/۰۰±۰/۴۴	۲۸/۱۰±۰/۴۳	۲۶/۰۰±۰/۳۰	۲۳/۰۰±۰/۷۰	۲۲/۳۳±۰/۱۰	۱۸/۶۷±۰/۷۰	۲۱/۰۰±۰/۳۰	۱۳/۱۱±۰/۷۰	۳۳/۷۱±۰/۰۰

بیشترین و در غلظت ۵ درصد با میانگین ۰/۲۳± ۶/۸۰ میلی‌متر کمترین تأثیر مهاری علیه *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد. همچنین بیشترین تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل گون گرمسیری در غلظت خالص ۰/۳۴± ۲۷/۹۰ میلی‌متر و کمترین تأثیر مهاری در غلظت ۵ درصد با میانگین ۰/۱۸± ۱۲/۶۲ بود. گون سردسیری نیز در غلظت خالص با میانگین ۰/۲۰± ۲۶/۸۲ میلی‌متر بیشترین تأثیر و در غلظت ۵ درصد با میانگین ۰/۱۳± ۱۱/۲۰ میلی‌متر کمترین تأثیر مهاری را نشان داد. نتایج اندازه‌گیری هاله ممانعت از رشد *کاندیدا آلبیکنس* نمونه‌های عسل جوکار نشان داد که در غلظت خالص ۰/۲۵± ۲۱/۳۱ میلی‌متر بیشترین و در غلظت ۵ درصد ۰/۱۱± ۸/۲۰ میلی‌متر دارای کمترین تأثیر مهاری بود. علاوه بر این، همچنین بیشترین تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل چهل گیاه سردسیری در غلظت خالص ۰/۲۸± ۱۶/۲۲ میلی‌متر و کمترین تأثیر مهاری در غلظت ۵ درصد با میانگین ۰/۱۱± ۶/۲۰ بود. عسل راک در غلظت خالص با میانگین ۰/۳۴± ۱۵/۸۵ میلی‌متر بیشترین و در غلظت ۵ درصد با میانگین ۰/۳۳± ۶/۹۰ میلی‌متر کمترین تأثیر مهاری علیه *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد. داروی استاندارد فلوکونازول تأثیر مهاری ۰/۲۷± ۳۲/۵۰ نشان داد (داده‌ها نشان داده نشده است).

نتایج ارزیابی با تست غربالگری دیسک دیفیوژن نمونه‌های عسل نیز توسط نتایج حاصل از آزمون حساسیت سنجی ضد کاندیدیایی میکرودایلوشن براث تائید شد. نتایج MIC به‌طور معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۰۱$) نشان داد که نمونه‌های عسل تأثیر متفاوتی علیه مخمر *کاندیدا آلبیکنس* داشتند. نمونه‌های عسل بلوط دارای کمترین میزان MIC (دامنه ۱/۵۶-۰/۳۹) و نمونه‌های عسل راک بیشترین میزان MIC (دامنه ۶/۲۵-۳/۱۲) را دارا بودند. به ترتیب نمونه‌های عسل با توجه به نتایج MIC از میزان کم به زیاد شامل عسل بلوط (دامنه ۱/۵۶-۰/۳۹)< چهل گیاه گرمسیری (دامنه ۲/۶۰-۰/۷۸)< گون گرمسیری و گون سردسیری (دامنه ۲/۶۰ -۱/۵۶)< جوکار (دامنه ۳/۱۲-۱/۵۶)< چهل گیاه سردسیری (دامنه ۵/۲۱-۳/۱۲) < راک (دامنه ۶/۲۵-۳/۱۲) بودند (جدول ۲)؛ بنابراین نتایج حساسیت سنجی نمونه‌های عسل در مقایسه با داروی استاندارد فلوکونازول نشان

جدول ۲- میزان MIC_{90} نمونه‌های عسل بومی استان کهگیلویه و بویر احمد علیه *کاندیدا آلبیکنس*

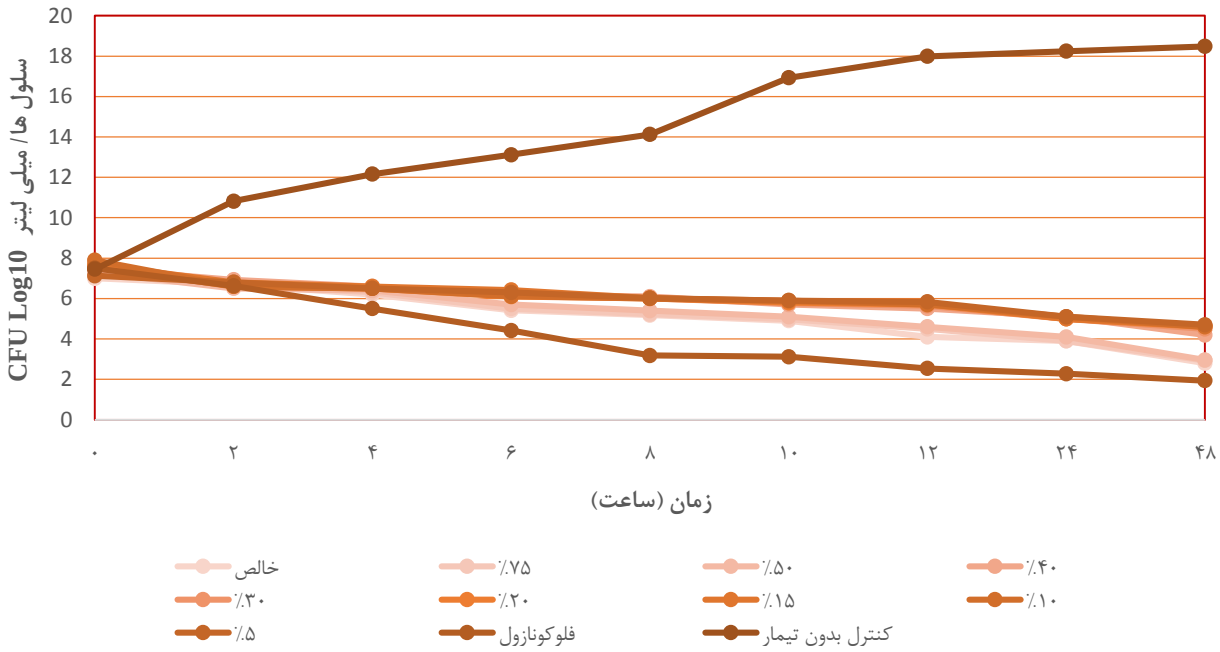
غلظت‌های مورد آزمایش / نمونه‌ها	بلوط*	چهل گیاه گرمسیری*	چهل گیاه سردسیری*	گون گرمسیری*	گون سردسیری*	راک*	جوکار*	فلوکونازول**
نمونه ۱	۰/۷۸±۰/۰۰	۰/۷۸±۰/۰۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۶/۲۵±۰/۰۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۰/۵۰±۰/۰۰
نمونه ۲	۰/۷۸±۰/۰۰	۰/۷۸±۰/۰۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۳/۱۲±۰/۰۰	۱/۳۳±۰/۵۸
نمونه ۳	۰/۳۹±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۵/۲۱±۱/۸۱	۲/۶۰±۰/۹۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۵/۲۱±۱/۸۱	۳/۱۲±۰/۰۰	۱/۳۳±۰/۵۸
نمونه ۴	۱/۵۶±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۲/۶۰±۰/۹۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۶/۲۵±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۲/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۵	۱/۳۰±۰/۴۵	۲/۶۰±۰/۹۰	۵/۲۱±۱/۸۱	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۱/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۶	۱/۳۰±۰/۴۵	۰/۷۸±۰/۰۰	۳/۱۲±۰/۰۱	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۲/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۷	۱/۵۶±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۲/۶۰±۰/۹۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۱/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۸	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۹	۱/۵۶±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۵/۲۱±۱/۸۱	۲/۰۸±۰/۹۰	۲/۶۰±۰/۹۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۰۰±۰/۰۰
نمونه ۱۰	۰/۳۹±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۳/۱۲±۰/۰۰	۱/۵۶±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۹۰	۴/۱۶±۱/۸۱	۳/۱۲±۰/۰۰	۱/۶۷±۰/۵۸

* میلی‌گرم/ میلی‌لیتر
** میکروگرم/ میلی‌لیتر

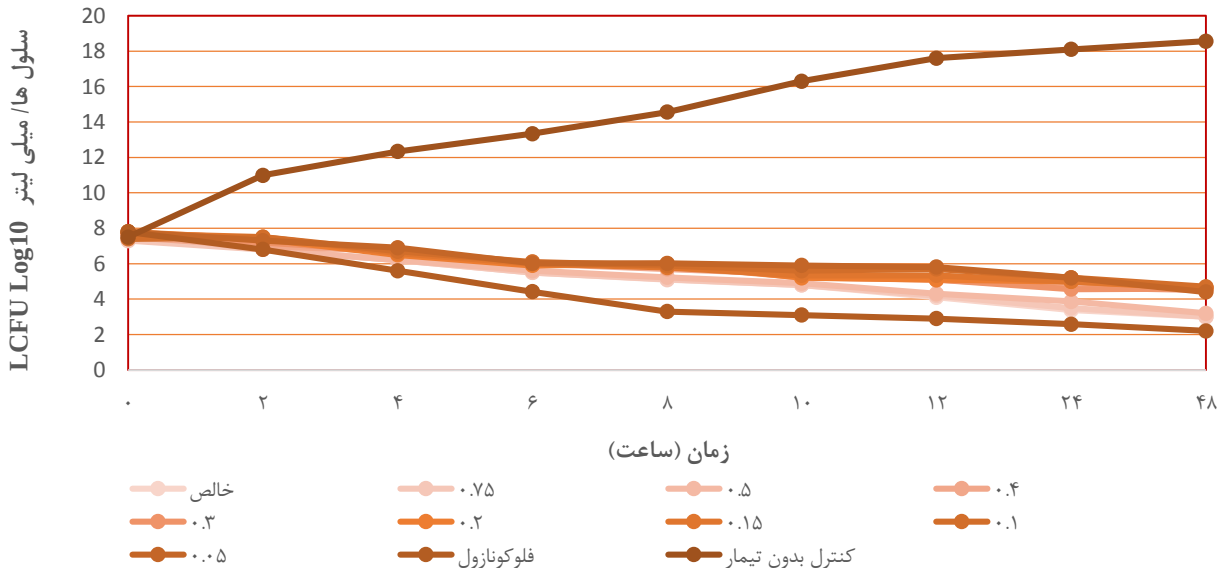
داد که تأثیر معنی‌داری علیه *کاندیدا آلبیکنس* داشتند. علاوه بر این، مؤثرترین نمونه عسل علیه *کاندیدا آلبیکنس*، عسل بلوط بود.

نتایج حاصل از سنجش زمان مرگ سلولی با ماده تلقیحی اولیه متفاوت *کاندیدا آلبیکنس* تیمار شده با غلظت‌های مختلف نمونه‌های عسل نشان‌دهنده تأثیر فراوان ($p\leq ۰/۰۰۱$) کاهش تعداد سلول‌ها بود. نمودار ۱ نشان‌دهنده تأثیر مهاری غلظت‌های مختلف نمونه عسل بلوط و فلوکونازول در دو اندازه ماده تلقیحی اولیه است. کاهش فراوان سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* تیمار شده با غلظت‌های خالص، ٪۷۵ و ٪۵۰ عسل بلوط و فلوکونازول ۴

الف



ب



نمودار ۱- نتایج حاصل از سنجش زمان مرگ سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* ATCC 14053 تیمار شده با نمونه عسل بلوط در غلظت‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵ درصد و خالص در ماده تلقیحی اولیه **الف: $۱۰^{۶}$ CFU/ml**، **ب: $۱۰^{۴}$CFU/ml**

ساعت بعد از گرمخانه گذاری مشاهده گردید. در غلظت‌های ۴۰-۵٪ پس از ۶ ساعت از گرمخانه گذاری کاهش معنی‌دار سلول‌ها در مقایسه با کنترل بدون تیمار مشاهده شد. علاوه براین، تفاوت فراوانی در نتایج سنجش زمان مرگ سلولی با دو اندازه مختلف ماده تلقیحی اولیه مشاهده نشد (p=۳۱). در خصوص سایر نمونه‌های عسل نیز نتایج مشابهی حاصل گردید.

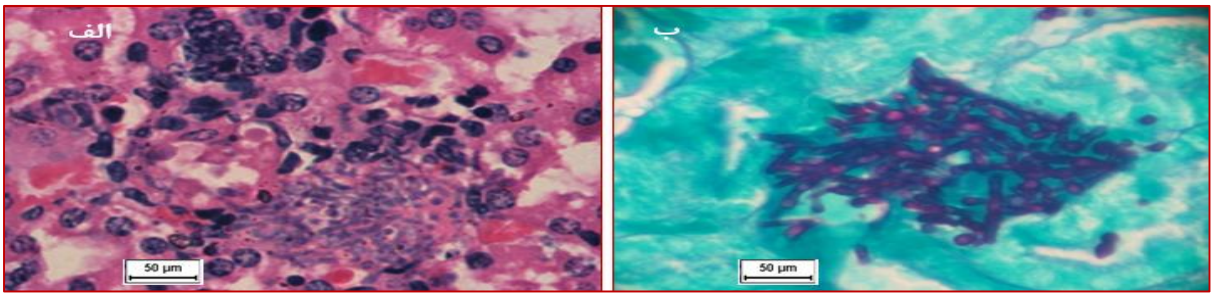
نتایج حاصل از سنجش بار آلودگی قارچی بافت کلیه حیوان آزمایشگاهی تیمار شده با نمونه‌های عسل و فلوکونازول در زمان‌های مختلف نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* از روز دوم شروع تیمار بوده است. علاوه بر این، کاهش CFU در بافت کلیه بعد از سی روز در بافت‌های تیمار شده به ترتیب با فلوکونازول، عسل بلوط و عسل چهل گیاه گرمسیری مشاهده گردید (جدول ۳).

بررسی مشخصات ظاهری کلیه موش‌های موردمطالعه نشان داد که در موش‌های مبتلابه کاندیدیازیس گوارشی بزرگی، التهاب و تغییر رنگ کلیه‌ها مشاهده گردید. آنالیز هیستوپاتولوژی مقاطع تهیه‌شده از کلیه موش‌های مبتلابه کاندیدیازیس گوارشی وجود عناصر قارچی با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی پریودیک

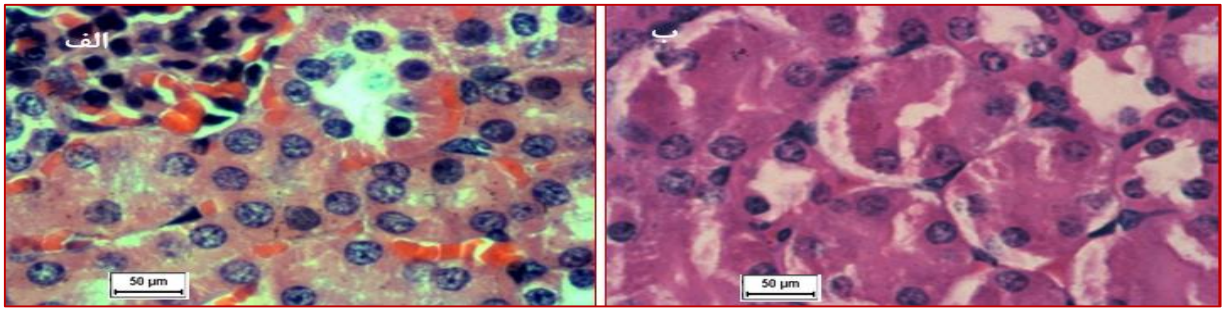
جدول ۳- نتایج سنجش بار آلودگی قارچی (Log_{10} CFU/g کلیه ±SD) *کاندیدا آلبیکنس* موش‌های مبتلابه کاندیدیازیس گوارشی تیمار شده با نمونه‌های عسل بلوط و چهل گیاه گرمسیری و فلوکونازول

مدت‌زمان بعد از ایجاد عفونت (روز)/ تیمار	عسل بلوط خالص	عسل چهل گیاه گرمسیری خالص	فلوکونازول	کنترل بدون تیمار
۲	$۴/۸۳\pm۰/۰۵^{b}$	$۴/۹۲\pm۰/۰۸^{c}$	$۴/۶۲\pm۰/۰۶^{a}$	$۵/۱۳\pm۰/۰۸^{d}$
۴	$۴/۷۴\pm۰/۰۶^{b}$	$۴/۸۶\pm۰/۰۶^{c}$	$۴/۵۵\pm۰/۰۶^{a}$	$۵/۲۴\pm۰/۰۶^{d}$
۷	$۴/۴۰\pm۰/۰۳^{b}$	$۴/۴۱\pm۰/۰۴^{b}$	$۴/۳۰\pm۰/۰۵^{a}$	$۶/۰۵\pm۰/۰۶^{c}$
۱۴	$۴/۰۵\pm۰/۰۴^{a}$	$۴/۲۰\pm۰/۰۵^{c}$	$۴/۱۰\pm۰/۰۳^{b}$	$۶/۰۷\pm۰/۰۵^{d}$
۲۰	$۳/۸۵\pm۰/۰۲^{b}$	$۴/۱۴\pm۰/۰۶^{c}$	$۳/۷۵\pm۰/۰۳^{a}$	$۷/۲۸\pm۰/۰۶^{d}$
۳۰	$۳/۴۵\pm۰/۰۶^{b}$	$۴/۱۰\pm۰/۰۳^{c}$	$۳/۰۱\pm۰/۰۳^{a}$	$۷/۳۴\pm۰/۰۴^{d}$

مقادیر با حروف غیرمشابه در هر ردیف وجود اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون تعقیب توکی در سطح $p\leq 0.05$ در ۲ تکرار ۹ تایی آزمایش است.



شکل ۱- وجود عناصر قارچی و ریسه *کاندیدا آلبیکنس* در بافت کلیه موش آزمایشگاهی مبتلابه کاندیدیازیس گوارشی با استفاده از رنگ‌آمیزی الف: پریودیک اسید شیف و ب: هماتوکسیلن- ائوزین (X400)



شکل ۲- الف: بافت کلیه موش‌های آزمایشگاهی آلوده به کاندیدیازیس گوارشی و ب: بافت کلیه موش‌های آزمایشگاهی آلوده به کاندیدیازیس گوارشی تیمارشده با عسل با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن- ائوزین (X400)

اسید شیف و هماتوکسیلن- ائوزین را نشان داد (شکل ۱). علاوه بر این، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن- ائوزین وجود اندکی ازدحام و تراکم سلولی به همراه کمی التهاب بافتی در بافت کلیه موش‌های آزمایشگاهی آلوده به کاندیدیازیس گوارشی و عدم وجود سلول‌های التهابی و یا عناصر قارچی در بافت کلیه موش‌های آزمایشگاهی آلوده به کاندیدیازیس گوارشی و تیمار شده با عسل مشاهده گردید (شکل ۲).

بحث

خواص ضد میکروبی، ضدالتهابی، ضد سرطانی، ضد حساسیت و التیام دهنده عسل توسط پژوهشگران قبلی به اثبات رسیده است (۱۷-۱۵ و ۹-۶). مطالعه Akkol و همکاران پتانسیل ضد درد، ضدالتهابی، ضد اسید معده و آنتی‌اکسیدان فرمولاسیون مخلوط موم عسل و گرده را در مدل موش‌های آزمایشگاهی نشان دادند (۱۷). در مطالعه حاضر تأثیر نمونه‌های عسل استان کهگیلویه و بویر احمد در مدل حیوان آزمایشگاهی مبتلابه کاندیدیازیس گوارشی ناشی از *کاندیدا آلبیکنس* ارزیابی شده است.

مخمر *کاندیدا آلبیکنس* از رایج‌ترین قارچ‌هایی است که به‌خصوص بیماران دچار نقص ایمنی را درگیر نموده و نهایتاً، ممکن است که منجر به عفونت و مرگ شود (۱۸). عسل دارای خواص ضد میکروبی است. Al-Waili نشان داد که نمونه‌های عسل در غلظت‌های ۱۰۰-۱۰٪ تأثیر مهاری علیه قارچ بیماری‌زای انسان *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری‌های بیماری‌زای انسان ازجمله *اشریشیا کلی*، *انتروباکتر کلوآسه*، *پسودوموناس آئروژینوزا*، *شیگلا دیسانتری*، گونه‌های *کلبسیلا*، *هموفیلوس آنفولانزا*، گونه‌های *پروتئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس همولیتیکوس* گروه B در شرایط آزمایشگاهی دارد. علاوه بر این، در مدل حیوان آزمایشگاهی تأثیر ضد میکروبی عسل موردبررسی قرار گرفت. بهبودی زخم‌های آلوده به باکتری‌های گونه‌های *کلبسیلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ایجادشده در موش آزمایشگاهی با مصرف موضعی عسل مشاهده نمودند. همچنین با مصرف موضعی عسل در التهاب ملتحمه چشم موش صحرایی ایجادشده توسط *اشریشیا کلی*، گونه‌های *پروتئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *پسودوموناس آئروژینوزا*، گونه‌های *کلبسیلا*، بهبودی حاصل شد (۱۹).

در مطالعه حاضر، اثر ضد قارچی نمونه‌های عسل استان کهگیلویه و بویر احمد و داروی استاندارد فلوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داده‌اند که نمونه‌های عسل در غلظت‌های بیشتر از ۵۰٪ تأثیر ضد کاندیدیایی معنی‌داری نشان داد. علاوه بر این، عسل بلوط نسبت به سایر نمونه‌های عسل تأثیر مهارکنندگی از رشد بیشتری را نشان داد. خواص بیولوژیکی عسل به دلیل ترکیبات شیمیایی آن است. مطالعات نشان داده است که عسل حاوی حدود ۲۰۰ ترکیب شیمیایی متمایز است. عسل حاوی مولکول‌های مختلف ازجمله فروکتوز و گلوکز (۸۵-۸۰٪)، آب (۱۷-۱۵٪)؛ خاکستر (۰/۲٪)؛ پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه (۰/۴- ۰/۱٪) و مقدار کمی از آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و سایر مواد مانند ترکیبات فنلی است. بااین‌حال، ترکیب عسل و خواص فیزیکی و ترکیب شیمیایی آن بسته به انواع گیاهانی دارد که زنبورعسل مصرف می‌نماید. بااین‌وجود، تقریباً همه نمونه‌های عسل دارای انواع مشابهی از اسیدهای فنلی ازجمله کافئین، الاجیک اسید، فرولیک اسید و پارا کوماریک اسید؛ فلاونوئیدها، مانند آپی ژنین، کریسین، گالانجین، هسپرتین، کائمفرول، پینوکمبرین و کوئرستین و آنتی‌اکسیدان‌ها مانند توکوفرول، آسکوربیک اسید، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون دارا می‌باشند (۲۰ و ۲۱). در مطالعه‌ای که تأثیر ضد کاندیدیایی نمونه‌های عسل آفریقای جنوبی موردبررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که تأثیر مهارکنندگی سه نوع عسل مورد آزمایش علیه *کاندیدا آلبیکنس* متفاوت بوده که به‌احتمال‌زیاد مربوط به ترکیبات شیمیایی نمونه‌های عسل مرتبط به‌دست‌آمده از گیاهان متفاوت است (۲۲). اکثر گیاهان حاوی تعداد زیادی از پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند و هر گیاه دارای پروفیل شیمیایی مشخصی است، لذا خواص هر نوع عسل به گیاهانی مرتبط می‌شود که از آن منشأ گرفتند. عواملی از قبیل غلظت و نوع ترکیبات پلی فنلی بر خصوصیات نمونه‌های عسل تأثیرگذار هستند (۲۳). در مطالعه حاضر نیز نمونه‌های عسل از مناطق مختلف با پوشش گیاهی متفاوت انتخاب شدند، لذا تفاوت در تأثیر ضد قارچی را می‌توان به تفاوت در ترکیب شیمیایی نمونه‌های عسل مرتبط دانست که لازم است در مطالعات آینده مشخص گردد.

یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر بر اساس تأثیر مؤثرترین نمونه‌های عسل در شرایط آزمایشگاهی (عسل بلوط و عسل چهل

گیاه گرمسیری) بر مهار کاندیدیازیس گوارشی ایجادشده توسط *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد که در مقایسه با نمونه کنترل بدون تیمار، عسل بلوط تأثیر بیشتری بر مهار کاندیدیازیس گوارشی در موش آزمایشگاهی داشته است و از این نظر قابل‌مقایسه با فلوکونازول بوده است. درواقع خواص ذاتی عسل مانند اسمولاریته بالا و اسیدیته و همچنین حضور فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی مسئول فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عسل است. علاوه بر فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و محافظت از بافت، نقش‌های متعددی برای عسل در افزایش پاسخ ایمنی ازجمله القا تولید سیتوکاین‌های التهابی توسط ماکروفاژها، تحریک مهاجرت نوتروفیل و افزایش تولید آنتی‌بادی در نظر گرفته شده است. البته بایستی اذعان نمود که اثبات این حقیقت که بسیاری از فعالیت‌های عسل با استفاده از یک یا چند بخش فعال می‌شود، هنوز به‌طور کامل مشخص نیست (۱۹ و ۲۴).

Maglakelidzeو همکاران تأثیر ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیب Camelyn M استخراج‌شده از نمونه‌های عسل در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دادند. همچنین تأثیر ضد باکتریایی ترکیب مذکور را در مدل حیوان آزمایشگاهی موردسنجش قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیب Camelyn M تأثیر مهاری قوی علیه باکتری‌ها و گونه‌های مقاوم به فلوکونازول *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا پاراپسیلوسیس* و *کاندیدا کروزی* در شرایط آزمایشگاهی داشته است. همچنین در مدل حیوان آزمایشگاهی تأثیر ضد باکتری قابل‌توجهی نشان داده است (۲۵). اونق و ادیب حسامی (۲۶) عفونت جلدی تجربی حاصل از *کاندیدا آلبیکنس* در خرگوش به‌وسیله عصاره اتانولی بره موم عسل درمان نمودند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها نشان داد که دوز ۱۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی بره موم عسل در مقایسه با نیستاتین عفونت جلدی تجربی حاصل از *کاندیدا آلبیکنس* را سریع‌تر بهبود می‌بخشد.Shamala و همکاران (۲۷) تأثیر ضد باکتریایی عسل علیه *اشریشیا کلی* و همچنین Qamar و همکاران (۲۸) اثر عسل مانوکا علیه *کلبسیلا پنومونیا* تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز در شرایط آزمایشگاهی و بدن حیوان آزمایشگاهی ارزیابی نمودند. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده تأثیر عسل علیه باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیا* بود. نتایج حاصل از مطالعات مذکور هم در شرایط آزمایشگاهی و هم بدن حیوان بامطالعه حاضر همسو هستند. مطالعات ضد میکروبی فرمولاسیون هیدروژل موضعی عسل در شرایط آزمایشگاهی و بدن حیوان نشان داد که فرمولاسیون مذکور موجب مهار رشد باکتری‌های *پسودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا پنومونیا* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* در شرایط آزمایشگاهی گردید. علاوه بر این، هیدروژل عسل دارای فعالیت بهبود زخم در بدن حیوان آزمایشگاهی در مقایسه با فرمولاسیون مشابه تجاری بود که می‌تواند به‌عنوان درمان مؤثر طبیعی زخم موضعی استفاده شود (۲۹). می‌توان گفت که یافته‌های تحقیقاتی در مورد فعالیت ضد میکروبی و به‌خصوص ضد قارچی عسل در بدن حیوان آزمایشگاهی کمتر مشاهده شده است و نیاز به تحقیقات در این خصوص ضروری است.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر گونه‌های *کاندیدا* از رایج‌ترین قارچ‌هایی هستند که از عفونت‌های انسانی جدا می‌شوند. به دنبال افزایش تعداد بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و تیمار طولانی‌مدت با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف ضد باکتریایی، شیوع عفونت‌های کاندیدیازیس رشد چشمگیری داشته است. علاوه بر این، مقاومت ذاتی و اکتسابی علیه داروهای رایج ضد قارچی مشاهده گردیده است. استفاده از پتانسیل ضد میکروبی ترکیبات با منشأ طبیعی نظیر عسل می‌توانند جایگزین داروهای شیمیایی شوند و یا حداقل به‌عنوان مکمل دارویی مورداستفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای پایان‌نامه دانشجویی (کد ۳۱-۱-۹۵) کمال امتنان را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Neville BA, d'Enfert C, Bougnoux ME. *Candida albicans* commensalism in the gastrointestinal tract. FEMS Yeast Res. 2015; 15(7). pii: fov081.
2. Naglik JR, Richardson JP, Moyes DL. *Candida albicans* pathogenicity and epithelial immunity. PLoS Pathog. 2014; 10(8): e1004257.
3. Banaeian-Borujeni S, Mobini GR, Pourgheysari B, Validi M. Comparison of the effect of honey and miconazole against *Candida albicans in vitro*. Adv Biomed Res. 2013; 2: 57.
4. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. J Food Sci. 2008; 73(9): R117-124.
5. French VM, Cooper RA, Molan PC. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. J Antimicrob Chemother. 2005; 56(1): 228-231.
6. Irish J, Carter DA, Shokohi T, Blair SE. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. Med Mycol. 2006; 44(3): 289-291.
7. Banaean-Boroujeni SH, Rasti-Boroujeni M, Moghim H, Validi M, Mobini Gh, Kazemian A. *In vitro* effect of honey on *Candida albicans* and *Lactobacillus*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 11(4): 52-58. [In Persian].
8. McLoone P, Warnock M, Fyfe L. Honey: a realistic antimicrobial for disorders of the skin. J Microbiol Immunol Infect. 2016; 49(2): 161-167.
9. Estevinho ML, Afonso SE, Feás X. Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans*. J Food Sci Technol. 2011; 48(5): 640-643.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A3, 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Approved standard M44-A2, 2nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
12. Alizadeh F, Khodavandi A, Zalakian S. Quantitation of ergosterol content and gene expression profile of *ERG11* gene in fluconazole-resistant *Candida albicans*. Curr Med. Mycol. 2017; 3(1): 13–19.
13. Khodavandi A, Harmal NS, Alizadeh F, Scully OJ, Sidik SHM, Othman F, et al. Comparison between allicin and fluconazole in *Candida albicans* biofilm inhibition and in suppression of *HWP1* gene expression. Phytomedicine. 2011; 19(1): 56-63.
14. Khodavandi A, Alizadeh F, Harmal N, Sidik SM, Othman F, Sekawi, et al. Comparison between efficacy of allicin and fluconazole against *Candida albicans in vitro* and in a systemic candidiasis mouse model. FEMS Microbiol Lett. 2011; 315(2): 87-93.
15. Koc AN, Silici S, Ercal BD, Kasap F, Hörmet-Oz HT, Mavus-Buldu H. Antifungal activity of Turkish honey against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp: an *in vitro* evaluation. Med Mycol. 2009; 47(7): 707-712.
16. Anyanwu CU. Investigation of *in vitro* antifungal activity of honey. J Med Plants Res. 2012; 6(18): 3512-3516.
17. Akkol EK, Orhan DD, Gürbüz I, Yesilada E. *In vivo* activity assessment of a "honey-bee pollen mix" formulation. Pharma Biol. 2010; 48(3): 253-259.
18. Zhaponi A, Anvarinejad M, Farshad Sh, Mehrbani D. Immunomodulating effect of cyclophosphamide in mice infected with *Candida albicans.* J Fasa Univ Med Sci. 2013; 3(4): 291-299. [In Persian].
19. Al-Waili NS. Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. J Medicinal Food. 2004; 7(2): 210-222.
20. Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. Rev Bras Farmacogn. 2016; 26(5): 657-664.
21. Patricia V, Vargas O López T, Valle FM. Meliponini biodiversity and medicinal uses of pot-honey from El Oro province in Ecuador. Emirates J Food Agric. 2015; 27(6): 502-506.
22. Theunissen F, Grobler S, Gedalia I. The antifungal action of three South African honeys on *Candida albicans.* Apidologie. 2001; 32(4): 371-379.
23. Kücük M, Kolayli S, Karaoglu S, Ulusoy E, Cemalettin B, Candan F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chem. 2007; 100(2): 526-534.
24. Fernandez-Cabezudo MJ, El-Kharrag R, Torab F, Bashir G, George JA, El-Taji H, et al. Intravenous administration of manuka honey inhibits tumor growth and improves host survival when used in combination with chemotherapy in a melanoma mouse model. PLoS One. 2013; 8(2): e55993.
25. Maglakelidze B, Abashidze G, Dadeshidze I, Mshvildadze V, Pichete A, Perreten V, et al. Evaluation of in vitro and in vivo antibacterial and antifungal activity of "camelyn m". In Méndez-Vilas A, editor. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. 1th ed. Spain: Formatex Research Center; 2011; p 1211-1215.
26. Ownagh A, Adibhesami M. Treatment of *Candidia Albicans* cutaneous infection by ethanol extract of propolis in an experimental model. Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv. 2013; 35(2): 6-11. [In Persian].
27. Shamala TR, Jyothi YPS, Saibaba P. Antibacterial effect of honey on the *in vitro* and *in vivo* growth of *Escherichia coli.* World J Microbiol Biotechnol. 2002; 18(9): 863-865.

28. Qamar MU, Saleem S, Toleman MA, Saqalein M, Waseem M, Nisar MA, et al. *In vitro* and *in vivo* activity of Manuka honey against NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11. Future Microbiol. 2018;13(1):13-26.

29. El-Kased RF, Amer RI, Attia DA, Elmazar MMA. Honey-based hydrogel: *in vitro* and comparative *in vivo* evaluation for burn wound healing. Sci Rep. 2017; 7(2): 9692.

Oiginal Article

Comparison of the Antifungal Activity of Honey and Fluconazole against *Candida albicans In Vitro* and in an Enteric Candidiasis Mouse Model

Majidi Poya M[1], Khodavandi A[2*]

1. Department of Microbiology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
2. Department of Biology, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran

Received: 29 Dec 2017 Accepted: 04 Aug 2018

Abstract

Background & Objective: Candidiasis has gained importance due to its increasing prevalence in immunocompromised patients. Antifungal drugs such as fluconazole and amphotericin B are used for the treatment of candidiasis. One of the biggest problems faced in clinical practice is resistance for most of these drugs. The antifungal drugs derived from natural products have helped to overcome this problem. This study evaluated the effects of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad natural honey and fluconazole on *C. albicans* in an enteric candidiasis mouse model.

Materials & Methods: The *in vitro* antifungal activity of honey samples from different sources were evaluated for their ability to inhibit the growth of *C. albicans*. Time kill test was carried out to evaluate the anticandidal activities of the honey tested. Eventually, the efficacy of the best honey tested compared with fluconazole against *C. albicans* was evaluated *in vivo* through an enteric candidiasis mouse model.

Results: The results revealed that the honey tested was able to inhibit *C. albicans*. Our data indicated that oak honey largely represented antifungal activity among the honey tested ($p \leq 0.001$). Treatment of BALB/c mice infected with *C. albicans* showed that treatment with honey was slightly less efficacious than fluconazole treatment in terms of the fungal load reduction, it was still effective against *C. albicans.*

Conclusions: These results demonstrate the efficacy of anticandidal effects of honey extracts both *in vitro* and in an animal model of candidiasis and affirm the potential of honey to be used as an adjuvant therapy in the management of *Candida* infections.

Keywords: *Candida albicans*, enteric candidiasis, honey

***Corresponding Author: Alireza Khodavandi,** Department of Biology, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran.
Email: alireza_khodavandi@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0001-9498-9822

Journal of Fasa University of Medical Sciences 8 (2018): 967-978