Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Efficacy of Anethole on Biofilm Formation, Ergosterol Content, and Cell Surface Hydrophobicity of *Candida Glabrata* Isolated from Urinary System

Hamid Haji Gholamreza [1], Aghil Sharifzadeh [1], Hojjatollah Shokri [2*], Jalal Hasan [3]

[1] Dept of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Dept of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
[3] Dept of Comparative Bioscience, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: May. 07, 2023
Received in revised form: Jun. 01, 2023
Accepted: Nov. 25, 2023
Published Online: Feb. 03,2025

**** Correspondence to:***
Hojjatollah Shokri
Dept of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

Email:
hshokri@ausmt.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Resistance to synthetic antifungal agents is a considerable health problem nowadays. Therefore, it is necessary to identify new antifungal molecules, such as natural products, to develop new therapeutic strategies to prevent and eradicate candidiasis. The aims of this work were to study the effect of anethole on growth, cell surface hydrophobicity, ergosterol content, and biofilm formation of *Candida glabrata* (*C. glabrata*) isolated from the urinary system.

Materials & Methods: The disc diffusion method (susceptibility to synthetic antifungals), the broth micro-dilution method (susceptibility to anethole), the MTT reduction assay (biofilm formation), the HPLC technique (ergosterol content), and adherence to n-hexadecane (cell surface hydrophobicity; CSH) were employed to determine the effect of anethole against *C. glabrata* isolates. Statistical analysis of the data was performed using GraphPad Prism V.9, employing the one-way ANOVA test and pairwise comparisons using the Tukey test/post-hoc ANOVA at a significance level of 0.05.

Results: The range of MIC of *C. glabrata* was 1250-5000 µg/ml for anethole (3375±1375 µg/ml). The percentages of CSH were significantly in groups treated with MIC/2 (24.73±6.37%) and MIC/4 (29.01±6.61%) concentrations of anethole. Also, the percentage changes in membrane ergosterol were 23.35% at 0.125 µg/ml, 46.46% at 0.25 µg/ml, and 73.92% at 0.5 µg/ml of anethole, compared to the control that wasn't treated.

Conclusion: The results showed the effectiveness of anethole against planktonic and sessile cells of *C. glabrata* isolates and the interference with ergosterol content, CSH, and biofilm formation, reinforcing the potential of this natural compound as a natural antifungal.

Keywords: *Candida glabrata*, Anethole, Biofilm, Ergosterol, Hydrophobicity

How to cite this paper: Haji Gholamreza H, Sharifzadeh A, Shokri H, Hasan J. Efficacy of Anethole on Biofilm Formation, Ergosterol Content, and Cell Surface Hydrophobicity of Candida Glabrata Isolated from Urinary System. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;32(6):27-45.

Introduction

Candida is a yeast organism that naturally exists in the surface epithelium of the gastrointestinal and genitourinary tracts of healthy individuals as part of the normal flora (1). However, if there is a disturbance in local or systemic immune function, *Candida* may overgrow, ultimately leading to candidiasis (2). Hospitalized patients commonly experience candiduria, a form of candidiasis. The presence of yeast (*Candida* species) in the urine may indicate that the patient is suffering from pyelonephritis or cystitis (3). It could also signify involvement of the renal cortex due to disseminated candidiasis (3). However, candiduria might simply reflect colonization of yeast in the bladder, perineum, or an indwelling urinary catheter (3). The development of new pharmaceuticals derived from natural compounds to combat infections resistant to common antifungals, which exhibit fewer side effects, has garnered significant attention in recent times (4). Anethole (1-methoxy-4-isopropenylbenzene) is a phenylpropanoid that comes from plants (4). It is a main part of essential oils from plants like anise, fennel, and star anise (5). Previous studies have

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

demonstrated the antifungal properties of anethole (13). The point of this study was to look into how anethole affects the growth, surface hydrophobicity, ergosterol content of the membrane, and biofilm formation by isolates of *Candida glabrata*.

Methods

The study used a number of methods to look at how anethole affected *C. glabrata* isolates. These included the disc diffusion method to test resistance to synthetic antifungals, the broth micro-dilution method to test resistance to anethole, the MTT reduction assay to check biofilm formation, the HPLC method to check ergosterol levels, and adherence to n-hexadecane to check the hydrophobicity of the cell surface (CSH). Data analysis was conducted using GraphPad Prism V.9, applying the one-way ANOVA test along with pairwise comparisons through the Tukey test/post-hoc ANOVA, with a significance threshold set at 0.05.

Results

BasThe minimum inhibitory concentration (MIC) of *C. glabrata* for anethole ranged from 1250 to 5000 µg/ml, with an average of 3375±1375 µg/ml. The amount of CSH was much higher in the groups that were given anethole at half the MIC concentration (24.73±6.37%) and a quarter of the MIC concentration (29.01±6.61%). Additionally, the alterations in membrane ergosterol levels were recorded at 23.35%, 46.46%, and 73.92% for anethole concentrations of 0.125, 0.25, and 0.5 µg/ml, respectively, when compared to the untreated control group.

Conclusion

It can be inferred that anethole demonstrates antifungal properties against *C. glabrata* strains and also has the capacity to diminish the surface hydrophobicity of *Candida* cells.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology: Validation, Formal Analysis, Software, Investigation, Resources, Data Curation, Writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: HH, AS, HS, JH.

Ethical Statement

The study was approved by the Ethics Committee of the University of Tehran (300511/6/4). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research has been financially supported by the Research Vice Presidency at the University of Tehran.

Acknowledgment

The authors of the article express their utmost gratitude to the esteemed experts of the Mycology Laboratory at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, for their efforts in conducting the sampling.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

تأثیر آنتول روی تشکیل بیوفیلم، میزان ارگوسترول و آب‌گریزی سطح سلولی *کاندیدا گلابراتای* جداشده از دستگاه ادراری

حمید حاجی غلامرضا[۱]، عقیل شریف‌زاده[۱]، حجت اله شکری[۲*]، جلال حسن[۳]

[۱] گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

[۳] گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۱/۱۵

نویسنده مسئول:
حجت اله شکری
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

Email:
hshokri@ausmt.ac.ir

چکیده

مقدمه: در حال حاضر، مقاومت به داروهای ضدقارچی شیمیایی مشکل بهداشتی بزرگی است؛ بنابراین، شناسایی مولکول‌های جدید ضدقارچی مانند فرآورده‌های طبیعی برای ایجاد راهبردهای جدید درمانی به‌منظور پیشگیری و حذف کاندیدیازیس ضروری است. اهداف این کار شامل مطالعهٔ تأثیر آنتول روی رشد، آب‌گریزی سطح سلولی، میزان ارگوسترول و تشکیل بیوفیلم *کاندیدا گلابراتای* جداشده از دستگاه ادراری است.

مواد و روش‌ها: روش انتشار دیسک (حساسیت به داروهای ضدقارچی شیمیایی)، روش میکرودایلوشن براث (حساسیت به آنتول)، سنجش کاهش MTT (تشکیل بیوفیلم)، تکنیک HPLC (میزان ارگوسترول) و اتصال به n- هگزادکان (آب‌گریزی سطح سلولی) برای تعیین تأثیر آنتول برابر جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* به‌کار گرفته شدند. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism vol.9.0.0.121 و آزمون One-Way ANOVA و آزمون‌های دوتایی Tukey Test / Post-hoc ANOVA در سطح معنادار ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌های پژوهش: دامنهٔ حداقل غلظت مهارکنندگی *کاندیدا گلابراتا* حدود ۱۲۵۰-۳۱۲/۵میکروگرم در میلی‌لیتر برای آنتول بود (۳۴۳/۷۵±۸۴۳/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر). درصدهای آبگریزی سطح سلولی به‌طور معناداری در گروه‌های تیمارشده با غلظت‌های MIC/2 (۷۳/۳۷±۲۴/۶ درصد) و MIC/4 (۲۹/۶±۰۱/۶۱ درصد) آنتول بودند؛ همچنین تغییرات درصدی در میزان ارگوسترول غشایی حدود ۲۳/۳۵، ۴۶/۴۶ و ۷۳/۹۲ درصد در غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر آنتول در مقایسه با گروه شاهد غیرتیمار بود.

بحث و نتیجه‌گیری: این نتایج اثربخشی آنتول برابر سلول‌های پلانکتونیک و بیوفیلمی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* و تداخل با میزان ارگوسترول، آبگریزی سطح سلولی و تشکیل بیوفیلم را نشان دادند که بیان‌کنندهٔ توانایی بالقوهٔ این ترکیب به‌عنوان یک ضدقارچ طبیعی است.

واژه‌های کلیدی: *کاندیدا گلابراتا*، آنتول، بیوفیلم، ارگوسترول، آبگریزی سطح سلولی

استناد: حاجی غلامرضا حمید، شریف‌زاده عقیل، شکری حجت اله، حسن جلال. تأثیر آنتول روی تشکیل بیوفیلم، میزان ارگوسترول و آب‌گریزی سطح سلولی *کاندیدا گلابراتای* جداشده از دستگاه ادراری. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، بهمن ۱۴۰۳؛ (۶)۳۲: ۴۵-۲۷.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

عفونتهای قارچی به‌عنوان یک مشکل بهداشتی جدی در نظر گرفته میشوند، به‌ویژه در افرادی که دارای نقص در دستگاه ایمنی بدن هستند. در دو دهۀ گذشته، عفونتهای قارچی به‌ویژه کاندیدیازیس افزایش فراوانی داشته است. این فراوانی بالا به عواملی ازجمله افزایش تعداد بیماران مبتلا به ایدز، دیابت و سرطان مرتبط است (۱).

کاندیدا ارگانیسم مخمری است که در اپیتلیوم سطحی دستگاه گوارش و دستگاه ادراری- تناسلی انسانهای سالم به‌عنوان فلور طبیعی وجود دارد. در صورت اختلال در دستگاه ایمنی موضعی یا سیستمیک، ممکن است کاندیدا رشد بیش از حد داشته باشد که درنهایت، به کاندیدیازیس منجر شود. بیش از ۱۵ گونۀ کاندیدای بیماری‌زا شناخته‌شده است که شایعترین آن‌ها شامل *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* هستند (۲).

کاندیدوریا شکلی از کاندیدیازیس است که اغلب در بیماران بستری مشاهده میگردد. یافتن مخمر (گونه‌های کاندیدا) در ادرار می‌تواند به معنای ابتلای بیمار به پیلونفریت یا سیستیت باشد؛ همچنین میتواند به معنی درگیری قشر کلیه به علت کاندیدیازیس منتشر باشد. البته وجود کاندیدوریا ممکن است تنها نشان‌دهندۀ کلونیزاسیون مخمر در مثانه، پرینه یا کاتتر ثابت ادراری باشد. بیشتر قریب‌به‌اتفاق بیماران مبتلا به کاندیدوریا هیچ علامتی را نشان نمیدهند که می‌تواند نشان‌دهندۀ وجود عفونت دستگاه ادراری باشد (۳). به‌طورکلی، میزان بروز کاندیدوریا با توجه به سن بیمار و شرایط بیمارستان متفاوت است، به‌طوری‌که در واحدهای مراقبت ویژه و سوختگی و در میان افراد مسن رایجتر است. از عوامل اثرگذار در ابتلا به کاندیدوریا در بزرگ‌سالان می‌توان جنسیت زن، استفاده از دستگاههای ادراری ثابت، ناهنجاریهای مادرزادی دستگاه ادراری، جراحی محوطۀ شکمی، درمان با آنتیبیوتیکهای وسیع‌الطیف و دیابت را نام برد (۴).

چسبندگی مخمر به سلول‌ها و بافتهای میزبان اولین رویداد برای شروع عفونت است. علاوه بر این، تماس سطحی قارچ میتواند رفتارهای مختلف سلولی ازجمله تشکیل بیوفیلم را تحریک کند که به‌طور قوی با کاندیدیازیس مرتبط است (۵). یک بیوفیلم اغلب از سلول‌های چسبنده و ماتریکس خارج سلولی تشکیل‌شده است و تشکیل آن با پیوستن سلول‌های پلانکتونی متحرک به سطوح اندوتلیوم انسان یا ایمپلنتهای پزشکی آغاز میشود (۶). تشکیل بیوفیلم یک عامل حدت قارچ محسوب میگردد؛ زیرا ممکن است به مقاومت ضدقارچی و محافظت از سلول‌های قارچی در برابر پاسخهای ایمنی منجر شود. تشکیل بیوفیلم توسط گونههای کاندیدا میتواند مسئول کلونیزاسیون بهتر میکروارگانیسم در بدن و وسایل پزشکی باشد که ممکن است به مشکلاتی در ریشهکنی این میکروارگانیسمها از خون منجر گردد (۷).

فرایند چسبندگی کاندیدا نسبتاً پیچیده و وابسته به هردو عامل بیولوژیکی و غیربیولوژیکی است. آب‌گریزی (هیدروفوبیسیتی) که مربوط به دیوارۀ سلولی است، یک عامل غیر بیولوژیک حیاتی در چسبندگی کاندیدا در نظر گرفته میشود (۴). الپولا و سامارانایاک (۸) نشان دادند که مخمرهای آب‌گریز، نسبت به آب‌دوست‌ها، حدت بیشتری دارند. کلوتز و همکاران (۹) رابطه‌ای میان افزایش چسبندگی به سطوح پلاستیکی و آب‌گریزی گزارش کردند. پژوهشگران همبستگی آماری مثبت معناداری میان آب‌گریزی و چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال میزبان و سطح آکریلیک پروتز گزارش کرده‌اند (۱۰).

امروزه با توجه به شیوع بیشتر عفونت‌های کاندیدایی غیر آلبیکنسی و بروز مقاومت‌های اکتسابی در گونه‌هایی مانند *کاندیدا گلابراتا*، پژوهشگران به دنبال یافتن راهکارهای درمانی جدید برای غلبه بر عفونت‌ها و مقاومت‌های ناشی از آن‌ها هستند. به این منظور، یکی از روش‌های درمانی مورد توجه پژوهشگران استفاده از ترکیبات گیاهی با خواص ضدمیکروبی مانند ترکیبات فنلی و ترپنوئیدها است (۱۱). برخی پژوهشگران توانایی ضد بیوفیلم کاندیدایی توسط ترکیبات گیاهی مانند فلاونوئیدها و عطرمایه‌ها (۱۲) را نشان دادهاند. تولید داروهای جدید از ترکیبات طبیعی برای کنترل عفونتهای مقاوم در برابر ضدقارچهای رایج که عوارض جانبی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

کمتری دارند، در حال حاضر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آنتول (۱-متوکسی-۴-ایزوپروپینیل-بنزن) یک فنیل پروپانوئید گیاهی است که یکی از اجزای اصلی عطرمایه‌های گیاهی مانند آنیسون، رازیانه و بادیان رومی را تشکیل می‌دهد. آثار ضدقارچی آنتول در مطالعات پیشین ثابت‌شده است (۱۳). هدف این مطالعه بررسی اثر آنتول بر رشد، آب‌گریزی سطح سلولی، میزان ارگوسترول غشایی و تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* است.

مواد و روش‌ها

سویه‌های مخمری: در این مطالعه (با کد اخلاق ۳۰۰۵۱۱/۶/۴)، از ۱۰ جدایهٔ *کاندیدا گلابراتای* ذخیره‌شده در بانک قارچ‌شناسی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران (۹ جدایهٔ ادراری و ۱ جدایهٔ استاندارد ATCC 90030) استفاده گردید. همهٔ جدایه‌های مطالعه‌شده با استفاده از کیت RapID Yeast Plus System™ (رمل، آمریکا) تشخیص داده شد و توالی ژنتیکی آن‌ها تعیین و کد ژنتیکی برای آن‌ها در سامانهٔ NCBI تعیین گردید. این جدایهها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد در محیط عصارهٔ مخمر حاوی پپتون و دکستروز (YPD) (سیگما، آمریکا)، حاوی ۲۰ درصد گلیسرول نگهداری شدند. برای استخراج سلول و آماده‌سازی برای کشت، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از هر جدایه به ۵ میلیلیتر محیط مایع YPD اضافه گردید. برای فعالسازی مجدد و تأیید زنده ماندن، سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* در یک شیکر در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۲۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. پس از آن، ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلول در سطح محیط کشت سابورو دکستروز آگار (مرک، آلمان) تلقیح گردید.

ترکیبات دارویی: دیسک‌های فلوکونازول، ایتراکونازول، وریکونازول، کتوکونازول و پوساکونازول (روسکو، دانمارک) برای این مطالعه انتخاب شدند. آنتول (سیگا، آمریکا) به‌عنوان ترکیب طبیعی در اتانول ۷۰ درجه حل گردید.

آزمایش‌های حساسیت ضدقارچی: آزمایش‌های حساسیت ضدقارچی به دو روش انتشار دیسک و براث میکرودایلوشن انجام گرفته است.

الف. انتشار دیسک: آزمایش حساسیت ضدقارچی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در برابر دیسک‌های فلوکونازول، وریکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول و پوساکونازول (شرکت روسکو، دانمارک) به روش انتشار دیسک و بر اساس دستورالعمل استانداردCLSI-M44-A2 انجام شد (۱۴). بدین منظور، ابتدا جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* روی محیط سابورو دکستروز آگار در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت گردید؛ سپس مخمرها به ۵ میلیلیتر سرم فیزیولوژیک استریل انتقال و به‌طور کامل ورتکس شد تا سوسپانسیونی یکنواخت به‌دست آمد. جذب نوری (OD) سوسپانسیون بالا در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر به ۰/۰۸ تا ۰/۱ رسانده شد تا کدورت برابر با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند (cfu/ml 106) به‌دست آید. در ادامه، یک سواب پنبهای استریل در سوسپانسیون مخمری غوطهور گردید و روی سطح پلیت با قطر ۹۰ میلیمتر حاوی مولر هینتون آگار حاوی ۲ درصد گلوکز و ۰/۵ میکروگرم در میلیلیتر متیلن بلو (به‌منظور مشخص شدن بهتر هالهٔ ممانعت از رشد)، به‌صورت خطی در همهٔ جهات کشت داده و بدون حرکت در دمای اتاق به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا سوسپانسیون به‌طور کامل جذب محیط کشت گردد.

به‌منظور تعیین الگوهای حساسیت جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* مطالعه‌شده، دیسکهای استاندارد داروهای ذکرشده روی محیط مولر هینتون قرار داده شدند و هالهٔ مهار رشد اطراف دیسکها به دنبال انکوباسیون پلیتها به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردیدند. حساسیت جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* مطالعه‌شده بر اساس معیارهای تفسیری هالهٔ ممانعت از رشد ارزیابی شدند.

ب. براث میکرودایلوشن: تعیین حداقل غلظت مهارکنندهٔ رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MFC) برای جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در برابر آنتول به روش رقت‌سازی در حجم کم (براث میکرودایلوشن)، مطابق با دستورالعمل استاندارد CLSI- M27-A3 انجام گردید (۱۵). بدین منظور، سوسپانسیون همگنی از مخمر (یک میلیون سلول در میلی‌لیتر)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

با جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر به‌عنوان محلول استوک تهیه شد. بر اساس دستورالعمل CLSI، برای رسیدن به سوسپانسیونی با غلظت ۲۵۰۰ سلول مخمر در میلی‌لیتر به‌منظور تلقیح به گودهها، از محلول استوک به‌دست‌آمده در محیط RPMI 1640 حاوی بافر MOPS، ابتدا رقت۱۰۰/۱ و سپس از این محلول رقت ۲۰/۱ تهیه گردید. برای تهیهٔ رقت سریالی آنتول، ابتدا بیشترین رقت آنتول (۲۰۰۰۰ پی‌پی‌ام) با استفاده از حلال اتانول (حجم نهایی اتانول در محلول ۱۰ درصد بود) در محیط RPMI 1640 تهیه و در ادامه، رقت‌های متوالی دو برابر آنتول در گودههای پلیت ۹۶ خانه تهیه شد؛ سپس ۲۰۰ میکرولیتر از رقت ۲۰۰۰۰ پی‌پی‌ام به گوده‌های ستون اول پلیت ۹۶ خانه منتقل و در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از آن به گودههای ستون دوم منتقل گردید که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط RPMI 1640 بود و به‌خوبی مخلوط شد. این عمل رقیق کردن به شکل متوالی تا ستون ۱۰ پلیت ۹۶ خانه ادامه یافت و سپس از ستون ۱۰ مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بیرون ریخته شد، بدین ترتیب رقت‌های متوالی دو برابر بین ۳۹/۰۵ و ۲۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آنتول تهیه گردید. گفتنی است، ستون ۱۱ به‌عنوان کنترل مثبت و عاری از مادهٔ مؤثر گیاهی و ستون ۱۲ به‌عنوان کنترل منفی و عاری از مخمر در نظر گرفته شدند؛ سپس به هر گوده ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون مخمری با غلظت ۲۵۰۰ سلول مخمر در میلی‌لیتر اضافه گردید، به‌طوری‌که در پایان، هر گودهٔ پلیت ۹۶ خانه حاوی ۱۰۰ میکرولیتر آنتول و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون مخمری بود. پلیتها به مدت ۴۸– ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از آن، MIC آنتول به‌صورت چشمی (گودهٔ بدون کدورت با توجه به کنترل) و MFC آنتول از طریق کشت گودههای MIC و دو رقت بالاتر از آن در محیط سابورو دکستروز آگار و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت تعیین گردید.

ارزیابی توانایی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*: برای آمادهسازی سوسپانسیون استاندارد مخمری در مرحلهٔ فاز نمایی رشد به‌منظور تشکیل بیوفیلم، ابتدا سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) به‌صورت خطی کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند؛ سپس یک کلنی کامل از مخمر رشدیافته به داخل محیط کشت یست نیتروژن بیس (YNB) (حاوی ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌مول گلوکز و pH=7) انتقال داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در روتاری شیکر با دور 75 rpm در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت تا همهٔ مخمرها در فاز رشد نمایی قرار گیرند. در ادامه، محیط بالا در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و در دور 3000 g سانتریفیوژ گردید؛ سپس محیط رویی رسوب مخمری خالی و ۲ مرتبه با فسفات بافر استریل شستشو داده شد. هربار روی رسوب حدود ۲۰ میلی‌لیتر فسفات بافر با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد ریخته و خوب ورتکس گردید. این مرحله ۲ مرتبه تکرار شد تا سلول‌های مخمری به‌خوبی شستشو داده شوند؛ سپس روی رسوب محیط YNB که به دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد رسیده بود، ریخته شد و غلظت نهایی با استفاده از لام هماسیتومتر معادل ۱۰۶×۲/۵ سلول در هر میلی‌لیتر تنظیم گردید. گودههای مدنظر از پلیتهای ۹۶ خانهای کشت سلول به‌منظور آماده‌سازی برای تشکیل بیوفیلم، به مدت حداقل ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، با ۱۰۰ میکرولیتر فسفات بافر (۵۰ درصد در فسفات بافر) پوشانده شد و پس از آن گوده‌ها یک مرتبه با ۲۰۰ میکرولیتر فسفات بافر استریل شستشو گردید.

ارزیابی تشکیل بیوفیلم و اثر آنتول بر آن به روش MTT Reduction assay انجام شد (۱۶). در این روش، نمک قابل‌حل و زردرنگ تترازولیوم به‌وسیلهٔ سلول‌هایی که از نظر متابولیکی فعال هستند، بر اساس میزان فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز میتوکندریایی این سلول‌ها مانند NADH و NADPH احیا می‌گردند و به کریستالهای بنفش فورمازان تبدیل میشوند که نامحلول در آب هستند. در مرحلهٔ بعد، این کریستالها توسط ترکیبات خاصی به‌صورت محلول در می‌آید و رنگ ایجادشده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده میشود. مقدار کریستالهای فورمازان و درنتیجه، مقدار رنگ خوانده‌شده توسط دستگاه به‌عنوان مقیاسی از تعداد

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

میتوکندریها است و بنابراین، مشخص‌کنندهٔ تعداد سلول‌های زنده در نمونه است. بر اساس این، در این روش میزان احیای نمک تترازولیوم متناسب با وزن خشک مخمرهاست.

به‌منظور انجام آزمایش، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون prewarmed MTT (۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پودر MTT در فسفات بافر حاوی ۰/۱ درصد گلوکز که به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسیده بود) به هریک از گودهای پلیتهای تیمارشده با غلظت‌های متوالی دو برابر ۴۰۰۰۰– ۳۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر آنتول و پلیتهای کنترل (برای ارزیابی قدرت تشکیل بیوفیلم) اضافه شد؛ سپس پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و پس از آن محلول MTT آسپیره گردید و گودهها دو مرتبه به‌آرامی با فسفات بافر استریل شستشو شد؛ سپس به‌منظور حل کردن کریستالهای فورمازان ایجادشده، ۲۰۰ میکرولیتر اسید ایزوپروپیل الکل به گودهها اضافه گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول بالا به پلیت ۹۶ خانه‌ای جدید منتقل و درنهایت، جذب نوری در Microplate Readers و طول‌موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (برای هر نمونه ۳ تکرار مستقل در نظر گرفته شد). در پایان، درصد اثر مهاری آنتول بر تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* از رابطهٔ زیر به‌دست آمد:

درصد اثر مهارکنندگی=(جذب نوری نمونه تقسیم بر جذب نوری کنترل–۱) × ۱۰۰ درصد

تعیین میزان ارگوسترول غشایی در جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* تیمارشده با آنتول: به‌منظور ارزیابی اثر آنتول بر ارگوسترول غشایی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*، ابتدا یک کلنی منفرد از کشت ۱۸ ساعتهٔ جدایهها به فالکونهای حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط سابورو دکستروز آگار منتقل گردید. برای هر جدایه یک فالکون به‌عنوان کنترل بدون آنتول و سه فالکون برای تیمار غلظت‌های MIC/2, MIC/4 و MIC/8 آنتول و یک فالکون برای تیمار با فلوکونازول در نظر گرفته شد. نمونههای بالا به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار با دور 150 rpm قرار گرفتند و پس از آن با سانتریفوژ در دور ۲۷۰۰ دور در دقیقه (856 g) به مدت پنج دقیقه نمونهها رسوب داده شدند و پس از یک‌بار شستشو با فسفات بافر، مجدداً سانتریفیوژ انجام گردید و نمونهها رسوب داده شدند و وزن رسوب ارگانیسم برای هر نمونه محاسبه گردید. در ادامه، به فالکونها ۱۰ میلی‌لیتر هیدرواکسید پتاسیم ۰/۵ مولار اضافه شد. درب لوله‌ها محکم بسته شد و به مدت ۴۵ دقیقه در یک حمام آب ۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد غوطهور گردیدند. پس از آن، لولهها با آب خنک شدند و سپس ۲ میلیلیتر آب و به دنبال آن ۲ میلیلیتر هگزان اضافه گردید. فالکونهای حاوی نمونه، آب و هگزان به مدت ۵ دقیقه تحت امواج فراصوت (سونیکه) قرار گرفتند و سپس به مدت چند دقیقه، به‌صورت دستی به‌شدت تکان داده شدند. فالکونها ۲۰ دقیقه به‌صورت ثابت در دمای آزمایشگاه برای جدا شدن فازهای مختلف قرار گرفتند و پس از آن، فاز بالایی را که حاوی ارگوسترول استخراجی بود، به دقت جمعآوری و حجم جداشده یادداشت گردید و این فاز وارد لولههای مخصوص دستگاه HPLC شد؛ سپس مخلوط استخراج‌شده در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت تا خشک گردد. نمونههای خشک‌شده برای ارزیابی در ۱ میلی‌لیتر متانول حل شد و درنهایت، نمونهها به دستگاه تزریق گردید. میزان ارگوسترول در نمونهها و کنترل با استفاده از دستگاه HPLC (UV) با مشخصات ستون C18 5µm, 25 x 4.6mm و فاز متحرک شامل ۷۰ درصد استونیتریل و ۳۰ درصد متانول و به‌صورت ایزوکراتیک، حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، سرعت جریان۲ میلی‌لیتر بر دقیقه و آشکارساز مرئی–فرابنفش و در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همهٔ آزمونهای بالا سه مرتبه به شکل مستقل تکرار گردید (۱۷).

برای اعتبارسنجی ارگوسترول سنجش‌شده، منحنی کالیبراسیون در محدودهٔ غلظتهای بین صفر تا ۱۵۰ میلیگرم در لیتر (۰، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلیگرم در لیتر) از ارگوسترول در متانول رسم شد و معادلهٔ کالیبراسیون با فرمول Area=80.1C-30 و ضریب خطی بودن r2=0.9998 به‌دست آمد. به‌منظور ارزیابی کارآیی روش بالا، مؤلفه‌های درصد خطا (صحت)، درصد انحراف استاندارد (دقت) و حد تشخیص ارزیابی گردیدند و به‌ترتیب مقادیر ۵ درصد، ۳ درصد و ۰/۱ میلیگرم در لیتر به‌دست آمد. درنهایت، با استفاده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

از رابطهٔ زیر غلظت ارگوسترول در نمونه محاسبه شد:

$$C_f = \frac{C_m V_m}{V_H m}$$

که C_f غلظت نهایی ارگسترول غشایی برحسب میلی‌گرم بر گرم، C_m غلظت ارگسترول در محلول متانولی برحسب میکروگرم در میلیلیتر، V_m حجم متانول (یک میلی‌لیتر) و V_H حجم هگزان جداشده برحسب میلی‌لیتر و m جرم نمونه برحسب گرم هستند.

تعیین آب‌گریزی (هیدروفوبیسیتی) سطحی در جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* تیمارشده با آنتول: هیدروفوبیسیتی سطحی سلول‌های پلانکتونی تیمارشده با آنتول و تیمارنشده بر اساس روش آنیل و همکاران (۱۸) و با استفاده از روش biphasic hydrocarbon/aqueous تعیین شد. بدین منظور، ابتدا جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد در محیط سابورو دکستروز آگار، به مدت ۲۴ ساعت کشت گردیدند و در ادامه، سوسپانسیون مخمری در فسفات بافر با جذب نوری معادل ۰/۶– ۰/۴ در طول موج ۶۰۰ نانومتر که شامل 10^7 سلول در هر میلی‌لیتر بود، تهیه و به‌عنوان A0 در نظر گرفته شد. برای هر جدایه ۳ لوله برای غلظتهای MIC/4، MIC/2 و MIC/8 آنتول و یک لوله به‌عنوان کنترل (بدون تیمار) در نظر گرفته شدند. هر لوله حاوی ۴ میلیلیتر سوسپانسیون مخمری با غلظت ۱۰۷ سلول در هر میلیلیتر در محیط YNB حاوی ۵۰ میلی‌مول گلوکز و غلظتهای MIC/4، MIC/2 و MIC/8 آنتول بود. لولهها یک ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، روی انکوباتور شیکر با دور ۱۵۰ گذاشته شدند و پس از آن، در دور g12000 سانتریفیوژ گردیدند و یک‌بار با فسفات بافر شستشو داده شدند؛ سپس به هر لوله ۳ میلی‌لیتر فسفات بافر و ۲۵۰ میکرولیتر n-hexadecane اضافه گردید. لولهها خوب ورتکس شدند و ۱۵ دقیقه در ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن، لولهها دو مرتبه به مدت ۴۰ ثانیه ورتکس گردیدند و بین هر ورتکس پنج دقیقه فاصله داده شد. لولهها ۱۵ دقیقه بدون حرکت در دمای آزمایشگاه گذاشته شدند تا دو فاز جدا گردد؛ سپس جذب نوری فاز آبی (فاز زیرین) در ۶۰۰ نانومتر خوانده و اعداد حاصله به‌عنوان A1 در نظر گرفته شد. در پایان، هیدروفوبیسیتی سطحی در گروه‌های تیمار و کنترل بر اساس رابطهٔ زیر به‌دست آمد:

$$\text{CHS } \% = 1 - \frac{A_1}{A_0} \times 100 \quad \text{(درصد هیدروفوبیسیتی سطحی)}$$

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism vol.9.0.0.121 و آزمون One-Way ANOVA و آزمون‌های دوتایی Tukey Test / Post-hoc ANOVA در سطح معنادار ۰/۰۵ انجام گرفت.

یافته‌های پژوهش

الگوی حساسیت جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* نسبت به داروهای ضدقارچی استاندارد: در این مطالعه، ابتدا الگوی حساسیت جدایه‌های ادراری *کاندیدا گلابراتا* نسبت به داروهای ضدقارچی استاندارد به روش انتشار دیسک ارزیابی گردید. همان‌گونه که در جدول شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده است، ۳۰ درصد از جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* نسبت به داروهای فلوکونازول، کتوکونازول و پوساکونازول مقاوم بودند و سایر آنها الگوی حساس یا حساس وابسته به دوز را از خود نشان دادند. بیشترین و کمترین میزان مقاومت در جدایه‌های مطالعه‌شده به‌ترتیب نسبت به داروهای ایتراکونازول (۴۰ درصد) و وریکونازول (۲۰ درصد) مشاهده گردید. حساسیت، حساسیت وابسته به دوز و مقاومت جدایه‌های مختلف *کاندیدا گلابراتا* و سویهٔ استاندارد بر اساس دستورالعمل CLSI- M44-A2 مشخص شدند.

جدول شماره ۱. الگوهای حساسیت ضدقارچی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*

جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*	الگوی حساسیت ضدقارچی		
	حساس	حساس وابسته به دوز	مقاوم

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

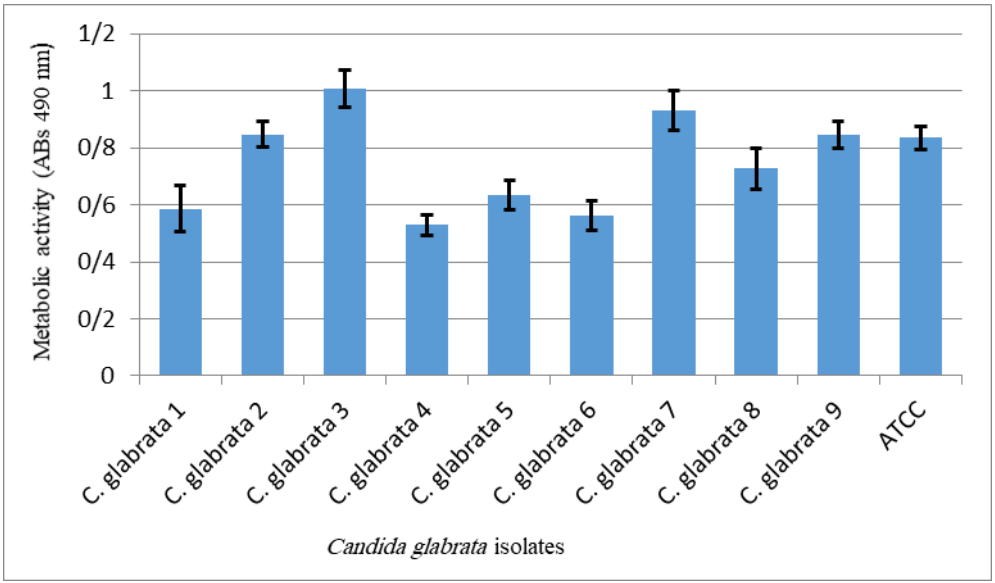
کاندیدا گلابراتا ۱	-	-	فلوکونازول، وریکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول
کاندیدا گلابراتا ۲	فلوکونازول، وریکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول	-	-
کاندیدا گلابراتا ۳	-	-	فلوکونازول، وریکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول
کاندیدا گلابراتا ۴	فلوکونازول، وریکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول	-	ایتراکونازول
کاندیدا گلابراتا ۵	وریکونازول، کتوکونازول	فلوکونازول، پوساکونازول، ایتراکونازول	-
کاندیدا گلابراتا ۶	وریکونازول	-	فلوکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول
کاندیدا گلابراتا ۷	وریکونازول، پوساکونازول	فلوکونازول، کتوکونازول، ایتراکونازول	-
کاندیدا گلابراتا ۸	فلوکونازول، وریکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول	ایتراکونازول	-
کاندیدا گلابراتا۹	وریکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول	فلوکونازول، ایتراکونازول	-
ATCC	فلوکونازول، وریکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول، پوساکونازول	-	-

در میان جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*، جدایه‌های یک و سه نسبت به همهٔ داروها مقاوم بودند، درحالی‌که جدایه‌های دو و استاندارد نسبت به همهٔ داروهای مطالعه‌شده حساس ارزیابی شدند؛ همچنین نتایج نشان داد که ۶۰ درصد از جدایه‌ها هیچ‌گونه مقاومتی به داروهای مطالعه‌شده نداشتند و همگی الگوی حساس یا حساس وابسته به دوز را از خود نشان دادند. در این مطالعه، حساسیت متوسط (حساس وابسته به دوز) به‌ویژه برای داروهای ایتراکونازول و فلوکونازول دیده شد.

توانایی تشکیل بیوفیلم: توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* با استفاده از روش احیای نمک تترازولیوم ارزیابی گردید. همان‌گونه که در شکل شمارهٔ ۱ مشاهده می‌شود، همهٔ جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در شرایط برون‌تنی، توانایی تشکیل بیوفیلم را از خود نشان دادند؛ اما تودهٔ بیوفیلم ایجادشده وابسته به نوع جدایه است، به‌طوری‌که جدایهٔ شمارهٔ سه (میانگین جذب نوری ۰/۰۶۴±۱) و جدایهٔ شمارهٔ هفت (میانگین جذب نوری ۰/۰۷۲±۰/۹۳۲) بیشترین تودهٔ بیوفیلم را تشکیل دادند و جدایه‌های شمارهٔ چهار و شش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

(میانگین جذب نوری به‌ترتیب ۰/۰۳۷±۰/۵۲۸ و ۰/۰±۵۶۱/۰۵۳) کمترین توانایی تشکیل بیوفیلم را از خود نشان دادند. در این مطالعه، توانایی معناداری میان الگوی مقاومت جدایهها و قدرت آن‌ها در تشکیل بیوفیلم مشاهده نشد.



شکل شماره ۱. تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*

فعالیت ضدقارچی علیه مخمرهای پلانکتونی و بیوفیلمی: حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC)، حداقل غلظت کشنده (MFC) و حداقل غلظت مهارکنندهٔ سلول‌های بیوفیلمی (SMIC) ترکیب مونوترپنی آنتول علیه جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* ارزیابی گردید. همان‌گونه که در جدول شمارهٔ ۲ نشان داده‌شده است، حداقل غلظت ممانعت از رشد آنتول در میان جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* بین ۱۲۵۰–۳۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود. از سویی، حداقل غلظت کشندهٔ آنتول نیز بین ۲۵۰۰–۱۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود (میانگین ۲۱۲۵ میکروگرم در میلیلیتر). میانگین حداقل غلظت مهارکنندهٔ سلول‌های بیوفیلمی (SMIC) آنتول علیه جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* معادل ۲۷۵۰ میکروگرم در میلیلیتر و در دامنهٔ بین ۱۲۵۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم در میلیلیتر محاسبه شد (جدول شمارهٔ ۲).

جدول شماره ۲. حداقل غلظت مهارکنندهٔ رشد و حداقل غلظت کشندهٔ آنتول در سلولهای پلانکتونی و بیوفیلمی *کاندیدا گلابراتا*

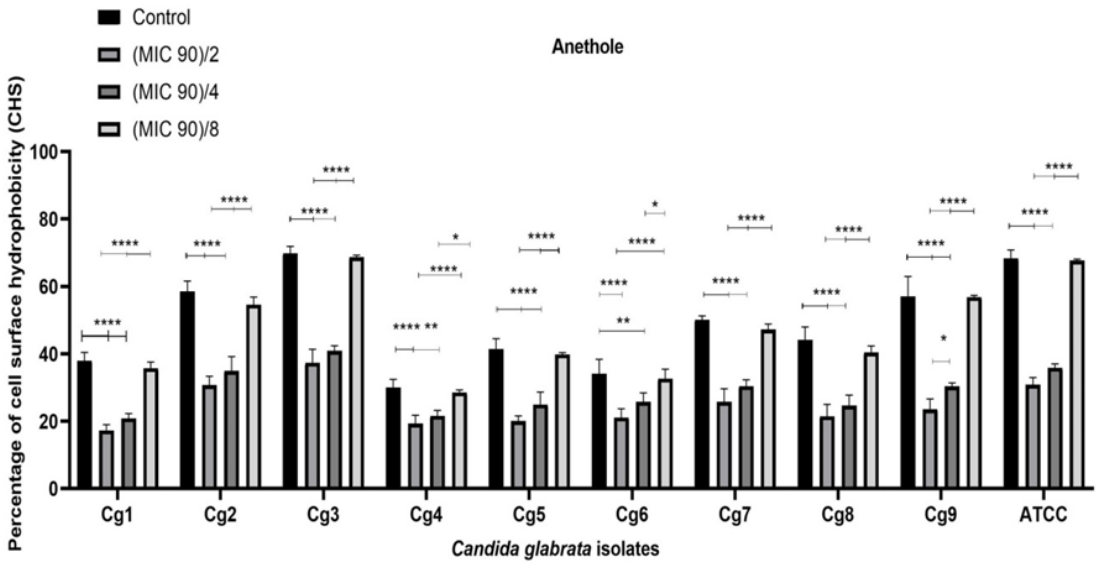
جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*	آنتول		
	میکروگرم در میلی‌لیتر		
	SMIC[c]	MFC[b]	MIC[a]
کاندیدا گلابراتا ۱	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۶۲۵
کاندیدا گلابراتا ۲	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۶۲۵
کاندیدا گلابراتا ۳	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۶۲۵
کاندیدا گلابراتا ۴	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
کاندیدا گلابراتا ۵	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
کاندیدا گلابراتا ۶	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۶۲۵
کاندیدا گلابراتا ۷	۵۰۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
کاندیدا گلابراتا ۸	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۳۱۲/۵

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

*کاندیدا گلابراتا*۹	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
ATCC	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۶۲۵

حداقل غلظت ممانعت از رشد آنتول روی سلول‌های پلانکتونیک؛ b. حداقل غلظت کشندهٔ آنتول روی سلول‌های پلانکتونیک؛ c. حداقل غلظت ممانعت از رشد آنتول بر سلول‌های بیوفیلمی (ارزیابی از طریق MTT Reduction assay)

اثر آنتول بر آبگریزی سطحی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* تیمارشده با آنتول: درصد هیدروفوبیسیتی سطحی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در مواجهه با آنتول با استفاده از روش چسبندگی به هیدروکربن‌ها (ان هگزادکان) محاسبه گردید. همان‌گونه که در شکل شمارهٔ ۲ و جدول شمارهٔ ۳ نشان داده‌شده است، میانگین هیدروفوبیسیتی سطحی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* معادل ۱۳/۹۶±۴۹/۱۱ درصد محاسبه گردید (میانگین درصد هیدروفوبیسیتی در گروه کنترل). مقادیر ۲/۵±۲۹/۹۶ و ۲/۰۷±۶۹/۸۱ درصد به‌ترتیب کمترین و بیشترین میزان هیدروفوبیسیتی سطحی در گروه کنترل بودند.



شکل شماره ۲. اثر غلظتهای subMIC آنتول بر درصد آبگریزی سطحی سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* در مقایسه با گروه کنترل

جدول شماره ۳. میانگین درصد آبگریزی سطحی سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* در تیمار با غلظتهای subMIC آنتول در مقایسه با گروه کنترل

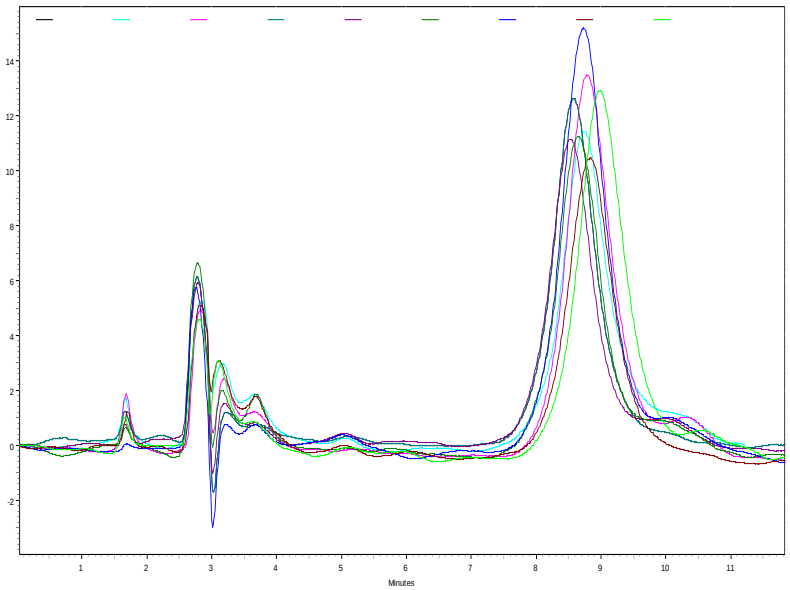
جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*	آب‌گریزی±انحراف معیار			
	آنتول			
	MIC/2	MIC/4	MIC/8	کنترل
کاندیدا گلابراتا ۱	۱۷/۲۷± ۱/۷۱	۲۰/۸۲± ۱/۴۴	۳۵/۷۲± ۱/۸۸	۳۷/۹۰± ۲/۵۴
کاندیدا گلابراتا ۲	۳۰/۷۳± ۲/۶	۳۴/۸۹± ۴/۳	۵۴/۵۶± ۲/۳	۵۸/۵۴± ۳/۰۴
کاندیدا گلابراتا ۳	۳۷/۳۴± ۴/۰۱	۴۰/۸۳± ۱/۵۸	۶۸/۷۰± ۰/۶۱	۶۹/۸۱± ۲/۰۷
کاندیدا گلابراتا ۴	۱۹/۳± ۲/۵	۲۱/۶۲± ۱/۵۶	۲۸/۵۴± ۰/۷۳	۲۹/۹۶± ۲/۵
کاندیدا گلابراتا ۵	۲۰/۰۴± ۱/۵۵	۲۴/۹۵± ۳/۷۱	۳۹/۸۰± ۰/۵۶	۴۱/۳۴± ۳/۱۵
کاندیدا گلابراتا ۶	۲۱/۱۲± ۲/۵۹	۲۵/۷۳± ۲/۶۵	۳۲/۶۴± ۲/۸۱	۳۴/۱۳± ۴/۲۴
کاندیدا گلابراتا ۷	۲۵/۷۷± ۳/۸۶	۳۰/۳۸± ۱/۹۰	۴۷/۱۶± ۱/۷۲	۵۰/۰۴± ۱/۲۱
کاندیدا گلابراتا ۸	۲۱/۴۵± ۳/۵۲	۲۴/۶۵± ۳/۰۶	۴۰/۳۴± ۲	۴۴/۰۶± ۳/۹۳

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

کاندیدا گلابراتا ۹	۲۳/۴۸± ۳/۱۲	۳۰/۳۵± ۰/۰۱	۵۶/۷۸± ۰/۵۸	۵۷/۰۳± ۵/۶۴
ATCC	۳۰/۸± ۲/۱۸	۳۵/۸۷± ۱/۱۳	۶۷/۶۶± ۰/۴۶	۶۸/۳۱± ۲/۵۵
میانگین	۲۴/۶±۷۳/۳۷	۲۹/۶±۰۱/۶۱	۴۷/۱۴±۱۹/۲۲	۴۹/۱۳±۱۱/۹۶

پس از قرارگیری سلول‌های پلانکتونیک در معرض غلظتهایMIC/2 وMIC/4 آنتول، میانگین میزان هیدروفوبیسیتی سطحی در جدایه‌های مطالعه‌شده در مقایسه با گروه کنترل، به شکل معناداری کاهش یافت (P<0.05)، به‌طوری‌که درصد هیدروفوبیسیتی سطحی در گروه تیمارشده با MIC/2 آنتول معادل ۶/۳۷±۲۴/۷۳ و در گروه تیمارشده با MIC/4 آنتول معادل ۶/۶۱±۲۹/۱ تعیین شد. تفاوت معناداری میان گروه کنترل و گروه تیمارشده با غلظت MIC/8 آنتول مشاهده نگردید.

اثر آنتول بر ارگوسترول غشایی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* تیمارشده با آنتول: اثر غلظتهای مختلف آنتول بر ارگوسترول غشایی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* با روش HPLC ارزیابی شد. غلظت ارگوسترول بر اساس میلیگرم در گرم تودهٔ مخمری بر اساس سطح زیر پیک مربوط به کروماتوگرام ارگوسترول محاسبه گردید (شکل شمارهٔ ۳).



شکل شماره ۳. روماتوگرام‌های HPLC مربوط به ارگوسترول استخراج‌شده از سلول‌های *کاندیدا گلابراتای* تحت تیمار با غلظت‌های مختلف آنتول.

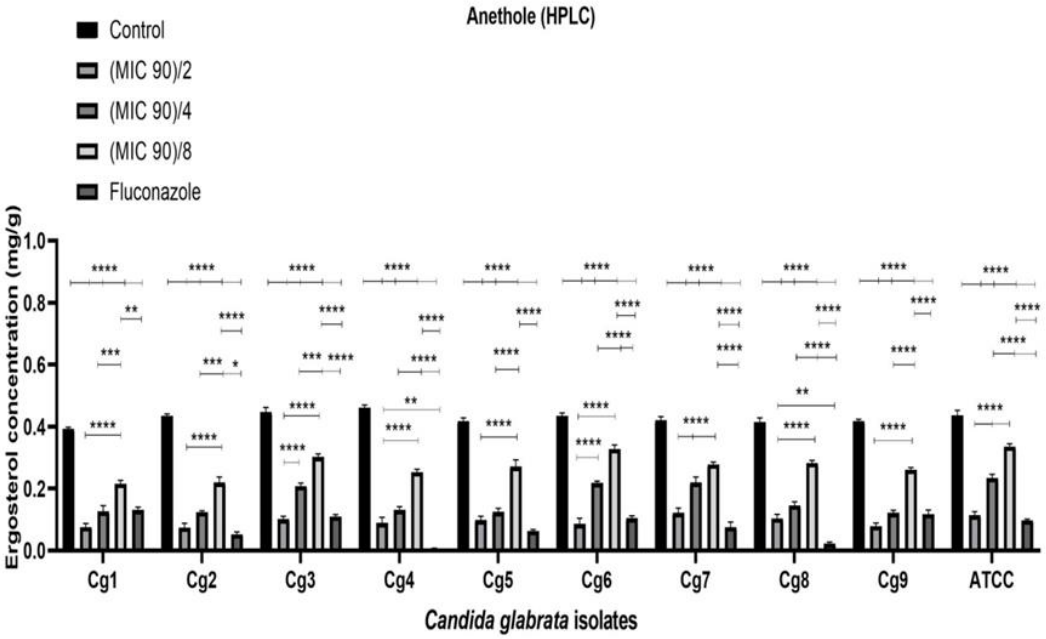
آنتول در همهٔ غلظتهای sub MIC باعث تغییر در میزان ارگوسترولی غشای سلولی جدایه‌های *کاندیدا گلابراتای* مطالعه‌شده گردید. نتایج نشان داد که کاهش ارگوسترول غشایی دربارهٔ آنتول الگویی وابسته به دوز دارد. درواقع، با افزایش غلظت آنتول، میزان ارگوسترول غشایی کاهش بیشتری را از خود نشان می‌دهد. در ارتباط با *کاندیدا گلابراتای* ATCC، آنتول در غلظتهای ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل، به‌ترتیب باعث کاهش ۷۳/۹۲، ۴۶/۴۶ و ۲۳/۳۵ درصدی ارگوسترول غشایی شد (جدول شمارهٔ ۴). آنتول در همهٔ غلظتهای مطالعه‌شده باعث کاهش معنادار و وابسته به دوز ارگوسترول غشایی گردید (شکل شمارهٔ ۴).

جدول شماره ٤. میانگین غلظت ارگوسترول (میلیگرم در گرم(سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* در تیمار با غلظتهای subMIC آنتول در مقایسه با گروه کنترل

جدایه‌های	غلظت ارگوسترول (میلی‌گرم در گرم)±انحراف معیار

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

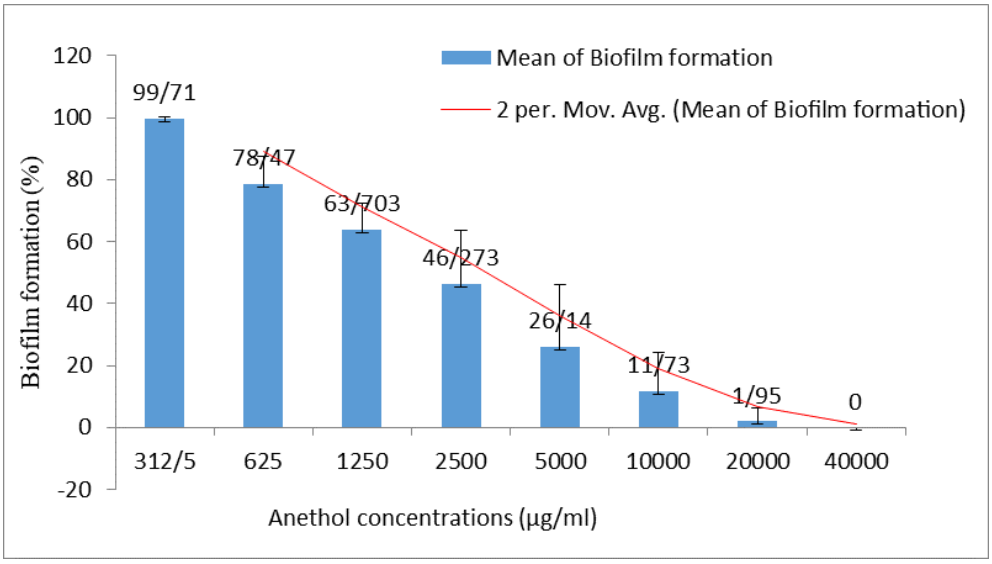
کاندیدا گلابراتا	آنتول			کنترل
	MIC/2	MIC/4	MIC/8	
کاندیدا گلابراتا ۱	۰/۰۲۰± ۰/۰۷۶	۰/۱۲۷± ۰/۰۳۲	۰/۲۱۶± ۰/۰۱۸	۰/۳۹۲± ۰/۰۱۱
کاندیدا گلابراتا ۲	۰/۰۷۴± ۰/۰۲۴	۰/۱۲۴± ۰/۰۰۸	۰/۲۱۹± ۰/۰۱۱	۰/۴۳۴± ۰/۰۱۲
کاندیدا گلابراتا ۳	۰/۱۰۱± ۰/۰۱۶	۰/۲۰۸± ۰/۰۱۸	۰/۳۰۲± ۰/۰۱۷	۰/۴۴۷± ۰/۰۲۶
کاندیدا گلابراتا ۴	۰/۰۸۹± ۰/۰۳۲	۰/۱۳۱± ۰/۰۱۹	۰/۲۵۳± ۰/۰۱۶	۰/۴۶۱± ۰/۰۱۶
کاندیدا گلابراتا ۵	۰/۰۹۹± ۰/۰۲۱	۰/۱۲۵± ۰/۰۲۰	۰/۲۷۱± ۰/۰۱۳	۰/۴۱۸± ۰/۰۱۹
کاندیدا گلابراتا ۶	۰/۰۸۶± ۰/۰۳۳	۰/۲۱۸± ۰/۰۱۰	۰/۳۲۷± ۰/۰۱۰	۰/۴۳۴± ۰/۰۱۷
کاندیدا گلابراتا ۷	۰/۱۲۱± ۰/۰۲۷	۰/۲۲۰± ۰/۰۳۱	۰/۲۷۸± ۰/۰۰۶	۰/۴۲۱± ۰/۰۱۹
کاندیدا گلابراتا ۸	۰/۱۰۴± ۰/۰۲۳	۰/۱۴۶± ۰/۰۲۰	۰/۲۸۲± ۰/۰۰۸	۰/۴۱۴± ۰/۰۲۵
کاندیدا گلابراتا ۹	۰/۰۷۹± ۰/۰۱۷	۰/۱۲۱± ۰/۰۱۵	۰/۲۶۰± ۰/۰۰۷	۰/۴۱۸± ۰/۰۱۰
ATCC	۰/۱۱۴± ۰/۰۲۰	۰/۲۳۴± ۰/۰۲۰	۰/۳۳۵± ۰/۰۱۷	۰/۴۳۷± ۰/۰۲۸



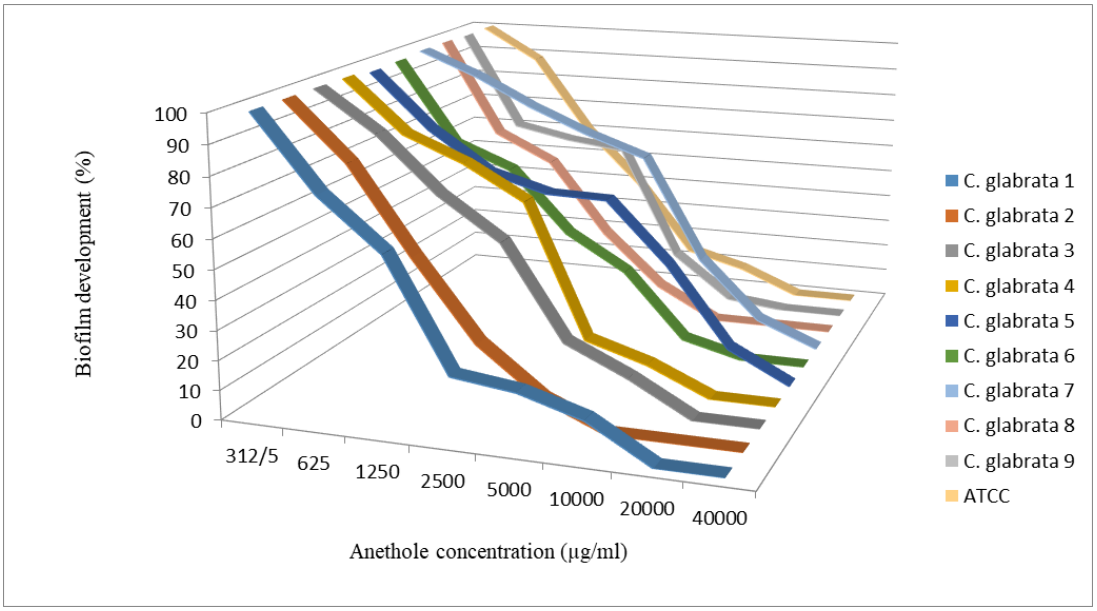
شکل شماره ٤. اثر غلظتهای subMIC آنتول بر ارگوسترول غشایی سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* در مقایسه با گروه کنترل.

اثر آنتول بر فعالیت متابولیکی تودههای بیوفیلمی: همان‌گونه که در شکل شمارهٔ ۵ نشان داده‌شده است، اثر غلظتهای متوالی آنتول بر فعالیت متابولیکی تودههای بیوفیلمی در حال تشکیل *کاندیدا گلابراتا* ارزیابی گردید. نتایج نشان دادند که آنتول با الگویی وابسته به دوز روند تشکیل بیوفیلمهای *کاندیدا گلابراتا* را مهار میکند. در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم در میلیلیتر آنتول، کاهش بیش از ۵۰ درصدی در شکلگیری بیوفیلم‌های *کاندیدا گلابراتا* (۵۳/۷ درصد) دیده می‌شود.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]



a



b

شکل شماره ۵. . میانگین درصد تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در سه بار تکرار مجزا و در حضور غلظتهای مختلف آنتول. خط روند (Trend line) به رنگ قرمز نشان‌دهندهٔ الگوی وابسته به دوز اثر آنتول بر شکلگیری بیوفیلمهای *کاندیدا گلابراتا* است؛ b. فعالیت متابولیکی بیوفیلمهای ۲۴ ساعتهٔ *کاندیدا گلابراتا* در حضور غلظتهای مختلف آنتول

در این مطالعه، در بیشترین غلظت استفاده‌شده از آنتول (۴۰۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، هیچ‌گونه فعالیت متابولیکی مربوط به تودههای بیوفیلمی *کاندیدا گلابراتا* قابل‌ردیابی نبود و آنتول در این غلظت باعث مهار کامل بیوفیلمهای *کاندیدا گلابراتا* شد (میزان مهار شکلگیری بیوفیلم در غلظت ۴۰۰۰۰ میکروگرم در میلیلیتر آنتول معادل ۱۰۰ درصد محاسبه گردید).

بحث و نتیجه‌گیری

مخمر *کاندیدا آلبیکنس* اغلب به‌عنوان شایع‌ترین علت کاندیدیازیس در انسان و حیوانات شناخته‌شده است، هرچند در سراسر جهان، عفونت‌های ناشی از سویه‌های غیر آلبیکنسی مانند *کاندیدا گلابراتا*، به‌ویژه به دنبال استفادهٔ پیشگیری‌کننده از داروهای ضدقارچی در حال افزایش است که به ایجاد مقاومت اکتسابی به این داروها منجر می‌شود.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

کاندیدا گلابراتا توانایی چسبیدن و تشکیل بیوفیلم روی هردو سطح زنده و غیرزنده، مانند بافت‌های میزبان و دستگاه‌های پزشکی ایمپلنتی را دارد (۱۹)؛ ازاین‌رو، امروزه *کاندیدا گلابراتا* به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های کاندیدایی غیر آلبیکنسی شناخته می‌شود. شیوع عفونت‌های ادراری و تناسلی با این قارچ امروزه رو به افزایش است و با توجه به مقاومت اکتسابی *کاندیدا گلابراتا* به آزول‌ها، کنترل عفونت‌های ناشی از آن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین معضلات درمانی در عفونت‌های کاندیدایی مطرح است؛ بنابراین، در این مطالعه، ابتدا الگوی حساسیت جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* به داروهای ضدقارچی رایج و همچنین توانایی آن‌ها در ایجاد توده‌های بیوفیلمی ارزیابی گردید و پس از آن، به بررسی اثر آنتول بر حساسیت ضدقارچی سلول‌های پلانکتونیک و بیوفیلمی، آبگریزی سطحی و تغییر در ارگوسترول غشایی پرداخته شد.

در مطالعهٔ حاضر، حساسیت متوسط (حساس وابسته به دوز) در ۴۰ درصد از جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*، به‌ویژه در ارتباط با فلوکونازول و ایتراکونازول دیده شد. این یافته با مطالعات انجام‌شدهٔ پیشین در این زمینه مطابقت دارد (۲۱، ۲۰). پژوهش‌های مختلف در ایران حساسیت جدایه‌های بالینی کاندیدا نسبت به داروهای ضدقارچی را مطالعه کردند و بسته به محل جداسازی و درگیری بالینی، میزان مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا نسبت به فلوکونازول ۰ تا ۴۰ درصد گزارش‌شده است (۲۱). همسو با مطالعات پیشین، در این مطالعه، از ۱۰ نمونه *کاندیدا گلابراتای* ادراری، ۳ نمونه (۳۰ درصد نمونه‌ها) نسبت به فلوکونازول مقاوم بودند.

توانایی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* در مطالعات مختلف ارزیابی گردیده است، به‌طوری‌که در مطالعهٔ جین و همکاران (۲۲)، در ارتباط با توانایی تشکیل بیوفیلم و همچنین حساسیت جدایه‌های ادراری کاندیدا نسبت به داروهای ضدقارچی مشخص شد که همهٔ نمونه‌های ادراری *کاندیدا گلابراتا* در شرایط برونتنی، توانایی تشکیل بیوفیلم را دارند. این پژوهشگران اظهار داشتند که نمونه‌های ادراری *کاندیدا گلابراتا* در محیط RPMI1640 توانایی بیشتری را نسبت به *کاندیدا آلبیکنس* برای تشکیل بیوفیلم از خود نشان می‌دهند؛ اما در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ ادرار، توانایی آن‌ها در شکل‌گیری بیوفیلم همانند جدایه‌های *کاندیدا آلبیکنس* است. پژوهشگران دیگر نیز گزارش کردند که همهٔ جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* مانند *کاندیدا آلبیکنس*، توانایی تشکیل بیوفیلم را دارند که بر نتایج ما منطبق است؛ اما به علت تشکیل نشدن هایف حقیقی در *کاندیدا گلابراتا*، سازوکار استحکام و بقای تودهٔ بیوفیلمی کماکان در هاله‌ای از ابهام قرار دارد. تصور می‌شود که کربوهیدرات‌های ماتریکس خارج سلولی به‌ویژه بتا ۱ و ۳ گلوکان، در بقا و استحکام بیوفیلمهای *کاندیدا گلابراتا* نقش اصلی را ایفا کنند (۲۳).

مطالعات مختلف نشان دادند که بیوفیلمهای *کاندیدا گلابراتا* در شرایط برونتنی و حتی نمونه‌های حیوانی، نسبت به داروهای گروه آزول و حتی پلینها مقاومت نشان می‌دهند؛ اما نسبت به اکینوکاندینها همچنان حساس هستند (۲۳). ریشه‌کن کردن بیوفیلمهای کاندیدا به علت تحمل ذاتی یا اکتسابی به ضدقارچ‌ها، بسیار دشوار است. در حقیقت، مقاومت به آزولها در میان گونه‌های کاندیدا به‌ویژه *کاندیدا گلابراتا*، در حال حاضر یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های بالینی است؛ ازاین‌رو، یافتن راهکارهای درمانی با ترکیبات طبیعی اهمیت فراوانی دارد.

آنتول (۱-متوکسی-۴-ایزوپروپینیل-بنزن) یک فنیل پروپانوئید گیاهی است که یکی از اجزای اصلی عطرمایه‌های گیاهی مانند آنیسون، رازیانه و بادیان رومی را تشکیل می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که آنتول آثار ضدباکتریایی و ضدقارچی فراوانی را از خود نشان می‌دهد (۱۳). در مطالعهای، آثار ضدقارچی عصاره و عطرمایهٔ آنیسون در برابر ۷ مخمر و ۴ درماتوفیت ارزیابی شد. نتایج فعالیت ضدقارچی قوی در برابر *کاندیدا گلابراتا* و *میکروسپوروم کنیس* را نشان داد. در مطالعهٔ حاضر، میانگین MIC و MFC آنتول علیه جدایه‌های مطالعه‌شده به‌ترتیب ۸۴۳/۷۵ و ۲۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه گردید. فوجیتا و همکاران (۲۴) در سال ۲۰۰۷، به بررسی اثر سینرژیستی آنتول با دودکانول علیه گونه‌های مختلف قارچی پرداختند و نشان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

دادند که حداقل غلظت ممانعت‌کنندهٔ آنتول علیه *کاندیدا آلبیکنس* و *ساکارومایسس سرویسیه* به‌ترتیب ۴۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر است. این پژوهشگران نشان دادند که آنتول در ترکیب با دودکانول می‌تواند توانایی مهار رشد قارچی دودکانول را به قابلیت قارچکشی ارتقا دهد. محمدزاده و همکاران (۲۵) نیز در سال ۲۰۲۰، به بررسی اثر آنتول بر بیوفیلمهای دوگانهٔ *استافیلوکوکوس اورئوس/کاندیدا آلبیکنس* پرداختند. این پژوهشگران نشان دادند که آنتول علاوه بر مهار تشکیل بیوفیلمهای دوگانه، بسته به نوع جدایه، در غلظت‌های ۷۵۰ تا ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر باعث مهار رشد سلول‌های پلانکتونیک *کاندیدا آلبیکنس* می‌شود که با نتایج این مطالعه قرابت دارد. در مطالعهٔ دیگری، اثر مهارکنندگی آنتول بر گونه‌های کاندیدا در غلظت ۶۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نشان داده شد (۲۶). دابروسکا و همکاران (۲۷) در سال ۲۰۲۱، به بررسی اثر آنتول بر جدایه‌های *کاندیدا آلبیکنس* پرداختند. نتایج نشان داد که همهٔ جدایه‌های مخمر به آنتول حساس هستند. حداقل غلظت مهارکنندگی حدود ۶۱/۷۵ تا ۲۴۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی حدود ۲۴۷ تا ۴۹۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. تفاوت در غلظت‌های مؤثر آنتول در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در گونهٔ کاندیدایی مطالعه‌شده باشد، هرچند اثر آنتول بر جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* تاکنون گزارش نشده است. علاوه بر این، مخزن جدایه‌های مطالعه‌شده، الگوی حساسیت آن‌ها با داروهای ضدقارچی استاندارد، تفاوت در متغیرهای آزمون حساسیت و یا ایزومر استفاده‌شده از آنتول و درصد خلوص آن نیز می‌تواند در این امر تأثیرگذار باشد.

چسبندگی میکروبی روی سطح بسترها اولین مرحلهٔ تشکیل بیوفیلم است و پوشش سلولی و ویژگی‌های آن اولین واسطهٔ تعامل میان میکروارگانیسم و محیط است. آب‌گریزی سطحی (هیدروفوبیسیتی) یک ویژگی مهم اما غیراختصاصی است که به اتصال گونه‌های مختلف کاندیدا روی سطوح مخاطی بدن میزبان کمک می‌کند. همسو با نتایج مطالعهٔ حاضر، نشان داده‌شده است که آب‌گریزی سطحی سلول‌های پلانکتونی کاندیدایی جداشده از منابع مختلف با تشکیل بیوفیلم روی این سطوح ارتباط مستقیم دارد (۲۸). در مطالعهٔ سیلوا دیاس و همکاران (۲۹)، رابطهٔ مثبتی میان تودهٔ بیوفیلم و آب‌گریزی سطحی سویه‌های *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا پاراپزیلوزیس* مشخص گردید؛ همچنین همبستگی میان فعالیت متابولیکی و آب‌گریزی سطحی تنها برای *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا تروپیکالیس* یافت شد. اثر ترکیبات ترپنوئیدی طبیعی بر آب‌گریزی سطحی جدایه‌های مختلف کاندیدا در مطالعات مختلف ارزیابی گردیده است. پائولو و همکاران (۳۰) نشان دادند که اوژنول به شکل معناداری آب‌گریزی سطحی و به دنبال آن، اتصال و تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های دهانی *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا دابلینینسیس* مربوط به افراد ایدزی را کاهش می‌دهد. کاهش آب‌گریزی سطحی و تشکیل بیوفیلم در گونه‌های مختلف کاندیدا ازجمله *کاندیدا گلابراتا* در تیمار با غلظت‌های subMIC عطرمایهٔ گیاهان غنی از تیمول در مطالعهٔ خان و همکاران (۳۱) نیز نشان داده‌شده است.

در این مطالعه، آنتول میزان آبگریزی سطحی در جدایه‌های مطالعه‌شده در غلظتهای MIC/2 و MIC/4 در مقایسه با گروه کنترل را به شکل معناداری کاهش داد ($P<0.05$). تفاوت معناداری میان گروه کنترل و گروه تیمارشده با غلظت MIC/8 آنتول مشاهده نشد. غلظت‌های subMIC استفاده‌شده به‌صورت چشمگیری آب‌گریزی سطحی و به دنبال آن، تشکیل بیوفیلم را در جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا* کاهش دادند. همسو با آن، ترکیباتی همچون آلفا توجون، کارون، منتول، ایزوپولگول، نرول و لینالول فعالیت آنتی بیوفیلم را در غلظتهایی بسیار کمتر از غلظتهای مهارکنندهٔ رشد نشان دادند (۳۲). سلول‌های آب‌گریز چسبندگی و مقاومت بیشتری در برابر فاگوسیتوز دارند و درنتیجه، نسبت به سلول‌های آب‌دوست از حدت بیشتری برخوردارند؛ بنابراین، کاهش آب‌گریزی سطحی توسط آنتول می‌تواند با جلوگیری از اتصال و در ادامه، کلنیزاسیون *کاندیدا گلابراتا* روی سطوح زیستی و صناعی از یک‌سو و جلوگیری از تشکیل توده‌های بیوفیلمی و مقاومت ناشی از آن‌ها از سوی دیگر، به اختلال در

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

روند بیماری‌زایی *کاندیدا گلابراتا* منجر شود.

ارگوسترول خاص قارچ‌ها و مهم‌ترین ترکیب استرولی در غشای سلولی قارچ‌ها است که مسئول حفظ عملکرد و یکپارچگی سلول است. سازوکار اولیهٔ عملکردی که داروهای ضدقارچی گروه آزول از رشد سلول‌های قارچی جلوگیری می‌کنند، ایجاد اختلال در مسیرهای بیوسنتز پیش‌سازهای استرول‌های غشایی است که به کاهش بیوسنتز ارگوسترول منجر می‌گردد؛ بنابراین، در این مطالعه، اثر آنتول بر ارگوسترول غشایی به روش HPLC ارزیابی شد. نتایج نشان داد که ارگوسترول غشایی در تیمار با آنتول، الگویی وابسته به دوز دارد؛ همچنین در همهٔ غلظت‌های مطالعه‌شده، آنتول به شکل معناداری باعث کاهش میزان ارگوسترول غشایی گردید. مطابق با نتایج مطالعهٔ ما، سامبر و همکاران (۳۳) نشان دادند که عطرمایهٔ گیاه نعناع با کاهش بسیار فراوان در محتوای ارگوسترولی سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* و *کاندیدا تروپیکالیس*، به شکستگی غشای سلولی و تغییرات در مورفولوژی آن‌ها منجر میشود؛ همچنین علیزاده و همکاران (۳۴) در سال ۲۰۱۸، به بررسی اثر مونوترپن گیاهی کارواکرول بر ارگوسترول غشایی و ژن‌های مربوط به سنتز ارگوسترول در جدایه‌های *کاندیدا آلبیکنس* پرداختند. این پژوهشگران نشان دادند که کارواکرول با اتصال به ارگوسترول غشای قارچ، باعث کاهش ۵۲ درصدی در محتوای ارگوسترول و کاهش بیان ژن‌های ERG3 و ERG11 در مقایسه با کنترل می‌گردد. در مطالعات دیگر، اثر ساختارهای ترپنوئیدی گیاهی مانند ژرانیول، ایزومرهای سیترال و اوژنول بر ارگوسترول غشایی نشان داده‌شده است و به احتمال فراوان، اختلال در سنتز و ساختار ارگوسترول یکی از سازوکارهای ضدقارچی این ترکیبات است (۳۵). بر اساس بررسی ما، تاکنون مطالعهٔ مدونی روی اثر آنتول بر ارگوسترول غشای سلول‌های کاندیدایی گزارش نشده است و این مطالعه برای اولین بار اثر آنتول بر ارگوسترول غشای سلول‌های *کاندیدا گلابراتا* را نشان داد. در مطالعهٔ ما مشخص گردید که آنتول هم روی خصوصیات دیوارهٔ سلولی (آبگریزی سطحی) و هم بر غشای سلولی (تغییر میزان ارگوسترولی غشا) تأثیر می‌گذارد و به عبارتی، دیواره و غشای سلولی مخمرهای *کاندیدا گلابراتا* می‌تواند محل هدف آنتول باشد.

با توجه به یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری میشود که آنتول علاوه بر اثر ضدقارچی علیه جدایه‌های *کاندیدا گلابراتا*، توانایی کاهش آبگریزی سطحی سلول‌های کاندیدایی را دارد. این خاصیت تغییر کاهشی آب‌گریزی سطحی به کاهش توانایی اتصال این سلول‌ها به سطوح و درنتیجهٔ آن، جلوگیری از تشکیل توده‌های بیوفیلمی منجر میگردد. با توجه به عملکرد آنتول علیه جدایه‌های با الگوی متفاوت حساسیت، استفاده از آن در کنار داروهای ضدقارچی استاندارد نیازمند بررسی‌های فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک این مادهٔ طبیعی است. با توجه به یافته‌های این مطالعه به‌نظر می‌رسد که عملکرد ضد کاندیدایی آنتول ترکیبی از اثر بر دیوارهٔ سلولی و غشای پلاسمایی است. این در حالی است که روشن‌تر شدن این ادعا نیاز به مطالعات بیشتر و گسترده‌تر در این زمینه دارد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان مقاله از زحمات کارشناسان محترم آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران در انجام نمونه‌برداری نهایت تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی برای نویسندگان ندارد.

کد اخلاق

برای این پژوهش شناسه اخلاقی به شماره ۳۰۰۵۱۱/۶/۴ در معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ثبت شده است.

حمایت مالی

این مطالعه توسط معاونت پژوهشی دانشگاه تهران حمایت مالی شده است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در نوشتن و تایید نهایی مقاله و جمع آوری داده‌ها و آنالیز آن مشارکت داشته اند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

References

1. de Oliveira Santos GC, Vasconcelos CC, Lopes AJO, de Sousa Cartágenes MdS, Filho AKDB, do Nascimento FRF, et al. *Candida* infections and therapeutic strategies: mechanisms of action for traditional and alternative agents. Front Microbiol 2018; 3:1351. doi: 10.3389/fmicb.2018.01351.
2. Mohamed AA, Lu XL, Mounmin FA. Diagnosis and treatment of esophageal candidiasis: current updates. Can J Gastroenterol Hepatol 2019; 1:3585136. doi: 10.1155/2019/3585136.
3. García-Agudo L, Rodríguez-Iglesias M. Nosocomial candiduria in the elderly: microbiological diagnosis. Mycopathologia 2017; 1:1-6. doi: 10.1007/s11046-017-0232-7.
4. Pemán J, Ruiz-Gaitán A. Candidemia from urinary tract source: the challenge of candiduria. Hosp Pract 2018; 46:243-5. doi: 10.1080/21548331.2018.1538623.
5. de Paula SB, Bartelli TF, Di Raimo V, Santos JP, Morey AT, Bosini MA, et al. Effect of eugenol on cell surface hydrophobicity, adhesion, and biofilm of *Candida* tropicalis and *Candida* dubliniensis isolated from oral cavity of HIV-infected patients. Evidence-Based Alt Med 2014; 2014:505204. doi:10.1155/2014/505204.
6. Li WS, Chen YC, Kuo SF, Chen FJ, Lee CH. The impact of biofilm formation on the persistence of candidemia. Front Microbiol 2018; 4:1196. doi: 10.3389/fmicb.2018.01196.
7. Taff HT, Mitchell KF, Edward JA, Andes DR. Mechanisms of *Candida* biofilm drug resistance. Future Microbiol 2013; 8:1325-37. doi: 10.2217/fmb.13.101.
8. Ellepola AN, Samaranayake LP. Investigative methods for studying the adhesion and cell surface hydrophobicity of andida species: an overview. Microb Ecol Health Dis 2001; 13:46-54. doi: 10.1080/089106001750071708.
9. Clotz SA, Drutz DJ, Zajic JE. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. Infect Immun 1985; 50:97-101. doi: 10.1128/iai.50.1.97-101.1985.
10. Panagoda GJ, Ellepola ANB, Samaranayake LP. Adhesion of *Candida* parapsilosis to epithelial and acrylic surfaces corre lates with cell surface hydrophobicity. Mycoses 2001; 44:29-35. doi: 10.1046/j.1439-0507.2001.00611. x.
11. Pinheiro PF, Menini LAP, Bernardes PC, Saraiva SRH, Carneiro JWM, Costa AV, et al. Semisynthetic phenol derivatives obtained from natural phenols: antimicrobial activity and molecular properties. J Agri Food Chem 2018; 66:323-30. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04418.
12. Khan MS, Ahmad I. Antibiofilm activity of certain phytocompounds and their synergy with fluconazole against *Candida* albicans biofilms. J Antimicrob Chemother 2012; 67:618-21. doi: 10.1093/jac/dkr512.
13. Kubo I, Fujita KI, Nihei KI. Antimicrobial activity of anethole and related compounds from aniseed. J Sci Food Agri 2008; 88:242-7. doi: 10.1002/jsfa.3079.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Reference Method for Disk Diffusion Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guidelinesecond Edition. CLSI document M44-A2, Clinical and Laboratory StandardsInstitute, Wayne PA, 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guidelinesecond Edition. CLSI document M27-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA, 2008.
16. Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL, Mowat E, Ramage G, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. Nat Protoc 2008; 3:1494-500. doi: 10.1038/nport.2008.141.
17. Álvarez M, Rodríguez A, Bermúdez E, Roncero E, Andrade MJ. Development of a methodology for estimating the ergosterol in meat product-borne toxigenic moulds to evaluate antifungal agents. Foods 2021; 10:438. doi: 10.3390/foods10020438.
18. Anil S, Ellepola ANB, Samaranayake LP. The impact of chlorhexidine gluconate on the relative cell surface hydrophobicity of oral *Candida* albicans. Oral Dis 2001; 7:119-22.
19. Kucharíková S, Neirinck B, Sharma N, Vleugels J, Lagrou K, Van Dijck P. In vivo *Candida glabrata* biofilm development on foreign bodies in a rat subcutaneous model. J Antimicrob Chemother 2015; 70:846-56. doi: 10.1093/jac/dku447.
20. Hitkova HY, Georgieva DS, Hristova PM, Marinova-Bulgaranova TV, Kirilov Borisov B, Georgiev Popov V. Antifungal susceptibility of non-albicans *Candida* species in a tertiary care hospital, Bulgaria. Jundishapur J Microbiol 2020;13: e101767. doi: 10.5812/jjm.101767.
21. Razzaghi-Abyaneh M, Sadeghi G, Zeinali E, Alirezaee M, Shams-Ghahfarokhi M, Amani A, et al. Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from superficial candidiasis in outpatients in Iran. J Mycol Med 2014;24: e43-e50. doi: 10.1016/j.mycmed.2014.01.004.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

22. Jain N, Kohli R, Cook E, Gialanella P, Chang T, Fries B. Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. Appl Environ Microbiol 2007; 73:1697-703. doi: 10.1128/AEM.02439-06.
23. d'Enfert C, Janbon G. Biofilm formation in *Candida glabrata*: What have we learnt from functional genomics approaches? FEMS yeast Res 2016; 16:111. doi: 10.1093/femsyr/fov111.
24. Fujita KI, Fujita T, Kubo I. Anethole, a potential antimicrobial synergist, converts a fungistatic dodecanol to a fungicidal agent. Phytother Res 2007; 21:47-51. doi: 10.1002/ptr.2016.
25. Mohammadzadeh F, Yahyaraeiyat R, Sharifzadeh A. Evaluation of the effect of anethole against dual biofilms of *Candida* albicans and Staphylococcus aureus in vitro. Mycoses 2020.
26. Vieira Priscila RN, de Morais, Selene M, Bezerra, Francisco HQ, Augusto TFP; Írvila R, et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from Ocimum species. Industr Crops Prod 2014; 55:267-71. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.02.032.
27. Dąbrowska M, Zielińska-Bliźniewska H, Kwiatkowski P, Łopusiewicz Ł, Pruss A, Kostek M, et al. Inhibitory effect of eugenol and trans-anethole alone and in combination with antifungal medicines on *Candida* albicans clinical isolates. Chem Biodivers 2021;18: e2000843. doi: 10.1002/cbdv.202000843.
28. Borghi E, Sciota R, Biassoni C, Cirasola D, Cappelletti L, Vizzini L, et al. Cell surface hydrophobicity: a predictor of biofilm production in *Candida* isolates? J Med Microbiol 2011; 60:689-90. doi: 10.1099/jmm.0.026898-0.
29. Silva-Dias A, Miranda IM, Branco J, Monteiro-Soares M, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Adhesion, biofilm formation, cell surface hydrophobicity, and antifungal planktonic susceptibility: relationship among *Candida* spp. Front Microbiol 2015;12:205. doi: 10.3389/fmicb.2015.00205.
30. de Paula SB, Bartelli TF, Di Raimo V, Santos JP, Morey AT, Bosini MA, et al. Effect of eugenol on cell surface hydrophobicity, adhesion, and biofilm of *Candida* tropicalis and *Candida* dubliniensis isolated from oral cavity of HIV-infected patients. Evid Based Complement Alternat Med 2014; 2014:505204. doi: 10.1155/2014/505204.
31. Khan MS, Ahmad I, Cameotra SS, Botha F. Sub-MICs of Carum copticum and Thymus vulgaris influence virulence factors and biofilm formation in *Candida* spp. BMC Complement Alternat Med 2014;14:1-14. doi: 10.1186/1472-6882-14-337.
32. Raut JS, Shinde RB, Chauhan NM, Karuppayil SM. Terpenoids of plant origin inhibit morphogenesis, adhesion, and biofilm formation by *Candida* albicans. Biofouling 2013; 29:87-96. doi: 10.1080/08927014.2012.749398.
33. Samber N, Khan A, Varma A, Manzoor N. Synergistic anti-*candida*l activity and mode of action of Mentha piperita essential oil and its major components. Pharma Biol 2015; 53:1496-504. doi: 10.3109/13880209.2014.989623.
34. Alizadeh F, Khodavandi A, Esfandyari S, Nouripour-Sisakht S. Analysis of ergosterol and gene expression profiles of sterolΔ 5, 6-desaturase (ERG3) and lanosterol 14α-demethylase (ERG11) in *Candida* albicans treated with carvacrol. J Herbmed Pharmacol 2018; 7:79-87. doi: 10.15171/jhp.2018.14.
35. Lone SA, Khan S, Ahmad A. Inhibition of ergosterol synthesis in *Candida* albicans by novel eugenol tosylate congeners targeting sterol 14α-demethylase (CYP51) enzyme. Arch Microbiol 2020; 202:711-26. doi: 10.1007/s00203-019-01781-2.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]