● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ پنجم، شمارهٔ ۲، ص ۸۳-۷۸، ۱۳۷۷

مقالهٔ پژوهشی

مقایسه اثر عصاره متانولی‌برگ "مورد" وکلوتریمازول بر کاندیدا آلبیکانس جدا شده از مبتلایان به واژینیت کاندیدایی

دکتر بی‌بی شهناز عالی[۱]، اشرف کریمی نیک[۲]، دکتر عباس بهرامپور[۳] و دکتر نسرین‌دخت سدیر

خلاصه

با توجه به گزارش‌های متعدد درباره اثرات ضد قارچی و ضد میکروبی عصارهٔ "مورد" *(myrtus communis)* و نظر به پیدایش سوش‌های مقاوم کاندیدا نسبت به داروهای رایج ضدقارچی موجود نظیر ترکیبات ایمیدازول، بررسی مقایسه‌ای اثر عصارهٔ متانولی‌برگ "مورد" و کلوتریمازول بر شایع‌ترین عامل واژینیت کاندیدایی یعنی کاندیدا آلبیکانس صورت گرفت. به این منظور نمونه‌ای از ترشحات واژن ۵۰۰ بیمار مراجعه کننده به درمانگاه زنان بیمارستان باهنر که از علایم واژینیت شاکی بودند در محیط کشت اختصاصی کاندیدا (نیکرسون)، کشت داده شد. ۸۰ نمونه مثبت از نظر کاندیدا آلبیکانس با استفاده از ظاهر ماکروسکوپی کلنی‌ها و نیز آزمایش لوله زایا (germ tube) به دست آمد. عصاره متانولی‌برگ گیاه "مورد" به روش ماسراسیون تهیه گردید و دیسک‌های حاوی ۲۰mg از این عصاره و کلوتریمازول در شرایط یکسان تهیه شد. سپس مقایسه اثر عصاره متانولی "مورد" و کلوتریمازول بر نمونه‌ها به روش انتشار دیسک صورت گرفت. از بررسی نتایج مشخص شد که در غلظت یکسان قدرت مهارکنندگی عصاره متانولی‌برگ "مورد" در شرایط برون تنی *(in vitro)* به طور معنی‌داری ($P<0/001$) بیشتر از قدرت مهارکنندگی کلوتریمازول بر روی کاندیدا آلبیکانس می‌باشد و بین افزایش قطر هالهٔ عدم رشد عصارهٔ "مورد" وکلوتریمازول همبستگی وجود دارد ($r=0/86$). متوسط سطح هالهٔ عدم رشد عصاره "مورد" ۱/۲۸ برابر سطح هالهٔ عدم رشد کلوتریمازول بود.

واژه‌های کلیدی: کلوتریمازول، عصارهٔ "مورد"، کاندیدا آلبیکانس

۱ـ استادیار زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمان ۲ـ عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی کرمان، گروه میکروبیولوژی

۳ـ استادیار آمار حیاتی ۴ـ کاروزر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمان

مقدمه

کاندیدیازیس یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین عفونت‌های قارچی فرصت‌طلب است که در بیشترین موارد توسط کاندیدا آلبیکانس ایجاد می‌شود. این عارضه می‌تواند به اشکال سطحی و عمقی در بدن انسان ظاهر شود. نوع عمقی آن موجب گرفتاری احشاء مختلف از جمله کلیه‌ها، کبد، طحال، چشم‌ها و مغز می‌شود و انواع سطحی آن اپیدرم و سطوح مخاطی از جمله مری، دهان، حلق، روده، مثانه و واژن را مبتلا می‌سازد (۱۷).

واژینیت کاندیدایی یکی از اشکال سطحی این عفونت است که در ۷۵٪ از زنان حداقل یک بار و در ٤٥٪ آنها دو تا سه بار در طول عمر اتفاق می‌افتد (۱٤). در ۹۰-۸۵٪ از موارد کاندیدا آلبیکانس مسؤول ایجاد این بیماری شناخته شده (۹,۱۵)، که به طور معمول در واژن ۱۸-۱۵٪ از زنان به صورت‌ساپروفیت وجود دارد و در شرایط مساعد می‌تواند واژینیت قارچی و علایم آن را ایجاد کند (۱٤).

برای درمان عفونت‌های کاندیدایی به خصوص در واژن از داروهای ضد قارچی گروه آزول استفاده می‌شود که عمدتاً با مهار آنزیم وابسته به سیتوکروم P٤٥٠ در سطح غشاء سلول عمل می‌کنند (۱۷,۱۲). رایج‌ترین این داروها از نظر کلینیکی کلوتریمازول و پس از آن میکونازول، کتوکونازول، ایتراکونازول و فلوکونازول می‌باشند (۱۲,۱۳,۱٤,۱۷).

درمان این عارضه گاهی به علت وجود عوامل مساعد کننده و عودهای مکرر با مشکل مواجه می‌شود (۱۱). دلایل عود بیماری عبارتند از: استفاده از قرص‌های ضدبارداری، استفاده از دوش‌های واژینال، سوش‌های کاندیدای غیرآلبیکانس و درمان با آنتی‌بیوتیک‌های متعدد (۱۵,۱٦). یکی دیگر از دلایل پیدایش نشانه‌های مزمن و یا حملات مکرر کاندیدیازیس مربوط به تشدید پاسخ‌های آلرژیک موضعی به کاندیدا و سایر مواد موضعی بوده و به نظر می‌رسد مقاومت دارویی نیز سبب عود عفونت می‌شود (۱٦).

اخیراً گزارش‌های متعددی در مورد اثرات ضد قارچی و ضدمیکروبی داروی گیاهی "مورد" *(myrtus communis)* ارائه شده است (۱,۵,۹,۱۰). "مورد" یا "مورت" درختچه‌ای است از خانواده *myrtacea* با برگ‌های همیشه سبز معطر به بلندی ۳ متر که در مناطق نیمه مرطوب با آب و هوای معتدل می‌روید و در ایران در نواحی لرستان، خرم‌آباد، خراسان و به ویژه فارس در اطراف دریاچه مهارلو و در ارتفاعات بین کرمان و بندرعباس به وفور یافت می‌شود (٦).

مطالعات وسیع مرکز تحقیقات دارویخش بر روی خواص این گیاه منجر به تولید فرآورده میرتوپلکس به عنوان داروی ضد هرپس سیمپلکس شده است (۲).

در تحقیقاتی که در هند بر روی عصاره تعدادی از گیاهان از جمله "مورد" انجام گرفته اثرات ضدقارچی این عصاره‌ها بر طیف وسیعی از قارچ‌ها و به ویژه کاندیدا آلبیکانس مشخص شده است (۹). با توجه به گزارش‌های متعدد درباره اثر ضدقارچی گیاه "مورد" و در نظر گرفتن موارد مزمن و راجعه کاندیدیازیس و با تلاش برای یافتن داروی مؤثرتر و جدیدتر ضدقارچی طی این بررسی اثر عصاره "مورد" با کلوتریمازول به صورت‌برون تنی *(in vitro)* مورد مقایسه قرار گرفت.

روش بررسی

جهت بررسی و مقایسه اثر کلوتریمازول و عصاره "مورد" طی یک مطالعهٔ مقطعی به مدت ۵ ماه از بیماران مراجعه کننده به درمانگاه زنان بیمارستان باهنر کرمان که از علایم واژینیت شاکی بودند نمونه گیری به عمل آمد. هر نمونه به طور جداگانه در محیط کشت اختصاصی و انتخابی کاندیدا، یعنی محیط نیکرسون که برای جداسازی و تشخیص گونه‌های مختلف کاندیدا استفاده می‌شود، به طریقه استریک ساده (خطی) در شرایط آسپتیک کشت داده شد.

ویژگی این محیط آن است که به خاطر داشتن سولفیت سدیم و سیترات آمونیوم بیسموت از رشد باکتری‌ها و سایر ارگانیسم‌های مزاحم جلوگیری به عمل می‌آورد. پس از انجام کشت، پلیت‌ها به مدت ۷۲-٤۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلنی‌های کاندیدا آلبیکانس با تولید سولفید و بیسموت در محیط، به صورت‌صاف و یکنواخت و کروی، به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه، بدون درخشش و بدون انتشار رنگ به محیط اطراف ظاهر شده و سپس با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش تشکیل لوله زایا (germ tube) از نظر کاندیدا آلبیکانس بودن، تأیید شدند (۹). به این ترتیب ۸۰ نمونه کاندیدا آلبیکانس به دست آمد که برای مقایسه اثر عصاره "مورد" و کلوتریمازول مورد استفاده قرار گرفتند.

گیاه "مورد" توسط مسؤول مرکز فروش گل‌ها و گیاهان دارویی عطاری سنتی در کرمان تهیه و به وسیله متخصصین گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان مورد تأیید قرار گرفت. برای تهیه عصاره گیاهی مقدار ۵۰ گرم از برگ گیاه با آسیاب به صورت پودر در آمد، سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ مرک به آن اضافه شد و عصاره گیری به مدت ۱۰ روز به طریقه ماسراسیون (خیساندن) در حرارت محیط صورت گرفت.

جهت تسهیل و تسریع عصاره گیری، این مخلوط هر روز به مدت ۱۰ دقیقه توسط لوله لرزان (tube shaker) کاملاً مخلوط می‌گشت. پس از پایان مرحله عصاره گیری ۵ میلی‌لیتر از عصارهٔ به دست آمده در چند لوله در پیچ‌دار کوچک ریخته و توسط دستگاه تقطیر در خلاء دوار (rotatory evaporator) در دمای ۴۲-۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دسیکاتور متصل به پمپ خلاء جاذب‌الرطوبه کلرور کلسیم قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. هر لوله به طور جداگانه با ترازوی آنالیتیکال با دقت یکصد هزارم گرم توزین و اختلاف وزن حاصل از وزن لوله اولیه محاسبه شد و به این ترتیب وزن عصاره به طور دقیق به دست آمد. به استناد تحقیقات قبلی که غلظت ۲۰mg/ml عصاره متانولی "مورد" را به عنوان غلظت مؤثر (effective dose) تعیین کرده بودند (۳) در این مطالعه نیز این غلظت از عصاره تهیه گردید. دیسک‌های کاغذی با استفاده از ورقه کاغذ صافی ضخیم توسط سوراخ‌کن (puncher) به قطر ۶ میلی‌متر تهیه و در پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده شد و به مدت یک ساعت در دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون (oven) استریل گردید. هر دیسک به طور جداگانه درکف ظروف چینی شیشه ساعت ته گود کوچک قرار داده شده و ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی‌برگ "مورد" با غلظت ۲۰mg/ml که قبلاً تهیه شده بود روی آن ریخته می‌شد. پس از قرار دادن دیسک‌ها در پلیت، جهت اطمینان از جذب کامل عصاره توسط دیسک، میزان ۰/۱ml متانول در شیشه ساعت در جای هر دیسک ریخته شده و با پیپت پاستور بر سطح همان دیسک انتقال می‌یافت. سپس ظروف حاوی دیسک‌های عصاره در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا با تبخیر حلال متانول، دیسک‌هایی حاوی ۲۰mg از عصاره به دست آید.

برای تهیه دیسک‌های کلوتریمازول نیز ۵ شیاف ۱۰۰ میلی‌گرمی کلوتریمازول در ۲۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ حل شد. کلوتریمازول قادر به وارد شدن در فاز متانول بود و پس از ته‌نشین شدن رسوب آن، از محلول رویی (supernatant) غلظت ۲۰mg/ml نظیر عصاره گیاهی تهیه و دیسک‌هایی حاوی ۲۰mg از دارو فراهم شد. دیسک‌های گیاهی به رنگ سبز و دیسک‌های کلوتریمازول به رنگ سفید و به راحتی از هم قابل افتراق بودند. برای سنجش اثر ضدقارچی دو دارو از هر مخمر کاندیدا آلبیکانس ایزوله شده، سوسپانسیون قارچی ۲۴ ساعته در محیط کشت سابرودکستروز براث تهیه شد و سپس از هر نمونه رقت یک هزارم در سرم فیزیولوژی استریل به دست آمد و عمل تلقیح باسواب استریل بر روی محیط کشت مولرهینتون آگار به طریقه کشت سطحی و یکنواخت در شرایط آسپتیک صورت گرفت. سپس دیسک‌های کلوتریمازول و عصاره گیاهی با پنس استریل و با رعایت فواصل مناسب از یکدیگر بر روی محیط قرار داده شدند. یک عدد دیسک آغشته به متانول ۸۰٪ نیز به عنوان شاهد در هر محیط قرار داده شد. برای اطمینان بیشتر برای هر مخمر دو پلیت به این طریق تهیه شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از پایان مدت انکوباسیون، فعالیت ضدقارچی هر یک از دیسک‌ها با اندازه گیری قطر هاله ممانعت از رشد (Inhibition zone) بر حسب میلی‌متر توسط یک کارشناس آزمایشگاه که از ماهیت دیسک‌ها و چگونگی مطالعه بی اطلاع بود اندازه‌گیری و ثبت شد (۷). نتایج با استفاده از آنالیز و واریانس یک راهه (Anova که در صورت وجود دو متغیر معادل t-test می‌باشد) مقایسه گردید و سطح معنی‌داری $P<0/05$ معنی‌دار منظور شد.

نتایج

عصارهٔ متانولی‌برگ "مورد" و کلوتریمازول هر دو رشد هر ۸۰ نمونه کاندیدا آلبیکانس را مهار نمودند و در اطراف دیسک‌های هر دو دارو هالهٔ ممانعت از رشد ایجاد شد. در اطراف دیسک آغشته به متانول که به عنوان شاهد منفی به کار رفته بود هیچ هاله‌ای به وجود نیامد. در ۷۶٪ از موارد (۶۳ نمونه) قطر هالهٔ عدم رشد ناشی از تأثیر "مورد" بزرگ‌تر از کلوتریمازول بود. کمترین قطر هالهٔ ممانعت از رشد برای "مورد" ۱۲mm و بزرگ‌ترین آن ۴۰mm با میانگین ۵/۴mm±۲۲/۷ و برای کلوتریمازول به ترتیب ۱۰mm، ۳۰mm با میانگین ۴/۵mm±۲۰/۱ بود. آزمون آنالیز واریانس یک راهه (ANOVA) معنی‌دار بودن این اختلاف را به اثبات رساند ($P<0/001$).

جدول ۱ نشان دهنده فراوانی اندازه‌های مختلف قطر هالهٔ عدم رشد به تفکیک دارو می‌باشد. همان‌طور که از جدول پیداست عصاره "مورد" موارد بیشتری از اقطار هاله عدم رشد بزرگ‌تر و موارد کم‌تری از هالهٔ عدم رشد کوچک‌تر را در مقایسه با کلوتریمازول به خود اختصاص داده است. بر اساس نتایج به دست آمده همبستگی قوی در مورد دو دارو در افزایش قطر هالهٔ عدم رشد وجود دارد ($r=0/86$). فاصلهٔ اطمینان ۹۵٪ برای این ضریب ۰/۸ و ۰/۹۱ بود.

کمترین سطح هالهٔ عدم رشد اطراف دیسک "مورد" ۱۱۳ و بیشترین آن ۱۲۵۶ با میانگین ۲۲/۹±۴۰۴/۵ بر حسب میلی‌متر مربع بود و برای کلوتریمازول این موارد به ترتیب ۷۸/۵ و

۷۰۶/۵ با میانگین ۱۵/۹ ± ۳۱۷/۲ میلی‌متر مربع بود. با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک راهه معنی‌دار بودن این اختلاف نیز به اثبات رسید ($P<0/001$).

جدول ۱ : *فراوانی اندازه‌های مختلف قطر هاله عدم رشد به تفکیک دارو*

دامنه قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر	عصاره مورد		کلوتریمازول	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
۸-۱۵	۹	۱۱/۳	۱۳	۱۶/۳
۱۶-۲۳	۳۹	۴۸/۸	۴۳	۵۳/۸
۲۴-۳۱	۳۱	۳۸/۸	۲۴	۳۰
>۳۲	۱	۱/۳	-	-
کل	۸۰	۱۰۰	۸۰	۱۰۰

با در نظر گرفتن نسبت میانگین سطح هالهٔ عدم رشد دو دارو واضح است که در مدت زمان یکسان، متوسط افزایش سطح هالهٔ عدم رشد برای "مورد" ۱/۲۸ برابر کلوتریمازول می‌باشد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان دهنده تأثیر بارز ضد کاندیدا آلبیکانس عصارهٔ "مورد" می‌باشد به طوری که در اطراف هر ۸۰ دیسک آن هالهٔ ممانعت از رشد تشکیل شده و مطالعات زیادی نیز مؤید این موضوع هستند. طی مطالعه‌ای که در هندوستان بر روی عصاره گیاه "مورد" تیره میکروفیلا و تأثیر آن بر ۱۳ نوع قارچ از جمله کاندیدا آلبیکانس انجام شده، بیشترین قطر هاله عدم رشد (Inhibition zone) را برای این مخمر ۲۸mm با عصاره خالص و ۲۱mm با رقت $\frac{1}{5}$ به دست آورده‌اند (۹). مطالعه کریمی‌نیک و شهیدی هم از میان عصاره ده گیاه، عصاره متانولی‌برگ "مورد" را در غلظت ۲۰mg/ml داری بیشترین اثر مهارکنندگی بر رشد کاندیدا آلبیکانس تشخیص داد (۵). مطالعه Grag و همکاران نیز تأثیر "مورد" را بر این مخمر تایید می‌کند (۱۰). همچنین فراهانی و مجد اثرات ضدمیکروبی گیاه "مورد" را بررسی کرده و تأثیر چشم‌گیر آن را علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها و مخمر کاندیدا آلبیکانس به اثبات رساندند (٤). از آنجا که در تحقیقات قبلی شهیدی و کریمی‌نیک (۳,۵) MIC (Minimal Inhibitory Concentration) عصاره متانولی "مورد" را ۵mg/ml و دوز مؤثر آن را ۲۰mg/ml تشخیص داده بودند در این بررسی نیز برای مقایسه اثر دو دارو از غلظت ۲۰mg/ml استفاده شد. انتخاب متانول به عنوان حلال از این جهت بود که این ماده حلال مواد قطبی و غیر قطبی می‌باشد و قرار دادن شیاف کلوتریمازول در متانول و سانتریفوژ کردن و جداسازی محلول رویی (supernatant) نشان داد که ماده مؤثره ضدقارچی یعنی کلوتریمازول نیز قادر به وارد شدن در فاز متانول می‌باشد. برای مقایسه اثر دو دارو از روش انتشار دیسک استفاده شد که در این روش متغیرهای فیزیکی و شیمیایی در قدرت ضدمیکروبی یا ضد قارچی عصاره‌ها دخالت دارند (۸) که به منظور به حداقل رساندن تأثیر این عوامل دیسک‌های دو دارو در شرایط و غلظت یکسان تهیه شده و با اطمینان از اینکه PH عصارهٔ "مورد" دخالتی در خاصیت ضدقارچی آن ندارد آزمایش‌های مربوط انجام گرفت. لازم به توضیح است که PH عصاره متانولی‌برگ "مورد" اسیدی و معادل ۵ می‌باشد و قبلاً در مطالعه دیگری (۳) با خنثی کردن PH آن توسط محلول سود دسی نرمال مشخص شده که این عامل هیچ تأثیری در فعالیت ضدقارچی دارو ندارد و اثر دارو مربوط به ماده مؤثره موجود در عصاره است.

برای اطمینان از بی‌اثر بودن حلال متانول بر محیط کشت قارچی از دیسک متانول به عنوان شاهد منفی استفاده شد که هیچ هاله عدم رشدی در اطراف آن به وجود نیامد و همان طور که از نتایج بر می‌آید عصاره متانولی‌برگ "مورد" در مقایسه با کلوتریمازول دارای تأثیر بیشتری علیه کاندیدا آلبیکانس می‌باشد زیرا در ۷۶٪ موارد هالهٔ ممانعت از رشد "مورد" بیشتر از کلوتریمازول و میانگین افزایش سطح هاله عدم رشد آن ۱/۲۸ برابر کلوتریمازول بود. تا به حال مقایسه اثر دو دارو بر روی کاندیدا آلبیکانس صورت نگرفته است ولی در مطالعه‌ای که این دو دارو به صورت درون‌تنی علیه درماتوفیت‌ها مورد مقایسه قرار گرفته‌اند، مدت زمان ظهور اثر "مورد" کمتر از کلوتریمازول به دست آمده است (۱). تحقیق دیگری نیز "مورد" را مؤثرتر از رزورسینول بر کاندیدا آلبیکانس و ۱۲ نوع قارچ دیگر نشان داد (۱۰).

با توجه به اینکه اثر ضدقارچی عصاره "مورد" در این غلظت کم بسیار بارز می‌باشد و در مقایسه با کلوتریمازول حتی عصاره ناخالص و تام آن تأثیر بیشتری از خود نشان داده است، لذا می‌توان چنین پیش‌بینی کرد که با کاربرد روش‌های خالص سازی و یافتن ترکیب ضدقارچی موجود در این عصاره گیاهی و تایید اثر آن به صورت درون تنی دستیابی به داروی جدید ضدقارچی مقدور خواهد بود.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حیدری و جناب آقای دکتر نجفی برای راهنمایی‌های ارزنده‌شان کمال تشکر را داریم.

Summary

Comparision of the Effect of Myrtus Communis Extract and Clotrimazole on Candida Albicans Isolated from Patients with Candida Vaginitis

SH. Aali, MD[1]; A. Kariminik, MS[2], A. Bahrampour, PhD[3]; and ND. Sodir, MD[4]

1. Assistant Professor of Obstetrics & Gynecology 3. Assistant Professor, School of Health, Department of Biostatistics 4. Intern, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

2. Faculty member of Microbiology Department, Azad University, Kerman, Iran

There are many reports about antifungal and antimicrobial effects of myrtle extract. In respect to resistance of fungal strains to current antifungal drugs such as imidazole derivatives, a comparative study was carried out to investigate the antifungal effect of myrtle extract versus clotrimazole on Candida albicans, the most common cause of vaginal candidiasis. The vaginal discharge of 500 patients complaining of vaginitis symptoms attending the Women's clinic of Bahonar hospital were cultured in specific and selective medium (Nikerson medium) for isolation of candida species. Based on macroscopic appearance of the colonies and germ tube test, 80 positive cultures of candida albicans were isolated. Methanolic extract of myrtle leaves was prepared by maceration method and filter paper disks containing 20 mg of either the extract or clotrimazol was provided. The positive samples were tested by disc diffusion method. Results showed that the antifungal effect of methanolic extract was greater than that of clothrimazole ($P<0.001$). There was a positive correlation between inhibition zone diameter of clotrimazole and myrtle extract ($r=0.86$). The mean inhibition zone surface of myrtle extract was 1.28 times of clotrimazole.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1998; 5(2): 78-83

Key Words: *Clotrimazole, Myrtus communis extract, Candida albicans*

منابع

۱. آیت‌الهی موسوی، سیدامین، عبدالهی، حمید، کاظمی‌پور، نادیا: بررسی اثرات ضد درماتوفیتی عصاره متانولی ده گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۵، سال سوم، شماره ۳، ص ۱۲۲-۱۱۵.

۲. سرکارتی، علیرضا، سلامت، مریم: بررسی بالینی اثر "مورد" در درمان عفونت مزمن H.B.V و نقش آن در منفی کردن و آنتی‌ژن مثبت، چکیده مقالات اولین سمینار گیاهان دارویی و صنعت شیراز، اردیبهشت ۷۶، ص ۱۳۵-۱۳۴.

۳. شهیدی غلامحسین، کریمی‌نیک، اشرف: مطالعه اثرات ضد مخمری عصاره متانولی ۵۰ نمونه از گیاهان دارویی، دوازدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی، تهران، ۱۳۷۴.

۴. فراهانی، فرخ، مجد، احمد، ذوالفقاری، محمداسماعیل: بررسی خواص ضدمیکروبی گیاه "مورد"، هفتمین کنفرانس سراسری زیست‌شناسی ایران، اصفهان، شهریورماه ۱۳۷۷.

۵. کریمی‌نیک، اشرف، شهیدی، علامحسین: بررسی فعالیت ضد میکروبی عصارهٔ متانولی ده نمونه از گیاهان دارویی علیه ۱۶ گونه ، آلبیکانس به سمینار اولین سمینار گیاهان دارویی و صنعت ، شیراز، ۱۳۷۶.

۶. میرحیدر حسین: معارف گیاهی، چاپ ۲، نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۴، ص ۳۱۵-۳۱۰.

7. Baron EJ and, Fingold SM: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 8th ed., St. Louis, Mosby, 1990; pp180-182.
8. Clayton YM and Midgley G. Identification of agents of superficial mycoses. In: Evans EGV and Richardson MD (Eds). Medical mycology: A practical approach. Oxford, IRL Press, 1989; pp65-95.
9. Garg SC and Denger SL: Efficacy of some essential oils. *Herba Hungarica* 1998, 43(2): 141-142.
10. Grag SC and Denger SL: Antifungal actvity of the essential oil of myrtus communis var. microphylla. *Herba Hungarica* 1988; 27(2-3): 123-124.
11. Goode MA, Grauer K and Gums JG. Infectious vaginitis. Selecting therapy and preventing recurrence. *Postgrad Med* 1994; 96(6): 85-88.
12. Lee CR, Mckenzie CA and Nobles A. Imidazoles for vaginitis. *Am Pharm* 1991; 31(7): 44-46.
13. Sobel JD, Brooker D, Stein GE, *et al.* Single oral dose of fluconazole compared with coventional clotrimazole topical therapy of candida vaginitis. Fluconazole Vaginitis Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(4pt 1): 1263-1268.
14. Soper DE. Genitourinary infections and sexualy transmitted diseases. In: Berek JS, Adashi EY and Hillard PA (Eds). Novak's Gynecology. 12th ed., Baltimore, Williams & Wilkins., 1996; pp429-446.
15. Spinillo A, Pizzoli G, Colonna L, Nicola S, De Seta F and Guaschino S. Epidemiologic characteristics of women with idiopathic recurrent vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol* 1993; 81(5): 721-727.
16. Tuomala R. Genecologic infections. In: Ryan KJ, Berkowintz RS and Barbieri RL (Eds). Kistner's Gynecology, principles and practice. 6th ed., St. Louis, Mosby., 1995; pp496-537.
17. Walsh TJ and Dixon DM. Spectrum of mycoses. In: Baron S (Ed). Medical microbiology. 3rd ed., New york, Churchil Livingstone., 1991; pp951-957.