Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۳، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۰/ ۵۲-۴۴

مقاله پژوهشی

تاثیر اسانس آویشن بر *کاندیدا آلبیکنس* جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی در شرایط آزمایشگاهی

دکتر محمد علی ضیاء*[1]، دکتر منصور بیات[3]، حسین خلخانی[3]

[1] گروه علوم پایه– دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران، [2] گروه قارچ شناسی دامپزشکی – دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، [3] گروه میکروبیولوژی –دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۵ اصلاح نهایی: ۸۹/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۱۲

چکیده:

زمینه و هدف: ***کاندیدا آلبیکنس*** **شایع ترین عامل اتیولوژیک بیماری های ناشی از مخمرهای جنس کاندیدا است. با توجه به این که مقاومت قارچ ها نسبت به تعدادی از داروهای ضد قارچی افزایش یافته و بسیاری از این داروها سمی و گران هستند، بررسی فرآورده های طبیعی گیاهی موثر بر این قارچ ها ضروری است. لذا هدف این تحقیق بررسی اثر اسانس آویشن بر ممانعت از رشد** ***کاندیدا آلبیکنس*** **در شرایط آزمایشگاهی بود.**

روش بررسی: **این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس دهانی، صورت گرفت. نمونه های حاصل از سواپ در محیط سابورودکستروز آگار همراه با سیکلوهگزیمید و کلرآمفنیکل کشت و در نهایت با انجام آزمایشات تکمیلی، تعداد ۳۲ ایزوله به عنوان** ***کاندیدا آلبیکنس*** **شناسایی و در محیط کشت رشد داده شدند. سپس اسانس آویشن در غلظت های مختلف به این محیط اضافه و حداقل غلظت مهار کننده اسانس برای رقت های مختلف سوسپانسیونی حاوی** ***کاندیدا آلبیکنس*** **محاسبه گردید.**

یافته ها: **حداقل غلظت مهار کننده اسانس آویشن برای رقت های ۱۰، $^{-1}$۱۰ و $^{-2}$۱۰ برابر با ۰/۳۹۰ میکرولیتر در هر میلی لیتر و برای رقت $^{-3}$۱۰ و $^{-4}$۱۰ به ترتیب برابر با ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میکرولیتر در هر میلی لیتر از محیط کشت تعیین شد.**

نتیجه گیری: **اسانس آویشن دارای اثر ضد قارچی بسیار خوب علیه** ***کاندیدا آلبیکنس*** **می باشد و در مقادیر نسبتاً کم می تواند از رشد** ***کاندیدا آلبیکنس*** **در محیط کشت جلوگیری نماید.**

واژه های کلیدی: اسانس آویشن، *کاندیدا آلبیکنس*، کاندیدوزیس دهانی.

مقدمه:

کاندیدیازیس از جمله شایع ترین وگسترده ترین بیماری های قارچی انسان است که در سال های اخیر در حد زیادی افزایش یافته است (۳-۱). اغلب افراد (نه همه) این قارچ را در زمان تولد در طی عبور از کانال زایمان کسب می کنند. قارچ در بدن فقط بصورت کلنی و در تعادل با سایر میکروارگانیسم‌ها زندگی می‌کند و بصورت ساپروفیت شایع روی سطوح مخاطی بویژه دهان، دستگاه گوارشی و واژن دیده می شود، اما عوامل مختلف می توانند این تعادل را بهم زده و منجر به بروز بیماری علامت دار پیشرونده فعال گردند (۴،۳). عوامل متعددی نظیر چسبندگی، مداومت تماس، دیمورفیسم، تشکیل جرم تیوب، حساسیت تماسی، تغییرشکل فنوتیپی، تداخل با سیستم میزبان، سینرژیسم با باکتری ها و تولید هیدرولازها یا سایر متابولیت ها به عنوان عوامل ویرولانس *کاندیدا آلبیکنس* اشاره شده اند (۵).

کاندیدا آلبیکنس بصورت همزیست نرمال در حفره دهانی ۳۰ تا ۶۰ درصد و گاهی بیش از ۷۵ درصد اشخاص سالم یافت می شود (۷،۶) و عوامل مستعد کننده نظیر عوامل متابولیک، تغذیه ای، مکانیکی، بیمارستانی، استفاده از دندان مصنوعی، سیگار کشیدن، ایمنو ساپرسیون و دریافت درمان های آنتی بیوتیکی وسیع الطیف می توانند موجب

* ***نویسنده مسئول:*** *اصفهان- خانه اصفهان - منطقه نیروی هوایی- خیابان ۲۲-پلاک ۲۱- تلفن: ۰۳۱۱-۴۴۱۴۶۶۸،*
E-mail:mohammadalizia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

بروز بیماری کاندیدیازیس دهانی شوند، لذا این بیماری ممکن است به عنوان یک نشانگر بالینی مفید جهت شناسایی حضور شرایط مستعد کننده فرد برای ابتلا به بیماری به حساب بیاید (۸).

درمان کاندیدیازیس بواسطه ظهور سویه های کاندیدایی که به عوامل ضد قارچی رایج مورد استفاده مقاوم هستند، یک مسئله پیچیده است. عوامل ضد قارچی رایج مورد استفاده نه تنها تعداد محدودی دارند بلکه خیلی از آنها سمی و بسیار گران هستند. عود عفونتهای کاندیدایی خیلی شایع است و این مسئله بار درمانی این عفونت فرصت طلب را بالا می برد. لذا نیاز به توسعه عوامل ضد قارچی جدید به منظور گسترش طیف فعالیت ها علیه کاندیدا و مبارزه با سویه هایی که مقاوم به ضد قارچ های در دسترس را افزایش داده است (۹).

در دهه اخیر استفاده از مشتقات گیاهی، همچنین درمان های پزشکی جایگزین، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۱۰).

پلی ان ها (نیستاتین) و آزولها (میکونازول) که بطور موضعی استفاده می شوند فراوان ترین داروهـــای مورد استفاده برای کاندیدیازیس سطحی هستند. در هر صورت درمان ضد قارچی آزول سیستمیک (فلوکونازول یا ایتراکونازول) نیز می توانند برای درمان کاندیدیازیس سطحی و شکل‌های مزمن عفونت استفاده شوند. استفاده از ضد قارچ های پیشگیری کننده نیز به فراوانی در درمان کاندیدیازیس دهانی در افراد ایمنوساپرس نظیر بیماران مبتلا به ایدز و لوسمی بکار می رود (۷).

آنتی بیوتیک های پلی ان گروهی از ترکیبات آنتی میکروبیال هستند که توسط تعدادی از جنس های استرپتومایسس تولید می شوند. توجه به اثر دارو درمانی، مشکلات سمی بودن آنها، حلالیت، ثبات و جذب آنها سبب شده است که فقط تعداد کمی از این ترکیبات برای درمان مناسب باشند (۱۱).

بررسی فرآورده های طبیعی فعال علیه گونه هـــای کاندیدا به منظور درمان عفونت های دهانی ناشی از این قارچ ها، در ۱۰ سال اخیر با تحقیق بر روی گونه های گیاهـــی بطور قابل توجهی افزایش یافته است و فرآورده های طبیعی مشتق شده از گیاهان ممکن است بصورت بالقوه منجر به پیدایش ترکیبات جدید شوند که می توانند روی این قارچ ها عمل کنند (۶). طبق مطالعات کتابخانه ای، نزدیک به ۲۵۸ گونه گیاهی از ۹۴ تیره به منظور تاثیر ضد کاندیدا مورد بررسی قرار گرفته اند (۱۲). از جمله گیاهان مورد توجه آویشن (*Thymus vulgaris*) می باشد.

Thymus Vulgaris اغلب به وسیله گیاهان بومی مدیترانه ای تشکیل شده و با دوره های متغیر خشکی و بارندگی تطابق دارند (۱۳). *تیموس ولگاریس* که به نام متداول Thyme نیز شناخته می‌شود یک گیاه آروماتیک پزشکی متعلق به خانواده Lamiaceae یا Labiatae است که به طور تجاری در حوزه وسیعی در بسیاری از کشور ها کشت شده و ارزش اقتصادی بالایی دارد (۱۴).

در ایران از اوایل تا اواسط تابستان حلقه های گل استوانه ای شکل دو لبه، به رنگ های بنفش و صورتی، به صورت خوشه در نوک شاخه ها، ظاهر می شوند. گیاه آویشن در انواع مختلف از جمله آویشن برگ باریک، برگ پهن، خال خال و بالاخره آویشن لیمویی یافت می شود. گیاه آویشن نشاط آور بوده و از آن برای تقویت اعصاب، درمان افسردگی، خستگی و بیخوابی استفاده می شود.

روغن تیموس متشکل از چندین ترکیب مختلف (نظیر thymul, linaleol و carvacrol) است که فعالیت ضد میکروبی را نشان می دهند و این فعالیت عمدتاً بر اساس اثرات فزاینده بوده و ممکن است بویژه منجر به افزایش سرعت عمل ضد میکروبی گردد (۱۵).

هدف این مطالعه بررسی تاثیر اسانس آویشن بر ممانعت از رشد *کاندیدا آلبیکنس* جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی در محیط های کشت بود تا بتوان از نتایج حاصل در تحقیقات بعدی و به منظور

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از این فرآورده در درمان کاندیدیازیس دهانی بهره برد.

روش بررسی:

این مطالعه تجربی در شهر اصفهان و مجموعاً بر روی تعداد ۵۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس دهانی در گروه های سنی مختلف صورت گرفت. در این تحقیق از سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* (A90029) که از مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان تهیه گردید، به عنوان کنترل استفاده شد.

نمونه برداری بوسیله سواپ استریل مرطوب شده در سالین استریل از محیط و ضایعات دهانی انجام و بلافاصله سواپ را در داخل لوله استریل محتوی سرم فیزیولوژی حاوی کلرآمفنیکل (۵۰۰ میکروگرم در یک میلی لیتر) قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شد.

نمونه های برداشت شده را مستقیماً بین لام و لامل قرار داده و یا یک قطره پتاس ۱۰ درصد به آن اضافه و در صورت لزوم گسترش تهیه و با روش گیمسا یا بلودومتیلن رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ بررسی شد. از نمونه هایی که در آزمایش میکروسکوپی آنها سلول های منفرد، کوچک، بیضی شکل با جدار نازک، جوانه دار یا بدون جوانه همراه با رشته های میسلیال و سلول هایی دارای لوله زایا و یا میسلیوم کاذب مشاهده شد، جهت انجام مراحل بعدی استفاده گردید.

کشت نمونه ها در محیط های سابورو دکستروز آگار+ کلر آمفنیکل+سیکلوهگزیمید (محیط SCC)، کورن میل آگار+توئین ۸۰ (CMA+TWEEN80) و محیط کروم آگار کاندیدا (CHROMagar candida).

ابتدا نمونه ها در محیط SCC که طبق دستور مربوطه در آزمایشگاه تهیه شد، بصورت خطی کشت و برای ۳ تا ۵ روز در حرارت ۲۵ تا ۳۰ در جه سانتیگراد نگهداری گردید. کشت ها هر روز از نظر رشد قارچی مورد بررسی قرار گـــرفتند. کلنی های حاصل سفید تـا کرم رنگ، صاف و براق بودند.

سپس کشت نمونه ها در محیط کورن میل آگار+ توئین ۸۰ (CMA+TWEEN80) انجام شد. این روش به منظور بررسی تولید کلامیدوسپور در *کاندیدا آلبیکنس* انجام گردید، زیرا این خاصیت مختص *کانـــدیدا آلبیـــکنس* است. بخش کوچکی از کلنی حاصل از کشت نمونه در محیط SCC را در محیط CMA+TWEEN80 تلقیح کرده و سپس ۳ تا ۵ روز در۲۵°C نگهداری گردید. سپس لامل تمیزی به اندازه mm^2 ۲۲×۲۲ را بر روی شعله، استریل کرده پس از خنک شدن، در قسمت وسط کشت خطی قرار داده و در حرارت اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. بعد از برداشتن در پلیت، کشت ها در زیر میکروسکوپ از نظر تشکیل کلامیدوسپور به کمک عدسی های شیئی بررسی شد.

همچنین توانایی تولید لوله زایا در سرم نیز بررسی گردید. این ویژگی نیز همانند تولید کلامیدوسپور در CMA+TWEEN80 مختص *کاندیدا آلبیکنس* است. ۰/۵ ml از سرم را در یک لوله آزمایش ریخته و سپس قسمت کوچکی از کلنی مخمری را در سرم امولسیفیه کرده و به مدت ۲ ساعت در حمام آب در دمای ۳۷ °C قرار دادیم. بعد از این مدت یک قطره از سرم را روی لام قرار داده و با گذاشتن لامل بر روی آن تولید لوله زایا بررسی شد.

در نهایت جهت تشخیص قطعی *کاندیدا آلبیکنس*، از کلنی آن در محیط کروم آگار کاندیدا بصورت خطی کشت و ۲ تا ۵ روز در۲۵ °C نگهداری شد. سیستم کروم آگار از مواد کروموژنیک برای شناسایی گونه ها استفاده می کند. این روش بر پایه واکنش بین آنزیم های اختصاصی گونه های مختلف از یک سو و سوبستراهای کروموژنیک از سوی دیگر است که منجر به تشکیل کلنی های رنگی متفاوت می شود. این سیستم، شناسایی احتمالی سریع *کاندیدا آلبیکنس*، تروپیکالیس، کـــروزه ای و دوبلینینسیس را امکان پذیر می کند.

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه رقت سریال از سوسپانسیون مخمری:

پس از تشخیص قطعی کاندیدا آلبیکنس توسط روش‌های فوق‌الذکر، مقداری از کلنی *کاندیدا آلبیکنس* را در سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و غلظت کاندیدای موجود در مخلوط را با استفاده از محلول های استاندارد مک فارلند و اسپکتروفتومتری استاندارد نمودیم.

تهیه غلظت استاندارد از سوسپانسیون کاندیدا آلبیکنس:

پس از تهیه سری محلول های مک فارلند، از لوله شماره ۰/۵ برای استاندارد غلظت کاندیدای حل شده در سرم فیزیولوژی استفاده کردیم، به این ترتیب که با استفاده از اسپکتروفتومتر کدورت سرم فیزیولوژی محتوی کاندیدا را با لوله شماره ۰/۵ محلول MF مقایسه کرده و تنظیم نمودیم. میزان جذب نوری لوله شماره ۰/۵ در طول موج ۶۴۰ nm =λ در حدود ۰/۱-۰/۰۸ می باشد و لذا با رقیق کردن سرم فیزیولوژی حاوی کاندیدا، سرانجام جذب نوری آن را در همین طول موج به ۰/۱-۰/۰۸ رساندیم. در این حالت به طور تقریبی در هر میلی لیتر سرم فیزیولوژی محتوی مخمر حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml سلول مخمری وجود دارد که غلظتی استاندارد جهت بررسی آثار ضد قارچی می باشد. اما از آنجا که همین غلظت نیز برای انجام شمارش کلنی های رشد کرده بر روی محیط کشت جامد خیلی زیاد است، از همین غلظت سوسپانسیونی مخمری، سری رقت تهیه نمودیم، به این ترتیب که ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون استاندارد شده را به ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل افزوده و رقت $۱۰^{-۱}$ از آن تهیه نمودیم و پس از آن با مخلوط کردن ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون با رقت $۱۰^{-۱}$ در ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل، رقت $۱۰^{-۲}$ را بدست آوردیم و این کار را تا تهیه رقت $۱۰^{-۴}$ ادامه دادیم.

تهیه غلظت سریال از اسانس آویشن در محیط کشت SCC

ابتدا در ۱۰ ارلن جداگانه، در هر کدام مقدار ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت SCC مطابق دستور مربوطه تهیه شد. در مرحله بعدی از اسانس آویشن (تهیه شده از شرکت دارویی باریج اسانس کاشان) به ارلن های اول تا نهم هر گروه به ترتیب با مقادیر ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲، ۰/۱۵۶، ۰/۰۷۸، ۰/۰۳۵، ۰/۰۰۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میلی لیتر اضافه گردید، لذا رقت های ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸۰، ۰/۳۹۰، ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میکرولیتر در هر میلی لیتر از محیط کشت بدست آمد. به ارلن دهم از هر گروه هیچ ماده ای اضافه نشد و از آن به عنوان کنترل استفاده گردید. تمام ارلن ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد، فشار ۱۵ پوند و به مدت ۱۵ دقیقه استریل و سپس محتویات هر ارلن درپتری دیش بطور مساوی درپتری دیش ها تقسیم شد.

کشت سوسپانسیون های کاندیدا آلبیکنس با رقت های مختلف در محیط کشت SCC حاوی غلظت های مختلف از اسانس آویشن:

جهت شمارش کلنی ها، از سوسپانسیون های *کاندیدا آلبیکنس* با پنج رقت $۱۰^{-۱}$ ،$۱۰^{-۲}$ ،$۱۰^{-۳}$ و $۱۰^{-۴}$ در محیط های کشت محتوی غلظت های مختلف اسانس، به صورت گسترش روی سطح (Spread plate method) کشت داده شد. به این ترتیب که در کنار شعله درب لوله اپندورف حاوی سوسپانسیون مخمری را باز و توسط سمپلر از سوسپانسیون برداشت و در محیط های کشت محتوی رقتهای مختلف، کشت و سپس کلیه نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در انکوباتور به مدت یک هفته انکوبه گردید.

بازدید و بررسی روزانه میزان رشد کلنی های قارچی:

پس از انکوباسیون، کلیه پتری دیش های تلقیح شده بصورت روزانه و به مدت یک هفته مورد بازدید قرار گرفته و تعداد کلنی های قارچی بطور جدا گانه شمارش و یادداشت گردید.

یافته ها:

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که اسانس آویشن دارای تاثیر بسیار مطلوبی بر ممانعت از

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۱: میزان رشد (تعداد کلنی) رقت های مختلف *کاندیدا آلبیکنس* در محیط های کشت محتوی غلظت های مختلف از اسانس آویشن در هفت روز متوالی

رقت سوسپانسیون	روز	غلظت اسانس در محیط کشت (µl/ml) ۰/۰۰۰	۰/۰۹۷۵	۰/۰۱۹۵
	۱	غیرقابل شمارش	–	–
	۲	غیرقابل شمارش	–	–
	۳	غیرقابل شمارش	–	–
۱۰	٤	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	–
	٥	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش
	٦	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش
	۷	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش
	۱	غیرقابل شمارش	–	–
	۲	غیرقابل شمارش	–	–
	۳	غیرقابل شمارش	–	–
$۱۰^{-۱}$	٤	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	–
	٥	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	۱٤۳
	٦	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	۱٤۳
	۷	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	۱٤۳
	۱	غیرقابل شمارش	–	–
	۲	غیرقابل شمارش	–	–
	۳	غیرقابل شمارش	–	–
$۱۰^{-۲}$	٤	غیرقابل شمارش	–	–
	٥	غیرقابل شمارش	۹٦	۳
	٦	غیرقابل شمارش	۹٦	۳
	۷	غیرقابل شمارش	۹٦	۳
	۱	غیرقابل شمارش	–	–
	۲	غیرقابل شمارش	–	–
	۳	غیرقابل شمارش	–	–
$۱۰^{-۳}$	٤	غیرقابل شمارش	–	–
	٥	غیرقابل شمارش	۳	–
	٦	غیرقابل شمارش	۳	–
	۷	**غیرقابل شمارش**	**۳**	–

– عدم وجود کلنی (عدم رشد)

در غلظت های ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ µl/ml اسانس آویشن در کلیه رقت های سوسپانسیون هیچ گونه کلنی مشاهده نگردید (عدم رشد)

www.SID.ir

Archive of SID

رشـــد *کاندیدا آلبیکنس* در محیط های کشت می باشد. بر طبق این نتایج حداقل غلظت مهار کننده اسانس آویشن به میزان ۰/۳۹۰ µl/ml در محیط کشت تعیین گردید. با کاهش غلظت آویشن در محیـــط کشت میزان مشاهده کلنی های حاصل از گسترش رقت های مختلف سوسپانسیونی *کاندیدا آلبیکنس* افزایش یافت، به طوری که با کاهش تعداد سلول های مخمری در سوسپانسیون یا به عبارتی افزایش رقت سوسپانسیون مخمری تعداد کلنی های رشد یافته در محیط های کشت کاهش نشان داده است که نشانگر اهمیت تعداد سلول های مخمری در توانایی رشد مخمر در محیط های کشت می باشد (جدول شماره ۲).

حداقل غلظت مهار کننده اسانس آویشن برای رقت های ۱۰، 10^{-1} و 10^{-2} برابر با ۰/۳۹۰ و برای رقت 10^{-3} و 10^{-4} به ترتیب برابر با ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میکرولیتر در هر میلی لیتر از محیط کشت تعیین شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC) اسانس آویشن در رقت های مختلف سوسپانسیون *کاندیدا آلبیکنس*

زمان (ساعت) / رقت سوسپانسیون	۲٤		٤٨	
	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
10^{0}	۰/۰۹۷۵	۰/۲۹۰	۰/۰۹۷۵	۰/۲۹۰
10^{-1}	۰/۰۹۷۵	۰/۱۹۵	۰/۰۹۷۵	۰/۰۱۹۵
10^{-2}	۰/۰۳۲۵	۰/۱۲۵	۰/۳۲۵	۰/۱۲۵
10^{-3}	۰/۰۱۷۵	۰/۰۵۷۵	۰/۰۱۷۵	۰/۰۵۷۵
10^{-4}	۰/۰۱۵	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۵

MIC= حداقل غلظت مهار کننده اثر رشد

بحث:

در مطالعه ما اثر ضد کاندیدایی *تیموس ولگاریس* با غلظت های مختلف در محیط کشت و بـــر روی رقت های سوسپانسیونی مختلف از کاندیدا بررسی شد و محیط های کشت حـــاوی اســـانس آویشـــن به میزان ۰/۳۹۰ (برای رقت های ۱۰، 10^{-1} و 10^{-2}) و ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میکرولیتر در هر میلی لیتر از محیط کشت (به ترتیب برای رقت 10^{-3} و 10^{-4}) از رشد *کاندیدا آلبیکنس* جلوگیری نمودند.

در مطالعه ای که توسط Akbari انجام گردید فعالیت ضد قارچی آویشن بر علیه ایزوله های *کاندیدا آلبیکنس* حساس و مقاوم به فلوکونازول بررسی ونتایج نشان داد که آویشن ارزش بالقوه ای در ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی دارد (۱۶).

فعالیت ضد قارچی روغن های ضروری *Saliva officialis* بر علیه *کاندیدا آلبیکنس* توسط Pinto و همکاران بررسی گردید، آنها اثر این گیاه را بر روی تنها چهار ایزوله *کاندیدا آلبیکنس* و چهار سویه ATCC بررسی نمودند (۱۷). در مطالعه ما اثر اسانس آویشن بر روی ۳۲ ایزوله و یک سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* بررسی شد و نتایج مشابهی را برای سویه های ایزوله شده و استاندارد در بر داشت.

در مطالعه Shahidi Bonjar در کرمان، فعالیت آنتی کاندیدای عصاره متانولی ۴۲ گونه گیاهی از ۲۹ خانواده مورد استفاده در پزشکی سنتی ایران بر روی *کاندیدا آلبیکنس* مقاوم به کلوتریمازول بررسی و گزارش نمود که ۱۹ گونه گیاهی از ۱۶ خانواده فعالیت ضد کاندیدا دارند و کمترین میزان MIC برابر با ۰/۶۲mg/ml و متعلق به *Terminalia chenbula* و *Thymus vulgaris* بود (۱۸). در مطالعه Goodner و همکاران پروفایل‌های آروماتیک *تیموس ولگاریس* توسط GC-MS/GS-O بررسی و ترکیبات آن اوکالیپتول، بورنئول، ترپینیل استات و β. Ionone، Myrtenol ، β. damasconone گزارش شد (۱۹).

Giordani و همکاران اثر ضد قارچی روغن های ضروری مختلف علیه *کاندیدا آلبیکنس* را بررسی و کاراترین تاثیر حاصل را مربوط به *تیموس ولگاریس*

www.SID.ir

Archive of SID

دانستند و حداقل میزان ممانعت کننده آویشن را ۰/۰۱۶µl/ml اعلام کردند (۲۰). در مطالعه ما نیز اثر آویشن بر ممانعت از رشد *کاندیدا آلبیکنس* بسیار خوب بود ولی MIC آن نسبت به MIC بدست آمده در مطالعه Giordani بالاتر بود که می توان دلیل آن را به تفاوت تیپ آویشن مورد استفاده و یا روش کار نسبت داد.

نتیجه گیری:

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که اسانس آویشن دارای تاثیر ضدکاندیدایی بسیار خوبی بوده و می توان از آن به منظور درمان عفونت های کاندیدایی استفاده نمود، لذا پیشنهاد می گردد در تحقیقات بعدی تاثیر این گیاه در عفونت های مختلف کاندیدایی در In vivo مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از معاونت و مدیریت محترم پژوهشی و سرکار خانم احمدی کارشناس حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان به خاطر تصویب و تامین هزینه های تحقیق وجناب آقای دکتر میرهندی به خاطر تهیه سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* تقدیر و تشکر می گردد.

منابع:

1. Hoepelman IM, Dupont B. Oral candidiasis: the clinical challenge of resistance and management. Int J Antimicro Ag. 1996; 6(3): 155-9.

2. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Candidiasis. In: Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical mycology. Philadelphia. Lea & Febiger. 1992; p: 280-336.

3. Hay RJ. The management of superficial candidasis. J Am Acad Dermatol. 1999 Jun; 40(6 pt 2): 35-42.

4. Naeini A, Khosarvi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Mycmed. 2009 June; 19(3): 168-72.

5. Johann S, Silva DL, Martins CVB, Zani CL, Pizzolatti MG, Resende MA. Inhibitory effect of extracts from Brazilian medicinal plants on the adhesion of *Candida albicans* to buccal epithelial cells. World J Microbiol Biotechnol. 2008; 24: 2459-64.

6. Noumi E, Snoussi M, Hajloui H, Valentin E, Bakhrouf A. Antifungal properties of *Salvadora Persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. Eur J Clin Microbiol Inf Dis. 2010; 29(1): 81-8.

7. Kuriyama T, Williams DW, Bagg J, Coulter WA, Ready D, Lewis MAO. In vitro susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. Oral Microbiol Immun. 2005; 20(6): 349-53.

8. Denis P, Lynch DDS. Oral candidiasis: History, classification and clinical presentation oral surge. Oral Med Oral Pathol. 1994 Aug; 78(2): 189-93.

9. Runyoro DKB, Ngassapa OD, Matee MIN, Joseph CC, Moshi MJ. Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* Infections. J Ethnopharmacol. 2006 Jun; 106(2): 158-65.

10. Pina-Vaz C, Rodrigues AG, Pinto E, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, et al. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. J Eur Acad Dermatol. 2004; 18(1): 73-8.

11. Zarei Mahmoudabadi A. [Antifungal drugs. First ed. Ahwaz. Medical Sciences University of Ahwaz Pub. 2002.]Persian

www.SID.ir

Archive of SID

12. Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL, Delarmelina C. Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2005 Feb; 97(2): 305-11.

13. Jordan MJ, Martinez RM, Goodner KL, Baldwin EA, Sotomayor JA. Seasonal variation of *thymus hyemalis* Lange and Spanish *thymus vulgaris* L. essential oils composition. Ind Crops Prod. 2006; 24(3): 253-63.

14. Al-Ramamneh EM. Plant growth strategies of *Thymus vulgaris* L. in response to population density. Ind Crops Prod. 2009; 30(3): 389-94.

15. Iten F, Saller R, Abel G, Rechling J. Additive antimicrobial effects of the active components of the essential oil of *Thymus vulgaris* Chemotype Carvacrol. Planta Med. 2009; 75: 1231-6.

16. Akbari S. Antifungal activity of *Thymus valgaris* L. and *Origanum vulgare* L. Against fluconazol-resistant and susceptible *Candida albicans* isolates. J Med Plants. 2007; 6(1): 53-62.

17. Pinto E, Salgueiro LR, Cavaleiro C, Palmeira A, Goncalves MJ. In vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. Ind Crops Prod. 2007; 26(2): 135-41.

18. Shahidi Bonjar GH. Inhibition of Clotrimazol-resistant *Candida albicans* by plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia. 2004; 75(1): 74-6.

19. Goodner KL, Mahattanatawee k, Plotto A, Sotomayor JA, Jordan MJ. Aromatic profiles of *Thymus vulgaris* and *Spanish T. vulgaris* essential oils by GC-MS/GC-O. Ind Crops Prod. 2006; 24(3): 264-8.

20. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikail C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oils of *Thymus vulgaris*. Phytother Res. 2005; 18(12): 990-5.

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2011 Aug, Sept; 13(3): 44-52.
Archive of SID
Original article

In vitro antifungal effect of *Thymus vulgaris* essence on *Candida albicans* isolated from patients with oral candidiasis

Zia MA (PhD)*[1], Bayat M (PhD)[2], Khalkhali H (BSc)3
[1]Basic Sciences Dept, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, [2]Veterinary School, Sciences and Researches Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [3]Microbiology Dept., Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran,
Received: 25/Apr/2010 Revised: 24/Jul/2010 Accepted: 1/Feb/2011

Background and aims: *Candida albicans* is the most common etiologic agent of diseases caused by yeasts of *Candida* genus. The treatment of these infections is necessary because they may spread in neutropenic and immunosuppressed patients. Fungi resistance to some antifungal drugs is being increased. In addition, many of these drugs are toxic and expensive. Therefore, the study of natural plant products which can be effective against these fungi is necessary. Among the plants which have shown *in vitro* efficient biologic activity, is *Thymus vulgaris.* Thus the aim of this research was to study the inhibitory effect of *Thymus vulgaris* essence on of *Candida albicans* growth.
Methods: In this research, fifty patients with oral candidiasis were studied. The obtained swab samples were cultured on Sabouraud Dextrose Agar supplemented with cycloheximide and chloramphenicol (SCC) medium, finally with performance of supplementary tests. 32 isolates were recognized as *Candida albicans.* Then we added *Thymus vulgaris* essence to SCC medium in different concentrations and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the essence was accounted for different suspension dilutions of *Candida albicans.*
Results: The MIC of the *Thymus vulgaris* essence for the dilutions of 10^0, 10^{-1} and 10^{-2} of *Candida albicans* was 0.390µl/ medium and for dilutions of 10^{-3} and 10^{-4} were 0.195 and 0.0975 µl/ medium.
Conclusion: The *Thymus vulgaris* essence has a very good antifungal effect against *Candida albicans* so that low amounts it can inhibit *Candida albicans* growth.

***Keywords: Candida albicans,* Oral candidiasis, *Thymus vulgaris* essence**.

Cite this article as: Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. [In vitro antifungal effect of *Thymus vulgaris* essence on *Candida albicans* isolated from patients with oral candidiasis. J Sharekord Univ Med Sci. 2011 Aug, Sept; 13(3): 44-52.] Persian

***Corresponding author:**
Basic Sciences Dept, Islamic Azad University, Khorasgan, Isfahan, Iran, Tel: 0098-311441414668, E-mail:mohammadalizia@yahoo.com

www.SID.ir