Archive of SID

مقایسه اثر مهاری اسانس گیاه آویشن مرتعی (*Thymus Eriocalyx*) و آویشن کوهی (*Thymus Kotschyanus*) با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکانس

مینا جزایری*، شهربانو رعدی، حمید رضا عبدالصمدی***، آزاده مدنی پور****، لیدا سمیع*#**

* استادیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

** متخصص بیماری‌های دهان، فک و صورت

*** استاد بیماری‌های دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

**** دندانپزشک

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۹/۱۵ - تاریخ پذیرش : ۹۵/۲/۷

Comparison the Inhibitory Effects Of Essential Oil of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* with Nystatin on *Candida Albicans* Growth - *In Vitro* Study

Mina Jazayeri*, Shahrbanou Radi, Hamid Reza Abdosamadi***, Azadeh Madani Pour****, Lida Samie*#**

** Assistant Professor, Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamadan University of Medical of Sciences, Hamadan, Iran.*

*** Oral Medicine*

**** Professor of Oral Medicine, Dental Research Center, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.*

***** Dentist*

Received: 6 December 2015 ; Accepted: 26 April 2016

Introduction: Viewing to the increased incidence of candidiasis, the bitter taste of nystatin, and the need for its repeated administration, the role of medicinal plants as well as global trends in herbal medicine, the present study was performed to compare the inhibitory effect of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* with nystatin on the growth of *Candida albicans*.

Materials & Methods: In this *in vitro* study the minimum inhibitory and fungicidal concentration of essential oils of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* on the growth of *Candida albicansans* was determined and then the diameter of growth inhibition of the two plants adjacent minimum inhibitory and fungicidal concentration were compared with inhibition zone of nystatin. Data was analysed by SPSS using one-way ANOVA at the significance level of 0.05.

Results: In this study the minimum inhibitory concentration of plant *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* was 4.2 µl/ml and 3.3 µl/ml respectively and minimum fungicidal concentrations of these two plants, was 4.2µl/ ml and 4 µl/ ml, respectively. The diameter of growth inhibition zone of *Thymus eriocalyx* in MIC and MFC was 19.5 mm and 18.95 mm; respectively. These diameters were 18.4 mm and 21.05 mm for *Thymus kotschyanus* in MIC and MFC; respectively. The results of statistical analysis showed no significant difference between the diameter of growth inhibition zone of essential oils and nystatin (P>0.05).

Conclusion: Based on the results of present study, the essential oil of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* have appropriate inhibitory effects on the growth of the *Candida albicans*. The inhibitory effect of these essential oils is comparable with nystatin.

Key words: Candida albicans, thymus eriocalyx, thymus kotschyanus, nystatin.

 # Corresponding Author: samie.maryam@yahoo.com, Lida.samie@umsha.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 133-42 .

مولف مسؤول، نشانی: همدان،بلوار شهید فهمیده،روبروی پارک مردم،دانشکده دندانپزشکی،گروه بیماری‌های دهان،فک و صورت،تلفن: ۰۸۱-۳۸۲۴۶۰۱۴

E-mail: samie.maryam@yahoo.com, Lida.samie@umsha.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

چکیده

مقدمه: با توجه به شیوع عفونت‌های قارچی، طعم تلخ نیستاتین و نیاز به مصرف مکرر آن، جایگاه گیاهان دارویی و گرایش جهانی به طب گیاهی مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی بر روی رشد کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با نیستاتین انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس آویشن مرتعی و آویشن کوهی بر رشد کاندیدا آلبیکانس بررسی گردید، سپس قطر هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکانس در مجاورت حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس‌ها با قطر هاله عدم رشد کاندیدا در مجاورت نیستاتین مقایسه گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک سویه در سطح معنی‌داری $P=۰/۰۵$ ارزیابی شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری گیاه آویشن مرتعی و آویشن کوهی به ترتیب ٤/۲ µl/ml و ۳/۳ µl/ml و حداقل غلظت قارچ کشی این دو گیاه هم به ترتیب ٤/۲ µl/ml و ٤ µl/ml محاسبه گردید. اندازه هاله عدم رشد گیاه آویشن مرتعی در مجاورت حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی به ترتیب ۱۹/۵ و ۱۸/۹۵ میلی‌لیتر و برای گیاه آویشن کوهی به ترتیب ۱۸/٤ و ۲۱/۰۵ میلی‌متر بود. نتایج آزمون آماری نشان داد این مقادیر تفاوت معنی‌داری با نیستاتین نداشتند. ($P>۰/۰۵$)

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، اسانس دو گیاه مورد مطالعه در حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی خود، دارای اثر مهاری مناسبی بر روی رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشد و اثر مهاری آن‌ها قابل مقایسه با نیستاتین است.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، آویشن مرتعی، آویشن کوهی، نیستاتین.
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤۰ / شماره ۲ : ٤۲-۱۳۳ .

مقدمه

کاندیدا مخمر گرد و بیضی شکل با قطر ۳ تا ۳۰ میکرومتر است. تولید مثل آن غیرجنسی و از طریق فرایند جوانه زدن است.[۱] کاندیدا شامل ۱۵۰ گونه می‌باشد[۲] که تنها تعداد کمی از انوع آن از بدن انسان جدا شده است.[۳] در افراد سالم کاندیدا عمدتاً در سطوح مخاطی حفره دهان، دستگاه گوارش، دستگاه ادراری و واژن بدون ایجاد بیماری، کلونیزه می‌شود.[٤]

کاندیدا جزء فلور طبیعی دهان است و در ۲۰-۵۰ درصد از جمعیت سالم وجود دارد.[۵] این میکروارگانیسم از بسیاری از انواع قارچ‌های موجود در حفره دهان شایع‌تر است و از گونه‌های کاندیدای جدا شده در حفره دهان می‌توان به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کروزئی، کاندیدا گوئیلیرموندی، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا دابلینینسیس و کاندیدا لوزیتانیه اشاره کرد.[۱] دهان به واسطه وجود مواد غذایی، دبری‌های اپی‌تلیالی و مواد ترشحی، محیطی مطلوب برای زندگی گروه وسیعی از میکرو ارگانیسم‌ها فراهم می‌آورد.[٦] عفونت کاندیدایی در صورت وجود عوامل مستعدکننده موضعی یا سیستمیک برای رشد قارچ، به صورت یک عفونت فرصت طلب تظاهر می‌یابد.[۵] حدود ۹٦ درصد از قارچ های فرصت طلب، ناشی از گونه‌های کاندیدا هستند[٤]، به طوری که بیشترین عفونت‌های سطحی و مخاطی در انسان به وسیله کاندیدا آلبیکانس ایجاد می‌شوند.[۷] کاندیدا آلبیکنس دارای فاکتورهای پاتوژنسیتی است که باعث رشد بیشتر این گونه نسبت به سایر گونه‌های کاندیدا می‌شود.[۱] افزایش شیوع کاندیدیازیس به استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ایمونوساپرسیو نسبت داده شده است. در این میان کاندیدا آلبیکنس نقش مهمی را در کاندیدیازیس دهانی، دنچر استوماتیت و پریودنتیت شدید ایفا می‌کند.[۸]

برای درمان عفونت‌های کاندیدایی بسته به وسعت ضایعه و وضعیت بیمار از درمان‌های موضعی یا سیستمیک استفاده می شود.[۹] از جمله درمان‌های مورد استفاده در

www.SID.ir

Archive of SID

عفونت‌های کاندیدیازیس می‌توان به آمفوتریسین B، آزول‌ها و پلی انها اشاره کرد.[۱۰] نیستاتین یک آنتی‌بیوتیک پلی ان (Polyene) است که استفاده گسترده‌ای دارد. زیرا علیه بسیاری از قارچ‌های بیماری زا مانند کاندیدا و آسپرژیلوس بسیار مؤثر است. استفاده از آن در سال‌های اخیر در نتیجه افزایش قابل توجه در عفونت‌های قارچی، افزایش یافته است. دهانشویه‌های حاوی این دارو برای پیشگیری و درمان عفونت‌های قارچی به ویژه برای بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی استفاده می‌شود. اگر چه نیستاتین در درمان کاندیدیازیس دهانی به عنوان داروی انتخابی در نظر گرفته می‌شود، اما می‌تواند سبب برخی مشکلات قابل توجه از جمله آسیب کلیه شود.[۹] هم چنین نیستاتین می‌تواند باعث تهوع، استفراغ و اسهال شود.[۱۰] طعم تلخ دهان شویه نیستاتین و هم چنین احتمال افزایش بروز پوسیدگی دندانی به علت افزودن شیرین‌کننده‌ها منجر به عدم رضایت بیماران می‌شود.[۱۱]

جنس آویشن یکی از جنس‌های مهم خانواده نعناع و از مشهورترین جنس‌های متعلق به گیاهان اسانس دار است.[۱۲] آویشن یکی از مهم ترین گیاهان دارویی ایران است، که به دلیل داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول دارای خواص دارویی ضدمیکروبی، ضدباکتریایی و ضدنفخ می باشد. جنس آویشن (Thymus L) به جهت دارا بودن اسانس‌های روغنی، کاربردهای وسیعی در صنایع دارویی و غذایی دارد.[۱۳]

اسانس گل و برگ این گیاهان دارای اثر ضداسپاسم، ضدنفخ، ضدروماتیسم و ضدعفونی‌کننده قوی می‌باشد. در داروسازی از اسانس آویشن برای تهیه محلول‌های دهان شویه و شربت‌های ضدسرفه استفاده شده است.[۱۳]

در سال‌های اخیر علاقه فزاینده‌ای به استفاده از ترکیبات طبیعی و گیاهی به وجود آمده و ابهامات مربوط به ایمن بودن داروهای سنتتیک باعث علاقه به مطالعات بیشتر در مورد منابع گیاهی شده است.[۱۴] جایگاه گیاهان دارویی در طب سنتی کشور ما و دسترسی به منابع غنی گیاهی از یک سو و مشکلات موجود در درمان کاندیدیازیس دهانی از سوی دیگر عاملی برای بررسی دقیق‌تر داروهای گیاهی بوده است.[۱۵] بنابراین کشف گیاهان دارویی که تأثیرات ضدمیکروبی داشته باشند، برای کاهش عوارض جانبی و کم کردن اثرات سمی روی بافت‌ها و همچنین از لحاظ صرفه اقتصادی بسیار مورد توجه است.[۱۶]

با توجه به گرایش جهانی به طب گیاهی در سال‌های اخیر و خواص آنتی‌بیوتیکی آویشن و از آن جایی که گونه‌های مختلف این گیاه در مناطق غربی ایران در دسترس می‌باشد[۱۳]، مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکنس انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی-آزمایشگاهی بود، که به منظور مقایسه اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکنس انجام شد. به جهت انجام مطالعه، گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی از باغ گیاهان دارویی بوعلی سینا در اردیبهشت سال ۹۳ تهیه گردید.

نمونه‌های گیاهی از سر شاخه‌های گیاهان (شامل گل و برگ‌ها) در مرحله گل دهی از باغ گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان جمع آوری شد، و بعد از جدا کردن خار و خاشاک، برای مدتی در محیط آزمایشگاه (در سایه) قرار داده شدند؛ تا خشک گردند. تهیه اسانس به روش تقطیر با بخار آب (Hydrodistillation) توسط دستگاه کلونجر (ایران، تهران، امیل پیرکس) انجام گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

به علت فرار بودن اسانس گیاه، دقایقی قبل از شروع کار، مقدار ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک و پاک شده گیاهان جمع آوری شده، با آسیاب برقی خرد شد. گیاه پودر شده داخل بالن ژوژه دستگاه کلونجر ریخته و به آن ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جریان آب سرد برقرار و فرآیند تقطیر به مدت دو ساعت انجام شد. بعد از دو ساعت، هیتر دستگاه خاموش شده و حجم اسانس جمع شده با کمک درجات روی بورت دستگاه، مشخص و یاداشت شد. آب زدایی توسط سدیم سولفات فاقد آب انجام گرفت و سپس اسانس‌ها در ویال‌های سیل شد. جمع آوری شد و تا زمان استفاده در مکان تاریک و در دمای اتاق نگه داری شد. اسانس‌های تهیه شده جهت استریلیزاسیون برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو (ایران، اصفهان، فراز مهر) قرار داده شد.

کاندیدای مورد استفاده در مطالعه حاضر سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (ATCC5982) بود که از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی کشور) تهیه شد. کشت قارچ‌ها در محیط سابرو دکستروز آگار (Merk, Darmstadt, Germany (SDA) انجام شد. طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت پیشنهادی کارخانه، ٦٥ گرم از پودر محیط کشت با دقت وزن گردید. نصف حجم آب مورد نیاز جهت انحلال پودر محیط کشت SDA (۵۰۰cc) داخل ظرف ریخته شد و سپس مقدار وزن شده پودر مذکور، به آن اضافه گردید. محلول مذکور ٤ دقیقه به تندی تکان داده شد و سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد.

محیط کشت تهیه شده، برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو قرار گرفت و بعد از استریلیزاسیون، زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید، با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم گردید.

جهت تهیه سوسپانسیون قارچی با غلظت استاندارد، زنجیره‌های قارچی درون سرم فیزیولوژی غوطه‌ور شدند و دانسیته سلول‌های قارچی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تنظیم شد. جهت تنظیم دانسیته مناسب از دستگاه اسپکتروفتومتری (UK، Staffordshire، JENWAY) در طول موج ۵۳۰ نانومتر استفاده شد. جهت کسب سوسپانسیون قارچی با غلظت ۰/۵ مک فارلند که حاوی $1-1/5\times10^{8}$ cell/ml است و غلظتی استاندارد جهت بررسی آثار ضدقارچی است؛ کدورت سوسپانسیون قارچی به نحوی تعیین شد، که میزان جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتری دستگاه اسپکتروفوتومتر، معادل ۰/۱- ۰/۰۸ باشد.

جهت اندازه گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) روش Broth microdilution برای رقیق‌سازی اسانس‌ها به کار برده شد. برای رقیق سازی اسانس‌ها محلول رقیق‌کننده Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) (Sigma, St.Louis, USA) بافر شده با 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS) (Sigma, St.Louis, USA) که بر قارچ مورد مطالعه هیچ اثری ندارد، استفاده شد. اسانس‌ها با حلال به نحوی رقیق شدند که رقت آن‌ها از ١٦µl/ml تا ۰/۰٦ µl/ml باشد.[۱۷]

طبق پروتکل، رقت‌های سریالی، در میکروپلیت‌های ٩٦ خانه ای (تصویر ۱) به حجم ۱۰۰ میکرولیتر برای هر چاهک تهیه شد، به طوری که چاهک اول حاوی بیشترین غلظت (١٦ µl/ml) و چاهک آخر حاوی کم‌ترین غلظت (۰/۰٦ µl/ml) اسانس بود. در ادامه ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تلقیحی نهایی به هر چاهک اضافه شد. به عنوان کنترل مثبت (Growth control) از ۰/۱ میلی‌لیتر

www.SID.ir

Archive of SID

سوسپانسیون میکروبی درون محلول رقیق‌کننده بدون اضافه کردن اسانس و به عنوان کنترل منفی (Sterility Control) از ۲۰۰ میکرولیتر محلول تلقیح نشده استفاده شد. در ادامه میکروپلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت انکوبه شدند.

تصویر ۱ : میکروپلیت ۹٦ خانه ای

جهت خواندن نتایج MIC[1] از روش چشمی (Visual) استفاده شد. در این روش MIC یعنی پایین‌ترین غلظت دارویی که بعد از ٤٨ ساعت انکوباسیون هیچ رشد قارچ قابل مشاهده‌ای در مقایسه با رشد قارچ حفره کنترل رشد (Growth control) در آن دیده نشد و کدورت آن از لحاظ چشمی معادل حفره کنترل منفی بود، تعیین گردید.

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC)[2] از محتویات چاهک‌های مختلف که حاوی غلظت‌های کمتر اسانس بوده و رشد کاندیدا در آن مشاهده نشده بود، ۱۰ میکرولیتر به محیط SDA برده شد و کمترین غلظتی از اسانس که رشد کمتر از ٤ کلونی (نشانگر کشتن ۹۹ درصد قارچ‌های اولیه) را نشان داد، به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

برای بررسی هاله عدم رشد از روش دیسک گذاری استفاده شد. پلیت‌هایی (با قطر ۸ سانتی‌متر) با ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) پر شد. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده از کشت تازه کاندیدا آلبیکنس، ٤٨ ساعته در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر به کدورت معادل نیم مک فارلند با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل، روی سطح پلیت‌ها به طور یکنواخت تلقیح گردید. دیسک‌های بلانک در ۱۰ میکرولیتر از هر اسانس در دو غلظت MIC و MFC هر دو گیاه مورد آزمایش تعلیق شد و روی پلیت‌ها قرار داده شدند؛ همین کار برای نیستاتین با غلظت µg/ml ٤٢ که معادل MIC نیستاتین در محیط کشت کاندیدا آلبیکنس بوده است، هم انجام گرفت. نیستاتین با غلظت µg/ml ٤٢ از شرکت جابر بن حیان (ایران، تهران) تهیه گردید. یک دیسک در ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده جهت تست کنترل منفی تعلیق شد و بر روی پلیت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و پس از گذشت زمان مورد نظر، تشکیل هاله عدم رشد در پیرامون دیسک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد با خط کش بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد (تصویر۲). هاله عدم رشد MIC و MFC هر دو گیاه و هم چنین نیستاتین به وسیله ۱۰ دیسک بررسی و میانگین آن‌ها محاسبه شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک سویه در سطح معنی‌داری P=۰/۰۵ ارزیابی شد.

1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
2. Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

www.SID.ir

Archive of SID

تصویر ۲ : قطر هاله عدم رشد

یافته‌ها

در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری برای گیاه آویشن مرتعی، ٤/۲ µl/ml و برای گیاه آویشن کوهی، ۳/۳ µl/ml به دست آمد؛ هم چنین طبق نتایج مطالعه حاضر میزان حداقل غلظت کشندگی قارچی گیاه آویشن مرتعی، ٤/۲ µl/ml و گیاه آویشن کوهی، ٤µl/ml بود.

جدول ۱، میانگین هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به اسانس گیاهی در دو غلظت MIC و MFC و نیز دیسک‌های حاوی نیستاتین را نشان می‌دهد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به داروی نیستاتین و کمترین آن مربوط به حداقل غلظت مهاری (MIC) آویشن کوهی بوده است.

نتایج آنالیز واریانس یک سویه جهت مقایسه میزان هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به داروی نیستاتین و گیاهان مورد بررسی در دو غلظت MIC، MFC نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در قطر هاله عدم رشد عصاره‌های گیاهان مورد بررسی بود (*P*=۰/۷۲٤).

جدول ۱ : میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت سابرو دکستروز آگار در مجاورت نیستاتین و اسانس‌های گیاهی بر حسب میلی‌متر

متغیر	میانگین	انحراف معیار	کمینه	بیشینه	نتیجه آزمون آنالیز واریانس
هاله عدم رشد نیستاتین	۲۱/۳۵	۵/۵٤	۱۵	۳۰/۵	F=۰/۵۱٦
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن مرتعی در غلظت MIC	۱۹/۵۰	۵/۷۷	۱۲	۲۹	*P*=۰/۷۲٤
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن کوهی در غلظت MIC	۱۸/٤۰	٤/۰۱	۱۱	۲۵	
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن مرتعی در غلظت MFC	۱۸/۹۵	۵/٦۳	۱۰	۲۸	
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن کوهی در غلظت MFC	۲۱/۰۵	۷/۱۳	۱٤	۳۵	

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، اسانس آویشن مرتعی و آویشن کوهی در غلظت‌های حداقل مهاری و قارچ کشی، اثر بازدارنده بر روی رشد کاندیدا دارند. این نتیجه هم راستا با نتایج برخی دیگر از مطالعات[۲۱-۱۸] می‌باشد که همگی اثر مهاری Thymus vulgaris بر کاندیدا آلبیکنس را تایید نموده‌اند. هدف مطالعه حاضر مقایسه اثر اسانس این دو گیاه با نیستاتین به عنوان استاندارد عفونت دهانی کاندیدا آلبیکنس بود.

در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی به روش Broth microdilution بر رشد کاندیدا آلبیکنس بررسی گردید. قبل از معرفی روش Broth microdilution، روش غالب Macrodilution بوده است. این دو روش از جنبه‌های مختلف از جمله محیط کشت و زمان مورد نیاز متفاوت هستند. مطالعات مختلف برتری و دقت بیشتر روش Broth microdilution را اثبات کرده‌اند. به همین دلیل در این مطالعه از روش Broth microdilution استفاده گردید.[۲۲]

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی آویشن مرتعی و آویشن کوهی به ترتیب ٤/۲ و ۳/۳ بود. در مطالعه نائینی و همکارانش[۲۳] حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت قارچ کشی آویشن کوهی بر روی سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس به روش Broth macrodilution، µg/ml ۳۰۰ محاسبه گردید. با توجه به وزن مولکولی اسانس تهیه شده و مقادیر ماده مؤثر این اسانس‌ها، مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر با مقادیر مطالعه نائینی همسو می‌باشد.

مطالعه امینی و همکارانش[٢٤] مهار رشد ۱۰۰ درصد پاتوژن‌های مورد بررسی به وسیله اسانس آویشن کوهی در غلظت µl/l۲۰۰ را نشان داد. پاتوژن‌های مورد بررسی در این مطالعه Pythium aphanidermatum، Rhizoctonia solani، Fusarium graminearum و sclerotiorum Sclerotinia بودند. رسولی و همکارانش[۲۵] حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی اسانس آویشن مرتعی بر آسپرژیلوس نیجر را به ترتیب ppm ۱۲۵ و ppm۲۵۰ محاسبه نمودند. به نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در مقادیر گزارش شده در غلظت‌های MIC و MFC در مقالات مختلف، ناشی از تفاوت بین سوش‌های بررسی شده در تحقیقات مختلف است.

در مطالعه دیگری، نشان داده شده است که حضور مقادیر متوسط از اسانس آویشن ولگاریس کموتایپ تیمول (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ µg/ml) و آمفوتریسین B در محیط کشت، در کاهش ۸۰ درصد حداقل غلظت مهاری آمفوتریسین B نقش دارد. این مطالعه، اسانس‌های کموتایپ تیمولی یا عصاره متانولی گیاه آویشن جهت بررسی اثربخشی در مهار رشد کاندیدا استفاده شد؛ که وجود همین دو نوع ماده شیمیایی با خواص آنتی‌میکروبیال می‌تواند باعث تفاوت در نتایج مطالعات فوق با مطالعه حاضر باشد.

آویشن دارای گونه‌های متعددی است، که از میان گونه‌های آویشن ۱۸ گونه در ایران شناسایی شده است. Thymus vulgaris یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس آویشن است؛ خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی این گونه به اثبات رسیده است. تیمول و کارواکرول از اجزای اصلی آویشن (Thymus) هستند. با توجه به منابع، هر دوی این مواد جزء ترکیبات فنلی، دارای ساختمان شیمیایی یکسان و از عوامل قوی ضدمیکروبی هستند. به نظر می‌رسد تیمول نسبت به کارواکرول نقش مهمتری در افزایش خاصیت ضدمیکروبی ایفا می کند. هم چنین ثابت

www.SID.ir

Archive of SID

شده است که واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقش مهمی در تعیین اثر ضدمیکروبی گیاه ایفا می کند. تیمول و کارواکرول دارای اثرات سینرژیستی می باشند.[۲۷]

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، اسانس دو گیاه آویشن مرتعی و آویشن کوهی در حداقل غلظت مهاری رشد کاندیدا آلبیکنس و حداقل غلظت قارچ‌کشی آن، دارای اثر مهاری مناسبی بر روی رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که اثر مهاری اسانس این دو گیاه در محیط آزمایشگاه قابل مقایسه با نیستاتین است.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه خانم آزاده مدنی پور به شماره ۷٦٤ جهت دریافت دکتری عمومی دندانپزشکی، که با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان، انجام شده است، استخراج گردیده است. بدین وسیله نویسندگان مراتب تقدیر خود را از آن معاونت محترم اعلام می‌دارند.

منابع

1. Castellote LC, Soriano YJ. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. J Clin Exp Dent 2013; 5(5): 279-86.
2. Ayatollahi Mousavi SA, Khalesi E, Shahidi Bonjar GH, Aghighi S, Sharifi F, Aram F. Rapid molecular diagnosis for Candida species using PCR-RFLP. Biotechnol 2007; 6(4): 583-7.
3. Bondaryk M, Kurzątkowski W, Staniszewska M. Antifungal agents commonly used in the superficial and mucosal candidiasis treatment: Mode of action and resistance development. Postep Derm Alergol 2013; 30(5): 293-301.
4. Jontell M, Holmstrup P. Red and White Lesions of the Oral Mucosa. In: Greenberg MS, Glick M, Ship JA. Burket's Oral Medicine. 11th ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2008. P. 77-106.
5. The Bacterial Flora of Humans. 2007; (12-16). Access June 29, 2008.Avaiable at: http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html /
6. Borges M, Degreef H, Cauwenbergh G. Fungal infections of the skin: Infection process and antimycotic therapy. Curr Drug Targets 2005; 6(8): 849-62.
7. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against Candida albicans. J Antimicrob Chemother 2004; 53(2): 225-9.
8. Little JW, Falace DA, Miller CS. Dental management of the medically compromised patient. 6th ed. St. Louis: Mosby Co; 2002. P. 152.
9. Rosato A, Vitali C, Piarulli M, Mazzotta M, Argentieri MP, Mallamaci R. *In vitro* synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of Origanum vulgare and Pelargonium graveolens against some Candida species. Phytomedicine 2009; 16(10): 972-5.
10. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD. Guidelines for treatment of candidiasis. Clin Infect Dis 2004; 38(2): 89-161.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. *In-vitro* study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of Candida albicans. J Islamic Dent Assoc 2007; 19(2): 91-7. (Persian)
12. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. Labiateae family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to pharmacology. Iran J pharm Res (LIPR) 2005; 2: 63-79. (Persian)
13. Kalvandi R, Atri M, Jamzad Z, Safikhani K. Taxonomic study of Thymus eriocalyx (Ronniger) Jalas in Iran with emphasis on Floristic marker and using special station method. Taxonomy and Biosystematics 2012; 10(1): 63-76. (Persian)
14. Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of Achillea wilhelmsii against pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci 2011; 13(3): 9-14. (Persian)
15. Ghasemi Pirbalouti A, Karimi A, Yousefi M, Enteshari S, Golparvar AH. Diversity of Thymus daenensis Celak in Central and West of Iran. J Med Plants Res 2011; 5(4): 319-23.
16. Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. *In-vitro* study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of Candida albicans. JIDA 2007; 19(2): 91-7. (Persian)
17. Francesco B, Arnaldo LC, Deanna A. Comparative study of broth macrodilution and microdilution techniques for *in vitro* antifungal susceptibility testing of yeasts by using the national committee for clinical laboratory standards' proposed standard. J Clin Microbiol 1994; 32(10): 2494-500.
18. Shahidi Bonjar GH. Inhibition of clotrimazole-resistant Candida albicans by plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia 2004; 75(1): 74-6.
19. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcioni L, Cioni PL, et al. The inhibition of Candida albicans by selected essential oils and their major components. Mycopathologia 2005; 159(3): 339-45.
20. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikaïl C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential oils against Candida albicans. Potentiation of antifungal action of Amphotericin B by essential oil from Thymus vulgaris. Phytother Res 2004; 18(12): 990-5.
21. Lahooji A, Mirabolfathy M, Karami-Osboo R. Effect of Zataria multiflora and Satureja hortensis essential oils, thymol and carvacrol on growth of Fusarium gramineum isolates and deoxynivalenol production. Iran J Plant Pathol 2010; 46(1): 11-3. (Persian)
22. Kumar R, Shrivastava S, Chakraborti A. Comparison of broth dilution and disc diffusion method for the antifungal susceptibility testing of Aspergillus flavus. Am J Biomed Sci 2010, 2(3), 202-8.
23. Naeini A, Khosravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. J Mycol Med 2009; 19(3): 168-72.
24. Amini M, Safaie N, Salmani MJ, Shams-Bakhsh M. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. Trakia J Sci 2012; 10(1): 1-8.
25. Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. *In vitro* antifungal effect of thymus vulgaris essence on Candida Albicans isolated from patient with oral candidiasis. J Shahrekord Univ Med Sci 2011; 13(3): 44-52.

www.SID.ir

Archive of SID

26. Hoseini S, Rudbar mohammadi SH, Joshaghani, HR. Evaluation of antifungal activity of essential oil of Carvacrol on standard strains and Fluconazole-resistance Candida albicans. Med Laboratory J 2012; 5(2): 28-33. (Persian)
27. Mahbobi M, Faiz abadi MM. Antimicrobial effect of essential oils of thyme, marjoram, savory and eucalyptus on bacteria Escherichia coli, Salmonella typhimurium and Qar Chhay Aspergillus niger, Aspergillus flavus. J Med Plant 2009; 8(2): 137-44.

www.SID.ir