جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه اثر ضدقارچی گیاه شیرین بیان با نیستاتین در محیط آزمایشگاه

دکتر فاطمه اربابی کلاتی[۱+]- دکتر مهسا پورزمانی[۲]

۱- استادیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان و عضو مرکز تحقیقات ژنتیک در بیماری‌های غیرواگیر، زهدان، ایران

۲- استادیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، کرمان، ایران

Comparison the antifungal effect of licorice and nystatin, invitro study

Fateme Arbabi-Kalati[1†], Mahsa Porzamani[2]

1†- Assistant Professor, Department of Oral Medicine, Genetics of Non Communicable Disease Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran (farbabi@razi.tums.ac.ir)
2- Assistant Professor, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Background and Aims: Candida Albicance is one of the most common oral opportunistic infection. Antifungal drugs have several side effects as well as bad taste. Licorice is one of the oldest drugs in Iranian traditional medicine. It has antibacterial and antiviral effects; however, there are a few studies about its antifungal. Therefore, this study was designed for *in vitro* evaluation of the antifungal effect of licorice.
Materials and Methods: Candida Albiance (TIMM 2640) was cultured. After licorice extract was prepared, its antifungal effect was compared with that of nystatin using agar diffusion method.
Results: Diameter of inhabitation zone was 32.60±0.84 mm in nystatin group and almost zero in licorice groups. There was statistically significant difference between nystatine and licorice extract (P=0.002).
Conclusion: Based on the result of this in vitro study, licorice extract did not show any antifungal effect.

Key Words: Licorice; Candida Albicance; Antifungal drugs

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2013;26(1):71-4

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین عفونت فرصت طلب حفره دهان می‌باشد. داروهای ضدقارچ موجود عوارض متعدد و طعم نامطلوب دارد. شیرین بیان یکی از قدیمی‌ترین داروهای مورد استفاده در طب سنتی ایران است که اثرات ضد ویروسی و ضد باکتریال شناخته شده دارد اما مطالعات درباره اثرات ضد قارچی آن محدود است، بنابراین مطالعه حاضر جهت بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی گیاه شیرین بیان طراحی شد.

روش بررسی: در این مطالعه کاندیدا آلبیکنس شماره TIMM 2640 در محیط مناسب کشت داده شد و پس از عصاره‌گیری، شیرین بیان با غلظت مناسب تهیه شد و به وسیله روش انتشار دیسک کاغذی فعالیت ضد قارچی این گیاه در مقایسه با نیستاتین ارزیابی شد. بررسی یافته‌ها از آنالیز ANOVA انجام شد.

یافته‌ها: مطالعه حاضر نشان داد که هاله عدم رشد در گروه نیستاتین ۳۲/۶±۰/۸۴ میلی‌متر و در گروه شیرین بیان نزدیک صفر بود و اثرات ضد قارچ گیاه شیرین بیان در مقایسه با نیستاتین بسیار کمتر بود (P=۰/۰۰۲).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه گیاه شیرین بیان در محیط آزمایشگاه فاقد اثرات ضد قارچی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: شیرین بیان؛ کاندیدا آلبیکنس؛ داروهای ضد قارچ

وصول: ۹۱/۰۳/۰۱ اصلاح نهایی: ۹۱/۰۹/۳۱ تأیید چاپ: ۹۱/۱۰/۰۵

+ مولف مسوول: زاهدان- آزادگان شرقی- دانشگاه علوم پزشکی زاهدان- دانشکده دندانپزشکی- گروه آموزشی بیماری‌های دهان
تلفن: ۲۴۴۱۸۱۴ نشانی الکترونیک: farbabi@razi.tums.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس یک قارچ دو شکلی است که سبب بیماری‌های منتشر و موضعی در افراد مختلف می‌شود و یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد ناتوانی‌ها در بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی می‌باشد (۱). همچنین در افراد سالم سبب بیماری‌هایی مانند استوماتیت ناشی از دنچر می‌گردد که درمان آن از جمله رایج‌ترین اقدامات درمانی در حیطه کار بیماری‌های دهان است، همچنین عفونت‌های منتشر قارچ کاندیدا آلبیکنس در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی توسط داروهایی مانند آمفوتریپسینB و آزول‌ها درمان می‌شوند که مقاومت دارویی و سمیت این داروها مهم‌ترین مشکل آنهاست، از طرفی عفونت‌های موضعی با نیستاتین درمان می‌گردد که طعم بسیار نامطلوبی دارد. بنابراین کاربرد ترکیبات با حداقل اثرات جانبی و داشتن طعم مطلوب و قابل قبول در درمان ضایعات ناشی از قارچ کاندیدا منطقی به نظر می‌رسد (۲).

شیرین بیان یکی از قدیمی‌ترین داروهای مورد استفاده در طب سنتی ایران است و در بیماری‌های گوناگونی از زخم معده تا هپاتیت مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات مختلفی اثرات آنتی باکتریال این دارو را مورد بررسی قرار داده است، مشخص شده است که عصاره این گیاه اثر مهارکنندگی به روی تکثیر ویروس هرپس دارد (۳). همچنین اثر عصاره آبی آن بر روی مهار رشد هلیکوباکتر پیلوری در محیط آزمایشگاه معادل آنتی‌بیوتیک برآورد شده است (۴)، چندین مطالعه اثر ضدقارچی گیاه شیرین بیان را مورد بررسی قرار داده است.

Utsunomiya و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مطالعه‌ای نشان دادند استفاده از ترکیبات شیرین بیان با یک اثر وابسته به دوز، سبب افزایش میزان بقا موش‌های دچار ضعف ایمنی در مقابل عفونت منتشر کاندیدا آلبیکنس شده ا ست (۵).

Lee و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند این دارو در محیط in vitro فاقد اثر ضد قارچی است اما می‌تواند مقاومت موش‌ها را در مقابل عفونت کاندیدا افزایش دهد (۱)، از طرفی Pellati و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر یکی از ترکیبات شیرین بیان را در محیط آزمایش بر روی چهار کاندیدای جدا شده از ناحیه واژن بررسی کردند و نشان دادند که این ترکیب می‌تواند رشد کاندیدا را مهار کند (۶)، با توجه به مطالعات محدود و نتایج متفاوت در این زمینه، مطالعه حاضر جهت بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچ گیاه شیرین بیان طراحی شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس شماره TIMM 2640 در محیط SDA (Sabouaurd dextrose Agar حاوی کلرامفنیکل) کشت داده شد. بعد از مطالعه مقالات و بازنگری روی داده‌های سنتی، گیاه شیرین بیان که اثرات دارویی بی‌شماری ازخود نشان داده بود انتخاب شد.

۳۰ گرم پودر شیرین بیان در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل شد و محلول به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر (هم زن) گذاشته شد. سپس عصاره از کاغذ فیلتراسیون Whatman شماره ۱ گذرانده شد (Whatman). وزن عصاره پس از فیلتراسیون در range ۲۹/۹۸±۰/۰۱ گرم بود. در مرحله بعد محلول فیلتراسیون در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت برای تهیه غلظت ۲/۵ mg/ml تا ۱/۵ گذاشته شد (۷).

سپس ۴۰ دیسک خالی را داخل بشر ریخته و درب آن را بسته و بعد از آن به وسیله اتوکلاو استریل شد. در شرایط استریل، ۱۰ دیسک در محفظه شیشه‌ای حاوی عصاره گیاهی شیرین بیان ۲/۵ mg/ml و ۱۰ دیسک در محفظه شیشه‌ای حاوی عصاره گیاهی شیرین بیان ۱/۵ mg/ml قرار داده و روی آن پوشیده شد. ضمناً ۱۰ دیسک هم داخل متانول گذاشته شد و ۱۰ دیسک به عنوان بلانک درنظر گرفته شده است. بعد از ۱ ساعت دیسک‌های اشباع شده در شرایط استریل به وسیله انبر برداشته شده و در آنکوباتور ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه خشک می شد.

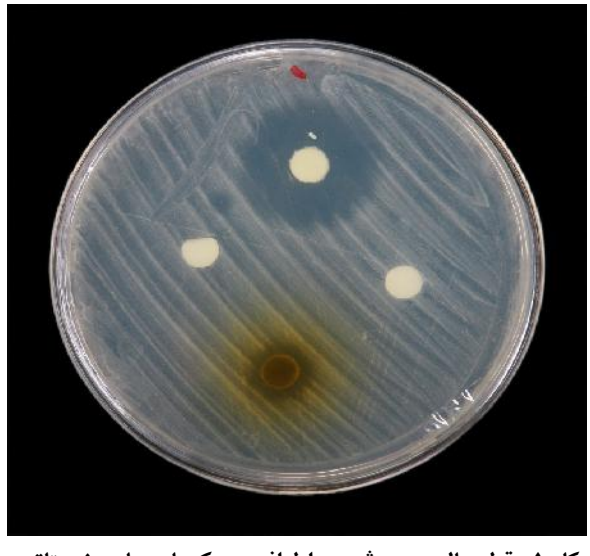
در این آزمایش، روش انتشار دیسک کاغذی استاندارد که به وسیله Bauer و همکاران (۷) ارائه شده برای ارزیابی فعالیت ضد قارچی استفاده شد. بدین صورت که ابتدا سوسپانسیونی از کاندیدا در سرم فیزیولوژی استریل تهیه می‌کنیم به نحوی که کدورت حاصله معادل لوله ۰/۵ مک فارلند شود و سپس با استفاده از یک سواپ استریل از سوسپانسیون مربوطه برداشته و در تماس سطح یک پلیت محتوی محیط سابورد گسترش داده و سپس داخل هر پلیت، دیسک عصاره شیرین بیان یک دیسک نیستاتین ۱۰۰ واحدی به عنوان کنترل مثبت و یک دیسک متانول و یک دیسک خالی به عنوان کنترل منفی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

استفاده شد. دیسک‌ها به فاصله ۱۵ میلی‌متر از لبه پلیت و ۲۴ میلی‌متر از مرکز دیسک بعدی گذاشته شد. تمام پلیت‌ها در آنکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. هیچ هاله عدم رشدی اطراف دیسک کنترل منفی دیده نشد و برای این گیاه این تست ۱۰ بار انجام شد و منطقه مهار تست گیاهی علیه کاندیدا با نیستاتین به وسیله آنالیز ANOVA مقایسه شد.

یافته‌ها

بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد هر دیسک به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد. یک رابطه مستقیم بین قطر هاله عدم رشد و فعالیت ضد قارچی عصاره گیاهی وجود داشت. هیچ هاله عدم رشدی اطراف دیسک بلانک و دیسک متانول که به عنوان کنترل منفی وجود داشت دیده نشد. دیسک نیستاتین بیشترین قطر هاله عدم رشد را نشان داد. میانگین هاله عدم رشد نیستاتین معادل ۳۲/۶±۰/۸۴۳ میلی‌متر بود ولی هاله عدم رشد اطراف شیرین بیان ناچیز و در حد صفر بود (شکل ۱).



شکل ۱- قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های حاوی نیستاتین و شیرین بیان

با انجام ANOVA مربوط به مقایسه میانگین هاله عدم رشد شیرین بیان و نیستاتین تفاوت معنی‌داری در متوسط مربوط به هاله عدم رشد نیستاتین و شیرین بیان دیده شد (P=۰/۰۰۲) (جدول ۱).

انجام آزمون Mann-Whitney U نشان داد بین دوزهای متفاوت شیرین بیان و هاله عدم رشد آنها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P=۰/۷).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره شیرین بیان در محیط آزمایشگاه فاقد اثرات ضدقارچی می‌باشد.

Utsunomiya و همکاران (۵) در سال ۲۰۰۰ اثر ضد قارچی گلیسریزین (ماده موثره گیاه شیرین بیان) را بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار دادند. آنها موش‌های مبتلا به ضعف سیستم ایمنی و آلوده به قارچ را توسط گلیسریزین مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند میزان بقا موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل مثبت که با مایکونازول درمان شده بودند بیشتر بود، همچنین اثر گلیسریزین را در محیط کشت بر روی قارچ کاندیدا البیکنس بررسی کرده و نشان دادند در مقایسه با مایکونازول فاقد اثر ضدقارچی می‌باشد که مشابه نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. آنها نشان دادند که گلیسریزین از طریق القا تولید سیتوکاین توسط سلول‌های T سبب بهبود میزان بقا موش‌های آلوده شده بود (۵).

Lee و همکاران (۱) در سال ۲۰۰۹ اثر ضد قارچی گیاه شیرین بیان را هم به صورت in vitro در محیط کشت و هم در موش‌های آلوده به قارچ بررسی کردند، مطالعه آنها نشان داد که موش‌هایی که عصاره شیرین بیان دریافت کردند در مقایسه با گروه کنترل به مدت طولانی‌تر زنده ماندند، اما در مطالعه آنها شیرین بیان در محیط کشت در مقایسه با فلوکونازول فاقد اثرات ضد قارچی می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا می‌باشد.

جدول ۱- میانگین هاله عدم رشد شیرین بیان و نیستاتین

گروه	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	P-value
شیرین بیان با غلظت (۱/۵)	۱۰	۰ ± ۰/۸۴۳	
شیرین بیان با غلظت (۲/۵)	۱۰	۰/۰۲ ± ۰/۸۴	۰/۰۰۲
نیستاتین	۱۰	۳۲/۶۰ ± ۰/۸۴	

مطالعه آنها نشان داد که در موش‌های دریافت کننده شیرن بیان میزان اینترلوکین ۲ و اینترفرون گاما بیشتر از سایر سیتوکاین‌هاست و اینطور نتیجه‌گیری کردند که شیرین بیان از طریق القا پاسخ ایمنی Th1 اثرات ضد قارچی خود را اعمال می‌کند.

Messier و همکاران در سال ۲۰۱۱ (۸) اثر ترکیبات شیرین بیان روی تشکیل بیوفیلم و تبدیل فرم Yeast به Hypha کاندیدا آلبیکنس را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعات آنها نشان داد که ترکیب Glycyrrhizic acid اثری بر روی جلوگیری از تشکیل بیوفیلم و تبدیل فرم Yeast به فرم بیماری‌زا ندارد. اما وقتی همراه با نیستاتین استفاده می‌شود اثر سیزژیسم دارد که تقریباً مشابه نتایج مطالعه ما می‌باشد، اما نتایج مطالعه ما با نتایج pellati و همکاران (۶) در سال ۲۰۰۹ مغایر می‌باشد، وی و همکاران اثر شیرین بیان را در محیط آزمایشگاهی بر روی مهار کاندیداهای جدا شده از ناحیه واژن به کار برد و نشان داد که این ترکیب می‌تواند رشد کاندیدا را مهار کند.

اثرات آنتی‌میکروبیال شیرین بیان در مطالعات مختلف نشان داده شده است و در درمان بیماری‌های مانند هپاتیت مزمن کاربرد دارد. Krausse و همکاران (۹) از ترکیبات شیرین بیان به صورت آزمایشگاهی در مهار رشد هلیکوباکتر پیلوری استفاده کردند و نشان دادند اثر آن به اندازه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول می‌باشد. در مطالعه دیگری نیز Nariman و همکاران اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری را نشان دادند (۱۰). در مطالعه دیگری اثرات ضد ویروسی آنرا بررسی شده و نشان داده شده است که شیرین بیان در محیط آزمایشگاهی از تکثیر ویروس هرپس جلوگیری می‌کند (۳). اما باتوجه به نتایج مطالعه حاضر شیرین بیان در محیط آزمایشگاه فاقد اثرات ضد قارچی است. به نظر می‌رسد در مطالعه Utsunomiya و همکاران (۵) و Lee و همکاران (۱) شیرین بیان از طریق اثر بروی سیستم ایمنی و میزان سلول‌های T می‌تواند از عفونت کاندیدیازیس با کاندیدیازیس جلوگیری می‌کند (۱،۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شیرین بیان در محیط آزمایشگاه فاقد اثر ضد قارچی می‌باشد، با توجه به نتایج حاضر پیشنهاد می‌شود که در گروه‌های خاص با ضعف سیستم ایمنی مانند بیماران مبتلا به HIV اثر شیرین بیان بر روی میزان سلول‌های ایمنی بررسی شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله با هزینه شخصی نویسندگان مقاله انجام شده است و به این وسیله از جناب آقای دکتر سروش دبیری جهت انجام کشت قارچ تشکر می‌گردد.

منابع:

1- Lee JY, Lee JH, Park JH, Kim SY, Choi JY, Lee SH, et al. Liquiritigenin, a licorice flavonoid, helps mice resist disseminated candidiasis due to Candida albicans by Th1 immune response, whereas liquiritin, its glycoside form, does not. Int Immunopharmacol. 2009;9(5):632-8.

2- Haghighati F, Jafari S, Momen Beitollahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. Hakim. 2003;6(2):71-6.

3- Fiore C, Eisenhut M, Krausse R, Ragazzi E, Pellati D, Armanini D, et al. Antiviral effects of Glycyrrhiza species. Phytother Res. 2008;22(2):141-8.

4- Wittschier N, Faller G, Hensel A. Aqueous extracts and polysaccharides from liquorice roots (Glycyrrhiza glabra L.) inhibit adhesion of Helicobacter pylori to human gastric mucosa. J Ethnopharmacol. 2009;125(2):218-23.

5- Utsunomiya T, Kobayashi M, Ito M, Pollard RB, Suzuki F. Glycyrrhizin improves the resistance of MAIDS mice to opportunistic infection of Candida albicans through the modulation of MAIDS-associated type 2 T cell responses. Clin Immunol. 2000;95(2):145-55.

6- Pellati D, Fiore C, Armanini D, Rassu M, Bertoloni G. In vitro effects of glycyrrhetinic acid on the growth of clinical isolates of Candida albicans. Phytother Res. 2009;23(4):572-4.

7- Abdollahzadeh Sh, Mashouf R, Mortazavi H, Moghaddam M, Roozbahani N, Vahedi M. Antibacterial and antifungal activities of punica granatum peel extracts against oral pathogens. J Dent (Tehran). 2011;8(1):1-6.

8- Messier C, Epifano F, Genovese S, Grenier D. Effect of licorice compounds licochalcone A, glabridin and glycyrrhizic acid on growth and virulence properties of Candida albicans. Mycoses. 2011;54(6):e801-6.

9- Krausse R, Bielenberg J, Blaschek W, Ullmann U. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of Extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. J Antimicrob Chemother. 2004;54(1):243-6.

10- Nariman F, Eftekhar F, Habibi Z, Falsafi T. Anti-Helicobacter pylori activities of six Iranian plants. Helicobacter. 2004;9(2):146-51.