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

تحقیقی

مقایسه اثر عصاره آویشن و مورت با نیستاتین بر مهار رشد کاندیدا آلبیکنس

دکتر محمدعلی ضیاء*[۱]، دکتر منصور بیات[۲]، حسین خلخالی[۳]، سمیرا صفاری[۴]

۱- استادیار قارچ شناسی، گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان. ۲- دانشیار قارچ شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران. ۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان.
٤- کارشناس ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه فلاورجان، اصفهان.

چکیده

زمینه و هدف : *کاندیدا آلبیکنس فراوان‌ترین عامل کاندیدیازیس دهانی است. این مطالعه به منظور مقایسه اثر عصاره آویشن و مورت با نیستاتین بر مهار رشد کاندیدا آلبیکنس در محیط آزمایشگاه انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه آزمایشگاهی روی ۳۲ سویه کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی انجام گردید. از روش Agar microdilution برای بررسی اثر عصاره‌ها و نیستاتین استفاده شد. ابتدا سوسپانسیونی از سلول‌های مخمری کاندیدا آلبیکنس و نیز یک رقت سریال از عصاره‌ها و نیستاتین در محیط سابورودکستروزآگار تهیه و یک لوپ از سوسپانسیون کاندیدا روی محیط کشت جامد، کشت و در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. نتایج حاصل از رشد قارچ در طی ۷ روز ثبت شد.*

یافته‌ها : *حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره آویشن، مورت، مخلوط دو عصاره و سوسپانسیون نیستاتین به ترتیب برابر با ۰/۳۹۰ µl/ml، ۱۲/۵ µl/ml، ۰/۷۸۰ µl/ml و ۱۶۰ IU/ml بود.*

نتیجه‌گیری : *عصاره آویشن در مقایسه با نیستاتین به عنوان یک داروی ضدقارچی در درمان کاندیدیازیس می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد؛ اما عصاره مورت نمی‌تواند رشد کاندیدا آلبیکنس را مهار نماید.*

کلید واژه‌ها : *کاندیدا آلبیکنس ، نیستاتین ، آویشن ، مورت*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمد علی ضیاء ، پست الکترونیکی zia.mohammadali@gmail.com
نشانی : اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، دفتر ارتباط با صنعت و جامعه، تلفن ۹-۰۳۵٤۰۰۱-۰۳۱۱، نمابر ۵۳۵٤۰۳۳
وصول مقاله : ۹۱/٤/۱۸ ، اصلاح نهایی : ۹۱/۸/۲۰ ، پذیرش مقاله : ۹۱/۱۰/۱٦

مقدمه

کاندیدیازیس از جمله شایع‌ترین و گسترده‌ترین بیماری‌های قارچی انسان است که در سال‌های اخیر به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است (۳-۱). کاندیدیازیس به عنوان شایع‌ترین عفونت قارچی مهاجم در بیماران غیرنوتروپنیک بحرانی شناخته شده است (۴). اکثر عفونت‌ها به‌وسیله کاندیدا آلبیکنس که منشاء داخلی دارد؛ ایجاد می‌شود و تقریباً در ۶۰ تا ۹۰درصد عفونت‌های مربوطه جدا شده است (۲و۴). اغلب افراد این قارچ را در زمان تولد در طی عبور از کانال زایمان کسب می‌کنند.کاندیدا آلبیکنس در بدن در تعادل با سایر میکروارگانیسم‌ها زندگی می‌کند و به‌صورت ساپروفیت شایع روی سطوح مخاطی به‌ویژه دهان، دستگاه گوارشی و واژن است؛ اما عوامل مختلف می‌تواند این تعادل را بهم زده و منجر به بروز بیماری علامت‌دار پیشرونده فعال گردد (۴-۲). عوامل متعددی نظیر چسبندگی، مداومت تماس، تشکیل جرم تیوب، حساسیت تماسی، تغییر شکل فنوتیپی، تداخل با سیستم میزبان، سینرژیسم با باکتری‌ها و تولید هیدرولازها یا سایر متابولیت‌ها به عنوان عوامل ویرولانس کاندیدا آلبیکنس پیشنهاد شده‌اند (۵).

عفونت‌های کاندیدا باید درمان شوند؛ زیرا ممکن است در بیماران نوتروپنیک و دچار نقص ایمنی، انتشار یابند (۱و۶). روش درمانی چنین عفونت‌هایی یک چالش بزرگ است؛ زیرا مقاومت پاتوژن‌ها نسبت به تعدادی از داروهایی که مورد استفاده وسیع هستند؛ افزایش یافته است (۷).

نیستاتین یک تترااان ماکرولید تولید شده به‌وسیله استرپتومایسس نورسئی است. این دارو به صورت پودر زرد رنگی است که آمفوتریک بوده و به مقدار کم (۴mg/ml) محلول در آب است. نیستاتین دارای خاصیت مهار رشد قارچ بوده و در غلظت بالا و pH اسیدی فعالیت قارچ‌کشی قوی نشان می‌دهد. این دارو فعالیت بسیار عالی علیه مخمرهای جنس کاندیدا به خصوص کاندیدا آلبیکنس

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

دارد (۸).

درمان کاندیدیازیس به‌واسطه ظهور سویه‌های کاندیدایی که به عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده مقاومند؛ مسأله ای پیچیده است. عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده نه تنها تعداد محدودی دارند؛ بلکه خیلی از آنها سمی و بسیار گران قیمت هستند. عود عفونت‌های کاندیدایی خیلی شایع است و این مسأله بار درمانی این عفونت فرصت‌طلب و در نتیجه نیاز به توسعه عوامل ضدقارچی جدید به منظور گسترش طیف فعالیت‌ها علیه کاندیدا و مبارزه با سویه‌های مقاوم به ضدقارچ‌های در دسترس را افزایش داده است (۹). مشکلات همراه با درمان و مدیریت عفونت‌های کاندیدا، کشف عوامل ضدقارچی جدید به منظور گسترده‌تر کردن طیف فعالیت علیه کاندیدا را ضروری می سازد. فرآورده‌های طبیعی مشتق شده از گیاهان ممکن است به‌صورت بالقوه منجر به ترکیبات جدید شوند که می‌تواند سبب مهار رشد این قارچ‌ها شود (۱۰). فرآورده‌های طبیعی فعال علیه گونه‌های کاندیدا سالیان اخیر افزایش یافته است که تقریباً نزدیک به ۲۵۸ گونه گیاهی از ۹۴ تیره مورد بررسی را شامل شده است (۱۱).

آویشن (نام علمی: تیموس) یک گیاه آروماتیک پزشکی متعلق به خانواده Lamiaceae یا Labiatae است و این گیاه به عنوان یک گیاه ضدعفونی کننده شناخته شده است (۱۲). فعالیت‌های ضدقارچی، آفت‌کشی و ضدباکتریال روغن ضروری تیموس به اثبات رسیده است (۱۲). گونه‌های این جنس به‌واسطه دارا بودن منبع عالی و غنی از روغن ضروری شاخص هستند. ترکیبات اصلی روغن ضروری تیموس ولگاریس به ترتیب 1,8-cineole و سپس terpenyl acetate ، borneol ، linalool ، β-pinene ، α-terpineol و camphor تعیین کمیت شده است (۱۳).

اسامی مترادف گیاه مورت myrtus mucronata pers و myrtus italic mill است. در فارسی آن را مورد، مورت، آس و عمار می‌نامند. بخش دارویی این گیاه را برگ‌ها تشکیل می‌دهند. برگ‌های این گیاه دارای ۲-۱/۵درصد حجمی عصاره است که قسمت عمده آن را تریپنولن، سینئول، لینالول، تریپنئول (Teripneol) و لینالیل استات تشکیل می‌دهد. همچنین در برگ گیاه علاوه بر عصاره، تاتن، فلاونوئید، ویتامین C (به میزان ۸۲ میلی گرم درصد گرم برگ خشک) وجود داشته و فاقد آلکالوئید و گلیکوزیدهای قلبی است (۱۴و۱۵). مورت به صورت موضعی در درمان تبخال تیپ ۱و۲، به عنوان آنتی‌سپتیک و در درمان التهاب مخاط بینی استفاده می گردد (۱۶).

اطلاعات مربوط به حساسیت ضدقارچی کاندیدا در پیش‌بینی کارآیی احتمالی درمان بعدی، بسیار مهم است و استفاده فزاینده از درمان ضدقارچی پتانسیل مقاومت نوپدید کاندیدا را در برابر داروهای قارچی افزایش داده است (۱۷).

هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین اثر ضدقارچی عصاره گیاهان آویشن و مورت به تنهایی و مخلوطی از این دو عصاره بر رشد کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی و مقایسه اثر آنها با نیستاتین به عنوان یک مرجع ضدقارچی در محیط آزمایشگاه بود.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی ۳۲ سویه کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان در سال ۱۳۸۹ انجام شد.

نمونه ها توسط آزمایش میکروسکوپی و کشت، تعیین هویت شدند. ابتدا نمونه‌ها توسط پتاس ۱۰درصد یا رنگ‌آمیزی با بلودومتیلن و با گیمسا در زیر میکروسکوپ بررسی شدند و نمونه‌های حاوی سلول‌های منفرد کوچک، بیضی شکل با جداره نازک، جوانه‌دار یا بدون جوانه همراه با رشته‌های میسلیال و سلول‌های دارای لوله زایا و میسلیوم کاذب برای انجام مرحله کشت به کار گرفته شدند. کلنی‌های حاصل در محیط SCC (سابورو دکستروز آگار + کلرامفنیکل + سیکلوهگزامید) سفید تا کرم رنگ، صاف و براق بودند و سپس از آزمایش تولید لوله زایا در سرم و تولید کلامیدوسپور توسط کاندیدا آلبیکنس در محیط کورن میل آگار+ توئین ۸۰ و در نهایت برای تشخیص قطعی و تمایز سریع کاندیدا آلبیکنس، تروپیکالیس، کروزه‌ای و دوبلینینسیس از محیط کروم آگار کاندیدا منجر به تشکیل کلنی‌های رنگی متفاوت؛ استفاده شد.

از روش Agar microdilution برای بررسی اثر عصاره‌ها و نیستاتین استفاده شد. پس از تشخیص قطعی کاندیدا آلبیکنس سوسپانسیونی از کلنی کاندیدا آلبیکنس در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. سپس غلظت کاندیدا موجود در مخلوط با استفاده از محلول‌های استاندارد مک فارلند و اسپکتروفتومتری با طول موج ۶۴۰ nm استاندارد گردید. به طوری که در هر میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی حدود $1/5\times10^{8}$ cfu/ml سلول مخمری وجود داشت که غلظتی استاندارد برای بررسی آثار ضد قارچی است؛ اما از آنجا که همین غلظت نیز برای انجام شمارش کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط جامد خیلی زیاد است؛ لذا از همین غلظت سریال رقت تهیه و رقت‌های 10^{-1} ، 10^{-2} ، 10^{-3} و 10^{-4} تهیه گردید.

برای تهیه عصاره، ابتدا مواد گیاهی با آب شستشو و به مدت ۳۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲درصد ضدعفونی شدند. سپس برای حذف هیپوکلریت باقیمانده، با آب مقطر استریل شستشو و در سایه خشک شدند. مواد گیاهی خشک شده پودرشد. مقدار ۵۰ گرم

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

از پودر خشک شده در ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول خیسانده شد و ۴۸ ساعت توسط شیکر تکان داده شد. سپس توسط پارچه کتانی دو لایه استریل فیلتر و در دور ۹۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و توسط کاغذ واتمن شماره ۴۱ فیلترشد و در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر و خشک شد. از عصاره آویشن، مورت و مخلوط دو عصاره به نسبت مساوی سریال رقت تهیه گردید. ابتدا در ۱۰ ارلن جداگانه، در هر کدام مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت SCC تهیه و در مرحله بعدی از عصاره‌های فوق به ارلن‌های اول تا نهم هر گروه به ترتیب با مقادیر ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲، ۰/۱۵۶، ۰/۰۷۸، ۰/۰۳۹، ۰/۰۱۹۵ و ۰/۰۰۹۷۵ میلی‌لیتر اضافه گردید. لذا رقت‌های ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸۰، ۰/۳۹۰، ۰/۱۹۵ و ۰/۰۹۷۵ میکرولیتر در هر میلی‌لیتر از محیط کشت به‌دست آمد. به ارلن دهم از هر گروه هیچ ماده‌ای اضافه نشد و از آن به عنوان کنترل استفاده گردید. تمام ارلن‌ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار۱۵ پوند و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. سپس محتویات هر ارلن در ۱۰پتری دیش به‌طور مساوی تقسیم شد. به این ترتیب در هر بار تعداد ۱۰۰ پتری دیش حاوی محیط کشت SCC همراه با رقت‌های مختلف از مواد فوق‌الذکر به دست آمد.

درمورد تهیه غلظت‌های مختلف از سوسپانسیون نیستاتین در محیط‌های کشت به ترتیب زیر عمل شد.

ابتدا با توجه به دستورالعمل مربوطه (بروشور دارو) سوسپانسیون اولیه نیستاتین با غلظت ۱۰۰۰۰۰ IU/ml تهیه گردید و سپس برای محاسبه حجم سوسپانسیون اولیه مورد نیاز برای تهیه رقت‌های نیستاتین در محیط کشت‌ها، از فرمول $C_1V_1=C_2V_2$ استفاده شد. C_1 غلظت نیستاتین در سوسپانسیون اولیه، V_1 حجم سوسپانسیون اولیه، C_2 غلظت نیستاتین در محیط کشت و V_2 حجم محیط کشت است. بر این اساس با اضافه نمودن مقادیر ۰.۰۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اولیه به ارلن‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، به ترتیب شش رقت از سوسپانسیون نیستاتین با مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ واحد بین‌المللی از نیستاتین در هر میلی‌لیتر از محیط کشت به‌دست آمد.

سوسپانسیون‌های کاندیدا آلبیکنس با پنج رقت 10^{0}، 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3} و 10^{-4} در محیط‌های کشت محتوی رقت‌های مختلف عصاره‌ها و سوسپانسیون نیستاتین به‌صورت گسترش در سطح کشت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور به مدت یک هفته انکوبه گردید. سپس همه پتری‌دیش‌های تلقیح شده به صورت روزانه و به مدت یک هفته مورد بازدید قرار گرفتند و تعداد کلنی‌های قارچی به‌طور جداگانه شمارش و یادداشت گردید. آزمایشات به صورت سه بار تکرار انجام شد.

یافته‌ها

حداقل غلظت مهارکننده عصاره آویشن به میزان ۰/۳۹۰ میکرولیتر در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تعیین گردید. در این غلظت عصاره آویشن توانست از رشد کاندیدا آلبیکنس موجود در رقت‌های مختلف سوسپانسیونی 10^{0}، 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3} و 10^{-4} ممانعت به‌عمل آورد (جدول یک).

با کاهش غلظت آویشن در محیط کشت میزان مشاهده کلنی‌های حاصل از گسترش رقت‌های مختلف سوسپانسیونی کاندیدا آلبیکنس افزایش یافت. به‌طوری که با کاهش تعداد سلول‌های مخمری در سوسپانسیون یا به عبارتی افزایش رقت سوسپانسیون مخمری تعداد کلنی‌های رشدیافته در محیط‌های کشت

جدول ۱: میزان رشد رقت‌های مختلف سوسپانسیون کاندیدا آلبیکنس در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف از اسانس آویشن، مورت و مخلوط دو عصاره در روز هفتم

رقت سوسپانسیون	نوع عصاره	غلظت عصاره در محیط کشت (µl/ml) ۰/۰۰۰	۰/۰۹۷۵	۰/۱۹۵	۰/۳۹۰	۰/۷۸۰	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵
10^{0}	آویشن	*	*	*	-	–	-	–	-	–	–
	مورت	*	*	*	*	*	*	*	*	–	–
	آویشن و مورت	*	*	*	۲۰۰	–	-	–	-	–	–
10^{-1}	آویشن	*	*	۱۴۳	-	-	-	-	-	-	-
	مورت	*	*	*	*	*	*	*	۷۷	-	-
	آویشن و مورت	*	*	٦۰	۲٤	-	-	-	-	-	-
10^{-2}	آویشن	*	۹٦	۳	-	-	-	-	-	-	-
	مورت	*	*	*	*	*	*	۲۰۱	۸	-	-
	آویشن و مورت	*	۸۰	٦	۳	-	-	-	-	-	-
10^{-3}	آویشن	۱۰۱	۳	-	-	-	-	-	-	-	-
	مورت	۱۰۱	۹۸	۹۵	۹۵	۹۵	۷۵	۲۹	۲	-	-
	آویشن و مورت	۱۰۱	۸	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-4}	آویشن	۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	مورت	۹	۱۰	۹	۱۱	۸	٦	۳	-	-	-
	آویشن و مورت	۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* غیر قابل شمارش

کاهش نشان داد. در محیط‌های کشت فاقد عصاره آویشن تعداد کلنی‌های مشاهده شده در رقت‌های 10^{0}، 10^{-1} و 10^{-2} در ۲۴ ساعت اول پس از انکوباسیون غیرقابل شمارش بود.

حداقل غلظت مهار کننده عصاره مورت ۱۲/۵ میکرولیتر بر هر میلی‌لیتر از محیط کشت تعیین شد. با کاهش غلظت عصاره اثر ضدقارچی کمتر شد. به طوری که از غلظت ۰/۷۸ میکرولیتر بر هر میلی‌لیتر از محیط کشت تا پایین‌تر عملاً تغییری در اثر ضدقارچی عصاره مشاهده نگردید و نتایج تقریباً درمورد رقت‌های مختلف یکسان بود.

اثر عصاره مورت در ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس در محیط‌های کشت بسیار کمتر از اثر عصاره آویشن بود (جدول یک). لذا در مرحله بعد اثر غلظت‌های مختلف از مخلوط این دو عصاره بر ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس بررسی شد. براساس جدول حداقل غلظت ممانعت کننده مخلوط در عصاره برابر ۰/۷۸ میکرولیتر بر هر میلی‌لیتر از محیط کشت به‌دست آمد که با نتیجه حاصل از حداقل غلظت ممانعت کننده عصاره آویشن همخوانی داشت. زیرا برای عصاره آویشن حداقل غلظت مهار کننده ۰/۳۹۰ µl/ml تعیین گردید که همین غلظت از عصاره آویشن در غلظت ۰/۷۸۰ µl/ml از مخلوط دو عصاره موجود است.

در محیط‌های کشت حاوی ۱۶۰ IU/mlنیستاتین در هیچیک از رقت‌های سوسپانسیونی حاوی مخمر، رشد کلنی مشاهده نگردید؛ ولی در غلظت ۸۰ IU/ml در رقت سوسپانسیونی مخمری برابر با 10^{0} یک کلنی در روز ششم و در سایر رقت‌ها کلنی مخمری مشاهده نشد؛ اما با کم شدن میزان غلظت نیستاتین در محیط کشت و همراه با افزایش میزان مخمر در سوسپانسیون، تعداد کلنی‌های مشاهده شده افزایش یافت. به طوری که در رقت 10^{0} از سوسپانسیون مخمری، تعداد کلنی‌های مشاهده شده در محیط کشت حاوی غلظت ۱۰ IU/ml نیستاتین برابر با ۲۵۹۲ کلنی بود (جدول ۲).

جدول ۲ : تعداد کلنی‌های رشد یافته از رقت‌های مختلف سوسپانسیون کاندیدا آلبیکنس در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف نیستاتین در روز هفتم

رقت سوسپانسیون	غلظت نیستاتین در محیط کشت (IU/ml) ۰/۰۰	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰	۱۶۰
10^{0}	*	۲۵۹۲	۱	۴۹	۱	–
10^{-1}	*	۷۷۶	–	۱۰	–	–
10^{-2}	۷۸۰	۸۰	–	۲	–	–
10^{-3}	۱۶۳	۶	–	–	–	–
10^{-4}	۱۸	۱		–	–	–

** غیر قابل شمارش*

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه عصاره آویشن دارای اثر بسیار مطلوبی در جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکنس بود. فعالیت‌های ضدقارچی آویشن به‌وسیله محققین متعدد به اثبات رسیده است (۱۳).

در مطالعه اکبری فعالیت ضدقارچی آویشن علیه ایزوله‌های کاندیدا آلبیکنس حساس و مقاوم به فلوکونازول بررسی و نتایج نشان داد که آویشن می‌تواند از رشد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی ممانعت کند (۱۸).

در مطالعه انجام شده Pinto و همکاران روی فعالیت ضدقارچی روغن‌های ضروری Saliva officialis علیه کاندیدا آلبیکنس، اثر این گیاه بر روی تنها چهار ایزوله کاندیدا آلبیکنس و چهار سویه ATCC بررسی شده است (۱۹). در مطالعه ما اثر عصاره آویشن و مورت بر روی ۳۲ ایزوله و یک سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس بررسی شد که نتایج مشابهی را در بر داشت.

Martin و Dinsdale دو مورد کاندیدیازیس منجر به شکست درمان را گزارش نمودند. ایزوله‌های جدا شده از این بیماران در شرایط آزمایشگاهی نیز به نیستاتین مقاوم بودند (۲۰).

در مطالعه حاضر در محیط‌های کشت حاوی ۱۶۰IU/ml نیستاتین در هیچیک از رقت‌های سوسپانسیونی حاوی مخمر، رشد کلنی مشاهده نگردید؛ ولی در غلظت ۸۰IU/ml نیستاتین در محیط کشت در رقت سوسپانسیونی مخمری برابر با 10^{0}، در روز ششم یک کلنی و در سایر رقت‌ها، کلنی مخمری رشد نکرد و با کم شدن میزان غلظت نیستاتین در محیط کشت و همراه با افزایش میزان مخمر در سوسپانسیون، تعداد کلنی‌های مشاهده شده افزایش یافت که نشانگر اهمیت غلظت دارو در محیط کشت و نیز تعداد مخمرهای موجود در سوسپانسیون است.

در مطالعه شهیدی در کرمان، فعالیت آنتی‌کاندیدای عصاره متانولی ۴۲ گونه گیاهی از ۲۹ خانواده مورد استفاده در پزشکی سنتی ایران بر روی کاندیدا آلبیکنس مقاوم به کلوتریمازول بررسی شد. ۱۹ گونه گیاهی از ۱۶ خانواده فعالیت ضدکاندیدا داشتند و کمترین میزان غلظت ممانعت کننده رشد ۰/۶۲mg/ml و متعلق به Terminalia chenbula و Thymus vulgaris بود (۲۱).

در مطالعه ما محیط‌های کشت حاوی ۰/۳۹۰µl/ml عصاره آویشن از رشد کاندیدا آلبیکنس (در تمام رقت‌های سوسپانسیونی) جلوگیری نمود. این مقدار برای عصاره مورت برابر ۱۲/۵µl/ml، مخلوط دو عصاره آویشن و مورت برابر ۰/۷۸۰ µl/ml و برای نیستاتین ۱۶۰ IU/ml بود. حداقل غلظت ممانعت از رشد عصاره آویشن برای کاندیدا آلبیکنس در حضور عصاره مورت کاهش نیافته و لذا نمی‌توان در باره اثر سینرژیسم یا آنتاگونیسم عصاره مورت بر اثر ضدقارچی عصاره آویشن اظهار نظر نمود؛ اما با توجه به نتایج حاصل از مخلوط این دو عصاره در غلظت ۰/۳۹۰ µl/ml (یعنی از هر کدام ۰/۱۹۵µl/ml) و مقایسه آن با نتایج حاصل از اثر

غلظت ۰/۱۹۵µl/ml عصاره آویشن، مشخص می‌گردد که تعداد کلنی‌های مشاهده شده بسیار کمتر شده است. به طوری که در بررسی اثر عصاره آویشن با غلظت ۰/۱۹۵ µl/ml پس از روز چهارم در رقت 10^{0} از سوسپانسیون مخمری تعداد کلنی‌ها غیرقابل شمارش بود. در حالی که در غلظت ۰/۳۹۰µl/ml از مخلوط دو عصاره، تعداد کلنی‌های مشاهده شده ۲۰۰ عدد در روز هفتم بود. این روند کاهش مشاهده تعداد کلنی در سایر رقت‌ها ادامه داشته و در رقت 10^{-1} برابر ۲۴ و در رقت 10^{-2} برابر ۳ کلنی در روز هفتم بوده است. در حالی که در رقت 10^{-3} و 10^{-4} هیچ کلنی مخمری رشد ننمود که می‌تواند نشانگر اثر سینرژیستی نسبی عصاره مورت بر عصاره آویشن باشد. همچنین در این مطالعه اثر ضد قارچی عصاره آویشن علیه کاندیدا آلبیکنس در غلظت ۰/۱۹۵ µl/ml تعداد کلنی‌های رشد یافته از رقت 10^{-1} و 10^{-2} سوسپانسیون مخمری در روز پنجم به ترتیب حدود ۱۴۳ و ۳ کلنی بود.

در مطالعه‌ای اثر مورت بر قارچ آسپرژیلوس بررسی و اثر ضدقارچی آن گزارش گردید (۱۶)؛ اما در مطالعه ما اثری بر مهار رشد کاندیدا نداشت که با نتایج حاصل از مطالعه نجیب‌زاده و همکاران (۱۵) که اثر مورت بر کاندیدیازیس دهانی را بررسی نمودند؛ همخوانی دارد. به طوری که در آن بررسی نیز غلظت‌های دو برابر MIC مورت نیز برای ریشه‌کنی کاندیدیازیس کافی نبود (۱۵). همچنین اربابی و همکاران اثر ضدقارچی آویشن بر کاندیدا آلبیکنس را در مقایسه با نیستاتین گزارش نمودند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۲).

در مطالعه انجام شده در دانشگاه علوم پزشکی کرمان، اثر گیاه مورت بر قارچ‌های میکروسپوروم جیپسئوم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون منتاگروفایتیس بررسی و اثرات ضدقارچی آن تایید و با اثرات گریزئوفولوین مقایسه گردید (۲۳). به نظر می‌رسد اثر گیاه مورت بر درماتوفیت‌ها بسیار بهتر از کاندیدا آلبیکنس است. زیرا در مطالعه ما عصاره مورت دارای اثر بسیارکمی بر ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس بود و فقط در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های بالا از عصاره مورت و رقت‌های پایین سوسپانسیون مخمری توانست از رشد مخمر جلوگیری نماید. لذا نمی‌توان آن را یک ماده موثر برای جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکنس معرفی نمود. براساس نتایج اثر سینرژیستی مورت با آویشن در مقایسه باغلظت‌های مشابه از عصاره آویشن، بسیار کمتر بود.

در مطالعه Giordani و همکاران اثر ضدقارچی روغن‌های ضروری مختلف علیه کاندیدا آلبیکنس بررسی و بهترین اثر در تیموس ولگاریس مشاهده شد. به طوری که حداقل میزان ممانعت کننده آویشن ۰/۰۱۶µl/ml اعلام شد (۲۴). در مطالعه ما نیز اثر آویشن بر ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس بسیار خوب بود؛ ولی MIC آن نسبت به MIC حاصله در مطالعه Giordani و همکاران (۲۴) بالاتر بود که می‌توان دلیل آن را به تفاوت تیپ آویشن مورد استفاده و یا روش کار نسبت داد. در مرحله بعد Giordani و همکاران (۲۴) استفاده توام از روغن ضروری تیموس ولگاریس و آمفوتریسین B در درمان بیماری‌های قارچی را بررسی نمودند. در موارد کاندیدیازیس دهانی نیز می‌توان با بررسی کامل نسبت به ترکیب درمانی آویشن و نیستاتین و یا سایر داروهای ضدقارچی مطالعه نمود که در مطالعات بعدی محقق مورد توجه قرار خواهد گرفت.

در مطالعه یحیی‌زاده و همکاران روغن‌های تیموس ولگاریس که بالاترین فعالیت ممانعت را داشتند؛ توسط روش GC-MS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میزان فعالیت به ترتیب فنل‌ها (بیشترین فعالیت)، الکل‌ها، الدئیدها، کتون‌ها، اترها و هیدروکربن‌ها اعلام شد (۲۵).

در مطالعه Salguerio و همکاران فعالیت ضدقارچی روغن ضروری Origanum virens علیه کاندیدا آلبیکنس بررسی و دامنه حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ۰/۱۶-۰/۳۲ µl/ml ذکر گردید (۲۶) که تقریباً با نتایج حاصل از مطالعه ما همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که می‌توان از آویشن به عنوان یک داروی ضدقارچی در درمان کاندیدیازیس استفاده نمود؛ اما مورت نمی‌تواند رشد کاندیدا آلبیکنس را مهار نماید. همچنین اثر سینرژیستیک عصاره مورت بر فعالیت ضدقارچی عصاره آویشن، در غلظت‌های بالاتر به دلیل قوی‌تر بودن اثر عصاره آویشن به تنهایی مشهود نبود؛ ولی در غلظت‌های پایین‌تر (۰/۱۹۵، ۰/۳۹۰ و ۰/۰۹۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره مورت اثر سینرژیستی خود را به صورت افزایش زمان مورد نیاز برای رشد کلنی‌های مخمری (از روز پنجم به روز هفتم) و نیز کاهش تعداد کلنی‌های رشد یافته (کاهش تعداد کلنی‌ها از غیرقابل شمارش و ۱۴۳ کلنی به ترتیب به تعداد ۲۰۰ و ۲۴ برای رقت‌های 10^{0} و 10^{-1}) نشان داد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۵۱۷۵۱۸۷۱۲۰۵۰۰۱) مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) بود و بدین‌وسیله از حوزه معاونت پژوهشی آن دانشگاه به خاطر حمایت مالی از طرح، سپاسگزاری می‌گردد.

References

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

2. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Lea and Febiger. London: Philadelphia. 1992; pp: 280-5.

3. Hay RJ. The management of superficial candidasis. J Am Acad Dermatol. 1999; 40(6): S35-S42.

4. Naeini A, Khosarvi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Journal of Medical Mycology. 2009; 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 of Microbiol Biotechnol. 2008; 24(11): 2459-64.

6. Reddy BMV, Angers P, Gosselin A, Arul J. Characterization and use of essential oil from Thymus vulgaris against Botrytis cinerea and Rizopus stolonifer in strawberry fruits. Phytochemistry. 1998; 47(8): 1515-20.

7. Begnami AF, Duarte MCT, Furletti V, Rehder VLG. Antimicrobial Potential of Coriandrum sativum L. against different Candida species in vitro. Food Chemistry. 2010; 118(1): 74-77.

8. Zarei Mahmoudabadi A. [Antifungal Drugs]. 1st. Ahvaz: Ahvaz University of Medical Sciences. 2003; pp: 90-95. [Persian]

9. Runyoro DK, Ngassapa OD, Matee MI, 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. Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Valentin E, Bakhrouf A. Antifungal properties of Salvadora persica and Juglans regia L. extracts against oral Candida strains. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 Jan;29(1):81-8.

11. 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.

12. Al-Ramamneh EM. Plant growth strategies of Thymus vulgaris L. In response to population density. Industrial Crops and Products. 2009; 30(3): 389-94.

13. Jordan M, Martinez R, Goodner K, Baldwin E, Sotomayor J. Seasonal variation of thymus hyemalis Lange and Spanish thymus vulgaris L. essential oils composition. Industrial crops and products. 2006 Nov;24(3): 253-63.

14. Sumbul S, Ahmed MA, Asif M, Akhtar M. Myrtus communis Linn. A review. IJNPR. 2011; 2(4): 395-402.

15. Najib- Zadeh T, Yadegari MH, Naghdi Badi HA, Salehnia AN. [Antifungal efficacy of Myrtus communis essential oils on oral candidiasis in immunosupressed rats]. J Med Plants. 2011; 2(38): 102-16. [Article in Persian]

16. Mohammadi R, Mirhendi SH, Shadzi SH, Moattar F. [Antifungal activity of Myrtus communis L. essential oil against clinical isolates of Aspergillus]. J Isfahan Med Sch. 2008; 26(89): 105-11. [Article in Persian]

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

18. 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. [Article in Persian]

19. 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 Crop Prod. 2007; 26(2): 135-41.

20. Martin MV, Dinsdale RC. Nystatin-resistance of candida albicans isolates from two cases of oral candidiasis. Br J Oral Surg. 1982 Dec;20(4):294-8.

21. Shahidi Bonjar GH. Inhibition of Clotrimazol-resistant Candida albicans by plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia. 2003;75(1):74-6.

22. Arbabi Klati F, Sherzaee M, Poorzaman M, Dabiri S. [Inhibitory effects of plant extracts containing thyme, clore and cinnamon compared to Nystatin on Candida albicans. (In vitro)]. J Res Dent Sci. 2012; 8 (4) :175-9. [Article in Persian]

23. Ayatollahi Mousavi SA, Abdollahi H, Kazemipour N. [Investigation of antifungal activity of 10 Methanol extracts of medicinal Herbs]. J Kerman Univ Med Sci. 1996; 3(3):122-15. [Article in Persian]

24. 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 Dec; 18(12):990-5.

25. Yahyazadeh M, Omidbaigi R, Zare R, Taheri H. Effect of some essential oils on mycelial growth of Penicillium digitatum Sacc. World J Microbiol Biotechnol. 2008;24(8):1445-50.

26. Salgueiro LR, Cavaleiro C, Pinto E, Pina-Vaz C, Rodrigues AG, Palmeira A, et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Origanum virens on Candida species. Planta Med. 2003 Sep;69(9):871-4.

Original Paper

Effect of *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis* and nystatin on Candida albicans

Zia MA (PhD)*[1], Bayat M (PhD)[2], Khalkhali H (BSc)[3], Saffari S (MSc)[4]

[1]Assistant Professor, Department of Basic Science, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Veterinary, Tehran Science and Research, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [3]BSc of Laboratory Science, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. [4]MSc of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Candida albicans is the most frequent etiological agent of oral candidiasis. This study was done to compare the anticandidal effect of *Thymus vulgaris* and *Myrtus communis* to nystatin on Candida albicans.

Materials and Methods: In this laboratory study thirty-two strains of Candida albicans isolated from patients with oral candidiasis. Yeast suspension of Candida yeast cells was provided, subsquntly a serial dilution from *Thymus vulgaris* and *Myrtus communis* and Nystatin in Sabouraud Dextrose Agar (SDA) medium were prepared. Then a loop of Candida suspension was cultured on all of the solid media and was incubated at 25°C. The findings of fungus growing were recorded during 7 days.

Results: MIC of *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis L*, mix of these essences and Nystatin was 0.390µl/ml, 12.5 µl/ml, 0.78 µl/ml and 160 IU/ml, respectively.

Conclusion: *Thymus vulgaris* contained antifungal activity against Candida albicans, but *Myrtus communis* demonstrated a very low activity against Candida albicans.

Keywords: Candida albicans, Nystatin, *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis L*

*** Corresponding Author: Zia MA (PhD), E-mail: zia.mohammadali@gmail.com**

Received 8 July 2012 **Revised** 10 November 2012 **Accepted** 6 December 2012

This paper should be cited as: Zia MA, Bayat M, Khalkhali H, Saffari S. [Effect of *Thymus vulgaris*, *Myrtus communis* and nystatin on Candida albicans]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 15(4): 59-65. [Article in Persian]