

بررسی اثر ضد قارچی عصاره آبی سیر بر کاندیدا آلبیکنس (مطالعه آزمایشگاهی)

دکتر فرناز حاجی فتاحی^۱، دکتر سمیه علیرضایی^۱، دکتر حسین گودرزی^۲، دکتر سیمین لسان^۱، دکتر محمدآرام خالصی^۳
 ۱-استادیار، گروه بیماری های دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران
 ۲- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۳-دندانپزشک

وصول مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۲۱ اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۱

Investigation of antifungal effect of aqueous extract of garlic on *Candida albicans* (INVITRO)

Farnaz Haji Fattahi¹, Somayeh Alirezaei¹, Hossein Goodarzi², Simin Lesan¹, Mohammad Aram Khalesi³

¹Assitant Professor, Oral diseases Dept, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Associate Professor, Microbiology Dept, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Dentist

Received: 12 December 2018; Accepted: 20 February 2019

Abstract

Background and aim: Candidiasis is a common fungal disease in the mouth. An appropriate treatment for candidiasis is the use of antifungal drugs. Due to drug resistance and known side effects of drugs, the tendency to use medicinal herbs is increasing. Garlic is identified as a strong antibacterial. Therefore, in this study, the effect of aqueous garlic extract and nystatin on *Candida albicans* was investigated.

Materials and Methods: An experimental study was carried out. For each control and case group, one standard strain and 10 clinical strains were studied. The standard strain of *Candida albicans* was obtained from the Iranian Research Institute of Industrial Research and clinical strains from different patients. Garlic was prepared from the north of the country and was extracted by soaking method. Control groups containing nystatin suspension of 10,000 units / ml were prepared from Sigma, and finally, the diameter of the inhibition zone and MIC by Micro Broth Dialution method were studied. The results were analyzed by T test.

Result: MIC of nystatin and the MIC and MBC of garlic show that Nystatin MIC was $3.49 \pm 4.96 \mu\text{g} / \text{ml}$ and micronutrient was $1.42 \pm 2.22 \text{ mg} / \text{ml}$ and nystatin variation coefficient was 28% and garlic 15% as well as MBC of garlic equal to $58 \pm 59.1 \text{ mg} / \text{ml}$ with a coefficient of variation of 36%. In the meantime, mic is for standard samples of $78.0 \text{ mg} / \text{ml}$ and nystatin $0.5 \mu\text{g} / \text{ml}$. The amount of non-growth halo in nystatin was 29.1 ± 1.72 and in the garlic group was 20.1 ± 1.5 , which was 9.1% or 31% higher in the nystatin group and the T test showed that this difference was statistically significant. ($p < 0/000$) and the inferiority halo for standard sample 22 and nystatin 32.

Conclusion: The study showed that the aqueous extract of garlic was able to inhibit the growth of *Candida albicans* but its effect was less than nystatin.

Keywords: Garlic, *Candida albicans*, Oral candidiasis, Nystatin, minimum inhibitory concentration

*Corresponding Author: m_aram263@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2019; 16 (1) :20-26.

خلاصه:

سابقه و هدف: کاندیدیازیس یک بیماری قارچی شایع دهان است. اقدام مناسب جهت درمان کاندیدیازیس استفاده از داروهای ضد قارچ میباشد. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض شناخته شده داروها، تمایل به استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش است. سیر به عنوان یک ضد باکتریایی قوی شناسایی شده است. لذا در این تحقیق اثر عصاره آبی سیر و نیستاتین بر روی کاندیدا آلبیکنس بررسی گردید.

مواد و روش ها: تحقیق به روش تجربی آزمایشگاهی انجام شد. به ازای هر گروه شاهد و مورد، یک سویه استاندارد و ۱۰ سویه بالینی مورد مطالعه قرار گرفت. سویه استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکنس از سازمان پژوهشهای علمی صنعتی ایران و سویه های بالینی از بیماران مختلف تهیه شد. سیر از شمال کشور تهیه و با روش خیساندن عصاره گیری انجام شد. گروه های شاهد شامل سوسپانسیون نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد بر میلی لیتر از شرکت سیگما تهیه شد و در نهایت قطر هاله عدم رشد و MIC به روش Micro Broth Dialution مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون Ttest مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: میزان MIC نیستاتین و میزان MIC و MBC سیر نشان می دهد که میزان MIC نیستاتین $3/4 \pm 0/96$ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان MIC سیر $1/42 \pm 0/22$ میلی گرم بر میلی لیتر و ضریب تغییرات نیستاتین 28% و سیر 15% و نیز و MBC سیر برابر $0/58 \pm 1/59$ میلی گرم بر میلی لیتر با ضریب تغییرات 36% می باشد. در ضمن MIC برای نمونه ی استاندارد $0/78$ میلی گرم بر میلی لیتر و نیستاتین $0/5$ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد. میزان هاله ی عدم رشد در نیستاتین $1/72 \pm 29/1$ و در گروه سیر $1/15 \pm 20$ بود که در گروه نیستاتین $9/1$ یا 31% بیشتر بود و آزمون Ttest نشان داد که این تفاوت به لحاظ آماری معنادار است. $p < 0/000$ و در ضمن هاله ی عدم رشد برای نمونه ی استاندارد 22 و نیستاتین 32 می باشد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که عصاره آبی سیر قادر به مهار رشد کاندیدا آلبیکنس بوده ولی میزان تاثیر آن کمتر از نیستاتین است. **کلید واژه ها:** سیر، کاندیدا آلبیکنس، کاندیدیازیس دهانی، نیستاتین، حداقل غلظت ممانعت کننده

مقدمه:

مقاومت دارویی و عوارض شناخته شده داروها، تمایل به استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش است^(۴-۶) سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی متعلق به خانواده لیلیاسه بوده و بومی آسیای مرکزی میباشد هر چند این گیاه امروزه در تمام نقاط دنیا یافت میشود. در طول قرنهای متمادی گونه های مختلف سیر به عنوان چاشنی یا ادویه برای خوش طعم کردن غذاها مورد استفاده قرار میگيرد^(۷)

در طب گیاهی سیر به عنوان یک مکمل طبیعی برای درمان انواع بیماریها و اختلالات از قبیل فشارخون بالا، آلزایمر، ترومبوز، اسم، تب یونجه و حتی سرطان مطرح بوده است. تحقیقات نشان داده است. این گیاه برای تنظیم کلسترول خون، قند خون و محافظت از سیستم قلبی-عروقی مفید بوده و سیستم ایمنی را برای مبارزه با بیماری های مختلف تقویت مینماید. همچنین سیر دارای خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی می باشد^(۸،۹) سیر به عنوان یک ضد باکتریایی قوی شناسایی شده و خاصیت

کاندیدیازیس یک بیماری مهم و قارچی شایع دهان است که به وسیله گونه های مختلف از جمله کاندیدا آلبیکنس در دهان آغاز میشود که به شکل مختلف مثل مخمر و هایف کاذب و هایف حقیقی در دهان وجود دارند.^(۱) میزان شیوع کاندیدا در دهان را تا ۵۰ درصد گزارش کرده اند و گفته شده در بعضی بیماران نیز بیشتر است.^(۲)

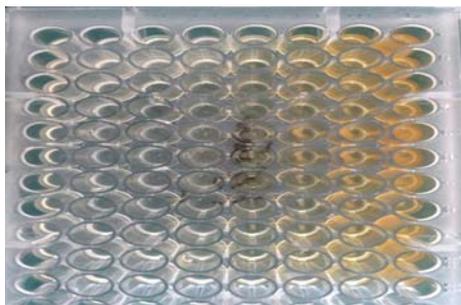
عوامل زمینه ساز کاندیدیازیس دهانی شامل: تغییرات فلور میکروبی، استفاده از آنتی بیوتیک وسیع الطیف، استفاده طولانی مدت از دهانشویه ها، زروستومیا، دنچرها و دستگاههای ارتودنسی، استفاده از کورتیکواستروئیدها و سایر داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی، بیماریها و سایر وضعیتهای همراه با تضعیف سیستم ایمنی، مصرف سیگار، بهداشت ضعیف دهان و بارداری می باشند.^(۳)

اقدام مناسب جهت درمان کاندیدیازیس شناسایی اتیولوژی و حذف عامل مستعد کننده است و پس از آن استفاده از داروهای ضد قارچ در درمان موثر میباشد. امروزه با توجه به

(برحسب نوع گیاه) محلول با کاغذ صافی Whatman NO.1 صاف شد. سپس محلول‌های صاف شده توسط یک فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرومتر استریل گردید. سپس این محلول‌ها در یک تبخیرکننده در شرایط خلاء و کاهش فشار تبخیر شد و عصاره خشک شده در ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردید.^(۹،۱۰)

انجام تست حساسیت دارویی و قطر هاله عدم رشد:

بعد از تهیه عصاره آبی گیاه، مقدار مشخصی از آن در DMSO دو درصد حل گردید و استوک بدست آمد. برای تهیه سوسپانسیون قارچی از غلظت نیم مک فارلند استفاده شد و در ضمن از محیط کشت مولر هینتون اگر استفاده گردید. در نهایت با یک سواب استریل، مقداری از سوسپانسیون قارچی را بر روی محیط کشت تلقیح نموده و سپس چاهک بر روی پلیت ایجاد گردید و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آبی سیر داخل چاهک قرار داده شد. در ضمن از چاهک حاوی گروه‌های شاهد شامل سوسپانسیون نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد بر میلی لیتر که از شرکت سیگما تهیه شده است در سه دوز ۱۲۸، ۶۴ و ۳۲ میکروگرم نیز استفاده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه در جار قرار گرفت و بعد از آن قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها با خط‌کش اندازه گیری شد.^(۱۱)



شکل ۱: پلیت میکروتیتراسیون ۹۶ خانه ای

مانعت کنندگی آن هم بر روی باکتری های گرم منفی و هم گرم مثبت به اثبات رسیده.^(۱۰،۱۱) اخیرا نتایج یک مطالعه بالینی نیز خواص درمانی سیر را فراتر از موارد ذکر شده نشان داده است، به گونه ای که تزریق مستقیم ماده فعال در عصاره سیر با نام آلیسین در داخل زخمهای ساب موکوزال فیبروزیس در فاز دوم این بیماری موجب بهبود بیماران شده است که نشان میدهد سیر به عنوان یک درمان مکمل از پتانسیل بالایی برخوردار است.^(۱۲)

در این تحقیق اثر عصاره آبی سیر و نیستاتین در محیط آزمایشگاهی بر روی سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس تهیه شده در بخش میکروبیولوژی دانشگاه شهید بهشتی در سال ۹۶ بررسی گردید.

مواد و روش ها:

تحقیق به روش تجربی و آزمایشگاهی انجام گرفت. در این مطالعه با مراجعه به بخش میکروبیولوژی دانشگاه شهید بهشتی، ابتدا سویه استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکنس از سازمان پژوهشهای علمی صنعتی ایران با PTCC5027 تهیه گردید، همچنین سویه های بالینی که از بیماران مختلف تهیه شده و مورد تایید فنوتیپی مرکز میکروبیولوژی دانشگاه شهید بهشتی رسیده بود، استفاده گردید. گیاه سیر از شمال کشور تهیه و توسط مرکز گیاه‌شناسی تأیید شد و سپس براساس روش خیساندن عصاره‌گیری انجام شد. برای قارچها تست‌های تشخیصی قرار داده شد تا از هویت دقیق نمونه‌ها مطمئن شویم و سپس در محیط مولر هینتون برات حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در ۷۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردید.

نحوه‌ی عصاره‌گیری:

گیاه سیر در سایه در دمای اتاق (۲۵°C) خشک شد. سپس با استفاده از آسیاب به صورت پودر در آمد. ۱۰ گرم از گیاه خشک شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته به طوری که کل پودر را پوشاند و خیسانده شد. پس از ۴۸ یا ۷۲ ساعت

کردن ۸ رقت مختلف (۰/۱۹، ۰/۳۷، ۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۰/۰۹ میلی گرم) در محیط کشت مایع و در لوله های با حجم کم (پلیت میکروتیتراسیون ۹۶ خانه ای) استفاده شد. سپس هر لوله با حجم مناسبی از تلقیح میکروبی آماده شده و در همان محیط بعد از رقیق کردن سوسپانسیون میکروبی استاندارد شده تلقیح گردید تا کدورت معادل ۰/۵ در مقیاس مک فارلند بدست آمد. پس از اینکه مواد به خوبی مخلوط شدند، لوله های تلقیح شده یا پلیت ۹۶ خانه ای انکوبه شده و تحت شرایط مناسب مورد آزمایش قرار گرفت. MIC کمترین غلظت عامل ضد میکروبی است که به طور کامل مانع از رشد میکروارگانیسم در لوله یا چاه میکرودیلوژن می شود که می تواند توسط چشم غیر مسلح تشخیص داده شود. Broth dilution برای جلوگیری از تحت تاثیر قرار گرفتن MIC توسط CLSI استاندارد سازی شده است. (اندازه تلقیح، نوع محیط رشد، گذشت زمان و روش آماده سازی تلقیح می تواند MIC را تحت تاثیر قرار دهد).^(۱۳،۱۴)

پس از جمع آوری اطلاعات مورد نیاز جهت تحلیل یافته ها از آزمون T-Test استفاده شد.

یافته ها:

تحقیق بر روی تعداد ۱۰ نمونه برای نیستاتین، ۱۰ نمونه برای عصاره ی آبی سیر و برای هر کدام یک نمونه ی شاهد برای میزان MIC, MBC و جهت هاله ی عدم رشد بر روی کاندیدا آلبیکنس انجام گرفت.

میزان MIC نیستاتین و میزان MBC سیر در جدول ۱ ارائه شده و نشان می دهد که میزان MIC نیستاتین $3/4 \pm 0/96$ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان MIC سیر $1/42 \pm 0/22$ میلی گرم بر میلی لیتر و ضریب تغییرات نیستاتین 28% و سیر 15% و نیز MBC سیر برابر $1/59 \pm 0/36$ میلی گرم بر میلی لیتر با ضریب تغییرات 36% بود.



شکل ۲- پلیت حاوی چاهک کاندیدا در حضور عصاره آبی سیر و نیستاتین

انجام حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC):

عصاره آبی بدست آمده با 2% DMSO حل گردید و بر اساس رهنمود های CLSI رقت های مشخصی از عصاره های ذکر شده تهیه ، و MIC به روش Micro Broth Dialution مورد بررسی قرار گرفت. سپس رشد و یا عدم رشد میکروارگانیسم مورد آزمایش در حضور رقت های مختلف عصاره های ذکر شده تعیین شد و کمترین غلظت از عصاره ها که از رشد قارچ جلوگیری نمود به عنوان MIC تعیین گردید. این فرایند به روش ذیل انجام گرفت:

رقیق سازی یکی از مناسب ترین روشها برای تعیین ارزش MIC هستند چرا که توانایی تعیین غلظت عامل ضد میکروبی آزمایش شده در آگار یا در محیط مغذی (رقت بالا یا رقت پایین) را دارند. ارزش ثبت شده MIC به عنوان کمترین غلظت از عامل ضد میکروبی مورد سنجش قرار گرفته است که مهار رشد قابل توجهی از میکرو ارگانیسم آزمایش شده را نشان میدهد و معمولا بر اساس میلی گرم در میلی لیتر یا میلی گرم بر لیتر بیان میشود. به عبارتی MIC کمترین غلظت عامل ضد میکروبی است که به طور کامل مانع از رشد میکروارگانیسم در لوله یا چاه میکرودیلوژن که توسط چشم غیر مسلح تشخیص داده میشود میگردد.^(۱۱)

رقت ها به صورت میکرودیلوژن که یکی از اساسی ترین روشهای آزمایش حساسیت مواد ضد میکروبی است با آماده

جدول ۱: میزان MIC و MBC بر حسب گروههای مورد مطالعه

گروهها	شاخص تاثیر	انحراف معیار ± میانگین	ضریب تغییرات
عصاره آبی سیر	میکروگرم بر میلی لیتر	۱/۴۲±۰/۲۲	۱۵
نیستاتین	میکروگرم بر میلی لیتر	۱/۵۹±۰/۵۸	۳۶
نتیجه آزمون تی	میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۹۶±۳/۴	۲۸
		۰/۰۰۱	

MIC برای نمونه ی استاندارد ۰/۷۸ میلی گرم بر میلی لیتر و نیستاتین ۰/۵ میکرو
گرم بر میلی لیتر می باشد.

میزان هاله ی عدم رشد در نیستاتین ۱/۷۲ ± ۲۹/۱ و در گروه
سیر ۱/۱۵ ± ۲۰ بود که در گروه نیستاتین ۹/۱ یا ۳۱٪ بیشتر
بود و آزمون T-Test نشان داد که این تفاوت به لحاظ آماری
معنادار است. (p<0/000)

جدول ۲- میزان هاله ی عدم رشد بر حسب گروههای مورد مطالعه

گروه ها	قطر هاله عدم رشد	انحراف معیار ± میانگین	ضریب تغییرات
عصاره آبی سیر		۲۰±۱/۱۵	۵/۷
نیستاتین		۲۹/۱± ۱/۷۲	۵/۹
نتیجه ی آزمون تی		۰/۰۰۰	

هاله ی عدم رشد برای نمونه ی استاندارد ۲۲ و نیستاتین ۳۲ می باشد

بحث

این تحقیق نشان داد که عصاره آبی سیر قادر به مهار رشد
کاندیدا آلبیکنس بوده ولی میزان تاثیر آن کمتر از نیستاتین
است

Soltani و همکاران طی مطالعه ای تاثیر آلیسین (ماده موثر
فعال در سیر) بر میزان تولید نیتریک اکساید ماکروفاژها در
برابر کاندیدا آلبیکنس با را انجام دادند که نتایج نشان داد
آلیسین به عنوان یک ماده طبیعی باعث تحریک سیستم
ایمنی در برابر این قارچ میشود به طوری که ماکروفاژهای
همراه شده با آلیسین، میزان تولید نیتریک اکساید بیشتری
نسبت به گروه بدون آلیسین داشتند.^(۱۳)

Bakri و همکاران در تحقیقی اثر مثبت مهاری عصاره آبی
سیر را بر روی ۲۰ گونه باکتری موجود در حفره دهان
گزارش نمودند.^(۱۴)

Valera و همکاران نیز اثرات مثبت ضد قارچی ترکیبات
عصاره های طبیعی را بر روی کاندیدا آلبیکنس و انتروکوکوس
فوکالیس در ریشه دندان گزارش کردند.^(۱۵)

مطالعه ای دیگر با عنوان "آلیسین به عنوان یک درمان
مکمل دارویی برای فاز دوم ساب موکوزال فیبروزیس
دهانی" در گروهی از بیماران چینی انجام شد. تزریق
آلیسین داخل زخمی موجب بهبود باز شدن دهان، حساسیت
سوزشی و رابطه کیفی دهانی حیات طی فاز دوم بیماری
ساب موکوزا فیبروزیس گردید. نتایج نشان داد آلیسین به
عنوان یک درمان الحاقی از پتانسیل بالایی برخوردار است.^(۱۲)

Naeni و همکاران تاثیر مثبت دهانشویه زیره سبز،
بادرنجبویه و چای سبز را بر روی کاندیدا آلبیکنس گزارش
کردند.^(۱۷) kalati و همکاران نیز تاثیر مثبت عصاره آویشن،
میخک و دارچین با نیستاتین را بر کاندیدا آلبیکنس گزارش
کردند که این گیاهان نیز قادر به ایجاد هاله عدم رشد شده اند
که کمتر از نیستاتین بوده است.^(۱۶) اربابی کلاتی و همکاران
عصاره گیاهی آویشن، میخک و دارچین را بر کاندیدا
آلبیکنس بررسی کردند و نتایج نشان داد به ترتیب دارچین،
میخک و آویشن اثرات ضدقارچی دارند اما تاثیرات آنها بطور
معنی داری از نیستاتین کمتر است که مشابه مطالعه فعلی
است.^(۱۷)

نتیجه گیری: به نظر می رسد که عصاره آبی سیر قادر به مهار رشد کاندیداآلبیکنس بوده ولی میزان تاثیر آن کمتر از نیستاتین است.

توصیه و پیشنهادات: تاثیر این یافته نیازمند انجام مطالعات *invivo* و *invitro* متعددی میباشد. بنابراین تحقیقات بالینی جامع و بلند مدت همراه با لحاظ کرده یا حذف پارامترهای اثر گذار پیشنهاد میگردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مسئولین محترم آزمایشگاه مرکز میکروبیولوژی دانشگاه شهید بهشتی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

Zia و همکاران نیز تاثیر اسانس آویشن بر کاندیداآلبیکنتس جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدایازیس دهانی را در شرایط آزمایشگاهی مطالعه کرده و تاثیر مثبت اسانس آویشن را در کنترل کاندیداآلبیکنس گزارش کردند. در این مطالعه که با عنوان مقایسه اثر عصاره آویشن و مورت با نیستاتین در مهار رشد کاندیداآلبیکنس انجام شده و نتایج حاکی از آن بود که عصاره آویشن تقریبا مشابه نیستاتین در مهار کاندیداآلبیکنتس موثر است.^(۱۸) Rashidi و همکاران نشان دادند گیاهان دارویی دیگری مثل زیره سیاه بر روی کاندیداآلبیکنتس موثر است. یافته های فوق نشان دهنده این است که در تحقیقات تجربی گیاهان متعددی اثر ضد قارچی قابل رقابت با نیستاتین را نشان می دهند.^(۱۹)

یک محدودیت مهم در تحقیق ما در خصوص گیاه سیر و محیط کشت و زمان برداشت آن است که نتیجه حاصل از این تحقیق را فقط در مورد گونه مذکور قابل قبول می باشد. همچنین تاثیر آن بر کاندیداکالیبکنس در آزمایشگاه بررسی شده است که در محیط زنده نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد.

گیاه سیر با ایفای نقش معمول خود در رژیم غذایی ممکن است بتواند فعالیت ضد قارچی نشان دهد و شاید ادامه تحقیقات بصورت بالینی و در محیط طبیعی دهان نتایج قابل استفاده تری برای بیماران مبتلا به فرمهای مختلف کاندیداآلبیکنس دهانی خواهد داشت. لذا پیشنهاد میشود تحقیقات بعدی بر اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی این گیاه و فراورده های آن هم در آزمایشگاه و هم در محیط دهان انجام شود.

با توجه به افزایش مقاومت به داروها امروزه توجه محققین بر یافتن ترکیبات جدید با خواص مهار کنندگی رشد میکروارگانیسم ها با منشاء طبیعی معطوف شده است. در این خصوص آثار ضد میکروبی گیاهان مختلف در سال های اخیر گزارش شده است^(۲۰،۲۱) و مطالعه نیز نشان داد سیر با داشتن خواص متعدد و ضد توموری میتواند به عنوان یک ماده دارای ارزش کاربردی معرفی گردد.

References:

- 1-Khosravi AR, Shokri H, Ziglari TF. Fungal Infection in Immunocompromised patients. 1st ed. Tehran: Jahad-e Daneshgahi Publisher, Vahed-e Tehran; 2008.
- 2-Naeini A, Jalayer Naderi N, Shokri H, Davati A, Rabiei SM. Evaluation of the Antifungal Effect of Compound Mouthwash (Cuminum cyminum, Mellisa officinalis and Camellia sinensis) on Standard Strain of Candida albicans. J Mashhad Dental School 2015; 36(3): 272-82
- 3-Creek M, Greendberg M, William blessing L. The diagnosis of oral medicine. Dental Care Jurnal, Continuing Education Course 2003; 40(8):113-8
- 4-Jazaeri M, Pakdek F, Rezaei-Soufi L, Abdolsamadi H, Rafieian N. Cariostatic effect of green tea in comparison with common anticariogenic agents: An in vitro study. Journal of dental research, dental clinics, dental prospects 2015; 9(1):44.
- 5-Besra M, Kumar V. Antimicrobial activity of essential oils and herbal extracts against etiological agent of dental caries. Journal of Essential Oil Bearing Plants 2016 2; 19(7):1807-15.
- 5-Liu T, Chi Y. Experimental study on ployphonal antiplaque effect in human. Xue Zazhi Journal 2000; 35(5): 383-9
- 6-Hacisefrogullari H, Ozcan AG, Demir F, Calisir S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum*). J Food Eng 2005; 68(4): 463-9.
- 7-Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nutritional J. 2002; 1(7):4-9
- 8-Peng Q, BuzZard AR, Lau BH. Neuroprotective effect of garlic compounds in amyloid-beta peptide-induced apoptosis in vitro. Med Sci Monti 2002; 8(21):328-37
- 9-Marchese A, Barbieri R, Sanches-Silva A, Daglia M, Nabavi SF, Jafari NJ, Izadi M, Ajami M, Nabavi SM. Antifungal and antibacterial activities of allicin: A review. Trends in Food Science & Technology 2016 1; 52:49-56.
- 10-Curtis H, Noll U, Stormann J, Slusarenko AJ. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Physiol Mol Plant Pathol 2004; 65(14): 79-89
- 11-Jiang X, Zhang Y, Li F, Zhu y, Chen S, Yang G. Allicin as a possible adjunctive therapeutic drug for stage II oral submucosal fibrosis : a preliminary clinical in a Chinese cohort. Int. J Oral Maxillofac Surg 2015; 44(12):1450-6
- 12-Jiang X, Zhang Y, Li F, Zhu y, Chen S, Yang G. Allicin as a possible adjunctive therapeutic drug for stage II oral submucosal fibrosis : a preliminary clinical in a Chinese cohort. Int. J Oral Maxillofac Surg 2015; 44(12):1450-6
- 13-Soltani M, Laripoor M, Akhavansepani A, Pirali hamedani M. Effect of Alicin on Nitric oxide Macrophag product against Candida albicans. Journal of Medicinal Plants 2009; 8(1):164-70
- 14-Bakri I.M, Duglas C.W.I. Ihibitory effect of garlic extract on oral bacteria . oral biology 2005; 50(4): 645-651
- 15-Valera MC, Maekawa LE, Oliveira LDd, Shygei E, Carvalho CAT. In vitro antimicrobial activity of maxillary chemical substances and nutral extracts on Candida albicans and Enterococcus faecalis in root canals. Journal of Applied oral Science 2013; 21(2): 118-23
- 16-Arbabi kalati F, Shirzaei M, Porzamani M, Dabiri S. The effect of plant extracts of thyme, cloves and cinnamon mith nystatin on inhibition of Candida albicans' , Journal of Dental Sciences 2012; 8(4) (25)
- 17-Arabi Klati F, Sherzaee M, Poorzamani M, Dabiri S, Inbability effects of plant extracts containing thyme , Clore and cinnamon compared to Nystatin on Candida Albicans , (Invitro) J Res Dent SCI 2012; 8(4):175-4.
- 18-Zia M, Bayat M, Khalkhali H. "In vitro antifungal effect of Thymus vulgaris essence on Candida albicans isolated form patient with oral candidiasis". Journal of Shahrekord University of Medical Sciences 2011; 3
- 19-Rashidi A, Mahbod A, Shahb Jahanloo A, Gholami A, Heydari hengami M. Antifungal effect of essential oil of Bunium persicum on Candida albicans, In vitro study. hmj 2013; 17(1):37-44
- 20-Shirzad H. Taji F. Pilehvarian AA. Hosseini SM. Rafieian M. The Effect of Fresh Garlic Extract and its aerial parts on Fibrosarcoma in Balb/c Mice. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2012; 20(2): 133-41.