

## مقایسه اثر مهارى عصاره چای سبز نسبت به نیستاتین بر رشد کانیدیدا آلبیکنس: مطالعه آزمایشگاهی

دکتر لیدا سمیع<sup>۱</sup>، دکتر زینب بیات<sup>۱</sup>، دکتر دارا داستان<sup>۲</sup>، دکتر محمد یوسف علیخانی<sup>۳</sup>، دکتر جلال پورالعجل<sup>۴</sup>، دکتر اسرا عباسی<sup>۵</sup>،  
دکتر فاطمه احمدی متمایل<sup>۶#</sup>

۱. استادیار گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۲. استادیار، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۳. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۴- استاد گروه آمار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۵-دندانپزشک

۶- استاد، مرکز تحقیقات ایمپلنت های دندانى و مرکز تحقیقات دندان پزشکی، گروه بیماری های دهان، فک و صورت -دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

وصول مقاله: ۹۹/۵/۲۹ اصلاح نهایی: ۹۹/۶/۳ پذیرش مقاله: ۹۹/۸/۳۰

### Comparison of Inhibitory Effect of Green Tea Extract and Nystatin on Candida Albicans Growth: An in-vitro Study

Lida Samie<sup>1</sup>, Zeynab Bayat<sup>1</sup>, Dara Dastan<sup>2</sup>, Mohammad-Yousef Alikhani<sup>3</sup>, Jalal Poorolajal<sup>4</sup>, Asra Abassi<sup>5</sup>,  
Fatemeh Ahmadi-Motamayel<sup>6#</sup>

<sup>1</sup>-Assistant professor of oral medicine, Dental faculty, Hamadan University of Medical Science

<sup>2</sup>Assistant Professor, Medical Plants and Natural Products Research Center, Department of pharmacognosy, pharmacy, Hamadan university of Medical science, Hamadan, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, department of microbiology, Hamadan university of Medical science, Hamadan, Iran

<sup>4</sup>Professor of epidemiology, Research Center for Health Sciences and Department of Epidemiology & Biostatistics, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>5</sup>Dentist

<sup>6</sup>Professor, Dental Implant Research Center and Dental Research Center, Department of Oral Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

Received: Aug 2020

; Accepted: Nov 2020

#### Abstract

**Background and aim:** Candida-albicans is a normal floor and one of the opportunistic pathogens in the oral cavity. There are various treatments for this infection, including nystatin. Considering the high potential of plant extracts, including green tea, in the field of antimicrobial activity, this study was designed to investigate the effect of green tea extract on Candida albicans species.

**Materials and Methods:** Initially, the aqueous-alcoholic extract of green tea at different concentrations was prepared. Broth micro dilution method was used to determine the MIC. From the contents of different wells containing less concentrations of green tea and no candidate growth was observed, 10 micro liter of dextrose agar substrate was removed and the lowest amount of green tea, which showed less growth was considered as minimum fungicidal concentration (MFC). Also, 50% and 100% green tea extracts of the discs were prepared to determine the size of the growth medium in the culture medium. Data analyzed using STATA software 14.

**Results:** MIC and MFC for green tea extract start at a concentration of 256 mg / ml. It was also found that the inhibition zone was equal to zero in both concentrations of 50% and 100% for the green tea extract.

**Conclusion:** It seems, green tea has antifungal effect in very high concentration rather than oral usage and also, as mouthwash and just with direct contact.

**Keywords:** Candia albicans, Green tea, Nystatin

\*Corresponding Author: fatahmadim@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2021; 17(4):287- 295

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** کاندیدا آلبیکانس جز فلور نرمال و از پاتوژن‌های حفره‌ی دهان است. درمان‌های مختلفی از جمله داروی نیستاتین برای درمان عفونت کاندیدا وجود دارد. با توجه به پتانسیل بالایی که عصاره‌های گیاهی از جمله چای سبز در زمینه‌ی فعالیت ضد میکروبی نشان داده‌اند این مطالعه جهت بررسی تاثیر عصاره چای سبز بر گونه کاندیدا آلبیکانس طراحی شد.

**مواد و روش‌ها:** ابتدا عصاره‌ی آبی-آلکلی چای سبز در غلظت‌های مختلف تهیه شد. برای تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) از روش Broth micro dilution استفاده شد. از محتویات چاهک‌های مختلف که حاوی غلظت‌های کمتر عصاره بوده و رشد کاندیدا در آن مشاهده نشد، ۱۰ میکرولیتر به محیط سابرو دکستروز آگار برده شده و کمترین غلظتی از عصاره که رشدی کمتر از یک درصد را نشان داد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MFC) در نظر گرفته شد. همچنین از غلظت‌های ۵۰٪ و ۱۰۰٪ عصاره‌ی چای سبز دیسک‌هایی تهیه شد تا در محیط کشت اندازه هاله عدم رشد این محلول بررسی شود. تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم افزار STATA ویرایش ۱۴ انجام شد.

**یافته‌ها:** MIC و MFC برای عصاره از غلظت ۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر شروع می‌شود. همچنین مشخص شد که هاله عدم رشد در هر دو غلظت ۵۰٪ و ۱۰۰٪ برای عصاره چای سبز برابر صفر بود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد، چای سبز در غلظت‌های بسیار بالاتر از استفاده معمول خوراکی و همچنین بصورت دهانشویه و تنها در تماس مستقیم قابلیت ضد قارچی دارد.

**کلید واژه‌ها:** کاندیدا آلبیکانس، چای سبز، نیستاتین

**مقدمه:**

چای سبز یک نوشیدنی باستانی و محبوب در میان جوامع و ملل مختلف است که سال‌ها علاوه بر مصارف معمول به عنوان یک نوشیدنی درمانی نیز پذیرفته شده است<sup>(۵)</sup>. چای سبز از برگ‌های گیاه *camellia sinensis* تهیه می‌شود. این گیاه بوته‌ای پر پشت به ارتفاع ۳ تا ۴ foot است که سالانه حدود سه یا چهار بار در طول بهار و پاییز برداشت می‌شود<sup>(۶)</sup> که تنه‌برگی که در راس این گیاه می‌روید را برای تهیه دمنوش استفاده می‌کنند<sup>(۷)</sup>

چای سبز در سلامتی عروق، کاهش چربی سرم و کاهش فشار خون، تعدیل پاسخ‌های ایمنی، درمان بیماران دیابتی، چاقی، سرکوب تومورها و مواجهه با میکروارگانیزم‌ها موثر است<sup>(۸، ۹)</sup>

epigallocatechingallate (EGCG) مهم‌ترین کاتچین چای با کار برد ضد سرطان است.<sup>(۱۰)</sup>

چای سبز محتوی هزاران ترکیب زیست فعال است (به طور عمده پلی فنول‌ها) که نقش مهمی در کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها ایفا می‌کند. یکی از این ترکیبات فنولی EGCG است، که باعث آپتوز در سلول‌های تومورال می‌شود، بدون اینکه تاثیری روی سلول‌های نرمال داشته باشد. همچنین مطالعات

کاندیدا آلبیکانس نقش مهمی را در کاندیدیازیس دهانی، دنچر استوماتیت و پرپودنتیت شدید ایفا می‌کند، و به عنوان عامل یک عفونت فرصت طلب در افراد مستعد از قبیل مبتلایان به ایدز، مصرف کنندگان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف و همچنین افرادی که پیوند عضو شده‌اند شناخته می‌شود<sup>(۲، ۱)</sup>

داروی موضعی که به عنوان درمان استاندارد کاندیدیازیس استفاده می‌شود، دهانشویه نیستاتین می‌باشد. طعم تلخ دهانشویه نیستاتین، نیاز به مصرف مکرر به صورت چهار بار در روز و همچنین افزایش احتمال بروز پوسیدگی‌های دندانی به علت افزودن شیرین کننده‌ها، موجب عدم رضایت بیماران شده است.<sup>(۲، ۱)</sup>

چای پر مصرف‌ترین نوشیدنی جهان، با تخمین مصرف روزانه‌ی سه میلیارد فنجان در روز است. مصرف زیاد چای به علت پتانسیل این نوشیدنی در جهت حفظ سلامتی است که در مطالعات پری کلینیک و اپیدمیولوژیک تایید شده است<sup>(۳)</sup>. تقاضا برای عصاره‌ی چای و بیومولکول‌های جدا شده از آن در صنایع دارویی و غذایی به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی افزایش یافته است.<sup>(۴)</sup>

داروسازی همدان شناسایی و تایید شد. سپس عصاره گیری با حلال آب و اتانول (۵۰-۵۰) به روش خیساندن (Maceration) و کمک دستگاه شیکر، شرکت طیف آزما طب، در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت و سه بار تکرار انجام گرفت. عصاره حاصل را توسط کاغذ صافی واتمن صاف نمودیم و در ادامه جهت استریل کردن با فیلتر استریل میکروبی صاف نموده و در نهایت آن را با کمک دستگاه تبخیرکننده دوار تحت خلا (شرکت هادولف پرشیا شعبه انحصاری کمپانی هادولف آلمان در ایران) و فریزدرایر تغلیظ کرده و تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شد. غلظت های مختلف تهیه گردید و خاصیت (mm) Inhibition zone, MFC و MIC غلظت های مختلف گزارش گردید.

#### تهیه ارگانیسوم:

تمام مراحل مربوط به کشت قارچ در آزمایشگاه میکروشناسی دانشکده پزشکی همدان انجام شد. سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (5027ATCC 10231) نیز از مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی و عفونی ایران (وابسته به سازمان پژوهش های علمی و صنعتی کشور) تهیه شد.

#### آماده سازی محیط کشت:

جهت کشت قارچها از محیط سابرو دکستروز آگار (Sabrouard dextrose agar) استفاده می شود. طبق دستور العمل تهیه محیط کشت پیشنهادی کارخانه، مقدار مناسبی از پودر محیط کشت با دقت وزن گردیده نصف حجم آب مورد نیاز جهت انحلال پودر محیط کشت داخل ظرف ریخته شد و سپس مقدار وزن شده پودر مذکور به آن اضافه شد، محلول مذکور چندین دقیقه به تندی تکان داده شد و سپس باقیمانده آب مورد نیاز اضافه گردید، لازم به ذکر است نسبت حجم آب به پودر محیط کشت ۶۵ گرم پودر به ازای هر یک لیتر آب می باشد. محیط کشت تهیه شده برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد در اتوکلاو قرار گرفت و بعد از استریلیزاسیون زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۵۰

متعدد اپیدمیولوژیک نشان داده اند که ترکیبات چای سبز تاثیراتی بر روی سلامت عمومی خواهد داشت، از جمله این آثار تاثیرات آنتی باکتریال، ضد آلرژی، ضد ویروس و ضد قارچ به ویژه در حفره دهان میباشد. (۹،۸)

تاکنون از عصاره چای سبز در علم دندانپزشکی برای درمان بیماری های پریدنتال از جمله ژنژیویت و پریودنتیت، درمان بوی بد دهان (هالیتوزیس)، کاهش پوسیدگی های دندان، تولید آدامس ها و دهانشویه ای آنتی باکتریال (مشابه با کلر هگزیدین با حداقل عوارض جانبی) و درمان توده های دهانی استفاده شده است. (۹،۸)

مطالعه ای مصرف چای سبز و استفاده از خواص ضد التهابی چای سبز را در درمان لیکن پلان دهانی نشان داد (۱۱). چای سبز خاصیت پیشگیری از سرطان دهان نیز داشت (۱۲). چای سبز اثر ضد میکروبی در شستشوی ریشه داشت. (۱۳)، در کاهش تحلیل استخوان آلوئولار موثر بود (۱۴) و استحکام باند مینا را افزایش می داد. (۱۵) Vilela نشان داد چای سبز و EGCG به مقدار بیشتر خاصیت آنتی باکتریال علیه استرپتوکوک و لاکتوباسیل دارد و مصرف آن را به جای کلر هگزیدین پیشنهاد کرد (۱۶). مطالعات مختلف نتایج ضد و نقضی را در مورد تاثیر عصاره چای سبز بر رشد کاندیدا نشان دادند (۱۷-۱۹). در مطالعه ای بر روی استرپتوکوک موتانس بی تاثیر (۱۹) و در مطالعات دیگر بر روی کاندیدا و استرپتوکوک موتانس موثر بود (۱۶-۱۸، ۲۰) با توجه به گستردگی بیماریهای قارچی فرصت طلب در افراد مستعد از طرفی، نتایج ضد و نقیض در غلظت ها و روش های مختلف مطالعات و همچنین مشکلات ذکر شده در مورد مصرف نیستاتین هدف مطالعه حاضر تعیین اثر مهاری عصاره چای سبز بر روی رشد کاندیدا آلبیکنس بود.

#### مواد و روش ها:

#### تهیه عصاره گیاه:

در این مطالعه از نوع مطالعات تجربی آزمایشگاهی بود. ابتدا چای سبز تهیه شده و توسط گروه فارماکوتکونی دانشکده

درجه سانتی گراد رسید با رعایت شرایط اسپتیک در ظروف نهایی تقسیم گردید.

### نحوه تهیه سوسپانسیون قارچی:

جهت تهیه سوسپانسیون قارچی با غلظت استاندارد زنجیره‌های قارچی درون سرم فیزیولوژی غوطه ور شد و دانسیته سلول‌های قارچی با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری تنظیم گردید.

جهت تنظیم دانسیته مناسب از دستگاه اسپکتروفوتومتری A&E LAB در طول موج ۵۳۰ نانومتر استفاده شد. سوسپانسیون تهیه شده معادل استاندارد نیم مک فارلند بود.

تعیین حداقل غلظت مهارى رشد (MIC) *inhibitory concentration*

برای این منظور از روش *Broth microdilution* در این مطالعه استفاده شد.

تعیین کمترین غلظت کشندگی قارچ (MFC) *minimum fungicidal concentrations*

از محتویات چاهک‌های مختلف که حاوی غلظت‌های کمتر عصاره بوده و رشد کاندیدا در آن مشاهده نشد، ۱۰۰ میکرولیتر به محیط سابرو دکستروز آگار (SDA) برده شده و کمترین غلظتی از عصاره که رشدی کمتر از ۱ درصد را نشان داد، به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

### آزمایش دیسک گذاری:

پلیت‌هایی با قطر ۸ سانتی متر با ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت سابرو دکستروز آگار پرگردید. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده از کشت تازه کاندیدا آلبیکانس ۴۸ ساعته در سرم فیزیولوژی به کدورت معادل نیم مک فارلند با استفاده از سوپ پنبه‌ای استریل، روی سطح پلیت‌ها به طور یکنواخت تلقیح شده، دیسک‌های بلانک در ۱۰ میکرولیتر از هر عصاره در دو غلظت MIC & MFC تعلیق شده و روی پلیت‌ها قرار گرفتند. همین کار برای نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد در میلی لیتر شرکت داروسازی جابربن حیان، انجام می‌شود، یک دیسک در ۱۰ میکرو لیتر از محلول رقیق کننده جهت تست Negative control تعلیق شده و روی پلیت قرار داده

می‌شوند، پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و پس از گذشت زمان مورد نیاز تشکیل هاله عدم رشد پیرامون دیسک‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. قطر هاله عدم رشد با خط کش بر حسب میلیمتر اندازه گیری شد، این کار به وسیله ۱۰ دیسک اندازه گیری و میانگین آنها محاسبه می‌شود. کلیه آزمایشات بصورت سه بار تکرار انجام گرفتند.

### یافته‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی به بررسی تاثیر عصاره چای سبز بر کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با نیستاتین پرداخته شد. هر یک از تست‌ها به منظور اطمینان از نتایج به دست آمده سه بار تکرار شدند.

بر اساس نتایج به دست آمده از تست‌های MIC عصاره‌ی چای سبز در غلظت ۱۲۸-۰ اثر مهارى در رشد کاندیدا آلبیکانس نداشت. و این نتیجه در هر سه تست تکرار شد. عصاره‌ی چای سبز در غلظت ۲۵۶ در آزمون MIC اول اثر مهارى نشان نداد اما در تست‌های دوم و سوم اثر مهارى بر رشد کاندیدا آلبیکانس مشاهده شد.

در غلظت ۵۱۲ در همه‌ی آزمون‌ها تست MIC برای عصاره‌ی چای سبز مثبت بود. همچنین در غلظت ۱۰۲۴ در همه‌ی آزمون‌ها اثر مهارى عصاره چای سبز بر رشد کاندیدا آلبیکانس مشاهده شد.

از تست‌های MFC انجام شده در این مطالعه به این نتیجه رسیدیم که:

در غلظت‌های ۱۲۸-۰ اثر کشندگی عصاره چای سبز علیه کاندیدا آلبیکانس مشاهده نشد و این نتیجه در هر سه بار آزمون تکرار شد.

همچنین در غلظت ۲۵۶ در آزمون MFC اول اثر کشندگی مشاهده نشد اما در تکرارهای دوم و سوم این اثر قابل مشاهده بود. در غلظت‌های ۵۱۲ و ۱۰۲۴ تکرار آزمون MFC اثر کشندگی عصاره چای سبز علیه کاندیدا آلبیکانس قابل مشاهده بود. در مقایسه با عصاره چای سبز، تست‌های MIC و MFC برای نیستاتین نیز انجام گرفت. بر اساس نتایج این تست‌ها مشخص شد که: در غلظت ۲/۴ محلول نیستاتین در هر سه بار

جهت اطمینان از نتایج اثرات عصاره چای سبز و نیستاتین علیه کاندیدا آلبیکانس از غلظت‌های ۵۰٪ و ۱۰۰٪ این دو ماده دیسک تهیه شد و در محیط کشت قرار داده شد. نتایج حاصل از کشت کاندیدا آلبیکانس در محیط حاوی دیسک‌ها در جدول ۲ مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج مشاهده شده در این جدول عصاره چای سبز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰٪ هیچ اثر مهاری بر رشد کاندیدا آلبیکانس در محیط کشت ندارد. همچنین مشاهده شد که داروی نیستاتین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰٪ هاله عدم رشدی به ترتیب ۱۹ و ۲۰ میلی متری در محیط کشت ایجاد می‌کند. نتایج این تست در هر سه تکرار مشابه بود.

جدول ۱- بررسی تاثیر عصاره چای سبز بر کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با نیستاتین

غلظت		اولین تست		دومین تست		سومین تست	
		MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
چای سبز							
۱۲۸-۰	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی
۲۵۶	منفی	منفی	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
۵۱۲	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
۱۰۲۴	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
نیستاتین							
۰	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی
۲/۴	منفی	مثبت	منفی	منفی	مثبت	منفی	مثبت
۵۰۰۰-۴/۸	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت

MIC: Minimum Inhibitory Concentration

MFC: Minimum Fungicidal Concentration

جدول ۲- نتایج حاصل از کشت کاندیدا آلبیکانس در محیط حاوی دیسک‌ها

هاله عدم رشد به میلی متر			غلظت
دیسک ۳	دیسک ۲	دیسک ۱	
چای سبز			
۰	۰	۰	۵۰٪
۰	۰	۰	۱۰۰٪
نیستاتین			
۱۹	۱۹	۱۹	۵۰٪
۲۰	۲۰	۲۰	۱۰۰٪

کاندیدای آلبیکانسیس تفاوت معنی داری وجود نداشت. همچنین مشخص شد که عامل زمان در کنترل رشد کلنی‌های کاندیدا آلبیکانسیس تفاوت معنی دار ایجاد کرده و با گذشت زمان تماس با عصاره چای سبز مهار رشد کاندیدا آلبیکانسیس بیشتر می‌شد<sup>(۲۰)</sup>. در مطالعه ما عامل زمان به عنوان یک پارامتر تاثیر گذار بر نتیجه آزمایشها در نظر گرفته نشده اما همچنین ثابت شده که عصاره چای سبز اثر مهاری بر رشد کاندیدا آلبیکانسیس دارد.

در مطالعه‌ای که توسط Sitheequه و همکارانش بر روی اثرات ضد قارچی پلی فنول‌های چای سیاه انجام دادند مشخص شد که غلظت MIC برای گونه کاندیدا آلبیکانسیس برابر ۲۵/۶ mg/ml بود<sup>(۲۱)</sup> که در مقایسه با عصاره چای سبز که در مطالعه ما بررسی شد (MIC=256) غلظت بسیار پایین تری برای MIC گزارش شده است به نظر می‌رسد که این درجه از اختلاف بین حداقل غلظت‌های مهاری در این دو مطالعه مربوط به روش استاندارد سازی عصاره چای سیاه و بررسی اثر مستقیم ترکیبات موثره آن بر روی کاندیدا آلبیکانسیس می‌باشد که در مطالعه حاضر این کار صورت نگرفته است.

Ming Chen و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضد قارچی بیست و سه عصاره از چای‌های مختلف به همراه EGCG پرداختند. این مطالعه به روش MIC انجام گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه همه‌ی ۲۳ عصاره‌ی استفاده شده در این مطالعه در مهار رشد C. gabrata موثر بودند. همچنین مشخص شد که سه عصاره از چای‌های مختلف از جمله عصاره چای سبز در مهار رشد کاندیدا آلبیکانسیس موفق بودند. که این نتیجه موید یافته حاصل از مطالعه حاضر است<sup>(۲۲)</sup>.

در مطالعه‌ای با افزایش زمان اکسپوزر گونه‌های کاندیدایی به عصاره‌های چای اثرات ضد قارچی افزوده شد. بر این اساس با گذشت زمان اثرات کشندگی علیه گونه‌ی کاندیدا آلبیکانسیس مشاهده شد<sup>(۲۳)</sup>. نتایج این مطالعه از نظر کمترین غلظت مهار کننده رشد برای گونه کاندیدا آلبیکانسیس با مطالعه حاضر متفاوت بود. همچنین در مطالعه حاضر اثر زمان بر روی میزان مهار رشد توسط عصاره‌ی چای سبز بررسی نشد.

کاندیدایزیسی دهانی عفونت فرصت طلب شایع حفره دهان، ناشی از رشد بیش از حد گونه‌های کاندیدا است که شایع ترین آنها کاندیدا آلبیکانسیس است<sup>(۱۶)</sup>.

جایگاه گیاهان دارویی در طب سنتی کشور ما و منابع غنی گیاهی در دسترس عاملی برای بررسی دقیق تر گیاهان دارویی بوده است. کشف گیاهان دارویی که تاثیرات ضد میکروبی داشته باشند، برای کاهش عوارض جانبی، کاهش اثرات سمی داروهای شیمیایی روی بافت و همچنین از لحاظ اقتصادی بسیار مورد توجه است در سالهای اخیر. گرایش جهانی به طب گیاهی وجود دارد. در مطالعه ما ثابت شد که عصاره چای سبز اثر مهاری بر رشد کاندیدا آلبیکانسیس دارد.

مطالعات قبلی اثرات آنتی میکرو بیال رضایت بخش عصاره چای سبز را گزارش کرده اند<sup>(۱۹)</sup>

در مطالعه دیگر آویشن، میخک و دارچین تأثیرات ضد قارچی روی کاندیدا آلبیکانسیس را نشان دادند<sup>(۱۱)</sup>. عصاره جعفری نیز قادر به مهار هاله رشد کاندیدا آلبیکانسیس بود. ولی نیستاتین بطور معنی داری از آن قوی تر عمل کرد<sup>(۱۲)</sup>. همچنین عصاره های گیاهان دارچین و مازو میتوانند در درمان دنچر استوماتیت موثر باشند<sup>(۱۳)</sup>.

نکته مهم در روش شناسی مطالعات فوق، تماس مستقیم میکروارگانیسم‌ها با غلظت‌های مختلف مواد آنتی میکروبیال در pH های مختلف است (در محیط کشت).

در مطالعه حاضر ابتدا سوسپانسیون از گونه کاندیدا آلبیکانسیس در محیط کشت استفاده شد و غلظت‌های MIC و MFC برای عصاره‌ی چای سبز اندازه گیری شد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر غلظت MIC برای عصاره‌ی چای سبز ۲۵۶ میلی گرم در میلی لیتر و غلظت MFC برای عصاره‌ی چای سبز ۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

در مطالعه‌ای برای بررسی اثرات ضد قارچی عصاره چای سبز کاندیدا آلبیکانسیس در فرم بیوفیلم استفاده شد. همچنین توانایی عصاره چای سبز با هیپوکلریت سدیم در مهار رشد کاندیدا آلبیکانسیس مقایسه شد. بر اساس نتایج این مطالعه بین سدیم هیپوکلریت و عصاره چای سبز در کنترل رشد کلنی‌های

در مطالعه دیگر عصاره آبی سیر رشد کاندیدا آلبیکنس را مهار نمود ولی میزان تاثیر آن کمتر از نیستاتین بود<sup>(۱۴)</sup>.

Okubo S و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره چای و کاتچین علیه چند گونه قارچی پرداختند. بر اساس نتایج این مطالعه عصاره‌ی ۰.۵٪ چای به طور کامل رشد دو گونه‌ی قارچی را کنترل کرد. اما کاتچین از مهار کردن رشد این دو گونه ناتوان بود. عصاره‌ی چای اثر ضد قارچی T را به صورت وابسته به غلظت و وابسته به زمان نشان داد. عصاره‌ی چای در مهار رشد حاوی گونه‌ی کاندیدا آلبیکنس بی تاثیر بود. برخلاف مطالعه حاضر که هم اثر مهارکنندگی رشد و هم اثر کشندگی قارچ از این عصاره مشاهده شد<sup>(۱)</sup>.

Navarro-Martínez MD و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثرات EGCG علیه متابولیسم فولات در سلول‌های کاندیدا آلبیکنسو مهار رشد آنها پرداختند. بر اساس نتایج این مطالعه EGCG یک مهار کننده قوی برای رشد کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. همچنین مشخص شد که مکانیسم عمل مهاری در EGCG مشابه داروهای گروه آزول است<sup>(۲۷)</sup>.

عصاره اتانولی گل انار در غلظت یک سی و دوم میلی‌گرم بر میلی لیتر دارای حداقل غلظت مهاری، و در غلظت یک چهارم میلی گرم بر میلی لیتر دارای حداقل غلظت کشندگی بر کاندیدا آلبیکنس بود<sup>(۱۵)</sup>.

از جمله محدودیتهای اجرای این طرح عدم دسترسی به مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌ها در واحدهای تابع دانشگاه علوم پزشکی همدان بود، که به منظور تهیه قارچ حدود یکماه در لیست انتظار قرار گرفته و پروژه موقتاً راکد شد. از دیگر محدودیتهای این طرح احتمال بالای خطای انسانی در محاسبات بود که به این جهت آزمایشات مربوط به MIC، MFC، و دیسک گذارنده بار متوالی انجام شدند. پیشنهاد می‌گردد: در مطالعات بعدی انواع دیگر داروهای ضد قارچ با عصاره چای سبز و دیگر عصاره‌های گیاهی مقایسه شود. به جای مطالعه‌ی آزمایشگاهی به مداخلات بالینی پرداخته شود.

در مطالعه‌ای اثر ضد قارچی عصاره چای برای لاینهای نرم دنجرها حاوی گونه‌ی کاندیدا آلبیکنس مشخص شد که تعداد میکرو ارگانیسم‌ها در دیسک‌های حاوی عصاره چای به طور معنی داری پایین تر بود. این مطالعه می‌تواند اثر تماس مستقیم عصاره چای که در مطالعه حاضر مشاهده شد را تایید کند<sup>(۲۳)</sup>.

Awadalla و همکارانش نشان دادند که شاخص‌های سلامت دهان قبل و بعد از استفاده از دهانشویه چای سبز بهبود چشم گیری داشتند<sup>(۲۴)</sup>. این مهم نیز موید تاثیر عصاره چای سبز در مواجهه مستقیم با میکروارگانیسم در شکل دهانشویه است که در مطالعه حاضر نیز به اثبات رسیده است.

کاندیدا آلبیکنس یک میکروارگانیسم اسیدوفیل بوده و در PH های پایین رشد می‌کند. بر اساس نتایج مطالعه Awadalla H بهبود PH دهان باعث کاهش رشد این میکروارگانیسم می‌شود<sup>(۲۴)</sup>.

Thomas A و همکارانش در مطالعه‌ای به مقایسه‌ی اثر انتی میکروبیال کلرگزیدین، سدیم فلوراید، زاج سفید، لیموترش، چای سبز و سیر بر پاتوژن‌های حفره‌ی دهان پرداختند. بر اساس نتایج این مطالعه موثرترین عصاره علیه گونه‌ی کاندیدا آلبیکنس دهانشویه‌های سیر و لیمو ترش بودند و عصاره‌ی چای سبز، زاج سفید، سدیم فلوراید و کلر هگزیدین با عصاره سیر از نظر اثر ضد قارچی تفاوت معنی دار داشتند<sup>(۲۵)</sup>.

Doddanna SJ و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر انتی میکروبیال عصاره‌های گیاهی علیه کاندیدا آلبیکنس پرداختند. بر اساس نتایج این مطالعه عصاره‌ی ادویه‌ی کاری بیشترین هاله عدم رشد را نشان داد و به دنبال آن عصاره‌ی به دست آمده از برگ‌های گیاه چای بیشترین هاله عدم رشد را نمایش داد. در حالی که در مطالعه حاضر در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰٪ هیچ هاله عدم رشدی مشاهده نگردید و از عصاره‌ی آیبیرگ‌های چای استفاده شد. اما در مطالعه حاضر از عصاره‌ی آبی - الکلی چای سبز استفاده شده است<sup>(۲۶)</sup>.

**نتیجه گیری**

به نظر می رسد، چای سبز در غلظت‌های بسیار بالاتر از استفاده معمول خوراکی و همچنین بصورت دهانشویه و تنها در تماس مستقیم قابلیت ضد قارچی دارد.

به عامل زمان توجه شود و به عنوان یک متغیر در مداخلات بعدی لحاظ شود. استاندارد سازی عصاره هیدرو الکلی گیاه چای سبز بر اساس یکی از ماده موثره ها بررسی گردد. **پیشنهادات:** در مطالعات بعدی انواع دیگر داروهای ضد قارچ با عصاره چای سبز و دیگر عصاره‌های گیاهی مقایسه شود. به جای مطالعه‌ی آزمایشگاهی به مداخلات بالینی پرداخته شود. به عامل زمان توجه شود و به عنوان یک متغیر در مداخلات بعدی لحاظ شود. استاندارد سازی عصاره هیدرو الکلی گیاه چای سبز بر اساس یکی از ماده موثره ها بررسی گردد.

## References:

- 1-Sinija V, Mishra H. Green tea: Health benefits. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*. 2008;17(4):232-42.
- 2-Peng X, Zhou R, Wang B, Yu X, Yang X, Liu K, et al. Effect of green tea consumption on blood pressure: A meta-analysis of 13 randomized controlled trials. *Scientific reports*. 2014;4:6251.
- 3.Ali N, Roshdy E, Sabry M, Al-Hendy A. Green tea: varieties, production and health benefits. *Food and beverage consumption and health (Eds Wu, W)*, Nova Biochemical, USA. 2013:33-74.
- 4.Arab H, Maroofian A, Golestani S, Sohrabi K, Forouzanfar A. Review of The therapeutic effects of *Camellia sinensis* (green tea) on oral and periodontal health. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(23):5465-9.
- 5.Priya M, Ramamurthy J. Effects of green tea in the treatment of periodontal disease. *Journal of Pharmaceutical Research & Clinical Practice*. 2014;4(1):79-83.
- 6.Chatterjee A, Saluja M, Agarwal G, Alam M. Greentea: A boon for periodontal and general health. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2012;16(2):161.
- 7.Nugala B, Namasi A, Emmadi P, Krishna PM. Role of green tea as an antioxidant in periodontal disease: The Asian paradox. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2012;16(3):313
8. Lu M-J, Chen C. Enzymatic modification by tannase increases the antioxidant activity of green tea. *Food Research International*. 2008;41(2):130-7.
- 9.Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgraduate medical journal*. 2002;78(922):455-9.
- 10-Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of oral microbiology*. 2011;3(1):5771.
- 11.Arbabi klati F, SHerzaee M, Poorzamani M, Dabiri s. Inhibitory Effects of Plant Extracts Containing Thyme, Clove and Cinnamon Compared to Nystatin On *Candida Albicans*. (Invitro). *journal of research in dental sciences*. 2012;8(4):175-9.
- 12.Haji Fattahi F, Alirezaei, Somayeh, Goodarzi, Hossein, Khalesi MA. Investigation of antifungal effect of aqueous extract of garlic on *Candida albicans* (INVITRO). *journal of research in dental sciences*. 2019;16(1):20-6.
- 13.Hajifattahi F, Vand Yousefi J, Lesan S, Darvish f. Comparison between the effect of *Petroselinum Crispum* with Nystatin on growth of *Candida albicans* (in vitro). *journal of research in dental sciences*. 2017;14(3):157-61.
- 14.Mahdavi f, amirkhani a, owlia f. In vitro comparison of Anti-Candidal Activity of cinnamon and *Quercus infectoria* hydroalcoholic extracts with nystatin in treatment of denture stomatitis. *journal of research in dental sciences*. 2020;17(3):192-200.
- 15.Titidej a, alizadeh koshkoghi s, ashori a, azmoudeh f. Study of Antifungal effect of *Punica Granatum* alcoholic extract on *Candida Albicans* (invitro study). *journal of research in dental sciences*. 2020;17(3):201-7.
- 16-Shenin YD, Belakhov V, Araviiskii R. Fluoroorganic Nistatine Derivatives. *ChemInform*. 1998;29(27):no-no.
- 17-Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya M, Mahalakshmi K, Sehgal P, Sukumaran V. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. *Journal of endodontics*. 2010;36(1):83-6.
- 18-Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;53(2):225-9.
- 19-Okubo S, Toda M, Hara Y, Shimamura T. Antifungal and fungicidal activities of tea extract and catechin against *Trichophyton*. *Nihon saikingaku zasshi Japanese journal of bacteriology*. 1991;46(2):509-14.
- 20-Mollashahi NF, Bokaeian M, Mollashahi LF, Afrougheh A. Antifungal efficacy of green tea extract against *candida albicans* biofilm on tooth substrate. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*. 2015;12(8):592.
- 21-Sitheequ M, Panagoda G, Yau J, Amarakoon A, Udagama U, Samaranyake L. Antifungal activity of black tea polyphenols (catechins and theaflavins) against *Candida* species. *Chemotherapy*. 2009;55(3):189-96.
- 22-Chen M, Zhai L, Arendrup MC. In vitro activity of 23 tea extractions and epigallocatechin gallate against *Candida* species. *Sabouraudia*. 2015;53(2):194-8.
- 23-Pachava KR, Nadendla LK, Alluri LSC, Tahseen H, Sajja NP. Invitro antifungal evaluation of denture soft liner incorporated with tea tree oil: A new therapeutic approach towards denture stomatitis. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2015;9(6):ZC62.
- 24-Awadalla H, Ragab M, Bassuoni M, Fayed M, Abbas M. A pilot study of the role of green tea use on oral health. *International journal of dental hygiene*. 2011;9(2):110-6.
- 25-Thomas A, Thakur SR, Shetty SB. Anti-microbial efficacy of green tea and chlorhexidine mouth rinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* spp. and *Candida albicans* in children with severe early childhood caries: A randomized clinical study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2016;34(1):65.
- 26.Doddanna SJ, Patel S, Sundarrao MA, Veerabhadrapa RS. Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans*: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*. 2013;24(4):401.
- 27-Navarro-Martínez MD, García-Cánovas F, Rodríguez-López JN. Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits ergosterol synthesis by disturbing folic acid metabolism in *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006;57(6):1083-92.