مقایسه تاثیر عصاره جعفری با نیستاتین برمیزان رشد کاندیدا البیکانس

دکترفرنازحاجی فتاحی[۱]، دکتر جلیل وند یوسفی[۲]، دکتر سیمین لسان[۱]، دکتر فاطمه درویش[۳]#

۱- استاد یار گروه بیماریهای دهان و دندان و فک وصورت دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد دندانپزشکی تهران

۲- استاد گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دندانپزشکی تهران

۳-دستیار تخصصی گروه بیماریهای دهان و دندان و فک وصورت دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد دندانپزشکی تهران

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به شیوع کاندیدیازیس دهانی و نظر به گزارشاتی مبنی بر اینکه بعضی از گیاهان دارویی از جمله گیاه جعفری دارای خواص ضد باکتری و ضد قارچی می‌باشند، هدف از این تحقیق مقایسه تاثیر عصاره جعفری با نیستاتین بر میزان رشد کاندیدا البیکانس بود.

مواد و روشها: تحقیق به روش تجربی و آزمایشگاهی انجام گرفت. سوش کاندیدا آلبیکانس با شماره ATCC ۱۰۲۳۱ تهیه شده، روی پلیت Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Merck ساب کالچر شده و به روش ۰/۵ مک فارلند سوسپانسیون تهیه شد و روی پلیت‌ها بطور یکنواخت کشت داده و چاهک هایی به اندازه استاندارد بر روی محیط کشت تعبیه شد، داخل ۱۲چاهک عصاره جعفری ودر۱۲ چاهک بعنوان شاهد نیستاتین افزوده شد. یک روز بعد از انکوباسیون قطر هاله عدم رشد در اطراف چاهک ها اندازه گیری شده و مقادیر آن در دو گروه با آزمون T-test مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته ها: هر دو نمونه قادر به ایجاد هاله مهار رشد کاندیدا آلبیکانس بودند و میزان قطر آن در گروه نیستاتین برابر با ۲/۳۴ ± ۳۱/۴ و در گروه عصاره جعفری ۱/۴۳ ± ۱۹/۶ بود. ($P < ۰/۰۱$)

نتیجه گیری: به نظر می رسد که عصاره جعفری نیز قادر به مهار هاله رشد کاندیدا آلبیکانس می باشد. ولی نیستاتین بطور معنی داری از آن قوی تر است.

کلمات کلیدی: کاندیدیازیس دهانی، کاندیدا آلبیکانس، جعفری، نیستاتین

وصول مقاله: ۹۶/۱/۲۵ اصلاح نهایی: ۹۶/۳/۱۸ پذیرش مقاله: ۹۶/۵/۱۹

مقدمه:

پلاک دندانی یک مشکل همه گیر می‌باشد و بدون استثنا کاندیدیازیس یک بیماری مهم و قارچی شایع دهانی است که بوسیله گونه های مختلف از جمله آلبیکانس در دهان آغاز می شود که به اشکال مختلف مثل مخمر و هایفا کاذب و حقیقی در دهان وجود دارند.[۱] میزان شیوع کاندیدا در دهان را تا ۵۰ درصد گزارش کرده‌اند و گفته شده در بعضی بیماران نیز بیشتر است.[۲]

عوامل زمینه ساز کاندیدیازیس دهانی شامل: تغییرات فلور میکروبی، استفاده از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف، استفاده طولانی از دهان شویه ها، زروستومیا، دنچرها و دستگاههای ارتودنسی، استفاده ازکورتیکو استروئیدها و سایر داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی، بیماری ها و سایر وضعیت های همراه با تضعیف سیستم ایمنی، مصرف سیگار، بهداشت ضعیف دهان و بارداری می‌باشند.[۳]

اقدام مناسب جهت درمان کاندیدیازیس، شناسایی اتیولوژی و حذف عامل مستعد کننده است و پس از آن، استفاده از داروهای ضد قارچی در درمان آن موثر می باشد. امروزه با توجه به مقاومت دارویی و عوارض شناخته شده داروها، تمایل به استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش است.[۴-۶] از جمله گیاهان دارویی مورد استفاده در درمان ضدباکتریایی، گیاهان خانواده جعفری است که به علت وجود پلی فنول و آنتی اکسیدان ها و خواص ضدباکتریایی، در طب سنتی از آن به عنوان ضد پوسیدگی دهان و همین طور خوشبو کننده دهان نام برده می‌شود.

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر فاطمه درویش تلفن: ۰۹۱۲۴۸۴۸۳۷۵ پست الکترونیک: f.darvish82@gmail.com

اخیراً اثرات ضد قارچی این گیاه مورد توجه قرار گرفته است.[۲]

از این رو در این تحقیق مقایسه بین عصاره جعفری با نیستاتین روی سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس در واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی سال ۹۵ انجام شد.

.

مواد و روش ها:

تحقیق به روش تجربی بصورت داخل آزمایشگاهی انجام شد. با مراجعه به مؤسسه آزمایشگاهی داروش سویه‌ی استاندارد کاندیدا آلبیکانس با شماره ۱۰۲۳۱ American type culture Collection :ATCC تهیه شده و روی محیط ساب دکستروز آگارین:SDA ساب کالچر شده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و پس از گذشت ۲۴ ساعت سوسپانسیونی با روش استاندارد ۰/۵ مک فارلند از آن تهیه شد.

برای عصاره جعفری از دیسکهای بلانک استفاده شد، که نیستاتین را که به هرمقدار که برداشت شده ماده موثره آن مشخص می‌باشد به همان اندازه و معادل همان از عصاره جعفری برداشت گردد.

سوسپانسیون قارچی به طور یکنواخت تهیه شد و پس از آماده سازی به روش نمونه گیری ساده تصادفی به دو گروه مورد (عصاره جعفری) و گروه شاهد (نیستاتین) تخصیص پیدا کرد.

از طریق روش kerbybauver سویه به روش چاهک گذاری روی ,(SDA)استاندارد با ضخامت ۲سانتی متر و قطر ۸سانتی مترکشت داده شد.

در پلیت‌ها به تعداد ۳ الی ۴ چاهک استاندارد ایجاد شده و پس از کشت خطی کاندیدا در سطح SDA، داخل آنها را از عصاره جعفری پر گردید، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور ۳۷ درجه گرما گذاشته شد و پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد.

نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر از کارخانه جابر ابن حیان موجود در تمام داروخانه ها تهیه و مستقیماً در پلیت‌های گروه شاهد قرار گرفت.

نمونه برای کنترل مثبت شامل پلیت SDA کشت شده با سوسپانسیون قارچی بدون افزودن عصاره گیاهی و یا نیستاتین تهیه شد.

برای تهیه عصاره جعفری برگ گیاه جعفری در دستگاه خرد شده و متانول به آن اضافه گردید با نسبت ۱ به ۱۰(برگ جعفری به حلال) به مدت ۴ ساعت در دستگاه اسانس گیری نگهداری شد و بعد از اسانس‌گیری مایع از یک ورقه فیلتر رد شده وسپس در سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ دور برای ۵ دقیقه قرار داده و عصاره بدست آمده در دمای ۲۰- قبل از انجام آزمایش نگهداری گردید.[۷]

برای مشاهده نتیجه پس از طی زمان مورد نظر قطر هاله مهاری رشد: (Zone of Inhibition) هاله با خط کش معمولی بر حسب میلی متر اندازه گیری شد و عدد مورد نظر یادداشت گردید.

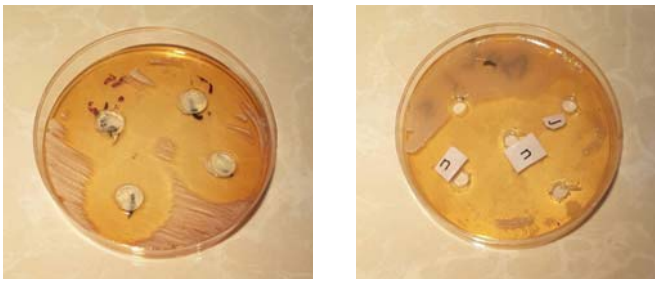
در خاتمه تحقیق میانگین قطرهاله مهار رشد در دو گروه با آزمون T مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته ها:

تحقیق روی تعداد ۲۴ نمونه شامل ۱۲ نمونه در گروه نیستاتین (شاهد) و تعداد ۱۲ نمونه در گروه عصاره جعفری (گروه مورد) انجام شد.

عصاره جعفری قادر به مهار کاندیدا آلبیکانس شده و میزان هاله رشد در چاهکها به تفکیک گروه ها در جدول ۱ ارائه شده است که نشان می‌دهد میزان هاله عدم رشد گروه نیستاتین ۳۱/۴ میلیمتر و در گروه جعفری ۱۹/۶ میلیمتر بود که در گروه نیستاتین به میزان ۱۱/۸ میلیمتر و یا ۳۷/۵ درصد کمتر بود. شکل (۱) و آزمون T نشان داد که این اختلاف از نظر آماری معنی دار است.($P<$ ۰/۰۱)

ضریب تغییرات در ۲ گروه مشابه و حدود ۷ درصد بود.



الف پلیت کاندیدا البیکانس **ب** پلیت عصاره جعفری

شکل ۱- مقایسه هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکنس در حضور دو ماده مورد بررسی

جدول ۱ - میزان هاله مهار رشد در چاهک بر حسب گروه های مورد بررسی

گروه ها / هاله مهار رشد	میزان	ضریبC.v	آزمون
نیستاتین N=12	۳۱/۴ ± ۲/۳۴	۷/۴	P<۰/۰۱
عصاره جعفری N=12	۱۹/۶ ± ۱/۴۳	۷/۳	

بحث:

تحقیق حاضر نشان داد که عصاره جعفری قادر به مهار رشد کاندیدا آلبیکانس می‌باشد. در تحقیقی که Haghighi و همکاران در خصوص تاثیر ضد قارچی اسانس های آویشن باغی، جعفری، زیره سبز و سیاه روی کاندیدا آلبیکانس در مقابل فلوکونازول را منتشر کردند، مشخص شد که هاله مهاری اسانس جعفری ۱۲ میلیمتر و نسبت به سایر اسانس های به کار رفته یعنی آویشن باغی ، زیره سبز و سیاه کم اثر تر بود.[۷]

در مطالعه ما عصاره جعفری مهار رشد بزرگتری ایجاد کرد که ممکن است به شرایط آزمایشگاهی، طریقهٔ تهیه عصاره و اسانس و حتی نوع و تیرهٔ گیاه بکار رفته مربوط باشد. درسال ۲۰۱۶گروهی در تونس بر روی خواص آنتی میکروبیال عصاره جعفری مطالعه‌ای انجام دادند و نتیجه گرفتند این عصاره می‌تواند باعث مهار رشد vibrio strain شود و می‌توان از این عصاره برای پیشگیری و از بین بردن آلودگی این رده میکربی در محصولات دریایی استفاده کرد.[۸]

Alinde و همکارانش مطالعه ای انجام دادند که نشان داد عصاره جعفری دارای ترکیبات شیمیایی آنتی باکتریال (باکتریو استاتیک) روی ۷ گونه باکتری و همینطور دارای فعالیت ضد قارچی در مقابل بیماریهای food borne (انتقال یافته از طریق غذا) و پاتوژنهای فرصت طلب است و اعلام کردند این دو ماده دارای خواص ضد قارچی بر روی گونه‌های قارچی Ochrochloron and Trichoderma viride penicillium در غلظتهای پایین تر نسبت به کتو کنازول می باشد.[۹]

Naeini و همکاران تاثیر مثبت دهان شویه زیره سبز، بادرنجویه، چای سبز را بر روی کاندیدا آلبیکانس گزارش کردند.[۲]

Arabi kalati و همکاران تاثیر مثبت عصاره آویشن، میخک، دارچین با نیستاتین بر کاندیدا آلبیکانس را بررسی کردند و گزارش دادند که این گیاهان نیز قادر به ایجاد هاله عدم رشد شده اند که کمتر از نیستاتین بود. [۱۰] Atai و همکاران اثر ضد قارچ عصاره های افسنطین، اکالیپتوس، پیاز، دارچین، زردچوبه، مریم گلی، نعناع و همیشه بهار بر سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با دهان شویه نیستاتین را بررسی کردند و گزارش کردند که همه آنها کم و بیش اثر داشتند.[۱۱]

Zia و همکاران مطالعه ای با عنوان تاثیر اسانس آویشن بر کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند و تاثیر مثبت

اسانس آویشن را نسبت به کاندیدا آلبیکانس گزارش کردند.[۱۲]

آنان همچنین در تحقیق دیگری باعنوان مقایسه اثر عصاره آویشن و مورت با نیستاتین بر مهار رشد کاندیدا آلبیکنس به این نتیجه رسیدند که عصاره آویشن تقریباً مشابه نیستاتین در مهار رشد کاندیدا آلبیکانس موثر است.[۱۳]

Rashidi و همکاران نشان دادند گیاهان دارویی دیگری مثل زیره سیاه بر روی کاندیدا آلبیکانس موثر است.

یافته‌های فوق نشان دهنده این است که در تحقیقات تجربی گیاهان متعددی اثر ضد قارچی قابل رقابت با نیستاتین را نشان می دهند.[۱۴]

از نکات مثبت، این تحقیق استفاده از نمونه استاندارد کاندیدا در بررسی اثر ضد قارچی است و نیز اثر گیاه دارویی مربوطه با نیستاتین که معمولترین داروی ضدقارچی مورد استفاده در کلینیک می باشد،مقایسه شده است.

یک محدودیت مهم تحقیق ما گیاه جعفری موجود در بازار و فصل است که نتیجهٔ حاصل در این مطالعه فقط در مورد این گونه قابل پذیرش است.

همچنین تأثیر آن بر نمونه کاندیدای موجود در آزمایشگاه بررسی شده و در مورد کاندیدای دهانی و در محیط زنده نیاز به تحقیقات تکمیلی است.

گیاه جعفری 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 و نتایج قابل استفاده برای بیماران مبتلا به فرم های مختلف کاندیدیازیس دهانی به بار آورد، بنابراین پیشنهاد می‌شود تحقیقات بعدی بر اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی این گیاه و فرآورده های آن هم در آزمایشگاه و هم در محیط دهان انجام شود. شناسایی مواد مؤثره موجود در این گیاه که خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آن را باعث می شوند از اقدامات بعدی می تواند باشد.

باتوجه به افزایش مقاومت به داروها، امروزه توجه محققین به یافتن ترکیبات جدید با خواص مهارکنندگی رشد میکروارگانیسم‌ها با منشأ طبیعی معطوف شده است.دراین خصوص آثار ضدمیکروبی گیاهان مختلفی در سالهای اخیرگزارش شده است.[۱۳،۱۵]

از جمله Shanو همکاران که اثر ضد باکتریایی عصاره جعفری روی استافیلوکوکوس اورئوس واشریشیاکولی را بررسی کردند.[۱۶]

خاصیت ضد میکروبی گیاهان عموماً به دلیل وجود ترکیبات فنولی، ساپونین و فلاوونوئیدهای موجود در ساختار آن ها است و برخی از این عوامل روی غشای پلاسمایی یا روی مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلولی میکروارگانیسم ها مؤثر است و می‌تواند خواص ضد میکروبی خود را اعمال نماید. [۱۷،۱۸]

از آنجایی که برگ گیاه جعفری دارای مقادیر زیاد ترکیب لیمونن است، خاصیت ضدکاندیدایی این گیاه می‌تواند به این عامل مربوط باشد.

تحقیقات انجام شده توسط Sharifian و همکاران نشان داده که این گیاه دارای اثرضدتوموری نیز هست. اگرچه مطالعه ایشان مصارف بالای این گیاه را توصیه نمی‌کند.[۱۹]

اما دارا بودن خواص متعدد ضد میکروبی وضدتوموری می‌تواند این گیاه رابه عنوان یک ماده دارای ارزش کاربری درمانی معرفی نماید.

نتیجه گیری:

به نظر می رسد که عصاره جعفری قادر به مهار هاله رشد کاندیدا آلبیکانس می باشد. ولی قدرت آن بطور معنی داری کمتر از نیستاتین است.

References:

1.KhosraviAR,Shokri H, Ziglari T. F. "Fungal Infections Immunocopromised patients". 1st ed.Tehran:Jjaha eDaneshgahi Publisher, Vahed-e Tehran,2008p.179.

2-Naeini A, Naderi NJ, Shokri H, Davati A, Rabiei SM. Evaluation of the Antifungal Effects of Compound Mouthwash (Cuminum cyminum, Melissa officinalis and Camellia sinensis) on Standard Strain of Candida albicans. J Mashhad Dent Sch 2015;39:273-82.

3.Wanjare S, Gupta R, Mehta P. Caspofungin MIC Distribution amongst Commonly Isolated Candida Species in a Tertiary Care Centre-An Indian Experience. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR 2016 Nov;10(11):DC11.

4. Yu H, Oho T, Tagomori S, Morioka T. Anticariogenic effects of green tea. Fukuoka igaku zasshi= Hukuoka acta medica 1992;83(4):174-80.

5.RasheedA,haider M. "antibacterial activity of camellia sinesisaxtracts against dental caries". Arch pharm res journal 1998,21 (3):348-52

6.Liu T,chi Y. "Experimental study on ployphonol antiplaque effect in human". Zhonghuakouqiang y:xuezazhi journal 2000:35(5):383 – 4.

7.Haghighi. F, roudbarmohammadi. SH, soleymani. N, satari. M, "Evaluate the antifungal activity of essential oils of thyme, parsley, cumin andCaraway on Candida albicans compared to fluconazole", Modares Medical Sciences: Pathology Life journal 2011, 29-35.

8. Snoussi M, Dehmani A, Noumi E, Flamini G, Papetti A. Chemical composition and antibiofilm activity of Petroselinum crispum and Ocimum basilicum essential oils against Vibrio spp. strains. Microbial pathogenesis.2016;31(90):13-21.

9. Linde GA, Gazim ZC, Cardoso BK, Jorge LF, Tešević V, Glamoćlija J, Soković M, Colauto NB. Antifungal and antibacterial activities of Petroselinum crispum essential oil. Genetics and molecular research: GMR 2016 Jul 29;15(3).

10.ArbabiKalati. F, Shirzaiy. M, pourzamani. M, Dabiri. S, "The effects of plant extracts of thyme, cloves and cinnamon with Nystatin on inhibition of Candida albicans", J Res Dent Sci. 2012; 8(4):175-179.

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", The Journal of Islamic Dental Association of IRAN 2007;91-97.

12. Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. In vitro antifungal effect of Thymus vulgaris essence on Candida albicans isolated from patients with oral candidiasis. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences 2011;13.

13.Zia M , Bayat M , Khalkhali H , Saffari S, " Effect of Thymus vulgaris, Myrtuscommunis and nystatin on Candida albicans, Journal of Gorgan University of Medical Sciences" 2013;59(4):65.

14. Rashidi A, Mahbod AA, Jahanloo AS, Gholami A. Antifungal effect of essential oil of Bunium persicum on Candida albicans, In vitro study. Bimonthly Journal of Hormozgan University of Medical Sciences 2014;17(1):37-44.

15. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clinical microbiology reviews 2007 ;20(1):133-63.

16. . Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of food microbiology 2007;117(1):112-9.

17. Shahnaz H, Hifza A, Bushra K, Khan JI. Lipid studies of Cuminum cyminum fixed oil. Pakistan journal of botany.2004;36(2):395-402.

.18.Gachkar L, Yadegari D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food chemistry 2007 ;102(3):898-904.

19. Sharifian M, Bolhari B, Nosrat A, Aligholi M. The effect of carvacrol on Enterococcus faecalis as an intracanal medicament-Invitro study. Journal of Dental Medicine 2009;22(1):35-40.