

بررسی آزمایشگاهی تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی باbone بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس

دکتر فائزه آزموده^۱، دکتر شیرین حاجی خانی^۲، دکتر صفرعلی علیزاده^{۳#}

۱- استادیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

۲- دندانپزشک

۳- دانشیار گروه باکتری شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

خلاصه:

سابقه و هدف: بیماری‌های قارچی دهان جمعیت بسیار زیادی را تحت تاثیر قرار می‌دهند و می‌توانند بر سلامت عمومی شخص هم تاثیر بگذارند. گزارش شده است که عصاره باbone حاوی ترکیبات گیاهی دارویی است که این ترکیبات توانایی سرکوب بیماری‌های قارچی را داراست. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره باbone بر قارچ کاندیدا آلبیکنس است.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی از گونه Candida albicans ATCC 10231 استفاده گردید. عصاره‌ی اتانولی ۷۰٪ باbone به صورت آماده خریداری شد و سپس در غلظت‌های ۵۱۲ تا ۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید. فعالیت ضد قارچی عصاره با تعیین MIC (minimum inhibitory concentration) با استفاده dilution Macro broth و Agar well diffusion از روش انتشاره این مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه از آماره‌های توصیفی برای تحلیل و نتیجه گیری استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد عصاره اتانولی باbone تنها در غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس اثر مهاری و کشنده‌گی دارد.

نتیجه گیری: مقایسه یافته‌های حاصل از عصاره‌ی باbone و گروه شاهد اتانولی نشان داد اثر مهاری و کشنده‌گی عصاره‌ی هیدروالکلی باbone تنها مربوط به اتانول ۷۰ درجه می‌باشد و عصاره اتانولی باbone فاقد هر گونه اثر ضد قارچی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس است.

کلید واژه‌ها: MIC، عصاره باbone، کاندیدا آلبیکنس، حداقل غلظت مهاری، حداقل غلظت کشنده‌گی

وصول مقاله: ۹۵/۶/۲۶ اصلاح نهایی: ۹۵/۹/۱۷ پذیرش مقاله:

بنابراین کسانی که از کاندیدیای دهانی رنج می‌برند اغلب به

مقدمه:

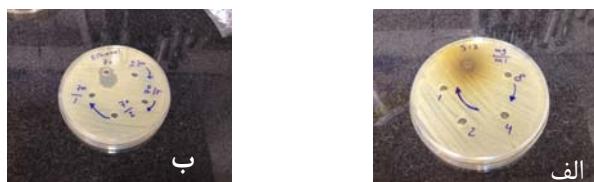
دلیل گلودرد شدید و مشکل در غذا خوردن مقدار زیادی از وزن بدنشان را از دست می‌دهند.^(۱) درمان‌های شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های پلی ان مثل آمفوتیریسین، نیستاتین و ناتامامیسین به مقدار زیادی علیه گونه‌های کاندیدا موثرند اما دو مشکل عمدۀ دارند: ۱- جذب روده ای آنها محدود است و در میان آنها فقط آمفوتیریسین قابل تزریق از راه ورید است. ۲- به طور نسبی دارای اثرات نفروتوكسیک هستند. گروه دیگری از مواد مهم که علیه کاندیدا استفاده می‌شوند ایمیدازول‌ها هستند اگرچه این مواد خطرات توکسیک کمتری نسبت به گروه پلی ان‌ها دارند، ولی مشکل بزرگ در استفاده از آنها مقاوم

در خلال ۳۰ سال گذشته میزان بروز عفونتهای قارچی تهاجمی در انسان به طور چشمگیری افزایش یافته است که در این میان گونه‌های کاندیدا از مهمترین عوامل بیماری‌زای قارچی محسوب می‌شوند.^(۲) کاندیدا آلبیکنس به صورت همزیست نرمال در حفره دهان ۴۵ درصد نوزادان، ۵۰-۶۵ درصد افراد دارای دنچر متحرک، ۹۰ درصد بیماران با لوکمی حاد تحت شیمی درمانی، ۹۵ درصد بیماران HIV، ۴۵-۳۰ درصد افراد بالغ سالم و ۴۵-۶۵ درصد کوکان سالم یافت می‌شود.^(۳-۶) اگر کاندیدا بدون درمان رها شود باعث ایجاد مشکل در جویدن و بلع می‌شود و در برخی مواقع با اسهال شدید همراه می‌شود،

فارلنند با استفاده از سوآپ استریل تلقیح گردید. در هر پلیت تعداد ۵ چاهک به قطر ۵ میلیمتر ایجاد شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت های سریالی تهیه شده از عصاره و الكل در پلیت های جداگانه و در چاهک های جداگانه ریخته شد و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شدند. در واقع این روش به منظور تعیین MIC به کار گرفته شد. برای تعیین MFC تمام لوله های حاوی عصاره بابونه روی پلیت آگار کشت داده شد. پلیت حاوی عصاره ای که هیچ کلی روی آن رشد نکند به عنوان غلظت MFC در نظر گرفته می شود. جهت تایید کنترل کیفی و صحت مراحل آزمایش به صورت ۳ بار تکرار انجام شد.

یافته ها:

اطراف هیچ یک از حفره های ایجاد شده به جز غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر هاله ای عدم رشد مشاهده نشد. در غلظت ۵۱۲mg/ml هاله ای عدم رشد کمی در حد ۲ میلیمتر اطراف چاهک مشاهده گردید. مشاهده ای لوله های شاهد حاوی اتانول نشان داد که فقط لوله ای حاوی اتانول رقیق نشده دارای کدورت بود؛ این کدورت بیانگر این موضوع است که اتانول رقیق نشده قادر به مهار رشد قارچ بوده است و MIC معادل الكل ۷۰ درجه بود است. همچنین مشاهده پلیت های پانچ شده و پر شده با غلظت های مختلف الكل نشان داد که هیچ یک از غلظت های الكل به جز الكل رقیق نشده (الكل ۷۰ درجه) قادر به مهار رشد میکرو ارگانیسم نبودند و هیچ هاله ای عدم رشدی اطراف چاهک های ایجاد شده مشاهده نشد. در اطراف چاهک حاوی اتانول ۷۰ درجه هاله ای عدم رشد ۵ میلیمتری مشاهده گردید



شکل ۱: الف: چاهک های حاوی رقت های سریالی عصاره پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی گرد و ب: چاهک های حاوی رقت های سریالی اتانول ۷۰٪ پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی گرد

شدن گونه های کاندیدا به این داروهاست.^(۱) با توجه به افزایش مقاومت دارویی به پاتوژن های انسانی و عوارض جانبی داروهای ضدقارچی نیاز به عوامل موثرتر و با سمیت کمتر وجود دارد.^(۲) یکی از راه هایی که می تواند نقایص گفته شده را تا حدودی برطرف کند استفاده از گیاهان دارویی است.^(۳) بابونه (Matricaria recutita) یکی از گیاهان دارویی است که حاوی ترکیبات مختلفی از جمله فلاونوئیدها، کامازولن و مواد موسیلازی است که موجب طیف وسیعی از خواص دارویی از جمله خواص ضد قارچی می شوند.^(۴) با توجه به مطالب ذکر شده و اهمیت روز افزون تعیین خاصیت آنتی میکروبیال مواد برگرفته از منابع طبیعی در این تحقیق در نظر است تا تاثیر عصاره ای بابونه بر روی این پاتوژن مهم حفره ای دهان (کاندیدا آلبیکنس) مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها:

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی سوش استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10231) از آزمایشگاه مرجع دانشگاه علوم پزشکی فزوین تهیه و عصاره ای خشک بابونه تهیه شده با اتانول ۷۰ درصد به صورت آماده از پژوهشکده توسعه ای صنایع شیمیایی جهاد دانشگاهی تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی در یک لوله ای استریل که حاوی ۵ میلی لیتر سرمه فیزیولوژیک بود، یک لوب از کلی های ۲۴ ساعته ای میکروارگانیسم مورد نظر سوسپانسیون و مخلوط شد تا یکنواخت گردد. به منظور استاندارد نمودن کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با لوله شماره ۰/۵ مک فارلنلد تنظیم شد. تعیین فعالیت ضد میکروبی با استفاده از Agar well diffusion و macrobroth dilution روش گرفت. در روش macrobroth dilution عصاره در ۹ غلظت و به صورت سریالی از ۲ تا ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. گروه شاهد اتانولی نیز در ۹ غلظت از ۱/۲۵۶-۱ تهیه و سپس سوسپانسیون قارچی به آنها اضافه شد. تمام لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه انکوبه شدند. در روش diffusion agarwell پلیت ها توسط سوسپانسیون ۰/۵ مک

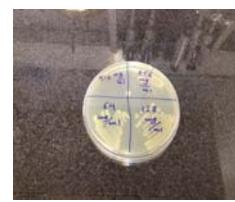
متفاوت به روش آزمایشگاهی علیه چند باکتری محدود دهانی ارزیابی شده است.^(۱۵,۱۴)

ما در این مطالعه به بررسی اثر عصاره‌ی الکلی باونه که یک فرآورده‌ی طبیعی است در برابریکی از میکرووارگانیسمهای مهم در بیماری‌های دهان و دندان در شرایط آزمایشگاهی پرداختیم.

از مقایسه‌ی هاله‌ی عدم رشد اطراف چاهک حاوی عصاره باونه ۵۱۲ mg/ml واتانول ۷۰ درجه این نکته دریافت شدکه چون خود اتانول ۷۰ درجه هاله‌ی عدم رشد ایجاد کرده است پس در واقع هاله‌ی عدم رشد اطراف چاهک حاوی عصاره با غلظت در روش ۵۱۲ mg/ml نیز مربوط به اثر اتانول است. عدم رشد قارچ بر روی پلیت در غلظت ۵۱۲ mg/ml نیز در واقع به علت اثر الکل بوده است. با توجه به مطالب ذکرشده میتوان نتیجه گرفت عصاره‌ی باونه در شرایط آزمایشگاهی و در محدوده‌ی غلظت‌های استفاده شده در تحقیق حاضر هیچ اثر مهاری و کشنندگی diffusion بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس نداشت. روش dillution Agarwell و Macrobroth به علت سهولت، هزینه‌ی کم، توانایی تست تعداد زیادی میکرو ارگانیسم و یا عوامل آنتی میکروبیال و سهولت تفسیر نتایج به عنوان آزمایش معمول اندازه گیری حساسیت به عوامل آنتی میکروبیال استفاده می‌شوند.^(۱۳) در این مطالعه اثر گروه شاهد اتانولی بر روی میکرو ارگانیسم به طور مجزا مورد بررسی قرار گرفت. این مسئله از این جهت حائز اهمیت می‌باشد که ممکن است اثر عصاره‌ی الکلی مربوط به اتانول باشد و نه خود گیاه باونه.

نتیجه‌ی این مطالعه با تعدادی از مطالعات کاملاً همخوانی دارد.^(۱۵,۱۶) در یکی از این مطالعات که در سال ۲۰۰۹ انجام گردید نشان داده شد عصاره‌ی اتانولی باونه بر روی کاندیدا آلبیکنس ATCC10231 در مقایسه با گروه کنترل مثبت که داروهای شیمیایی آمفوتریپسین B، کتونازول و نیستاتین بودند، فقد هر گونه اثر ضدقارچی است. به طوری که قطر هاله‌ی عدم رشد اطراف ۳ داروی ذکر شده به ترتیب ۲۵ و ۳۳، ۱۶ میلیمتر بود ولی هیچ هاله‌ی عدم رشدی اطراف عصاره‌ی باونه ایجاد نگردید.^(۱۶)

مشاهده پلیت‌های کشت داده شده نشان داد در تمامی غلظت‌های عصاره‌ی باونه به جز غلظت ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر میکرو ارگانیسم رشد یافته است. همچنین مشاهده‌ی پلیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف گروه شاهد اتانولی نشان داد قارچ‌ها در تمامی غلظت‌ها به جز اتانول ۷۰ درجه رشد یافته بودند و تنها اتانول رقیق نشده دارای اثر کشنندگی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس بود پس MFC معادل الكل ۷۰ درجه بود.



شکل ۲- کشت میکروبی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

بحث:

با توجه به افزایش مقاومت میکروبی نسبت به داروهای سنتزی شیمیایی و هم چنین اثرات مفید گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و با توجه به در دسترس بودن، سازگاری بیشتر آن‌ها با سیستم ایمنی انسان وارجحیت استفاده از منابع طبیعی نسبت به ترکیبات شیمیایی توسط مردم، استفاده از گیاهان و مواد مؤثره آن‌ها در مقابله با عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی رو به افزایش است.^(۱۱)

کاندیدا آلبیکنس شایع ترین عامل اتیولوژیک بیماری‌های قارچی در دهان است.^(۱۲) در دو دهه اخیر گونه‌های کاندیدا به عنوان عوامل مؤثر در عفونتهای اندودنوتیکس مورد توجه قرار گرفته و قارچها در عفونتهای اندودنوتیکس اولیه و مقاوم به درمان مشاهده شده اند. در میان عفونتهای قارچی، کاندیدا آلبیکنس شایعترین گونه‌ی یافت شده می‌باشد.^(۱۳)

در مطالعات گذشته، تاثیرات ضد میکروبی برخی عصاره‌های گیاهی با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است که در بعضی از آنها فعالیت ضد میکروبی چندین عصاره گیاهی

Rahman و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ تاثیر عصاره‌ی آبی باونه را به کمک روش agar well diffusion بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس اثبات کردند (قطر هاله‌ی عدم رشد ۱۶-۲۴ میلیمتر) ^(۲۲) نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همسو نمی‌باشد که شاید بتوان علل احتمالی آن را این گونه بیان کرد ۱: نوع حلال استفاده شده در دو مطالعه با یکدیگر تفاوت دارد؛ واضح است که هر نوع حلالی قادر به استخراج انواع و درصد مختلفی از ترکیبات موجود در گیاه می‌باشد و به همین دلیل خواص عصاره‌ها با حلال‌های مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشد. مطالعات متعددی در تایید این موضوع وجود دارد. ^(۲۰) ۲: در این مطالعه نیز نوع میکرووارگانیسم استفاده شده ATCC 24433 می‌باشد که با نوع قارچ مطالعه‌ی حاضر که ATCC 10231 می‌باشد متفاوت است و بالتبع نتایج متفاوتی را به دنبال داشته است.

در مطالعه‌ی دیگری که توسط El-shouny و همکاران انجام شد، مشخص گردید عصاره‌ی الکلی باونه دارای هاله‌ی عدم رشد ۱۸ میلیمتر در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر است. ^(۲۳) این اختلاف در نتایج قابل انتظار بوده و می‌تواند ناشی از آن باشد که نوع حلال در این مطالعه استون نمی‌باشد. و از طرف دیگر عصاره در این مطالعه از برگ گیاه باونه تهییه شده است در حالی که در مطالعه‌ی حاضر عصاره از گل گیاه باونه تهییه شده است. در تحقیقات مختلف گزارش شده است که بخش‌های مختلف گیاه و منطقه‌ای که گیاه جمع آوری شده است همه از عواملی می‌باشند که قادر به ایجاد تفاوت در نتایج تحقیقات هستند. ^(۲۴)

لازم به ذکر است که عوامل مختلف دیگری از جمله آب و هوای ترکیبات خاک، سن گیاه و مرحله‌ی زندگی گیاه می‌تواند بر روی کیفیت و ترکیبات مواد استخراج شده از عصاره تاثیر بگذارد و باعث بروز خواص آنتی‌میکروبیال متفاوت عصاره‌ی یک نوع گیاه در تحقیقات مختلف گردد. ^(۲۲)

در نهایت باید این نکته را عنوان کرد که علی‌رغم اهمیت مطالعات آزمایشگاهی در ارزیابی عملکرد مواد ضدمیکروبی، تعیین نتایج این مطالعات به محیط‌های بالینی و دهان بیماران

همچنین Abubutain و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند عصاره‌ی اتانولی ۹۶ درصد باونه نه تنها فاقد اثرات مهاری بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس است بلکه دارای اثرات تحریکی بر روی رشد این قارچ هم می‌باشد که علت آن را وجود برخی مواد مغذی در این گیاه ذکر کردند. ^(۱۷) مطالعات دیگری نیز عدم تاثیر عصاره‌ی باونه در مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس را تایید می‌کنند. در مطالعه‌ی انجام شده essential oil ۲۰۰۷ Agarwal و همکاران در سال ۲۰۰۷ باونه در غلظت‌های مختلف هیچ هاله‌ی عدم رشدی نشان نداد و درنتیجه فاقد هرگونه اثر مهاری و یا کشنده‌گی علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس بود. ^(۱۸)

در مطالعه‌ی Martinsa و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ هیچ گونه هاله‌ی عدم رشد واضحی اطراف دیسک حاوی عصاره‌ی الکلی ۸۰ درصد باونه تشکیل نگردید و در نتیجه این عصاره فاقد هرگونه اثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس بود. ^(۱۹)

بر خلاف مطالعات ذکر شده برخی محققین نتایج متناقضی را گزارش نمودند. از جمله El-shouny که در سال ۲۰۱۶ نشان داد عصاره‌ی استونی و اتانولی باونه با ایجاد هاله‌ی عدم رشد به ترتیب ۱۳ و ۱۴ میلیمتر نسبت به گروه کنترل نیستاتین با هاله‌ی عدم رشد ۱۶ میلیمتر دارای اثرات ضد قارچی قابل توجهی علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس بودند و MIC برابر ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر را گزارش کردند. ^(۲۰) همچنین Solidinio و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ اثر ضدقارچی عصاره‌ی اتانولی باونه را با اندازه گیری قطر هاله‌ی عدم رشد ۱۰ تا ۸/۶۶ میلیمتر تایید کردند. ^(۲۱) عدم تطابق نتیجه‌ی این مطالعات با مطالعه‌ی حاضر می‌تواند به علت نوع گونه‌ی میکروبی استفاده شده باشد؛ زیرا قارچ موجود در مطالعه‌ی حاضر از نوع ATCC می‌باشد ولی در مطالعه El-shouny همکاران از مدفوع بیماران مبتلا به اوتیسم استخراج شده بود و در مطالعه‌ی solidinio UFPEDA و همکاران از نوع استفاده گردیده است و مسلماً نتایج حاصله تنها قابل تعیین به همان گونه از قارچ می‌باشد. ^(۲۰، ۲۱)

نتیجه گیری:

نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره‌ی هیدروالکلی (اتانولی) ۷۰ درصد در محدوده‌ی غلظت‌های ۲ تا ۵۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر هیچ گونه اثر مهاری و کشنده‌گی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس ATCC10231 نداشت.

با مشکلات متعددی روبرو می‌باشد، زیرا شرایط موجود در دهان، گونه‌های موجود و بسیاری عوامل دیگر، که بالقوه توانایی تغییر در نتایج را دارند، متفاوت می‌باشند. برای اینکه بتوان کاربرد این مواد در شرایط بالینی را توصیه نمود، ضرورت انجام تحقیقات بالینی احساس می‌شود.

References:

1. Ghaderi R, MalekiNejad P. Evaluation of anticandidial effects of *Berberis vulgaris* root extracts (ethanolic and aqueous) and comparing their effects with those of clotrimazole. *J Birjand Univ Med Sci* 2006; 13 (2):9-15
2. Manning DJ, Coughlin RP, Poskit EM. Candida in mouth or on dummy. *Arch Dis Child* 1985;60(4):381-2.
3. Berdichevsky I, Ben-Aryeh H, Szargel R, Gutman D. Oral candida in children. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984;57(1):37-40.
4. Lucas VS. Association of psychotropic drugs , prevalence of denture-related stomatitis and oral candidosis. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993;21(5):313-6.
5. Holbrook WP, Hjorleifsdottir DV. Occurrence of oral *Candida albicans* and other yeast-like fungi in edentulous patients in geriatric units in Iceland. *Gerodontics* 1986;2(5):153-6.
6. Dupont B, Graybill JR, Armstrong D, Laroche R, Touzé JE, Wheat L J. Fungal infections in AIDS patients. *J Med Vet Mycol* 1992; 30 (11):19-28.
7. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology ,risk factors and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992;15(3):414-21.
8. Fareid A. In Vitro: Evaluation of Inhibitory Activity of Some Plant Extracts Against Oral Candidiasis. *New York Science Journal* 2014;7(12):66-76
9. Akbari S. Antifungal Activity of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. Against Fluconazol-Resistant and Susceptible *Candida albicans* Isolates. *JMP* 2007; 1 (3) :53-62
10. Tolouee M, Alinezhad S, Saberi R, Eslamifar A, Zad SJ, Jaimand K, etal. Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *Int J Food Microbiol* 2010;139(3):127-33
11. Chen F, Wang D. Novel technologies for the prevention and treatment of dental caries:a patent. *Expert Opin Ther Pat* 2010;20(5):681-94
12. Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. *In vitro antifungal effect of Thymus vulgaris essence on Candida albicans isolated from patients with oral candidiasis. J Sharekord Univ Med Sci* 2011; 13(3): 44-52
13. Yaghoobi Khorasani M, Bahramabadi R, Moghboli H. In vitro comparison of the antimicrobial efficacy of *Zataria multiflora*®, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* . *J Res Dent Sci* 2015; 12 (1) :21-6
14. 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*). *J Res Dent Sci* 2012; 8 (4) :175-179
15. Kruminaa G, Ratkevichab L, Nikolajevab V,Babarikinaa A ,Babarykina D. Influence of plant extracts on the growth of oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* in vitro. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* 2015;64(1):62-67
16. Sher A.Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants.*Gomal J Med Sc*2009;7(1):72-78
17. Ababutain Im. Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts From Some Medicinal Plant. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2011;5(11):678-83
18. Agarwal V, Lal P, Pruthi V. Effect of Plant Oils on *Candida albicans*.*J Microbiol Immunol Infect* 2010;43(5):447-451
19. Martinsa N, Ferreiraib I, Barrosb L, Carvalhob A,Henriquesa M, Silva S. Plants used in folk medicine: The potential of their hydromethanolic extracts against *Candida* species . *Ind Crops Prod* 2015;66 :62-7
20. El-Shouny W, Ismail S, Elzawawy N, Hegazy S. Efficacy of Herbal Control of the Yeasts Isolated from Autistic Children. *Glob Chang Biol* 2016;5(2):65-73
21. Solidônio E, Burle Y, Silva P, Vicalvi M, Souza I, Silva G, Senna K, Colaço W. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of chamomile (*Matricaria recutita* L.) obtained from irradiated and non-irradiated samples. *The Battle Against Microbial Pathogens. Basic Science,Technological Advances and Educational Programs* 2015;2(1):151-156
22. Rahman H, Chandra A. Microbiologic Evaluation of *Matricaria* and Chlorhexidine against *E. faecalis* and *C. albicans*. *Indian J Dent* 2015;6(2):60-4.
23. El-Shouny W, El-Zaher A, El-Fattah Khalil M , El-Salam O. Antimicrobial activity of chamomile acetone extract against some experimentally-induced skin infections in mice. *EJER* 2014;2:58-70
24. Shakib P, Azad Poor M, Saeedi P, Goudarzi G , Rouhani Nejad H, Momeni Mofrad S, Chaharmiri S. Scrutinizing the antimicrobial effect of hydro alcoholic extract of *Althaea officinalis* (marshmallow) and *Matricaria recutita* (chamomile) flowers. *Life Sci J* 2013;10(5):162-6