مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدقارچی عصاره گیاه بومادران با میکونازول ۲ درصد بر کاندیدا آلبیکنس

عاتکه موقری پور*#، محمود شیخ فتح الهی، مریم پورخسروانی*****

* استادیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

** استادیار اپیدمیولوژی و آمار زیستی و مرکز تحقیقات محیط کار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

*** دندانپزشک

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۸/۴ –تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۹

Comparison of Antifungal Effect of Achillea Millefolium Extract with Miconazole 2% on Candida Albicans: An *In Vitro* Study

Ateke Movaghari Pour*#, Mahmood Sheikh Fathollahi, Maryam Pour Khosravani*****

** DDs, MSc, Assistant Professor, Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

*** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics and Occupational Environment Research Center, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

**** Dentist*

Received: 26 October 2015 ; Accepted: 28 February 2016

Introduction: Oral infections induced by Candida species are widely increasing in frequency. One of the most common local treatments for candidiasis is miconazole which has antibacterial effect in addition to antifungal effect. Common antifungal treatments have several side effects and cause drug resistance and high recurrences rate. Thus finding a suitable solution as an alternative synthetic drugs seems logical. The aim of this study was to evaluate antifungal effect of Achillea millefolium extract on Candida Albicans growth in comparison with Miconazole.

Materials & Methods: For this laboratory study, aqueous and alcoholic extract of Achillea millefolium were produced by the method of Percolation, and six concentrations (10, 20, 30, 40, 70 and 100%) of each extract were prepared. Condida albicans was then cultured and on each plate, one plant extracts disc, one Miconazole disc, one Nystatin disc as positive control and one distilled water disc as negative controls were placed. After 48 hours, the mean diameter of non-growth halo of extract concentrations was compared with Miconazole discs by one-way ANOVA, *t*-student and Mann-whitney test (α=0.05).

Results: The mean diameter of non-growth halo around the discs containing aqueous and alcoholic Achillea millefolium extract in all concentrations was less than Miconazole with a significant difference (P<0.001).

Conclusion: The extracts of A. millefolium plant had no significant antifungal effect on Candida Albicans growth in comparison with Miconazole.

Key words: Candida albicans, miconazole, achillea, antifungal.

 # Corresponding Author: ateke.movaghari@gmail.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 149-58 .

چکیده

مقدمه: عفونت‌های دهانی ایجاد شده توسط گونه‌های کاندیدا، به طور گسترده‌ای در حال افزایش است. یکی از درمان‌های موضعی رایج ضایعات دهانی کاندیدیازیس، میکونازول است که علاوه بر خاصیت ضدقارچی، اثر ضدباکتریایی نیز دارد. درمان‌های ضدقارچی معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدیایی را موجب می‌شوند. بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب برای جایگزینی داروهای سنتزی که این مشکلات را از بین ببرد، مورد توجه بوده است. هدف این مطالعه ارزیابی اثر ضدقارچی عصاره گیاه بومادران بر علیه کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با میکونازول بود. آزمون های ANOVA، تی دانشجویی و من-ویتنی برای مقایسه ها بکار گرفته شد (α=۰/۰۵).

مولف مسؤول، نشانی: رفسنجان، ابتدای بلوار خلیج فارس، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان، تلفن: ۰۳۴-۳۴۲۸۰۰۳۱

E-mail: ateke.movaghari@gmail.com

مواد و روش‌ها: جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی، عصاره آبی و الکلی گیاه به روش پرکولاسیون در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ درصد تهیه گردید. کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و داخل هر پلیت کشت، یک عدد دیسک حاوی هر یک از غلظت‌های مورد استفاده از عصاره گیاه، یک عدد دیسک میکونازول ۲ درصد، یک عدد دیسک نیستاتین به عنوان کنترل مثبت و یک عدد دیسک حاوی آب مقطر به عنوان کنترل منفی گذاشته شد. بعد از ٤٨ ساعت، میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره با میانگین قطر هاله عدم رشد میکونازول با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) مقایسه شد.

یافته‌ها: میانگین قطر هاله عدم رشد پیرامون دیسک‌های حاوی عصاره‌های آبی و الکلی بومادران در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، به طور معنی‌داری کمتر از میکونازول بود (P>۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: اثر ضدقارچی داروی میکونازول ۲ درصد بر روی کاندیدا آلبیکنس، در مقایسه با عصاره آبی و الکلی Achillea Millefolium بیشتر بود.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، میکونازول، بومادران، ضدقارچی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤٠ / شماره ۲ : ۵۸-۱٤۹ .

مقدمه

کاندیدیازیس یکی از شایع‌ترین عفونت‌های قارچی فرصت طلب در انسان است. این بیماری توسط یک قارچ مخمر به نام کاندیدا ایجاد می‌شود. مخمرهای کاندیدا به طور معمول در انسان وجود دارند و رشد آن‌ها معمولاً توسط سیستم ایمنی بدن و میکروارگانیسم‌های دیگر محدود می‌شود.[۱] کاندیدیازیس دهانی شایع‌ترین عفونت فرصت طلب مخاط دهان است که به دنبال رشد بیش از حد قارچ کاندیدا در حفره دهان ایجاد می‌شود. شایع‌ترین گونه کاندیدا در ایجاد کاندیدیازیس دهانی کاندیدا آلبیکنس می‌باشد.[۲]

پیش‌بینی شمار ناقلین دهانی گونه‌های کاندیدا در افراد سالم امری دشوار است، اما تحقیقات مختلف آماری بین ۱۷ تا ۷۵ درصد را گزارش نموده‌اند. کاندیدیازیس سیستمیک با خطر ۷۱ تا ۷۹ درصد مرگ و میر در مبتلایان همراه است.[۳و٤]

شایع‌ترین داروهای ضدقارچی مورد استفاده متعلق به گروه‌های پلی‌ان (Polyene) و آزول‌ها (Azoles) می‌باشند.[۵] درمان عفونت‌های مخاطی با عوامل آزولی تأیید شده است و این داروها به صورت موضعی یا سیستمیک مصرف می‌شوند. اما عوارض جانبی حتی در استفاده موضعی از آزول‌ها دیده می‌شود، چرا که آن‌ها به صورت کامل یا ناقص از مسیرهای معده‌ای- روده‌ای جذب می‌شوند.[۵] در میان آزول‌ها داروی میکونازول یک ضدقارچ مناسب برای استفاده‌های موضعی دهانی است و در درمان و پیش‌گیری از بیماری‌های وابسته به کاندیدا تأثیر خوبی را نشان داده است.[٦] این دارو به دو شکل موضعی و تزریقی موجود است اما فرم سیستمیک آن به دلیل سمیت بالا و احتمال عود بیماری به ندرت استفاده می‌شود.[۷]

با وجود اثرات ضدقارچی میکونازول، یک تا ده درصد از سلول‌های کاندیدا بعد از مواجهه با غلظت‌های بالای میکونازول زنده می‌مانند. میکونازول به تنهایی اثر طولانی مدت ندارد، با داروهای ضدانعقاد مثل وارفارین تداخل داشته و در بیماری‌های کبدی منع مصرف دارد.[۵] در دوران حاملگی از نظر ایمنی تجویز در گروه B قرار دارد و در ضمن بی‌ضرر بودن آن در دوران شیردهی نشان داده نشده است.[۷] هم چنین در مطالعات اخیر ذکر شده که احتمال عوارض قلبی عروقی با مصرف میکونازول ناممکن نیست.[۸]

درمان‌های ضدقارچی با استفاده از داروهای ضدقارچ معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت‌های کاندیدیایی را موجب می‌شوند.[٤] بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب برای جایگزینی داروهای سنتزی که مشکلات ذکر شده را از بین ببرد همواره مورد توجه بوده است. یکی از این راهکارها بهره‌گیری از داروهای گیاهی است.[۹]

بومادران با نام علمی Achillea Millefolium گیاه دارویی شناخته شده‌ای است که از مدت‌ها پیش در انواع گوناگونی از اختلالات و بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس روغنی (Essential oil) گیاه بومادران در محیط آزمایشگاه مورد تأیید قرار گرفته است.[۱۰]

عصاره‌های تهیه شده از گیاه بومادران دارای اثرات ضدمیکروبی بر علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بوده‌اند. اثرات ضدباکتریایی گیاه بومادران بر روی باکتری‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته که از جمله حساس‌ترین باکتری‌ها استافیلوکوکوس اورئوس بوده است و اثر ضدباکتریایی گیاه روی این میکروارگانیسم نشان داده شده است.[۱۱] با توجه به خاصیت ضدباکتریایی گیاه بومادران به خصوص علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اثر ضدقارچی و ضدباکتریایی داروی میکونازول، در صورت تأیید اثر ضدقارچی این گیاه می‌تواند جایگزینی برای میکونازول باشد. در این مطالعه اثر ضدقارچی گیاه بومادران بر روی کاندیدا آلبیکنس با میکونازول که یک داروی ضدقارچی می‌باشد، مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا قسمت‌های هوایی گیاه بومادران که به صورت تصادفی از اطراف شهر تبریز جمع‌آوری و با کد شناسایی شماره ۱۱٤٤۸ توسط هرباریوم مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان مورد تأیید قرار گرفته بود، در درجه حرارت اتاق خشک گردید. سپس نمونه‌های خشک شده آسیاب شدند. در این مرحله از روش عصاره‌گیری Taneja و Shukla جهت تهیه عصاره آبی بومادران استفاده گردید.[۱۲] ابتدا ۱۰۰۰ گرم از پودر مذکور در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل و سپس محلول مذکور به مدت ۲۰ دقیقه و با ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich, Berline, Germany) شد. در ادامه محلول سطحی برداشت شده و قسمت ته‌نشین شده دور ریخته شد. عصاره آبی مذکور در ظروف در بسته و به دور از نور مستقیم و در درجه حرارت ۸-٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگه‌داری شد.

عصاره‌گیری الکلی مورد استفاده در این تحقیق بر اساس تکنیک مورد توصیف Aburjai و Hudaib انجام شد.[۱۳]

به منظور تهیه عصاره الکلی، به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر از الکل متانول (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) در دمای ۸۰ درجه، ۱۰۰ گرم پودر بومادران اضافه شده و توسط دستگاه شیکر (Behdad, Tehran, Iran) تکان داده شد. پس از گذشت ۲٤ ساعت محتویات توسط قیف بوخنر (Isolate, London, England) و با استفاده از کاغذ صافی‌های معمولی (Whatman, Briston, England) صاف گردید.

عصاره‌های آبی و الکلی تهیه شده از بومادران به منظور استریل کردن با فیلتر باکتری شناسی فیلتر گردید.

از عصاره‌های نهایی، رقت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۷۰ درصد با سرم فیزیولوژیک و عصاره خالص تهیه شد. در این مطالعه آزمایشگاهی از میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس (PTCC ۵۰۲۷) استفاده شد که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه گردید.

ابتدا میکروارگانیسم به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت مایع Tryptic Soy Broth (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) برای شروع رشد قرار گرفت؛ پس از آغاز رشد، این میکروارگانیسم جهت داشتن کلنی ایزوله (تک) به محیط کشت Sabouraud (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) dextrose Agar حاوی کلرآمفنیکل (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) انتقال داده شد. پس از انکوباتورگذاری ٤۸ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پس از برداشت کلنی تک از این میکروارگانیسم به سرم فیزیولوژیک (Daroupakhsh, Tehran, Iran) انتقال داده شد. در طرح حاضر ابتدا یک سواب پنبه‌ای استریل به داخل محلول حاوی میکروارگانیسم فرو برده و مایع اضافی با فشار دادن به لبه داخلی لوله آزمایش خارج شد، سپس سواب در سطح پلیت‌های یک بار مصرف (پادتن طب، تهران، ایران) حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) به روش Spread plate کشت داده شد، به طوری که تمام سطح محیط آغشته به میکروارگانیسم شود. پلیت‌های کشت به مدت دو تا پنج دقیقه بی‌حرکت گذاشته شدند تا رطوبت آن‌ها جذب گردد.

دیسک‌های بلانک (نیک فرآیند، تهران، ایران) آغشته شده به هر یک از غلظت‌های ذکر شده از عصاره الکلی و آبی بومادران و نیز میکونازول ۲ درصد (بهوزان، تهران، ایران) و نیستاتین ۱۰۰ واحدی (جابر بن حیان، تهران، ایران) به عنوان کنترل مثبت و آب مقطر به عنوان کنترل منفی، پس از گذاشته شدن در کوره و خشک شدن با دقت روی محیط کشت داخل پلیت قرار داده شده و به آرامی در سطح آگار فشرده شدند تا تمام دیسک در تماس با آگار باشد. برای افزایش دقت، طبق مطالعات قبلی از هر یک از غلظت‌های مورد استفاده بومادران، ۱۰ نمونه تهیه و کشت داده شد؛ بنابراین در مجموع ۱۲۰ کشت انجام شد.[۱۵و۱٤]

پس از انکوباتورگذاری به مدت ٤۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و به وسیله کولیس (Asim Instruments, Sialkot, Pakistan) با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب دهم میلی‌متر اندازه‌گیری شد. (در مواردی که قطر هاله عدم رشد بیضی شکل بوده، میانگین قطر کوچک و بزرگ محاسبه گردید.)

داده‌ها پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS با ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقادیر کمی به صورت «انحراف معیار ± میانگین» گزارش شد. به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد بومادران (با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ درصد) با میکونازول ۲ درصد از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه‌های چندگانه دانت (Dunnett's multiple comparisons test) استفاده شد. هم چنین به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره بومادران از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه توکی (Tukey's multiple comparisons test) استفاده گردید. به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی و الکلی بومادران در هر یک از غلظت‌های مورد استفاده از آزمون t دو نمونه مستقل (Independent two-sample t test) استفاده گردید. نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌های قطر

هاله عدم رشد با آزمون ناپارامتری Kolmogorov-Smirnov و تساوی واریانس داده‌های قطر هاله عدم رشد با آزمون Levene مورد تأیید قرار گرفت ($P>۰/۰۵$). سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس در غلظت‌های مختلف عصاره آبی بومادران و میکونازول ۲ درصد استفاده شده در هر گروه در جدول ۱ آمده است.

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بومادران و میکونازول ۲ درصد استفاده شده در هر گروه در جدول ۲ آمده است.

با استفاده از آزمون مقایسات چندگانه Dunnett، میانگین قطر هاله عدم رشد در هر یک از غلظت‌های مورد استفاده عصاره آبی و الکلی بومادران با میکونازول ۲ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، میانگین قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری کمتر از میکونازول ۲ درصد بود ($P<۰/۰۰۱$).

با انجام آزمون t دو نمونه مستقل، به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی و الکلی بومادران در هر یک از غلظت‌های مورد بررسی، مشاهده گردید که میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی در هر یک از غلظت‌ها بیشتر از میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی در همان غلظت بود ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) غلظت‌های مختلف عصاره آبی بومادران با میکونازول ۲ درصد

ماده مورد بررسی	تعداد	حداقل	حداکثر	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P آزمون دانت
بومادران ۱۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۲۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۳۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ٤۰ درصد	۱۰	٦/۱	٦/٤	٦/۲٤±۰/۱۲	<۰/۰۰۱
بومادران ۷۰ درصد	۱۰	۸/٤	۹/۲	۸/۷٦±۰/۲٦	<۰/۰۰۱
بومادران ۱۰۰ درصد	۱۰	۹/۷	۱۰/۱	۹/۹۱±۰/۱۹	<۰/۰۰۱
میکونازول ۲ درصد[a]	۱۰	۲۳/٦	۲٤/۲	۲۳/۸٦±۰/۲۵	

a) گروه مقایسه می باشد.

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بومادران با میکونازول ۲ درصد

ماده مورد بررسی	تعداد	حداقل	حداکثر	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P آزمون دانت
بومادران ۱۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۲۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۳۰ درصد	۱۰	٦/۳	٦/۹	٦/٦٥±۰/۲۰	<۰/۰۰۱
بومادران ٤۰ درصد	۱۰	۷/۷	۸/۳	۸/۰۳±۰/۲۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۷۰ درصد	۱۰	۹/٤	۱۰/۱	۹/۷۲±۰/۲۲	<۰/۰۰۱
بومادران ۱۰۰ درصد	۱۰	۱۰/۷	۱۱/۷	۱۱/۲۲±۰/۳۸	<۰/۰۰۱
میکونازول ۲ درصد[a]	۱۰	۲۳/٦	۲٤/۲	۲۳/۸٦±۰/۲٥	

a) گروه مقایسه می باشد.

جدول ۳ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) عصاره‌های آبی و الکلی بومادران در غلظت‌های مختلف

غلظت	ماده مورد بررسی	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P
۱۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	–
	عصاره الکلی	۱۰	۰	
۲۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	–
	عصاره الکلی	۱۰	۰	
۳۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	<۰/۰۰۱[a]
	عصاره الکلی	۱۰	٦/٦٥±۰/۲۰	
٤۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	٦/۲٤±۰/۱۲	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۸/۰۳±۰/۲۰	
۷۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۸/۷٦±۰/۲٦	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۹/۷۲±۰/۲۲	
۱۰۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۹/۹۱±۰/۱۹	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۱۱/۲۲±۰/۳۸	

آزمون t دو نمونه مستقل

a) آزمون من-ویتنی

b) آزمون t مستقل

در عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) نشان داد که اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۰۱$). هم چنین آزمون مقایسات چندگانه Tukey نشان داد که در عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران اثر غلظت‌ها معنی‌دار می‌باشد به طوری که از غلظت ۱۰ درصد به سمت غلظت ۱۰۰ درصد به طور معنی‌داری اثر ضدقارچی عصاره آبی و الکلی بومادران افزایش می‌یابد ($P<۰/۰۰۱$).

بحث

در این مطالعه آزمایشگاهی که به هدف بررسی تأثیر عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران (Achillea Millefolium) بر روی کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با میکونازول انجام شد، نتایج نشان داد تأثیر میکونازول ۲ درصد نسبت به غلظت‌های به کار رفته عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران به صورت معنی‌داری بیشتر بود و قطر هاله عدم رشد در دیسک‌های حاوی میکونازول از تمامی غلظت‌های گیاه بومادران بیشتر بود.

در این مطالعه تأثیر ضدقارچی عصاره الکلی به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره آبی گیاه بومادران بود که این یافته با نتایج مطالعات فتحی و Candan و Sokmen که همگی به صورت جداگانه بیان نمودند فعالیت ضدقارچی قابل ذکری در قسمت‌های محلول در آب گیاه مشاهده نشده است، در یک راستا می‌باشد.[۱۷و۱۶و۱۰]

فتحی و همکارش که خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی، کلروفرمی و اتیل استاتی گیاه مورد مطالعه ما (Achillea Millefolium) را مورد بررسی قرار دادند، مشابه با مطالعه ما خاصیت ضدقارچی بر روی کاندیدا آلبیکنس را برای گیاه قابل ذکر ندانستند.[۱۶] Tuberoso نتیجه‌ای مشابه با مطالعه ما را در مورد گیاه بومادران نوع Achillea ligustica بیان نمود و فعالیت کمی را برای خاصیت ضدقارچی آن از جمله قارچ کاندیدا آلبیکنس گزارش کرد.[۱۸]

در مطالعه‌ای Aljancic فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه Achillea Atrata علیه کاندیدا آلبیکنس را ناشی از فلاونوئیدها دانست. او عصاره خام و چهار نوع فلاونوئید جدا شده از گیاه را جداگانه ضدقارچ کاندیدا آزمایش کرد و خاصیت ضدقارچی برای عصاره گیاه در نظر گرفت.[۱۹] در این مطالعه که برای نوعی از گیاه بومادران خاصیت ضدقارچی ذکر شده علت را می‌توان اثر ضدقارچی بالاتر این گونه نسبت به گونه مورد مطالعه ما (Achillea Millefolium) و استفاده از مواد خاصی که از عصاره جدا شده بود مانند فلاونوئیدها دانست که ممکن است این مواد به خاطر خالص و غلیظ شدن اثر ضدقارچی نشان دادند.

در مطالعه احمدی که بر روی گیاه Santolina Achillea انجام داد کامفور را ترکیب ضدمیکروبی اصلی گیاه دانست و ذکر کرد اثر ضدباکتری گیاه قابل توجه‌تر از اثر ضدقارچی آن است و قارچ کاندیدا آلبیکنس حساسیت کمی را نشان داده است.[۲۰]

Sokmen و همکاران[۱۷] بر خلاف نتایج این مطالعه، اثر ضدقارچی برای عصاره الکلی و اسانس روغنی گیاه Achillea Sintenisii ذکر کرد. او هم چنین بیان کرد اسانس روغنی دارای خاصیت قوی‌تری از عصاره است. عصاره آبی خاصیت قابل بیانی نداشت. او کامفور و اکالیپتول و لینالول را اجزا اصلی ضدمیکروبی گیاه دانست که بر روی ۱۲ نوع باکتری و دو نوع قارچ تأثیر داشتند.

Candan و همکاران[۱۰] که تحقیقی روی گیاه مورد مطالعه ما انجام داد در قسمت محلول در آب فعالیتی

مشاهده نکرد اما برای عصاره متانولی گیاه و اسانس روغنی آن ضدکاندیدا آلبیکنس فعالیت متوسطی ذکر کرد. هم چنین اثر اسانس روغنی بیشتر از عصاره الکلی بیان کرد. او در این تحقیق اجزاء گیاه را به وسیله GC-MS آنالیز کرد که نتیجه نشان داد کامفور که در تحقیق احمدی و Sokmen جزء اصلی ضدکاندیدا بودند، از اجزای اصلی اسانس روغنی می‌باشند. تفاوت نتیجه تحقیق Candan با مطالعه ما را می‌توان به علت‌های مختلف از جمله حساسیت بالاتر سوش قارچ مورد استفاده در مطالعه و حلالیت بالاتر ترکیبات ضدقارچی دانست.

در اکثر مطالعات خاصیت ضدمیکروبی اسانس روغنی بالاتر از عصاره‌های هیدروالکلی گیاه بوده است. از آن جایی که ترکیب اصلی موجود در اسانس روغنی طبق آنالیزهای انجام شده در مطالعات Candan، Tuberose و تاجیک لینالول و کامفور معرفی شده است، احتمالاً همین ترکیبات عامل خواص ضدقارچی موجود در ترکیبات خانواده بومادران است که درصد آن‌ها در اسانس روغنی بیشتر از عصاره‌ها می باشد. پژوهش تاجیک عنوان می‌دارد که ترکیب لینالول، ۲۵ درصد اسانس روغنی را تشکیل می‌دهد.[۱۱]

این‌ها در حالی است که Stojanovic در مطالعه‌ای که بر روی چهار نوع از گیاهان خانواده استراسه از جمله Achillea Millefolium انجام داد، بیان نمود که عصاره الکلی (متانول- اتر- هگزان) هر چهار گیاه دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه پنج نوع باکتری و دو نوع قارچ از جمله کاندیدا آلبیکنس بوده است.[۲۱]

در مطالعه ما برای تهیه عصاره الکلی گیاه، از الکل متانول استفاده شده است. طبق تحقیق آقای Mahasneh حتی نوع الکل بر روی خواص ضدقارچی اثر می‌گذارد زیرا حلالیت مواد مؤثر گیاه در حلال‌هایی مختلف متفاوت است.[۲۲]

در مطالعات انجام شده بر روی این گیاه (Achillea Millefolium) و گونه‌های مشابه (.Achillea) هیچ کدام به صورت مقایسه‌ای خاصیت ضدقارچی را با یک داروی ضدقارچ استاندارد بررسی نکرده‌اند و به همین دلیل ممکن است حتی تأثیر بر کاهش کلنی‌های کاندیدا را اثر ضدقارچی نامیده باشند. به دلیل معدود بودن مطالعات مشابه و نتایج متفاوت آن‌ها مقایسه این مطالعه با سایر مطالعات کمی دشوار بوده و نمی‌توان به طور قطع هیچ عاملی را مسبب نتایج متفاوت دانست. تنها می‌توان استدلال کرد که احتمالاً عصاره آبی و الکلی این گیاه دارای ترکیبات ضدقارچی کمتری می باشد و پیشنهاد می‌شود از اسانس روغنی گیاه در مطالعات بعدی استفاده شود.

با توجه به اختلاف زیاد قطر هاله عدم رشد عصاره-های آبی و الکلی گیاه بومادران (Achillea Millefolium) در مقایسه با میکونازول ۲ درصد اثر ضدقارچی آن در سطح آزمایشگاهی قابل ملاحظه نبوده و به نظر می‌رسد نمی‌تواند به صورت بالینی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثر ضدقارچی داروی میکونازول ۲ درصد بر روی کاندیدا آلبیکنس، در مقایسه با عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران بیشتر بوده و به نظر می‌رسد عصاره این گیاه نمی‌تواند جایگزین میکونازول برای مبارزه با کاندیدا آلبیکنس باشد. اما با توجه به افزایش روزافزون مقاومت میکروارگانیسم‌های پاتوژن قارچی از جمله کاندیدا آلبیکنس به داروهای ضدقارچی موجود و عوارض این داروها و هم چنین عدم تأثیر ضدقارچی قابل توجه عصاره آبی و الکلی بومادران،

پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری جهت بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس روغنی بومادران صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه شماره ٤٧٢ از دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به جهت حمایت مالی از این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. همچنین از زحمات جناب آقای رضا بهرام آبادی نژاد کارشناس میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Panahi J, Havasian MR, Gheitasi S, Pakzad I, Jaliliyan A, Hoshmandfar R, et al. The *in vitro* Inhibitory Effects of the Aqueous Extracts of Summer Onion on Candida Albicans. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2013; 21(1): 54-9. (Persian)
2. Fatahi M, Shokohi T, Hashemi Sooteh MB, Hedavati MT, Okhovatian A, Tamadoni A, et al. Molecular Identification of Candida Albicans Isolated From the Oncology Patients at Four University Hospitals in Mazandaran Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2007; 17(61): 1-11. (Persian)
3. Nittayananta W, Jealae S, Winn T. Oral Candida in HIV-infected heterosexuals and intravenous drug users in Thailand. J Oral Pathol Med 2001; 30: 347–54.
4. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the orospective antifungal therapy alliance registry. J Clin Infect Dis 2009; 48: 1695-703.
5. Jontell M, Homstrup P. Red and White Lesions of the Oral Mucosa. In: Glic M, Greenberg MS, Ship JA. Burket's oral medicine. 11th ed, Ontario, BC Decker, 2008: 79-84.
6. Capistrano HM, de Assis EM, Leal RM, Alvarez Leite ME, Brener S, Bastos E.M. Brazilian Green Propolis Compared to Miconazole Gel in the Treatment of Candida-Associated Denture Stomatitis. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 10: 947-80.
7. Taschdjian CL, Kozinn PJ. Laboratory and clinical studies on candidiasis in newborn infants. J Pediatr 1957; 50: 426-33.
8. Sung DJ, Kim JG, Won KJ, Kim B, Shin HC, Park JY. Blockade of K+ and Ca2+ channels by azole antifungal agents in neonatal rat ventricular myocytes. Biol Pharm Bull 2012; 35(9): 1469-75.
9. Namdar Ahmadabad H, Roudbary M, Roudbar Mohammadi Sh, Mohammad Hassan Z, Nezafat Firizi M. Anti-fungal effect of fresh, aged and pickled garlic aqueous extract on Candida albicans; *In vitro*. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2013; 18(4): 179-83. (Persian)
10. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polassiou M, Sokmen A, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achillea millefolium subsp. millefolium Afan. (Asteraceae). J Ethnopharmacol 2003; 87(2-3): 215-20.
11. Tajik H, Jalali F, Shokoouhi S. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of aqueous and alcoholic extracts of yarrow against pathogenic microorganisms. Urmia Medical Journal 2009; 19(4): 309-58. (Persian)
12. Shukla Y, Taneja P. Antimutagenic effects of garlic exteracts on chromosomal aberrations. Cancer Lett 2002; 31: 31-6.
13. Aburjai T, Hudaib M. Antiplatelet, antibacterial and antifungal activities of Achillea facata exteracts and evaluation of volatile oil composition. Pharmacog J 2006; 2(7): 191-8.
14. Dutta BK, Karmakar S, Naglot A, Aich JC, Begam M. Anticandidial activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. J Mycoses 2007; 50(2): 121-4.

15. Elaissi A, Rouis Z, Salem NA, Mabrouk S, Bensalem Y, Salah KB, et al. Chemical composition of 8 Eucalyptus species' Essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. BMC Complement Altern Med 2012; 12(1): 81-8.
16. Fathiazad F, Lotfipour F. Study on the *in vitro* antimicrobial activity of Achillea Millefolium and Equisetum arvense. J of Phamaceutical Sciences 2004; 10(1): 37-46.
17. Sokmen A, Vardar unlu G, Polissiou M, Daferera D, Sokmen M, Donmeze. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. Mor. (Asteraceae). Phytother Res 2003; 17(9): 1005-10.
18. Tuberose CL, Motoro P, Piacente S, Corona G, Deiana M, Dessi MA, et al. Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from Achillea ligustica All. J Pharm Biomed Anal 2009; 50(3): 440-8.
19. Aljancic I, Vajs V, Menkovic N, Karadzic I, Juranic N, Milosavljevic S, et al. Flavones and sesquiterpene lactones from Achillea atrata subsp. multifida: antimicrobial activity. J Nat Prod 1999; 62(6): 909-11.
20. Ahmadi Z, Sattari M, Tabraee B, Bigdeli M. Identification of the constituents of Achillea santolina essential oil and evaluation of the anti-microbial effects of its extract and essential oil. Scientific Journal of Arak University of Medical Sciences 2011; 14(3): 1-10. (Persian)
21. Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. *In vitro* antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L. (Asteraceae) extract. J Ethnopharmachol 2005; 101(1-3): 185-90.
22. Mahasneh A, Adel M. Antimicrobial activity of extracts of herbal used in the traditional medicine of Jordan. J Ethnopharmacol 1999; 64: 271-6.