(مقاله پژوهشی)

بررسی اثر ضدقارچی زاج سفید (آلوم) بر روی رشد قارچ های کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس به صورت آزمایشگاهی

حسین ملک زاده[1]، منصور امین[2]، فاطمه بابادی[1*]، فاطمه سویطی[3]

۱- استادیارگروه آموزشی بیماری های دهان و فک و صورت.
۲-استاد گروه آموزشی میکروب شناسی.
۳-دانشجوی دندانپزشکی.

۱-گروه آموزشی بیماری‌های دهان و فک وصورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲-گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۳-دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول:
فاطمه بابادی، گروه آموزشی بیماری های دهان و فک وصورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۷۷۱۸۳۴۴
Email: babadi.fatemeh@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس به ترتیب شایعترین عوامل اتیولوژیک بیماری های ناشی از مخمرهای جنس کاندیداهستند. باتوجه به اینکه مقاومت قارچ ها نسبت به تعدادی از داروهای ضد قارچی افزایش یافته و بسیاری از این داروها سمی و گران هستند، بررسی فرآورده های طبیعی بر این قارچ ها ضروری است. لذا هدف این تحقیق بررسی اثر زاج سفید (آلوم) بر ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی به روش modified E. test ، از زاج سفید محلول‌هایی با غلظت ۸ ، ۴ ، ۲، ۱ ، ۰/۵ ،۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر تهیه و از هر رقت ۱۰ میکرولیتر در دیسک هایی که بصورت خطی بر روی محیط کشت تلقیح شده با قارچ هدف قرار داده شده است ریختیم، سپس به مدت ۲۴ ساعت به دلیل سرعت رشد پایین این قارچ ها، پتری ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) را بدست آوردیم. لازم به ذکر است که آزمایش سه بار تکرار و میانگین گرفته شد.

یافته‌ها: یافته‌های این مطالعه نشان داد که زاج سفید تاثیر مثبت در مهار رشد کلونی‌های کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس دارد. MIC برای کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس به ترتیب (۰/۱۳ mg/ml) و(۰/۰۶ mg/ml)بدست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، استفاده از زاج سفید می‌تواند درمان جانبی مناسبی در از بین بردن عفونت‌های مرتبط با کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس در طرح درمان های دندانپزشکی باشد.

واژگان کلیدی: زاج سفید، آلوم،کاندیدا آلبیکنز، کاندیدا ترپوکالیس، کنترل عفونت، دندانپزشکی.

دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۴/۱۵ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۸/۷/۸ اعلام قبولی: ۱۳۹۸/۷/۲۰

مقدمه

گونه‌های کاندیدایی میکروارگانیسم‌های همزیستی هستند که با بدن انسان تعادل دارند و در ۷۵ درصد افراد سالم به صورت همزیست دیده می شوند(۱).

اکثر افراد با مکانیسم‌های دفاعی فیزیولوژیک و سیستم ایمنی سالم، رشد و انتشار این قارچ‌های فرصت طلب را کنترل می‌کنند، ولی تحت شرایط خاص و با وجود فاکتورهای مستعد کنترل کننده از قبیل دیابت، نقص سیستم ایمنی، مصرف آنتی بیوتیک های گسترده این فرصت ایجاد می‌شود تا گونه‌های کاندیدا از شکل همزیست به شکل بیماری زا تبدیل شوند و قابلیت ایجاد کاندیدیازیس را بوجود آورند. این بیماری رایج‌ترین عفونت قارچی فرصت طلب در میزبان است(۲). کاندیدیازیس دهانی (Oral candidiasis) شایع ترین عفونت قارچی انسانی است که به عنوان عفونت فرصت طلب رایج در بیماران سرکوب ایمنی شناخته شده است(۳). از میان گونه‌های پاتوژن کاندیدا، کاندیدا آلبیکنز بیشترین ویرولانس و شایعترین عفونت قارچی پاتوژن در انسان و بعد از آن کاندیدا ترپوکالیس است (۲).

امروزه وجودکاندیدا آلبیکنس در پوسیدگی‌های دندانی به روشنی ثابت شده است و ارتباط میان کاندیدا آلبیکنس و خصوصاً پوسیدگی‌های عاجی مورد بحث قرار گرفته است (۴).

پروتزهای دندانی رشد گونه‌های کاندیدایی را حمایت می‌کنند که ممکن است زمینه را برای ضایعات دهانی فراهم کنند.کاندیدا ترپوکالیس در این کلونی ها ظاهر می شود و به مواد ضدقارچی کلینیکی مقاومت نشان می‌دهد، که سبب افزایش جستجوی ضدقارچ های جدید شده است (۵).

طبق نتایج مطالعه‌ای، در ۴۷٪ بیماران دارای لوکوپلاکیای دهانی عفونت کاندیدایی دیده شد که کاندیدا آلبیکنز بیشترین گونه کاندیدایی(۹۴/۷٪) و کاندیدا ترپوکالیس با نسبت (۵/۳٪) گونه بعدی بود(۶). مصرف گسترده ی ضدقارچ های سیستمیک و موضعی برای درمان کاندیدیازیز دهانی سبب مقاومت کاندیدا آلبیکنز به این مواد شده است (۷). افزایش مقاومت قارچها به داروهای ضد قارچی رایج و از سویی عوارض جانبی متعدد در پی استفاده از آنها، استفاده از ترکیبات طبیعی را رونق داده است (۸). موادطبیعی از دیرباز تاکنون در درمان بیماری های انسان مورد استفاده قرارگرفته اند. این مواد حاوی ترکیباتی هستند که ارزش درمانی بسیاری دارد(۹).

موادطبیعی از لحاظ زیست محیطی امن ترهستند همچنین دسترسی آسان و قیمت ارزانی دارند(۸). زاج سفید یا آلوم (سولفات پتاسیم آلومینیوم) سولفات های دوتایی بلورین بافرمول $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$، نمک معدنی بی بو و جامد بلوری بی رنگ که در هوا سفید می شود(۱۰). در زبان فارسی زاج سفید، عربی شب یمنی(Shibb-e-Yamani) و انگلیسی آلوم(Alum) گفته می شود (۱۱). برای اولین بار این ماده در کشورهای آسیایی کشف شد. این دارو بسیار باستانی است.یونانیان باستان و رومی ها از نمک های آلومینیومی به عنوان ماده ثابت کننده ی رنگ در رنگرزی و ماده ی بند آورنده ی خون در پوشاندن زخم ها استفاده می کردند. از این ماده در تصفیه ی آب، به عنوان خوشبوکننده بدن به علت خواص ضدعفونی کننده و ضد باکتریایی و در ساخت خمیردندان ها استفاده می شود (۱۲). همچنین برای حفظ و افزایش ماندگاری مواد غذایی، ضدعفونی کننده برای بسیاری از فرایندهای آماده سازی مانند ترشی و تخمیر استفاده می شود (۱۰).

علاوه بر این آلوم در رده I ماده تشکیل دهنده فعال در دهانشویه توسط کنفرانس مشاوره غذا و دارو ایالات متحده (FDAs) عنوان شده است (۱۳). زاج سفید در بسیاری از واکسن‌ها نظیر واکسن هپاتیت Bو A به عنوان ادجوانت برای افزایش پاسخ بدن به ایمونوژن ها در علم پزشکی استفاده می شود (۱۴).

زاج سفید در مناطق روستایی نیجریه نیز برای درمان سرفه ی اطفال به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (۱۵).

مدادهای خطیِ حاوی آلومینیوم سولفات یا پتاسیم سولفات به عنوان ماده ی قابض برای جلوگیری از خونریزی در تیغ‌های کوچک اصلاح صورت استفاده می شود و به عنوان زیرلایه در سفیدکننده های پوست و داروها در اواخر قرن ۱۶ام استفاده می شد(۱۶). این ماده در نواحی از ایران مانند سیستان و بلوچستان به صورت تجربی برای درمان زخم های آفتی دهان استفاده می شود(۱۷).

همچنین از زاج سفید به عنوان یک ماده ی موفق در کنترل خونریزی شدید با اطمینان از حصول لخته ی کارآمد استفاده می شود(۱۸). زاج سفید تنها در سطح سلول ها و فضای بینابینی عمل می کند. احتمال نفوذپذیری بسیار کمی به سلول ها دارد و احتمال جذب سیستمیک آن کم است (۱۹).

با توجه به افزایش جمعیت بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی و شیوع عفونت‌های کاندیدیازیس در بیماران مذکور و از طرفی مقاومت دارویی به داروهای ضد قارچی رایج، لزوم یافتن ترکیبات طبیعی ضد کاندیدیایی ضروری است. با توجه به این که تاکنون مطالعاتی بر روی اثر زاج سفید بر میکروارگانیسم های دیگر انجام شده است در این پژوهش اثر زاج سفید را بر روی رشد و تکامل دو گونه میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس بصورت آزمایشگاهی پرداخته ایم.

روش بررسی

این پژوهش یک مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی می باشدکه با توجه به اثرات خوب زاج سفید بر میکروارگانیسم ها در مطالعات انجام شده ی قبلی، اثر ضد قارچی زاج سفید را بررسی می کند. جامعه مورد مطالعه دو گروه سه تایی از میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس است.

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی است و حجم نمونه بدون در نظر گرفتن فرمول محاسبه شده است. و کلیه آزمایشات به منظور حصول اطمینان از عدم رخ دادن هرگونه خطا، سه بار تکرار شده اند. مقدار ۱۰۰گرم بلور زاج سفید از عطاری تهیه شد. برای افزایش انحلال پذیری این ماده، کریستال‌ها را با هاون دستی خرد کرده و با صافی پودر نرم آن را جدا کردیم. با توجه به مقدار انحلال پذیری آن و مقادیر استفاده شده در مطالعات قبلی (۱۰)، مقدار ۸ گرم از این ماده را در ارلن ریخته و با ۱۰۰میلی لیتر آب روی همزن مغناطیسی در آزمایشگاه مخلوط کردیم تا محلول همگن بدست آید. سپس محلول را اتوکلاو و در ظرف در بسته قرار داده تا برای آزمایش‌های بعدی استفاده شود. سوش‌های استانداردکاندیدا‌آلبکینز(PTCC:۵۰۲۷) و کاندیداترپوکالیس (PTCC:۱۶۴۳) به صورت آمپول‌های لیوفیلیزه (به صورت غیرفعال و پودری) از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری انسیتو پاستور ایران تهیه شد. حجمی معادل دو سی‌سی از محیط کشت سابرو دکستروز (Merck, Germany) به داخل و یال‌های لیوفیلیزه منتقل گردید و مخلوط شد. سپس مقداری از این سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار (Merck, Germany) منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در مرحله بعد با استفاده از کلونی‌های رشد یافته کشت ذخیره تهیه شده و در فریزر منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای استفاده مجدد نگهداری شدند. بعد از یک روز انکوباسیون، از قارچ-های رشد یافته بر روی محیط کشت غلظت نیم مک فارلند معادل $1/5 \times 10^8$ cfu/ml تهیه شد. سپس تست حساسیت دو قارچ نام برده شده نسبت به زاج سفید انجام داده شد. برای تعیین حساسیت از روش Modified E. test استفاده شده است (۲۰, ۲۱). برای انجام این تست، ماده ی ضد

میکروبی در رقت هایی که به ترتیب نصف می‌شود (برای مثال :۸۰ ، ۴۰، ۲۰ ، ۱۰ و...) تهیه می‌گردد. میکروب هدف بر روی محیط کشت، کشت داده می شود و بلافاصله ۸ عدد دیسک بلانک در یک خط مستقیم از بالا تا پایین بر روی محیط داخل پتری قرار داده می شود. سپس از هر رقت ۱۰ میکرولیتر برداشت کرده و روی هر دیسک قرار داده می شود. پس از ۲۴ ساعت، دیسکی که شروع " ناحیه عدم رشد "باشد به عنوان MIC(Minimum Inhibitory Concentration) در نظر گرفته می شود و مقدار غلظت ماده ی موجود در آن دیسک به عنوان MIC محاسبه می-گردد. بنابراین برای انجام این پژوهش، ابتدا ۸ گرم از ماده ی خشک زاج سفید را وزن کردیم و سپس در ۱۰۰میلی لیتر آب مقطر حل کردیم. پس از آن محلول بصورت ۲ بار رقت، در لوله های آزمایشی استریل به صورت سریالی رقیق شد (۴ ، ۲ ، ۱ ، ۰/۵ ،۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر). برای این کار ۸ لوله ی آزمایشی استریل شماره گذاری شد. سپس مقدار یک میلی لیتر آب مقطر در لوله های شماره ی ۲تا ۸ با سمپلر ریخته شد.

در لوله ی شماره ی یک، دومیلی لیتر از نمونه محلول زاجی که قبلا آماده کرده بودیم ریختیم سپس یک میلی لیتر از لوله ی شماره یک برداشت کرده و به لوله ی شماره ی دو خالی کردیم، لوله را تکان داده سپس از لوله ی شماره ی دو یک میلی لیتر برداشت کرده و به لوله ی شماره سه ریختیم و به همین ترتیب غلظت های نصف تهیه شد. آنگاه از هر رقت ۱۰ میکرولیتر در دیسک‌هایی که بصورت خطی بر روی محیط کشت تلقیح شده با قارچ هدف قرار داده شده است (این دیسک‌ها بصورت آماده خریداری می‌شود) ریخته شد؛ تا حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد را بدست آوریم. سپس پتری‌ها در انکوباتور در دمای ۳۷درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه داری شد. آخرین رقتی که "ناحیه عدم رشد" را نشان نداد، MIC زاج سفید در نظر گرفته شد. ضمنا دیسک شماره ۸ (دیسک بلانک حاوی حلال آب مقطر) به عنوان کنترل منفی بر روی محیط کشت قرار داده شد. به منظور حصول اطمینان از عدم رخ دادن هرگونه خطا، آزمایش سه بار تکرار شد. و MIC میانگین هر قارچ را به صورت جدا محاسبه کردیم. مشاهده رشد یا عدم رشد کلونی قارچ به صورت چشمی بعنوان ابزار جمع آوری اطلاعات درنظر گرفته شده است.

در این تحقیق به منظور بررسی اثر زاج سفید بر روی رشد کلونی های کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس، ۸ غلظت متفاوت را امتحان کرده و سه بار آزمایش را تکرار کردیم. برای هر دیسک غلظت معادل محاسبه شد. به این صورت که مقدار ماده ی موجود در ۱۰ میکرولیتر محلول به عنوان MIC بر حسب میلی گرم بر میلی لیترگزارش گردید. و نتیجه آزمایش که به صورت میانگینی از MIC سه آزمایش صورت گرفته است بصورت جدول نشان داده شد.

یافته ها

در این مطالعه دو قارچ کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس به عنوان دو گروه مطالعاتی طی تکرار سه بار آزمایش مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند.در هر آزمایش ایجاد ناحیه ی عدم رشد اطراف اولین دیسک به عنوان MIC زاج سفید بر قارچ موردنظر در نظر گرفته شد که در جدول ذیل ارائه شده است: طبق داده های جدول ۲، **MIC** میانگین برای کاندیدا آلبیکنز mg/ml ۰/۱۳و برای کاندیداترپوکالیس mg/ml ۰/۰۶ است که نشان می‌دهد کاندیدا ترپوکالیس نسبت به کاندیدا آلبیکنز به ماده ی زاج سفید حساس تر است.

طبق داده های جدول ۲، **MIC** میانگین برای کاندیدا آلبیکنز mg/ml ۰/۱۳ و برای کاندیداترپوکالیس mg/ml ۰/۰۶ است که نشان می‌دهد کاندیدا ترپوکالیس نسبت به کاندیدا آلبیکنز به ماده ی زاج سفید حساس تر است.

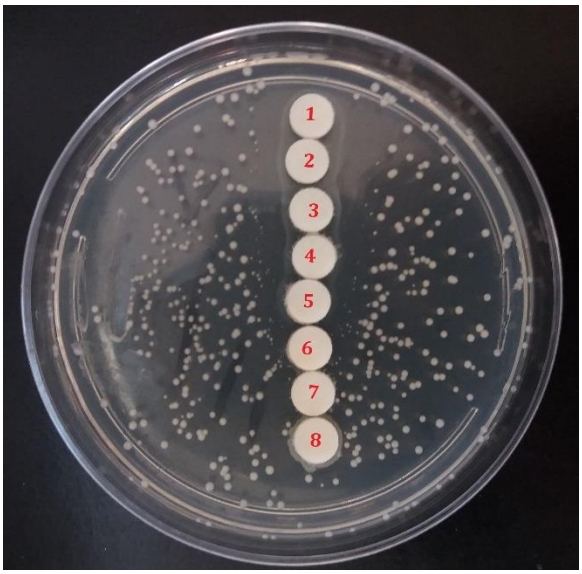
جدول ۱: نتایج اثر زاج سفید بر کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس با روش E-test

گروه ها	آزمایش	MIC mg/ml							
		۰/۸	۰/۴	۰/۲	۰/۱	۰/۰۵	۰/۰۲۵	۰/۰۱۲۵	۰
		دیسک	دیسک	دیسک	دیسک	دیسک	دیسک	دیسک	دیسک
		۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
کاندیدا آلبیکنز	اول	-*	-	-	+*	+	+	+	+
	دوم	-	-	+	+	+	+	+	+
	سوم	-	-	-	+	+	+	+	+
کاندیدا ترپوکالیس	اول	-	-	-	-	+	+	+	+
	دوم	-	-	-	+	+	+	+	+
	سوم	-	-	-	-	+	+	+	+

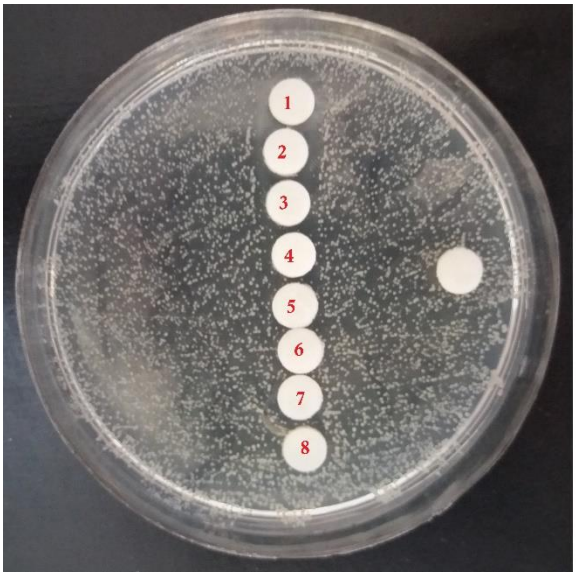
* (-)عدم رشد قارچ ، (+) رشد قارچ

جدول ۲: میانگین MIC زاج سفید بر کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس طی سه آزمایش انجام شده به روش E-test

گروه ها	MIC mg/ml	
	میانگین	انحراف استاندارد
کاندیدا آلبیکنز	۰/۱۳۳	۰/۰۵۷
کاندیدا ترپوکالیس	۰/۰۶۷	۰/۰۲۹



شکل۰-۱: مشاهده هاله عدم رشد در اطراف کاندیدا آلبیکنز



شکل ۰-۲: مشاهده هاله عدم رشد در اطراف کاندیدا ترپوکالیس

شکل۳: نمونه محیط نیم مک فارلند تهیه شده

بحث

کاندیدا در فلور طبیعی افراد سالم یافت می‌شود و تخمین زده می‌شود که در ۴۵ـ۶۶ درصد بزرگسالان سالم و ۳۰ـ۵۵ درصد نوزادان سالم دیده شود.

انواع مختلفی از عوامل سیستمیک و موضعی می توانند رشد بیش از حد گونه‌های کاندیدا را در مخاط دهان ایجاد کنند و باعث کاندیدیازیس دهانی شوند. کاندیدا آلبیکنز به علت خواص چسبندگی و سطح بالای بیماری زایی ان شایع-ترین گونه‌ی کاندیدا در هر دو مخاط سالم دهانی و کاندیدیازیس دهانی در انسان ها است(۲۲). از طرف دیگر، مطالعات میکروبیولوژی درباره پریودنتیت آپیکال نشان داده

است که مخمرها از تقریبا ۵ـ۲۰درصد کانال های عفونی جدا شده‌اند که به صورت خالص یا همراه با باکتری‌ها بودند.تقریبا تمام این مخمرها متعلق به گونه کاندیدا و نوع غالب آن کاندیدا آلبیکنز است.کاندیدا آلبیکنز فاکتورهای بیماری زایی زیادی را بیان می کند که قادر به عفونی کردن کمپلکس پالپ ـ عاج (مانند توبول‌های عاجی) می‌باشد. در نتیجه سبب واکنش التهابی در اطراف ریشه دندان می شود که نشان دهنده نقش پاتوژنیک این میکروارگانیسم در پریودنتیت آپیکال است. مخمرها به طور ویژه با عفونت های پایدار ریشه ای که به درمان های محافظه کارانه درمان ریشه پاسخ نمی دهند، مرتبط هستند. این حالت ممکن است به خاطر مقاوت تمام گونه های کاندیدا در برابر داروهای معمولی موضعی مانند کلسیم هیدروکساید باشد. با این حال سایر عوامل ضد میکروبی ممکن است رویکردهای درمانی جایگزین را ارائه دهند و درمان این موارد پریودنتیت پایدار را بهبود بخشند (۲۳).

همچنین امروزه وجودکاندیدا آلبیکنز در پوسیدگی‌های دندانی به روشنی ثابت شده است و ارتباط میان کاندیدا آلبیکنز و خصوصاً پوسیدگی‌های عاجی مورد بحث قرار گرفته است(۴). در طول ۴دهه گذشته همزمان با رشد جمعیت افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، میزان بروز عفونت های تهاجمی قارچی افزایش یافته است که به نوبه خود تلاش برای جست و جوی مواد ضدقارچی موضعی را بیشتر می‌کند (۲۴). کاندیدا ترپوکالیس از آن جایی که قادر به رشد در محیط کشت های با فشار اسمزی بالا است به عنوان یک گونه اسمز_سازگار (osmotolerant) مطرح شده است (۲۵)، و اخیرا مشخص شده است که این ویژگی ویرولانس و مقاومت اولیه این گونه را نسبت به ضدقارچ ها تحت تاثیر قرار می‌دهد(۲۶). مطالعه انجام شده توسط رودریگز و همکاران(۱۹۹۶) گزارش داد که جداسازی ژن مرتبط با سازگاری اسمزی در C. tropicalis همولوگ واقعی HAL3، CtHAL3 نامیده می‌شود(۳۳). در واقع C. tropicalis قادر به رشد در محیط کشت با بیش از ۱۰-۱۵٪ کلرید سدیم است و از محیط Hypersaline دریای مرده (بحرالمیت) برای اولین بار جدا شده است (۲۷). به نظر می رسد اثر اسمز_ سازگاری ترپوکالیس به محلول نمکی سدیم کلراید باشد چون در مطالعه ی حاضر اثر ضدمیکروبی نمکِ زاج سفید بر رشد کاندیدا ترپوکالیس بوضوح دیده شد. به دلیل ظهور تعداد زیادی گونه‌های کاندیدا مقاوم به یک یا چند ضدقارچ، ضروری است که حساسیت گونه های مختلف کاندیدا را نسبت به ضدقارچ ها سنجیده و موثرترین نوع آن ها را انتخاب کرد (۲۸) وکمترین غلظت موردنیاز برای مهار رشد(MIC) را تعیین و غلظت‌های بالاتر از آن را برای درمان به کار گرفت(۲۹). در قرن ۲۱ افزایش آگاهی از عوارض مصرف مواد شیمیایی منجر به جست و جوی داروهای طبیعی نظیر زاج سفید گردیده است که از زمان باستان بخاطر خواص درمانی آن استفاده می‌شده است(۳۰). از زاج سفید در ضدعفونی کردن زخم و سوختگی ها و درمان ضایعات حفره دهان استفاده می شود (۳۱). در سال های اخیر تحقیقات زیادی روی زاج سفید صورت گرفته است که نشان می دهد اثرات دارویی متفاوتی دارد (۳۲). بر این اساس در این مطالعه تلاش شد تا اثر زاج سفید بر کاندیدا آلبیکنز و کاندیدا ترپوکالیس بررسی و کمترین غلظت موردنیاز از زاج سفید برای ممانعت از رشد این دو قارچ به روش modified E. test محاسبه گردد. یافته های پژوهش ما نشان داد که زاج سفید بر کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس اثر ضد میکروبی دارد و MIC زاج سفید برای کاندیداآلبیکنز ۰/۱۳ mg/ml و برای کاندیدا ترپوکالیس ۰/۰۶ mg/ml بدست آمد و کاندیداترپوکالیس نسبت به کاندیدا آلبیکنز به زاج سفید حساس تر است. در همین ارتباط تحقیقات زیادی به بررسی اثر زاج سفید بر برخی میکروارگانیسم ها انجام شده است که چند نمونه ذکر می‌شود: شهریاری و همکارانش در سیستان

و بلوچستان طی مطالعه ای نشان دادند که فعالیت زاج سفید همانند سایر ضدعفونی کننده ها وابسته به دوز و زمان است و در غلظت بالای ۱٪ اثر بازدارندگی رشد بر *Escherichia coli* O157:H7 دارد. آنها همچنین پیشنهاد کردند که غلظت ۱٪ و ۲٪ زاج سفید می تواند به عنوان یک جایگزین برای نگهدارنده های شیمیایی خطرناک در آب آشامیدنی استفاده شود و اذعان کردند که مقدار mg/l ۰/۲ از آن در آب آشامیدنی توسط WHO توصیه شده است(۱۷). مطالعه یSura و همکارانش درسال ۲۰۱۳در عراق طی آزمایش بررسی اثر زاج سفید بر ۷گونه ی باکتری جدا شده از نواحی مختلف بدن شامل گونه های پروتئوس، استافیلوکوک ها، استرپتوکوک ها، سودوموناس و ... به روش agar-well diffusion نشان داد که غلظت gr/100ml ۵ و ۱۰ بر اکثر باکتری های مطالعه موثر است ولی در غلظت gr/ 100 ml/۵ ۲مهار رشدی دیده نشد (۳۳). در سال ۲۰۱۴ Bnyan و همکارانش نیز در عراق گزارش کردند که زاج سفید اثر ضدباکتریایی دارد.آنها غلظت های مختلف زاج سفید را به روش agar well diffusion روی ۴ باکتری *S. aureus, S. epidermidis, E. coli* و *Klebsiella pneumonia*امتحان کردند. طبق نتایج ان ها غلظت ۲۰ درصد زاج سفید به عنوانMIC در نظر گرفته شد (۹).

احمد در سال ۲۰۱۱ در عراق فعالیت ضدمیکروبی غلظت های مختلف زاج سفید را در برابر باکتری *Proteus mirabilis* بررسی کرد. ایشان دریافت که غلظت‌های مختلف زاج سفید اثر تدریجی بر روی سوسپانسیون باکتری ایجاد می کند، MIC بدست آمده در این مطالعهmg/ml ۰/۸ بود همچنین نتیجه گرفت که زاج سفید اثر مهاری بالقوه علیه پروتئوس میرابلیس دارد که با یافته‌های ما همخوانی دارد (۳۴). همسو با این مطالعه Flayeh در سال ۲۰۱۰ در یمن، طی بررسی اثر ضد قارچی زاج سفید و چند عصاره گیاهی بر میکروارگانیسم های جدا شده از ضایعات دهانی ۵۰ بیمار، به روش کشت نمونه‌ها روی محیط کشت مولرهینتون آگار حاوی غلظت‌های مختلف زاج، MIC زاج سفید برای کاندیداآلبیکنز را mg/ml ۱۰بدست آورد. که اختلاف MIC مطالعه ما با آن ممکن است به علت مقاومت سویه های جدا شده از دهان بیماران باشد (۳۵). افزون بر این، Ali در سال ۲۰۱۸ در عراق طی مطالعه ی بررسی اثر سینرژیک آنتی بیوتیک‌ها و زاج سفید به روش agar well diffusion،MIC برای کاندیدا آلبیکنز را gr/100ml ۱۰ بدست آورد (میکروارگانیسم های استفاده شده در این مطالعه از منابع مختلف عفونت حاد مانند زخم، سوختگی، خلط واسهال جمع آوری شده بود)و اعلام کرد ناحیه عدم رشد با افزایش غلظت زاج سفید از۰/۰۸ به ۰/۲۰ افزایش می یابد (۳۶).

مطالعه ی Thomas در سال ۲۰۱۵ در هند نشان داد که دهانشویه زاج سفید(۰/۰۲M) اثرات ضدمیکروبی قطعی در برابر باکتری های دهان به خصوص استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس دارد و اثر ضد قارچی آن در برابر کاندیدا آلبیکنز مشابه دهانشویه سدیم فلوراید است (۳۷). در سال ۱۹۹۸ Olmez و همکارانش در ترکیه نیز اثر دهانشویه های حاوی آلوم و بدون آلوم را بر میزان پلاک و استرپتوکوک های دهانی روی ۴۵ کودک ۱۲-۱۴ ساله طی مصرف روزانه به مدت ۶هفته بررسی کردند.نمونه های بزاقی جمع آوری شده در پایان هفته سوم و ششم نشان داد که سطوح پلاک واسترپتوکوک‌های دهانی در گروه دریافت کننده آلوم به صورت معنی داری کاهش یافته است.هیچ شواهدی از اثرات زیان آور به بافت های دهان مشاهده نشد. همچنین گزارش کردند؛استفاده روزانه از دهانشویه حاوی آلوم بی خطر است و باعث کاهش قابل توجهی در میزان پلاک و استرپتوکوک های دهان می شود و می‌تواند در کودکان برای دندانپزشکی پیشگیرانه استفاده شود، گرچه اثرات آن به صورت بلند مدت نیاز به بررسی دارد (۱۳). کارایی دهانشویه های حاوی نمک به دلیل پدیده اسمزی است که به دهیدراسیون و مرگ باکتری ها کمک می کند. درسال ۲۰۱۰ Rupesh و همکارانش طی

مطالعه‌ای مشابه مطالعه Olmez اثر دهانشویه‌های سالین (نمکی) اشباع شده و دهانشویه ی آلوم 0.02 M را بر میزان استرپتوکوک موتانس بزاق بچه ها بررسی کردند. کاهش قابل توجهی در میزان این باکتری بعد از روز ۱۰ام و ۲۱ ام توسط دو دهانشویه‌ی مورد بررسی دیده شد همچنین مشاهده گردید که دهانشویه آلوم در مقایسه با سالین در کاهش استرپتوک موتانس بزاق موثرتر است(۳۰). در سال ۱۹۹۶ Dutta و سایر همکارانش در هند طی پژوهشی فعالیت باکتریسیدال زاج سفید در برابر پاتوژن های اپیدمیک روده ای (مانند Vibrio cholerae 01, V. cholerae 0139و Shigella dysenteriae 1) به هنگام اضافه شدن به آب با کاهش pH آب (از ۶ به ۴) گزارش کردند. زاج سفید به صورت وابسته به دوز سبب مهار رشد بیشتر میکروارگانیسم های مورد بررسی به ویژه V. cholerae 01 و V. cholerae 0139 شد. کاهش تشکیل کلونی در حضور غلظت g/dl ۰/۲۵ زاج سفید بعد از ۵ ساعت مشاهده و هیچگونه رشدی پس از ۲۴ ساعت دیده نشد (۳۸).

Osuala و همکارانش در نیجریه در سال ۲۰۰۹ طی بررسی اثر زاج سفید بر ارگان های مختلفِ (مغز ، کلیه، کبد و شش) ۴۰ موش آزمایشگاهی و مشاهدات هیستولوژیکی حاصل از آن دریافتند که مصرف خوراکی زاج سفید برای پستانداران نسبتا ایمن است (۳۹).

گرچه دوز ۳ گرم آن ممکن است سبب سرفه شود و مصرف غلظت های بالای آن می تواند سبب نفروتوکسی و خونریزی دستگاه گوارش شود (۴۰). برای درمان مسمومیت با زاج سفید نوشیدن آب فراوان و شست وشوی معده در صورتی که استفراغ رخ نداده است توصیه می شود (۴۱).

Goh چونگ و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در سنگاپور فعالیت ضد میکروبی یون های کلسیم و سایر عواملِ پیوند متقاطع(cross-linking agents) در پانسمان های آلژیناتی همچنین سازگاری آنها با آنتی میکروبیال های موضعی شایع را بررسی کردند.آنها نتیجه گرفتند که یون های مس، روی و آلومینیوم عوامل پیوند متقاطع مناسبی برای آلژینات هستند زیرا که اثر آنتاگونیستی با عوامل ضدمیکروبی نشان نمی‌دهند. و می توانند خاصیت ضدمیکروبی به پانسمانِ حاصل دهند. هرچند مطالعات بیشتر در شرایط فیزیکی مختلف باید انجام شود تا تاثیر زاج سفید و سمیت آن مشخص شود (۴۲).

نتیجه‌گیری

به طور کلی یافته‌های این مطالعه نشان داد که زاج سفید (آلوم) تاثیر مثبت در مهار رشد کلونی های کاندیدا آلبیکنز و کاندیداترپوکالیس دارد. MIC کاندیدا آلبیکنز mg/ml ۰/۱۳ و برای کاندیدا ترپوکالیس mg/ml ۰/۰۶ بدست آمد و غلظت های بالاتر از این مقدار می توانند درمان جانبی مناسبی در از بین بردن عفونت های مرتبط با قارچ های کاندیدااالبیکنز و کاندیداترپوکالیس در طرح درمان های دندانپزشکی باشد.

منابع

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

2-Cannon R, Holmes A, Mason A, Monk B. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis? Journal of dental research. 1995;74(5):1152-61.

3-Nami S, Aghebati-Maleki A, Morovati H, Aghebati-Maleki L. Current antifungal drugs and immunotherapeutic approaches as promising strategies to treatment of fungal diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019;1(110):857-68.

4-Kaminishi H, Hagihara Y, Hayashi S, Cho T. Isolation and characteristics of collagenolytic enzyme produced by Candida albicans. Infection and immunity. 1986 ;53(2):312-6.

5-Souza CMC, Pereira Junior SA, Moraes TdS, Damasceno JL, Amorim Mendes S ,Dias HJ, et al. Antifungal activity of plant-derived essential oils on Candida tropicalis planktonic and biofilms cells. Sabouraudia. 2016;54(5):515-23.
6-Dilhari A, Weerasekera MM, Siriwardhana A, Maheshika O, Gunasekara C, Karunathilaka S, et al. Candida infection in oral leukoplakia: an unperceived public health problem. Acta Odontologica Scandinavica. 2016;74(7):565-9.
7-Fabio CA, Yolanda MB, Carmen GM, Antonio Julián B, Leonor PL, Jesús S. Use of photodynamic therapy and chitosan for inactivacion of Candida albicans in a murine model. Journal of Oral Pathology & Medicine. 2016;45(8):627-33.
8-MajidiPoya M, Khodavandi A. Comparison of the Antifungal Activity of Honey and Fluconazole against Candida albicans in vitro and in an Enteric Candidiasis Mouse Model. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2018;8(3):967-78.
9-Bnyan I, Alta'ee A, Kadhum N. Antibacterial activity of aluminum potassium sulfate and Syzygium aromaticum extract against pathogenic microorganisms. J Nat Sci Res. 2014;4(15):137-41.
10-Gallego H, Lewis E. Crystal deodorant dermatitis: irritant dermatitis to alum-containing deodorant. Cutis. 1999;64(1):65-6.
11-Zeenat F. An Appraisal of Medicinal Properties of Shibb-e-Yamani (Alum): A Review. UNIMED.2018;10(2):78-87.
12-Amadi LO, Ngerebara NN, Okafor CA. Profilistic Study of Bioactivities of Extracts of Gongronema latifolium Incorporated with Alum on some Clinical Bacteria. International Current Pharmaceutical Journal. 2018;15;6(12):92-8.
13-Olmez A, Can H, Ayhan H, Okur H. Effect of an alum-containing mouthrinse in children for plaque and salivary levels of selected oral microflora. The Journal of clinical pediatric dentistry. 1998;22(4):335-40.
14-Doherty TM, Andersen P. Vaccines for tuberculosis: novel concepts and recent progress. Clinical microbiology reviews. 2005;8(4):687- 702.
15-Faraj BM. Evidence for feasibility of aluminum potassium sulfate (alum) solution as a root canal irrigant. Journal of baghdad college of dentistry. 2012;24(1):1-5.
16-Alzomor AK ,Moharram AS, Al Absi NM. Formulation and evaluation of potash alum as deodorant lotion and after shaving astringent as cream and gel. International Current Pharmaceutical Journal. 2014;3(2):228-33.
17-Shahriari R, Salari S, Shahriari S. In vitro study of concentration-effect and time-course pattern of white alum on Escherichia coli O۱۵۷: H ۷growth. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 2017;14(2):311-8.
18-Goswami A, Mahajan R, Nath R, Sharma S. How safe is %۱alum irrigation in controlling intractable vesical hemorrhage? The Journal of urology. 1993;149(2):264-7.
19-Levine LA, Richie JP. Urological complications of cyclophosphamide. The Journal of urology. 1989;141(5):1063-9.
20-Shin S, Lim S. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against Trichophyton spp. Journal of applied microbiology. 2004;97(6):1289-96.
21-Amin M, Kapadnis B. Heat stable antimicrobial activity of Allium ascalonicum against bacteria and fungi. 2005;43(8):751-754.
22-Millsop JW, Fazel N. Oral candidiasis. Clinics in dermatology. 2016;34(4):487–94.
23-Waltimo T, Sen B, Meurman JH, Ørstavik D, Haapasalo M. Yeasts in apical periodontitis. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine. 2003;14(2):128-37.
24-Teoh F, Pavelka N. How chemotherapy increases the risk of systemic candidiasis in cancer patients: current paradigm and future directions. Pathogens. 2016;5(1):6.
25-Zuza-Alves DL, Silva-Rocha WP, Chaves GM. An update on Candida tropicalis based on basic and clinical approaches. Frontiers in microbiology. 2017;8(4):1927-1801.
26-Brown AJ, Budge S, Kaloriti D, Tillmann A, Jacobsen MD, Yin Z, et al. Stress adaptation in a pathogenic fungus. Journal of Experimental Biology. 2014;217(1):144-55.
27-Butinar L, Santos S ,Spencer-Martins I, Oren A, Gunde-Cimerman N. Yeast diversity in hypersaline habitats. FEMS Microbiology Letters. 2005;244(2):229-34.
28-Akins RA. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in Candida albicans. Medical Mycology. 2005;43(4):285-318.
29-Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. Clinical infectious diseases. 2008;46(1):120-8.

30-Rupesh S, Winnier J, Nayak U, Rao A, Reddy N. Comparative evaluation of the effects of an alum-containing mouthrinse and a saturated saline rinse on the salivary levels of Streptococcus mutans. Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry. 2010;28(3):138.
31-Alrawi A, Bahjet S, May A-A. Novel Natural Disinfectants for Contaminated Cosmetic Application Tools. International Journal of Medical Sciences. 2018;1(1):23-30.
32-ALtaei TS, AI-Jubouri RH. Evaluation of the efficacy of alum suspension in treatment of recurrent ulcerative ulceration. Journal of baghdad college of dentistry .2005;17(2):45-8.
33-Sura H, Ryiam F. Study the inhibition activity of the different concentrations of Alum on some pathogenic bacteria isolation from different sites of human body. Medical Journal of Tikrit. 2013;19(2):380-90.
34-Ahmed KT. Inhibition of swarming in Proteus mirabilis by Alum (Hydrated Aluminum Potassium Sulfate). Journal of university of Anbar for Pure science. 2011;5(2):20-4.
35-Flayeh RAA-M. Antifungal Activity of Some Plant Extract and Alum on yeast isolated from mouth lesions. Euphrates Journal of Agriculture Science. 2010;2(2):1-5.
36-Ali Z. Synergistic antibacterial interaction between an alum and antibiotics on some microorganism. Sci J Med Res. 2018;2(5):47-51.
37-Thomas A, Thakur S, Mhambrey S. Comparison of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine, sodium fluoride, fluoride with essential oils, alum, green tea, and garlic with lime mouth rinses on cariogenic microbes. Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry. 2015;5(4):302.
38-Dutta S, De S ,Bhattacharya S. In vitro antimicrobial activity of potash alum. The Indian journal of medical research. 1996;104(5):157-9.
39-Osuala F, Ibidapo-obe M, Okoh H, Aina O, Igbasi U, Nshiogu M, et al. Evaluation of the efficacy and safety of Potassium Aluminium Tetraoxosulphate (Vi)(ALUM) in the Treatment of tuberculosis. Eur J Biolo Scie. 2009;1(1):10-5.
40-Pitten F-A, Rudolph P, Below H, Kramer A. Assessment of the activity of antiperspirants added to surgical hand disinfectants: methodological aspects and first observations. Journal of Hospital Infection. 2001;1(48):32-29.
41-Reynolds JE. Martindale: the extra pharmacopoeia: London, UK; The Pharmaceutical Press; 1982.
42Goh CH, Heng PWS, Huang EPE, Li BKH, Chan LW. Interactions of antimicrobial compounds with cross-linking agents of alginate dressings. Journal of antimicrobial chemotherapy. 2008;62(1):105-8.

An *in vitro* Evaluation of Antifungal Effectiveness of Alum on the Growth of Candida Albicans and Candida Tropicalis Growth

Hossein Malekzade[1], Mansoor Amin[2], Fatemeh Babadi[1*], Fateme Soweyti[3]

1-Assisstance Professor of Oral and Maxillofacial Medicine.
2-Assistance Professor of Microbiology.
3-Dental Student

1-Department of Oral and Maxillofacial Medicine, Faculty of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2-Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3-Faculty of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding author:*
Fatemeh Babadi; Department of Oral and Maxillofacial Medicine, Faculty of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel:+989167718344
Email: babadi.fatemeh@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: *Candida albicans* and *Candida tropicalis* are the most common etiologic factors in the diseases caused by yeast species. Considering the increased resistance of fungi to some antifungal drugs and many of these drugs are toxic and expensive; studies specifically designed to assess the antifungal effectiveness of natural products are necessary. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of white alum (Alum) on the prevention of *Candida albicans* and Candida tropicalis under *in vitro* setting.

Materials and Methods: In this laboratory study, using modified E. test method, white alum solutions were prepared at concentrations of (8, 4 , 2, 1, 0.5, 0.25 and 0.125 mg/100ml) then10 µLof each dilution Poured in blank disks that placed linearly on the culture medium inoculated with the fungus, then for 24 hours due to the low growth rate of these fungi, the petri was incubated at 37 ° C, and the minimum growth inhibitory concentration (MIC) was obtained. It should be noted that the test was repeated three times and averaged.

Results: The findings of this study showed that white alum has a positive effect on inhibiting the growth of Candida albicans and Candida tropicalis colonies. MIC for Candida albicans and Candida capillaries was 0.13 and 0.06 mg / ml, respectively.

Conclusion: According to the results of this study, the use of white alum can be a good cure in the treatment of Candida albicans and Candida tropicalis infection in dental treatment.

Keywords: White Alum, Alum, Candida Albicans, Candida Therapy, Infection Control, Dentistry.

►*Please cite this paper as:*
Malekzade H, Amin M, Babadi F, Soweyti F. An in vitro Evaluation of Antifungal Effectiveness of Alum on the Growth of Candida Albicans and Candida Tropicalis Growth. Jundishapur Sci Med J 2019; 18(4):403-414

Received: July 6, 2019 **Revised: Sep 30, 2019** **Accepted: Oct 12, 2019**