Jundishapur
Scientific Medical Journal

November & December 2022. Vol 21. No 5

Research Paper

Inhibitory Effect of *Nepeta Crispa* L. and *Nepeta Cataria* Extracts on Candida Albicans Growth: An In-vitro Study

*Mina Jazaeri[1], Shahrbanoo Radi[2], Bahman Rahimi[3], Homayoon Kheyri[4]

1. Oral Medicine Department, Dental Research Center, Hamadan University of Medical Scineces, Hamadan, Iran.
2. Oral Medicine Specialist, Private Practice, Hamadan, Iran.
3. Dentist, Hamadan, Iran.
4. Avicenna Medicinal Plants Research Center, Hamadan, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Jazaeri M, Radi SH, Rahimi B, Kheyri H. [Inhibitory Effect of Nepeta Crispa L. and Nepeta Cataria Extracts on Candida Albicans Growth: An In-vitro Study (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(5):712-721. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2822

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2822

ABSTRACT

Background and Objectives Considering the existence of many medicinal plants in Iran and the high prevalence of oral candidiasis, the present study aims to evaluate the inhibitory effects of *Nepeta crispa* L. and *Nepeta cataria* extracts on *Candida albicans* growth.

Subjects and Methods After preparing the extracts of two plants, their minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC) for *C albicans* were measured by broth microdilution method. The inhibitory effect of the extracts was evaluated by the disk diffusion method and measuring the diameter of inhibition zone. Data were analyzed in SPSS software, version 22. The significant level was set at 0.05.

Results The MIC of *N. crispa* L. and *N. cataria* extracts was 1.1 and 2.4 µg/mL, respectively. Their MLC was 4 and 6 µg/mL, respectively. The highest inhibition zone diameter was for nystatin (21.31 mm), while the lowest diameter was for *N. cataria* extract (11.60 mm). No. significant difference was observed in the inhibition zone diameter between nystatin and *N. crispa* L. extract (P>0.05).

Conclusion The inhibitory effect of *N. crispa* L. extract on the candida albicans growth is not significantly different from the effect of nystatin. Although *N. cataria* extract has inhibitory effect, its effect is significantly lower than the effect of nystatin.

Keywords Nystatin, Nepeta, Candida albicans, Oral candidiasis

Received: 16 Apr 2022
Accepted: 03 Jul 2022
Available Online: 22 Nov 2022

Corresponding Author:
Mina Jazaeri, Assistant Professor.
Address: Oral Medicine Department, Dental Research Center, Hamadan University of Medical Scineces, Hamadan, Iran.
Tel: +98 (913) 3176197
E-Mail: mina_jazayeri@yahoo.com

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Extended Abstract

Introduction

Oral candidiasis is an opportunistic fungal infection in the oral mucosa. The most prevalent cause of this infection is *Candida albicans* [1]. Different topical and systemic medications such as polyenes, amphotericin B, and azoles are prescribed based on the severity of oral candidiasis [2]. *Nepeta cispa* L. is one of the native aromatic plants of Iran, which has significant antibacterial effects and high inhibition zone diameter shown in microbiological experiments [3]. *Nepeta cataria* is another aromatic plant belonging to the genus Nepeta of Lamiaceae family [4], which has antibacterial, antifungal and antiviral properties due to its pantolactone [5]. Considering the high prevalence of oral candidiasis, it is important to find efficient, safe, and const-effective treatment options. Therefore, the current study aims to examine the inhibitory effects of the extracts of *N. crispa* L. and *N. cataria* plants on the growth of *C. albicans.*

Methods

N. cispa L. and *N. cataria* plants were collected from the medicinal plant garden of Agricultural Research Center in Hamedan, Iran. After removing thorns, the flowers and leaves of plants were dried under shade in the laboratory. The extracts prepared by the hydro-distillation method were placed in an autoclave for 15 minutes at 121°C for sterilization. The cultivated fungal chains were put in physiological serum to prepare a fungal suspension with a concentration of 0.5 McFarland. Plates containing 10 mL of Sabro dextrose agar culture medium were prepared. Then, using a sterile cotton swab impregnated with fungal suspension prepared from fresh *C. albicans* culture with a concentration of 0.5 McFarland, the surface of the plates was uniformly inoculated. Blank disks were suspended in 10 mL of each plant extract at two minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC), and were placed on the plates. The same procedure was done for nystatin 100,000 IU as a positive growth control. A disk was placed on the plate after being suspended in 10 µL of the negative sterility control. After 48 hours of incubation at 37°C, the formation of a inhibition zone around the discs was investigated. The diameter of the inhibition zone was measured with a ruler in millimeters. Ten disks were used to evaluate the inhibition zone in the MIC and MLC of both plants, and their average was calculated. The collected data were analyzed in SPSS software, version 22 by one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test. The significance level was set at 0.05.

Results

Based on the findings of this study, the MIC for *N. crispa* L. and *N. cataria* extracts was 1.1 and 2.4 µg/mL, respectively. The MLC of the fungus was 4 µg/ml in the *N. crispa* L. extract and 6 µg/mL in the *N. cataria* extract. The inhibition zone diameter of disks impregnated with plant extracts at MIC and MLC and nystatin is shown in Table 1. The maximum inhibition zone diameter was related to to the nystatin, and the lowest diameter was related to *N. cataria* extract. The results of one-way analysis of variance showed a statistically significant difference in the average inhibition zone diameter between nystatin and plant extracts (P<0.001). Pairwise comparison by Tukey's test showed that the inhibition zone around the disks impregnated with *N. cataria* plant extract was significantly lower than that around the disks impregnated with nystatin and *N. crispa* L. extract (P<0.05). However, there was no significant difference between inhibition zone around the disks impregnated with the MIC and MLC of *N. crispa* L. extract and nystatin (P>0.05)

Table 1. Minimum, maximum, Mean±SD of the inhibition zone diameter for *C. albicans* in disks impregnated with two plant extracts and nystatin (in mm)

Variables		Mean±SD	Minimum	Maximum
Nystatin		21.35±5.54	15	30.5
N. crispa L.	MIC	16.90±4.28	9	25
	MLC	18.10±2.42	12	21
N. cataria	MIC	11.60±2.54	8	16
	MLC	11.80±4.98	5	21

Conclusion

According to our findings, no statistically significant difference was observed between the inhibition zones in the disks impregnated with nystatin and *N. cispa* L. extract at MIC and MLC, indicating their same effect compared to nystatin on *C. albicans* inhibition. The inhibition zone diameter caused by nystatin was significantly higher than that caused by MIC and MLC of *N. cataria* extract, indicating that the *N. cataria* plant is not effective as nystatin in inhibiting the growth of *C. albicans* and the increase in the concentration of its extract does not increase its effectiveness to a level same as that of nystatin. It can be concluded that the aqueous extract of *N. cispa* L. plant has a significant inhibitory effect on the growth of *C. albicans* in the laboratory environment; its effect is not significantly different from the effect of nystatin. Although the aqueous extract of *N. cataria* plant relatively inhibits the growth of *C. albicans*, its effect is significantly lower than the effect of nystatin.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

In this study, all ethical principles were observed.

Funding

This article was extracted from the PhD thesis of Bahman Rahimi in Dentistry. The study was funded by Hamadan University of Medical Sciences.

Authors contributions

Conceptualization: Mina Jazaeri, Shahrbanoo Radi; Methodology: Mina Jazaeri, Shahrbanoo Radi and Homayoon kheyri; Investigation: Bahman Rahimi; Writing–Original Draft, Writing – Review & Editing, Resources, Supervision: Mina Jazaeri.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Deputy for Research and Technology of Hamadan University of Medical Sciences for their financial support.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور
آذر و دی ۱۴۰۱. دوره ۲۱. شماره ۵

مقاله پژوهشی

اثر مهاری عصاره گیاه مفراح و نعناع گربه‌ای معطر بر روی رشد کاندیدا آلبیکانس: یک مطالعه آزمایشگاهی

*مینا جزایری[۱]، شهربانو رعدی[۲]، بهمن رحیمی[۳]، همایون خیری[۴]

۱. گروه بیماری‌های دهان و دندان، مرکز تحقیقات دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲. متخصص بیماری‌های دهان و فک و صورت، همدان، ایران.
۳. دندانپزشک عمومی، همدان، ایران.
۴. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی بوعلی سینا، همدان، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Jazaeri M, Radi SH, Rahimi B, Kheyri H. [Inhibitory Effect of Nepeta Crispa L. and Nepeta Cataria Extracts on Candida Albicans Growth: An In-vitro Study (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(5):712-721. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2822

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2822

چکیده

زمینه و هدف باتوجه‌به منابع غنی گیاهان دارویی در ایران و نیز شیوع بالای کاندیدیازیس دهانی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر مهاری عصاره گیاه مفراح و نعناع گربه‌ای معطر بر روی رشد کاندیدا آلبیکانس انجام شد.

روش بررسی بعد از تهیه عصاره گیاه مفراح و نعناع گربه‌ای، حداقل غلظت مهاری و کشندگی عصاره‌ها برای کاندیدا به‌روش براث میکرودیلوشن اندازه‌گیری شد. اثر عصاره این گیاهان در مهار رشد کاندیدا در محیط کشت به‌روش دیسک دیفیوژن بررسی شد و هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS در سطح معناداری ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها حداقل غلظت مهاری برای مفراح و نعناع گربه‌ای به‌ترتیب ۱/۱ و ۲/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی قارچ برای مفراح ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای نعناع گربه‌ای ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. بیشترین هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر مربوط به نیستاتین (۲۱/۳۱) و کمترین (۱۱/۶۰) آن برای عصاره گیاه نعناع گربه‌ای بود. تفاوت آماری معناداری بین هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به نیستاتین و عصاره گیاه مفراح مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری براساس یافته‌های مطالعه حاضر اثر مهاری عصاره گیاه مفراح بر رشد کاندیدا تفاوت آماری معناداری با عملکرد نیستاتین نداشت. عصاره آبی گیاه نعناع گربه‌ای معطر باعث مهار نسبی رشد کاندیدا می‌شود ولیکن این اثر به‌صورت معناداری کمتر از نیستاتین است.

کلیدواژه‌ها نیستاتین، پونه سا، کاندیدا آلبیکانس، کاندیدیازیس دهانی

تاریخ دریافت: ۲۷ فروردین ۱۴۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۲ تیر ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۰۱ آذر ۱۴۰۱

* **نویسنده مسئول:**
مینا جزایری
نشانی: همدان، دانشگاه علوم‌پزشکی همدان، مرکز تحقیقات دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان و دندان.
تلفن: ۳۱۷۶۱۹۷ (۹۱۳) ۹۸+
رایانامه: mina_jazayeri@yahoo.com

مقدمه

کاندیدیازیس دهانی عفونت فرصت‌طلب قارچی مخاط حفره دهان است که تظاهرات کلینیکی مختلفی ازجمله کاندیدیازیس غشای کاذب، کاندیدیازیس اریتماتوز، انگولار کیلیتیس و گلوسیت لوزی شکل میانی زبان دارد [۱]. کاندیدا، شایع‌ترین مخمر حفره دهان است که در بدن میزبان انسانی سالم معمولاً بدون ایجاد بیماری در سطح مخاط حفره دهان، دستگاه گوارش، دستگاه ادراری و واژن کلونیزه می‌شود [۲، ۳]. ازآنجایی‌که باقیمانده‌های مواد غذایی در دهان و نیز سلول‌های اپیتلیالی متفلس‌شده، منبع تغذیه مناسبی برای قارچ‌ها محسوب می‌شوند، حفره دهان محل مناسبی برای رشد و تکثیر کاندیداست [۴]. بروز تغییرات موضعی، بیماری‌های سیستمیک، تجویز گسترده آنتی بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی منجر به ایجاد عفونت‌های کاندیدایی حفره دهان می‌شود [۵، ۶]. از بین انواع مختلف کاندیدا، کاندیدا آلبیکانس به سبب داشتن فاکتورهای پاتوژنسیته بالاتر نسبت به سایر انواع گونه‌های کاندیدا، شایع‌ترین عامل عفونت‌های فرصت‌طلب قارچی حفره دهان است [۲].

بسته به شدت کاندیدیازیس دهانی داروهای موضعی و سیستمیک مختلفی مانند پلی‌ان‌ها، آمفوتریپسین B و آزول‌ها تجویز می‌شوند، هرچند که عدم تأثیر انتخابی، تداخل دارویی، طعم نامناسب و استفاده مکرر باعث بروز ناکارآمدی‌هایی در درمان با این داروها شده است [۱]. به‌عنوان مثال آمفوتریپسین B به خاطر اثر غیرانتخابی بر چربی غشای سلول‌ها علی‌رغم اثربخشی بالا سمیت قابل‌توجهی ایجاد می‌کند. ژل خوراکی مایکونازول باعث افزایش اثر ضدانعقادی وارفارین می‌شود. طعم تلخ داروی نیستاتین و نیاز به استفاده مکرر آن طی روز باعث کاهش همکاری بیماران در تکمیل دوره درمان می‌شود. به‌علاوه افزودن شیرین‌کننده‌ها برای غلبه بر این مشکل منجر به بروز پوسیدگی‌های دندانی می‌شود که خود یکی دیگر از مشکلات این دارو است [۷، ۸].

گیاهان آروماتیک جنس پونه سا[1]، متعلق به خانواده نعناعیان[2] هستند. مفراح[3] از گیاهان بومی ایران است که در دامنه‌های کوه الوند در استان همدان می‌روید. افراد محلی از این گیاه جهت آرام‌بخشی، تقویت معده، درمان نفخ رفع اختلالات تنفسی و گوارشی و همچنین ضدعفونی کردن زخم‌ها استفاده می‌کنند [۹]. مقایسه اثر مفراح با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نشان داده است که این گیاه اثر ضدباکتریایی قوی دارد و در مطالعات میکروب‌شناسی هاله عدم رشد بالایی نشان می‌دهد [۱۰].

گیاه نعناع گربه‌ای معطر با نام علمی Nepeta Volgaris یا Nepeta Cataria نیز یکی دیگر از گیاهان آروماتیک متعلق به جنس پونه‌سا از خانواده نعناعیان است [۱۱]. این گیاه به‌دلیل داشتن پنتالاکتون دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و نیز ضدویروسی است [۱۲].

امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی و گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها و بالاخص عفونت‌ها باتوجه‌به ابهاماتی درزمینه بی‌خطر بودن داروهای صنعتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تاریخچه قدیمی استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی کشور ما از یک‌سو و دسترسی به منابع غنی گیاهان دارویی از سوی دیگر باعث شده است انجام مطالعات در این زمینه گسترش بالایی داشته باشد. باتوجه‌به شیوع بالای کاندیدیازیس دهانی، یافتن روش‌های درمانی مؤثر، بی‌خطر و کم‌هزینه ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی آزمایشگاهی اثر مهاری عصاره گیاه مفراح و نعناع گربه‌ای معطر[4] بر رشد کاندیدا آلبیکانس انجام شد.

روش بررسی

در مطالعه، مصوب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم‌پزشکی همدان (۳۵/۱۶/۱۰/۲۹پ)، به جهت بررسی اثر ضدقارچ کاندیدا آلبیکانس گیاه مفراح و نعناع گربه‌ای معطر حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی قارچ کاندیدا آلبیکانس برای هر ۲ گیاه محاسبه شد. سپس اثرات ضدقارچی آن‌ها در ۲ غلظت به‌دست‌آمده با داروی نیستاتین مقایسه شد.

تهیه گیاه و عصاره گیاهی

گیاهان مفراح و نعناع گربه‌ای از محل باغ گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان جمع‌آوری شد. بعد از جدا کردن خار، سر شاخه‌های جمع‌آوری‌شده شامل گل و برگ‌ها، برای مدتی در محیط سایه درون آزمایشگاه خشک شدند.

تهیه عصاره گیاهی با استفاده از دستگاه کلونجر (ایران، تهران، امیل پیرکس) و به‌روش تقطیر با بخار آب (هیدرودیستیلاسیون) انجام شد. به این منظور بعد از آسیاب کردن گیاهان خشک‌شده، ۱۰۰ گرم از پودر به‌دست‌آمده درون دستگاه کلونجر ریخته شد و ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و فرایند تقطیر به‌مدت ۲ ساعت انجام شد. بعد از آب‌زدایی محلول توسط سدیم سولفات فاقد آب، عصاره به‌دست‌آمده در ویال‌های سیل‌شده جمع‌آوری شد و تا زمان استفاده در مکان تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. عصاره‌ها قبل از استفاده جهت استریلیزاسیون برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو (ایران، اصفهان، فرازمهر) قرار داده شدند.

1. Nepeta
2. Lamiaceae
3. Nepeta Cispa
4. Nepeta Volguris

تهیه سوسپانسیون قارچی

در این مطالعه از سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس (ATCC5982) استفاده و کشت قارچها در محیط سابرو دکستروز آگار (آلمان، دارمشتات، مرک) انجام شد. بهمنظور تهیه سوسپانسیون قارچی با غلظت ۰/۵ مک فارلند که غلظتی استاندارد جهت بررسی آثار ضدقارچی است و حاوی $۱-۱/۵\times۱۰^{۸}$ سلول در میلی‌لیتر قارچ است، زنجیره‌های قارچی کشت‌شده درون سرم فیزیولوژی قرار گرفتند. برای دستیابی به این غلظت، کدورت سوسپانسیون قارچی به نحوی تعیین شد که میزان جذب نور در طول موج ۵۳۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر (Staffordshire, UK، JENWAY) معادل ۰/۰۸ تا ۰/۱ باشد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی به‌روش براث میکرودیلوشن به کار برده شد. برای رقیق‌سازی عصاره‌ها محلول رقیق‌کننده Roswell Park Memorial Institute medium بافر شده با 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid (Sigma, St.louis, USA) که بر قارچ موردمطالعه هیچ اثری ندارد، استفاده شد و عصاره‌ها با صورت سریالی از غلظت ۱۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر تا ۰/۰۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر رقیق شدند. رقت‌های سریالی، در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای طوری قرار گرفتند که بیشترین غلظت (۱۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) در چاهک اول و کمترین غلظت (۰/۰۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر در چاهک آخر باشد. به هر چاهک اضافه ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی شد. به‌عنوان کنترل مثبت[۵] از ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی درون محلول رقیق‌کننده بدون اضافه کردن عصاره و به‌عنوان کنترل منفی[۶] از ۲۰۰ میکرولیتر محلول فاقد سلول‌های قارچی استفاده شد. در ادامه میکروپلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند.

جهت خواندن نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از روش چشمی استفاده شد. در این روش پایین‌ترین غلظت عصاره گیاهی که هیچ رشد قابل‌مشاهده‌ای در آن دیده نشد و کدورت آن ازلحاظ چشمی مشابه حفره کنترل منفی بود، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی

از محتویات چاهک‌های مختلف که حاوی عصاره گیاهی با غلظت‌های کمتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بودند و رشد کاندیدا در آن مشاهده نشده بود، ۱۰ میکرولیتر به محیط سابرو دکستروز آگار برده شد و کمترین غلظتی از عصاره که رشد کمتر از ۴ کلونی (نشانگر کشتن ۹۹ درصد قارچ‌های اولیه) را نشان داد، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد.

5. Growth Control
6. Sterility Control

آزمایش دیسک‌گذاری

دیسک‌گذاری به منظور اندازه‌گیری هاله عدم رشد استفاده شد. پلیت‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سابرو دکستروز آگار تهیه شد. سپس با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل آغشته به سوسپانسیون قارچی تهیه‌شده از کشت تازه کاندیدا آلبیکانس با غلظت معادل نیم مک‌فارلند، سطح پلیت‌ها به‌طور یکنواخت تلقیح شد. دیسک‌های بلانک در ۱۰ میکرولیتر از عصاره هر گیاه و در ۲ غلظت، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی، تعلیق شدند و روی پلیت‌ها قرار داده شدند. همین کار برای قطره نیستاتین ۱۰۰۰۰۰ واحد به‌عنوان کنترل مثبت هم انجام شد. یک دیسک در ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده جهت کنترل منفی تعلیق شد و بر روی پلیت قرار داده شد. بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تشکیل هاله عدم رشد در پیرامون دیسک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد با خط‌کش برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هاله عدم رشد حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی هر ۲ گیاه به‌وسیله ۱۰ دیسک بررسی و میانگین آن‌ها محاسبه شد.

تحلیل آماری

داده‌ها توسط نسخه ۲۲ نرم‌افزار آماری SPSS جمع‌آوری و توسط آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌سویه[۷] و تست تکمیلی توکی در سطح معناداری $\alpha=۰/۰۵$ ارزیابی شد.

یافته‌ها

براساس داده‌های این مطالعه، حداقل غلظت مهاری برای گیاه مفراح و گیاه نعناع گربه‌ای معطر به‌ترتیب ۱/۱ و ۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی قارچ برای گیاه مفراح ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای گیاه نعناع گربه‌ای ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

جدول شماره ۱ قطر هاله عدم رشد دیسک‌های آغشته به عصاره‌های گیاهی با حداقل غلظت مهاری و نیز حداقل غلظت کشندگی و داروی نیستاتین را نشان می‌دهد. بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به داروی نیستاتین و کمترین آن مربوط به حداقل غلظت مهاری گیاه نعناع گربه‌ای بوده است.

نتایج آزمون آماری کولموگروف اسمیرنف[۸] نشان داد توزیع آماری داده‌ها در هر ۴ گروه نرمال بود ($P<۰/۰۵$). بنابراین جهت مقایسه هاله عدم رشد عصاره‌های گیاهی در حداقل غلظت مهاری نیز حداقل غلظت کشندگی و داروی نیستاتین از تحلیل آماری واریانس یک‌سویه استفاده شد.

7. One-way ANOVA
8. Kolmogorov-Smirnov

جدول ۱. کمینه، بیشینه، میانگین و انحراف‌معیار قطر هاله عدم رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس در اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره‌های گیاهی و نیستاتین برحسب میلی‌متر

متغیر	میانگین±انحراف معیار	کمینه	بیشینه
نیستاتین	۲۱/۳۵±۵/۵۴	۱۵	۳۰/۵
حداقل غلظت مهاری مفراح	۱۶/۹۰±۴/۲۸	۹	۲۵
حداقل غلظت مهاری مفراح	۱۸/۱۰±۲/۴۲	۱۲	۲۱
حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	۱۱/۶۰±۲/۵۴	۸	۱۶
حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	۱۱/۸۰±۴/۹۸	۵	۲۱

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول ۲. نتایج آزمون توکی و مقایسه میانگین هاله عدم رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس در اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره‌های گیاهی و نیستاتین برحسب میلی‌متر

متغیر		میانگین±انحراف معیار	P*
نیستاتین	حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	۹/۷۵±۱/۸۵	۰/۰۰۰۱
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۴/۴۵±۱/۸۵	۰/۱۳۵
	حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	۹/۵۵±۱/۸۵	۰/۰۰۰۱
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۳/۲۵±۱/۸۵	۰/۴۱۵
حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	نیستاتین	۱/۸۵±-۹/۷۵	۰/۰۰۰۱
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±-۵/۳۰	۰/۰۴۹
	حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	۱/۸۵±-۰/۲۰	۱
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±-۶/۵۰	۰/۰۰۹
حداقل غلظت مهاری مفراح	نیستاتین	۱/۸۵±-۴/۴۵	۰/۱۳۵
	حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	۵/۳۰±۱/۸۵	۰/۰۴۹
	حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	۵/۱۰±۱/۸۵	۰/۰۶۳
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±-۱/۲۰	۰/۹۶۷
حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	نیستاتین	۱/۸۵±-۹/۵۵	۰/۰۰۰۱
	حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	۱/۸۵±۰/۲۰	۱
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±-۵/۱۰	۰/۰۶۳
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±-۶/۳۰	۰/۰۱۲
حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	نیستاتین	۱/۸۵±-۳/۲۵	۰/۴۱۵
	حداقل غلظت مهاری نعناع گربه‌ای	۶/۵۰±۱/۸۵	۰/۰۰۹
	حداقل غلظت مهاری مفراح	۱/۸۵±۱/۲۰	۰/۹۶۷
	حداقل غلظت کشندگی نعناع گربه‌ای	۶/۳۰±۱/۸۵	۰/۰۱۲

*مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنادار است.

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت آماری معناداری در میانگین شاخص هاله عدم رشد بین نیستاتین و عصاره‌های گیاهی موردبررسی را نشان داد (P=۰/۰۰). مقایسه دوبه‌دوی متغیرهای موردبررسی توسط آزمون تکمیلی توکی نشان داد هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره گیاه نعناع گربه‌ای معطر به‌صورت معناداری کمتر از دیسک‌های آغشته به نیستاتین و عصاره گیاهی مفراح بود (P<۰/۰۵) ولیکن تفاوت معناداری بین هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به حداقل غلظت مهاری و کشندگی گیاه مفراح و نیستاتین وجود نداشت (P>۰/۰۵). جدول شماره ۲ نتایج آزمون توکی را نشان می‌دهد.

بحث

در این مطالعه آزمایشگاهی اثر حداقل غلظت مهاری و کشندگی عصاره گیاهان مفراح و نعناع گربه‌ای بر روی کاندیدا آلبیکانس به‌روش براث میکرودیلوشن بررسی شد. قبل از معرفی این روش، روش غالب براث ماکرودیلوشن بوده است. این ۲ روش در جنبه‌های مختلفی ازجمله محیط آزمایشی و زمان مورد نیاز متفاوت هستند. مطالعات مختلف برتری و دقت بیشتر روش براث میکرودیلوشن را اثبات کرده‌اند که به همین دلیل در این مطالعه از این روش استفاده شد [۱۳]. در مطالعه حاضر به‌دلیل احتمال وجود سایر گونه‌های کاندیدا و نیز گونه‌های مقاوم به درمان در نمونه‌های قارچی تهیه‌شده از بیماران، از سویه کاندیدا آلبیکنس استاندارد استفاده شد. براساس داده‌های این مطالعه، حداقل غلظت مهاری برای گیاه مفراح و گیاه نعناع گربه‌ای معطر به‌ترتیب ۱/۱ و ۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی قارچ نیز برای گیاه مفراح ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای گیاه نعناع گربه‌ای ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

بعد از به دست آوردن حداقل غلظت‌های مهاری و کشندگی این گیاهان از روش دیسک دیفیوژن برای مقایسه اثر آن‌ها با نیستاتین استفاده شد. بیشترین هاله عدم رشد به‌ترتیب در اطراف دیسک‌های آغشته به نیستاتین و عصاره گیاه مفراح با حداقل غلظت کشندگی مشاهده شد. هیچ تفاوت آماری معناداری بین هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به نیستاتین و عصاره گیاه مفراح در حداقل غلظت‌های مهاری کشندگی مشاهده نشد که نشان‌دهنده اثر مشابه با نیستاتین بر روی رشد کاندیدا آلبیکانس است. هاله عدم رشد نیستاتین به‌صورت معناداری از هاله عدم رشد حداقل غلظت مهاری و کشندگی گیاه نعناع گربه‌ای بیشتر است که می‌توان نتیجه گرفت گیاه کارایی نیستاتین در مهار رشد کاندیدا آلبیکانس را ندارد. عدم وجود تفاوت معنادار در هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته حداقل غلظت مهاری و کشندگی گیاه نعناع گربه‌ای معطر نشان می‌دهد افزایش غلظت عصاره این گیاهان اثربخشی آن را تا حد نیستاتین افزایش نمی‌دهد.

براساس جست‌وجوهای نگارندگان، اثر ضدقارچی گونه‌های گیاهی موردبررسی بر رشد کاندیدا آلبیکانس انجام نشده بود و مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات ممکن نبود. هرچند مطالعات مشابهی بر روی سایر جنس‌های پونه خانواده نعناعیان انجام شده است. بوزاویک همکاران در مطالعه‌ای اثر ضدقارچی گیاه زیبا نعناع دارویی[9] نشان دادند این گیاه دارای اثرات ضدقارچ کاندیدا آلبیکانس است و اثرات آن بسته به مرحله رشدی گیاه متفاوت است. به‌نحوی‌که در مرحله میوه‌دهی این اثر به حداقل می‌رسد [۱۴]. موقری‌پور و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که اثر ضدقارچی عصاره آبی و الکی گیاه پونه کوهی[10] از تیره نعناعیان بر روی رشد کاندیدا آلبیکانس به‌صورت معناداری کمتر از داروی نیستاتین است [۱۵]. مطالعه گلدان‌ساز و همکاران نشان داد حداقل غلظت مهاری ضدقارچ کاندیدا آلبیکانس گیاه پونه سای کرک ستاره‌ای[11] بین ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است. ایشان با بررسی هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکانس به‌روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با نیستاتین نشان دادند اثر ضدکاندیدایی این گیاه قابل‌قبول است [۱۶]. از دلایل بروز اختلافات در نتایج می‌توان به غلظت متفاوت ترکیبات آنتی فانگال مؤثر، سویه قارچی موردبررسی، نحوه عصاره‌گیری و فصل تهیه گیاه جهت عصاره‌گیری اشاره کرد.

کارپینسکی در مطالعه مروری خود [۱۷] به بررسی اثر ضدقارچی ۷۲ گیاه از خانواده نعناعیان پرداخت و نشان داد مواد مؤثر اصلی عصاره این گیاهان شامل بتا کاریوفیلن، لینالول، تیمول، گاما ترپینن، لیمونن، آلفا و بتا پینن، سینئول، کارواکرول و پی سایمن هستند که از این میان بتا کاریو فیلن نقش اصلی را ایفا می‌کند. براساس این مطالعه بیش از نیمی از گیاهان موردبررسی دارای اثر ضدقارچی قابل‌قبول با حداقل غلظت مهاری کمتر از ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده‌اند. هرچند نتایج متفاوتی نیز دیده شده است. طبق بررسی‌های بونا و همکاران [۱۸]، گیاهانی که دارای درصد بالاتری از ترکیبات فنولیک مانند تیمول، کارواکرول و پی سایمن هستند، اثر ضدقارچی بالاتری دارند که گیاهان تیره پونه و آویشن از این دسته هستند.

مکانسیم اثر عصاره‌های گیاهی بر سلول‌های کاندیدا مختلف است که می‌توان به تخریب غشای سلول، تغییر نفوذپذیری سلول، آسیب ساختارهای پلی ساکاریدی، اسیدهای چرب و فسفولیپیدهای غشایی قارچ کاندیدا توسط اجزای لیپوفیلیک عصاره گیاهی و تغییر نفوذپذیری سلول نسبت به یون هیدروژن و پتاسیم که باعث تغییر pH سلولی و تخریب ساختارهای داخل سلولی می‌شود، اشاره کرد. به‌علاوه عصاره‌های گیاهی می‌توانند باعث مهار ساخت DNA، RNA پروتئین و پلی‌ساکارید شوند و با تخریب غشای میتوکندری، رشد قارچ را متوقف کنند [۱۷].

9. Calamintha Nepeta
10. Origanum volgare
11. Nepeta asterotricha Rech. F

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر بررسی آزمایشگاهی عصاره گیاهان مفراح و نعناع گربه‌ای معطر بر روی سویه استاندارد قارچ کاندیدا آلبیکانس بود. انجام مطالعات آتی جهت بررسی اثر این گیاهان روی سویه‌های مختلف به‌دست‌آمده از بیماران و انواع مقاوم به درمان کاندیدا آلبیکانس پیشنهاد می‌شود. به‌علاوه اثر عصاره‌های گیاهی الکلی هم بایستی ارزیابی شود. ارزیابی اثر سینرژیسم گیاهان نیز می‌تواند در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های مطالعه حاضر، عصاره آبی گیاه مفراح اثر مهاری قابل‌توجهی بر رشد سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس در محیط آزمایشگاه دارد. به‌نحوی‌که تأثیر آن با عملکرد داروی استاندارد نیستاتین تفاوت معناداری ندارد. عصاره آبی گیاه نعناع گربه‌ای معطر باعث مهار نسبی رشد کاندیدا آلبیکانس می‌شود، ولیکن این اثر به‌صورت معناداری کمتر از اثر مهاری داروی نیستاتین است.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

پژوهش حاضر یک مطالعه آزمایشگاهی بوده و تمامی اصول اخلاق در پژوهش و انتشار مقالات در آن رعایت شده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجو بهمن رحیمی به شماره ۹۳۰۱۲۶۲۴۹ جهت دریافت دکتری عمومی دندانپزشکی مصوب معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد. حامی مالی این مقاله معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: مینا جزایری و شهربانو رعدی؛ روش‌شناسی: مینا جزایری، شهربانو رعدی و همایون خیری؛ تحقیق و بررسی: بهمن رحیمی؛ منابع، نگارش پیش‌نویس، ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: مینا جزایری.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

[1] Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral candidiasis: A disease of opportunity. J Fungi (Basel). 2020; 6(1):15. [DOI:10.3390/jof6010015] [PMID] [PMCID]

[2] Sachivkina N, Podoprigora I, Bokov D. Morphological characteristics of Candida albicans, Candida krusei, Candida guilliermondii, and Candida glabrata biofilms, and response to farnesol. Vet World. 2021; 14(6):1608-14. [DOI:10.14202/vetworld.2021.1608-1614] [PMID] [PMCID]

[3] Rodriguez DL, Quail MM, Hernday AD, Nobile CJ. Transcriptional circuits regulating developmental processes in Candida albicans. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10:605711. [DOI:10.3389/fcimb.2020.605711] [PMID] [PMCID]

[4] Diaz PI, Dongari-Bagtzoglou A. Critically appraising the significance of the oral mycobiome. J Dent Res. 2021; 100(2):133-40. [DOI:10.1177/0022034520956975] [PMID] [PMCID]

[5] Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. Candida albicans-The virulence factors and clinical manifestations of infection. J Fungi (Basel). 2021; 7(2):79. [DOI:10.3390/jof7020079] [PMID] [PMCID]

[6] Contaldo M, Romano A, Mascitti M, Fiori F, Della Vella F, Serpico R, et al. Association between denture stomatitis, candida species and diabetic status. J Biol Regul Homeost Agents. 2019; 33(3 Suppl. 1):35-41. [PMID]

[7] Fang J, Huang B, Ding Z. Efficacy of antifungal drugs in the treatment of oral candidiasis: A Bayesian network meta-analysis. J Prosthet Dent. 2021; 125(2):257-65. [DOI:10.1016/j.prosdent.2019.12.025] [PMID]

[8] Iversen DB, Hellfritzsch M, Stage TB, Aabenhus RM, Lind BS, Pottegård A. Antimycotic treatment of oral candidiasis in warfarin users. Am J Med. 2021; 134(5):e308-12. [DOI:10.1016/j.amjmed.2020.10.018] [PMID]

[9] Najafzadeh R, Ghasemzadeh S, Mirfakhraie S. Effect of essential oils from nepeta crispa, anethum graveolens and satureja hortensis against the stored-product Insect "Ephestia kuehniella (Zeller)". J Med plants By-Prod. 2019; 8(2):163-9. [Link]

[10] Momtaz HE, Moradkhan S, Alikhani MY, Esnaashari F, Afkhami M. Study of antimicrobial effect of some plants of Lamiaceae family on Escherichia coli species isolated from children with urinary tract infection. J Renal Inj Prev. 2019; 8(1):38-43. [DOI:10.15171/jrip.2019.08]

[11] The Plant List. A working list of all plant spices [Internet]. 2022[Updated 2022 March 1]. Available from: [Link]

[12] Baghizadeh A, Mashayekhi Z, Ebrahimi MA. [Investigation of genetic and phytochemical diversity of some catnip (Nepeta cataria L.) populations by RAPD molecular marker and GC/MS method (Persian)]. Iran J Med Aromat Plants Res. 2018; 34(5):836-48. [Link]

[13] Kumar D, Bhattacharyya S, Gupta P, Banerjee G, Singh M. Comparative analysis of disc diffusion and E-test with broth micro-dilution for susceptibility testing of clinical candida isolates against amphotericin B, fluconazole, voriconazole and caspofungin. J Clin Diagn Res. 2015; 9(11):DC01-4. [PMID] [PMCID]

[14] Božović M, Garzoli S, Sabatino M, Pepi F, Baldisserotto A, Andreotti E, et al. Essential oil extraction, chemical analysis and anti-candida activity of calamintha nepeta (L.) Savi subsp. glandulosa (Req.) Ball-new approaches. Molecules. 2017; 22(2):203. [DOI:10.3390/molecules22020203] [PMID] [PMCID]

[15] Movaghari Pour A, Sheikh Fathollahi M, Poor Zamani M, Abedini S, Jamali Z. [Comparison of anti-fungal effect of origanum vulgare extract versus nystatin on Candida albicans; an in vitro study (Persian)]. J Mashhad Dent School. 2018; 42(3):277-1. [Link]

[16] Goldansaz SM, Jafarian Jeloudar Z, Safaeian R, Sonboli A. Comparison of the chemical constitutions, antibacterial, anti-Candida, and antioxidant activity of Nepeta asterotricha Rech. f. essential oil. America J Essen Oils Nat Prod. 2019; 7(2):15-22. [Link]

[17] Karpiński TM. Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. Biomolecules. 2020; 10(1):103. [DOI:10.3390/biom10010103] [PMID] [PMCID]

[18] Bona E, Cantamessa S, Pavan M, Novello G, Massa N, Rocchetti A, etal. Sensitivity of Candida albicans to essential oils: Are they an alternative to antifungal agents? J Appl Microbiol. 2016; 121(6):1530-45. [DOI:10.1111/jam.13282] [PMID]