


Investigation of the Antifungal Effect of Rosa Damascena Essential Oil and Mixed Mouthwash (Grape Vinegar and Rosa Damascena essential oil) Against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*

Zahra Amiri Karladani¹, Seyed Shojaedin Shayegh², Seyed Mohammad Reza Hakimaneh³, Mohammad Mahdi Naghizadeh⁴, Hojjatollah Shokri⁵, Alireza Naeini^{6,*} 

¹ Denal Student, School of Dentistry, Shahed University, Tehran, Iran

² Associate Professor, Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Shahed University, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Shahed University, Tehran, Iran

⁴ MSc in Bioinformatics, Non-Communicable Diseases Research Center, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

⁵ Associate Professor, Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

⁶ Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine and Traditional Medicine, Clinical Trail Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

* **Corresponding Author:** Alireza Naeini, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine and Traditional Medicine, Clinical Trail Research Center, Shahed University, Tehran, Iran. Email: Naeini@shahed.ac.ir

Abstract

Received: 12.07.2019

Accepted: 17.11.2019

How to Cite this Article:

Amiri Karladani Z, Shayegh SS, Hakimaneh SMR, Naghizadeh MM, Shokri H, Naeini A. Investigation of the antifungal effect of Rosa damascena essential oil and mixed mouthwash (grape vinegar and Rosa damascena essential oil) against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*. *Avicenna J Clin Med*. 2019; 26(3): 151-157. DOI: 10.29252/ajcm.26.3.151

Background and Objective: Oral candidiasis is often caused by *Candida albicans*, followed by *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, and *C. glabrata*. The present study aimed to investigate the antifungal effects of *Rosa damascena* (*R. damascena*) essential oil, mixed mouthwash of *R. damascena* essential oil and grape vinegar, as well as nystatin against various standard *Candida* species.

Materials and Methods: This descriptive study was performed on 5 standard strains of various *Candida* species. The anti-*Candida* effects of *R. damascena* and mixed mouthwash against various *Candida* strains were assessed using well diffusion and broth macrodilution methods. Nystatin was utilized as a positive control drug.

Results: The results of the well diffusion assay of *R. damascena* essential oil and mixed mouthwash were 17 and 6 mm regarding *C. albicans* strains, respectively, and 15 mm and 0 regarding other *Candida* strains, respectively. With respect to the results obtained from broth macrodilution test, the minimum inhibitory concentration of *R. damascena* essential oil and mixed mouthwash were found to be 8 and 6 µg/ml, 124 and 12 µg/ml, 31 and 12 µg/ml, as well as 62 and 25 µg/ml for *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, and *C. parapsilosis*, respectively. Moreover, *C. albicans* was the most sensitive *Candida* species to *R. damascena* essential oil and the mixed mouthwash.

Conclusion: The results showed that *R. damascena* essential oil and mixed mouthwash remarkably led to the inhibition of *Candida* species growth causing oral candidiasis.

Keywords: Grape Vinegar, Oral Candidiasis, Rose Damascena

بررسی اثر ضد قارچی اسانس گل سرخ و دهان شویه مرکب (حاوی سرکه انگور و اسانس گل سرخ) بر کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلیننسیس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس

زهرا امیری کارلادانی^۱، سید شجاع الدین شایق^۲، سید محمد رضا حکیمانہ^۳، محمد مهدی نقی زاده^۴، حجت اله شکری^۵، علیرضا نائینی^{۶*}

^۱ دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۲ دانشیار، گروه پروتزیهای دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۳ استادیار، گروه پروتزیهای دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۴ کارشناسی ارشد بیوفورماتیک، مرکز تحقیقات بیماریهای غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

^۵ دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

^۶ استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی و طب سنتی، مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: علیرضا نائینی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی و طب سنتی، مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. ایمیل: Naeini@shahed.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدیازیس دهانی اغلب توسط کاندیدا آلبیکنس و سپس کاندیدا دابلیننسیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس و کاندیدا گلابراتا ایجاد می‌شود. در این ارتباط، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ، دهان شویه مرکب (حاوی سرکه انگور (Grape Vinegar) و اسانس گل سرخ) و نیستاتین بر گونه‌های مختلف استاندارد کاندیدا انجام شد.

مواد و روش‌ها: مطالعه توصیفی حاضر در ارتباط با پنج سویه استاندارد گونه‌های مختلف کاندیدا انجام شد. اثرات ضد کاندیدیایی گل سرخ و دهان شویه مرکب بر سویه‌های مختلف کاندیدا با استفاده از روش‌های چاهک گذاری و میکروداپلوشن براث سنجیده شد. از نیستاتین نیز به عنوان داروی کنترل مثبت استفاده گردید. **یافته‌ها:** نتایج آزمایش چاهک گذاری اسانس گل سرخ و دهان شویه مرکب برای سویه‌های کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۱۷ و ۶ میلی‌متر و برای سایر سویه‌های کاندیدیایی آزمایش شده به ترتیب ۱۵ و ۰ میلی‌متر بود. در آزمایش میکروداپلوشن براث، حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس گل سرخ (Rose Damascena) و دهان شویه مرکب برای کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۸ و ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای کاندیدا دابلیننسیس ۱۲۴ و ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای کاندیدا گلابراتا ۳۱ و ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کاندیدا پاراپسیلوزیس ۶۲ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بر مبنای نتایج، کاندیدا آلبیکنس حساس‌ترین گونه کاندیدیایی نسبت به اسانس گل سرخ و دهان شویه مرکب بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که اسانس گل سرخ و دهان شویه مرکب به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای موجب مهار رشد گونه‌های کاندیدیایی ایجادکننده کاندیدیازیس دهانی می‌شوند.

واژگان کلیدی: اسانس گل سرخ، سرکه انگور، کاندیدیازیس دهانی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۲۶

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

مقدمه

مبتلا به ایدز (بیشتر از ۸۰ درصد) گزارش شده است [۱]. میزان حمل دهانی کاندیدا در بیماران بستری شده در بیمارستان، بیشتر از بیماران سرپایی بوده و میانگین آن حدود ۵۴/۷ درصد برای تمام گونه‌های کاندیدا و ۳۸/۱ درصد برای کاندیدا آلبیکنس بوده

گونه‌های کاندیدا بخشی از فلور قارچی همزیست حفره دهان می‌باشند که میزان حمل دهانی آن‌ها در گروه‌های سنی مختلف، متفاوت است. بیشترین میزان حمل دهانی کاندیدا در کودکان سالم (۴۵ تا ۶۵ درصد)، کهنسالان (۳ تا ۴۸ درصد) و بیماران

است [۲]. این جمعیت کاندیدیایی می‌تواند به دنبال تغییر در شرایط محیطی حفره دهانی تغییر کند. در پی آسیب به مخاط دهان و تغییر کیفی و کمی در فلور میکروبی آن، پاسخ ایمنی ذاتی به کاندیدا در دهان میزبان منجر به یک پاسخ التهابی مخاطی دهان به نام کاندیدیازیس دهانی می‌شود [۳].

کاندیدیازیس دهانی اغلب توسط کاندیدا آلبیکنس و به میزان کمتر به وسیله کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروژی، کاندیدا پزودو تروپیکالیس و کاندیدا گیلرموندی ایجاد می‌شود [۴]. کاندیدا آلبیکنس یک فلور همزیست است که در حفره دهان بیشتر افراد سالم وجود دارد. این گونه یک قارچ چندشکلی است که می‌تواند با توجه به شرایط محیطی به شکل سلول‌های مخمری کروی یا بیضی (بلاستوکونیدی) و یا به شکل‌های کاذب یا رشته‌های منشعب، طویل و دارای دیواره عرضی (هایفی یا میسلومی) وجود داشته باشد. چندشکلی بودن قارچ در افزایش حدت و بیماری‌زایی کاندیدا و همچنین تشخیص و درمان نامناسب کاندیدیازیس دهانی اثرگذار است. هرچند کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین گونه کاندیدیایی جدا شده از حفره دهان افراد بیمار می‌باشد؛ اما عفونت مختلط کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس در دهان بیماران مبتلا بسیار شایع است. در حال حاضر میزان شیوع کاندیدا دابلینینسیس در دهان افراد بزرگسال سالم حدود ۳ درصد و در بیماران مبتلا به ایدز دچار کاندیدیازیس دهانی حدود ۳۲ درصد گزارش شده است [۵].

افزایش مقاومت گونه‌های کاندیدا به داروهای ضد قارچی شیمیایی باعث شده است تا توجه خاصی به گیاهان دارویی به‌عنوان ترکیبات طبیعی شود. از میان گیاهان دارویی، گیاه گل سرخ یکی از مهم‌ترین گونه‌های خانواده روزاسه‌آ (Rosaceae) می‌باشد که اغلب به دلیل عطر و طعم آن شناخته می‌شود و محصولات عمده آن شامل: عصاره گل سرخ (گلاب) و اسانس می‌باشد [۶]. ابن‌سینا در کتاب "قانون" به استفاده همزمان از گلاب و عسل برای درمان سل ریوی توصیه کرده است. از اثرات مفید گل سرخ می‌توان به اثرات ضد التهابی، ضد افسردگی، ضد باکتری، ضد قارچی، ضد عفونی‌کننده، ضد التهابی، محرک هضم و تنظیم‌کننده کلیه و قاعدگی اشاره نمود. همچنین می‌توان از دم‌کرده آن برای سستشوی زخم‌ها و از غرغره کردن آن برای رفع درد گلو استفاده نمود [۷]. سرکه انگور نیز ترکیب طبیعی دیگری است که در نتیجه واکنش اکسیداسیون ناقص گیاه انگور حاصل شده و دارای اثرات ضد میکروبی، ضد ویروس ایدز، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. اختلاط سرکه با بزاق دهان، از دندان‌ها در برابر فساد میکروبی محافظت نموده و بر رفع جرم دندان و کاهش التهاب لثه اثرگذار می‌باشد [۸]. اثرات درمانی سرکه ناشی از ترکیبات شیمیایی آن (شامل: اسید استیک، اسید گالیک، کاتچین، اپیکتاکچین، اسید کلروژنیک، اسید کافئیک، اسید پی-کوماریک و اسید فرولیک) است که باعث پاسخ‌های

آنتی‌اکسیدانی، ضد دردی، ضد میکروبی، ضد تومور، ضد انعقاد، ضد فشار خون و کاهش کلسترول می‌شود [۹]. با توجه به مطالب بیان‌شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب حاوی اسانس گل سرخ و سرکه انگور بر گونه‌های کاندیدیایی دهانی نظیر کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس بوده است.

مواد و روش‌ها

سویه‌های استاندارد کاندیدا

در مطالعه توصیفی حاضر پنج سویه استاندارد گونه‌های کاندیدا شامل: کاندیدا آلبیکنس (ATCC 10231)، کاندیدا آلبیکنس (ATCC 14053)، کاندیدا دابلینینسیس (ATCC CD60)، کاندیدا گلابراتا (ATCC 90030) و کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC 22019) مورد بررسی قرار گرفتند.

اسانس گل سرخ

ابتدا ۱۰۰ گرم از گلبرگ‌های خشک گیاه گل سرخ (کاشان، ایران) با استفاده از آسیاب برقی خرد گردید. سپس، گیاه پودر شده به داخل بالن ژوژه دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر، مدل دارونامه بریتانیا) ریخته شد و ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. در ادامه، جریان آب سرد مبرد برقرار شد و بالن ژوژه درون هیتر برقی دستگاه قرار گرفت. سپس، دستگاه روشن گردید و اجازه داده شد تا فرایند تقطیر به مدت دو ساعت انجام شود. پس از گذشت دو ساعت، هیتر دستگاه خاموش شد و حجم اسانس جمع‌شده با کمک درجات روی بورت دستگاه مشخص گشته و یادداشت گردید. شایان ذکر است که به‌منظور ذخیره‌سازی اسانس، یک شیشه رنگی کوچک وزن گردید و وزن با درپوش آن یادداشت شد. سپس، اسانس در شیشه رنگی جمع‌آوری گشت و تا زمان استفاده داخل یخچال قرار گرفت [۱۰].

سرکه انگور

سرکه انگور طبیعی از یکی از عطاری‌های معتبر شهر تهران (فروشگاه عطارین، تهران، ایران) تهیه شد.

تهیه دهان‌شویه مرکب گیاهی

در این مطالعه دهان‌شویه مرکب از ترکیب هشت قسمت اسانس گل سرخ (۲۴ میکرولیتر، ۸۰ درصد) و دو قسمت سرکه انگور (شش میکرولیتر، ۲۰ درصد) تهیه گردید. سپس محلول آماده‌شده با استفاده از دستگاه ورتکس همگن گردید و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

آزمایشات حساسیت ضد قارچی

الف. آزمایش چاهک‌گذاری (Punched-Whole Test)

در این مطالعه حساسیت ضد قارچی ترکیبات طبیعی و

و اسانس به‌عنوان کنترل آزمایش استفاده گردید. لوله‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه قرار داده شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) عبارت بود از: پایین‌ترین غلظت دارو که در آن هیچ رشد قابل‌مشاهده قارچی پس از انکوباسیون مشاهده نشود. به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی (MFC: Minimum Fungicidal Concentrations)، از هریک از لوله‌های MIC که مخمر در آن‌ها رشد نکرده بود، ۲۰ میکرولیتر برداشته شد و به‌صورت یکنواخت در سطح پلیت‌های سابورو دکستروز آگار کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. باید توجه داشت که معیار MFC، پایین‌ترین غلظت دارو بود که در آن هیچ رشد قابل‌ملاحظه قارچی پس از انکوباسیون کشت‌های مجدد مشاهده نشده باشد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تعیین تفاوت بین گروه‌های مختلف تحت مطالعه از نظر مهار رشد گونه‌های کاندیدا از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مربع کای با کمک نرم‌افزار SPSS 22 استفاده گردید. مقدار $(P < 0/05)$ نیز به‌عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اسانس گل سرخ در آزمایش چاهک‌گذاری، پس از گذشت ۴۸ ساعت اثرات ضد قارچی قابل‌ملاحظه‌ای را بر سویه‌های مختلف کاندیدا نشان داد؛ میانگین قطر هاله مهارتی ایجادشده حدود ۱۵/۸ میلی‌متر بود. بر مبنای نتایج، تأثیر مهارتی اسانس گل سرخ بر کاندیدا آلبیکنس بیشتر از سایر گونه‌های کاندیدا بوده است (جدول ۱). علاوه‌براین دهان‌شویه مرکب حاوی اسانس گل سرخ و سرکه انگور، تنها اثر مهارکنندگی بر کاندیدا آلبیکنس (قطر هاله مهارتی ۶ میلی‌متر) داشت. چنین به نظر می‌رسد که دهان‌شویه مرکب دارای اثرات ضد کاندیدا/آلبیکنس نسبتاً ضعیفی در محیط جامد (آگار) می‌باشد. در این مطالعه نیستاتین به‌عنوان یک داروی استاندارد ضد قارچ موجب مهار رشد گونه‌های مختلف کاندیدا با میانگین قطر ۲۴/۸ میلی‌متر گردید (جدول ۱). نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نیز نشان دادند که تفاوت آماری معناداری بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ با دهان‌شویه مرکب $(P < 0/01)$ و نیستاتین $(P < 0/001)$ وجود دارد.

علاوه‌براین، نتایج آزمایش میکرودایلوشن براث نشان دادند که میزان MIC داروی نیستاتین (با میانگین ۰/۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) کمتر از دهان‌شویه مرکب (با میانگین ۱۲/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و اسانس گل سرخ (با میانگین ۴۶/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در برابر گونه‌های مختلف کاندیدا می‌باشد (جدول ۲). در این مطالعه دهان‌شویه مرکب در آزمایش میکرودایلوشن براث، اثرات ضد قارچی بیشتری بر سویه‌های

شیمیایی مورد نظر در ارتباط با سویه‌های مختلف کاندیدا با استفاده از روش چاهک‌گذاری ارزیابی شد [۱۱]. ابتدا روی پلیت‌های حاوی سابورو دکستروز آگار (شرکت مرک، دارماستاد، آلمان) به ضخامت حدود ۴ میلی‌متر، یک چاهک به قطر حدود ۶ میلی‌متر ایجاد گردید. سپس، سوسپانسیونی از کشت تازه کاندیدا در آب مقطر با کدورت معادل نیم‌مک‌فارلند (1×10^3) واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) تهیه شد. پس از آن با استفاده از سوآپ پنبه‌ای استریل آغشته به سوسپانسیون قارچی، سطح پلیت‌ها به‌طور یکنواخت تلقیح گردید. در ادامه، ۳۰ میکرولیتر از اسانس گل سرخ و ۳۰ میکرولیتر از محلول دهان‌شویه مرکب در داخل چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمایی معادل ۳۵ درجه سانتی‌گراد در داخل گرم‌خانه قرار داده شدند. پس از گذشت زمان مورد نظر، تشکیل قطر هاله مهارتی در پیرامون چاهک‌ها بررسی گردید. قطر هاله مهارتی رشد قارچ با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. علاوه‌براین، از ۳۰ میکرولیتر محلول دارویی نیستاتین به‌عنوان کنترل مثبت آزمایش استفاده گردید. شایان ذکر است که نیستاتین به‌صورت محلول به میزان ۱۰۰۰۰ واحد بر میلی‌لیتر و با خلوص ۹۹/۷ درصد (شرکت داروسازی جابرین حیان، تهران، ایران) تهیه شده بود. تمامی آزمایشات برای هر نمونه، سه بار تکرار شدند.

ب. آزمایش میکرودایلوشن براث

آزمایش تعیین حساسیت گونه‌های کاندیدا به نیستاتین، اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب با استفاده از روش میکرودایلوشن براث انجام شد [۱۲]. بدین‌منظور برای تهیه سوسپانسیون مخمری، گونه‌های مختلف کاندیدا روی پلیت‌های حاوی سابورو دکستروز آگار (شرکت مرک، دارماستاد، آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردیدند. در ادامه، سوسپانسیونی از کشت تازه کاندیدا در آب مقطر با کدورت نیم‌مک‌فارلند (1×10^3) واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) تهیه گردید. باید خاطر‌نشان ساخت که محلول استوک گل سرخ با آب مقطر و محلول استوک دهان‌شویه به‌صورت طبیعی تهیه شدند. از اسانس گل سرخ و محلول دهان‌شویه انگور، رقت‌های سریالی دو برابر در محدوده غلظتی ۰/۱۵ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. همچنین از رقت‌های سریالی دو برابر برای نیستاتین در محدوده غلظتی ۰/۱۶ تا ۲۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. برای تهیه رقت‌های سریالی نیستاتین، ۱۲۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از محلول نیستاتین تهیه گشت و رقت آن با استفاده از سابورو دکستروز براث به ۲۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت، این رقت با محیط سابورو دکستروز براث در چندین لوله رقیق شد؛ تا زمانی که رقت‌های پشت سر هم از ۰/۱۶ تا ۲۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمدند. ذکر این نکته ضرورت دارد که از لوله حاوی حلال و محیط کشت و فاقد ماده تلقیحی

جدول ۱: نتایج آزمایش حساسیت ضد قارچی با استفاده از روش چاهک‌گذاری اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب در ارتباط با گونه‌های استاندارد کاندیدا، بر حسب میلی‌متر

آزمایش چاهک‌گذاری	کاندیدا آلبيکنس (ATCC=10231)	کاندیدا آلبيکنس (ATCC=14053)	کاندیدا دابلینینسیس (ATCC=CD60)	کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC=22019)	کاندیدا گلابراتا (ATCC=90030)
اسانس گل سرخ	۱۷ ^a	۱۷ ^a	۱۵ ^a	۱۵ ^a	۱۵ ^a
دهان‌شویه مرکب	۶ ^b	۶ ^b	۶ ^b	۶ ^b	۶ ^b
نیستاتین	۲۵ ^a	۲۵ ^a	۲۴ ^a	۲۵ ^a	۲۵ ^a

- حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار می‌باشند. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت‌های معناداری بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ با دهان‌شویه مرکب ($P < 0.01$) و نیستاتین با دهان‌شویه مرکب ($P < 0.001$) وجود دارد.

جدول ۲: نتایج آزمایش حساسیت ضد قارچی با استفاده از روش میکروداپلوشن براث اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب در ارتباط با گونه‌های استاندارد کاندیدا، بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر

میکروداپلوشن براث	MIC			MFC		
	گل سرخ	دهان‌شویه مرکب	نیستاتین	گل سرخ	دهان‌شویه مرکب	نیستاتین
کاندیدا آلبيکنس (ATCC=10231)	۸ ^a	۶ ^b	۰/۱۵ ^c	۸ ^a	۱۲ ^b	۰/۱۵ ^c
کاندیدا آلبيکنس (ATCC=14053)	۸ ^a	۶ ^a	۰/۳ ^b	۸ ^a	۱۲ ^b	۰/۳ ^c
کاندیدا دابلینینسیس (ATCC=CD60)	۱۲۴ ^a	۱۲ ^b	۰/۱۵ ^c	۱۲۴ ^a	۲۵ ^b	۰/۱۵ ^c
کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC=22019)	۶۲ ^a	۲۵ ^a	۰/۳ ^b	۶۲ ^a	۵۰ ^a	۰/۳ ^b
کاندیدا گلابراتا (ATCC=90030)	۳۱ ^a	۱۲ ^b	۰/۳ ^c	۳۱ ^a	۲۵ ^b	۰/۳ ^c
میانگین کل	۴۶/۶	۱۲/۲	۰/۲۴	۴۶/۶	۲۴/۸	۰/۲۴

- حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار می‌باشند ($P < 0.05$). بیشترین اثر ضد کاندیدا، مربوط به دهان‌شویه مرکب بر کاندیدا آلبيکنس بوده است.

($P < 0.05$) در مورد سویه کاندیدا گلابراتا (ATCC 90030) تفاوت‌های آماری معناداری وجود دارد.

بحث

با توجه به منشأ عفونی پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه که از شایع‌ترین بیماری‌های قرن حاضر می‌باشند، نیاز به تحقیق و مطالعه به‌منظور یافتن ترکیبات طبیعی برای این بیماری‌های ضروری می‌باشد [۱۳]. در مطالعه حاضر سعی بر آن بود تا اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب حاوی اسانس گل سرخ و سرکه انگور بر گونه‌های مختلف کاندیدا، موجود در دهان افراد مستعد، مورد ارزیابی قرار گیرد. در مطالعه حاضر، اسانس گل سرخ اثر ضد قارچی قابل‌ملاحظه‌ای بر سویه‌های مختلف کاندیدا، در آزمایشات چاهک‌گذاری (میانگین قطر هاله مهار ۱۵/۸ میلی‌متر) و میکروداپلوشن براث (میانگین MIC برابر با ۴۶/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود) داشت. نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعات پیشین همسویی دارند [۱۴]. در این راستا در مطالعه بالینی انجام‌شده توسط حسین‌پور و همکاران، اثر اسانس گل سرخ بر ۵۰ بیمار مبتلا به کاندیدیازیس دهانی عودکننده بررسی شد و تأثیر قابل‌ملاحظه گل سرخ بر گونه‌های کاندیدا، اثبات گردید [۱۵]. توفیقی و همکاران نیز در مطالعه خود به بررسی اثرات ضد میکروبی چند گیاه دارویی از جمله گل سرخ پرداختند و گزارش نمودند که عصاره آبی گل سرخ، اثر مهار بر

مختلف کاندیدا، نسبت به اسانس گل سرخ به‌تنهایی داشت که این تأثیر بر کاندیدا آلبيکنس بیشتر از سایر گونه‌های کاندیدا، می‌بود. چنین به نظر می‌رسد که ترکیب اسانس گل سرخ با سرکه انگور در محیط مایع (براث) موجب هم‌افزایی اثر اسانس گل سرخ بر مهار رشد قارچ می‌گردد. از سوی دیگر، میزان MFC اسانس گل سرخ و دهان‌شویه مرکب برای کاندیدا آلبيکنس به ترتیب معادل ۸ و ۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای کاندیدا دابلینینسیس برابر با ۱۲۴ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، برای کاندیدا گلابراتا معادل ۳۱ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کاندیدا پاراپسیلوزیس به ترتیب برابر با ۶۲ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نیز نشان دادند که بین اثرات ضد قارچی نیستاتین، دهان‌شویه مرکب و اسانس گل سرخ ($P < 0.05$) در مورد سویه کاندیدا آلبيکنس (ATCC 10231)، بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ با نیستاتین و دهان‌شویه مرکب با نیستاتین ($P < 0.05$) در ارتباط با سویه کاندیدا آلبيکنس (ATCC 14053)، بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ با نیستاتین و دهان‌شویه مرکب با نیستاتین ($P < 0.05$) در مورد سویه کاندیدا دابلینینسیس (ATCC CD60)، بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ با نیستاتین و دهان‌شویه مرکب با نیستاتین ($P < 0.05$) در ارتباط با سویه کاندیدا پاراپسیلوزیس (ATCC 22019) و بین اثرات ضد قارچی اسانس گل سرخ، نیستاتین و دهان‌شویه مرکب

ساخت که به دلیل عدم رضایت افراد از دهان‌شویه‌های سنتی و نیز ناراضی‌تای از طعم و بوی نامطبوع داروی شیمیایی نیستاتین و حالت تهوع و استفراغ ناشی از آن ضروری است مطالعات بیشتر و دقیق‌تری در ارتباط با دهان‌شویه‌های گیاهی انجام شود [۲۰].

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که اسانس گل سرخ دارای اثر ضد کاندیدایی بوده و ترکیب آن با سرکه انگور به شکل محلول دهان‌شویه موجب هم‌افزایی اثر این دو ترکیب در مهار رشد گونه‌های مختلف کاندیدا می‌شود. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه پیشنهاد می‌گردد که در آینده پس از تأیید ارزیابی‌های بالینی، از این ترکیب به‌عنوان یک دهان‌شویه گیاهی برای درمان بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شاهد و همچنین از زحمات کارکنان دانشکده‌های دندان‌پزشکی و پزشکی این دانشگاه تقدیر و تشکر می‌گردد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان و نتایج مطالعه وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر مورد تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شاهد با کد IR.SHAHED.REC.1397.022 می‌باشد.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی): جمع‌آوری نمونه، جمع‌آوری داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله، تأیید مقاله نهایی
نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): طراحی مطالعه، تفسیر داده‌ها، بازبینی و تأیید مقاله نهایی
نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): تفسیر داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله، تأیید مقاله نهایی
نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار): آنالیز داده‌ها، بازبینی و تأیید مقاله نهایی
نویسنده پنجم (پژوهشگر همکار): تفسیر داده‌ها، نگارش پیش‌نویس مقاله، بازبینی و تأیید مقاله نهایی
نویسنده ششم (پژوهشگر اصلی): ایده اولیه، طراحی مطالعه، بازبینی و تأیید مقاله نهایی

حمایت مالی

پژوهش حاضر از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد پشتیبانی مالی شده است.

کاندیدا/آلبیکنس دارد. از سوی دیگر در مطالعه‌ای که توسط شهاب و همکاران انجام شد، اثر ضد قارچی روغن گل سرخ با عصاره‌های آبی، هگزانی و اتانولی گلبرگ آن مقایسه گردید. نتایج نشان دادند که روغن گل سرخ تأثیر کمی بر کاندیدا/آلبیکنس داشته است (قطر هاله مهاری بین ۱۰/۵ تا ۱۴ میلی‌متر) [۱۷]. علت تفاوت نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعه حاضر این است که در مطالعه حاضر از اسانس گل سرخ به‌جای روغن آن استفاده شده است. علاوه‌براین در مطالعه عطایی و همکاران، بررسی اثرات ضد قارچی پنج نوع گلاب صنعتی، عصاره آبی گل سرخ و اسانس آن نشان داد که گلاب‌های صنعتی، فاقد اثر ضد قارچی بر کاندیدا/آلبیکنس هستند؛ درحالی که میزان MIC عصاره آبی گل سرخ و اسانس آن به‌ترتیب برابر با ۱ و ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مطالعه حاضر اثر اسانس گل سرخ به میزان ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای هر دو سویه استاندارد کاندیدا/آلبیکنس مشاهده گردید.

باید خاطر نشان ساخت که در مطالعه حاضر، اسانس گل سرخ به‌تنهایی تأثیر بیشتری نسبت به دهان‌شویه مرکب در آزمایش چاهک‌گذاری بر مهار رشد کاندیدا/آلبیکنس (با قطر هاله مهاری ۶ میلی‌متر) داشت؛ درحالی که در آزمایش میکرودايلوشن براث، میزان MIC دهان‌شویه مرکب حاوی اسانس گل سرخ و سرکه انگور (میانگین ۱۲/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بیشتر از اسانس گل سرخ به‌تنهایی (میانگین ۳۴/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود که این امر نشان از آن دارد که ترکیب اسانس گل سرخ با سرکه انگور موجب هم‌افزایی اثر اسانس گل سرخ بر مهار رشد قارچ‌ها می‌شود. در این راستا در مطالعه انجام‌شده توسط باقری و همکاران، اثرات ضد قارچی سرکه‌های سیب، انگور و خرما بر کاندیدیازیس واژینال ارزیابی گردید و گزارش شد که سرکه سیب و انگور بر بیماری کاندیدیازیس واژینال اثرگذار بوده‌اند؛ به‌طوری که تأثیر سرکه سیب و انگور بر کاندیدا/آلبیکنس بیشتر از کاندیدا/گلابراتا بود [۱۹]. در دیگر مطالعه بالینی انجام‌شده توسط رضایی و همکاران در ارتباط با بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی، اثر ضد قارچی معناداری از ترکیب سرکه انگور و گل سرخ در مقایسه با نیستاتین بر کاندیدا/آلبیکنس به‌دست آمد. نتایج نشان دادند که این ترکیب می‌تواند موجب کاهش علائم بالینی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی شود. تعیین مکانیسم عمل ترکیبات طبیعی در مطالعه حاضر از اهداف این مطالعه نبود؛ اگرچه سایر پژوهشگران گزارش نموده‌اند که اسید استیک موجود در سرکه انگور موجب مهار آنزیم لانسترول ۱۴-آلفا دمتیلاز در گونه‌های کاندیدا/ و در نهایت مهار رشد آن‌ها می‌گردد [۲۱]. در مطالعه حاضر علاوه بر تهیه دهان‌شویه مرکب طبیعی نسبت به دهان‌شویه‌های شیمیایی، سویه‌های استاندارد دیگری نیز چون کاندیدا/دابلیونینسیس، کاندیدا/پاراپسیلوزیس و کاندیدا/گلابراتا مورد بررسی قرار گرفتند که این امر برای انجام آزمایشات بالینی در آینده بسیار کمک‌کننده خواهد بود. در انتها باید خاطر نشان

REFERENCES

- Sharifzadeh A, Khosravi AR, Shokri H, Asadi F, Hajiabdulbaghi M, Ashrafi Tamami I. Oral microflora and their relation to risk factors in HIV⁺ patients with oropharyngeal candidiasis. *J Mycol Med*. 2013;**23**(2):105-12. PMID: 23721997 DOI: 10.1016/j.mycmed.2013.02.001
- Shokri H. Immunology of fungal infections. 1st ed. Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad; 2019. P. 47. [Persian]
- Zeini F, Mahbod SA, Emami M. Medical mycology. 1st ed. Tehran: University of Tehran; 2012. P. 78-80. [Persian]
- Khosravi AR, Shokri H, Ziglari T. Fungal diseases in immunocompromised patients. 1st ed. Tehran: Jahade-E-Daneshgahi; 2008. P. 49-50. [Persian]
- Khosravi AR. Fungal infections and immune responses. 1st ed. Tehran: University of Tehran; 2007. P. 149-51. [Persian]
- Zarghami M, Farzin D, Bagheri K. Anti depressant effects of *Rosa damascena* on laboratory rats (A controlled experimental blind study). *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2001;**11**(33):27-33. [Persian]
- Das P, Nanda S. Medicinal efficacy of rose plants: a mini review. *Pharmatutor*. 2015;**3**(10):23-6.
- Ramazanalizadeh F, Rabbani M, Khoroshi M, Asghari A. Antimicrobial effect of *Rosa damascene* and grape vinegar in comparison with herbal Persica mouthwash against oral bacteria in vitro. *Dentistry J*. 2015;**27**(2):110-7. [Persian]
- Budak NH, Aykin E, Seydim AC, Greene AK, Guzel-Seydim ZB. Functional properties of vinegar. *J Food Sci*. 2014;**79**(5):R757-64. PMID: 24811350 DOI: 10.1111/1750-3841.12434
- Naeini A, Shayegh SS, Shokri H, Davati A, Khazaei A, Akbari A. *In vitro* antifungal effect of herbal mixture (*Nigella sativa*, *Foeniculum vulgare* and *Camellia sinensis*) against *Candida* species isolated from denture wearers. *J Herbmmed Pharmacol*. 2017;**6**(2):74-9.
- Nejad BS, Rajabi M, Mamoudabadi AZ, Zarrin M. In vitro anti-*Candida* activity of the hydroalcoholic extracts of *Heracleum persicum* fruit against pathogenic *Candida* species. *Jundishapur J Microbiol*. 2014;**7**(1):e8703. PMID: 25147655 DOI: 10.5812/jjm.8703
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 2nd ed. PA: Villanova: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
- Atai Z, Abdollahi H, Naderipour S, Mohammadi S. Comparison of antifungal and antibacterial effects of *Persica Matrica* and Iralwex with Chlorhexidine mouthwashes (An *in vitro* study). *J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Sci*. 2007;**25**(1):58-65.
- Naeini A, Naseri M, Kamalinejad M, Khoshzaban F, Rajabian T, Nami H, et al. Study on Anti_ *Candida* effects of essential oil and extracts of Iranian medicinal plants, *In vitro*. *J Med Plants*. 2011;**2**(38):163-72. [Persian]
- Hoseinpour H, Peel SA, Rakhshandeh H, Forouzanfar A, Taheri M, Rajabi O, Saljoghinejad M, et al. Evaluation of *Rosa damascena* mouthwash in the treatment of recurrent aphthous stomatitis : a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Quintessence Int*. 2011;**42**(6):483-91. PMID: 21519586
- Tofighi Z, Molazem M, Doostdar B, Taban P, Shahverdi AR, Samadi N, et al. Antimicrobial activities of three medicinal plants and investigation of flavonoids of *Tripleurospermum disciforme*. *Iran J Pharm Res*. 2015;**14**(1):225-31. PMID: 25561928
- Shohayeb M, Abdel-Hameed ES, Bazaid SA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Global J Pharmacol*. 2014;**8**(1):1-7. DOI: 10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81275
- Ataee Bojd MS, Hanafi Bojd R. The evaluation of antimicrobial effects of five different brands of rose water, water extract of *Rosa damascene* in comparison with rose oil. *J Birjand Univ Med Sci*. 2014;**21**(3):292-9. [Persian]
- Bagheri M, Mahmoudi Rad M, Mansouri A, Younespour S, Taheripanah R. A comparison between antifungal effect of *Fumaria officinalis*, *Echinacea angustifolia*, vinegar, and fluconazole against *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolated from vagina candidiasis. *Iran J Obstetrics Gynecol Infertil*. 2015;**17**(136):1-9. [Persian]
- Rezaie Dastjerdi M, Motevaselian M, Moghadammia AA, Khafri S, Zuahkiani M, Mahdavi Omran S. The effect of the vinegar plus rose water mouthwash on denture stomatitis candidiasis. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2014;**23**(1):187-95. [Persian]
- Mota AC, de Castro RD, de Araujo Oliveira J, Oliveira Lima E. Antifungal activity of apple cider vinegar on *Candida* species involved in denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2014;**24**(4):296-302. PMID: 25219289 DOI: 10.1111/jopr.12207