مقاله پژوهشی

بررسی آزمایشگاهی تأثیر عصاره آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس*

فائزه آزموده[۱]، معصومه اصلانی‌مهر*[۲]، ندا لوری‌زاده[۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۰۵/۰۴

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: عفونت‌های دهان و پوسیدگی دندان هنوز هم به‌عنوان یکی از مشکلات مهم بهداشتی به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه می‌باشد. عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان حاوی ترکیبات گیاهی دارویی است که این ترکیبات توانایی سرکوب پاتوژن‌های مرتبط با پوسیدگی و بیماری‌های قارچی دهان را دارد. هدف از این مطالعه تعیین اثر ضد میکروبی عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مداخله‌ای (تجربی-آزمایشگاهی) از عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان با کد هرباریوم ۳۲۲ -H00l- ۹۳ استفاده شد. سپس اثر غلظت‌های ۲۵۶ mg/ml - ۲ عصاره آبی ریشه آن بر روی سویه استاندارد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* (ATCC 35668) و سویه استاندارد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 10231)، با تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC)[۴] و آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)[۵] به روش macro broth dilution موردبررسی قرار گرفت. کلیه آزمایشات با سه بار تکرار انجام و میانگین نتایج به‌دست‌آمده، در آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ۲۰ مورداستفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: حداقل غلظت مهاری عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان برای استرپتوکوکوس موتانس mg/ml ۲ و حداقل غلظت کشندگی آن ۱۶mg/ml بود. عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان برای کاندیدا آلبیکنس در دامنه ۲۵۶ mg/ml -۲ نه‌تنها فاقد اثر مهارکنندگی بود بلکه در این غلظت‌ها گروه آزمون در مقایسه با گروه کنترل نسبت رشد بیشتری را از خود نشان می‌داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد اگرچه عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان فاقد اثر ضد قارچی علیه *کاندیدا آلبیکنس* در غلظت‌های mg/ml ۲۵۶- ۲ است ولیکن دارای خاصیت ضد باکتریایی مؤثر برای باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* به‌عنوان یکی از پاتوژن‌های اصلی در تشکیل پلاک و پوسیدگی دندان است.

واژگان کلیدی: عصاره آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان، *استرپتوکوکوس موتانس*، *کاندیدا آلبیکنس*، فعالیت ضد میکروبی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره ششم، ص ۴۰۰-۳۹۳، شهریور ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی / گروه میکروب‌شناسی، تلفن: ۶-۳۳۳۳۶۰۰۱- ۰۲۸

Email: dr_aslanimehr@yahoo.com

مقدمه

بیماری‌های دهان شامل پوسیدگی دندانی، بیماری پریودنتال و از دست دادن دندان‌ها، جمعیت بسیار زیادی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱) در میان بیماری‌های حفره دهان، پوسیدگی دندان‌ها از شیوع بالا و اهمیت خاصی برخوردار است و درواقع پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی است (۲). *استرپتوکوکوس موتانس* به‌عنوان عامل اصلی پوسیدگی در نظر گرفته می‌شود که نقش اساسی را در پیشرفت پوسیدگی دندان بازی می‌کند (۳). مهم‌ترین بخش در جلوگیری از پوسیدگی، پیشگیری است (۴). یکی از روش‌های پیشگیری استفاده از عوامل ضد میکروبی مانند کلراهگزیدین یا سدیم فلوراید است تا تشکیل بیوفیلم و رشد میکروارگانیسم‌های مولد پوسیدگی به‌خصوص *استرپتوکوکوس*

[۱] استادیار پاتولوژی فک و صورت، گروه آسیب شناسی، دانشکده دندان پزشکی. دانشگاه علوه پزشکی قزوین

[۲] استادیار میکروب شناسی بالینی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی / گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین (نویسنده مسئول)

[۳] دندان پزشک عمومی

[4] MIC: Minimal inhibitory concentration

[5] MBC: Minimal Bactericidal concentration

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

موتانس را در حفره دهان محدود کند. بااین‌حال استفاده از مواد شیمیایی معمول به‌صورت منظم به خاطر محدودیت‌هایی که این عوامل از خود نشان داده‌اند برای پیشگیری از پوسیدگی توصیه نمی‌شود (۵). گزارش شده است که آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین و اریترومایسین به‌طور مؤثری از پوسیدگی دندان در انسان‌ها و حیوانات پیشگیری می‌کنند، اما به خاطر عوارض جانبی زیاد به‌طور بالینی استفاده نمی‌شوند. (۲). بنابراین بااینکه مواد ضدپوسیدگی متعددی ازنظر تجاری وجود دارند، اما به دلیل اثرات جانبی ناخواسته و قیمت‌های بالای این مواد و با توجه به مقاومت‌های میکروبی ایجادشده، چالش برای یافتن مواد ضد میکروبی جدید همچنان ادامه دارد (۲-۶). *کاندیدا آلبیکنس* شایع‌ترین علت بیماری‌های قارچی دهان در انسان است، درواقع این قارچ به‌عنوان چهارمین علت عفونت دهان شناخته شده است. *کاندیدا آلبیکنس* می‌تواند باعث عفونت‌های موضعی مانند برفک شود (۷). کاندیدیازیس دهانی به شکل دنچراستوماتیت[1] در ۶۵ درصد افرادی که از پروتز کامل استفاده می‌کنند، دیده می‌شود (۸). درمان عفونت‌های مربوط به کاندیدا آلبیکنس مشکل است. آمفوتریسین B و آزول‌ها عمدتاً در موقعیت‌های بالینی شایع استفاده می‌شوند، بااین‌حال سمیت و مقاومت در برابر این داروهای ضد قارچ یک مشکل عمده است (۸). در مورد آمفوتریسین B با توجه به نفوذپذیری ضعیف آن در سراسر غشاء، مقادیر داروی دریافتی توسط بیمار باید افزایش پیدا کند که این امر موجب عوارض جانبی شدیدی مانند آسیب کلیوی می‌شود. به‌منظور کاهش شدت عوارض جانبی، آمفوتریسین اغلب با سایر داروهای ضد قارچ مانند آزول‌ها ترکیب می‌شود. اما گزارش‌های مبتنی بر مقاومت کاندیدا آلبیکنس نسبت به آزول‌ها به‌تازگی افزایش یافته است، بنابراین کاهش دوز آمفوتریسین به‌وسیله ترکیب آن با یک محصول جدید با فعالیت ضد قارچی موردتوجه قرارگرفته است (۷). اخیراً مطالعات راجع به استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان منبعی از عوامل ضد میکروبی و ضد قارچی به‌طور چشمگیری افزایش پیدا کرده است. طیف گسترده‌ای از عصاره گیاهان گزارش شده است که دارای فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی هستند (۸). یکی از موادی که از خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی برخوردار است، عصاره ریشه شیرین‌بیان است (۹-۱۰). ریشه شیرین‌بیان طیف وسیعی از خواص درمانی و دارویی را نشان داده است که ناشی از غلظت بالای ساپونین و سایر ترکیبات موجود در آن است. ساپونین‌ها به مقدار زیادی در کدو، پوست انگور، زیتون، سویا، شیرین‌بیان، پیاز، سیر، نخود و لوبیا وجود دارد (۱۱).

ریشه‌ی شیرین‌بیان در صنایع دارویی استفاده می‌شود و حاوی ترکیبات متعددی چون روغن‌های فرار، استرول گیاهی، فلاونوئیدها[2] و ساپونین‌ها [3] می‌باشد. ریشه این گیاه به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات ساپونین در نظر گرفته می‌شود و فعالیت ضد میکروبی ساپونین در برابر تعداد زیادی از پاتوژن‌های بیماری‌زا به اثبات رسیده است (۱۲-۱۳). مهم‌ترین شاخص در تعیین کیفیت ریشه میزان گلایسیریزیک اسید[4] می‌باشد و شرایط اقلیمی، جغرافیایی و شرایط محیطی مانند میزان تابش نور خورشید، ارتفاع از سطح دریا، عرض جغرافیایی، میزان رطوبت و میزان شوری خاک اهمیت بسیار زیادی در میزان گلایسیریزیک اسید موجود در ریشه‌ی شیرین‌بیان دارد و مقدار آن بین درصد۲۰-۵، متغیر است. که منجر به تفاوت‌هایی در میزان فعالیت ضد میکروبی گیاه می‌شود (۹، ۱۱-۱۵).

به‌هرحال مطالعات بیشتری لازم است تا مدارک قطعی برای مؤثر بودن و کاربرد کلینیکی این ترکیبات را فراهم آورد. با توجه به مطالب ذکرشده و اهمیت روزافزون تعیین خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی مواد برگرفته از منابع طبیعی، در این تحقیق بررسی تأثیر عصاره ریشه شیرین‌بیان بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس و قارچ کاندیدا آلبیکنس هدف قرار داده شد، تا شاید نتایج حاصل از آن بتواند راهی در جهت شناخت بهتر مواد ضد باکتریایی طبیعی و استفاده گسترده‌تر از آن‌ها را پیش رو قرار دهد.

مواد و روش کار

نوع مطالعه: مداخله‌ای (تجربی - آزمایشگاهی)

سوش‌های میکروبی

در این مطالعه، سوش استاندارد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* ATCC 35668 (موسسه سرم‌سازی رازی) و سوش استاندارد قارچ *کاندیدا آلبیکنس* ATCC 10231 (بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی قزوین) تهیه شد و مورد آزمایش قرار گرفت.

تهیه عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان:

عصاره‌ی آبی خشک‌شده ریشه شیرین‌بیان با کد هرباریوم -93 H001-322 از شرکت دینه به شکل آماده در اختیار محققین قرار داده شد.

۱) تهیه سوسپانسیون میکروبی:

سویه‌های میکروبی تهیه‌شده به‌صورت لیوفیلیزه بودند که در مرحله‌ی آماده‌سازی مقدار ۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به ویال

1 Denture stomatitis

2 flavonoids

3 Saponins

4 glycyrrhizic acid

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

مربوطه اضافه‌شده و شیک شد. جهت تهیه کشت یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون روی محیط آگار مناسب منتقل گردید (Brain Heart Infusion Agar _(آلمان - Merck) برای *استرپتوکوکوس موتانس* و Sabouraud Dextrose Agar_(آلمان - Merck) برای *کاندیدا آلبیکنس*). سپس محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. کشت‌های مربوط به باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در داخل جار بی‌هوازی CO2 قرار گرفته و همراه با کشت‌های مربوط به *کاندیدا آلبیکنس* به انکوباتور منتقل شد.

برای انجام هر بارآزمون، جهت بررسی اثرات ضد میکروبی، کشت تازه‌ی ۲۴ ساعته تهیه گردید. یک لوپ از کلونی‌های ۲۴ ساعته میکروارگانیسم موردنظر به لوله‌ی استریل حاوی محیط کشت مایع انتقال داده و مخلوط گردید تا یکنواخت گردد. به‌منظور استاندارد نمودن، کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه‌شده با لوله‌ی شماره‌ی ۰/۵ مک فارلند (استاندارد کدورت سنجی) تنظیم شد. این مقایسه هم به‌صورت چشمی و هم توسط دستگاه اسپکتوروفوتومتر انجام شد. کدورت ۰/۵ مک فارلند معادل کدورت تقریبی ۱۰۸× ۱/۵ سلول در میلی‌لیتر می‌باشد. سپس این سوسپانسیون به نسبت ۱/۱۵۰ رقیق شد تا میزان استاندارد میکروارگانیسم (10^6 cfu/ml) برای تعیین MIC به‌دست آید (۱۶).

۲) تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان:

تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان از طریق تعیین MIC با استفاده از روش macro broth dilution و تعیین MBC صورت گرفت. ازآنجایی‌که عصاره آبی در غلظت‌های مورد آزمایش، خود محلولی کدر است، تعیین برای رشد، یا مهار رشد باکتری بر اساس کدورت ایجادشده در محیط امکان‌پذیر نیست. لذا تعیین حداقل غلظت مهاری بر اساس کاهش رشد باکتری صورت گرفت و حداقل غلظتی از عصاره، که قادر به کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها به میزان ۸۰ درصد یا بیشتر باشد، به‌عنوان MIC و حداقل غلظتی از عصاره که قادر به از بین بردن ۹۹،۹ درصد میکروارگانیسم‌ها باشد به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد (۱۷).

بدین منظور ابتدا ۵۱۲۰ mg از عصاره خشک با ترازوی دقیق وزن شده و در ۱۰ ml آب استریل دیونیزه حل شد، سپس این محلول با فیلترهای ۰(22µm Millipore filter.) استریل شد. به‌این‌ترتیب محلول Stock عصاره با غلظت ۵۱۲mg/ml تهیه شد . پس‌ازآن غلظت‌های کاهنده دوگانه در دامنه‌ی ۵۱۲ mg/ml - ۴ تهیه شد، به‌طوری‌که درنهایت در هر لوله ۰/۵ ml از غلظت موردنظر قرار گرفت، سپس به تمام لوله‌های حاوی عصاره، ۰/۵ ml از سوسپانسیون باکتریایی تهیه‌شده اضافه شد. یک لوله نیز به‌عنوان کنترل مثبت بدون عصاره و یک لوله به‌عنوان کنترل منفی بدون میکروارگانیسم تهیه شد. لوله‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. از لوله کنترل مثبت در رقت‌های 10^{-2} و 10^{-4} و 10^{-6} روی محیط کشت جامد، پاساژ داده شد تا پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در انکوباتور، شمارش میکروبی (colony count) کنترل مثبت انجام شود. پس از گذشت ۲۴ ساعت، تمامی لوله‌های آزمایش را برای شمارش میکروبی به محیط کشت جامد منتقل کردیم. برای شمارش کلنی مقدار ۱۰۰ λ از هر لوله را با سمپلر برداشته و روی محیط Sabouraud Dextrose Agar برای *کاندیدا آلبیکنس* و Brain Heart Infusion Agarبرای *استرپتوکوکوس موتانس* کشت داده شد و پس‌ازآنکوباسیون در دمای ۳۷ درجه و به مدت ۲۴ ساعت، تعداد کلنی‌ها شمارش گردید و با اعمال ضرایب رقت تعداد کلنی‌ها در یک میلی‌لیتر (cfu/ml) به دست آمد. جهت تهیه کنترل کیفی و صحت علائم، آزمایش به‌صورت سه بار تکرار برای هر میکروارگانیسم در تمامی غلظت‌ها انجام شد و در صورت آلودگی و یا خطا آزمون تکرار گردید. میانگین سه تکرار توسط نرم‌افزار Spss20 با روش آماری T تست گزارش گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه MIC عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان برای استرپتوکوکوس موتانس برابر ۲mg/ml و MBC آن برابر با ۱۶mg/ml گزارش شد. در حالیکه عصاره‌ی آبی این گیاه در غلظت‌های ۲۵۶ mg/ml- ۲ فاقد اثر ضد قارچی علیه *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد (جدول ۱).

جدول (۱): نتایج حداقل غلظت بازدارندگی ((MIC و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره ریشه شیرین‌بیان

غلظت عصاره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶
استرپتوکوکوس موتانس	-*	-	-	**.	.	.	.	.
کاندیدا آلبیکنز	+	+	+	+	+	+	+	+

: * MIC کاهش رشد میکروارگانیسم به میزان ۸۰٪ ≤ در مقایسه با گروه کنترل

: ** MBCکاهش رشد میکروارگانیسم به میزان ۹۹/۹٪ در مقایسه با گروه کنترل

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

علامت مثبت (+) یعنی عدم کاهش رشد نسبت به گروه کنترل، علامت منفی (-) یعنی کاهش رشد نسبت به گروه کنترل و علامت صفر (۰) عدم رشد هیچ‌گونه کلنی باکتریایی یا قارچی در روی محیط کشت

بحث

با توجه به افزایش مقاومت میکروبی نسبت به داروهای سنتزی شیمیایی و همچنین اثرات مفید گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها استفاده از گیاهان و مواد مؤثره آن‌ها رو به افزایش است. سازگاری بیشتر ترکیبات گیاهی با سیستم ایمنی انسان، در دسترس بودن و ارجحیت استفاده از منابع طبیعی نسبت به ترکیبات شیمیایی توسط مردم از دیگر عواملی هستند که منجر به افزایش استفاده از گیاهان در مشکلات مربوط به سلامت شده‌اند (۴). شیرین‌بیان به دلیل ویژگی‌های بیولوژیک و فارماکولوژیک نظیر فعالیت های ضد التهابی، ضد توموری، محرک سیستم ایمنی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدان توجه محققین رو جلب کرده است. (۱۲ و ۱۸). *استرپتوکوکوس موتانس* مهم‌ترین و بیماری‌زاترین میکروارگانیسم مولد پوسیدگی دندان بوده و در آغاز پوسیدگی نقش اصلی را دارا می‌باشد (۵). همچنین *کاندیدا البیکنس* شایع‌ترین عامل به وجود آورنده بیماری‌های قارچی در دهان است (۱۹) به همین منظور ما در این مطالعه به بررسی اثر عصاره ریشه‌ی شیرین‌بیان که یک فرآورده طبیعی است در برابر دو میکروارگانیسم مهم در بیماری‌های دهان و دندان در شرایط آزمایشگاهی پرداختیم. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌ی ابی ریشه‌ی شیرین‌بیان شرکت دینه در ممانعت از رشد *استرپتوکوکوس موتانس* مؤثر بوده و در غلظت‌های ۲۵۶ mg/ml – ۲ دارای اثر ضد باکتریایی علیه *استرپتوکوکوس موتانس* بوده است و دارای حداقل غلظت مهاری ۲ و حداقل غلظت کشندگی ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می باشدولیکن در غلظت‌های موردمطالعه در ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس هیچ‌گونه اثر مهاری نداشته است. مطالعات انجام شده نشانگرآن است که هر دو عصاره‌ی آبی و الکلی ریشه‌ی شیرین‌بیان دارای اثر ضد باکتریایی، علیه *استرپتوکوکوس موتانس* است. اما ازآنجایی‌که استفاده از عصاره‌ی ابی شیرین‌بیان در مقایسه با عصاره‌ی الکلی آن تغییرات کم‌تری در تعادل میکروبیوتای دهان ایجاد می‌کند، شاید به کارگیری عصاره‌ی ابی در دهان شویه ها و ژل‌های گیاهی مناسب‌تر باشد (۹ و ۱۲). لذا در این مطالعه از عصاره‌ی آبی شیرین‌بیان استفاده شد. لازم به ذکر است که شرایط اقلیمی و جغرافیایی بر روی مقدار گلایسیریزیک اسید در ریشه‌ی شیرین‌بیان مؤثر می‌باشد که منجر به تفاوت‌هایی در میزان فعالیت ضد میکروبی گیاه می‌شود (۱۴). نتیجه‌ی مطالعه‌ی ما با نتایج مطالعات انجام شده توسط صدیقی نیا (۹)، Geetha (۱۵)، ، Anagha (۲۰) و Linguaraj (۲۱) هم‌خوانی دارد. صدیقی نیا و همکارانش در سال ۲۰۱۲ به بررسی تأثیر عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان به روی میکروارگانیسم‌های دهان پرداختند. آن‌ها برای تعیین MIC از متدbroth and agar dilution و برای تعیین MBC از متد broth dilution استفاده کردند. و از دهانشویه کلر هگزیدین به‌عنوان گروه شاهد استفاده شد. در روش رقت آگاری (Agar dilution) MIC عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان و دهانشویه کلرهگزیدین علیه *Streptococcus mutans* به‌ترتیب، برابر ۱۲/۵ mg/ml و ۰/۱۲۵mg/ml گزارش شد. در روش Broth Dilution، MIC و MBC برای باکتری *Streptococcus mutans*، برابر ۱۲/۵ mg/ml گزارش شد. بر طبق این مطالعه عصاره‌ی ابی ریشه‌ی شیرین‌بیان یک کاندید مناسب در جهت کمک به کنترل پوسیدگی دندان و عفونت اندودنتیک به شمار می اید (۹).Geetha و همکاران در سال ۲۰۱۲ فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان را با استفاده از روش Broth Dilution بر علیه *Streptococcus mutans* بررسی نمودند. MIC و MBC عصاره علیه باکتری موردمطالعه به‌ترتیب برابر ۴ mg/ml و ۸ mg/ml گزارش شد. آن‌ها نتیجه گرفتند عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان دارای اثر ضد باکتریایی علیه گونه موردمطالعه است (۱۵). همچنین Anagha و همکاران در سال ۲۰۱۴ از روش Broth dilution برای بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان استفاده کردند. طبق نتیجه‌ی این مطالعه عصاره‌ی شیرین‌بیان دارای MIC۰ ۰/۵ mg/ml بوده که نشانگر اثر ضد باکتریایی آن علیه *استرپتوکوکوس موتانس* است (۲۰). مطالعات زیادی جهت بررسی اثر ضد قارچی عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان بر روی قارچ‌های بیماری‌زا ازجمله کاندیدا و درماتوفیت ها انجام شده است. در مطالعه‌ی حاضر عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان در غلظت‌های -2 256 mg/ml فاقد هر گونه اثر ضد قارچی علیه کاندیدا بوده و میزان رشد قارچ در این غلظت‌ها نسبت به کنترل مثبت افزایش یافته است. نتایج مطالعات انجام شده توسط Utsunomiya (۲۲) و اربابی (۲۳) با نتیجه‌ی مطالعه‌ی ما هم سو می‌باشد. Utsunomiya و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر ضد قارچی گلیسیریزین را بر روی قارچ *کاندیدا آلبیکنز* موردبررسی قرار دادند. آن‌ها موش‌های مبتلا به ضعف سیستم ایمنی و آلوده به قارچ را توسط گلیسیریزین موردبررسی قرار داده و مشاهده کردند میزان بقای موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل مثبت که با مایکونازول درمان شده بودند بیشتر است، همچنین اثر گلیسیریزین را بر محیط کشت بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس بررسی کرده و نتیجه گرفتند که در مقایسه با مایکونازول فاقد اثرات ضد قارچی می‌باشد. آن‌ها نشان دادند که گلایسیریزین

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

فاقد اثرات ضد قارچی است و از طریق القای تولید سایتوکاین توسط سلول‌های T، سبب بهبود میزان بقای موش‌های آلوده شده است (۲۲). در مطالعه‌ی اربابی و همکاران که در سال ۲۰۱۳ انجام شد از روش Disk Diffusion برای بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان بر روی *کاندیدا آلبیکنس* استفاده شد. در این مطالعه هاله‌ی عدم رشد اطراف شیرین‌بیان ناچیز و در حد صفر بود. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی ریشه‌ی شیرین‌بیان در محیط آزمایشگاه فاقد اثرات ضد قارچی است. (۲۳). بر خلاف مطالعات ذکر شده برخی مطالعات نتایج متناقضی را گزارش نموده‌اند ازجمله‌ی این مطالعات می‌توان به مطالعه‌ی Gauniyal و مقیمی پور و fatima، اشاره کرد که از عصاره الکلی شیرین‌بیان استفاده نموده بودند. (۱۱،۱۰ و ۱۷). مقیمی پور و همکاران در سال ۲۰۱۳ به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی الکلی ریشه‌ی شیرین‌بیان در غلظت‌های 2.5 mg/ml، 5mg/ml، 10 mg/ml، 20mg/ml دارای خاصیت ضد قارچی است و میزان اثر ضد قارچی عصاره با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد (۱۱). در مطالعه‌ی Fatima و همکاران که در سال ۲۰۰۹ انجام شد در روش دیسک دیفیوژن محدوده‌ی مهار رشد کاندیدا ۸-۲ میلی متر و در روش Broth dilutionگزارش شد. طبق این مطالعه عصاره‌ی الکلی ریشه‌ی شیرین‌بیان دارای اثر ضد قارچی علیه کاندیدا است (۱۷). همچنین Gauniyal و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر آنتی فونتال عصاره‌ی الکلی ریشه‌ی شیرین‌بیان را با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد، 17 mm تأکید کردند (۱۰). نتایج این ۳ مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر هم سو نمی‌باشد که شاید بتوان علل احتمال آن را اینگونه بیان کرد:

۱- نوع حلال‌های به کار برده شده در این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر متفاوت است. هر نوع حلالی قادر به استخراج انواع و درصد متفاوتی از ترکیبات موجود در گیاه می‌باشد. به همین دلیل خواص عصاره‌ها با حلال‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. همچنین در مطالعه‌ی Gauniyal (۱۰) از برگ گیاه شیرین‌بیان استفاده شده است در حالی که در مطالعه‌ی حاضر عصاره از ریشه‌ی گیاه تهیه شده است. طبق گزارشات مختلف بخش‌های مختلف گیاه و منطقه‌ای که گیاه از آن جمع‌آوری شده، می‌تواند موجب تفاوت در نتایج تحقیقات و میزان اثرات ضد میکروبی گیاه شود. در خصوص مصرف روزانه ساپونین‌ها، با این که مطالعات بسیاری اثرات مثبت ساپونین‌ها را در درمان سرطان‌ها، فرایندهای التهابی، تاثیرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها را تأیید می‌کنند، ولیکن همواره نگرانی در مورد مصرف زیاد ساپونین‌ها وجود داشته است. پتانسیل سمیت ساپونین کاملاً وابسته به دوز بوده و تنها غلظت‌های بسیار بالا از این ترکیبات می‌تواند اثرات سو بر سلامتی داشته باشد. (۱۲). در این راستا به نظر می‌رسد، ازآنجایی‌که این ترکیبات بخشی از منابع تغذیه‌ای ما را تشکیل می‌دهند و تاکنون گزارشی مبنی بر اثرات منفی وجود این ترکیبات در رژیم غذایی وجود نداشته است، می‌توان ایمن بودن آن‌ها را نتیجه گرفت و کاربرد این ترکیبات در غلظت‌های پایین نه‌تنها کاملاً ایمن است بلکه باعث بهره‌گیری از اثرات مفید آن‌ها می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان دارای اثر ضد باکتریایی علیه *استرپتوکوکوس موتانس* بوده ولی در غلظت‌های mg/ml 2-256 فاقد اثرات ضد قارچی علیه *کاندیدا آلبیکنز* است. اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ی آبی ریشه‌ی شیرین‌بیان علیه *استرپتوکوکوس موتانس* می‌تواند آن را کاندید مناسبی برای استفاده در خمیر دندان‌ها، دهان شویه ها و ژل‌ها برای جلوگیری از پوسیدگی دندان و کنترل عفونت‌های حفره دهانی قرار دهد. درنهایت باید این نکته را عنوان کرد که علی‌رغم اهمیت مطالعات آزمایشگاهی در ارزیابی عملکرد مواد ضدمیکروبی، تعمیم پذیری نتایج این مطالعات در محیط‌های بالینی و دهان بیماران با مشکلات متعددی روبرو می‌باشد، چرا که متغیرهای مداخله گر فراوانی در محیط دهان فرد وجود دارند که کنترل آن‌ها بسیار مشکل می‌باشد. لذا برای استفاده بالینی این مواد، ضرورت انجام تحقیقات بالینی برای تأیید نتایج حاصل از این مطالعه احساس می‌شود.

تشکر و قدردانی

از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی مرکز تحقیقاتی سلولی و مولکولی به‌ویژه آقای دکتر تقی ناصرپور رییس مرکز، آقای نادر خسروشاهی کارشناس مرکز و کارکنان آزمایشگاه میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین که در کلیه مراحل عملی این مطالعه نویسندگان را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع: نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

ملاحظات اخلاقی: کلیه اقدامات جهت رعایت اخلاق در تهیه و استفاده از اطلاعات مقالات دیگر جهت بکارگیری در پژوهش فعلی توسط نویسندگان اتخاذ گردید. این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی به شماره ۷۸۰ و کد اخلاق IR.QUMS.REC.1394.811 دانشگاه علوم پزشکی قزوین و پایان‌نامه دوره دکتری عمومی دندان پزشکی است.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

References:

1. Wu CD. Grape Products and Oral Health. J Nutr 2009; 139: 1818–23.
2. El-Adawi H. Inhibitory effect of grape seed extract (GSE) on cariogenic bacteria. JMPR 2012; 6(34): 4883-91.
3. Smullen J, Finney M, Storey DM, Foster HA. Prevention of artificial dental plaque formation in vitro by plant extracts. J Appl Microbiol 2012;113(4): 964–73.
4. Kshitiz P, Shipra Z, Rani S, Jayanti S. Anti-cariogenic effect of polyphenol plant products. IJRAP 2011; 2(3): 736-742.
5. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S,Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. J Dent 2014; 42: 1010-8.
6. Sendamangalam V, Choi OK, Kim D, Seo Y. The anti-biofouling effect of polyphenols against Streptococcus mutans. Biofouling 2010; 27(1): 13-9.
7. Han Y. Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to Candida albicans. Phytomedicine 2007; 14: 733–8.
8. Casaroto AR, Lara VS. Phytomedicines for Candida-associated denture stomatitis. Fitoterapia 2010; 81: 323–8.
9. Sedighinia F, Safipour Afshar A, Soleimanpour S, Zarif R, Asili J, Ghazvini K. Antibacterial activity of Glycyrrhiza glabra against oral pathogens: an in vitro study. Avicenna J Phytomed 2012;2(3): 118–24.
10. Gauniyal P, Singh Teotia UV. Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against oral flora. asian pac. Health sci.2014;1(3): 255-63.
11. Handali S, Moghimipour E, Sadaghi-Nejad B, Ameri A, Ramezani Z, Azemi ME. In vitro screening of anticandida activity of saponins extracted from Glycyrrhiza glabra and Quillaja saponaria. Asian Pharm Clin Res 2013;1(2): 160–2.
12. Sharma V, Agrawal RC. Glycyrrhiza glabra-a plant for the future. MJPMS 2013;15–20.
13. Lakshmi T, Geetha RV. Glycyrrhiza glabra Linn. commonly known as licorice: a therapeutic review. Int J Pharm Pharm Sci 2011;3(4): 20–25.
14. Scorzoni L, Benaducci T, Almeida A, Silva DHS, Bolzani V da S, Mendes-Giannini MJS. Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts Candida spp and Cryptococcus sp. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada 2007;28(1): 25–34.
15. Geetta RV , Roy A. Invitro Evaluation of Anti bacteril activity of Ethanolic root extract of Glycyrrhiza glabra on oral microbes. Int J Drug Dev Res 2012;4(4): 161-5.
16. Tille PM. Bailey & Scott,s Diagnostic Microbiology.14th ed. China: Elsevier; 2017. P. 177-204.
17. Fatima A, Gupta VK, Luqman S, Negi AS, Kumar JK, Shanker K, et al. Antifungal activity of Glycyrrhiza glabra extracts and its active constituent glabridin. Phytother Res 2009;23(8): 1190–3.
18. Nourazarian SM1, Nourazarian A, Majidinia M, Roshaniasl E. Effect of Root Extracts of Medicinal Herb Glycyrrhiza glabra on HSP90 Gene Expression and Apoptosis in the HT-29 Colon Cancer Cell Line. Asian Pac J Cancer Prev 2015;16(18): 8563-6.
19. Anagha K, Manasi D, Priya L, Meera M. Antimicrobial activity of Yashtimadhu (Glycyrrhiza glabra L.)-A Review. Int J Curr Microbiol App Sci 2014;3(1): 329–36.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

20. Anagha K, Manasi D, Lele Priya and Meera M. Antimicrobial activity of Yashtimadhu (Glycyrrhiza glabra L.). Int J Curr Microbiol App Sci 2014; 3(1): 329-36.
21. Linguaraj A, jagannanauar S, Battur H,shamara S ,siuakumar V ,up p.Effect of aqueous and alcoholic Licorice(Glycyrrhiza Glabra) Root Extract Against Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus in comparison to chlorhexidine: An In Vitro study.J Int Oral Health 2014; 6(4): 29-34.
22. Utsunomiya T, Kobayashi M, Ito M, Pollard RB, Suzuki F. Glycyrrhizin improves the resistance of MAIDS mice to opportunistic infection of Candida albicans through the modulation of MAIDS-associated type 2 T cell responses. Clin Immunol 2000;95(2): 145-55.
23. Arbabi-Kalat F, Porzamani M.Comparison theantifungal effect of licorice and nystatin, invitro study. J Dent TUMS 1392,26;71-4.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]

Original Article

EFFECT OF GLYCYRRHIZA GLABRA EXTRACT ON STREPTOCOCCUS MUTANS AND CANDIDA ALBICANS (IN VITRO STUDY)

Faezah Azmoudeh[1], Masoumeh Aslanimehr[2], Neda Lourizadeh[3]*

Received: 29 Apr, 2017; Accepted: 26 Jul, 2017

Abstract

Background & Aims: Oral infections and dental caries are still considered as serious public health problems especially in developing countries. It is reported that *Glycyrrhiza glabra (G.glabra)* extract contains phytomedicine with antibacterial and antifungal properties capable of suppressing oral pathogens associated with plaque forming, caries or fungal diseases. The aim of this study was the assessment of antimicrobial and antifungal activity of aqueous root extract *G. glabra* on *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) and *Candida albicans* (*C.albicans*).

***Materials & Methods*:** In this in-vitro experimental study, we evaluated antibacterial and antifungal activity of aqueous root extract of *G.glabra* (with 93H00l-322herbariyum code) against *S.mutans* ATCC 35668 and *C.albicans* ATCC 10231 in the range of 2 to 256 mg/ml by macro- broth dilution method, for determining minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC). All of assay was performed in triplicate and the mean of result used for data analysis by SPSS 20 software.

***Results*:** Minimal inhibitory Concentration (MIC) of aqueous root extract of *G.glabra* were 2 mg/ml for *Streptococcus mutans* and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) were 16 mg/ml. The aqueous root extract of *G glabra* not only had any antifungal activities against C. *albicans* in the range of 2-256 mg/ml but also the growth rate increased compared to control group.

***Conclusion*:** It was revealed that although aqueous root extract of *G.glabra* did not have antifungal effect against *C. albicans but* also had significant antibacterial activity against *S.mutans* as a major pathogen of oral hygiene and teeth caries.

***Keywords*:** *Glycirrihiza glabra*, Aqueous root extract, *Streptococcus mutans, Candida albicans,* Antimicrobial activity

***Address**:* Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
Tel: (+98) 2833336001-6
***Email**:* dr_aslanimehr@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2017: 28(6): 400 ISSN: 1027-3727

[1] *Assistant Professor of Oral Pathology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*
[2] *Assistant Professor of Clinical Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Dentist*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-09-21]