

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

مقایسه ی تأثیرات درمانی نانواسانس کندر با کرم تربینافین ۱٪ در درمان درماتوفیتوز تجربی خوکچه های هندی

ناشی از میکروسپوروم کنیس

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، بهادربردشیری^۱، شادی لوینه نسب^۲، آیدا شریفیان^۳، شقایق قناد^۳

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۲- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحدشوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۳- دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحدشوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

امروزه به دلیل خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و عوارض کمتر، اسانس های گیاهی کاربرد گسترده ای یافته اند. فناوری نانو با تبدیل این ترکیبات با ریزذرات، ویژگی های جدیدی به آنها می بخشد. در این مطالعه اثر بخشی نانواسانس گیاه کندر و کرم تربینافین ۱٪ در درمان درماتوفیتوز تجربی ناشی میکروسپوروم کنیس در خوکچه هندی با روش های *In vivo* و *In vitro* ارزیابی شد. برای یافتن حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از روش Broth Microdilution مطابق با پروتکل (CLSI) M38-A استفاده گردید و مقدار MIC نانواسانس کندر برابر ۲۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. در این مطالعه ۱۸ خوکچه هندی به شکل تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی تقسیم شدن و درمان از روز پنجم پس از آلودگی، هر ۱۲ ساعت یک بار تا ۴۰ روز ادامه یافت. سپس داده ها توسط آزمون Kruskal- Wallis Test و نرم افزار SPSS آنالیز شدند. تحلیل های آماری نشان داد که بین گروه های درمانی تربینافین و کنترل منفی در طول دوره درمان اختلاف معنا داری وجود داشت. در گروه نانواسانس، میزان آلودگی اولیه بالاتر از گروه تربینافین بود. مقایسه نانواسانس با کنترل منفی نیز به جز در روز ۴۰، اختلاف معنادار آماری را نشان داد ($p < 0.05$). همچنین بین گروه های نانواسانس و تربینافین در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلودگی تفاوت آماری قابل توجهی مشاهده شد. ($p < 0.05$). این نتایج موید اثر بخشی نانواسانس گیاه «کندر» در درمان درماتوفیتوز تجربی ناشی از میکروسپوروم کنیس بوده و حاکی از برتری آن نسبت به درمان موضعی با تربینافین است.

واژگان کلیدی: نانواسانس، کندر، تربینافین، درماتوفیتوز، میکروسپوروم کنیس

مقدمه

تشکیل می‌دهد. بیش از ۸۵ هزار گونه گیاهی به‌عنوان داروی تأییدشده وجود دارد و ۶۵ درصد از جمعیت جهان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، به دلیل ایمنی و بی‌خطر بودن، از این محصولات استفاده می‌کنند (ناودیبانسال و همکاران ۲۰۱۳).

کندر یک صمغ رزین طبیعی است که از درخت‌های جنس بوسولیا از خانواده بورسراسه به دست می‌آید. ترکیب‌های اصلی آن شامل روغن‌های فرار، صمغ و رزین می‌باشد. محتوای این ترکیب‌ها به گونه، فصل و زمان جمع‌آوری محصول بستگی دارد (جلیلی و همکاران، ۲۰۱۴). بوسولیک اسیدها ۳۰ درصد بخش اسیدی صمغ رزینی کندر را تشکیل می‌دهند و قسمت عمده اثرهای درمانی ثابت شده کندر به آنها نسبت داده می‌شود (فیکسن و همکاران، ۲۰۰۵). پوست درخت کندر و رزین مترشحه از آن دارای کاربردهای پزشکی می‌باشد و برای آسم، اسهال خونی، بواسیر، زخم معده و بیماری‌های پوستی مفید می‌باشند. همچنین دارای فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد درد مفاصل، خلط‌آور، ادرارآور، معرق، اشتها آور، ضدآرتروز و دارای خواص ضدسرطانی می‌باشند (سدیکوی، ۲۰۱۱).

یکی دیگر از داروهای مورد استفاده در درمان درماتوفیتوز، تربینافین داروی ضدقارچ از مشتقات صنعتی آل‌آمین‌ها می‌باشد. در مطالعات بسیاری اثربخشی تربینافین خوراکی و موضعی بر روی عفونت‌های قارچی تأیید شده است. از جمله در مطالعه بودی مولجا و همکاران (۲۰۰۱) مشخص گردید که تربینافین موضعی ۱٪ در درمان کچلی بدن و

امروزه نگهداری از سگ‌ها و گربه‌ها در بسیاری از کشورها از جمله ایران، رایج است. تنوع نژادی و اهداف مختلف نگهداری این حیوانات، موجب تعامل نزدیک آن‌ها با انسان شده است. در نتیجه، افراد در تماس با این حیوانات در معرض ابتلا به بیماری‌های مشترک میان انسان و حیوان قرار دارند (کونین و همکاران، ۱۹۹۴).

درماتوفیتوز یک بیماری قارچی پوست و مو با اهمیت زئونوتیک بالا است که حیوانات، به‌ویژه سگ و گربه، منبع اصلی آلودگی به رینگ ورم محسوب می‌شوند. این بیماری ظاهری ناخوشایند در مبتلایان ایجاد کرده و علائم بالینی آن ناشی از فرآورده‌های متابولیکی قارچ یا واکنش سیستم ایمنی بدن است. عامل بیماری، قارچ میکروسپوروم کنیس، انتشار جهانی داشته و عمدتاً سگ، گربه و انسان را درگیر می‌کند. این قارچ بسیار مسری بوده و به راحتی بین حیوانات و انسان منتقل می‌شود (مولر و همکاران، ۱۳۷۶ - شادزی، ۱۳۹۳ - ریبرگ، ۱۹۹۹).

درمان درماتوفیتوز شامل کنترل عوامل مستعدکننده و بیماری‌های زمینه‌ای، همراه با استفاده از داروهای موضعی، سیستمیک یا ترکیبی است. برای اثربخشی بیشتر، کوتاه کردن موهای ناحیه آلوده یا حتی کل بدن توصیه می‌شود (چرمت و همکاران، ۲۰۰۸؛ مانشیانتي و همکاران، ۱۹۹۸؛ بیرچارد و شیدینگ، ۲۰۰۶).

درمان با محصولات طبیعی و گیاهان دارویی نیز سابقه‌ای طولانی دارد و همچنان بخش مهمی از طب سنتی را

کشاله ران به طور قابل توجهی مؤثر است. در مطالعه دیگر نیز اثربخشی تربینافین موضعی در درمانیت سبورئیک بررسی شد و بهبودی ۶۱ درصد بعد از ۴ هفته گزارش گردید (فایرگمن و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین در مطالعه چوپرا و جین (۲۰۰۰) اثر تربینافین موضعی ۱٪ در تینه آ ورسیکالر بررسی شد. بهبود بالینی در گروه درمانی ۱۰۰ درصد بود و نتایج نهایی در انتهای درمان، بهبود قارچی و بالینی را ۹۶ درصد در گروه تربینافین نشان داد. لذا با توجه به شیوع بالای عفونت های درماتوفیتی در دهه های اخیر و هزینه هایی که دولت ها در سطح کلان برای درمان این عفونت ها باید پرداخت کنند، در پژوهش حاضر مقایسه‌ی تأثیرات درمانی نانو اسانس گیاه کندر با کرم تربینافین ۱٪ در درمان خوکچه های هندی مبتلا به درماتوفیتوز تجربی ناشی از میکروسپوروم کنیس مورد بررسی قرار میگیرد.

مواد و روش تحقیق:

پژوهش حاضر با توجه به هدف آن یک تحقیق کاربردی و بر حسب ابزار و نحوه گردآوری داده ها، یک تحقیق کمی آزمایشگاهی می باشد.

در این تحقیق برای گردآوری اطلاعات مربوط به ادبیات موضوع و پیشینه پژوهش از روش کتابخانه ای و جهت جمع آوری اطلاعات برای تأیید یا رد فرضیه های پژوهش از روش میدانی استفاده شد .

اطلاعات مورد نیاز در این پژوهش از طریق به کارگیری ابزارهایی چون مشاهده، مواد و تجهیزات آزمایشگاهی جمع آوری شد .

مواد آزمایشگاهی؛ اسانس کندر و روش های استخراج آن : تقطیر، SDE ، فشار و تیغ زدن ، استفاده از حلال ها ، تقطیر تجزیه ای ، استخراج اسانس های فرار به وسیله آنزیم های هیدرولیزکننده و استخراج اسانس با سیال فوق بحرانی .

تقطیر با آب : در روش تقطیر با آب نمونه خشک شده ی گیاه یا بذر ، برای افزایش سطح تماس با آب مقطر ، پیش از فرایند استخراج آسیاب می شود . سپس ، پودر حاصل در بالون ژوژه قرار گرفته و با آب مقطر تا دو سوم حجم آن پر می گردد تا از تاثیر ناخالصی ها بر اسانس جلوگیری شود. مجموعه ی تقطیر شامل بالون ژوژه، کلونجر، و مبرد بوده که برای افزایش کارایی، مبرد دو جداره با طراحی منحنی دار جهت تسریع در خنک سازی بخار آب تعبیه شده است. لوله ی کلونجر برای جلوگیری از هدر رفت حرارتی عایق بندی می شود و مسیر جریان آب خنک کننده در مبرد نیز تنظیم می گردد. فشار داخلی سیستم با یک لوله ی کوتاه تنظیم می شود .

در آغاز فرآیند، منبع حرارتی روشن شده و زمان های جوشیدن و خروج اولین قطره ی اسانس ثبت می گردد . اسانس معمولاً به دلیل چگالی کمتر، روی آب قرار می گیرد و در طی چهار ساعت تقطیر، بیشترین میزان آن در ساعت اول جمع آوری می شود. پس از پایان کار، اسانس

در ظرف مخصوص توزین شده و میزان آن با تفریق وزن ظرف خالی محاسبه می‌شود. برای حذف آب همراه اسانس، از سولفات سدیم استفاده شده که با جذب رطوبت به پودر سفیدرنگی در ته ظرف تبدیل می‌شود. در نهایت، بازده استخراج اسانس از نسبت وزن اسانس به وزن ماده‌ی خشک‌شده‌ی گیاه تعیین و اسانس در بطری‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود.

نانو ذرات و دارورسانی از طریق پوست : فناوری نانو در بهبود انتقال داروهای کم‌محلول و افزایش دسترسی زیستی آن‌ها نقش مهمی دارد. یکی از روش‌های مؤثر در این زمینه، استفاده از نانوذرات در دارورسانی پوستی است که به نفوذ ترکیبات به لایه‌های عمیق‌تر کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیباتی مانند بوسولیک اسیدها جذب روده‌ای پایینی دارند، اما فناوری نانو باعث بهبود انتقال آن‌ها شده است.

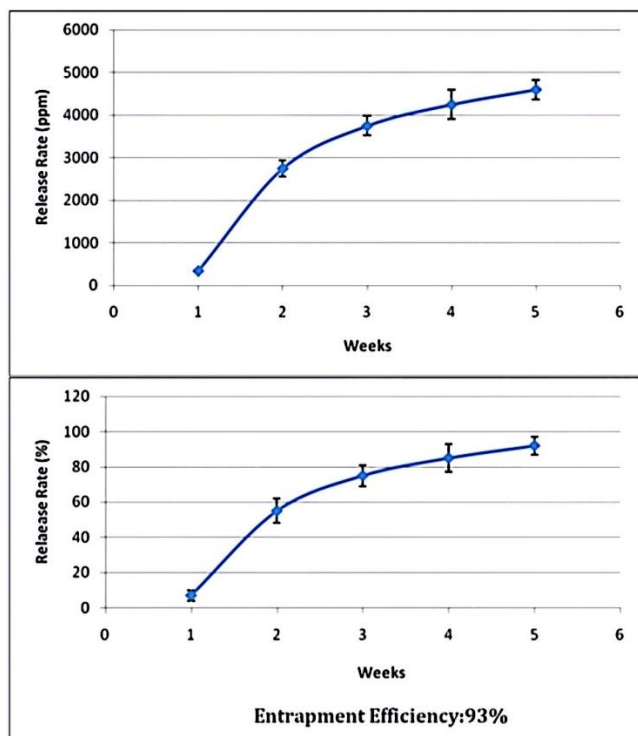
پوست به‌عنوان یک مسیر غیرتهاجمی، امکان استفاده موضعی از داروها را فراهم کرده و مزایایی مانند کاهش عوارض جانبی، ماندگاری طولانی‌تر دارو و کاهش دفعات مصرف دارد. با این حال، نفوذپذیری محدود پوست چالشی اساسی است که با استفاده از روش‌های مختلف، از جمله نانوذرات لیپیدی و پلیمری همراه با سورفاکتانت‌ها، بهینه‌سازی شده است. بعضی از این روش‌های مختلف شامل؛ فیزیکی، شیمیایی و سیستم‌های داروسازی نوین هستند.

کیتوسان: توسعه داروهای جدید فرآیندی پیچیده، زمان‌بر و پرهزینه است که اغلب با چالش‌هایی مانند تخریب دارو در بافت‌های طبیعی و بروز عوارض جانبی همراه است. برای رفع این مشکلات، سیستم‌های دارورسانی هدفمند توسعه یافته‌اند که دارو را مستقیماً به ناحیه موردنظر منتقل می‌کنند. این سیستم‌ها شامل عامل درمانی، جزء هدف‌دار و سیستم حامل هستند.

یکی از حامل‌های مهم در دارورسانی، کیتوسان است؛ یک پلیمر طبیعی مشتق‌شده از کیتین که در منابعی مانند میگو و قارچ یافت می‌شود. کیتوسان به دلیل انحلال‌پذیری مناسب و قابلیت اصلاح شیمیایی، در بهبود سیستم‌های دارورسانی نقش مهمی دارد. مشتقات مختلف آن، مانند کیتوسان گوگرددار، چسبندگی مخاطی و توانایی کپسوله‌سازی دارو را افزایش می‌دهند. در دهه‌های اخیر، تکنیک‌های مختلفی برای تولید نانوذرات کیتوسان جهت ارتقای اثربخشی دارورسانی توسعه یافته‌اند. امروزه چهار روش اصلی برای تولید کیتوسان وجود دارد: ۱. ژلاتیناسیون اینوتروپیک ۲. میکروامولسیون ۳. انتشار حلال امولسیون ۴. کمپلکس پلی الکترولیت.

تعیین MIC: آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که در دوزهای پایین باعث توقف رشد یا از بین بردن باکتری‌ها می‌شوند، اما بر ویروس‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها تأثیری ندارند. برای تعیین اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی میکروب‌های خاص، از تست آنتی‌بیوگرام استفاده می‌شود که به‌طور روتین در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی انجام می‌گیرد.

کربناته نگهداری شدند. اسانس آماده شده از کارخانه باریج اسانس کاشان، خریداری و برای تولید نانو دارو از همکاری شرکت زیست شیمی آزما رشد بهره گرفته شد. بعد از آماده سازی نانو دارو، عملیات FTIR، SEM و میزان رهایش نانواسانس در سطح In Vitro با استفاده از UV بر روی آن انجام و بدین ترتیب تولید دارو از اسانس مورد تأیید قرار گرفت. کرم تربینافین ۱٪ استفاده شده در تحقیق نیز از شرکت تهران شیمی می باشد .



نمودار ۱- میزان رهاکنش نانواسانس کندر در In vitro

در این مطالعه MIC (حداقل غلظت مهاری) برای نانواسانس گیاه کندر با استفاده از روش Broth Microdilution و بر اساس پروتکل CLSI M38-A تعیین شد. آزمایش در محیط کشت RPMI 1640 با pH تنظیم شده و فاقد بی کربنات سدیم انجام گردید

این تست بر اساس دو شاخص انجام می شود:

MIC (حداقل غلظت مهاری) : کمترین مقدار

آنتی بیوتیک که قادر به متوقف کردن رشد باکتری است.

MBC (حداقل غلظت کشنده) : کمترین مقدار

آنتی بیوتیک که می تواند باکتری را از بین ببرد.

برای انجام تست آنتی بیوگرام، از محیط کشت RPMI

1640 استفاده می شود که با تنظیم pH و فیلتراسیون

استریل شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا یک ماه

قابل نگهداری است.

روش و ابزار تجزیه و تحلیل اطلاعات: داده ها به روش

مشاهده ای فعال جمع آوری و در پرسشنامه ثبت گردید.

پس از وارد کردن داده ها به نرم افزار آماری SPSS ابتدا

اثر بخشی هریک از داروها با تعیین نسبت بهبودی در هر

گروه تیماری به دست آمد و سپس بر اساس آزمون مربع

کای و مقایسه بین گروه ها توسط آزمون student-T و در

صورت نیاز با استفاده از آزمون دقیق فیشر اقدام به تجزیه

و تحلیل داده ها شد و مقایسه نتایج بهبودی در گروه های

تیماری در سطح معنی داری ($P > 0.05$) انجام گرفت.

روش اجرای تحقیق: در این مطالعه تعداد ۱۸ عدد خوکچه

هندی نر با طیف وزنی یکسان (۳۵۰ تا ۴۵۰ گرم) به مدت

یک هفته برای آدپتاسیون در شرایط اوپتیمم (۱۲ ساعت

تاریکی در رطوبت $50 \pm 3\%$ و درجه حرارت $24 \pm 1^\circ C$) و با

جیره پایه، تغذیه و نگهداری شدند. سپس به شکل تصادفی

به ۳ گروه ۶ تایی شامل یک گروه درمان با کرم تربینافین

۱٪، یک گروه تیمار با نانواسانس گیاه کندر و یک گروه

کنترل منفی تقسیم و تا پایان مطالعه در قفس های پلی

مراحل آزمایش:

- تهیه سوسپانسیون قارچی از ایزوله استاندارد PTCC 5054 و ۴ ایزوله بیمارستانی.
 - کشت قارچ میکروسپوروم کنیس در محیط Potato Dextrose Agar در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز.
 - تنظیم غلظت قارچی برای انکوباسیون در حضور رقت‌های مختلف نانواسانس.
 - انکوباسیون محلول نهایی به مدت یک هفته در ۲۸ درجه سانتی‌گراد و بررسی رشد قارچ‌ها.
 - تعیین MIC که برابر 210 µg/ml ارزیابی شد.
- در بخش آزمایش روی حیوانات، محل تست در پشت بدن حیوانات تراشیده و خراش سطحی ایجاد شد. سپس، قارچ با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر در ناحیه قرار گرفت و با وازلین R به مدت ۲۴ ساعت پانسمان شد.
- مراحل درمان و ارزیابی:

- آغاز درمان: روز پنجم پس از مشاهده اولین علائم بیماری.

- نمونه‌برداری قارچی: در روز پنجم، تمام گروه‌ها (به جز گروه کنترل منفی) از نظر قارچ‌شناسی مثبت بودند.

روش درمان:

نانواسانس هر ۱۲ ساعت روی ناحیه آلوده و حاشیه سالم اطراف اسپری شد.

در گروه کنترل منفی، سالین (placebo) استفاده شد. کرم تربینافین ۱٪ روی ضایعه و ۲ سانتی‌متر حاشیه آن اعمال شد.

ارزیابی اثربخشی درمان:

کشت قارچی در مراحل پایانی برای تأیید درمان انجام شد.

تصویربرداری هفتگی برای بررسی روند بهبود و درجه‌بندی ضایعات با Clinical Lesion Scoring System طبق معیار زیر:

۰: بهبودی کامل، رشد کامل موها.

۱: پوست سالم، رشد نصفه‌ی موها، بدون شوره.

۲: رشد کم مو، کمی شوره.

۳: بدون قرمزی، مقداری شوره، رشد جزئی مو، نواحی کم‌موی کوچک.

۴: کمی قرمزی، بدون مو، شوره‌دار.

۵: ضایعات شدید، قرمزی، پوسته‌ریزی، زخم، بدون رشد مو.

تحلیل آماری:

آزمون آماری Kruskal-Wallis Test:

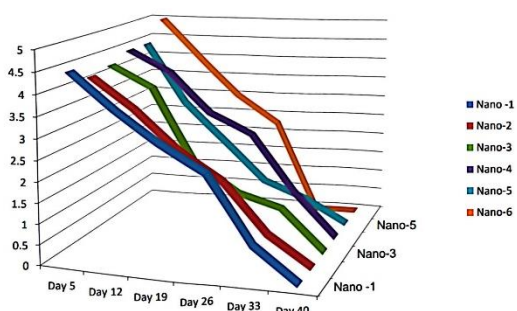
نرم‌افزار تحلیل SPSS: این نتایج کمک می‌کند تا تأثیر نانواسانس‌کننده در مقایسه با سایر روش‌های درمانی ارزیابی شود.

نتایج:

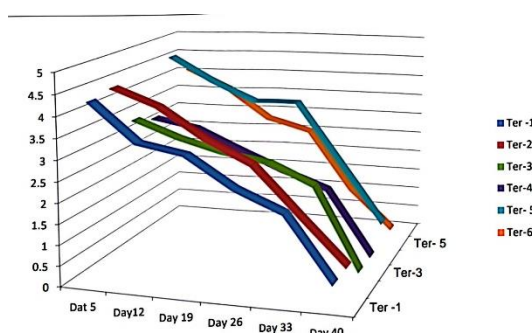
بررسی‌های مرفولوژیک که هر ۷ روز به وسیله تصویربرداری انجام گرفته است، این تغییرات را به خوبی نشان می‌دهند. در طول مدت درمان با تربینافین، ۱٪ غلظت نانواسانس‌کننده بهبودی قابل ملاحظه‌ای اتفاق افتاد.

جدول ۱ - مقایسه میانگین درجه ضایعه بالینی در طول مدت درمان

روز	گروه	تربینافین	نانواسانس ۲	کنترل منفی
۵	۴	۴/۵	۰	
۱۲	۳/۵	۳/۶۶	۰	
۱۹	۳	۲/۶	۰	
۲۶	۲/۶۲	۱/۹	۰	
۳۳	۱/۷	۰/۷	۰	
۴۰	۰/۷	۰	۰	



نمودار ۲- میزان درجه ضایعه بالینی گروه نانو اسانس



نمودار ۳- میزان درجه ضایعه بالینی در گروه تربینافین

ارزیابی نمونه برداری قارچی در روزهای ۳۳، ۴۰ و ۵۰ پس از آلوده سازی انجام شد که نشان دهنده وجود درماتوفیت در گروه های مختلف است. در روز ۳۳ نتایج منفی ارزیابی

مقایسه بین گروه های مختلف، هم به صورت متوسط SCORE و هم به صورت مجزا انجام گرفت. ضمن اینکه نمونه برداری قارچی هم بر تغییرات محسوس SCORE تأکید و بهبود را تأیید کرده است. بر اساس روش مطالعه، آغاز درمان دارویی روز پنجم بعد از عفونت می باشد. همچنین میانگین درجات ضایعه در روز آغازین در تمامی گروه ها به جز گروه کنترل منفی، تقریباً یکسان بوده است. روند منطقی کاهش میانگین درجه ضایعات در گروه های درمانی، طی مدت درمان ادامه یافت. میانگین درجات ضایعه در روز چهارم در گروه نانو و کنترل منفی، عدد صفر و گروه تربینافین به ترتیب گروه ۰/۷۰ ارزیابی شد.

در ارزیابی آماری بین گروه های درمانی تربینافین و کنترل منفی، وجود اختلاف آماری معنی دار در کل مدت درمان تأیید شد. بررسی آماری اعداد در گروه نانو اسانس نشان دهنده عدد ۴/۵ در هنگام آغاز مطالعه بود که بیشتر از میانگین گروه تربینافین در زمان مشابه است. بررسی های آماری بین گروه نانو و کنترل منفی، اختلاف آماری معنی داری را در همه روزها به جز روز ۴۰ نشان دادند ($p < 0.05$). در ادامه آنالیز بین گروه های نانو اسانس و تربینافین نتایج حاکی از وجود اختلاف آماری معنا دار در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلوده سازی بود ($p < 0.05$).

کشت قارچی در گروه های کنترل منفی و نانواسانس مشاهده شد. البته در زمان مشابه، دو نمونه از گروه های درمانی تربینافین از نظر مایکولوژیک مثبت بودند. بدیهی است که قطع درمان زمانی انجام گرفت که حداقل دو کشت قارچ متوالی در کلیه حیوانات موجود در گروه های درمانی منفی شد.

جدول : نتایج کشت قارچ در گروه های مختلف مورد مطالعه در سه دوره متوالی

روز گروه	۳۳	۴۰	۵۰
کنترل منفی	۰ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶
نانو اسانس ۲	۰ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶
تربینافین	۲ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶

بحث و نتیجه گیری

تا کنون داروهای مختلفی برای درمان درماتوفیتوز آزموده شده اند. از بین داروهای عمومی و موضعی آزموده شده، داروهای موضعی به علت جلوگیری از آلوده شدن محیط، اهمیت ویژه ای دارند و اساس درمان این بیماری به شمار میروند. داروی تربینافین نیز یکی از این داروها است که هم به صورت موضعی و هم به شکل قرص موجود است. اثرات این دارو علیه انواع عوامل درماتوفیتوز تایید شده است (میلر و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین گیاهان دارویی مختلفی برای بررسی اثر درمانی بر درماتوفیتوز مورد مطالعه قرار گرفته اند که یکی از آنها گیاه کندر است که در ایران

به وفور یافت میشود و بیشتر اثرات ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. محمدی و همکاران در سال ۱۳۸۵ فعالیت ضد قارچی اسانس کندر (*serrata Boswelli*) بر علیه ایزوله های بالینی مقاوم و حساس کاندیدا آلبیکنس به فلوکونازول را بررسی کردند که نتیجه آن با توجه به این که اسانس کندر بر روی همه ایزوله های به کار رفته در این تحقیق اثر مهاری داشته، میتوان آن را اسانسی مؤثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی معرفی و بررسی های بالینی اثرات ضد قارچی آن را توصیه نمود. تا کنون هیچگونه مطالعه مدونی برای بررسی نحوه تأثیر نانواسانس کندر بر روی مدل حیوانی انجام نگرفته است. لذا تحقیق حاضر برای مقایسه اثرات نانواسانس گیاه کندر با کرم تربینافین ۱٪ بر روی خوکچه هندی انجام گرفته است. در مرحله اول، با روش *In vitro*، متوسط غلظت مهارکننده یا MIC دارو مشخص گردید که در این مطالعه مقدار MIC به دست آمده نانواسانس کندر ۲۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

سپس همان طوری که در مطالعات قبلی انجام شده است (شیمامورا و همکاران، ۲۰۱۲)، مدل *In vivo*، ایجاد گردید. ۵ روز پس از آلودگی علائم بیماری ظاهر و درمان آغاز شد و تا روز ۴۰ ادامه یافت. روند کاهشی تغییرات *average score lesion Clinical*، به طور منطقی در تمامی گروه درمانی رخ داده است. اما در مورد گروه نانواسانس به ویژه بین روزهای ۱۲ تا ۳۳ در محدوده *Score*، روند کاهشی کمتری نسبت به گروه درمانی با تربینافین مشاهده شد. به طوری که اختلاف میانگین در

گروه نانواسانس (غلظت MIC) در روزهای ۱۲ تا ۳۳ عدد ۶۸/۵ درصد را نشان داد، اما در گروه درمانی تربینافین معادل ۴۹/۲ درصد بود. به علاوه، پس از روز ۱۲ میزان کاهش Score در گروه نانواسانس شیب تندی گرفت و تا روز ۴۰ تفاوت محسوسی با گروه درمانی تربینافین داشت که بر اساس تحلیل آماری، گروه نانواسانس و گروه درمانی تربینافین در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ واجد اختلاف آماری معنی دار بودند ($p < 0.05$).

به نظر میرسد که اختلاف کم بین میانگین Score در گروه نانواسانس و تربینافین تا روز ۱۲ پس از آلوده سازی، حاصل نزدیکی مقادیر Score آنها در نقطه آغازین است. اما آن چه که موجب برتری گروه درمانی نانواسانس نسبت به گروه درمانی تربینافین شده است، روند بهبودی پس از روز ۱۲ میباشد. زیرا میانگین Score پس از روز ۱۲ در گروه نانواسانس کاهش چشمگیری دارد و تا روز ۴۰ پس از آلوده سازی متوسط Score کمتر از گروه درمانی تربینافین بوده است. بنابراین میتوان بر نتایج حاصل در این تحقیق تأکید داشت و در نتیجه عنوان کرد که اثر درمانی داروی نانواسانس کندر نه تنها با کرم تربیتافین برابری میکند، بلکه در مواردی (که بحث شد) بهتر از آن نیز عمل مینماید. با توجه به این که داروی مذکور عارضه جانبی ندارد و کاربرد و تهیه آن نیز آسان و بسیار مقرون به صرفه است، به راحتی میتوان آن را در درمان بیماری درماتوفیتوز به کار برد. آشکار است که استفاده از نانو اسانس گیاه کندر برای درمان این نوع بیماری در انسان، نیازمند تکمیل تحقیقات بر روی مدل های حیوانی است.

امروزه پیشرفت های چشمگیری در زمینه یافتن روش های درمانی و داروهای ارزان تر و مطمئن تر انجام میگردد. به علاوه، به روز شدن این روش ها سبب افزایش تأثیر و سرعت بهبودی و متعاقباً رضایت دامپزشک و صاحب دام، کاهش هزینه های تولید دارو و خودکفایی در صنعت تولید دارو شده است.

نتیجه نهایی:

در تحقیق پیش رو، سعی بر این بود که با استفاده از نانو دارو به اهداف فوق الذکر در درمان درماتوفیتوز دست پیدا کنیم. با اینکه در مطالعات گذشته اثر ضد قارچی گیاه کندر به اثبات رسیده بود، اما تحقیق جامعی برای اثبات اثر نانواسانس این گیاه انجام نگرفته بود. الزام به یادآوری است که تولید و یا واردات داروی تربینافین هزینه زیادی دارد، به طوری که هر تیوپ از کرم تربینافین ۱٪ در بازار آزاد و بدون احتساب یارانه، ۳۰ تا ۱۱۸ دلار است، در حالی که کل نانواسانس استفاده شده در این تحقیق هزینه ای کمتر از ۵۰۰۰۰ ریال (با احتساب تمامی هزینه ها) در شرایط آزمایشگاهی دارد. به عبارت دیگر هزینه این دارو ۲۰ تا ۸۰ برابر کمتر از تربینافین است. مورد دیگر، نوع روند بهبودی مدل ها در گروه های تیماری با نانو اسانس کندر است. در گروه های تیماری با نانواسانس کندر تموج چندانی در شکل ضایعات، همان طوری که در گروه تیماری تربینافین وجود دارد، دیده نشد. این تغییر شدید در شکل ضایعات، علاوه بر اینکه یک چالش درمانی (تغییر شکل ظاهری و شکایات صاحب دام) محسوب

می‌شود، همچنین ممکن است خطر انتشار آلودگی را بالا
ببرد. مشکل مقاومت دارویی در مورد گیاه کندر هنوز
مطرح نیست، هرچند تحقیقات بیشتری برای اثبات این
ادعا باید انجام گیرد. عوارض جانبی تربینافین موضعی در
انسان قبلاً مشخص شده است که شامل قرمزی و تاول
می‌باشد (رسولی، ۱۳۹۰)، اما تا کنون عارضه جانبی
خاصی در حیوانات گزارش نشده است.

منابع:

۱. آیت اللهی موسوی، س.ا. رضایی فر، ر.، زارع شاهی، ر. (۱۳۸۵). بررسی اثرات ضد درماتوفیتی بر روی خوکچه هندی. مجله ی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.
۲. اسفندیاری، ع. (۱۳۶۴). قارچ شناسی پزشکی و روش های تشخیص آزمایشگاهی. تهران: انتشارات دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی
۳. بهنام رسولی، م.، حسین زاده، ح.، غفاری مقدم، غ. (۱۳۸۰). عصاره کندر و تقویت حافظه بررسی اثرات مصرف عصاره آبی کندر در طی دوران حاملگی و شیر دادن به نوزادان بر روند یادگیری و تقویت حافظه زاده ها در رت. (نشریه علوم) دانشگاه خوارزمی
۴. پیرنیا، م.، طباطبائی یزدی، ف.، مرتضوی، ع.، محبی، م. (۱۳۹۹) مقایسه و بررسی ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس زوفا (*carteri Boswellia*) و اسانس کندر (*officinalis Hyssopus*) علیه تعدادی از میکروارگانیزم های شاخص عفونت و مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی. انجمن علوم و صنایع غذایی ایران
۵. حسینی پناه، م. و مشتاقیان، ج. (۱۳۹۷) بررسی اثر مخلوط اسطوخودوس و کندر و عسل بر تقویت حافظه موش سوری نر. همایش ملی فرآورده های زنبور عسل از منظر زیست شناسی، سلامت و اقتصاد، اصفهان
۶. حسینی شریف آباد، محمد.، اسفندیاری، ابراهیم (۱۳۹۰). اثر تجویز صمغ گیاه کندر (*Planch & Triana serrata* *Boswellia*) در دوره شیردهی بر مورفولوژی نوروں های هیپوکامپی موالید موش صحرایی
۷. رستمی مقدم اردبیل، م.، دیدهور، ر.، نسیمی، (۱۳۸۹). مقایسه اثر تربینافین و کتوکونازول موضعی در درمان تینه آ ورسیکالر. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان
۸. رسولی، م. (۱۳۹۰). داروهای ژنریک ایران. تهران: اندیشه رفیع
۹. زلفخانی، ز.، رهنما، م. (۱۳۹۵). بررسی اثر عصاره آبی کندر بر حجم آسیب بافتی و نقص های نورولوژیک در مدل سگته مغزی موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،
۱۰. زینی، ف.، سیدعلی مهبد، ا.، امامی، م. (۱۳۷۷). قارچ شناسی پزشکی جامع. تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

2. Ahmadpour, F., Namjoyan, F., Azemi, M., Khodayar, M., Padok, A.D., Panahi, M. (2012). Antioxidant capacity and antidiabetic effect of *Boswellia serrata* aqueous extract in female diabetic rats and the possible histological changes in the liver and kidney. *Res Pharm Sci*
3. Ainsworth, P.K.C. and Austwick, G.C. (1959). *Fungal Diseases of Animals*
3. Ainsworth, P.K.C. and Austwick, G.C. (1959). *Fungal Diseases of Animals (Review)*. England: Commonwealth Agricultural Bureaux, 148 pages
4. Alam, M., Khan, H., Samiullah, L., Siddique, K. (2012). A review on Phytochemical and Pharmacological studies of Kundur (*Boswellia serrata* Roxb ex Colebr.)-A Unani drug. *J Appl Pharm Sci*
5. Al-Harrasi, A., Al-Saidi, S. (2008). Phytochemical analysis of the essential oil from botanically certified oleogum resin of *Boswelliasacra* (Omani Luban).
6. Al-Yasiry, A.R.M., Kiczorowska, B. (2016). Frankincense-therapeutic properties. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/ Postepy Hig Med Dosw*, 70.
7. Ammon H. (2006). Boswellic acids in chronic inflammatory diseases. *Planta Med*
8. Ammon, H. (2016). Boswellic acids and their role in chronic inflammatory diseases. *Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*
9. Başer, K.H.C., Demirci, B., Dagne, E., Dekebo, A. (2003). Essential oils of some *Boswellia* spp., myrrh and opopanax. *Flavour Fragr J*; 18(2): 153-156.
10. Benita, S. (2006). *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*. 2nd Edition. USA: CRC Press.
11. Bennett, M.L., Fleischer, A.B., Loveless J.W., Feldman, S.R. (2000) Oral griseofulvin remains the treatment of choice for tinea capitis in children. *Pediatr Dermatol*
12. Birkner, K.M. (2006). *Boswellia, the Pain Herb*. Pain and Stress Publications, 1(1):60-1.
13. Bone, K. (2011). *Boswellia and brain inflammation*. MediHerb, e-Monitor, 39.
14. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223–253.
15. Budimulja, U., Bramono, K., Urip, K.S., Basuki, S., Widodo, G., Rapatz, G. and et al. (2001). Once daily treatment with terbinafine 1% cream (Lamisil) for one week is effective in the treatment of tinea corporis and cruris. A placebo-controlled study, *Mycoses*, 44(7-8): 300-6.

16. Cevc, G., Vierl, U. (2010). Nanotechnology and the Transdermal Route, A State of the Art Review and Critical Appraisal. *Journal of Controlled Release*, 141: 277-299
17. Chopra, V., Jain, V.K. (2000). Comparative study of topical terbinafine and topical ketoconazole in pityriasis versicolor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 66(6): 299-300.
18. Dashti, G., Esfandiari, E., Nematbagksh, M., Sanei, M., Afsharipoor, S., Farzan, A. and et al. (2004). The effect of frankincense extract on accumulation of fatty streaks in coronary arteries of high-cholesterol fed male rabbits. *Armaghane danesh*, 8(4): 9-17.
19. Du, Z., Liu, Z., Ning, Z., Liu, Y., Song, Z., Wang, C. and et al. (2015). Prospects of boswellic acids as potential pharmaceuticals . *Planta Medica*, 81(04): 259-71.
20. Evans, W. (2009). *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 16th Edition, London: Saunders Ltd
21. Faergemann, J. (2001). Treatment of seborrhoeic dermatitis with oral terbinafine? *Lancet*, 358:170.
22. Faergemann, J., Jones, T.C., Hettler, O. (1996). *Pityrosporum ovale* as the causative agent of seborrheic dermatitis: new treatment option. *British Journal of Dermatology*,
23. Fixsen, D., Naom, S., Blase, K., Friedman, R., Wallace, F. (2005). *Implementation Research: A Synthesis of the Literature*. Tamps, FL: University of South Florida, Louis de la Parte Florida Mental Health Institute, National Implementation Research Network.
24. Fisher, F. and Cook, N.B. (1998). *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. W.B.Saunders, 372 pp
25. Friedlander, S.F. (1999). The evolving role of itraconazole, fluconazole and terbinafine in the treatment of tinea capitis. *Pediatr Infect Dis J*, 18(2): 205-10.
26. Ghannoum, M., Isham, N., Hajjeh, R., Cano, M., Al-Hasawi, F., Yearick, D. and et al.(2003). Tinea capitis in Cleveland:survey of elementary school students. *J Am Acad*

Comparison of the Therapeutic Effects of Nano-Essence of Boswellia with the Cream of Terbinafine %1 in Guinea Pig Experimentally Infected by *Microsporium Canis*

Morteza Razaghimanesh^{1*}, Bahador Bardshiri¹, Shadi Loovineh Nasab², Aida SHarifiyan³,
Shaghayegh Ganad³

- 1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Khuzestan, Iran
- 2- Graduate of Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Shushtar Branch, Iran
- 3- Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University Shushtar Branch, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Nowadays, due to their antimicrobial and antioxidant properties and lower side effects, plant essential oils have gained widespread application. Nanotechnology, by converting these compounds into nanoparticles, imparts new characteristics to them. This study evaluated the efficacy of a frankincense nanoemulsion and 1% terbinafine cream in treating experimental dermatophytosis caused by *Microsporium canis* in guinea pigs through in vitro and in vivo methods.

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the Broth Microdilution method following the CLSI M38-A protocol, and the MIC of the frankincense nanoemulsion was found to be 210 µg/mL. Eighteen guinea pigs were randomly divided into three groups of six, and treatment began five days post-infection, administered every 12 hours for 40 days. Data analysis was performed using the Kruskal-Wallis test and SPSS software.

Statistical analysis revealed significant differences between the terbinafine and negative control groups throughout the treatment period. Initially, the infection level in the nanoemulsion group was higher than in the terbinafine group. Comparison between the nanoemulsion and negative control groups demonstrated significant differences on all days except day 40 ($p < 0.05$). Additionally, significant differences between the nanoemulsion and terbinafine groups were observed on days 19, 26, 33, and 40 post-infection ($p < 0.05$).

These results confirm the antifungal efficacy of frankincense nanoemulsion against *Microsporium canis* and suggest its superiority over topical terbinafine treatment.

Keywords: Nano Essence, Boswellia, Terbinafine, Dermatophytosis, *Microsporom Canis*