

مقایسه‌ی اثرات درمانی نانو اسانس گیاه درمنه با کرم تربینافین ۱٪ در درمان خوکچه‌های هندی مبتلا به درماتوفیتوز ناشی از تریکوفیتون منتاگروفیتس

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، سیامک مشهدی رفیعی^۲، فرنوش ارفعی^۲، عرفان جاویدی^۳، حمید رضا شعبانی^۳، آوا ابریشم کار^۴

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

۲- گروه دامپزشکی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۴- دانشجوی علوم زیست شناسی جانور ی دانشگاه گوئلف، انتاریو، کانادا

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

تبدیل داروها به ریزذرات نانو خصوصیات جدیدی به داروها می‌بخشد. در این مطالعه نانواسانس گیاه درمنه برای درمان درماتوفیتوز تجربی ناشی از تریکوفیتون منتاگروفیتس در خوکچه هندی استفاده شده است. برای بررسی اثرات ضد قارچی، از روشهای *In vivo* و *In vitro* استفاده شده است. برای یافتن حداقل غلظت مهارکنندگی قارچی *Microdilution broth* و پروتوکل *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M38-A* استفاده گردید که در این مطالعه مقادیر MIC برای نانواسانس $0.5 \mu\text{g/ml}$ تعیین گردید. تعداد ۲۴ عدد خوکچه به شکل تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. درمان ۵ روز پس از آلوده‌سازی، هر ۱۲ ساعت یکبار تا ۴۰ روز پس از آلودگی ادامه یافت. هر دو گروه درمانی با نانواسانس، کرم تربینافین در روز ۴۰ بهبودی کامل داشتند این مطالعه نشان می‌دهد که نانواسانس گیاه "درمنه" برای درمان درماتوفیتوز ناشی از تریکوفیتون منتاگروفیتس مناسب است و حتی از نظر تاثیر درمان، نسبت به تربینافین موضعی برتری دارد.

واژگان کلیدی: نانواسانس درمنه، تربینافین، تریکوفیتون منتاگروفیتس، خوکچه هندی

مقدمه

در حیوانات به خصوص سگ و گربه، بیماری های پوستی اهمیت ویژه ای دارند و می توانند به دلیل عوامل عفونی مانند: علل انگلی، باکتریایی، قارچی و ویروسی یا عواملی مانند آلرژی، بیماری های سیستم ایمنی، عوامل تغذیه ای، اختلالات هورمونی و بعضی از سرطان ها ایجاد شوند. از میان این عوامل، قارچ ها به علت شیوع نسبتاً زیاد و قابلیت انتقال به انسان از اهمیت ویژه ای برخوردار دارند (۱۰، ۶). درماتوفیت ها گروهی از پاتوژن های بیماری زا هستند که تمایل به بافت های کراتینی مانند لایه شاخی پوست، مو و ناخن دارند که شامل سه جنس: میکروسپوروم، تریکوفیتون و اپیدرموفیتون هستند، که در انسان و حیوان بیماری ایجاد می کنند، بطوری که درماتوفیتوز گربه متداول ترین بیماری عفونی پوست در گربه ها است. از نظر علائم بالینی در حیوانات تنوع زیادی وجود دارد، بطوری که بیماری می تواند از یک شکنندگی جزئی موها همراه با scaling (تجمع سلول های اپیدرمال سطحی مرده) تا ضایعات کلاسیک بیماری که به صورت آلوپسی های گرد، فوکال، مولتی فوکال تا منتشر متفاوت باشد. بالطبع بیماری در حیوانات دچار ضعف ایمنی خصوصاً حیوانات دچار بیماری های سیستمیک و تضعیف کننده سیستم ایمنی با شدت بیشتری ایجاد می گردد و شکل منتشر می یابد. برای درمان این بیماری در حال حاضر علاوه بر کنترل بیماری های زمینه ای و شرایط مستعد کننده از داروهای مختلفی به شکل موضعی، غوطه - وری و عمومی استفاده می شود (۸). در ایران بر اساس

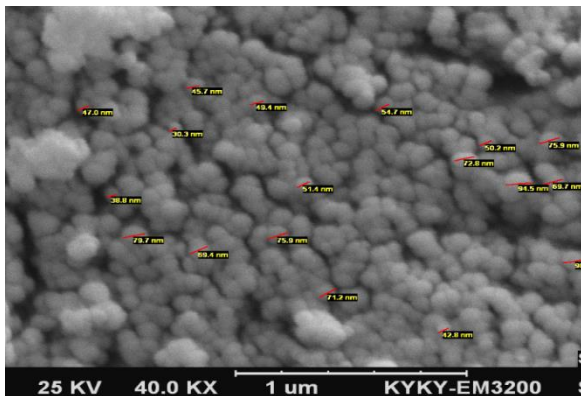
مطالعه ای که در طب پزشکی که بر روی انسان های مبتلا به درماتوفیتوز صورت پذیرفت، مشخص گردید عامل بیماری زای تریکوفیتون منتاگروفیتس علت بروز بیماری در ۴۵/۷٪ از مبتلایان می باشد (۱۸). همچنین در مطالعاتی که در کشورهای لهستان، سوئیس، یونان و ایتالیا بر روی انسان های مبتلا به درماتوفیتوز انجام پذیرفت عامل تریکوفیتون منتاگروفیتس یکی از مهمترین عوامل کچلی در انسان ها گزارش شده است (۱۶، ۱۷).

در حیواناتی که سیستم ایمنی طبیعی دارند، معمولاً عفونت درماتوفیتی خود محدود شونده است، ولی این بدان معنی نیست که درمان در این بیماران لازم به نظر نرسد، بلکه اکثر منابع بدلیل تسریع در برطرف شدن عفونت، به حداقل رسیدن دوره بیماری و از همه مهمتر کاهش توانایی انتقال بیماری به انسان و دیگر حیوانات درمان را توصیه کرده اند. توجه به دوره بسیار طولانی درمان و عوارض جانبی داروهای شیمیایی از جمله: سرکوب کنندگی مغز استخوان، لکوپنی، تراتوژن بودن، علائم نورولوژیک، اسهال و استفراغ، سمیت کبدی، هزینه های نسبتاً بالای برخی از آن ها و مقاومتی که گونه های مختلف درماتوفیت ها در مقابل این داروها از خود نشان داده اند (۷). باعث می گردد که انجام یک مطالعه در جهت شناسایی مؤثرترین غلظت نانو اسانس گیاه "درمنه" و مقایسه اثرات درمانی آن با کرم تربینافین ۱٪ در

خوکچه‌های هندی آلوده شده به تریکوفیتون منتاگروفتیس
ضروری بنظر می‌رسد.

روش کار

در این مطالعه تعداد ۲۴ 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 $3 \pm 5\%$ و درجه حرارت $24 \pm 1^\circ C$) و با جیره پایه تغذیه و نگهداری شدند. سپس به شکل تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی شامل یک گروه درمان با کرم تربیتافین ۱٪، دو گروه تیمار با غلظت های متفاوت نانواسانس گیاه درمنه، و یک گروه کنترل منفی تقسیم و تا پایان مطالعه در قفس‌های پلی‌کربناته نگهداری شدند. اسانس آماده شده در کارخانه باریج اسانس کاشان، خریداری و برای تولید نانو دارو از همکاری شرکت زیست شیمی آزما رشد بهره گرفته شد. بعد از آماده سازی نانودارو، عملیات Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)، screening electron microscopy (SEM) و میزان رهایش نانو اسانس در سطح In Vitro با استفاده از uv بر روی آن انجام و بدین ترتیب تولید دارو از اسانس مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱). کرم تربیتافین ۱٪ استفاده شده در تحقیق نیز ساخت شرکت تهران شیمی می‌باشد.



شکل ۱- تصویر SEM از کیتوسان بارگذاری شده

برای تهیه minimum inhibitory concentration (MIC) از ایزوله استاندارد PTCC:5054 و ۴ ایزوله جداشده از بیماران، و برای آلوده سازی از ایزوله استاندارد استفاده شده است. روش بکار برده شده برای تهیه MIC روش Microdilution Broth و پروتوکل Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M38-A است. بر طبق این روش رقت‌های سریالی از نانو اسانس گیاه درمنه تهیه شد. آزمایش مورد نظر در محیط کشت RPMI 1640 حاوی L-Glutamine فاقد بی‌کربنات سدیم که در pH 7 با غلظت ۰/۱۶۵ مولار morpholine propane sulfonic acid

۱۰۶ عدد اسپور قارچی در هر میلی‌لیتر در ناحیه خراش داده شده قرار داده و توسط وازلین® به مدت ۲۴ ساعت پانسمان شد. برای بدست آوردن غلظت فوق، ابتدا سوش استاندارد را در محیط potato dextrose agar کشت داده و پس از مدت ۱۰ روز یک سوسپانسیون از ذرات قارچی در محلول سرم فیزیولوژیک استریل تهیه شد. سپس با لام نئوبار تعداد عناصر مذکور در هر میلی‌لیتر محاسبه گردید و غلظت طوری تنظیم شد که در هر میلی‌لیتر ۱۰۶ عدد ذره قارچی وجود داشته باشد (۱۵).



شکل ۲: تخریش و آماده سازی پوست

در روز پنجم اولین علائم بیماری تظاهر پیدا کرد و براساس پروتکل این نوع تحقیقات، این روز به عنوان روز آغازین درمان در نظر گرفته شد (شکل ۳). ضمن اینکه در این روز نمونه برداری قارچی انجام پذیرفته و تمامی گروه‌ها به غیر از کنترل منفی از نظر قارچ‌شناسی مثبت بودند. درمان هر ۱۲ ساعت یکبار تا بهبودی بالینی و نتیجه قارچ‌شناسی ادامه پیدا

بافری شده است، انجام شد. از سوش استاندارد که در محیط کشت potato dextrose agar به مدت ۱۰ روز در ۲۸°C آماده شده بود، سوسپانسیونی، با خراش دادن سطح کلنی در سرم فیزیولوژیک استریل تهیه گردید. سپس با استفاده از لام نئوبار زیر میکروسکوپ شمارش و غلظت آن طوری تنظیم گردید که پس از افزودن مقدار ثابتی از سوسپانسیون به چاهک های حاوی محیط کشت و رقت نانواسانس تعداد سلولهای قارچی تریکوفیتون منتاگروفیتس برابر با ۱۰^۴ cfu/ml بدست آمد. پس از افزودن سوسپانسیون به محیط کشت و رقت‌های نانواسانس، محلول نهایی به مدت ۱ هفته در دمای ۲۸°C انکوبه گردید.

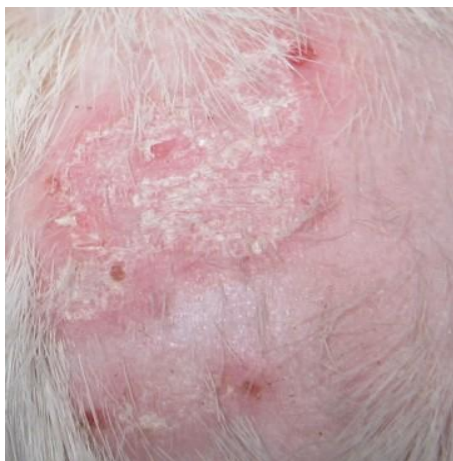
در طی زمان انکوباسیون، از نظر رشد عناصر قارچی، هم به صورت بررسی دقیق چشمی و هم subculture در محیط کشت potato dextrose agar بررسی انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده، MIC نانو اسانس درمانه ۰/۵µg/ml ارزیابی شد. رقت‌های نانواسانس به کار رفته در این تحقیق به ترتیب مقادیر ۰/۵µg/ml، ۱/۰µg/ml می‌باشد که به ترتیب نانواسانس گروه ۱، نانو گروه ۲ نام گذاری شده است. برای تهیه رقت‌های مختلف از نانواسانس از آب مقطر و آب قابل شرب دکلره می-توان استفاده کرد. در قسمت پستی هر یک از حیوانات در بین دو کتف آن‌ها ناحیه‌ای به اندازه ۲ سانتی‌مترمربع تراشیده شده و بوسیله یک تیغ اسکالپل استریل، خراشیدگی‌های اندکی (بدون ایجاد زخم) بوجود آمد (شکل ۲). سپس همانطوری که در مطالعات قبلی نیز به آن‌ها اشاره شده است،

۲≠ موها کمی رشد کرده اند، همراه با مقدار کمی شوره.

۳≠ پوست بدون قرمزی، مقداری کمی شوره، موها شروع به رشد کرده اند، تعداد کمی تیکه های کچلی.

۴≠ پوست کمی قرمز، بدون مو، شوره دار.

۵≠ ضایعات پوستی شدید، قرمزی، کراست، زخم و بدون رشد مو(۹). سپس نتایج حاصل از تحقیق توسط آزمون Kruskal-Wallis Test (نرم افزار SPSS) آنالیز شده‌اند.



شکل ۳: شروع آلودگی (روز پنجم پس از آلوده سازی)

کرد. در طول مدت درمان، غلظت‌های مختلف نانو اسانس توسط آب‌پاش طوری در موضع اسپری می‌شد که علاوه بر سطح آلوده، یک حاشیه چند سانتی‌متری نیز از موهای سالم اطراف خیس شوند. در گروه‌های کنترل منفی نیز از سالین به عنوان placebo استفاده شد. کرم تربینافین به شکلی روی ضایعه قرار داده می‌شد که علاوه بر ایجاد یک لایه کامل و نازک، ۲ سانتی‌متر از حاشیه ضایعه را نیز پوشش دهد.

در مراحل پایانی مطالعه به منظور تایید تاثیر درمان، کشت قارچی انجام پذیرفت. در طول مدت درمان، هر ۷ روز یکبار، تصویر برداری انجام گرفته و هر یک از تصاویر توسط clinical lesion scoring system درجه بندی شد. این سیستم درجه بندی به شرح زیر است :

۰≠ ناحیه مورد مطالعه بدون علائم عفونت و موها بطور کامل رشد کرده اند.

۱≠ ناحیه مورد مطالعه دارای پوست سالم، موها تا نصف ارتفاع رشد کرده و بدون شوره.

نتایج

و هم به صورت مجزا انجام گرفته است که در نمودار آمده است. 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 است. همچنین میانگین درجات ضایعه در روز آغازین در

بررسی‌های مرفولوژیک که هر ۷ روز بوسیله تصویربرداری انجام گرفته است، این تغییرات را به خوبی نشان می‌دهند. در طول مدت درمان با تربینافین ۱٪، غلظت‌های مختلف نانواسانس درمان بهیودی قابل ملاحظه‌ای اتفاق افتاده است. مقایسه بین گروه‌های مختلف، هم به صورت متوسط score

تمامی گروه‌ها به جز گروه کنترل منفی تقریباً یکسان بوده است. روند منطقی کاهش میانگین درجه‌ی ضایعات در گروه‌های درمانی، طی مدت درمان ادامه یافت. میانگین درجات ضایعه در روز چهارم در گروه‌های نانو ۱، نانو ۲ و کنترل منفی عدد صفر و گروه تربیتافین به ترتیب گروه ۰/۱۶، ۰/۴۱ و ۰/۷۵ ارزیابی شد (جدول ۱).

در ارزیابی آماری بین گروه‌های درمانی تربیتافین و کنترل منفی وجود اختلاف آماری معنی‌دار (نمودار) در کل مدت درمان تأیید شد ($p<0.05$). در ادامه ی این بررسی‌ها، میانگین Score گروه درمانی نانواسانس ۱ معادل رقم ۴/۲ در هنگام آغاز مطالعه می‌باشد که اندکی بیشتر از میانگین گروه تربیتافین در زمان مشابه است.

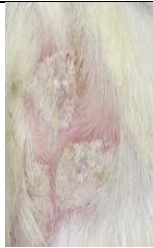
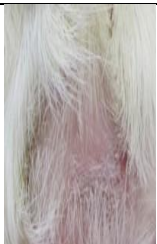
بررسی آماری اعداد در گروه نانواسانس ۲ نشان دهنده‌ی عدد ۴/۵ در هنگام آغاز مطالعه می‌باشد که بیشتر از میانگین

گروه تربیتافین در زمان مشابه است. بررسی‌های آماری بین گروه‌های نانو ۲ و کنترل منفی، اختلاف آماری معنی‌داری را در همه‌ی روزها به جز روز ۴۰ نشان می‌دهند ($p<0.05$). در ادامه آنالیز بین گروه‌های نانواسانس ۲ و تربیتافین همانند گروه نانو ۱ حاکی از وجود اختلاف آماری معنادار در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلوده سازی دارد ($p<0.05$).

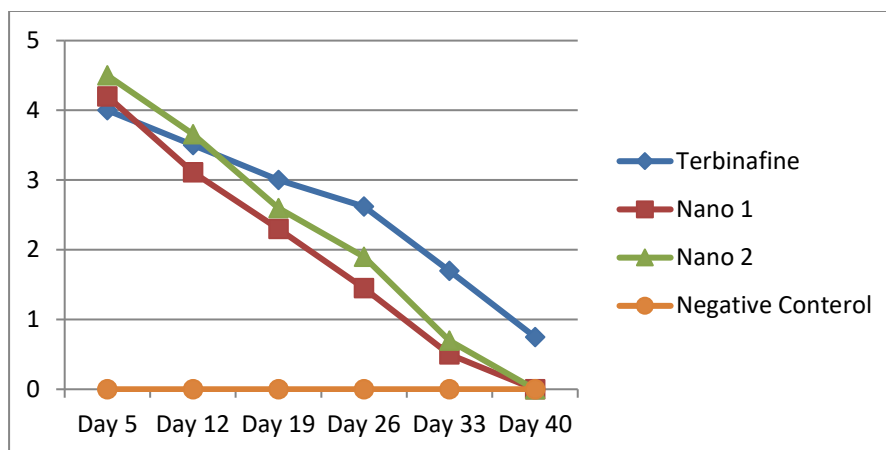
بررسی آماری اعداد در گروه نانواسانس ۲ نشان دهنده‌ی عدد ۴/۵ در هنگام آغاز مطالعه می‌باشد که بیشتر از میانگین گروه تربیتافین در زمان مشابه است. بررسی‌های آماری بین گروه‌های نانو ۲ و کنترل منفی، اختلاف آماری معنی‌داری را در همه‌ی روزها به جز روز ۴۰ نشان می‌دهند ($p<0.05$). در ادامه آنالیز بین گروه‌های نانواسانس ۲ و تربیتافین همانند گروه نانو ۱ حاکی از وجود اختلاف آماری معنادار در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلوده سازی دارد ($p<0.05$).

جدول ۱: مقایسه ی **clinical lesion score average** در طول مدت درمان

گروه روز	۵	۱۲	۱۹	۲۶	۳۳	۴۰
تربینافین	۴	۳/۵	۳	۲/۶۲	۱/۷	۰/۷۵
نانو اسانس ۱	۴/۲	۳/۱۱	۲/۳	۱/۴۵	۰/۵	۰
نانو اسانس ۲	۴/۵	۳/۶۶	۲/۶	۱/۹	۰/۷	۰
کنترل منفی	۰	۰	۰	۰	۰	۰

Day Group	۵	۱۲	۱۹	۲۶	۳۳	۴۰
Nano 1						
Nano 2						
Terbinafine						
شاهد						
NC						

شکل ۴: مقایسه روند بهبودی در بازه زمانی بین گروه های مختلف



نمودار ۱: مقایسه ی Clinical lesion score average در طول مدت درمان

بحث و نتیجه گیری

لوسین عصاره درمنه را کلوتریمازول در درمان موثره انسانی بهتر دانسته‌اند (۲). آزاد بخت و همکاران نیز به برابری اسانس درمنه با کلوتریمازول در درمان دامهای کوچک تاکید داشتند (۱).

در این مطالعه مقدار MIC به دست آمده برای نانو اسانس $0.5 \mu\text{g/ml}$ می‌باشد. تاکنون هیچ‌گونه مطالعه مدونی برای بررسی نحوه تأثیر نانواسانس و نحوه اثر گیاه دارویی بر روی مدل حیوانی انجام نگرفته است.

بر طبق بررسی نمودار ۴-۱ روند کاهشی تغییرات Clinical lesion score average، به طور منطقی در تمامی گروه‌های درمانی رخ داده است. اما در مورد گروه‌های نانواسانس ۱ و ۲ به ویژه بین روزهای ۱۲ تا ۳۳ روند کاهشی در محدوده ی Score کمتری نسبت به گروه درمانی دیگر است. به طوری که اختلاف میانگین در گروه نانواسانس

تاکنون داروهای مختلفی برای درمان درماتوفیتوز آزموده شده‌اند. از بین داروهای عمومی و موضعی آزموده شده، داروهای موضعی به علت جلوگیری از آلوده شدن محیط، اهمیت ویژه‌ای دارند و اساس درمان این بیماری به شمار می‌روند. داروی تربیتافین نیز یکی از این داروهاست که هم به صورت موضعی و هم به شکل قرص موجود است. اثرات این دارو علیه انواع عوامل درماتوفیتوز تأیید شده است (۱۴). تاکنون گیاهان دارویی مختلفی برای بررسی اثر درمانی بر درماتوفیتوز مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که یکی از آنها درمنه است که در ایران به وفور یافت می‌شود. اثرات ضد قارچی آن بیشتر به اثبات رسیده است. Abad در سال ۲۰۰۷ MIC عصاره گیاه درمنه را 0.2 تا 0.2 میلی گرم در هر میلی لیتر و متعاقباً در ۲۰۱۲ MIC را 0.1 میلی گرم در هر میلی لیتر گزارش نموده است (۴۵). راد و همکاران در یک مطالعه اثرات

2) (غلظت MIC) در روزهای ۱۲ تا ۳۳ عدد ۶۸/۵ درصد را نشان می‌دهد. اما در گروه درمانی تربینافین معادل ۴۹/۲ درصد است. بعلاوه این که پس از روز ۱۲ میزان کاهش Score در گروه نانواسانس ۲ شیب تندی می‌گیرد و تا روز ۴۰ تفاوت محسوسی با گروه درمانی تربینافین دارد که بر اساس تحلیل آماری گروه نانواسانس ۲ و گروه درمانی تربینافین در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳، ۴۰ واجد اختلاف آماری معنی دار هستند ($p < 0.05$).

به نظر می‌رسد که اختلاف کمی بین میانگین Score در گروه‌های نانواسانس ۲ و تربینافین تا روز ۱۲ پس از آلوده-سازی حاصل نزدیکی مقادیر Score آنها در نقطه‌ی آغازین است. اما آن چه که موجب برتری گروه درمانی نانواسانس ۲ نسبت به گروه درمانی تربینافین شده است، روند بهبودی پس از روز ۱۲ می‌باشد. زیرا میانگین Score پس از روز ۱۲ در گروه نانواسانس ۲ کاهش چشمگیری دارد و تا روز ۴۰ پس از آلوده‌سازی متوسط Score کمتر از گروه درمانی تربینافین بوده است. با توجه به نمودار گروه نانواسانس ۱ که در این تحقیق مقدار یک غلظت بیشتر از غلظت MIC ($1 \mu\text{g/ml}$) در نظر گرفته شده بود، متوسط Score تقریباً شبیه به گروه درمانی تربینافین در روز آغازین دارد. بنابراین مشابه با گروه درمانی نانواسانس ۲ و با در نظر گرفتن روند کاهشی میانگین Score در روز ۱۲ تا ۳۳ پس از آلوده‌سازی و وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ با گروه درمانی تربینافین، درمان با نانو اسانس ۱ نسبت به گروه

درمانی تربینافین موفق‌تر به نظر می‌رسد. بیشترین تغییرات میانگین در بین گروه‌های درمانی مربوط به گروه نانو اسانس ۱ است که البته این تأثیر درمانی بهتر به علت غلظت بیشتر دارو در قیاس با نانو اسانس ۲ بوده و قابل انتظار است. بنابراین نانو اسانس درمانه با غلظت‌های بیشتر از ممکن است در عین ایجاد اثرات درمانی مطلوب‌تر، عوارض جانبی بیشتری نیز به وجود آورند.

با توجه به تحلیل آماری، بررسی نمودارها و شرایط بالینی بیماران در طول مدت درمان تأثیر مطلوب‌تر گروه درمانی نانو اسانس ۱ نسبت به گروه درمانی تربینافین تأیید می‌گردد. حتی با در نظر گرفتن صحت تمام و کمال یافته‌های آماری (که تنها به ابعاد محاسباتی داده‌ها می‌پردازد) و رعایت همه جانبه‌ی اصول تحقیق، تنها زمانی که تمامی عوامل مخدوشگر مطالعه در یافته‌های بعدی معلوم نشود، نمی‌توان در برابر بودن غلظت‌های مختلف نانو اسانس درمانه با کرم تربینافین مهر تأیید زد. عواملی مانند میزان جذب ویتامین‌ها، بیماریهای مزمن همراه، عوامل پاتوژن فرصت طلب، بیماریهای قبلی و وضعیت ایمنی بدن همگی جزو عواملی هستند که باید با دقت مورد مطالعه قرار گیرند.

به طور کلی مقایسه‌ی نمودارهای تحلیل آماری در روزهای مختلف دوره‌ی درمانی، روند بهبودی را در گروه‌های درمانی نشان می‌دهند زیرا تمامی آنها در روز ۴۰ پس از آلوده-سازی بهبودی مطلوب ظاهری داشته‌اند. اما آنچه که این گروه‌ها را از هم متمایز می‌سازد.

دیده می‌شود، نتایج کشت قارچی اول، دوم و سوم در گروه‌های نانو اسانس ۱، ۲ و کنترل منفی، منفی بودند. بنابراین روز ۴۰ پس از آلوده سازی می‌تواند در مورد این گروه‌ها زمان پایان درمان باشد. هرچند که درمان تا اخذ نتیجه‌ی کشت سوم نیز ادامه یافت.

نتیجه‌ی کشت قارچ در اولین نمونه‌برداری است که در روز ۳۳ پس از آلوده‌سازی انجام گرفته است. همانطور که قبلاً اشاره شد، تنها عاملی که سبب قطع مصرف دارو می‌شود، دو و ترجیحاً سه کشت قارچی متوالی با نتیجه‌ی منفی است. در حقیقت موفقیت در درمان به نتایج کشت قارچی بیشتر از شکل ظاهری ضایعه متکی است. همانطوری که در جدول ۲

جدول ۲: نتایج کشت قارچ در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در سه دوره‌ی متوالی

روز	گروه	۳۳	۴۰	۵۰
کنترل منفی	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰
نانو اسانس ۱	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰
نانو اسانس ۲	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰
تربینافین	۶ از ۲	۶ از ۰	۶ از ۰	۶ از ۰

نانواسانس مرزنجوش در مقایسه با کرم کتوکونازول در گربه های آلوده به میکروسپوروم کنیس به اثبات رسیده است (۱۱). ضمناً بر اساس تحقیقات ضد قارچی عصاره ی گیاه درمنه عمدتاً مربوط به دو ترکیب شیمیایی مهم به نام های کامفور و ۱ و ۸ سینئول است که در گیاه درمنه با غلظت بالایی موجود است (۳). بنابراین می‌توان بر نتایج حاصل در این تحقیق تأکید داشت و در نتیجه عنوان کرد که اثر درمانی

مشهدی رفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۳، تاثیر بهتر درمان موضعی با نانو اسانس گیاه درمنه در قیاس با کرم کتوکونازول در خوکچه هندی آلوده با میکروسپوروم کنیس را به اثبات رسانیدند. همچنین در مطالعات دیگر، اثر درمانی قوی‌تر نانواسانس گیاه مورد در مقایسه با کرم تربینافین در خوکچه‌های هندی آلوده به میکروسپوروم کنیس مورد بررسی قرار گرفت. اخیراً در تحقیقات دیگری تاثیر موثرتر

داروی نانواسانس درمانه نه تنها با کرم تربیتافین برابری می-
نماید بلکه در مواردی (که بحث) بهتر از آن نیز عمل می نماید.
با توجه به این که داروی مذکور عارضه‌ی جانبی ندارد و کاربرد
و تهیه‌ی آن آسان و بسیار مقرون به صرفه است، به راحتی
می توان آن را در درمان بیماری درماتوفیتوز به کار برد. آشکار
است که استفاده از نانواسانس گیاه درمانه برای درمان این نوع
بیماری در انسان نیازمند تکمیل تحقیقات بر روی مدل های
حیوانی است.

منابع

- ۱- آزاد بخت، محمد و همکاران (۱۳۸۲). بررسی تأثیر اسانس گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر روی تریکوموناس واژینالیس. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. فصل‌نامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی و معطر. ۸، ۳۹-۳۵.
- ۲- راد، محمد علی و همکاران (۱۳۷۶). بیماریهای پوست دام های کوچک (بیماریهای عفونی و ایمنو لوژیک). تهران : مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۶۵، ۶۲.
- ۳- میرحیدر. ح.(۱۳۷۳). معارف گیاهی. تهران: دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ۵.
- 4- Abad M., 2007.Active antifungal substances from natural sources. ARKIVOC,,2.
- 5- Abad M., 2012.the Artemisia L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils. Molecules. 17.
- 6- Bernardo F., et al. Dermatophytes isolated from pets, dogs and cats, in Lisbon, Portugal (2000-2004). Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. 2005; 100 (553-554): 85-88.
- 7-Birchard S., sherding R.(2006).saunders manual of small animal ractice. Missouri: Elsevier.
- 8-Green,C.2006.Infection Disease of the dog and cat.Philadelphia:W.B.Saunders Co.550-565.
- 9- Ivaskiene M.2011. Establishing the efficacy novel topical formulations in the treatment of experimental dermatophytosis in guinea pigs.27-28.
- 10-Lee S. 2007.Antifungal effects of Eugenol and Nerolidol against Microsporum gypseum in a guinea pig model. Biological And Pharmaceutical Bulletin. 30.
- 11- Mashhady Rafie,S. Baradaran Alizadeh S. Bayat, M.2013. Comparison of the Therapeutic effects of Nano-essence of Medical herb Artemisia sieberi with the ointment of Ketoconazole in guinea pig infected by Microsporum canis. International Research Journal of Biological Sciences.2(12):5-10.
- 12-Mashhady Rafie, S. Chaharbaradari, M. Bayat, M.2014.Comparison of Therapeutic effects of the Myrtus communis Nano-essence and Topical 1% terbinafine cream in Guinea pigs infected by microsporum canis. International Research Journal of Biological Sciences.3(3):23-39.
- 13-Mashhady Rafie, S. Khorram, H. Bayat, M.201. COMPARISON OF THE THERAPEUTIC EFFECTS OF NANO-ESSENCE OF MEDICAL HERB ORIGANUM VULGARE WITH THE KETOCONAZOLE 2% TOPICAL CREAM IN CATS INFECTED BY MICROSPORUM CANIS. International Journal of Biology, Phamarmacy and allied Sciences.4(5):2855-2865.
- 14-Miller, G. H. and Krik, R. W. (2001). Muller and Kirks Smal Animal Dermatology Philadelphia :W.B.Saunders Co.357.
- 15-Nichita I. ET. Al.; 2010; the Fungal Microbiota Isolated from Cats and Dogs; Animal Science and Biotechnologies; 43: 411-414.

-
- 16-Seker, E., and Dogon, N. Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytes in Western Turkey. Preventive Veterinary Medicine. 2011; 98 (1): 46-51.
- 17-W. Scott D., et al. Muller & Kirks small animal dermatology, 6th ed., 2001, Saunders, China, P:1528.
- 18- Yahyaraeyat R., Shokri H., Khostari A.R., Soltani M., Erfan-Manesh A. and Nikacin D. Occurrence of animal dermatophytosis in Iran. World Journal of Zoology. 2009; 4(3): 200-204.

Comparison of the Therapeutic Effects of Nano-Essence of *Artemisia* Plant with Terbinafine 1% Cream in the Treatment of Guinea Pigs Infected with Dermatophytosis Caused by *Trichophyton mentagrophytes*

Morteza Razaghi Manesh^{1*}, Siamak Mashhadi Rafiei², Farnoush Arfaei², Hamid Reza Shabani³, Erfan Javidi³, Ava Abrishamkar⁴

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
2. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Iran
4. Animal Biology student at the University of Guelph, Ontario, Canada

* Corresponding Author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Transforming pharmaceutical compounds into nano-sized particles grants them novel physicochemical and therapeutic properties. In this study, the nano-essence of the medicinal plant *Artemisia* was evaluated for its antifungal effects against experimental dermatophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* in guinea pigs. Both **in vivo** and **in vitro** methods were employed. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the nano-essence was determined using the Broth Microdilution method according to the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M38-A guidelines and was found to be 0.5 µg/ml. Twenty-four guinea pigs were randomly divided into four groups of six. Treatment began five days after infection and was administered every 12 hours for 40 days. Complete clinical recovery was observed in both groups treated with the nano-essence and topical terbinafine cream by the end of the study. These findings indicate that the *Artemisia* nano-essence is effective in treating dermatophytosis caused by *T. mentagrophytes* and may even demonstrate superior therapeutic performance compared to conventional topical antifungal treatments.

Keywords: Nano-essence of *Artemisia*, Terbinafine, *Trichophyton mentagrophytes*, Guinea