لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۲، دوره ۱۰، شماره ۲، ۳ و ٤، صفحات: ۷-۲ .

مقاله پژوهشی

بررسی اثر فتوتوکسیک عصارهٔ گیاه هوفاریقون بر Enterococcus Faecalis، Staphylococcus Aureus و Escherichia Coli

نسیم کاشف [۱]
یاسمن‌سادات برقعی [۲]
غلامرضا اسماعیلی‌جاوید [۳]

۱. *استادیار باکتری‌شناسی پزشکی، بخش میکروبیولوژی، دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.*

۲. *کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بخش میکروبیولوژی، دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.*

۳. *مربی پژوهش، مرکز تحقیقات لیزردرپزشکی جهاد دانشگاهی، واحد علوم پزشکی تهران.*

نویسندهٔ مسئول: نسیم کاشف، تلفن ۶۱۱۱۳۵۵۸
پست الکترونیک: kashefn@khayam.ut.ac.ir

خلاصه

مقدمه: عصارهٔ گیاه هوفاریقون با نام علمی .Hypericum Perforatum L به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید برای درمان فتودینامیکی در چندین مطالعهٔ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. اما، چنین به‌نظر می‌رسد که فعالیت فتوتوکسیک این عصاره تاکنون به‌شکل مستقل برروی باکتری‌ها مطالعه نشده است. لذا، هدف از این پژوهش بررسی اثر فتوتوکسیک عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum (به‌شکل قطرهٔ خوراکی هایپیران) بر سویه‌های استاندارد Enterococcus Faecalis (ATCC 11700)، Staphylococcus Aureus (ATCC 25923) و Escherichia Coli (ATCC 25922) درحالت پلانکتونیک بود.

روش بررسی: اثر غلظت‌های غیر توکسیک عصارهٔ هوفاریقون به‌عنوان حساس‌گر نوری (۱۰۰برابر، ۲۰۰ برابر، ۵۰۰ برابر رقیق‌شده) در زمان تابش ۵ دقیقه بر فعالیت فتوتوکسیک این عصاره برروی باکتری‌های مورد نظر بررسی شد.

یافته‌ها: حساس‌سازی نوری عصاره (در رقت ۱/۱۰۰) با استفاده از نور نارنجی LED($۲۴J/cm^2$) قادر به کاهش $\log_{10}$ ۵-۴ در تعداد باکتری‌های مورد آزمون بود.

نتیجه‌گیری: مطالعهٔ حاضر نشان داد این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید و مؤثر برای فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی مطرح باشد. مطالعات بیشتری نیاز است تا اثر فتوتوکسیک این عصاره در کشت سلول، مدل حیوانی و درنهایت در بالین بررسی شود.

واژه‌های کلیدی: فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی، باکتری‌ها، عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum

مقدمه

هوفاریقون، علف چای، هزارچشم یا گل راعی با نام علمی Hypericum Perforatum L. و اسامی انگلیسی، Amber ،Klamath weed Hardhay و Tipton weed ،St. John's wort ،Goat weed یک گیاه دارویی ارزشمند از خانوادهٔ Clusiaceae یا Hypericaceae است. استفاده از این گونه به‌عنوان یک داروی گیاهی، بخصوص برای درمان افسردگی در چند سال اخیر به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. تجارت هوفاریقون حدود ۵۷۰ میلیون دلار در سراسر دنیا است که این مطلب خود مؤید ارزشمند بودن این گیاه است[۱]. ترکیبات مؤثر بیولوژیک مختلفی در این گیاه وجود دارد اما، اجزای مؤثر اصلی آن شامل هیپرفورین و هایپریسین است[۲].

عصارهٔ این گیاه به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید برای درمان فتودینامیکی در چندین مطالعهٔ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است:

Skalkos و همکاران خصوصیات فتوفیزیکی عصاره‌های Hypericum Perforatum L. را به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید برای درمان فتودینامیکی معرفی کردند. مطالعهٔ این محققان نشان داد عصاره‌های این گیاه حاوی انواع ترکیبات حساس به نور هستند (همانند مشتقات نفتودی‌آنترون و کلروفیل). این ترکیبات به‌دنبال تابش نور فعال می‌شوند و خصوصیات فتودینامیکی از خود بروز می‌دهند که می‌توانند به‌عنوان یک کلاس جدید و طبیعی از حساس‌گرهای نوری برای استفاده در درمان فتودینامیکی و تشخیص فتودینامیکی مطرح باشند. طیف جذبی این عصاره‌ها مشابه با طیف هایپریسین (مهم‌ترین نفتودی‌آنترون شناخته‌شده در آن‌ها) است[۳]. کارآیی عصارهٔ این گیاه به‌عنوان یک عامل فتوتوکسیک علیه کارسینوم مثانه نیز در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است. فتوسایتوتوکسیسیتهٔ قابل ملاحظه، فراوانی طبیعی، تهیهٔ آسان و ارزان نشان می‌دهد که این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید و مؤثر برای درمان فتودینامیکی باشد[۴]. مطالعهٔ Yermak و همکاران درسال ۲۰۱۰، ارزیابی کارآیی Hyperflav به‌عنوان یک حساس‌گر نوری برای درمان فتودینامیکی بود. Hyperflav یک عصارهٔ تخلیص‌شده از Hypericum است که به‌منظور تشخیص فتودینامیکی طراحی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد Hyperflav در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت فتودینامیکی بر کشت سلول‌های سرطانی دارد و بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک حساس‌گر نوری در آینده مطرح باشد[۵]. چنین به‌نظر می‌رسد که اثرهای فتوتوکسیک عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum L. در شرایط آزمایشگاهی ناشی از هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین است[۶]. عصارهٔ این گیاه در دو مطالعهٔ بالینی نیز به‌کار برده شده است:

Batista و Tardivo در سال ۲۰۰۹، پروتکل‌های فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی را (با استفاده از رنگ‌های فنوتیازینیوم و عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum L.) برای زخم پای بیماران دیابتی مبتلا به استئومیلیت به‌کار بردند. رادیوگرام‌های این بیماران نشان داد که استخوان با هر دو پروتکل درمانی، التیام یافته است[۷]. کاربرد بالینی فتودینامیک‌درمانی موضعی برای لزیون‌های هرپس‌سیمپلکس در Sao Paulo با استفاده از حساس‌گرهای نوری غیر توکسیکی چون متیلن‌بلو و عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum نیز مؤثر واقع شده است[۸].

باتوجه به مطالعات گذشته چنین به‌نظر می‌رسد که فعالیت فتوتوکسیک این عصاره تاکنون به‌شکل مستقل بر روی باکتری‌ها مطالعه نشده است. لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر فتوتوکسیک عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum (به شکل قطرهٔ خوراکی هایپیران) بر سویه‌های استاندارد Enterococcus Faecalis(ATCC 11700)، Escherichia Coli (ATCC 25922) و Staphylococcus Aureus (ATCC 25923) در حالت پلانکتونیک بود.

روش بررسی

سویهٔ باکتری: سویه‌های Enterococcus Faecalis (ATCC 11700), Escherichia Coli (ATCC 25922) و Staphylococcus Aureus (ATCC 25923) به‌عنوان سویه‌های مرجع از شرکت پادتن طب تهیه شدند.

عصارهٔ گیاه هوفاریقون حاوی ۰/۱mg/ml هایپریسین به‌صورت آماده از شرکت دارویی پورسینا خریداری شد (قطرهٔ خوراکی هایپیران). محلول با فیلتراسیون، استریل و در تاریکی نگهداری شد. برای تابش به نمونه‌های حاوی عصارهٔ هوفاریقون و نمونه‌های کنترل از ردیف‌های دیودی منتشرکنندهٔ نور(LED نارنجی، ۵۹۰ نانومتر) با توان ۸۰mW/cm^2 استفاده شد.

باکتری‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس سوسپانسیونی از باکتری‌ها در بافر فسفات (تنظیم شده در pH=7.4) مطابق با استاندارد مک‌فارلند (شمارهٔ۰/۵) تهیه شد (تعداد باکتری‌ها ۱-۲ x ۱۰^8 CFU/ml). سوسپانسیون باکتری‌ها با عصارهٔ هوفاریقون در غلظت‌های غیر کشنده (۱۰۰x و ۲۰۰x و۵۰۰x رقیق‌شده با بافر فسفات، شکل ۱) مجاور شدند و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در تاریکی گرمخانه‌گذاری شدند. سپس ۲/۰ میلی‌لیتر از هر نمونه در پلیت ۹۶خانه، تحت تابش نور نارنجیLED به‌مدت ۵ دقیقه (۲۴J/cm^2) قرار گرفت. برای حفظ شرایط استریل، در پلیت درزمان تابش‌دهی بسته بود. پس‌از تهیهٔ رقت‌های سریال ۱۰تایی از هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر برروی محیط نوترینت آگار برده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس تعداد کلونی‌های رشدکرده

بر سطح محیط شمارش شد (تمام آزمون‌ها سه مرتبه تکرار شدند).

گروه‌های کنترل در این آزمایش عبارت‌انداز: گروه فاقد عصاره و بدون تابش نور(L-P-) ، گروه حاوی عصاره و بدون تابش نور (L-P+) و گروه تابش نور بدون وجود عصارهٔ هوفاریقون (L+P-)(به‌جای عصارهٔ هوفاریقون از بافر فسفات استفاده شد).



شکل ۱: رقیق کردن عصارهٔ هوفاریقون با بافر فسفات

آنالیز آماری

مقادیر به‌صورت انحراف معیار ± میانگین بیان شدند. مقایسهٔ بین میانگین گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون One-Way ANOVA بررسی گردید. مقادیر P<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی شدند.

یافته‌ها

جدول ۱ اثرکشندگی فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی E.coli (ATCC 25922)، S.aureus(ATCC 25923) و E.faecalis (ATCC 11700) را با استفاده از عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum در رقت‌های مختلف و دوز نوری ۲۴J/cm^2 نشان می‌دهد. حساس‌سازی نوری عصاره (در رقت ۱/۱۰۰) با استفاده از نور نارنجی LED(۲۴J/cm^2) قادر به کاهش $\log_{10}$ ۵-۴ در تعداد باکتری‌های مورد آزمون بود. رقت‌های ۱/۲۰۰ و ۱/۵۰۰ از عصاره نیز درحضور منبع نور کاهش قابل ملاحظه‌ای در تعداد باکتری‌های سوسپانسیون اولیه درمقایسه با گروه کنترل نشان دادند (P<۰/۰۵). رقت‌های مختلف عصارهٔ این گیاه در تاریکی به‌تنهایی درمقایسه با گروه کنترل هیچ اثر سمی روی ارگانیسم‌های مورد بررسی نداشتند. همچنین دوز نوری به‌تنهایی قادر به اثر باکتری‌کشی نبود.

بحث و نتیجه‌گیری

عصاره‌های گیاه Hypericum Perforatum مدت‌های مدید برای درمان افسردگی به‌کار برده شده است. برخلاف پتانسیل درمانی بالای این گیاه گاهی‌اوقات مصرف خوراکی آن، پاسخ‌های فتوتوکسیک پوستی را به‌دنبال دارد. به‌همین‌خاطر برخی مطالعات برای شناسایی فتوتوکسین‌های اصلی عصارهٔ این گیاه انجام شده است[۶]. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین می‌توانند مسئول آثار فتوتوکسیک عصارهٔ این گیاه در شرایط آزمایشگاهی باشند[۶].

اثر ضد میکروبی عصارهٔ این گیاه در چندین مطالعه بررسی شده است[۱۱-۹] اما، فعالیت فتوتوکسیک این عصاره تاکنون به‌شکل مستقل برروی باکتری‌ها مطالعه نشده است. در مطالعهٔ حاضر، اثر کشندگی فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی با واسطهٔ عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum در E.coli (ATCC 25922)، S.aureus (ATCC 25923) و E.faecalis (ATCC 11700) در رقت‌های مختلف عصاره به‌عنوان یک محلول حاوی عامل حساس‌گر نوری و پرتودهی با نور نارنجی LED بررسی شد. مطالعهٔ ما نشان داد که فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی با عصارهٔ هوفاریقون در غلظت‌های غیرکشنده به شکل کارآمدی باعث کشته شدن هر سه‌گونهٔ باکتریایی شده است. برطبق توصیه‌های سازمان غذا و داروی آمریکا برای بیان اثر ضد باکتریایی یک درمان اختصاصی کاهش حداقل $\log_{10}$ ۳ در تعداد باکتری‌ها ضروری است[۱۲]. باتوجه به آنکه نتایج این مطالعه کاهش $\log_{10}$ ۵-۴ در تعداد باکتری‌های مورد آزمون را نشان می‌دهد، اثر فتوتوکسیک این عصاره در مورد باکتری‌های فوق، کشنده تلقی می‌گردد.

مطالعات مختلفی اثر فتوتوکسیک هایپریسین را بر میکروارگانیسم‌ها بررسی کرده‌اند[۲۲-۱۳]. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲، با بررسی اثر حساس‌گر نوری هایپریسین در غلظت‌های (۰-۴۰ μM) و دوز نوری

جدول ۱: اثرکشندگی فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی با واسطهٔ عصارهٔ گیاه Hypericum Perforatum در S.aureus (ATCC 25923) E.coli (ATCC 25922) و E.faecalis (ATCC 11700) در رقت‌های مختلف عصاره و زمان تابش ۵ دقیقه منبع نوری

	Escherichia coli ATCC 25922 (CFU/ml)	Staphylococcus aureus ATCC 25923 (CFU/ml)	Enterococcus faecalis ATCC 11700 (CFU/ml)
گروه شاهد(L-P-)	$1.2 \times 10^7 \pm 0.1$	$2.2 \times 10^7 \pm 0.1$	$1 \times 10^7 \pm 0.8$
گروه آزمایش($L+P+_{1/100}$)	$2.6 \times 10^2 \pm 0.4$	$2.8 \times 10^2 \pm 0.1$	$0.5 \times 10^2 \pm 0.3$
گروه آزمایش($L+P+_{1/200}$)	$2.5 \times 10^2 \pm 0.3$	$3.6 \times 10^2 \pm 1.1$	$0.2 \times 10^2 \pm 0.2$
گروه آزمایش($L+P+_{1/500}$)	$2.8 \times 10^2 \pm 1.2$	$1.5 \times 10^3 \pm 0.5$	$2.3 \times 10^2 \pm 0.5$

($5-30 J/cm^2$) مشخص شد غیرفعال‌سازی فتودینامیکی قادر به کاهش بیش از ۶ log در تعداد باکتری‌های سویهٔ حساس به متی‌سیلین و مقاوم به متی‌سیلین Staphylococcus Aureus بود[۱۶]. در مطالعهٔ دیگر در سال ۲۰۱۴، جهت بررسی اثر فتوتوکسیک هایپریسین برروی گونه‌های Candida از غلظت‌های مختلف هایپریسین (۴۰ μM و ۲/۵۰ ، ۱/۲۵ ، ۰/۶۲۵) و منبع نوری لامپ LED با دوز نوری $18 J/cm^2$ استفاده شد. غیرفعال‌سازی فتودینامیکی در این شرایط قادر به کاهش ۶ log درمورد Candida Parapsilosis و Candida Krusei بود[۱۴]. در سال ۲۰۱۰، انگلهارت و همکاران اثر غیرفعال‌سازی فتودینامیکی هایپریسین محلول در آب را برروی یک سویه از S. aureus بررسی کردند که درحضور ۱۰۰ nM هایپریسین و ۳۰ دقیقه زمان تابش ($75 mW/cm^2$)، تعداد باکتری‌ها ۵-۴ log کاهش یافتند. همچنین مشخص شد در غیاب نور هیچ اثر کشندگی برروی سویهٔ مورد نظر وجود نداشت[۱۸]. در سال ۲۰۰۹، لوتی و همکاران اثر فتوتوکسیسیتی هایپریسین را برروی باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان Streptococcus Sobrinus وS.mutans مطالعه کردند. در این بررسی درحضور ۲/۵ μg/ml هایپریسین و ۱۲۰ ثانیه تابش، باکتری‌های S.sobrinus به‌طور کامل (۱۰۰ درصد) از بین رفتند درحالی‌که برروی سویه‌های S.mutans هیچ اثر کشندگی مشاهده نشد[۲۰]. جانکوسکی و همکاران اثر فتوتوکسیک هایپریسین را برروی سویه‌های باکتری‌های گرم منفی E.coli k_{12} و Shigella مطالعه کردند که در میان همهٔ سویه‌ها کمتر از ۱ log کاهش مشاهده شد[۲۱]. در مطالعهٔ پیشین ما نیز که اثر فتوتوکسیک هایپریسین (غلظت ۱ μg/ml، دوز نوری $48 J/cm^2$) برروی E.coli (ATCC 25922)، S.aureus(ATCC 25923) و E.faecalis (ATCC 11700) بررسی شد، کاهش ۷-۶ $\log_{10}$ در تعداد باکتری‌های مورد آزمون مشاهده شد[۲۲].

با توجه به نتایج مشابه برای اثر فتوتوکسیک هایپریسین و عصارهٔ هوفاریقون همچنین فراوانی طبیعی، تهیهٔ آسان و ارزان عصاره، این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک حساس‌گر نوری جدید و مؤثر برای فتودینامیک‌تراپی ضد میکروبی مطرح باشد. مطالعات بیشتری نیاز است تا اثر فتوتوکسیک این عصاره در کشت سلول، مدل حیوانی و در نهایت در بالین بررسی شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر از حمایت‌های دانشگاه تهران و مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران.

References:

1. Naghdi-Badi H, Amin G, Malekizade-Tafti M. An overview on Hypericum perforatum L. Journal of Medicinal Plants 1995; 16:1-14.

2. Saddiqe Z, Naeem I, Maimoona A. A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. Journal of Ethnopharmacology 2010; 131: 511–21.

3. Skalkos D, Gioti E, Stalikas CD, Meyer H, Papazoglou TG, Filippidis G. Photophysical properties of Hypericum perforatum L. extracts - novelphotosensitizers for PDT. J Photochem Photobiol B. 2006; 82(2): 146-51.

4. Stavropoulos NE, Kim A, Nseyo UU, Tsimaris I, Chung TD, Miller TA, Redlak M, Nseyo UO, Skalkos D. Hypericum perforatum L. extract - novel photosensitizer against human bladder cancer cells. J Photochem Photobiol B. 2006; 84: 64-94.

5. Yermak PV, Gamaleia NF, Shalamay AS, Saienko TV, Kholin VV. Hyperflav-perspective photosensitizer for PDT: cell studies. Exp Oncol. 2010; 32(4): 233-6.

6. Onoue S, Seto Y, Ochi M, Inoue R, Ito H, Hatano T, Yamada S. In vitro photochemical and phototoxicological characterization of major constituents in St. John's Wort (Hypericum perforatum) extracts. Phytochemistry. 2011; 72(14-15): 1814-20.

7. Tardivo JP, Baptista MS. Treatment of osteomyelitis in the feet of diabetic patients by photodynamic antimicrobial chemotherapy. Photomed Laser Surg. 2009; 27(1): 145-50.

8. Tardivo JP, Wainwright M, Baptista MS. Local clinical phototreatment of herpes infection in São Paulo. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2012; 9(2): 118-21.

9. Mortensen T, Shen S, Shen F, Walsh MK, Sims RC, Miller CD. Investigating the effectiveness of St John's wort herb as an antimicrobial agent against mycobacteria. Phytother Res. 2012; 26(9): 1327-33.

10. Avato P, Raffo F, Guglielmi G, Vitali C, Rosato A. Extracts from St John's Wort and their antimicrobial activity. Phytother Res. 2004; 18(3): 230-2.

11. Hübner AT. Treatment with Hypericum perforatum L. does not trigger decreased resistance in Staphylococcus aureus against antibiotics and hyperforin. . Phytomedicine. 2003; 10(2-3): 206-8.

12. Boyce JM, Pittet D. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HIPAC/SHEA/ APIC/IDSA hand hygiene task force. American Journal of Infection Control 2002; 30: 1-46.

13. de MeloWde C, Lee AN, Perussi JR, Hamblin MR. Electroporation enhances antimicrobial photodynamic therapy mediated by the hydrophobic photosensitizer, hypericin. Photodiagnosis Photodyn Ther 2013; 10: 647-50.

14. Paz-Cristobal MP, Royo D, Rezusta A, Andrés-Ciriano E, Alejandre MC, Meis JF, Revillo MJ, Aspiroz C, Nonell S, Gilaberte Y. Photodynamic fungicidal efficacy of hypericin and dimethyl methylene blue against azole-resistant Candida albicans strains. Mycoses 2014; 57: 35-42.

15. Nafee N, Youssef A, El-Gowelli H, Asem H, Kandil S. Antibiotic-free nanotherapeutics: hypericin nanoparticles thereof for improved in vitro and in vivo antimicrobial photodynamic therapy and wound healing. Int J Pharm 2013; 454: 249-58.

16. Yow CM, Tang HM, Chu ES, Huang Z. Hypericin-mediated photodynamic antimicrobial effect on clinically isolated pathogens. Photochem Photobiol 2012; 88: 626-32.

17. Rezusta A, López-Chicón P, Paz-Cristobal MP, Alemany-Ribes M, Royo-Díez D, Agut M, Semino C, Nonell S, Revillo MJ, Aspiroz C, Gilaberte Y. In vitro fungicidal photodynamic effect of hypericin on Candida species. Photochem Photobiol 2012; 88: 613-9.

18. Engelhardt V, Krammer B, Plaetzer K. Antibacterial photodynamic therapy using water-soluble formulations of hypericin or mTHPC is effective in inactivation of Staphylococcus aureus. Photochem Photobiol Sci 2010; 9: 365-9.

19. Hager B, Strauss WS, Falk H. Cationic hypericin derivatives as novel agents with photobactericidal activity: synthesis and photodynamic inactivation of Propionibacterium acnes. Photochem Photobiol 2009; 85: 1201-6.

20. Lüthi M, Besic Gyenge E, Engstrüm M, Bredell M, Grätz K, Walt H, Gmür R, Maake C. Hypericin- and mTHPC-mediated photodynamic therapy for the treatment of cariogenic bacteria. Med Laser Appl 2009; 24: 227–36.

21. Jankowski A, Jankowski S, Mirończyk A, Niedbach J. The action of photosensitizers and serum in a bactericidal process. II. The effects of dyes: hypericin, eosin Y and saphranine O. Pol J Microbiol 2005; 54: 323–30.

22. Kashef N, Borghei Y, Djavid G. Photodynamic effect of hypericin on the microorganisms and primary human fibroblasts. Photodiagnosis Photodyn Ther 2013; 10: 150-5.