Original Article

Evaluation of Anticandidal Effects of Allium saralicum

Faranak Bidad[1], Mahboobeh Madani[1*], Seyed Mohammad Masoumi[2]

[1]*Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.*

[2]*Department of Biology, Razi University, Kermanshah, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Mahboobeh Madani**, Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email: mmadani66@gmail.com

Received: 22 Jun, 2016

Accepted: 21 Aug, 2016

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

Abstract

Background and Objectives**:** *Candida* species is one of the main fungal pathogens in immunodeficient, organ transplantation, and cancer patients. Resistance to antifungal therapy, is observed in *candida* species, such as *Candida albicans, Candida glabrata, and Candida tropicalis.* For this purpose, screening of the medicinal plants and investigation of their antifungal effect is necessary. This study was conducted with the aim of *in vitro* evaluation of inhibitory effect of *Allium saralicum on candida species.*

Methods: In this descriptive-comparative study, *Allium saralicum* plant was collected from Shahoo mountain in Kermanshah, and extracted using soxhlet apparatus. Antifungal activity of methanol and petroleum ether extracts, were investigated against *C. albicans, C. glabrata and C. tropicalis.* Well diffusion method was used as a screening method, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC), were determined. Results were analyzed by nonparametric Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: In this research, the highest inhibition zone of *Allium saralicum* extracts against all species, was observed in concentration of 250mg/ml, and inhibition zone diameter decreased with decrease in concentration. MIC and MFC results showed that *C. albicans* is more sensitive to the petroleum ether extract, while *C. tropicalis* growth was significantly inhibited by the methanol extract. The results of both extracts was equal for *C. glabrata*.

Conclusion: According to the results of this research, methanol and petroleum ether extracts of *Allium saralicum* have antifungal activity against *Candida* species. Therefore, this plant can be used as a natural antimicrobial source.

Keywords: *Candida*; *Allium saralicum;* Extract; Antifungal activity.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره ششم، شهریور ۹۶
صفحه ۱۰ الی ۱۸

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی اثرات ضدکاندیدایی گیاه *آلیوم سارالیکوم*

فرانک بیداد[۱]، محبوبه مدنی[۱*]، سیدمحمد معصومی[۲]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

چکیده

زمینه و هدف: گونه‌های *کاندیدا*، عوامل اصلی قارچی بیماری‌زا در بیماران نقص سیستم ایمنی، پیوند اعضا و سرطانی هستند. مقاومت به درمان‌های ضدقارچی در گونه‌های کاندیدا مانند *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* مشاهده می‌شود. بدین منظور غربالگری گیاهان دارویی و بررسی اثر ضدقارچی آنها ضروری است. این تحقیق با هدف ارزیابی آزمایشگاهی اثر مهاری *آلیوم سارالیکوم* بر گونه‌های *کاندیدا* انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- مقایسه‌ای، گیاه *آلیوم سارالیکوم* از کوه شاهو در کرمانشاه، جمع‌آوری و به‌وسیله دستگاه سوکسله عصاره‌گیری شد. فعالیت ضدقارچی عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری برعلیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* بررسی گردید. از روش انتشار چاهک به‌عنوان روش غربالگری استفاده شد و حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی تعیین گردید. نتایج با استفاده از آزمون ناپارامتری کراسکال والیس و من‌ویتنی آنالیز شدند.

یافته‌ها: در این تحقیق، بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره‌های *آلیوم سارالیکوم* بر همه گونه‌ها، در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر مشاهده گردید و با کاهش غلظت، قطر هاله ممانعت از رشد کاهش یافت. نتایج MIC و MFC نشان داد *کاندیدا آلبیکنس* بیشتر به عصاره پترولیوم اتری حساس است؛ درحالی‌که رشد *کاندیدا تروپیکالیس* به‌طور چشمگیری با عصاره متانولی مهار شد. نتایج هر دو عصاره برای *کاندیدا گلابراتا* یکسان بود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این تحقیق، عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری *آلیوم سارالیکوم*، دارای اثرات ضدکاندیدایی بوده و این گیاه قابلیت استفاده به‌عنوان منبع طبیعی ضدمیکروبی را دارد.

کلید واژه‌ها: *کاندیدا*؛ *آلیوم سارالیکوم*؛ عصاره؛ فعالیت ضدقارچی.

[۱]گروه میکروب‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

[۲]گروه علوم زیستی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
محبوبه مدنی، گروه میکروب‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
mmadani66@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱

تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۳۰

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Bidad F, Madani M, Masoumi SM. Evaluation of anticandidal effects of *Allium saralicum*. Qom Univ Med Sci J 2017:11(6):10-26. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

مقدمه

کاندیدا آلبیکنس، مهم‌ترین و معمول‌ترین ساکن دستگاه تناسلی، دهان و لوله گوارش انسان است. سایر گونه‌های *کاندید*، گاهی جزئی از فلور طبیعی جلد و مخاط محسوب می‌شوند که در مجموع، قدرت بیماری‌زایی محدودتری داشته و از طریق منابع خارجی به بدن راه می‌یابند. گونه‌های *کاندیدا*، عامل طیف وسیعی از بیماری‌ها ازجمله عفونت‌های جلدی، جلدی - مخاطی، واژینیت، بالانیت، عفونت‌های گوارشی، تنفسی، همچنین عفونت‌های سیستمیک (مسبب آسیب‌پذیری بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، بیماران تحت شیمی‌درمانی یا گیرندگان داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و بیماران دارای نقص سیستم ایمنی) می‌باشند. درصورت تغییر شرایط میزبان مانند مصرف آنتی‌بیوتیک، دیابت، سن، استفاده از قرص‌های ضدبارداری، مصرف سیگار، استفاده از دندان مصنوعی، داروهای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی و شیمی‌درمانی؛ *کاندیدا* بیماری‌زا می‌شود. در ایالات متحده آمریکا، *کاندیدا* به‌عنوان چهارمین علت شایع عفونت‌های بیمارستانی گزارش شده و علت ۹۰٪ از مرگ‌ومیرها می‌باشد. در واقع، ۹۰٪ از عفونت‌های تهاجمی قارچی توسط گونه‌های بیماری‌زا *کاندیدا* ایجاد می‌شود (۵-۱). استفاده از داروهای ضدقارچی جهت پیشگیری و درمان، سبب پیدایش گونه‌های مقاوم به دارو شده است. افزایش گزارشهای متعدد شکست در درمان با داروهای ضدقارچی رایج باعث تشویق محققان جهت یافتن داروهای جدید، همچنین بررسی اثر ترکیب داروهای مختلف برای دستیابی به نتایج بهتر شده است. امروزه، موارد مقاومت گونه‌های مختلف *کاندیدا* به ترکیبات دارویی آزولی و عدم موفقیت در درمان، در حال افزایش است. لذا تحقیق جهت یافتن ترکیبات دارویی جدید، مؤثر و کم ضرر برای انسان، ضروری به‌نظر می‌رسد. تمایل مردم جهان به استفاده از داروهایی با منشأ طبیعی، همچنین تأکید سازمان بهداشت جهانی به جایگزینی تدریجی مواد طبیعی با مواد شیمیایی، موجب شده تا در کشورهای پیشرفته، سرمایه‌گذاری و تولید انبوه گیاهان دارویی در سطوح صنعتی صورت گیرد (۷،۶). یکی از گیاهان دارویی ارزشمند گونه‌های مختلف، جنس آلیوم است که در ارتفاعات غرب و جنوب غرب ایران، معمولاً در فصل بهار به‌صورت خودرو می‌روید. تقریباً تمامی گونه‌های جنس آلیوم دارای پیاز خوراکی بوده که در این بین، پیاز و سیر از بقیه شناخته‌شده‌تر هستند. تعدادی از پیازهای وحشی جنس آلیوم، نام‌های محلی مشابه از نظر اهالی استان کرمانشاه دارند. *سورانه* نام محلی *آلیوم سارالیکوم* است. براساس منابع علمی جدید و بررسی سایت مربوط به باغ گیاه‌شناسی کیو (سال ۲۰۱۰)، این گیاه با نام علمی *Allium saralicum* توسط Reinhard M. Fritsch نامگذاری شده است. خواص دارویی این گیاه شامل درمان بیماری‌های گوارشی، درمان و کاهش دردهای رماتیسمی، سرماخوردگی، دفع سنگ کلیه، درمان قاعدگی دردناک و ترشحات غیرطبیعی واژن، تسکین درد و مشکلات پس از زایمان است. گزارشهای متعددی از آنالیز اسانس و بررسی اثرات ضدمیکروبی سایر گونه‌های آلیوم مانند سیر و پیاز خوراکی وجود دارد (۹،۸). باتوجه به ارزش دارویی گیاهان متعلق به جنس آلیوم و استفاده سنتی از گیاه *آلیوم سارالیکوم* در درمان عفونت‌ها، در این تحقیق اثرات ضدکاندیدایی *آلیوم سارالیکوم* بررسی شد تا به‌طور علمی اثر دارویی گیاه ثابت شود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقایسه‌ای، ابتدا گیاه *آلیوم سارالیکوم* در بهار سال ۱۳۹۳ از کوهستان "شاهو" (بلندترین قله استان کرمانشاه در غرب ایران و از کوه‌های زاگرس) جمع‌آوری شد. نظر به اینکه گیاه مذکور با چند گونه دیگر در ایران دارای نام مشابه در کتب گیاه‌شناسی موجود می‌باشد، لذا جهت شناسایی و نامگذاری به کشور آلمان فرستاده شد و توسط Reinhard M. Fritsch، شناسایی و نامگذاری شد. این گیاه در سایت GBFI با شماره شناسایی ۵۸۲۶۹۸۴ ثبت شده است. به‌منظور حذف گل و لای، گیاه را به‌آرامی شسته و تمامی قسمت‌ها (شامل گل، برگ، ساقه و پیاز) به‌صورت جداگانه در دمای اتاق در سایه قرار گرفت تا خشک شود. سپس به‌وسیله آسیاب برقی، پودر شد تا عمل عصاره‌گیری و نفوذ حلال به داخل گیاه راحت‌تر صورت گیرد. لازم به ذکر است تمام قسمت‌های گیاه به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط و آسیاب شدند. به‌منظور عصاره‌گیری، ۵۰ گرم از مخلوط پودر تهیه‌شده از گیاه را در کاغذ صافی نرم و تمیز پیچیده، سپس با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول، عصاره‌گیری به روش

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

سوکسله انجام شد. مراحل به همین ترتیب برای عصاره پترولیوم اتر نیز صورت گرفت. عصاره‌ها تا زمان استفاده و انجام آزمایشها در ظروف دربسته، در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۱۰). نمونه‌های استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 1677)، *کاندیدا گلابراتا* (*CBS 2175*) و *کاندیدا تروپیکالیس* (*CBS 94*) از دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه فلاورجان انتقال یافتند.

از نمونه‌های *کاندیدا آلبیکنس* (*ATC 1677*)، *کاندیدا گلابراتا* (*CBS 2175*) و *کاندیدا تروپیکالیس* (*CBS 94*) استاندارد برای انجام تست‌های تعیین حساسیت به انواع عصاره‌ها استفاده شد. در شرایط استریل هریک از قارچ‌ها را بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (شارلو، اسپانیا)، کشت داده، سپس در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. از نمونه‌های قارچی به‌طور جداگانه، سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک‌فارلند، تهیه گردید (۱۱).

برای تهیه محلول عصاره متانولی و پترولیوم اتر، ابتدا ۱ میلی‌لیتر از محلول دی متیل سولفوکساید به ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. بدین ترتیب رقت ۱۰٪ دی متیل سولفوکساید به دست آمد. به‌منظور تهیه عصاره گیاه با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نیز ۱ گرم از هر عصاره به‌طور جداگانه در ۴ میلی‌لیتر از دی متیل سولفوکساید ۱۰٪ حل شد. برای هر عصاره، ۶ لوله در نظر گرفته شد و در آنها از محلول دی متیل سولفوکساید ۱۰٪ به میزان ۲ میلی‌لیتر ریخته شد. ۲ میلی‌لیتر از لوله دارای غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به لوله دوم انتقال یافت و بعد از مخلوط کردن، ۲ میلی‌لیتر از محلول لوله دوم به لوله سوم وارد شد و از لوله سوم به لوله چهارم، سپس به لوله پنجم و از لوله پنجم به لوله ششم انتقال داده شد. از لوله ششم، ۲ میلی‌لیتر محلول دور ریخته شد. بدین ترتیب سری رقت‌های به‌دست‌آمده برای هر عصاره ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۵، ۱۵/۷۵ و۷/۸۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بود (۱۲،۱۳). جهت مقایسه اثر عصاره‌های مختلف و تأثیر ضدقارچی آنها به همراه استانداردسازی روش‌های مختلف تست‌های تعیین حساسیت قارچ، اثر آنها با فلوکونازول (Pfizer co. Belgium) مقایسه گردید.

از پودر فلوکونازول، محلولی در دی متیل سولفوکساید تهیه شد و غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۵، ۱۵/۷۵ و ۷/۸۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. محلول فوق ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد، سپس برای انجام آزمایشها به‌عنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت (۱۴). جهت انجام این تست برای مخمرهای *کاندیدا*، از محیط کشت سابورو دکستروز آگار استفاده گردید. به فاصله ۲ سانتی‌متری از یکدیگر و لبه پلیت، با استفاده از پیت پاستور چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در محیط کشت ایجاد شد. در یکی از چاهک‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر و در دیگری، مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از هریک از غلظت‌های عصاره اضافه شد. پس از جذب عصاره‌ها در محیط کشت، میزان ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده از هریک از گونه‌های کاندیدا (۰/۵ مک‌فارلند) بر روی محیط کشت، به‌صورت یکنواخت کشت چمنی داده شدند و محیط‌های کشت به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس وجود یا عدم وجود هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک‌ها بررسی گردید. از محلول حاوی فلوکونازول به‌عنوان شاهد مثبت و از دی متیل سولفوکساید به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد. این آزمایشها برای هر عصاره و هر میکروارگانیسم، ۳ بار تکرار گردید. برای تعیین MIC انواع عصاره‌ها، از روش ماکرودایلوشن استفاده شد. مراحل انجام کار بدین ترتیب بود که برای هر عصاره و هر قارچ ذکرشده در تحقیق، به‌طور مستقل ۱۱ لوله استریل حاوی ۲ میلی‌لیتر محیط کشت سابورو دکستروز براث (شارلو، اسپانیا) تهیه شد. قبل از انجام آزمایش، نمونه سوسپانسیون هریک از قارچ‌ها، معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه گردید (دقیقاً قبل از مصرف تهیه شد تا از رشد و تقسیم در دمای آزمایشگاه جلوگیری شود.) ۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره در لوله شماره ۱ ریخته شد و بعد از میکس‌کردن، ۲ میلی‌لیتر از لوله شماره ۱ برداشته و در لوله شماره ۲ ریخته شد و مراحل کار به‌همین منوال تا لوله دهم ادامه داشت. در ادامه، ۲ میلی‌لیتر از لوله دهم دور ریخته شد. در لوله یازدهم عصاره‌ای وارد نشد و به‌عنوان لوله شاهد رشد در نظر گرفته شد. از سوسپانسیون قارچی تهیه‌شده، ۲۰ میکرولیتر به تمام لوله‌ها اضافه گردید. پس از تکان دادن لوله‌ها و قرار دادن آنها به مدت ۲۷ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در انکوباتور، کدورت

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

حاصل از رشد میکروارگانیسم‌ها با لوله شاهد، مقایسه و ثبت گردید. تمامی مراحل ذکرشده برای هر عصاره و هر میکروارگانیسم، ۳ مرتبه تکرار شد. برای تعیین MFC، از اولین لوله‌ای که کدورت در آن مشاهده شده بود و ۳ لوله قبل از آن، میزان ۲۰ میکرولیتر برداشته و بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت داده شد، پس از انکوبه کردن در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، نتیجه بررسی شد. آزمایش برای محلول فلوکونازول، به‌عنوان شاهد مثبت و دی متیل سولفوکساید ۱۰٪ به‌عنوان شاهد منفی نیز انجام شد. آزمایشها در شرایط دقیقاً یکسان صورت گرفت تا نتایج مقایسه گردد (۱۷-۱۴). در این مطالعه از آزمون کراسکال والیس (به‌منظور مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری *آلیوم سارالیوم* برعلیه قارچ‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس*) تعقیبی من‌ویتنی با تعدیل بونفرونی (جهت مقایسه دوبه‌دو میان غلظت‌ها در هر قارچ) استفاده گردید.

یافته‌ها

براساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمون کراسکال والیس؛ در هر سه مخمر *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس*، اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی مشاهده گردید ($p<0/1$). براساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمون تعقیبی من‌ویتنی با تعدیل بونفرونی نیز در مقایسه‌های دوتایی بین غلظت‌ها، قطر هاله عدم رشد در غلظت بیشتر، به‌طور معنی‌داری بزرگتر بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه *آلیوم سارالیکوم* برعلیه *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس*

غلظت (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
قارچ	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
کاندیدا آلبیکنس	۵/۰±۰/۰	۱۰/۰±۰/۰	۱۷/۰±۱/۰
کاندیدا گلابراتا	۹/۰±۰/۰	۱۳/۰±۰/۰	۱۵/۳±۰/۵
کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰±۰/۰	۱۰/۰±۰/۰	۱۴/۰±۱/۵

براساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمون کراسکال والیس؛ در هر سه مخمر *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس*، اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره پترولیوم اتر مشاهده شد ($p<0/1$). براساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمون تعقیبی من‌ویتنی با تعدیل بونفرونی نیز در مقایسه‌های دوتایی مابین غلظت‌ها، قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره پترولیوم اتری برعلیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* در غلظت بیشتر، به‌طور معنی‌داری بزرگتر بود (جدول شماره ۲).

قطر هاله ممانعت از رشد فلوکونازول در غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر برای گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* به ترتیب برابر ۱۵، ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر برابر ۲۵، ۱۴ و ۱۸ میلی‌متر بود. هاله ممانعت از رشد برای هیچ‌یک از گونه‌های کاندیدا به‌وسیله دی متیل سولفوکساید ایجاد نشد.

جدول شماره ۲: قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره پترلیوم اتر گیاه *آلیوم سارالیکوم* بر علیه *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس*

غلظت (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
قارچ	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
کاندیدا آلبیکنس	۶/۶±۵/۰	۱۲/۳±۱/۵	۱۶/۰±۱/۰	۲۰/۰±۰/۰
کاندیدا گلابراتا	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	۱۱/۳±۲/۳	۱۷/۳±۲/۰
کاندیدا تروپیکالیس	۰/۰±۰/۰	۶/۶±۲/۰	۱۱/۰±۱/۷	۱۶/۳±۱/۵

برای تعیین MIC و MFC مربوط به هریک از عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری گیاه *آلیوم سارالیکوم*؛ اولین رقت لوله‌ای که بعد از گذشت ۲۴ ساعت کدورت در آن مشاهده گردید به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) و یک لوله قبل از آن، به‌عنوان MFC در نظر گرفته شد. کشت این نمونه بر محیط کشت SDA منفی بود. نتایج به‌دست‌آمده از روش ماکرودایلوشن در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

نتایج MIC و MFC فلوکونازول برای *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس*؛ ۱۵/۷۵و ۳۱/۲۵ و برای *کاندیدا* گلابراتا؛ ۳۱/۲۵ و ۶۲/۵ بود.

جدول شماره ۳: میانگین مقادیر MIC و MFC

قارچ	عصاره	MFC	MIC
کاندیدا آلبیکنس	متانولی	۱۲۵	۶۲/۵
	پترولیوم	۶۲/۵	۳۱/۲۵
کاندیدا گلابراتا	متانولی	۱۲۵	۶۲/۵
	پترولیوم	۱۲۵	۶۲/۵
کاندیدا تروپیکالیس	متانولی	۶۲/۵	۳۱/۲۵
	پترولیوم	۱۲۵	۶۲/۵

بحث

نیاکان ما پایه‌گذاران اصلی شاخه‌های مهمی از علوم، به‌ویژه علم پزشکی و آموزش آن در دنیا بوده و سرزمین ایران، سهمی گران در میراث فرهنگی و علمی جهان دارد. طب سنتی ایرانی، یکی از شاخص‌ترین منابع پزشکی سنتی جهان است و این موضوع را می‌توان از گستردگی کتب و قدمت بالای منابع طب سنتی ایران استنباط کرد. نگرش طب سنتی ایران به علم طب و درمان بیماری‌ها؛ در درجه اول نگرش پیشگیرانه، سپس درمانی است (۱۸). در این تحقیق، عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری گیاه *آلیوم سارالیکوم*؛ فعالیت ضدکاندیدایی علیه *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 1677)، *کاندیدا گلابراتا* (CBS 2175) و *کاندیدا تروپیکالیس* (CBS 94) را نشان داد. Tosun و همکاران با بررسی اثر ضدکاندیدایی *آلیوم روتاندوم* نشان دادند قطر هاله عدم رشد در روش انتشار در دیسک برعلیه *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 10231) برای عصاره متانولی گیاه *آلیوم روتاندوم*، ۱۵ میلی‌متر بوده است. قطر هاله عدم رشد در مورد *کاندیدا گلابراتا* (ATCC 6258)، ۱۵ میلی‌متر و در مورد *کاندیدا کروزه‌ای*، ۱۰ میلی‌متر گزارش شد. نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر و مطالعه Tosun و همکاران، خواص ضدمیکروبی گیاهان متعلق به جنس آلیوم را تأیید می‌کند و از مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد، به‌نظر می‌رسد اثر مهاری *آلیوم سارالیکوم* در مقایسه با *آلیوم روتاندوم* قوی‌تر بوده است (۱۰). در اکثر تحقیقات انجام‌شده، رابطه مستقیم بین افزایش غلظت عصاره یا اسانس استخراج‌شده با اثر مهارکنندگی بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها وجود دارد و در اندک مواردی نیز با کاهش غلظت، نتایج مطلوب‌تری حاصل شده است. در تحقیق حاضر با افزایش غلظت عصاره‌ها، نتایج بهتری کسب شد. ارزیابی اثرات ضدمیکروبی گیاه *آلیوم آتروویولاسئوم* توسط دهپور و همکاران نشان داد عصاره متانولی حاصل از گیاه *آلیوم آتروویولاسئوم* دارای اثرات متوسط مهاری، در حدود ۱۶ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد می‌باشد (۱۹). Bagiu و همکاران، اثرات ضدقارچی ترکیبات شیمیایی گیاه *آلیوم یورسینوم* را با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، بررسی و آلیسین موجود در گیاه سیر را شناسایی کردند. ترکیبات دی آلیل دی سولفات و دی آلیل تری سولفات با استفاده از روش GC-MS شناسایی شدند. ترکیبات سولفور از سنتز RNA، DNA، پروتئین و پلی‌ساکاریدها در قارچ‌ها و باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. ترکیبات شناسایی‌شده در این تحقیق که اثرات ضدقارچی گیاه به آن نسبت داده شده است، در اکثر تحقیقات انجام‌شده درگیاهان جنس آلیوم نیز یافت شده و به‌نظر می‌رسد تأثیر مهاری عصاره‌های گیاه *آلیوم سارالیکوم* مورد استفاده در این تحقیق نیز به دلیل وجود ترکیبات ضدکاندیدایی موجود در خانواده آلیوم بوده است (۲۰). Avato و همکاران نشان دادند ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس سیر شامل: دی آلیل دی‌سولفید (۱۵٪) و دی آلیل تری سولفید (۳۸٪) بوده و تأثیرات ضدباکتری آن، کمتر از ضدقارچی است. تحقیقات آنها مشخص کرد ماده مؤثر ضدمیکروبی همان دی آلیل دی سولفید است (۲۱). Motesi و همکاران با بررسی اثر *آلیوم ستیووم* بر *ضدکاندیدا آلبیکنس*، نشان دادند این گیاه دارای اثرات ضدکاندیدایی می‌باشد. در مطالعه دیگری، عصاره‌گیری با استفاده از روش حمام اولتراسوند انجام گرفت و عصاره‌های آبی، اتانولی، اتیل‌استات و هگزان استخراج شدند (۲۲).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

Sangetha و همکاران با استفاده از میکروسکوپ الکترونی TEM و SEM، اثرات عصاره *کاسیا استپکتابیلیس* را بر بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* نشان دادند. در این تحقیق به‌وضوح اثر عصاره و میزان تخریب بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* پس از تأثیر عصاره گیاه بر بیوفیلم دیده شد (۲۳). Furletti و همکاران با بررسی اثر مهاری اسانس دو گیاه *آلیوم توبوروزوم*، *کوریاندروم ستیووم* بر *کاندیدا آلبیکنس* (CBS 562) و *کاندیدا تروپیکالیس* (CBS 94)، نشان دادند هر دو گیاه دارای اثرات مهاری بر رشد بوده، ولی گیاه *آلیوم توبوروزوم*، فعالیت ضدقارچی قوی‌تری را نشان داد. همچنین اسانس گیاه *کوریاندروم ستیووم* برعلیه بیوفیلم کاندیدا دارای فعالیت مهاری بود. ایجاد تغییرات در دیواره قارچ و اندامک‌های داخلی در اثر اسانس نیز نشان‌دهنده تأثیر ضدمیکروبی این گیاه بود و وجود ترکیبات ضدمیکروبی در گیاه را تأیید کرد (۲۴). تحقیق انجام‌شده توسط رزاق‌پرست و همکاران نشان داد عصاره آبی سیر برعلیه *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا دابلینینسیس*، *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* و *مالاسزیا فورفور*(MIC برابر ۶۴-۰/۲۵ میکروگرم برمیلی‌لیتر) دارای اثر مهاری است (۲۵). در مطالعه حاضر عصاره‌های گیاه *آلیوم سارالیکوم* دارای اثر مهاری علیه گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* بودند، همچنین *کاندیدا تروپیکالیس* به عصاره متانولی گیاه و *کاندیدا آلبیکنس* به عصاره پترولیوم اتر حساس‌تر بودند. Lemar و همکاران با بررسی عوامل ضدکاندیدایی عصاره سیر تازه با استفاده از روش Multiwall Plate Reader، تأثیر گیاه سیر و از دست رفتن ساختار قارچی و خروج اندامک‌های حیاتی مخمر را نشان دادند که در نهایت، موجب مرگ سلول قارچی شد (۲۶). امیری با بررسی عصاره‌های آبی، اتانولی، اتری و متانولی گیاه *آلیوم جسدیانوم*، نشان داد عصاره اتانولی گیاه از اسانس و سایر عصاره‌های آبی و متانولی، اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری دارد (۹). عصاره گیاه *آلیوم سارالیکوم* مورد استفاده در این تحقیق دارای اثرات ضد قارچی برای گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* بود. احتمالاً استفاده از اسانس گیاه *آلیوم سارالیکوم* به جای عصاره، نتایج متفاوتی خواهد داشت که نیاز به بررسی دارد.

جعفری ندوشن و همکاران، تأثیر مهاری عصاره آبی سیر را برگونه‌های *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا آلبیکنس* بررسی کردند که نتایج نشان داد *کاندیدا تروپیکالیس*، حساس‌ترین گونه می‌باشد. در این تحقیق مشخص گردید *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با *کاندیدا تروپیکالیس*، حساسیت کمتری به عصاره سیر دارند (۶). در تحقیق حاضر *کاندیدا تروپیکالیس* به عصاره متانولی گیاه و *کاندیدا آلبیکنس* به عصاره پترولیوم اتر حساس‌تر بودند و تأثیر فلوکونازول بر گونه‌های کاندیدا، بیش از عصاره‌های مورد بررسی بود.

Ankri و Mirelman با بررسی اثر مهاری آلیسین موجود در سیر تازه با استفاده از روش ماکرودایلوشن بر گونه‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا کروزه‌ای* به این نتیجه دست یافتند که آلیسین ترکیب اصلی مسئول برای جلوگیری از مهار رشد قارچ‌ها می‌باشد. همچنین از تولید مایکوتوکسین، آفلاتوکسین در *آسپرژیلوس پاراسیتیکوس*، ممانعت به عمل می‌آورد. براساس نتایج MIC (۰/۳ میکروگرم برمیلی‌لیتر)، تأثیر ترکیبات ضدقارچی استخراج‌شده از گیاهان دارویی بیشتر از عصاره گیاهی بود. نتایج MIC مربوط به تأثیر آلیسین بر نمونه‌های *کاندیدا آلبیکنس* جداشده از بیمار نیز بهتر از عصاره بود (۲۷). این در حالی است که در تحقیق رزاق‌پرست و همکاران، هنگامی‌که از عصاره سیر تازه استفاده شده بود، حداقل غلظت مهارکنندگی در محدوده ۳-۱ میکروگرم برمیلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده تأثیر بهتر گیاه تازه می‌باشد (۲۵). مدنی و همکاران با بررسی فعالیت عصاره و شیرابه تغلیظ‌شده گیاه *آلیوم جسدیانوم*، نشان دادند شیرابه (عصاره گیاه تازه)، دم‌کرده و عصاره آبی این گیاه دارای اثر مهاری بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد (۲۸). شیرانی و همکاران نیز تأثیر اسانس *آلیوم جسدیانوم* را بر *کاندیدا کروزه‌ای* نشان دادند (۲۹). نتایج تحقیق حاضر، تأثیر عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری گیاه *آلیوم سارالیکوم* را علیه *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا* و *کاندیدا تروپیکالیس* برای اولین‌بار نشان داد. بررسی عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری گیاه *آلیوم سارالیکوم* بر نمونه‌های بالینی کاندیدیازیس در شرایط in vivo، امکان استفاده از این گیاه را جهت درمان نشان خواهد داد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد گیاه *آلیوم سارالیکوم* که در تحقیقات پیشین اثرات ضدباکتریایی یا ضدقارچی آن مورد توجه نبوده، دارای اثرات ضدقارچی می‌باشد. ارزیابی‌ها نشان دادند عصاره‌های متانولی و پترولیوم اتری گیاه دارای اثرات ضدقارچی می‌باشد. لذا به‌نظر می‌رسد با توجه به مشکلات پیش‌روی جامعه پزشکی در درمان و کنترل عفونت‌ها، توجه و بررسی بیشتر بر روی این منابع ارزشمند، کم‌ضرر، ارزان و در دسترس حایز اهمیت است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پروفسور فریتش برای شناسایی گیاه، مسئولین هرباریوم دانشگاه رازی کرمانشاه، همچنین مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و تمامی عزیزان که در انجام این تحقیق ما را همراهی نمودند، سپاسگزاری می‌نماییم.

References:

1. Kinghorn GR. Vulvovaginal candidosis. J Antimicrob Chemother 1991;28 Suppl A:59-66.

2. McCormack WM Jr, Zinner SH, McCormack WM. The incidence of genitourinary infections in a cohort of healthy women. Sex Transm Dis 1994;21(2):63-4.

3. Khosravi A. Fungal disease and immune response. Tehran: Tehran University Pub; 2004. [Text in Persian]

4. Samsam Shariyat H. Fraction of natural extracts for medical plants. 2nd ed. Esfahan: Mani Pub; 2003. [Text in Persian]

5. Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of Candida albicans. Trends Microbiol 2004;12(7):317-24.

6. Jafari Nodoushan AA, Dehghani M, Mirbagheri SM. In vitro antifungal effect of aqueous garlic (allium sativum) extract and its combination with fluconazole against five common clinical candida isolated from candidiasis lesions. J Kerman Univ Med 2003;14(3):153-62. [Full Text in Persian]

7. Morshhauser J. The genetic basis of fluconazole resistance development in Candida albicans. Biochim Biophys Acta 2002; 1587(2-3):240-8.

8. Masoumi SM. The Plants of Kermanshah. Kermanshah: Kowsar Pub; 1997. [Text in Persian]

9. Amiri H. Evaluation of different ingredient essential oil and extracts of Allium jesdianum Bois. Q J Med Plants 2006;5(1). [Full Text in Persian]

10. Tosun a, Bahadir o, Altanlar n. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine in Turkey. Turkish J Pharm Sci 2006;3:167-76.

11. Olila D, Olwa-Odyek, Opuda-Asibo J. Antibacterial and antifungal activities of extracts of Zanthoxylum chalybeum and Warburgia ugandensis, Ugandan medicinal plants. Afr Health Sci 2001;1(2):66-72.

12. Pirnia M, Edalatian Dovom MR, Tabatabaee Yazdi F, Shahidi F. The antibacterial effects of the aqueous and ethanolic extracts of Cordia myxa L. Fruit on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli, and Salmonella typhi. Qom Univ Med Sci J 2015;9(4):39-48. [Full Text in Persian]

13. Arzhang M, Dakhili M, Farahani F. Investigation of chemical compounds and anti-microbial activity of essential oil of Melissa officinalis L. Qom Univ Med Sci J 2015;9(1-2):7-13. [Full Text in Persian]

14. Afarin H, Dakhili M, Zofaghari MR. Comparison of the antimicrobial effect of Vitex agnuscastus essential oil with common antibiotics in vitro. Qom Univ Med Sci J 2015;9(3):12-9. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 12:42 IRST on Saturday September 23rd 2017

15. Ncube B, Finnie J.F, Van Staden J. In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs. J Ethnopharmacol 2012;39(1):81-9.

16. TSAO S, YIN M. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring Naturally in garlic and Chinese leek oils. J Med Microbiol 2001;50(7):646-9.

17. Taghizadeh Armaki M, Farahbakhsh E, Hossein Yadegari M, Rajabi Bazl M, Katiraee F. Evaluating the sensitivity of Candida Albicans isolates from oral candidiasis of AIDS Patients to fluconazole by micro dilution broth and disk diffusion methods. J Isfahan Med Sch 2011;29(158):1368-137. [Full Text in Persian]

18. Esfahani MM, Zolfaghari B, Karimi H, Ghannadi A. Traditional Iranian Medicine; A valuable source to introduce medicinal functional foods. J Islamic Traditional Med 2012;3(1):77-94. [Full Text in Persian]

19. Dehpour A, Babakhani B, Khazaei S, Asadi M. Chemical composition of essential oil and antibacterial activity of extracts from flower of Allium atroviolaceum. J Med Plants Res 2011;5(16):3667-72.

20. Bagiu RV, Vlaicu B, Butnariu M. Chemical composition and in Vitro antifungal activity screening of Allium ursinum L. (Liliaceae). Int J Mol Sci 2012;13(2):1426–36.

21. Avato P, Fanizzi FP, Rosito I. The genus Thapsia as a source of petroselinic acid Lipids 2001;36(8):845-50.

22. Motsei ML, Lindsey KL, van Staden J, Jäger AK. Screening of traditionally used South African plants for antifungal activity against Candida albicans.Elsiver. J Ethnopharmacol 2003;86(2-3):235-41.

23. Sangetha S, Zuraini Z, Suryani S, Sasidharan S. In situ TEM and SEM studies on the antimicrobial activity and prevention of Candida albicans biofilm by Cassia spectabilis extract. Micron 2009;40(4):439-43.

24. Furletti VF, Teixeira IP, Obando-Pereda G, Mardegan RC, Sartoratto A, Figueira G. M, et al. Action of Coriandrum sativum L. Essential Oil upon Oral Candida albicans Biofilm Formation. Evid Based Complement Alternat Med 2011;2011:985832.

25. Razzak parast A, Shams Ghahfarokhi M, Yadegari M, Razaghi Abyaneh M. The effect of aqueous garlic extract individually and in combination with fluconazole, itraconazole and Ketoconazole on pathogenic yeasts. J Gorgan Univ Med Sci 2009;11(1):49-56. [Full Text in Persian]

26. Lemar KM, Turner MP, Lloyd D. Garlic (Allium sativum) as an anti-Candida agenta comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts J Appl Microbiol 2002;93(3):398-405.

27. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infect 1999;1(2):125-9.

28. Madani M, Khosravi AR, Shirani M. Comparisonof the In vitro effect of different Allium jesdianum extracts on candida spp. J Biology Sci 2010;3(1):63-71. [Full Text in Persian]

29. Shirani M, Madani M, Khosravi AR, Hoseindoust SR. Evaluation of Antifungal activity of essential oil of Allium jesdianum on Malassezia furfur and candida Krusei. Jundishapour J Microbiol 2013;Special Edition.