

# بررسی خاصیت ضدقارچی عصاره تازه سیر بر کاندیدا آلبیکانس

دکتر محمد مهدی فانی<sup>۱</sup> دکتر عبدال مهدی عراقی زاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> استادیار بیماریهای دهان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز<sup>۲</sup> استادیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

مجله پزشکی هرمزگان سال سیزدهم شماره سوم پاییز ۸۸ صفحات ۱۴۸-۱۴۳

## چکیده

**مقدمه:** کاندیدا آلبیکانس عامل یکی از متداولترین ضایعات دهانی (Denture stomatitis) در بیماران استفاده کننده از دندان مصنوعی می باشد که با توجه به بررسی های بعمل آمده در مورد خاصیت ضدقارچی عصاره سیر، این خاصیت در مقایسه با خاصیت آنتی فانگال داروهای نیستاتین، کلوتریمازول و آمفوتریسین سنجدیده شد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، با استفاده از کاندیدا آلبیکانس استاندارد که به محیط کشت CHROM Agar *Candida* اضافه گشته بود، غلظتهای رقیق شده سریال از ۱۶ الی  $10^{-1}$   $10^{-12}$  mg اضافه گردید و مینیم بازدارندگی مربوطه به هر دارو و عصاره سیر اندازه گیری شد. از نرمال سالین بعنوان کنترل استفاده شد.

**نتایج:** عصاره سیر حتی تا غلظت کم  $10^{-3}$  mg نیز خاصیت ضدقارچی دارد. اما کلوتریمازول فقط تا غلظت  $10^{-1}$  mg  $10^{-6}$  می تواند از رشد کاندیدا جلوگیری نماید. آمفوتریسین و نیستاتین نیز تا غلظت  $10^{-1}$  mg خاصیت ضدقارچی دارند.

**نتیجه گیری:** قدرت ضدقارچی عصاره تازه سیر در آزمایش مطالعات آزمایشگاهی از داروهای نیستاتین، آمفوتریسین و کلوتریمازول بیشتر است اگر چه در غلظتهای  $10^{-1}$  mg و بیشتر همگی مؤثر می باشند.

**کلیدواژه ها:** کاندیدا آلبیکانس - سیر - عوامل ضدقارچ

نویسنده مسئول:

دکتر محمد مهدی فانی

بخش بیماریهای دهان - دانشکده

دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی

شیراز

شیراز - ایران

تلفن: +۹۸ ۹۱۷۱۱۸۵۸۳

پست الکترونیکی:

fanim@sums.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۶/۱۲/۱۵ اصلاح نهایی: ۸۸/۲/۱ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۸

## مقدمه:

سیر با نام علمی "Allium sativum" یکی از بیشترین تحقیقات گیاهی دارویی را تاکنون به خود اختصاص داده است که از زمانهای قدیم در طب سنتی یونانی - چینی و ایرانی تجویز می شده است (۱).

بوی کاملاً مشخص و متمایز سیر به دلیل وجود ماده آلیسین و فعالیت آنزیمی بنام آلیناز "allinase" که حاوی مواد سولفوری مانند Cystein sulfoxid می باشد، است و متعاقب بریدن و فشردن حبه تازه آن بدست می آید (۲).

اگرچه وجود برخی تیوسولفیناتهای دیگر موجود در سیر نیز در خاصیت درمانی آن ذکر شده است (۳).

مقالات متعددی به خاصیت ضدباکتریال عصاره سیر اشاره کرده اند که در همگی آنان آلیسین و مشتقات دیگر سولفوری موجود در سیر باعث خاصیت جلوگیری از رشد میکروپهای

گرم مثبت یا منفی از قبیل Enterobacter Micrococcus .Pseudomonas Lactobacillic Klebsiella .Escherichia Helicobacteria Protevs Shigella Salmonella شده است (۶-۴). عصاره سیر همچنین بر روی ارگانیزمهایی از قبیل Klebsiella Pneumonia Pseudomonas aeruginosa و Mycobacterium tuberculosis نیز خاصیت مهاری دارد (۷،۸). خاصیت ضدقارچی (۹) و ضدویروس (۱۰) نیز در مورد عصاره سیر گزارش شده است.

کاندیدا آلبیکانس عامل اصلی ایجاد کاندیدای دهانی در بیماران استفاده کننده از دندان مصنوعی می باشد. درمان های متداولی جهت رفع کاندیدای دهانی پیشنهاد شده است که عمدتاً مبتنی بر استفاده از داروهای ضدقارچی مانند نیستاتین، آمفوتریسین و کلوتریمازول می باشد که عموماً

تکنیک Bauer (۱۴) به هر تیوب مقدار (۰/۲۰ml) از محلول حاوی کاندیدا آلیکانس را اضافه نمودیم و با رعایت دستورات (National committee of clinical laboratory NCCLS standards) پس از ۷۲ ساعت بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت هر تیوب جهت امکان رشد کاندیدا آلیکانس بررسی گردید و کمترین غلظت از هر دارو که توانایی جلوگیری از رشد کاندیدا را داشته است، بعنوان Minimum (MIC) Inhibitory concentration در نظر گرفته شد و یافته‌های این تحقیق با کمک تست استیوندت آنالیز آماری گردید.

### نتایج:

اندازه‌گیری MIC در تیوبهای با غلظت متفاوت نشانگر این است که همگی داروهای نیستاتین، آمفوتریسین، کلوتریمازول همراه با عصاره سیر تا غلظت  $128 \text{mg l}^{-1}$  توانایی جلوگیری از رشد کاندیدا آلیکانس را دارند. نرمال‌سالیین که بعنوان کنترل در مطالعه دخالت داده شده است، در هیچ غلظتی حتی  $512 \text{mg l}^{-1}$  خاصیت ضدقارچی را در محیط کشت نشان نداد. در غلظت  $64 \text{mg l}^{-1}$  فقط کلوتریمازول از بین داروهای ضدقارچی توانایی جلوگیری از رشد کاندیدا را دارد. در این غلظت عصاره سیر نیز خاصیت آنتی‌فانگال خود را حفظ کرد اما داروهای نیستاتین و آمفوتریسین در این غلظت توانایی جلوگیری از رشد کاندیدا آلیکانس را ندارند. در غلظت  $32 \text{mg l}^{-1}$  کلوتریمازول نیز خاصیت کشندگی خود را از دست داده و در این غلظت کاندیدا آلیکانس در تیوب رشد نمود اما حتی در این غلظت نیز عصاره سیر توانایی جلوگیری از رشد (MIC) خود را حفظ نمود. در غلظت  $16 \text{mg l}^{-1}$  در تمامی تیوبهای مورد مطالعه کاندیدا آلیکانس رشد نموده و باعث ایجاد کدروت در تیوب هنگام بررسی با دستگاه اسپکتروفتومتر گردید.

مدتی مؤثر بوده و ناراحتی دهانی در بسیاری از موارد مجدداً عود می‌نماید (۱۱).

با توجه به مقالاتی که در مورد خاصیت ضدقارچی عصاره سیر منتشر شده‌اند، در این پژوهش مقرر شد که خاصیت ضدقارچی آلیسین موجود در عصاره سیر با خاصیت ضدقارچی ۳ داروی متداول نیستاتین، آمفوتریسین و کلوتریمازول اندازه‌گیری شود و با نرمال‌سالیین بعنوان گروه کنترل مقایسه گردد.

### روش کار:

تهیه عصاره تازه سیر:

مقدار ۸۰ گرم از حبه‌های تازه سیر مطابق با روش Bakri (۱۲) پس از له شدن به صورت هموژنیزه در ۱۰۰ میلی‌لیتر نرمال‌سالیین استریل سانتریفوژ گردید و از فیلترواتمن شماره یک عبور داده شد. با در نظر گرفتن مواد غیرمحلول حاصله نسبت به وزن سیر اولیه، غلظت عصاره بدست آمده (W/V) ۶۴٪ در نظر گرفته شد.

محلول فوق تا زمان استفاده در دمای  $-70^{\circ}\text{C}$  در سانتی‌گراد نگهداری گردید. غلظت دقیق آلیسین موجود در محلول فوق بوسیله واکنش با 4-Mercapto pyridine با کمک دستگاه اسپکتروفتومتریک و مطابق با تکنیک Miron (۱۳) عدد  $260 \text{ mg/ml}$  اندازه‌گیری شد. همچنین از کاندیدا آلیکانس استاندارد شماره GDH2346 و محیط کشت CHROM agar candida (محصول فرانسه) و Corn meal agar Salivarious – Bacitracin جهت تست Serial tube استفاده گردید.

محیطهای کشت بدست آمده به ۵ گروه A (برای آمفوتریسین)، C برای کلوتریمازول، N برای نیستاتین، G برای عصاره سیر و S برای نرمال‌سالیین تقسیم گردید. که هر گروه نیز حاوی ۶ تیوب با غلظتهای به ترتیب  $1^{-1} 512 \text{mg}$ ، ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶ از داروهای موردنظر آزمایش بودند. با

جدول شماره ۱-

غلظت هر تیوپ $\text{mg}^{-1}$	نرمال سالین (S)	عصاره سیر (G)	کلوتریمازول (C)	نیستاتین (N)	آمفوتریسین (A)
۵۱۲	-	+	+	+	+
۲۵۶	-	+	+	+	+
۱۲۸	-	+	+	+	+
۶۴	-	+	+	-	-
۳۲	-	+	-	-	-
۱۶	-	-	-	-	-

+ توانایی جلوگیری از رشد کلونی‌های کاندیدا البیکانس

- عدم توانایی از رشد کلونی‌های کاندیدا البیکانس

### بحث و نتیجه‌گیری:

کاندیدا آلبیکانس به همراه ۳ سوژ دیگر خود (یعنی کاندیدا پاراپزیلویزیس، گراناتا و تروپیکالیس) متداول‌ترین مشکل بیماران استفاده‌کننده از دست دندان مصنوعی یعنی (Denture stomatitis) را ایجاد می‌کند (۱۵). درمانهای معمول جهت از بین بردن کاندیدیازیس دهانی عموماً بر پایه استفاده از داروهای ضدقارچ نیستاتین، کلوتریمازول و آمفوترسپین  $\beta$  می‌باشد که در برخی موارد با برگشت ضایعه نیز همراه می‌گردد (۱۱). با توجه به استقبال عموم بیماران از داروهای با منشأ گیاهی (Herbal medicine) جهت درمان مشکلات خود و خصوصاً با توجه به پیشینه تاریخی استفاده از خواص دارویی سیر در طب سنتی، استفاده از عصاره سیر به منظور رفع کاندیدیازیس دهانی مورد توجه محققین می‌باشد.

در این پژوهش، با توجه به یافته‌های بدست آمده از مطالعه حاصل، مشخص می‌گردد که در بین سه داروی مورد آزمایش، کلوتریمازول از نیستاتین و آمفوتریسین خاصیت ضدقارچی بیشتری دارد به طوری که حتی در غلظت  $16\text{mg}^{-1}$  نیز توانایی خود را حفظ نموده است. همچنین مشخص شد که نیستاتین و آمفوتریسین از نظر خاصیت ضدقارچی در یک رده می‌باشند و هر دوی آنها تا غلظت  $128\text{mg}^{-1}$  توانایی آنتی‌فانگال دارند اما در غلظتهای کمتر از این، مؤثر نمی‌باشند. نکته حائز اهمیت این مطالعه، مؤثر بودن عصاره سیر حتی بیشتر از داروی کلوتریمازول است و در غلظت  $128\text{mg}^{-1}$  نیز که کلوتریمازول قدرت خود را از دست می‌دهد، عصاره سیر توانایی جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکانس را حفظ نموده است ( $P < 0/05$ ).

در غلظتهای کم ( $16\text{mg}^{-1}$ ) دیگر نه عصاره سیر و نه هیچ کدام از ۳ داروی فوق آنتی‌فانگال نمی‌باشند و در غلظتهای بالا تا  $512\text{mg}^{-1}$  همگی از رشد کاندیدا ممانعت می‌نمایند. در گروه کنترل که از غلظتهای سریال نرمال‌سالین استفاده شده بود، کاندیدا آلبیکانس حتی در غلظت  $512\text{mg}^{-1}$  نیز رشد نموده بود که این مطلب نیز قابل پیش‌بینی بوده است.

در این مطالعه *in vitro* خاصیت ضد قارچی سیر تأیید گردید و این یافته با نتیجه مطالعات دیگری که در مورد خاصیت آنتی‌باکتریال، آنتی‌فانگال و آنتی‌ویرال عصاره سیر انجام گرفته بود، همخوانی دارد (۱۸-۱۶). علاوه بر این، در مطالعات *in vivo* که بر روی حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته است، تأثیر عصاره سیر حتی بر میکروب *Staph.aureus* مقاوم به متی‌سیلین (۱۹) و یا بر روی ویروسهای Cytomegal نیز تأیید شده است (۲۰).

به طور خلاصه یافته‌های این مطالعه مشخص می‌نماید که عصاره تازه سیر به طور معنی‌داری توانایی ضدقارچی دارد و اگر فرم ژل یا دهانشویه توسط کارخانه‌های بهداشتی تولید شود، امکان استفاده درمانی در عفونتهای کاندیدای دهان را دارد. اگرچه عوارض جانبی (توکسیک بودن در کبد، کلیه و یا مغز استخوان) نیز باید مدنظر قرار گیرد و عوارضی مانند استفراغ، سرگیجه و اسهال نیز در حالت استفاده اورال آن گزارش شده است (۲۱).

## سپاسگزاری:

انجام این تحقیق با مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است که بدینوسیله قدردانی می گردد.

## References

## منابع

1. Fataneh F. Anti-fungal activity of herbal extract in vitro. 1<sup>st</sup> ed. Isfahan: Isfahan University of Medical Sciences: 1991;85-93 [Persian]
2. Ross ZM, O'Gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV, Maslin DJ. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67:475-480.
3. Ellmore GS, Feldberg RS. Alliin lyase localization in bundle sheaths of the garlic clove (*Allium Sativum*). *American Journal of Botany.* 1994;81:89-94.
4. Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51:241-246.
5. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1999;1:125-129.
6. Sivam GP, Lampe JW, Ulness B, Swanzy SR, Potter JD. Helicobacter pylori-in vitro susceptibility to garlic (*Allium Sativum*) extract. *Nutr Cancer.* 1997;27:118-121.
7. Jonkers D, Sluimer J, Stobberingh E. Effect of garlic on vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:3045.
8. Jain RC. Antitubercular activity of garlic oil. *Indian J Pathol Microbiol.* 1998;41:131.
9. Ghannoum MA. Inhibition of candida adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of *Allium sativum* (garlic). *J Appl Bacteriol.* 1990;68:163-169.
10. Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD, Hughes BG. In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Med.* 1992;58:417-423.
11. Maver-Biscanin M, Mrvavak-Stipetic M, Jerolimov V. Effect of low-level laser therapy on candida albicans growth in patients with Denture stomatitis. *Photomed Laser Surg.* 2005;23:328-332.
12. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral Biol.* 2005;50:645-651.
13. Miron T, Shin I, Feigenblat G, Weiner L, Mirelman D, Witchek M, et al. A spectrophotometric assay for allicin, alliin and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: Reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfates. *Anal Biochem.* 2002;307:76-83.
14. Roche J, Parker SJ, McAdam L, editors. Laboratory methods for detection of antibacterial resistance. In: Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Baily and Scott's diagnostic microbiology. Stlouis: Mosby Inc; 1998:250-272.
15. Maver-Biscanin M, Mravak-Stipetic M, Jerolimov V, Biscanin A. Fungicidal effect of diode laser irradiation in patients with Denture stomatitis. *Laser Surg Med.* 2004;35:259-262.
16. Chowdhury Ak, Ahsan M, Islam SN, Ahmeh ZU. Efficacy of aqueous extract of garlic and allicin in experimental shigellosis in rabbits. *Indian J Med Res.* 1991;93:33-36.
17. Young k. Preliminary clinical observation on 17 cases of pulmonary tuberculosis treated by the intrabronchial administration of garlic juice. *Shandong Yi Kan.* 1959;21:24-25.

18. Jarvinen H, Tenovuo J, Huovinen P. In vitro susceptibility of streptococcus mutans to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:1158-1159.
19. Tsao SM, Hsu CC, Yin MC. Garlic extract and two diallyl sulphide inhibit methicillin-resistant staphylococcus aureus infection in BALB/cA mice. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:974-980.
20. Fang F, Li H, Cui W, Dong Y. Treatment of hepatitis caused by cytomegalovirus with allitridin injection: An experimental study. *J Tongji Med Univ.* 1999;19:271-274.
21. Davis LE, Shen Jk, Cai Y. Antifungal activity in human cerebrospinal fluid and plasma after intravenous administration of Allium Sativum. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34:651-653.

Archive of SID

## Anti fungal activities of fresh garlic extract on candida albicans

M.M. Fani, DDS<sup>1</sup>     A.M. Araghizadeh, DDS<sup>2</sup>

Assistant Professor Department of Oral Medicine , School of Dentistry<sup>1</sup> , Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran , Assistant Professor Department of Community Medicine<sup>2</sup> , Hormozgan University of Medical Sciences , Bandar Abbas , Iran.

(Received 5 Mar, 2008    Accepted 28 Apr, 2009)

### ABSTRACT

**Introduction:** Denture stomatitis is one of the most problem in denture wearers and related to candida albicans. In This study we aimed to determine garlic extract as an antifungal agent in oral candidiasis.

**Methods:** Candida albicans growth in CHROM Agar was made serial dilution from 16 to 512 mg l<sup>-1</sup> from fresh garlic extract and measured minimum Inhibitory Concentration. Normal saline was used as control.

**Results:** Garlic extract showed antifungal activities in 32 mg l<sup>-1</sup> concentration, where clotrimazol showed its antifungal activity in 64 mg l<sup>-1</sup> concentration and both Amphotericin and Nystatin showed their activities in 128 mg l<sup>-1</sup> concentration.

**Conclusion:** Garlic extract in invitro studies is more than Nystatin, Amphotericin and clotrimazol, even though, all of the one effective in higher than 128 mg l<sup>-1</sup> concentration.

**Key words:** Candida Albicans – Garlic – Antifungal Agents

*Correspondence:*

M. M. Fani, DDS.

Department of Oral  
Medicine, School of  
Dentistry, Shiraz University  
of Medical Sciences.

Shiraz, Iran

Tel: +98 9171118583

Email:

fanim@sums.ac.ir