ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره الکلی کلاله و سافرانول گیاه زعفران بر روی رشد کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس در شرایط آزمایشگاهی

نویسندگان :

مریم رودباری ، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ایران .

شهلا رودبار محمدی* ، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ایران .

منیره حاجی مرادی ، گروه ایمنی شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ایران .

مجتبی تقی زاده ارمکی ، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ایران .

فاطمه قاسمی سخا ، کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد دامغان. ایران .

محمود وحیدی ، گروه قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ایران .

مجله دانشگاه علوم پزشکی جهرم ، دوره هفتم ، شماره دو ، پاییز ۸۸

چکیده :

مقدمه : گونه‌های کاندیدا قارچ های فرصت طلبی هستند که در بیماران با نقص ایمنی، بیماری های قارچی مهاجم را سبب می‌شوند. زعفران گیاهی با اثرات درمانی متعدد از قبیل فعالیت ضد قارچی مطرح است. در این تحقیق اثرات ضد قارچی عصاره الکلی و سافرانول گیاه زعفران بر رشد کاندیدا آلبیکنس و دابلینینسیس ارزیابی شد .

مواد و روش تحقیق : عصاره الکلی و سافرانول زعفران با روش میکرودایلوشن بر روی کاندیدا آلبیکنس و دابلینینسیس اثر داده شد. بدین منظور غلظت های ۵۰۰ و ۲۵۰ و ۱۲۵ و ... میلکروگرم درمیلی لیتر از عصاره الکلی زعفران و غلظت های ۲۵ و ۱۲ و ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر از سافرانول تهیه و بر تعداد مشخصی از دوگونه کاندیدا اثر داده شد. تست حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) درمحیط سابورو ارزیابی شد .

یافته ها : میزان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره الکلی کلاله زعفران برای کاندیدا آلبیکنس ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینینسیس ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بود و MFC برای کاندیدا آلبیکنس ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینینسیس ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر است . هم چنین حداقل غلظت مهارکننده سافرانول زعفران برای کاندیدا آلبیکنس ۱۲/۵ میکروگرم درمیلی لیتر و برای کاندیدا دابلینینسیس ۶/۲۵ میکروگرم درمیلی لیتر بود .

نتیجه گیری : به نظر می‌رسد عصاره الکلی و سافرانول رشد دوگونه کاندیدا آلبیکنس و دابلینینسیس را مهار می کنند، اما سافرانول اثرات ضد قارچی قوی تری نسبت به عصاره زعفران داشته و کاندیدا دابلینینسیس نیز ازکاندیدا آلبیکنس حساس تر است . بنابراین عصاره الکلی کلاله و سافرانول زعفران‌به عنوان مهار کننده های رشد کاندیدا در درمان عفونت های قارچی مطرحند .

واژه گان کلیدی : کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا دابلینینسیس، عصاره الکلی کلاله و سافرانول زعفران، اثرات ضد قارچی

* نویسنده مسئول ، آدرس : تهران ، دانشکده علوم پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس پست الکترونیک : sh.mohammadi@modares.ac.ir

تلفن: ۴۰ ۸۴۵ ۸۲۸-۰۲۱ همراه : ۳۱ ۶۸ ۳۰۰ ۰۹۱۲

تاریخ دریافت : ۸۷/۱/۱ تاریخ پذیرش : ۸۸/۹/۲۵

مقدمه :

بیماری های قارچی از جمله بیماری های شایع در جهان هستند که بار اجتماعی و مالی فراوانی را به جوامع انسانی تحمیل می کنند . یک سوم زنان در طی دوران باروری و نیمی از زنان تا پایان عمر حداقل یک بار عفونت های واژنیت کاندیدیابی را تجربه می کنند[۱]. کاندید یازیس توسط گونه های کاندیدا رخ می دهد و گونه های مختلف کاندیدا به صورت هم زیست در مجاری مخاطی و گوارشی بدن وجود داشته و در شرایطی که مقاومت میزبان به صورت موضعی و یا سیستمیک دچار اختلال می گردد به صورت پاتوژن عمل می کنند[۲]. آنتی بیوتیک های مصنوعی (سنتیک) علیرغم نقش مهمی که در درمان دارند سبب بروز مقاومت های دارویی نیز می شوند . بنابراین امروزه بیش تر پژوهش ها به سمت استفاده از گیاهان دارویی معطوف شده است . به منظور دستیابی به مواد طبیعی داروی با خواص ضد قارچی ، عصاره های گیاهی و اسانس ها مورد توجه محققین می باشند . به همین منظور در این تحقیق ، اثرات ضد قارچی عصاره های الکلی کلاله زعفران و سافرانول این گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت. گیاه زعفران با نام علمی Crocus sativum جز خانواده زنبق ،رده تک لپه ای ها می باشد که در مناطق مختلف قدرت رویش دارد. که به نام های زعفران، حاوی ، جادی، لرکیماس، ادن در لغت نامه ها و فرهنگ ها انسان ها قرار گرفته است . زعفران گیاه پیاز دار چند ساله است که تا حدود ۱۰ تا ۳۰سانتی متر ارتفاع دارد. گل زعفران به نام زعفران (Rose of the saffron) نامیده می شود، درون گل خامه قرار دارد. یک فیلانت طویل سفید رنگ با نوک نارنجی که به یک کلاله قرمز رنگ ۲ شاخه ای به طول ۲/۵ تا ۳ سانتی متر منتهی می شود . کلاله پس از خشک شدن محصول تجاری زعفران را تشکیل می دهد [۳] . هر کلاله حدود ۲ میلی گرم وزن دارد و اندازه آن بیانگر مرغوبیت خاک و شرایط آب و هوایی است [۴] . در ایران از هر۳ کیلوگرم گل شکسته شده بین۴۰ تا ۴۵ گرم زعفران خشک تولید می شود [۵] .

زعفران به عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم در هندوستان بوده است که از آن به عنوان تقویت کننده قلب ، پاد زهر قوی داروی نشاط آور، تقویت کننده کبد و اعصاب، درمان آکنه و جوش، بیماری های پوستی، خونریزی مغزی و آرتروز، آسم، سل ریوی ، سینه درد، سوءهاضمه ،دهان شویه، آب مروارید ، انسداد مجاری صفراوی و ... استفاده می شود [۶و۷] . عمده ترین ترکیبات موجود در کلاله شامل کربوهیدرات ها، مواد معدنی، ویتامین، چربی، رنگ ریزه ، متروزوئیدی تلخی به نام پیکروکروسین و ترکیبات فرار می باشد.

در بررسی های انجام شده توسط محققین مختلف در سال ۲۰۰۳ از جمله Lampe بر این عقیده و باور می باشند که ترکیبات و ساختارهای شیمیایی از گیاهان مختلف که به عنوان افزودنی هایی گیاهی در غذاها مصرفی می شوند . نقش مهمی در سلامت افراد ایفا می کنند . در بدن انسان این ترکیبات طبیعی دارای نقش های مختلفی می باشند از جمله خواص ضد اکسیدآنتی، تعدیل آنزیم ها، تعدیل متابولیسم استروئیدها در بدن ، اثرات ضد ویروسی، ضد میکروبی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیزم های بیماری زا [۳ و ۹] .

در این تحقیق به بررسی اثرات ضد قارچی از عصاره های الکلی کلاله زعفران و سافرانول برروی مهار رشد دو گونه کاندیدا استفاده شده است . از آنجایی که زعفران یک چاشنی غذایی سنتی در ایران مصرف دارد و با توجه به سابقه اثرات ضد میکروبیال آن لذا در این تحقیق با استفاده از روش مداخله ای، بر آن شدیم خواص ضد قارچی زعفران را علیه دو گونه پراهمیت کاندیدا برای اولین بار در ایران با استفاده از زعفران زندی قائنات مشهد در دانشگاه تربیت مدرس در طی

سال ۱۳۸۷ ارزیابی نمائیم .

مـواد و روش تحقیـق :

الف) تهیه عصاره‌هـای الکلی کلاله زعفران و سافرانول :

برای تهیـه عصاره الـکلی کلالـه از روش خیسانـدن استفـاده شد. ۴ گرم از کلالـه زعفران پودر و سپس داخل ظـرف شیشـه ای تیره ریختـه و به آن ۵۰۰ میلی لیتـر اتانول ۸۰ درجه افـزوده شد. بعد از ۲۴ سـاعت محتویات ظرف سانتـریفوژ و رسوبـات جدا گـردید. با کمـک دستگاه حذف حلال در خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتی گـراد اتانـول حذف شد و عصـاره تغلیظ شـده بـرای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمـای ۵۰ درجه سانتی گـراد قـرار گرفت و پـس از خشک شدن کـامل در فـریزر ۲۰- درجـه سانتی گـراد تا زمـان استفاده نگهـداری شد . سافـرانول دارای فرمـول بسته $C_{۱۰}H_{۱۴}O$ می‌باشـد و حـدود ۰/۲ درصـد وزن مولکولی زعفـران را تشکیـل می‌دهد . این تـرکیب در زعفـران تازه وجـود ندارد و غلظـت آن در زعفـران خشک شده به شـرایط خشک کردن و ذخیـره سازی بستـگی دارد که در این تحقیـق به صـورت آمـاده از شرکت سیگمـا خریداری شد . سافـرانول به صورت آمـاده از شرکت سیگما خـریداری شد . و به صـورت مداخلـه ای بـر روی جمعیـت ۱×۱۰^{۳} سلول قارچی دو گونه کاندیدا قارچی اثر داده شده است .

ب) تهیه سوسپانسیون قارچی :

ابتدا قـارچ کاندیدا آلبیکنس سویه استاندارد ATCC ۱۰۳۲۱ کاندیـدا دابلی ینسیس CD ۳۶ پس از خریداری از مرکـز پژوهش هـای علمـی - صنعتی بر روی محیط سابـورو دکستـروز آگار حـاوی کلرامفنیـکل کشت داده شد و به مـدت ۲۴ سـاعت در انکوبـاتور $۳۷^{\circ}C$ قـرار گرفت . پس از گذشت این زمـان و رشد مخمـرهای کاندیـدا از مخمرهـای کاندیـدا آلبیکنـس و دابلینیـنسیس ، سوسپانسیون قارچی حـاوی ۱×۱۰^{۳} سلـول مخمـری تهیه شـد . بدین تـرتیب که ابتـدا در یک میکـروتیوب یک میلی لیتـری مقدار ۵۰۰ لامبـدا PBS استـریل ریختـه شـد . سپس در کنار شعلـه و زیر هـود با استفـاده از یک آنس استـریل مقدار کمی از مخمرهـای رشد یافتـه روی محیط سابـورو را با ملایمت از محیط کشت برداشتـه شد و درون میکـروتیوب منتقـل گردید . پس از مخلـوط شدن مخمر در بافر با استفاده از لام نئوبار تعداد سلول هـای مخمـری با میکروسـکوپ نوری شمـارش گردیـد . در صـورت غلیظ بـودن از استـوک اولیـه سوسپـانسیون رقیق تری تهیه شد .

ج) تعیین حداقل غلظت مهار کننده(MIC):

به منظور بـررسی اثرات ضد قارچی عصـاره الکلی کلاله زعفـران و هم چنین سافـرانول، تعیین MIC مـواد مذکـور به روش میکـرودایلوشن (رقت سازی در لولـه) مطابق استاندارد Nccls انجام شد [۸] .

روش انجام تست میکرودایلوشن :

سوسپـانسیون قـارچی طبق روش توضیـح داده شده در بنـد (ب) به میـزان ۱×۱۰^{۳} شمـارش و تهیـه شده و هم چنین از عصـاره الکلی کلالـه زعفران رقت‌هـای ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۷۵، ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر و از سافرانول که به صورت آمـاده و مایـع از شرکت سیگمـا خریداری شده بود رقت‌هـای تهیـه ۲۵ ، ۱۲/۵، ۶/۲۵ ، ۳/۱۵، ۱/۷۵ میکروگـرم در میلی لیتـر شد .

به منظور تعیین MIC پس از رقت سـازی از عصاره‌هـای مـورد نظر بـرای هـر عصـاره به ازای هر گونـه قـارچ کاندیـدا ، از یک سـری ده تایی لوله آزمـایش استفاده شد . بدین صـورت که هشت لولـه برای غلظت‌هـای مختلف عصاره‌هـا و شامـل محیط بـود و بـراث و سوسپـانسون قـارچی و عصاره‌هـا و یک لولـه کنتـرل منفی (شامـل قـارچ، محیط کشت و PBS بدون حضور عصاره‌هـا و یک لولـه کنتـرل مثبـت شامـل یک داروی ضد قـارچی (کلوتریمـازول) با غلظت یک میلی گـرم در میلی لیتـر به عنـوان شاهـد دارویی استفاده گردید .

روش انجـام تست بدین صـورت بود که ابتـدا محیط سابـورو براث تهیـه شد . سپس اتـوکلاو گردیـد و در یخچـال نگه داری شد و برای هر بار انجـام آزمـایش از

آن استفاده شد . در زیر هود و تحت شرایط استریل به هر یک از لوله های آزمایش حدود نیم میلی لیتر محیط کشت استریل اضافه گردید و سپس نیم میلی لیتر از غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره الکلی زعفران و غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر سافرانول به اولین لوله ها به طور مجزا افزوده گردیده در ادامه از لوله اول مقدار نیم میلی لیتر به لوله بعدی افزوده شد و این عمل تا لوله آخر تکرار شد تا در نهایت از لوله آخر نیم میلی لیتر به بیرون منتقل گردید و بدین ترتیب رقتی از عصاره های مختلف کلاله ۱۲۵ ، ۷۵ ، ۳۲ ، ۵۰۰ ، ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر و سافرانول ۲۵ ، ۱۲/۵ ، ۶/۲۵ ، ۳/۱۵ ، ۱/۷۵ میکروگرم در میلی لیتر تهیه شد . در نهایت سوسپانسیون قارچی به حجم ۰/۵ میلی لیتر حاوی 1×10^{3} عدد سلول مخمری به تمام سری رقت های موجود افزوده گردید . به عنوان کنترل منفی از محیط کشت و سوسپانسیون مخمری بدون حضور عصاره های الکلی سافرانول و کلاله زعفران استفاده شد، حجم نهایی هر یک از لوله ها در نهایت یک میلی لیتر بود .

سپس تمامی لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در $37^{\circ}C$ انکوبه گردیدند . پس از طی ۲۴ ساعت، کدورت لوله ها و رشد مخمرها مورد ارزیابی قرار گرفت و لوله ای با کم ترین غلظت عصاره که فاقد رشد کاندیدا بود و کدورتی مشاهده نشد به عنوان MIC آن عصاره در نظر گرفته شد . جهت ارزیابی و تعیین حداقل غلظت کشندگی (MFC) محتوی تمام لوله ها روی محیط جامد سابورو دکستروز آگار کشت داده شدند . بدین ترتیب که ۱۰ لامبدا از نمونه درون لوله ها را برداشت نموده و به پلیت های حاوی سابورو دکستروز آگار جامد حاوی کلرامفنیکل منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور $37^{\circ}C$ انکوبه گردیدند . بالاترین رقت موجود از عصاره که فاقد رشد کاندیدا آلبیکنس بر روی محیط کشت جامد سابورو دکستروز آگار بود به عنوان MFC آن عصاره در نظر گرفته شد تمام آزمایش ها سه بار تکرار شد .

یافته ها :

نتایج بدست آمده نشان داد که میزان MIC سافرانول برای کاندیدا آلبیکنس ۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینیسیس ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر و میزان MIC عصاره الکلی کلاله زعفران برای کاندیدا آلبیکنس ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینینسیس ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بود. پس از تعیین MFC بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون نمونه ها و شمارش تعداد کلنی ها ایجاد شده که نشان دهنده اثرات مهاری عصاره الکلی کلاله زعفران و سافرانول روی رشد کاندیدا آلبیکنس سویه استاندارد ATCC ۱۰۳۲۱ و کاندیدا دابلینینسیس ۳۶CD بود . میزان MFC در عصاره کلاله الکلی زعفران برای کاندیدا آلبیکنس ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینسیس ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بوده است. میزان MFC در سافرانول برای کاندیدا آلبیکنس ۲۵ میکروگرم در میلی لیتر و برای کاندیدا دابلینسیس ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بوده است .

تعداد کلنی های مخمری رشد یافته روی محیط جامد سابورو از لوله های آزمایش حاوی رقت های مختلف عصاره های مختلف کلاله و سافرانول نشان داد که بیش ترین تعداد کلنی در کم ترین رقت (لوله انتهایی که پایین ترین غلظت عصاره را داشتند) در سافرانول برای کاندیدا آلبیکنس حدود ۳۰ کلنی بوده و برای دابلینینسیس ۱۴ کلنی که در محدوده MIC به تعداد ۲-۰ کلنی کاهش یافته بود . هم چنین بیش ترین تعداد کلنی در کم ترین رقت ، در عصاره الکلی کلاله برای کاندیدا آلبیکنس حدود ۴۰ کلنی بوده و برای دابلینینسیس ۲۰ کلنی که در محدوده MIC به تعداد ۳-۱ کلنی کاهش یافته بود جدول (۱).

بحث و نتیجه گیری :

در سال های اخیر عفونت های قارچی سیستمیک ایجاد شده توسط گونه های کاندیدا به دلیل افزایش

جدول (۱) : بررسی مقایسه ای MIC و MFC عصاره های الکلی کلاله زعفران و سافرانول بر روی دو گونه قارچی کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا دابلینینسیس

	کاندیدا آلبیکنس		کاندیدا دابلینینسیس	
	MFC میکروگرم در میلی لیتر	MIC میکروگرم در میلی لیتر	MFC میکروگرم در میلی لیتر	MIC میکروگرم در میلی لیتر
عصاره الکلی کلاله زعفران	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۱۲۵
سافرانول	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۶/۲۵

بیماری های سرکوب کننده ایمنی از قبیل ایدز، اختلالات هماتولوژیک، بدخیمی ها و بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی در مقابل داروهای رایج مورد استفاده، افزایش یافته است [۹]. به همین منظور یافتن ترکیباتی که بتوانند جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک ها و داروهای ضد قارچی رایج باشند از موضوع های مورد بحث در این زمینه می باشد در مطالعه ایی که توسط SENGUL و همکاران در سال ۲۰۰۹ صورت گرفت اثرات ضد میکروبی و ضد اکسیدآنتی گیاهان مختلف از جمله زعفران مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره های متانولی گیاه زعفران و چندین گیاه دیگر در مقابل ۱۰ میکروارگانیسم از جمله باسیل های گرم مثبت مثل باسیلوس ها، سودوموناس ها، سالمونلا ها، استرپتوکوک پیوژن، اشرشیاکلی، قارچ ها از جمله کاندیدا آلبیکنس، اسپرژیلوس ها، پنی سیلیوم ها، درماتوفیت ها، می باشند و می توان از این ترکیبات طبیعی علیه طیف وسیعی از بیماری های میکروبی درمان سود جست[۱۰]. در مطالعه نخعی و همکاران در سال ۲۰۰۸ زعفران و ترکیبات مهم آن از جمله کروسین و سافرانول آن بر روی مهار رشد باکتری هلیکو باکتر پیلوری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصاره های آبی و متانولی این گیاه روی مهار رشد باکتری هلیکو باکتر مؤثر بوده است. بنابراین می توان چنین اظهار داشت که زعفران دارای اثرات ضد میکروبی علیه هلیکوباکتر می باشد [۱۱].

با توجه به نتایج تحقیق حاضر که حاکی از اثرات ضد قارچی قابل توجه عصاره الکی زعفران و سافرانول در جلوگیری از رشد کاندیدا آلبیکنس و دابلینینسیس در محیط In vitro بود. می توان امیدوار بود که از این ترکیبات طبیعی در تحقیقات آتی استفاده شود. امروزه گونه های کاندیدا غیر آلبیکنس در ایجاد بیماری های مختلفی نقش دارند از جمله کاندیدا دابلینینسیس که در بسیاری از خصوصیات فنوتایپی مانند تولید کلامیدوسپور و جرم تیوب همانند کاندیدا آلبیکنس می باشد، که اگر چه رابطه بسیار نزدیکی با کاندیدا آلبیکنس دارد اما از نظر اپیدمیولوژیکی، فاکتورهای ویرولانس و مقاوم بودن به داروی ضد قارچی فلوکونازول از کاندیدا آلبیکنس متمایز می شود[۱۲و۱۳]. اینگونه کاندیدا در کاندیدوز دهانی افرادHIV و در ایجاد کاندیدیوز اریتماتوز ژنژیوال مؤثر می باشد[۱۴و ۱۵]. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سافرانول اثرات مهار کنندگی بیش تری نسبت به عصاره الکی زعفران داشته، چون دارای MIC کمتری نسبت به عصاره الکلی بوده است. در این مطالعه کاندیدا دابلینینسیس نسبت به اثر ضد قارچی سافرانول و عصاره الکلی حساس تر از کاندیدا آلبیکنس بوده است. این حساسیت بیش تر می تواند به متفاوت بودن

درصد ترکیبات و نوع ترکیبات دیواره سلولی و غشای قارچی و فاکتورهای ویرولانسی مربوط باشد که در کاندیدا دابلینینسیس، به مراتب کمتر از کاندیدا آلبیکنس بوده است. عوامل متعددی مانند روش عصاره گیری نوع میکرو ارگانیزم می تواند روی خواص مهاری رشد یک ماده مؤثر باشد. استخراج از گیاه حداقل به سه روش قابل انجام است. ۱- تقطیر گیاه با آب و بخار، ۲- استخراج مواد توسط حلال های شیمیایی، ۳- فشردن گیاه در حرارت معمول که در این بررسی از بهترین حلال جهت دستیابی بر خواص ضد قارچی مناسب کلاله زعفران استفاده شد. مواد شیمیایی مستخرج از گیاهان با عنوان ترکیبات ضد میکروبی به علت دارا بودن عوارض جانبی کمتری و یا عدم عوارض جانبی در کشور ما نیز اهمیت و جایگاه خود را پیدا کرده است و استفاده از دارو با منشای گیاهی با عنوان یک رویکرد جدید در جامعه ما مطرح باشد.

از آنجایی که استفاده از این گیاه به عنوان یک ماده غذایی ارزشمند در جامعه فعلی پذیرش عمومی دارد و از آنجایی که خواص ضد قارچی این گیاه بر روی رشد قارچ های مورد مطالعه دارای خواص مطلوبی می باشد و با توجه به اهمیت شیوع عفونت های قارچی در جامعه امروز امید است که این پژوهش، بستر مناسب تحقیقات آتی در ساخت و تولید اشکال مختلف دارویی مناسب و مؤثر انجام پذیرد تا ضمن غلبه بر مقاومت های دارویی از خروج سرمایه های کشور جهت خرید داروهای ضد قارچی ممانعت به عمل آمده باشد.

منابع :

REFERENCES :

1) Richters, Ruddph P, Messer Sh. Antifungal susceptibilities of candida species causing vulvovaginitis and Epidemiology of Recurrent cases. journal of clinical Microbiology. 2005: 43(5): 2155-62.

2) Appleton SS: Candidiasis: Pathogenesis, clinical characteristics, and trearment. J calif Dent Assoc. 2000; 28(12): 442-8.

3) Lampe J. Spicing up a vegetation diet: chemopreventive effects of phytochemical. Amjcin Nutr 2003; 78(3sapp): 5795-5835.

4) Tarantilis PA, Polissiou M, Manfait M. Separation of picrocrocin, cis-tfanscrocins and safranal of saffron using high-perfonnance liquid chromatography with photodiode-array detection- Journal of Chromatography A, 1994; 664(1): 55-61.

5) Balin K, Pratt L. Oxygen modulates the growth of skin fibroblasts. Invitro cellular and Developmental Biology-Animal. 2002; 38(5): 305-310.

6) Kafi M. Saffron production, processing and use science publishers, Inc 2006.244 pages.

7) Lozano P, Castellar MR, Simancas M J, et al. Quantitative high performance Liquid

chromatographic method to analyze commercial saffron (Crocus sativus L) products. Journal of Chromatography A, 1999; 830: 477-483.

8) Pujol I, Caplla J,Fernandez-Torres B, et al. Use of the sensitive colorimetric microdilution Panel for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. j. Clin. Microbiol. 2002; 40(7): 2614-2621.

9) Boerlin P, Boerlin-PF, Ddurussel C, et al. Cluster of atypical Candida isolates in a group of Human immunodeficiency virus positive drug users J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 1129–1135.

10) Sengul M, Ylidiz H, Gungor N, et al. total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activites of some medicinal plants pak. j. pharm. sci. 22, 2009; 22(1): 102-6.

11) Nakhaei M, Khaje-karamoddin M, Ramezani M, Inhibitation of Helicobacter pylori growth in vitro by saffron (Crocus sativus L.) Iran j basic Med sci, 2008; 11(2): 91-6.

12) Davis LE, Shields CE, Merz WG.Use of a commercial reagent leads to reduced Germ tube production by Candida dubliniesis. j. clin Microbial. 2005; 43(5): 2483-6.

13) Staib F, Arasteh K. Chlamydospore formation on Staib agar. Observations made before Candida dubliniensis was described. Mycoses; 2001; 44(1-2): 23-7.

14) Ruesga MT, Ceballos L, Quinds G. Prevalence of oral lesions by Candida sp, Their varieties and serotypes in a population of patient with AIDS under a Highly active antiretroviral therapy. Rev. Iberoam. Micol. 1998; 15(3): 141-5.

15) Chen jvv, Flai TZC, Sexton j. Association of dental health parameter with oral lesion prevalence in human immunodeficiency virus-infected Romanian children. pediatric Dentistry. 2003; 25(5): 479-484.

Evaluation of antifungal activity of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum on Candida albicans and Candida dubliniensis growth in vitro.

Roudbary M,[1] Roudbar Mohammadi Sh,[2] Hajimoradi M,[3] Taghizadeh Armaki M,[4] Ghasemi Sakha F,[5] Vahidi M[6]

1- Dept. of Mycology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran.

2- Dept. of Mycology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Dept. of Emenology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

4- Dept. of Mycology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

5- Dept of MSc Physiology, Schoo of Azad, Damghan. Iran.

6- Dept of Department of Mycology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(Received 27 Apr, 2008 Accepted 13 Sep, 2009)

Abstract:

Introduction: Candida species are opportunistic fungi and can transform into pathogenic form in favorable conditions such as in immune-compromised patients, causing invasive fungal disease. The Crocus sativum is reported to have several therapeutic effects including antifungal activity. In this research, the antifungal effects of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum on candida albicans and dubliniensis growth were assessed.

Materials and Methods: In this study, the effect of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum on candida albicans (standard strain ATCC10321) and dubliniensis (standard strain CBS7987CD36) was assessed by micro-dilution broth method. Concentrations of 500,250,125,… and 25,12.5,6.25, … µg/ml of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum were prepared for MIC (Minimum Inhibitory Concentration) test, respectively. MIC and MFC (Minimal Fungicide Concentration) were evaluated.

Results: Our results showed that MIC of alcoholic Crocus sativum extract for candida albicans was 250 µg/ml and that of Candida dubliniensis was 125 µg/ml. MIC of safranol for candida albicans was 12.5 µg/ml and that of candida dubliniensis was 6.25 µg/ml for candida dubliniensis. MFC of alcoholic extract for candida albicans was 500µg/ ml and that of candida dubliniensis was 125 µg/ml. MFC of safranol for candida albicans and Candida dubliniensis were 25 µg/ml

and 6.25 μg/ml, respectively.

Conclusion: The present study was conducted to evaluate the antifungal effect of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum against candida albicans and dubliniensis by microdilution method in vitro. It seems that alcoholic extract and safranol of Crocus sativum could inhibit candida albicans and dubliniensis growth; however, according to the results, safranol had more antifungal activity than alcoholic extract and candida dubliniensis was more sensitive than candida albicans. Thus, it is concluded that Crocus sativum can be used as an inhibitor of candida species growth in clinical trials, especially in treatment of patients with fungal infection as natural drug.

Key Words: Candida albicans, Candida dubliniensis, alcohlic extract and safranol of Crocus sativum, antifungal.