بررسی پایداری، سمیت و اثر ضد میکروبی محلول آلیسین

نویسندگان: محمد تقی قانعیان[۱]، محمد حسن احرامپوش[۲]، علی جبالی[۳]، سمانه مظفری خسروی[۴]، سید حسین حکمتی مقدم[۵]، حسین فلاح زاده[۶]، رضا علی فلاح زاده[۷]

۱. دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۲. استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۳. دکتری تخصصی نانوفناوری پزشکی، بخش نانوفناوری پزشکی، آزمایشگاه پژوهش، یزد

۴. نویسنده مسئول:دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط،دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد تلفن تماس:۰۹ ۱۳۲۵۸۲۰۱۲ Emai : samanehmozaffary@gmail.com

۵. استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۶. استادگروه آمار مرکز تحقیقات پیشگیری و اپیدمیولوژی بیماری های غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۷. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهیدصدوقی یزد

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال چهاردهم
شماره: پنجم
آذر و دی ۱۳۹۴
شماره مسلسل: ۵۳

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۴

چکیده

مقدمه: آلیسین از عصاره سیر گرفته شده و به واسطه گروه تیوسولفونات توانایی اتصال به گروه‌های تیول پروتئین‌ها را دارد. این اتصال باعث تخریب انواع پروتئین‌ها و آنزیم‌های مهم میکروب‌ها شده و می‌تواند بر طیف وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها موثر باشد. هدف این مطالعه بررسی پایداری، سمیت و اثر ضد میکروبی آلیسین محلول می‌باشد.

روش بررسی: نخست سریال غلظت (۳۱،۶۲، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) محلول آلیسین تهیه و در معرض سوسپانسیون سوش‌های استاندارد باکتریایی شامل سودوموناس آئروژینوزا(ATTC 25987)، اشریشیاکلی(ATTC 25922) و استافیلوکوکوس اوررئوس(ATTC 25923) و سوش‌های استاندارد قارچی شامل کاندیدا آلبیکنس(ATTC 10231) و آسپرژیلوس نیجر(ATTC 16888) قرار داده شد و در نهایت کمترین غلظت مهاری(MIC_{50} وMIC_{90}) این ترکیب علیه هر سوش، تعیین گردید. برای بررسی سمیت، نخست سوسپانسیون سلول‌های پوست موش، نژاد بالب سی تهیه و به مدت ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض سریال غلظت محلول آلیسین قرار گرفت. سپس با تست MTT میزان حیات سلولی با توجه به کنترل محاسبه گردید. برای بررسی پایداری محلول آلیسین، نخست تعدادی قطعه سنگ مرمر استریل شده تهیه و به طور جداگانه روی سطح آنها با محلول آلیسین آغشته گردید. بعد از گذشت ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت از قطعه سنگ‌ها نمونه‌گیری و روی پلیت نوترینت آگار تلقیح شد. محیط‌های کشت به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و در نهایت تعداد کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت، شمارش گردید.

یافته‌ها: تست میکرودایلوشن نشان داد کمترین میزان MIC_{50} برای محلول آلیسین مقدار ۶۲ میکروگرم بر میلی لیتربرای سوش کاندیدا و بیشترین میزان MIC_{50} برای سوش استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده گردید. محلول آلیسین بر روی همه سوش‌های باکتریایی و قارچی مورد مطالعه اثر ضد میکروبی دارد. همچنین این مطالعه به ما نشان داد که سمیت محلول آلیسین به مقدار اندکی وابسته به زمان و غلظت بوده ولی افزایش زمان تا ۲۴ ساعت تاثیر چشمگیری بر کاهش پایداری این ماده نداشت.

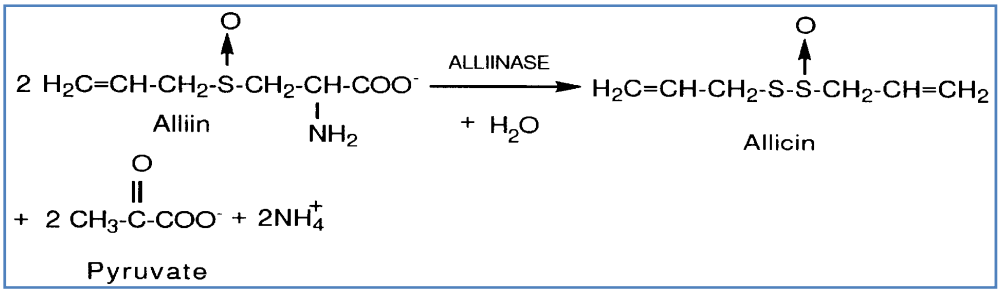
نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج محلول آلیسین دارای خاصیت ضدمیکروبی بوده و سمیت آن ناچیز و قابل اغماض می‌باشد. همچنین این ماده از پایداری بالایی در شرایط محیطی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد میکروبی، آلیسین، سمیت ، پایداری

مقدمه

گیاه سیر از تیره آلیاسه از خانواده زنبق بوده و به عنوان دارو در تمدن‌های قدیمی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. سیر به دلیل داشتن ترکیبات آلی گوگرددار نظیر آلئین، دی آلیل سولفیدها و آلیسین واجد اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد انگلی و ضد قارچی می‌باشد(۳-۱). مهمترین ترکیب گوگرددار سیر، آلیسین با وزن مولکولی ۱۶۲/۳ است که سبب خواص ضد میکروبی و درمانی سیر می‌شود(۴،۱). آلیسین خالص یک مولکول فرار است که به میزان ناچیزی در محلولهای آبی حل می‌شود. برای آنزیم آلئیناز موجود در سیر در اثر بریدن، له شدن ، جویدن ، برش یا عصاره‌گیری آن آزاد و باعث لیز شدن آلئین و تبدیل آن به یک سولفونیک اسید به نام آلیسین یا دی‌آلیل تیوسولفینات می‌شود(۱۰،۱۱). آلیسین به واسطه گروه تیوسولفونات توانایی اتصال به گروه‌های تیول پروتئین‌ها را دارد و این اتصال باعث تخریب انواع پروتئینها و آنزیم‌های مهم میکروب‌ها می‌شود که می‌توان مهار اختصاصی آنزیم استیل کولین A سنتتاز را مثال زد. مهار این آنزیم باعث مهار بیوسنتز لیپیدها و اسیدهای چرب شده و نهایتا قابلیت زیستی سلول را مهار می‌کند(۱۲). این ماده می‌تواند بر طیف وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها موثر باشد و مانع رشد وتکثیر آنها شود(۱۳). این نکته را می‌بایست مدنظر داشت که هر چند آلیسین دارای خاصیت ضدمیکروبی است ولی احتمال تاثیر آن بر روی سلول‌های نرمال بدن انسان و حیوان نیز وجود دارد(۱۴،۱۵). مطالعه جامعی که علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی آلیسین، سمیت و پایداری آن را نشان دهد وجود ندارد، لذا هدف این مطالعه بررسی خاصیت ضدمیکروبی این محلول بر روی ۵ سوش مهم میکروبی و ارزیابی سمیت آن بر روی سلول‌های پوست موش و همچنین تعیین پایداری آن در فواصل زمانی متفاوت است.

اولین بار در سال ۱۹۴۴ کاوالیتو به کمک همکارانش با استفاده از حلال اتیل الکل از ۴ کیلوگرم سیر در دمای اتاق، ۶ گرم ماده‌ای با خواص ضد میکروبی با فرمول $C_6H_{10}S_2O$ به دست آورد و آنرا آلیسین نامید(۵،۶). از مهمترین خصوصیات آلیسین قابلیت نفوذپذیری و عبور از طریق فسفولیپیدهای غشائی بوده که باعث می‌شود آزادانه از غشا عبور کرده و اثرات خود را اعمال کند(۱،۷). لازم به ذکر است که آلیسین در اثر عمل آنزیم آلئیناز از مولکول آلئین ایجاد می‌شود (۹،۸،۵) (شکل ۱).



شکل ۱: شماتیک سنتز آلیسین از آلئین توسط آنزیم آلئین

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی می‌باشد. برای این مطالعه، محیط کشت سابورودکستروز آگار، نوترینت آگار، مولرهینتون براث و RPMI1640 (شرکت اینویتروژن، انگلستان)، آنزیم تریپسین و MTT (شرکت سیگا-آلدریچ) استفاده گردید. در این مطالعه سوش‌های استاندارد باکتریایی شامل سودوموناس آئروژینوزا (ATTC 25987)، اشریشیاکلی (ATTC 25922) و استافیلوکوکوس اوررئوس(ATTC 25923) و سوش‌های استاندارد قارچی شامل کاندیدا آلبیکنس (ATTC 10231) و آسپرژیلوس نیجر(ATTC16888) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران گرفته شد. آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و نیستاتین نیز از شرکت داروسازی جابربن‌حیان، تهران خریداری شد.آلیسین از شرکت زیست فناور شرق (.ZFS Co)، یزد تهیه گردید. جهت بررسی خاصیت ضدمیکروبی از روش میکرودایلوشن استفاده شد و MIC_{50} و MIC_{90} محلول آلیسین با توجه به کنترل محاسبه شد. در ابتدا سوش استاندارد باکتری‌های اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس در محیط نوترینت آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه انکوبه گردید، سپس از هر سوش یک کلنی برداشته و به ۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع مولرهینتون براث اضافه گردید و به خوبی مخلوط گردید. همچنین سوش استاندارد قارچ‌های کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نیجر روی محیط سابورودکستروز آگار کشت داده شده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۲۵ درجه سوسپانسیون قارچی در محیط کشتRPMI 1640 تهیه گردید. لازم به ذکر است که کدورت هر دو سوسپانسیون باکتریایی و قارچی حدود نیم مک فارلند تنظیم گردید. در مرحله بعد سریال غلظتی (۳۱، ۶۲، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) از محلول آلیسین تهیه شد و به طورجداگانه به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای اضافه شد. همچنین در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی و باکتریایی به طور جداگانه اضافه گردید و همگی به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. در این مطالعه برای ایزوله‌های باکتریایی دمای ۳۵ درجه و برای ایزوله‌های قارچی دمای ۲۵ درجه لحاظ گردید. بعد از انکوباسیون میزان کدورت ناشی از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها توسط دستگاه خوانش‌گر الیزا ساخت شرکت نوین گستر،ایران در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شده و با توجه به کنترل، میزان MIC_{50} و MIC_{90}محاسبه گردید. در این تحقیق کنترل منفی سوسپانسیون میکروبی بود که در معرض هیچ ماده ضد میکروبی قرار نگرفت. به عنوان کنترل مثبت سوسپانسیون باکتری‌ها در مواجهه با سیپروفلوکساسین و سوسپانسیون قارچ‌ها در مواجهه با نیستاتین بود. جهت بررسی سمیت محلول آلیسین از روش بررسی حیات سلولی با کمک تست MTT استفاده گردید. نخست، سریال غلظتی(۳۱، ۶۲، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از محلول آلیسین تهیه و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلول‌های پوست موش نژاد بالب سی به هر چاهک اضافه شد. لازم به ذکر است که برای تهیه سوسپانسیون سلول‌های پوست نخست قطعات بریده شده پوست با آنزیم تریپسین مواجهه و بعد از شستشو در محیط کشت RPMI1640 سوسپانسیون سلولی با غلظت حدود

ده‌هزار بر میلی‌لیتر تهیه گردید. بعد از انکوباسیون محلول آلیسین با سلول‌های پوست به مدت ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت، ۲۵ میکرولیتر از محلول MTT به داخل هر چاهک افزوده و دوباره به مدت ۳ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید. میزان دانسیته نوری هر چاهک با کمک خوانش‌گر الایزا ساخت شرکت نوین گستر، ایران قرائت و میزان حیات سلولی با استفاده از کنترل محاسبه شد. در این تست، کنترل منفی سلول‌های پوستی موش در معرض محلول آلیسین قرار نگرفته بودند. همچنین در کنترل مثبت، سوسپانسیون سلول‌های پوستی در معرض اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال قرار گرفتند.

برای بررسی پایداری محلول آلیسین خاصیت ضد میکروبی آنها در زمان‌های مختلف ارزیابی گردید. نخست تعدادی قطعه سنگ مرمر استریل شده با الکل ۷۰ ٪ به ابعاد ۵×۵cm تهیه و سپس بطور جداگانه روی سطح آنها محلول آلیسین آغشته شد و در دمای محیط خشک گردید. سپس بعد از گذشت ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت از نظر پایداری خاصیت ضدمیکروبی با استفاده از سوآب استریل از تمام سطح قطعه سنگ نمونه‌گیری و روی پلیت نوترینت آگار تلقیح شد. سپس محیط‌های کشت به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و در نهایت تعداد کلونی‌های رشد کرده در هر پلیت شمارش گردید. در این مرحله کنترل منفی قطعه سنگ‌هایی که با هیچ ماده‌ای تیمار نشده بودند و کنترل مثبت قطعه سنگ‌های تیمار شده با نانوذرات نقره بودند. در این تحقیق همه تست‌ها به صورت ۳ بار تکرار انجام گردید و میانگین و انحراف‌معیار برای هریک مشخص شد. در پایان جهت ارزیابی اختلاف معنی‌دار گروه‌ها از آزمون t-test استفاده گردید و سطح معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ قلمداد گردید.

یافته‌ها

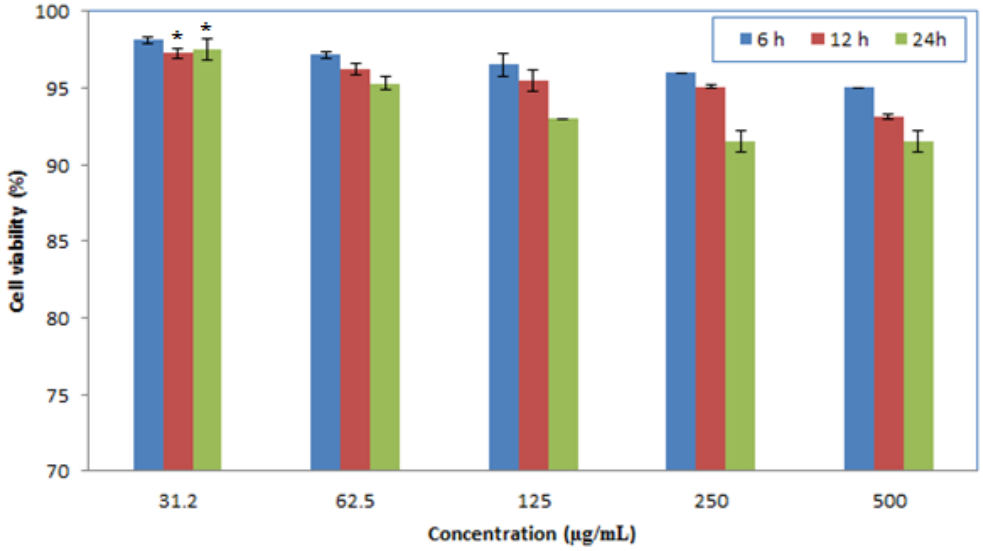
در این تحقیق اثر ضد میکروبی محلول آلیسین علیه ۵ سوش مهم میکروبی که شامل آسپرژیلوس نیجر، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکنس، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۱ مقدار MIC_{50} و MIC_{90} محلول آلیسین را علیه سوش‌های میکروبی نشان می‌دهد.کمترین میزان MIC_{50} برای محلول آلیسین مقدار ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سوش کاندیدا آلبیکنسو بیشترین میزان MIC_{50} مقدار <۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سوش استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده گردید. همان‌طور که مشاهده می‌گردد MIC_{90} محلول آلیسین علیه همه سوش‌ها معادل <۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. جهت ارزیابی سمیت محلول آلیسین غلظت‌های مختلف این ترکیب در معرض سلولهای پوستی موش نژاد بالب سی قرار گرفتند و طی سه زمان ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت میزان سمیت آنها محاسبه گردید. نتایج سمیت محلول آلیسین در نمودار۲ نشان داده شده است.

در اکثر غلظت‌ها با افزایش زمان انکوباسیون از ۶ به ۱۲ و از ۱۲ به ۲۴ ساعت میزان حیات سلولی کاهش یافت. همچنین میزان حیات سلولی وابستگی مستقیمی با غلظت داشت چراکه در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حداقل حیات سلولی و در غلظت ۳۱/۲ حداکثر حیات سلولی را مشاهده نمودیم. این تست نشان داد که هرچند محلول آلیسین در بازه زمانی ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت برای

سلول‌های پوستی سمی می‌باشند ولی این سمیت حتی در غلظت‌های بالا چشمگیر نبوده، به نحوی که حداقل حیات سلولی برای محلول آلیسین در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعد از ۲۴ ساعت مواجهه معادل ۹۱٪ بود. نتایج تست‌های آماری نشان می‌داد که تفاوت معنی‌داری در دو غلظت ۵۰۰ و ۳۱/۲ در هر دو بازه زمانی ۱۲و ۲۴ ساعت برای سمیت محلول آلیسین وجود دارد (P<۰/۰۵). نتایج تست پایداری در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد هرچند که در بازه‌های زمانی ۶، ۱۲ و۲۴ ساعت تعداد کلونی محدود در هر پلیت رشد نموده ولی در مقایسه با کنترل قابل صرف نظر می‌باشد. نتایج تست‌های آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در هر ۳ بازه زمانی بین کنترل و سنگ‌های آغشته به محلول آلیسین وجود دارد(P<۰/۰۵).

جدول۱: MIC_{50} و MIC_{90} محلول آلیسینعلیه سوش‌های باکتریایی و قارچی

سوش های میکروبی	MIC_{50}	Mic_{90}
آسپرژیلوس نیجر	۱۲۵	>۵۰۰
کاندیدا آلبیکنس	۶۲/۵	>۵۰۰
اشرشیاکلی	۱۲۵	>۵۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	>۵۰۰	>۵۰۰
پسودوموناس آئروژینوزا	۱۲۵	>۵۰۰



نمودار۲: ارزیابی حیات سلولی بعد از مواجهه با محلول آلیسین بوسیله تست MTT. (علامت ستاره اختلاف معنی‌دار(P=۰/۰۴) را در مقایسه با غلظت ۵۰۰ در زمان مشابه نشان می‌دهد).

جدول ۲: نتایج تست پایداری در بازه های زمانی ۶، ۱۲ و۲۴ ساعت

زمان تماس (ساعت)	تعداد کلونی های شمارش شده کنترل	تعداد کلونی های شمارش شده بعد از مواجهه با آلیسین محلول
۶	۳۵۰±۲۰	۵±۱*
۱۲	۸۰۰±۵۰	۸±۱*
۲۴	۵۰±۱۴۰۰	۹±۲*

*p<۰/۰۵ در مقایسه با کنترل در بازه زمانی مشابه

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه بر آن بودیم که خاصیت ضدمیکروبی محلول آلیسین را در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار دهیم. همان طور که در مطالعات به خوبی مشخص شده است آلیسین یک ماده ضدمیکروب طبیعی است که از دیرباز به عنوان یک ماده گندزدا مورد مصرف قرار گرفته است. از نظر مکانیسمی این مولکول قادر است به گروه‌های تیول انواع آنزیم‌ها و پروتئین‌های انواع میکروارگانیسم‌ها متصل گردد(۳-۱). در این مطالعه سمیت و پایداری محلول آلیسین مورد ارزیابی قرار گرفت چراکه حدس ما بر این بود که این مولکول مانند سایر مواد شیمیایی درجاتی از سمیت با پایداری متفاوت را دارا باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که محلول آلیسین بر روی تمام سوش‌ها خاصیت ضد میکروبی داشت ولی کاندیدا آلبیکنس بیشترین حساسیت و استافیلوکوکوس اورئوس کمترین حساسیت را نسبت به محلول آلیسین نشان داد. نکته قابل درنگ دیگر اینکه مقدار MIC_{50} علیه سوش‌های مختلف کاملا متفاوت بود که احتمالا به علت تفاوت نسبی ساختار غشایی و محتوی پروتئینی سوش‌های مورد مطالعه با هم می‌باشد(۱۶). نتایج این تحقیق مطابقت بالایی با سایر مطالعات مشابه داشت، به عنوان مثال در مطالعه Molana و همکارش با عنوان اثر سیر و عصاره آن بر ممانعت از رشد سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد عصاره کلروفرمی سیر با غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر بر روی سویه‌های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر کشندگی و با غلظت ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر دارای اثر مهاری می‌باشد(۱۷). Shapoori و همکاران اثر عصاره کلروفرمی سیر بر روی بروسلا ملی تنسیس و بروسلا ابورتوس را بررسی کرده و به این مساله پی‌بردند که آلیسین حتی در غلظت‌های پایین نیز فعالیت ضدمیکروبی خوبی علیه بروسلا دارد(۱۸). Jebali و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی خاصیت ضد میکروبی آلیسین و نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آلیسین پرداختند. آنها نشان دادند که نانوذرات کونژوگه همچنان دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه سوش‌های آسپرژیلوس نیجر، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکنس، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا داشتند(۱۹). تست سمیت محلول آلیسین به ما نشان داد که هرچند سمیت این محلول وابسته به زمان و

غلظت بود ولی این وابستگی ناچیز بود. به طوری‌که افزایش غلظت تأثیر چشمگیری بر میزان سمیت در زمان‌های مشابه نداشت، همچنین تاثیر زمان در غلظت‌های مشابه ناچیز بود. این تست نشان داد که هرچند محلول آلیسین در بازه زمانی ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت برای سلول‌های پوستی سمی می‌باشند، ولی این سمیت حتی در غلظت‌های بالا چشمگیر نبوده ودر مقایسه با سایر مواد ضدمیکروب شیمیایی از درجه سمیت کمتری برخوردار است. Gio وهمکاران در سال ۲۰۰۹ اعلام کرده اند که آلیسین باعث افزایش سمیت ماده‌ای بنام CPT-11 بر روی رده سلولی سرطان کلون می‌گردد (۱۵). Miron و همکاران نیز در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ عنوان نموده‌اند که آلیسین باعث مهار رشد سلولی و ایجاد سمیت از طریق القای اپوپتوز در سلول‌های HL60 وU937 می گردد (۱۶). علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی و سمیت ، پایداری محلول آلیسین در سه بازه زمانی ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. کلنی‌های رشد کرده در سه بازه زمانی و مقایسه با گروه کنترل به خوبی به ما نشان داد ساختار مذکور پایداری خوبی در شرایط آزمایشگاهی تا حداکثر ۲۴ ساعت دارد و افزایش زمان تاثیر قابل توجهی روی پایداری محلول در شرایط محیطی ندارد واین نتیجه امکان استفاده از محلول آلیسین را در کاربردهای محیطی، درمانی و بیمارستانی مهیا می‌کند.

بر اساس نتایج نهایی محلول آلیسین دارای خاصیت ضد میکروبی بوده و سمیت آن ناچیز و قابل اغماض می‌باشد. همچنین این ماده از پایداری بالایی در شرایط محیطی برخوردار است. لازم به ذکر است که شاید آلیسین در بازه زمانی بیشتر از ۲۴ ساعت نیز همچنان پایدار بماند که می‌بایست در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد. مطالعه مشابهی جهت مقایسه این یافته در منابع اطلاعاتی یافت نشد. نویسندگان این مقاله پیشنهاد می‌کنند که در مطالعه مستقل دیگری از آلیسین برای ضد عفونی کردن سطوح محیطی اعم از مراکز عمومی یا مراکز بهداشتی و درمانی استفاده و کارایی این ماده در واقعیت نیز ارزیابی گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق برگرفته از پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد می‌باشد. همچنین از همکاری صمیمانه پرسنل آزمایشگاه پژوهش یزد کمال تشکر را داریم.

References

1-Soltani M, laripoor M, akhavansepahiA,piralihamedani M. the study Effect of allicin garlic on levels of nitric oxide production in macrophages against Candida albicans. J Med Plants 2008 ;1(29): 164-70. [Persian]

2-Yoshida H. Anti microbial activity of the thiosulfinates from garlic extract. Biosci Biotechnol Biochem 1999; 63(3): 591-94.

3-Arzanlou M, Bohlooli SH. Introducing of green garlic plant as a new source of allicin. Food chem 2010; 120(1): 179-83

4-Ahmadi K, Mahmoodzade A. The effect of garlic extract on cutaneous leishmaniasis by increasing nitric oxide. J shahrekord uni Med Sci 2002; 4(2): 1-7. [Persian]

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

6-Saberinajafi M. The study Effect of allicin-containing garlic extract toxins Shyglahay creation enteropathogenic. Tarbiat Modarres Uni Med sci 1996. [Persian]

7-Nikolic V, Stankovic M. Antifungal activity of Allicin derived from garlic. pharm 2004; 59(11): 845-8.

8-Shapoori R, Satari M, Mohamadhasan Z. The study effect of chloroform of garlic on the morphology and physiology of the brosela. J Med Plant 2004; (10): 15-21. [Persian]

9-Coppi A, Cabinian M, Mirelman D, Sinnis PH. Antimalarial Activity of Allicin, a Biologically Active Compound from Garlic Cloves. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(5): 1731-7.

10-NamjooA,Heidarian A, Rfieian M, Jafariandehkordi M. Long-term effects of oral administration of aqueous extract of garlic on tissue, blood parameters and enzymatic rats. J shahrekord uni Med Sci 2013; 15(1): 103-13. [Persian]

11-Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nut J 2002; 1(4): 1-14.

12-I M Bakri, C W I Douglas. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Archiv Oral Bio 2005; 50, 645-51.

13-Curtis H, Noll U, Stormann J, Slusarenko AJ. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (Allium sativum L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Dhysiolojical and molecular plant pathology 2004; 65(2): 79-89.

14-Gao Y, Liu Y, Cao W, Deng Z, Liu H, Xu L, et al. Allicin enhancescytotoxicity of CPT-11 to colon cancer LoVo cell in vitro. ZhongguoZhong Yao ZaZhi 2009; 34(23): 3092-95.

15-Miron T, Wilchek M, Sharp A, Nakagawa Y, Naoi M, Nozawa Y, Akao Y. Allicininhibits cell growth and induces apoptosis through the mitochondrial pathway inHL60 and U937 cells. J Nutr Biochem 2008; 19(8): 524-35.

16-Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. Nat Rev Microbiol 2013; 11(6): 371-84.

17-Molana Z, Shahande Z. The effect of garlic extract on the growth inhibition by pseudomonas aeruginosa. J Babol Uni Med Sci 2003; 5(3): 57-62. [Persian]

18-Shapoori R, Satari M, Mohamadhasan Z. Antimicrobial effects of garlic extract (allicin) on melitensis and B.abortus. J Shahed Uni 1383; 12(53): 21-26. [Persian]

19-Jebali A, hekmatimoghaddam S, Behzadi A, Rezapor I, Mohammadi BH, Jasemizad T, et al. Antimicrobial activity of nanocellulose conjugated with allicin and lysozyme. Cellulose 2013: 20(6): 2897-907.

The study of the stability, toxicity and antimicrobial effect of allicin solution

Ghaneian MT (Ph.D)[1], Ehrampoush MH (Ph.D)[2], Jebali A (Ph.D)[3], Mozaffary S (M.Sc Student)[4], Hekmatimoghaddam SH (MD)[5], Fallahzadeh H (Ph.D)[6], Fallahzadeh RA (M.SC Student)[7]

1. Assistant Professor, Department of Environmental Health, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
2. Professor, Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
3. Ph.D of Medical Nanotechnology, Department of Medical Nanotechnology, Pajoohesh Lab, Yazd, Iran.
4. Corresponding author: MS.c Student in Environmental Health, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
6. Department of Biostatistics,Research Center of Prevention and Epidemiology of non-Communicable disease, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
7. MS.c Student of Environmental Health, Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Abstract

Introduction: Allicin is extracted from Garlic, and can attach to the tiol groups of proteins by tiosulfanate group. This attachment leads to damage of various proteins and enzymes of microbes, and can affect wide spectrum of viruses, bacteria, fungi, and parasites. The aim of this study was to investigate the stability, toxicity and antimicrobial effect of allicin solution.

Methods: First, serial concentrations of allicin solution were prepared, and exposed to suspension of standard isolates of bacteria (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, andPsodomonasaerogina) and fungi (Aspergillusnige rand Candida albicans).The minimum inhibitory concentration(MIC50 and MIC90) of this compound against each isolate was determined. To evaluate the toxicity of allicin solution, the suspension of skin cells of Balb/C mice was prepared, and incubated with serial concentrations of allicin for 6, 12 and 24 h. Then, cell viability was calculated by MTT assay, based on control. To evaluate stability of allicin solution,some pieces of sterilized marble were prepared, and their surfaces were treated with the solution of allicin. After 6, 12 and 24 h,marbles were sampled, inoculated on the nutrient agar, and incubated for 48 h at 37 °C. Finally, the number of colonies grown on each plate was counted.

Results: The micro-dilution test showed that allicin solution had antimicrobial effecton the all bacterial and fungal isolates which studied. This study also showed that the toxicity of allicin solution slightly dependent on the time and concentration, but increase the time until 24 h had nota significant impact on the reducing of stability.

Conclusions: The allicin solution has antimicrobial activity and its toxicity is negligible. Also, this material has high stability in the environmental conditions.

Keywords: Antimicrobial activity, Nanoparticles, Allicin, Toxicity, Stability