

بررسی اثر ضد رشد عصاره‌های هیدروالکلی درمنه‌ی دشتی بر مالاسزیا فورفور جداشده از نمونه بالینی

مسعود نجفی: دانشجوی دکتری دامپزشکی، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
عیسی غلامپور عزیزی: استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
مسعود هاشمی کرون: استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
دلنیا خانی: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
***سامانه روحی:** دانشجوی دکتری اپیدمیولوژی مولکولی باکتری‌ها، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (*نویسنده مسئول). roohi.samaneh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۹

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: قارچ مالاسزیا فورفور عامل بیماری پیتیریزیس و رسیکالر است. ترکیبات موجود در گیاه درمنه دشتی دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه درمنه دشتی بر قارچ مالاسزیا فورفور در شرایط آزمایشگاهی است.
روش کار: این مطالعه یک تحقیق تجربی-آزمایشگاهی بود. از گیاه درمنه دشتی به روش پرکولاسیون عصاره‌های آبی و الکلی تهیه و سپس غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن ساخته شد. روش انتشار از دیسک، تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) و حداقل غلظت کشدگی قارچی (Minimum Fungicidal Concentrations-MFC) جهت ارزیابی اثرات ضد قارچی این عصاره‌ها بر مالاسزیا فورفور در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. نرم افزار SPSS۲۱ و آزمون آنالیز واریانس دو طرفه جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات بکار رفت ($p < 0.05$).

یافته‌ها: بیشترین هاله عدم رشد در اثر بکارگیری عصاره اتانولی، متانولی و آبی به ترتیب ۱۸، ۱۷/۳۳ و ۱۳/۶۶ میلی‌متر بود که در غلظت ۷۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. بر اساس این نتایج، قارچ مالاسزیا فورفور به عصاره اتانولی درمنه دشتی حساسیت بیشتری داشت. MIC و MFC عصاره آبی به ترتیب با 25×10^3 و 5×10^3 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با MIC و MFC سایر عصاره‌ها بهتر بود. همچنین با بالا رفتن میزان غلظت عصاره، میزان اثر ضد قارچی نیز بیشتر شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌های مختلف تاثیر متفاوتی بر قطر هاله عدم رشد داشتند و با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد اطراف قارچ نیز افزایش یافت. با تحقیقات بیشتر در محیط درون تنی امید است از این گیاه در آینده به عنوان ترکیبی جهت درمان بیماری‌های پوستی بوجود آمده از این قارچ استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: عصاره‌های هیدروالکلی، درمنه دشتی، مالاسزیا فورفور، نمونه بالینی

مقدمه

انسان و همچنین به دلیل ارزش‌بری و هزینه بالای تهیه داروها و ناتوانی بسیاری از کشورهای جهان سوم برای خرید چنین داروهایی، توجه خاصی به سمت تهیه ترکیبات دارویی مؤثر و بی‌خطر از گیاهان معطوف شده است. استفاده از گیاهان دارویی همراه با هم یا با داروهای مدرن امروزی به‌منظور کاهش عوارض جانبی دارو و به‌صورت ترکیب برای اهداف درمانی مورد استقبال قرار گرفته است (۲). تحقیقات مختلف اثرات ضد میکروبی گیاهان را بر روی انواع قارچ‌ها ثابت کرده‌اند: Lee و همکارانش در سال ۲۰۱۰ روی ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد قارچی روغن‌های

امروزه قارچ‌ها به‌عنوان یک عامل مشخص و فزاینده مرگومیر در انسان و حیوانات بشمار می‌روند. اخیراً این عوامل به‌عنوان علل فرصت‌طلب با سیر شدید، به‌خصوص در موارد دچار ضعف سیستم ایمنی شناخته شده‌اند. نمونه‌ای از این عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب قارچ مالاسزیا فورفور (*Malassezia furfur*) می‌باشد (۱). این قارچ یک مخمر چربی‌دوست است که تنها در حضور برخی از فاکتورهای مستعد کننده بیماری‌زا می‌شود. به علت ظاهر شدن عوارض نامطلوب و جانبی ترکیبات شیمیایی و عدم سازگاری آن‌ها با

فورفور بالینی گرفته شده از بیمار (نمونه استاندارد نبود و فاقد ATCC بود) برای این مطالعه توسط دانشگاه علوم پزشکی مازندران ارائه شد. کشت قارچ به صورت خطی در محیط سابورو دکستروز آگار ((Sabouraud Dextrose Agar (SDA) شامل آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل و جنتامایسین (مرک، آلمان) برای جلوگیری از رشد باکتری ها انجام و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس کلونی ها به وسیله‌ی بلودومتیلن رنگ آمیزی شدند. گونه‌ی مالاسزیا فورفور بر اساس مورفولوژی کلنی، شکل میکروسکوپی و عدم رشد بر روی محیط سابورو دکستروز بدون چربی شناسایی گردید. پس از تایید مالاسزیا فورفور در گروه قارچ شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، مطالعه بر روی آن‌ها انجام شد (۵).

در شرایط کاملاً استریل، از کلنی خالص سوسپانسیون قارچی معادل نیم مک فارلند $10^6 \times 1/5$ باکتری در سرم فیزیولوژی استریل تهیه و به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر سوسپانسیون مربوطه با طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد. جهت انجام آزمایش نیم مک فارلند رقیق و به اندازه $10^6 \times 1/5$ رسید.

عصاره گیری آبی و الکلی: جهت عصاره گیری آبی ابتدا ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر با دمای ۸۰- ۷۰ درجه سانتی گراد به ۳۰ گرم از پودر خشک گیاه اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در بن ماری با دمای ۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد منتقل شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت مخلوط حاصل با کاغذ صافی NO.1 صاف شد. سپس مخلوط صاف شده به زیر هود منتقل و آب آن کاملاً خشک شد (۶ و ۷).

همچنین جهت عصاره گیری الکلی ابتدا دو سری ۳۰۰ گرم از پودر خشک گیاه به طور جداگانه در ۱۲۰۰ میلی لیتر متانول ۹۶ درصد برای تهیه ی عصاره ی متانولی و ۱۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد برای تهیه ی عصاره ی اتانولی به مدت ۲ ساعت کاملاً هم زده شد. مخلوط ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه) قرار داده شدند. روز بعد حلال حاوی عصاره با

گیاهی بر مالاسزیا فورفور مطالعه کردند. در این تحقیق ۱۰۸ گیاه مورد بررسی قرار گرفتند. از این بین، ۱۷ گیاه از جمله شاه‌ی (Lepidium sativum L.)، زیره سیاه (Carum carvi L.)، گشنیز (Coriandrum sativum L.) و نارنج (Citrus auratifolia) اثر ضد مالاسزیا فورفور داشتند. در این بین نارنج دارای اثر مهاری همانند ایتراکونازول بر روی مالاسزیا فورفور بود (۳). Lopes-Lutz و همکاران در سال ۲۰۰۸ خاصیت ضد میکروبی اسانس هفت گونه از گیاه درمنه (Artemisia) را بر کاندیدا آلبیکانس (Candida albicans)، کریپتوکوکوس نئوفورمسانس (Cryptococcus neoformans) و آسپرژیلوس نایجر (Aspergillus niger) مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق کاندیدا آلبیکانس کوچک ترین هاله عدم رشد و کمترین میزان حساسیت را به این اسانس ها داشت (۴). در مطالعه ای دیگر نیز Gholampour و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر بازدارندگی از رشد عصاره های آبی و الکلی خربزه وحشی را بر رشد کاندیدا آلبیکانس نشان دادند (۵). بنابر مطالب گفته شده و باتوجه به اثرات دارویی این گیاه و همچنین نیاز جامعه ی امروزی به داروهای جدید، هدف در این تحقیق بررسی اثرات ضد قارچی عصاره های آبی و الکلی گیاه درمنه ی دشتی (Artemisia deserti) در محیط آزمایشگاهی (in- vitro) بر روی قارچ مالاسزیا فورفور می باشد.

روش کار

نمونه گیری و آماده سازی گیاه: این تحقیق تجربی- آزمایشگاهی در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انجام و گیاه درمنه دشتی از شهرستان اراک واقع در استان مرکزی در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ جمع آوری شد. نمونه های جمع آوری شده به طور کامل چند بار با آب تمیز شستشو داده و بعد از حذف کامل آب، توسط جریان هوای گرم به طور کامل در دمای اتاق به مدت یک ماه خشک شدند. سپس نمونه ها توسط آسیاب برقی پودر شدند.

نمونه گیری و آماده سازی قارچ: نمونه ی مالاسزیا

Dextrose Broth (SDA) (مرک، آلمان) اضافه و همچنین طبق ۰/۱ سریال رقت ۱ میلی لیتر از عصاره نیز به آن ها اضافه شد. در مرحله بعد ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون قارچی به لوله ها اضافه و لوله ها در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. لوله شماره ۱۰ به عنوان کنترل مثبت (۱ میلی لیتر سابورو دکستروز برات + ۱ میلی لیتر سوسپانسیون قارچی) و لوله ۱۱ به عنوان کنترل منفی (۱ میلی لیتر سابورو دکستروز برات) در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ ((MFC) Minimum Fungicidal Concentrations): بعد از انکوباسیون جهت تعیین MFC مقدار ۱۰ میکرولیتر از لوله MIC و سایر لوله های فاقد کدورت برداشته و در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد و بعد از گذشت زمان لازم در انکوباتور، واحد تشکیل کلنی (Colony Forming Unit-CFU) تعیین شد. به این ترتیب کلنی ها شمرده و در عکس ضریب رقت (1/10) ضرب شد و تعداد قارچ ها در پلیت ها به دست آمد. کمترین غلظتی که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری: از نرم افزار SPSS۲۱ و آزمون آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی اثر میزان غلظت و انواع عصاره بر قطر هاله عدم رشد قارچ استفاده شد ($p < 0/05$).

یافته‌ها

نتایج روش انتشار از دیسک: با احتساب میانگین سه بار تکرار برای هر آزمایش نتایج آزمون قطر هاله ممانعت از رشد قارچ مالاسزیا فورفور به روش انتشار در دیسک مشخص شد. عصاره اتانولی، متانولی و آبی به ترتیب با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۸، ۱۷/۳۳،

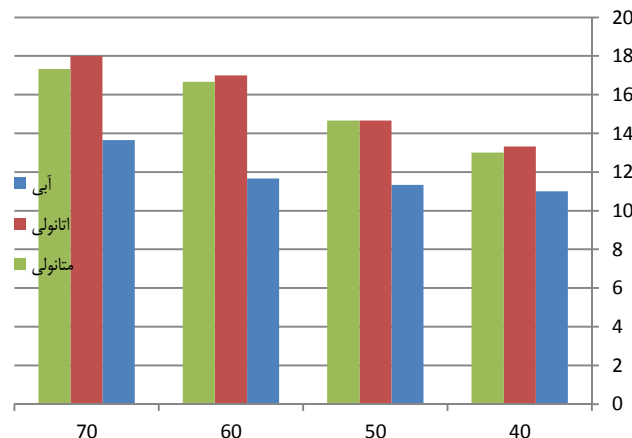
استفاده از کاغذ صافی از مخلوط جدا و مجدداً به آن حلال اضافه شد. این عمل تا ۵ روز انجام شد و تمام حلال ها باهم مخلوط شده و پس از صاف شدن به دستگاه تقطیر در خلا منتقل شدند تا تقطیر شوند. پس از اینکه عصاره غلیظ شد، زیر هود قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. عصاره ی خشک تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگه داری شد (۷ و ۶).

روش انتشار از دیسک: جهت تعیین اثر ضد قارچی عصاره آبی و الکلی به روش انتشار در دیسک، از هر عصاره به طور جداگانه غلظت های ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر از غلظت تهیه و روی دیسک های استریل استاندارد خالی (پاتن طب، ایران) به وسیله سمپلر وارد شد. سپس دیسک ها در فور ۴۵ درجه سانتی گراد گذاشته شدند تا خشک شوند. در مرحله بعد یک لایه نازک از روغن زیتون به وسیله سوآب استریل به محیط کشت سابورو دکستروز آگار اضافه و سوسپانسیون قارچی تهیه شده به صورت سفره ای روی آن کشت داده شد. سپس دیسک ها به وسیله پنس استریل روی آن قرار داده شد. پلیت ها برای ۴۸ ساعت در ۳۲ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کنترل مثبت دیسک حاوی داروی کلوتریمازول ۱ درصد به مقدار ۲۵ میکرو لیتر و کنترل منفی دیسک حاوی مقدار ۱۵ میکرو لیتر از دی متیل سولفوکساید Dimethyl sulfoxide ((DMSO)) بود که به وسیله ی سمپلر بر روی دیسک ها ریخته شد (۸ و ۶).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی ((Minimum Inhibitory Concentration (MIC)): جهت تعیین MIC، ۱۱ لوله در نظر گرفته شد و به هر کدام از آن ها ۱ میلی لیتر از سابورو دکستروز برات حاوی مقداری روغن زیتون (Sabouraud

جدول ۱ - میانگین قطر هاله ممانعت از رشد (میلی متر) مالاسزیا فورفور ایجاد شده توسط غلظت های معین از عصاره های درمنه دشتی به روش انتشار از دیسک غلظت

نوع عصاره	۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر	۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر
آبی	۱۱	۱۱/۳۳	۱۱/۶۶	۱۳/۶۶
متانولی	۱۳	۱۴/۶۶	۱۶/۳۳	۱۷/۳۳
اتانولی	۱۳/۳۳	۱۴/۶۶	۱۷	۱۸



نمودار ۱- میانگین قطر هاله ممانعت از رشد (میلی متر) مالاسزیا فورفور ایجاد شده (محور عمودی) توسط غلظت های معین از عصاره های درمنه دشتی (محور افقی) به روش انتشار از دیسک

جدول ۲- MIC و MFC عصاره آبی، اتانولی و متانولی گیاه درمنه دشتی روی رشد مالاسزیا فور فور (میلی گرم بر میلی لیتر)

عصاره	MIC	MFC
آبی	25×10^{-3}	5×10^{-4}
اتانولی	125×10^{-2}	25×10^{-3}
متانولی	125×10^{-2}	25×10^{-3}

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر ضد رشد عصاره گیاه درمنه دشتی بر قارچ مالاسزیا فور فور مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه غلامپور عزیز و همکاران در سال ۲۰۱۵ تاثیر اثر ضد قارچی عصاره برگ درخت گردو بر مالاسزیا فورفور در شرایط آزمایشگاهی تعیین شد. در این تحقیق عصاره آبی و الکی برگ درخت گردو را در غلظت های متفاوت به روش دیسک و چاهک آزمایش کردند. بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد برای عصاره آبی، اتانولی و متانولی در غلظت ۱۱۰ میلی گرم به ترتیب ۳۰، ۲۸/۶۶ و ۴۶/۳۳ میلی متر بود. MIC عصاره آبی بر مالاسزیا فورفور برابر با 25×10^{-3} میلی گرم بر میلی لیتر و MFC آن 5×10^{-4} میلی لیتر تعیین شد. MIC و MFC عصاره اتانولی برگ درخت گردو نیز به ترتیب ۶۲۵۰ و 125×10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر بودند. همچنین MIC و MFC عصاره متانولی به ترتیب برابر با 25×10^{-3} و 5×10^{-4} میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شدند (۹). در مطالعه حاضر بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد برای عصاره اتانولی، متانولی و آبی به ترتیب

و $13/66$ میلی‌متر در غلظت ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر بازدارندگی را بر رشد قارچ مالاسزیا فورفور داشتند (جدول ۱ و نمودار ۱).

نتایج حاصل از تعیین MIC و MFC: عصاره آبی برابر با 25×10^{-3} میلی گرم بر میلی لیتر بود که در مقایسه با سایر عصاره ها کمتر و در نتیجه بهتر بود. همچنین MFC عصاره آبی 5×10^{-4} میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد که در مقایسه با MFC عصاره اتانولی و متانولی کمتر و موثرتر بود (جدول ۲).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری: اثر عامل‌های غلظت و عصاره بر قطر هاله عدم رشد قارچ مالاسزیا فورفور با استفاده از روش آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که غلظت های مختلف عصاره بر روی هاله عدم رشد در روش دیسک تاثیر معنی داری دارد و با بالا رفتن میزان غلظت اثر ضد قارچی نیز بیشتر شد ($p < 0/05$). مقایسه بین غلظت های مختلف عصاره نیز نشان داد که این غلظت ها روی هاله عدم رشد در روش دیسک به غیر از مقایسه بین غلظت ۴۰ با ۵۰ تاثیر معنی داری دارد ($p < 0/05$).

نشان می دهد (۱۴-۱۲).

روش انتشار از دیسک یک روش کیفی است و جهت شناسایی مقاومت یا حساسیت میکروب ها نسبت به مواد ضد میکروبی استفاده می شود اما یک روش کیفی بوده و از دقت زیادی برخوردار نیست. همچنین ممکن است بعضی از ترکیبات گیاهی در حلال حل نشده باشند و اثرات خود را بخوبی ظاهر نساخته باشند که از محدودیت های مطالعه حاضر به شمار می رود (۱۵ و ۱۶).

بنابراین با توجه به این نتایج در آینده می بایست تحقیقات بیشتری را بر این گیاه در شرایط درون تنی (in vitro) و درون آزمایشگاهی (in vivo) انجام داد و ترکیبات ضد میکروبی بی خطر و مؤثر آن را مشخص و استخراج نمود. یافته های مطالعه حاضر را به همراه یافته های مطالعات تکمیلی را جهت تولید داروهای حاصل از این گیاه جهت درمان بیماری های ناشی از مالاسزیا صورت جدا و یا همراه با داروهای شیمیایی می توان استفاده نمود.

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر اثر ضد قارچی گیاه درمنه دشتی را روی مالاسزیافورفور ثابت کرد. تمام غلظت های استفاده شده از عصاره های آبی، اتانولی و متانولی تاثیر مهاری بر رشد مالاسزیافورفور داشتند، بنابراین عصاره های مذکور حاوی ترکیبات ضد قارچی می باشند. همچنین در مطالعه حاضر اثرات ضد قارچی عصاره های الکلی (اتانولی و متانولی) در مقایسه با عصاره آبی بیشتر بود و می تواند نشان دهنده این موضوع باشد که مواد مؤثر در گیاه درمنه دشتی در الکل قدرت حل شونده و تاثیر گذاری بیشتری دارند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از تمامی کسانی که ما در اجرای این پژوهش یاری رسانده اند، به خصوص عوامل و کارکنان در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل و کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تقدیر و تشکر به عمل می آید.

۱۸، ۱۷/۳۳ و ۱۳/۶۶ میلی متر بود که در غلظت ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. MIC عصاره آبی $10^3 \times 25$ ، اتانولی $10^2 \times 125$ و متانولی نیز $10^2 \times 125$ میلی گرم بر میلی لیتر ارزیابی شد. همچنین MFC عصاره آبی $10^4 \times 5$ ، اتانولی $10^3 \times 25$ و متانولی $10^3 \times 25$ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شدند که تقریباً مشابه با مطالعه غلامپور عزیز می بود.

مطهری نیا و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر ضد قارچی عصاره شیرین بیان، گیاه ختمی و کتوکونازول را بر مالاسزیا فورفور بررسی کردند. MIC و MFC برای هر یک از ترکیب های مورد استفاده بر اساس رویت چشمی و شمارش تعداد کلنی های قارچی در مقایسه با گروه شاهد محاسبه شد. میزان MIC از رشد عصاره های گل ختمی، ریشه ی ختمی، ریشه ی شیرین بیان و داروی کتوکونازول به ترتیب: ۱۸/۲۵، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۲/۶۵ میکرو گرم بر میلی لیتر تعیین شد. میزان MFC عصاره ی گل ختمی و داروی کتوکونازول به ترتیب: $50 >$ و $32 >$ میکرو گرم بر میلی لیتر تعیین شدند. در این مطالعه عصاره گل ختمی در مقایسه با عصاره ریشه ختمی و ریشه شیرین بیان اثر ضد قارچی بیشتری دارد. همچنین کتوکونازول در مقایسه با این عصاره ها دارای بیشترین تاثیر ضد قارچی بر مالاسزیا فورفور بود (۱۰). ندیمی و همکاران در سال ۲۰۱۱ تاثیر عصاره ی آبی و اتانولی گیاه کلیپوره را بر دو گونه مالاسزیا بررسی کردند. در این تحقیق از عصاره های آبی و اتانولی غلظت های ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. روش پورپلیت و MIC نشان داد که دادند هیچ یک از غلظت های عصاره های اتانولی و آبی کلیپوره تاثیر مهاری بر رشد مالاسزیا فورفور و مالاسزیا گلوبوزا نداشتند (۱۱).

مطالعات متعدد ترکیبات شیمیایی و مواد موثره گیاه درمنه را مشخص کرده است. از عصاره استخراج شده از این گیاه، منوترپن، چهار سزکویترین، مشتقات بیزابولن و کتون سالسولن به دست آمده است. همچنین اسانس این گیاه شامل میزان زیادی از آرتمیزیاکتون می باشد و اثرات ضد میکروبی خود را با اثر بر دیواره سلولی

Phytochemistry of essential oil from different parts of *Artemisia aucheri* Boiss collected from Chaharmahal va Bakhtiari province, Iran. JHD; 2014.4:189-92. [Persian].

14. Niakan M, Attar Pour Yazdi MM, Safaei-Ghomi J, Khaloei M, Djafari Z. Effect of methanol extracts of *Artemisia persica* on kinetic growth of *S. aureus* and *B. subtilis* bacteria. JMP; 2011.4:139-43. [Persian].

15. Yaghooti Khorasani MM, Bahramabadi R, Moghbeli H. In vitro comparison of the antimicrobial efficacy of *Zataria multiflora*®, chlorhexidine and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. J Res Dent Sci; 2015.12:21-6. [Persian].

16. Zajkani E, Zeighami H, Zaeefjou A. Comparison of the effect of fluoride 0.2% and a combination mouthwash (xylitol and fluoride) on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* growths. JDT; 2017.30:57-64. [Persian].

منابع

1. Gholampourazizi I, Rouhi S, Zandi S, Kashefi H, Hassanzadeh Miandasteh S. Antifungal effect of *Melia azedarach* alcoholic and aquatic extract on *Malassezia furfur*. NHJ; 2017.1:11-7. Persian.

2. Razzaghpour A, Shams Ghahfarrokhi M, Yadegari M, Razzaghi Abyaneh M. Antifungal effects of fluconazole, itraconazole and ketoconazole in intact forms and also combinations to each other against some pathogenic yeasts. HMS; 2008.13:29-39. [Persian].

3. Lee JH, Lee JS. Chemical composition and antifungal activity of plant essential oils against *Malassezia furfur*. Korean J Microbiol Biotechnol; 2010.38:315-21.

4. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. Phytochemistry; 2008.69:1732-8.

5. Gholampour-Azizi I, Rouhi S, Yahyayi F. In vitro antifungal activity of *Cucumis melo* on *Candida albicans*. J Res Med Sci; 2015.17:e1019.

6. Zareii B, Seyfi T, Movahedi R, Cheraghi J, Ebrahimi S. Antibacterial effects of plant extracts of *Alcea digitata* L., *Satureja bachtiarica* L. and *Ferulago angulata* L. JBUMS; 2014.16:31-7. [Persian].

7. El-Kamali HH, EL-Karim EMA. Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants used in Sudanese traditional medicine for treatment of wound infections. Acad J Plant Sci; 2009. 2:246-51.

8. Espinel-Ingroff AV, Pfaller MA. Susceptibility test methods: yeasts and filamentous in fungi. In: Manual of clinical microbiology, 9th ed. Washington, DC: ASM Press; 2007. p. 1972.

9. Gholampourazizi E, Rouhi S, Nouri B, Miandasteh SH. In vitro study of antifungal effect of walnut (*Juglans regia* L.) leaf extract on the *Malassezia furfur*. SJKUMS; 2015. 20:30-9. [Persian].

10. Motaharinia Y, Rezaee MA, Zandi F, Hosseini W, Rashidi A, Ahmadi neaz M, et al. Comparison of the antifungal effect of Licorice root, *Althoaofficinalis* extracts and ketoconazole on *Malassezia furfur*. Armaghane Danesh; 2011.16:425-32. [Persian].

11. Nadimi M, Zia M, Madani M. The effect of aqueous and ethanolic extracts of *Teucrium polium* on *Candida albicans* and two species of *Malassezia*. Zahedan J Res Med Sci; 2013.15:34-8.

12. Doroodgar A, Arbabi M, Razavi MR, Mobeali M, Sadr F, Tashakkor Z. Effect of *artemisia sieberi* extract on *Leishmania major* ulcers in BALB/c mice. Feyz; 2007. 11:52-6. [Persian].

13. Mirzaeian S, Oraie M, Ghasemi Pirbalouti A.

Investigation of the anti-growth effect of hydroalcoholic extract of *Artemisia deserti* on *Malassezia furfur* isolated from clinical specimen

Masoud Najafi, PhD Student of Veterinary, Department of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran.

Issa Gholampour Azizi, Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran.

Masoud Hashemi Karouei, Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran.

Delniya Khani, Msc Student of Medical Microbiology, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

Samaneh Rouhi, PhD Student of Molecular Epidemiology of Bacteria, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran (*Corresponding author). roohi.samaneh@yahoo.com

Abstract

Background: Fungi *Malassezia furfur* (*M. furfur*) is the causative agent of pityriasis versicolor disease. The compounds in the *Artemisia deserti* (*A. deserti*) have antimicrobial properties. The purpose of this research is investigation of the antifungal effect of aqueous and alcoholic extracts of plant *A. deserti* on the *M. furfur* in the laboratory conditions.

Methods: From the *A. deserti* plant by the method of percolation, the aqueous and alcoholic extracts were prepared and then concentration of 40, 50, 60 and 70 mg/ml was made. In order to evaluate the antifungal effects of these extracts on *M. furfur* in laboratory Disc diffusion method, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentrations (MFC) was investigated. SPSS21 software and the two-way ANOVA were used to analyze the data ($p < 0.05$).

Results: Maximum diameter of inhibition growth by application of ethanolic, methanolic and aqueous extracts was 18, 17.33 and 13.66 millimeter, respectively that were seen in the concentration of 70 mg/ml. *M. furfur* fungus was more susceptible to ethanolic extract of *A. deserti*. The MIC and MFC of the aqueous extracts with 25×10^3 and 5×10^3 , respectively, was better in comparison to MIC and MFC of other extracts. Also, with an increase in the concentration of the extracts, the antifungal effect was also increased ($p < 0.05$).

Conclusion: Different extractions had different effect on the diameter of growth inhibition and by increasing the concentration of extracts, the diameter of growth inhibition increased too. With more research in the *in-vivo*, it is hoped that this plant will be used in the future as a combination to treat skin diseases caused by this fungus.

Keywords: Hydroalcoholic extracts, *Artemisia deserti*, *Malassezia furfur*, Clinical specimen