



اثر ضد قارچی عصاره‌های الکلی و آبی میوه زیتون تلخ (*Melia azedarach*) بر مالاسزیا فورفور

عیسی غلامپور عزیزی (PhD)^۱، سمانه روحی (PhD)^۲، سیران زندی (MSc)^۳،
هاجر کاشفی (MSc)^۴، شعبان حسن زاده میانداسته (MSc)^۵

پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۳

اصلاح: ۹۵/۱۰/۲۴

دریافت: ۹۵/۹/۲۵

۱- گروه میکروب شناسی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۳- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۴- مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۵- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.

● نویسنده مسئول: شعبان حسن زاده میانداسته

آدرس: ایران، مازندران، بابل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، دانشکده پرستاری و مامایی، گروه علوم آزمایشگاهی.

تلفن: ۰۹۳۵ ۳۹۲۹۵۷۵

پست الکترونیکی: microbiol_sci@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: قارچ مالاسزیا فورفور عامل بیماری کچلی تغییر دهنده رنگ پوست می‌باشد. با توجه به مقاومت دارویی ایجاد شده، امروزه استفاده از داروهای گیاهی مورد توجه است. هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر ضد قارچی عصاره‌های الکلی و آبی میوه زیتون تلخ بر روی مالاسزیا فورفور می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عصاره‌گیری به روش تقطیر ساده از میوه زیتون تلخ انجام شد. روش انتشار در چاهک و لوله به ترتیب جهت تشخیص اثر ضد قارچی عصاره‌ها و کمترین غلظت مهارکنندگی به کار رفت. جهت تجزیه و تحلیل آماری، از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها: بیشترین میانگین قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۱۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره آبی، متانولی و اتانولی مشاهده شد که به ترتیب 19 ± 1 ، $29/33 \pm 2/3$ و 40 ± 1 میلی‌متر بودند. بهترین غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و برابر با $390/625$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نوع عصاره و غلظت دارای تاثیر معنی‌داری بر قطر هاله عدم رشد اطراف قارچ بودند و در غلظت‌های بالاتر اثر ضد رشد بهتری داشتند ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج، میوه زیتون تلخ احتمالاً می‌تواند دارای اثرات ضد قارچی باشد. پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری جهت یافتن بهترین عصاره‌های میوه زیتون تلخ با اثرات ضد قارچی قوی‌تر و اثرات جانبی کمتر نسبت به داروهای شیمیایی صورت پذیرد.

واژه‌های کلیدی: زیتون تلخ، قارچ، مالاسزیا

مقدمه

قارچ مالاسزیا فورفور (*Malassezia furfur*) یک مخمر چربی دوست و عامل بیماری کچلی تغییردهنده رنگ پوست (Tinea Versicolor) است (۲۰۱). در سال‌های اخیر، مقاومت به انواع داروها در انسان به وجود آمده که به علت استفاده بی‌رویه از داروهای ضد میکروبی می‌باشد. همچنین افزایش عفونت‌های قارچی ناشی از قارچ‌های بیماری‌زا و فرصت‌طلب، به ویژه در بیماران با ضعف سیستم ایمنی، به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان مطرح شده است. این وضعیت دانشمندان را مجبور به جستجو

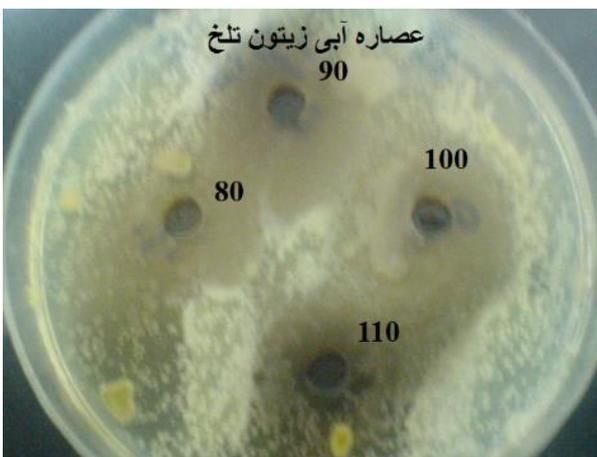
عوامل ضد میکروبی جدید در منابع مختلف مانند گیاهان کرده است (۳-۵). سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۹۷ اعلام کرد که داروهای گیاهی می‌توانند جایگزین خوبی برای داروهای شیمیایی باشند (۶). زیتون تلخ با نام علمی *Melia azedarach* یکی از مفیدترین گیاهانی می‌باشد که از بخش‌های مختلف آن در طب سنتی استفاده می‌شود (۷). در تحقیقی که به روش تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) و روش انتشار در آگار (Agar Well Diffusion Method) صورت گرفت، گزارش شد که عصاره الکلی و

به صورت خطی کشت و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. مالاسزیا فورفور براساس رنگ‌آمیزی بلودومیلین، مورفولوژی کلونی، شکل میکروسکوپی و عدم رشد بر روی محیط سابورو دکستروز آگار بدون چربی تایید گردید. بعد از این مرحله سوسپانسیون این قارچ به اندازه 1×10^8 CFU/ml براساس استاندارد ۰/۵ مک فارلند آماده شد. جهت تعیین اثر ضد قارچی با استفاده از روش انتشار از چاهک، سوسپانسیون قارچی تهیه شده بر روی محیط سابورو دکستروز آگار به صورت سفره‌ای کشت داده شد. سپس در یک پلیت، چهار چاهک ۷ میلی‌متری در فواصل مساوی ایجاد شد. در هر کدام از این چاهک‌ها به وسیله سمپلر حجم ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره ریخته و سپس پلیت‌ها برای ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۴).

در روش تعیین MIC، غلظت قارچی معادل ۰/۵ مک فارلند آماده شد. ۱۱ لوله در نظر گرفته شد و به هر کدام از آن‌ها ۱ میلی‌لیتر از سابورو دکستروز برات (مرک، آلمان) اضافه و همچنین طبق ۰/۱ سریال رقت ۱ میلی‌لیتر از عصاره نیز به آن‌ها اضافه شد. در مرحله بعد، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی به لوله‌ها اضافه و لوله در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. لوله شماره ۱۰ به عنوان کنترل (۱ میلی‌لیتر سابورو دکستروز برات + ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی) و لوله ۱۱ به عنوان کنترل منفی (۱ میلی‌لیتر سابورو دکستروز برات) در نظر گرفته شد. بعد از انکوباسیون MIC بر اساس وجود کدورت یا عدم وجود کدورت در لوله‌ها تعیین شد (۱۵). تمامی آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام و نتیجه به صورت میانگین ارائه گردید. از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی اثر میزان غلظت و انواع عصاره بر قطر هاله عدم رشد قارچ استفاده شد. $p < 0.05$ سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

عصاره آبی میوه زیتون تلخ اثر ضد قارچی کمی را نشان داد. نتایج میانگین قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره آبی به ترتیب $16/33 \pm 2/08$ ، $16/33 \pm 1/52$ ، $16/66 \pm 1/15$ و 19 ± 1 میلی‌متر بود (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره آبی میوه زیتون تلخ به روش چاهک

آبی برگ گیاه زیتون تلخ، اثر ضد رشد باکتریایی بر باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا و همچنین اثر ضد رشد قارچی علیه قارچ‌های اسپریژیلوس نایجر، اسپریژیلوس فلاووس، فوزاریوم آکسی اسپوریوم و رازیوپوس استولونیر داشت. کمترین غلظت مهارکنندگی رشد میکروب‌های مذکور در این مطالعه ۲۶/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد (۸).

در دیگر مطالعه انجام شده تاثیر عصاره الکلی برگ و میوه زیتون تلخ بر قارچ کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که این عصاره دارای اثر ضد کاندیدی بوده و مقدار کمترین غلظت مهارکنندگی موثر بر این قارچ ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۹). همچنین محققان نشان دادند که عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ دارای فعالیت ضد باکتریایی است و کمترین غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی و باسیلوس سرئوس به ترتیب ۴۰، ۸۰، ۸۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۱۰). بنابر مطالب گفته شده و ارزش دارویی گیاه زیتون تلخ، هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد قارچی عصاره‌های الکلی و آبی میوه زیتون تلخ در محیط آزمایشگاهی (*in-vitro*) بر روی قارچ مالاسزیا فورفور بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل در استان مازندران انجام شد. در فصول پاییز و زمستان ۱۳۸۹ از مزارع شهرستان بابل نمونه میوه زیتون تلخ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با آب فراوان شستشو و بعد از حذف کامل آب در دمای اتاق خشک شدند. سپس به وسیله آسیاب برقی تبدیل به پودر شدند. عصاره‌گیری‌ها به روش تقطیر ساده انجام شد. ابتدا ۲۵ گرم از پودر میوه زیتون تلخ خشک شده همراه با ۲۵۰ سی‌سی آب داخل ارلن قرار داده و ۳ دقیقه به طور مداوم تکان داده شدند. در عصاره‌گیری الکلی نیز ابتدا دو سری ۲۵ گرمی از پودر میوه زیتون تلخ خشک وزن، هر کدام داخل ارلن‌های جداگانه ریخته شد، سپس به ازای هر ۱۰ گرم از پودرهای تهیه شده ۱۰۰ سی‌سی متانول برای تهیه عصاره متانولی، ۱۰۰ سی‌سی اتانول برای تهیه عصاره اتانولی، ۱۰۰ سی‌سی دی‌اتیل اتر (حلال قطبی با دمای جوش پایین بوده و مواد قطبی و نیمه قطبی را حل می‌کند) و ۱۰۰ سی‌سی N-هگزان (حلال غیر قطبی است و به صورت مخلوط با حلال‌های دیگر به عنوان حلال برای استخراج روغن گیاهی به کار می‌رود) به داخل ارلن‌های جداگانه اضافه شد. دهانه هر کدام از ارلن‌ها توسط ورقه آلومینیوم بسته و سپس ارلن‌ها به مدت ۳ دقیقه به طور مداوم تکان داده و برای ۲۴ ساعت در دمای ۲۷ درجه اتاق قرار داده شدند. از کاغذ صافی NO.1 برای صاف کردن عصاره‌ها استفاده شد و نهایتاً در دستگاه روتاری (Rotary evaporator RE300) جهت حذف حلال قرار گرفتند. بعد از عصاره‌گیری نمونه‌ها را در فور ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا به طور کامل حلال اضافی حذف و عصاره خشک شود. برای تهیه محلول استوک، ۱ گرم از عصاره‌های خشک شده در غلظت نهایی ۵ میلی‌لیتر ماده دی‌متیل سولفوکساید حل شد و به وسیله سرنگ میلی‌پور با فیلترهایی به قطر ۰/۲۲ میکرون صاف شد (۱۱-۱۳).

نمونه بالینی مالاسزیا فورفور توسط دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شد. مالاسزیا فورفور در محیط سابورو دکستروز آگار (مرک، آلمان) (شامل آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل ۱ درصد و جنتامایسین ۸۰ میلی‌گرم برای جلوگیری از رشد باکتری)

هر سه نوع عصاره نشان داد. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که نوع عصاره و غلظت دارای تاثیر معنی داری بر قطر هاله عدم رشد قارچ می باشد ($P < 0.05$) (جدول ۱). قطر هاله عدم رشد قارچ برای عصاره اتانولی و متانولی در غلظت ۸۰ میلی گرم در میلی لیتر بیشتر از عصاره آبی بود که با افزایش غلظت افزایش داشت.

بحث و نتیجه گیری

امروزه توجه بشر به استخراج عصاره ها و اسانس های گیاهی و ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در آن ها جهت درمان عفونت ها افزایش یافته است (۱۶). گیاهان ترکیبات مختلفی دارند که استخراج آن ها به نوع حلال و روش استخراج بستگی دارد. امروزه از روش هایی مانند کلونجر جهت جداسازی اسانس یا ترکیبات آروماتیک از سایر ترکیبات در گیاهان استفاده می شود. از روش های مختلف عصاره گیری نیز می توان به تقطیر، سوکسله و خیساندن اشاره نمود (۱۷-۱۹). در مطالعه حاضر از روش تقطیر ساده جهت عصاره گیری آبی و الکلی استفاده شد که در نهایت عصاره تام گیاه به دست می آید (۲۰). این روش نسبت به خیساندن از نظر هزینه و زمان مقرون به صرفه تر می باشد. از طرفی در خیساندن طیف وسیعی از مواد شیمیایی استخراج می شوند (۲۱). در روش سوکسله نیز زمان و مقدار بیشتری حلال لازم است و به علت استفاده از دمای بالا، ترکیبات حساس به حرارت آسیب دیده و از بین می روند و مواد ناخواسته و نامطلوبی ایجاد می شود (۱۹ و ۲۱).

براساس نتایج مطالعه حاضر، عصاره آبی و الکلی میوه زیتون تلخ بر رشد مالاتریا فورفور اثر گذاشتند و تا حدودی از رشد قارچ جلوگیری به عمل آوردند. در مطالعه ای که محققان در ایران انجام دادند، اثر مهاری عصاره متانولی برگ، میوه، دانه و گل گیاه زیتون تلخ را بر جنس های ژئوتریکوم، اسکروتیوم، تریکودرما و گونه های فوزاریوم اکس اسپوریوم و ریزوکتونیا سولانی به وسیله روش انتشار از دیسک بررسی کردند. در این مطالعه از عصاره مذکور سه غلظت ۷۵، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. بیشترین اثر ضد میکروبی عصاره گل بر جنس تریکودرما، عصاره میوه و دانه بر ریزوکتونیا سولانی و در برگ بر فوزاریوم اکسی اسپوریوم گزارش شد. بیشترین غلظت مهارکنندگی در این مطالعه برای هر سه عصاره در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (۱۱).

در مطالعه ای دیگر که در ایران صورت گرفت، اثر مهاری عصاره متانولی برگ، گل، میوه و دانه زیتون تلخ را بر سودوموناس سیرنگی، زانتوموناس کامپستریس و رادیوباکتر تریپسیسی به روش انتشار از دیسک و در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ بررسی شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت تهیه شده از عصاره متانولی، اثر ضد رشد آنها بر باکتری ها نیز افزایش یافته است (۲۲). در مطالعه ما نیز با افزایش غلظت عصاره های آبی و الکلی میوه زیتون تلخ، اثر ضد قارچی بیشتری مشاهده شد. قطر هاله های ممانعت از رشد در اطراف چاهک با غلظت ۱۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر برای هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی بیشتر از سایر غلظت ها بود.

در کشور عراق، فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی و آبی برگ زیتون تلخ بر استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشیشیا کلی، جنس کلیسیلا و کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی اثر ضد رشد بر میکروب های مورد مطالعه داشت اما عصاره آبی برگ زیتون

میانگین قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره متانولی به ترتیب $29/33 \pm 2/3$ و 26 ± 2 ، $26/33 \pm 0/57$ و $24/66 \pm 0/57$ میلی متر بود (شکل ۲).



شکل ۲. نتایج قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره متانولی میوه زیتون تلخ به روش چاهک

میانگین قطر هاله عدم رشد برای غلظت های ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره اتانولی به ترتیب $29/66 \pm 2/08$ ، $34 \pm 2/64$ ، 37 ± 1 و 40 ± 1 میلی متر بود (شکل ۳).



شکل ۳. نتایج قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک حاوی ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ به روش چاهک

نتایج حاصل از تعیین MIC نشان داد که عصاره آبی میوه زیتون تلخ نسبت به دو عصاره دیگر بر روی مالاتریا فورفور اثر کمتری داشت و MIC آن برابر با ۳۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. همچنین MIC عصاره متانولی میوه زیتون تلخ برابر ۶۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود و در مقابل آن عصاره اتانولی اثر ضد رشد بیشتری را در MIC $390/625$ میلی گرم بر میلی لیتر نشان داد. تعیین MIC برای هر عصاره نیز با سه بار تکرار انجام شد که هر بار آزمایش نتیجه یکسانی را برای

جدول ۱. میانگین قطر هاله ممانعت از رشد (میلی‌متر) مالاسزیا فورفور ایجاد شده توسط غلظت‌های معین از عصاره‌های میوه زیتون تلخ به روش چاهک

p-value	غلظت				نوع عصاره
	۱۱۰ میلی گرم در میلی لیتر (Mean±SE)	۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر (Mean±SE)	۹۰ میلی گرم در میلی لیتر (Mean±SE)	۸۰ میلی گرم در میلی لیتر (Mean±SE)	
	(۱۹±۱)	(۱۶/۶۶±۱/۱۵)	(۱۶/۳۳±۱/۵۲)	(۱۶/۳۳±۲/۰۸)	آبی
<۰/۰۰۰۱	(۲۹/۳۳±۲/۳)	(۲۶±۲)	(۲۶/۳۳±۰/۵۷)	(۲۴/۶۶±۰/۵۷)	متانولی
	(۴۰±۱)	(۳۷±۱)	(۳۴±۲/۶۴)	(۲۹/۶۶±۲/۰۸)	اتانولی
<۰/۰۰۰۱		۰/۰۲			p-value

فنول موجود در عصاره‌های گیاهان، نوع و غلظت عصاره باشد (۵). با افزایش مقاومت دارویی جستجو جهت یافتن داروهای ضد میکروبی افزایش یافته است که اثرات سمی کمتری نیز نسبت به داروهای شیمیایی دارند (۲۸).

اثرات ضد قارچی گیاه زیتون بر روی رشد انواع عوامل قارچی در تحقیقات مختلف نشان داده شده است که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. عصاره های مختلف میوه زیتون تلخ محدوده مختلفی از اثرات ضد قارچی را در غلظت‌های مختلف نشان دادند. بنابراین بررسی و یافتن بهترین عصاره گیاهی در بهترین غلظت با بیشترین خواص ضد میکروبی و کمترین اثر جانبی در حیطه علم گیاهان دارویی مهم و ضروری است. امید است نتایج این مطالعه به عنوان گامی کاربردی و مهم در پیشبرد و استفاده از داورهای گیاهی به خصوص زیتون تلخ باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه و بخش پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند تشکر به عمل می‌آید. همچنین از دانشجویان مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت و گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر می‌گردد.

تعارض منافع

این مطالعه برای نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی نداشته است.

تلخ هیچ اثری بر میکروارگانیسم‌ها به جز کاندیدا آلیکنس نداشت (۲۳). در مطالعه ما، هر سه عصاره اتانولی، متانولی و آبی میوه زیتون تلخ اثر ضد قارچی داشتند، این اثر برای عصاره اتانولی نسبت به سایر عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف بیشتر بود. همچنین MIC عصاره اتانولی ۳۹۰/۶۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود که در مقایسه با MIC سایر عصاره‌ها در مطالعه ما کمتر و در نتیجه بهتر بود. ترکیبات گیاهی دارای انواع مولکول‌های فرار مانند ترپن‌ها، ترپنوئیدها، مشتق فنولی و ترکیبات معطر آلیفاتیک می‌باشند که بسیاری از آن‌ها به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند. همچنین تحقیقات نشان داده که اولئوروپین در زیتون و ترکیبات وابسته آن مانند تیروزول، ورباسکونید و دمتی اولئوروپین اثر آنتی اکسیدان و ضد میکروبی دارند. این ترکیبات بر غشاء سلولی اثر می‌کنند و بسته به نوع و غلظت، این ترکیبات اثرات سیتوتوکسیک مختلف را نشان می‌دهند (۲۴ و ۲۵).

در یک تحقیق در الجزایر، فعالیت ضد میکروبی اسانس برگ، دانه و گل زیتون تلخ مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌های مذکور بیشترین اثر ضد رشد را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و در غلظت ۳۰ میلی لیتر و بر روی قارچ کاندیدا آلیکنس در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر داشتند (۲۶). اثر ضد قارچی عصاره الکلی پوست ساقه زیتون تلخ نیز بر قارچ اسپرژیلوس فومیگاتوس در تحقیقی دیگر در چین ثابت شد و MIC آن ۲۵-۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. این میزان نسبت به مطالعه ما کمتر بود و بنابراین نشان‌دهنده اثر مهارکنندگی بیشتر عصاره برگ نسبت به میوه زیتون تلخ می‌باشد (۲۷).

عصاره‌های قسمت‌های مختلف گیاهان بر روی انواع میکروب‌ها اثرات متفاوتی دارند و این تفاوت می‌تواند به علت تفاوت تعداد و محل گروه‌های هیدروکسیل در

References

- Zareei M, Mohammadi A, Borjian Borujeni Z, Hashemi SJ. Frequency of Different *Malassezia* Species in Scalp Dandruff. *Infect Epidemiol Med*. 2016;2(2):22-5.
- Marcon MJ, Powell DA. Human infections due to *Malassezia* spp. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5(2):101-19.
- Dong L-P, Ni W, Dong J-Y, Li J-Z, Chen C-X, Liu H-Y. A new neolignan glycoside from the leaves of *Acer truncatum*. *Molecules*. 2006;11(12):1009-14.
- Kantarcioglu AS, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant *Candida dubliniensis* strains among *Candida albicans* isolates from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. *Rev Iberoam Micol*. 2002;19(1):44-8.
- Banso A, Adeyemo S. Phytochemical screening and antimicrobial assessment of *Abutilon mauritianum*, *Bacopa monnifera* and *Datura stramonium*. *Biokemistri*. 2006;18(1):39-44.
- Saleem R, Rani R, Ahmed M, Sadaf F, Ahmad SI, ul Zafar N, et al. Effect of cream containing *Melia azedarach* flowers on skin diseases in children. *Phytomedicine*. 2008;15(4):231-6.
- Neycee M, Nematzadeh G, Dehestani A, Alavi M. Assessment of antifungal effects of shoot extracts in chinaberry (*Melia azedarach*) against 5 phytopathogenic fungi. *Int J Agr Crop Sci*. 2012;4:474-7.
- Sen A, Batra A. Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia azedarach* L. *Int J Curr Pharm Res*. 2012;4(2):67-73.
- Orhan IE, Guner E, Ozcelik B, Senol FS, Caglar SS, Emecen G, et al. Assessment of antimicrobial, insecticidal and genotoxic effects of *Melia azedarach* L.(chinaberry) naturalized in Anatolia. *Int Curr Pharm J Res*. 2012;63(5):560-5.
- KELATI HA, MOHAMADI SANI A, ALIREZA M, YAGHOOTI F. IN-VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT FROM MWLIAAZEDARACH FRUIT. *IJBPAS*. 2015;4(6):4007-15.
- Naeini A, Khosravi A, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *J Mycol Med*. 2009;19(3):168-72.
- Zakavi F, Golpasand Hagh L, Daraeighadikolaei A, Farajzadeh Sheikh A, Daraeighadikolaei A, Leilavi Shooshtari Z. Antibacterial effect of *Juglans regia* bark against oral pathologic bacteria. *Int J Dent*. 2013;2013:854765.
- KAZEMI M, ABDOLHOSEINI S. OPTIMIZATION OF OIL EXTRACTION FROM DATE SEED IN LABORATORY SCALE AND PILOT PLANT. *JARC*. 2012;6(3):25-30. [In Persian]
- 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* fungus. *SJKU*. 2015;20(1):30-9. [In Persian]
- SHARIATI A, PORDELI H, KHADEMIAN A, KIAEI E. Evaluation of the antibacterial activity of the extracts of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits and pits on multi-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food Technology & Nutrition*. 2010;7(4):42-7. [In Persian]
- Mohammadi R, Rouzbahani R. A Review of the Antifungal Properties of Medicinal Herbs. *J Isfahan Med Sch*. 2015;33(337):865-73. [In Persian]
- Hajimehdipoor H, Khanavi M, Shekarchi M, Abedi Z, Pirali Hamedani M. Investigation of the best method for extraction of phenolic compounds from *Echinacea purpurea* L.(Moench). *JMP*. 2009;4(32):145-52. [In Persian]
- Gorran A, Salehnia B, Farzaneh H, Farzaneh M, Shivazad M. Effect of essential oils and extracts of *Satureja macrosiphon* and *Satureja khozistanica* on mycelial growth and aflatoxin B1 production in *Aspergillus flavus*. *J Vet Res*. 2015;70(2):Pe139-Pe45. [In Persian]
- De Castro ML, Garcia-Ayuso L. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a

- promising innovative future. *Analytica chimica acta*. 1998;369(1):1-10.
20. Alipoor B, Alipoor Aghiri S, Ostad Rahimi A, Delazar A, Mesghari M. Effects of total extract and its different hydromethanol fractions of Iranian black tea on inflammatory factors and glycosylated hemoglobin (HbA1c) in STZ-induced diabetic rats. *Urmia Med J*. 2011;21(5):398-406. [In Persian]
 21. Saboori A, Pourbarat F, Fallah Hossaini H. Comparison of Different Extraction Methods for Optimizing Antioxidant Compounds in *Origanum Majorana L.* *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2014;21(6):693-704. [In Persian]
 22. Neycee M, Nematzadeh G, Dehestani A, Alavi M. Evaluation of antibacterial effects of chinaberry (*Melia azedarach*) against gram-positive and gram-negative bacteria. *Int J Agric Crop Sci*. 2012;4(11):709-12.
 23. Majeed M. Study of the Antimicrobial effect of *Melia azedarach L.* plant. *Journal of Biotechnology Research*. 2013;7(1):87-90.
 24. Sharafati-Chaleshtori R, Sharafati-Chaleshtori F, Rafieian-kopaei M, Drees F, Ashrafi K. Comparison of the antibacterial effect of ethanolic walnut (*Juglans regia*) leaf extract with chlorhexidine mouth rinse on *Streptococcus mutans* and *sanguinis*. *JIDA*. 2011;22(4):211-7. [In Persian]
 25. Farzami Sepehr M, Ghorbanli M, Mirbagheri M. Extraction and Comparison of Oleuropein Content in Different Cultivars of Olive (*Olea Europaea L.*) at Fars and Rudbar. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2014;30(3):370-81. [In Persian]
 26. MEZIANE M, GOUMRI H. The Antimicrobial Effect of Extracts of *Melia Azedarach* on Some Pathogenic Microorganisms. *IJANS*. 2014;1(3):173-80.
 27. Li X-J, Zhang Q, Zhang A-L, Gao J-M. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant, and toxic activities. *J Agric Food Chem*. 2012;60(13):3424-31.
 28. Razaghparsat A, SHAMS GM, Yadgari M, RAZAGHI AM. Antifungal effects of allium cepa and some azoles in intact forms and in combinations to each other against pathogenic yeasts. *KOWSAR MEDICAL JOURNAL*. 2008;13(2):103-13. [In Persian]



Antifungal Effect of *Melia azedarach* Alcoholic and Aquatic Extract on *Malassezia furfur*

Issa Gholampourazi (PhD)¹, Samaneh Rouhi (PhD)^{2,3}, Sairan Zandi (MSc)^{2,3},
Hajar Kashefi (MSc)⁴, Shaban Hassanzadeh Miandasteh (MSc)^{5*}

Received: 15 Dec 2017

Revised: 13 Jan 2017

Accepted: 11 Feb 2017

Abstract

Background and Objective: *Malassezia furfur* is the causative agent of Tinea Versicolor. Due to create drug-resistant, now day the use of herbal medicines has been the subject of speculation. The aim of this study was to determination of alcoholic and aquatic extract antifungal effect of bitter olive fruit on the *Malassezia furfur*.

Methods: Extraction was performed using simple distillation from bitter olive fruit. Wells diffusion method and tube for determination of extracts antifungal effect and minimum inhibitory concentrations (MIC) were applied, respectively. The data were analyzed with SPSS using two-way ANOVA test. P-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Findings: Highest mean diameter of growth inhibition zone was observed around of well containing 110 mg/ml of aqueous, ethanolic and methanolic extract that were 19±1, 29.33±2.3 and 40±1 mm, respectively. The excellent MIC was related with ethanolic extract of bitter olive fruit and equal to 390.625 mg/ml. The extract type and concentration had a significant impact on growth inhibitory zone around fungus and anti-growth effect was better at higher concentrations ($p < 0.05$).

Conclusion: The antifungal effect of bitter olive fruit in this research was proved. Due to human society abundant use of herbs, finding the best herbal extracts with anti-fungal effects and fewer side effects is necessary.

1. Microbiology Department, School of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.
2. Cellular & Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
3. Microbiology Department, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
4. Social Determinants of Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
5. Laboratory Sciences Department, School of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran.

*** Corresponding Author:**

Shaban Hassanzadeh Miandasteh
Address: Iran, Babol, Islamic Azad University Babol Branch, School of Nursing and Midwifery, Laboratory Sciences Department.
Tel: +98 935 3929575
Email: microbiol_sci@yahoo.com

Keywords: *Melia azedarach*, Fungi, *Malassezia*

Please cite this article as: Gholampourazi 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(2):11-7.