مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۵،۲۴۶-۲۴۱

اثرات ضد درماتوفیتی فرمولاسیون‌های پماد، ژل و محلول عصاره متانولی گیاه "مورد" بر روی خوکچه هندی

دکتر سیدامین آیت‌اللهی موسوی[۱]، دکتر مهدی رضایی‌فر[۲]، راحله زارع‌شاهی[۳]

دریافت مقاله: ۸۵/۶/۲۶ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۸/۲۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۹/۲۰ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۰/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: به جهت یافتن داروی مؤثر گیاهی بر ضد عوامل مسبب درماتوفیتوزیس و به سبب این که گزارشات متعددی دال بر اثرات ضد میکروبی و قارچی عصاره گیاه "مورد" موجود می‌باشد، بر آن شدیم تا این گیاه را که اثرات ضد قارچی آن در شرایط برون‌تنی به خوبی شناخته شده است، در شرایط درون‌تنی نیز از نظر اثرات ضد درماتوفیتی بر روی سه گونه *Trichophyton mentagrophytes* (var. interdigitale), *Microsporum canis, Microsporum gypseum* در خوکچه هندی مورد بررسی قرار دهیم.

مواد وروش‌ها: در این مطالعه تجربی ۹۳ خوکچه هندی سالم با وزن حدود ۴۵۰ گرم را انتخاب نموده و در ۲۷ گروه شامل سه گروه اصلی (فرمولاسیون پماد، ژل و محلول) که هر کدام دارای سه گروه فرعی (۱٪، ۲٪ و ۵٪) بوده، قرار دادیم (هر آزمایش سه بار تکرار شد). فرمولاسیون‌های ژل، پماد و محلول تهیه شده از عصاره متانولی گیاه مورد را بر پوست عاری از موی حیوان‌ها حساس پس از اثبات آلودگی به قارچ‌های درماتوفیت، مالیده و تا حذف علایم بالینی مورد بررسی قرار دادیم. از پماد ۱٪ کلوتریمازول نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

یافته‌ها: خوکچه‌های هندی آلوده به *M. canis* که توسط پماد درمان شدند، هیچ نشانه‌ای از بهبودی دیده نشد. در حالی که در مقابل ژل و محلول حساسیت قابل توجهی داشتند ($p<۰/۰۱$). بهترین اثر گیاه "مورد" در درمان *T. mentagrophytes* مشاهده شد. این درحالی بود که در مقابل *M. gypseum* اثر درمانی قابل توجهی از خود نشان نداد.

نتیجه‌گیری: از بررسی نتایج مشخص می‌گردد که اثر فرمولاسیون‌های مختلف گیاه "مورد" بر روی درماتوفیت‌های انسان‌دوست و خاک‌دوست در مقایسه با پماد کلوتریمازول ۱٪ (کنترل مثبت) به مراتب بیشتر بوده، در حالی که نوع حیوان‌دوست در مقابل این پماد بسیار مقاوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: درماتوفیت، ترایکوفیتون منتاگروفیتیس، میکروسپروم جیپسئوم، میکروسپروم کانیس، گیاه مورد، خوکچه هندی

۱- (نویسنده مسؤول) استادیار گروه آموزشی انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

تلفن: ۲۴۵۰۲۹۵-۰۳۴۱، فاکس: ۳۲۲۱۶۷۱-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: aminayatollahi@yahoo.co.uk

۲- استادیار گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- دانشجوی دکتری داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مقدمه

عفونت‌های درماتوفیتی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی در دنیا هستند [۱] که درمان آنها عموماً با داروهای صناعی خوراکی و موضعی صورت می‌گیرد [۲]. مقاومتی که گونه‌های مختلف درماتوفیت‌ها در مقابل این داروها از خود نشان داده‌اند [۳]، هم‌چنین بروز اثرات جانبی ناشی از مصرف این داروها، طولانی بودن مدت درمان و بار مالی نسبتاً سنگین آن‌ها [۴] و [۵] توجه محققان را به یافتن داروهای ثمربخش با اثرات جانبی کمتر معطوف نموده است، تا شاید داروهای تهیه شده از گیاهان بتوانند جانشین مناسبی برای درمان این بیماری‌ها باشند [۷-۶، ۳-۲]. در مطالعات متعددی، اثرات آنتی‌اکسیدانی [۸] و ضد التهابی گیاه "مورد" [۹] مشخص شده است. اثر درمانی "مورد" به خاطر اسانسی است که در اعضای مختلف خصوصاً برگ آن یافت می‌شود. "مورد" اثر ضد عفونی کنندگی نیز دارد و از آن در عفونت داخلی و خارجی و در درمان بسیاری از انواع بیماری‌های عفونی مثل اسهال و اسهال خونی [۱۰] می‌توان استفاده کرد. تحقیقاتی نیز در زمینه‌های اثرات آنتی‌بیوتیکی بر روی سودوموناس (در مورد سوختگی‌های مقاوم به دارو) انجام گرفته که بهترین جواب از نمونه‌های برگ "مورد" به دست آمده است [۲].

با توجه به خصوصیات ویژه این گیاه، در نظر داریم اثرات ضد درماتوفیتی آن را در مقابل Trichophyton mentagrophytes (var.interdigitale)، Microsporum canis و Microsporum gypseum مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

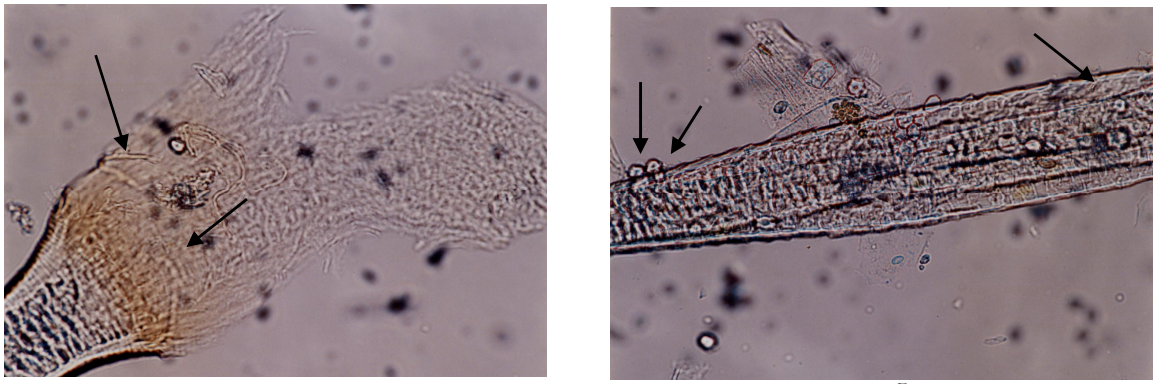
در این مطالعه تجربی، از ۹۳ خوکچه هندی سالم نر و دو ماهه با حدود وزن ۵۰۰-۳۵۰ گرم استفاده شد. خوکچه‌ها دقیقاً مورد مطالعه قرار گرفتند تا در صورت وجود هر گونه پلاک یا ریزش موهای ناشی از گاز گرفتگی یا عوامل خارجی حذف شوند. خوکچه‌ها به طور مستقل در یک قفس کاملاً تمیز و ضد عفونی شده در حرارت $27^{\circ}C$ – ۲۵ مستقر بودند. حیوان‌های مورد آزمایش به طور تصادفی به ۲۷ گروه شامل ۳ گروه اصلی (فرمولاسیون پماد، ژل و محلول) که هر کدام به سه گروه فرعی (۱٪، ۲٪، ۵٪) تقسیم شده و در نهایت هرکدام از این گروه‌های فرعی به سه گروه فرعی دیگر (شامل سه قارچ مورد بحث) تقسیم شدند (نهایتاً در هر زیر گروه تعداد ۳ خوکچه هندی قرار گرفت). در ضمن جهت گروه مجزای شاهد ۶ گروه به ترتیب شامل سه گروه شاهد مثبت (درمان با کلوتریمازول)، ۳ گروه شاهد منفی (پماد خالص، ژل خالص و محلول خالص) در نظر گرفته شدند (تعداد کل نمونه‌های مورد آزمایش ۹۳ خوکچه هندی می‌باشد). جهت کوتاه کردن موی خوکچه‌ها ورق کاغذ بزرگی بر روی یک میز قرار داده شد، ابتدا با قیچی تمیز و تیز موهای قسمت پشت در ناحیه نزدیک به گردن (بین کتف) تمام خوکچه‌ها به وسعت ۳/۳ cm چیده شد و سپس با تیغ تراشیده شد و ناحیه کاملاً عاری از مو گشت. سپس با لبه تیز یک اسکالپل استریل، تعدادی خراش میکروسکوپی در جهات مختلف ایجاد شد و سوسپانسیون قارچی تهیه شده توسط سوآب پنبه‌ای استریل به ناحیه آماده شده تلقیح شد (شکل ۱).



شکل ۱- تلقیح محلول گیاه "مورد" بر سطح بدن خوکچه هندی (چپ) پس از بروز آلودگی توسط قارچ‌های مورد آزمایش (راست)

نواحی تلقیح شده حیوانات در فواصل بین ۳ تا ۱۰ روز بعد از تلقیح مورد بررسی قرار گرفتند و با پیدایش علایم عفونت، به منظور اثبات استقرار درماتوفیت‌ها در ناحیه مربوطه، نمونه برداری به روش زیرصورت گرفت:

الف) تعدادی از پوسته‌ها و موها با موچین استریل برداشته و در پلیت استریل جمع‌آوری شدند. تعدادی از این موها و پوسته‌ها را روی لام قرار داده و یک قطره پتاس ۱۰٪ یا لاکتوفنل افزوده و بعد آن را با لامل پوشانده و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ یا ۴۰۰ برای مشاهده میسلیوم و اسپور تحت بررسی قرار گرفت (شکل ۲).



شکل ۲- اشکال میکروسکپی موهای آلوده به اسپور (راست) و میسلیوم (چپ) قارچ‌های درماتوفیت خوکچه هندی که به کمک محلول پتاس ۱۰٪ شفاف شده‌اند (۱۰ x).

ب) یک قطعه گاز استریل خشک را چندین بار به پشت حیوانات مالش داده و بلافاصله در سطح محیط S حاوی سیکلوهگزامید و کلرآمفنیکل در پلیت‌های کشت تکان دادیم. پلیت‌های مربوطه در ۲۵°C انکوبه شده و در فواصل ۳، ۷، ۱۰ و ۱۴ روز جهت مشاهده کلی قارچ مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه پماد، ژل و محلول ۱٪ و ۲٪و ۵٪ از عصاره برگ "مورد": به ترتیب ۱، ۲ و ۵ گرم از عصاره تام برگ "مورد" را برداشته و با پایه مناسب جهت تهیه پماد و یا ژل (پایه فوق بر اساس بررسی و تست حلالیت عصاره فوق در پایه‌های روغنی مانند روغن بادام و یا گلیسیرین انجام گرفت) تعیین شد و سپس با استفاده از تکنیک‌های خاص داروسازی جهت تهیه پماد و ژل، عصاره فوق وارد پایه‌های فوق گشت تا وقتی که وزن کل به ۱۰۰ گرم رسید. جهت تهیه محلول ۱٪، ۲٪ و ۵٪ به این ترتیب عمل شد که چون عصاره فوق در اتانول کاملاً حل می‌شود مقدارهای فوق را در چند سی‌سی اتانول کاملاً حل نموده و سپس با اضافه نمودن الکل ۷۰٪ (که با مواد ثابت کننده مانند پروپیلن گلیکول مخلوط بود) به مخلوط، حجم محلول را به ۱۰۰ میلی‌لیتر افزایش دادیم.

تهیه سوسپانسیون درماتوفیتی جهت تلقیح به حیوان: جهت دستیابی به سوسپانسیون قارچ، از کشت تازه سوش‌های قارچی که در محیط S در لوله پرورش یافته‌اند استفاده شد. قبل از تلقیح، مقدار۳ تا ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به کشت‌های مورد نظر اضافه شد و پس ازجدا کردن کلنی توسط نیدل در داخل لوله آزمایش و مخلوط کردن آن با سرم فیزیولوژی، سوسپانسیون قارچی مناسب توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (محلولی با حدود 10^6 سلول در هر میلی‌لیتر) جهت تلقیح جلدی تهیه شد. لازم به ذکر است که کلیه آزمایشات سه بار تکرار شده و نهایتاً پس از جمع‌آوری داده‌ها با توجه به توزیع نرمال، تمامی یافته‌ها با روش‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) آنالیز شد.

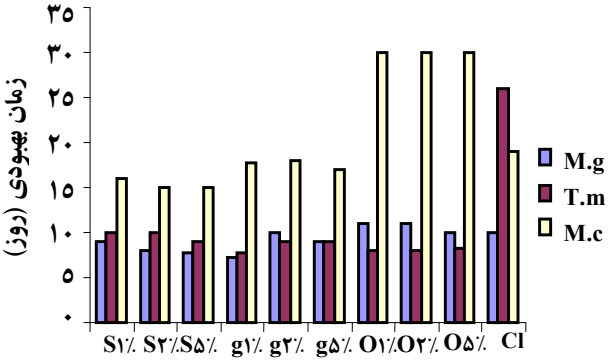
نتایج

تقریباً تمامی خوکچه‌ها پس از ده روز، آلودگی به سه گونه درماتوفیت را نشان دادند. اما زمان لازم برای بهبودی در بین ژل، محلول و پماد با غلظت‌های تهیه شده در این تحقیق متفاوت بود و بدین سبب نمونه‌ها را به مدت سه ماه پس از بروز آلودگی و استفاده از فرمولاسیون‌های گیاهی مورد پیگیری قرار دادیم. لازم به ذکر است که خوکچه‌های آلوده به M. canis در مقابل پماد هیچ گونه بهبودی را نشان ندادند، اما بین غلظت ۲٪ فرمولاسیون ژل و محلول ۲٪ و ۵٪ استفاده

شده در خوکچه‌های آلوده به M. canis اختلاف معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۵) و به طور متوسط این خوکچه‌ها طی ۱۸ روز بوسیله ژل ۲٪ بهبود یافتند، ولی محلول‌های ۲٪ و ۵٪ به طور متوسط پس از ۱۵ روز باعث بهبودی خوکچه‌های آلوده به M. canis شدند. این در حالی بود که پماد کلوتریمازول (شاهد مثبت) بعد از ۱۹ روز عفونت ناشی از M. canis را درمان کرد که این مطلب نشان دهنده اختلاف معنی دار موجود بین پماد کلوتریمازول با غلظت ۵٪ و محلول ۲٪ و ۵٪ می‌باشد (p<۰/۰۰۱). درخوکچه‌های آلوده به M. canis محلول ۱٪ بعد از ۱۶ روز بهبودی ایجاد کرد و کرم کلوتریمازول بهبودی را پس از ۱۹ روز ایجاد نمود که این اختلاف با معناداری می‌باشد (p<۰/۰۵).

ژل در درمان عفونت ناشی از M.canis در هیچ کدام از غلظت‌ها اختلاف معناداری با پماد کلوتریمازول نشان نداد.

بین غلظت‌های استفاده شده (۱٪، ۲٪ و ۵٪) در خوکچه‌های آلوده به M. gypseum و T. mentagrophytes اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما در زمان لازم برای بهبودی در خوکچه‌های آلوده به T. mentagrophytes محلول و پماد و ژل در سه غلظت استفاده شده با کلوتریمازول اختلاف معنی‌داری نشان دادند (p<۰/۰۰۱). به طوری که پماد کلوتریمازول به طور متوسط بعد از ۲۶ روز منجر به بهبودی شد، که این امر نشان دهنده تأثیر درمانی مناسب گیاه "مورد" در درمان عفونت قارچی ناشی از T. mentagrophytes می‌باشد.



نمودار۱- میانگین زمان لازم برای بهبودی خوکچه‌های آلوده به سه درماتوفیت (M. g) (M. c) و (T. m) تحت تأثیر پماد و ژل و محلول گیاه "مورد". (s: محلول، g: ژل، o: پماد، Cl: کلوتریمازول)

باتوجه به نمودار ۱، گیاه "مورد" بیشترین تأثیر درمانی را روی گونه انسان دوست (T. mentagrophytes) داشته است. در حالی که پماد کلوتریمازول، عفونت ناشی از این درماتوفیت را به طور متوسط پس از ۲۶ روز بهبود می‌بخشد، حداکثر زمان بهبودی توسط گیاه "مورد" به وسیله فرمولاسیون محلول ۱٪ آن ۱۰ روز است.

شایان ذکر است در درمان خوکچه‌های آلوده به M.gypseum، بین غلظت‌های مختلف فرمولاسیون‌های تهیه شده از گیاه "مورد" هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین این فرمولاسیون‌ها با پماد کلوتریمازول نیز اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. با توجه به نمودار ۱ مشخص می‌باشد که غلظت‌های مختلف محلول و ژل (به غیر از غلظت ۲٪ ژل) اثر بیشتری نسبت به پماد کلوتریمازول ۱٪ در خوکچه‌های آلوده به M. gypseum داشتند. در خصوص T.mentagrophytes، اثرات کلیهٔ فرمولاسیون‌ها بهتر از شاهد مثبت بود. اثر فرمولاسیون‌های محلول و ژل بر روی حیوان‌های آلوده به M. canis بیشتر از کلوتریمازول ۱٪ بوده در حالی که پماد این گیاه اثری بر درماتوفیتوزیس حیوان‌های مورد آزمایش نشان نداد.

شاهد منفی مورد استفاده در این تحقیق، حلال عصاره گیاه "مورد" که جهت تهیه پماد و ژل و محلول مورد استفاده قرار گرفته بود، است که هیچ اثر درمانی از خود نشان نداد.

بحث

هدف اصلی این تحقیق، بررسی اثرات فرمولاسیون محلول، ژل و پماد گیاه "مورد" بر روی درماتوفیت‌های انسان‌دوست (T. mentagrophytes var. interdigitale)، خاک‌دوست (M.gypseum) و حیوان‌دوست (M. canis) بود، که بدین سبب حساس‌ترین حیوان آزمایشگاهی (خوکچه هندی)، انتخاب شد [۲] نیوانو و همکارانش نیز مدل خوکچه هندی را به عنوان حساس‌ترین حیوان آزمایشگاهی جهت بررسی اثرات برون‌تنی فعالیت‌های ضد درماتوفیتی انتخاب کرده اند [۱۱]. هم‌چنین در تحقیق آریکا و همکارانش در زمینه اثرات ضدقارچی بوتنافین بر علیه ترایکوفیتون منتاگروفایتیس از خوکچه هندی‌نر به عنوان بهترین مدل حیوانی استفاده شد. [۱۲].

با توجه به این که عوامل حیوان‌دوست تطابق بیشتری با شرایط بدن حیوان‌ها دارند، نیاز به افزایش طول دوره درمان داشته، در حالی که درمان درماتوفیتوزیس با عوامل خاک‌دوست و هم‌چنین انسان‌دوست به مراتب راحت‌تر بوده و نیاز به دوره کمتری دارد [۱۴-۱۳]. هرچند که کراجسکا و همکارانش بیان می‌دارند که برخی از عوامل ضد قارچی اثرات بیشتری بر شبه مخمرهایی داشتند که تطابق زیادی با محیط بدن انسان دارند [۱۵]. چنانچه در تحقیق فعلی نیز مشاهده شد، درصدهای مختلف پماد گیاه "مورد" هیچ گونه اثری در بهبودی علایم ضایعات M.canis (حیوان دوست) نداشتند، در حالی که همین فرمولاسیون، حتی با مقادیر رقیق قادر به رفع ضایعات جلدی ناشی از درماتوفیت انسان‌دوست، حداکثر پس یازده روز بود. این حقیقت در خصوص پماد کلوتریمازول که به عنوان شاهد انتخاب گردید نیز صدق می‌کند، بدین نحو که طول دوره درمان از حدود ده روز در عامل خاک‌دوست، به قریب سه هفته در M.canis افزایش یافت. بی‌اثر بودن فرمولاسیون پماد گیاه "مورد" در درمان ضایعات حیوان‌های آزمایشگاهی حساس را می‌توان به سبب کندی آزادسازی ماده مؤثره از پایه اصلی آن دانست، باید این نکته را هم در نظر داشت که عوامل حیواندوست تطبیق بیشتری با شرایط بدن حیوان‌ها نسبت به عوامل انسان‌دوست و خاک‌دوست دارند که این خود درمان را با مشکل روبرو می‌کند و باعث افزایش طول دوره درمان می‌شود. آپندینو و همکارانش نیز جهت بررسی اثرات ضد باکتریال گیاه "مورد" از برگ آن استفاده کرده‌اند و بروز فعالیت‌های این گیاه علیه اندام‌های دیگر را منوط به وجود و فعالیت مواد مؤثره آن می‌دانند [۱۶] توبروسو و همکارانش در بررسی که در ایتالیا بر روی عصاره‌های الکلی گیاه "مورد" انجام دادند، توانستند مواد مؤثره گیاه "مورد" را نه تنها از برگ بلکه از دانه‌های آن جدا کنند. آن‌ها نیز طول زمان آزادسازی ماده مؤثره را در نحوه و میزان اثرات دارویی گیاه مؤثر دانسته‌اند [۱۷].

در روش تلقیح جلدی بر روی خوکچه هندی، تنها ناحیه پشت حیوان آلوده گردید. انتخاب این ناحیه به دلیل ناتوانی حیوان در لیسیدن یا پاک کردن محل ضایعه و نداشتن تماس با دست و پا و نیز به علت داشتن سطح قابل رویت برای ارزیابی وضعیت عفونت بود [۱۴،۱۸]. آریکا و همکارانش نیز سطح پشتی این حیوان حساس (خوکچه هندی نر) را جهت بررسی اثرات ضد قارچی گیاه "مورد"، مناسب دانسته و متذکر می‌شوند که بروز عفونت‌های ثانویه باکتریال در صورت تماس حیوان با محل ضایعه، موجب طولانی‌تر شدن درمان خواهد شد [۱۲].

از این رو ایجاد خراش در ناحیه مورد نظر به گونه‌ای بود که خراش‌ها عمیق نبوده و باعث عفونت‌های ثانویه نمی‌گردید [۱]. در گذشته نیز تحقیقات مشابه‌ای بر روی قارچ‌ها و گیاهان انجام گرفته است، که از آن جمله می‌توان به مقایسه اثر عصاره متانولی برگ "مورد" و کلوتریمازول بر کاندیدا آلبیکانس [۸]، اشاره داشت. Yadegarinia و همکارانش [۱۹] نیز از گیاه مورد علیه کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با اشرشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس استفاده کردند. ما در بررسی قبلی خود به اثرات ضد قارچی این گیاه اشاره کرده و حتی اثرات ضد درماتوفیتی این گیاه را بیشتر از کلوتریمازول دانسته‌ایم [۲،۲۰].

نتیجه‌گیری

اطلاعات به دست آمده از این بررسی نشان دهنده اثرات قوی کلیه فرمولاسیون‌های پماد، ژل و محلول گیاه "مورد" بر علیه درماتوفیتوزیس با عوامل انساندوست و خاکدوست می‌باشد. البته فرمولاسیون‌های ژل و محلول این گیاه نیز در مقایسه با شاهد مثبت (کلوتریمازول)، اثر بیشتری در درمان عفونت داشته و تنها شکل دارویی پماد آن هیچ‌گونه اثری در بهبودی حیوانات آزمایشگاهی حساس نداشته است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و اساتید گرامی عضو کمیته بیماری‌های عفونی و گرمسیری که بدون حمایت علمی و مالی آنان انجام این پژوهش میسر نمی‌شد کمال تشکر را می‌نماییم. از جناب آقای دکتر بهرامپور به لحاظ مشاوره آماری، آقایان حسین کامیابی و حسین آغاسی و سرکار خانم‌ها احمدی‌نژاد و کمالی که در اجرای طرح از هیچ کمکی فروگذار نبودند سپاسگزاری می‌نماییم.

References

[1] Ghannoum MA, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Rinaldi MG, Lee-Yang W, et al. Intra- and interlaboratory study of a method for testing the antifungal susceptibilities of dermatophytes. *J Clin Microbiol*, 2004; 42(7): 2977-9.

[۲] آیت اللهی موسوی س ا ، عبد اللهی ح و کاظمی ن. بررسی اثرات ضد درماتوفیتی عصاره متانولی ده گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۵، سال سوم، شماره ۳، صفحات: ۲۲–۱۱۵.

[3] Aljabre SH, Randhawa MA, Akhtar N, Alakloby OM, Alqurashi AM, Aldossary A. Antidermatophyte activity of ether extract of Nigella sativa and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacol*, 2005; 101(1-3): 116-9.

[4] Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of fungal infections: a systemic review of controlled clinical trials. *Mycoses*, 2004; 47(3-4): 87-92.

[5] Phongpaichit S, Subhadhirasakul S, Wattanapiromsakul C. Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. *Mycoses*, 2005; 48(5): 333-8.

[6] Singh J, Rimek D, Kappe R. In vitro susceptibility of 15 strains of zygomycetes to nine antifungal agents as determined by the NCCLS M38-A microdilution method. *Mycoses*, 2005; 48(4): 246-50.

[7] Rai MK, Varma A, Pandey AK. Antifungal potential of *Spilanthes calva* after inoculation of Piriformospora indica. Mycoses, 2004; 47(11-12): 479-81.

[8] Romani A, Coinu R, Carta S, Pinelli P, Galardi C, Vincieri FF, et al. Evaluation of antioxidant effect of different extracts of Myrtus communis L. *Free Radic Res*, 2004; 38(1): 97-103.

[9] Feisst C, Franke L, Appendino G, Werz O. Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from Myrtus communis and their implication as anti-inflammatory compounds. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005; 315 (1): 389-96.

[10] Mendes MM, Gazarini LC, Rodrigues ML. Acclimation of Myrtus communis to contrasting Mediterranean light environments-effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environ Exp Bot*, 2001; 45(2): 165-78.

[11] Niwano Y, Kuzuhara N, Kodama H, Yoshida M, Miyazaki T, Yamaguchi H. In vitro and in vivo antidermatophyte activities of NND-502, a novel optically active imidazole antimycotic agent. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42(4): 967-70.

[12] Arika T, Yokoo M, Yamaguchi H. Butenafine, a new benzylamine derivative: in vitro effect on arthrospores of T. mentagrophytes and therapeutic efficacy on experimental tinea pedis in guinea pigs. *Jpn J Med Mycol,* 1992; 33: 541-7.

[13] Ozawa H, Okabayashi K, Watanabe S, Hasegawa A. Antifungal activities of the combination of Tacrolimus and Itraconazole against *Trichophyton mentagrophytes*. *J Vet Med Sci*, 2005; 67(6): 629-630.

[14] Souza LK, de Oliveira CM, Ferri PH, de Oliveira Junior JG, de Souza Junior AH, Fernandes Ode F, et al. Antimicrobial activity of Hyptis ovalifolia towards dermatophytes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2003; 98(7): 963-5.

[15] Krajewska-Kulak E, Lukaszuk C, Niczyporuk W. Effects of 33% grapefruit extract on the growth of the yeast-like fungi, dermatophytes and moulds. *Wiad Parazytol*, 2001; 47(4): 845-9.

[16] - Appendino G, Maxia L, Bettoni P, Locatelli M, Valdivia C, Ballero M, et al. Antibacterial galloylated alkylphloroglu_ cinol glucosides from myrtle (Myrtus communis). *J Nat Prod*, 2006; 69(2): 251-4.

[17] Tuberoso CI, Barra A, Angiono A, Sarritzu E, Pirisi FM. Chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (Myrtus communis L.) alcoholic extracts and essential oils. *J Agric Food Chem*, 2006; 54(4): 1420-6.

[18] Garg SC, Siddiqui N. Antifungal activity of some essential oil isolates. *Pharmazie*, 1992; 47(6): 467-8.

[19] Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita L.* and *Myrtus communis L.* essential oils. *Phytochemistry*. 2006; 67(12): 1249-55.

[۲۰] کریمی نیک ا، شهیدی بنجار غ. بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی ده نمونه از گیاهان دارویی علیه ۱۶ گونه. اولین سمینار گیاهان دارویی و صنعت، شیراز، ۱۳۷۶.