Ientification of pathogenic causes of urinary tract infection in women and study inhibition activity of *Peganum harmala* and *Cinnamomum zeylanicum* blum plants extracts against *Candida albica*

تشخيص مسببات خمج القناة البولية عند النساء ودراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات نباتي الحرمل *Peganum harmala* والدارسين *Cinnamomum zeylanicum* blum في نمو خميرة *Candida albicans*

م . ابتسام ثامر جعاز
جامعة القادسية / كلية التربية / قسم علوم الحياة
E.Mail: Ebtesam thamer 96 @ yahoo . com

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل 60 عزلة مرضية من ادرار نساء مصابات بداء السكري Type 1 وخمج القناة البولية فوجد ان الخميرة *Candida albicans* *كانت* بالمرتبة الاولى بنسبة 35 % تلتها بكتريا *Escherichia coli* بالمرتبة الثانية بنسبة 30% و اعطت خميرة *C.albicans* نموا ميكروبيا معنويا عاليا بنسبة 38 % اما بكتريا *Serratia marcescens* كانت باقل نسبة 2 % اما انتاج الكبسولة فكانت باعلى نسبة 42.8 % في بكتريا *Klebsiella pneumonia* .

اما الالتصاق فظهر في *E.coli* و *Staphylococcus aureus* *باعلى* نسبة وهي 66.6 % ومن جانب اخر اظهر انتاج انزيم الهيمولايسين لفصيلة الدم A ولبكتريا *Pseudomonas aeuroginosa* بنسبة 80 % وفصيلة الدم B في اعلى نسبة في بكتريا *S.marcescens* 50 % اما فصيلة الدم AB فكان باعلى نسبة 11.11 % في بكتريا *E.coli* وتم اختبار فاعلية المستخلصات المائية والكحولية الحرمل الدارسين وبتراكيز مختلفة في نمو خميرة *C.albicans* مقارنة بالمضاد القياسي ketoconazole .

اشارت النتائج الى تواجد فرق معنوي عند $P<0.05$ بين التاثير التثبيطي للمستخلص الكحولي للحرمل والمضاد القياسي اذ اعطى تثبيط عالي لنمو الخميرة فبلغ 21 ملم عند التركيز 25 ملغم / مل اما المضاد القياسي فبلغ 19.6 ملم اما بقية التراكيز فتفوقت على المضاد القياسي بمعدل تثبيط 24.2 , 27.6 , 34.5 ملم وتفوق المضاد القياسي على مستخلص الحرمل المائي عند التراكيز 25 , 50 , 75 ملغم / مل فيما تفوق المستخلص المائي على المضاد القياسي عند التركيز 100 ملغم / مل بشكل معنوي فكان معدل قطر التثبيط 23 ملم .

وتفوق المضاد القياسي على المستخلص الكحولي للدارسين بتركيز 25 ملغم/ مل وامتلك تاثير مقارب للتركيزين 50 و 75 ملغم / مل فيما تفوق المستخلص بتركيز 100 ملغم/ مل على المضاد القياسي بمعدل تثبيط 25 ملم كما تفوق المضاد القياسي على المستخلص المائي للدارسين بالتراكيز 25 , 50 ,75 ملغم/ مل فيما كان تاثيره مقارب لتاثير المستخلص المائي للدارسين عند التركيز 100 ملغم / مل .

من جانب اخر تم تحديد MIC و MFC للمستخلصات النباتية اذ كانت للمستخلص المائي للحرمل قد وصلت الى 1.25 , 10 ملغم/ مل بينما كانت للخلاصة الكحولية لهذا النبات 0.5 ,5 ملغم/ مل بالاضافة الى المستخلص المائي لنبات الدارسين فقد بلغت قيم MIC و MFC له 5 , 12.5 ملغم/ مل اما للمستخلص الكحولي فلقد وصلت قيمه الى 1.25 , 10 ملغم / مل .

Abstract:

Study including isolated sixty pathogenic isolate from women suffering from Typ 1 diabetes and UTI , fined the *C.albicans* yeast was with the first percentage 35% foulowed *E.coli* bacteria with second percentage 30 % , *C.albicans* produsd high microbial growth with percentage 38% while *S. marcescens* bacteria was with 2%, high capsule production in *K.pneumonia* bacteria with 42.8 % , adhesive of epithelial cells of UT was prevalent in *E.coli* and *S.aureus* bacteria with 66.6 % .

Production of hymolysin enzyme with high percentage was in A blood groub of *P.aeruginas* bacteria with 80% and B blood groub was in high percentage in *S.marcesce* with 50% , while AB blood groub was in high percentage with 11.11% *E.colli* bacteria Study results of inhibitory effect of *Peganum harmala* and *Cinnamomum zeylanicum* blum alcoholic and aquoes extract with significant different against growth of *C.albicans* yeast than with ketoconazole (control antibiotic) .The results of study showed that significant different with inhibitory effect of alcoholic extract of *Peganum harmala* blum and ketoconazole , it was prpduced high inhibitory of growth *C.albicans* 21 mm in ml while concentration 25 mg / ketoconazole with 19.6 mm.

On the other *P.harmala* alcoholic extract concentrations were produced inhibitory effect higher than ketoconazole with 24.2 , 27.6, 34.5 mm and inhibitory effect of ketoconazole was higher than *P.harmala* aquoes extract in concentration 25, 50, 75 ml with mg/were as aquoes extract higher than ketoconazole with concentration 100 mg . ml 23 mm .

ketoconazole was produced inhibitory effect higher from *C.zeylanicum* alcoholic ml extract with 25mg/and produced near effect of concentration 50,75 mg.ml while *C.zeylanicum* alcoholic extract with 100 mg/ml produced higher inhibitory effect than ketoconazole with 25 mm , were as ketoconazole was produced higher inhibitory effect than *C.zeylanicum* aquoes extract with concentrations 25, 50, 75 mg.ml but it was ml. nearest of *C.zeylanicum* extract effect in concentration 100 mg /

ml Results of study showed determination of MIC and MFC of aquoes extract of P. ml *harmal* 1.25 , 10 mg/ml while alcoholic extract was 0.5 , 5 mg /ml ,and addition *C.* zeylanicum aquoes extract was 5 , 12.5 mg / while C . *zeylanicum* extract reached to 1.25 , 10 mg / ml

Key words :***Peganum harmala* , *Cinnamomum zeylanicum* blume , *Candida albicans***

المقدمة

داءالسكري هو اضطراب هرموني يؤدي لتعقيدات ترتبط بالقناة البولية واضطرابات في النظام المناعي للجسم فتفقد الخلية قدرتها على الاستفادة من الكلوكوز كمصدر للطاقة فيرتفع مستواه في الادرار ليصبح وسط جيد لنمو الاحياء المجهرية،كما ويتوقع ان يصل عدد المصابين به الى 600 مليون شخص عام 2030(1) .ان اخطر انواع السكري هو(Type 1) المعتمد على الانسولين اذ ينتج عن فشل خلايا بيتا في البنكرياس في انتاج الانسولين نتيجة لمهاجمة الجهاز المناعي (2) .

واشير الى ان الاصابة بداء المبيضات Canndidiasis يظهر نتيجة للسيطرة السيئة على السكر ولفترات طويلة واصابة القناة البولية (3). و ان امتلاك خميرة *Candida albicans* عوامل ضراوة عديدة تمكنها من احداث المرض منها الالتصاق ، الغزو ،انتاج انزيمات Proteases ، Phospholipases وHydrolytic (4). كما وانها تتميز عن بقية انواع Canndida بانتاجها الانابيب الجرثومية germ tubes التي تحطم انسجة العائل وانتاج السموم خاصة عند الاشخاص ذوي المناعة الضعيفة (5). وتتمكن هذه الخميرة من التواجد في طورين في الحياة وانتاجها Biofilm يمكنها من مقاومة المضادات الحياتية (6). كذلك التعبير الفائق للجينات او الطفرات الجينية اذ تشفر هذه الجينات لانتاج انزيمات مهمة في بناء خلية خميرة *C.albicans*(7).

تم التعامل مع النباتات والاعشاب كمواد طبية منذ اكثر من 3000 سنة خاصة في بابل القديمة (8). كما ذكرت منظمة الصحة العالمية ان هناك اكثر من 20,000 نبات يستخدم في العالم يمتلك الفعالية البايلوجية والامان (9). ونظرا لزيادة مقاومة الخمائر للمضادات الحياتية تم استعمال مضادات طبيعية كبديل فعال اذ استعملت في هذه الدراسة المستخلصات المائية والكحولية لنباتي الحرمل والدارسين .

1- الحرمل *Peganum harmala* : يعود الى عائلة Zygophyllaceae (10) ، وهي اعشاب فعالة في كل اجزائها خاصة البذور اذ يستعمل في خفض مستوى السكر في الدم وزيادة افراز الحليب ،التعامل مع الروماتزم ، زيادة الطاقة الجنسية ،محفز للاعصاب وعلاج للحساسية والجروح واللشمانيا ومضاد للالتهاب والاكسدة(11). و يمكن ان تعود الفعالية البايلوجية لهذا النبات لاحتوائه مركبات كيميائية فعالة وهي harmin، harmaline، harmalol، peganine ، B harmin، quinazoline، dichbromethane وقلويدات مهمة مثل sapogenines ، steroidal ، vasicin وvasosinon (12).

2- الدارسين *Cinnamomum zeylanicum* blume يعود لعائلة Lauraceae اذ يستعمل كعلاج للاسهال وقرحة المعدة ،ضيق التنفس ،معقم سطحي للجلد ، مضاد للاكسدة لتواجد الفينولات ،محفز للعضلات والاعصاب والكلى كذلك هو مثبط لفعالية سم aflatoxin (13). كما ويوجد في زيت هذا النبات عدد من المركبات الفعالة Cinnamaldehyde، eugenol ، linalol ، ketone ، terpene ، alcohol ، hydroethyl carpons ،acid ، B caryophyline ، oxygenated dervivatives ، flavonoids، tannins، alkaloids، saponin (14) .

ونظرا لزيادة مقاومة الخمائر وخاصة *C.albicans* للمضادات الحياتية لذا هدفت هذه الدراسة الى اختيارنباتي الحرمل والدارسين لمعرفة تاثيرهما على تثبيط نمو هذه الخميرة المرضية من خلال تحقيق المحاور التالية:

1ـــ عزل وتشخيص اهم مسببات خمج القناة البولية لدى النساء المصابات بداء السكري المعتمد على الانسولين وخمج القناة البولية واللواتي يعانين من داء المبيضات بعمر (18– 37) سنة.

2- التعرف على عوامل الضراوة التي تمتلكها المسببات المرضية المعزولة والتي تساعد في احداث الاصابة .

3– التعرف على القدرة التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لبذور الحرمل وقلف الدارسين في نمو خميرة *Candida albicans*.

4ـــ تحديد قيم MFC وMIC لمستخلصات النباتات الطبية المستخدمة.

طرائق العمل:- Methods

1 ـــ الاوساط الزرعية : A– وسط مكونكي الصلب Macconky agar medium استعمل هذا الوسط لعزل وتنمية البكتريا السالبة لصبغة كرام وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Mast England.

Bـــ وسط الدم الصلب Blood base agar medium استعمل هذا الوسط لعزل وتنمية البكتريا الموجبة لصبغة كرام وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Mast England.

C– وسط السابروبد دكستروز الصلب Sabrauds dextrose agar medium (SDA) استعمل لعزل وتنمية الفطريات والخمائرو حضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Maknur Canada.

D– مرق السابروبد دكستروز Sabrauds dextrose broth medium وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Canada Maknur .

E– وسط السابروبد دكستروز ايمونس الصلب Emmons sabraud dextrose agar medium(ESDA) و استعمل لمعرفة القابلية التثبيطية للمستخلصات النباتية وحضر حسب ماورد في (15) .

2ـــ تحضير عالق الخميرة : حضر عالق خميرة *Candida albicans* باخذ النمو السطحي للمستعمرة بعمر 5 ايام بواسطة Loop اذ وضع في انبوبة اختبار تحوي 5 مل من محلول الملح الفسيولوجي ،مزجت بعدها بواسطة vortex اذ حضر محلول قياسي يحوي 10^5بوغ / مل اما التخافيف القياسية للمستخلصات الكحولية حضرت باستخدام الاثيلين كلايكول 100% (مادة مذيبة جيدة وعديمة الفعالية لنمو الاحياء المجهرية) اما المائية فحضرت باستخدام الماء المقطر المعقم وبتراكيز (25 ،50،75،100) ملغرام /مل (16).

3ـــ جمع العينات : جمعت 60 عينة ادرار وسطية لنساء مصابات بداء السكري Type 1 وخمج القناة البولية وداء المبيضات في قناني بلاستيكية معقمة ومحكمة الغلق للفترة من 2014/10/1 ولغاية 1/ 4 /2015 .

4ـــ الزرع على الاوساط : اخذت العينات صباحا قبل تناول الفطور واجري فحص السكر في الادرار كما ورد في (17) ، بعدها اجري الفحص المجهري وزرعت العينات على الاوساط الزرعية باخذ 0.1 مل من الادرار ونشره بطريقة النشر وبواقع مكررين لكل عينة و حضنت الاطباق الخاصة بالبكتريا في درجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة اما الخاصة بالخمائر بدرجة حرارة 35 مْ لمدة 24 ــ 72ساعة .

5ـــ العزل والتشخيص : شخصت البكتريا والخميرة اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية والكيموحيوية الواردة في (18)

.

6– الكشف عن عوامل الضراوة : تم التحري عن قدرة البكتريا لانتاج المحفظة كما ورد في (19)،اما عالق الخلايا الطلائية المبطنة للمثانة فتم حسب ماورد في (20)، اما قدرة الخميرة على الالتصاق بالخلايا المبطنة للقناة البولية فتم كما ورد في (21) ، ولقد كشف عن قدرة البكتريا على انتاج Haemolysin المحلل لفصائل الدم المختلفة فنفذ كما ورد في (22) ، اما انتاج Phospholipase فتم وفقا لما ورد في (23) ، اما انتاجها لل Gelatinase فتم حسب ما جاء في (24) .

7– تحضير المستخلصات المائية والكحولية : تم الحصول على بذور الحرمل وقلف الدارسين من الاسواق المحلية وتم تنظيفها وحضر المستخلص المائي والكحولي لكلا النباتين عن طريق الطحن بمطحنة كهربائية وتم وزن 50 غم من المسحوق الجاف ووضع في دورق زجاجي سعة 1000 مل واضيف اليه 450 مل ماء مقطر(بنسبة 1 : 9) لتحضير المستخلص المائي

وباستخدام المسخن الحراري المغناطيسي وبدرجة حرارة الغرفة 25مْ لمدة يومين بعدها تم الترشيح بشاش طبي معقم وباوراق ترشيح Whatman No1 بعدها جفف المستخلص بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 45 مْ ثم حفظ في الثلاجة في قناني معقمة وبدرجة 4مْ اما المستخلص الكحولي فحضربنفس الطريقة لكن باضافة 50غرام من مسحوق بذور الحرمل و قلف الدارسين الى 200 مل من الكحول الاثيلي 80% ووضع في كشتبان Thumbel في جهاز الاستخلاص Soxhlet ، ترك المستخلص لمدة 7 ساعات بدرجة حرارة 60 مْ رشح بعدها بالشاش الطبي وورق الترشيح Whatman No بعدها بخر الراشح باستعمال جهاز Rotary Vacum Evaporator لحين الحصول على سائل كثيف ثم بخر السائل بالفرن الكهربائي بحرارة 45مْ للحصول على المسحوق الجاف (25) .

8ـــ اختبار حساسية خميرة *C.albicans* للمستخلصات المستعملة في الدراسة :

تم استخدام طريقة الانتشار في الحفر Agar Well Diffusion Method وكما ورد في (26) اذ نشر 0.2 مل من عالق الخميرة على سطح وسط Emmons sabraud dextrose agar medium بالناشر الزجاجي وتركت الاطباق لتجف ، بعدها استخدم الثاقب الفليني لعمل حفر بقطر6 ملم في الوسط ، اغلقت الحفر باضافة 0.05 مل من وسط Sabraud dextrose agarالذائب قبل التصلب وذلك لمنع تسرب المستخلص اسفل الحفرثم حضرت تراكيز المستخلصات النباتية وبواقع 5 مكررات لكل تركيز وهي (25،50،75،100) ملغرام /مل بعدها اضيف 0.1 مل من كل تركيز اضافة لمعاملة السيطرة ، علمت الاطباق وحضنت الخمائر بدرجة حرارة 35ـــ 37مْ ولمدة 24ـ 48ساعة، قرات النتائج وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط بالملم .

9 ـــ تحديد التركيز المثبط الادنى MICوالقاتل الادنى MFC للمستخلصات النباتية :

حضرت تخافيف عدة من المستخلصات باستخدام انابيب اختبار تحوي وسط Sabraud dextrose broth اذ تراوحت قيمها 0.5، 1، 2، 4، 16,8، 32، 64, 128 ملغم /مل بعدها لقحت الانابيب ب0.1 مل من لقاح خميرة *C.albicans* وحضنت بحرارة 35 ـــ 37 مْ لمدة 24 ــ 72ساعة حضر بعدها وسط زرعي ملقح بعالق الخميرة (سيطرة) ، ففي حالة عدم ظهور عكورة في(السيطرة) تعاد التجربة وتم تحديد MIC بانه اقل تركيز من المستخلص النباتي يمنع ظهور عكورة واضحة في الوسط الزرعي (27) , كما حدد MFC بنقل 0.1 مل من جميع الانابيب المختبرة والتي لم تظهر عكورة فيها الى اطباق حاوية على اكار السابروبد ا لمغذي بعدها حضنت الاطباق الحاوية على الخميرة بدرجة حرارة 35 ــ37 مْ ولمدة 24ــ48 ساعة ،حددت قيمة MFC بكونه اقل تركيز للمستخلص النباتي والذي يقلل عدد المستعمرات بنسبة 99.9 % من المزروع الاصلي (28) .

النتائج والمناقشة

تم الحصول على 60 عزلة مرضية جاءت خميرة *Candida .albicans* بالمرتبة الاولى 35% وتبين ذلك من الجدول 1 , اذ تعد هذه الخميرة من اكثر انواع جنس *Candida* ضراوة واحداثا للامراض وذلك لقدرتها على مقاومة البلعمة بواسطة انتاجها للانابيب الجرثومية germ tubes ، قدرتها على الالتصاق وغزو الانسجة الداخلية للعائل اضافة لانتاجها الانزيمات ومنها phospholipase اذ تحلل الشحوم المفسفرة والمهمة والتي تدخل في تركيب الغشاء الخلوي للعائل فتقوم بتحطيمها وتسبب الامراضية كذلك الهيمولايسين hymolysin فهي تقوم بتحرير الهيموكلوبين المهم لبقاء الخميرة حية ومساعدتها على احداث الاصابة في الجسم وانتاجها Gelatinase والذي يمهد لعملية الالتصاق وغزو انسجة العائل(29).

وجاءت بكتريا *Escherichia .coli* بالمرتبة الثانية بنسبة *30%*واتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (30) ، اذ تشكل هذه البكتريا النسبة الاكبر كمسبب لخمج القناة البولية (31) ،فتملك هذه البكتريا عوامل ضراوة تمكنها من اصابة قناة البول اهمها الاهلاب Fimbriae المسهلة لعملية الالتصاق بالخلايا المبطنة للقناة وكذلك العلبة Capsule المقاومة لعملية البلعمة وانتاجها انزيم الهيمولايسين المحلل لخلاياالدم الحمراء محررة للهيموكلوبين المهم لايض الخلية البكتيرية اضافة لمقاومتها المتزايدة للمضادات الحياتية (32) ، تلتها بكتريا *Klebsiella pneumonia* بنسبة 12 % اذ تمتلك الكبسولة والتصاقها ببطانة القناة البولية من دون الحاجة للاهلاب فتكون ناجحة في احداث الاصابة (33) ، ثم جاءت بكتريا *Pseudomonas aeruginas* بنسبة 8 % وهي ممرضات مهمة للقناة البولية خاصة لدى المرضى ضعيفي المناعة ولها مقاومة عالية للمضادات بعدها جاءت بكتريا *Protues mirabilis*، *Staphylococcus aureus* و*Serratia marcescens* بالنسب (7 ،5 ،3)% على التوالي اذ تعد *S.marcescens* بكتريا انتهازية تملك عوامل ضراوة منها انتاج انزيمات البيتا لاكتاميز والهيمولايسين ومتعدد السكريد الدهني والمستضد الجسمي (26) .

ولقد اعطت خميرة *C.albicans* نموا ميكروبيا معنويا بنسبة 38 % اذ كانت 8 من النساء يعانين الخمج لاول مرة بنسبة 13.33% اما 52 امراة كانت الاصابة لديهن اكثر من مرة بنسبة كما اعطت بكتريا 86.66% *E.coli*نمو معنويا وبنسبة 14 %, ان نتيجة المقاومة المتعددة للاحياء المجهرية التي تصيب القناة البولية لدى نساء السكري وارتفاع مستوى السكر (السيطرة السيئة) يؤدي لحدوث النمو البكتيري المعنوي وهو تواجد10^5 مستعمرة لكل 1 مل من الادرار (34) اذ كان هناك فرق معنوي لخميرة *C.albicans* كذلك لبكتريا *E.coli*عند مستوى احتمالية P< 0.05 اما بالنسبة لبقية المسببات المرضية فلا يوجد فرق معنوي في هذه الدراسة عند نفس مستوى الاحتمالية , الجدول 1 .

اما الجدول 2 فهو يشير الى ان بكتريا *E.coli* ابدت 12 عزلة منها القدرة على الالتصاق بالخلاياالمبطنة للقناة البولية 66.66 %و انتاج hymolysin اظهرت 5 عزل قدرتها على ذلك بنسبة 27.7% اما انتاج الكبسولة فكان لعزلة واحدة فقط بنسبة 5.5 % , اما بكتريا *K.pneumonia* فابدت 3 عزل القدرة لانتاج الكبسولة بنسبة 42.8 % والقدرة على الالتصاق فكانت ل4 عزل بنسبة 57.1 %
اما انزيم الهيمولايسين فكانت نسبة انتاجه 0.0% لها , اما بكتريا *P. aeruginas* فابدت عزلة واحدة فقطالقدرة على الاتصاق بنسبة 20% و4 عزل القدرة لانتاج الهيمولايسين بنسبة 80% وبالنسبة لبكتريا *P.mirabilis* فاظهرت 3 عزل بنسبة 75% قابلية الالتصاق و عزلة واحدة تملك القدرة على انتاج انزيم الهيمولايسين بنسبة 25% وفيما يخص بكتريا *S.aureus* فابدت عزلتين منها القدرة على الالتصاق بنسبة 66.66% وعزلة واحدة اظهرت القدرة لانتاج انزيم الهيمولايسين بنسبة 33.33% واخيرا اعطت عزلة واحدة من كتريا *S.marcescens* القابلية على الالتصاق وانتاج الهيمولايسين بنسبة 50% لكل منهما اما القدرة على انتاج الكبسولة فلم تستطع بكتريا *P.mirabilis , P.aeruginas , S .aureus* و *S.marcescens* القابلية لانتاج الكبسولة .

الجدول 1 توزيع حالات الاصابة وفقا للنمو المايكروبي للمسببات المرضية المعزولة

المسبب المرضي	العـــــدد الكلي للاصابة	النسبة المئوية للاصابة	عينـــات ذات نمو معنوي *	النسبة المئوية للاصابة	عينـــات ذات نمـــــــو غيرمعنوي	النسبة المئوية للاصابة
Candida albicans	21	35	19	38	2	20
Escherichia coli	18	30	14	28	4	40
Klebsiella pneumonia	7	12	5	10	2	20
Pseudomonas Aeruginas	5	8	4	8	1	10
Protues mirabilis	4	7	3	6	1	10
Staphylococcus aureus	3	5	3	6	0	0
Serratia marcescens	2	3	2	4	0	0
Total	60	100	50	100	10	100

*

الجدول 2 عوامل الضراوة المنتجة من قبل بعض عزلات الانواع البكتيرية المعزولة

البكتريا المعزولة	** العدد الكلي	(الكبسولة) العدد الكلي	%	(الالتصاق) العدد الكلي	%	انتاج انزيم الهيمولايسين ∞ فصيلة الدم (A) العدد الكلي	%	فصيلة الدم (B) العدد الكلي	%	فصيلة الدم (AB) العدد الكلي	%
Escherichia coli	18	1	5.5	12	66.66	1	5.5	2	11.11	2	11.11
Klebsiella pneumonia	7	3	42.8	4	57.1	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas aeruginas	5	0	0	1	20	4	80	0	0	0	0
Proteus Mirabilis	4	0	0	3	75	0	0	1	25	0	0
Staphylococcus Aureus	3	0	0	2	66.6	1	33.3	0	0	0	0
Serratia marcescens	2	0	0	1	50	0	0	1	50	0	0
Total	39	4	10	23	58.9	6	15.3	4	10	2	5.1

** ∞

تاثير تراكيز المستخلص الكحولي و المائي للحرمل والدارسين في تثبيط نمو خميرة *C.albicans*

بينت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فرق معنوي P <0.05 بين الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل والمضاد القياسي Ketoconazole فاظهر هذا المستخلص اعلى تاثير تثبيطي في نمو هذه الخميرة فكان تاثيره عند التركيز 25 ملغم/مل مقارب للمضاد القياسي فبلغ 21 ملم اما المضاد القياسي فبلغ 19.6ملم , ولكن بدون فروق معنوية عند P<0.05 بمستوى احتمالية 5% اما بقية التراكيز فتفوقت بشكل متفاوت على المضاد القياسي وبمعدل قطر تثبيط بلغ 24.2 , 27.6 , 34.3 ملم , اما المستخلص المائي لبذور الحرمل فجاء بالمرتبة الثانية اذ تفوق المضاد القياسي على مستخلص بذور الحرمل المائي عند التراكيز 25 ,75,50 ملغم/ مل فيما تفوق المستخلص المائي للحرمل عند التركيز 100 ملغم / مل بشكل معنوي على المضاد القياسي اذ بلغ معدل قطر التثبيط 23 ملم فكانت خميرة *C.albicans* حساسة للمستخلص الكحولي والمائي للحرمل اذ تم الاستدلال الى ان هذه المستخلصات امتلكت الفعالية العالية في التاثير على خميرة *C.albicans* وبفرق معنوي عند مستوى احتمالية P< 0.05 بالمقارنة مع المضاد القياسي الجدول 3 .

كما اوضحت النتائج ان المضاد القياسي ketoconazole قد تفوق على المستخلص الكحولي لقلف الدارسين بتركيز 25 ملغم/ مل وتاثير مقارب للتراكيز 75,50 ملغم/ مل فيما تفوق المستخلص بالتركيز 100 ملغم/ مل على المضاد القياسي فبلغ معدل قطر التثبيط 25 ملم مقارنة مع المضاد القياسي , واظهرت النتائج تفوق معنوي للمضاد القياسي على المستخلص المائي بالتراكيز 25 , 50 , 75 ملغم/ مل فيما كان التاثير للمضاد القياسي مقارب لتاثير المستخلص المائي للدارسين عند التركيز 100 ملغم/ مل الجدول 3 . ولقد كانت نتيجة (36) مقاربة الى نتيجتنا فكان للمستخلص الكحولي تاثير تثبيطي اعلى من تثبيط المستخلص المائي ، كما ان المركبات الكيميائية غير قادرة على الذوبان في الماء(37) ، وتعود الفعالية البايلوجية للحرمل للقلويدات النتروجينية الحلقية الفعالة والتي تتداخل مع DNA للكائن المجهري معطية للنبات القدرة التثبيطية العالية (38). كما ان المستخلص الكحولي لبذور الحرمل يحوي الفينولات ومواد مضادة للاكسدة تجعله فعالا في تثبيط الاحياء المجهرية (39). كما ان بذور الحرمل كانت فعالة في تثبيط الخميرة لاحتوائها على مركبي Dichleromethane وHarmine (12) .

وان احتواء بذوره على مركبي Qulnazoline و Vasicin الذي يجعله مثبط جيد لخمير ة *C.albican* (40)، ووجد كل من (41، 42) ان الكحول الاثيلي اكثر كفاءة من الكحول المثيلي اذ تذوب المواد الفعالة فيه وكلما زاد التركيز زاد التثبيط ، فتعمل مستخلصات الدارسين على اختزال تطور التراكيب المظهرية لخميرة *C.albicans* منها الخيوط الفطرية الكاذبة والابواغ الكلاميدية (43). كما ان الكحول يعمل على تحرير مركبي Cinnmudelyde و Eugenol المتواجدة في القلف وهي تعمل كمثبطات جيدة وخاصة للخمائر فهي تحطم الجدار الخلوي لها وتحول السايتوبلازم الى فقاعات فارغة (44) .

كما ان الدارسين يملك زيوتا ذات نفاذية كبيرة عبر غشاء الخميرة مما يفسر فعاليتها في التثبيط (45)، ونتيجة لتواجد الفينولات في الدارسين وهي Eugenol ، Thymol و Carvacrol فانه يؤثر تاثيرا معنويا في تثبيط الخمائر (46) ، وفي دراسة (14) وجد ان المستخلص المائي للدارسين قد تفوق على المستخلص الكحولي فبلغ اعلى تثبيط له عند التركيز 50% 25 ملم كما ان خميرة *C.albicans* كانت حساسة للمستخلص المائي والكحولي بصورة متقاربة (47) . وذكر (43)بان تثبيط المستخلص المائي عند تركيز 50% قد تفوق على الكحولي فبلغ 23ملم ، اما في دراسة (48) فكان الكحولي اعلى من المائي للدارسين اذ بلغ 37.3 ملم وفي دراسة (49) لم يعطي المستخلص المائي اي نتيجة تذكر كذلك وصل عند التركيز 100% الى 0.81ملم في دراسة (50) ،اما المستخلص الكحولي فكان فعالا ضد خميرة *C.albicans* ، ولقد فسر (51) ان تثبيط المستخلص المائي للدارسين يكون قليل وذلك لان المركبات الكيميائية الفعالة تذوب في الكحولات اكثر من الماء وذكر (52) ان درجة التثبيط للمستخلص المائي يكون متشابه في كافة التراكيز خاصة المنخفضة .

الجدول 3 تاثير المستخلصات المائية والكحولية للحرمل والدارسين في نمو خميرة *C.albicans*

التركيز ملغم / مل	معدل اقطار التثبيط(ملم) – المستخلص المائي للحرمل	معدل اقطار التثبيط (ملم) – المستخلص المائي للدارسين	معدل اقطار التثبيط (ملم) – المستخلص الكحولي للحرمل	معدل اقطار التثبيط(ملم) – المستخلص الكحولي للدارسين
25	0.314 ± 16 e	0.446 ± 14 D	0.702 ± 21 d	0.422 ± 15 e
50	0.244 ± 17 d	0.372 ± 16 C	0.503 ± 24.2 c	0.244 ± 18 d
75	0.373 ± 18.4 c	0.314 ± 18 b	0.580 ± 28 B	0.270 ± 21 b
100	0.314 ± 23 a	0.373 ± 20 a	0.677 ± 34.3 a	0.375 ± 25 a
Ketoconazole 1000 µg / ml	0.244 ± 19.6 b	0.244 ± 19.6 e	0.244 ± 19.6 a	0.244 ± 19.6 c
الاثيلين كلايكول	/	/	0 f	0 f
الماء المقطر المعقم	0 f	0 e	/	/
LSD= 0.05	0.9	1.04	1.6	1.16

تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى MIC والقاتل الادنى MFC للمستخلصات المائية والكحولية للحرمل والدارسين

توضح النتائج المبينة في الجدول 4 ان مستخلص الحرمل المائي سجل ادنى تركيز مثبط ضد خميرة *C.albicans* اذ MIC كان 1.25 ملغم /مل اما MFC له بلغ 10 ملغم/مل ، اما المستخلص الكحولي كانت قيمة MIC 0.5 ملغم/ مل و MFC بلغ 5 ملغم /مل ، اما قيمة MIC للمستخلص المائي للدارسين فكانت 5 ملغم / مل فيما اعطت MFC بقيمة 12.5 ملغم/ مل اما المستخلص الكحولي كان MIC له 1.25 ملغم/مل فيما كانت MFC 10 ملغم / مل .

من خلال هذه الدراسة يمكن الاستدلال بان انخفاض قيم MICوMFC للمستخلصات النباتية يدل على الفعالية العالية لها ضد خميرة *C.albicans* و لقد اكد ذلك (16) وان الاختلاف في قيم MIC وMFC للمستخلصات النباتية يعود لميكانيكية عمل المركبات الكيميائية الفعالة المتواجدة فيها اذ يكون تاثيرها الاساس في تشويه مظهر خلية الخميرة ، فهي تملك القدرة للدخول الى داخل الخلايا وتحطيمها خاصة السايتوبلازم كذلك تحليل محتوى خلية الخميرة من بروتينات ودهون(48) .

الجدول 4 تحديد قيمة MIC وMFC ملغم/ مل للمستخلصات المائية والكحولية للحرمل والدارسين

النبات	الحرمل		الدارسين	
نوع المستخلص	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي
القيم				
MIC	1.25	0.5	5	1.25
MFC	10	5	12.5	10

References

1 – Edward , J. B.; Stephan D.F. ; Delia .S. ; Chiling C.; Esther H.N. and Patrici Y.B.(2002). Diabetes and the risk of acut urinary tract infection among postmenopausal women .Epi .Rsea. and Infor.Cent.(ERIC) . Seatle .Washonton USA .25(10) : P 1778 .

2ـــ الدليمي ، سرى باسل كمال .(2002) . دراسة مقارنة المستخلصات النباتية للحرمل والثوم والاس على الانواع المختلفة من طفيليات اللشمانيا وبعض انزيماتها .رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة المستنصرية .

3- Moghim , H. (2001). Role of candidiasis in leukemic and lymphomatic patients using flowcytometry method .J.Shahrekordumir .Med.Sic.3(3) : 42–48 .

4 – Calderon ,.R.. A and Fonzi, W. A.(2001). Virulence factors of *C.albicans* .Trends. Microbiol . 9 (7) : 327 – 335.

5-Current,H.V. (2013).Virulence factors of *C.albicans* isolates from the oral cavities of HIV pozative patient university federal dopara laboratoriod .Brazil : pp 50…52.

6-Mayer ,F.L.;Wilson , D. and Hube ,B(2013). *C.albicans* pathogenicity mechanisms virulence .2(4) :11 – 128 .

7-Howell,S.A.; Mallet,A.I. andNoble ,W.C. (1999). Acomparison of the sterol content of multiple of the *C.albicans* darlington strain with other clinically azd sensitive and resistant strains .J.Appl .Micro.69:P 696.

8-Sharma,V.;Sharma,H.V.;Mehta ,D.; Chhabra, T.D. ; Sourirajan , A. and Dev,K. (2014). Comparative and lysis of antibacterial and antifungal properties of traditional medicinal plants of shimla and solan himachal Pradesh .Int.J.Phar.Phyto .Resea. 6(1):PP 18.

9- Tomaino,A.; Somino, F.; Zimbalatte ,V.; Sulfaro,V.D. and Saiha,A, (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential .oils.Food .Chem.89:pp549 — 554.

10ـــ الكاتب ، يوسف منصور.(2000). تصنيف النباتات البذرية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد ، الطبعة الثانية.

11-Kuhn ,M.A. and Winston .D . (2000). Herbal the rapy and supplements , ascientific and traditional approach , Newyork , Lippincott: pp 34 0——— 350.

12- Shiri,Y.; Solouki,M. and Saeid,S. (2014). Activity of some Iranian plant extracts against multidrug resistant human pathogens isolated from urinary tract infection.Zahdan. J.Rese.Med.Scie. 16 (10) : 50 ——— 54.

13-Tarranum .A.; Malhotra ,U.R.;Ghildiyal ,A and Chandola,P. (2014). Antimicrobial activity of plants *Cinnamomum zeylanicum*,*Cedrus deodara* and *Eucalyptus globules* officinalis essential oils against some bacterial and fungal strains.Octa.J.Bio.Int.2(1):pp 49 ——— 52.

14- Mohamed ,B.J . and Rasha ,A. (2014) . Inhibition effect of Cinnamon against *C.albicans* growth in vitro and in vivo .J.Bab.Univer.Pure and Appl.Sci.22(9): PP 1 ———4—

15- Haddy,R.D.; Mann, B.L.; Nadkarani , D.D.; Curz,R.F.; Elshoff,D.J.;Buendia, F.C.;Domers, T.A. and Oberheu, A.M. (1996).Nosocomial infection in the community hospital severe infection due to *Serratia* species .J.Fam.Pract. 42:pp. 273—277 .

16ـــ الغالبي ، حيدر حبيب .(2006). التاثيرات الخلطية لبعض المضادات الفطرية ومستخلصات نباتي الثوم والاس تجاه بعض الفطريات الانتهازية الرئوية ، رسالة ماجستير، كلية التربية ،جامعة القادسية.

17-Colle, J. G; Fraser,A. J.; Marmion , B.P. and Simmons,A.S. (1996). Practical medical microbiology .14th ed.Churchin Livins Stone.

18-Ellis ,D. H. (1994).Clinical mycology.The human opportunistic mycoses.Gillingham printers LTD.Australia:p166.

19- Damirdash,I.S. and AL Janabi, A.H.(2000). Inhibition of colony growth of some dermatophyte by some plant extracts .AL Mustansiriya .J.Sci.11(1):p 35.

20- Deshmurh, S.D. and Borle, M.N. (1975). Studies on the insecticidal properties production .Indian.J.Ent.37(1):p 11. .

21- Douglas,L . J. (1987). Adhesion of *C.albicans* to epithelial surfaces .Crit . Rev.Microbiol. 15: 27.

22— Egorove , N.S.(1985). Antibiotics ascientific approach.Mir.Bublishers , Moscow.

23 – Emmons ,C.W.; Binford,C.H.and Kwonch,K.J. (1977). Medical mycology .3th ed. Lea and Febiger . Philadelphia , USA.

24— Fader , R.J. and Davis , C.P. (1980). Effect of pillation on *K.pneumonia* .Infect Blader .J. Infect. Immun.30:501.

25 — Ahmed,L.; Mehammad ,Z; Mohammad , F.(1998).Screening of some indian medicinal plants for their antimicrobial properties .J.Enttopharm.P183.

Nothan,P.; Law, E.J. and Murph, D.F. (1978) Alaboratory method for selection 26———

of topical antimicrobial agents to treat infect bum.J.Burns.4:pp 177 ——— 178.

to 27 — Ellof,J.N.(1998). Asensetive quik micro plate method

determine the minimal inhibitory conceniration of plant extracts for bacteri 713.

. Planta. Med . 64 : 711—

28—— الجنابي ، جواد كاظم وكمال ، صابرين عبد الامير. (2014). تقويم كفاءة مستخلصات الشاي

33 . الاخضر والدارسين في نمو فطر *Trichophyton mentagrophytes* . جامعة بغداد . كلية العلوم .مجلة العلوم العراقية

. 2 —1 : (1)

Hopkins,W.J.; Fitzptric , A.G. and Vehling , D.T. (1998). Time course and host

29———

response to *E.coli* urinary tract infection in genetically district mouse strains

infection and immune.66(6). PP 2798 ———2802.

30 ——— Asahra , I.; Nomoto, K.; Watanki,M.and Yokokura,T.(2001). Antibiotic intraure

activity of intraurethrally adiminished probiotic lactobacillus causal murine

model of *E.coli* UTI.Antimicrob . Che. 45: P1720.

Jett, B.D. ; Huycki, M.M. and Glimo, M.S.(1994). Virulence of enterococci

31———.Clin.

.Micro.Rev. 7(4): pp 462..47 ——— 478.

32 ——— Kurutepe, S.; Surucuoglu, S.; Sezing ,C .; Gazy, H. and Ozbakk ,B(2005). .

Increasing antimicrobial resistance in *E.coli* isolates from community acquired UTI in Manisa , Turkey .Jpn. J. Infect. Dis.58: PP 161.

33——— Kunin, C.M.(1997). Detection , prevention and management of UTI .4 th ed .Lea and Fibiyer ,Philadelphia.P 54.

34—— Sharma ,B.D.; Banasal,R. and Gupta , B.(2011). Asymptomatic bacteria .JICM.

13(1):P 58. —

Paranhos ,

35———Y.T.; Camble , S.; Samarany , and Bush, (2000) . Resistant of some antibio

some species of yeast exposure for randomized concentrations of drugs .J.Med.38(10):

451 ———499.

AL Izzy , M. Y.(2010). Antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extracts

of *Peganum harmala* seeds on two types of salivary isolated 36 ———

microorganisms in AL Ramadi city .JKAU.Med. Sci. 17(4): p 3 .

37———Qasem, J.R. and Abu Blan, H.A.(1995). Antifungal activity of aqueous extract

fromsome common weed species .Ann.Appl.Bio.127:P 218.

Shahverdi,A.R.; Hamid, R.; Samira, K. and Khosh,N.(2005). Antimicrobi

38 ———

activity and main chemical composition of two smok condensates from *Peganum harmala* .Dep,Pharma.Bio.Tehran university .Med.Scie.60: p 710.

39——— Esmaeil , L.A.; Salehi, A. and Kenari , R.E.(2015). Study of antioxidant capacity and stability of phenolic compounds from the seeds of *Peganum harmala* .J.Appl.Envi.Bio.Sci.4(115): p 222.

Sato, J.; Goto, K.; Kowais, S. and Murata , K.(2000). Antifungal activity of 40
plant extracts against *Arthrininum sacchari ,Chaeto mium funieolg* .J.Bio.Sci.90(4). pp 446.
Akosall,Q. and Emmanul , C.(2010). Antimicrobial activity profile of the 41
constituents of four Ghanaian medicinal plants.Medicinal college .Tokyo University of science and technology.P 200.
42 Gupta , P.; Gautam , P.S.and Ray, N.(2012). An emerging hope to combated *C. albicans* plani based therapeutics .Inf. Bio . Tech. 5(3): P 114.

43 Orientadora, P. Lima, E.D.; Junior ,J.D. and Domelodiniz, M.F.(2010). Actividade antifungica dooleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* blume (CANELA) ede sua 284. associacaocom antifungi . J . Sci. 615 : PP 282

44 Snehlata,P.G. P.; Rajshree, P. and Rita, S.(2014). Phytochemical screening of Selected medicinal plant *Cinnamomum zeylanicum* bark extract. Int. J.Sci. Resea.4(6):1 6.

45 Decastro , R.D. and Lima, E.O. (2013). Anticandida activity and chemical sition of *Cinnamomum zeylanicum* blum essential oil .Bras . Arch.Bio. Tech. 56(5) : PP 1 3.

46 Gary , R.C. ; Gupta , C.A.P., Uniyal, C. and Gupta , S.(2009). Comparison of antimicrobial activities of clove oil and its extract on some food born microbes .Int. J.Micro.: p 7.

47 Asha , S.; Nithisha , K. ; Bharat, K.R. and Rav, K.V.(2014). Deciphering the antimicrobial potential of *Cnnamomum zeylanicum* bark .Int.J.Pharm.6(4). pp 1226 1235.

Krisch , J.; Galgoczy, L.and Vagvolgyi , C.(2008). Effect of fruit juice and pomacoe 48
extracts on the growth of gram positive and gram negative bacteriaAct.Bio.Szegediensis .270 . 52:PP 267
AL Kazraji , S.M.(2014). Preliminary screening of the antibacterial activity of 49
Cinnamomum zeylanicum bark . IOSR .J. Phar and Bio. Sci. 9 (5) : 30 34.
Kenan, J.T and AL Najar , R.A. (2008). In vitro antifungal activities of various plant 50
crude extract and fractions against citrus post harvest disease agent *Penicillium* 99 . *digitatum* .Jourden.J.Bio.Sci. 1(3): PP 89

51 Peter , A.G. and Desmet , M.(2002).Herbal remedies .Newengland .J. Med.437: PP 2046 2056.

52 Deboer , H.J.; Kool, A.; Broberg , W.R. ; Mziray , I.H. and Levenfors , J.J.(2005).

Antifungal and anti bacterial activity of some herbal remedies from Tanzania .J.Eth . 496. Pharm.96: PP 461

الهوامش :

*** : تواجد فرق معنوي لخميرة *C.albicans* ولبكتريا *E.coli* عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ جدول 1 .**

****: يوجد فرق معنوي $X^2 = 20.20$, $P \leq 0.05$, $df = 17$ جدول 2 .**
∞: لم يتوفر خلال الدراسة اي مريض فصيلته من زمرة (o) جدول 2 .

±: الخطا القياسي ,الحروف المختلفة في العمود الواحد تشير الى تواجد فرق معنوي عند مستوى احتمالية 0.05>