

Identification 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 عذلة 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* نمو 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 aeurogenosa* 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 التأثير 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 تأثيره 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 بالإضافة 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% followed *E.coli* bacteria with second percentage 30 % , *C.albicans* produced 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 group of *P.aeruginas* bacteria with 80% and B blood group was in high percentage in *S.marcesce* with 50% , while AB blood group 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. 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

داء السكري 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 Canndidiiasis 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 و Hydrolytic (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 البايولوجية 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 والشمانيا ومضاد للالتهاب والاكسدة(11). و يمكن ان تعود الفعالية البايولوجية لهذا النبات لاحتوائه مركبات كيميائية فعالة وهي 'harmin B ، peganine ،harmalol،harmaline، harmin ،quinazoline ،dichbromethane وقلويدات مهمة مثل vasicin ، steroidal ، sapogenines 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 والكلية كذلك هو مثبط لفعالية سم aflatoxin (13). كما ويوجد في زيت هذا النبات عدد من المركبات الفعالة Cinnamaldehyde ، eugenol ، linalol ، ketone ، terpene ، alcohol ، tannins ، flavonoids ، oxygenated derivatives ، B caryophyllene ، hydroethyl carbons ، acid ، saponin و alkaloids (14) .

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

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

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

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

4- تحديد قيم MFC و MIC لمستخلصات النباتات الطبية المستخدمة.

Methods

طرائق العمل:-

1 - **الايوساط الزرعية** : A- وسط مكوني الصلب Macconky agar medium استعمل هذا الوسط لعزل وتنمية البكتريا السالبة لصبغة كرام وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Mast England.

B- 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 السابرويد دكستروز الصلب Sabrauds dextrose agar medium (SDA) استعمل لعزل وتنمية الفطريات والخمائر وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Maknur Canada.

D- مرق السابرويد دكستروز Sabrauds dextrose broth medium وحضر حسب التعليمات للشركة المصنعة Canada Maknur.

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

2- **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 10^5 بوغ / مل اما التخافيف القياسية للمستخلصات الكحولية حضرت باستخدام الاثيلين كلايكول 100% (مادة مذيبة جيدة وعديمة الفعالية لنمو الاحياء المجهرية) اما المائية حضرت باستخدام الماء المقطر المعقم وبتراكيز (25 ،50،75،100) ملغرام /مل (16).

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

4- **الزرع على الاوساط** : اخذت العينات صباحا قبل تناول الفطور واجري فحص السكر في الادرار كما ورد في (17) ، بعدها اجري الفحص المجهرى 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 37م لمدة 24 ساعة اما الخاصة بالخمائر بدرجة حرارة 35 م لمدة 24 – 72 ساعة .

5- **العزل والتشخيص** : شخضت 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 وقلق 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 و اضيف اليه 450 مل ماء مقطر (بنسبة 1 : 9) لتحضير المستخلص المائي

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

8— 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 بقطر 6 ملم في الوسط ، اغلقت الحفر باضافة 0.05 مل من وسط Sabraud dextrose agar الدائب قبل التصلب وذلك لمنع تسرب المستخلص اسفل الحفر ثم حضرت تراكيز المستخلصات النباتية وپواقع 5 مكررات لكل تركيز وهي (100،75،50،25) ملغم/مل بعدها اضيف 0.1 مل من كل تركيز اضافة لمعاملة السيطرة ، علمت الاطباق وحضنت الخمائر بدرجة حرارة 35—37 م ولمدة 24—48 ساعة، قرأت النتائج وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط بالملم .

9 — تحديد التركيز المثبط الادنى MIC والقاتل 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، 8، 16، 32، 64، 128 ملغم /مل بعدها لفحت الانابيب ب0.1 مل من لقاح خميرة *C.albicans* وحضنت بحرارة 35 — 37 م لمدة 24 — 72 ساعة حضر بعدها وسط زرعى 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 الزرعى (27) ، كما حدد MFC بنقل 0.1 مل من جميع الانابيب المختبرة والتي لم تظهر عكورة فيها الى اطباق حاوية على اكار السابرويد المغذي بعدها حضنت الاطباق الحاوية على الخميرة بدرجة حرارة 35 — 37 م ولمدة 24—48 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 الهيموليسين hmyolysin فهي تقوم بتحريز 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% وانفقت 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 العلبية Capsule المقاومة لعملية البلعمة وانتاجها انزيم الهيموليسين المحلل لخلايا الدم الحمراء محررة للهيموكلوبين المهم لايبض الخلية البكتيرية اضافة لمقاومتها المتزايدة للمضادات الحيوية (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 مرضات 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 والهيموليسين ومتعدد السكريد الدهني والمستند الجسمي (26) .

ولقد اعطت خميرة *C.albicans* نمو ميكروبياً معنوياً بنسبة 38 % اذ كانت 8 من النساء يعانين الخمج لأول مرة بنسبة 13.33% اما 52 امرأة كانت الاصابة لديهن اكثر من مرة بنسبة كما اعطت بكتريا *E.coli* 86.66% نمو معنوياً وبنسبة 14 %، ان نتيجة المقاومة المتعددة للحياة المجهرية التي تصيب القناة البولية لدى نساء السكري وارتفاع مستوى السكر (السيطرة السيئة) يؤدي لحدوث النمو البكتيري المعنوي وهو تواجد 10^5 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 بالخلايا المبطنه 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 الالتصاق 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 و انتاج الهيمولايسين بنسبة 50% لكل منهما اما القدرة على انتاج الكبسولة فلم تستطع بكتريا *P.aeruginas* , *P.mirabilis* , *S.aureus* و *S.marcescens* القابلية لانتاج الكبسولة .

الجدول 1 توزيع حالات الاصابة وفقا للنمو المايكروبي للمسببات المرضية المعزولة

| النسبة المئوية للمرضية للاصابة | عينات ذات نمو غير معنوي | النسبة المئوية للاصابة | عينات ذات نمو معنوي * | النسبة المئوية للاصابة | العدد الكلي للاصابة | المسبب المرضي |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|------------------------------|
| 20 | 2 | 38 | 19 | 35 | 21 | <i>Candida albicans</i> |
| 40 | 4 | 28 | 14 | 30 | 18 | <i>Escherichia coli</i> |
| 20 | 2 | 10 | 5 | 12 | 7 | <i>Klebsiella pneumonia</i> |
| 10 | 1 | 8 | 4 | 8 | 5 | <i>Pseudomonas Aeruginas</i> |
| 10 | 1 | 6 | 3 | 7 | 4 | <i>Protues mirabilis</i> |
| 0 | 0 | 6 | 3 | 5 | 3 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 0 | 0 | 4 | 2 | 3 | 2 | <i>Serratia marcescens</i> |
| 100 | 10 | 100 | 50 | 100 | 60 | Total |

*

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

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

**

∞

تأثير 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 فظهر هذا المستخلص اعلى تأثير تثبيطي في نمو هذه الخميرة فكان تأثيره عند التركيز 25 ملغم/مل مقارب للمضاد القياسي فبلغ 21 ملم اما المضاد القياسي فبلغ 19.6 ملم , 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 , 50 , 75 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 التأثير 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 وتأثير 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 , وظهرت النتائج تفوق معنوي للمضاد القياسي على المستخلص المائي بالتراكيز 25 , 50 , 75 ملغم/مل فيما كان التأثير للمضاد القياسي مقارب لتأثير المستخلص المائي للدارسين عند التركيز 100 ملغم/مل الجدول 3 . ولقد كانت نتيجة (36) مقارنة الى نتيجتنا فكان للمستخلص الكحولي تأثير تثبيطي اعلى من تثبيط المستخلص المائي , كما ان المركبات الكيميائية غير قادرة على الذوبان في الماء (37) , وتعود الفعالية البايولوجية للحرمل للقلويدات النتروجينية الحلقية الفعالة والتي تتداخل مع DNA للكائن المجهرية 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 و Harmine (12) . وان احتواء بذوره على مركبي Qulnazoline و Vasicin الذي يجعله مثبط جيد لخميرة *C.albican* (40) ، ووجد كل من (41، 42) ان الكحول الايثيلي اكثر كفاءة من الكحول الميثيلي 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 الساييتوبلازم الى فقاعات فارغة (44) .

كما ان الدارسين يملك زيوتنا ذات نفاذية كبيرة عبر غشاء الخميرة مما يفسر فعاليتها في التثبيط (45)، ونتيجة لتواجد الفينولات في الدارسين وهي Eugenol ، Thymol و Carvacrol فانه يؤثر تأثيرا 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 23 ملم ، 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 0.81 ملم 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 تأثير المستخلصات المائية والكحولية للحرمل والدارسين في نمو خميرة *C.albicans*

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

تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC والقاتل الأدنى MFC للمستخلصات المائية والكحولية للحرمل والدارسين
توضح النتائج المبينة في الجدول 4 ان مستخلص الحرمل المائي سجل ادنى تركيز مثبط ضد خميرة *C.albicans* MIC اذ 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 MIC وMFC 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 تأثيرها الاساس في تشويه مظهر خلية الخميرة ، فهي تملك القدرة للدخول الى داخل الخلايا وتحطيمها خاصة السايروبلازم كذلك تحليل محتوى خلية الخميرة من بروتينات ودهون(48) .

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

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

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 .Washontion USA .25(10) : P 1778 .
- 2— 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 48 . flowcytometry method .J.Shahrekordumir .Med.Sic.3(3) :
- 4 – Calderon ,R.. A and Fonzi, W. A.(2001). Virulence factors of *C.albicans* .Trends. 335. Microbiol . 9 (7) : 327 –
- 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 128 virulence .2(4) :11 –
- 7-Howell,S.A.; Mallet,A.I. andNoble ,W.C. (1999). Acomparision 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 554. .oils.Food .Chem.89:pp549 –

- 10 — 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 350. traditional approach , Newyork , Lippincott: pp 34 0_____
- 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. 54. J.Rese.Med.Scie. 16 (10) : 50 _____
- 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 52. 49 _____
- 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 .
- 16 — الغالبي ، حيدر حبيب .(2006). التأثيرات 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). A sensitive quik micro plate method
determine the minimal inhibitory concentration 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 distinct mouse strains
infection and immune. 66(6). PP 2798 ————— 2802.
- 30 ————— Asahra , I.; Nomoto, K.; Watanki, M. and Yokokura, T. (2001). Antibiotic inraure
activity of inraurethrally 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
from some 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 ————— Esmail , 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 *Arthrimum sacchari*, *Chaetomium funieol*. 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 do oleo 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 *Cinnamomum 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