مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

التأثير التثبيطي لمستخلصات نباتي النعناع الفلفلي والريحان في نمو بعض الأعفان والخمائر المعزولة من مرضى التهاب الأذن في مدينة الديوانية

علي عبد الهادي ماهود

قسم علوم الحياة-كلية العلوم-جامعة القادسية

الخلاصة:-

شملت هذه الدراسة اختبار تأثير المستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات النعناع الفلفلي (*Mentha piperita* L.) وأوراق نبات الريحان (*Ocimum basilicum* L.) في نمو بعض الأعفان والخمائر المعزولة من الأذن. (98) عينة جمعت من المرضى الذين يعانون من التهاب الأذن وراجعوا العيادات الخاصة في مدينة الديوانية للفترة من آيار إلى آب (2010). تم عزل (36) عزلة فطرية من مجموع (53) عينة مأخوذة من مرضى يعانون من التهاب الأذن الوسطى، كما تم عزل (34) عزلة فطرية من مجموع (45) عينة مأخوذة من مرضى يعانون من التهاب الأذن الخارجية، وهذه العزلات تعود إلى (8) أنواع فطرية وبنسب تردد مختلفة وهذه الأنواع هي: *Aspergillus niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* و *A. terreus* و *Candida albicans* و *C. tropicalis* و *C. parapsilosis* و *Penicillium notatum*.

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها تبين بأن المستخلص الكحولي لأوراق نبات النعناع الفلفلي كان أكثر المستخلصات النباتية تأثيراً على فطريات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* و *C. albicans* و *C. tropicalis*، إذ بلغت معدلات أقطار التثبيط عند تركيز (25) ملغم/مل (31.4، 27.8، 29.6، 31.6 و 29.8) ملم على التوالي، يليه مستخلص الريحان الكحولي بمعدلات أقطار تثبيط (25.8، 23.2، 22.4، 23.4 و 22.7) ملم على التوالي، بينما بلغت معدلات أقطار التثبيط لمستخلص النعناع الفلفلي المائي (19.8، 19.9، 21.3، 20.7 و 21.9) ملم على التوالي، وكان أقل هذه المستخلصات فعالية هو مستخلص الريحان المائي بمعدلات أقطار تثبيط (19.5، 19.7، 20.8، 19.9 و 20.5) ملم على التوالي، بالقياس مع معاملة المضاد الفطري Ketoconazole بتركيز (20) ملغم/مل والتي بلغت عندها معدلات أقطار التثبيط (18.2، 16.8، 18.6، 16.5 و 17.00) ملم على التوالي.

أما بالنسبة لقيم التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) والقاتل الأدنى(MLC) Minimal Lethal Concentration للمستخلصات النباتية، فقد وجد أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات النعناع الفلفلي امتلك اقل تركيز مثبط أدنى تجاه *C. albicans* و *C. tropicalis* إذ بلغ (0.25) ملغم/مل، بالقياس مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت قيم اقل تركيز مثبط له (10 ,12.5) ملغم/مل تجاههما على التوالي، في حين بلغ التركيز القاتل الأدنى للفطريات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* (5) ملغم/مل، وبخصوص المستخلص الكحولي لأوراق نبات الريحان، فقد بلغ اقل تركيز مثبط (1.25) ملغم/مل لكل من *C. albicans* و *C. tropicalis* و *A. flavus* أما التركيز القاتل الأدنى فقد بلغت قيمته (5) ملغم/مل لكل من *C. albicans* و *C. tropicalis*، أما مستخلص النعناع الفلفلي المائي فقد كان اقل تركيز مثبط لخميرة *C. albicans* وخميرة *C. tropicalis* إذ بلغ (2.5) ملغم/مل، وقد بلغ اقل تركيز مثبط لمستخلص الريحان المائي لكل من *C. albicans* و *C. tropicalis* (5) ملغم/مل، فيما كانت قيم التركيز القاتل الأدنى لكل من *C. albicans* و *C. tropicalis* (10) ملغم/مل.

المقدمة:-

يُعد مرض التهاب الأذن الوسطى (Otitis media) من المشاكل الصحية الشائعة التي يعاني منها المرضى و من فئات عمرية مختلفة ولكلا الجنسين (29). وتحدث الإصابة في الطبقة المخاطية المبطنة لشق الأذن الوسطى بشكل كلي أو جزئي، ويتميز المرض بطورين رئيسين هما الطور الحاد (Acute) والطور المزمن (Chronic)، وقد تحدث مضاعفات مختلفة بسبب تدفق السائل القيحي مما يزيد من أهمية وخطورة هذا المرض (11). تشترك البكتريا والفطريات والفيروسات في زيادة معدل حدوث هذا المرض وقد يكون المسبب للمرض كائناً مجهرياً واحداً أو أكثر في الإصابة نفسها (24).

ازدادت أهمية الفطريات عندما ازداد معدل الإصابات التي تسببها وخصوصاً في مرضى الضعف المناعي فقد وجد إن ازدياد معدل إصابة الأذن بالفطريات يكون إما بسبب الضعف في مقاومة الجسم أو لاستخدام المضادات الحيوية والمثبطات المناعية أو المواد المضادة للسرطان وغيرها لذلك فإن الفطريات المختلفة الموجودة في الأذن الخارجية ممكن أن تصبح ممرضات انتهازية (Opportunistic pathogen) وتسبب إصابة الأذن الوسطى (26).

للفطريات القدرة على إحداث الإصابات بمرض التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن وفي هذا النوع تستمر إفرازات الأذن بسبب عدم الشفاء من التهاب الأذن الوسطى القيحي الحاد مع حدوث ثقب في غشاء الطبلة وقد يؤدي إلى عدوى مختلطة وإلى تلف اكبر لمحتويات الأذن(32).

كما وجد إن الفطريات لا تصيب الأذن الخارجية فقط وإنما تسبب التهاب الأذن الوسطى وجيب النتوء الحلمي لذلك يجب إن يشمل مصطلح (Otomycosis) إصابة الأذن الوسطى وجيب النتوء الحلمي بالفطريات وليس فطريات الأذن الخارجية فقط وأن المرضى الذين يعانون من الإصابة المتكررة للأذن الخارجية هم في الأساس مصابون بأحد الفطريات إضافة إلى وجود إصابة بكتيرية حادة (17). وقد تتعرض الأذن الخارجية إلى الإصابة بإحدى المسببات المرضية كالفطريات والبكتريا إذا ما توافرت الظروف الملائمة لإحداث الإصابة ولذلك قد لا يعاني بعض المرضى من التهاب الأذن الوسطى فقط وإنما ممكن إن تصاحبه إصابة للأذن الخارجية (27). وغالباً ما يتضمن علاج فطريات الأذن تنظيف الأذن الخارجية بواسطة سحب السوائل ومن ثم استعمال المضادات الفطرية مثل Clotrimazole أو Nystatin أو Amphotrecin B في إزالة الإصابة من الأذن (30).

ونظراً لزيادة المقاومة للمضادات الفطرية وامتلاك المضادات الفطرية آثاراً جانبية بسبب سميتها العالية لخلايا اللبائن (31). لذلك كان لابد من إيجاد بدائل عن المضادات الفطرية وهذه البدائل تمتلك فعالية عالية ضد الإصابات الفطرية وتكون أمينة الجانب، وذلك للقضاء على الفطريات المقاومة للمضادات الفطرية وقد أشارت العديد من البحوث إلى أن هنالك مصادر طبيعية تمتلك فعالية عالية ضد الفطريات المرضية (36). إذ تمتلك العديد من النباتات الطبية فعالية عالية ضد المسببات المرضية والأمراض، وفي العراق تتوافر وتنمو مثل هذه النباتات ومن هنا جاءت أهداف هذا البحث والتي تضمنت دراسة التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق نباتي النعناع الفلفلي *Mentha piperita* L. والريحان *Ocimum basilicum* L. في نمو بعض الأعفان والخمائر المعزولة من الأذن وتحديد التركيزين؛ المثبط الأدنى (MIC) Minimal Inhibitory Concentration والقاتل الأدنى (MLC) Minimal Lethal Concentration للمستخلصات النباتية مختبرياً.

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

المواد وطرائق العمل:-

جمع العينات

تم جمع (98) عينة (Ear Swab) من المرضـــى الذين يعانون من التهاب الأذن من كلا الجنســين وراجعوا العيادات الخاصـــة في مدينة الديوانية للفترة من آيار إلى آب (2010)، كانت (53) عينة منها لمرضـــى يعانون من التهاب الأذن الوسطى إذ فحصت الأذن الخارجية ونظفت من القيح وغيرها من مخلفات الالتهاب من قبل الطبيب المختص ثم عقمت قناة الأذن الخارجية بمســحة قطنية مشــبعة بالايثانول (70) % وتركت لتجف ثم أخذت مســحة من الأذن، و (45) عينة كانت لمرضــى يعانون من التهاب الأذن الخارجية إذ تم اخذ مســحات من قناة الأذن الخارجية، حفظت المســحات لحين نقلها إلى المختبر لغرض إجراء الفحوصات عليها.

زرع العينات

بعد إتمام عملية جمع العينات تم زرع العينات في أطباق بتري حاوية على الوســط الزرعي (SDA) Sabouraud's Dextrose Agar مضـــافاً إليه المضـــاد الحياتي Chloramphenicol بمقدار (25) ملغم/لتر لتثبيط نمو البكتريا في العينات المزروعة (14). حضنت بعدها الأطباق بدرجة حرارة (25) مْ ولمدة تتراوح ما بين (3-7) أيام، وعند ظهور نمو الفطريات تم عزلها وتنقيتها ثم شـخصـت اعتماداً على المظهر الخارجي للمسـتعمرة (Morphological features) مثل الشكل، اللون، قطر المستعمرة وارتفاعها وأيضاً اعتماداً على الصفات المجهرية (Microscopic features) مثل شكل، حجم ولون الكونيديا، وكذلك تم تشـخيص الخمائر اعتماداً على بعض الاختبارات، مثل اختبار تكوين أنبوبة الإنبات واختبار تكوين الأبواغ العملاقة واختبار تحلل اليوريا واختبار تمثيل وتخمر السـكريات بعد الرجوع إلى المصـادر الآتية: (20, 9, 8, 33, 40, 28, 13).

وقد تم حساب النسبة المئوية لتردد الفطريات حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية لتردد الفطر} = \frac{\text{عدد مستعمرات النوع الفطري}}{\text{العدد الكلي لمستعمرات الأنواع الفطرية}} \times 100$$

تحضير المستخلصات النباتية

1. **المستخلص المائي الحار**

حضر المستخلص المائي الحار لأوراق نباتي الريحان والنعناع الفلفلي بالاعتماد على طريقة (25) وكالآتي:

أخذ وزن (50) غم من المسـحوق الجاف للأوراق ووضـع في دورق زجاجي مخروطي الشـكل سـعة (1) لتر وأضـيف إليـه (450) مـل من المـاء المقطر المعقم، بعـدهـا وضـــع الدورق على مسخن حراري مغناطيسي بدرجة حرارة (40) مْ وترك الخليط ليمتزج جيداً بوسـاطة محرك مغناطيسـي (Magnetic stirrer) لمدة (24) سـاعة لإعطاء مجال أكبر لاستخلاص المادة الفعالة في العينة النباتية، رشح بعدها المزيج بوساطة ورق ترشيح مننوع Whattman No.1، جفف المسـتخلص من خلال وضـعة في دورق زجاجي في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة (45) مْ لمدة (48) سـاعة، وبعد الحصول على المستخلص الجاف وزن المستخلص وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال بدرجة حرارة (4) مْ.

2. المستخلص الكحولي

أتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي الحار نفسها فيما عدا استعمال الكحول الأثيلي بتركيز (70) % بدلاً من الماء المقطر المعقم (25).

تحضير محلول المضاد الفطري Ketoconazole

تم تحضير محلول المضاد بتركيز (20) ملغم/مل من الماء المقطر المعقم إذ أخذت حبة Nizoral والتي تحتوي (200) ملغم من المضاد الفطري Ketoconazole حيث أذيبت بـ (10) مل من الماء المقطر المعقم.

تحضير اللقاح الفطري

استعملت ثلاث أنواع من الفطريات الخيطية وهي *Aspergillus niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* ونوعان من الخمائر وهما *Candida albicans* و *C. tropicalis* لأجراء اختبار الحساسية تجاه المستخلصات النباتية والمضاد الفطري Ketoconazole.

حضر العالق الفطري بأخذ النمو الفطري من سطح المستعمرة الفطرية بعمر(5) أيام بواسطة الناقل (Loop) ووضع في أنابيب اختبار حاوية على (5) مل من المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم، مزجت جيداً بجهاز (Vortex). حضر منه محلول قياسي يحتوي على (10^5) بوغ/مل وذلك بالاستعانة بشريحة عد كريات الدم الحمراء (Hemocytometer) لحساب الكونيدات الفطرية.

تحضير المحلول الخزين

تم تحضير محلول خزين (Stock Solution) لكل نوع من أنواع المستخلصات للنباتات المستخدمة في البحث وذلك بإذابة (5) غم من المستخلص الجاف في (100) مل من الماء المقطر المعقم ليكون التركيز (50) ملغم/مل بعدها عقمت المحاليل المحضرة باستخدام مرشحات دقيقة (Millipore filters) بقطر (0.22) مايكرون.

اختبار حساسية العزلات الفطرية تجاه المستخلصات النباتية باستعمال طريقة الانتشار بالحفر Agar Diffusion Method

زرع (0.2) مل من العالق الفطري على سطح وسط Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) ونشر بوساطة الناشر الزجاجي المعقم بالكحول ولهب النار، تركت الأطباق لمدة ساعة واحدة ليجف العالق.

عملت حفر بقطر(6) ملم في الوسط الصلب المزروع بوساطة الثاقب الفليني، ثم غلقت الحفر بإضافة (0.05) ملم من وسط (SDA) الصلب المعقم والذائب "قبل تصلبه" لغرض منع تسرب المستخلص النباتي أو المضاد الفطري أسفل الحفر، ثم تركت الأطباق لحين التأكد من غلق الحفر.

حضرت التراكيز التالية من المستخلصات النباتية (10, 15, 20, 25) ملغم/مل بالتخفيف بالماء المقطر المعقم وبواقع ثلاث مكررات لكل تخفيف بعدها أضيف مقدار (0.1) مل من تراكيز المستخلصات النباتية أعلاه فضلاً عن معاملة المضاد الفطري Ketoconazole بتركيز (20) ملغم/مل ومعاملة السيطرة المتمثلة بالماء المقطر المعقم في كل حفرة وبالتسلسل وعلمت الأطباق، ثم حضنت الأطباق الحاوية على الأعفان بدرجة حرارة (25) مْ والخمائر بدرجة حرارة (37) مْ ولمدة (24-48) ساعة بعدها حددت فعالية كل تركيز من المستخلصات النباتية وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط للنمو (Inhibition Zone) حول كل حفرة باستعمال المسطرة (18).

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى(MLC) للمستخلصات النباتية

حدد اقل تركيز تثبيطي MIC واقل تركيز قاتلMLC للمســـتخلصـــات النباتية المائية والكحولية تجاه الأنواع الفطرية المدروسة على وفق ما ورد في (9) وكالآتي:

حضرت تخافيف متدرجة من المستخلصات النباتية قيد الدراسة بالاستعانه بأنابيب اختبار حاوية على وسط (SDB) Sabouraud's Dextrose Broth تراوحت قيمها من (25, 20, 17.5, 15, 12.5, 10, 7.5, 5, 2.5, 1.25, 0.5, 0.25) ملغم/مل، كما وحضـــرت تخافيف متدرجة من المضـــاد الفطري Ketoconazole لتحديد قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) بوساطة أنابيب اختبار حاوية على وسط (SDB) تراوحت قيمها من (20, 17.5, 15, 12.5, 10, 7.5, 5, 2.5, 1.25, 0.5, 0.25) ملغم/مل، بعدها لقحت الأنابيب بمقدار (0.1) مل من اللقاح الفطري الحاوي على (10^5) بوغ/مل ثم حضـنت الأنابيب الحاوية على الأعفان بدرجة حرارة (25) مْ والخمائر بدرجة حرارة (37) مْ ولمدة (24-48) ساعة. بعدها تم تحضير وسط زرعي ملقح بالعالق الفطري ممثلاً عن وسط السيطرة (1) ووسط زرعي مع المستخلص النباتي أو مع المضاد الفطري ممثلاً عن السيطرة (2)، وتعاد التجربة في حالة عدم ظهور عكورة في وسط السيطرة (1) أو عند ظهور عكورة في وسط السيطرة (2)، ثم حددت قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) بأنها اقل تركيز من المستخلص النباتي أو المضـاد الفطري الذي يمنع ظهور عكورة في الوسـط الزرعي واضـحة للعين المجردة، فيما حددت قيم التركيز القاتل الأدنى (MLC) بنقل (0.1) مل من جميع الأنابيب المختبرة التي لم تظهر فيها عكورة إلى أطباق حاوية على أكار السـابرويد المغذي وحضـنت الأطباق الحاوية على الأعفان بدرجة حرارة (25) مْ والخمائر بدرجة حرارة (37) مْ ولمدة (24-48) سـاعة وحددت قيمته بأنه اقل تركيز من المسـتخلص النباتي يقلل عدد المسـتعمرات بمقدار (99.9) % من المزروع الأصلي.

الجدول (1): الأنواع الفطرية المعزولة من المرضى المصابين بمرض التهاب الأذن ونسب ترددها

الأنواع الفطرية المعزولة	عدد العزلات				مجموع العزلات للنوع أو الجنس الواحد	النسب المئوية لتردد الفطريات
	التهابات الأذن الوسطى		التهابات الأذن الخارجية			
	ذكور	إناث	ذكور	إناث		
Aspergillus niger	6	4	11	3	24	%34.28
A. fumigatus	4	1	3	1	9	%12.85
A. flavus	2	1	3	1	7	%10.00
A. terreus	1	0	1	1	3	%4.28
Candida albicans	5	4	4	1	14	%20.00
C. tropicalis	2	2	1	1	6	%8.57
C. parapsilosis	2	0	0	0	2	%2.85
Penicillium. notatum	1	1	2	1	5	%7.14
المجموع الكلي	36		34		70	% 100

الجدول (2): تأثير مستخلص أوراق نبات النعناع الفلفلي الكحولي في نمو الأعفان والخمائر

الأنواع الفطرية / التركيز (ملغم/مل)	معدلات أقطار التثبيط (ملم) ±الخطأ القياسي				
	A. niger	*A. fumigatus*	*A. flavus*	*C. albicans*	*C. tropicalis*
10	0.72±20.8 d	0.75±18.9 d	0.5±20.68 d	0.4±22.65 d	0.68±19.8 d
15	0.56±24.4 c	0.70±21.0 c	0.6±22.74 c	0.3±24.88 c	0.58±21.9 c
20	0.65±28.2 b	0.56±23.4 b	0.7±24.92 b	0.6±28.55 b	0.52±24.6 b
25	0.58±31.4 a	0.64±27.8 a	0.5±29.62 a	0.7±31.62 a	0.60±29.8 a
Ketoconazole (20ملغم/مل)	0.42±18.2 e	0.34±16.8 e	0.3±18.62 e	0.5±16.50 e	0.5±17.004 e
Control	0	0	0	0	0

- **تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الخطأ القياسي.**
- **المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنوياً فيما بينها للمقارنات العمودية حســـب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.**

الجدول (3): تأثير مستخلص أوراق نبات الريحان الكحولي في نمو الأعفان والخمائر

الأنواع الفطرية / التركيز (ملغم/مل)	معدلات أقطار التثبيط (ملم) ±الخطأ القياسي				
	A. niger	*A. fumigatus*	*A. flavus*	*C. albicans*	*C. tropicalis*
10	0.26±16.7 d	0.30±15.2 d	0.37±15.9 d	0.32±14.2 d	0.32±14.5 d
15	0.42±19.1 c	0.29±17.9 c	0.24±17.6 c	0.56±17.2 c	0.43±17.6 c
20	0.31±22.9 b	0.23±20.7 b	0.28±20.2 b	0.46±20.1 b	0.37±20.6 b
25	0.27±25.8 a	0.48±23.2 a	0.36±22.4 a	0.32±23.4 a	0.40±22.7 a
Ketoconazole (20ملغم/مل)	0.42±18.2 c	0.34±16.8 c	0.32±18.6 c	0.50±16.5 c	0.54±17.00 c
Control	0	0	0	0	0

- تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الخطأ القياسي.
- المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنوياً فيما بينها للمقارنات العمودية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

الجدول (4): تأثير مستخلص أوراق نبات النعناع الفلفلي المائي في نمو الأعفان والخمائر

الأنواع الفطرية / التركيز (ملغم/مل)	معدلات أقطار التثبيط (ملم) ±الخطأ القياسي				
	A. niger	*A. fumigatus*	*A. flavus*	*C. albicans*	*C. tropicalis*
10	0.23±11.4 d	0.34±13.6 d	0.2±14.58 d	0.3±14.05 d	0.54±14.2 d
15	0.42±14.7 c	0.43±15.4 c	0.2±17.46 c	0.2±16.33 c	0.29±15.9 c
20	0.34±17.7 b	0.38±17.6 b	0.3±19.28 b	0.3±19.46 b	0.20±20.2 b
25	0.52±19.8 a	0.41±19.9 a	0.2±21.39 a	0.2±20.77 a	0.33±21.9 a
Ketoconazole (20ملغم/مل)	0.42±18.2 b	0.34±16.8 b	0.3±18.62 b	0.5±16.50 b	0.5±17.004 b
Control	0	0	0	0	0

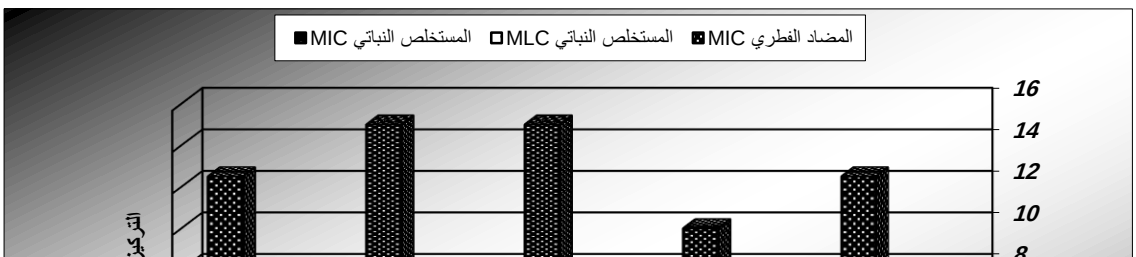
- **تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الخطأ القياسي.**
- **المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنوياً فيما بينها للمقارنات العمودية حســـب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.**

الجدول (5): تأثير مستخلص أوراق نبات الريحان المائي في نمو الأعفان والخمائر

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

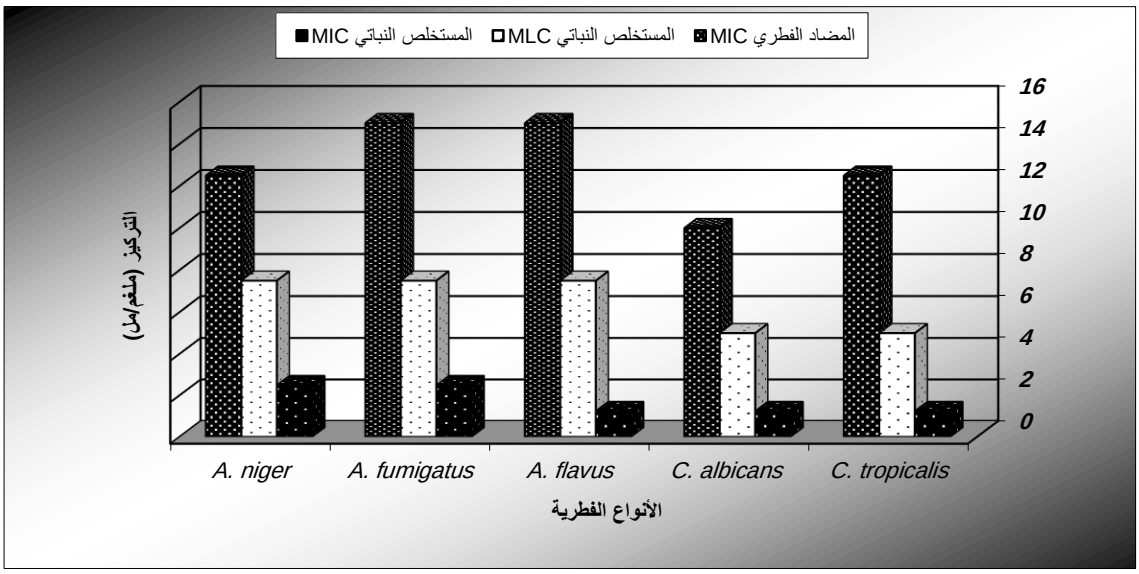
الأنواع الفطرية / التركيز (ملغم/مل)	معدلات أقطار التثبيط (ملم) ±الخطأ القياسي				
	A. niger	*A. fumigatus*	*A. flavus*	*C. albicans*	*C. tropicalis*
10	0.34±11.2 d	0.43±11.8 d	0.43±13.1 d	0.35±13.4 d	0.52±13.8 d
15	0.23±14.4 c	0.53±13.6 c	0.32±14.6 c	0.42±15.00 c	0.34±15.2 c
20	0.54±17.2 b	0.26±17.4 b	0.23±17.6 b	0.20±17.5 b	0.46±17.7 b
25	0.43±19.5 a	0.42±19.7 a	0.37±20.8 a	0.41±19.9 a	0.23±20.5 a
Ketoconazole (20ملغم/مل)	0.42±18.2 b	0.34±16.8 b	0.32±18.6 b	0.50±16.5 b	0.54±17.00 b
Control	0	0	0	0	0

- تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الخطأ القياسي.
- المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنوياً فيما بينها للمقارنات العمودية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 %.

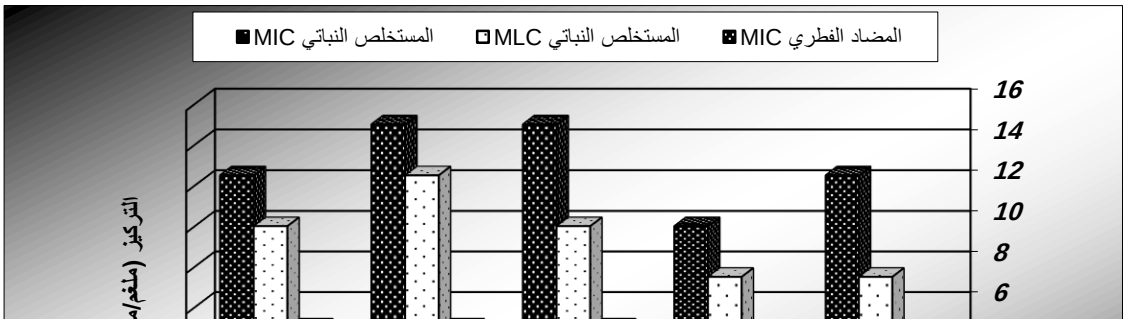


مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

لشكل (1): قيم MIC و MLC لمستخلص نبات النعناع الفلفلي الكحولي ضد الأعفان والخمائر



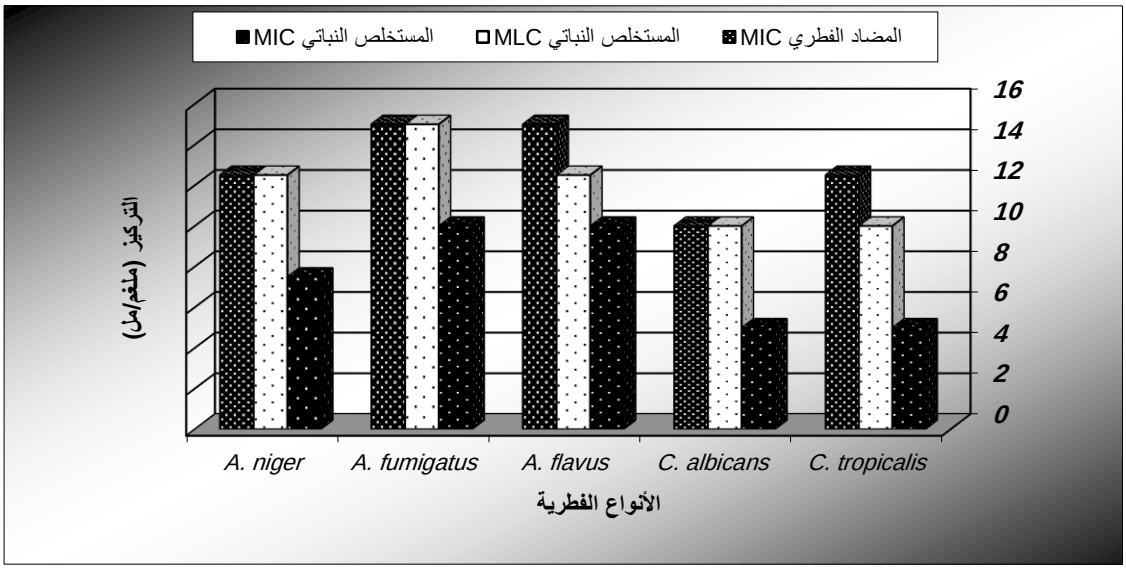
الشكل (2): قيم MIC و MLC لمستخلص نبات الريحان الكحولي ضد الأعفان والخمائر



مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

الشكل

(3): قيم MIC و MLC لمستخلص نبات النعناع الفلفلي المائي ضد الأعفان والخمائر



الشكل (4): قيم MIC و MLC لمستخلص نبات الريحان المائي ضد الأعفان والخمائر

النتائج والمناقشة:-

العزل والتشخيص Isolation & Identification

في هذه الدراســة تم الحصــول على (36) عزلة فطرية من مجموع (53) عينة مأخوذة من مرضــى يعانون من التهاب الأذن الوســطى وراجعوا العيادات الخاصــة في مدينة الديوانية، كما تم عزل (34) عزلة فطرية من مجموع (45) عينة مأخوذة من مرضى يعانون من التهاب الأذن الخارجية وراجعوا العيادات الخاصة في مدينة الديوانية (الجدول 1).

تم تشخيص أربعة أنواع تابعة للجنس *Aspergillus* وهي *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* و *A. terreus* تمثلت بـ (43) عزلة وبنسبة تردد (61.42) %، وقد ظهر أن الفطر *A. niger* من أكثر الفطريات أنتشاراً، إذ بلغت نسـبة تردده (34.28) % من المجموع الكلي للعزلات البالغة (70) عزلة، كما تم تشخيص ثلاثة أنواع تابعة للجنس *Candida* وهي *C. albicans* و *C. tropicalis* و *C. parapsilosis* تمثلت بـ (22) عزلة وبنسبة تردد (31.42) % من المجموع الكلي للعزلات (الجدول 1)، وكانت *C. albicans* أكثر أنواع هذا الجنس ترددأً، إذ بلغت نسـبة ترددها (20.00) % من المجموع الكلي للعزلات، أما الفطر *Penicillium notatum*. فقد تم عزل (5) عزلات منه وبنسبة تردد (7.14) %. إن هذه النتائج تتفق مع (43) الذي عزل الأنواع الفطرية الآتية من حالات التهاب الأذن وهي *A. niger* و *A. flavus* و *A. fumigatus* و *Penicillium* spp. و *C. albicans* و *C. parapsilosis*. كما وتتفق مع

(4)الذي عزل الفطريات من التهاب الأذن الوسطى القيحي والمتمثلة بـ *A. niger* بنسبة (85.7) % و *Candida* spp. بنسبة (41.3) % و *A. flavus* بنسبة (14.3) % و *A. terreus* بنسبة (12.5) % و *Penicillium* spp. بنسبة (8.2) %. وتتوافق النتائج مع (21) الذي وجد إن الفطريات من الأحياء المجهرية المسببة لمرض التهاب الأذن الوسطى وان الفطر *A. niger* كانت نسبته (17.1) % ونسبة *C. albicans* كانت (8.1) %. كما لاحظ (1) إن نسبة الإصابة بالتهاب الأذن الوسطى وخاصة الفطرية منها كانت (4.7) % نتجت عن *C. albicans* بنسبة (3.3) % و *A. niger* بنسبة (1.4) %. وما وجده (5) من إن الفطريات شكلت (15.6) % من الأحياء المجهرية المسببة لمرض التهاب الأذن الوسطى وان الفطر *A. niger* كانت نسبته (14.7) % ونسبة *C. albicans* كانت (0.9) %. ووجد (34) إن الفطريات تفرز مواد تؤثر على الخلايا المبطنة لقناة السمع الخارجية فعفن *A. fumigatus* يفرز سموم خارجية محللة قادرة على إضعاف مقاومة جسم المضيف. كما وجد (37) إن الفطر *A. niger* هو السائد في إصابة الأذن الخارجية، وقد عزى سبب انتشار هذا الفطر إلى الارتفاع الحاصل بدرجة الحرارة والرطوبة داخل قناة الأذن والتي تعد من أهم العوامل التي تشجع نمو الفطريات. في حين وجد (10) إن خميرة *C. albicans* تأتي بعد الفطر *A. niger* في أصابه الأذن الخارجية وبنسبة (15.13) %، ويعزى السبب في انتشار خميرة *Candida* spp. لتواجدها بشكل طبيعي في جسم الإنسان وبالتالي فهي متكيفة لدرجة حرارة الجسم، كما وتمتاز بقابليتها على التحول إلى ممرضة عند حدوث ضعف مناعي في الجسم مثل داء السكري أو بسبب التعاطي الواسع للمضادات الحياتية (39). كما تعد الـ *C. albicans* واحدة من أكثر أنواع *Candida* خطورة وذلك لامتلاكها العديد من عوامل الخطر المتمثلة بأنبوب الإنبات، القابلية على الالتصاق، والقابلية على التحول من شكل الخميرة المفردة إلى الشكل الخيطي وامتلاكها الإنزيمات المحللة (35).

تأثير المستخلصات المائية والكحولية للنباتات المختبرة في نمو الأعفان والخمائر المدروسة

بين التحليل الإحصائي لنتائج التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية في نمو الأعفان والخمائر المدروسة، إن هنالك فروقاً معنوية بين الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي الريحان والنعناع الفلفلي والمضاد الفطري Ketoconazole عند مستوى احتمال (5) %، فقد اظهر المستخلص الكحولي لأوراق نبات النعناع الفلفلي أعلى تأثير تثبيطي في نمو الأعفان والخمائر المدروسة وهي *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* و *C. albicans* و *C. tropicalis*، إذ اظهر المستخلص تأثيراً تثبيطياً معنوياً أعلى من المضاد الفطري Ketoconazole في التراكيز (10- 25) ملغم/مل عند مستوى احتمال (5) %، (الجدول 2).

أما المستخلص الكحولي لأوراق نبات الريحان فقد احتل المرتبة الثانية في تأثيره على الأعفان والخمائر المدروسة، ومن خلال (الجدول 3) نلاحظ تفوق المضاد الفطري Ketoconazole في التأثير على جميع الأعفان والخمائر المدروسة بالمقارنة مع المستخلص الكحولي لنبات الريحان عند التركيز (10) ملغم/مل، في حين لم توجد فروق معنوية بين التركيز (15) ملغم/مل والمضاد الفطري ولجميع العزلات عند مستوى احتمال (5) %، واظهر هذا المستخلص تأثيراً معنوياً عالياً عند التركيز (20) ملغم/مل بالمقارنة مع المضاد الفطري، إذ بلغ معدل أقطار التثبيط عند التركيز (20) ملغم/مل ولجميع العزلات مابين (20.1-22.9) ملم، بينما كان معدل أقطار التثبيط للمضاد الفطري ولجميع العزلات مابين (18.6-16.5) ملم، وأزداد هذا التأثير المعنوي للمستخلص بازدياد التركيز ليبلغ عند التركيز(25) ملغم/مل ولجميع العزلات مابين (22.4-25.8) ملم.

كما جاء المستخلص المائي لأوراق نبات النعناع الفلفلي بالمرتبة الثالثة في تأثيره على الأعفان والخمائر المدروسة، إذ تفوق المضاد الفطري Ketoconazole في التأثير على جميع الأعفان والخمائر المدروسة بالمقارنة مع المستخلص المائي لنبات النعناع الفلفلي عند التركيز (10) ملغم/مل، أما بالنسبة للعزلات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* فقد اظهر المضاد الفطري تفوقاً معنوياً على المستخلص بتركيز (15) ملغم/مل، إذ بلغ معدل أقطار التثبيط للمستخلص مابين (14.7-17.4) ملم للعزلات الثلاث المذكورة، فيما بلغ معدل أقطار التثبيط للمضاد الفطري مابين (16.8-18.6)ملم، ولم توجد فروق معنوية مابين المضاد الفطري والتركيز 15 ملغم/مل بالنسبة للعزلتين *C. albicans* و *C. tropicalis* عند مستوى احتمال (5) %، كما لم توجد فروق معنوية مابين المضاد الفطري والتركيز (20) ملغم/مل بالنسبة للعزلات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* بينما أظهر التركيز (20) ملغم/مل تأثيراً تثبيطياً معنوياً متفوقاً على المضاد الفطري بالنسبة للعزلتين *C. albicans* و *C. tropicalis* عند مستوى احتمال (5) %، في حين أظهر التركيز (25) ملغم/مل تفوقاً معنوياً واضحاً على المضاد الفطري ولجميع العزلات المدروسة، إذ بلغ معدل أقطار التثبيط للمستخلص مابين (19.8-21.9) ملم، بينما كان معدل أقطار التثبيط للمضاد الفطري ولجميع العزلات مابين (16.5-18.6) ملم (الجدول 4). فيما احتل المستخلص المائي لأوراق نبات الريحان المرتبة الأخيرة في تأثيره على العزلات المدروسة، إذ تفوق المضاد الفطري Ketoconazole في التأثير على جميع الأعفان والخمائر المدروسة بالمقارنة مع المستخلص المائي

لنبات الريحان عند التركيزين (10 ,15) ملغم/مل، في حين لم توجد فروق معنوية بين التركيز (20) ملغم/مل والمضاد الفطري ولجميع العزلات عند مستوى احتمال (5) %، إذ بلغ معدل أقطار التثبيط للمستخلص عند التركيز المذكور مابين (17.2-17.7) ملم، بينما كان معدل أقطار التثبيط للمضاد الفطري ولجميع العزلات مابين (16.5-18.6) ملم، وأظهر التركيز (25) ملغم/مل تفوقاً معنوياً واضحاً على المضاد الفطري ولجميع العزلات المدروسة، إذ بلغ معدل أقطار التثبيط للمستخلص مابين (19.5-20.8) ملم (الجدول 5). تعزى الفعالية المضادة للفطريات للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي النعناع الفلفلي والريحان إلى احتوائهما على عدد من المواد الفعالة المضادة لنمو الفطريات، إذ يحتوي نبات النعناع الفلفلي على مواد راتنجية (Resins) ومواد تانينية (Tannins) وكذلك على زيت طيار بنسبة (1) % يعرف بزيت النعناع (Peppermint oil) والذي يتكون من حوالي (50-78) % من مادة المنثول (Menthol) بالإضافة إلى مواد تربينية أخرى مثل بينين (Pinene) وفيلاندرين (Phellendrene) وليمونين (Limonene) ومنثون (Menthone) (2). و هذا ما أكده (6) والذي ذكر احتواء نبات النعناع الفلفلي على العديد من المواد الفعالة مثل التانينات والتربينات بالإضافة إلى المواد الفينولية. أما نبات الريحان فتشير المصادر إلى احتوائه على زيت طيار والذي يحتوي على مادة لينالول (Linalol) بنسبة (65) % وكذلك على مادتي سنيول (Cineole) واليوجينول (Eugenol) بالإضافة إلى بعض الفينولات والتانينات والتربينات (23). إن وجود الزيوت الطيارة في المستخلصات النباتية يعمل على عرقلة عمل غشاء الخلية الفطرية من خلال احتوائها على المركبات المحبة للدهون (12). إن آلية عمل الفينولات الموجودة في المستخلص النباتي تعمل على تثبيط الإنزيمات بوصفها مركبات مؤكسدة، وقد تتفاعل مع مجموعة السلفاهايدرال (SH) أو من خلال الكثير من التفاعلات غير المتخصصة مع البروتينات (7). إذ تؤدي دوراً في تغيير طبيعة البروتينات والإضرار بالأغشية من خلال ارتباطها بالمواقع الفعالة للأنزيمات الخلوية بواسطة مجاميع الهيدروكسيل وبالتالي قد تثبط واحداً أو أكثر من التفاعلات الأيضية الضرورية التي تسيطر عليها تلك الأنزيمات وهو ما يؤثر في الخلية الفطرية (38). ومن خلال هذه الدراسة يتبين لنا الفعالية العالية لمستخلصات نباتي النعناع الفلفلي والريحان في التأثير على الأعفان والخمائر المدروسة وهذه النتيجة تتفق مع (22) الذي أكد الفعالية التثبيطية العالية لزيت نبات النعناع الفلفلي على عزلة *Candida albicans*. وتتفق مع (41) الذي درس تأثير المستخلص المائي لنبات النعناع الفلفلي على نمو مجموعة من البكتريا السالبة لصبغة كرام ووجد إن لهذا المستخلص تأثير تثبيطي في نمو البكتريا. كما تتفق مع (42) الذي درس تأثير (12) زيتاً نباتياً ضد نمو بعض الفطريات ووجد إن الزيت النياتي المستخلص من نبات الريحان من أكثر الزيوت فعالية في تثبيط نمو الفطريات *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* و *A. ochraceus* و *Fusarium moniliforme*. وتتفق أيضاً مع (16) الذي درس تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الجلدية التابعة للجنسين *Trichophyton* spp. و *Microsporum* spp. ووجد إن المستخلصات المائية والكحولية لنبات الريحان كانت من أعلى المستخلصات تأثيراً في نمو هذه الفطريات. إن ارتفاع تأثير المستخلصات الكحولية لنباتي النعناع الفلفلي والريحان عن ما أعطته من نتائج في المستخلصات المائية قد يرجع إلى أن المستخلص الكحولي يكون أكثر احتواءً على المواد الفعالة من المستخلص المائي والسبب في ذلك هو القابلية العالية للمستخلص الكحولي على إذابة أكثر من مادة فعالة واحده، وأيضاً احتواء المستخلص الكحولي على نسبة من الماء وهو ما يؤدي إلى إذابة المواد الفعالة التي لها القابلية على الذوبان في الماء وفي الكحول (3).

قياس التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MLC) للمستخلصات النباتية

أوضحت نتائج MIC لمستخلص النعناع الفلفلي الكحولي تجاه الأعفان والخمائر المدروسة تسجيل اقل تركيز مثبط وكان للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* إذ بلغ (0.25) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت قيم اقل تركيز مثبط له للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (12.5, 10) ملغم/مل على التوالي، كما بلغ اقل تركيز مثبط للمستخلص تجاه الفطرين *A. niger* و *A. flavus* (0.5) ملغم/مل، أما اقل تركيز مثبط للفطر *A. fumigatus* فقد بلغ (1.25) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت فيه قيمة MIC للفطر *A. niger* (12.5) ملغم/مل، وتساوت قيمته للفطرين *A. fumigatus* و *A. flavus* إذ بلغت (15) ملغم/مل، بينما تساوى التركيز القاتل الأدنى MLC لمستخلص النعناع الفلفلي الكحولي تجاه الخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* إذ بلغ (2.5) ملغم/مل، في حين بلغ التركيز القاتل الأدنى للفطريات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* (5) ملغم/مل (الشكل 1). كما بينت النتائج إن اقل قيم الـ MIC كانت لمستخلص الريحان الكحولي والتي بلغت (1.25) ملغم/مل لكل من خميرة *C. albicans* وخميرة *C. tropicalis* والفطر *A. flavus*، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت قيم اقل تركيز مثبط له للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (12.5, 10) ملغم/مل على التوالي، فيما بلغت (15) ملغم/مل للفطر *A. flavus* ، بينما جاء في المرتبة الثانية الفطرين *A. niger* و *A. fumigatus* في مقدار قيمة التركيز المثبط الأدنى وكانت (2.5) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت فيه قيم MIC للفطرين *A. niger* و *A. fumigatus* (12.5, 15) ملغم/مل على التوالي، أما التركيز

القاتل الأدنى فقد بلغت قيمته (5) ملغم/مل للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* في حين بلغت (7.5) ملغم/مل للفطريات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* (الشكل 2). أما بالنسبة لمستخلص النعناع الفلفلي المائي فقد سجل اقل تركيز مثبط للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* إذ بلغ (2.5) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت قيم اقل تركيز مثبط له للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (10 ,12.5) ملغم/مل على التوالي، في حين تساوت الفطريات *A. niger* و *A. fumigatus* و *A. flavus* في قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص النباتي إذ بلغت (5) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت فيه قيمة MIC للفطر *A. niger* (12.5) ملغم/مل، وتساوت قيمته للفطرين *A. fumigatus* و *A. flavus* إذ بلغت (15) ملغم/مل، أما التركيز القاتل الأدنى MLC للمستخلص النباتي فقد بلغ (7.5) ملغم/مل بالنسبة للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis*، و (10) ملغم/مل للفطرين *A. niger* و *A. flavus* و (12.5) ملغم/مل للفطر *A. fumigatus* (الشكل 3). في حين بلغت اقل قيم للتركيز المثبط الأدنى لمستخلص الريحان المائي تجاه الخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (5) ملغم/مل، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت قيم اقل تركيز مثبط له للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (10 ,12.5) ملغم/مل على التوالي، فيما بلغت قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص (10) ملغم/مل للفطرين *A. fumigatus* و *A. flavus* فيما سجل الفطر *A. niger* القيمة (7.5) ملغم/مل كأقل تركيز مثبط، بالمقارنة مع المضاد الفطري Ketoconazole الذي بلغت فيه قيمة MIC للفطر *A. niger* (12.5) ملغم/مل، وتساوت قيمته للفطرين *A. fumigatus* و *A. flavus* إذ بلغت (15) ملغم/مل، وقد بلغت قيم التركيز القاتل الأدنى للخميرتين *C. albicans* و *C. tropicalis* (10) ملغم/مل، إما بالنسبة للفطرين *A. niger* و *A. flavus* فقد بلغت قيم التركيز القاتل الأدنى MLC لهما (12.5) ملغم/مل، فيما بلغت (15) ملغم/مل للفطر *A. fumigatus* (الشكل 4). إن انخفاض القيم الخاصة بـ (MIC وMLC) للمستخلصات النباتية يشير إلى مدى الفعالية العالية للمستخلص النباتي ضد الأعفان والخمائر، وهذا ما أكده (15) إذ أشار أن انخفاض القيم (MIC وMLC) يؤكد الفعالية العالية للمستخلصات تجاه الجراثيم. وقد يعود التفاوت في مدى تأثر الفطريات بالمستخلصات النباتية المستخدمة إلى طبيعة الفطر من حيث التركيب وسمك أغشيته الخلوية ومحتواه من الدهون والبروتينات وعلاقة ذلك بآلية عمل المركبات الفعالة لتلك المستخلصات، إذ إن تأثير المستخلصات على الفطريات قد يكون نتيجة لأحداث تشوهات في أغشيتها وتراكيبها الداخلية (19).

المصادر:-

1. المعاضيدي، جاسم فتحي علي.(1999). دراسات عن الأحياء المجهرية المسببة لالتهاب الأذن الوسطى القيحي عند الأطفال في مدينة الموصل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.
2. حسين، فوزي طه قطب.(1979). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. الدار العربية للكتاب تونس.
3. حسين، فوزي طه قطب.(1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض، العربية السعودية.
4. Al-Ani, A.A.(2000). Isolation of pathogenic fungi from ear in Al-Yarmouk teaching hospital. M. Sc. Thesis of Science in Microbiology, College of Medicine, Al-Mustansiriya, Iraq.
5. Al-Faris, E.A.; Abdughani, H.; Mukhdomi, G.H.; Kamal, A. & Al-Muhaimeed, H.S.(1998). Microbiology and antimicrobials sensitivity of suppurative otitis media. J.Saudi.Med; 4:417-422.
6. Anonymous, A.(1990). Peppermint In: "Lawerence Review of Natural Products". St. Louis: Facts and Comparisons, p:217.
7. Aziz, N.H.; Farag, S.E.; Mousa, L.A. & Abo-Zaid, M.A.(1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. Microbios; 93:43–54.
8. Bailey, C. & Scotts, J.(1986). Diagnostic Microbiology. printed in U.S.A. 7th ed.
9. Baron, E.J.; Peterson, L.R.; Finegold, S.M.(1994). Diagnostic Microbiology. Mosby, pp:168-175.
10. Bassiony, A.; Kamel, T.; Moawad, M.K. & Hindawy, D.S.(1986). Broad spectrum antifungal agent in otomycosis. The Journal of Laryngol. and Otol; 8:867-873.
11. Bernstein, J.M.(2000). Waldeyers ring and otitis media: The nasopharyngeal tonsil and otitis media. Int.Pediatr.Otorhinolaryngol; 1:127-132.

12. Cowan, M.M.(1999). Plant products as Antimicrobial agents .Clin. Microbiol. Reviews; 12:564-582.
13. Ellis, M.B.(1971). Dermatiaceous Hyphomycetes common. Mycol. inst., kew. Surrey, England, pp:608-610.
14. Evans, E.G.V. & Richardson, M.D.(1989). Medical Mycology. A practical approach. IRL press. Oxoford Univ. press.
15. Fabry, W.; Okemo, P.O. & Ansorg, R.(1998). Antibacterial activity of East African Medicinal plants. J.Ethnopharmacol; 60:79-87.
16. Fardos, M.B.(2009). Antifungal activity of some medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia. Mycopath; 7:51-57.
17. Ho, T.; Vrabec, J.T.; Yoo, D. & Coker, N.J.(2006). Otomycosis: clinical features and treatment implications. Otolaryngol Head Neck Surg.Nov; 5:787-791.
18. Holder, I.A. & Boyce, S.T.(1994). Agar well diffusion assay testing of bacterial susceptibility to various antimicrobials in concentrations non-toxic for human cells in culture. Burns; 20:426-435.
19. Honda, G. & Tabata, M.(1982). Antidermatophytic substance from *Sophora angustifolia*. Planta medica; 46:122-123.
20. Hoog, G.S. & Guarro, J.(1995). Atlas of Clinical fungi Universitat Ropiran. Press. Londan & Spain.
21. Ibekwe, A.O.; Al-Shareef, Z. & Benyam, A.(1997). Anaerobes and fungi in chronic otitis media. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol; 106: 649-652.
22. Janssen, A.M.; Chin, N.L.; Scheffer, J.J. & Svendsen, B.A.(1986). Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. Pharm. Weekbl; 8:289-292.
23. Ji, W.Z.; Sheng, K.L. & Wen, J.W.(2009). The Main Chemical Composition and *in vitro* Antifungal Activity of the Essential Oils of *Ocimum basilicum* Linn. Benth, Molecules; 14:273-278.
24. Kenna, M.A.; Bluestone, C.D. & Reilly, J.S.(1986). Medical management of CSOM without cholecteatoma in children. Laryngoscope; 2:146-149.
25. Kerll, R.(1996). Value-Added Products from Beekeeping. Agricultural Service bulletin.No.124.
26. Kikuchi, A.; Funakubo, T. & Kohsyu, H.(1994). A study of fungal infection in otorhinolaryngology. Acta.Otolaryngol.Stockh; 511:224-227.
27. Liu, Y.S.; Lim, D.J.; Lang, R. & Birck, H.G.(1975). Chronic middle ear effusions. Immunochemical and bacteriological investigations. Arch. Otolarngol; 101:278-286.
28. Looder, J.(1974). The Yeast's a Taxonomic Study. Amsterdam, North Holland Publishing Co. & Oxford.
29. Lous, j.(1995). Secretory otitis media in school children is screening roar secretary otitis media advisable. European.J.of Gene.parc; 1:97-99.
30. Maran, A.D.(1988). Anatomy and physiology: In-Logan Turners diseases of the Nose, Throat and Ear.Wright-London; 10th ed.
31. Martin, M.V.(1999). The use of fluconazole and Itraconazole in the treatment of *Candida albicans* infections: a review. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 44:429-37.

32. Martin, T.J.; Kerschner, J.E. & Flanary, V.A.(2005). Fungal causes of otitis externa and tympanostomy tube otorrhea. Int.J.Pediatr Otorhinolaryngol; 69:1503-1511.

33. McGinnis, M.R.(1980). Laboratory Hand Book of Medical Mycology. New York. Academic press, p:661.

34. Mclaurin, J.W.; Raggio, T.P. & Simmons, M.(1965). Persistent external otitis. Laryngoscope;75:1699-1707.

35. Med Calderone, R.A. & Fonzi, W.A.(2001). Virulence factors of *Candida albicans*. Trends Microbiol; 9:327-335.

36. Mondello, F.; Deberandis, F. & Girolamo, A.(2003). *In vitro* and *In vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible–resistant human pathogenic yeasts. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 51:1223-1232.

37. Paulose, K.O.; Al-khalifa, S.; Shenoy, P. & Sharma, R.K.(1989). Mycotic infection of ear (otomycosis). Aprospective study .The J.of Lar. and Otol; 103:30-35.

38. Pelezar, M.J.; Chan, E.C. & Krieg, N.R.(1986). Microbiology. McGraw-Hill Book CO, New York. 5th ed.

39. Petri, M.G.; Koning, J. & Moecke, H.P.(1997). Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients. Intens. Care Med; 23:317-325.

40. Raper, K.B. & Funnell, D.I.(1977). The genus *Aspergillus*. Robert E. Krieger Publ. Co. Huntington, New York, pp:686-688.

41. Sabahat, S.; Asama, N. & Perween, T.(2006). *In Vitro* Antibacterial activity of Peppermint. Pak.J.Bot; 38:869-872.

42. Soliman, K.M. & Badeaa, R.I.(2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology; 40:1669-1675.

43. Talwar, P.; Chakrabarti, A.; Kaur, P.; Pahwa, R.K.; Mittal, A. & Mehra, Y.N. (1988). Fungal infection of the ear with special reference to CSOM. Mycopathologia; 104:47-50.

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

The Inhibitory Effect of Peppermint and Basil Extracts on The Growth of Some Molds and Yeasts Isolated from Patients with Otitis Media in Al-Diwaniya city

Ali.A.Mahoud

Department of Biology-College of Science-University of AL-Qadisiya

Abstract :-

This study included testing the efficacy of the aqueous and alcoholic extracts for leaves of peppermint (*Mentha piperita* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) in the growth of some molds and yeasts isolated from the ear. (98) specimens were collected from patients who are suffering from infection of the ear and coming to private doctors in Al-Diwaniya city for the period from May to August (2010). (36) fungal isolates out of (53) specimens taken from patients suffering from otitis media with and (34) fungal isolates out of (45) specimens taken from patients suffering from infection of the external ear, these isolates belong to (8) fungal species with different frequency ratios and this species are: *Aspergillus niger, A. fumigatus, A. flavus, A. terreus, Candida albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis* and *Penicillium notatum*. The results revealed that the alcoholic extract of peppermint was the most effective ,*in vitro,* against all of the tested isolates for: *A. niger, A. fumigatus, A. flavus, C. albicans* and *C. tropicalis* respectively, Inhibition zones at the concentration of (25) mg/ml were (31.4, 27.8, 29.6, 31.6 and 29.8) mm followed by the alcoholic extract of basil (25.8, 23.2, 22.4, 23.4 and 22.7) mm respectively, while the aqueous extract of peppermint came at the third stage where the means of inhibition zones were (19.8, 19.9, 21.3, 20.7 and 21.9) mm respectively, and the aqueous extract of basil were (19.5, 19.7, 20.8, 19.9 and 20.5) mm, respectively, in measuring with treatment of antifungal Ketoconazole at the concentration (20) mg/ml which the means of inhibition zones were (18.2, 16.8, 18.6, 16.5 and 17.00) mm respectively. The values of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Lethal Concentration (MLC) of prepared extracts revealed that the alcoholic extract of peppermint had less (MIC) against *C. albicans*, and *C. tropicalis* reached about (0.25) mg/ml, in measuring with treatment of antifungal Ketoconazole which had less (MIC) reached about (10, 12.5) mg/ml against *C. albicans*, *C. tropicalis* respectively, while (MLC) for *A. niger, A. fumigatus* and *A. flavus* reached about (5) mg/ml. The (MIC) for alcoholic extracts of basil reached about (1.25) mg/ml for each of the *C. albicans, C. tropicalis* and *A. flavus*, whereas the (MLC) reached about (5) mg/ml for *C. albicans* and *C. tropicalis*. As concerning to the aqueous extract of peppermint, the (MIC) for *C. albicans* and *C. tropicalis* was (2.5) mg/ml. The (MIC) for aqueous extract of basil for *C. albicans* and *C. tropicalis* reached about (5) mg/ml, while the values of the (MLC) for each of the *A. niger, C. albicans* and *C. tropicalis* reached about (10) mg/ml.