Evaluation Efficiency Of *Thymus vulgaris* L.Plant Extract On Some Fungi Isolated from Mouth and Nose of Patient Children In Maternity and Children hospital In Babylon province

اختبار فعالية مستخلص نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L. تجاه بعض الفطريات المعزولة من فم وانف الاطفال الراقدين في مستشفى الولادة والاطفال في محافظة بابل

د. نداء شهاب حمد زمن سلمان حمزة
قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بابل

الخلاصة

تضمن البحث عزل وتشخيص الانواع الفطرية من فم وأنف الاطفال من عمر شهر واحد الى ثلاث سنوات حيث شملت (200) طفل من الاطفال الراقدين في مستشفى الولادة والاطفال في محافظة بابل ومن كلا الجنسين للفترة من شهر ايلول2010 لغاية شهر ايار2011 بالاضافة الى أختبار حساسية بعض الفطريات المعزولة تجاه مستخلص نبات الزعتر *Thymus vulgaris* L .

جرى عزل (24) نوعآ من الاعفان والخمائر وحسبت النسبة المئوية للانواع الفطرية المعزولة من تجويف الفم حيث كانت اعلى نسبة مئوية للفطر *Candida albicans* ،43.61% *Cryptococcus neoformans* ،41.12 % ، *C. tropicalis* 8.27 % ، *Aspergillus niger* 2.03 % ، White mycelium 1.45 % في حين تباينت الفطريات والخمائر الاخرى في نسب ترددها كما قدرت نسبة تردد الفطريات المعزولة من الانف Nose للاطفال حديثي الولادة وكانت اعلى نسبة تردد تعود للفطر *A. niger* وهي 25.77 % ، *Cladosporium cladosporoidies* ،14.77% *A. flavus* 11.33 % ، *C. albicans* 8.21 % في حين تباينت الفطريات الاخرى في نسب ترددها .

واجرى أختبار تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الزعتر على بعض الفطريات المعزولة ولوحظ أن لها فاعلية تثبيطية عالية تجاه تلك الفطريات

Summary

The research includes isolating & diagnosing species of fungi from the mouth & nose of babies from the first month to the three years of age include (200) babies from Stagnant babies in Maternity &Children hospital of both sex. period from September 2010 to May month 2011 . In addation the test of fungi sensitive in front of the *Thymus vulgaris* L. extract.

(24) species from mould & yeast were isolated , the percentage of fungi species were account, the large ratio for *C. albicans* ,(%43.61), *Cryptococcus neoformans* ,(%41.12) of *C. tropicalis* , (%8.27) for *A niger* , %2.03 of White mycelium ,(%1.45) . Regarding other fungi and yeast . percentage of fungi Isolated from nose of babies , were biggest ratio for *A. niger*,(%25.77) of *Cladosporium cladosporoidies* , (%14.77) for *A. flavus* ,%11.33 of *C albicans* ,(%8.21).

In addation application of aqueous & alcoholic extract from Thymus vulgaris (Thyme) plant on some fungi were tested . showed high inhibition activity toward different fungi.

المقدمة

يعد الفم الممر الاساسي الذي تدخل من خلاله معظم الجراثيم المسببة للامراض لذا فإن دراسة صحة الفم تساهم في التقليل من الاصابات الجرثومية المتعددة داخل الجسم (1) . و تظهر خطورة الاصابة بأمراض الفم ولاسيما تسوس الاسنان خلال السنة الاولى من عمر الطفل لأن الجراثيم تستوطن الفم خلال 12 شهرا الاولى من عمر الطفل وبعدها تبدا بالنمو والازدياد داخل الفم (2). يطلق مصطلح الفلورا الطبيعية Normal Flora على الأحياء المجهرية التي بإمكانها أستيطان جسم الانسان السليم دون أحداث اصابات مرضية وتمتاز بالتخصص في استعمارها للجسم حيث تستوطن اماكن محددة وتحت ظروف محددة وبنسب ثابتة تقريبا (4 ، 3) توجد في فم الانسان عدد من الفطريات ولاسيما خمائر *Candida albicans* التي تعد من الفلورا الانتهازية المسببة لالتهابات اللثة في الاشخاص المصابين بالعوز المناعي مثل الاشخاص المصابين بالايدز (6،5). يكتسب الطفل الجراثيم

ومنها الفطريات من محيطه وتعد الام المصدر الاول للجراثيم المستوطنة داخل فم الرضيع من خلال كونها الشخص الاول الذي يتعامل مع الطفل في مراحل حياته تنتقل الجراثيم من الام الى الطفل بطرق عديدة وبالدرجة الاولى من خلال الفم حيث تنتقل الجراثيم من فم الام الى فم طفلها وبعدة طرق منها التقبيل والكلام والملامسة المباشرة وغيرها من الطرق.(11 ،10 ،9 ، 8 ،7)

ويمكن ان تكون الام خزانا للعديد من الفطريات المنتقلة الى فم طفلها ولاسيما العديد من الخمائر منها *C.albicans* , *C.tropicalis, Cryptococcus, Rhodotorulla* ولاتظهر خطورة هذا الخزان عند الام الا بعد تقدم الطفل في العمروظهور الاسنان حيث تظهر أفة التسوس وامراض اللثة المختلفة والناتجة من استيطان الجراثيم المنتقلة من فم الام وقيامها بمختلف فعالياتها داخل فم الطفل(13، 12) كما تدخل الجراثيم الى فم الطفل بطرق اخرى فقد تدخل خلال الولادة وعادة تعد جراثيم القناة التناسلية مثل جراثيم المكورات المسبحية والمكورات العنقودية وجراثيم جنس*Neisseria* وخمائر*C. albicans* هي الجراثيم الاساسية المنتقلة الى فم الطفل الا انها تفقد بمرور الزمن(15 ،14) . وتختلف الانواع الجرثومية المنتقله بهذه الطريقه حسب مدة الحمل و طريقة الولاده و الاشخاص القائمون على العنايه بالطفل الوليد وغيرها من العوامل الاخرى(17 ،16) و تتغيرالفلورا الجرثومية في فم الطفل وفقا لعدة عوامل هي العمر والنظام الغذائي ووجود الاسنان وصحة الفم و العلاج بالمضادات والحالة الصحية العامة والعوامل الوراثية وثقافة الام والحالة الاقتصادية(6 ،18). يتألف الجهاز التنفسي من الأنف ،القصبة الهوائية والرئتين التي تعمل بدقة وانسجام .حيث تقوم بعملية الزفير والشهيق وهي عملية تبادل الاوكسجين وثاني اوكسيد الكاربون والتي لها اهمية في اداء الانشطة الحيوية التي تتم داخل الخلايا . ولكن قد يلحق الضرر بها نتيجة لدخول بعض الاحياء المجهرية من خلال عملية التنفس عن طريق الأنف الى جسم الانسان ويسبب ذلك امراض خطيرة في الرئة ومن ابرزها داء الرشاشيات الذي يسببة الفطر *Aspergillius niger* والذي ينمو في القصبات الهوائية كما ان هناك حالة من الرشاشية الدخناء الذي يسببة الفطر *A.fumigatus* الذي يغزو التجاويف الخارجية في الرئتين او نسيج الرئتين(19) والاصابة بفطريات الاسبرجلس تعرف ب (Aspergillosis) كما ان بعض الانواع تسبب امراض في انسجة الانسان والحيوان وتتميز بوجود التهابات تحتية في الجلد, والاذن الخارجية والجيوب الانفية والرئتين(20). يعتبر كل من *A.flavus* و *A.niger* و *A. fumigatus* من الفطريات التي تنتشرسبوراتها في الهواء وعند استنشاقها تستقر في الجيوب الانفية والرئتين وتؤدي الى ظهور اعراض شبيهه بالتدرن الرئوي خاصة من لديهم ضعف في المناعة ،كما تعد خميرة *C.albicans* من مسببات الامراض الانتهازية التي تسبب امراضاً وخيمه في الصدر يعرف بالفطار Mycosis (21) .

الزعتر (Thyme) *Thymus vulgaris*

يعود نبات الزعتر الى العائلة الشفوية Labiatae . تؤخذ منه الاوراق والسيقان، وتجفف للاستخدامات الغذائية او الصناعات الاخرى اما الزيت فانه يستخرج من الزعتر الطري، وزيت الزعتر يستخدم مادة منكهة طبية ومضادات فطرية وبكتيرية، اما بذور الزعتر فتجمع من ازهار نباتاته البرية . تحتوي الاوراق والسيقان والنورات الزهرية للنبات على زيوت طيارة oils Volatile ذات رائحة عطرية وطعم حاد وبنسبة 1-2.5% (22) وبنسبة (5-25 مل/كغم) من الزعتر والذي يحتوي على الفينولات اهمها Thymol، Carvacrol ومركبات اخرى مثل Linalool، Flavones، Tannins و Caffeic acid ومواد صمغية ومواد دباغية وغيرها.ولنبات الزعتر العديد من الاستخدامات، فهو يستخدم في حفظ المستحضرات الطبية والتجميلية خاصة تلك التي تعنى بأمراض الجلد وتشققه (23) . كما يعد مضاداً فطرياً وبكترياً وفايروسياً لاحتوائه على الفينولات (24) ويستخدم المستخلص المائي لأوراق الزعتر ونوراته الزهرية كعقار مضاد للاكسدة antioxidant drug وتعزى فعاليته الى مركبات Flavones و Biphenyl – type التي تثبط فعالية اللبيدات العالية الاكسدة في المايتوكندريا والمايكروسوم وتثبط جزئياً انتاج الايونات العالية التأكسد ، كما استخدم المستخلص المائي كمسكن للمغص المعوي ومعالجة التهاب المعدة والامعاء وقرحة المعدة والاثني عشر وعسر الهضم وطارد للغازات والديدان (25) . وتعد مركبات الثايمول وCarvacrol من مواد التعقيم الفم والاسنان والجلد والجروح والتخدشات الجلدية ، واستخدمت في صناعة الشامبو والصابون ومعجون الاسنان (27 ،26) . اما بخار الزعتر او نقيعه المائي فيستخدم شراباً لعلاج السعال والسعال الديكي لدى الاطفال وحالات البرد وعلاج ارتشاح واحتقان الانف والتهاب البلعوم واعراض التهاب الجهاز التنفسي العلوي ويستخدم في تبخير مرضى ضيق التنفس لاسيما الاطفال(28 ،25) وله استخدمات اخرى عديدة .

اهداف البحث

يهدف البحث الى :-

عزل وتشخيص الانواع الفطرية والخمائر الموجودة في الفم والانف للاطفال المرضى والاصحاء بعمر شهر واحد الى ثلاث سنوات ، معرفة تأثير بعض العوامل على المحتوى الفطري داخل الفم مثل طريقة الولادة ونوع الرضاعة ،اختبار قابلية بعض العزلات الفطرية على تحلل الدم ، دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الزعتر على بعض انواع الفطريات والخمائر المعزولة .

طرائق العمل

حضرت جميع الاوساط الزرعية وعقمت بالموصدة Autoclave بدرجة (121) مْ وتحت ضغط (1.5) باوند / انج2 ولمدة (15) دقيقة وشملت الاوساط الاتية :-

وسط السابرويد دكستروز آكار

Sabouraud s Dextrose Agar (SDA)

حضر هذا الوسط كما جاء في (29)

وسط البطاطا دكستروز آكار

Potato Dextrose Agar(PDA)

جرى تحضير هذا الوسط وفقا لما ذكره (30).

- وسط اكار خلاصة الذرة Corn meal Agar with Tween 80 &Trypan Blue

يستخدم هذا الوسط لغرض تشخيص الخمائروفقآ لماذكره(31).

وسط تخمر السكريات Sugar Fermentation Medium

حضر حسب ماجاء في (32) . استخدم لغرض تشخيص انواع الخمائر .

وسط اكار اليوريا Urea Agar medium

حضر هذا الوسط كما ورد في (30) . استخدم الوسط لتشخيص خميرة *Cryptococcus* spp حيث ان هذه الخميرة تحلل اليوريا وتغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر

جمع العينات

جمعت عينات الدراسة من مستشفى الولادة والاطفال في محافظة بابل وبلغ عدد العينات 600 عينة من 200 طفل من الاطفال الراقدين في المستشفى حيث أخذت 400 مسحة فموية Oral Swab و200 مسحة من الانف Nose Swab للاطفال بأعمار من شهر واحد الى ثلاث سنوات ومن كلا الجنسين .كما وجمعت 150 عينة من 50 طفل سليم من الاطفال القاطنين في المنازل في مدينة الحلة وتتضمن 100 مسحة فموية Oral Swab و50 مسحة من الأنف Nose Swab على مدى 9 أشهر للفترة من شهر أيلول 2010 لغاية أيار 2011 .

اختبار قابلية الاعفان والخمائر المعزولة على تحليل الدم

Test of the ability of fungi to haemolysis

اختبرت قابلية (9) انواع من الاعفان والخمائر المعزولة على حل الدم مختبرياً وقد استعمل في هذا الاختبار وسط (SDA) المحضر والمعقم بالمؤصدة والمبرد الى درجة (45-50 مْ) ثم أضيف اليه (5) % من دم الانسان . (30) .

تحضير مستخلصات نبات الزعتر

A- تحضير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر

تم اخذ النبات من الاسواق المحلية في محافظة بابل وتم تشخيصه بالاعتماد على الاستاذ الدكتور عبد الكريم البيرماني ويعتبر الزعتر نبات من العائلة الشفوية Labiatae حيث اخذ 30غم من مسحوق الاوراق والنورات الزهرية لنبات الزعتر الجاف ، واضيف اليه (200) مل من الماء المقطر بدرجة الغليان وترك ليبرد مع التحريك المستمر ، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ، ثم ورق الترشيح Whatmann No 2 ،واخذ الراشح وجفف بواسطة الفرن الكهربائي Oven بدرجة حرارة (40-45) م لحين الحصول على المسحوق الجاف ، وقد استخدمت التراكيز الاتية (5 ،10 ،15، 20) ملغم /مل من وسط Sabouraud Dextrose Agar (SDA)المستخدم كذلك استخدمت معاملة المقارنة وهي وسط زرعي بدون أي اضافة كعينة سيطرة واختبرت حساسية عزلات الفطريات تجاه المستخلص المائي الحار(33) .

تحضير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر

اخذ 10 غم من مسحوق المادة الجافة للاوراق والنورات الزهرية لنبات الزعتر واستخلصت ب200 مل من تركيز الكحول لمدة 24 ساعة في جهاز السكسوليت ، ثم ركزت المادة الناتجة بالمبخر الدوار . أذيبت هذة المادة ب5 مل من الكحول الاثيلي ، واضيف الى المستخلص الكحولي 30 مل من حامض الكبريتيك تركيز 2 % بعدها استخدم المبخر ثانيا للتخلص من الكحول الاثيلي ليتخلف المحلول الحامضي . أضيف لهذا المحلول كمية كافية من هيدروكسيد الامونيوم تركيز 10 % الى ان اصبح الاس الهيدروجيني pH (9) وضع المحلول القاعدي في قمع الفصل واضيف اليه 10 مل من الكلوروفورم ورج عدة مرات . وترك المزيج يستقر لينفصل الى طبقتين ، أخذت الطبقة السفلى (طبقة الكلورفورم) الذائبة فيها القلويدات

ثم أعيدت الخطوة الاخيرة ثلاث مرات واخذت الطبقة السفلى في كل مرة ايضا بحيث اصبح المحلول المجتمع 40 مل تقريبا .ورشح وركز الراشح بالمبخر الدوار ثانيا ليتبخر الكلورفورم ، ثم جففت بالفرن الكهربائي على درجة حرارة (40- 45) مْ كررت عملية الاستخلاص عدة مرات لأجل الحصول على كمية كافية من مركبات القلويدات . وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال (34) . وحضرت التراكيز (5 ، 10 ،15 ، 20) ملغم / مل من المستخلص مع الوسط SDA) كذلك استخدمت معاملة المقارنة حاوية على الوسط الزرعي بدون أي اضافة ، واختبرت حساسية عزلات انواع الفطريات تجاه المستخلص الكحولي (35 ،33)

اختبار تأثير المستخلص المائي والكحولي للزعتر على الفطريات

اخذت مزارع فطرية بعمر 7 ايام ومحضنة بدرجة 28 مْ من الفطريات التالية *Aspergillus flavus* , *Fusarium longipes* ,Black yeast , *Alternaria alternata* ,*Candida albicans* ,*Cryptococcus* spp والمعزولة من الفم والانف للاطفال حيث اخذت اقراص بقطر 5 ملم من الحواف الخارجية للمستعمرات الفطرية ، وزرع كل قرص في وسط طبق حاوي على الوسط الغذائي SDA مع المستخلص الكحولي وحسب التراكيز التالية (0 ،5 ،10 ،15 ،20) ملغم /مل من الوسط الزرعي واستخدمت ثلاثة مكررات لكل فطر مع ملاحظة ان جميع الخطوات نفذت في ظروف التعقيم . اما بالنسبة للخمائر فقد استخدمت طريقة التخطيط . وحضنت الاطباق بدرجة 28 مْ ولمدة 7 ايام واخذت النتائج بحساب متوسط قياس كل قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية .(36) .
حسبت نسبة التثبيط بأستخدام المعادلة الاتية .

نسبة التثبيط = (معدل قطرمستعمرة الفطر في اطباق المقارنة – معدل قطرمستعمرة الفطر في اطباق المعاملة) / (معدل قطرمستعمرة الفطر في اطباق المقارنة) **100X**

وتم قياس MIC للفطريات المختبرة بأعتماد على اقل تركيز حيث ان MIC هو اقل تركيز من مستخلص الزعتر يثبط نمو الفطريات المختبرة

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

حللت نتائج التجربة بحسب التصميم العشوائي الكامل Compeletly Randomized Design (C.R.D) ثلاثية العامل وتمت مقارنة المتوسطات بحساب اقل فرق معنوي (L.S.D) لبيان معنوية النتائج عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) (37).

النتائج والمناقشة

عزل 24 نوعآ من الفطريات والخمائر من الفم والانف للاطفال وصنفت الفطريات اعتمادا على المصادر الاتية :-
(40،41 ،39 ،38). كما موضح في الجدول التالي

جدول (1) الاجناس والانواع الفطرية المعزولة من الفم والانف للاطفال في مستشفى الولادة والاطفال في محافظة بابل

1-	*Aspergillus flavus*
2-	*Aspergillus fumigatus*
3-	*Aspergillus niger*
4-	*Aspergillus ochraceus*
5-	*Aspergillus terreus*
6-	*Alternaria alternata*
7-	*Aurobasidium pullulans*
8-	*Bipolaris spicife*
9-	Black yeast
10-	*Candida albicans*
11-	*Candida tropicalis*
12-	*Cladosporium cladosporoidies*
13-	*Cladosporium macrocarpium*
14-	*Cladosporium spaerospermum*
15-	*Cryptococcus* spp
16-	*Fusarium longipes*
17-	*Geotrichium candidium*
18-	*Paecilomyces variotii*
19-	*Penicillium chrysogenium*
20-	*Penicillium digitatium*
21-	*Penicillium expansium*
22-	*Rhizopus solani*
23-	*Rhodotorulla glutinis*
24-	White mycelium

ويوضح الجدول (2) انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال الرضع واعدادها ونسبها حيث يلاحظ من الجدول ان اعلى نسبة عزل تعود الى خميرة *C. albicans* حيث عزلت بنسبة تردد 43.61 % . ان عزل خمائر *Cryptococcus* spp و *C. tropicalis* وجنس *Aspergillus* والعديد من فطريات الفم الاخرى وبنسب متفاوتة وقد يعود الى انها من الفطريات الانتهازية التي تكون متواجدة على العائل تنتهز الفرص لزيادة نشاطها ونموها المفرط وغزوها لانسجة العائل حينما تقل مقاومة العائل نتيجة التناول المفرط للمضادات الحيوية (42، 43، 44)

جدول (2) انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال واعدادها ونسبها

الانواع الفطرية	عدد عزلات الفطريات	النسبة المئوية %
C .albicans	1803	43.61
Cryptococcus spp	1700	41.12
C . tropicalis	342	8.27
Aspergillius niger	84	2.03
White mycelium	60	1.45
Cladosporium cladosporoidies	37	0.89
A. Flavus	19	0.45
Cladosporium sphaerospermum	15	0.36
Penicillium digitatium	12	0.29
Alternaria alternata	10	0.24
Rhodotorulla glutinis	10	0.24
Paecilomyces variotii	8	0.19
Geotrichum candidium	7	0.16
Aurobasidium pullulans	6	0.14
P. chrysogenum	6	0.14
Cladosporium macrocarpum	5	0.12
Black yeast	5	0.12
A. fumigatus	3	0.07
P. notatium	2	0.04

يلاحظ من الجدول (3) ان الفطر *Aspergillus niger* اكثر الفطريات تواجداً في انف الاطفال المصابين الراقدين في المستشفى وكانت اعلى نسبه تعود لهذا الفطر وهي (25.77%) حيث تدخل سبورات الفطر الى الجسم عن طريق استنشاق الهواء ويسبب هذا الفطرامراضا خطيره في الانسان ومن ابرزها داء الرشاشيات الذي يسببه هذا الفطر والذي ينمو في القصبات الهوائيه. كما وان سبورات الفطر *A. niger* و *A. fumigatius* تحتل مواقع اساسية للنمو في التجاويف المفتوحة في رئات المرضى الذين يعانون من مرض التدرن الرئوي حيث العناصر الضرورية للنمو والتجهيز العالي للاوكسجين (48 ، 47 ،46 ،45) كما عزل نوعان من الفطر *Cladosporium* هما *Cl. cladosporoidies* بنسبة (14.77 %) ، *Cl. macrocarpium* بنسبة(0.98 %) حيث ان هذا الفطر ينتشر بشكل واسع في الهواء وقد تم عزله بنسب عاليه في اشهر الشتاء ويدخل الفطر الى الجهاز التنفسي والرئتين من خلال عمليه التنفس كما ويسبب *Cl. cladosporoidies* اعراض شبيهه بمرض التدرن الرئوي في الحالات المزمنه (49) وتمت ايضا خلال الدراسة عزل انواع من الخمائرو منها *C. albicans* بنسبة (8.21%) اذ ان هذه الخمائر تتواجد على الجسم كفلورا طبيعية فهي تمتلك القابليه على النمو بدرجة حراره 37 مْ كما انها فطريات واسعة الانتشار في الهواء تمتلك قابلية عاليه على حدوث الامراضيه في حالة حدوث ضعف في الجهاز المناعي (39،38) كما وقد عزل خلال هذه الدراسه الفطر *Alternaria alternata* من الاغشيه المخاطية للانف والقناة التنفسية كفطريات انتهازية بنسبة (2.46%) من العينات الكليه . كما وقد عزلت الفطريات الاخرى بنسب متفاوتة ان سبب حدوث الاصابة بتلك الفطريات يرجع لوجودها وانتشارها بشكل واسع في البيئة ولامتلاكها بعض عوامل الضراوة التي تمكنها من احداث الاصابة وانتاجها وحدات تكاثرية هائلة.(49،31)

جدول (3) انواع الفطريات المعزولة من انف الاطفال واعداد عزلاتها ونسبها المئوية

الانواع الفطريه	عدد عزلات الفطريات	النسبة المئويه %
Aspergillus niger	157	25.77
Cladosporium cladosporoidies	90	14.77
A. flavus	64	11.33
C. albicans	50	8.21
Penicillium digitatum	50	8.21
Cryptococcus spp	35	5.74
C. tropicalis	34	5.58
Cl. sphaerospermum	17	2.79
Alternaria alternata	15	2.46
P. chrysogenium	12	1.97
Geotrichum candidum	11	1.80
Rhodotorulla glutinis	10	1.64
Bibolaris spicife	10	1.64
A. terreus	8	1.31
P. notatum	8	1.31
Cl. macrocarpum	6	0.98
A. fumigatus	5	0.82
A. ochraceus	4	0.65
Aurobasidium pullulans	3	0.49
Fusarium longipes	3	0.49
White mycelium	2	0.32

دراسة الانواع الفطريه المعزوله من تجويف أفواه الاطفال وعلاقتها بطريقة الولادة

يلاحظ من الجدول (4) ان الفطريات عزلت من أفواه الاطفال بنسبة 60 % من مجموع الاطفال الكلي في حين لم يظهر أي نمو فطري في 40 % من العينات الماخوذة من الاطفال المولودين ولادة طبيعية اما الاطفال المولودين بعملية قيصرية فلم يظهر أي نمو فطري في 64 % من العينات. ان دراسة انواع الفطريات المستوطنة للفم تقتضي البحث عن اول ظهور لها داخل الفم وفي هذا المجال يوضح الجدول (5) انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال المولودين ولادة طبيعية واعدادها ونسبها في حين يوضح الجدول (6) انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال المولودين ولادة قيصرية واعدادها ونسبها .

الجدول (4) انواع العينات الموجبة والسالبة الماخوذة من أفواه الاطفال المولودين ولادة طبيعية وقيصرية واعدادها ونسبها .

عدد العينات	ولادة طبيعية	النسبة المئوية %	ولادة قيصرية	النسبة المئوية %
عدد العينات الموجبة	45	60	27	36
عدد العينات السالبة	30	40	48	64
المجموع	75	100	75	100

الجدول (5) انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال المولودين حديثا ولادة طبيعية واعدادها ونسبها .

انواع الفطريات	عدد عزلات الفطريات	النسبة المئوية %
C. albicans	17	37.77
C. tropicalis	10	22.22
White mycelium	7	15.55
Rhodotorulla glutinis	5	11.11
Alternaria alternata	3	6.66
A. flavus	2	4.44
Aureobasidium pullulans	1	2.22
المجموع	45	100

جدول (6) انواع الفطريات المعزولة من أفواه الاطفال المولودين حديثاً ولادة قيصرية واعدادها ونسبها

انواع الفطريات	عدد عزلات الفطريات	النسبة المئوية %
C. tropicalis	9	33.33
Cladosporium cladosporoidies	7	25.92
A. flavus	6	22.22
Alternaria alternata	5	18.51
المجموع	27	100

لم تشر الابحاث الى أي شئ بهذا الخصوص حيث ذكرت بعض المصادر ان تجويف فم الطفل يكون خالياً عند الولادة ويحوي على مواد بروتينية ومغذيات ومواد اخرى فقط (50،51). أما المصادر الاخرى فتشير الى ان فم الطفل يكتسب الاحياء المجهرية اثناء الولادة عند مروره خلال قناة الولادة حيث يتلوث الفم بالاحياء المجهرية المستوطنة في رحم الام (3،16) .أما في الولادات القيصرية فإن تلامس الطفل مع المحيط وايدي الأطباء العاملين داخل صالات العمليات وايدي القائمين على تنظيف الطفل قد ينعكس على فم الطفل وتظهر بعض الاحياء المجهرية باعداد قليلة داخل الفم .كما ان لجهاز سحب السوائل دورآ مهماً في انتقال الانواع المايكروبية من طفل لآخر ويستخدم هذا الجهاز لسحب السوائل من الجهاز التنفسي للاطفال حديثي الولادة سواءً الاصحاء أو المرضى في المستشفيات وقد اثبتت دراسة (52) ان عدم كفاءة تعقيم هذا الجهاز وكذلك لاستخدامه من طفل لآخرفذلك يسهم في نقل الاصابة بين الاطفال. نلاحظ من الجدول (5) ان خمائر *C. albicans* و *Rhodotorulla glutinis* قدعزلا من تجويف أفواه الاطفال المولودين طبيعياً فقط وتفسير هذه النتيجة ان هذه الخمائر تنتمي الى مجموعة فطريات القناة التناسلية للمراة (3 ،53) ولذلك تنتقل عند مرور الطفل في قناة الولادة من الموطن الأصلي الى داخل فم الطفل اثناء الولادة (54،55) . اما النوعان *Alternaria alternata* و *A. flavus* فهما لاينتميان الى فطريات القناة التناسلية عزل من داخل أفواه الاطفال المولودين ولادة طبيعية وقيصرية واغلب الاعتقاد انه ينتقل من الاشخاص المساعدين في عملية الولادة (الكادر التمريضي) عن طريق الرذاذ المتطاير من فم هولاء الاشخاص إما في اثناء عملية الولادة نفسها او في اثناء تنظيف الطفل بعد الولادة مباشرة وبما ان الولادة القيصرية تتم عادة داخل صالة العلميات وفي جو معقم لذلك تكون نسبة عزل هذين النوعين اقل في الاطفال المولودين ولادة قيصرية من الاطفال المولودين ولادة طبيعية كما ملاحظ في الجدول(6) وتجدر الاشارة الى ان هذين النوعين عزلا من أفواه الاطفال المولودين حديثاً (17)ان معايشة الاماكن لاسيّما صالات التوليد داخل المستشفيات تشير الى حقيقة مهمة هي انه على الرغم من ان صالات عمليات الولادة القيصرية معقمة الا ان عملية تنظيف الطفل وإلباسه بعد الولادة تجري عادة في جو ملوث نسبيا وتكون غير متكاملة اما الولادة الطبيعية فهي تجرى في صالات الولادة وأحيانا في غرف الانتظار غير المعقمة لذلك فان هذه الأجواء الملوثة قد تسبب زيادة عددية ونوعية في انواع االاحياء المعزولة من تجويف أفواه الاطفال الحديثي الولادة (56).

دراسة الانواع الفطرية المعزولة من تجويف أفواه الاطفال وعلاقتها بنوع الرضاعة

تلعب الرضاعة دورآ مهماً في زيادة بعض انواع الاحياء المجهرية حيث يوضح الجدول (7) نسب واعداد بعض انواع الفطريات المعزولة من تجويف أفواه الاطفال المعتمدين على الرضاعة الصناعية ومقارنتها مع الاطفال المعتمدين على الرضاعة الطبيعية .

جدول (7) مقارنة بين اعداد ونسب الفطريات المعزولة من أفواه الاطفال المعتمدين على الرضاعة الطبيعية والمعتمدين على الرضاعة الصناعية .

نوع الرضاعة	*C. albicans*	النسبة المئوية%	*cryptococcus*	النسبة المئوية%	*C. tropicalis*	النسبة المئوية%	*A. niger*	النسبة المئوية%	*P. notatum*	النسبة المئوية%	*G. candidium*	النسبة المئوية%	*Paecilomyces*	النسبة المئوية%
طبيعية	50	71.4.	30	63.8	10	62.5	3	25.0	3	23	0	0	0	0
صناعية	20	28.5	17	36.17	6	37.5	9	75.0	10	76.9	12	100	8	100
المجموع	70	100	47	100	16	100	12	100	13	100	12	100	8	100

يلاحظ من الجدول (7) وجود زيادة في خمائر *C. albicans* في أفواه اطفال الرضاعة الطبيعية وتظهر بنسبة اقل في أفواه اطفال الرضاعة الصناعية وهذا يتفق تماما مع دراسة (57) والتي تذكر ان الخمائر تزداد نسبتها في أفواه اطفال الرضاعة الطبيعية عن أفواه اطفال الرضاعة الصناعية بنسبة 48 % ومن الدراسات الحديثة التي تؤكد النتيجة السابقة دراسة (58) . كذلك الحال بالنسبة لخمائر *Cryptococcus* spp و *C. tropicalis* حيث تزداد نسبتها في الرضاعة الطبيعية اكثر من الرضاعة الصناعية. كما نلاحظ من الجدول وجود الفطر *A. niger* بنسبة عالية في أفواه اطفال الرضاعة الصناعية في حين يظهر بنسبة قليلة في افواه اطفال الرضاعة الطبيعية وقد يعزى ذلك الى تلوث الاغراض الخاصة بتغذية الطفل مثل الحلمات المطاطية او الحليب نفسه حيث يوجد هذا الفطر بنسبة عالية في الجو فضلاً عن ان العوامل المناعية الموجودة في حليب الأم التي تعمل على تقليل اعداد الاحياء المجهرية داخل الفم (59) حيث تقل عادة في الاطفال المعتمدين على الرضاعة الطبيعية وتعزى الدراسة السبب الى عوامل المناعة المتوفرة في حليب الام الاانها لاتوضح نسباً محددة في هذا المجال . كما يلاحظ من الجدول وجود زيادة في انواع *Penicillium notatum* و *Geotrichium candidum* و*variotii Paecilomyces* عند الاطفال الذين يرضعون الحليب الصناعي ويعود السبب الى كثرة اتصال هذه الفطريات مع ادوات الرضاعة مثل الحلمات المطاطية وقنينة الارضاع واغراض تنظيف ادوات الرضاعة حيث ان الاهمال في غلي الحليب او تنظيف الاغراض الخاصة بتغذية الطفل ينعكس ذلك ايجابياً على زيادة هذه الانواع في داخل فم الطفل الا انه ينعكس سلبياً على صحة الطفل ويسبب له امراضاً خطيرة خاصة في الجهاز الهضمي للطفل (1، 3).

أختبار قابلية الفطريات والخمائر المعزولة على تحلل الدم Blood Haemolysis

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (8) قابلية (9) انواع فطرية تعود لاجناس مختلفة كانت قادرة على تحلل الدم مع الاختلاف في قطر منطقة التحلل والمدة الزمنية لذلك ، وقد اظهرت هذه الانواع الفطرية تباينا معنويا بمستوى احتمالية 0.05 في قدرتها على تحلل الدم من حيث زمن التحلل وقطر منطقة التحلل وكان اسرع هذه الانواع في تحلل الدم هما *A. niger* و *A. fumigatus* اللذان حللا الدم خلال 4 ايام اذ كان قطر منطقة التحلل (3.8) ملم للفطر *A. niger* و(4) ملم للفطر *A. fumigatius* وكذلك الخميرة السوداء Black yeast بقطر تحلل (3.6) ملم وبفترة 5 ايام وجاءت بعدها خميرتي *C. albicans* و *C. tropicalis* بقطر تحلل (3.1) ملم خلال 5 ايام ، اما الفطران *A. flavus* و*Alternaria alternata* فقد حللا الدم خلال 7 ايام .

جدول (8) قابلية بعض الفطريات والخمائر المعزولة على تحلل الدم مختبرياً

الانواع الفطرية	قطر منطقة التحلل (ملم)	زمن التحلل (يوم)
A. niger	3.8	4
A. fumigatus♀	4	4
Black yeast	3.6	5
C. albicans	3.1	5
C. tropicalis	3.1	5
A. flavus	2.1	7
Alternaria alternata	1.9	7
Fusarium longipes	-	-
Aureobasidium pullulans	-	-

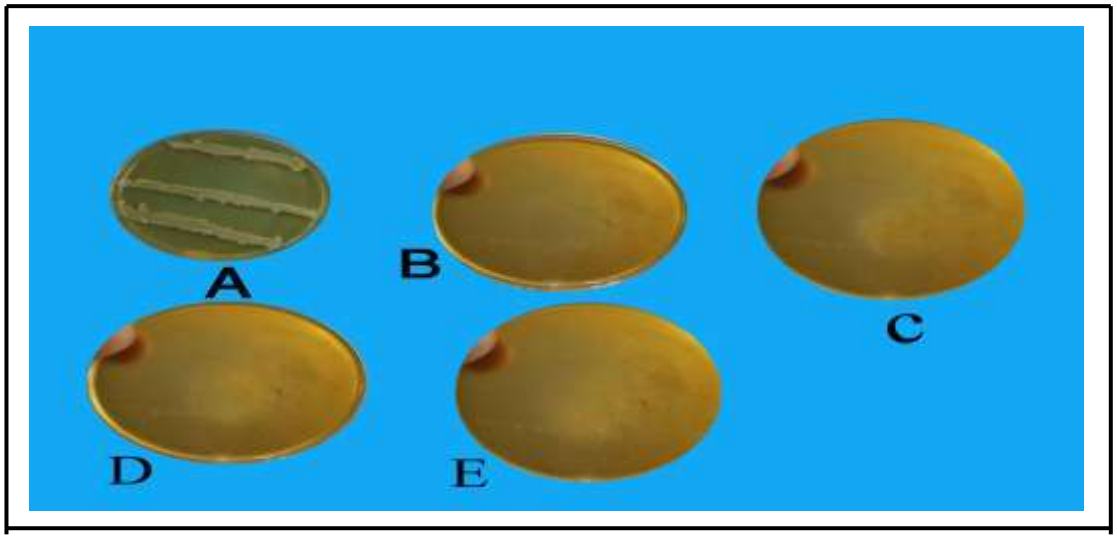
تشير النتائج الموضحة في الجدول (8) قابلية الفطريات على تحلل الدم حيث أختبرت قابلية 9 انواع فطرية على تحلل الدم تعود لاجناس فطرية مختلفة كانت قادرة على حل الدم مع الاختلاف في قطر منطقة التحلل والمدة الزمنية الازمة لذلك . وقد تباينت هذه الانواع الفطرية في قدرتها على حل الدم على الوسط الزرعي SDA . وان هذه القدرة قد تتأتى من امتلاك هذه الفطريات لعوامل ضراوة كإفرازها لبعض الانزيمات أو انتاجها سموم فطرية ، إذ ان لهذه السموم القدرة على تحطيم انسجة الجسم المختلفة بالاضافة الى قابلية هذه الانواع الفطرية على حل الدم قد يكون مؤشراً على أمراضيتها حيث تمتلك الخمائر وخاصة خميرة *C. albicans* قابلية عالية على تحلل الدم عندما تنمو على اكار الدم الغني بالكلكوز وهذه الفعالية توجد داخل الكائن الحي وكذلك تفرز على الوسط الزرعي . فعندما يحدث خلل في وسائل الجسم الدفاعية تنتهز الخمائر الفرصة وتسبب امراض مختلفة للجسم عندما تتوفر لها الظروف(60) ،كذلك الفطر *Aspergillus* spp الذي كان أكفأ الفطريات في عملية حل الدم ، حيث يمثل المسبب المرضي الاكثر اهمية من بين الفطريات الاخرى حيث تنتج هذه الفطريات السموم التي تؤدي الى تحطم الكبد والطحال والكلى والرئتين (61).

التأثير المثبط لمستخلصات نبات الزعتر على الفطر *C. albicans* و *Cryptococcus* spp

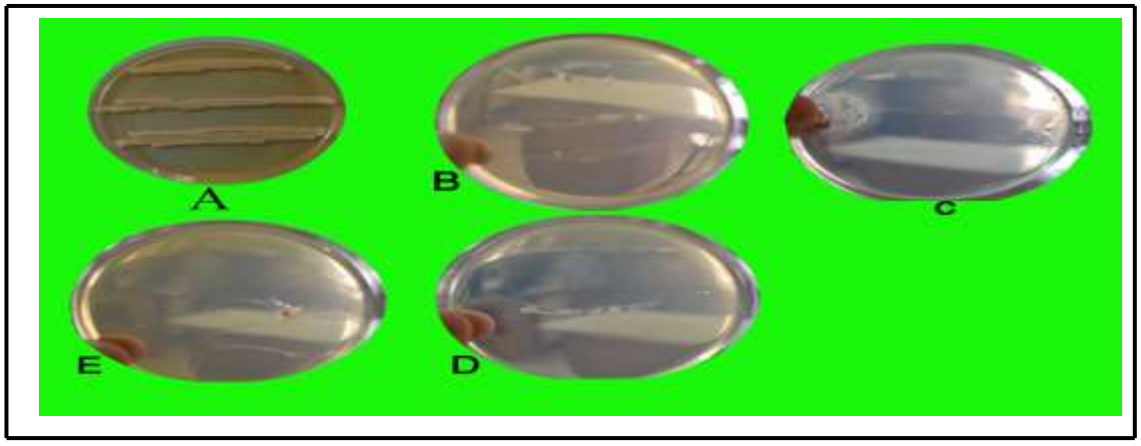
اظهرت خميرة *C. albicans* مقاومة تجاه المستخلص المائي والمستخلص الكحولي للزعتر حيث لم يلاحظ أي تثبيط للمستخلص المائي وكذلك المستخلص الكحولي ابدى مقاومة في التراكيز القليلة من المستخلص 5 % ،10 % لكن ثبط الخميرة بدرجة قليلة في التراكيز العالية 15 % ، 20 % ويرجع السبب في ذلك الى اكتمال بناء محتويات الخلية الفطرية وخاصة الجدار الخلوي والذي يعتبر ذو اهمية عالية في مقاومة الفطريات عامة والخميرة بشكل خاص للعوامل الضارة في بيئة النمو ومنها المضادات الحيوية (62)

لكن المستخلص الكحولي للزعتر ثبط بنسبة قليلة خاصة في التركيزين الاخيرين ويعود سبب ذلك كما ذكره(63) الى ان زيت الزعتر الطيار يستخدم كمضاد للفطريات والبكتريا والفايروسات ويستخدم في علاج الجروح والقضاء على الالتهابات . وكذلك لأن الجدارالخلوي للخميرة يحتوي على مادة بروتينية توجد بها انزيمات مرتبطة بالجدار مثل الجلوكانيز والمانيز Glucanase , Mannase وهما يساعدان على ليونة وتحليل الجدار الخلوي للخميرة

ويوضح الشكل (1) تأثير مستخلصات نبات الزعتر المائي والكحولي على نمو خميرة *Cryptococcus* spp حيث بلغت نسبة التثبيط 100% في كلا المستخلصين وبكافة تراكيز المستخلص وهذا يدل على التأثير البايلوجي لمستخلصات نبات الزعترالتي ادت الى احداث خلل في نشاط الخلايا الفطرية فحالت دون تكاثرها وانقسامها ونموها كالتأثير على نفاذية الغشاء الخلوي نتيجة لتثبيط عملية تصنيع البروتينات الخلوية التي تدخل ضمن تكوين الجدار الخلوي والغشاء الخلوي فيحدث الخلل في تنظيم نفاذية الجدار والغشاء وكذلك منع تصنيع البروتينات الضرورية للخلية والداخلة في بنائها ونشاطها مثل الانزيمات الضرورية لتنظيم الفعاليات الحيوية الخلوية وادامتها والسيطرة على الانقسامات الخلوية(64) .



أ



ب

الشكل (1) يبين :-
أ – تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات خميرة *Cryptococcus* spp تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ
ب- تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات خميرة *Cryptococcus* spp تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ
A- تركيز مستخلص نبات الزعتر 0 ملغم / مل (السيطرة)
B :- تركيز مستخلص نبات الزعتر 5ملغم / مل
C:- تركيز مستخلص نبات الزعتر 10ملغم / مل
D:- تركيز مستخلص نبات الزعتر15 ملغم / مل
E :- تركيزمستخلص نبات الزعتر 20 ملغم /مل

التأثيرالمثبط لمستخلصات نبات الزعتر على الفطر*Aspergillus flavus*

من دراسة تأثيرمستخلصات نبات الزعتر على الفطر *A. flavus* كما في جدول (9) حيث كان لنوع المستخلص المائي والكحولي تأثير واضح على نسب تثبيط الفطر وكان تأثير المستخلص الكحولي اكثر معنوية بالمقارنة مع المستخلص المائي في اختزال معدلات اقطار المستعمرات بالمقارنة مع المستخلص المائي ويعود السبب في ذلك الى تنوع المركبات الفعالة منها

Thymol، Carvacrol وغيرها (65،66) ويتضح من الجدول (9) تباين في تأثير نوع المستخلص وتأثير تراكيز المستخلص في معدلات اقطار المستعمرات والنسب المئوية للتثبيط إذ تبين بأن التركيز المثبط الادنى MIC كان محصورا على التراكيز (15 % ،20 %) لكلا نوعي المستخلص حيث عند تركيز 5 ملغم /مل للمستخلص المائي بلغت نسبة التثبيط 13.5 % وفي تركيز 10 ملغم /مل بلغت نسبة التثبيط 24.3 % وعند تركيز 15 ملغم / مل بلغت نسبة التثبيط 55.07% وعند تركيز 20 ملغم / مل كانت النسبة 60.6 % اما المستخلص الكحولي فكان اكثر تثبيطاً وعند تركيز 5 ملغم /مل بلغت نسبة التثبيط 43.6 % وعند تركيز 10 ملغم /مل كانت نسبة التثبيط 49.8 % وعند تركيز15 ملغم /مل بلغت 59.07% بينما عند تركيز 20 ملغم /مل بلغت 62.15% حيث نلاحظ وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة لكلا المستخلصين .ويعود السبب الى الزيوت الاساسية والمركبات الفعالة التي يحويها هذا النبات التي تعمل على التأزر وتثبيط نموانواع مختلفة من الفطريات وهذا يعتمد على مقدار المركبات الفعالة التي يحتويها المستخلص الكحولي للنبات (67) .

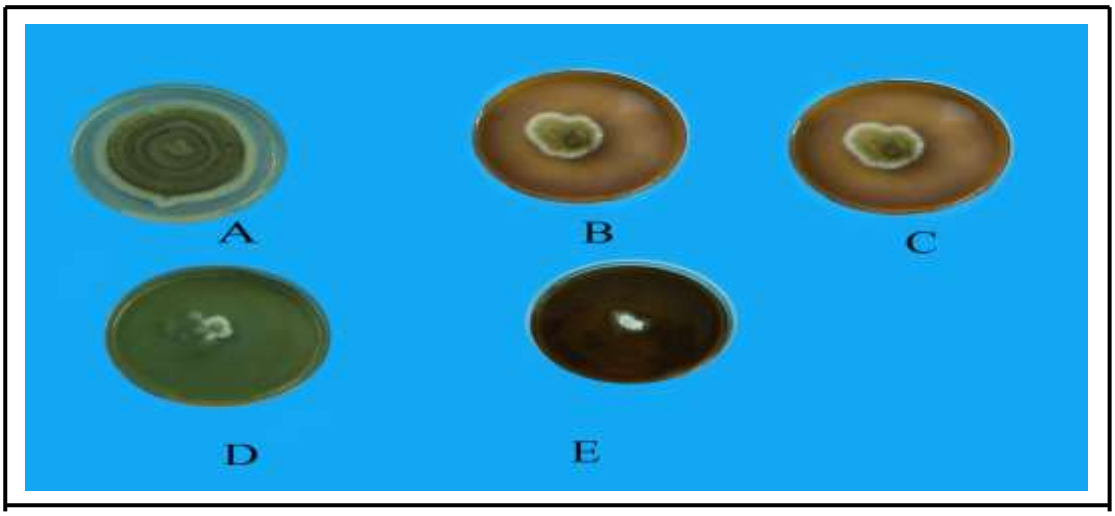
جدول (9) تأثير مستخلصات نبات الزعتر على معدل أقطارمستعمرات الفطر *A. flavus* مقاسة ب(ملم) ومعزولة من الفم والأنف للاطفال

نوع المستخلص / التركيز (ملم)	معدل قطر مستعمرة السيطرة	معدل قطر المستعمرة في 5 %	النسبة المئوية للتثبيط في 5 %	معدل قطر المستعمرة في 10 %	النسبة المئوية للتثبيط في 10 %	معدل قطر المستعمرة في 15 %	النسبة المئوية للتثبيط في15 %	معدل قطر المستعمرة في 20%	النسبة المئوية للتثبيط في 20 %
المستخلص المائي	3.25	2.81	13.5	2.46	24.30	1.46	55.07	1.28	60.6
المستخلص الكحولي	3.25	1.83	43.69	1.63	49.84	1.33	59.07	1.23	62.15

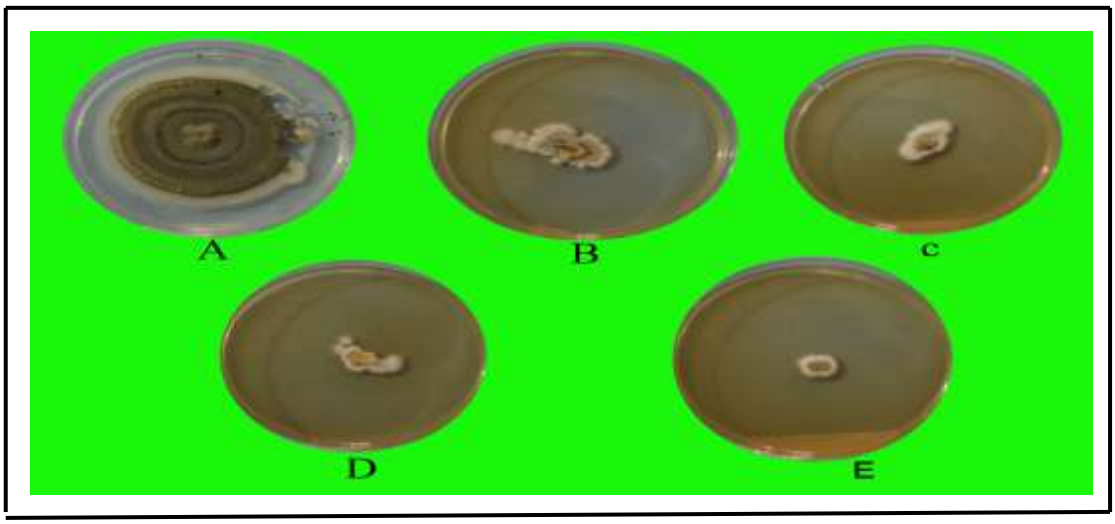
L.S.D. لعامل نوع المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0340

L.S.D لعامل تراكيز المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0538

L.S.D لعامل التداخل تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0240



أ



ب

الشكل (2) يبين :-
أ – تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات الفطر*A. flavus* تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ
ب- تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات *A. flavus* تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ
A- تركيز مستخلص نبات الزعتر 0 ملغم / مل (السيطرة)
B :- تركيز مستخلص نبات الزعتر 5ملغم / مل
C:- تركيز مستخلص نبات الزعتر 10ملغم / مل
D:- تركيز مستخلص نبات الزعتر15 ملغم / مل
E :- تركيزمستخلص نبات الزعتر 20 ملغم /مل

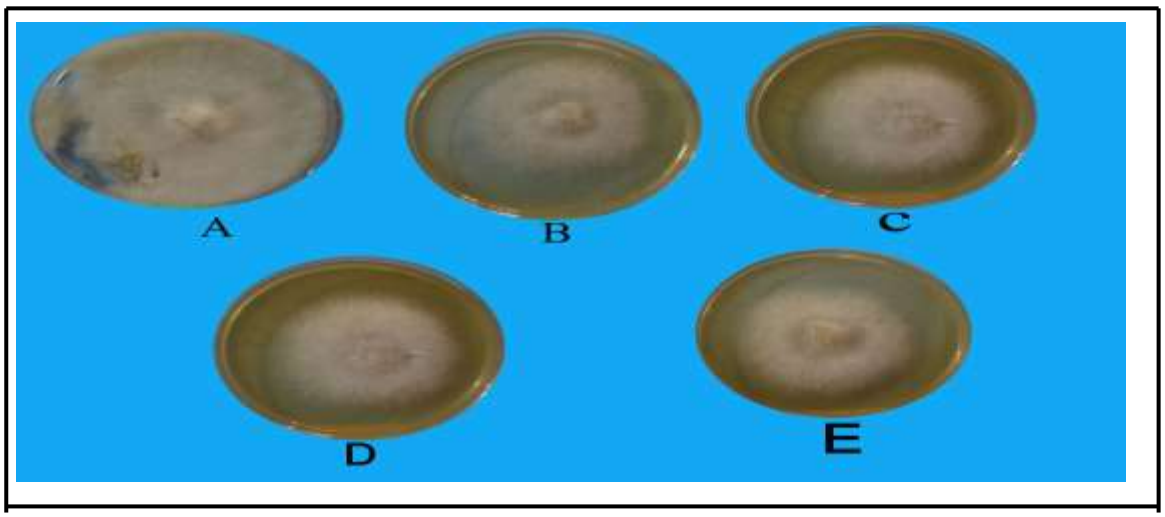
التأثير المثبط لمستخلصات نبات الزعتر على الفطر *Fusarium longipes*

اظهرت النتائج الحالية تأثيرا واضحا للمستخلصات النباتية للزعتر على نمو الفطر *Fusarium longipes* حيث كان للمستخلص الكحولي تأثير واضحآ في معدل اقطار مستعمرات الفطر جدول (10) حيث كان المستخلص الكحولي اكثر معنوية في التثبيط بالمقارنة مع المستخلص المائي وكانت النسب المئوية للتثبيط في المستخلص المائي الحار 28.5 % ،31 % ،36.7 % ،38.5 % للتراكيز(5, 10 , 15, 20) ملغم / مل على التوالي ، اما بالنسبة للمستخلص الكحولي فكانت النسب المئوية للتثبيط 35.5 %،36.5 % ،49.2 % ،51 % للتراكيز(5, 10, 15, 20) ملغم /مل على التوالي وهذه النتيجة تؤكد تأثير المستخلص الكحولي للزعتر على نمو العديد من الفطريات(69 ،68)

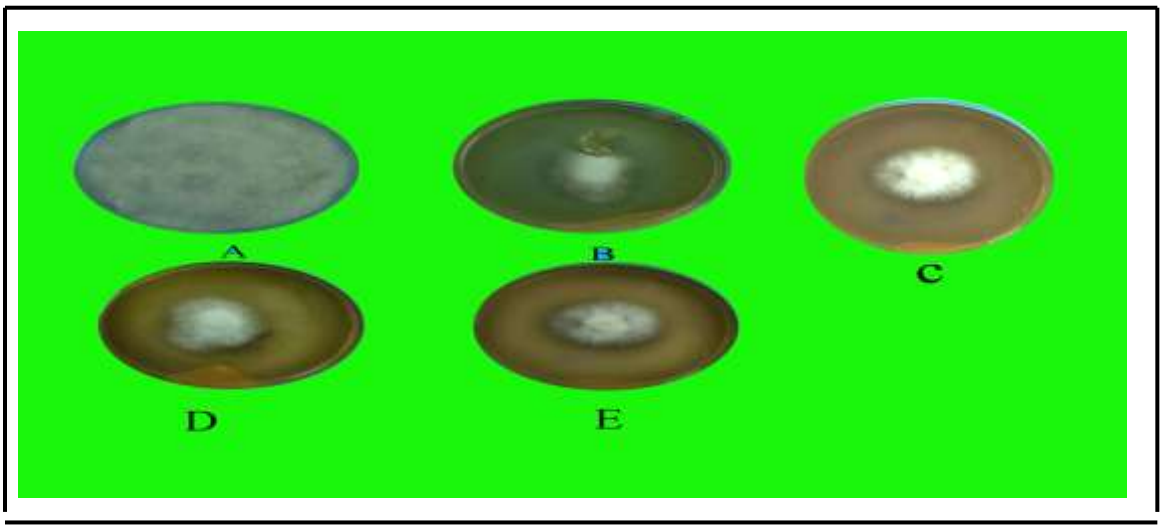
جدول (10) تأثير مستخلصات نبات الزعتر على معدل أقطارمستعمرات الفطر *Fusarium longipes* مقاسة ب(ملم) ومعزولة من الفم والأنف للاطفال

نوع المستخلص / التركيز (ملم)	معدل قطر مستعمرة السيطرة	معدل قطر المستعمرة في 5 %	النسبة المئوية للتثبيط في 5 %	معدل قطر المستعمرة في 10 %	النسبة المئوية للتثبيط في 10 %	معدل قطر المستعمرة في 15 %	النسبة المئوية للتثبيط في15 %	معدل قطر المستعمرة في 20%	النسبة المئوية للتثبيط في 20 %
المستخلص المائي	4	2.86	28.5	2.76	31	2.53	36.7	2.46	38.5
المستخلص الكحولي	4	2.58	35.5	2.53	36.5	2.03	49.2	1.96	51

L.S.D. لعامل نوع المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0417
L.S.D لعامل تراكيز المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0659
L.S.D لعامل التداخل تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0295



أ



ب

الشكل (3) يبين :-
أ – تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات الفطر*Fusarium longipes*تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
ب- تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات *Fusarium longipes* تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
A- تركيز مستخلص نبات الزعتر 0 ملغم / مل (السيطرة)
B :- تركيز مستخلص نبات الزعتر 5ملغم / مل
C:- تركيز مستخلص نبات الزعتر 10ملغم / مل
D:- تركيز مستخلص نبات الزعتر15 ملغم / مل
E :- تركيزمستخلص نبات الزعتر 20 ملغم /مل

التأثير المثبط لمستخلصات نبات الزعتر على الفطر *Alternaria alternata*

أظهرت النتائج الحالية تأثير واضح لمستخلصات نبات الزعتر على الفطر *A. alternata* حيث كان له تأثير في معدل اقطار مستعمرات الفطر كما في الجدول (11) وكان لنوع المستخلص النباتي تأثيرا واضحا فقد كان المستخلص الكحولي اكثر معنوية في التأثير من المستخلص المائي حيث بلغت النسب المئوية للتثبيط في المستخلص المائي 20.6 %, 25.6 %,32.3% , 35.6 %للتراكيز(5, 10, 15, 20) ملغم /مل على التوالي بينما بلغت نسب التثبيط في المستخلص الكحولي 29 %, 32.3 %, 38 , 46.6 %للتراكيز(5 ,10 ,15 ,20) ملغم /مل على التوالي . وقد اشارت دراسة (70) ان الفعالية التثبيطية للزيوت الاساسية المستخلصة من الزعتر تكون مختلفة وتعتمد على نوع العفن وعلى نوع الزيوت المستخدمة وبذلك تختلف في نسب تثبيطها للفطريات ومن ضمنها الفطر *A. alternata* .

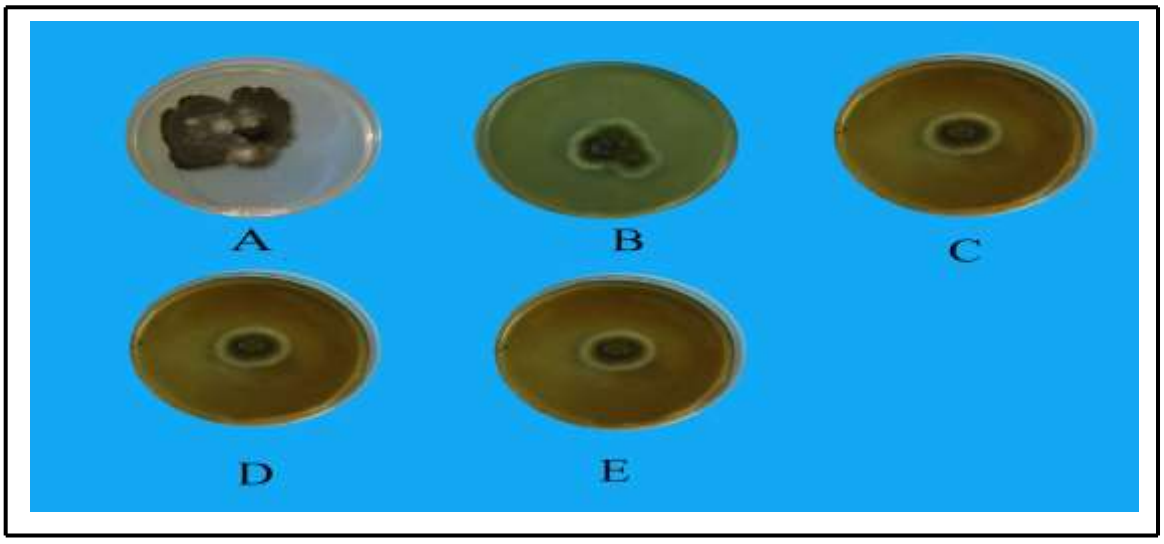
جدول (11) تأثير مستخلصات نبات الزعتر على معدل أقطارمستعمرات الفطر *Alternaria alternata* مقاسة ب(ملم) ومعزولة من الفم والأنف للاطفال

نوع المستخلص / التركيز (ملم)	معدل قطر مستعمرة السيطرة	معدل قطر المستعمرة في 5 %	النسبة المئوية للتثبيط في 5 %	معدل قطر المستعمرة في 10 %	النسبة المئوية للتثبيط في 10 %	معدل قطر المستعمرة في 15 %	النسبة المئوية للتثبيط في15 %	معدل قطر المستعمرة في 20%	النسبة المئوية للتثبيط في 20 %
المستخلص المائي	3	2.38	20.6	2.23	25.6	2.03	32.3	1.93	35.6
المستخلص الكحولي	3	2.13	29	2.03	32.3	1.86	38	1.6	46.6

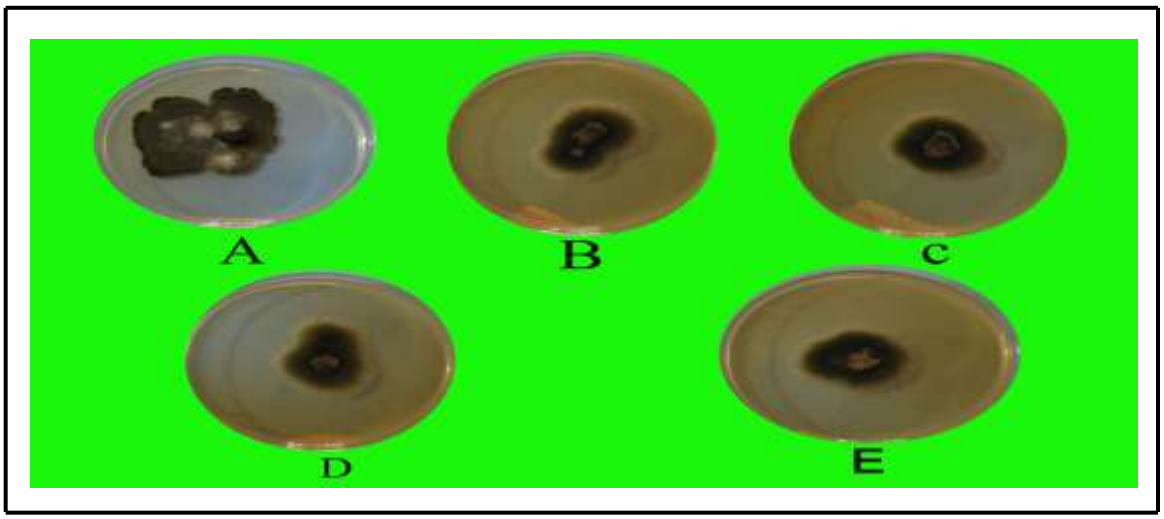
L.S.D لعامل نوع المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0450

L.S.D لعامل تراكيز المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0712

L.S.D لعامل التداخل تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0318



أ



ب

الشكل (4) يبين :-
أ – تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات الفطر *Alternaria alternata* تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
ب- تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات *Alternaria alternata* تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
A- تركيز مستخلص نبات الزعتر 0 ملغم / مل (السيطرة)
B :- تركيز مستخلص نبات الزعتر 5ملغم / مل
C:- تركيز مستخلص نبات الزعتر 10ملغم / مل
D:- تركيز مستخلص نبات الزعتر15 ملغم / مل
E :- تركيزمستخلص نبات الزعتر 20 ملغم /مل

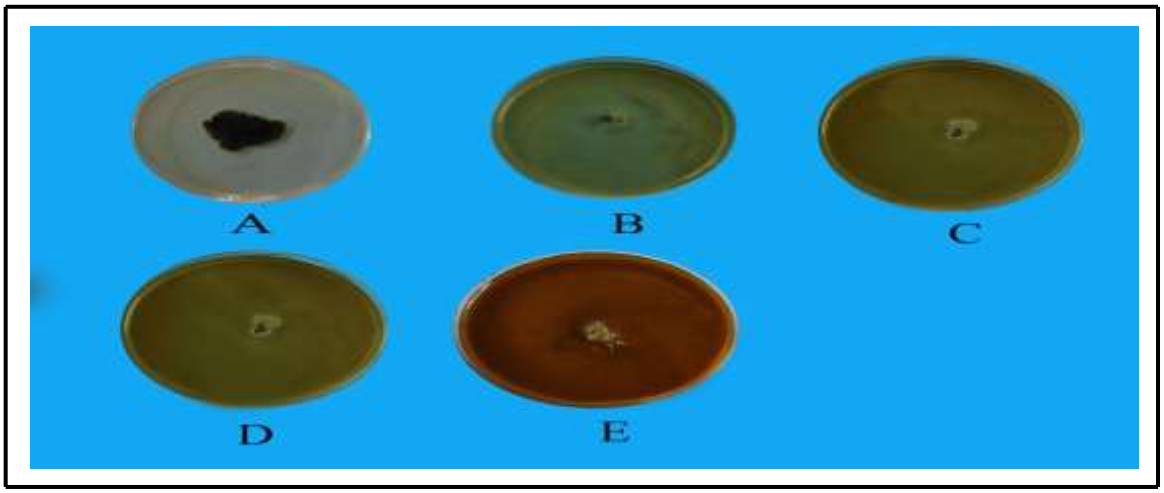
التأثير المثبط لمستخلصات نبات الزعتر على الخميرة السوداء Black yeast

اوضحت النتائج الحالية تأثيرآ واضحآ لنبات الزعتر على الخميرة السوداء حيث اظهرت النتائج ان المستخلصات المائية والكحولية للزعتر كان لها تأثير واضح في معدل اقطار مستعمرات الفطر كما في الجدول (12) اذ تبين أن المستخلص الكحولي اكثر تثبيطآ ومعنوية من المستخلص المائي . حيث كانت النسب المئوية للتثبيط في المستخلص المائي (28.8 % , 34.8%,47.4%,53.2 %) للتراكيز (5 , 10, 15 , 20) ملغم / مل على التوالي . بينما النسب المئوية للتثبيط في المستخلص الكحولي (39.5 %, 46 % ,52 %, 55.3%) للتراكيز (5 , 10 ,15 , 20) ملغم / مل على التوالي .

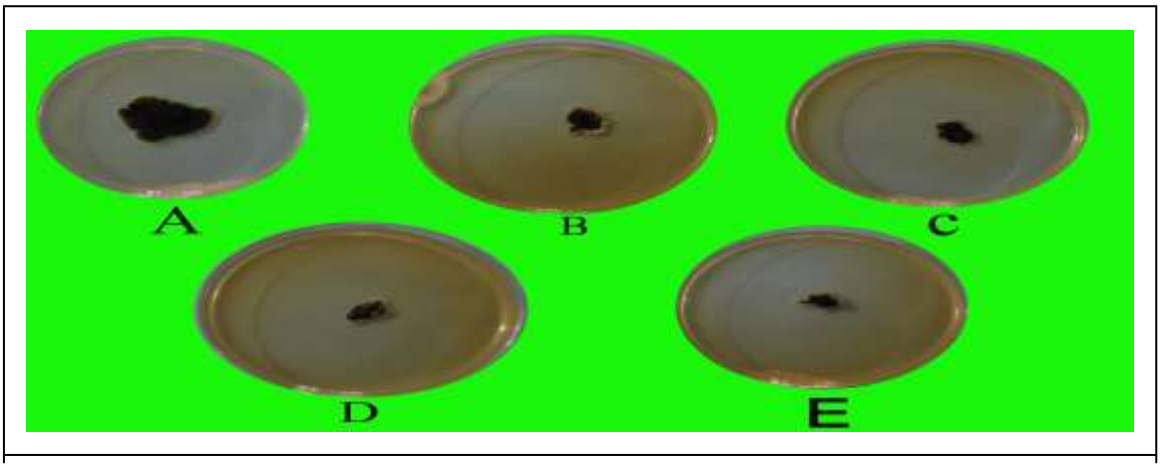
جدول (12) تأثير مستخلصات نبات الزعتر على معدل أقطارمستعمرات الخميرة السوداء مقاسة ب(ملم) ومعزولة من الفم والأنف للاطفال

نوع المستخلص / التركيز (ملم)	معدل قطر مستعمرة السيطرة	معدل قطر المستعمرة في 5 %	النسبة المئوية للتثبيط في 5 %	معدل قطر المستعمرة في 10 %	النسبة المئوية للتثبيط في 10 %	معدل قطر المستعمرة في 15 %	النسبة المئوية للتثبيط في15 %	معدل قطر المستعمرة في20%	النسبة المئوية للتثبيط في 20 %
المستخلص المائي	2.15	1.53	28.8	1.4	34.8	1.13	47.4	1.006	53.2
المستخلص الكحولي	2.15	1.3	39.5	1.16	46	1.03	52	0.96	55.3

L.S.D لعامل نوع المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0380
L.S.D لعامل تراكيز المستخلص النباتي تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0602
L.S.D لعامل التداخل تحت مستوى معنوية 0.05 = 0.0269



أ



ب

الشكل (5) يبين :-
أ – تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات الخميرة السوداء تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
ب- تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في معدل اقطار مستعمرات الخميرة السوداء تحت ظروف تحضين 7 ايام بدرجة 28مْ .
A- تركيز مستخلص نبات الزعتر 0 ملغم / مل (السيطرة)
B :- تركيز مستخلص نبات الزعتر 5ملغم / مل
C:- تركيز مستخلص نبات الزعتر 10ملغم / مل
D:- تركيز مستخلص نبات الزعتر15 ملغم / مل
E :- تركيزمستخلص نبات الزعتر 20 ملغم /مل

الاستنتاجات Conclusions

تتواجد أنواع مختلفة من الفطريات والخمائر في أفواه وانف الاطفال الرضع وحديثي الولادة ،تزداد نسب الانواع الفطرية *C. albicans* و *Cryptococcus* spp و *C. tropicalis* داخل تجويف فم الاطفال المعتمدين على الرضاعة الطبيعية بينما تزداد نسب الانواع الفطرية *A. niger* و *Penicillium notatum* و *Geotrichium candidium* و *Paecilomyces variotii* داخل تجويف فم الاطفال المعتمدين على الرضاعة الصناعية ، التأثير التثبيطي الواضح لمستخلصات نبات الزعتر على الفطريات المختبرة ،لذا تمكن الحصول على مضادات فطرية جيدة مستخلصة من النبات يمكن استخدامها في القضاء على الفطريات الممرضة . وكان المستخلص الكحولي اكثر تأثيرومعنوية من المستخلص المائي في التثبيط ، ظهور بعض العزلات الفطرية التي لها القابلية على تحلل الدم وكان الفطر *A. niger* اكفأ الفطريات في عملية التحلل وتأتي بعدها الخمائر والفطريات الاخرى .

التوصيات Recommendations

زيارة الطفل لطبيب الأسنان في وقت مبكر تساعد على تفادي تسوس الأسنان داخل فمه وتجنب علاجها لاحقاً ،إعطاء بعض الإرشادات الخاصة بالإرضاع للأم حيث يمكن تنظيف فم الطفل بعد كل رضعة استخدام قطعة قماش رطبة لفرك أسنان الطفل ولثته ، كذلك يتوجب استبدال الإرضاع ليلاً بقنينة الرضاعة المملوءة بالماء فقط ،إجراء دراسة وراثية موسعة على الجراثيم المنتقلة من الأم إلى الطفل خلال الفم ، اجراء دراسة على السائل الجنيني قبل الولادة واثناء الولادة ومقارنتها بالفلورا الفطرية المعزولة من أفواه الاطفال اثناء الاسبوع الاول من الولادة ،أجراء دراسة لاحقة حول تطبيق استخدام مستخلص الثايمول للزعتر في علاج الالتهابات المتسببة من الفطر *C. albicans* بسبب حساسية الفطر تجاه هذه المادة وذلك داخل الجسم الحي .

المصادر

1- Todar, K. (2002). The Bacterial flora of humans & bacteria of medical importance. Bacteriology ; 303(2): 577-579.

2- Grindefjord, M.; Dahllof, G.; Wikner, S.; Hojer, B. & Modeer, T. (1995). Prevalence of mutans Streptococci in one-year-old children. Oral Microbial Immunol; 6: 280-283.

3- Brooks, A. F.; Butel, A. S. and Morse, T. A. (1998). "Jawetz, Melnik, and Adelberg's Medical Microbiology". 21st ed. Appelton and Lange, California.

4- Burnett, G. W., Scherp, H. W., Schuster, G. S., (1976), Oral microbiology & infectious disease, 4th ed.,William & Wilkinsm Co .,Baltimore ,USA, pp .219-255

5- Refai, M.& Taha, M. (1990**).** Medical mycology. Chairman of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig & Cairo University, Cairo, pp. 12-21.

6 - الشبل ، منهل . (2004) . مدخل إلى علم الأدوية . www.dentarab.com/medicens.htm

7- Berkowitz, R.J. & Jordan, H. V. (1975). Similarity of bacteriocins of *Sterptococcus mutans* from mother & infant. Arch. Oral .Biol ;20:425-730

8- Davey, A.I.& Rogers, A.H.(1984). Multiple types of bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth & their intra-family transmissions. Arch. Oral. Biol; 29: 453-460.
9- Berkowitz, R. J. & Jones, P. (1985). Mouth to mouth transmissions of the bacterium *Streptococcus mutans* between mother & child. Arch. Oral. Biol; 30: 377-379.
10- Caufield, P.W.; Ratana-Pridakul. K.; Allen, D.N.; Cutter, G.R. (1988). Plasmid-containing strains of *Streptococcus mutans* cluster within family&racial cohorts: Implications for natural transmissions. Infect. Immuno; 56: 3216-3220.
11- Salvador, L.; Grisi, F. M.; Romanelli, R. G.; Silvanetto, C. R.; Schork, N. M. & Bretz, W.A.(1997). Similarities of preiodontal clinical Microbiology parameters in morher-child pairs. Braz. Dent.J.; 8 (2): 99-104, ISSNO 103-6440.
12- Köhler, B.; Andreen, I.; Jonsson, B. (1984). The effects of caries-preventive measures in mothers on dental curies & the oral
presence of the bacteria *Streptococcus mutans* & *Lactobacilli* in
their children. Arch. Oral. Biol. 29: 879-883
13- Könonen, E.; Jousimies-Somer, H.& Asikainen, A. (1992). Relationship between oral gram-negative anaerobic bacteria in saliva of the mother & colonization of her edentulous infant. Oral. Microbiol. Immunol; 7(5): 273-6.
14- Boyd, R.F. & Hoort, B.G. (1981). Basic medical microbiology. 2nd ed. Little & Brown Co. Boston. Chapter 32; PP 661-685.
15- Nolte, W.A. (1982). Oral microbiology with basic microbiology and immunology. 4th. ed., Mosby Company; USA.
16- Nisengard, R.J. & Newman, M.G. (1994**).** Oral microbiology and immunology. 2nd ed.; W. B. Saunders Company.
17- Imad, R.; Makhoul, M.D.; Polosujov, M. D.; Ardekian, L.; Kassis, M.D.; Smolkin, M.D.; Tamir, D.S.; Laufer, M. D. (2002). Factors influencing oral colonization in premature infants. IMAJ, Vol. 4, No. 5, pp. 12-19.
18- Marsh, P. & Martin, M. (1992). Oral microbiology. 3rd ed. Chapman & Hall, Ltd., London, United Kingdom.
19 - بورتر ، آي وتوك ،دي ، سي (1986). علم الاحياء الدقيقة الطبية ، جامعة الموصل – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ص 195-197.
20 - المنشي ، يوسف (1994) . علم الاحياء الدقيقة (الجراثيم) ، دار المستقبل – عمان ، الطبعة الثانية ، الجزء الثاني .ص 181-220
21 - الشهابي ، عاصم عطا . (1998) . المايكروبات المعدية للانسان ، مركز الكتب الاردني – عمان ، ص : 100-130
22-Roberts, T. A.; Pitt, J. I.; Farkas, J. and Gran, F. H. (1998). Microorganisms in foods. International commissiom on microbiological specifications for food (ICMS) first ed. London : 615 pp.
23- Manou, I.; Bouillard, L.; Devleschouwer, M. J. and Barel, A. O. (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under achallenge test. Applied Microbiology, 84 : 368-376.
24-Woodruff,
J. (1995). Preservatives to fight the growth of mould. Manufacturing Chemist, 66 (9) : 34-35
25-Bruneton, J. (1999). Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants. Technique and documentation editions medicales internationales, France. 2nd edition : pp. 335 and pp. 545-547.
26- Panizzi, L.; Flamini, G.; Cioni, P. L. and Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean lamiaceae. J. of Ethnopharmacology 39 : 167-170.
27- Deans, S. G. and Ritchie, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. International Journal of food microbiology 5 : 165-180.
28- Gideon, S. T. (2001). Thyme (Thymus vulgaris) clinically relevant conditions. Healthnotes, Inc. www.medical.healthnotes.com .

29- Kwon-Chung, K. J. and Bennett, J. E. (1992). Medical mycology. Lea and Febiger, Philadelphia. London, p 866.

30- Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology. 4th ed., Churchill livingstone, pp. 695-717.

31-Al-Rubiaa,A.(2001). Study of fungi that isolate from respiratory tract of patient attends TB centre and chest diseases in Basrah.(MSc.thesis) college of science

32- Macfaddin, J.F. (1985). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2nd ed. Waverly Press; Inc.; Baltimore.

33- Rios, J. L.; Recio, M. C. and Villar, A. (1987**).** Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. J. of Ethnopharmacology, 21 : 139-152.

34- السامرائي ، خلود وهيب .(1983) **.** توزيع القلويدات واهميتها التصنيفية في بعض الانواع البرية من العائلة الباذنجانية Solanaceae في العراق. رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، 157 صفحة .

35- Sousek, J.; Vavreckova, C.; Psotova, J.; Ulrichova, J. and Simanek, V. (1999b). Antioxidant and antilipoperoxidant activities of alkaloid and phenolic extracts of eight fumaria species. Acta hort 501, ISHS, Eds. Martino et al. , 239-244.

36- Pitt, J. I. And Hocking, A. D. (1997). Fungi and food spoilage, 2nd , Academic press, Sydney, p 593.

37 - الراوي ، خاشع محمود وخلف اللة ، عبد العزيز محمد .(2000) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، دار الكتب للنشر . جامعة البصرة .

38- McGinnis, M. R. (1980). Laboratory handbook of medical mycology. Academic press, p 661.

39- Ellis ,D.H.(1994) **.**Clinical Mycology **.** The Human Opportunistic M**y**coses . Gillingham Printers Ltd .Australia - P.166.

40- Hoodge ,G.S.& Guarra ,J .(1995) **.**Atlas of clinical fungi . center albureau voor shimmel – cultures and universital Rovirai Virgili .Spain . 720 p.

41- Midgley , G. ; Clayton ,Y.M & Hay ,R .J.(1997) . Diagnosis in colour medical mycology . Mosby – Wolfe , an imprint of mosby international , Spain 155 p.

42- Domsch, K. H.; Gams, W. and Anderson, T. H. (1980). Compendium of Soil Fungi. Academic Press. London. 2 Vols.

43-Armstrong, D. (1989). Problems in management of opportunistic fungal diseases . Reviews of Infectious Diseases. 11 : 51591-51599 .

44- Prescott, L.M.; Harley, J.P. & Klein, D.A. (1996). Microbiology; 3rd ed; Wm. C. Brown communication; Inc. Australia; Oxford; England. Lowa; USA.

45- Dorko , E .; Paupcoue , E . and T Kacikova , L . (2002) . Fungal Disease of the Respiratory Tract . folia Microbial , 47 (3) : 302 -204

46 - الحريثي ، أسماء أحمد .(2005) . عزل وتشخيص بعض الفطريات من الغبار الداخلي والمؤثرة على الجهاز التنفسي ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الموصل .

47 - المعموري ، اشراق عبد الامير صالح (2011) .عزل وتشخيص البكتريا والفطريات لمرافقة لمرضى التدرن الرئوي ودراسة بعض المؤثرات المناعية والالتهابية في محافظة بابل . رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات . جامعة بابل

48- Sharon , H.; Amar , D.; Levdansky ,E ; Mircus , G .and Shadkchan ,Y . (2011) .Prt – Regulated Proteins Secreted by *Aspergillus fumigatus* Activate MAPK Signaling in Exposed A 549 lung cell leading to necrotic Cell Death .

49- Juan , J ; Maria , J.; Carolina , G.; Antonia ,R. ; Pilar , F .and ancisco , S.(2007) Risk Factors for Pulmonary Aspergillus spp . Infection in pation with positive culture for Filamentous Fungi chest 131(1) :230-236

50- Stevens, J. E. (1996). It's a jungle in there. Biodcience, Vol. 46, Issue 5, p.314, 4p, 2bw, California,USA.

51- Rick, R. (2002). Microbes microbes microbes. Vol.36, Issue.2, p.16, 1p.

52 - النعيمي ، نجلاء عبد الله فتحي عبد الله ، (2001)**.** دراسة في تقييم دور مجموعة من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وجرثومة *Mycoplasma pneumoniae* في الاصابات التنفسية لدى الاطفال الحديثي الولادة في مدينة الموصل .رسالة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

53-Betty, A. F.; Sahrn, D. F.; Weissfeld, A. S. (1998). Diagnostic Microbiology. 10th ed., printed in USA.

54-Mad Sci Network(MSN). (2000). Are infant mouths cleaner than adolescents&adults?,www.madsci.org/posts/archives/ dec2000/975875978.Mi.q.html

55- Könonen, E.; Jousimies-Somer, H.; Bry, K. A.; Kilpi, T. & Kilian, M. (2002). Establishment of Streptococci in the upper respiratory tract: Longitudinal changes in the mouth & nasopharynx up to 2 years of age. J. Med. Microbiol, Vol. 51: pp. 723-730.

56- ال ملة خضير ، سديم سامي نوح موسى (2004) . عزل وتشخيص الفلورا الجرثومية من تجويف فم الاطفال حديثي الولادة والرضع في مدينة الموصل . رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الموصل .

57- Darwazeh, A.M.& al-Bashir, A. (1995). Oral candidal flora in healthy infants. Joral. Pathol. Med.; 24(8): 361-4.

58- Firriolo, F.J. (2003). Oral candidiasis. USA, www.dentalcare.com/soap/intermed/oralcan.htm.

59- Smith, A.J; Jackson, M.S.; Bagg, J. (2001). The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. J. Med. Microbiol; 50(11): 940-6.

60- Bullen ,J.J. (1981) . The significance of Iron Infection Rev .Infect . Dis 3:1127 – 1138

61- Jawetz ,C .Melnick ,J.L and Adelburg ,E.A. (2007). Review of medical microbiology . Appleton and lang . USA

62- Madigan , M. T., Martinko , J . M and Parkey , J . M . and Parkey , J ., (1997) . Brock biology of microorganisms , *Prentice Hal* , *Inc* ., 8:421 -422. Manou, I.; Bouillard, L.; Devleschouwer, M. J. and Barel, A. O. (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under achallenge test. Applied Microbiology, 84 : 368-376.

63- Baudoux , D . (2000). Antiviral and microbial properties of essential oils http://www.positivehealth.com/permit/Articales/Aromat herapy/baud55.htm

64- Farag, R. S.; Daw, Z. Y.; Hewedi, F. M. and El-Baroly, G. S. A. (1989). Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. J. Food Prot., 52 : 665-667.

65- Akihisa , T . ; Yasukawa , K. ; Oinuma , H. ; Kasahara , Y . ; Yamanouchi , S. ; Takido , M. ; Kumakio , K. and Tamura , T. (1996). Triterpene alcohols from the flower of Compositae and their anti inflammatory effects . Phytochemistry 43 : 60 -1255.

66- Al- Harbi , N. (2003). Study of anti microbial activity of crude plants extracts against some fungi . J . Ethnopharm . 72 (1) : 173 – 179 .

67- Ownagh ,Abdulghaffa ;Hasani, Abbas ; Mardani , ,Karium ; & Ebrahimzadeh ,Samira ,2010.Antifungal Effects of Thyme ,Agastache and Satureja Essential Oils on *Aspergillus fumigatus* ,*Aspergillus flavus* and *Fusarium solani* .Urmia university . Urmia – Iran

68- Voda K , Boh B , Vrtacnik M ,et al .2003 . Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white –rot Trametes versicolor and the bron –rot Coniophora puteana . International Biodeterioratio & Biodegradation 51 : 51-59.

69- Cakir A, Kordali S , Killic H , *et al* , (2005) . Antifungal properties of essential oil and crude extracts of Hypericum linarioides Bosse .Biochemical Systematics and Ecology . 33 : 245 - 256 .

70- Mironescu M., Georgescu C .,(2008) . Preliminary researches on the effect of essential oils on moulds Isolated from surfaces , Journal of agroalimentary processes and technologies, vol . XIV ,no .1 ,p .30-33.