عزل الفطريات الجلدية من الانسان ودراسة تأثير المستخلصات النباتية والمضادات الفطرية عليها

حسين عبد الرزاق عبود[1] ، خليل أبراهيم بندر[1] ، ذكرى أحمد حمادة[2]

[1] قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2] فرع الأحياء المجهرية ، كلية الطب ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(**تاريخ الاستلام:** 22 / 4 / 2012 ---- **تاريخ القبول:** 8 / 5 / 2012)

الملخص

جمعت 109 عينة من المصابين بالفطريات الجلدية في الفترة مِن شهر تموز 2011 ولغاية كانون الاول2011 لغرض عزل وتشخيص الفطريات أظهرت نتأئج الفحص المجهري المباشر الى وجود 84 عينة موجبة فقط أي بنسبة (77%) من المجموع الكلي للمرضى. في حين كان عدد الحالات السالبة بالفحص المِجهري المباشر (25) عينة أي بنسبة (22.9%) . أما بالنسبة لنتائج الزرعي المُختبري الموجبة فكانت (75) عينة أي بنسبة (68.8%) . في حين كانت عدد الحالات السالبة بالزرع المُختبري (34)عينة أي بنسبة (31.1%)، تضمنت العينات مسحات جلدية، أجزاءمن الشعر، قصاصات أظافر من الإنسان، تم عزل وتشخيص 75 نوعاً فطرياً وكان الجنس *Trichophyton* هو الأكثر ترددا (61.3%) تلاه جنس *Microsporum* (25.3%) وتم عزل فطر *Piedraia hortae* وبواقع (9)عينة وبنسبة (12%) وكانت الإناث الأكثر إصابة (51.3%) مقارنة بالذكور (48.6%). بالإضافة إلى ذلك كانت منطقة الرأس Tinea capitis الأكثر إصابة (34.8.%) مقارنة مع باقي مناطق الجسم.

وأظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن لمستخلصات الثوم والزنجبيل المائية والكحولية تأثيرا تثبيطيا عاليا تجاه الفطريات الجلدية *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum* وبأربعة تراكيز (13،12،10،6)ملغم/مل وقد تباينت نسبة تأثير هذه المستخلصات على الفطريات ولوحظ أن التركيز المثبط الادنى (13)ملغم/مل . وكانت العلاقة بينها طردية ، أي كلما ازداد تركيز المستخلص ازداد التأثير التثبيطي له. ولوحِظ مِن خلال نتائج الدِراسة الحالية بأن المُستخلص المائي و الكحولي للزنجبيل لم يُثبط نمو سلالة الفطر *Pidraia hortae*.

أما بالنسبة لتأثير المضادات الحياتية الفطرية Terbinafineو Ketoconazole و Griseofulvin فقد أظهرت تأثيراً مثبطاً تجاه الأنواع الفطرية المعزولة وبتراكيز مختلفة اعتماداً على نوع الفطر ونوع المضاد الفطري المستعمل، إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى للمضادات (0.4)ملغم/مل وأظهرت النتائج أن المضادات أكثر تأثيرا من المستخلصات النباتية .

المقدمة

تعرف الاخماج الفطرية (Mycoses) على أنها أخماج مزمنة كون الفطريات تنمو بشكل بطئ وتضم الأخماج الفطرية السطحية، الجلدية، تحت الجلدية، الجهازية والأخماج الفطرية الانتهازية (1). إن الأضرار التي تحدثها الفطريات تعود بالأساس إلى ما تنتجه من سموم وأنزيمات إذ تثير الحساسية وتخترق الأنسجة مباشرةً (2) . إن من بين تلك الفطريات أهمية لصحة الإنسان والحيوان هي الفطرية الجلدية (Dermatophytes) والتي تُعرف أنها الفطريات التي تترمم على المواد الكيراتينية للجلد والشعر والأظافر في الإنسان والحيوان وتسبب لهما الأمراض، كما تعّرف الفطريات التي لها القابلية على أنتاج أنزيمات قادرة على تحليل التراكيب الكيراتينية وتكسيرها بالفطريات المحبة للكيراتين (Keratinophilic fungi) (3)، ،حيث تُشكل هذه الفطريات مستعمرات في الأنسجة الكيراتينية ومِن ثم يحدثُ الالتهاب كرد فعل للجسم على النواتج الثانوية للفطريات ، وبشكل عام ينحصر تواجد هذه الفطريات على الطبقة المُتقرنة من البشرة وذلك لعدم قُدرتها على اختراق الأنسجة الحية في جسم المضيف ذات المناعة السليمة . تحدث هذه العدوى أستجابة مناعية من جسم المضيف تتراوح من معتدلة إلى شديدة وفي حالات نادرة تغزو الأنسجة تحت الجلدية تُسبب الكيريون Kerion . يطلق عادة على الفطريات الجلدية أسم القوباء الحلقية Ring Worm و بشكل أدق Tineaتقسم الفطريات الخيطية الجلدية على أساس المُضِيفُ الطبيعي لها إلى ثلاث مجاميع رئيسة هي : الأنواع التي يكون المُضِيفِ الطبيعي لها هو الإنسان Anthropophilic وتنتقل عن طريق التلامس مع الأشخاص المصابين بها ، والأنواع التي يكون المُضِيفُ الطبيعي لها الحيوانات Zoophilic ومنها تنتقل إلى الإنسان عن الطريق التعرض لها ، مُحدثةً الإصابة، والأنواع التي تعيش مُتَرَمِّمَة في التربة على المواد الكيراتينية فيها (كالشعر والريش) وتعرف Geophilic ومنها تنتقل إلى الإنسان أو الحيوانات . وتتميز الإصابات الجلدية التي تحدثها الأنواع ذات الأصل الحيواني Zoophilic بأنها أشد ضراوة من غيرها(4).استخدمت العديد من المضادات الحياتية الفطرية كالـ Imidazoles و Butenafine و Terbinafine سريرياً للعلاج السطحي للإصابات الفطرية (5). كما تم استعمال Ketoconazol و Griseofulvin و Terbinafine كمضادات فطرية فموية للعلاج الجهازي للإصابات الفطرية الجلدية الشديدة (6). ورغم الأهمية العلاجية لهذه المضادات إلا إنها لا تخلو من التأثيرات الجانبية إضافة إلى المطاولة بالعلاج مما يجعلها اقل تأثيرا (5).وبعد وجود الأضرار الجانبية للمركبات الكيميائية للأدوية سواء على الإنسان أو الحيوان

والتي قد تؤثر تأثيرا كبيرا على الأجهزة الحيوية في الجسم مثل الكبد والبنكرياس والقلب والطحال وكذلك تأثيرها على الجهاز المناعي الذي يمثل التوازن الطبيعي في مقاومة الأمراض (7) لذا كانت الاتجاهات حديثا في استخدام النباتات الطبية التي تلعب دورا مهما في علاج بعض الأمراض المعدية لما تحتويه من مواد لها فعالية المضادات الحيوية على البكتريا والفطريات والطفيليات (8).يستخدم النبات الطبي للأغراض العلاجية إما بإستخلاص النبات بصورة كاملة أو إستخلاص أجزاء منه سواء كان النبات بريا أو مزروعا محضرا بصورة خام أم بعزل مركبات (9) وتعمل عن طريق تأثير مكوناته الفعالة (10) وقد أشارت الدراسات إلى أن المادة الفعالة المستخلصة من النباتات تعطي نتائج أفضل من المادة نفسها المصنعة كيميائيا والتي قد ترافقها تأثيرات جانبية سمية مما يشير إلى إمكانية إسهام المواد الثانوية الموجودة في المادة الفعالة في تعزيز الدور الفعال للنبات(11). تشكل النباتات خزيناً طبيعياً للعديد من المركبات الكيميائية التي تؤدي دورا مهماً في تثبيط نمو الأحياء المجهرية مثل التانينات والفينولات والقلويدات والأحماض العضويه،وأن فعالية النبات علاجيا تعتمد على واحد أو أكثر من هذه المركبات،كما أن جسم الإنسان يتوافق مع العلاج بالأعشاب الطبية بشكل أفضل من العلاج بالأدوية الكيميائية نظرا لتكيف جهازه الهضمي للاستجابة لهذه النباتات (12).

وبناءً على ما تقدم فقد استهدفت الدراسة الحالية إلى ما يأتي :

1- عزل وتشخيص بعض أنواع الفطريات الجلدية من عينات مرضى مصابين بامراض جلدية.

2- اختبار القابلية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية وبتراكيز مختلفة لبعض النباتات الطبية المحلية الشائعة، وهي (الثوم والزنجبيل) على بعض الفطريات المرضية المعزولة محلياً من حالات مرضية مختلفةوتحديد التركيز المثبطالادنى.

3- اختبار القابلية التثبيطية المضادات الفطرية الكيمياوية والمستخدمة كعلاجات للمرضى مثل Ketoconazol و Griseofulvin و Terbinafine. وتحديد التركيز المثبطالادنى.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

جمع العينات Collectinon of Samples

تم جمع(109) عينة سريرية من المرضى في مستشفى كركوك العام وبعض العيادات الخارجية وتم اخذ العينات من المرضى مابين تموز 2011وتشرين الثاني 2011 حيث تم اخذ العينات من المرضى وتم فحص العينات وتم بمساعدة طبيب الاختصاص بالامراض الجلدية واخذ معلومات من المرضى وتم فحص مجهري مباشر للعينات بعد اخذها من المرضى اما عن طريق القشط منطقة المصابة بعد مسحها بالقطن مشبعة بالكحول بتركيز 70%لغرض التعقيم لتخلص من أي ملوثات .

التشخيص المجهري المباشر للعينات Direct Microscopic examination for Samples

تم أخذ العينات من الرأس والجلد والبقايا المتقرنة من الاظفر على شكل القشور أوالاظافر أو الشعر وتم وضعها على شريحة زجاجية ونضيف قطرة أو قطرتان من هيدروكسيد البوتاسيوم 10%وبعد قليل نضع شريحة زجاجية ثم نمررها فوق لهب مصباح بنزن بهدوء وذلك لاذابة المواد الكيراتينية مع تجنب الغليان ثم نقوم بالضغط عليها بلطف لغرض فرش العينة اما قطع الاظافر فقد وضُعِتَ في أنابيب أختبار وأضيف إليها كمية قليلة من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 10% وتركت في الحاضنة بدرجة حرارة (37) م ولمدة ساعة ثم أخذت كمية قليلة من هذه العينة بواسطة عروة التلقيح Loop ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ثم غطيت بغطاء الشريحة وضغط عليها بلطف بواسطة قاعدة أداة التلقيح لغرض الفرش ومن ثم فحصت جميع الشرائح الزجاجية المحضرة تحت المجهر باستخدام قوة 40X لملاحظة الخيوط الفطرية المتفرقة و السبورات المفصلية Arthrospores (13)(14)وقسم من القشور والعينات التي لم تعامل بالمحلول تم زراعتها على وسط سابروود دكستروز أكار الذي يحتوي على كلورومفينكول وسايكلوهكسمايد . ثم حضنت بدرجة 25م ولمدة (10–20) يوم وفحصت كل (3–4) ايام (15)بعد ظهور النمو الفطري على سطح الوسط الزرعي تم فحص المستعمرات الفطرية من خلال شكل المستعمرة – لون المستعمرة–فترة الحضانة Incubation period أيضا فحصها من الجهة المعاكسة Reverse Side كما يتم قياس قطر المستعمرة بعد توقف النمو واعتمدت على مصادر الاتية كمفاتيح التشخيص:-

Emmons,*et al* ., 1977; Davise , 1995 ; Baron *et al* . ,1994)
;Kwon –Chung ,& Bennet , ; Forbes, *et al* ., 1998 ; 1992
Suhonen , *et al* 1999; Rippon ,1988 ;Rebell & ; . (Taplin, 1970

الفحص المجهري للمستعمرات Microscopic Examenation of the Colonies

الفحص المجهري بطريقة التحميل الرطب Wet mount test:-

تم وضع قطرة من صبغة اللاكتوفينول على شريحة زجاجية نظيفة بواسطة ابرة تلقيح المعقمة Sterile Needle وتم نقل جزء من خيوط الفطرية من حواف المستعمرة ومزجت مع الصبغة وثم نضع شريحة زجاجية ونضغط بلطف لغرض فرش العينة(16)وفحصت العينة تحت المجهر تحت 40x لملاحظة الخيوط الفطرية وشكلها وايضا الكونيدات بأشكالها وأحجامها المختلفة macro and micro وطريقة ترتيبها وكذلك مُلاحظة السبورات الكلاميدية Chlamydospores والسبورات المفصلية Arthrospores (4).

الفحص المجهري بطريقة الشريط اللاصق Adhesive tape test

نأخذ شريط لاصق شفاف ونضع الجهة اللاصقة على سطح المستعمرة الفطرية النامية على وسط صلب وتحت ظروف معقمة وبعد ذلك نرفع شريط اللاصق بعد ألتصاق جزء من المستعمرة على شريط وثم نلصق شريط على شريحة زجاجية تحتوي صبغة اللاكتوفينول وفُحِصَتْ

الشريحة تحت المجهر بقوة(x10) أولا ثم على القوى الكبرى (x 40) لمُلاحظة الخصائص المميزة للكونيديات الصغيرة والكبير من حيث الشكل والترتيب والحجم(17).

الاستخلاص المائي Extraction Aqueous

أُتبعت طريقة(18) على النحو الآتي :-

وزِنَ(40) غم من النموذج النباتي ثم أضيف إليه(160) مل من الماء المقطر المُعقم وتم تقطيع النموذج النباتي بواسطة شفرة مُعقمة داخل الماء وذلك لتجنب فقدان المُركبات الفعالة الموجودة في النموذج النباتي هذا بالنسبة للثوم اما نبات الزنجبيل فيكون بشكل جذور يابسة فتم طحنه بواسطة طاحونة كهربائية وبعد ذلك تم وزِنَ(40) غم من النموذج النباتي ثم أضيف إليه(160) مل من الماء المقطر المُعقم يهرس المزيج داخل الخلاط الكهربائي وحُرِك بواسطة جهاز الهزاز Shakerالمجهز من قبل شركة Labco ثم بعد ذلك يترك المزيج بالثلاجة لمدة24 ساعة لغرض النقع .ثم رُشِحَ بعدها من خلال عدة طبقات من الشاش ثُم رُشِحَ ثانية باستخدام أوراق الترشيح وقد تم الترشيح في قمع بوخنر تحت الضغط المخلخل ركزت المستخلصات بعدها بتبخير الماء بأستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator في درجة حرارة لاتزيد عن (40) مْ حيث تم الحصول على مستخلص مركز كثيف القوام بعد ذلك تم صُب المستخلص في أطباق زجاجية معقمة ووضِعَ في فرن كهربائي بدرجة حرارة لا تتجاوز (40) مْ لحين جفافها ثُم وضِع المستخلص بعد جفافها في قناني زجاجية ذات غطاء مُحكم وحُفِظَتْ في الثلاجة لحين استخدامها .

الاستخلاص الكحولي Extract Alcoholic:

حُضِرَ المستخلص الكحولي وفقاً لطريقة (18)أُتبعت نفس الطريقة السابِقة المُستَخدمة في المُستخلص المائي ماعدا أستبدال المُذيب المائي بالكحول الاثيلي بتركيز90% .

تعقيم المستخلصات وتحضير التراكيز المُستخدمة في الدراسة

تم تحضير محلول خزين بأخذ 1 غم من مسحوق المستخلص النباتي الجاف وأذيب في 10 مل من الماء المقطر المعقم ، فأصبح تركيز المحلول الخزين100 ملغم / مل .عقم المحلول بالترشيح بإستخدام أوراق الترشيح(Whatman.No.1)للتخلص من بقايا النبات والشوائب والحصول على محلول خزين معقم ، وأستخدم كمصدر لتحضير التخافيف.(19)

فحص تأثير المُستخلصات بطريقة مزجها مع الوسط الزرعي وقياس قطر المستعمرة

تم تقدير تأثير المُستخلصات النباتية على ثلاثة عُزلات من الفطريات الجلدية المُعزولة إذ مُزِجَ الوسط الغذائي مع المُستخلص المائي أو الكحولي المُجفف وبتركيز (13،12،10،6) ملغم|مل وبعد تصلُب الوسط الغذائي . تم تلقيح الأطباق بأقراص قطرها (7)ملم مأخوذة من حواف مستعمرة فطرية بعمر (10) أيام بأستخدام ثاقب فليني .ثُم حُضنت الأطباق بدرجة حرارة (25)مْ لمُدة (12) يوماً وبواقع ثلاثة مُكررات لكل فطر .وتم قياس قطر المستعمرة النامية (معدل قطرين متعامدين) لمعرفة مدى تأثير المُستخلص على نمو الفطريات الجلدية أُتُبِعت طريقة(20).

طرائق الكشف الكيميائي العام عن المركبات الفعالة في المُستخلصات النباتية المُستخدمة قيد الدراسة

1- الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides

تم أخذ كمية من المستخلص النباتي في أنبوبة إختبار وأضيف إليه بضع قطرات من حامض الهيدروكلوريك (HCL) ، ووضعت في حمام مائي مغلي لمدة دقيقتين (وذلك بفصل الجزء السكري عن الجزء غير السكري) ثم أضيف إليها (2) مل من كاشف بندكت ، ووضع في حمام مائي مغلي لمدة (5) دقائق . دل ظهور راسب أحمر على أيجابية الكشف أي وجود الكلايكوسيدات(21).

2- الكشف عن الصابونيات

وزن (5)غم من النموذج النباتي وأضيف إليه (10)مل ماء مُقطر ، وتم رُج المزيج بشدة ، لُوحظ ظهور رغوة كثيفة تبقى لمُدة طويلة دل على ايجابية الكشف وايضا تم اضافة (3-1)مل من محلول كلوريد الزئبق إلى (5)مل من المستخلص النباتي ، دل ظهور راسب أبيض على ايجابية الكشف (22).

3- الكشف عن الفينولات

تم إضافة (3) مل من المُستخلص النباتي إلى (2) مل من محلول كلوريد الحديديك (1%) ،إن ظهوراللون أخضر مزرق دل على ايجابية الفحص(22).

4- الكشف عن الراتنجات Resins :

تم أخذ 10 مل من المستخلص النباتي وأُضيفَ إليه 20 مل من الماء المقطر المُحَمَّضِ بحامض الهيدروكلوريك 4 HCL% ، ويُسْتَدَلُ على وجود الراتنجات بظهور عُكَارَة Turbidity فيه .

5-الكشف عن التانينات Tannins:

تم غلي 10 غم من العينات النباتية في 50 مل من الماء المقطر ثُمَّ رُشِّحَ المحلول وتُرِكَ ليبرد ، وقُسِّمَ إلى جُزْءَيْنِ ، أُضيفَ لأحدهما بضع قطرات من محلول خلات الرصاص 1% ، حيث يُسْتَدَلُ على وجود التانينات بظهور راسب هلامي القوام . وأُضيفَ للجزء الآخر قطرتين من محلول كلوريد الحديديك 1% ، حيث يدل ظهور اللون الأخضر المزرق على وجود التانينات (23) .

6- الكشف عن القلويدات Alkaloids :

اتُّبِعَتْ طريقة(24)وذلك بغلي 10 غم من العينات النباتية مع 50 مل من الماء المقطر المُحَمَّضِ بحامض الهيدروكلوريك 40% ، ثُمَّ رُشِّحَ المحلول بعد تبريده وتم اختبار 0.5مل من الراشح في أنبوبة اختبار مع كل من الكواشف التالية :

الانبوبة	0.5 مل من الكاشف	لون الراسب الذي يكشف عن وجود الراسب
الاولى	ماير	أبيض
الثانية	واكنر	بني

حُضِر كاشف مايرَ حسب طريقة (Smolensk,1972) (46)لغرض الكشف عن القلويدات وكما ياتي : أُذيب (1.85) غم من كلوريد الزئبقيك في (60)مل ماء مقطر ومن ثم نذيب(5) غم من يويد البوتاسيوم KI في (10) مل ماء مقطر وبعدها نمزج المحلول أعلاه وأكمل الحجم إلى(100) مل بالماء مقطر .وحضر كاشف ماير حسب طريقة (Smolensk , 1972)(46)لغرض الكشف عن القلويات وكما ياتي :أذيب (2) غم من يوديد البوتاسيوم KI في (5) مل ماء مقطر ثم أضيف إليه (1.27) غم من اليود. ومُزجا حتى الذوبان ، ثم أُكمل الحجم إلى (100) مل بالماء المُقطر، وحُفِظَ في الثلاجة لحين الاستخدام .

تحضيرالمحلول الخزين للعقار كريزوفولفين Griseofulvin Stock Solution:-

تم استخدام النموذج المتوفر في الصيدليات والذي يكون على شكل حبوب(Tablets) . وبالنظر لقلة ذوبانية هذا المُضاد في الماء و قابليته للذوبان في الأسيتون (Acetone) . فقد أستعمل الأخير كمذيب لهذا المضاد(25) . وللحصول على محلول خزين لهذا المُضاد تم إذابة حبة واحدة بتركيز (500)ملغم في (10) مل من أسيتون وتحت ظروف مُعقمة وأصبح التركيز (50)ملغم/مل .

تحضيرالمحلول الخزين لعقار الكيتوكونازول ketoconazole:-

ايضا تم استخدام النموذج على شكل حبوب أو أقراص ذات تركيز 200مل ناخذ حبيتين ونصف ونذوبها في 10 مل من الاسيتون تحت ظروف معقمة ليصبح التركيز 50 ملغم /مل.

تحضير المحلول الخزين لعقار تربينافين Terbinafine :-

تم استخدام على شكل حبوب او أقراص ذات تركيز 250 مل حيث اخذ حبتين وتم أذابتها في 10 مل من الاسيتون تحت ظروف معقمه ليصبح التركيز 50ملغم/مل.

التحليل الاحصائي

حللت نتائج الدِراسة الحالية بأتباع أختبار دنكن متعدد الحدود.عند مستوى أحتمال (0.05%) وتم تنفيذ ذلك بأستخدام الحاسبة الالكترونية .

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة المتعلقة بعزل الفطريات الجلدية من المرضى المصابين ألى أن أغلبها تعود للجنسين *Trichophyton* و *Microsporum* فقط ولم تعزل الجنس *Epidermophyton* . وان هذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه عدد من الدراسات منها دراسة (26) و(27) الذين عزلوا جنسي , *Microsporum* *Tryophhtyon* فقط . لم تتفق مما توصلت إليه كل من (28) و(29) اللذان عزلتا كل أجناس الفطريات الجلدية. وتم تشخيص (75)عينة موجبة الفحص المجهري والزرع المختبري وشكلت نسبة (68.8%) من مجموع 109 عينة وتبين أن أكثر الانواع الفطريات المعزولة *T. mentagrophytes* وبواقع (21)عينة بنسبة(19.2%) وبعده *M.ferrgineum* بواقع (15)عينة وبنسبة(13.7%) ويليه *T.verrucosum* و بواقع (12)عينة وبنسبة (11%)ويليه *Piedraia hortae* وبواقع (9)عينة وبنسبة (8.2%) ويليه *T. schoienlinii* وبواقع (7) وبنسبة (6.4%) ويليه *T..rubrum* وبواقع(6)عينات وبنسبة(5.5%)ويليه *m. canis* وبواقع (4)عينات وبنسبة(3.6%)ويليه *pencillium spp* و بواقع (1) عينة وبنسبة(1.3%) وأظهرت الدراسة الحالية إن الفطر *T. mentagrophytes* هو السائد بين الفطريات المعزولةجدول(1) . وهذه النتيجة تتفق مع (26)و(27) إذا كان الفطر *T.mentagrophytes*هو السائد بين الفطريات المعزولة في دراستهما . ولا تتفق هذه النتيجة أيضاً مع (30)إذ كان الفطر *E. flocoosum* هو السائد بين الفطريات المعزولة .وكذلك لا تتفق مع (31)إذ إن الفطر *T.rubrum* هو السائد . وأظهرت النتائج أن نسبة الإصابة بين الذكور والإناث بلغت عند الاناث (51.3%) والذكور (48.6%)من مجموع الكلي العينات المزروعة كما مبينة في جدول رقم(2).

الكشف الكيميائي العام عن المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية لزنجبيل والثوم :-

أظهرت نتائج الكشف الكيمياوي لبعض المواد الفعالة للنباتات جذور الزنجبيل الجافة وفصوص نبات الثوم على أحتوائها على المركبات الاتية :-الفينولات والصابونيات و وراتنجات والتربينات وكلايكوسيدات وفلافونيدات في المستخلصين المائي والكحولي وتختلف فقط في خلو مستخلص المائي والكحولي لزنجبيل على القلويدات عكس المستخلص المائي والكحولي لثوم الذي أظهرت النتائج على وجود القلويدات فيه جدول(3).

تأثير المستخلصات النباتية في نمو بعض الفطريات الجلدية المدروسة :-

تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الثوم :-

أظهرت نتائج الدراسة لمستخلص المائي لثوم فعالية تثبيط عالية لجميع الفطريات المستخدمة في هذه الدراسة وهذا ماأكده التحليل الاحصائي عند مستوى معنوية 5% *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum* وكان معدل أقطارهم (5.1ملم)و (3.6ملم) و (5.5ملم) على التوالي ولوحظ أن جميع الفطريات ثبطت تماما عند التركيز 13ملغم/مل حيث يعتبر هذا التركيز هو MIC(التركيز المثبط الادنى للفطر) وأما عند التركيز \12ملغم /مل فقد ثبطت نموها الى حد كبير اذ بلغ معدل أقطار المستعمرات (2.3ملم) ،(2.2ملم)،(2ملم) وبنسب بلغت (94.7%) و(93.8%)و(93.5%)على التوالي وعنده التركيز 10ملغم/مل بلغت معدل اقطار المستعمرات(4.5ملم)،(4.3 ملم)،(7.6 ملم) وبنسب بلغت (89.7%) و(88%)و(75.4%) على التوالي. وقد أظهر تركيز 6ملغم/مل نسبة تثبيط مختلفة لكل فطر أذ بلغ معدل أقطار المستعمرات (13.7ملم)،(8 ملم)، (12.2ملم) وبنسب بلغت(68.8%) و(77.7%)و(60.6%) ولوحظ خلال الدِراسةزيادة تركيز المستخلص

المائي أدى إلى تثبيطها أي أن علاقة طردية بين تركيز المُستخلص ودرجة تثبيط الفطريات رُبما يُعزى السبب إلى إن مُستخلص الثوم يحتوي على جميع المُركبات الكيميائية وهذا ما أظهرهُ الكشف الكيميائي حيث أحتوى على الكلايكوسيدات والقلويدات والراتنجيات والفلينولات التي عرُفت بوصفها مُضادات ومواد مُطهِرة ومُعقِمة ومواد مؤكسدة سامة الأحياء الدقيقة (32).

أظهر المُستخلص الكحولي للثوم تأثيراً تثبيطياً مُختلفاً ، حيث أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بوجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالي (5%) بين مُعدل أقطار المستعمرات الفطرية لكل من *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum* حيث كان معدل أقطارهم (4.8 ملم) و (4 ملم) و (4.7 ملم) ولوحِظ أن الفطر *T.mentagrophytes* و *M.ferrginum* أعطى أقلُ نمواً نتيجة تأثيره بالمُستخلص الكحولي أكثر مِن المائي وزاد تثبط الفطريات المدروسة بزيادة تركيز المُستخلص أي أن العلاقة كانت طردية بين تركيز المُستخلص الكحولي للثوم مع درجة تثبيط الفطر حيث ثبطت تماما عند تركيز (13ملغم /مل) حيث يعتبر هذا التركيز هوMIC(التركيز المثبط الادنى للفطر) وقد أظهرت التراكيز 12ملغم/مل نسبة تثبيط متقاربة لاقطار الفطريات، إذ بلغ معدل أقطار المستعمرات (2.9 ملم) ، (2.7 ملم) ، (3.1ملم) وبنسب (93.4%) و(92.5%) و(90%) على التوالي وقد أظهرت التراكيز 10ملغم/مل و 6ملغم/مل نسبة تثبيط اختلفت باختلاف النوع الفطري ، إذ بلغ معدل أقطار المستعمرات عند التركيز 10ملغم/مل (5.8ملم) ، (4.2 ملم) ، (5.1ملم) وبنسب بلغت (86.8%) و(88.3%) و(83.5%)على التوالي و أما عند التركيز 6ملغم/مل فقد بلغ معدل أقطار المستعمرات (10.4ملم) ، (9.2ملم) ، (10.6ملم)وبنسب(76.3%)و(74.4%)و (65.8%) على التوالي تبيّن من خلال هذه الدراسة أن تأثير المستخلص الكحولي على الفطريات *T.mentagrophytes* و *Pidra hortae* و *M.ferrginum* أكثر من المستخلص المائي جدول(4) وأتفقت نتائج هذه الدراسة مع الدراسة التي قام بها(33)(34) في تايلند الذين أشاروا إلى أن المستخلص الكحولي لأوراق نباتات *cassia alata*، *c.tora* ، *C. fistula* قد أظهرت فعالية تثبيطية جيدة ضد الفطريات الجلدية التي اشتملت على *T.rubrum* و *M.gypecum* ، *Penicillium*والخميرة *Candida albicans*.

وتتفق هذه الدراسة مع الدراسة التي قام بها (35) في تايوان الذي أشار إلى أن المستخلص الكحولي لبذور أوراق نبات *Moringa oleifera* أظهر فعالية تضادية ضد الفطريات الجلدية التي اشتملت على *T.rubrum* ، *T.mentagrophytes* ، *Epidermatophyton floccosum* ، *M.cains* وتتفق مع نتائج (11)إذ أظهرت نتائجه بأن المستخلص الكحولي لأوراق الدفلة البيضاء كان أكفأ في تثبيط نمو الفطريات المعزولة من المستخلص المائي ويعزى سبب كفاءة المستخلصات الكحولية إلى احتوائها على العديد من المركبات الفعالة كالتانينات بالإضافة إلى وجود متعدد الفينولات التي هي مواد ذائبة في الكحول والأسيتون وغير ذائبة في الايثر والكلوروفورم والبنزي(36). قد يعود السبب في كفاءة المستخلصات الكحولية لثوم إلى أن المركبات الفعالة في النباتات الطبية لها قابلية على الذوبان في المذيبات العضوية مثل الايثانول إذ يكون تركيزها أعلى في المستخلص الكحولي من المستخلص المائي (32).

تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الزنجبيل :-

أظهرت النتائج أن مستخلص المائي لنبات الزنجبيل نسبةتثبيط عالية تجاه الفطريات الجلدية المدروسة وهذا ما أكده التحليل الإحصائي عند مستوى أحتمالي (5%) وأظهر التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية بين مُعدل أقطار كُل مِن الفطريات *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum*. وكان مُعدل أقطارهم (5.4) ،(17.8) ، (5.4) على التوالي. ولوحظ خلال الدِراسة أن زيادة تركيز المُستخلص يزداد تثبيط الفطر . باستثناء الفطر *Pidraia hortae* حيث لوحظ أن زياد تركيز المُستخلص لا يؤثر سلباً على نمو هذا الفطر وإنما كان تأثيره إيجابياً وهذا يعني زيادة قطر المُستعمرة الفطرية بزيادة تركيز المُستخلص ويكون العلاقة بين تركيز المُستخلص و درجة تثبيط نمو الفطر ذات علاقة عكسية ، وإن المُستخلص المائي لزنجبيل يؤدي إلى تنشيط الفطر *Pidraia hortae* على عكس الفطريات الأخرى التي أظهرت بان زيادة تركيز المستخلص المائي أدى إلى تثبيطها أي أن علاقة طردية بين تركيز المُستخلص ودرجة تثبيط الفطريات ، ولوحظ ان الفطر *M.ferrginum*.و *T.mentagrophytes* ثبطت تماما عند التركيز 13ملغم/مل حيث يعتبر هذا التركيز هوMIC(التركيز المثبط الادنى للفطر) ولوحظ ان الفطر *M.ferrginum* . أعطى أقل نمواً عند تركيز (12) ملغم/مل (2.4) ملم وكان نسبة التثبيط له عند هذا التركيز(92.3%) ، أما فطر *T.mentagrophytes* وكان قطرهُ عِند تركيز (12) ملغم/مل (3.2) ملم ونسبة التثبيط عند هذا التركيز (92.7%) ، وأما قطر مستعمرة الفطر *Pidraia hortae* فقد زادت بزيادة تركيز المُستخلص حيث وصل قطر المستعمرة عند تركيز (13) ملغم/مل (28)ملم ، رُبما يُعزى سبب هذه النسبة القليلة للتثبيط أو تنشيط في نمو الفطر هو عدم تأثرِه بالمُركبات الكيميائية الموجودة في المُستخلص المائي لزنجبيل أو بسبب صعوبة أختراق المُستخلص لجدار الخلية أو بوجود بعض المواد التي أدت إلى تحفيز الفطر على النمو أما عند تركيز (10)ملغم/مل والتركيز (6)ملغم/مل فقد أظهرت نسب تثبيط أختلفت باختلاف النوع الفطري أذ بلغ معدل قطر مستعمرة فطر *T.mentagrophytes* (4.4) ملم و(13.8) ملم على التوالي وبنسب بلغت (90%)و (68.6%)على التوالي أما معدل قطر مستعمرة فطر *M.ferrginum* فقد بلغت (8) ملم و(11)ملم على التوالي وبنسب بلغت (74%) و (64.5%) على التوالي جدول(5) .

أظهر المُستخلص الكحولي لزنجبيل تأثيراً تثبيطياً مُختلفاً ، حيث أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بوجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالي (5%) بين مُعدل أقطار المستعمرات الفطرية لكل مِن

T.mentagrophytes و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum* حيث كان مُعدل أقطار المستعمرات (4.5) ، (14) ، (4.7) على التوالي جدول(5) . ولوحِظ أن الفطر *T.mentagrophytes* أعطى أقلُ نمواً نتيجة تأثيره بالمُستخلص الكحولي أكثر مِن المائي ، وزاد تثبط فطر *T.mentagrophytes* و *M.ferrginum* بزيادة تركيز المُستخلص أي أن العلاقة كانت طردية بين تركيز المُستخلص الكحولي لزنجبيل مع درجة تثبيط الفطرحيث ثبطت تماما عند التركيز 13ملغم/مل حيث يعتبر هذا التركيز هو MIC(التركيز المثبط الادنى للفطر) ، وأعطى الفطر *Pidraia hortae* أعلى نمو أي زاد قطره بزيادة تركيز المُستخلص الكحولي بصورة مشابهة لما أظهر المُستخلص المائي لنفس النبات ولكن بنسبة اقل حيث كان مُعدل قطر مستعمرته عِند تركيز (13) ملغم/مل (22.2) ملم وهذا يُعزى إلى أن كلا المُستخلصين يُحفزان على نمو الفطر *Pidraia hortae* أي ذات تأثير إيجابي . أما بالنسبة لفطر *T.mentagrophytes* و *M.ferrginum* فقد كان مُعدل أقطار مستعمراتهم عند تركيز (12) ملغم/مل (2) ، (2.2) ملم ونسبة تثبيطهما بلغ (95.4%) ، (93%) على التوالي أما عند تركيز (10)ملغم/مل فقد بلغ معدل أقطارهم (4.2)ملم و(6.1)ملم وبنسبة تثبيط (90%) و(80.3%)على التوالي وعند تركيز (6)ملغم/مل فقد بلغ معدل أقطارهم (11.8)ملم و(10.6)ملم وبنسبة تثبيط بلغت (73%) و(65.8%) على التوالي . وهذا يعني أن المُستخلص ، المُستخلص الكحولي أعطى تأثيراً تثبيطياً أعلى مِن المُستخلص المائي جدول(5) . وتعود الفعالية المضادة للاحياء المجهرية في الزنجبيل لاحتواء مستخلصاته على الفينولات phenols أبرزها الجنجيرول Gengerols والشوكاؤل Shogaols بالاضافة لكونه يحتوي على التانينات Tannins(37) أذ أن الانواع النباتية التي تحتوي على الفينولات والزيوت الطيارة لها تثبيط ضد الاحياء المجهرية ،كما أن المستخلصات الايثانولية للعائلة الزنجبيلية Zingiberaceae تحتوي على مواد فعالة أبرزها المركبات الفينولية التي لها تأثير مضاد للفطريات (38) حيث أن الحلقة الاروماتية في هذه المركبات تحتوي على مجموعة هيدروكسيل (-OH) والتي تميل لتكوين أصرة هيدروجينية مع الجانب الفعال من الانزيمات وبذلك تتغير حجوم هذه الانزيمات وتتغير خواصها وبالتالي لاتكون فعالة في الخلية فتؤدي الى توقف مسارات حيوية معينة في الخلية مؤدية بذلك الى أيقاف نموها أوموتها ،كما أن المركبات الفينولية تؤثر على توازن المحتوى الخلوي من الخلوي من خلال أحداثها أضرارا لبعض البروتينات الموجودة على الغشاء الخلوي فضلا عن ذلك فأنها تعمل على مسخ البروتين حيث أن هذه المركبات تمتص من قبل أسطح البروتينات وتكون معقدا معها فيتغير شكل وحجم البروتينات فتتغير صفاتها وبالتالي طبيعة عملها فيتوقف أحد المسارات الحيوية في الخلية مؤديا الى توقف نموها أو موتها، كما يحتوي الزنجبيل على التانينات و والراتنجات والتي لها فعل مضاد للفطريات ،حيث تعمل التانينات على ترسيب البروتينات المرتبطة بالاغشية الخلوية للفطريات وبالتالي التأثير على عملية السيطرة على دخول وخروج المواد من وألى الخلايا الفطرية ،فضلا عن تكوينها معقدات مع السكريات المتعددة وتأثيرها على الانزيمات(32)(38)(39).

تأثير نوع المستخلص في نمو بعض الفطريات المدروسة:-

أظهرت النتائج الحالية حول تأثير نوع المستخلص المثبط بنوعيه المائي والكحولي للثوم والزنجبيل على نمو الفطريات الجلدية قيد الدِراسة وجود فروقات في معدل التأثير التثبيطي بين المُستخلصين المائي والكحولي عِند مستوى معنوي (5%) وهذا ما أكدتهُ نتائج التحليل الإحصائي حيث بلغ مدل تثبيط المستخلصين(7.1)مل و(6.1)مل على التوالي . ولكن لوحِظ عدم وجود فروقات معنوية بين مُعدل أقطار *T.mentagrophytes e* و *M.ferrginum*،حيث كان المستخلص الكحولي أكفا من المائي في تثبيط *T.mentagrophytes* و *M.ferrginum* وكان معدل أقطارهم (4.6) ملم ، (4.7) ملم على التوالي بالمُقارنة بالمُستخلص المائي والذي كان أقطارِهم (5.2) ملم ، (5.4) ملم على التوالي جدول(6) . رُبما يُعزى السبب إلى أحتواء المُستخلص الكحولي على الزيوت الأساسية الغنية بالمُركبات العضوية الكبريتية وهذا يتفق مع ما توصل إليه(41)وأشار إلى إن المُستخلصات الكحولية تعُرف بفعاليتها المُضادة للجراثيم المؤجبة و السالبة لصُبغة الكرام بضمنها *E.coli* ، *Clostridium* فضلاً عن فعاليتهِ ضِد الطُفيليات كاللشمانيا . أو يُعزى إلى أحتوائهِ على مُركبات الكبريت الفعالة ضد الجراثيم التي تكون ذائبة في الكحول (42) . أما بالنسبة لفطر *Pidraia hortae* لوحِظ زيادة معدل النمو في كِلا المُستخلصين المائية و الكحولية لنبات الزنجبيل وتثبيط معدل النمو في لبمستخلصين المائي والكحولي لنبات الثوم و الذي كان معدل قطره للمستخلص المائي(10.7)ملم والكحولي(9)ملم ولوحِظ عدم وجود فروق معنوية بينهم جدول(6).

تأثير صنف النبات والتركيز في نمو الفطريات الجلدية قيد الدِراسة الفطر *T.mentagrophytes*

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي إلى عدم وجود فروقات معنوية بين نبات الثوم والزنجبيل في تأثيرهما التثبيطي على *T.mentagrophytes* و لوحِظ مِن نتائج الجدول (7) وجود فروق معنوية بين تراكيزكلا النباتين وهذا ما أظهرته نتائج التحليل الاحصائي عند مستوى أحتمالي(5%)حيث أن مُعدل قطر الفطر يقل بزيادة تركيز مُستخلص الثوم والذي كان قطرهُ عِند تركيز (6) ملغم/مل (12) ملم ، وعِند تركيز (10) ملغم/مل وتركيز (12) ملغم/مل (5.1)ملم و(2.6) ملم على التوالي أما عند تركيز (13)ملغم/مل فقد ثبط تماما ويعتبر الحد الادنى لتثبط (MIC) ، وهذا الفرق الكبير بين قطر المُستعمرة الفطرية ناتجة مِن التأثير التثبيطي الكبير لنبات الثوم ، أما بالنسبة لتراكيز نبات الزنجبيل (6)ملغم/مل و(10)ملغم/مل و(12)ملغم/مل فقد بلغت أقطار مستعمرات(12.8)ملو(4.3)مل و(2.6)مل على التوالي وعند تركيز (13)ملغم/مل ثبط تماما وأظهرت النتائج أن تثبيط

المُستعمرة الفطرية تزداد بزيادة تركيز نبات الثوم والزنجبيل وهي علاقة طردية بين تركيز النبات وتثبيط الفطر جدول(7) .

الفطر *M. ferrginum*

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروقات معنوية بين نبات الثوم والزنجبيل مِن ناحية التأثير التثبيطي على قطر المُستعمرة الفطرية رُبما يُعزى سبب التأثير نفسهُ لكِلا النباتين لأحتوائهما على أغلب المُركبات الكيميائية وهذا ما أظهرتهُ نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي بالنسبة لنبات الثوم والزنجبيل ، وبوجود فروقات معنوية بين التراكيز حيث كان مُعدل قطر المُستعمرة الفطرية عِند تركيز (6) ملغم/مل و(10)ملغم/مل و(12)ملغم/مل (11.6) ملم و(7.8)ملم و(2.2)ملم على التوالي وعِند تركيز (13) ملغم/مل ثبط تماما بالنسبة لنبات الثوم جدول (8) . وأما بالنسبة لنبات الزنجبيل فقد كان معدل قطرالمستعمرةُ عِند تركيز (6) ملغم/مل و(10)ملغم /مل و(12)ملغم/مل (10.8)مل و(7)مل و(2.3)مل على التوالي وعِند تركيز (13) ملغم/مل أيضا قد ثبط تماما ويعتبر هذا التركيز المثبط الادنى (MIC) وهذا يُشير إلى زيادة التثبيط بزيادة تركيز المُستخلص لثوم والزنجبيل جدول(8).

الفطر *Pidraia hortae*

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بوجود فروقات عِند مستوى أحتمالي (5%) بين نبات الثوم والزنجبيل في تأثيرهما على الفطر *Pidraia hortae* وكذلك وجود فروقات معنوية بين تراكيز كِلا النباتين و قطر المُستعمرة الفطرية ، و لوحِظ مِن نتائج الجدول(9)أن نبات الثوم قد أثر على نموجميع الفطريات حيث كان معدل قطره عند تركيز (6)ملغم/مل و(10)ملغم/مل و(12)ملغم/مل (8.6)مل ،(4.2)مل ،(2.4) على التوالي أما عند تركيز (13)ملغم/مل فقد ثبط تماما وأظهرت نتائج الدِراسة لنبات الزنجبيل زيادة قطر المُستعمرة الفطرية بزيادة التركيز حيث كان قطرهُ عِند تركيز (6) ملغم/مل (8) ملم وعِند تركيز (10) ملغم/مل (12.8) ملم وعند تركيز (12)ملغم/مل و(13)ملغم/مل (18.4)مل و(25.1)مل، . وهذا يشير إلى وجود علاقة طردية بين تركيز النبات و قطر المُستعمرة الفطرية في كلا النباتين . رُبما يُعزى سبب تحفيز نمو الفطر *Pidraia hortae* الى أحتواء الزنجبيل على بعض المُركبات التي تعمل على تحفيز نمو الفطر أو رُبما أحتوائه على المُركبات المُتطايرة .إن المُركبات المُتطايرة تعمل على تحفيز التكوين المظهري لتراكيب الجنسية ، و في كثير مِن الحالات لوحِظ إن المُركبات الطيارة تحفز أنبات السبورات و نمو الغزل الفطري ، فضلاً عن إن بعض مِنها تأثير سام(43) .

تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة:-

أوضحت نتائج هذه التجربة عدم وجود فروقات معنويةعند مستوى أحتمالية (5%) في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum.* للمضادات الفطرية المختبرةTerbinafineو Ketoconazole و Griseofulvin، إذ لوحظ أثناء الدراسة بان ان التركيز المثبط الادنى(MIC) لمضادات المذكورة لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية كان 0.4ملغم /مل حيث ثبطت تماما أما عند تركيز 0.3ملغم /مل لمضادGriseofulvin فقد بلغت نسبة تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة *T.mentagrophytes* و *Pidraia hortae* و *M.ferrginum* (97.7%) و(97.2%) و (95.8%) على التوالي.

ولمضاد Ketoconazole بلغت نسب التثبيط (97.2%)و(95.8%) و(95.1%)على التوالي ولمضاد Terbinafine بلغت نسب التثبيط (97.7%) و(97.2%)و(96.1%) على التوالي جدول (9) إن فعالية مضادات Azoles و Terbinafine تمتاز بتثبيط تكوين معقد Ergosterol الذي يعد المكون الرئيسي للغشاء البلازمي للفطريات، إذ ينظم نفاذية وفعاليات إنزيمات هذا الغشاء وهي المكون الرئيسي للحويصلات الإفرازية ولهذا المعقد دور مهم في عملية تنفس المايتوكوندريا(44)، إذ تعمل مضادات Azoles على إنزيم هدف هو sterol 14α-demehtylase والذي يشفر له عن طريق الجين CYP51 ونتيجة التداخل مع هذا الجين يحدث انخفاض في معقد Ergosterol وتراكم 14-methylsterols وبالتالي يربك عمل الخلية الفطرية وربما يؤدي إلى موتها و إن مضاد GRF يعمل على تثبيط إنبات الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia التي تمتاز بجدار سميك ومقاوم للمضادات الفطرية وأيضا يتداخل مع بناء الانيبيبات الدقيقة وبالتالي تكوين المغزل ودقة حدوث الانقسام الاعتيادي(45)

الجدول(1)الاعداد والنسب المئويةللانواع الفطريات الجلدية المعزولة من 109 عينة جلدية متنوعة وكما ظهرت في أختبارات الزرع .

نوع الفطر	العدد العينات	النسبة المئوية (%) للعينات
M.canis	4	3.6
M.ferrgineum	15	13.7
Pencillium. spp	1	1.3
Piedra hortae	9	8.2
T. schoienlinii	7	6.4
T.rubrum	6	5.5
T.mentagrophytes	21	19.2
T. verrcosum	12	11
سليمة من الفطريات الجلدية	34	31.1
المجموع	109	100

جدول(2) توزيع الإصابة بالأمراض الفطرية الجلدية حسب الجنس وبالاعتماد على الفحص المِجهري المباشر و الزرع المُختبري

الجنس	العدد الكلي	النسبة المئوية %	الفحص المجهري المباشر				الزرع المجهري			
			عدد الحالات الموجبة	النسبة المئوية	عدد الحالات السالبة	النسبة المئوية %	عدد الحالات الموجبة	النسبة المئوية %	عدد الحالات السالبة	النسبة المئوية %
ذكور	53	48.6	40	47.6	13	52	40	53.3	14	41.1
إناث	56	51.3	44	52.3	12	48	35	46.6	20	58.8
مجموع	109		84		25		75		34	

جدول(4) أقطار المستعمرات(cmm)للفطريات الجلدية النامية على التراكيز مختلفة من المستخلص الثوم المائي والكحولي

نوع النبات	نوع المستخلص	التركيز	نوع الفطر			المعدل التركيز
			T.mentagrophytes	*Pidraia hortae*	*M.ferrginum*	
الثوم	المائي	6	a 13.7	b 8	a 12.2	A11.3
		10	c 4.5	c 4.3	b 7.6	E5.5
		12	d 2.3	d 2.2	d 2	Fg2.1
		13	e 0	e 0	e 0	I 0
	المعدل		b 3.6	a 5.5	a 5.1	
	الكحولي	6	a 10.4	a 9.2	a 10.4	B 10.1
		10	b 5.8	b 4.2	b 5.8	E 5
		12	c 2.9	c 2.7	c 2.9	F 2.9
		13	d 0	d 0	d 0	I 0
	المعدل		b 4	a 7.4	a 4.8	
معامل السيطرة			a 44	b 36	c 31	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

معامل السيطرة :- معدل قطر المستعمرة الفطرية بدون إضافة أي مادة إلى الوسط الزرعي .

جدول(5) أقطار المستعمرات(cmm)للفطريات الجلدية النامية على التراكيز مختلفة من المستخلص الثوم المائي والكحولي

نوع النبات	نوع المستخلص	التركيز	نوع الفطر			المعدل التركيز
			T.mentagrophytes	Pidraia hortae	M.ferrginum	
الزنجبيل	المائي	6	c 13.8	e 9	d 11	A11.3
		10	f 4.4	c 14	e 8	C 8.8
		12	f 3.2	b 20	f 2.4	C 8.5
		13	g 0	a 28	g 0	BC9.3
	المعدل		b 5.4	a 17.8	a 5.4	
	الكحولي	6	c 11.8	d 7	c 10.6	B 9.8
		10	d 4.2	c 10	d 6.1	D 6.8
		12	e 2	b 16.8	e 2.2	D 7
		13	f 0	a 22.2	f 0	D 7.3
	المعدل		b 4.5	a 14	a 4.7	
معامل السيطرة			a 44	b 36	c 31	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

معامل السيطرة :- معدل قطر المستعمرة الفطرية بدون إضافة أي مادة إلى الوسط الزرعي

جدول (6) معدل أقطار المستعمرات (cmm) للفطريات الجلدية المتأثره بنوع المستخلص في نمو بعض الفطريات الجلدية

نوع المستخلص	الفطريات الجلدية المدروسة			
	T.mentagrophytes	*Pidraia hortae*	*M.ferrginum*	معدل المستخلص
مائي(الثوم والزنجبيل)	b 5.2	a 10.7	b 5.4	a 7.1
كحولي (الثوم والزنجبيل)	b 4.6	a 9	b 4.7	b 6.1
معدل قطر التثبيط	b 4.9	a 9.8	b 5	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

جدول (7) معدل قطر المستعمرة(cmm)الفطر*T.mentagrophytes* النامي على عدد من التراكيزالمتقاربة من المستخلص النباتي الثوم والزنجبيل

التركيز	6	10	12	13	معدل النبات
الثوم	a 12	b 5.1	b 2.6	b 0	A 4.9
الزنجبيل	a 12.8	b 4.3	c 2.6	d 0	A 4.9
معدل التركيز	a 12.4	b 4.7	c 2.6	d 0	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

جدول (8) معدل قطر المستعمرة(cmm)الفطر *M.ferrginum* النامي على عدد من التراكيزالمتقاربة من المستخلص النباتي الثوم والزنجبيل

التركيز	6	10	12	13	معدل النبات
الثوم	a 11.6	b 7.8	c 2.2	d 0	A 5.4
الزنجبيل	a 10.8	a 7	c 2.3	d 0	A 5
معدل التركيز	a 11.2	b 7.4	c 2.2	d 0	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05)

جدول (9) معدل قطر المستعمرة(cmm)الفطر.*Pidraia hortae* النامي على عدد من التراكيز المتقاربة من المستخلص النباتي الثوم والزنجبيل

التركيز	6	10	12	13	معدل النبات
الثوم	d 8.6	e 4.3	f 2.4	g 0	B 3.8
الزنجبيل	d 8	c 12	b 18.4	a 25.1	A 15.8
معدل التركيز	c 8.3	c 8.1	b 10.4	a 12.5	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

جدول(10) معدل قطر المستعمرات (cmm)من الفطريات الجلديةT.mentagrophytes و*Pidraia horta* و*M.ferrginum* النامية على تراكيز مختلفة من المضادات الفطرية

نوع المضاد	التركيز	نوع الفطر			متوسط التركيز
		T.mentagrophytes	*Pidraia horta*	*M.ferrginum.*	
مضاد الكريزوفولفين	0.3	a 1	a 1.3	a 1	A 1.1
	0.4	a 0	a 0	a 0	A 0
مضاد كيتوكونازول	0.3	a 1.5	a 1.5	a 1.2	A 1.4
	0.4	a 0	a 0	a 0	A 0
مضاد تربينافين	0.3	a 1	a 1.2	a 1	A 1.1
	0.4	a 0	a 0	a 0	A 0
المعدل		a 0.5	a 0.6	a 0.5	
معامل السيطرة		a 44	b 36	c 31	

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (p < 0.05) .

معامل السيطرة :- معدل قطر المستعمرة الفطرية بدون إضافة أي مادة إلى الوسط الزرعي .

المصادر

1- Prescott M.; Harley P. and Klein, A. (2001). Microbiology 2nd , ed Printed in the united state of America by W.M.C. Brown communication. inc, 2460 karper Boulerand. Dubuque, IA5

2- Matsumoto, T. (1996). Fungal diseases in dermatology. In: Kibbler C.C., Mackenzie, D.W. and Odds, F.C.(eds.). Principle and Practice of Clinical Mycology. J. Wiely and New York. p: 103-129.

3- Hawksworh, D.L.; Sutton, B.C and Ainsworth, G.C.(1983). Ainsworth and Bisbys Dictionary of fungi. Commonwealth. Mycological., Institute Kew Surrey. pp:44.

4- Kwon-Chung K.J. &Bennett J.E. (1992). Medical Mycology. Lea and Febiger, Philadelphia.

5- Watanabe, S. (1999). Present state and future direction of topical antifungals. Japanese Journal of Medical Mycology., 40: 5-151.

6- Lesher. J. L. (1999). Oral therapy of common superficial fungal infections of the skin. Journal of the American Academy of Dermatology., 40: S31-4.

7- Xia, Q. and Kong, J. (1998). Methods used in ethnomedicine studies in applied ethnobotony, proceeding of the National Training work shop on applied Ethnobotany in china.

8- Pei, S.J. (1999). Modernize taditional medicine and inheritance of Ethno- Medicine in china ethnobotany, 3: 27-35.

9- WHO, (1996). Supplementary guide lines for manufacture of herbal medicinal products. WHO tech. Rep. Genova. Anney. 8: 109-113.

10-يحيى، توفيق الحاج(2003). النبات والطب البديل .ط1،الدار العربية لعلوم، بيروت. لبنان.

11-السامرائي ، بثينة عبدالخالق عقيل (2009) . تأثير مستخلصات نبات الدفلة على نمو بعض الفطريات الجلدية المعزولة من المرضى مدينة سامراء . رسالة ماجستير،جامعة تكريت. جمهورية العراق .

12-شوفالييه ،أندرو (2005). الطب البديل :التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية .ترجمة :عمر الايوبي .مراجعة وتحرير وأشراف ،محمد دبس .أكاديميا انترناشيونال .بيروت .لبنان.

13-Ellis, D.H.(1994).Clinical Mycology. The Human Opportunistic Myosis. Pfizer, New York .

14- Evan, E. G. V. (1997) .Fungi: thrush, ringworm, subcutaneous and systemic mycoses In: Green wood, D.; Slack, R . and Peutheres, J.(eds). Medical Microbiology 15th . Edition .Churdrill living stone .pp.556-56.

15- Ellabib , M.S. & Khalifa ,Z.M. (2001). Dermatophytes and other fungi associated with skin Mycosis in Tripoli ,Libya .Ann. Saudi. Med., 21(3-4):193-195.

16- Forobes ,B.A.; Sahm, D.F. & Weissfeld , A.C. (1998). Dignostic Microbiology.10th ed., Mosby, Inc. London.

17- Baron , E.J.; Peterson ,L.R.& Finegold, S.M .(1994). Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology .9th ed., Mosby Baltimor. London.

18- Rios, J.L., Recio, M.C. & Villar, A.(1988). Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area .J. Ethnopharmacol .21: 139-152.

19- Mitscher , L.A.; Leu ,R.; Bathala , M.S.; Beal ,J.L. & White, R. (1972). Antimicrobial agents from higher Plants .lioydia.35:157-166.

20- Kady, I.A.; S.S.M., El-Maraghy and E.M., Mohamed. (1993). Antibacterial and Antidermatophyte activities of some essential oil from species. Qater uni., Sci.J. 13 (1) : 9-63.

21- Evans ,W.C.(Editor).(1999). Trease and Evan's. Pharmacognsy .14th ed., W.B. Saunders Company Ltd. V.K.

22- Harborne, J.B.(1973). Phytochemica Method , Aguide to modern techniques of plant analysis .Chapman and Hall Ltd. London.pp:159-165.

23- الدلالي ،باسل كامل والحكيم ، صادق حسن(1987) تحليل الاغذية .دار الكتب ،جامعة الموصل .العراق

24- Fahmy, I.R. (1933). Constituents of plant crude drugs. (1st. Ed.). poul, Barbey. Cairo.

25- Trissel ,L.A.(2005). Stability of Compound formulation 3rd ed., American Pharmacists Associalion ,Washington .

26- الطائي ، سعاد ريحان عواد(2001) . تأثير مستخلصات نباتية على نمو فطريات جلدية معزولة من مرضى مصابين بأمراض جلدية وعلى نمو بعض أنواع البكتريا المرضية.رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة تكريت. جمهورية العراق.

27- حمد ، عبدالله غانم قدوري (2008). التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية في نمو فطريات جلدية ممرضة معزولة من المرضى . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تكريت .العراق

28- القيسي، أعراف حارث عبد الوهاب (2006). دراسة الوبائية والتداخل البكتيري للفطريات الجلدية Dermatophytes، رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد. جمهورية العراق

29- الجميلي ، أفراح قاسم صالح (2008). تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو الفطريات المعزولة من الإصابات المرضية الفطرية في مستشفى تكريت العام ، رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة تكريت. جمهورية العراق.

30- محمود، وجدان رضا(2000). الاصابات الفطرية الجلدية في محافظة بابل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل. جمهورية العراق.

31- الجنابي ،علي عبد الحسين صادق (2004). معالجة الأمراض الجلدية المتسببة من الفطريات الجلدية Dermatophytes بمراهم حاوية على مركبات البيورين أطروحة دكتورا ،كلية العلوم ،جامعة المستنصرية .العراق.

32- Cowan, M. M.(1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4)564-582 .

International Journal of pure and Applied Sciences. 4(1): 88-94.
40- Farag, R.S.; Daw, Z.Y.; Hewedi, F.M. and EL-Baroly, G.S.A. (1989). Antimicr-obial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food prot. 52:665-667.
41- Nolan ,L.; Mcclure & Labbeg. G.(1994). Effect of Alliums spp. And herb extract on food-borne pathogens, prokaryotic and higher and lower eukaryotic cell lins :ISHS .Act. Horticulture. 426.
42- Conner, D. E. & Beuchat, L. R. (1984). Effect of essential oils from plants on growth of food spoilage xeasts. J. food science 49:429- 434.
43- غاراوى ،إم . أو. و ايفانز ، ار .سي .(1990) . تغذية علم وظائف الفطريات ترجمة ، رياض فرنسيس دحنا و طالب عويد الخزرجي ، جامعة صلاح الدين.العراق
44- Vanden Bossche, H.; Engelen, M. and Rochette, F. (2003). Antifungal agents of use in animal health - chemical, biochemical and pharmacological as-pects. J. Vet. Pharmacol. Ther., 26:5–29.
45- Vanden Bosseche, H.; Ausma, J.; Bohets, H.; Vermuyten, K.: Willemsens, G.; Marichal, P.; Meerpoel, L.; Odds, F. and Borgers, M. (2004). The novel azole R126638 is aselective inhibitor of ergosterol synthesis in Candidabicans, Trichophyton spp. and Microsporum canis. Antimicrobial agents and Chemotherapy., 48: 3272-3278.
46- Smolensk ,S.J.; Silnis ,H.& Frans worth ,N.R.(1972). Alkaloid screening of Libya .35:31-34 .
33- Bi, FH.; Tra, MW.; Kone, NF, Koname (2008). Antifungal activity of Erigeron Floribundus (Asteraceae) From cote divoire, West Africa. Tropical Jornal of pharmacentical Resrarch 7(2):975-979.
34- Phongpaichit, S.; Pujenjob, N.; Rukachasirijul, V.& Ongsakul, M. (2004). Antifungal activity from leaf extracts of Cassia alata L., Cassia fistula, L. & Cassia tora, L.J. Sci. Technol. 26.(5): 741-748.
35- Chuang, .H.; Lee, C.W.; Chon, J.Y; Muruyan, M.; Shich, B.J. & Chen, H.M. (2007). Antifungal activity of crude extracts and essential oil of Moringa olicifera Law. Bio. Technol. 98: 232-236.
36- Tyler, V.E.; Brady, L.B. & Robert, J.E. (1989). Pharmacognosy. 9th. ed. Lea and febiger. Philadelphia.
37- Geiger,J.L.(2005).The essential oil of ginger , Zingiber officianle,and anathesia .The international Journal of Aromatherapy.15:7-14.
38- Banso, A. (2009). Effect of extract of Monora myristica and Zingibar officinale on the growth of fungi in sweet potato juice.African Journal of Microbiology Research. 4(9):478-490.
39- Daniyan, S.Y.; Galadima, M.; Ijah, U.J.J.; Odama, L.E.; Yusuf, A.Y. and Abbas,Y. (2010).In vitro antimicrobial screening of piliostigma thonningii (shum) milne-red head leaves extracts against clinical isolates of methicillin resistant and methicillin sensitive staphylococcus aureus.

Isolation of some dermophytes from human and study the effect of some plant extract and antifungi on them

Hussen A.A. Alssadi[1] , Khalil I.Bander[1] , Thikra A.Hamada[2]

[1] *Dept. of Bio., Coll. Of Sci., Uni, Of Tikrit , Iraq*
[2] *Dept. of Bio., Coll. Of Med., Uni, Of Tikrit , Iraq*

(**Received:** 22 / 4 / 2012 ---- **Accepted:** 8 / 5 / 2012)

Abstract

109 skin mycotic samples were collected in 2011 from July to November for isolation and identification fungi The direct microscopic investigation showed 84 positive samples in 77% ratio from total patients were represented in 25 case about 22.9% the laboratory culture results have shown 75 positive samples in 68.8% and 34 negative samples in 31.1%. These samples included skin scrapping, hair fragments, nail clippings from humanIn respect with human samples, there were 75 fungal species isolated and identified and the genus *Trichophyton* was more frequent (61.3%), than *Microsporum* (25.3%) and the *Pidraia hortae* was isolation in 9 sample(12%). Females were the more infected (64.21%) than males (35.79%). In addition, the Tinea capitis were the most infected (34.8%) when compared with other body regions.

The results of the present study showed the Garlic and Zengiber aqueous and alcoholic extracts have high suppressive effect against *T.mentagrophytes*, *Pidraia hortae* and *M.ferrginum* in (6 , 10 ,12 ,13)mg/ml and these extracts have variable effects on fungi . The relatio ship between them is venatically that mean the extract suppression effect will increasing. The aqueous and alcoholic extract of Zengiber did not inhibit *Pidraia hortae* growing.

The antifungal drugs ketoconazole , Terbinafine and Grisofulvin have inhibitory effect against the isolated fungi and in different concentration depending on fungi type and the antifungal type ,the minimum inhibitatory concentration to antifungal substances is (0.4)mg/ml.