دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل تجاه بعض الفطريات المسببة لداء الفطار السطحي في مدينة الناصرية , ذي قار .

سوزان خالد كاظم* محمد حسين مشهد** ياس خضير عباس*

* كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ذي قار

**كلية العلوم – جامعة ذي قار

الخلاصة :

تسبب الفطريات الجلدية داء الفطار السطحي في الإنسان ، وقد استخدم في علاجها أنواع من المضادات الفطرية والمستخلصات النباتية . جمع خلال الدراسة الحالية 180 عينة شملت قشور الجلد وقطع الشعر والأظافر من 66 ذكراً و 114 أنثى من المصابين بداء الفطار السطحي والمراجعين لمستشفى الحسين التعليمي في مدينة الناصرية للفترة من آب 2014 ولغاية كانون الأول 2014 . وقد هدفت الدراسة لعزل وتشخيص الفطريات الجلدية المسببة لداء الفطار السطحي و الكشف عن القدرة التثبيطية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل تجاه الفطريات المعزولة .

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص 5 أنواع من الفطريات الجلدية وهي : *Microsporum canis* ، *M. fulvum* ، *M. gypseum* ، *Trichophyton tonsurans* و *T. verrucosum* . وكان أكثرها ظهوراً هو الفطر *M. canis* وبنسبة 36.36 % ، في حين كان الفطر *M. fulvum* أقلها ظهوراً وبنسبة 6.36 % . بلغ عدد الإصابات في الإناث 74 (67.27 %) ، أما عدد الإصابات في الذكور فكان 36 وبنسبة 32.73 % . سجل أعلى عدد للإصابات خلال شهر أيلول 2014 وبلغت 69 حالة ، أما أقل عدد للإصابات فسجلت خلال شهر كانون الثاني وبلغت 19 حالة وبنسبة 38.33 % و 10.56 % على التوالي .

كما أوضحت الدراسة امتلاك المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل قدرة تثبيطية تجاه الفطريات الجلدية المعزولة ، وكانت أعلى نسبة لتأثير المستخلص عند التركيز 200 ملغم / مل تجـــــاه الفطر *T. verrucosum* ، أما أقل نسبة لتأثير المستخلص وبتركيز 100 ملغم / مل فكانت تجاه الفطر *M. gypseum* .

المقدمة :

تعد الفطريات الجلدية من أهم الأحياء المجهرية الممرضة التي تم تمييزها ومعرفتها , وقد أطلق عليها مصطلح Dermatophytes عام 1982 لأول مرة في قاموس Oxford English Dictionary , (Ajello and Padhye 1987) . تعرف الإصابة الفطرية الناتجة عن الفطريات الجلدية (Dermatophytes) بعدة أسماء منها داء القوباء الحلقية (Ring worm) وداء الفطار الجلدي (Dermatophytosis) وداء السعفة (Tinea) (Hainer , 2003; Dahdah and Sher , 2008) . ازداد الاهتمام بالإصابات الفطرية في السنوات الأخيرة نتيجة الاستخدام الواسع للمضادات الحياتية وعقاقير الستيرويدات القشرية والعلاج الإشعاعي الكيمياوي والإصابة ببعض الأمراض الخبيثة ومرض الايدز فضلاً عن الإصابة بداء السكري وعمليات نقل وزرع الأعضاء (Slage , 1997) . فالإمراض الفطرية من الإمراض التي يصعب السيطرة عليها إذ يحتاج علاجها لاستخدام مضادات فطرية خاصة ومناسبة (Madigan *et al.*, 2000) . يختلف مظهر الإصابة الجلدية الفطرية تبعا لقابلية المضيف للإصابة ونوع الفطر المسبب لها (Araujo *et al*., 2009) , كما تختلف الأنماط السريرية في حدتها اعتمادا على المنطقة المصابة وهي عموما تتراوح بين الشديدة إلى المعتدلة (Pakshir and Hashemi , 2006) . هناك ما يقارب 20-25% من سكان العالم مصابون بأحد أنواع الإصابات الفطرية التي يسببها الفطر الجلدي *Trichophyton* , لذا تعد الإصابات الفطرية واسعة الانتشار في العالم (James *et al.*, 2011) . إن معالجة الإصابات الفطرية بأنواعها المختلفة يعداً أمراً في غاية الصعوبة وتستخدم في معالجتها عدد من المضادات الفطرية مثل Ketoconazole و Griseofulvin وهما فعالان في معالجة جميع مسببات الأخماج الفطرية الجلدية leece *et*

(*al.*,2004) . إلا أن استخدام تلك العقاقير لفترات طويلة وبشكل متكرر أدى لحدوث بعض الطفرات في تلك الأنواع الفطرية مما جعلها مقاومة لفعل هذه العقاقير (Rachel *et al.*, 1998) . لذا توجهت الأنظار لاستخدام النباتات الطبية كبدائل في معالجة الإصابات الفطرية لما تملكه من قيمة دوائية في تثبيط نمو الأحياء المجهرية لاحتوائها على القلويدات والفينولات والتانينات والصابونينات والراتنجات وغيرها من المواد الفعالة (Taesotikul *et al.*, 1998) . لذا هدفت الدراسة الحالية لاختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل ضد الفطريات الجلدية المعزولة من الإصابات الفطرية الجلدية .

المواد وطرائق العمل :

1- عزل الفطريات الجلدية من الأشخاص بداء الفطار السطحي .

تم جمع 180عينه شملت (128 عينة قشور جلدية و 24 عينة شعر و 28 عينة أظافر) , من المصابين بداء الفطار السطحي المراجعين لمستشفى الأمام الحسين التعليمي في مدينة الناصرية بواقع 66 عينة من الذكور و114عينة من الإناث للفترة من أب / 2014 إلى كانون الأول / 2014 . تم الفحص المباشر باستخدام محلول (10 % KOH) , وتم زرع العينات باستخدام وسط أكار السابرويد والدكستروز Sabouraud's Dextrose Agar المضاف اليه Chloramphenicol وCycloheximide , شخصت العزلات الفطرية اعتماداً على المصادر الآتية : Ellis ,1994 ; Ichhpnjani and Bhatia , 1994 ; Midgley *et al*., 1997; Ellis *et al.*, 2007).

2 – عينات أوراق نبات أكليل الجبل *Rosemarinus officinalis*

جمعت عينات نبات أكليل الجبل من الأسواق المحلية , وبعد طحنها بمطحنة كهربائية تم تحضير المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل حسب الطريقة المتبعة من قبل (Souri *et al.*, 2004) . أجري عدد من الكشوفات الكيميائية لمعرفة المواد الفعالة في المستخلص الكحولي لأوراق النبات وشملت الكشف عن القلويدات (Silva *et al.*, 1998), وعن الفينولات (Adedayo *et al.*, 2001) , والكشف عن الراتنجات والعفصيات والصابونينات والكلايوكوسيدات (Shihata ,1951) فضلاً عن الكشف عن الفيوكومارينات (Harborne , 1984) .

3- اختبار فعالية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل ضد الفطريات الجلدية المعزولة :

استخدمت طريقة الانتشار في الأگار بوساطة الحفر(Agar Well Diffusion Method) وكما يلي :

حضرت تراكيز 100 و 200 ملغم/ مل من المستخلص الكحولي وذلك بإذابة 1 غم من المستخلص النباتي في 10مل من الثنائي مثيل سلفوكسايد لنحصل على التركيز 100 ملغم/ مل وإذابة 2 غم من المستخلص النباتي في 10مل من الثنائي مثيل سلفوكسايد لنحصل على التركيز 200 ملغم/ مل بعد ذلك عقمت باستخدام المرشحات الدقيقة (Millipore filter) syringe بقطر 0.22 مايكروميتر للتخلص من الملوثات الجرثومية والحصول على محلول خزين معقم ثم حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال . تم تنشيط العزلات الفطرية على وسط SDA بدرجة حرارة 27 م °ولمدة 7- 10 أيام , ثم حضر وسط أكار السابرويد والدكستروز(SDA) وصب في أطباق بتري . أخذ 0.2 مل من العالق البوغي ذو التركيز 3 x $10x^6$وحدة تكاثرية / مل لعزلات الفطريات الجلدية المقارن بأنبوبة مكفرلاند بواسطة ماصة حجمية معقمة (Micropipette) وصب على الوسط الزرعي ثم نشر العالق بوساطة الناشر الزجاجي (Spreader) ثم تركت الأطباق لمدة ساعة واحدة ليجف العالق . و عملت حفرة بقطر5 ملم في وسط كل طبق باستخدام ثاقب فليني معدني معقم (Cork borer) بواقع ثلاثة أطباق لكل تركيز و استخدم طبق أخر لعينة السيطرة (Control) واستخدم فيه DMSO . بعدها تم إضافة 100 مايكروليتر من تراكيز المستخلصات المذكورة انفاً لكل حفرة وباستخدام ماصة دقيقة (Micropipete) ذات أغطية معقمة وبحذر شديد لتلافي تناثر المستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي . حضنت الأطباق بدرجة 27 مْ لمدة 7-10أيام بعدها لوحظت الهالة الشفافة حول كل حفرة والتي تمثل قطر منطقة تثبيط النمو(Inhibition zone) . وقد تم قياس قطر منطقة التثبيط باستخدام المسطرة بأخذ معدل قطرين متعامدين مقاسة بالملمتر وتم تكرار الخطوات أعلاه ثلاث مرات واخذ المعدل لقيم أقطار التثبيط التي تم قياسها Saxena *et al*., 1995 ; Collee *et al*., 1996 ; Hammer *et al*., 2002) .

4 - تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) للمستخلص النباتي :

لغرض تحديد أدنى تركيز مثبط (MIC) للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل تجاه الفطريات الجلدية المعزولة خلال الدراسة , حضرت سلسة من التراكيز 5 , 10 , 25 , 50, 100 , 200 ملغم/ مل للمستخلص وأتبعت الطريقة المستخدمة في الفقرة (3) و بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز ، إذ عد اقل تركيز من المستخلص لم يظهر فيه النمو الفطري هو التركيز المثبط الأدنى .

5- اختبار سمية المستخلص الكحولي :

استعملت كريات الدم الحمراء للإنسان والأغنام لمعرفة سمية المستخلص الكحولي لأوراق النبات وذلك طبقاً لطريقة Xian –guo and Urasella , (1994) ولغرض إجراء هذا الاختبار تم سحب 2 مل من الدم البشري من عدد من الأشخاص الذكور والإناث وكذلك الحيوانات ووضع في الأنابيب الحاوية على مادة مانعة لتخثر الدم وحفظ في الثلاجة لحين إجراء الاختبار, وقد حضر تركيز 500 ملغم/ مل من المحلول الفسيولوجي للمستخلص واستخدم معامل سيطرة سالب يحوي محلول الملح الفسيولوجي فقط ومعامل سيطرة موجب (ماء الحنفية) تم بعدها وضع 0.8 مل من المستخلص في أنبوبة معقمة وأضيف 0.2 مل من كريات الدم الحمراء ليصبح الحجم النهائي 1 مل .بعدها حضنت الأنابيب في الحاضنة وبدرجة حرارة 37 م٥مدة 3 ساعات ثم سجلت نتائج فحص Hemolysis بعد كل ساعة من الحضن لملاحظة تحلل كريات الدم الحمراء .

6- التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج إحصائيا وفق تصميم التجارب العاملية وهما النوع النباتي لنبات أكليل الجبل والمعاملات للمستخلص الكحولي (200 , 100) ملغم / مل وبتوزيع عشوائي كامل وتم استعمال (L.S.D) Least Significance Differences في التحليل عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.001$) (الراوي وخلف الله , 2000) .

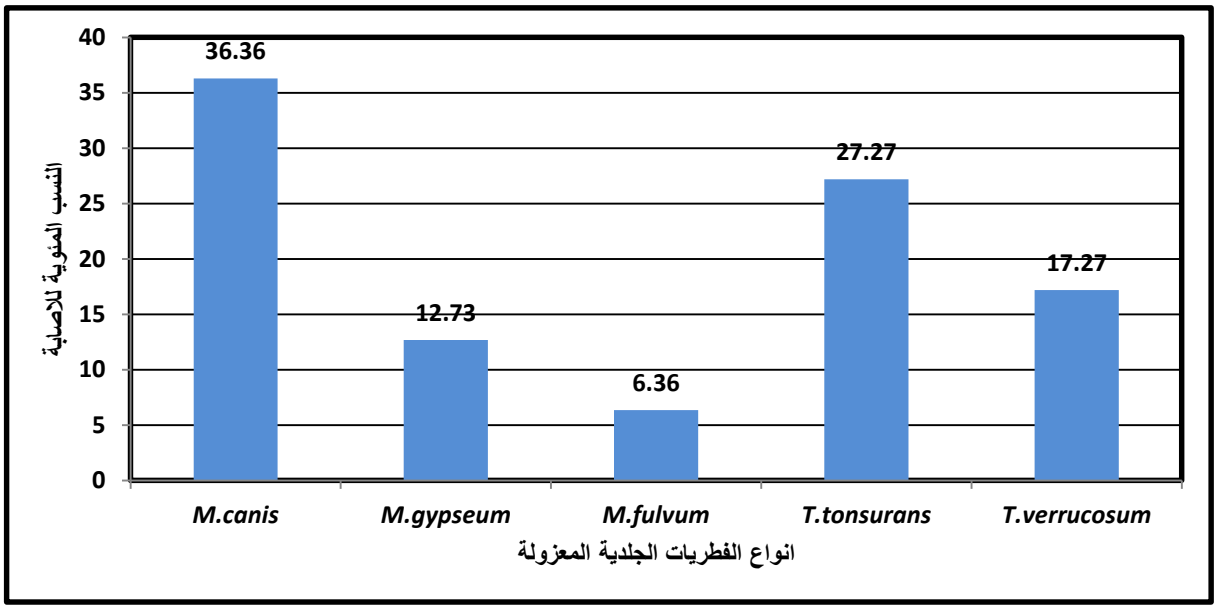
النتائج والمناقشة :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن 110 عينة من مجموع 180 عينة وبنسبة 61.1 % كانت موجبة للزرع بوصفها إصابات بالفطار السطحي . وهذه النسبة مقاربة لما حصل عليه Madhavi *et al.* (2011) إذ بلغت 58 % وأعلى مما حصلت عليه السهلاني (2015) إذ بلغت 51 % , واقل مما حصل عليه Mohammed (2012) إذ بلغت 80 % . وقد يعزى الاختلاف بين تلك النسب إلى اختلاف عدد العينات في تلك الدراسات , وقد يعود إلى طريقة جمع العينات فقد لا تجمع من حافات منطقة الإصابة وإنما تجمع من المنطقة المركزية للإصابة والتي تظهر استجابة مناعية فتؤدي إلى إضعاف والقضاء على الفطريات الجلدية (Milne , 1996) . وقد يكون بسبب تناول المرضى المصابين بداء الفطار السطحي لعقاقير وأدوية دون استشارة الطبيب المختص للتخلص من الأعراض المؤلمة الناتجة عن هذا النوع من الفطريات الجلدية (Collee *et al.*,1996) . كما أوضحت نتائج الدراسة تأثر نسبة الإصابة بجنس المصاب , إذ وجد أن نسبة إصابة الإناث أعلى من الذكور ضمن المجموع الكلي للعينات الموجبة للزرع , فكان عدد الإصابات في الإناث 74 (67.27 %) في حين بلغ عدد الإصابات في الذكور 36 وبنسبة 32.73 % , (جدول1) , وتتفق هذه النتيجة مع الحمداني (2010) .

جدول (1) : الأنواع الفطرية المعزولة من الأشخاص المصابين بالفطار السطحي .

نوع الفطر	الذكور	الإناث	المجموع	النسبة المئوية للظهور
M. canis	14	26	40	36.36
M.gypseum	2	12	14	12.73
M.fulvum	4	3	7	6.36
T.tonsurans	10	20	30	27.27
T.verrucosum	6	13	19	17.27
المجموع	36	74	110	% 100

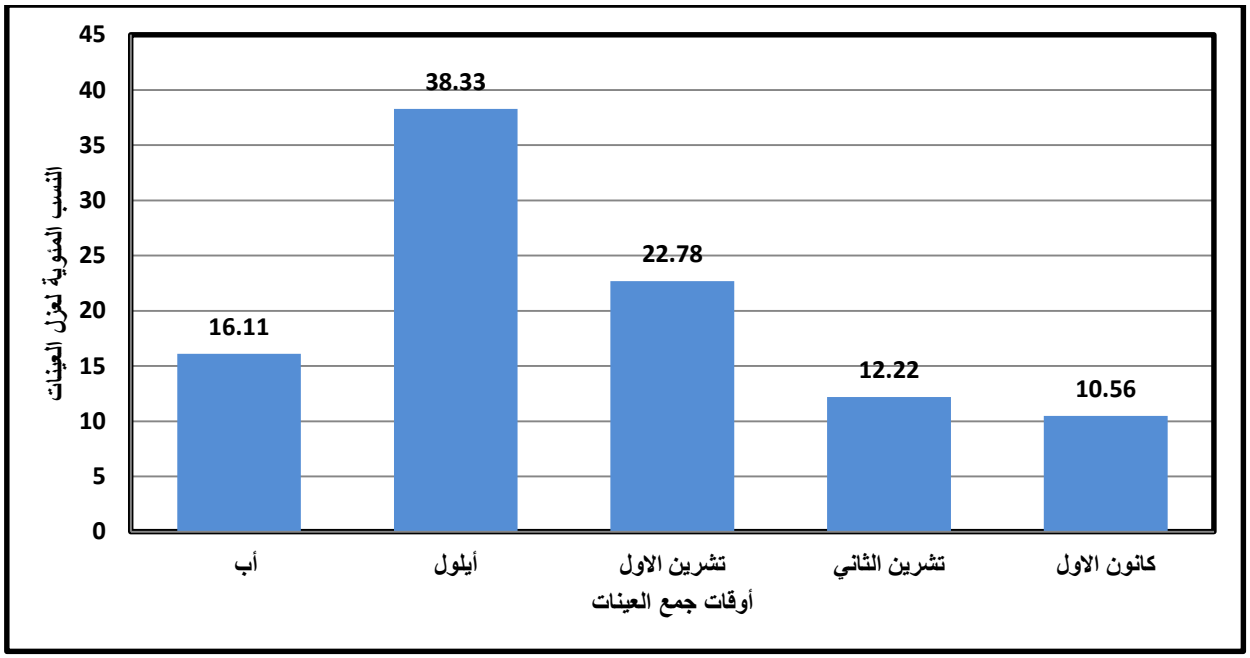
وقد سجل الفطر *M. canis* أعلى نسبة للظهور إذ عزل من 40 عينة وبنسبة 36.36 % . في حين سجل الفطر *M. fulvum* أقل نسبة للظهور وبلغت 6.36 % . وكما موضح في الشكل (1) . ومن هنا يلاحظ إن الفطر *M. canis* هو المسبب الرئيس لداء الفطار السطحي فهو من الفطريات المحبة للحيوان (Zoophilic) والذي يسبب أنواعاً مختلفة من داء الفطار السطحي منها ما يصيب الجسم أو القدم أو ألأظافر فضلاً عن الشعر نتيجة التماس المباشر مع الحيوانات مثل القطط أو الكلاب أو الماشية (De Boer and Moriello , 2006 ; Weitzman and Summeroell , 2009 ; AL-Hamdani *et al.*, 2014) .



$X^2 = 28.222$, $P \leq 0.001$

شكل (1) : النسب المئوية لظهور الأنواع الفطرية الجلدية (Dermatophytes) المعزولة .

كما لوحظ أن أعداد المصابين بداء الفطار السطحي تتباين خلال فترة الدراسة إذ تزداد نسبة الإصابة خلال الأشهر الحارة والرطبة , فقد وجد أن أعلى عدد للإصابات كانت في شهر أيلول , إذ بلغ عددها 69 إصابة وبنسبة 38.33 % , إلا أن انخفاض درجات الحرارة خلال شهري تشرين الثاني وكانون الأول أدى إلى انخفاض ملحوظ في عدد الإصابات وبلغت خلالها 22 و 19 إصابة وبنسبة 12.22% و 10. 56 % على التوالي (شكل 2) . وقد أشارت دراسات سابقة إن الإصابة بالفطريات الجلدية تزداد خلال أشهر الصيف والخريف (صالح , 2000) , أذ تزداد قدرة تلك الفطريات على اختراق الطبقة المتقرنة للجلد بزيادة الرطوبة وارتفاع درجة الحرارة (Ninomiya , 2000) , فتنتشر هذه الفطريات في البيئات الاستوائية وشبه الاستوائية والتي تمتاز بارتفاع درجات الحرارة والرطوبة فيها (Hainer , 2003) .



$X^2 = 24.700$, $P \leq 0.001$

شكل (2) : النسب المئوية للإصابة بداء الفطار السطحي خلال فترة الدراسة .

الكشف عن المواد الفعالة في نبات أكليل الجبل :

أوضحت الدراسة وكما مبين في الجدول (2) احتواء المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل على القلويدات والفينولات والراتنجات والكلايكوسيدات والصابونينات والعفصيات وعدم احتوائه على الكومارينات . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات سابقة في احتواء أوراق نبات أكليل الجبل على الفينولات والقلويدات والراتنجات والعفصيات والصابونينات (احمد واخرون , 2009 ; Emad *et al.*, 2010) .

جدول (2) : التحاليل النوعية للمواد الفعالة للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل .

الكشف / الجزء النباتي	القلويدات			الفينولات	الراتنجات	الصابونينات	الكلايكوسيدات	الكومارينات	العفصيات	
	كاشف دراكندروف	كاشف واكنر	كاشف ماركس						كلوريد الحديديك	خلات الرصاص
أوراق نبات أكليل الجبل	+	+	+	+	+	+	+	_	+	+

+:كشف موجب , _كشف سالب .

تعد المركبات المذكورة التي تم الكشف عنها في النبات من النواتج الأيضية الثانوية والتي لها أهمية دفاعية للنبات تجاه الأحياء المجهرية والحشرات وإن التركيبة المميزة لإكليل الجبل تجعل منه دواءً رائداً في شتى الاستعمالات , Masa (2007) .

تأثير المستخلص الكحولي (95%) لأوراق نبات أكليل الجبل على الفطريات المعزولة :

أظهرت النتائج التي تم التوصل إليها في الدراسة الحالية فعالية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل في تثبيط نمو الفطريات المعزولة خلال الدراسة . إذ بلغ أعلى نسبة تأثير للمستخلص الكحولي لأوراق أكليل الجبل عند التركيز 200 ملغم /مل للفطر *T. verrucosum* وبلغ قطر التثبيط 3.30 سم , بينما أقل منطقة تثبيط ظهرت تجاه الفطر *M . gypseum* عند التركيز 100 ملغم / مل وقد بلغ قطر التثبيط 0.30 سم (جدول 3) . وقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي واختبار أقل فرق معنوي بين المتوسطات تحت مستوى احتمال ($p\leq 0.001$) إلى وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة وكذلك وجود فروق معنوية بين الأنواع الفطرية . ويعود الاختلاف في معدلات التثبيط إلى طبيعة الفطر نفسه بسبب التفاوت في تركيب الأغشية الخلوية وسمكها وحجم الخلايا الفطرية والتفاوت في سرعة النمو بين الفطريات التي تمتلك جدران سميكة تكون أكثر مقاومة لفعل المركبات الفعالة في المستخلصات لان ذلك يعرقل نفاذ هذه المركبات إلى داخل الخلايا لتؤثر عليها (Ian and Ian , 1976) . كما أن الفطريات المنتجة لخلايا كبيرة الحجم نسبياً تكون أكثر تأثراً لفعل هذه المركبات مقارنة بالفطريات ذات الخلايا الصغيرة الحجم , ويعود السبب في ذلك إلى ازدياد المساحة المعرضة لفعل هذه المركبات في الخلايا ذات الحجم الكبير فتتنافذ من خلال الغشاء الخلوي إلى الداخل لتؤثر هناك , و الفطريات بطيئة النمو تكون حساسة لفعل المركبات أكثر من تلك التي تنمو بسرعة , بسبب أن هذه المركبات في حالة الفطريات بطيئة النمو قد حصلت على الوقت الكافي لتكون بتماس مباشر مع الخلايا بحيث تتنافذ إلى داخلها وتؤثر على الأنزيمات الخلوية (موسى ومحمد , 1992) كما في اللوحة (1) .

الجدول (3) : أقطار تثبيط المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل عند التركيزين 100 و 200 ملغم / مل تجاه الفطريات الجلدية .

الأنواع الفطرية	التركيز ملغم / مل		المعدل	السيطرة DMSO
	200	100		
	معدل أقطار التثبيط (سم)			
M.canis	*2.03	1.0	1.51	0.0
M.gypseum	2.10	0.30	1.21	0.0
M.fulvum	2.20	1.5	1.85	0.0
T.tonsurans	2.40	1.96	2.18	0.0
T.verrucosum	3.30	1.66	2.48	0.0

*كل قيمة في الجدول هي معدل لثلاثة مكررات

L.S.D للأنواع الفطرية = 0.30

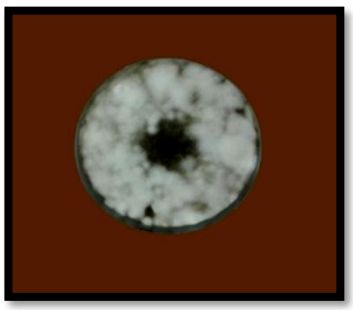
L.S.D للتراكيز = 1.0

L.S.D للتداخل = 0.66

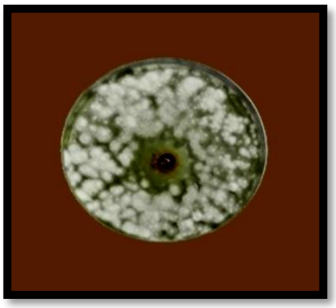
استعمل المستخلص الكحولي بصورته الخام لأنه أكثر فعالية مقارنة بعزل مركب فعال واحد من النبات نفسه وذلك لوجود خليط من المركبات الفعالة التي تتعاون فيما بينها في المستخلصات الخام لتثبيط نمو الفطريات (Gowan ,1999) ويعزى ذلك إلى ظاهرة التساند (Synergina) أي اتحاد أكثر من مركب في التأثير بدلاً من استعمالها لوحدها (المنصور,2005). ومما تقدم نلاحظ إن المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل كان فعالاً ضد الفطريات الجلدية وذلك لقدرة الكحول على استخلاص وإذابة المركبات الفعالة المطمورة في الأنسجة النباتية بصورة جيدة , مثل الفينولات و التانينات و

الراتنجات والتي تكون مسؤولة عن الفاعلية التثبيطية لنمو الفطريات (Nweze , 2010) , وأثبتت العديد من الدراسات تفوق المستخلصات الكحولية على المستخلصات المائية ومنها دراسة (الوائلي ,2014 ; الغزالي ,2012 ;الدعمي , 2009) ذلك أن الكحول الاثيلي يمتاز بقطبيته العالية الفعالة (الذهب , 1998) إذ إن لقطبية المذيب دوراً هاماً في استخلاص بعض المركبات الفعالة دون غيرها وحسب نوع النبات المستخدم (Kelmanson *et al.*, 2000) , كما يعتمد الاختلاف بالتأثير على طبيعة الكائن المجهري وتركيبه وحساسيته للمستخلصات النباتية (Coopoosamy and Magwa , 2007) و ازدادت معدلات أقطار التثبيط مع زيادة التركيز وقد يعود السبب في ذلك إلى زيادة تراكيز المواد ألفعاله منها الفينولات والقلويدات وغيرها والتي تؤدي دوراً هاماً في تثبيط هذه الفطريات , كما يمكن أن تكون زيادة القدرة التثبيطية للمستخلص الكحولي بزيادة تركيزه إلى تراكم المواد خارج غشاء الخلية الأمر الذي يؤثر على نفاذية غشاء الخلية وعمل الأنزيمات الناقلة (Edmunds , 1960) . وقد وجد أن للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل فعالية جيدة ضد أنواع مختلفة من البكتريا مثل *Staphylococcus aureus* , *E.coli* , *Pseudomonas aeruginusa* (Anessing and Perez , 1993) .

و أشار Genena *et al.* (2008) و Gachkar (2007) إلى أن المستخلص الكحولي لنبات أكليل الجبل يصبح أكثر فعالية مع زيادة وقت الاستخلاص . لذا فأن احتواء المستخلص الكحولي لنبات أكليل الجبل على العديد من المركبات الفعالة كالدباغيات والفلافونيدات والقلويدات والصابونينات والكلاكوسيدات والراتنجات جعل له أهمية في تثبيط نمو كثير من الأحياء المجهرية وخاصة البكتريا والفطريات الجلدية (احمد وآخرون , 2009 ; Ellof , 1998).



200 ملغم / مل السيطرة



المستخلص الكحولي 100 ملغم / مل

200 ملغم / مل السيطرة

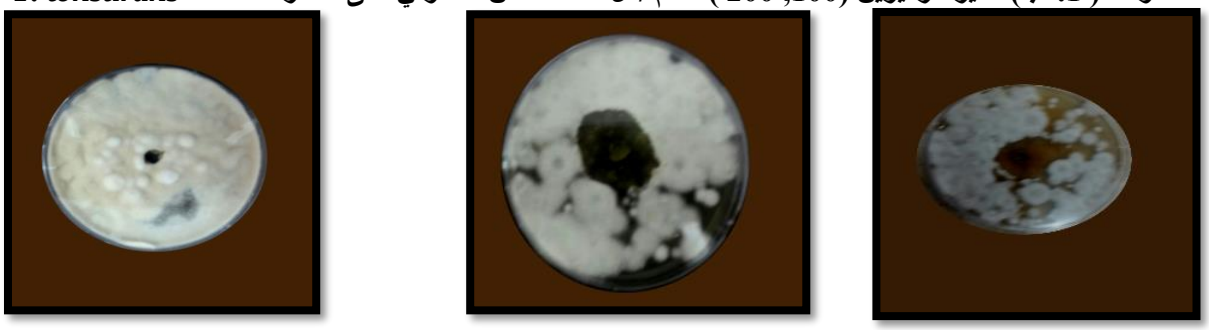
لوحة (1. أ) تأثير التركيزين (100, 200) ملغم /مل للمستخلص الكحولي على الفطر *M . canis*

المستخلص الكحولي 100 ملغم / مل

200 ملغم / مل

السيطرة

لوحة (1. ب) تأثيرالتركيزين (100, 200) ملغم /مل للمستخلص الكحولي على الفطر *T. tonsurans*



المستخلص الكحولي بتركيز 100ملغم 200 ملغم / مل السيطرة

لوحة (1.ج) تأثيرالتركيزين (100, 200) ملغم / مل للمستخلص الكحولي في الفطر *M .fulvum*

المستخلص الكحولي بتركيز 100ملغم 200 ملغم / مل السيطرة

لوحة (1.د) تأثيرالتركيزين (100, 200) ملغم / مل للمستخلص الكحولي في الفطر *M. gypseum*

المستخلص الكحولي بتركيز 100ملغم 200 ملغم / مل السيطرة

لوحة (1.د) تأثيرالتركيزين (100, 200) ملغم / مل للمستخلص الكحولي في الفطر *T. verrucosum*

التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل :

تبين من الجدول (4) إن اقل تركيز مثبط أدنى للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل بلغ 25 ملغم/ مل تجاه الفطريات الجلدية .

إن انخفاض قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي تشير إلى فعالية المستخلص ضد الفطريات , فضلاً عن أن انخفاض قيم التراكيز المثبطة الدنيا يمكن أن يعزى إلى احتمالية ترسيب اكبر كمية ممكنة من المركبات أثناء عملية الاستخلاص , أو بسبب احتواء النبات على كميات وافية من هذه المركبات (Cox and Balick , 1994) في حين يعزى سبب ارتفاع قيم التركيز المثبط الأدنى لمستخلصات نباتية أخرى إلى وجود بعض المركبات الفعالة في هذه النباتات ولكن بتراكيز واطئة (Gadhi *et al*., 1999) .

جدول (4) : التركيز المثبط الأدنى MIC للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل(ملغم/ مل) .

الفطر / النبات	*M. canis*	*M. gypseum*	*M. fulvum*	*T. tonsurans*	*T. verrucosum*
أوراق نبات أكليل الجبل	50	50	50	25	25

اختبار سمية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل :

أظهرت النتائج عدم سمية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل على كريات دم الإنسان , إذ لوحظ تكون طبقتان في أنبوب الاختبار الحاوي على دم الإنسان والمستخلص الكحولي , وهذا دليل على عدم تحلل كريات الدم الحمر, إذ إن الطبقة السفلى المترسبة ذات اللون الأحمر تمثل دم الإنسان والطبقة العليا تمثل المستخلص فضلاً عن المحلول الفسلجي , إذ انه لو كانت هذه المركبات سامة لنتج عن ذلك تحلل كريات الدم الحمر للإنسان , وقد اظهر الأنبوب الحاوي على المحلول الفسلجي والدم النتيجة نفسها ,أما بالنسبة للأنبوب الحاوي على الدم وماء الحنفية فقد حدث تحلل لكريات الدم الحمر إذ ظهر بلون احمر غامق هذا ما أشارت إليه نتيجة الاختبار. و يعتمد تحلل كريات الدم ألحمر على تركيز المادة ومدة الحضن ودرجة الحرارة ويحدث تحلل الدم نتيجة تحطم غشاء الكرية الحمراء بسبب الارتباط التساهمي بين المواد السامة والجذر الحر للبروتين (Xian-guo and Urasella , 1994) .

المصادر العربية :

أحمد , وفاء عبد الإله وعباس , ميثاق غالب (2009) . دراسة مقارنة للدور التثبيطي للمستخلص الكحولي لنبات أكليل الجبل والمضادات الحيوية ضد بعض أنواع البكتريا , المجلة العراقية للعلوم البيطرية .23: (2) : 551- 554 .

الحمداني , عدنان حمد عبيد (2010) . عزل وتشخيص الفطريات الجلدية الممرضة للإنسان واختبار حساسيتها الدوائية لدى المراجعين للمستشفى التعليمي في محافظتي الديوانية والنجف الأشرف , جامعة القادسية , كلية الطب .

الدعمي , علاء عبد الحسين كريم (2009) . تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو الفطرين *Epidermophyton fluccosum* و *Trichophyton mentagrophytes* . رسالة ماجستير , كلية التربية , جامعة كربلاء .

الذهب , أزهار عمران لطيف (1998) . الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية محلية في البكتريا الممرضة , رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة بابل .

الراوي , خاشع محمود وخلف الله , عبد العزيز محمد (2000) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للنشر , الطبعة الثانية , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جامعة الموصل .

السهلاني , ابتهال قاسم عطية (2015). عزل وتشخيص بعض الفطريات الجلدية Dermatophytes وتأثير بعض المستخلصات النباتية عليها . رسالة ماجستير , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامـــــعة ذي قار .

الغزالي , ليندا حميد تركي (2012) . دراسة الفعل التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية ضد الفطريات الجلدية Dermatophytes . رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة كربلاء , 79 صفحة .

المنصور , ناصر عبد علي (2005) . تأثير مستخلصات مختلفة من نبات قرن الغزال (matyhiaceae) *Ibicella lutea* في الأداء الحياتي للذبابة البيضاء *Bemisia tobaci* (Cenn) . أطروحة دكتوراه , كلية العلوم , جامعة البصرة .

الوائلي , إيناس رزاق كاظم (2014) . دراسة التأثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية والمضادات الحياتية على بعض أنواع الأحياء المجهرية المسببة لإصابات القناة التناسلية الأنثوية . رسالة ماجستير , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة ذي قار , 126 صفحة .

صالح , طلال حسين (2000) . دراسة حول الفطريات الجلدية والانتهازية المعزولة من اللبائن والطيور في ميسان . رسالة ماجستير , كلية التربية , جامعة البصرة , 76 صفحة .

موسى , طارق ناصر و محمد , سالم حسين (1992) . دراسة الفعل التثبيطي لمستخلص الحرمل على بعض الجراثيم المرضية ومحتوى لحم البقر المفروم من الأحياء المجهرية . مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 5 (2) :189- 195 .

المصادر الأجنبية:

Adedayo , O.; Anderson , W.A . ; Moo-Young , M . ; Sncickus , V. ; Patil , P. A and Kolawole , D. O. (2001) . Phytochemistry and anti bacterial activity of *Sennaalata* flower .Pharmaceu .Bio .,39:1-5.

Ajello , L . and Padhye , A . A. (1987) . Dermatophytes and the agents of superficial . University of Tokyo Press , Tokyo, Japan. pp : 3-11.

Al-Hamdani , A . H . ; Al-Dhalim , M . A. and Alrufae , M . M . A . (2014) . Epidemicologic study of dermatophytosis in Al-Najaf government . Magazin of Al-Kufa University for Biology , 6(1) :1-14 .

Anessing , G . and Perez G . (1993) . Screening of plants used a green line . Folk medicine for Antimicrobial Activity .J. Ethnopharmacol ; 39 :119-128.

Araujo,C.R. ; Miranda , K.C. ; Fernandes , O . F. ; Soares , A . J. and Silva,M.R. (2009) . *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiania, Brazil, against five antifungal agent by broth dilution method . Rev.Inst. Med.Trop.S.Paulo ., 51 : 9-12.

Collee , J . ; Fraser , A. ; Marmion , B . and Simon , A. (1996) . Makie and McCartney practical medical microbiology .14th ed. Churchill Liverstone . New York . 978 pp .

Coopoosamy , R . M . and Magwa , M . L. (2007) . Traditional use antibacterial activity and antifungal of crude extract of *Aloe excels* . African J. Biotechnol., 6(20): 2406-2410.

Cox , P. A . and Balick , P . J. (1994) . The etnanebutonical approach to drug discovery . J. Sci ., 270: 60-65.

Dahdah , M . J. and Sher , R . K . (2008) . Dermatophytes , Current Fungal infection Reports . 2:81-86.

DeBoer , D. J . and Moriello , K . A . (2006) . Cutaneous fungal infections .In Greene CE(ed) : infectious diseases of the dog and cat Elsevier Saunders , St Louils , Missouri . pp : 555-569.

Edmunds , P.N. (1960) . The growth requirement of *Haemophiluls vaginalis* . Path.Bact.; (80) : 325-335.

Ellis , D. ; Davis , S . ; Alexiou , H . ; Handk , R. and Bartley , R . (2007) . Description of medical fungi .2nded . Mycology Unit , Adelaide Children's Hospital , North Adelaide ,Australia . 198 p.

Ellis , D.H. (1994) . Clinical Mycology: The human opportunistic mycosis. Gillinghamprinterspty .Ltd .Australia . 660 p .

Ellof , J . N. (1998) . Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants ? J. Ethnopharmacol ; 60: 1-6.

Emad , M . R . ; Chaninm , H . M .and Hussein ,T . K .(2010) . The activity of extract of *Rosemarinus officinalis* and *Eucalyptus spathulata* hook leaves on the growth of *Escherichia coli* and *Candida albicans* with Estimation of the median lethal dose of both Extracts In laboratory mice . Babylon University . 1(18) : 214-215 .

Fleece , D. ; Gaughan , J. P. and Aronoff , S.C. (2004) . Griseofulvin versus terbinafine in the treatment of tinea capitis : a meta – analysis of randomized, Clinical trials. Pediatrics., 114(5) : 1312 - 1315.

Gachkar , L. (2007) . Chemical and biological characteristics of *Cuminnmcyminnm* and *Rosemarinus officinalis* essential oils. Food ChemTehran ,Vol .102 :898-904 .

Gadhi , C . A . ; Weber , M . ; Mory , F. and Jana , M. (1999) . Antibacterial activity of Aristolochia paucinecris Pomel . J. Ethnopharmacol ; (67):87- 92.

GenenaA . k . ; Hense , H . ; Junior , A . S . and Souza , S . M . (2008) . Rosemary (*Rosemaryrinns offcihalis*). A study of the composition , antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with Super critical carbon dioxide . ciencTechol Aliment . 28:463-469.

Hainer , B . L . (2003) . Dermatophyte infections : Practical Therapeutics , 67:101-108.

Hammer , K . A . ; Carson , C . F . and Riley , T.V. (2002) . In vitro activity of *Melaeuca alternifolia* a (tea tree oil) against dermatophytes and other Filamentous Fungi. J. Antimicrobiol .Chemotherapy ; (50) : 195-199.

Harborne , J . B . (1984) . Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis . 2nd ed. Chapman and Hall , London , New York . 288 p.

Ian , W. D . and Ian , W . S . (1976) . Microbial Physiology . Black well Scientific Publication .London ; pp:12-18 .

Ichhpnjani , R . L . and Bhatia , R . (1994) . Microbiology for Nurses. Jaypee Brothers. medical. Publ., 32 :227-236.

James ,W.D. ;Berger ,T . G. and Elston , D.M . (2011) . Andrews Diseases of the skin. Clinical Dermatology.11th ed. Printed in China . 959 p.

Kelmanson , J. E . ; Jager , A . K . and Staden , J.V. (2000) . Zulu medicinal plants with antimicrobial activity . J. E thnopharm ., 69: 241-246.

Madhavi , S . ; Rama , M . and Jyothsna , K. (2011) . Mycological study of dermatophytosis in rural population , Annals . Bio .Rese., 2(3): 88-93.

Madigan , M . T. ; Martinka , I . M . and Parker , J . (2000) . Brock biology of microorganisms . 9thed . Prentice all Upper saddle River , New Jersey.

Masa , I . R . (2007) . Determination of major phenolic Acids , Phenolic Dieterpenes and Triterpenes in Rosemary (*Rosemarinus officinalis* Lr) by Gas Chromatography and mass spectrometry . Actachim . Slov.; 54: 60-67.

Midgley , G . ; Clayton , Y.M . and Hay, R . J. (1997) . Diagnosis in color medical mycology . Mosby-wolfe , an imprint of mosby international , Spain .155p.

Milne , L . J . R . (1996) . Fungi . *In* : Practical medical microbiology , by Collee , J.G.; Fraser , A.G.; Marmion , B.P. and Simmons , A.(eds) Longman Singapore Publishers Ltd. Pp: 695-717.

Mohammed , S . J . (2012) . Isolation and identification of dermatophytes in human and animals by laboratory tests and Polymerase Chain Reaction , M.Sc. Thesis , College of Veterinary Medicine , University of Baghdad . 126 p .

Ninomiya , J. (2000) . Effect of temprature , humidity and minor injury to the penetration of dermatophytes into human stratum corneum. Nippon . Ishinkin .Gakkai ,Zasshi., 41(1) : 5-9.

Nweze , E.I. (2010) . Dermatophytosis in Western Africa : a review . Pakistan J.Biol .Sci ; 13 (13) : 649-656.

Pakshir , K . and Hashemi , J. (2006) . Dermatophytosis in Karaji , Iran. Indian J. Dermatol., 51 (4): 262 - 264.

Rachel , L . P. and Glenn , F. G . (1998) . Ketoconazole . reduces low close cocaine self administration inrats . 3 (1) : 67 – 77.

Saxena , G . ; Farmer , S . ; Hancock , R . E . W. and Towers , G.H.N. (1995) . Antimicrobial compounds from *Abnusrubra* .Int . J. pharmacoghsy .,33(1) :33-36.

Shihata , I.M . (1951) . A parmacological study of *Ansgllisarvensis* . M.D.Vet. Thesis , Cairo University .

Silva , G . L . ; Lee , I . K . and Kinghron , A . D. (1998) . Special problems with the extraction of plants in : Cannell , R.J.P. (Eds.) Natural products isolation . Methods in biotechnology . Humana Press . Totowa , Newjersey . 4:343-633.

Slage , D.C. (1997) . Antifungal Drugs.In : Craig , C . R . and Stitzel , R.E.Modern(eds.) . Pharmacology with clinical Applications. 5th ed. Brown and Company (Inc.) , New York and London. pp : 623-624 .

Souri , E . ; Amin , G . ; Sharifabadi , A . D . ; Nazifi , A . and Firsam , H . (2004) . Anti oxidative Activity of Sixty Plants From Iran . Iranian . J. Pharmaceutic .Rese ., 3:55-59.

Taesotikul , T . ; Panthong , A . ; K anjanapothi, D . ; Verpoort , R . and Schefeer , J.J.(1998). Cardiovascular activity of the Crude alkaloidal Fraction From Tabeernae Montana pandacaquiin in the rat . J. Ethanopharmacol ; 59 (3) : 131 – 137 .

Vonshak , A . ; Barazani , O . ; Sathiyamoorthy , P.; Shalev , R.; Vardy , D . ; Gola , N. and Goldhirsh , A. (2003). Screening south Indian medical plants for antifungal activity against cutaneous pathogens . Phytother .Res ., 17(9) : 1123-1125.

Weitzman , I . and Summerbell , R . C. (2009) . The dermatophytes . Clin .Microbio . Rev., 8:240-259.

Xian –guo , H. and Urasella , M. (1994) . Antifungal compound from *Solaumn nigrescens* . J . Ethnopharm , (43) : 173 - 177.

A study of the inhibitory effect of Rosemary (*Rosemarinus officinalis*) against the dermatophytes causing dermatophytosis in Al – Nassiriyah City, Thi – Qar .

Suzan Khalid Kadhum * Mohamed Hussein Mashhad ** Yass K. Abbass*

* College of Education for Pure Science , Thi-Qar University .

** College of Science , Thi-Qar University .

Dermatophytes cause superficial mycosis in human . Many antifungal agents and plants extracts were used for the treatment of these diseases .

One hundred and eighty specimens (skin scrapping , hair and nail fragments) from 66 males and 114 females were collected from patients consulting in Al – Hussein Teaching Hospital in Al – Nassiriyah City . The study was conducted during the period from Augest , 2014 to December , 2014 . This study aimed to isolating and identifying the fungi causing dermatophytosis , then studying the inhibitory effect of alcoholic extract of Rosemary (*Rosemarinus officinalis*) against the isolated dermatophytes .

The isolated dermatophytes were *Microsporum canis* , *M. fulvum* , *M. gypseum* , *Trichophyton tonsurans* and *T. verrucosum* . *M. canis* recorded the highest occurrence with a percentage of 36.36 % , while *M. fulvum* recorded the lowest occurrence percentage (6.36 %) . Female infections were 74 (67.27 %) cases . On the other hand only 36 (38.33 %) cases recorded within males . At September , 2014 ; 69 cases recorded , but at December , 2014 ; 19 cases recorded with a percentage of 38.33 % and 10.56 % respectively . The alcoholic extract of Rosemary (*Rosemarinus officinalis*) have an inhibitory effect against the isolated dermatophytes . The highest effect of the extract with a concentration of 200 mg / ml was against *T. verrucosum* . The extract with concentration of 100 mg / ml have the lowest effect against *M. gypseum* .