تاثير مستخلصات ثمار نبات البنبر على الفطريات المعز،لة من مرضى الالتهابات الرئوية في مدينة الديوانية

أ.م.د ماجد كاظم الشبلي
كلية التربية /علوم الحياة

فرقد عبد الاله الجناحي
كلية التربية /علوم الحياة

الملخص

شملت الدراسة الحالية جمع 240 عينة قشع لمرضى الالتهابات الرئوية المراجعين للعيادة الإستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في مدينة الديوانية للفترة من تشرين الأول 2010 ولغاية نيسان 2011 . لغرض عزل وتشخيص الفطريات فيها وإختبار تاثير مستخلصات ثمار نبات البنبر *Cordia myxa*(L.) الكحولية والمائية عليها إذ تم عزل 20 نوعا فطريا هي كل من الفطريات :*Penicillium* spp و*Candida albicans* و *Aspergillus niger* و *A.nidulan* و *A.flavu* و *A.terrus*و *Mucor*و *Pithomyces chartarum* و *Coccidioides immitis* و *Blastomyces dermatitidis* وبعدد عزلات ونسبة ظهور بلغت (82 -32.03%و70-27.45%و 20- 7.81%و و3-و1.17%و10-3.906% و5-1.95% و2-0.87 %و1-0.39% و2-0.87 % و 2- 0.78 %) على التوالي ,أما بالنسبة لتأثير المضادات الفطرية على الفطريات المعزولة فقد كان أكثر المضادات الفطرية تثبيطا لنمو مستعمرة الفطريات قيد الدراسة هو المضاد الفطري Ketoconazole والذي أظهر عند التركيز 100 % اعلى معدلات أ قطار تثبيط بلغت (2.65 و2.9 و2.9 و4.25 و 2.5 و2.9 و 3 و3 و3 و2.5) سم للفطريات *Aspergillus flavus* و*A*.nidulanes و *A.niger*و*A.terreus* و *Blastomyces dermatitidis* و*Candida albicans*و*Coccidioides immitis* و*Penicillium* spp و *Mucor* على التوالي اما عند التركيز 50 % فقد كان القطر التثبيطي (2.5 و2 و2 و2.5 و2.1 و2 و2.5 و2.5 و2.8 و1) في حين كان المضاد Nystatin اقل المضادت تثبيطا .

وقد بدى التاثير واضحا في المستخلصات الكحولية والمائية لثمار نبات البنبر على نمو مستعمرة الفطريات المعزولة وكان اكثرها تاثيرا المستخلص الكحولي للثمار عنه في المستخلص المائي ففي التركيز 100 % بلغ معد ل قطر التثبيط (4 و3 و3 و 1.5 و1.2 و1) سم للفطريات *Aspergillus flavus* و *Blastomyces dermatitidis* و*Pithomyces chartarum* و *A.niger* و *A.terreus* و*Coccidioides immitis* على التوالي في حين لم يؤثر على باقي الفطريات وهي كل من : *Penicillium* spp و*Candida albicans* و*Mucor A.nidulanes* .

Abstract

المقدمة Introduction

تعد الامراض الرئوية الفطرية من المشاكل الصحية الشائعة التي تعاني منها فئات عمرية مختلفة لكلا الجنسين هذه الإصابات تستهدف الجزئين العلوي والسفلي من الجهاز التنفسي حيث يتعرض الجهاز التنفسي الى الإصابة بالعديد من الأمراض تختلف في مسبباتها فمنها البكتيرية والفايروسية والفطرية و إذ تشكل الفطريات التي تظهر في بيئتنا احد المصا در لهذا النوع من الإصابات و وتمثل الرئتين العضوالاول الذي يواجهها ويتعرض للإصابة بها وقد تباينت الأصابات الفطرية في مسبباتها فمنها ما يسببها الفطريات الشعاعية *Actinomycosis* او الإصابة بالخمائر *Candida* المتضمن لداء المبيضات *Candidiasis* وداء المكورات الخبئية *Cryptococcosis* او الاصابة بالفطريات الخيطية والتي شملت داء الرشاشيات *Aspergilosis* والفطريات اللاقحية *Mucoromycosis* اضافة للاصابة بالفطريات الثنائية الهيئة المتضمنة لداء الفطريات المكورة Paracoccidiomycosis اضافة لداء الشبكة البطانية النسجية Histoplasmosis والفطريات البرعمية Blastomycosis واخيرا الفطريات شبه المكورة Paracoccidiomycosis [14] .

تستعمل في علاج الإصابات الرئوية الفطرية مضادات فطرية مثل الـ Ketoconazole وFluconazole وNystatin وAmphoterecin B وبالنظر لزيادة المقاومة للمضادات الفطرية علاوة على الاثار الجانبية الناتجة من استخدامها والتي يتراوح مداها بين قصير او طويل الأمد كنتيجة لسميتها العالية لخلايا اللبائن كما إنها مكلفة في بعض الاحيان وتغير التوازن الطبيعي للجسم علاوة على اتها تحدث طفرات وراثية في جسم الانسان لذلك أصبح من الضروري التحري لإيجاد البدائل عن هذه المضادات الفطرية بمواد تملك الفاعلية نفسها ضد الإصابات الفطرية الرئوية بمنئى عن الآثار المترتبة عن المضادات الفطرية وكانت المصادر قد اشارت الى ذلك بوجود مصادر طبيعية تملك تلك المزايا ضد الفطريات المرضية [24].

من هذه المصادر هي النباتات الطبية ومنها نبات البنبر Cordia myxa(L) احد النباتات التي تزرع في وسط وجنوب العراق وخصوصا في البصرة [5] والذي يعد الهند موطنه الأصلي قدم الى العراق في بداية الخمسينات ينتشر في الهند وايران وباكستان واندنوسيا وشرق وجنوب افريقيا كونه يفضل الأجواء الإستوائية و ينتمي الى عائلة Ehretiaceae عرف بإستخدامه في علاج أمراض الصدر.

ولخطورة الفطريات التي تصيب الجهاز التنفسي وما ينتج عنه من الاصابات الاولية او الثانوية التي ممكن أن تمتد الى باقي أعضاء الجسم ولأهمية ثمار نبات البنبر في تثبيط نموها ولقلة الدراسات المتعلقة بهذا الموضوع في مدينة الديوانية ارتاينا القيام بهذه الدراسة بهدف دراسة التأثير المثبط لمستخلص ثمار نبات البنبر على الفطريات المعزولة من مرضى الإلتهابات الرئوية وإختبار الحساسية الدوائية للعزلات الفطرية المشخصة إتجاه بعض المضادات الفطرية بالمقارنة مع تاثير المستخلصات.

المواد وطرائق العمل Materials and methods

جمع العينات Specimens collection

جمعت 240 عينة قشع من المرضى الوافدين الى العيادة الإستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في الديوانية للفترة من 2010/10/22 الى 2011/3/22 من المرضى المصابين بالتهابات رئوية حادة أومزمنة متمثلة بالسعال الدائم المصحوب بكمية من القشع المتقيح او الحاوي على الدم وعدد من المرضى المشتبه بإصابتهم بالتدرن و تم عمل إستمارة خاصة لكل مريض ثبت فيها بعض المعلومات المهمة شملت الإسم والعمر والجنس والسكن وطبيعة العمل والعلاجات المستخمة وخضع المريض للفحوصات الشعاعية Chest x- rays والسريرية من قبل الطبيب الأختصاص وتبين أن لديهم إلتهابات رئوية و جمعت العينات في قناني محكمة الغلق ونقلت الى مختبر الأحياء المجهرية في كلية التربية لغرض زرعها وتشخيصها و كان عدد الاناث (129) من المجموع الكلي للعينات المدروسة فيما كان عدد الذكور(111) متوزعين بفئات عمرية من (1-75) سنة .

الفحوصات المختبرية للعينات Laboratory examination for the samples

الفحص المباشر Direct examination

وضع جزء من القشع المحضرة بشكل مسحة على شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة و أضيف له قطرة من محلول KOH بتركيز10% ثم سخنت الشريحة الزجاجية بامرارها على لهب مصباح بنزن عدة مرات مع تجنب التسخين الشديد اذ انه من

شانه ان يبلور هيدروكسيد البوتاسيوم وبعدها تم وضع غطاء الشريحة الزجاجية و فحصت الشريحة بعد مرور 10-15 دقيقة لملاحظة الخيوط الفطرية ومن الممكن ملاحظة السبورات الفطرية [16]

زرع العينات Culturing of speeimens

حضر وسط السابروید دكستروز اكار Sabouraud Dextrose Agar SDA وحسب تعليمات الشركة المجهزة Himedia ثم اخذ جزء من القشع بواسطة المسحة القطنية وزرعت على وسط SDA بدا التشخيص بعد ظهور النمو الفطري اعتمادا على المظهر الخارجي للمستعمرة Morphological featurus مثل شكل ولون وقطر وحافة وارتفاع المستعمرة او اعتماد الصفات المجهرية مثل شكل وحجم الكونيدة و تم تصنيفها اعتمادا على [25,15,11].

حساب النسبة المئوية لظهور الانواع

تم حساب النسبة المئوية لظهور الانواع والاجناس الفطرية حسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الحنس او النوع الفطري}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times 100$$

المستخلصات النباتية Plants Extracts

تم جمع الثمار في شهري حزيران وتموز غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت بوضعها على الورق النشافو فصلت اجزاءه كل على حدة وبعد فصل البذور عن الثمار جففت الثمار في جو المختبر في الظل وتحت درجة حرارة 25 مْووبعد ان جففت الثمار في الظلو طحنت الاجزاء كل على حدة بواسطة مطحنة (Blender) وبعد ذلك وضعت في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة ثم وضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 ْم لحين الاستعمال [19].

الاستخلاص Extraction

الاستخلاص الكحولي Alcoholic extracttion

تم تحضير المستخلص الكحولي لثمار نبات البنبر بتركيز الكحول 70 % حسب طريقة [20] وذلك باستخدام جهاز الاستخلاص سكسوليت Soxhlet apparatus جففت المستخلصات ياستخدام المبخر التفريغي الدوار Vaceumrotary evaporator تحت درجة حرارة 50 مْ ثم حفظت في درجة حرارة-20 مْ لحين الاستخدام..

الاستخلاص المائي Equeous extract

تم اعتمادا على الإستخلاص البارد للثمار إذ تم ازالة البذور منها ثم إضافة الماء المقطر المعقم اليها بنسبة 1:1 ومزجها بالمازجة الكهربائية (Blender) لمدة 40 ثانية دوران ثم توقف لمدة ثلاث دقائق ثم تكرر هذه العملية خمسة مرات وقد اجريت العملية في جو الغرفة 25 مْ.ترشح بعدها المستخلصات بالشاش ثم بورق الترشيحو جففت المستخلصات باستخدام المبخر التفريغي الدوار Vaceum rotary evaporator تحت درجة حرارة 50مْ وثم وزنت المستخلصات وحفظت في درجة حرارة-20 مْ .

تعقيم المستخلصات وتحضير المحلول الخزين Sterlization and preparation the stock soliotion

اعتمدت طريقة[20] في تحضير المحلول الخزين Stock solution وتعقيمه والحصول على محلول خزين معقم وقد استخدم هذا المحلول كمصدر للتراكيز 25 و50 و100 ملغم/مل.

اختبار حساسية العزلات الفطرية تجاه مستخلصات ثمار البنبر باستخدام طريقة الانتشار في الحفر

اتبعت طريقة [20] في اجراء الاختبار اعلاه وكالاتي :

بنقل0.2 من العالق الفطري على سطح وسط SDA بعد عمل حفر بقطر 6 ملليمتر في الوسط الصلب المزروع باستخدام الثاقب الفليني, حددت فعالية كل تركيز من المستخلصات النباتية وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط للنمو (Inhibition zone) حول كل حفرة باستخدام المسطرة , قورنت النتائج مع المضادات الفطرية المذكورة سابقا.

اختبار الحساسية الدوائية للعزلات الفطرية تجاه بعض المضادات الفطرية بطريقة الانتشار بالحفر.

تم اجراء الفحص باتباع طريقة الانتشار بالحفر باستخدام اربعة انواع من المضادت الفطرية (Ketoconazole وFluconazole وGriseofulvin وNystatin) ضد نمو الاعفان والخمائروكما يلي :

A. اللقاح الفطري Fungal inoculum:-

حضر اللقاح الفطري بالاعتماد على [25] بنقل جزء من المستعمرات النامية على وسط SDA بعد تنشيطها للحصول على تركيز10 بوغ/مل .

B. تحضير محاليل المضادات الفطرية Preparation antifungal soluotion

استعملت مادة Dimethyl Sulphoxide(DMSO) بوضع 5 مل منها بتركيز 100 % في قنينة زجاجية معقمةVial واضيف لها 50 ملغم من المضاد الفطري المراد اختباره وثم رج المحلول بقوة ليعطي المحلول الخزين (Stock Soluotion) بتركيز10000 مايكروكرام /مل وحضرت عدة تخافيف للحصول على التراكيز الاتية 25 و50 و100 % واخذ 0.2 مل من اللقاح الفطري ونشر على سطح وسط SDA المحضر سابقا في اطباق بتري باستخدام ناشر زجاجي حرف L-spreader وتركت الاطباق بعد تلقيحها لمدة 30 دقيقة وعملت حفربقطر 5 ملم في الوسط الملقح بواسطة ثاقب الفلين اضيف 0.1 مل من المضادات المحضرة سابقا الى كل حفرة باستخدام ماصة دقيقة Micropipette حضنت الاطباق بدرجة حرارة 28 مْ وبدرجة حرارة 37 مْ للخمائر لمدة يومين الى ثلاثة ايام وتم بعدها قياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone بوحدات المليمتر[11].

النتائج والمناقشة **Results and Disccussion**

العزل و التشخيص Isolation & Identification

تم جمع 240 عينة قشع من مرضى الالتهابات الرئوية الوافدين الى العيادة الاستشارية للامراض الصدرية والتنفسية في مدينة الديوانية 111 ذكورو129 اناث وكانت 145 عينة (الذكور 75 والاناث70) منها حاوية على الفطريا ت شكلت نسبة مئوية مقدارها 60.4 % من المجموع الكلي للعينات المدروسة وظهرت 47 عينة موجبة الفحص لمرض التدرن الرئوي Tuberculosis وقد لوحظ ان جميع العينات الموجبة للـ TB تحوي ايضا على العزلات الفطرية مما يشير بوضوح الى ان الاصابة المختلطة Mixed infection واردة في اصابات الجهاز التنفسي اذ ان المسبب المرضي سواء كان فطر او بكتريا يهيء للاصابة بالمسبب المرضي الثانوي من خلال شل الدفاعات المناعية للجهاز التنفسي وهذا تاكيد لما ذكره [1].

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص 10 انواع من الفطريات من قشع مرضى الإلتهابات الرئوية المراجعين للعيادة الإستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في مدينة الديوانية وأوضح التحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية (0.05) بالنسبة للأنواع الفطرية المعزولة واعدادها حيث تم عزل (7) فطرا خيطيا تمثلت بالفطريات الاتية : *Penicillium* spp و*Aspergillus niger* و*A.flavus* و*A.terreus* و*A.nidulans* و*Mucor* و*Pithomyces chartarium* وفي حين تم عزل مجموعة من الخمائر تمثلت بمايلي : *Candida albicanns* و*Blastomyctes dermatitidis* و*Coccidiodes immitis* جاءت هذه النتيجة بتوافق مع ماذكرته[10] والتي اجرت دراسة عن مسببات الإلتهابات الرئوية في محافظة الديوانية والتي وجدت ان الفطريات الخيطية والخمائرفي أعلاه هي من المسببات المرضية للإلتهابات الرئوية .

النسبة المئوية لظهور العزلات الفطرية

فيما يخص النسب المئوية لظهور الفطريات الخيطية والخمائر وعدد العزلات فهي كما مبين في الجدول (1) اذ كانت نسب الفطريات *Penicillium* spp (32.03 %)و *Aspergillus niger* 7.81 %و *A.flavus* 3.906%و *A.terreus* 1.95% و0.78 % *Mucor* و *A.nidulanes* 1.17%و *Pithomyces chartarium* 0.39 % و *Candida albicans* 27.45% و *Blastomyces dermatitids* 0.78% وبمجموع كلي للعزلات بلغ 197 عزلة مع ملاحظة انه في بعض الاحيان العينة الواحدة تعطي اكثر من فطر ان غزارة وجود الفطريات في الجهاز التنفسي تعود الى انه مكان مناسب لنمو الاحياء المجهرية التي تصل اليه من خلال هواء التنفس فهو مكان رطب وبدرجة حرارة مناسبة لنمو الفطريات مع وجود المغذيات وخصوصا اذا كان الشخص مثبط مناعيا اذ ان هذه الصفة تسهل عملية الاختراق والاستعمار للفطر داخل انسجة الجهاز التنفسي [23].

كانت السيادة كما في الجدول ادناه للفطر *Penicillium* spp ويعزى ذلك لإنتاجه الغزير من الوحدات التكاثرية التي تمتلك القدرة على الأنتشار الواسع في الطبيعة علاوة على كونها ممرضة عند استنشاقها من قبل الاشخلاص مضعفي المناعة لانها من الفطريات الأنتهازية [6] فيما احتلت المرتبة الثانية خميرة المبيضات *Candida albicans* التي تعد النبيت الطبيعي لجسم الانسان والتي تساعدها عوامل ضراوتها من الاتصاق على الخلايا الطلائية وقدرتها على تكوين الانبوب الجرثومي الذي يمكنها من اختراق الانسجة كما ان لقدرتها على انتاج الانزيمات الحالة والسموم التي تهيء الانسجة لاستعمارها والتحول المظهري زادا من فرصة الانتهازللتكاثر والنمو في الجهاز التنفسي [3].

جاءت الفطر*Pithomyces chartarum* باقل نسبة ظهورمن بين الفطريات المعزولة بنسبة بلغت 0.39 % وبعزلة واحدة ولعل ظهور الفطر*Pithomyces chartarum* كأول تسجيل لهذا الفطر في العراق كونه من الشائع تسببه في إصابات جلدية *Facial aczema* لدى الاغنام والماعز [15] وان وصوله الى الرئتين قد يكون ناتج من التلامس المباشر مع هذه الحيوانات من خلال رعاة الغنم او القصابين .

كما تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الخميرة *Coccidioides immitis* التي تعد من اكثر الفطريات المعزولة خطورة كونها تستطيع ان تصيب الاشخاص الاصحاء وينصح دائما بالحذر عند التعامل معها في المختبر ومن المعروف ان هذه الخميرة هي احد مسببات الاصابة الجهازية العميقة Systimic infection وعادة ماتصيب الجهاز التنفسي لاسيما الرئتين التي قد تتحد فيها الاصابة او قد تنتقل الى اعضاء اخرى من الجسم كالكبد او الكلية او البوستات اوتجويف البريتون او الجلد او الانسجة الرخوة والمفاصل والجهاز العصبي المركزي [9] كما لاتقل عنها الخميرة البرعمية *Blastomyces dermatitidis* من الأهمية الطبية كونها من فطريات التربة ثنائية المظهر والتي تسبب المرض الرئوي كاحد العلامات السريرية للاصابة به وان الشائع في اصاباته هو المرض الجلدي كل ذلك لم يمنع من انتقال المرض عبر الدم اواللمف الى باقي اعضاء الجسم وتعزى نسبته المتدنية الى الى بطء نموه مقارنة بالفطريات الاخرى سريعة النمو كما يكمن الخطر عند الاصابة به الى عدم امكانية تشخيصه إلا بالاعتماد على الزرع المختبري على الأ وساط الغذائية والذي يكون لزاما لاثبات الإصابة حيث لايعتد بالعلامات السريرية [12] .

جدول (1) اعداد ونسب ظهور الفطريات

اسم الفطر	عدد العزلات	النسبة المئوية للظهور
Penicillium spp	**82**	**32.03 %**
Candida albicans	**70**	**27.45 %**
Aspergillus niger	**20**	**7.81 %**
Aspergillius flavus	**10**	**3.906 %**
Aspergillus nidulans	**3**	**1.17 %**
Coccidioides immitis	**2**	**0.78 %**
Mucor	**2**	**0.78 %**
Candida parapsilopsis	**2**	**0.78 %**
Blastomyces dermatitidis	**2**	**0.78 %**
Pithomyces	**1**	**0.39 %**
المجموع الكلي	**197**	**% 100**

الحساسية الدوائية لبعض العزلات الفطرية تجاه المضادات الفطرية

أظهرت العزلات الفطرية في الدراسة الحالية تباينا واضحا في الحساسية تجاه المضادات الفطرية والتي ابدى اختلاف الجنس والنوع للفطريات المختبرة وكذلك نوع المضاد الفطري المستخدم وتركيزه الاثر في التباين الحاصل في تاثيراتها و تبين النتائج ان المضاد الفطري كيتوكونازول Ketoconazole جاء بالمرتبة الاولى من بين المضادات الفطرية المستخدمة في التاثير على الفطريات المدروسة من حيث التثبيط للنمو للمستعمرة الفطرية اذ اظهراعلى معدل قطر تثبيطي للنمو في مستعمرة الفطر *A.terreus* من بين الفطريات المختبرة عند استخدام التركيز 100 % والذي بلغ 4.25 سم بينما كان اقل قطر تثبيطي قد بلغ 0 سم عند الفطر *Aspergillus niger* عند التراكيز الثلاث 25,50,100 % بينما تفاوتت اقطار التثبيط للنمو في باقي الفطريات عند التركيز 100 % والتي بلغت 3 سم لكل من *Penicillium* spp و*Coccidoides immitis* و *Pithomyces chartarum* و2.9 سم لكل من *A.nidulees*, *C.albicans* بينما سجل معدل قطر تثبيطي قدره 2.65,2.5,1 سم في الفطريات *Mucor*و Blastomyces *dermatitidis* و*A.flavus* على التوالي اما معدل قطر التثبيط في التركيزين 100,50 % قد تراوحت بين اعلى قيمة 2.8 سم في الفطر *Pithomyces chartarum* واقل قطر تثبيطي في مستعمرة الفطر *Mucor* والذي بلغ 1 سم عند التركيز 25 % ويعود السبب في ذلك الى ان مجموعة الازول ومنها المضاد كيتوكونازول ketoconazole مضادات واسعة الطيف و فعاليتها تكمن في تثبيط عملية نقل الالكترونات خلال السلسلة التنفسية للفطريات التي تنمو في ظروف هوائية كما انها تعمل على تثبيط عمل الانزيم الذي يعتبر الاساس في عملية تحويل Lanosterol الى Ergosterol الجزء الاساس في بناء الغشاء البلازمي للفطر وبالتالي حدث خلل في بناء الغشاء البلازمي وتولدت ثغور مما ادى الى اختلال توازن الخلية وارتشاح موادها الى الخارج و اشارت[10] الى ان مضادات مجموعة الازول Azoles ومنها المضاد ketoconazole الذي حقق اعلى النسب في تثبيط النمو من بين المضادات المستعملة تجاه االفطريات المعزولة من الجهاز التنفسي [17].

جاء المضاد الفطري فلوكونازول Fluconazole بالمرتبة الثانية في تثبيط النمو للمستعمرات الفطرية المدروسة فقد حقق اعلى معدل تثبيط في مستعمرة الفطر *B.dermatitidis* والذي بلغ 3.25 سم عند التر كيز 100% واقل تثبيط بلغ 0 سم عند التركيز نفسه وتباينت اقطار التثبيط لنفس المضاد عند التركيزين 50,25 % الذي بلغ اعلاه عند التركيز 50% بمعدل 2.9 سم واقل معدل بلغ 0 سم عند التركيزين 50,25 % في الفطرين *A.niger* و *Mucor*وعند التركيزين 50,25% للاول وجميع التراكيز للثاني بينما تفاوتت معدلات اقطار التثبيط للنمو لباقي الفطريات بين هذين المعدلينو عرف هذا المضاد بانه مثبط لنمو الفطريات Fungistatic ومفيد في حالة الاصابة ب *Coccidiodes immitis* ويعد المضاد الفطري فلوكونازول Fluconazole من المضادات التي تثبط Cytocrom p14 α demathylase المهم في بناء الـSterol.

اظهر المضاد الفطري Nystatine قدرة تثبيطية عالية جاءت بالمرتبة الثالثة من بين المضادات المستخدمة لكن اظهر اعلى معدل قطر لتثبيط النمو في المبيضات *Candida albicans* من بين الفطريات المدروسة والذي بلغ 3 سم عند التركيز 100 % في حين بلغ اقل معدل قطر تثبيطي للنمو 2 سم عند التركيز25 % فيما كان معدل قطر التثبيط عند التركيز 50 % 2.25 سم جاءت هذه النتيجة متماشية مع اشارت اليه [8] الى قدرة المضاد الفطري Nystatine على ان يحقق اعلى معدلات تثبيط للنمو من بين المضادات الفطرية التي استخدمتها على المبيضات دون باقي الفطريات المعزولة من الجهاز التنفسي كما اشار [3] الى ان المضاد الفطري اعلاه كان اكثر المضادات المستخدمة كفاءة في تثبيط نمو المبيضات من باقي المضادات وهذا يعود الى ان مركبات البولينات Polyenes والتي تشمل Nystatin و Amphotericin B تكون الية عملها في تكوين مركبات غير قابلة للذوبان مع ستيرولات Sterols الموجودة في غشاء الخلية الفطرية (Ergosterol) وكذلك مع الكوليسترول في الثديات مما يسبب تغيير في نفاذية الخلية الفطرية والذي يؤدي لتدفقK و P وتبدل مجرى البروتون وبالتالي موت الخلية نتيجة لتسرب المحتوى السايتوبلازمي للخلية الفطرية [18] ان المضاد الفطري Nystatin ينشط تحرر البوتاسيوم في خلايا الخميرة او شبه الخميرة كنتيجة لتلف الغشاء بدرجة اكثر كفاءة من تحرر البوتاسيوم من كريات الدم وهي عكس تاثير المضاد الفطري Amphotericin B حيث ان خصوصيته للهدف قليلة جداً ولهذا فان المضاد الفطري Nystatin يكون اكثر كفاءة كمضاد فطري [10] وذكرت [8] ان المضاد الفطري Nystatin فعال تجاه الخمائر والاعفان ولكنه ذو فعالية عالية تجاه داء المبيضات Candidiasis

جاءت هذه النتيجة متماثلة مع ماتوصلت اليه [8] التي وجدت ان النيستاتين ثبط نمو المبيضا ت المسببة للالتهابات الرئوية لكنه لم يكن اكثر المضادات تاثيرا .

حل المضاد كريسيوفولفين Griseofulvin بالمرتبة الرابعة من المضادات المستعملة في تثبيط النمو للفطريات المعزولة من الجهاز التنفسي وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكرته [8] الذي اشار الى محدودية تاثير المضاد كريسيوفولفين وعمله بنطاق ضيق على المسببات المرضية و وقد يكون سبب مقاومة الفطريات للمضاد كريسوفولفين قد يرجع الى امتلاكها اليات مقاومة مناسبة مثل الجدار الخلوي الصلب او تكوينها لانزيمات متخصصة بتحطيم هدا المضاد لا سيما وان هذا المضاد بطيئ التاثير ومحدود الطيف ويعتمد في تاثيره على منع انقسام الخلية الفطرية [10].

جدول (2) حساسية العزلات الفطرية تجاه بعض المضادات الفطرية بين التراكيز المتشابهة

Control	LSD	K	F	G	N	LSD	K	F	G	N	LSD	K	F	G	N	الفطريات
		تركيز100 %					تركيز 50%					تركيز25 %				
0	0.285	2.65	2	1.9	0	0.246	2.5	1.5	1	0	0.820	2.3	1.2	1.7	0	*Aspergillus flavus*
0	0.358	2.9	2.5	0	0	0.400	2	3	0	0	0.439	2	2.5	0	0	*Aspergillus nidulans*
0	0.163	2.9	2.5	0	0	0.296	2	3	0	0	0.296	2	2.5	0	0	*Aspergillus niger*
0	1.139	4.25	2.12	1	0	0,199	2.5	2	1.5	0	0.161	2.5	1	0	0	*Aspergillus terreus*
0	0.264	2.5	3.2	0	1.5	0.282	2.1	2.3	3	0	0.185	1.8	1.7	2.5	0	*Blastomyces dermatitidis*
0	0.282	2.9	2.5	0	3	0.304	2	3	0	2.25	0.346	1.8	2.5	0	2	*Candida albicans*
0	0.249	3	2	2	2.5	0.163	2.5	2	1	0	0.163	2.5	1	1	0	*Coccidioideds immitis*
0	0.564	3	1.5	2	0	0.282	2.5	1	1.8	0	0.199	2	1	1.4	0	*Penicillium* spp
0	0.346	3	3	1	0	0.282	2.8	2.9	1	0	0.282	2.3	2,6	1	0	*Pithomyces chartarum*
0	0.398	2.5	0	3	0	0.237	1	0	3	0	0.187	1	0	2.5	0	*Mucor*

K=Ketoconazole N=Nystatin F=Fluconazole G=Griseofulvin

جدول (3) حساسية العزلات الفطرية تجاه بعض المضادات الفطرية بين جميع التراكيز

control	LSD	التركيز % k			LSD	التركيز % F			LSD	التريز G %			LSD	التركيز % N			اسم الفطر
0		100	50	25		100	50	25		100	50	25		100	50	25	
0	0.185	2.65	2.5	2.3	0.137	2	1.5	1.2	0.173	1.9	1	1.7	0	0	0	0	*Aspergillus flavus*
0	0.480	2.9	2	2	0.199	2.5	3	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	*Aspergillus nidulans*
0	0.480	2.9	2	2	0.199	2.5	3	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	*Aspergillus niger*
0	0.173	4.25	2.5	2.5	0.182	2.12	2	1	0.163	1	1.5	0	0	0	0	0	*Aspergillus terreus*
0	0.230	2.5	2.1	1.8	0.165	3.2	2.3	1.7	0.163	0	3	2.5	0.115	1.5	0	0	*Blastomyces dermatitidis*
0	0.325	2.9	2	1.8	0.199	2.5	3	2.5	0	0	0	0	0.331	3	2.25	2	*Candida albicans*
0	0.410	3	2.5	2.5	0.419	2	2	1	0.199	2	1	1	0.115	2.5	0	0	*Coccidioideds immitis*
0	0.282	3	2.5	2	0.199	1.5	1	1	0.282	2	1.8	1.4	0	0	0	0	*Penicillium* spp
0	0.346	3	2.8	2.3	0.346	3	2.9	2,6	0.199	1	1	1	0	0	0	0	*Pithomyces chartarum*
0	0.240	2.5	1	1	0	0	0	0	0.346	3	3	2.5	230	0	0	0	*Mucor*

K=Ketoconazole N=Nystatin F=Fluconazole G=Griseofulvin

جدول (4) حساسية العزلات الفطرية تجاه المستخلصات النباتية

اسم الفطر	مستخلص الثمار الكحولي 50 %	مستخلص الثمار االمائي 50 %	LSD	مستخلص الثمار الكحولي 100%	مستخلص الثمار المائي 100 %	LSD	محلول السيطرة
Candida albicans	0	0	0	0	0	0	0
Aspergillus niger	0	0	0	1.5	0	1.603	0
Aspergillus flavus	3	3	1.133	4	4	2.145	0
Aspergillus terreus	1	0	0.911	1.2	2	1.503	0
Penicillium spp	0	0	0	0	0	0	0
Aspergillus nidulans	0	0	0	0	0	0	0
Coccidioides immitis	1	1	0.732	3	3	1.425	0
Mucor	0	0	0	0	0	0	0
Blastomyces dermatitidis	2	2	1.111	3	3	1.611	0
Pithomyces	2.5	1	1.603	3	1	1.910	0

تاثير المستخلصات الكحولية والمائية لثمار نبات البنبرعلى الفطريات المعزولة

لوحظ من الجدول (4) تباين واضح في معدل اقطار المستعمرات للفطريات المعزولة الناتجة عن تاثير مستخلصات ثمارنبات البنبر على معدل اقطارللفطريات باختلاف التركيز ونوع المستخلص وطريقة الاستخلاص اذ ظهر بان المستخلص الكحولي قد سجل اعلى معدلات في اقطار التثبيط لنمو الفطريات مقارنة مع المستخلص المائي وقد كانت الزيادة في تركيز المستخلص من 50-100% تؤثر عكسيا في المعدل التثبيطي كما لوحظ من نفس الجدول وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 بين التركيزين المستخدمين وتاثيرهما على العزلات الفطرية وقد كان تاثيرها المعنوي واضحا على الفطر *A.flavus* وبمعدل قطر تثبيطي بلغ 4 سم للمستخلص الكحولي و3 سم للمستخلص المائي عند التركيزين50-100% على التوالي. من الجدير بالذكر هناك دراسات اجريت على المواد الفعالة الموجودة في ثمار البنبر اشارت الى وجود العديد من المركبات ذات التاثير المضاد للفطريات مثل الصابونيات التي تعد مركبات وسطية تظهر اثناء التخليق الحيوي للكربوهيدرات [4] اذ تتداخل الصابونيات مع الستيرولات الموجودة في غشاء الخلية الفطرية مما تسبب تثقب الغشاء ونضوح محتويات الخلية وبالتالي موت الخلية الفطرية [13] . كما اشارت[7] لوجود الكلايكوسيدات والراتنجات ومركبات الكومارين وخصوصا الـ Scopoletin الذي يملك تاثيرا مضادا للفطريات بالاضافة للقلويدات والتانينات والفينولات .

قد يعزى تفوق المستخلص الكحولي على المائي الى ان المواد الفعالة تكون قابلة للذوبان بالكحول اكثر منه في الماء اذ ان الكحول الاثيلي له القابلية على سحب المركبات الفعالة من العينة النباتية بسبب قطبيته العالية [13] ومن النتائج اللافتة للانتباه في دراستنا هذه وجود تاثير معنوي كبير لمستخلص ثمار نبات البنبر على خميرة *Coccidioides immites* مما يعطي مؤشرا ايجابيا الى امكانية التصدي لهذا المسبب المرضي الخطير باستخدام المستخلصات وقد كان المستخلص الكحولي هو الاكثر تاثيرا وكان التاثير يزداد بزيادة التركيز فقد سجل التركيز 50 % قطر تثبيطيا مقداره 2 سم وسجل التركيز 100 % 3 سم و يرجع ذلك الى وجود مواد فعالة في المستخلص يتحسس لها الفطر لاسيما وان الدراسات تشير الى ان استخدام ثمار البنبر يساعد في معالجة امراض الجهاز التنفسي سيما المسببات الفطرية والبكتيرية ومن المواد الفعالة المسجل وجودها في المستخلص هي بعض المركبات القلويدية مثل Pyrrolzidin و Macrophyline ذات التاثير المضاد للاحياء المجهرية [7].

فيما يخص الفطر *Pithomyces chartarum* كان تاثره بمستخلصات ثمارنبات البنبر بالمرتبة الثالثة بواقع قطر تثبيطي مقداره 2.5 سمو 3سم عند استخدام التركيز50و100% على التوالي .

اما المستخلص المائي فقد أعطى معدل قطر تثبيطي مقداره 1 سم و 1.5 سم للتركيزين 50 % و100 % على التوالي ان هذا الفطر من الفطريات الإنتهازية التي تعود الى الفطريات الناقصة وهو يعزل لاول مرة من عينات القشع وقد يكون سبب وجود التثبيط للمستخلص ضدهذا الفطر راجع الى احتوائه على مواد يتحسس منها الفطر فعلى سبيل المثال فان المستخلص يحتوي على التانينات وهي عبارة عن مواد فينولية Phenoles متبلمرة وذات مجاميع هيدروكسيلية متعددة تعمل على تثبيط نمو الفطريات عن طريق تكوين معقدات مع البروتين الخلوي مما يجعلها تعمل كمثبطات انزيمية [4] فيما يخص الخميرة البرعمية *Blastomyctes dermatitides* و فقد تساوى فيها التثبيط للمستخلصين الكحولي والمائي بمعدل قطر تثبيطي 2 سم و3 سم على التوالي للتركيزين (100,50) % هذه الخميرة تمتاز بكونها مترممة تستطيع ان تحطم المواد العضوية مثل مخلفات النباتات عن طريق جهازها الانزيمي الفعال المحطم للسيليلوز والبروتين والدهون [12].

وقد ثبط المستخلص الكحولي بتركيز 100 % كل من الفطر *A.trreus ,A.niger* اذ اعطى معدل قطر تثبيطي مقداره 2 سم و1.5 سم على التوالي في حين لم يؤثر المستخلص المائي بتركيزيه المستخدمين على الفطرين و من المعلوم ان هذين الفطرين يمتازان بمقاومتهما العالية للظروف الصعبة واحتياجاتهم الغذائية البسيطة وجهازهما الانزيمي الفعال [22] .

اما باقي الفطريات وهي :*A.nidulanes* و *C.albicans* و *Pinicillium spp* و *Mucor* فلم تبدي اي تاثير للمستخلص الكحولي والمائي للثمار وهذا يمكن ان يعزى الى نظامها الايضي الذي يستطيع ان يعدل مساره كلما شعر الفطر بالخطر بالاضافة الى طبيعة جدرانه التي تعمل كحاجز وقائي ضد المواد السامة كما ان للمحتوى الوراثي وطبيعة تغذية الفطردوراخرفي ذلك [21].

ومن خلال ماتقدم نلاحظ ان هنالك بعض المعاملات للستخلصات أعطت نفس التاثير المعنوي للمضادات الفطرية المستعملة ضدها خصوصا المعاملات المستخلص الكحولي والمائي للثمار بتركيز 100 % مع التركيز نفسه من المضاد الفطري Ketoconazole عن الفطر *Coccidiodis immitis* والتركيزين 50و100% لمستخلص الثمار المائي مع التركيز نفسه للمضاد للفطر *Pithomyces chartarum* وكذلك عند التركيز 100 % لكل من المضادين Ketoconazole و Fluconazole مع التركيز نفسه لمستخلص الثمار الكحولي فيما سجلت المستخلصات تفوقا على المضادات الفطرية بلغ

اعلاه عند الفطر *A.flavus* لمستخلص الثمار الكحولية والمائية عند التركيز(100)% امام جميع المضادات المختبرة بتراكيزها المختلفة ووكانت باقي المعاملات قد تغلب فيها المضاد الحيوي على المستخلصات .

المصادر

1. ألبديري وثائر عبد دعيشيش (2011).دراسة بكتريولوجية ووراثية لبعض البكتريا المرافقة لخمج السبيل التنفسي في مدينة الديوانية رسالة ماجستير .كلية التربية –جامعة القادسية –العراق.
2. ألشبلي و ماجد كاظم عبود (2005). التاثير التثبيطي لمستخلص ثمار نبات البنبر(linn)*Cordia myxa* في نمو وانبات بعض الفطريات الممرضة للنبات .مجلة جامعة القادسيةللعلوم الصرفة –العدد1 –المجلد 3 - ص 4 -56 .
3. ألشبلي وماجد كاظم عبود (2006). تاثير العزلات السريرية لخميرة المبيضات *Candida albicans spp* دراسة بايلوجية ونسيجية مرضية في محافظة الديوانية .اطروحة دكتوراه-جامعة القادسية.

4. ألعسكري ووداد جاسم عطية (2008). دراسة فسلجية لمقارنة المحتوى الكيميائي لنباتي السدر صنف الفصامي *Ziziphus spin-Christi*.(L.)*Wild Var Spina-christi a* والبنبر (.L)*Crdia myxa* رسالة ماجستير.كلية التربية –جامعة ذي قار – العراق.
5. ألموسوي وعلي حسين عيسى (1987). علم تصنيف النبات. كلية العلوم– جامعة بغداد– العراقو ص 252 – 255 .
6. ألموسوي وهدى رحيم هاشم (2010) .عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في نهر الديوانية وامكانية استخدامها كمؤشرات للتلوث الإحيائي .رسالة ماجستير.كلية التربية .جامعة القادسية.
7. ألهلالي وختام عبد السادة علي (2003) .دراسة دوائية لمستخلص ثمار البنبر linn *Cordia myxa* في العضلات الملساء لاعضاء معزولة من حيوانات مختبرية .رسالة ماجستير مقدمة وكلية الطب البيطري وجامعة بغداد و108 صفحة .

8. Al-Ameri, N.O. (2005). A study of taxonomy epidemiology of pulmonary mycotic infections in Al-Qadisyia Province.Ph.D. Thesis . College of Education – Al- Qadisyia University.
9. Ampel, N.M.(2009). Coccidioidomycosis: a review of recent advances. *Clin Chest Med* ;30(2):241-251.
10. Arikan, S. ;Dstrosky-Zeichner,L.; Losano- chiu .;Peatznick, v.;Gordon, D. & Rex, J.H.(2002) .Invetro activity nystatin compared with those of liposomal nystatin of amphotercin Band fluconazole against clinical andida isolates. J. Clin. Microbiol.40(40): 140-6-1412 .
11. Atlas,R. M. (2010). Hand book of medical microbiology media 4th ed.CRC Press Washington.
12. Carlos, W.G.;Rose AS.& Wheat LJ,. (2010).Blastomycosis in indian:digging up mor cases.*Chest.*Dec;138(6):1377-82
13. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12 (4) : 564-582.
14. Crofton, S.J. &Douglas , A.(1994). Respirotory disease. 3rd ed.,p.G.Publishing Pte. Ltd.Oxford :719.
15. David,E.;Stephen,D. ;Helen,A.; Rosemary,H. & Robyn,B.(2007).Discriptions of Medical Fungi,Second dition,School of Molecular &Biomedical Science University of Adelaide.
16. Domsch, K. H. ; Gams, W. &Enderson, T. (1980). Compenedium of soil fungi . 1, pp. 859. Academic press , London .
17. Ellis, D. H. (1994) .Clustralia cinical mycology. The human opportunistic mycoses . Gillingham. Printerspty. Ltd. Australia 166. PP.

18. Georgorapadakou, N. H. (2000). Biological and biomedical science : Antibiotic. McGraw-Hill www.AccessScience.com.
19. Hage CA. Bowyer S; Tarvin SE; Helper D; Kleiman MB. &Joseph Wheat L.(2010).Recognition ,diagnosis, and treatment of histoplasmosis complicating tumor necrosis factor blocker therapy .*Clin Infect Dis* :85-92.
20. Harbon, J. B. (1973) . Phytochmical methods, A Guide to Modern techniques of plant analysis . pp 159- 165. chapman and hall Ltd.London. UK
21. Honda, G. & Tabata, M. (1982). Antidermatophytic substance from *Sophora angustifolia* . Planta medica , 46: 122-123.
22. Ikemoto, H.(1992).Bronch pulmonary Aspegillosis :Diagnostic and the erapeutic consideration In: Brogres M.,Hay R.&Rinaldi M.G.Current Topics in Medical mycology .New York .p.64.
23. Leonar Rodrignez,Elsa Cervantes &Rocio Ortiz.(2011).Malautiration and Gastrointestestinal and Respiratory Infection in children :Apuublic healthy problem.1174-1205.
24. Martin, E. S. (2002). Tinea pedis. Medicine J., 3 (1) : 1-15.
25. McGinnis, M.R.(1980).Laboratory hand book of medical mycology.Academic press,New york,U.S.A., P66.
26. Mondello, F.; DeBerandis,F. & Girolamo, A.(2003).*In vetro and In vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible-resistant human pathogenic yaests Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51:1223-9.

The inhibitory effect of *Cordia myxa* (Linn)Extractes progeny against the isolated fungi from patients with pulmonary diseases in AL-Diwaniya City

A.p.D.Majed kadem Al-shibly **Farqad Abdul elah Al-janahi**

College of Education\Biology **College of Education\Biology**

The present study involved collecting 240 sample of sputum from patients with pulmonary infections who visited the pulmonary disease clinic in Al-Diwaniya city from October 2010 to april 2011 from isolated and diagnostic fungi in itand test the effect of Cordia myxa(L.) progeny alcoholic and equeous extracts from it,the isolated fungi involved: *penicillium* spp، *Candida albicans*و*Aspergillus niger* ، *A.nidulan* ، *A.flavu*، *A.terrus*، *Mucor*، *Pithomyces chartarum* ، *Coccidioides immitis and Blastomyces dermatitidis* with number of isolate and the number of percenant of isolations wer :82- 32.03%،70-27.45% ،20 -7.81%،3-1.17% ،10-3.906%، 2-0.78% ،1 -0.39،% -2 0.78% and 2 -0.78.% respwctively .

Than the effects of antifungal from the isolated fungi show that the ketoconazole the hier inhibition at Cconcenteration 100% were respectively (2.65,2.9,2.9,4.25,2.5,2.9,3,3,3,2.5) from *Aspergillus flavus*و *A.nidulanes* و*A.niger*و *A.terreus* و*Blastomyces dermatitidis*و *Candida albicans*و*Coccidioides immitis*و*Penicillium spp*و *Mucor* while at 50 % cocenteration (2.5و 2 و2و 2.5 و2.1 و2 و2.5 و2.8 و1) respectively but Nystatin have lower inhibition between the antifungal.

The effect of Cordia myxa(L.) progeny alcoholic and equeous extracts from isolated fungi semmes clear at al coholic extract than the equeous therfor show the rang of radial inhibition zone : (4,3,3,1.5,1.2,1)cm from fungi *Aspergillus flavus* ، *Blastomyces dermatitidis*، *Pithomyces chartarum* ،*A.niger* ،*A.terreus*، *Coccidioides immitis* respectively,while it has no effect on other fungi that *:Penicillium* spp ، *Candida albicans*، *A.nidulanes*، *Mucor.*