تأثير مستخلص البابونج على الفطريات المعزوله من الجهاز التنفسي العلوي

تاريخ الاستلام 2016/5/30 تاريخ القبول 2016/12/14

خلود عبد المجيد محمد جعفر ايناس عباس خيرالله دعاء حسن هادي

المعهد التقني/ بابل- قسم صحة المجتمع

الخلاصه:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية بان الفطريات المعزوله من المرضى المصابين بالتهاب الجزء العلوي للجهاز التنفسي بان الفطر *Cladosporium* spp سجل اعلى نسبه تلوث 43% بينما الفطر *Aspergillus terrus* سجل اقل نسبه تلوث 4.4 % واظهرت دراسه التأثير المثبط للمستخلص المائي الحار لنبات البابونج بالتراكيزالمستخدمه (25و50و75و100)ملغم/مل على بعض الفطريات الممرضه .

فقد اظهرت نسبه التثبيط 100% بالنسبة للفطر *Penicillum* spp في التراكيز 75و100 ملغم/ مل معدل قطر المستعمرة لخميره *Candida albicans* بتركيز 75 ملغم / مل كان 1 سم اما الفطر *Cladosporium* spp في التراكيز 25 و50 ملغم / مل لم يعطي اي مقاومه تجاه المستخلص.

الكلمات المفتاحية: المجاري التنفسية، *Cladosporium spp* , *Aspergillus terrus* , *Penicillum* *Cndidia albicans*

المقدمه :

ان البابونج Matricaria chamomilla له أهمية طبية واقتصادية لدخول مستخلصاته ضمن مكونات الصابون الطبي لتحسين مظهر الجلد وحمايته من الطفح الجلدي ومن انواع الحساسية التي تصيبه ,كما تستعمل نوراته الزهرية في علاج الجروح وحب الشباب وغيرها(**1**). تستعمل مستخلصات البابونج الالماني كمراهم خارجية ويستعمل منقوع ازهاره في علاج الإمراض المختلفة وفي سرعة التئام الجروح وتشقق الاصابع بسبب احتواءه على مواد فعاله مثل مادة التانين والازولين ومركبات ابكنين ،حيث استخدمت ازهار هذا النبات في علاج نزلات البر د والروماتزم وحالات القرحة المعوية والمعديّة و كمضادة للالتهابات الجلدية وتقرحات الفم واللسان والتهاب اللوزتين . نتيجة لوجود المركبات الفعالة Bisabolol و Herniarine وCoumarins(**2**).

الأعفان فطريات خيطية ذات هايفات سريعة النمو ، و تنتشر بصورة واسعة في الهواء والتربة فتكون مصدر للتلوث والإصابة حيث تم وصف سبعين نوعاً منها من قبل وكان هنالك تسعه عشره نوعاً سجلت على إنها تسبب إصابة للإنسان (**3**).

من هذه الفطريات جنسAspergillus ويتضمن عشرات الأنواع وتتميز بهايفاتها المقسمة والتي تتفرع وتنتج كونيدات (سبورات غير جنسية) وإن الأنواع الثلاثة المهمة في أمراضيتها للإنسان هي *A fumigates, A. niger, A. flavus* (**4**)المسبب لداء الرشاشيات Aspergillosis في ا لجهاز الرئوي القصبي الذي يصيب المرضى المعوزين مناعيا بدرجة عالية (**5**).

نظرًا لأهمية ازهار وعشب البابونج في الطب الشعبي واستخدام بعض مستخلصاته في الكريمات والمواد المطهرة والمعقمة وهدف الدراسه الى تحضير المستخلص النباتي لازهار البابونج بطريقة الاستخلاص المائي الحاربالاضافة الى كشف عن مركباتها الكيمائية الاساسية .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

تم جمع العينات 100عينه من المرضى المصابين بالتهاب الاجزاء العلويه من الجهاز التنفسي بواسطة swabs خلال الفترة من 1-11 /2014 لغاية 1-2015/5.

-عزل الفطريا

تم زرع العينات على اكار وسط سابرويت –دكستروز المجهز من قبل الشركة الحاوي على الكلورامفنيكول,بعد تعقيم الوسط الزرعي وصبه في اطباق معقمة ثم حضن الاطباق المزروعة في درجة 28-37 م لمدة 7-14 يوم (**6**).

- تنقية الانواع الفطرية:

تم تنقية الانواع الفطرية وذلك بنقل اجزاء من المستعمرات النامية المعزولة بشكل اولي بواسطة الناقل الجرثومي المعقم (sterial loop) في اطباق حاوية على وسط Sabourad Dextrose Agar (SDA) نظيفة ومعقمة وتم حضنها في درجة حرارة 28-37م لمدة 7-14 يوم لغرض الحصول على مستعمرات نقية وبعد ظهور النمو تم حفظها في درجة 4 م وتم تجدد الانواع الفطرية بين الحين والاخر (**7**).

تشخيص الفطريات :

بعد التنقية تم تشخيص هذه االانواع با للاعتماد على الصفات الزرعية المتمثلة بشكل ولون وحجم المستعمرة والصفات السطحية والعكسية للعزلات وكذلك اعتمدت على صفات المجهرية (المظهرية)من خلال وجود الابوغ الكونيدية وشكل وعدد الخلايا . ويتم ذلك بنقل جزء صغير من المستعمرة الفطرية باستعمال loopمعقم الى قطرة من صبغة اللاكتوفينول على شريحة زجاجية نظيفة اذا سخنت الشريحة بعد وضع غطاء الشريحة بامرارها قليلا على لهب مصباح بنزن بعدها تركت الشريحة لمدة 30 دقيقة ثم فحصت تحت المجهر على القوة 100xو40x لملاحظة

الصفات المجهرية للغزل الفطري والتراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر و صنفت الفطريات اعتماداً على المصادر الآتية (8و9و 10).

ـ جمع العينة النباتية

تم الحصول على العينة النباتية من نبات البابونج لغرض اختبار فاعلية مستخلصها المائية ضد الفطريات المعزولة ,وذلك بشرائها من الأسواق المحلية في محافظة بابل . ثم طُحنت الأجزاء النباتية(الازهار) بمطحنة كهربائية وتحُفظ في أوعية بلاستيكية محكمة الغلق بدرجة حرارة 4 مْ ولحين الاستعمال .

- **تحضير المستخلص المائي الحار**

تم وزن 10 غم من المسحوق النباتي واضيف اليه 200 مل من الماء المقطر بدرجة الغليان وترك ليبرد مع التحريك المستمر ، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ،ومن ثم بورق الترشيح Whatmann No. 2 ، واخذ الراشح وتم تجفيفه بواسطة الفرن الكهربائي oven بدرجة حرارة (50–45) م لحين الحصول على المسحوق المجفف ، وكررت هذه العملية لحين الحصول على كمية كافية من المستخلص ، جمع المسحوق وحفظ في الثلاجة في قنينة زجاجية نظيفة بدرجة 4 م لحين استعمالها.(**11**).

ـ اختبار الفعالية التضادية للمستخلص النباتي والمضادات الفطرية في نمو الفطريات قيد الدراسة :

أتبعت طريقة (**12**)، إذ تم مزج المستخلصات النباتية المجففة مع الوسط الزرعي اكار سابرويد ـ دكستروز SDA الذائب والمبرد إلى درجة 50 مْ بتركيز (25،50 ،75، 100) ملغم / مل وبمعدل 3 مكررات لكل تركيز ، وبعد تصلب الوسط الزرعي تم وضع قرص بقطر 5 ملم من المستعمرة الفطرية للفطريات المدروسة *P. expansium* و*alternata. A* و *C.albicans* و *A.niger* النامية على وسط SDA أو بطاطا دكستروز أكَار PDA لمدة 7 – 14 أيام حيث وضع القرص الفطري في مركز الطبق . (**13**) حُضنّت الأطباق بدرجة حرارة 28 – 73 مْ ولمدة 1 – 2 أسابيع ، تم قياس قطر المستعمرة النامية (معدل قطرين متعامدين) وسُجّلت النتائج.

ـ الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي الحار : اتبعت طريقة (**14**)للكشف كيمائيا عن المركبات الفعالة للمستخلص المائي الحار للبابونج كما في الجدول رقم (1).

اسم الكاشف	المركب الكيميائي
استخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم لورقه ترشيح مشبعه بلمستخلص لتعطي لون اصفر مخضر	Cuomarin
وجود رغوه كثيفه عند رج المستخلص	Saponin
قطرات من kadde بنفسجي	Alkaloid
كاشف دراجندروف يعطي لون برتقالي	Glycosid
خلات الرصاص مع ظهور راسب هلامي	Tannin
ورقه ترشيح مشبعه بلمستخلص وتعرضه لاشعه فوق البنفسجيه مع ظهور لون رمادي	Volatile oil

جدول (1) الكشف عن المركبات الفعاله الموجوده في نبات البابونج .

التحليل الاحصائي :

حللت نتائج التجارب بحسب التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R. D) ثلاثية العامل وتمت مقارنة المتوسطات بحساب اقل فرق معنوي (L.S.D)لبيان معنوية النتائج عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) (**15**).

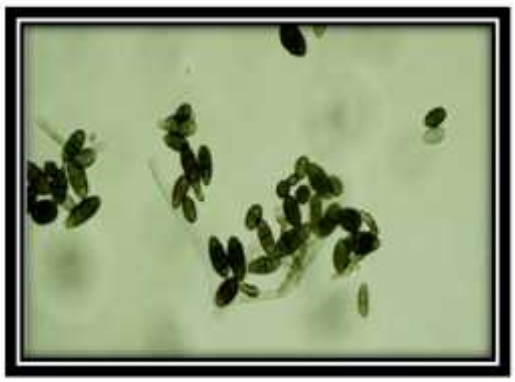
العزل والتشخيص

تبين من نتائج الدراسه بان الفطر *Cladosporium sp* نسبه اصابته اعلى نسبه تلوث الفطر *Aspergillus terrus* 43.3 % ، 4.4% على التوالي خلال فترة الدراسة ،اما الانواع الاخرى فانة نسبة تلوثها كما في الجدول ادناه :

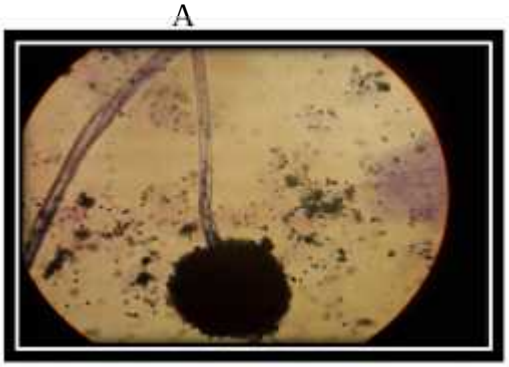
النتائج والمناقشه :

جدول رقم (2) يبين نسبة التلوث الفطري المعزول من المرضى المصابين بالتهاب الجهاز التنفسي العلوي .

الانواع الفطريه	عدد العزلات	نسبه التلوث المئويه %
Asp.niger	20	3.14
Asp .terrus	28	4.4
Alternaria .alternata	116	18.2
Cladosporium spp	276	43.3
Candida albicans	112	17.6
Pencillium spp	84	13.2
المجموع الكلي	636	100



A



B

شكل (1) يبين الفحص المجهري للفطرين *Alternaria* -A و *Asp.niger-B*

اختبار تأثير مستخلص البابونج المائي على بعض الفطريات المعزولة:

اظهر مستخلص البابونج المائي تأثيرآ واضحآ في نمو وحيوية الفطريات والخمائر قيد الدراسة شكل (1) ، اذ تبين ان التأثير اعتمد على نوع العزلة الفطرية المختبرة وعلى تركيز المستخلص ، فقد اظهر المستخلص فعالية تثبيطية عالية وبنسبة 100% *Candida albicans* و *Alternaria .alternata* في التركيز الاول اما الانواع الفطريه الاخرى كانت نسب التثبيط مختلفه حسب نوع الفطر حيث كانت نسبة التثبيط في نفس االتراكيز للفطر *Cladosporium spp* 2.3% والفطر *Pencillium spp* 1.3% كما مبين في جدول الاتي :

جدول (3) يبين تاثير مستخلص البابونج المائي على بعض الفطريات المعزوله

اسم الفطر / التراكيز	معدل قطر التثبيط			
	100	75	50	25
Alternaria alternate	0	0	1.3	2.2
Cladosporium spp	1.2	1.2	2	2.5
Candida albicans	0	1	1.9	1.9
Pencillium spp	1.3	1.5	1.3	2

.LSD=0.45

المركبات الفعالة الموجودة في نبات البابونج

بينت نتائج الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص النباتي الحار وجود بعض المركبات في نبات البابونج كما موضح في الجدول رقم (4)

المركب الكيميائي	النتيجه الفحص
Cuomarin	+
Tannin	+
Saponin	-
Alkaloid	+
Glycosid	+
Volatile oil	+
PH	5.9

جدول (4) الكشف عن المركبات الكيميائيه في المستخلص المائي الخام لنبات البابونج

المناقشة:

نظرا لكثره استخدام النباتات الطبيه في الطب الشعبي في العراق بلاضافه الى استخداماتها الغذائيه وذلك لان هذه النباتات غير سامه وليس لها تأثيرات جانبيه ضاره وكذلك توفرها في البيئه العراقيه ولذلك تم استخدامها كمضادات حيويه للاحياء المجهريه ومنها الفطريات, خلال ماتقدم تبين وجود اختلاف وتوافق مع نتائج اخرى ومن الصعوبة المقارنة حيث توجد عوامل عده توثر على النتيجة ومنها العوامل البيئية التي نما فيها الفطر ونوع المستخلص والطريقة المثالية للاستخلاص وطريقة الاختبار المستخدمة لتقيم المستخلص (حيث لاحظ سرعه انتشار المستخلص المائي في الوسط المائي يفوق سرعه انتشاره في الوسط الصلب بينما بينت دراستنا ان سرعه انتشاره في الوسط الصلب كانت اكثر(**17**)و(**16**) ,ولم تتفق دراستنا مع الرجب،2007(**18**) وذلك لاستخدامنا الفطريات بدل البكتريا لذلك تم اختيار نبات أزهار البابونج في هذه الدراسه وذلك لوجود بعض المعلومات حول استخدامها في علاج أعراض التهاب البلعوم واللوزتين (**2**) اذ وجد (**19**) ان المستخلص المائي لنبات البابونج يستعمل لمعالجة الالتهابات المهيجة للغشاء المخاطي للفم و اللثة.

وفي الدراسه الحاليه عزلت الفطريات *A.niger ,cladosporium ,A.terrus,candida spp*, حيث اظهرت الفطريات الاكثر تكرارا الفطر *Cladosporium* بنسبه 43% واقل تكرارا *Cndida*بنسبه 4.4% وهذا لا يتفق مع دراسه شفاء واخرون حيث كانت *Candida*اكثر تكرارا في دراستها بنسبه 41.6%. ويعود السبب في ان سمك الخيط الفطري يلعب دورا واضحا في تاثير المواد الفعالة كما ان زيادة المساحة السطحية للخيوط الفطرية قد يؤدي الى تاثيرها اثناء امتصاص المواد المثبطة في المستخلص لذا فانها تثبط نموها (**4**).

الاستنتاجات :

1-ان المستخلص المائي الحار للازهار البابونج ذات تاثير عال في تثبيط نمو الفطريات وبالتراكيز العالية.

2-ان نسبة تلوث الفطر *Cladosporium spp* كانت اعلى من الفطر *Aspergillus terrus* والتي عزلت من المصابين بالتهاب الجهاز التنفسي العلوي .

3-ان نسبة تثبيط الفطر *Penicillum spp* كانت اعلى من نسبة تثبيط االخميرة *Candida albicans*وبنسبة 100%و75% على التوالي.

التوصيات:

نظرا لاهمية الجهاز التنفسي العلوي للانسان وللاهمية الامراض التي يصاب بها هذاالجهاز ولحمايتة من هذه الامراض توصي الدراسة بما يالي :

1- استخدام مضادات حيوية اخرى تكون فعالة في تثبيط الاحياء المجهرية التي تصيب الجهاز التنفسي العلوي
2- تقويم كفاءه تاثير مستخلصات نباتية اخرى في تثبيط الفطريات التي تصيب هذا الجهاز .
3- اجراء اختبارات اكثر لمعرفة التثبيط للمواد الفعالة للنبات البابونج.

المصادر :

1. Zaila, L.L.(1975). spices & herbs their antimicrobial activity & its Food determination.J Safety.9:97-118..
2. النعيمي , حنان عدنان شاكر. (2005). تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتيه على نمو البكتريا المرضية الموجبة الصبغة المعزولة من حالات التهاب البلعوم واللوزتين. رسالة ماجستير مقدمة الى كلية الطب البيطري
3. المحنه، ايناس كريم هادي(2002). تأثير مستخلصات بعض النباتات العراقيه على الاحياء المعزوله من مناطق جسميه مختلفه.رساله ماجستير، كليه العلوم، الجامعه المستنصريه، العراق.
4. Ashoor, A. and Abu-Baleer, Y. (2002). Is the Classical Classification of aspergillosis paranasal sinuses to non-invasive and inasive still valid or not? Bahrain Medical Bulletin. 24 : 91-94.
5. Yehia, M. M.; Al-Habib, H. M. and Shehab, N. M. (1990). Otomycosis a common problem in north Iraq. J. Laryngol. Otol. May, 104: 387-389
6. -Larone,D.H,;Mitchell, E. and Walsh, T.J. (1999).In Murray ,Baron ,Pfaller ,Tenover&D.H,;Mitchell,E.and.Manual of clinical Microbiology ,7th ed .American society for Microbiology
7. mycology. adelaide.-Kwon-Chung, K. j. and Bennett, J. E. (1992). Medical Mycology. Williams and Wilkins Company, pp. 105-161.
8. **De Hoog, g.s.j. guarro, j. gene, and, m.j. figueras (2000).** Atlas of clinicial fungi ,2nd,vol.1. centraabureeau voor schimmel culturees ,Utrecht, the Netherlands.
9. **-Midgley,G. ; Clayton,Y.M. & Hay,R.J. (1997)** . Diagnosis in colour medical mycology . Mosby – Wolfe , an imprint of mosby international , Spain p 155.
10. **McGinnis, M. R. (1980**). Laboratory handbook of medical mycology. Academic press, p 661.
11. عبد الباقي ، انعام عبد المنعم. (2001). التأثير التثبيطي لعدد من النباتات الطبيه في بعض الجراثيم المعزوله من الجروح الخمجي، رساله ماجستير ،كليه التربيه ،جامعه الموصل . العراق .
12. EL-Kady,I.A. ; Mohamed ,S.S. & Mostafa, E. M. (1993). Antibacterial and antidermatophyte activities of some

essential oils from spices. Qatar . Univ. Sci. J. 13 (1) : 63–69 ..

13. الجنابي ، علي عبد الحسين صادق .(2004) . معالجة الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات الجلدية Dermatophytes بمستحضرات حاوية على بعض مركبات البيورين أطروحة دكتوراه / كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

14. شوكت ،مؤيد صبري وعبد الامة بركة علي وحسين علي فرحان (2008)دراسة تاثير الخلاصات المائية لبعض النباتات في علاج التهاب اللثة الحاد والمزمن .المجلة العراقية للعلوم ،مجلد 49 العدد 1 الصفحة 69-73.

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

16. المعيني ،صفاء عبد اللطيف و زينب ياسين محمد و هديل حارث خالد (2008). دراسة الفعالية التثبيطية للزيت الطيار ومطحون أزهار نبات البابونج في بعض الأحياء المجهرية المرضيه المجلة العراقية للتقانات الحياتية85-74:(1) .

17. Forbes, B. A; Sahm, D. F and Weissfeld, A. S. (2002). Diagnosis Microbilogiy, 11th ed., Mosby Inc. New York, pp.1069, U.S.A.

18. الرجب ،اشواق حميد طالب .(2007).،تأثير بعض المستخلصات زهره البابونج على بعض الممرضات البكتريه الجلديه في الانسان .جامعه الانبار ،كليه العلوم ، مجله جامعه الانبار للعلوم الصرف .مجلد1.عدد2.

19. Tsuchiya, H.; Sato, M.; linum, M.; Yokoyama, J. ; Ohyama, M.; Tanaka, T.; Takasa, I. and Naimkawa, I. (1994). Inhibition of the growth of cariogenic bacteria in vitra by plant Flavones. Expermentia 50: 846-849.

The effect of Matricaria chamomilla extract on the fungi isolated from the upper respiratory tract

Receved : 30/5/2016 **Accepted :14/12/2016**

Douaa H. Hady Inass A. Khairalla Khulood Abdul-Majeed M. Jafeer

Technical Institute\ Babil- Community Health Dept

Abstract

The results of the current study showed that the fungus isolated from patients with upper respiratory tract that *Cladosporium* spp fungi highest percemtage contamination of43 %, while *Aspergillus terrus* fungus record lowest contamination of 4.4% and the study showed inhibitory effect of aqueous extracts hot plant Matricaria chamomilla inhibition. concentration used (25 , 50, 75 and 100) mg / ml on some pathogenic fung. ratio shown 100 % for fungi *Penicillum* spp at concentrations 75 and 100 mg / ml and the rate of diameter of the colonialy yeast *Candida albicans* inhabition concentration of 75 mg / ml was one cm , the fungus *Cladosporium* spp in concentrations of 25 and 50 mg / ml did not give any resistance to the extract.

Key word:- Respiratory tract, *Cladosporium spp Aspergillus terrus , Penicillum Cndidia albicans*

Microbiology Classification QR 171