دراسة تأثير بعض المضادات الفطرية والمستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الجلدية المسببة لامراض الدودة الحلقية [Ring worm]

د.حمزية علي عجة ، د.عبد الخالق صحبت عبد الله

هيفاء سعدون عبد الوهاب

الجامعة المستنصرية/ كلية العلوم

الخلاصة:-

حدد التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MFC) باستخدام طريقة المزج مع الوسط الصلب ، لثلاث مضادات فطرية والتي شملت Fluconazole، Itraconazole وGriseoflvin ضد الفطريات الجلدية *T. mentagrophytes*، *T.verrucosum*، *T. tonsurans* و*T.rubrum* اظهرت النتائج ان جميع انواع الجنس *Trichophyton* اظهرت حساسية لمضاد (FLU) وان معدل (MIC) للمضادات Fluconazole، Itraconazole وGriseofluvin (5.13) مكغم / مل ، (0.46) مكغم / مل و(8.35)مكغم/مل على التوالي. في حين بلغ معدل MFC للمضادات (9.20) مكغم/مل، (0.89) مكغم / مل و (16.92) مكغم / مل على التوالي .

درس التأثير التثبيطي لمستخلصات قشور الرمان *Punica granatum* وبذور البابايا *Carica papaya* بأستخدام الماء والكحول ، في النمو القطري الشعاعي لمستعمرات الفطر *T.mentagrophytes* واظهرت النتائج ان التأثير التثبيطي اعتمد على نوع المستخلص وتركيزه ، اذ اظهر المستخلص الكحولي لقشور الرمان اعلى فعالية تثبيطية وبنسبة تثبيط بلغت 100% في التركيزين 5% و 7.5% في حين اظهر المستخلص المائي وبتركيز 7.5% اعلى نسبة تثبيط والبالغة 100% .

اما بالنسبة لبذرة البابايا فقد كانت اعلى نسبة تثبيط والبالغة 100% اظهرها المستخلص الكحولي وبالتراكيز 7.5% و 5% اما المستخلص المائي فقد بلغ 7.5% .

المقدمة :- Introduction

تعد الفطريات الجلدية (Dermatophytes) من الفطريات التي تصيب الانسجة الكراتينية (Keratinized Tissue) لانها من الفطريات المحبة للكرياتين (Keratinophyilic) اذ تغزو الطبقات السطحية للجلد والشعر والاظافر للانسان والحيوان على حد سواء مسببه له ما يدعى بالامراض الجلدية (Dermatophytosis) او ما يسمى بالسعفة (Tinea) او الدودة الحقلية (Ringworm) (1)

تضم مجموعة الفطريات الجلدية (Dermatophytes) ثلاثة اجناس رئيسية (*Epidermophyton, Microsporum , Trichophyton*) والتي بدورها تضم عددا من الانواع قدر عددها بحوالي (250000) نوعا من الفطريات (180) نوعا فقط تسبب اصابات للانسان والحيوان ، واغلب هذه الانواع تعود الى صنف الفطريات الخيطية والخمائر (2)،(3) .

لقد شهدت السنوات الماضية القليلة ارتفاعا سريعاً وواسعاً في انتشار الاصابات الفطرية وعلى مستوى مقياس عالمي ويعزى سبب هذه الزيادة الى توافر عدة عوامل ساعدت على انتشار الاصابات الفطرية التي منها التغيرات الحاصلة في نمط الحياة و الزيادة في الهجرة السكانية ، زيادة حالات الكبح المناعي (Immunocompromised states) مثل زيادة الاصابة بمرض العوز المناعي الايدز (AIDS) داء السكري ، عمليات زرع الاعضاء والعلاج الكيميائي.(4) ،(5)،(6)،(7) . هذا فضلا عن التغير الكبير في طرز الملابس والعادات الصحية وكثرة التعرض للفطريات المسببة لتلك الاصابات وبخاصة في صالة الالعاب الرياضية وحمامات السباحة العامة (8)،(9) .

ونظراً لارتفاع معدلات الاصابة بالفطريات الجلدية فقد اهتمت ابحاث كثيرة في مجال تصنيع الادوية المضادة لهذه الاصابة ، الا ان الاستعمال المستمر لهذه المضادات الفطرية ادى الى ظهور عزلات مقاومة فضلا عن التأثيرات الجانبية لهذه المضادات ،لذا فقد اتجهت الدراسات الحديثة لاستعمال طرق جديدة ذات فعالية كبيرة في العلاج لتقليل الاعتماد على الادوية الكيميائية المنتجة صناعيا ، وبغية ايجاد بدائل كاستعمال بعض النباتات لوفرتها في الطبيعة واحتوائها على العديد من المواد الفعالة التي لها تاثير فعال ضد الاحياء المجهرية ومنها الفطريات الجلدية. (10)،(11)،(12) .

المواد وطرق العمل :-

تم تحديد التركيز المثبط الادنى Minimal Inhibibry concentration (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MFC) Minimal fungicidal concentration لثلاث مضادات فطرية وهي Grisofulvn (GRI) , (FLU) Fluconazole Itraconazol (ITZ) لانواع الفطريات الجلدية المعزولة وذلك باستخدام طريقة تخفيف الاكار Agar Dilution method (13) ، (14) .

حيث اتبعت التحضيرات الاتية :

1 / اللقاح الفطري Fungal Inoculum

حضرت حسب طريقة (15) ، اذ بلغ تركيز اللقاح الفطري (2×١٠^{٤} *conidia l ml*) .

2 / المضادات الفطرية Antifungal Drugs

استخدمت المضادات الفطرية ITZ , GRI, FLU وحضر لكل منها محلول خزين Stock solution بتركيز (10,000) مايكروغرام / مل وحسب ما ورد في(14). أذيب مع التحريك المستمر 50 ملغم من مضاد FLZ في قنينة زجاجية معقمة ومحكمة الغلق حاوية على 5 مل من الماء المقطر المعقم (D.W) .

اما بالنسبة للمضادات ITZ , GRI فقد تم تحضير قنينتين زجاجيتين معقمتين ووضع في كل منها 5 مل مادة (DM SO) Dimethylsulfoxide 100% وأضيف لكل قنينة 50 ملغم من مضاد ITZ , GRF كل على حدة ، وبذلك تم الحصول على المحلول الأصلي لكل مضاد من المضادات الفطرية الثلاثة بتركيز 10,000 مايكرو غرام/ مل . وتركت المحاليل بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 30 دقيقة قبل استخدامها ، وأما المتبقي فقد حفظ في الثلاجة بدرجة حرارة (4) °م لحين استخدامه مرة ثانية .

3 / تحضير وسط السيطرة

حضر حسب ما ورد في (*14*) وذلك بأضافة (3 مل) من وسط Sabouraud Dextrose Broth (SDB) الى ثلاثة أنابيب اختبار سعة (50 مل) يحتوي كل أنبوب على 27 مل من وسط (Sabouraud dextrose agar (SDA محفوظة في حمام مائي بدرجة حرارة (50 – 52) م ومزج الوسطين معاً بصورة جيدة وبعدها صب في صحن

زجاجي وترك ليتصلب وبعد اجراء التحضيرات السابقة اتبعت الخطوات الاتية لتحديد ((MIC, MFC)14) :-

1- اخذ 2 مل من المحلول الاصلي للمضاد الفطري وأضيف الى 18 مل من وسط (SDB)وبذلك تم الحصول على تركيز 1000 مايكرو غرام/ مل ورمز له بالرقم 1

2- اخذ 7 مل من المحلول رقم 1 واضيف 7 مل من وسط (ESDA) وبذلك تم الحصول على تركيز 500 مايكرو غرام / مل ورمز له بالرقم 2

3- اخذ 7 مل من المحلول رقم 2 وأضيف الى 7 مل من وسط (SDB) واستمر على هذا المنوال الى حد التركيز 0.25 مايكرو غرام / مل وفي الوقت نفسه علمت كل انبوبة برقم 3-13 .

4- أخذ من كل تخفيف 3 مل وأضيف الى ثلاثة انابيب اختبار سعة 50 مل يحتوي كل انبوب على 27 مل من وسط (SDA) المحفوظة في حمام مائي بدرجة حرارة (50 – 52) °م وخلط المزيج جيداً وبعدها صب في طبق زجاجي معقم .

5- سحب 0.05 مل من اللقاح الفطري باستخدام الماصة (Micro pipette) ووضعت قطرة في منتصف الاطباق ونشرت بشكل متجانس باستخدام الناشر spreader وتركت الاطباق على حالها وبدون تحريك لكي نسمح اللقاح بأن ينتشر في الوسط .

6- حضنت الاطباق الملقحة في درجة حرارة 30 °م لحين ظهور النمو يمثل مستعمرات الفطر في أطباق السيطرة ، بعد ذلك سجل (MIC) كأقل تركيز للمضاد اللازم لتثبيط نمو المستعمرات وسجل (MFC) كادنى تركيز قاتل لا يظهر فيه نمو المستعمرات اذ تم نقل قرص بقطر (10) ملم من مستعمرة الفطر غير النامي في (SDA) الحاوي على المضاد الفطري الى وسط غذائي جديد خال من أي مضاد وحضت الاطباق لمدة (48) ساعة بدرجة حرارة (30±2) °م لملاحظة النمو من عدمه، ان حصول نمو فطري للمستعمرة الفطرية يشير الى ان تركيز المضاد في وسط SDA الذي اخذ فيه قرص اللقاح هو مثبط للنمو (MIC) وعند عدم حصول نمو فهذا يعني ان تركيز المضاد قاتل للفطر(MFC) (16) .

تحضير المستخلصات النباتية:

تم الحصول على ثمارالرمان (*Punica granatum*) (Pomegrantate) من الاسواق المحليه ومنها تم الحصول على قشور الرمان جففت الاخيرة وطحنت بمطحنه كهربائية للحصول على مسحوق قشور الرمان ،اما ثمار البابايا (*Carica papya*) (Papaya) فقد تم الحصول عليها من اسواق عمان –الاردن بعدها تم فتحها واخراج البذور ،نظفت البذور ثم جففت وطحنت بمطحنه كهربائيه للحصول على مسحوق بذور البابايا

بذور نبات البابايا (Papaya) (*Carica papya*)

بعدها حضرت المستخلصات المائيه والكحولية لكلا النوعين كما يأتي:

1- المستخلص المائي البارد Cold water extract

أتبعت طريقة Parekh و Chanda (2007) إذ حضر 20 غم من المسحوق النباتي ووضع في دورق زجاجي (500) مل أضيف له 200 مل من الماء المقطر ووضع في حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة وبدرجة 37° م ورشح المزيج بواسطة شاش طبي في أنابيب زجاجية، نبذت الانابيب في جهاز النبذ المركزي بسرعة 5000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق، ثم رشح الرائق بأوراق ترشيح ذات ثقوب 0.22 مايكرومتر. بعدها تم تبخير الراشح باستخدام الفرن (oven) بدرجة حرارة لا تزيد عن 40 °م للحصول على مستخلص جاف بشكل مسحوق ووضع في أنبوبة محكمة الغلق ومعتمة، وحفظ في المجمدة بدرجة حرارة (-18)°م .

2- المستخلص الكحولي Alchoholic extract

اتبعت طريقة Abu Ghadeib , Shtayeh (1999) إذ أخذ 20 غم من المسحوق النباتي ووضع في دورق زجاجي (500 مل)، أضيف إليه 200 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 80% ووضع بعدها المزيج في الحاضنة الهزازة لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 35°م بعدها رشح المزيج باستعمال شاش طبي، وزع الراشح في أنابيب النبذ المركزي ونبذت مركزياً بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق ثم رشح الرائق بأوراق ترشيح ذات ثقوب 0.22 مايكرومتر ثم عرض الراشح إلى التبخير لكي يتبخر الكحول وبهذا حصلنا على عجينة زيتية من المستخلص الكحولي، ووضعت كل عينة في أنابيب محكمة الغلق ومعتمة وبعد تعليمها حفظت في المجمدة بدرجة حرارة (– 18) °م لحين الاستعمال.

تحضير التراكيز للمستخلصات النباتية :

حضرت التراكيز للمستخلصات النباتية وذلك بإذابة 10 غم من مسحوق المستخلص النباتي في 30 مل من الماء المقطر هذا بالنسبة إلى المستخلصات المائية أما المستخلصات الكحولية للنبات فأذيبت في محول دارئ الفوسفات الملحي (PBS) Phosphate Buffer Saline بدلاً من الماء المقطر وبالكمية نفسها وباستخدام قانون التخفيف العام $C_1V_1 = C_2V_2$ حضرت التراكيز 10،25،50،75 ملغم/مل من المستخلصات النباتية وعقمت باستخدام المرشحات الدقيقة (Millipore Filter) ذات ثقوب 0.22 مايكروميتر واعتبرت هذه التراكيز بمثابة (Stock concentrations) التي منها تم الوصول إلى التراكيز القاتلة الأدنى MFC (Minimum Fungicidal Concentrations) والتراكيز المثبطة الأدنى لنمو الفطر MIC (Minimum Inhibition Concentrations) .

اختبار الفعالية التضادية للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات الجلدية :

مزجت المستخلصات النباتية مع الوسط الزرعي (SDA) الذائب والمبرد إلى درجة حرارة (50)°م وبتراكيز (10،25،50،75) ملغم/مل وبمعدل 3 مكررات لكل تركيز، وبعد تصلب الوسط الزرعي تم وضع قرص بقطر (5) ملم من المستعمرة للفطر *Trichophyton mentagraphytes* إذا وضع هذا القرص في حفرة بنفس القطر المصنوع في الوسط الزرعي، واستعملت أطباق سيطرة (Control) تضمن طبق يحتوي على الوسط الزرعي

بدون إضافة أي مادة، حضنت الأطباق بدرجة حرارة (28–30)°م لمدة (5–7) أيام وتم بعدها اخراج نسبة التثبيط وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{قطر المتسعمرة في اطباق السيطرة} - \text{قطر المستعمرة في اطباق المعاملة}}{\text{قطر المستعمرة في السيطرة}} \times ١٠٠$$

النتائج والمناقشة :-

استخدمت طريقة المزج مع الوسط الصلب لقياس التركيزالمثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MFC) لمجموعة من المضادات الفطرية والتي شملت Griseoflvin (GRI) ، Fluconazole (FLU) , Itraconazole (ITZ) ضد الفطريات الجلدية، استعمل وسط Emmon's Saubroud Dextrose Agar (ESDA) لاجراءالاختبار لكفائته وملائمته لنموالفطريات واستعمل المذيب (DMSO) (Dimethyl sulphoxide) للمساعدة على ذوبان هذه المضادات كون هذا المذيب لايتداخل مع فعالية المضادات المستعملة (17).

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) ان جميع انواع الجنس *Trichophyton* المستخدمة أظهرت حساسية لمضاد (FLU) اذ بلغت قيمة MIC لنوعين *T.rubrum* , *T.verrcosum* (3.91) مكغم / مل لكل منهما ، تلاها النوع *T.mentagrophytes* الذي بلغ MIC لها (4.89± 1.95) مكغم / مل ، في حين اظهر *T.tonsurans* ارتفاع في قيمة MIC عندما بلغ (7.81) مكغم / مل .

اما مضاد (ITZ) فقد اظهرت النتائج ان MIC للنوع *T.rubrum* بلغ (0.41 ± 0.14) مكغم / مل ، تلاه النوعين *T.mentagrophytes* ، *T.verrcosum* عندما بلغ MIC لها (0.4) مكغم /مل لكل منهما ، اما النوع *T.tonsurans* فقد اظهر مقاومة عالية فلم يتأثر النمو في كل من (ITZ) و (GRI) ، وبالنسبة للمضاد (GRI) فنجد ارتفاع واضح في قيم MIC ، اذ اظهر النوع *T.rubrum* حساسية لهذا المضاد عندما بلغ MIC (1.62 ± 0.54) مكغم / مل ، اما النوعان *T.mentagrophytes* , *T.verrcosum* فاظهرت مقاومة للمضاد اذ بلغ MIC (7.81) مكغم / مل (15.63) مكغم / مل على التوالي .

اما عند التحري عن مديات التركيز القاتل الادنى (MFC) للمضادات الفطرية المستخدمة في هذه الدراسة فيظهر من الجدول (2) ان كافة الانواع التي تعود الى جنس

Trichophyton كانت حساسة لمضاد (FLU) وبتراكيز مختلفة فقد بلغ (MFC) للانواع *T.mentagrophytes* , *T.rubrum* (6.83±0.94) مكغم / مل و(6.51 ± 2.25) مكغم / مل على التوالي ، في حين ارتفعت قيمة (MFC) لكل من *T.verrcosum* , *T.tonsurans* لتصل الى (7.81) و (15.62) مكغم / مل على التوالي . وبالنسبة للمضاد (ITZ) فقد كان (MFC) للانواع *T.rubrum* , *T.mentagrophytes* (0.86 ±0.30) و (0.82 ± 0.28) مكغم / مل على التوالي، في حين بلغت قيمة MFC للنوع *T.verrcosum* (9.8) مكغم / مل اما النوع *T.tonsurans* فلم نجد اي تأثير للمضاد (ITZ) وكذلك الحالة بالنسبة للمضاد (GRI).

اما فيما يتعلق بالمضاد (GRI) فقد اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (2) ان اقل قيمة لل(MFC) اظهره النوع *T.rubrum* وكان3.90 مكغم/ مل ، وبالمقابل نجد ان *T.verrcosum* *T.mentagrophytes*اظهرت زيادة في قيم ال (MFC) فقد بلغت (15.62) و(31.25) مكغم / مل على التوالي

لقد تبين من النتائج الدراسة الحالية ان النوع *T.tonsurans* اظهرت مقاومة عالية لجميع المضادات المستخدمة في الدراسة لتصل قيمة(MIC) و(MFC) الى (7.81) و(15.62) مكغم / مل على التوالي بالنسبة للمضاد (Fluconazole) .

وقد بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بمستوى ($p \leq 0.05$) لمضاد (ITZ) في قيمة التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى مقارنة بالمضاد) (FLU و(GRI) كذلك وجود فرق معنوي بمستوى ($p \leq 0.05$) للمضاد (FLU) مقارنة بمضاد (GRI) في قيمة التركيزالمثبط الادنى MIC والتركيزالقاتل الادنى MFC .

واظهرت التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بمستوى ($p \leq 0.05$) لمضاد ITZ في قيم التراكيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى بين عزلات الفطريات الجلدية التي شملتها الدراسة الحالية . كما يتضح من النتائج ان المضاد(ITZ) اظهركفاءة عالية في التاثير على عزلات الفطريات الجلدية التي شملتها الدراسة وهناك دراسات عديدة اشارت الى كفاءة هذه المضادات الفطرية في علاج الفطريات الجلدية . (18) ، (19) ، (20) .

كما يبدو من الجدول (1) و (2) ان جميع العزلات اظهرت حساسية لمضاد (FLU)على الرغم من ارتفاع قيم (MIC) و (MFC) .

جدول (1) التركيز المثبط الادنى (MIC) للمضادات الفطرية المستخدمة ضد الفطريات الجلدية .

انواع الفطريات	التركيز المثبط (MIC) مكغم/مل ± الانحراف المعياري		
	Fluconazole	Itraconazol	Griseofulvin
T. mentagrophytes	1.95 ± 4.89	0.00 ± 0.49	0.00 ± 7.81
T. rubrum	0.00 ± 3.91	0.14 ± 0.41	0.57 ± 1.62
T. verrcosum	0.00 ± 3.91	0.00 ± 0.49	0.00 ± 15.63
T. tonsuranms	0.00 ± 7.81	---	---
المعدل للمضاد	0.00 ± 5.13	0.00 ± 0.46	0.00 ± 8.35
قيمة LSD	1.094 *	0.206 NS	3.617 *
* ($P\leq0.05$).			

– = لايوجد تأثير.

جدول (2) التراكيز القاتلة الدنيا (MFC) للمضادات الفطرية المستخدمة ضد الفطريات الجلدية

انواع الفطريات	التركيز القاتل الادنى (MFC) مكغم/مل ± الانحراف المعياري		
	Fluconazole	Itraconazol	Griseofulvin
T. mentagrophytes	0.94 ± 6.83	0.30 ± 0.86	0.00 ± 15.62
T. rubrum	2.25 ± 6.51	0.28 ± 0.82	0.00 ± 3.90
T. verrcosum	0.00 ± 7.81	0.00 ± 0.98	0.00 ± 31.25
T. tonsuranms	0.00 ± 15.62	---	---
المعدل للمضاد	0.00 ± 9.20	0.00 ± 0.89	0.00 ± 16.92
قيمة LSD	3.62 *	0.418 NS	3.69 *
* ($P\leq0.05$).			

- = لا يوجد تأثير

وهذا يتفق ايضا مع ماشار له (22)عندما اختبر الحساسية الدوائية للفطر *T.rubrum* ، *T.mentagrophytes* ، *T.verrcosum* تجاه المضادات Griseoflvin

, Fluconazole ، Itraconazole ، Clotrimazol حيث اظهرت النتائج تفوق المضادين Itraconazole ,وClotrimazol في قيمة التركيز المثبط الادنى ،وفي دراسة اخرى اختبر(21) فعالية خمسة مضادات ضد الفطريات المعزولة من الجلد حيث اظهر المضاد (GRI) فعالية ضد معظم الفطريات الجلدية .

كما اجري (15) اختبار لاربعة من المضادات الفطرية هي Terbinafine ، Griseoflvin , Fluconazole ، Itraconazole اتجاه217 عزلة من الفطريات الجلدية التي شملت 132 عزلة من الفطر *T.rubrum* ،32 عزلة من الفطر *T.mentagrophytes*،42 عزلة للفطر *T.tonsurans* ،ثلاث عزلات *E.floccossum* وثمان عزلات للفطر *M. cains* حيث لاحظ الفعالية العالية التي ابداها المضاد Terbinafine تلاه المضاد Itraconazole .

ونتيجة لانتشار استعمال هذه المضادات في علاج معظم الاصابات الفطرية وتناولها بجرعات قد لا تكون صحيحة فضلاً عن استعمالها دون استشارة الطبيب كعلاج لفترة طويلة ، فقد اظهرت بعض العزلات الفطرية مقاومة لهذه المضادات مما دعى الباحثين في هذا المجال الى ايجاد بدائل علاجية جديدة قليلة السمية والتاثيرات الجانبية ، وقد برز في الاونة الاخيرة استخدام العلاج بالمستخلصات النباتية لذا تم انتخاب عزله واحدة من النوع *T.mentagrophytes* لدراسة تأثير مستخلص قشور الرمان ومستخلص بذور البابايا وذلك لسيادة هذا النوع مقارنة بالانواع الاخرى المعزولة في هذه الدراسة .

دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو الفطر *T.mentagrophytes*

تأثير المستخلص المائي والمستخلص الكحولي لقشور الرمان في نمو الفطر *T.mentagrophytes* .

أجري اختبار تقدير فعالية المستخلص المائي والمستخلص الكحولي على النمو الفطري الشعاعي للفطر *T.mentagrophytes* وذلك باستخدام طريقة الخلط مع الوسط الزرعي ، تبين من خلال النتائج الموضحة في الجدول (3) ان للمستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان وله فعالية ضد الفطر *T.mentagrophytes* ، أذ بلغت أعلى نسبة تثبيط عند التركيزين 5% و 7.5 % وبنسبة تثبيط 100% تلاها التراكيز 2.5 % و 1 % وبنسب تثبيط 51.94 % و 41.18 % على التوالي مقارنة بالمستخلص المائي

لقشور الرمان حيث بلغت أعلى نسبة تثبيط بتركيز 7.5 % اذ بلغت 100 % في حين كانت أقل نسبة مئوية للتثبيط بتركيز 1 % عندما بلغت 6.88 %. اوضحت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى ($P \leq 0.05$) بين التراكيز المستخدمة في الدراسة .

جدول (3) تأثير المستخلص المائي والكحولي لقشور نبات الرمان في النمو الفطري الشعاعي للفطر *T.mentagrophytes*

التركيز (%)	مستخلص مائي		مستخلص كحولي	
	معدل قطر النمو للفطر (ملم)	نسبة التثبيط (%)	معدل قطر النمو للفطر (ملم)	نسبة التثبيط (%)
Control	0.00 ± 17	0.00	0.00 ± 17.00	0.00
% 1	0.62 ± 15.83	6.88	0.00 ± 10.00	41.18
% 2.5	0.74 ± 14.83	12.76	0.41 ± 8.17	51.94
%5	0.28 ± 15.33	9.82	0.00 ± 0.00	100
% 7.5	0.00 ± 0.00	100	0.00 ± 0.00	100
قيمة LSD	3.67 *	5.71 *	5.29 *	11.57 *
* ($P \leq 0.05$).				

وتتفق هذه النتائج مع ما أشارت اليه الدراسات الى الكفاءة العالية لقشور الرمان في الحد من أصابات الاحياء المجهرية ومنها الفطريات من خلال فعلها القاتل والمثبط لنمو البكتريا والعديد من الفطريات ومنها الفطريات الجلدية (23)،(24) ،(25) وكذلك دراسات أخرى أشارت الى الموضوع ذاته (26) ،(27)، (28) .

وعند مقارنة النتائج المتعلقة بتأثير المستخلص المائي البارد و المستخلص الكحولي احصائياً وجد ان هنالك فروقاً معنوية بمستوى ($p \leq 0.05$) بينهما وقد يعزى ذلك الى أثر الكحول في استخلاص المواد الفعالة الموجودة في قشور الرمان ، حيث اشارت نتائج الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في مستخلصات قشور الرمان و كما هو موضح في الجدول (4) احتواءها على التاتينات ، الفوريدات ، الفلافونات ، النينولات ، الراتنجينات والصابونيات .

جدول (4) الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي والكحولي لقشور الرمان وبذور البابايا

المركب الفعالة	قشور الرمان		البابايا	
	مائي	كحولي	مائي	كحولي
القلويدات AlKaloid	+	+	–	+
الفلافونات Flavonoids	+	+	–	+
الكلايكوسيدات Glycosides	+	+	–	+
الصابونيات Saponins	–	–	+	–
الراتنجيات Resins	–	+	+	+
التانينات Tannins	+	+	+	+
الفينولات Phenol	+	+	+	+

+ = وجود المادة الفعالة – = عدم وجود المادة الفعالة

ان التأثير الفعال لمستخلص قشور الرمان ربما يعود الى احتوائه على المركبات الفينولية المرسبة للبروتينات الموجودة في الغشاء الخلوي او نفاذها الى داخل الخلية الحية (29) ، (30) ، (31) . كما أن التأثير الفعال لمستخلص قشور الرمان ربما يعود الى احتوائها على مادة التانين ، واوضح(32) ان الفطر *Aspergillus niger* أظهر حساسية عالية لمستخلص قشور الرمان ، فيما أكد (33)ان مركبات , Punicalgins Ellagicacid ، الموجود في عصير الرمان تمتلك فعالية ضد الفطر *A.fumigatus* في

حين بين (34) في دراسة اجريت على بعض الفطريات ان المستخلصات الكحولية لقشور الرمان لها تأثير اعلى مقارنة بالمستخلص المائي .

تأثير المستخلصات المائية والكحولية لبذور البابايا في نمو الفطر *T.mentagrophytes*

اظهرت نتائج تاثير مستخلص بذور البابايا (***Carica papaya***) في نمو الفطر *T.mentagrophytes* ان التاثير اعتمد على نوع المستخلص وتركيزه اذ أظهر المستخلص الكحولي فاعلية تثبيطية عالية مقارنتاً بالمستخلص المائي وكما هو موضح في الجدول (5) حيث بلغت نسبة التثبيط 100% عند التراكيز 5% و 7.5 % بينما بلغت نسبة التثبيط 41.18 % و 53.94% في التركيزين 1% و 2.5% على التوالي في المستخلص الكحولي لبذور البابايا .

جدول (5) تأثير المستخلص المائي والمستخلص الكحولي لبذور البابايا في النمو الفطري الشعاعي لفطر *T.mentagrophytes*

التركيز (%)	مستخلص مائي		مستخلص كحولي	
	معدل قطر النمو للفطر (ملم)	نسبة التثبيط (%)	معدل قطر النمو للفطر (ملم)	نسبة التثبيط (%)
Control	0.00 ± 17	0.00	0.00 ± 17.00	0.00
% 1	0.62 ± 12.17	28.41	0.00 ± 10.00	41.18
% 2.5	0.00 ± 10.00	41.18	0.23 ± 7.83	53.94
%5	0.23 ± 9.83	42.18	0.00 ± 0.00	100
% 7.5	0.00 ± 5.00	70.59	0.00 ± 0.00	100
قيمة LSD	3.52 *	7.83 *	5.59 *	11.62 *
* ($P \leq 0.05$).				

في حين كانت اعلى نسبة تثبيط نمو الفطر *T.mentagrophytes* باستخدام المستخلص المائي بالتراكيز 7.5 % والتي بلغت 70.59 % تلاه التركيز 5% وبنسبة تثبيط 42.18 % ، فيما كانت نسب تثبيط 28.41 % و 41.18% عند التراكيز 1 % و2.5 %على التوالي . وعلى الرغم من اختلاف نسب التثبيط الا انها جميعاً احدثت خفضاً معنوياً بمستوى ($P \leq 0.05$) لمعدل النمو مقارنة بمعاملة السيطرة .

من الجدير بالذكر ان دراسة تأثير بنات البابايا على الفطريات الجلدية تعد من الدراسات الاولى التي تم اجرائها في القطر ، اما عند مقارنة النتائج مع الدراسات العالمية فقد اشار (35) ، في دراسة اجريت في باكستان ، الى فعالية مستخلص اوراق البابايا على مجموعة من الفطريات التي تصيب النبات واخرى تصيب الانسان ومنها الفطريات الجلدية التي ضمت كل من *M.canis* , *M.gypseun*، *T.rubrum*، *T.tonsurans*و *T.mentagrophytes* ، كما اوضح وجود البروتينات ، الكربوهيدرات ، الفلافونات ، الصابونيات ، الكلايكوسيدات والقلويات في مستخلص اوراق البابايا ولم يلاحظ وجود السيتريدات والتانينات ، اما في الدراسة الحالية وحسب الجدول (4) الذي يوضح نتائج الكشف الكيميائي للمكونات الفعالة في م ستخلص بذور نبات البابايا نلاحظ وجود التانينات ، الكلايكوسيدات ، الصابونيات ولم نلاحظ اي وجود للقلويدات والفلافونات في المستخلص المائي، واتفقت هذه النتائج مع دراسة (36) الى عدم وجود القلويدات والفلافونات في مستخلص بذور البابايا ، وعند دراسة تأثير المستخلص على بعض الفطريات *Rhizopus* , *Colletotrichum gloeosporioides stolonifera* و *Fusarium spp* ،لاحظ قدرة مستخلص بذور البابايا على تثبيط نمو هذا الفطريات اما (37) فقد درس تأثير المستخلص المائي لبذور البابايا على أختزال تكون الغزل الفطري في كل من الفطر *Aspergillus spp* ، *Mucor spp*و *Rhizopus spp* ولاحظ الفعالية العالية لهذا المستخلص في تثبيط الغزل الفطري وتراوحت مناطق التثبيط بين (0.23 – 1.73) ملم ، وقد اوعز هذا التاثير الى المركبات الفعالة الموجودة في بذور البابايا وهي الكلايكوسيدات والكارسين (Caricin)، Carpaine , Flavanols , Pseudocarpaine , butanoic acid , Tannins , Linalod , α – palmilic acid , terpenoids , benziglucosinolate

كما اوضح ان بعض هذه المركبات تحفز العوامل المضادة للاكسدة والتي بدورها تثبط نمو الغزل الفطري مع خلال تفاعلها مع مكونات الجدار الخلوي لهذه الفطريات .

اما (38) في الهند فقد درسة تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لجذور ،أوراق وبذور نبات البابايا على الفطريات *A.niger* , *Candida albicans* و *Microsporum fulvum* , واستنتج ان نمو هذه الفطريات يثبط بوجود تراكيز عالية من المستخلص الكحولي مقارنتاً بالتراكيز الواطئة منه . بينما اشار (39)، في دراسة

المستخلص المائي البارد لاوراق خمسة من النباتات الطبية كان من ضمنها نبات البابايا ، اشار الى الفعالية العالية لمستخلص البابايا في تثبيط النمو الشعاعي لفطر *F.oxysporium* .

المصادر

1-Sahai , S. and Mishra , S. (2012) . Change in spectrum of dermatophytes isolated from superficial mycoses cases :First report from central India . J. Dermatol .,35 : 113-25 .

2-De - Baere T .; Summerbell, R .; Theelen , B .; Boekhout , T. and Vaneechoutte , M. (2010) . Evaluation of of internal transcribed spacer 2- RFLP analysis for the identification of dermatophytes. J . Med. Microbil , 59: 48-54 .

3-Weitzman, I. and Summerbell , R. C. (1995). The dermatophytes . Clin Microbiol. Rev. , 8(2) : 240-59 .

4-Ghannoum, M.; Hajjeh, R .; Scher, R .; Konnikov, N. and Gupta, A . (2000) . A large –Scale North American study of fungal isolates from nails : the frequency of onychomycosis, Fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns . J. Am . acad . Dermatol ., 43:641- 648 .

5-Mirmirani, P .; Hessol, N.; Maurer, T.; Berger, T. and Nguyen, P. *etal* (2001) . Prevalence and predictors of skin disease in the women's Interagency HIV Stady (WIHS) . J. Am. Acad . Dermatol., 44: 785-788.

6-Faergemann, J. and Baran , R. (2003). Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis .Br. J. Dermatol., 149 : 1-4 .

7-Wood Folk, J. A. (2005). Allergy and dermatophytes . Clin .Microbil. Rev., 18: 30 -43.

8-Aly,R. (1998) . Skin ,hair and nail Fungal infction .Curr**.** Oein . Infect . Dis .,11: 113-118 .

9-Pina -vaz,C. ; Sansonthy,F. ; Rodrigues,A.G. ; Gosta-De-Oliverira,S. ; Martinez-De-Olivieria,J. and Fonseca,A.F. (2001). Susceptibility to fluconazole of *Candida* clinical isolates determined by fu N.1 staining with flow cytometry and epiflourscence microscopy. J.Med.Microbiol., 50: 375-382

10-Mitscher,L.A. ; Leu,R. ; Bathala,M.S. ; Wu,W.N. ; Beal,J.L. and White,R. (1972). Antimicrobial agents from higher plants. J. Lloydia. 35(2) : 157-166.

11-Abd-Elaah,G.A. ; Abo-Amer,A. and Soliman,S.A. (2006). Protein patterns and mycelial growth of dermatophytic fungi affected by desert plant extracts. Int. J. Agri. Biol. 8(4) : 434-439 .

12-Nwachukwu,I.N. ; Allison,L.N. ; Chinakwe,E.C. and Nwadiaro,P. (2008). Studies on the effects of *Cymbopogon citratus* , *Ceiba pentandra* and *Loranthus bengwelensis* extracts on species of dermatophytes. J. Am. Sci. 4(4) : 58-67.

13-Okeke, C.N. and Gugnani, A.C. (1987). In vitro sensitivity of environmental of pathogenic dermtiaceous fungi to azole compounds aphenylpropyl morpholine derivative. Mycopathalogia ., 99: 175-181.

14-McGinnis, M.R.(1980). Labratory hand book of Medical Mycology . Academic press , New York**.**

15-Jessup, C.J.; Warner, J.; Isham, N.; Hasan, I. and Ghannoum, M.A. (2000). Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. J. Clin. Microbiol. 38: 341-344.

16-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 .

17-Petrou, M.A. and Shanson, D.C. (2000). Susceptibility of *Cytococcus neoformans* by NCCLS microdilution and E test methods using five defined media. J. Antimicrob. Chemother., 46: 815-818.

18-Abdel Aal , A.M. ;Taha , M. M. ; El-Mashad ,N. and EL-Shabrawy ,W.(2007). Antifungal susceptibility testing :newtrend .Egyptian. Derm . online Journal . 3(1) : 1-10 .

19-Ghannoum , M. A. ; Wraith , L. A. ; Cai , B. ; Nyirady , J. and Isham , N. (2008) . Susceptibility of dermatophytes isolates obtained from alarge worldwide terbinatine tinea capitis clinical trial . Brit . J. Derm ., 159 : 711 – 713 .

20-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 agents by broth dilution method . Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 51 : 9-12.

21-AL- Duboon , A. H. (1997) . Antifungal susceptibility of fungi causing otomycosis in Basrah . Medic. J. of Basrah University . 16: 87-98 .

22- **الجبوري ، مهند جواد كاظم (2007)** . تقويم بعض المضادات الفطرية والعوامل البيئية في حياتية الفطر *Trichophyton* في الزجاج . رسالة ماجستير / كلية العلوم –جامعة بابل .

23-الجنابي ، علي عبد الحسين صادق . (1996) . تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الإنسان . رسالة ماجستير/ كلية العلوم- الجامعة المستنصرية .

24-حسن ، عباس ياسين ، فرحان ،عباس عبود ومحمود ، ماجد محمد (2006) . دراسة تاثير المستخلص المائي لقشرة ثمار الرمان *Punica granatum* على البكتريا المعزولة من مرضى التهاب اللوزتين في محافظة ديالى . مجلة الفتح .العدد السادس والعشرون .

25-علي ، امنة محمد ومجيد ، شهباء حميد (2010) . التاثير المثبط لمستخلص قشور الرمان *Punica granatum* تجاه بعض الاعفان ،مجلة كلية التربية الاساسية .العدد الثالث الستون .

26-Jassim , S.A.A.(1998) . Antiviral or Antifungal composition comprising an extract of Pomegranate rind or other plants and method of use .V.S. Patant 5840308 .

27 -Dahham ,S.S. ; Ali , M.N. ; Tabassum , H. and Khan , M.(2010) :Studies on Antibacterial and Antifungal activity of Pomegranate (*Punica granatum*). A. Eur. J. Agric and Environ .Sci. 9(3) : 273-281.

28-Ahmed ,S. A. ; Abood , W.H. and AL- Janabi , A.A. (2013). Antimicrobial effect of Pomegranate Peel Extract on some pathogenic microorganisms . Eng. Tech. J. 31(3): 316-324 .

29-Reed,J.D. (1995) . Nutritional toxicology of Tannins and related polyphenols in *Forage legumes* . J. Animal Soc. 73 : 1516 – 1528 .

30-Vasconcelos , L. C. ; Sampaio , F.C. ; Sampaio , M.C. ; Pereira , S. ; Higino , J.S. and Peixoto , M.H. (2006) :Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (Pomegranate) gel against *S. mutans* ,*S. mitis* and *C.albicans* . Braz . Dent. J. 17: 223-7 .

31-Reddy , M.K. ; Gupta , S.K. ; Jacob , M.R. ; Khan., S.I. and Ferreira , D.(2007) : Antioxidant , antimatarial and antimicrobial activites of tannin-rich fractions , ellgitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L.Planta Med . 73 , 461-467 .

32-Endo , E.H. ; Cortez , D.A. ; Ueda – Nakamur ., T. ; Nakamura , C.V. and Dias Fitho , B.P. (2010) . Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from Pomegranate Peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans* . Res Microbiol. 161(7) : 534-40 .

33-Tayel , A.A.; El-Baz , A.F. ; Salem , M.F and El- Hadary , M.H.(2009) . Potential applications of pomegranate peel extracts for the control of citrus green mould . J. Plant Diseases and protection , 116(6) : 252- 256

34-Ahmed , I. and Beg , A.Z. (2001) . Antimicrobial and Phytochemical studies on 45Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens . J. Ethnopharmo Col ., 74 :113 .

35-Sherwani , S. K. ; Bokhar ; T. Z. ; Nazim , K.; Gilani ,S.A. ; and Kazmi , S.V. (2013) : Qualitative phytochemical screening and antifungal activity of *Carica papaya* leaf extract against human and plant pathogenic fungi . Int . Res . J. Pharm. 4(7) : 83-86 .

36-Chavez – Quintal , P. ; González- Flores , T.; Rodriguez Buenfil, I. and Gallegos – Tintoré, S. (2011) : Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. C. Maradol leaves and seeds. Indian J. Microbiol . 51(1): 54-60 .

37-Chukwuemeka , N.O. and Anthonia , A.B. (2010) : Antifungal effects of Pawpaw seed extracts and Papain on Post harvest

Carica papapa L. fruit rot . Afr. J. Agric Res . 5(12):1531-1535 .

38-Kumar , M.; Faheem , M .; Singh , S. ; Shahzad , A. and Bhargava , A.K. (2013): Antifungal activity of the *Carica papaya* important food and drug plant . Asian J. plant Sci . Res. 3(1): 83-86 .

39-Taiga , A.; Suleiman , M.N. ; Sule , W. and Olufolaýi , D.B. (2008) : Comparative in vitro inhibitory effects of cold extracts of some fungicial plants of Fusarium oxysporium . Afr. J. Biotechnol . 7(18) : 3306-3308 .

A study of effect some antifungals and plants exteact on the growth of some dermatophytes fungi which cause ring worm diseases .

Dr Hamzia A. Ajaa ; Dr Abdul Khaliq S. Abdullah ; B. SC. Haifa S. Abdul alwahab

Department of Biology , College of Science , Al- Mustansirya university .

Minimal Inhibititory Concentration (MIC) and Minimal Fungicidal Concentration (MFC) were tested using cultural mixing method for three antifungal :- Fluconazole (FLU) , Itraconazole (ITZ) and Griseoflvin (GRI), against dermatophytes isolates(*Trichophyton. mentagrophytes* ,*Trichophyton verrcossum* , *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton tonsurans*. Results showed that all species of *Trichophyton* showed sensitivity against (FLU) and the rate of (MIC) for (FLU) , (ITZ) and (GRI) 5.13 µg /ml , 0.46 µg /ml and 8.35 µg /ml , respectively , while (MFC) 9.20 µg /ml , 0.89 µg /ml and 16.92 µg /ml respectively .

Peel extract of *Punica granatum* and seed extract of *Carica papaya* were prepared using water and ethanol . The inhibitory effect of extracts against the growth of *T. mentagrophytes* were depended on extract kind and extract concentration .

The peel of *Punica granatum* alcohol extract showed the highest inhibition activity with a rate of 100% in both concentration (5% and 7.5%) , while the aqueous extract with concentration 7.5% showed the highest inhibition activity with a rate of 100% . The seed of *papaya* alcohol extract showed the highest inhibition activity with a rate of 100% in both concentration (5% and 7.5%) , whereas the aqueous extract with concentration 7.5% showed the highest inhibition activity with a rate 70.59 % .