

## دراسة تأثير نبات النيم على خميرة الـ *Candida albicans* المعزولة من النساء في محافظة المثنى

عبير حسين عاجل  
كلية العلوم - جامعة المثنى

تركي مفتن سعد  
كلية الزراعة/ جامعة المثنى

### الخلاصة :

أظهرت دراسة تأثير مستخلصات نبات النيم المائية والكحولية على خميرة الـ *Candida albicans* المعزولة من النساء اللواتي تعاني من التهابات المهبل حيث تم جمع 200 عينة حيث أظهرت 56 حالة أصابه بالمبيضات فقط %28 أصابه بالنوع *Candida albicans* . ومن دراسة تأثير المستخلصات على الخميرة كان المستخلص الكحولي أكثر تأثيراً مقارنة مع المستخلص المائي البارد والحرار حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 31.33 ملم عند تركيز 100 ملغم / مل بينما كان منطقة التثبيط للمستخلص المائي الحار 27 ملم والبارد 25.17 ملم عند نفس التركيز

### المقدمة :

الفطريات كائنات حية حقيقية النواة متعددة أو وحيدة الخلية منها الرمية ومنها المتكافلة ومنها الطفيلية ( الأنتهازية) فالمرضة تصيب الإنسان والحيوان محدثة إصابات سطحية *Superficial Mycoses* وإصابات فطرية جلدية *Cutaneous Mycoses* وإصابات تحت جلدية *Subcutaneous Mycoses* وإصابات فطرية جهازية *Systemic Mycoses* ، كما أن بعض الفطريات تصيب النباتات وتسبب لها أمراضاً مختلفة ، وتعمل الفطريات على تلوث أغذية الإنسان وأعلاف الحيوان والبيئة (شمعون وآخرون ، 2006 ) . تأتي الإصابات الفطرية بالمرتبة الثالثة بعد الإصابات البكتيرية والفيروسية ، وان القليل من الأنواع الفطرية تسبب الأمراض للإنسان ، ولكن صعوبة معالجتها جعلها ذات أهمية متزايدة من الناحية الطبية (Robert and Mackenze, 1986; Wright et al., 1999) .

الأعفان هي فطريات خيطية ذات هايفات سريعة النمو ، وهي تنتشر بصورة واسعة في الهواء والتربة فتكون مصدراً للتلوث والإصابة حيث تم وصف ( 70 ) نوعاً منها من قبل (Raper and Fennel , 1977) وكان هنالك ( 19 ) نوعاً سجلت على إنها تسبب إصابة الإنسان من قبل العالم Rinadi (Koneman et al., 1979) . و الخمائر كائنات حقيقية النواة ، وحيدة الخلية ، تنمو على أوساط زرعيه خاصة و بدرجات حرارة تتراوح ما بين 12-37م° ، تتكاثر غالباً تكاثراً لا جنسياً بالتبرعم Budding أو الانتشار الثنائي Fission (Webb et al., 1998). والبعض منها يتكاثر جنسياً مثلها خميرة *C. albicans* (Myrvik & Weiser, 1988 ; Pelczar et al., 1986) . تتواجد الخمائر في أغلب البيئات وعلى السطوح وداخل المواد الغذائية كما يعد بعضها من الأحياء الطبيعية التواجد *Normal flora* في جسم الإنسان والحيوان (حوار، 2002).

أنواع الـ *Candida* كائنات حقيقية النواة ، وحيدة النواة ، الخلايا كروية بيضاوية أو متطاولة الشكل ، الحجم (3-6 µm) ، وتتكاثر بواسطة التبرعم أو الانتشار الثنائي . ويمكن أن تشكل الخيوط الكاذبة عندما البرعم ينمو ، ويفشل في إنتاج سلسلة من

الخلايا المتطاولة المفصولة بواسطة حواجز بين الخلايا , وتستطيع أيضا إنتاج الخيوط الحقيقية (Cruickshank et al., 1975; Jawetz et al., 1998). جنس الـ *Candida* جزء من المستنبت الطبيعي الفلورا الطبيعية في الفم , القناة الهضمية و المهبل في الإنسان ككائنات متعايشة . ولكن الخمائر تصبح ممرضة عندما تحصل تغيرات كبيرة للفلورا الطبيعية الأخرى أو حدوث اضطرابات في الاستجابة المناعية الطبيعية . تحت هذه الظروف الـ *Candida* قادرة على اجتياح كل الأنسجة وتجويف الجسم . لذلك تسمى عادة بالفطريات الانتهازية opportunistic fungi (David et al., 1999) .

يعرف النبات الطبي بأنه النبات أو أي جزء منه الذي يسهم في حفظ الصحة في الأجسام السليمة ودرء المرض عن الأجسام السقيمة . هناك الكثير من الأدلة التي أشارت إلى أن استخدام الإنسان للمصادر النباتية للأغراض الطبية كان منذ عقود ماقبل التاريخ. (Anesim & Perez, 1993) ازداد الاهتمام في العقود الأخيرة من القرن الماضي باستعمال النباتات والأعشاب الطبية ، سواء باستعمالها مباشرة دون أي معاملة مثلما كانت تستعمل سابقا ، أو بفصل المركبات الفعالة طبييا عنها ومن ثم استعمالها ، في علاج العديد من الأمراض ، إذ تشكل النباتات مصدرا مهما ، للمركبات التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفة . وتكمن أهميتها في أنها لا تحتوي في الغالب على مواد ذات تأثير جانبي ضار ، فقد ثبت أن العديد من العقاقير الطبية ذات المصدر الكيميائي لها تأثيرات جانبية خطيرة ، لذا اتجه العلماء والباحثون في مختلف أنحاء العالم إلى دراسة النباتات الطبية ومعرفة تأثيراتها وفوائدها الدوائية ، وذلك لأهميتها الكبيرة من الناحيتين العلمية والاقتصادية (الجبوري والراوي، 1993).

#### المواد وطرق العمل :

تم عزل الفطر من العينات التي جمعت عن طريق اخذ مسحات مهبلية Vaginal swabs باستخدام مسبار طبي speculum معقم لمنع تلوث المسحة خلال مرورها بالجزء السفلي من المهبل (Rahman et al., 1991) . بعد ذلك نقلت العينات إلى المختبر لأجراء اللازم خلال مدة لا تتجاوز ساعة إلى ساعتين من وقت أخذ العينة

#### عزل الفطر :

تم التحري عن خميرة الـ *Candida albicans* في (200) عينه من النساء المصابات بالالتهابات المهبلية تراوحت أعمارهن من (15-57) سنة ممن راجعن مستشفى الولادة في محافظة المثني . زرعت المسحات المأخوذة مباشرة على وسط أكار السابروييد حيث خططت المسحات القطنية على سطح الوسط الغذائي بعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م ولمدة 48 ساعة. وأجريت الاختبارات الخاصة على العزلات لتشخيص جنس المبيضات منها شكل المستعمرات ولونها على وسط الـ CHROMagar وقدرتها على تكوين الأبواغ الكلاميدية وأنبوب الإنبات . وهذه الصفات جاءت مطابقة لما وصفه (Bodey, 1993 ; Emmons et al., 1977) . وشخصت قدرة الخميرة على إنتاج السبورات الكلاميدية أو أنبوب الإنبات حيث كانت عزلات النوع *C. albicans* منتجة للأبواغ الكلاميدية ومنتجة لأنبوب الإنبات التي تعتبر من عوامل الضراوة و تستخدم لتشخيص الـ *C. albicans* (Kwon-Chung and Bennett, 1992) .

وقد تم حفظ الخميرة في الثلجة لحين إجراء الاختبارات اللازمة عليها وتم اختبار نبات النيم حيث جمع ونظف من الأتربة والشوائب العالقة بها وجففت وذلك بنشرها بعيدا عن أشعة الشمس المباشرة وحفظت النماذج بعد الجفاف التام في أكياس بلاستيكية لحين استخدامها . وبعدها تم تحضير المستخلصات المائية الحارة والباردة حسب الطريقة الموصوفة بواسطة (Parekh & Chanda , 1984; Harbone, 1997; El-Fallal & El-Kattan, 1997) و (2007) على التوالي و المستخلص الكحولي الحار حسب الطريقة الموصوفة بواسطة

- (Deshmuk & Borle, 1975). بعدها تم اخذ 1 غم من كل مستخلص وأذيب في 10 مل من الماء المقطر للحصول على تركيز 100 ملغم / مل وبعدها تم تحضير التراكيز المطلوبة للمستخلصات في الدراسة (100,75,50,25) ملغم / مل حسب المعادلة المستخدمة في الكيمياء التحليلية ( $N_1V_1 = N_2V_2$ ). وبعدها تم اختبار حساسية الخميرة للمستخلصات النباتية طبقا لطريقة التي وصفت بواسطة (Nothan et al., 1978) :-
- 1- اخذ (0.2) مل من العالق الخميري ووضع على سطح وسط ESDA ونشر بواسطة ناشر زجاجي على شكل حرف (L) معقم بالكحول (70%) والذهب .
  - 2- عملت حفر بقطر (10) مللتر في الوسط الزراعي الملحق باستخدام النهاية العريضة لماصة باستور ثم غلقت الحفر بأضافة (0.05) مل من SDA قبل التجمد ليمنع انسياب المستخلص تحت الحفر ، بعدها تركت الأطباق لتتجمد .
  - 3- تخافيف المستخلصات النباتية ( 100, 75, 50, 25 ) حضرت بثلاث مكررات لكل تركيز .
  - 4- الأطباق حضنت بدرجة حرارة ( $30-28\text{ C}^\circ$ ) ولمدة (7-2) أيام
  - 5- الفعالية لكل تخفيف من المستخلصات النباتية حددت بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة باستخدام المسطرة .

#### النتائج والمناقشة :

بينت نتائج الفحص المباشر للمسحات المباشرة بصبغة كرام والزرع أن الأصابة بالمبيضات فقط ظهرت في 56 مريضة من أصل 200 بنسبة 28% وتضمنت هذه الإصابات 34 حالة إصابة بـ *C. albicans* فقط بنسبة 17% وكان أكثرها تكرارا , ثم يليه كل من النوع *C. krusei* و الأصابة بالنوعين *C. albicans* & *C. tropicalis* معا بنسبة 7.0% لكل منهما بعدها يليه الأنواع الأخرى . كما موضح في الجدول (1)

جدول (1) أنواع الـ *Candida spp* المعزولة مع نسبها

ت	النوع	تكرارها	النسبة %
1	<i>C. albicans</i>	34	17.0
2	<i>C. galabrata</i>	6	3.0
3	<i>C. krusei</i>	14	7.0
3	<i>C. tropicalis</i>	0	0.0
4	<i>C. albicans</i> & <i>C. tropicalis</i>	14	7.0
5	<i>C. albicans</i> & <i>C. galabrata</i>	4	2.0
6	<i>C. albicans</i> & <i>C. krusei</i>	4	2.0
7	<i>C. tropicalis</i> & <i>C. krusei</i>	4	2.0
	الإصابات	80	40
	الأصحاء	120	60
	المجموع	200	100

### تأثير المستخلصات النباتية على نمو الخميرة المعزولة :

جرت دراسة تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية الباردة والحارة والكحولية لنبات النيم على الخميرة قيد الدراسة وقد أظهرت النتائج وجود فروق معنوية وعند مستوى احتمال (0.05) في تأثير هذه المستخلصات وفي التراكيز المدروسة جميعها وكما موضح بالجدول (2) عندما بلغت قيم مناطق التثبيط للمستخلص المائي البارد والحار (15.50 , 8.33) ملم على التوالي عند التركيز 25 ملغم / مل لتبلغ (25.17 , 27) ملم وعلى التوالي عند التركيز 100 ملغم / مل ، بينما بلغت مناطق التثبيط للمستخلص الكحولي الحار (24.33) ملم عند التركيز 25 ملغم / مل لتزداد (31.33) ملم عند التركيز 100 ملغم / مل . وقد تبين أن المستخلص الكحولي هو الأكثر تأثير وبشكل معنوي مقارنة بالمستخلص المائي البارد والحار وقد يعود السبب إلى أن العديد من المركبات النباتية الفعالة التي لا تذوب بشكل جيد في الماء وتذوب بوجود المذيبات العضوية كالأيثانول و الميثانول (Abu-Shanab et al., 2004) , وهذا يتفق مع ماوجده الذهب (1998) من إن للكحول الأيثلي قابلية عالية على سحب المركبات الفعالة من العينة النباتية بسبب قطبيته العالية . ويمكن أن تقسر الفعالية التثبيطية لنبات النيم لاحتوائه على بعض المركبات الفعالة كالقلويدات ، التربينات ، التانينات ، الفلافونات ، الراتنجات والصابونيات فقد أشار (Hassan et al 2000) إلى إن الصابونيات تعمل على خفض السكر داخل الكائن المجهرية والتي تؤدي إلى موت الخلية.

جدول (2) تأثير نوع المستخلص والتركيز في معدل أقطار التثبيط لنبات النيم

نوع المستخلص	التركيز %	معدل التثبيط (ملم)	الخطأ القياسي	قيمة L.S.D.
كحولي حار	25	24.33 c	0.67	2.02
	50	25.33 c	0.88	
	75	28.67 b	0.44	
	100	31.33 a	0.33	
مائي حار	25	15.50 c	0.76	1.92
	50	21.33 b	0.67	
	75	25.17 a	0.17	
	100	27.00 a	0.57	
مائي بارد	25	8.33 d	0.61	2.73
	50	12.50 c	0.29	
	75	22.00 b	1.00	
	100	25.17 a	1.17	

• الأحرف الصغيرة المتشابهة في العمود الواحد يعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05 على وفق اختبار Duncn (Duncn,1955)

وفي دراسة أخرى بيّنَ (Cowan (1999) إن الفلويديات تمتاز بقدرتها على اقتحام الخلية البكتيرية والتداخل مع الحامض النووي DNA ، فيما تعمل التانينات على تثبيط الأنزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في غشاء الخلية كما و اتفقت مع دراسة (Kang et al, (1999) على أن للفلويديات فعالية تثبيطية تجاه *C. albicans* من خلال تثبيط بناء الكايتين Chitin و الستيرول Sterol المهمان في بناء جدار الخلية الفطرية عن طريق تثبيطها للأنزيمات المهمة في بنائها . وقد يعود سبب تباين الفعالية التثبيطية للمستخلصات إلى التباين في طريقة الاستخلاص ونوع المذيب وطبيعة أغشية الأحياء المجهرية (Parkh and Chanda , 2006).

#### المصادر:

- 1 - الجبوري، علي عواد والراوي، محمد عبد الله. (1993). علم الأدوية الطبيعية. جامعة بغداد.
- 2 - حوار، سمية نعيمة (2002). تأثير ليزر القدرة الواطنة (الهليوم- نيون) على حيوية خميرة المبيضات الـ *Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية . رسالة ماجستير، كلية التربية (ابن الهيثم)، جامعة بغداد: 94 صفحة.
- 3 - الذهب، أزهار عمران ( 1998). الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية في بعض البكتريا الممرضة. رسالة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة بابل.
- 4 - شمعون ، جورجيت نيسان و بلسم يحيى و محمد علي حمد . (2006) ، عزل وتشخيص الفطريات المرضية من إصابات العين في الأغنام والأبقار ، المجلة العراقية للعلوم البيطرية ، 20 (2) ، 218-213.
- 5- Abu- Shanab , B. ; Adwan ,G. ; Abu-Safiya ,D. ;Jarrar,N. and Adwan , K. (2004). Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Plastine . Turk. J. Biol., 28:99-102.
- 6-Anesim, C. and Perez, C. (1993). Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity . J. Ethnopharm .,39: 119-128.
- 7-Bodey , G.P. , (1993). Candidiasis pathogenesis , diagnosis and treatment . 2nd ed. Raven press . USA .
- 8-Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agent . Clin. Microbial. Rev.,12(4): 564-582.
- 9-Cruickshank, R. ; Duguid , J. P. ; Marmion , B. P. and Swain, R. H. , (1975). Medical Microbiology,12<sup>th</sup>ed, Logman Group Limited .
- 10-David ,C. B. ; Wesly ,A.V. and Robert , H. N. ,( 1999 ). Essentials of medical microbiology , 4<sup>th</sup> ed. , Lippincot Co .London,pp:531-532.
- 11-Deshmukh , S.D. and Borle , , M. N. (1975). Studies on the insecticidal properties of indigenous plant product Indian . J. Enthno pharmacology , 37(1): 11-18 .
- 12-El-Fallal , A.A. and El-Kattan , M.H. (1997). Effect of plant extract on mycelia growth on some cultivated Mushrooms Egypt . J. Microbioal. , 32 (1) : 41-48.
- 13-Emmons ,C.W.; Bmford ,C.H.; UTZ ,J.P. and Kwon-Chung , K.J. (1977). Medical mycology :3<sup>rd</sup>.ed , Lea and Febiger- Philadelphia
- 14-Harbone, J.B. (1984). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis . 2<sup>nd</sup> ed. Chapman and Hall . London, New York .
- 15-Hassan, I. A.; Abdel-Barry, J. A. and Mahemmeda, S. T.(2000). The

- 
- hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect on *citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. J.Ethnopharmacol., 71(2):325-330.
- 16-Jawetz, E. ; Melnick , J. L. and Adelberg , E. A. , (1998). Review of Medical Microbiology. 21<sup>th</sup> ed. Appleton and Lange . USA .
- 17-Kang, S.p.; Kab, C.K.; Adams, D.J.; Johng, T. N. and young , K. P. (1999). Differential inhibitory effect of protoberberiens on sterol and chitin biosynthesis in *candida albicans* . J. Antimicrob. Chemother., 43:667-674.
- 18-Koneman, E. W. ; Roberts, G. D. and Wright, S. E. (1979). Practical Laboratory Mycology 2<sup>nd</sup> ed. The Williams and Wilkins, Bultimore, U. S. A , 153. pp.
- 19-Kwon-Chung, K.J. and Bennett, J.E. (1992). Medical Mycology. Lea and Fibiger, Philadelphia, London.
- 20-Myrvik, O.N. & Weiser, R.S. (1988). Fundamentals of medical bacteriology and mycology. 2<sup>nd</sup> ed. Lea & Febiger. Philadelphia. : 299 pp.
- 21-Nothan, P.; Law, E.J. and Murph, D.F. (1978). A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds .J.Burns., 4:177-187.
- 22-Parekh, J. and Chanda, S. V. (2006). In vitro antimicrobial activities of extract of *Launaea procumbens* Rox b. (labiateae), *Vitis vinifera* L.(Cryperaceae).A African Journal of Biomedical Research, 9:89-93.
- 23-Parekh , J. and Chnda , S. V . (2007). In – vitro screnning of antibacterial activity of aqueous of alcoholic extract of various Indian plant species against selected pathogen from Enterobacteriaceae . African Journal of microbiology Research , 1 (6) : 92-99.
- 24-Pelczar, M.J. ; Chan, E.C.S. & Krieg, N.R. (1986). Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill: 247 pp.
- 25-Rahman , T. ; Khan , I.H. and Begum , J. (1991). High vaginal swab (HVS) routine microscopy and culture sensitivity in diabetic and non diabetic , a comparative retrospective study of five years. 45 (8) : 212-214.
- 26-Raper, K. B, and Fennell, D. I. (1977). The genus *Aspergillus* . Robert E. Krieger publishing company. New York .U S A.404 pp.
- 27-Roberts, S.O.B. and Mackenzie, D.W.R. (1986). Mycology. In: Text book of dermatology. (eds.). Rook , A.; Wilkinson, D.S.; Ebling, F.J.G.; Champion, R.H. and Burton, J.L. Vol. 2, 4<sup>th</sup> ed. Black well Scientific publication, London, pp: 885-896.
- 28-Webb, B.C. ; Thomas, C.J. ; Willcox, M.D.P. ; Harly, D.W.S. ; Knox, K.W. (1998). *Candida* - associated denture stomatitis. Aetiology and managements: Areview. Part 1. factors influencing distribution of candida species in oral cavity. Austrian Dental J., 43 (1): 45-50.
- 29-Wright, J.B. ; Lam, K. ; Hunsen, D. and Burrell, R.E. (1999). Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. techniques of plant analysis.2<sup>nd</sup>.ed. Chapman and Hall , London, New York
-

**Abstract :**

The Study of the impact of aqueous and alcohol Neem plant extracts on the yeast *Candida albicans* isolated from women who suffer from inflammation of the vagina were collected 200 samples showed that 56 cases of Infection with Candidiasis only 28% Infected by *Candida albicans*. The effect of extracts on yeast was alcoholic extract more influential Compared with aqueous extract of cold and hot, where inhibition zone was 31.33 mm at a 100 mg/ml concentration, while the inhibition of aqueous extracts hot was 27 mm and cold 25.17 mm at the same concentrations.