تأثير بعض المستخلصات النباتية لأوراق نبات السينامكي *Cassia acutifolia* في نمو وفعالية خميرة المبيضات *Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية

هيفاء البير يوسف*، مهدي ضمد القيسي، اسيا ناجي عبيد***

*قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم/ جامعة بغداد

**مركز سلامة الغذاء/ وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة

استهدفت الدراسة تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية (الباردة والحارة) لأوراق نبات السينامكي *Cassia acutifolia* تجاه عزلات خميرة *Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية. فقد تم الحصول على 25 عزلة من هذه الخميرة من حالات مرضية مشكوك بها داء المبيضات Candidiasis واختير منها 4 عزلات شملت كل من عزلة المهبل وبين الأصابع والاظافر والفم فضلاً عن العزلة القياسية، واختبرت حساسية عزلات خميرة *C. albicans* اتجاه المضاد الحيوي Nystatin حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى (MIC) لجميع العزلات 0.15 ملغم/ مل.

جرى الكشف النوعي الكيميائي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق نبات السينامكي وبينت النتائج احتواءها على القلويداتوالكلايكوسيداتوالفلافوناتوالفينولاتوالكومارياناتوالراتنجات ولم تحتوي على الصابونيناتوالعفصيات. اختبرت حساسية عزلات الخميرة لهذه المستخلصات وأظهرت النتائج ان المستخلص الكحولي البارد هو الأكثر تأثيراً في عزلات الخميرة. حيث كانت العزلة الأكثر تحسساً بالمستخلص الكحولي البارد عزلة بين الأصابع وعزلة المهبل وقيمة (MIC)لكل منهما 30 ملغم/ مل. كذلك أثر المستخلص الكحولي البارد في النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي الذي يعد من اهم عوامل الضراوة لخميرة *C. albicans* حيث انخفضت النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي بزيادة تركيز المستخلص وبصورة ملحوظة لعزلة المهبل والعزلة القياسية خلال فترة الحضن وهي (2-6) ساعات.

الكلمات المفتاحية: أوراق نبات السينامكي، خميرة المبيضات، الفعالية المضادة للفطريات.

Effect of Some Plant Extracts of Leaves of *Cassia acutifolia* on Growth and Activity of *Candida albicans* isolated from clinical cases of Candidasis

Hayfa'a A. Yousif*, Mahdi T. Al-Kaisy, Asia N. Al-Hachami***

*Department of Biology, College of Education for Pure Science/ University of Baghdad
**Center for Food Safety / Ministry of Science and Technology

Abstract:

The study was conducted to evaluate the antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts (cold and hot) extracted from leaves of *Cassia acutifolia* against *Candida albicans* isolated from clinical cases. Twenty five isolates of yeast were isolated from different cases of candidiasis. Four isolates that isolated from vagina, intertriginous, nail, mouth and standard isolate were used in further experiments. Results of the sensitivity of *C. albicans* towards nystatin showed that minimum inhibitory concentration (MIC) for all isolates was 0.15 mg/ ml. Analysis of crude extracts of leaves of *C. acutifolia* was carried out to determine its contents from biologically active compounds were isolated from extract, results of sensitivity of the isolates of *C. albicans* towards crude extracts showed that the cold alcoholic extract from the leaves of *C. acutifolia* showed high inhibitory effect on growth of the isolates of *C. albicans*. The isolates that isolated from intertriginous and vaginal showed sensitivity to cold alcoholic extract that extracted from leaves of *C. acutifolia* at MIC 30 mg/ ml to both isolates. Cold alcoholic extract from leaves of *C. acutifolia* showed high effect on the percentage of germ tube formation which is one of virulent factors of *C. albicans* so there is a reducing in the percentage of germ tube formation by increasing the concentration of extract especially for vaginal and standard isolates during incubation period of 2-6 hrs.

Key words: Leaves of *Cassia acutifolia*, *Candida albicans,* antifungal.

المقدمة:

منذ الاف السنين واسلافنا القدماء يبحثون عن النباتات النافعة ويعزلون المواد المفيدة ليستكشفوا خصائصها ويستخرجوا منافعها لمعالجة الامراض الخطيرة بين مجتمعاتهم والتي تؤدي الى موت الانسان، مما دفع ذلك لتوجه الكثير من الاولين في اتخاذ الاحتياطات اللازمة لمقاومة هذه الامراض وتجنب مسبباتها وتثبيط نشاطها مع البحث عن المصادر الاحيائية المضادة لمنع هذه المسببات ولا يأتي هذا الا بتناول بعض النباتات النامية برياً في الغذاء على هيئة أعشاب كاملة أو مساحيق ناعمة أو مستخلصات مائية. ان جميع الامراض الطفيلية بأعراضها المختلفة تصيب الانسان يمكن شفاؤها او تخفيفها باستعمال بعض الأغذية ذات المصادر النباتية [1].

ان دور الفطريات المرضية وصعوبة معالجتها جعلها ذات أهمية متزايدة من الناحية الطبية [2]. حيث شهدت السنوات الأخيرة زيادة كبيرة في حدوث الإصابات الفطرية ولأسباب عديدة ربما يعد السبب الرئيسي هو تزايد عدد مرضى العوز المناعي Immunocompromised patients مثل مرض الايدز وامراض السرطان والسكري[3]، ونتيجة لتعاطي العقاقير ذات السمية الخلوية ومركبات الكورتزون كذلك الافراط في تعاطي المضادات الحيوية.

من بين الإصابات الفطرية الواسعة الانتشار هي داء المبيضات Candidiasis الذي يتسبب عن الأنواع التابعة لجنس *Candida*التي تضم اكثرمن 200 نوع، الا ان اقل من 20 نوعاً تعد من العوامل الممرضة المسببة لداء المبيضات في الانسان ومنها *Candida albicans* [4].

ان استخدام المضادات الحيوية بشكل متزايد وعشوائي أدى الى ظهور سلالات مقاومة من خميرة *C. albicans* أتجاه هذه المضادات [5]. مما يستدعي إيجاد أساليب أو تقنيات قد تعمل للقضاء على المسبب المرضي مباشرة أو قد تتعاون Synergies مع المضاد الحيوي في حالة عدم الاستجابة له بمفرده.

ولأهمية النباتات والاعشاب الطبية في بلدنا العراق ولمواكبة التقدم العلمي في هذا المجال من حيث اختيار طريقة الاستخلاص الأفضل وتنويع الاستعمال لهذه المستخلصات في مجالات طبية وصناعية مختلفة فقد اختير في هذه الدراسة أوراق نبات السيناميكي *Cassia acutifolia*الذي يعودالى جنس *Cassia*الذي يضم حوالي 600 نوع من الأعشاب والشجيرات والأشجار [6، 7] او 500 نوع حسب ما أشار اليه[8]وهي الدراسة الأولى في العراق حسب علمنا علما بأن هذا النبات من الأعشاب الطبية المستعملة في الطب الشعبي في العراق. وقد تضمنت الدراسة عزل وتشخيص خميرة المبيضات *C. albicans*من حالات مرضية وتهيئة أوراق نبات السيناميكي وتحضير المستخلصات المائية والكحولية الباردة والحارة والكشف النوعي عن المجاميع الفعالة في المستخلصات النباتية ودراسة كفاءة هذه المستخلصات كمضادات فطرية مقارنة بالمضاد الفطري Nystatin المستخدم كعلاج. وكذلك استخدام المستخلص الاكفأ بالتأثير في النسبة المئوية لتكوين أنبوب الانبات وهو احد عوامل الضراوة لخميرة *C. albicans*.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات:

1- عزلات خميرة *C. albicans*: تم الحصول على 25 مسحة بشكل قطيلة Swabs من بين عدد من اشخاص مشكوك بإصابتهم بداء المبيضات من مستشفى اليرموك التعليمي من مناطق مختلفة من الجسم شملت الفم، الاظافر، بين الأصابع والمهبل وغمرت القطيلات في محلول الملح الفسيولوجي المعقم في انابيب اختبار لحين نقلها الى المختبر اما العزلة القياسية لخميرة *C. albicans*(ATCC102301) فقد حصل عليها من مختبر الاحياء المجهرية المتقدم في قسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)، جامعة بغداد.

2- العينة النباتية: تم الحصول على أوراق نبات السيناميكي الجافة من معشب الزهراء للتداوي بالاعشاب الطبية والطبيعية المصنف من قبل هذا المعشب. طحنت الأوراق الجافة بمطحنة كهربائية Electrical grinder وحفظ المسحوق في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة لحين الاستعمال[9].

زرع العزلات وتشخيصها:

نميت العزلات في المختبر وذلك بتخطيط كل قطيلة على وسط السابرويد المعقم الصلب، وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 30°م لمدة 4 أيام ثم فحصت المستعمرات وشخصت خميرة *C. albicans* وفق ما جاء في [10] وكما يلي:

1- **الصفات المظهرية للخلايا والمستعمرات:** زرعت العزلات على الاوساط الزرعية Potato Dextrose (AgarPDA) وCorn Meal Agar (CMA) وCzapek's(CzDA)بوساطة عروة ناقل ذلك اخذ جزء من مستعمرة نامية على وسط السابرويد الصلبوتخطيطها على الأوساط الزرعية الصلبة المذكورة.حضنت الاطباق بالحاضنة بدرجة حرارة 30°م ولمدة 4 أيام وبعدها فحصت المستعمرات من خلال الاعتماد على شكل المستعمرة وحجمها وشكل حافتها وقوامها ولونها على الأوساط الزرعية المذكورة أعلاه، ولتأكيد تشخيص الخميرة تم عمل مسحة على شريحة زجاجية ثم ثبتت وصبغت بصبغةاللاكتوفينول الزرقاء وفحصت تحت المجهر الضوئي.

2- تكوين أنبوب الانبات Formation of germ tube: تم اجراء التجربة وفق ما جاء به [11] بأخذ 2 مليلتر من بياض البيض ووضعه في انابيب اختبار معقمة ثم لقحت الانابيب بجزء من مستعمرة نامية على وسط السابروید الصلب لمدة 24 ساعة وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 30°م ولمدة 2-3 ساعات. ثم بعدها اخذت قطرة ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي لملاحظة تكوين أنبوب الانبات.

3- فحص تكوين الابواغ الكلاميديةChlamydospores formation assay: تمت وفق ما جاء به [12] فقد درست قابلية خميرة *C. albicans* على تكوين الغزل الفطري الحقيقي والكاذب والابواغ الكلاميديةبطريقة الزرع على الشريحة الزجاجية (Slide culture technique) واستخدام وسط CMA. وحضر طبق زجاجي حاوٍ على ورقة ترشيح وقضيب زجاجي بشكل حرف V او U وشريحة زجاجية. ثم عقم الطبق ومحتوياته بالفرن بدرجة حرارة 180°م ولمدة ساعة ونصف، بعد ذلك تم نشر 2-3 قطرات من وسط CMA على الشريحة الزجاجية، ولقح بعدئذٍ بتخطيط جزء من المستعمرة بعمر 4 أيام نامية على الوسط الزرعي الصلبCMA. أضيفت عدة قطرات من الماء المقطر والمعقم الى ورقة الترشيح لمنع جفاف النموذج، حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة 30°م لمدة 4-6 أيام تم فحص الشريحة وذلك بإضافة قطرة من صبغة اللاكتوفينول. غطيت بغطاء الشريحة ثم فحصت تحت المجهر لملاحظة الغزل الفطري والابواغ الكلاميدية.

الاختبارات البايوكيمياويةBiochemical tests

1- القابلية على تمثيل السكريات Sugar assimilation (Plate method): بعد تحضير وسط تمثيل السكريات وذلك وفق طريقة [13] بإذابة كبريتات المغنسيوم 0.5 غم وفوسفات البوتاسيوم 1 غم وكبريتات الامونيوم 5 غم واكار 20 غم في لتر من الماء المقطر ومن ثم عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121°م ولمدة 15-20 دقيقة، صب في اطباق بتري وبعد تصلبه زرع 1 مل من محلول الخميرة بعمر 24-48 ساعة بطريقة النشر بواسطة قضيب زجاجي. وعملت أقراص في حجم معين من محاليل السكريات الخزينة المعقمة التي حضرت بإذابة سكريات (السكروز والكلوكوز والكالكتوز واللاكتوز والمالتوز) بتركيز 20% بالماء المقطر، ثم وضعت على سطح اكار تمثيل السكريات الصلب وحضنت ومن ثم لوحظ وجود نمو خميري حول الأقراص الورقية دلالة على إيجابية الاختبار.

2- القابلية على تخمير السكريات Sugar fermentation: اضيف 2 مل من وسط تخمير السكريات المعقم الذي حضر وفقاً لطريقة [14] بإذابة البيتون 10 غم وكلوريد الصوديوم 5 غم وخلاصة الخميرة 5 غم في لتر من الماء المقطر الى انابيب اختبار تحتوي على Durham tube ثم اضيف اليه 2 مل من محلول السكر الخزين، أضيفت قطرات من الدليل Phenol red لحين تغير الوسط الى اللون الأحمر. لقحت الانابيب بحجم 0.1 مل من عالق الخميرة وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 30°م، تمت متابعة النتائج كل يوم ولمدة 10 أيام خلال ملاحظة تغير اللون الأحمر الى الأصفر وتكون الغاز خلال الانابيب.

تقدير الرقم الهيدروجيني للعينة النباتية:

اتبعت طريقة [15] لتقدير الرقم الهيدروجيني وذلك بوزن 10 غم من مسحوق أوراق نبات السينامكي ووضع هذا الوزن في 50 مل من الماء المقطر وترك في الخلاط المغناطيسي مدة 10 دقائق ورشح الخليط وقيس الرقم الهيدروجيني بأستخدامpH-meter.

الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق نبات السينامكي:

1- الكشف عن القلويداتAlkaloids: اتبعت طريقة [16] حيث غلي 10 غم من مسحوق نبات السنامكي الجاف مع 50 مل من الماء المقطر المحمض بـ 4% من حامض الهيدروكلوريك ولمدة نصف ساعة، ورشح المحلول بعد تبريده ثم وضع الراشح في زجاجة ساعة Watch glass، واضيف اليه قطرات من كاشف دراجندروف ويشير تكون راسب برتقالي على إيجابية الاختبار ولزيادة تأكيد الاختبار اتبعت طريقة [17] حيث اضيف حامض البكريك50% الى مستخلص النبات المائي المحمض بـ 4% من حامض الهيدركلوريك، دلالة على إيجابية الاختبار بظهور الراسب الأصفر.

2- الكشف عن الكلايكوسيدات(Glycosides): اتبعت طريقة [18] في الكشف عن الكلايكوسيدات حيث مزج جزءان متساويان من المستخلص المائي المرشح للنبات مع كاشف فهلنك ثم ترك في حمام مائي مغلي لمدة 10 دقائق، استدل على إيجابية الاختبار بظهور راسب احمر ولزيادة تأكيد هذه النتيجة اتبعت طريقة [19] حيث اضيف 1 مل من كاشف بندكت الى 5 مل من المستخلص المرشح للنبات، عد الاختبار موجباً عند ظهور راسب احمر.

3- الكشف عن العفصياتTannins: اتبعت طريقة [15] حيث غلي 10 غم من مسحوق النبات الجاف مع 50 مل من الماء المقطر لمدة نصف ساعة، رشح المحلول وترك ليبرد ثم اضيف اليه قطرات من حلول خلات الرصاص 1%، عد الاختبار موجباً بظهور راسب ابيض هلامي القوام.

4- الكشف عن الصابونيناتSaponins: اتبعت طريقة [15] حيث رج 5 مل من المستخلص المائي لمسحوق النبات الجاف بشدة في انبوبة اختبار ثم تركت الانبوبة بوضع عمودي لمدة 15 دقيقة، استدل على إيجابية الاختبار بظهور رغوة كثيفة لمسافة 1 سم وللتأكد من نتيجة الفحص تم إضافة 1-3 مل من محلول كلوريد الزئبقيك 1% الى 5 مل المستخلص المائي لمسحوق النبات الجاف، استدل على إيجابية الاختبار بظهور راسب ابيض.

5- الكشف عن الراتنجاتResins: اتبعت طريقة [15] حيث اضيف 5 غم من مسحوق النبات الجاف الى 50 مل من الكحول الاثيلي 95% وبعد ان ترك في الحمام المائي المغلي لمدة دقيقتين رشح المحلول الناتج ثم اضيف اليه 10 مل من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك 10%، استدل على إيجابية الاختبار بظهور عكورة واضحة.

6- الكشف عن الكومارينCoumarin: اتبعت طريقة[20]للكشف عن الكومارين حيث وضع 10 مل من المستخلص الكحولي لمسحوق النبات في انبوبة اختبار، غطيت الانبوبة بورقة ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 1% ووضعت في حمام مائي مغلي لمدة 10 دقائق ثم عرضت ورقة الترشيح لمصدر الاشعة فوق البنفسجية (UV light)، يدل ظهور لون اصفر مخضر براق على وجود الكومارين.

7- الكشف عن الفلافونياتFlavonoids: اعتمدت طريقة [21] وذلك بتحضير محلول Aبإذابة 10 غم من مسحوق النبات الجاف في 5 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 95% ثم رشح المحلول. حضر محلول Bبإضافة 10 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 50% الى 10 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز 50% مزجت حجوم متساوية من كلا المحلولين (A وB). يدل ظهور اللون الأصفر على وجود الفلافونات.

8- الكشف عن الفينولاتPhenoles: اتبعت طريقة [16] للكشف عن الفينولات بإضافة 3 مل من المستخلص المائي الى 2 مل من محلول كلوريد الحديديك 1% وظهور اللون الأخضر المزرق يدل على إيجابية الاختبار.

***تحضير المستخلصات النباتية**

تم تحضير المستخلصات النباتية لاوراق نبات السينامكي المائية والكحولية وكما يلي:

1- مستخلص الماء البارد: اتبعت طريقة [22] حيث وزن 100 غم من المسحوق النباتي الجاف ووضع في دورق زجاجي، اضيف اليه لتر من الماء المقطر وترك الدورق في الحاضنة الهزازة بدرجة حرارة 37ºم ولمدة 24 ساعة بعدها رشح بشاش طبي، ثم رسب بواسطة جهاز النبذ المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 2500 دورة/ دقيقة.

2- مستخلص الماء الحار: اتبعت طريقة [23] حيث وزن 100 غم من المسحوق النباتي الجاف ووضع في دورق زجاجي، اضيف اليه لتر من الماء المقطر، وضع على المازج بدرجة حرارة 60ºم لمدة ساعة واحدة ثم رشح بعد ذلك بواسطة شاش طبي وتلاه ترشيح اخر بورق ترشيح (Whattman No.1).

3- مستخلص الكحول البارد: اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي البارد نفسه عدا استعمال الكحول الاثيلي بتركيز 80% بدلاً من الماء المقطر.

4- مستخلص الكحول الحار: اتبعت طريقة [24] حيث وزن 15 غم من مسحوق النبات الجاف ووضع في كشتبان(Thumble) في جهاز الاستخلاص المستمر (Sexhlet apparatus) واستعمل 200 مل من الكحول الاثيلي 80% استمرت عملية الاستخلاص 7 ساعات.

وبعد تحضير جميع المستخلصات المذكورة أعلاه وضعت في جهاز المبخر الدوار لحين الحصول على سائل كثيف، بخر السائل المتبقي بوضعه في اطباق زجاجية مفتوحة في الفرن بدرجة حرارة 37ºم لحين الجفاف التام، بعد ذلك حضر المحلول الأساس للمستخلص بتركيز 100 ملغم/ مل وذلك بإذابة 1 غم من المسحوق الجاف في 10 مل من ماء مقطر ثم عقم بجهاز Millipore filterبأستعمال أوراق ترشيح 0.45 مايكرون، وضعت المستخلصات المعقمة في قناني معقمة ثم استعملت بعد ذلك مباشرة.

تحضير مزروع الخميرة:

اتبعت طريقة [25] في تحضير مزروع الخميرة. حيث نقل جزء من مزروع الخميرة النامية على وسط السابروید الصلب بعد نموها لمدة 24 ساعة الى انبوبة اختبار حاوية على 10 مل من وسط السابروید السائل حضنت لمدة 16-18 ساعة وبدرجة حرارة 30ºم عملت تخافيف للمزروع وحددت الكثافة الضوئية للمزروع المخفف باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وعلى طول موجي قدره 420 نانوميتر.

اختبار حساسية عزلات لخميرة *C. albicans* اتجاه المضاد الحيويNystatin:

اتبعت طريقة [26] لهذا الاختبار حيث حضرت تراكيز متسلسلة ومتعددة لمضاد الخميرة الحيوي (Tween 80) وكالتالي (0.07، 0.15، 0.31، 0.62) و0.05%. اضيف 0.1 مل من مزروع خميرة *C. albicans*السائل الى كل تركيز ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة 30ºم ولمدة 16-19 ساعات، اخذ 0.1 مل من كل تركيز ووضع في طبق زجاجي معقم وصب فوقه

وسط اكار السابرويدالمعقم والمبرد لدرجة 40-45ºم ثم حركت الاطباق بصورة جيدة لمجانسة المزروع مع الوسط الغذائي وتركت لحين تصلب الوسط وحضنت بدرجة حرارة 30ºم لمدة 24-48 ساعات، ثم بعد ذلك حسب عدد المستعمرات النامية لكل تركيز ومقارنتها مع معاملة السيطرة الخالية من المضاد الحيوي.

***اختبار حساسية العزلات لخميرة *C. albicans* اتجاه مستخلصات أوراق نبات السينامكي*C. acutifolia*:**

بعد تحضير مستخلصات نبات السينامكي المائية والكحولية الحارة والباردة وتحضير مزروع خميرة *C. albicans*حسب التخافيف المطلوبة، تم اختبار تأثير المستخلصات المذكورة في عزلات الخميرة المدروسة حسب طريقة [27] حيث اخذت انابيب معقمة وحضرت سلسلة من التخافيف للمستخلصات النباتية بأستعمال وسط السابرويد السائل ثم اضيف 0.1 مل من مزروع الخميرة المحضر كعالق وبثلاث مكررات وكما يلي: المستخلصات المائية الباردة والحارة (10، 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80) ملغم/ مل فضلاً عن معاملة السيطرة. اما المستخلصات الكحولية الباردة والحارة (10، 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80) فضلاً عن معاملة السيطرة واضافة مادة Tween 80بنسبة 0.05% وحضنت الانابيب لمدة 16-19 ساعات، اخذ حجم 0.1 مل من كل تركيز ووضع في طبق زجاجي معقم وصب فوقه وسط اكار السابرويد المعقم والمبرد لدرجة حرارة 40-45ºم وحركت الاطباق بصورة جديدة لمجانسة المزروع مع الوسط الزرعي وحضنت بدرجة حرارة 30ºم ولمدة 24-48 ساعات. جرى حساب عدد المستعمرات النامية كل تركيز ومقارنتها مع معاملة السيطرة الخالية من أي مستخلص.

اختبار تأثير المستخلص الكحولي البارد في النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي لخميرة *C. albicans*:

تم اختبار تأثير المستخلص المذكور أعلاه في عزلات الخميرة المدروسة حسب طريقة [28] مع التحوير الذي تم بإضافة المستخلص. حيث حضرت انابيب اختبار معقمة اضيف في كل أنبوب 1 مل من بياض البيض، لقحت الانابيب بجزء من مستعمرة من عزلة المهبل للخميرة النامية على وسط السابرويد الصلب لمدة 24 ساعة بواسطة الناقل ثم اضيف اليها سلسلة من التخافيف للمستخلص الكحولي البارد لاوراق نبات *C. acutifolia* باستعمال وسط السابرويد السائل وبثلاث مكررات وكانت التراكيز كالتالي (10، 20، 30، 40، 50، 60، 70، 80) ملغم/ مل فضلاً عن معاملة السيطرة واضافة مادة Tween 80 بنسبة 0.05%. ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة 30ºم بعد ذلك جرى حساب عدد الخلايا المكونة للانبوب الجرثومي كل ساعتين من مدة الحضانة واستمر ذلك لمدة 6 ساعات وذلك بأخذ قطرة من كل تركيز على شريحة زجاجية وفحصت مجهرياً ومقارنة النتائج مع السيطرة.

التحليل الاحصائي

استعملت طريقة ANOVA للتحليل الاحصائي وعند مستويات احتمالية (0.001، 0.01، 0.05) وذلك لغرض تقويم الاختلافات في نتائج المعاملات من حيث كونها معنوية (بتأثير المادة) أو اختلافات غير معنوية (نتيجة الأخطاء المختبرية). وكذلك المقارنة بين نتائج تأثير استعمال المستخلصات النباتية المختلفة لاوراق نبات *C. acutifolia* في عزلات خميرة *C. albicans*.

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص خميرة المبيضات:

شخصت العزلات التي حصل عليها من أجزاء مختلفة من جسم الانسان (المهبل وبين الأصابع والاظافر والفم) على انها خميرة *C. albicans*، اختير 4 عزلات فضلاً عن العزلة القياسية التي حصل عليها من مختبر الاحياء المجهرية المتقدم/ كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم كما في جدول (1).

الصفات المظهرية وتكوين أنبوب الانبات:

شخصت خميرة *C. albicans*بعد صبغها بصبغة اللاكتوفينول الزرقاء وفحصها مجهرياً، ووجد انها تظهر على شكل خلايا بيضوية الى كروية الشكل. كما أظهرت قابلية على تكوين الابواغ الكلاميدية Chlamydospores ويوضح شكل (1) انها خلايا كبيرة الحجم كروية مثخنة الجدار على وسط اكار دقيق الذرة CAM بعد 4-6 أيام من الزرع وبدرجة حرارة 30ºم، فضلاً عن ذلك فقد أظهرت قابلية في تكوين أنبوب الانبات Germ tube عند زراعتها في بياض البيض Egg albumin وتعد الصفتان لاخيرتان من الصفات التشخيصية المهمة لخميرة *C. albicans*.

الفحوصات البايوكيميائية:

اختبرت قابلية الخلايا في تمثيل السكريات وذلك بزرعها على أوساط التمثيل كما موضح في جدول (2) حيث بين ان خميرة *C. albicans* تقوم بتمثيل جميع السكريات المذكورة ما عدا سكر اللاكتوز ولا تمتلك القابلية على تخمير سكر اللاكتوز كما موضح في جدول (3).

تتفق نتائج الفحص البايوكيميائية والصفات الشكلية وتكوين أنبوب الانبات لخميرة *C. albicans*المستحصل عليها في هذه الدراسة مع ما نشره [29، 30، 31، 32]. وقد بين [29] بأن خميرة *C. albicans* تتميز عن بقية أنواع الكانديدا الاخرى بكونها تمتلك القابلية في تكوين أنبوب الانبات فقط من الخلايا المتبرعمة المزروعة لمدة

24 ساعة بعد وضعها في بياض البيض لمدة 2-3 ساعة وبدرجة حرارة 30°م.

دراسة الصفات الشكلية للمستعمرات

درست الصفات الشكلية لمستعمرات *C. albicans* وذلك بزرعها على الأوساط زرعية وسط اكار دقيق الذرة CMA، (PDA) و(CzDA) ولمدة أربعة أيام. واظهرت النتائج المستحصلة في جدول (4) ان وسط السابروید هو الأفضل لنمو الشكل الخميري والخيطي وذلك لاحتوائه على مواد نتروجينية عضوية ومواد سكرية تشجع على نمو هذين الشكلين كما هو موضح في شكل (2) وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [30، 33] اللذين بينوا أهمية وسط السابروید لعزل وتشخيص ومعرفة الصفات الشكلية لمستعمرات *C. albicans* لكون pH الوسط منخفض والذي يمنع نمو البكتريا فضلاً عن احتواء الوسط على مواد نتروجينية عضوية مواد سكرية مهمة لنمو خميرة *C. albicans*. اما وسط اكار الدكستروز البطاطا والذي يحتوي على مواد نشوية وبنسب عالية فقد ابدى تحفيزاً للنمو الخيطي. بينما وسط اكار دقيق الذرة والذي يحوي على مواد نشوية وبنسب عالية ووسط اكار الزابكس دوكس والذي يحتوي على مواد نتروجينيةلاعضوية فضلاً عن نسبة عالية من سكر الكلوكوز فكان النمو فيهما اقل من الوسطين السابقين وتتفق هذه النتائج مع ما وجده كل من [34] و[35].

مزروع عزلات خميرة المبيضات:

أظهرت النتائج ان التخفيف الملائم لخميرة *C. albicans* لجميع العزلات تقريباً 10^4 خلية/ مل.

تقدير الرقم الهيدروجيني لاوراق نبات السينامیکي *C. acutifolia*:

بينت نتائج تقدير الرقم الهيدروجيني لمستخلص نبات السينامیکي ان قيمة pH لاوراق نبات السينامیکي 5.5 وتشير قيم الرقم الهيدروجيني لهذا المستخلص بإنه يقع ضمن القيم المتوسطة الحموضة، ويذكر ان قيمة pH تؤثر على طبيعة شحنة الحوامض الامينية المكونة للبروتينات وكذلك تؤثر على المواقع الفعالة لانزيمات الجدار مما يؤدي الى حدوث اختلال في فعالية الانزيمات ووظيفتها عند القيم العالية او الواطئة جداً للرقم الهيدروجيني وهذا ينعكس على الفعاليات الحيوية للفطريات لهذا السبب فإن pH يستعمل للسيطرة على معدل نمو الاحياء المجهرية فأغلب الفطريات تنمو جيداً عند pH يتراوح بين 3-6.5 [36].

الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق نبات السينامیکي *C. acutifolia*:

تعد المركبات الفعالة من النواتج الايضية الثانوية والتي لها أهمية دفاعية للنبات اتجاه الاحياء المجهرية والحشرات، كذلك يستفاد منها الانسان في مجالات متعددة كالغذاء والدواء وغيرها [37]. بينت نتائج الكشف عن بعض المركبات الفعالة (جدول 5) احتواء اوراق نبات السينامیکي على القلويداتوالكلايكوسيداتوالفلافوناتوالفينولاتوالراتنجاتوالكومارينات ولم يحتوي على العفصياتوالصابونينات وتتفق هذه النتيجة مع ما ذكره [38] الذي اكد احتواء اوراق نبات السينامیکيعلى الكلايكوسيدات وبنسبة عالية وكذلك أشار [1] الى ان أوراق السينامیکي تحتوي على اعلى محتوى من المواد الفعالة الكلايكوسيدية ولا سيما Dinathrone glycosides وتتراوح نسبتها 1.5-3% واكد كذلك [39] على احتواء أوراق نبات السينامیکي نسبة من الكلايكوسيداتوكذلك تتفق النتيجة المذكورة مع ما ذكره[40] من احتواء أوراق نبات السينامیکي على مركبات مثل 1, 7-dihydroxy-3-carboxyanhraquinone والذي يعد من مشتقات الانثراسين و8-O-β-D-glucopyranoside وهو من مشتقات النفثالينو kaempferol-3-O-gentiobioside وهو من المركبات الفلافونية عند استخلاصها مائياًوكحولياً.

حساسية عزلات خميرة *C. albicans* اتجاه المضاد الحيوي Nystatin:

لمقارنة حساسية عزلات الخميرة المختبرة اتجاه المستخلصات النباتية قيد الدراسة مع حساسيتها للمضاد الحيوي الـ Nystatin تم اجراء فحص حساسية عزلات *C. albicans* اتجاه المضاد الحيوي Nystatin. وقد وجد من نتائج الاختبار وتحت مستوى احتمالية (0.001، 0.01، 0.05) بان التركيز المثبط الأدنى MIC لجميع عزلات الخميرة 0.15 ملغم/ مل جدول (6) شكل (3) وعند مقارنة هذه النتائج مع نتائج عدد من الباحثين نرى بإن هناك اختلافات في تحديد MIC لهذا المضاد، إذ ان الاستخدام المتكرر والعشوائي لهذا المضاد أدى الى ظهور سلالات مقاومة من خميرة المبيضات [42] وكما هو معروف فإن النستاتين مضاد يعود الى مجموعة البولينات ويتحد مع مكونات الستيرولات في غشاء الخلية مسبباً نضوح المكونات الخلوية المهمة وموت الخلية [42].

لقد بين [43] بإن تثبيط نمو الخميرة يكون عند تراكيز بين 0.4-10 ميكروغرام/ مل، كما لاحظ ان قيمة MIC تختلف بإختلاف تركيب الوسط ودرجة حرارة الحضن وفترة الحضن حيث تزداد بزيادة مدة الحضن. ولاحظت [35] في دراسة لها ان قيمة MIC لمضاد النستاتين بلغ 0.45 ملغم/ مل. واكد [44] ان النستاتين له مدى واسع ضد المبيضات وان فعاليته والمدة

التي يحتاجها لقتل الخمائر يعتمدان على تركيزه اما [45] فقد وجد MICللنستاتين يتراوح بين 1-2 ميكروغرام اما [46] فقد وجد ان MICللنستاتين كان 2 مايكروغرام/ مل وان النستاتين اظهر انخفاض طفيف في عدد الخلايا الحية خلال 30 دقيقة.

ان حساسية الفطريات للمضادات الفطرية متباينة وصعبة التقدير ومتأثرة بعدة عوامل مثل حجم ونوع اللقاح الفطري ودرجة الحرارة ومدة الحضن وتركيب الوسط الزرعي [47]. وكذلك فأن الفطريات كائنات حقيقية النواة مشابهة لمضايفها (الانسان والحيوان) في التركيب والايض لهذا السبب فأن المضادات الفطرية المتوفرة حالياً لعلاج الإصابات الفطرية تعمل على التخلص من الفطر الممرض وفي الوقت نفسه تؤثر على نسيج المضيف [48].

***حساسية عزلات خميرة *C. albicans* اتجاه مستخلصات نبات السينامكي *C. acutifolia*:**

كانت نتائج MIC للمستخلصات المائية والكحولية الباردة منها والحارة لاوراق نبات *C. acutifolia* لعزلة المهبل (50، 70، 30 و70) ملغم/ مل ولعزلة بين الأصابع (50، 70، 60 و70) ملغم/ مل وعزلة الاظافر (50، 70، 60 و70) ملغم/ مل والعزلة القياسية (60، 60، 40 و50) ملغم/ مل وعزلة الفم (60، 60، 50 و70) ملغم/ مل. ويلاحظ من جدول (7) بأن المستخلص الكحولي البارد لاوراق نبات السينامكي هو الأكثر فعالية في تأثيره على العزلات المدروسة شكل (4) وقد يعود لاحتوائه على القلويدات ومن المعروف ان الكحول الاثيلييذيب الزيوت العطرية والقلويدات [49]. وهذا يتفق مع دراسة [26] حيث أوضح ان للقلويدات فعالية تثبيطية تجاه خميرة *C. albicans* من خلال تثبيط بناء الكايتينوالستيرول المهمان في بناء جدار الخلية الفطرية عن طريق تثبيطها للانزيمات المهمة في بنائها ومنهم انزيم SterolΔ^{24}- methyl transferase (24-SMT).

اما عزلة الاظافر أظهرت تأثراً بالمستخلص المائي البارد اكثر من بقية المستخلصات لاوراق نبات السينامكين وتشير دراسة [37] الى ان المستخلص المائي يحوي مركبات فعالة مثل الكلايكوسيداتوالتربيناتواللاكتينات وسكريات متعددة وببتيدات متعددة تعود اليها الفعالة التثبيطية تجاه الاحياء المجهرية وهذا ما أشار اليه [6] من ان مركبات الـ Anthraquinone وكذلك كلايكوسيداتها مثل Sennosides والموجودة في نبات السينامكيتظهر تغيرات واضحة في الخلايا وهذه المركبات موجودة في كل أجزاء النبات ومنها الأوراق مما يعزز خواصه الطبية.

تاثير المستخلص الكحولي البارد لاوراق نبات السينامكي *C. acutifolia* في النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي لخميرة *C. albicans*:

من خلال نتائج تأتي المستخلص الكحولي البارد لاوراق نبات السينامكي *C. acutifolia* في النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي لعزلة المهبل للخميرة *C. albicans* شكل (5) تبين ان هناك انخفاضاً ملحوظاً في نسبة عدد الخلايا المكونة للانبوب الجرثومي الذي يعد مهماً للامراضية بزيادة تركيز المستخلص.

وعند مقارنة نتائج التراكيز المختلفة للمستخلص مع السيطرة بعد مرور ساعتين من فترة الحضن نلاحظ انه عند التركيز 10 ملغم/ مل كانت الفروق غير معنوية. اما عند التركيز 20 ملغم/ مل فكانت الفروق معنوية وبمستوى احتمالية 0.05. اما بقية التراكيز عند مقارنتها مع السيطرة كانت الفروق معنوية وبمستوى احتمالية 0.001 وبعد مرور 6 ساعات من الحضن تبين من خلال نتائج التحليل الاحصائي بإن كافة التراكيز 10-80 ملغم/ مل عند مقارنتها مع السيطرة كانت الفروق معنوية وبمستوى احتمالية 0.001.

المراجع

1- الشحات، نصر أبو زيد (1986). النباتات والاعشاب الطبية. الطبعة الأولى، دار البحار، بيروت: 496 صفحة.

2- Roberts, S. O. B. andMaCkenzie, D. W. R. (1986). Mycology. In: Rook, A. J.; Wilknson, D. S.; Ebling, F. J.; Chapion, R. H.; Burton, J. L.; Text book of dermatology. Vol. 2 4th ed. Black Well Scientific Publication, London: 585-596.

3- Kauffman, C. A. andHedderwick, S. (1997). Opportunistic fungal infection: Filamentous andCryptococcosis. Geriatrics, 52(10): 40-49.

4- Vasquez, J. A. and Sobel, J. D. (1995). Fungal infection in diabetes infection disease clinical of North America. 9(1): 97-116.

5- Brookes, G. F.; Bulet J. S. and Morse, S. A. (1998). In: Jawertz, E.;Melnick, J. L. andAdelbery, E. A. (Eds.). Medical Microbiology. 21th ed. Appettonand Lange.

6- Dave, H. andLedwani,L. (2012). A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications. Ind. J. Nat. Prod. and Res., 3(3): 291-319.

7- Jothy, S. L.; Torey, A.; Darah, I.; Choong, Y. S.; Saravanan, D.; Chen, Y.; Latha, L. Y.; Deivanai, S. andSasidharan, S. (2012). *Cassia spectabilis*(DC) Irwin et Barn: A promising traditional herb in health improvement. Molecules, 17: 10292-10305; doi: 10.3390/molecules170910292

8- Kaur, I; Ahmad, S. andHarikumar, S. L. (2014).Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacology of *Cassia occidentalis*Linn.Internat. J. Pharmacogn. andPhytochem. Res.; 6(2); 151-155

9- Akomolafe, R. O.; Adeoshun, I. O.; Elujoba, A. A.; Iwalewa, E. O. andAyoka, A. O. (2003). Effects of *Cassia sieberiena*leaf extracts on the intestinal motility of rat. Afric. J. Biomed. Res., 6:141 – 145.

10- Willmott, F. E. (1975). Genital yeasts in female patients attending a venereal disease clinic. Br. J. Ven. Dis., 51(119): 119-122.

11- Al- Hamadani, A. H. A. (1997). Enzymic activity, purification of keratinase and proteinase and their roles in the pathogenicity and immunogenicity of clinical isolates of dermatophytes and yeasts. Ph.D. thesis, College of Education, Univ. Basrah.

12- Rose, A. H. and Harrison, J. S. (1969). The yeast: Biology of yeast Vol. 1. Academic Press, London.

13- Refai, M.;Gobba, A. H. and Rieh, H. (1969). Monograph on yeast diagnosis, disease and treatment. Egypt. Vet. Med. J. XVI: 255-316.

14- Lodder, J. (1974). The Yeast: A toxonomic study. 2nded. Revised and Enlarged Edition. Amsterdam.

15- Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallisarvensis*. M.D. Vet., Thesis, Cairo University.

16- Harborne, J. B. (1973). Phytochemical methods. C.xand Wyman Ltd., Norfolk: 278 pp.

17- Baum, S. J. andScaife, C. W. (1980). Chemistry a life science approach, 2nd. Macmillan publishing Co., Inc., New York: 828 pp.

18- Greenwood, N. N. andEarnshaw, A. (1997). Chemistry of the elements, 2nd. Butter Worth-Heneman Oxford: 1341 pp.

19- Henrickson, C. H.; Byrd, L. C. and Hunter N. W. (1997). A laboratory for general organic and biochemistery, 2nded, WCB/ McGraw-Hill, Boston: 407 pp.

20- Bowen, I. H. and Perea, K. P. W. (1982). Alkaloids, coumarins and flavonoids of *Micromelumzeylanicum*. Phytochemistry, 21(2): 433-437.

21- Jaffer, H. J.; Mahmoud, M. J.; Jawad, A. M.; Naji, A. and Al-Naib, A. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plants. Fitoterrapia, LTX: 299 pp.

22- Schimizu, Y. (1998). Purification of water-soluble products In: Methods in Biotechnology, Vol. 4. Natural products isolation. Ed. R. G. P. Cannell, Human Press, Totowa, N. J.

23- Sato, J.; Goto, K.; Nanjo, F.; Kowai, S. and Murata, K. (2000). Antifungal activity of plant extracts against *Arthiniumsacchari* and *Chaetomiumfunicola*. J. Biosci. Bioeng., 90(4): 442-446.

24- Deshmukh, S. D. and Borle, M. N. (1975). Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products Indiah. J. Ent., 37(1): 11-18.

25- Mann, C. M. and Markham, J. L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. J. Appl. Microbial., 84: 538-544.

26- Atlas, R. M.; Brown, A. E. and Parks, L. C. (1995). Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year book, Inc., St. Louis: 563 pp.

27- Kang, S. P.; Kab, C. K.; Jai, H. K.; Adams, D. J.; Johng, T. N. and Yong, K. P. (1999). Differential inhibitory effects of protoberberiens on sterol and chitin biosynthesis in *Candia albicans*. J. Antimicrob. Chemother., 43: 667-674.

28- Taschdjian, C. L.;Burchall, J. J. and Kozinn, P. J. (1960). Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation of serum substitutes. Am. Med. J. Dis. Child., 99: 212-215.

29- Baron, E. J.; chang, R. S.; Howard, D. H.; Miller, J. N. and Tuner, J. A. (1994). Medical microbiology a short course. 4th ed. Printed in USA.

30- Jawetz, E.;Melnick, J. L. andAdelberg, E. A. (1995). Medical microbiology. 20th ed. Hall international (UK), London.

31- Collee, J. G.; Marmion, B. P.; Fraser, A. G. and Simmons, A. (1996). Partical medical microbiology. 14th ed. Printed in Sangapore: 978 pp.

32- Murray, P. R.; Baron, T. J.; Pfaller, M. A.; Fred, C. T. andYolken, R. H. (2000). Manual of clinical microbiology. 7th ed. Printed in USA.

33- Talaro, K. andTalaro, A. (1996). Foundations in microbiology basic princeples. 2nd ed. Printed in USA.

34- الثويني، آمنة نعمة (1987). التأثيرات المرضية والاستجابة المناعية لمبيضات *Candida albicans* و *Candida krusei* في الفئران. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد: 120 صفحة.

35- حوار، سمية نعيمة (2002). تأثير ليزر القدرة الواطئة (الهليوم- نيون) على حيوية خلايا خميرة المبيضات *Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية. رسالة ماجستير، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد: 93 صفحة.

36- Atlas, R. M. (1995). Principles of microbiology. Mosby-Year book, Inc., St. Louis: 888 pp.

37- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbial. Rev., 12(4): 564-582.

38- Franz, G. (1993). The senna drugs and its chemistry. Pharmacology, 47(1): 2-6.

39- El-hassan, A. M.; Shayoub, M. E.; Abdalkreem, M.; A.; Osman H. M. and Kamal, K. (2012). Design, Formulation, and evaluation of *Senna* effervescent tablets. J. Forest Prod. andIndustr., 1(2): 21-25

40- Kurkin, V. A. andShmygareva, A. A. (2014). The development of new approaches to standardization of *Cassiaacutifolia*leaves. J. Pharmacogn. And Phytochem., 3(3): 163-167.

41- Mizutani, S.; Endo, M.; Ino-Ue, T.; Kurasawa, M.; Uno, Y.; Saito, H. and Kato, J. (2000). $CD^{+}4$ T-cell mediated resistance to systemic murine candidiasis induced by membrane fraction of *Candida albicans*. Antimicrobial agents Chemother., 44(10): 2653-2658.

42- Ingroff, A. E.; White, T. andPfaller, M. A. (1999). Antifungal agents and susceptibility tests. In: Murry, P. R.; Baron, E. J. Pfaller, M. A.; Tenover, F. C. andYolken, R. H. Eds.). Manual of clinical microbiology. Washington: 919-1773.

43- Odds, F. C. (1988). *Candida* and candidiasis. 2nd ed. Bailliere Tindall, Philadelphia.

44- Gunderson, S. M.; Hoffman, H.; Ernst, E. J.; Pfaller, M. A. andKlepser, M. E. (2000). *In vitro* pharmacodynamics characteristics of nystatin including time kill andpost antifungal effect. Antimicrob. Agents Chemother., 44(10): 2887-2890.

45- Arikan, S.; Dstrosky-Zeichner, L.; Losano-chui, M.; Peatznich, V.; Gordon, D. and Rex, J. H. (2002). *In vitro* activity nystatin compared with those of liposomal nystatin, amphotericin B and fluconazole against clinical *Candida* isolates. J. Clin. Microbiol., 40(4): 1406-1412.

46-Kaomongkolgit, R.;Jamdee, K.andChaisomboon, N. (2009). Antifungal activity of alpha-mangostin against *Candida albicans*. J. Oral Sci., 51(3): 401-406.

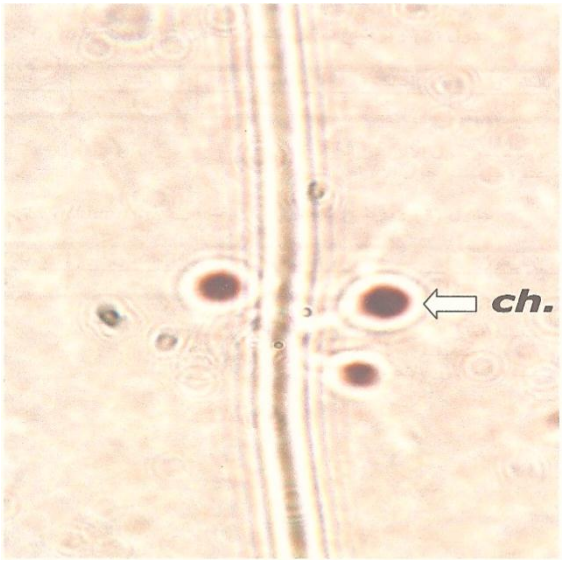
47- Kobayashi, G. S. andMedoff, G. (1983). Measurment of activity of antifungal drugs. In: Dexter, H. Howard. Fungi pathogenic for human and animal vol. 3 part B (1): Pathogenecityand Detection. Marcell. INC. New York. Basel.: 357-372.

48- McGinnis, M. R. (1980). Laboratory hand book of medical mycology. New York. Academic Press: 661 pp.

49- قطب، فوزي طه (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر، الرياض، السعودية.

جدول (1): نوع ومصدر وعدد عزلات *C. albicans* المعزولة من مناطق مختلفة من جسم الانسان.

عدد العزلات	نوع العزلة	المصدر
8	عزلة المهبل Vagina	مستشفى اليرموك التعليمي
5	عزلة بين الاصابع Intertriginous	مستشفى اليرموك التعليمي
5	عزلة الاظافر Nail	مستشفى اليرموك التعليمي
7	عزلة الفم mouth	مستشفى اليرموك التعليمي
1	العزلة القياسية Human Hair (ATCC102301)	مختبر الاحياء المجهرية المتقدم / كلية التربية (ابن الهيثم)



شكل (1): يوضح تركيب الابواغ الكلاميدية من قبل خميرة *C. albicans* النامية على وسط CMAولمدة (24-48) ساعة وبدرجة حرارة 30°م (x100) Ch: Chlamydospores.

جدول (2) : يوضح تمثيل السكريات من قبل *C. albicans*

الكلوكوز	الكالكتوز	السكروز	المالتوز	اللاكتوز
+	+	+	+	-

+ وجود نمو حول الاقراص الورقية.
- عدم وجود نمو حول الاقراص الورقية .

جدول (3) : يوضح تخمير السكريات من قبل *C. albicans*

الكلوكوز	الكالكتوز	السكروز	المالتوز	اللاكتوز
+	(+)	(+)	+	-

+ موجب (تغير اللون من الاحمر الى الاصفر) .
(+) موجب ضعيف .
- سالب (بقاء اللون الاحمر) .

جدول (4): يوضح نمو خميرة *C. albicans* على الاوساط الزرعية المختلفة.

الوسط الزرعي	النمو الخميري	النمو الخيطي	لون المستعمرة
وسط اكار دكستروز السابرويد (SDA)	+++	+++	ابيض
وسط اكار دكستروز البطاطا (PDA)	++	+++	ابيض
وسط اكار دقيق الذرة (CMA)	+	++	كريمي
وسط اكار الزابكس دوكس (CzDA)	+	++	شفافة

+++ جيد جدا، ++ جيد، + ضعيف

(B) (A)

شكل (2): يوضح النمو الخيطي والخميري لخميرة *C. albicans* النامية على وسط SDA حيث A نمو خيطي، B نمو خميري.

جدول (5): الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق نبات السينامكي *C. acutifolia*.

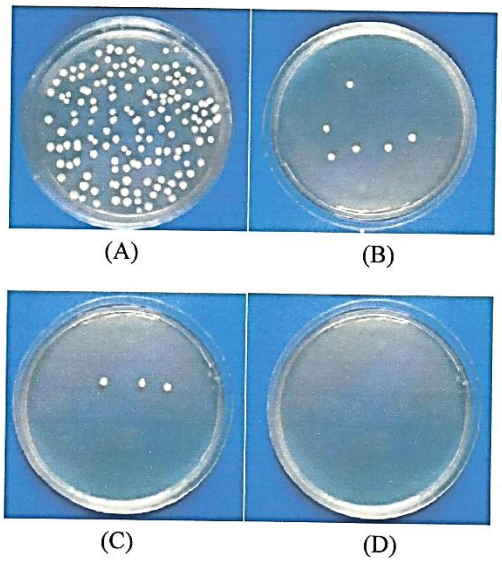
ت	المركبات الفعالة	أوراق السينامكي
1	القلويدات	
	A- كاشف دراجندروف	+
	B- حامض البكريك	+
2	الكلايكوسيدات	
	A- كاشف فهلنك	+
	B- كاشف بندكت	+
3	العفصيات	−
4	الفلافونات	+
5	الصابونينات	
	A- طريقة الرج	−
	B- كلوريد الزئبقيك	−
6	الراتنجات	+
7	الكومارينات	+
8	الفينولات	+

تمثل النتائج معدل ثلاث مكررات

جدول (6) : تأثير تراكيز مختلفة من المضاد الحيوي الـ Nystatin تجاه عزلات خميرة الـ *C. albicans*

التركيز للمضاد (ملغم/مل) / عزلات الخميرة		Control	0.07	0.15	0.31	0.62	1.25	2.5	5
عزلة المهبل	CFU*	169±3.46	5±1.15	3±0.58	0	0	0	0	0
عزلة بين الاصابع		140±0.58	7±1.15	4±0.58	0	0	0	0	0
عزلة الاظافر		163±2.08	9±1.00	5±1.00	0	0	0	0	0
العزلة القياسية		157±1.53	11±1.00	6±1.53	0	0	0	0	0
عزلة الفم		161±0.58	10±0.58	6±1.00	0	0	0	0	0

* المعدل±الخطأ القياسي
ملاحظة : جميع النتائج معنوية (أ< 0.001)



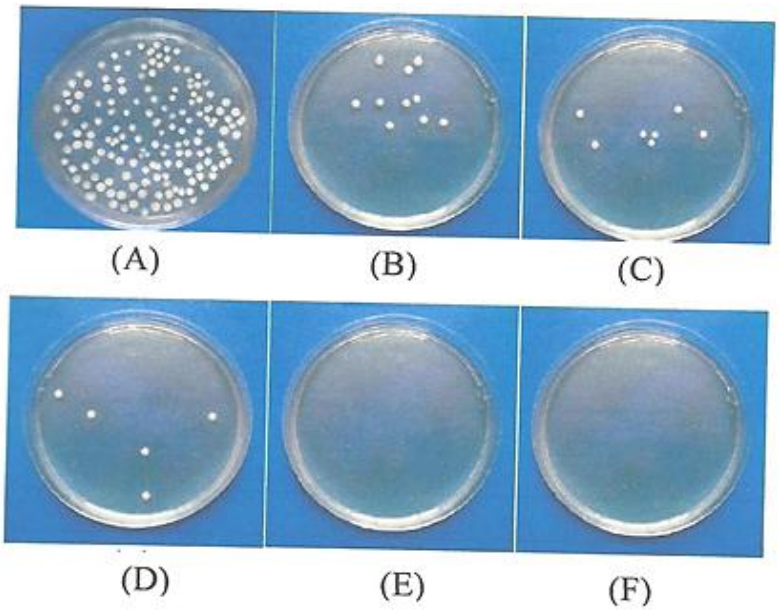
شكل (3): يوضح حساسية خلايا خميرة *C. albicans* لعزلة المهبل اتجاه المضاد الحيوي النستاتين Nystatin. حيث ان A السيطرة، B تركيز 0.07 mg/ml، C تركيز 0.15 mg/ml، D تركيز 0.31 mg/ ml.

جدول ( ) 7تأثير التراكيز المختلفة من المستخلصات المائية الباردة والحارة والكحولية الباردة والحارة لاوراق نبات السينامكي *Cassia acutifolia* تجاه عزلات الـ *C. albicans*

التركيز ملغم/ مل / الخميرة والمستخلص		Control	10	20	30	40	50	60	70	80
عزلة المهبل										
A- ماء بارد	CFU*	179±0.58	20±0.58	15±0.58	11±0.58	6±0.58	2±0.58	0	0	0
B- ماء حار		179±0.58	38±0.58	29±0.58	17±0.58	13±0.58	10±0.58	5±0.58	2±0.58	0
C- كحول بارد		179±0.58	14±1.15	6±0.58	3±0.58	0	0	0	0	0
D- كحول حار		179±0.58	66±1.15	54±0.58	43±0.58	22±0.58	12±0.58	7±0.58	2±0.58	0
عزلة بين الاصابع										
A- ماء بارد		155±0.58	21±0.58	17±0.58	12±0.58	7±0.58	2±1.15	0	0	0
B- ماء حار		155±0.58	37±0.58	20±0.58	19±0.58	14±0.58	7±0.58	3±0.58	0	0
C- كحول بارد		155±0.58	10±0.58	7±0.58	5±0.58	0	0	0	0	0
D- كحول حار		155±0.58	55±0.58	43±0.58	35±0.58	27±0.58	15±0.58	6±0.58	1. ±0.67	0
عزلة الاظافر										
A- ماء بارد		176±0.58	37±0.58	30±0.58	22±0.58	12±0.58	5±0.58	0	0	0
B- ماء حار		176±0.58	48±0.58	40±0.58	33±0.58	27±0.58	16±0.58	7±0.58	3±0.58	0
C- كحول بارد		176±0.58	30±0.58	25±0.58	20±0.58	14±0.58	7±0.58	3±0.58	0	0
D- كحول حار		176±0.58	56±0.58	45±0.58	37±0.58	21±0.58	14±0.58	5±0.58	2±0.58	0
العزلة القياسية										
A- ماء بارد		163±0.58	50±0.58	41±0.58	22±0.58	11±0.58	5±0.58	2±0.58	0	0
B- ماء حار		163±0.58	35±0.58	30±0.58	22±0.58	7±3.06	5±0.58	2±0.00	0	0
C- كحول بارد		163±0.58	11±0.58	9±0.58	5±0.58	3±0.58	0	0	0	0
D- كحول حار		163±0.58	32±0.58	27±0.58	18±0.58	10±0.58	4±0.00	0	0	0
عزلة الفم										
A- ماء بارد		165±0.58	39±0.58	32±0.58	25±0.58	17±0.58	7±0.58	3±0.58	0	0
B- ماء حار		165±0.58	45±0.58	38±0.58	30±0.58	19±0.58	10±0.58	5±0.58	0	0
C- كحول بارد		165±0.58	28±0.58	20±0.58	11±0.58	6±1.15	3±0.58	0	0	0
D- كحول حار		165±0.58	60±0.58	48±0.58	40±0.58	23±0.58	18±0.58	7±0.58	3±0.58	0

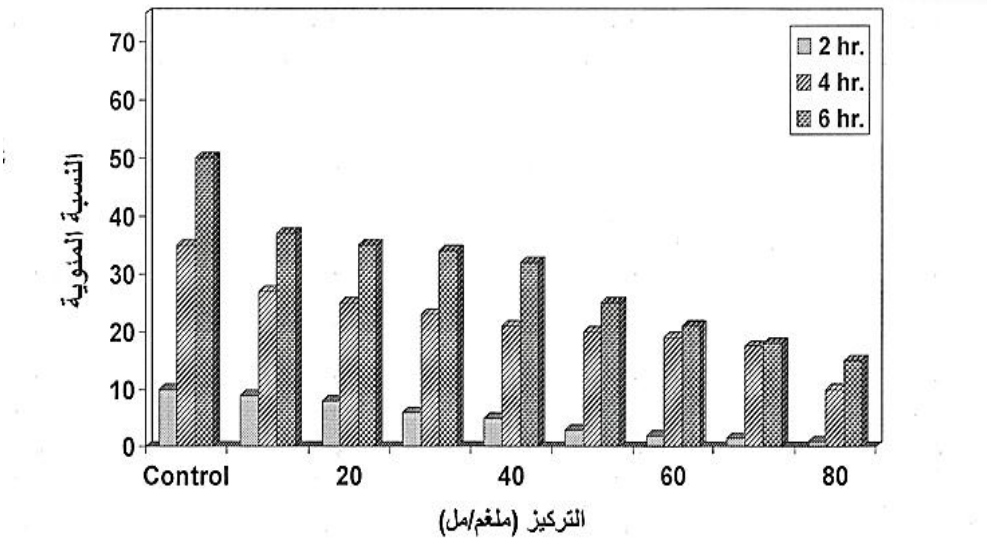
* المعدل±الخطأ القياسي

ملاحظة : جميع النتائج معنوية (أ< 0.001)



شكل ( ) يوضح تأثير المستخلص الكحولي البارد لاوراق السينامكي تجاه خلايا خميرة *C.albicans* لعزلة بين الاصابع .

(A)السيطرة Control، (B) تركيز 10 mg/ml، (C) تركيز 20 mg/ml،(D) تركيز 30 mg/ml،(E) تركيز 40 mg/ml،(F) تركيز 50 mg/ml.



شكل ( ) : يبين تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي البارد لأوراق نبات السينامكي في النسبة المئوية لتكوين الانبوب الجرثومي لعزلة المهبل من خميرة *C. albicans* .