عزل فطر *Candida albicans* من بعض المرضى المترددين على مستشفى الجلاء طرابلس " قسم الولادة " واختبار مدى تأثير بعض المستخلصات النباتية في الحد من نمو هذا الفطر .

أ . حنان عبد الرزاق لملوم ، مروة الطاهر الكماشي ، رحاب محمد الكايخ
ـ كلية التربية فرع قصر بن غشير ـ جامعة طرابلس

الملخص بالعربي :

خلال الدراسة تم عزل فطر *Candida albicans* من بعض المرضى المترددين على قسم الولادة بمستشفى الجلاء طرابلس واستخدمت عدة طرق للتأكد من كينونة هذا الفطر منها ظاهريا عن طريق فحص الشكل الظاهري ومعمليا عن طريق الفحص المجهرى الدقيق ومقارنة العزلات المتحصل عليها مع العزلات المعروفة والمعتمدة في المراكز البحثية في طرابلس أخذت عينات الدراسة من المرضى خلال فترات زمنية محددة خلال الأشهر : ابريل ، مايو ويونيو لعام 2013 بمعدل أربع زيارات للمستشفى في كل شهر بشكل غير منتظم وكانت الفترة الزمنية بين كل زيارة وأخرى تتراوح بين 5-7 أيام هذا وقد تم اختبار الفاعلية التضادية لمستخلصات نباتات كل من النعناع *Mentha sp* والحبق *Ocimum sp* على نمو فطر الكنديديا عن طريق وضع عدد من الأقراص المشبعة بالمستخلصات في كل طبق يحتوي على الفطر وتمت مراقبة الأطباق بشكل يومي حيث أظهرت النتائج أن الفطر توقف عن النمو بالكامل بعد 10 أيام ، وأثناء مراقبة الأطباق تبين أنه لا توجد مسافة واضحة بين الفطر والقرص أي بمعنى أننا لم نلاحظ تثبيط بشكل كبير للمستخلصات النباتية على الفطر بالرغم من أن الفطر لم يستطع الاستمرار في النمو تجاه القرص .

المقدمة :

الأمراض الفطرية هي أمراض تسببها عادة كائنات حية دقيقة جداً تسمى بالفطريات ، ومن شأنها غزو أماكن مختلفة من جسم الإنسان كالرئتين والجلد وكذلك أجزاء أخرى من الجسم كالفم والمناطق التناسلية وغيرها. والفطريات عادة تتواجد في الهواء والماء والتربة ولكن أنواعا منها وليست كلها هي التي تسبب أمراضا للإنسان ،

بالرغم من أن أغلب الناس لا يتأثرون بالفطريات ولو تأثروا بها فإن هذا التأثير يكون مؤقتاً ، حيث إن جسم الإنسان له القدرة على مقاومتها والتغلب عليها ، وخصوصا الأشخاص الذين لديهم مناعة عالية . بعض الفطريات المسببة للأمراض الفطرية حرة المعيشة ، وتسبب المرض للإنسان عن طريق الاستنشاق أو دخول أبواغها للجسم عن طريق الجروح أو الخدوش ، وبعضها يعدّ جزءاً من Normal flora لجسم الإنسان مثل الخميرة والمبيضات كالكنديديا (*Candida*) وغيرها وهي غير مؤذية ولا ضرر منها ما لم يكن الجسم ضعيفاً مناعياً . **(1)**

لقد بدأت أمراض الفطريات تزداد انتشاراً في الآونة الأخيرة ، وتظهر بأعراض مختلفة . وتكمن صعوبة الإصابة بها حيث إنها تنمو وتتكاثر ببطء وتشخيصها ليس بالعمل السهل ، وإن أغلبها لا يستجيب للعلاج إلا أنها من النادر أن تؤدي إلى الوفاة إلا في حالة الأشخاص ناقصي المناعة والمصابين ببعض الأمراض المزمنة كالإيدز وغيرها .(2)

يعتقد كثير من الناس أن الأمراض الفطرية أو العدوى الفطرية تقتصر على العدوى الموضعية كما هو الحال في مرض القوباء الجلدي أو إصابات أقدام الرياضيين (Athletes foot) ، ولكن خلال البحث والدراسات وجد أن هناك أنواعا من الفطريات تغزو جسم الإنسان ولا تكون لها آثار ظاهرية مشهورة ، وهذا النوع من الفطريات يدخل إلى الجسم عن طريق الاستنشاق ، حيث تدخل أعداد كثيرة من أبواغ الفطر إلى جسم الإنسان ، وهي صغيرة جداً لا ترى بالعين المجردة ويحملها الهواء من مكان إلى آخر وقد تحملها الرياح مئات الكيلومترات، وإذا استنشق الإنسان كمية كافية من هذه الأبواغ (spores) ولم تتمكن المسالك التنفسية من طردها فإنها تؤدي إلى إصابة الرئتين بأمراض الفطريات الحادة ، وفي كثير من الحالات تسبب هذه الأنواع الفطرية خراجات ، وفي حالات نادرة وعند تقدم المرض فقد يسبب الفطر خراجات في العظام وبعض أعضاء الجهاز الهضمي مثل الكبد أو الزائدة الدودية وغيرهما من الأعضاء . (3)

الفطر المهبلي، والمعروف – أيضا- باسم "المبيضة في المهبل" (Vagainal candida) أو "داء المبيضات" (Candidiasis) إحدى الظواهر الشائعة لدى النساء وقد يصيب الرجال – أيضا- عن طريق العدوى ، وفي غالبية الحالات تكون سهلة العلاج . المبيضة ( ) هي جنس من الفطريات ، وهي تتواجد بشكل عام "

طبيعي " بكميات صغيرة في المهبل (Vagina)، في الفم وفي الجهاز الهضمي . عندما تزداد الفطريات في المهبل أكثر من الوضع الطبيعي، ينشا التلوث الفطري (Fungal infection) أو المرض . نتيجة لذلك، تظهر أعراض غير مرغوب فيها، مثل الحكة في المهبل، الشعور بحرقة وإفرازات. مرض السكري غير المضبوط وتناول المضادات الحيوية (Antibiotics)، من شأنها أن تسبب التهابات فطرية في المهبل بشكل مرتفع جدا. النساء اللواتي يستعملن العلاج الهرموني لمنع الحمل ، حبوب منع الحمل، لاصقات منع الحمل أو الحلقة المهبلية (Vaginal ring) هن أكثر عرضة للإصابة بالتلوث الفطري المهبلي . هناك أنواع عديدة من المضادات الحيوية والتي تستخدم لمعالجة الإصابات الفطرية وهي متفاوتة في التأثير والانتقائية للإصابات التي يراد معالجتها **(4)**.وبالإمكان عد المضاد الحيوي كفوا إذا كانت تأثيراته الجانبية قليلة أو شبه معدومة وذا طيف تأثيري واسع وقابلية عالية على اختراق الأنسجة ، وتعد قضية علاج الإصابات الفطرية من المشاكل المهمة في الوقت الحاضر كون الفطريات كائناتً حقيقية النواة وذات تركيب وعمليات أيضية مشابهة لمضيفيها من حقيقيات النواة (ومنها الإنسان) ، وبذلك فهي فضلاً عن قدرتها على تحطيم الفطريات الممرضة للإنسان إلا أنها بالوقت نفسه قادرة على تحطيم أنسجة المضيف العائل وبكل سهولة.**(5)**

تعاني ما بين 5 - 8% من النساء من ظهور داء المبيضات في المهبل (الفطريات المهبلية - Candidiasis vulvovaginal). تتمثل هذه الظاهرة بظهور أعراض مشابهة لأعراض التلوث الفطري العام في المهبل " أي بأكثر من جنس من الفطريات وليس بالكنديديا بالتحديد "، أربع مرات أو أكثر خلال فترة 12 شهرا. بالرغم من أن ظهور الفطر المهبلي هو أكثر انتشارا بين النساء المصابات بمرض السكري ولدى النساء اللواتي تعانين من مشاكل في الجهاز المناعي (Immune system)، إلا أن غالبية النساء المصابات بالفطر المهبلي لا يعانين من مرض محدد من شأنه أن يسبب تلوثا فطريا متكررا في المهبل. ثمة أمراض يتم تشخيصها خطأ، على أنها مرض الفطر المهبلي، وهي: البكتيريا المهبلية (Bacterial vaginosis) والتهاب المهبل بالمشعرات (Trichomoniasis) . استنادا إلى حقيقة أن أعراض الأمراض المعدية هذه مشابهة لأعراض الفطر المهبلي (لكن مضاعفاتها أشد) فمن المهم التوجه إلى الطبيب من أجل إجراء فحص يتم خلاله تقييم وتشخيص أية علامات وأعراض في المهبل . الفطر المهبلي قد يسبب الأعراض التالية: الوجع و/أو الحكة في المهبل،

إفرازات لزجة بيضاء اللون من المهبل تنبعث منها أحيانا رائحة الخميرة (yeast). وقد اتضح أن الرائحة النتنة هي علامة على وجود البكتيريا المهبلية وليس على وجود فطر مهبلي . ولهذا في بعض الأحيان يحدث لبس في التشخيص بين الفطريات كمسببة للمرض وبين البكتيريا . يساعد الفحص المجهري أحيانا، في نفي وجود مسببات أخرى للإفراز، مثل البكتيريا المهبلية أو التهاب المهبل بالمشعرات، والتي تتطلب علاجا مختلفا . للوقاية ومنع ظهور الفطر المهبلي، يتم استخدام الأدوية المضادة للفطريات (Antifungal drugs). هنالك العديد من هذه الأدوية، والتي في بعض الأحيان لا تتطلب وصفة طبية ولكن في أغلب الأحيان ضروري من استشارة الطبيب المختص قبل أخد أي نوع من الدواء . بالإضافة إلى ذلك، هنالك أدوية يتم تناولها لمدة يوم واحد، ثلاثة أيام أو سبعة أيام .مثل بوتوكونازول (Butoconazole) ، تيركونازول (Terconazole) ، تياكونازول (Tioconazole) و مايكونازول (Miconazole) .

نظرا للإصابات المتكررة بالفطريات وغيرها من الكائنات المجهرية نلاحظ أنه في السنوات الأخيرة ازداد الاهتمام بالنباتات والأعشاب الطبية باستخدامها كمصادر رئيسية لإنتاج العقاقير الطبية أو كمصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تركيب الدواء ، كما تستعمل كمادة خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية . وقد بينت الكثير من الدراسات أن المستخلصات النباتية لها تأثير فعال في علاج العديد من الإصابات الميكروبية المختلفة ، من بينها إصابات الفطريات كالكنديديا وغيرها وقد أعطت نتائج جيدة . ( )

ومن هنا تهدف هذه الدراسة إلى الآتي :

1- عزل وتعريف فطر *Candida albicans* في مزارع نقية من بعض المرضى المترددين على مستشفى الجلاء .
2- معرفة تأثير بعض المستخلصات النباتية المحضرة في المعمل مثل النعناع والحبق على نمو الفطريات.
3- معرفة الفاعلية التضادية لمستخلصات نباتات كل من النعناع والحبق على نمو فطر الكنديديا وقدرتها على تثبيط نمو هذا الفطر ، مساهمت المستخلصات النباتية في إيجاد بدائل للمواد المثبطة لنمو الكائنات الدقيقة والتي أصبحت مقاومة للعديد من المضادات الحيوية من كثرة الاستعمال على المدى الطويل .

الدراسات السابقة :

لقد استخدمت المستخلصات النباتية كبدائل للمبيدات الكيماوية مثل (النباتات الطبية والعطرية وكذلك النباتات البرية) في حماية الإنسان والحيوان من العديد من الأمراض الضارة التي تؤدي بحياته ، كذلك لها دور في حماية الإنتاج النباتي من الأمراض التي تسببها الكائنات الفطرية والبكتيرية و الفيروسية والنيماتودية التي تصيب مختلف المحاصيل الحقلية والبستانية.

تدخل النباتات الطبية والعطرية في صناعة الأدوية والعقاقير الطبية التي تستخدم في علاج الكثير من الأمراض حيث استخدمت كمنبهات ، ومطهرات ، ومقويات ، ومسكنات ومراهم علاجية وكذلك لخفض ضغط الدم أو للوقاية والتقليل من فرص الإصابة بالأمراض الفطرية والبكتيرية وغير ذلك من الاستخدامات الطبية . يعتبر نبات النعناع *Mentha spicata* L من النباتات العطرية المعمرة ويعود إلى العائلة الشفوية Lamiaceae ، وهذا النوع معروف في جميع أنحاء العالم ويسمى في بعض المناطق بالنعناع البستاني ، ويفضل استخدامه من الناحية الطبية . **(7)** يستخدم النعناع في علاج الكثير من الأمراض وخاصة أمراض المعدة والأمعاء ويفيد في علاج الصداع ، ولزيت النعناع بعض الخواص المطهرة القادرة على الحد من نمو العديد من الكائنات الدقيقة ولذلك يدخل في تحضير معاجين الأسنان وصناعة الصابون . من المواد الفعالة التي تستخلص من نبات النعناع بصورة عامة هي الزيوت الطيارة (زيت النعناع) ومركبات المنثول Menthol و الليمونين والصوبرين وحامض التانيك **(8)** .

أيضا يعتبر نبات الريحان (Sweet basil) *Ocimum basilicum* الذي ينتمي للعائلة Lamiaceaeمن ضمن النباتات التي تستخدم مستخلصاتها في الحد من نمو الكائنات الدقيقة كالفطريات والبكتيريا . وهو من الأعشاب المستخدمة في المطابخ وكنباتات زينة . تحتوي النباتات التي تعود إلى هذه العائلة على خصائص صيدلانية ، مثل الزيوت الأروماتية التي تتكون أوراقها وتستخدم كمضادات أكسدة ، كما تحتوي بذورها على مواد شبيهة بالمضادات الحيوية **(9).**

يرجع تاريخ استخدام المستخلصات النباتية في مكافحة الأمراض النباتية إلى زمن بعيد وكان المصريون والإغريق أول من استعمل المواد النباتية لمعالجة أمراض النبات . استخدمت المستخلصات النباتية لمكافحة كثير من الفطريات الممرضة للإنسان فقد وجد أن جميع عزلات فطر *Candida albicans* يمكن أن تثبط بواسطة

المستخلصات النباتية للبصل والكراث والثوم والفلفل الأحمر والفجل فضلا عن ذلك وجد أن مستخلص نبات الحناء *Lawsonia alba* والنعناع الفلفلي *piperta Mentha* واليوكالبتوس *Eucalyptus citriodora* تؤثر على نمو الفطريات *Alternaria* و*Colletotrichum* و*Helminthosporum*. كما بينت الدراسات أن النعناع كان فعالا ضد فطر *Candida albicans* . **(10)**

تحضر المستخلصات النباتية المائية بعدة طرق منها طريقة التنقيع **(11)** حيث يؤخذ 10 جم من كل مسحوق نباتي خاضع للدراسة ويوضع في 100 مل من الماء المقطر والمعقم لمدة ساعتين وبالوقت نفسه تم التنقيع أيضا لمدة 24 ساعة ، وتم التخلص من المواد الصلبة بترشيح المستخلصات النباتية عبر ورق الترشيح Whattman No.1 ، بعدها أجري الطرد المركزي باستخدام جهاز من نوع Hettich universal 11 وبسرعة 3000 دورة في الدقيقة ولمدة عشر دقائق ، ثم أخذ الراشح ووضع في قناني معقمة وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال . هذا وقد تم تحضير التراكيز (2.5 ، 5 ، 7.5 ، 10) % من كل مستخلص وذلك بأخذ كمية مناسبة من الراشح ووضعه في حجم معين من الماء المقطر والمعقم . **(12)**

إن ضراوة فطر الكانديدا البيكانز تكون مصحوبة بإفراز بعض الإنزيمات مثل الإنزيم المحلل للبروتين proteinase، الإنزيم المحلل للدهون المفسفرة phospholipase، الإنزيم المحلل لبروتين الكولاجين collagenase. **(13)**

إن الإنزيم المحلل لحامض الهيالورونيك hyaluronidase و الإنزيم المحلل لكبريتات الكوندروتين chondroitin sulphatase يوجدان دائما في البكتريا التي تسبب إصابات الفم **(41)**. إن فطر الكانديدا البيكانز يستخدم مكونات الأنسجة الناعمة كأنسجة اللثة وغيرها مثل حامض الهيالورونيك Hyaluronic acid و كبريتات الكوندروتين chondroitin sulphateفي النمو **(15) (16).**

ارتباط فطر الكانديدا البيكانز بالخلايا الطلائية يثبط بواسطة إفراز الإنزيمات المحللة للروابط الجليكوسيدية Glycosidic bonds الموجودة في الجدار الخلوي لهذا الفطر وتسمى إنزيمات Glycosidases. **(17) (18).** إن ارتباط فطر الكانديدا البيكانز بالخلايا الطلائية يعتبر خطوة أولى في النمو وعمل المستعمرات وإحداث إصابات ذات أعراض وإصابات ليس لها أعراض Symptomatic and Asymptomatic Infectionsفي الغشاء المخاطي للتجويف الفمي **(19)**.

إن فطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans* يسبب إصابات الأغشية المخاطية والجلد ، كما أن أغلب الإصابات المتتابعة الانتهازية لهذا الفطر تكون دائما بين مرضى الإيدز**(20) (21).**

إن استخدام الأدوية المضادة لهذا الفطر والتي تحتوي على حلقة الأزول azole تكون فعالة في علاج التهابات التجويف البلعوم الفمي ولكن تكرار استخدامها ولمدة طويلة في العلاج يؤدي إلى اكتساب مقاومة ضدها من قبل الفطر الممرض ، وبالتالي تخفق هذه الأدوية في علاج هذا الفطر الممرض. وقد ذكر انه منذ عقدين كان فطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans* قليل إحداث الإصابة للإنسان ولكن نظرا لاكتسابه مقاومة ضد الأدوية المستخدمة في علاجه أصبح في السنوات الأخيرة من أكثر الفطريات إصابة للإنسان**.(22)**

إن الإصابات المتتابعة لفطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans* والتي تتزايد بشكل مطرد مع اكتسابه مقاومة ضد الأدوية المستخدمة في علاجه جعل هذا الفطر هو محل اهتمام البحوث العلمية في جميع أنحاء العالم**.(23)(24)**

دراسة قام بها كل من Douglas, L. , El-Tarabily, K.A أثبتت أن عزلات فطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans* أصبحت مقاومة لكل من الفلوكونازول fluconazoleو الأمفوتريسين ب Amphotericin B بعد أسبوعين من تناولهما. وكما هو المعروف طبيا أن العلاج المضاد للميكروبات يستخدم فقط أثناء الأزمة المرضية وذلك للتنامي السريع للمقاومة التي يكتسبها الميكروب ضد هذا العلاج.

وفى هذا المضمار يكون البحث عن أدوية جديدة لعلاج هذا الفطر الممرض احتياج عام وضروري وله أولوية قصوى . إن الأكتينوميسيتات هي واحد من أكثر المصادر الفعالة والقوية لإنتاج أنواع مختلفة من المواد الأيضية مثال المواد المضادة للفطريات والمواد المضادة للبكتريا . الأنواع المختلفة من جنس الأستربتوميسس *Streptomyces spp*هي مصدر الغالبية العظمى للمضادات الحيوية المحطمة للجراثيم الفطرية التي تسبب أمراض النبات والحيوان والإنسان **.(25)(26)**

وفى أحد الأبحاث التي اهتمت بإيجاد مواد مضادة لفطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans*تم عزل 50 عزلة أكتينوميسيتية من التربة الزراعية ، ثم تم اختبار قدرتها على تضاد هذا الفطر الممرض فوجد أن أقوى عزلة هي سلالة استربتوميسس أوليفاشيس *Streptomyces olivaceus* التي لها نشاط مضاد قوى وفعال ضد هذا الفطر الممرض. **(27)(28)**

من أهم الفطريات الممرضة للإنسان هو فطر الكانديدا البيكانز *Candida albicans* والذي يعالج بواسطة المضادات الحيوية البولينية polyene antibiotics التي ينتجها جنس الأستربتوميسس **(29)** ومن أهم المضادات الحيوية البولينية الأمفوتريسين ب Amphotericin B، النيستاتين Nystatinو الناتاميسينNatamycin ، ولكن نظرا لظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية والتي انتشرت بشكل كبير في السنوات الأخيرة كان اهتمام البحث العلمي منصبا حول إيجاد مضادات حيوية فعالة جديدة. **(30)(31)(32)**

المواد وطرق العمل :

أولا – المواد :

استخدم في هذه الدراسة عدة عزلا ت لفطر الكنديديا ، تم أخذها مباشرة من المرضى المترددين على مستشفى الجلاء طرابلس ، وذلك بأخذ عينة من الإفرازات المهبلية أو طبقة خفيفة من القشرة التي تكسو التهاب الجلد .

واستخدمت المواد التالية :

أطباق بتري زجاجية وبلاستيكية بقطر(9 و6 سم)، إبرة عزل، ملقط، ماصة، مختلفة، كؤوس، قطن، ورق السلوفان، خرامة، أوساط غذائية تتمثل في Sabourud maltose Agar (SMA)، Corn Meal Agar (CMA) ، Blood Agar (BA) و **(**CHOCl A) Chocolate agar **و** وسط ماكونكي MacConkey medium**.** صبغة أزرق قطن، بارافيلم ، شرائح مجهرية وأغطية زجاجية ،كحول إيثيلي، لهب بنزن ، مسحوق نباتي لكل من نبات النعناع ونبات الحبق . كما تم استخدام آلة تصوير رقمية Mega pixels14، Optical zoom3X لتوثيق البيانات المطلوبة.

الأجهزة المستخدمة:

أهم الأجهزة المستخدمة في هذه الدراسة تتمثل في: جهاز التعقيم "المعقام"، ميزان حساس، مبرد، الحضان، حمام مائي، حجرة العزل، مجهر، ، جهاز تعقيم الحرارة الجاف .

ثانيا - طرق العمل:

1- الأوساط الغذائية Culture media **المستخدمة لنمو وعزل فطر** *Candida albicans*

وسط السابروويد مالتوز أجار Sabourud Maltose Agar :

يتكون الوسط من Mycological peptone 10.0 g ، Maltose 40.0 g ، Agar no 1 15.0 g ، يتم وزن مسحوق الوسط الغذائي بواسطة الميزان الحساس " الكمية عادة مسجلة على العبوة " تم يضاف للوسط 1000 مل ماء مقطر . تخلط المحتويات جيدا تم توضع في حمام مائي لفترة (35 – 40 دقيقة) حتى تذوب المحتويات جيدا وتصبح شفافة ، يضاف للخليط المضاد الحيوي Chloramphenicol تم يوزع الخليط في دوارق صغيرة سعتها 250 مل ليسهل عملية الصب في الأطباق ، تعقم هذه الدوارق في جهاز التعقيم الأوتوكلاف لمدة 15 – 20 دقيقة وبعدها تصبح جاهزة للصب في أطباق بتري المعقمة .

وسط مسحوق الذرة Corn Meal Agar :

ويتكون من Corn Meal 40g وخمس قطرات من Tween 80 و Agar 20 g ، يتم وزن مسحوق الوسط الغذائي بواسطة الميزان الحساس " الكمية عادة مسجلة على العبوة " تم يضاف للوسط 1000 مل ماء مقطر . يحضر من هذا الوسط لتر واحد يحتوي على توين 80 بالإضافة إلى وجود المضاد الحيوي Chloramphenicol ، يحضر الوسط بنفس الطريقة السابقة .

وسط ماكونكي MacConkey medium :

يتكون الوسط من بيبتون - 17 g ، بروتيوز بيبتون - 3 ، لاكتوز - 10 ، أملاح الصفراء - 1.5 g ، كلوريد الصوديوم - 5 ، الأحمر المحايد - 0.03 g ، اجار - 13.5 وماء يضاف ليصل المجموع 1 لتر ويعدل الأس الهيدروجيني إلى 7 .

وسط أجار الدم Blood Agar (BA) :

وهو عبارة عن بيئة مغذية تحتوي على دم الثدييات بنسبة 5-7% أي ما يعادل 70 مللتر دم في كل لتر بيئة وأفضل أنواع الدم المستخدم هو دم الشاه ويليه الحصان ثم دم الإنسان .

وسط أجار الشوكولاتة Chocolate agar (CHOCl A) :

هو نوع من آجار الدم تحللت فيه خلايا الدم عن طريق تسخين الخلايا إلى 65 درجة مئوية. وفي الواقع، لا توجد أية شوكولاتة في الطبق وإنما جاءت التسمية من اللون فقط.

المضادات الحيوية المضافة الأوساط الغذائية :

1- Chloramphenicol :

يتم إضافته إلى الوسط المغذي قبل عملية التعقيم لأنه يتحمل درجة حرارة جهاز التعقيم ، ويحضر بإذابة 50 ملجم من المضاد الحيوي في 10 مل من الكحول الإثيلي ويخلط جيدا ثم يضاف إلى لتر من الوسط الغذائي وهو ساخن تم يعقم . صبغة اللاكتوفينول توضع مع العينة الفطرية على الشريحة لصبغ الخلايا وتوضيحها.

2 Neomycin :

هذا المضاد الحيوي عادة نتحصل عليه جاهزا مضافا إلى الو سط التجاري في بعض الأحيان .

1ـ عزل فطر *Candida albicans* من بعض المرضى المترددين على قسم الولادة " مستشفى الجلاء طرابلس "

أخذت العينات من المرضى الذين يشكون من التهابات في منطقة المهبل بصفة عامة على فترات متفاوتة ، وذلك بأخذ مسحة من منطقة الإصابة وزرعها على أوساط غذائية خاصة تتمثل في وسط أجار الدم Blood Agar كوسط عام ،ووسط الماكونكي MacConkey medium ، وسط أجار الشوكولاته Chocolate agar ، وسط السابرويد وكذلك وسط مسحوق الذرة . بداية زرعت العينة على وسط أجار الدم ، تم وضعت في الحضان في درجة 37 درجة مئوية ، واستمرت مراقبة الأطباق بشكل دوري لمدة ثلاثة أيام ، تم أخذ عينة من كل المستعمرات النامية في الطبق وأعيد زرعها على أطباق حاوية على وسط غذائي آخر وهو وسط أجار الشوكولاتة ووسط الماكونكي ، هذا الوسط يعتبر خاصا لنمو البكتيريا موجبة الجرام ، حضنت الأطباق في درجة C 37˚ وفحصت بعد 24 – 48 ساعة ، تكرر عملية الزرع من هذه الأطباق في أطباق أخرى حاوية على وسط السابرويد والذي يعتبر وسطا خاصا لنمو فطر الكنديديا ، تحضن الأطباق لمدة 72 ساعة في درجة 37˚ م . بعدها تصبح الأطباق جاهزة للفحص المجهري . يتم أخذ بواسطة إبرة العزل نسبة قليلة من النمو

الفطري وتوضع على الشريحة في وجود قطرة من الماء أو صبغة اللاكتوفينول ويوضع عليها غطاء الشريحة وتفحص تحت المجهر بالقوة المختلفة .

بعد التأكد من وجود فطر *Candida albicans* تم إعادة زراعت الفطر على وسط Corn Meal Agar لزيادة التأكيد من أن الفطر هو الفطر المطلوب ، تتمثل المرحلة الأخيرة من طرق العمل في إعادة إكثار الفطر على وسط السابرويد ووسط مسحوق الذرة لغرض الدراسة والحفظ .

3- عمليات التحقق من كينونة فطر *Candida* :

تم إجراء دراسة معملية لغرض التحقق من كينونة هذا الفطر وذلك بتنمية عزلة من سلالة فطر *Candida sp* التي تم الحصول عليها من المرضى بمستشفى الجلاء طرابلس ، وتمت مقارنتها بالعزلات الفطرية التي تم عزلها والتأكد منها في المراكز البحثية المعتمدة كمركز التقنيات الحيوية. حيث تم عزل النموات الفطرية من الأوساط الغذائية بواسطة إبرة العزل المعقمة وتوضع المسحة الفطرية على شريحة زجاجية مع قطرة من صبغة القطن الفينولي الأزرق وتغطى بغطاء الشريحة الزجاجي للفحص المجهري وفحصت العينة بالقوة المختلفة للمجهر الضوئي 10 X، 40 X 100X. قورنت الصفات المتحصل عليها سواء الظاهرية أو المجهرية مع العزلة التي سبق تعريفها ودونت النتائج .

4- العينات النباتية :

شملت الدراسة كلا من نبات النعناع ***Mentha sp*** ونبات الحبق ***Ocimum sp*** وقد تم الحصول على النباتات من السوق المحلية طرابلس ، نقلت النباتات إلى المختبر وغسلت بالماء جيدا حتى تم إزالة كل الشوائب العالقة بها ، ثم جففت عند درجة حرارة الغرفة (في الظل) وتم سحقها بواسطة طاحونة كهربائية وحفظ المسحوق في أكياس بولي ايتيلين و حافظات خاصة (زجاجية و بلاستك) في الثلاجة في درجة 5 درجات مئوية لحين استعمالها في الاستخلاص .، وفي حالة الجو البارد تم حفظ المسحوق في درجة حرارة الغرفة .

5- تحضير المستخلصات النباتية :

حضرت المستخلصات النباتية بطريقة التنقيع ، حيث تم أخذ 5 جرام من كل مسحوق نباتي خاضع للدراسة ووضع في دوارق خاصة تحتوي على 50 مل من الماء المقطر والمعقم ، وضعت الدوارق في حمام مائي درجة حرارته 100 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة ، ثم أخرجت الدوارق من الحمام المائي وتركت حتى تبرد لمدة

4 ساعات ونصف ، بعدها تم التخلص من المواد الصلبة بترشيح المستخلصات النباتية عبر ورق الترشيح ، ثم أخذ الراشح ووضع في زجاجات خاصة معقمة وحفظ لحين الاستعمال .

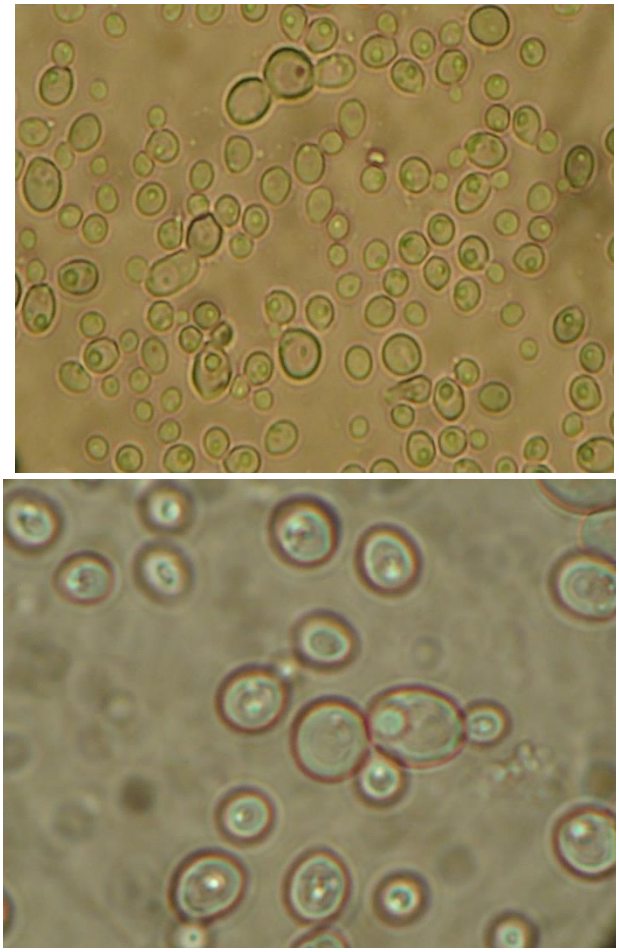
إعداد الأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية :

تم عمل أقراص بقطر 5ملم من ورق الترشيح بعد تعقيمها ، غمست هذه الأقراص في المستخلصات النباتية حسب النوع لمدة 5 دقائق ،بعد إخراجها وضعت الأقراص في أطباق بتري تحتوي على نموات للفطر الذي قيد الدراسة عدد 5 أقراص موزعة في كل طبق ، بحيث كل قرص يبعد مسافة عن النمو الفطري وتركت الأطباق في درجة حرارة الغرفة وتم مراقبتها بشكل دوري لمدة 10 أيام ودونت النتائج .

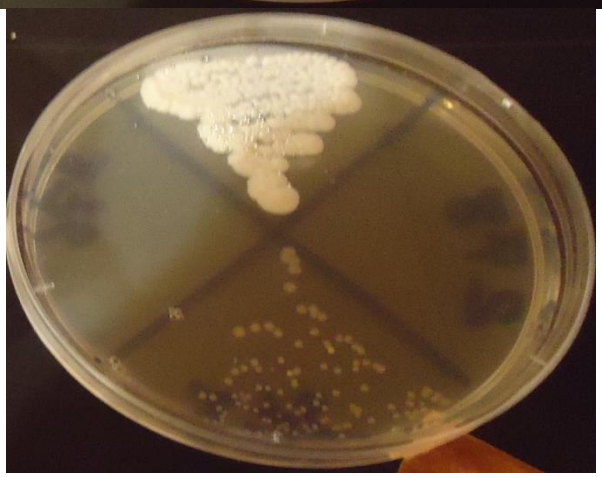
6ـ معرفة الفاعلية التضادية لمستخلصات نباتات كل من النعناع *Mentha sp* والحبق *Ocimum sp* على نمو فطر الكنديديا وما تسببه من تثبيط لنمو هذا الفطر .

خلال هذه التجربة قمنا بتجهيز عدد 30 قرص لكل من مستخلص النعناع والحبق ، وضع عدد 15 القرص في مستخلص نبات النعناع تركيزه 100% وعدد 15 القرص أخرى في مستخلص نبات الحبق تركيزه أيضا 100% ، بحيث تم وضع عدد 5 اقراص في كل طبق بتري من اجمالي ثلاثة أطباق لكل مستخلص يحتوي على كمية من مستخلص النعناع ، و15 قرصا الأخرى وضعت في طبق بتري يحتوي على كمية من مستخلص الحبق وتركت الأقراص في المستخلصات لمدة 5 دقائق حتى التشبع . جهزت 6 أطباق بتري للإختبار ثلاثة أطباق لكل مستخلص ، حقنت الأطباق بفطر الكنديديا في خمسة مواقع في كل طبق ، أخذت الأقراص ووزعت على الأطباق ، بحيث تم وضع كل قرص على مسافة من العزلة الفطرية وحفظت الأطباق في درجة حرارة الغرفة . تمت عملية مراقبة الأطباق بعد ثلاثة أيام من الحفظ وسجلت النتائج .

الشكل 1. يوضح فطر *Candida albicans* تحت القوة المختلفة للمجهر الضوئي



الشكل 2. يوضح الشكل الظاهري لفطر *Candida albicans*



النتائج والمناقشة:

عزل فطر *Candida* من بعض المرضى المترددين على مستشفى الجلاء طرابلس . يبين الجدول . 1 الفترات الزمنية التي تم الحصول فيها على العينات من المرضى خلال هذا البحث ، وكانت تشمل كلا من شهر 4 ،5 و 6 وهي على التوالي أربع زيارات للمستشفى في كل شهر بشكل غير منتظم (عشوائي) وسبب عدم الاهتمام بتنسيق ثابت بين الفترات لأن هذه الدراسة هدفها الحصول على حالات مصابة وليس الهدف مقارنة نسبة الإصابة خلال الفترات الزمنية ثابتة، فكانت الفترات الزمنية بين كل زيارة وأخرى تتراوح بين 5 – 7 أيام .

هذا وقد تم تحديد عدد المرضى الذين خضعوا للفحص في كل زيارة ، فكان العدد ثابتا 15 مريضا في كل يوم (لم تحدد أعمار المرضى خلال الدراسة) أي حوالى 180 حالة ، العينات التي تحصلنا عليها جميعها خضعت لسلسلة من المعاملات المعملية ، فكانت البداية بزرع العينة على وسط غذائي أعتبر وسط عام خلال البحث ، وهو وسط أجار الدم والسبب أن العينة التي تم أخذها من المرضى تشتمل على عديد من الكائنات الدقيقة الممرضة وغير الممرضة ، وبالتالي لن نستطيع تحديد الكائن المسبب للمرض بالتحديد ولهذا كان من المفترض زرع العينة على وسط يسمح بنمو مدى واسع من الكائنات الدقيقة ، تم حفظ الأطباق في درجة 37˚C لمدة ثلاثة أيام . خلال الفحص المجهرى اتضح أن العزلة تحتوي على نموات مختلفة من الكائنات الدقيقة ولكن لا يمكن تحديد الكائن الممرض بدقة ، وبالتالي لا بد من إعادة الزرع على وسط آخر وهو وسط أجار الشوكولاطة هذا الوسط – أيضا - وسطا عاما ، حفظت الأطباق في درجة 37˚C لمدة 24 – 48 ساعة ، بعد الفحص المجهرى اتضحت نموات واضحة ولكن لم نستطع تحديدها هل هي فطر أو بكتيريا موجبة أو سالبة لصبغة الجرام إلا بعد إعادة زرع المستعمرات على وسط خاص بنمو البكتيريا الموجبة لصبغة الجرام وهو وسط الماكونكي أجار ، هذا الوسط يسمح بنمو بعض الفطريات أيضا ، حفظت الأطباق في درجة 37˚C لمدة 24 – 48 ساعة خلال الفحص تبين وجود مستعمرات بيضاء تميل إلى اللون الأصفر الباهت شمعية المظهر تدل على فطر *Candida* ، فللتأكد أن هذا الفطر هو الفطر المطلوب والمحدث للإصابة قمنا بإعادة زرع المستعمرات على وسط خاص بنمو فطر*Candida sp* وهو وسط السابروويد أجار وحفظت الأطباق في درجة 37˚C لمدة 72 ساعة ، وبعد الفحص المجهرى تبين نمو كثيف للفطر المطلوب وبعد التأكد من أن الفطر المحدث للإصابة بالدرجة الأولى هو فطر *Candida* (لأن نفس الأعراض التي يسببها هدا الفطر تنطبق بالدرجة الأولى على ما يعاني منه المرضى) أعدنا زراعة الفطر على وسط مسحوق الذرة لغرض الإكثار .

أيضا بين الجدول .1 نتائج الإصابة خلال التواريخ التي أخذت فيها العينات وكانت النتائج متفاوتة ، فكان عدد الأشخاص المصابين يتراوح بين 2 – 15 مصابا بينما عدد الأشخاص غير المصابين فكان يتراوح بين 0 – 13 شخصا . وبالرجوع إلى النتائج المسجلة بالجدول يمكن تعليل تفاوت نسبة الإصابة بين المرضى بالرغم من أن جميعهم يشكون من نفس الأعراض أو تقريبا الأعراض متشابهة والسبب يرجع إلى

أن بعض الحالات تكون مصابة بأنواع من البكتيريا مشابهة نوعا ما في أعراضها لأعراض فطر الكنديديا، ولهذا عادة يعطى العلاج في بعض الحالات كعلاج مزدوج عبارة عن جرعات من المضادات الحيوية المضادة لنمو البكتيريا وكذلك المضادة لنمو الفطريات في نفس الوقت .

جدول 1. يوضح عدد المرضى الذين خضعوا للدراسة ، وعدد الأطباق المصابة والسليمة وكذلك النسبة المئوية للإصابة بالفطر .

الشهر	الأسبوع	التاريخ	عدد المرضى	عدد الأطباق	عدد الأطباق المصابة	عدد الأطباق السليمة	نسبة الإصابة (%)
ابريل	الأسبوع الأول	10 – 4 – 2013	15	15	2	13	% 13
ابريل	الأسبوع الثاني	18 – 4 - 2013	15	15	8	7	% 53
ابريل	الأسبوع الثالث	25 – 4 – 2013	15	15	10	5	% 67
ابريل	الأسبوع الرابع	29 – 4 - 2013	15	15	6	9	% 40
مايو	الأسبوع الأول	2 – 5 – 2013	15	15	5	10	% 33
ماي	الأسبوع الثاني	6 – 5 - 2013	15	15	4	11	%
ماي	الأسبوع الثالث	14 – 5 - 2013	15	15	15	0	% 100
ماي	الأسبوع الرابع	21 – 5 - 2013	15	15	13	2	% 87
يونيو	الأسبوع الأول	9 – 6 - 2013	15	15	8	7	% 53
يونيو	الأسبوع الثاني	16 – 6 - 2013	15	15	10	5	% 67
يونيو	الأسبوع الثالث	19 – 6 - 2013	15	15	2	13	% 13
يونيو	الأسبوع الرابع	24 – 6 - 2013	15	15	9	6	% 60
المجموع	12 الأسبوع	-	180	180	92	88	-

التحقق من كينونة فطر *Candida albicans* :

بينت النتائج أن العزلات الفطرية المتحصل عليها خلال هذا البحث من المرضى المترددين على مستشفى الجلاء تمثل فطر *Candida* وهذا أثبت بعدة وسائل منها الوصف الظاهري للفطر أو الشكل العام للمستعمرات الفطرية ، والذي تم التأكد منه من خلال مقارنة العزلة التي تحصلنا عليها مع عزلات تم تعريفها في المراكز البحثية المحلية بطرابلس وخارج طرابلس . ولم نكتف بالشكل الظاهري فقط بل تم فحص جميع العزلات بالمجهر الضوئي وأرسلت عينات منها لذوي الاختصاص في الفطريات ، ليؤكدوا لنا أن هذا الفطر هو الفطر المطلوب . كذلك قورنت العزلات من حيث الشكل الظاهري والمجهري بما جاء في الدراسات السابقة حول فطر *Candida* وكانت جميع البيانات المتحصل عليها تتفق مع ما جاء في هذه الدراسات . وقد اتضح أنه من مميزات الشكل العام " الظاهري " والمجهري للفطر المتحصل عليه الآتي : من ناحية الشكل الظاهري للفطر، يظهر على الأوساط الغذائية على شكل مستعمرات بيضاء تميل إلى اللون الأصفر الباهت، لها لمعة شمعية وبداية تكون المستعمرات على الأوساط الغذائية على شكل دوائر تتداخل مع بعض كلما زادت المستعمرة في النمو . أما بالنسبة لشكل الفطر تحت المجهر فيظهر على شكل خلايا بيضاوية تشبه إلى حد كبير فطر الخميرة *Saccharomyces ceriveciae*، في الشكل والتكاثر ، والفطر وحيد الخلية ويتكاثر بالتبرعم **(30)** ، ويختلف عن الخميرة في كونه من الفطريات الناقصة والخميرة من الفطريات الكيسية . يتواجد الفطر في عدة هيئات منها الخلايا البرعمية البيضاوية الشكل في درجة حرارة 37˚ م والغزل الفطري الكاذب Pseudo mycelium في درجة 25 – 27 درجة مئوية .

معرفة الفاعلية التضادية لمستخلصات نباتات كل من النعناع *Mentha sp* والحبق *Ocimum sp* على نمو فطر الكنديديا وما تسببه من تثبيط لنمو هذا الفطر .

لقد اتضح من خلال مراقبة الأطباق التي وضعت بها الأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية " الحبق و النعناع " والتي كان عددها 15 قرصا لكل مستخلص ، أي 5 أقراص لكل طبق من إجمالي ثلاثة أطباق ، أنه خلال الثلاثة أيام الأولى لم نلاحظ أي تغيير لنمو الفطر ، ولكن بعد 5 أيام لوحظ بداية نمو بطيئة للفطر

في اتجاه القرص سواء المشبع بمستخلص النعناع أو الحبق ، استمر نمو الفطر ببطء شديد ولكن لم يصل للقرص مباشرة وبعد 10 أيام من مراقبة الأطباق توقف نمو الفطر بالكامل في جميع الأطباق . النتائج الظاهرة للعيان لا تبين مسافة واضحة بين الفطر والقرص أي بمعنى لم نلاحظ تثبيط بشكل كبير للمستخلصات النباتية على فطر الكنديدا ، بالرغم من أن الفطر لم يستطع الاستمرار في النمو في اتجاه القرص، ونعلل سبب انخفاض أو انعدام فاعلية التثبيط للمستخلصات النباتية المدروسة قد يرجع للمستخلصات النباتية ذاتها ، فقد تحتوي على مركبات مانعة أو مثبطة لنمو بعض الأحياء المجهرية ولكن قسما منها قد يفقد قدرته على التثبيط خلال طرق الاستخلاص أو طرق تخزين المستخلص، كما أن طريقة تحضير المستخلصات النباتية ومقدار تركيزها تعتبر من العوامل المهمة والمؤثرة في الفعل التثبيطي لكل مستخلص **(33)**

الاستنتاجات (المستخلص):

اتضح من خلال هذه الدراسة أن المستخلصين أعطيا نتائج متقاربة جدا من ناحية قلة التثبيط للفطر ، إلا أن القرص المشبع بمستخلص النعناع كانت المسافة بينه وبين الفطر أكثر وضوحا من القرص المشبع بمستخلص الحبق ، مما يعني أن مستخلص النعناع لو ضبطت له نسبة التركيز وطريقة الحفظ والفترة الزمنية للحصول على الراشح ربما أعطى نتائج أكثر ايجابية .

التوصيات ـ نوصي من خلال هذا البحث بالآتي:

توفير المواد الخاصة بهذا النوع من البحوث والتي تتمثل في الأوساط الغذائية بالدرجة الأولى.

توفير الأجهزة اللازمة للتعقيم وحفظ الأوساط الغذائية .

الهوامش :

1- **1-- Prescott ,**M.; P.Harley and A.Klein. 2001. Microbiology 2nd ed. Printed in the united state of America by W.M.C Brown Communication. Inc., 2460 Karper Boulerand Dubuque, IA5.

2- المرجع السابق

3- **Hugo,** W.B. and A.D. Russell. (1989). Pharmaceutical Microbiology. 4th ed., Blackwell scientific publication . London.

4- **Levine,** H.B. 1986. New and prospective development in antifungal drugs. Honykony ,Adisprass**.**.

5- عفيفي ، صبحي أمين ، دانا فائق هوشيار ، عدنان على إسماعيل ومحمد عمر محي الدين . 1982. دراسة حساسية بعض الحياء المجهرية للتوابل . زانكو 8(3) : 49 – 66 .

6- حسين، فوزي طه قطب . 1981 . النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ للنشر ، الرياض .

7- خلف الله،عبد العزيز محمد . 1988 . النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي ، جامعة الدول العربية ، المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، الخرطوم ، دار مصر للطباعة .

8- **Bais,** H. P.; S.Travis; H. P. Walker and M. V. Jorge. 2002. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum* pl. *Physiol. Biochem*. **40,** 983-995.

9- **المرجع السابق**

10- أل فخر الدين، أحمد نوري حميد. 2008 . تأثير المستخلصات النباتية على نمو الفطريات في الأوساط الزراعية الصلبة . كلية الزراعة جامعة الكوفة ، العراق .

11- مجيد، قيتارة رشيد و صباح مالك حبيب الشطي . 2002 . تأثير الفعالية التضادية لبعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الأحياء المجهرية . مجلة قسم الصناعات الغذائية والألبان ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة .

12- **Wu,** T.; L. Samaranayake; B.Cao and J.Wang .1996. In-vitro proteins production by oral *Candida albicans* from individual with and without HIV. J. Med. Microbiol. 44 (4): 311-6.

13- **Takeuchi,** H.; Y.Hari; J.Kanchisa and A. Tani .1982. Bacterial hyaluronidase and chondroitin sulphatase in human dental plaque and inflammed gingiva. J. Osaka Dental Univ. 16: 183-7.

14- **Barga,** P.; M.Sasso; S.Maci and M.Bohn. 1996. Inhibition of *Candida albicans* adherence to human buccal cells. Arzneimittelforschung 45 (1): 84-7.

15- **Cannon,** R.; A. Masson and B. Monk. 1995. Oral clearance, colonization or candidosis. J. Dent. Res. 74: 1152-61.

16- **Darwazeh,** A.; T.Farlane, and P.Lamey .1997. The in-vitro adhesion of *Candida albicans* to buccal epithelial cells. J. Oral. Pathol. Med. 26: 233-36.

17- **Douglas,** L. 1986. Adhesion of *Candida albicans* to epithelial surfaces. CRC Critic Rev. Microbiol. 15: 27-43.

18- **Barga,** P.; S.Maci; M. Sasso and M. Bohn. 1995. Experimental evidence for a role of rilopirox, Nystatin and fluconazole on adherence of Candida albicans. Chemotherapy 42 (4): 259-65.

19- **Feigal,** D.W.; M.H. Katz; D. Greenspan and J. Westenhouse et al. 1991. The prevalence of oral lesions in HIV infected homosexual and bisexual men, three San Francisco epidemiological cohorts. AIDS. 5: 519-525.

20- **Klein,** R.S.; C.A. Harris; C.B. Small; B. Moll; M. Lesser and G.H. Friedland .1984. Oral candidiasis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. New Engl. J. Med. 311: 354-358.

21- **Michael,** E.K. and D. Pharm .2001. Antifungal resistance among *Candida species*. Pharmacotherapy. 21: 124-132.

22- **Goff,** D.A.; S.L. Koletar; W.J. Buesching; J. Barnishan and R.J. Fass .1995. Isolation of fluconazole-resistant *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-negative patients never treated with azoles. Clin. Infect. Dis. 20: 77-83.

23- **Nolte,** F.S.; T. Parkinson and D.J. Falconer .1997. Isolation and characterization of fluconazole and amphotericin B-resistant *Candida albicans* from blood of two patients with leukemia. Antimicrob. Agents Chemother. 41: 196-199.

24- **El-Tarabily,** K.A.; G.E.St.J. Hardy; K. Sivasithamparam; A.M. Hossein and D.I. Kurtboke .1997. The potential for biological control of cavity-spot disease of carrots, caused by *Pythium*

coloratum streptomycetes and non-streptomycetes actinomycetes. New Phytol. 137: 495-507.

25- **Kieser,** T.; M.J. Bibb; M.J. Buttner; K.F. Chater and D.A. Hopwood .2000. Practical *Streptomyces genetics*. The John Innes Foundation: Norwich, pp: 1-18.

26- **Shafii Bafti,** S.; G.H. Shahidi Bonjar; S. Aghighi; S. Biglari; P. Rashid Farrokhi and A. Aghelizadeh .2005. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis, the causal agent of root rot disease of green house cucurbits in Kerman Province of Iran. Am. J. Biotechnol. Biochem. 1: 22-26.

27- **Shahrokhi,** S.; G.H. Shahidi Bonjar and I. Saadoun .2005. Biological control of potato isolate of *Rhizoctonia solani* by *Streptomyces olivaceus* strain 115. Biotechnology, 4: 132-138.

28- **Hay,** R.J. 2003. Antifungal drugs used for systemic mycoses. Dermatol. Clin. 21: 577-587.

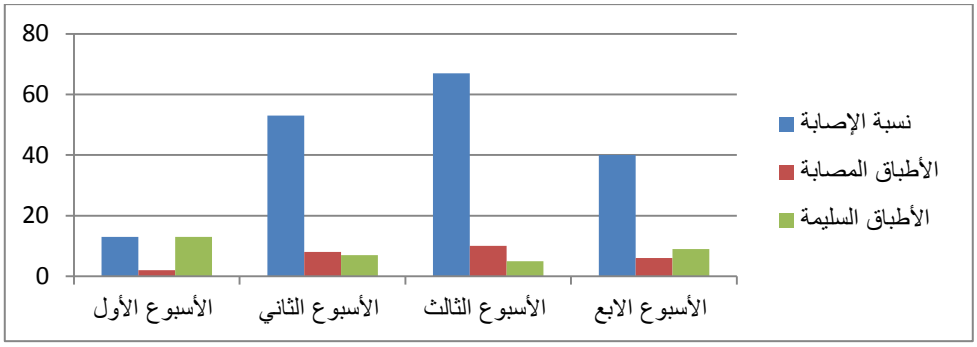
29- **Iznaga,** Y.; M.Lemus; L.González; L.Garmendía; L.Nadal and C.Vallín. 2004 Antifungal activity of Actinomycetes from Cuban soils. Phytother. Res. 18: 494-496.

30- **Augustine,** S.K; S.P. Bhavsar and B.P. Kapadnis. 2005. A non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU 23. J. Biosci. 30: 201-211.

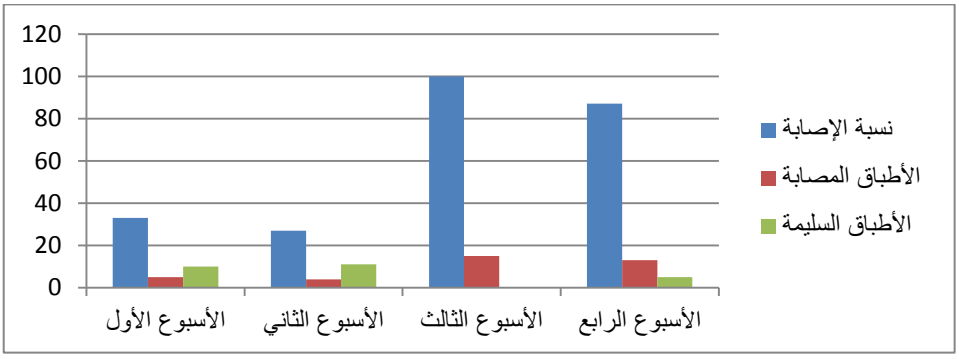
31- **Gohel,** V.; A. Singh; M. Vimal; P.Ashwini and H.S. Chhatpar. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic Microorganisms. Afr. J. Biotechnol. 5: 54-72.

32- البوني، عبد العزيز. 1990. أساسيات الفطريات العملي. الطبعة الأولى. 284 صفحة.

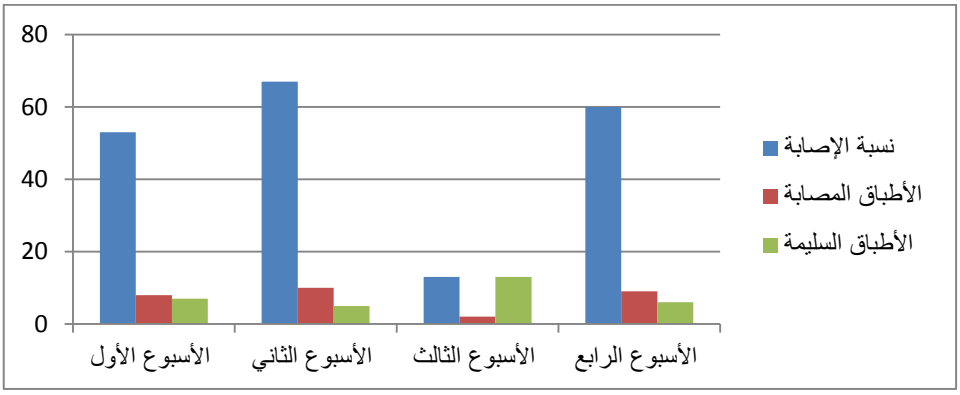
33- مجيد، سامي هاشم ومهند جميل محمود . 1988 . النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي . الطبعة الأولى ، دار الثورة للطباعة والنشر ، بغداد .



الشكل 3. يوضح نسبة الإصابة بالفطر خلال شهر أبريل ومقارنة عدد الأطباق المصابة مع عدد الأطباق السليمة خلال هذا الشهر



الشكل 4. يوضح نسبة الإصابة بالفطر خلال شهر مايو ومقارنة عدد الأطباق المصابة مع عدد الأطباق السليمة خلال هذا الشهر



الشكل 5. يوضح نسبة الإصابة بالفطر خلال شهر يونيو ومقارنة عدد الأطباق المصابة مع عدد الأطباق السليمة خلال هذا الشهر