Journal of Al-Qadisiya for Pure Scienc
Vol.15, No.2, 2010

مجلة القادسية للعلوم الصرفة
المجلد15 ، العدد2، 2010

Study Effect of Nystatin, Sodium Bicarbonate, Plant Extracts and some Factors (Pregnancy, Oral Contraceptives, Antibiotic Therapy) on *Candida albicans* Causes Vaginal Candidiasis

Amal Talib Al–Sa'ady **Enas Mohammed**

Abstract

100 samples(vaginal swabs) were collected from women with Vaginal Candidiasis in Babylon Hospital for Pediatric and Gynecology in Hilla\Iraq. for a period (July–November, 2008) .

Candida albicans was identified as a main cause of candidiasis. It has the highest incidence %67.7 in vaginal swab specimens. The percentage of *C. albicans* isolates was increased in the women with pregnancy, Oral contraceptives and Antibiotic therapy.

Susceptibility of *Candida albicans* was tested against Nystatin By Disc Diffusion method with concentrations (10, 100, 1000µg / ml). Th concentration (1000 µg/ml) has the biggest inhibition zone 26.0mm.

The effect of Sodium Bicarbonate of *C. albicans* was studied with concentrations (5 % ,10 % ,15 %). The concentration 15% was the most effective, *C. albicans* have no growth in this concentration .

Ethanolic extracts of three plants : *Allium sativum ; Myrtus communis & pimpinella anisum* L . have clear inhibited effects against *C. albicans* growth in the low cocentrations, the extract of *Allium sativum* has highly effective .

دراسة تأثير النيستاتين، بيكاربونات الصوديوم،المستخلصات النباتية وبعض العوامل (تناول حبوب منع الحمل، الحمل والمضادات الحيوية) على *Candida albicans* المسببة لداء المبيضات المهبلي

أمل طالب السعدي

ايناس محمد مجهول

الخلاصة :-

تضمنت الدراسة جمع 100 عينة (مسحة مهبلية) لنساء مصابات بداء المبيضات المهبلي في مدينة الحلة وللفترة من شهر تموز ولغاية تشرين الثاني (2008) .

شخصت خميرة المبيضات *C.albicans* كمسبب رئيسي للمرض إذ شكلت عزلاتها 67.7 % من عدد العزلات الكلي. وقد تأثرت نسب العزل بعدد من العوامل : ظروف الحمل ، تناول حبوب منع الحمل والعلاج بالمضادات الحيوية تأثيراً على نسب العزل.

دُرس تأثير مضاد Nystatine بتراكيز (5 , 10 , 100 , 1000) µg / ml على نمو *C.albicans* وظهر اكبر قطر لمنطقة التثبيط عند التركيز (1000 µg / ml) . كما استخدمت بيكربونات الصوديوم Sodium Bicarbonate بتراكيز (5 % , 10 % , 15 %) لمعرفة تأثيرها على الخنيرة وكانت العلاقة عكسية بين عدد المستعمرات وتراكيز البيكربونات المستخدمة .

اظهرت المستخلصات الكحولية لكل من الثوم والآس والينسون تأثيراً مثبطاً بدرجات متفاوته على نمو *C.albicans* وكان مستخلص الثوم الأقوى تأثيراً .

المقدمـــة :-

تعـود خميـرة الــ Candida الــى عائلــة Cryptococcaceae ضـمن صـنف الفطريـات الناقصـة deutromycetes (Meyer *et al* , 1992) التي تلعب دوراً كبيراً فـي احـداث مـا يعـرف بـداء المبيضات candidosis (candidiasis) وعند اصابتها للمهبل تدعى الحالة بالسلاق المهبلي Odds) vaginal candidiasis (1979 , ويمثل النوع *C.albicans* (*Monilia albicans*) اكثر انواع خميرة المبيضات سيادة وضراوه في احداث المرض إذ تتواجد بشكل نبيت طبيعي Normal Flora في الجسم تحت الظروف الاعتيادية بدون احداث ضرر وسرعان ما تتحول الى ممرضة انتهازيه تحت ظروف اخرى كأضطراب النبيت الطبيعي او اختلال الظروف المناعية او حالات الحمل وداء السكري وغيرها (Granger , 1992) تكمن امراضيتها في العديد من عوامل الضرواه التي تساعدها على غزو انسجة المضيف والالتصاق بها وتحطيمها ، جدول (1) .

يعد Nystatin ابرز المضادات الفطرية ويعود الى مجموعة polyene antifungal التي تنتج من قبل بكتيريا *Streptomyces noursei* و *Streptomyces albidus* (Kein & white , 1999) وعلى الرغم من تنوع ووفرة المضادات الحيوية إلا أن من الصعب الحصول على علاج مثالي نظراً لمحدودية استعمالها وكثرة اثارها الجانبية كما ان مشكلة المقاومة تجاهها اخذت بالأنتشار مؤخراً بسبب الاستخدام المتزايد والعشوائي لها مما دعا الباحثين والمختصين الى المناداة بالعودة الى الطبيعية كمصدر للعلاج البديل عن هذه المضادات فكانت المستخلصات النباتية هي المرشح الاول وخصوصاً بعد ان اظهرت الدراسات مالها من قدرة علاجية وبايولوجيه (Abdul – Rahman , 1995) تحتوي النباتات الطبية مواد كيميائية ذات تاثير فسلجي وعلاجي على الانسان والحيوان تتكون كناتج ثانوي لعميات الأيض داخل النبات وتسمى بالمادة الفعالة Active ingredients .

يعد الثوم Allium sativum من النباتات المستخدمة لأغراض علاجية ففي الهند نجح استخدامه كمطهر وقاتل للفطريات الممرضه (James & Duke , 2001) كما اثبتت الدراسات فعاليته ضد البكتيريا والفايروسات (Weber & Anderson , 1992) .

يستخدم نبات الآس *Myrtus communis* لعلاج العديد من الالتهابات الجرثومية كما يدخل في صناعة العديد من العقاقير الطبية (Pichon *et al* , 1993) اما الينسون . *Pimpinella anisum L* فهو من النباتات الشائعة الاستخدام كطارد للغازات ومقشع وكعلاج لألتهاب اللوزتين ونوبات البرد – Al) (Rawi & chakravarty , 1988 ومؤخراً ثبتت كفاءته في تثبيط نمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام (Al – Ani *et al* , 1996) .

جدول (1) ابرز عوامل الضراوه لدى خميرة المبيضات *Candida albicans*

ت	العامل	دوره في الضراوه
1	Heamolysis	تحليل الدم للحصول على Haemin كمصدر للحديد المهم لنمو الخميرة .
2	Phospholipase	تحليل الشحوم المفسفرة لتفكيك الغشاء الخلوي والمشاركة في تحطيم انسجة المضيف .
3	Protease (Gelatinase)	تحليل الاواصر الببتيدية لجزيئة البروتين وبالتالي هدم الطبقة المخاطية لأنسجة المضيف .
4	Germ tube	يساعد على اختراق الانسجة والالتصاق بالخلايا الطلائية كما يشكل بداية الشكل الخيطي (النمط الممرض للخميرة) .
5	Clamydiospores	تمنح القوة الميكانيكية للخميرة لتقاوم خلايا البلعمة phagocytic cells للمضيف ومنع التهامها .

Millon et al (2001) ; Markus et al (2002)

المواد وطرائق العمل :-

1. جمع العينات :-

جمعت 100 مسحة مهبليه لمريضات يراجعن مستشفى الولادة / بابل وبعض العيادات النسائية الخاصة للفترة من شهر تموز ولغاية شهر تشرين الثاني (2008) . زرعت العينات على وسط Sabouraud Dextrose Agar (SDA) مضافاً اليه المضاد الحيوي chloramphenicol بتركيز (0.5 µg / ml) وبمكررين لكل عينة . حُضنت الاطباق بدرجة 37 م˚ لمدة (24 – 48) ساعة .

2. العزل والتشخيص :-

شُخصت عزلات *C.albicans* بالاعتماد على ما جاء في (1999) . Murray *et al* من خلال ملاحظة الصفات المظهرية للمستعمرات ، الفحص المجهري للخلايا والتلون بصبغة غرام ، اختبار تكوين الانبوب الجرثومي ، تكوين الابواغ الكلاميدية واختبار تخمر السكريات .

3. تأثير المضاد الفطر Nystatin على خميرة *C.albicans* :-

اعتمدت طريقة الاقراص المشبعة بالمضاد الفطري وباستخدام المذيب العضوي (DMSO) Dimethyl sulphoxide لأذابة مضاد Nystatin والحصول على المحلول الخزين بتركيز (10000 µg / ml) ومنه حضرت التراكيز (5 , 10 , 100 , 1000 µg / ml) وباتباع الخطوات الواردة في (1989) McGinnis كما حضرت اقراص مشبعة بالمذيب العضوي (DMSO) فقط كسيطرة . أُجري اختبار الحساسية على وسط (SDA) حسب طريقة (1998) Hindeler وتم قياس قطر منطقة التثبيط بالملم .

4. تأثير بيكربونات الصوديوم Sodium Bicarbonate على خميرة *C.albicans* :-

استخدمت عزلات نقية من *C.albicans* لتلقيح ثلاثة انابيب حاوية على وسط Sabouraud Dextrose Broth (SDB) مضافاً اليها تراكيز عشرية متسلسلة من بيكربونات الصوديوم , 15 %) (5 % , 10 % وبمعدل مكررين لكل تركيز وحضر انبوب سيطره حاوي على وسط (SDB) فقط بدون بيكربونات . حُضنت الانابيب بدرجة 37 م° لمدة (24 – 48) ساعة .

نُشر (0.1) ml من كل انبوب على وسط (SDA) وحُضنت الاطباق بدرجة 37 م° لمدة (24) ساعة ثم حُسب عدد المستعمرات واستخرج معدله لكل مكررين . قورنت النتائج مع نتيجة انبوب السيطرة من جهة وبقية التراكيز من جهة اخرى تمت الخطوات حسب طريقة الحسيني (2002) .

5. تأثير المستخلصات النباتية على خميرة *C. albicans* :-

اعتمدت طريقة (1995) . Saxena *et al* لتحضير مستخلص الكحول الاثيلي 95 % لكل من اوراق الآس وثمار الينسون في حين استخدمت طريقة (1984) Harborne لتخضير مستخلص ، فصوص الثوم الطرية . حُضر المحلول الخزين stock solution بتركيز (200) mg / ml ومنه حضرت التخافيف (50 , 100 , 150) mg / ml .

أُتبعت طريقة الانتشار من الاقراص المشبعة بالمستخلص حسب ما جاء في (Waage & Hedin (1985 لدراسة حساسية الخميرة للمستخلصات كما حُضرت اقراص مجموعة السيطرة المشبعة بالماء المقطر المعقم فقط . تم قياس قطر منطقة التثبيط بالملم .

النتائج والناقشة :-

1. العزل والتشخيص :-

تتصف *C.albicans* بأنها ثنائية الشكل إذ توجد بشكل خميرة او بالشكل الخيطي الكاذب وهو النمط الممرض اعتماداً على الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة و PH . (LO *et al* , 1997) .

درست 100 مسحة مهبلية لنساء يشتبه اصابتهن بداء المبيضات المهبلي وتم الحصول على 96 عزلة خميرة ، شخصت عزلات *C.albicans* اعتماداً على نتائج الفحوصات التشخيصية الواردة في جدول (2) ووفق ما جاء في (1999) . Murray *et al* فكانت 65 عزلة وشكلت 67.7 % من عدد العزلات الكلي وهذه النسبة اعلى مما وجدته الحديثي (1998) فقد كانت النسبة (45.83 %) واقل مما وجدته الموسوي (2006) إذ مثل هذا النوع 78.4 % من بين بقية انواع الخميرة المسببة لخمج المسالك البولية الخميري لدى النساء الحوامل .

ان ظهور *C.albicans* بهذه النسب المرتفعة يجعلها المسبب الرئيسي للأصابة وهذا يتفق مع ما ذكره (Perera & Clayton (1994 حول سيادة هذا النوع مقارنة ببقية الانواع ، وقد تعود سيادته الى امتلاكه عوامل ضراوة عالية ، جدول (1) ، ففي دراسة الموسوي (2006) اظهرت 93 % من عزلات C,albicans قابلية التصاق عالية مقارنة ببقية انواع خميرة المبيضات كما ان (62 %) منها كان لها قدرة لأنتاج انزيم phospholipase وانزيم protease مما يجعلها الاكثر امراضية بين بقية الانواع .

من خلال الدراسة لاحظنا تأثر نسب العزل بعدة عوامل ابرزها الحمل pregnancy فقد عُزلت (44.6 %) من عزلات *C.albican* من نساء حوامل إذ يرتفع خلال الحمل مستوى هرمون الاستروجين في الخلايا الطلائية للمهبل مسبباً زيادة محتوى الكلايكوجين وبالتالي زيادة نشاط بكتيريا Lactobacilli لأستهلاكه وخفض قيمة PH مما يشجع استيطان خميرة المبيضات وتكوين الانبوب الجرثومي عند PH 5:5 = كبداية لتكوين الشكل الخيطي الممرض (De – Leon *et al* , 2002) كما حصلنا على 30.8 % من عزلات *C.albicans* من نساء يتعاطين حبوب منع الحمل او موانع الحمل الاخرى مما يجعلهن اكثر استعداداً للأصابة حتى بعد اخذ مضاد فطري مناسب إذ تعمل هذه الحبوب على زيادة الكلايكوجين في الخلايا الطلائية للمهبل وما يترتب عليه من خفض قيمة PH (Spinillo *et al* , 1993) ولا يخفى مالأستخدام المضادات الحيوية لفترات طويلة من دور في زيادة احتمالات الاصابة بالمرض فقد حصلنا على 35.4 % من العزلات من نساء يخضعن للعلاج بمضادات حيوية ولفترات ليست بالقصيرة وخصوصاً المضادين Tetracyclin و Ampicillin ومن بينهم بعض النساء الحوامل . ان فعالية المضاد الحيوي لاتقتصر على الكائن الممرض وانما تقتل الكثير من الفلورا الطبيعية للجسم مسببةً اختلال توازنها وبالتالي زيادة اعددا *C.albicans* فقد اكد (Oriel & Water worth . (1975 ان استخدام Tetracylin كعلاج لفترة (2 – 3) اسابيع زاد معدل الاصابة بالمبيضات بنسبة (10 – 30 %) .

جدول (2) نتائج الفحوصات التشخيصية الرئيسية لخميرة المبيضات *C.albicans*

الاختبار		النتيجة
الصفات المظهرية على وسط SDA		مستعمره كريمية ، لماعة ، ناعمة ، ملساء ، ومحدبة السطح
الفحص المجهري		خلايا كروية الى بيضوية الشكل بأبعاد (2.0 – 7.0) × (3.05 – 8.5) µ m
النمو على وسط Cycloheximide		+
تكوين الابواغ الكلاميدية على وسط Corn Meal Agar + tween 80		+
تكوين الانبوب الجرثومي Germ tube		+
النمو بدرجة حرارة 37 مْ		+
Gram stain		+
تخمر السكريات	Glucose	AG
	Maltose	AG
	Sucrose	–
	Lactose	–
	Trehalose	V

AG = تخمر مع تكوين غاز (حامض وغاز) / A = تخمر فقط (حامض فقط) / V = متنوعة

2. تأثير مضاد Nystatin على خميرة *C. albicans*

Nystatin اول انواع المضادات الفطرية البولينية المكتشفة وهي مضادات غير فعالية تجاه البكتيريا . تتمثل فعالية النستاتين في قدرته على الارتباط اختيارياً مع الاركستيرول Ergosterol الموجود في الغشاء البلازمي لخلايا الخميرة مسببةً زيادة نفاذيته وبالتالي نضوح مكونات الخلية الى الخارج مسببةً موتها (Ingroff *et al* , 1999) أظهرت نتائج الدراسة بأن اقراص السيطرة المشبعة بالمذيب

العضوي (DMSO) فقط لم تظهر أي تأثير على نمو الخميرة وهذا يتفق مع نتائج الموسوي (2003) الذي اكد عدم تداخل هذا المذيب مع فعالية المضاد الفطري ، جدول (3).

جدول (3) تأثير مضاد Nystatin على خميرة *C. albicans*

تركيز المضاد µm / ml	control	5.0	10.0	100.0	1000.0
اقطار مناطق التثبيط (mm)	0.0	0.0	7.5	15.0	26.0

تراوحت اقطار التثبيط بين (7.5 – 26.0) mm (جدول 3) . إذ بدأت بـ (7.5 mm) عند التركيز (10.0 µg \ m) وهي اقل مما وجده عبد الحسين (2001) عند نفس التركيز اذ كان قطر منطقة التثبيط (19 mm) وإتسعت مناطق التثبيط بتزايد التراكيز لتصل الى (26 mm) عند التركيز (1000 µg \ m) وهي اكبر مما حصلت عليه الموسوي (2006) عند نفس التركيز إذ كان القطر (23 mm) وهذا يتفق مع ما اكده Gunderson *et al* . (2000) بان للنستاتين مدى واسع ضد *C.albicans* وان فعاليته والمدة التي يحتاجها للقتل يعتمدان على تركيزه ، إذ ان طبيعة التداخل بين المضادات الفطرية ومكونات الغشاء البلازمي للخميرة لا تساعد على ظهور المقاومة لتراكيز عالية من المضاد ففي دراسة تضمنت مرضى مصابين بضرر الحروق تمت معالجتهم بتراكيز عالية من النستاتين لوحظ اختزال نسبة الاصابة بخميرة المبيضات مما يقلل من احتمالية الاصابة الجهازية بداء المبيضات (Desai *et al* .,1992) . ان انعدام التثبيط عند التركيز (5.0 µg / ml) وصغر منطقة التثبيط عند (10.0 µg / ml) يتناقض مع ما ذكره (1972) Hamilton – Miller حول امكانية تثبيط نمو الخميرة الممرضة مختبرياً بواسطة النستاتين عند تركيز (0.4 – 10.0 µg / ml) وقد يشير ذلك الى امتلاك الخميرة لصفة المقاومة للمضاد بتراكيزه الواطئة إذ اشارت بعض الدراسات الى امكانية حدوث طفرات مقاومة لدى *C.albicans* عند استخدام المضادات البولينية في العلاج بكثرة (Kerridge & Nicholas , 1986) وذكرت دراسة الحديثي (1998) ان هذه المقاومة قد تعود لطفرات شبه سائدة لكون الخميرة ثنائية المجموعة الكروموسومية .

3. تأثير بيكربونات الصوديوم على خميرة *C. albicans*

هناك الكثير من المواد الكيمياوية التي تستعمل كمضادات فطرية او كعوامل مساعدة في علاج الاصابة بالمبيضات المهبلية ومن هذه المواد بيكربونات الصوديوم Sodium bicarbonate ان انخفاض قيم PH في المهبل يعد من الظروف المشجعة للأستيطان المبيضات وانتشارها . ومن خلال دراستنا تبين ان *C.albicans* لم تسجل أي نمو عند التركيز 15 % لبيكربونات الصوديوم ومن ناحية اخرى لاحظنا انخفاض معدلات اعداد المستعمرات بشكل واضح مع تزايد تراكيز البيكربونات . ففي طبق السيطرة (الخالي من البيكربونات) كان المعدل (28.0) مستعمرة انخفضت الى (15.0 ، 8.0) مستعمرة عند التراكيز (5 % ، 10 %) على التوالي وانعدام ظهورها عند التركيز (15 %) ، (جدول 4) .

جدول (4) تأثير بيكربونات الصوديوم على خميرة *C,albicans*

التركيز المستخدم	Control 0%	% 5	% 10	% 15
معدل اعداد المستعمرات لمكررين	28.0	15.0	8.0	0.0

يكمن تأثير البيكربونات في كونها مصدراً عالٍ للقاعدية إذ تتحول بوجود ايونات الهيدروجين الى حامض الكربونيك الضعيف H_2CO_3 الذي سرعان ما يتحلل ذاتياً ليعطي ماء وثاني اوكسيد الكاربون محولاً الوسط الى شديد القاعدية (الزيدي وجماعته ، 2006) مما يدل على ان التراكيز (10 % ، 15 %) لبيكربونات الصوديوم رفعت من قاعدية الوسط (SDB) ومنعت نمو الخميرة وهذا يتفق مع ما وجده الحسيني (2002) إذ انخفضت اعداد مستعمرات *C.albicans* لديه عند قيم PH (9 ، 10) في حين بلغت اعلى اعدادها عند (PH = 5 ، 6) . ان تمتلك اغلب المايكروبات قيم PH عليا ودنيا لا يحدث عندها نمو (الزيدي وجماعته ، 1989) ولا يقتصر تأثير قيم PH على نمو *C.albicans* فقط وانما يتعداه ليؤثر على امراضيتها إذ ان هذه الخميرة تقوم بتكوين الانبوب الجرثومي عند 5.5 = PH مما يجعله الامثل لنموها وامراضيتها (Soll *et al* , 1987) وقد اكد (Nolte , 1982) ان هذه الخميرة تفضل النمو في الوسط الحامضي ويمكنها تحمل الحامضية العالية في حين لا تملك القدرة لتحمل التراكيز القاعدية .

4. تأثير المستخلصات النباتية على خميرة *C. albicans*

تزايد الاهتمام مؤخراً باستخدام المستخلصات النباتية للعلاج بدلاً عن المضادات الحيوية بسبب ما اظهرته من فعالية تثبيطية للمايكروبات بتقاوه عالية وأثار جانبية اقل (Hernandez *et al* ., 1994) اظهرت المستخلصات الكحولية الثلاثة قيد الدراسة تأثير مثبط واضح للنمو حتى في أوطأ تراكيزها ، (جدول 5) ، قد يعود ذلك الى ان *C.albicans* لم تآلف هذه المستخلصات من قبل ربما لقصر فترة ظهورها وقلة تداولها ولذلك لم تتمكن من مقاومتها بشكل مماثل للمقاومة التي ابدلتها للمضاد Nystatin وقد يكون للمادة الفعالة للمستخلصات ألفة كيمياوية للتفاعل مع مستلمات خاصة على الغشاء الخلوي تعمل على نقل جزيئاتها الى داخل الخلية مما يؤثر على عمل الانزيمات والمرافقات الانزيمية والجزيئات البايولوجية الاخرى (Hancok & Wong , 1984)

جدول (5) تأثير المستخلصات النباتية على خميرة *C.albicans*

اسم المستخلص وتركيزه	أقطار مناطق التثبيط بالملم		
	الثوم *Allium sativum*	الآس *Myrtus communis*	الينسون *Pimpinella anisum L.*
50 mg / ml	16	13	11
100 mg / ml	20	18	19
150 mg / ml	27	29	26
200 mg / ml	36	32	30

تمتلك النباتات الثلاثة المدروسة مواد فعاله لها دور في تثبيط نمو الخميرة إذ يمتلك الثوم عدد من المضادات الحيويه كالالستاتين الأول والثاني (Allistatine I & II) ومادتي Allicin و Garlicin المضادين للجراثيم وقد استخدمه الروس في استخراج مضادات لعلاج الامراض البكتيرية والفطرية (Egorovae , 1985) وهذا قد يفسر الفعالية التثبيطيه العاليه التي ابداها مقارنة بنباتي الاس والينسون.
أما الآس فيمتلك الفينولات كماده فعاله تجعله مثبطاً للمايكروبات حتى في تراكيزه الواطئه (Degtyarova & Pochinok , 1960) ويمتلك الينسون زيوت طياره متمثله بـ Anethole و Methylchavicol (حسين ، 1979) وقد اشار (1996) . Al- Ani *et al* الى كفاءة مستخلص الينسون الكحولي في تثبيط نمو *C. albicans* .
ومن خلال دراسة جدول (5) نلاحظ ان اقطار مناطق التثبيط تناسبت طردياً مع تزايد تراكيز المستخلصات الثلاثة وهذا يتفق مع (1994) . Hernandez *et al* الذي عزا ذلك الى ان تركيز المادة الفعاله يزداد بزيادة تركيز المستخلص .
كما تبين لنا وجود تباين في تأثير المستخلصات النباتية الثلاثة باختلاف نوع النبات المستخدم إذ كان لمستخلص الثوم تأثير مثبط اوضح واكثر مقارنة بالمستخلصين الاخرين ويمكن تفسير ذلك على أساس ان فعالية المستخلص تعتمد على ما يمتلكه النبات من مادة فعاله إذ ان المادة الفعاله لكل من الآس والينسون من النوع المتطاير مما يضعف فعاليتها التثبيطيه حال تطاير هذه المادة (Al – Rawi & Chakarvarty , 1988) وهذا يتفق مع ماذكره (1972) . Mitscher *et al* حول تأثر مفعول المستخلص النباتي بنوع المادة الفعاله للنبات وعمر النبات وظروف خزنه وتجفيفه.

References

1. الحديثي ، منتهى مهدي عبد الوهاب (1998) دراسة مقاومة المبيضات المرضية *Candida spp* . للمضادات الفطرية الشائعة الاستعمال . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

2. الحسيني ، عدي متعب هادي (2002) دراسة مايكرو بايولوجية لمسببات تسوس الاسنان والتهاب اللثة وما حول السن والخراجات حول الجذر في محافظة النجف الاشرف . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الكوفة .

3. الزيدي ، حامد ؛ عبد الكريم ، الهام سعيد وابراهيم ، ظمياء محمود (1989) علم الاحياء المجهرية العملي ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .

4. الزيدي ، حامد مجيد (2000) علم الاحياء المجهرية النظري ، ط 2 ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .

5. الموسوي ، يعقوب عبد الواحد (2003) التحري عن البكتيريا السالبة لصبغة غرام والخمائر كمسببات للتسمم الدموي في الاطفال حديثي الولادة . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية .

6. الموسوي ، ازهار نوري حسين (2006) العزل والتثبيت الوراثي للخمج البكتيري والفطري في المسالك البولية وعلاقته بمرض السكري بين النساء الحوامل في محافظة القادسية . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة القادسية .

7. حسين ، فوزي طه قطب (1979) النباتات الطبيعية (زراعتها ومكوناتها) . الدار العربية للكتاب ، ليبيا وتونس .

8. عبد الحسين ، محمد محسن (2001) دراسة حول الفطريات الانتهازية المصاحبة لألتهابات الأذن الوسطى في محافظة القادسية . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة القادسية .

9. Abdul – Rahman , G , Y . (1995) Effect of some medicinal plants and chemicals on the growth of pathogenic bacteria . J . Vet . Sci

10. Al – Ani , A . B . ; Nadir , M . T . & Al – khazraji , K . (1996) The antimicrobial activity of volatile oils isolated from some Iraqi plants . J . of Al – Anbar UniV . , 1 : 19 – 21 .

11. Al – Rawi , A . & chakarvarty , H . L . (1988) Medicinal plants of Iraq . 2 nd ed . Ministry of agriculture and Irrigation . Baghdad . Iraq .

12. Degtyarova , A . P . & Pochinok , V . Y . (1960) physicochemical and anti bacterial properties of crystalline subs – isolated from the leaves of *Myrtus communis* , E . Levapimea and E . Wilkinsoniana . Pharm . J . (Kieve) . 15 : 47 – 52 .

13. De . Leon , E . M . ; Jacober , S . J . ; Sobel , J . D . and Foxman , B . (2002) prevalence and risk factors for vaginal Candida colonization in woman with type 1 & 2 diabetes . BMC . Infect . Dis . , 2 : 1 – 11 .

14. Desia , M . H . ; Rutan , R . L . ; Heggers , J . P . & Herdon , D . N . (1992) Candida infection with and without nystatin prophylaxis . 11 – year experience . with patients with burn in jury . Arch . Surg . , 127 (2) : 159 – 162 . " Abs " .

15. Egorova , N . S . (1985) Antibiotics ascintific approach . Mirpublishers , Moscow .

16. Granger , S . E . (1992) The aetiology and pathology of vaginal candidiasis British . J . Clin . Practicle , 46 (4) 1 – 12 .

17. Gunderson , S . M . ; Hoffman , H . ; Ernst , E . J . ; Pfaller , M . A . & . Klepser , M . E . (2000) In vitro pharma codynamic characteristics of Nystatine including time – kill & post antifungal effect . J . Antimicrob . Agental . Chemother . , 44 (1) : 2887 – 2890 .

18. Hamilton – Miller , J . M . T . (1972) Physiological properties of mutagen – induced variants of *C.albicans* resistant polyene antibiotics . J . Med . Micribiol . , 5 : 425 – 440 .

19. Hancock , R . E . W . & Wong , P . G . V . (1984) Compounds wich increase the permeability of the *Pseudomonads aeroginosa* outer membrane . Antimicrobs Agents chemother . 26 : 48 – 52 .
20. Harbone , J . B . (1984) Phytochemical methods aguid to modern techniques of plants analysis . 2 nd ed . London , Newyourk , Chapman and Hall .
21. Hernandez , M . ; Lopez , P ; Abonal , R . M . ; Darias , V . & Arias , A . (1994) Antimicrobial activity of visnea mocanera leaf extracts . J . Ethnophar macology . 41 : 115 – 119 .
22. Hindler , J . (1998) Antimicrobial susceptibility testing . In : Essential producers for clinical microbiology press . Washington . U . S . A .
23. Ingroff , A . E . ; White , T . & P faller , M . A . (1999) Antifungal agents and susceptibility test . In : Murray , P . R . ; Baron , E . j . ; P faller , M . A . ; Tenover , F . C . & Yolken , R . H . (Eda) . Manual of clinical microbiology . Washington . U . S . A .
24. James , A . & Duke , P . D . (2001) Mothernature Library online , the Green . Pharmacy .
25. Kerridge , D . & Nicholas , R . O . (1986) Dray resistance in the opportunistic pathogens *C.albicans* & C . glabrata . J . Antimicrob . chemother . , 18 (suppl .) : 39 – 49 .
26. Kien , C . H . & white , T . C . (1999) Effect of azole antifungal drugs on the transition from yeast cells to hyphae in susceptible resistant isolates of the pathogenic yeast *C.albicans* . J . Antimicrob . Agents chemother . , 43 (4) : 763 – 768 .
27. Lo , H . J . ; kohler , J . R . ; Didomenico , B . ; Lobenberg , D . ; Cacciapuoti , A . & Flink , G . R . (1997) Non filamentous *C.albicans* mutants are avirulent . Cell . , 90 : 939 – 949 .
28. Markus , N . ; andreas ; G . ; Anita , F . & Lell , E . (2002) Impact of N – chlorotaurine of viability and production of aspartyl proteinases of *Candida spp* . J . Antimicrob .Agents . Chemother . , 1996 – 1999 .
29. McGinnis , M . R . (1980) Laboratory hand book of medical Mycology . Academic press . New York .
30. Meyer , S . a . ; Payre , R . w . & Yarrow , D . (1992) Candida . Berkout . In : kurtzaman , C . P . & Fell , I . W . , the yeast ataxonomic study . 4 th ed . amstterdam .
31. Millon , L . ; Drabacheff , C . ; piarroux , R . ; Monod , M . ; Reboux , G . et al (2001) Longitudinal study of anti – *C.albicans* musocal immunity against aspartic protein uses in HIV – in fected patient . J . Acquir . Immunedefic . Synder . , 26 (2) : 137 – 144 .

32. Mitscher , L . A . ; Len , R . D . ; Bathala , M . S . ; Nanwu , W . & Beal , J . L . (1972) Antimicrobial Agents from higher plants introduction . Rationale and Methodology . Lioydia , 35 : 2 – 9 .
33. Murray , P . R . ; Baron , E . J . ; Pfller , M . A . ; Tenover , F . G . & Yolken . R . H . (1999) Mannal of clinical microbiology . 7 th ed . ASM press . washigton .
34. Nolte , W . A . (1982) Oral Microbiology with basic Microbiology & Immunology . 3 rd ed . The C . V . , Mosby Co .
35. Odds , F . C . (1979) candida & candidosis , Leicester Univ . press . Leicester .
36. Oriel , J . D . & Waterworth , P . M . (1975) Effect of minocycline and tetracycline on the vaginal yeast flora . J . Clin . Pathol . , 28 : 403 .
37. Perera , J . & Clayton . (1994) Incidence , species distribution and antifungal sensitivity patterm of vaginal yeast in Srilankan women mycoses , 37 (9 – 10) : 357 – 60 . " Abs "
38. Pichon , N ; Joseph , M . J . & Raynand , J . (1993) . 3 – beta D – Myricetin of *Myrtus communis* plants medicinales at phytoterapia . 26 : 86 – 90 .
39. Richard , L . & Sweet , M . D . (1985) Importance of differential diagnosis in acute vaginitis . Am . J . Obstet . Gynecol . , 152 : 921 – 923 .
40. Saxena , G . ; Farmer , S . ; Hancoc , R . & Towers , G . (1995) Antimicrobial compounds from *Alnus rubra* . Int . J . of pharmeognos , 33 – 36 .
41. Soll , D . R . ; Jangtimm , C . J . ; McDowell , J . ; Hicks , J . & Gaiask , R . (1987) High – frequency switching in candida strains isolated from vaginitis patients . J . Clin . Microbiol . 25 : 1611 – 1622 .
42. Spinillo , A . ; Pizzol , G . ; Colonnal , L . ; Nicola , S . ; De seta , F . & Guaschino , s . (1993) Epidemiologic characteristics of women with idiopathic Vecurrent vulvovaginal candidiasis . Obstet . Gynecol . , 81 (5) : 721 – 727 .
43. Waage , S . & Hedin , P . (1985) Quenre tien 3 – Galacto syl (1 – 6) gluco side , acompound from harrow leaf veted with anti microbial activity phytochemistry , 24 : 243 – 245 .
44. Weber , N . D . & Anderson , D . O . (1992) in vitro virucidal effects of *Allium sativum* (Garlic) extracted compounds planta Med . , 58 (5) : 417 – 423 .