

التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الحي

المؤلف : د. باسم بطاح*

الملخص

يعد استعمال الزيوت الأساسية في معالجة الأخماج الفطرية تحدياً. بذلت العديد من الجهود لجعل هذا التطبيق أكثر فعالية. تعد الأشكال الموضعية حالياً من أكثر أشكال الزيوت الأساسية تطبيقاً. استخلص الزيت الأساسي من أوراق الزعتر البري الجافة بطريقة الجرف ببخار الماء وتم تحضير بخاخ قابل للتطبيق الموضعي بتركيز 0.5%. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فعالية بخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد جروح مخموجة بسلالات فطرية معزولة سريريا مقاومة على أكثر من مضاد فطري (الفلوكونازول Fluconazole والأمفوتريسين ب Amphotericin B وهي فطريات المبيضات البيضاء *candida albicans* والرشاشية الدخناء *Aspergillus fumigatus*). تم تطبيق بخاخ زيت الزعتر الأساسي على الجردان بعد إحداث جروح مخموجة بفطر الرشاشية الدخناء و بفطر المبيضات البيضاء. أظهرت النتائج تحسناً واضحاً في شفاء الجروح المخموجة والمعالجة ببخاخ زيت الزعتر الأساسي ابتداءً من اليوم الثالث لتطبيق المعالجة ولوحظ الشفاء التام بعد 9 أيام من المعالجة بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة التي تحول فيها الإنتان إلى شكل مزمن. أثبتت الدراسة بأن بخاخ زيت الزعتر المحضر أظهر فعالية ملحوظة في معالجة والتئام الجروح المخموجة بفطور الرشاشية الدخناء وبفطور المبيضات البيضاء.

الكلمات المفتاحية:

بخاخ زيت الزعتر، مضاد فطري، زيت أساسي، سلالات فطرية مقاومة.

* قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة انطاكية السورية الخاصة

**Anti-fungal activity of *Thymus syriacus* essential oil spray against
resistant fungal strain clinically isolated: *in vivo* study**

Author: Dr. Basem Battah*

Abstract:

Using of essential oil in treating of fungal infection is challenging. There is a lot of efforts to make this application more effective. Recently, topical formulations considered as the most used formulations. Essential oil was extracted from dried *Thymus syriacus* leaf by steam distillation method. A topical spray was prepared at 0.5% concentration. The aim of these study is to evaluate the efficacy of *Thymus syriacus* spray against wound created on the rats and infected with multi drug resistant fungal strains (*Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*), resistant against fluconazole and amphotericin B. against wound infected with *Aspergillus fumigatus* . The spray was applied on the wound created on the rats and infected fungal strains (*Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* . The obtained results demonstrated a significant improvement in the healing process of the infected wound and treated with *Thymus syriacus* spray starting from the Third day of treatment application and we observed a complete healing after 9 days of treatment respect to the control group which exhibit a chronic infection. Our results demonstrated that *Thymus syriacus* essential oil spray confirmed efficacy in treating infected wound with *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*.

Key words: Thymus essential oil spray, antifungal, essential oil, resistant fungal strains.

* Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Antioch Syrian Private University.

basem.battah.sc@hotmail.com

1. المقدمة introduction:

تصدرت الفطريات الممرضة في السنوات الأخيرة مراتب متقدمة محلياً في الانتشار والقدرة على إحداث العدوى الإنتانية في الفئات العمرية المختلفة، ويزيد خطورتها كعوامل ممرضة امتلاكها لمقاومة شبه تامة تجاه طيف واسع من المضادات الفطرية المستعملة في التغطية العلاجية في المستشفيات السورية (1)، مما دفع الأبحاث المحلية بالتوجه إلى دراسة تشخيصية وتفصيلية عن أكثر الأجناس الفطرية انتشاراً محلياً، وتبين أن جنسي المبيضات *Candida sp.* والرشاشيات *Aspergillus sp.* أتيا في المراتب الأولى وأنهما مسؤولان عن طيف واسع من الإنتانات الفطرية المحلية (إنتان المجاري البولية- التناسلية - إنتان الدم- إنتان السحايا- الإنتان الرئوي - داء السداة الأذنية). حيث صنف منظمة الصحة العالمية WHO هذين الجنسين من الفطريات بالاعتماد على فوعتها و مقاومتها على المضادات الفطرية، و تم التحذير من هذين الجنسين المبيضات *Candida sp.* والرشاشيات *Aspergillus sp.* ، نظراً لمعدلات الوفيات العالية و حالات المقاومة التي تسببها و خاصة بالمشافي. وكان الأمر اللافت والأكثر خطورة في السنوات الأخيرة هو مساهمة هذين الجنسين ولاسيما جنس المبيضات في العدوى الإنتانية المكتسبة من البيئة المحيطة في المراكز الصحية المحلية (المشافي)، ومقاومته التامة للعلاج المشفوي المطبق لعلاج العدوى المكتسبة مثل الفلوكونازول *fluconazole* و الأمفوترسين ب *Amphotericin B*. حيث تبدي هاتين السلالتين الفطريتين مقاومة تجاه معظم المضادات الفطرية المستعملة سابقاً (2). نظراً لعدم فعالية معظم المضادات الفطرية المستعملة حالياً مثل (الفلوكونازول *fluconazole*، الأمفوتريسين ب *Amphotericin B* ، الأزول *azoles* والإيكينوكانديس *ehinocandins*) بأشكالها الموضعية و الجهازية تجاه السلالات الفطرية متعددة المقاومة و بشكل خاص جنسي المبيضات *Candida sp.* والرشاشيات *Aspergillus sp.* (20,21). وانطلاقاً من خطورة ما سبق على المستقبل الصحي في المجتمع المحلي، كان لابد من البحث عن بدائل للمضادات الفطرية عديمة أو قليلة الفعالية على السلالات الفطرية المقاومة، تكون ذات مصادر أكثر تنوعاً وأماناً،

وتقاطعاً مع غنى الغطاء النباتي السوري بالنباتات الطبية والتوجه العالمي نحو المركبات الطبيعية كبداية دوائية مستقبلية لاسيما في إطار مواجهة المقاومة الجرثومية والفطرية (3,4) . تم انتقاء واحد من النباتات المنتشرة في البيئة السورية وذلك بالاعتماد على المجتمع المحلي بما يعرف بالطب الشعبي دون معرفة دقيقة وعميقة بالمواد الفعالة المسؤولة عن هذه الفعالية في العلاج أو آلية عمل المواد الفعالة فيها، نذكر هنا بشكل خاص الزيوت النباتية المختلفة واسعة الاستعمال حتى اليوم في الجوانب التجميلية والطبية التقليدية ومنها زيت الزعتر السوري البري من النوع *Thymus syriacus* .

يستعمل نبات الزعتر السوري *Thymus syriacus* البري المنتشر في أغلب المحافظات السورية وخاصة في المناطق الشمالية الغربية والساحلية والجنوبية الغربية في الطب الشعبي إذ تبين أن له نتائج إيجابية كبيرة في علاج السعال وأمراض الجهاز التنفسي بالإضافة إلى بعض حالات اضطرابات الجهاز الهضمي (5). بينما لا توجد أي دراسة بحثية هدفت إلى التأكد بشكل علمي مُمنهج من الفوائد الصحية لهذا الزيت، فضلاً على أنه لا توجد أي دراسة هدفت للاستفادة من هذه الفوائد عن طريق تحضير تركيبة من هذا الزيت مناسبة للإتياء الموضوعي للاستفادة من خواصه المضادة للفطريات.

وقد توصلنا في هذا البحث إلى التأكيد على أهمية التنوع النباتي الكبير في البيئة السورية في التوصل إلى مركبات جديدة ذات فعالية حيوية تجاه الفطريات المقاومة للعلاجات التقليدية، الأمر الذي قد يساهم بشكل كبير في تخطي أكبر تحديات القطاع الطبي العالمي وعلى رأسها الانتشار السريع والواسع للسلالات الفطرية المقاومة لمعظم الصادات الفطرية شائعة الاستعمال في العلاج. على الرغم من هذا الاعتماد الكبير في العلاج التقليدي أو المساعد لتعزيز الاستجابة المناعية في مواجهة الجسم للعدوى الجرثومية أو الفطرية على الزعتر السوري البري، إلا أن البحث العلمي الهادف إلى سبر جوانب الاستخدام العلاجي لزيت العطري أو إلى تحري مخزونه الكيميائي من المواد ذات الفعالية الحيوية لا يزال نادراً وغير مسبوق. ومن المعروف أن معظم الاستخدامات الطبية لنوع *Thymus syriacus* مرتبطة بالزيت العطري الذي يحتوي على مواد كيميائية مختلفة النوعية والتركيز بحسب المنطقة التي ينمو أو يستزرع فيها.

2. هدف البحث Aim of the research : تقييم فعالية بخاخ محضر من زيت الزعتر الأساسي داخل جسم الكائن الحي *In Vivo* ضد الفطور الممرضة ومتعددة المقاومة على المضادات الفطرية، الرشاشية الدخناء *Aspergillus fumigatus* و المبيضة البيضاء *Candida albicans*.

3. مواد وطرائق البحث Materials and methods of the research:

3. 1 جمع العينات النباتية:

جُمعت العينات النباتية للزعتر البري من فلورا سورية طبيعية، وذلك من مناطق مختلفة من ريف مدينة دمشق، حيث تم الجمع خلال شهر أيار في مرحلة الأزهار. 3. 2 استخلاص الزيوت الأساسية:

تم استخدام الأجزاء الجافة (الأوراق) ، تم تجفيف الأوراق في الظل لمدة أسبوع عند درجة حرارة 25°C . تم استخلاص الزيت العطري باستخدام طريقة التقطير بالبخار حتى يتم فصل الزيت. تم فصل باقي خليط الخواص من الزيت والماء بواسطة الكلوروفورم، ثم تم تبخير الكلوروفورم باستخدام جهاز المبخر الدوار وتم جمع الزيت العطري. ومن ثم تسجيل نسبة المردود الزيتي من مجمل الوزن الجاف للجزء النباتي المستخدم (6)، الجدول (2).

3. 3 تحضير تركيبة على شكل بخاخ من زيت الزعر السوري الأساسي:

تم تحضير بخاخ موضعي من زيت الزعر السوري الأساسي و ذلك عن طريق حل 5. 0% من زيت الزعتر الأساسي بماء مقطر مزال الشوارد معقم عن طريق مزج 5% من الكحول الإيثيلي 96% مع الزيت بدرجة حرارة 25°C ، و ذلك للحصول على مزيج متجانس قابل للتطبيق.

3. 4 التأثير المضاد الفطري لتركيبية الزيت الأساسي:

3. 4. 1 جمع العينات الفطرية و تأكيد الأنواع الفطرية المعزولة:

تم جمع العينات من مستشفى الأطفال الجامعي بمدينة دمشق خلال الفترة الزمنية الممتدة خلال الأشهر (شباط - أيار) من عام 2025، من عينات إنتانية مختلفة (دموية - بولية). حيث تم الاعتماد في الدراسة على نتائج زروعات المخبر الجرثومي في ذات المستشفى. تم تأكيد الأنواع الفطرية المعزولة بالاعتماد على مجموعة من الزروعات على الأوساط النوعية (سابورو آغار، آغار الدم) وتحديدتها على المستوى الجزيئي باستعمال PCR و ذلك باستعمال مشروعات (primers) عامة لكل من سلالات المبيضة البيضاء و الرشاشية الدخاء (7)، وتحدد صفات المستعمرات النامية وخواصها و صفاتها الشكلية على وسط صلب فتظهر المبيضة البيضاء على شكل مستعمرات كريمة بيضاء ناعمة. بينما الرشاشية الدخاء فتظهر على شكل مستعمرات بيضاء تتحول إلى اللون الرمادي مع الوقت، ومن ثم تحديد الصفات المجهرية بعد التلوين بملون غرام حيث تتميز فطور المبيضة البيضاء بخلايا بيضوية الشكل كبيرة أبعادها 4-2 ميكرون تظهر بلون أزرق إيجابية الغرام. كما تظهر فطور الرشاشية الدخاء على شكل خيوط مع وجود تفرعات بزواوية 45 درجة و هي إيجابية الغرام.

3. 4. 2 اختبار التحسس الفطري:

تم إنماء فطر الرشاشية الدخاء على وسط سابورو السائل و الحضان 24 ساعة بدرجة حرارة 37°C. تمت دراسة مدى استجابة الرشاشية الدخاء و المبيضة البيضاء للمضادات الفطرية (Amphotericin B, Fluconazole) بطريقة أقراص كيربي باور حيث تم فرش العينات الفطرية المأخوذ من المعلق الفطري السابق بتركيز (2×10^7 CFU/ml) على وسط مولر هنتون الصلب المعدل (المضاف له زرق الميثيلين و الغلوكوز) و استعمال أقراص عيارية للمضادات الفطرية الأمفوتريسين ب Amphotericin B و الفلوكونازول fluconazole و الحضان لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°C .

3. 4 . 3 تقييم الفعالية المضادة للفطور لزيت الزعتر السوري الأساسي على وسط صلب :

33

على زيت الزعتر العطري فعالية ضد فطور أخرى مثل الرشاشية السوداء *Aspergillus niger* ولرشاشية الصفراء *Aspergillus flavus* (15) يعود التأثير المضاد الفطري في زيت الزعتر العطري إلى المكونين الفعالين الرئيسيين التيمول و الكارفكرول (16,18). تعود آلية التأثير المضادة للفطور للزيوت العطرية إلى قدرة مكونات الزيوت العطرية هذه على تحطيم الجدر البلاسمية للخلايا ، و هذا يزيد من نفوذية الجدار و يخرب البروتينات الغشائية، يثبط عملية التنفس، يؤدي إلى تبدلات في عملية نقل الحديد، و يحرض تسرب الشوارد و المكونات الخلوية الأخرى (17,19) .

3. 5 الزرع الخلوي :

تم زرع الخلايا من نوع PNT1a (خلايا بروتاتة بشرية) في وسط RPMI fetal bine serum (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, MO, USA) مزود بمصل بقرى جنيني بنسبة 10% (FBS, sigma)، و 1% غلوتامين بالإضافة إلى 2% بينسيلان ١ سترپتومايسين و من ثم الحضان بدرجة حرارة 37C و نسبة 5% CO2 و رطوبة مضبوطة. تم زرع الخلايا إنزيمياً باستخدام (0.25% تريسين|EDTA) (13) .

3. 6 اختبار العيوشية الخلوية باستخدام مقايصة MTT:

تم إجراء اختبار العيوشية الخلوية باستعمال مقايصة MTT لتقييم تأثيرات زيت العطري للزعتر السوري *Thymus syriacus* essential oil على خلايا مشتقة من البروستات الطبيعية normal prostate cells (PNT1a)، (14) تم زرع الخلايا بتعداد 5000 خلية ١ البئر على صفائح 96 بئر تحوي 100 ميكروليتر من وسط RPMI، و تم تركها لتلتصق لمد 24 ساعة. تم عد الخلايا باستخدام عداة الخلايا من نوع (Biosystem, Atlanta, GA, USA ، luna II) . تم تعريض الخلايا إلى تراكيز مختلفة من زيت الزعتر الأساسي الممدد بوسط الزرع 0.5% توين 80. تراوحت التمديدات من 16% إلى 0.004% والتي تم تقييمها بثلاث تكرارات. تم الحضان لمدة 24 ساعة ومن ثم إضافة كاشف

MTT بتركيز (5mg/ml) لكل بئر لمدة 24 ساعة. ومن ثم تم قياس الامتصاصية بطول موجة 570nm باستخدام قارئ Synergy HTX . تم احتساب العيوشية كنسبة للمجموعة الشاهدة غير المعالجة مع عتبة عيوشية 50% مشيرة إلى السمية.

3. 7 اختبار الفعالية المضادة للفطريات داخل جسم الكائن الحي:

3. 7. 1 حيوان التجربة: تم العمل على 12 جرذ مقسمة على مجموعتين، وتم استعمال 3 جرذان ذكور لكل مجموعة تجربة شاهدة و معالج مخموجة بأحد الفطرين المبيضُة البيضاء *C. albicans* والرَّشَّاشِيَّةُ الدُّخَّاء *A. fumigatus* . المجموعة الشاهدة (المخموجة غير المعالجة) و المجموعة المعالجة (المخموجة والمعالجة) . و ذلك باتباع المبادئ الموضحة بالملكة المتحدة على حيوانات التجربة (الإجراءات العلمية)، قانون 1986 و الدلائل الإرشادية المرتبطة من الاتحاد الأوروبي من أجل العمل على حيوانات التجربة (EU/63/2010).

3. 7. 2 إحداث العدوى الفطرية الجلدية:

تم إجراء تجربة على الجرذان كنماذج حيوانية، إذ أجريت جروح تجريبية على ظهر الجرذان بقطر 1 cm وقسمت بعدها الحيوانات على عدة مجموعات: مجموعة شاهدة اخمجت فيها الجروح بالسلالة الفطرية المدروسة من نوع المبيضُة البيضاء وتركت دون أي علاج، توازيها مجموعة مماثلة تمت معالجتها بالزيت العطري للزعتر السوري بشكل بخاخ محضر بتركيبية تحوي التركيز غير السام (0.5%) من الزيت والذي أفرزته نتائج التجربة السابقة، ومجموعة شاهدة اخمجت فيها الجروح بالسلالة الفطرية المدروسة من نوع الرَّشَّاشِيَّةُ الدُّخَّاء وتركت دون أي علاج، توازيها مجموعة مماثلة تمت معالجتها بالزيت العطري للزعتر السوري بنفس الطريقة المذكورة آنفاً. تمت متابعة الحيوانات في جميع المجموعات يومياً وتسجيل الملاحظات العيانية ، حيث تم التقاط الصور للجروح في المجموعات الشاهدة و

المجموعات المعالجة. ومن ثم إجراء المقاطع النسيجية لمنطقة الجرح بهدف تتبع مراحل الشفاء وذلك بعد مرور 3 و 9 أيام من بدء التجربة.

3. 7. 3 اخذ العينات النسيجية وتحضيرها:

أُخذت العينات النسيجية حسب الفترات الزمنية سابقة الذكر وتم أخذ العينة الشاهدة مع العينة المعالجة في كل مرة وحُفظت العينات بالفورومول ليتم دراستها نسيجياً فيما بعد. تم تثبيت أنسجة الجلد المستأصلة من مناطق الجرح في 10% فورمول، ومن ثم معالجة الأنسجة بالبارافين وتقطيعها بسماكة 5 ميكرون باستخدام microtome ثم صبغها باستخدام طريقة الأيوزين - الهيماتوكسيلين Eosin. method - Hematoxylin تم فحص الشرائح المحضرة تحت المجهر الضوئي ثم تم إجراء صورة للجرح لكل مجموعة باستخدام الكاميرا الرقمية المرفقة بالمجهر في الأيام 3 و 9.

4. النتائج و المناقشة

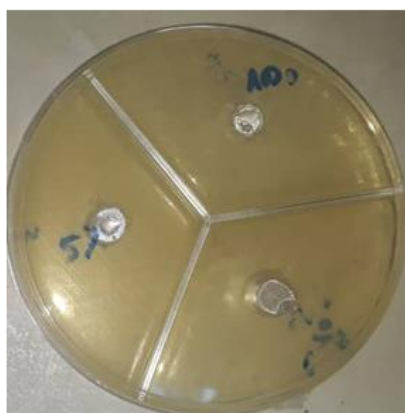
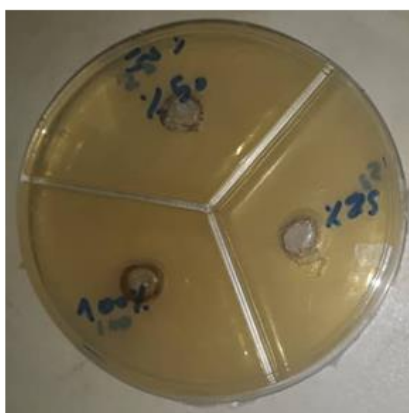
4. 1 فعالية البخاخ المضادة للفطور خارج جسم الكائن الحي:

أوضحت نتائج الدراسة المخبرية التطبيقية لزيت الزعتر السوري الأساسي فعالية قوية تجاه سلالتين من أشد السلالات الفطرية مقاومة تجاه المضادات الفطرية المطبقة للعلاج والمسببة لطيف واسع من الإلتهابات المشفوية المكتسبة من البيئة المحيطة محلياً، حيث أعطت نتائج أقطار هالات التثبيط في حال المُبيضة البيضاء وبتراكيز تراوحت بين (5،100%) فعالية تثبيط كاملة بدون أي نمو فطري. وكانت الفعالية تجاه الرَشَّاشِيَّة الدُّخْء *Aspergillus fumigatus* كبيرة وذلك بالاعتماد على أقطار هالات التثبيط التي تراوحت بين (30-80mm) عند تراكيز تراوحت بين (5،100%) وبالمقارنة مع نتائج اختبارات التحسس نجد أن كل من المبيضات والرَشَّاشِيَّات أبدت مقاومة شبه تامة

تجاه المضادين الفطرين شائعي الاستعمال في علاج العدوى الإنتانية الفطرية (Fluconazole, Amphotericin B)، الجدول (3و4) الشكل (1و2 و3).

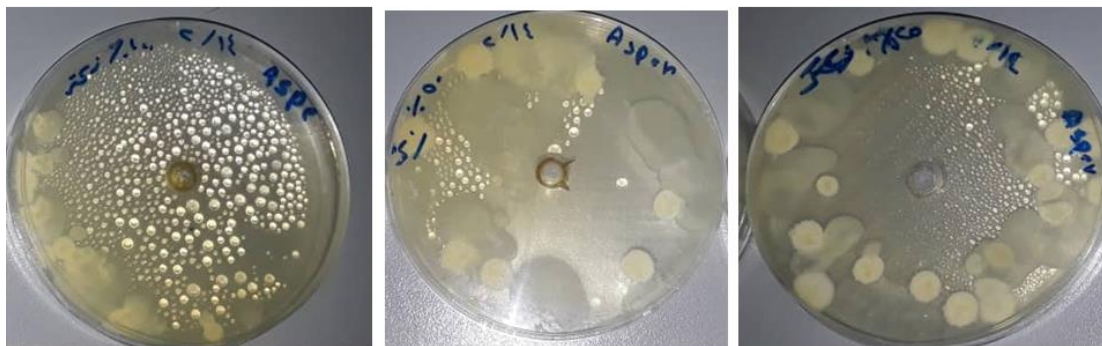
الجدول 3: يوضح الجدول أقطار هالات التثبيط للبخاخ المركب عند التطبيق على وسط صلب ضد كل السلالتين الفطريتين المبيضّة البيضاء *C. albican* والرّشاشيّة الدّخّاء *A. fumigatus*

Fungal strain	100%	50%	25%	10%	5%
<i>Candida albicans</i>	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
<i>Aspergillus fumigatus</i>	80mm	80mm	60mm	35mm	30mm



الشكل 1: يوضح الشكل نتائج اختبار فعالية زيت الزعتر العطري بتركيزات مختلفة (5-10-25-100%) على وسط صلب تجاه سلالة المبيضة البيضاء الفطرية المعزولة سريريا.

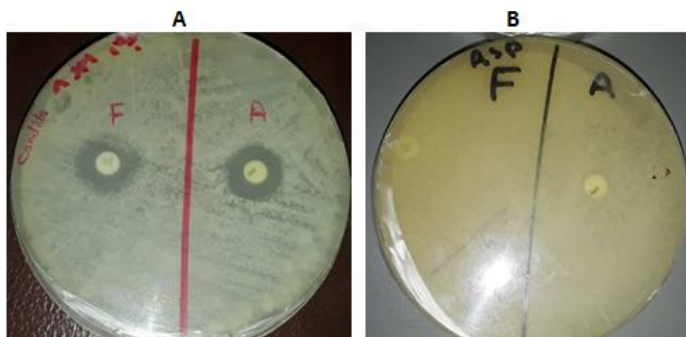
التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الح



الشكل 2: يوضح الشكل نتائج اختبار فعالية زيت الزعتر العطري بتركيزات مختلفة (25-50-100%) على وسط صلب تجاه سلالة الرشاشية الدخاء الفطرية المعزولة سريريا.

الجدول 4: يوضح الجدول أقطار هالات التثبيط لكل من المضادات الفطرية fluconazole و Amphotericin B عند التطبيق على وسط صلب ضد كل من السلالتين الفطريتين المبيضة البيضاء *A. fumigatus* والرشاشية الدخاء *C. albicans*

Fungal strain	Fluconazole	Amphotericin B
<i>Candida albicans</i>	15mm	10mm
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0mm	10mm

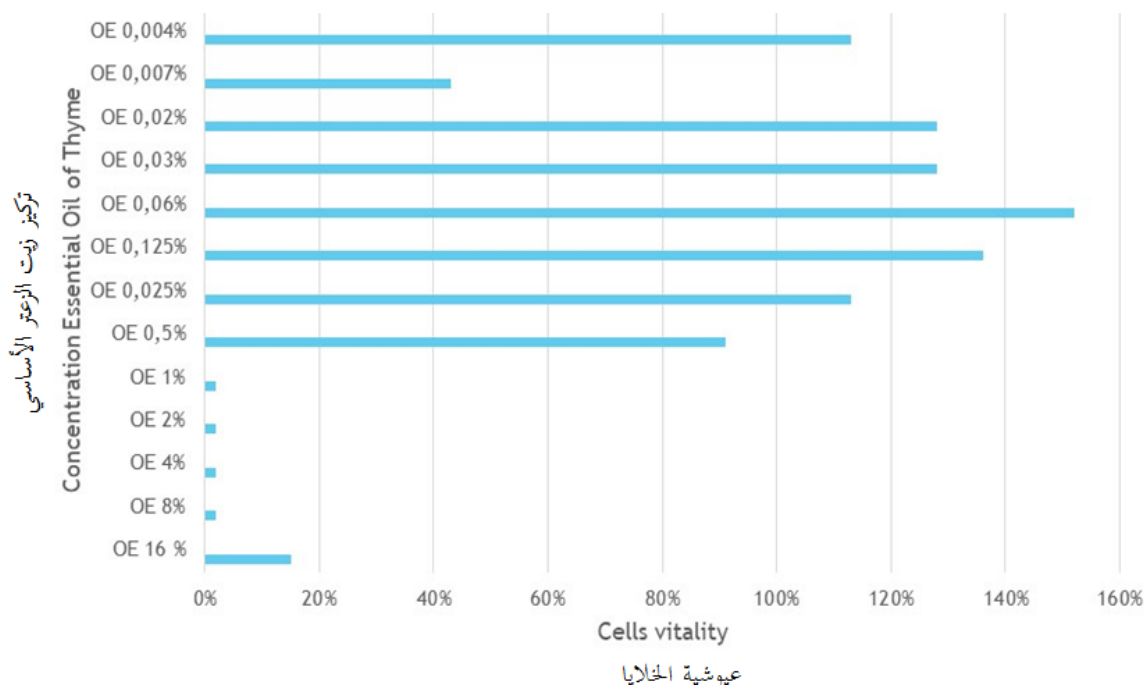


الشكل 3: يوضح الشكل أقطار حالات التنشيط لكل من المضادات الفطرية fluconazole و Amphotericin B عند التطبيق على وسط صلب ضد كل من السلالتين الفطريتين: (A) المبيضة *C. albican* (B) الرشاشية الدخناء *A. fumigatus* .

2.4. السمية الخلوية لزيت الزعتر الأساسي :

تم إجراء اختبار العيوشية الخلوية باستعمال مقايصة MTT لتقييم تأثيرات زيت العطري للزعتر السوري *Thymus syriacus* essential oil على خلايا مشتقة من البروستات الطبيعية *normal prostate* cells (PNT1a)، حيث أظهرت النتائج بأن عيوشية الخلايا ليست مثلى عند التعرض لتراكيز عالية (من 1 - 16%) من زيت الزعتر الأساسي. وتزداد العيوشية الخلوي بانخفاض تركيز الزيت الأساسي. (الشكل 4). تم حساب العيوشية الخلوية بالاعتماد على المعادلة التالية: (OD [570 nm]) العينة المدروسة / (OD [570 nm]) الشاهد السلبي = $R; R = 100 \times$ عيوشية الخلايا % .

التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات
الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الح



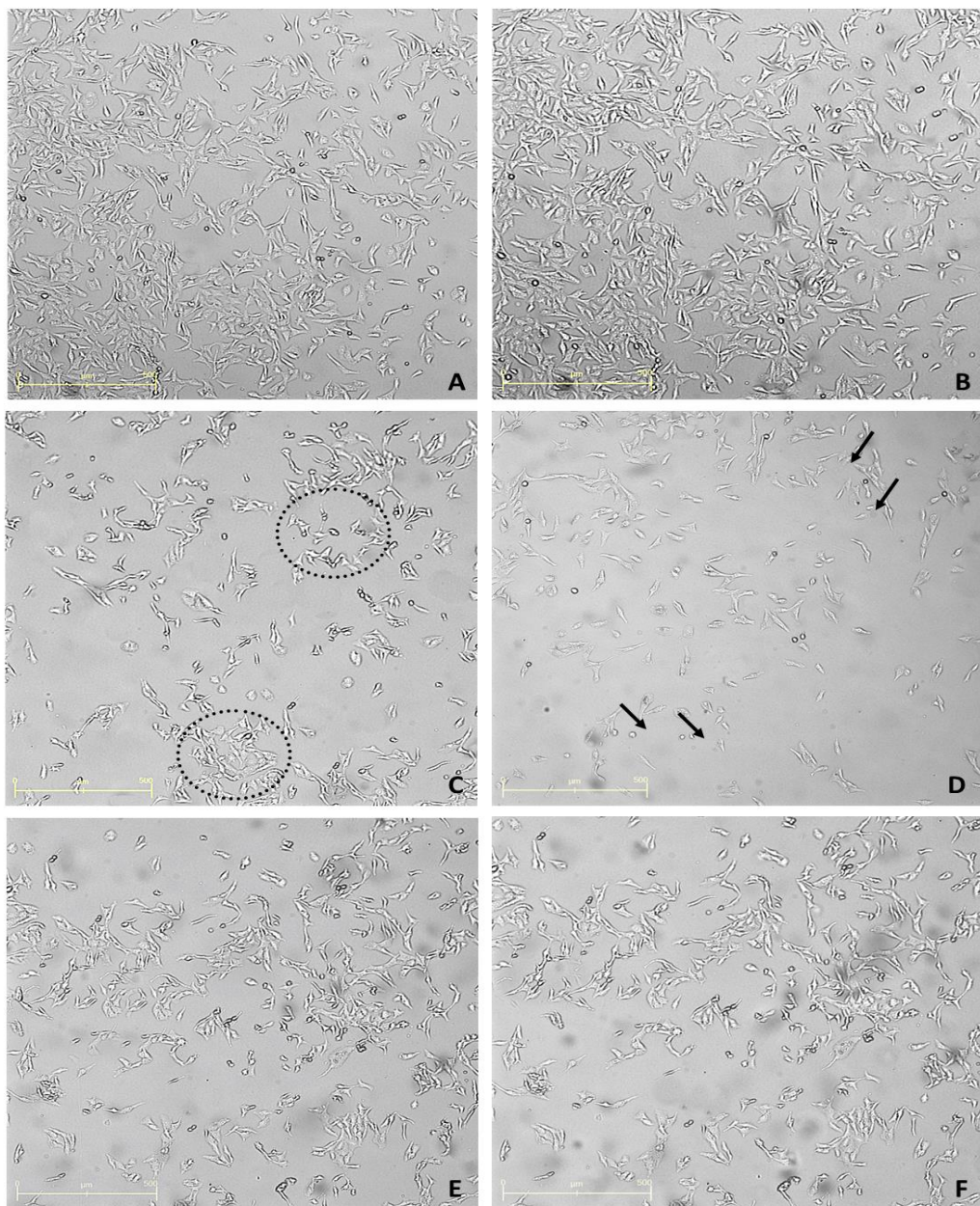
الشكل (4) : يوضح الشكل ملخص عن اختبار العيوشية MTT لزيت الزعتر الأساسي عل خلايا من نوع PNTa1. تراوحت تراكيز زيت الزعتر الأساسي المدروسة (6%, 8%, 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,062%, 0,031%, 0,015%, 0,007%, 0.004% عيوشية الخلايا cell vitality :نسبة العيوشية percentage of viability. الاختلافات في الأعداد واضحة بين الجرعة العظمى والجرعة الدنيا عند المعالجة بالزيت الأساسي.

4. 3 إظهار الخلايا باستعمال المجهر المقلوب (juli –stage):

أخذت صور للخلايا باستعمال المجهر المقلوب، juli stage، وذلك لدعم البيانات المأخوذة من اختبار العيوشية المعتمد على مقايسة MTT. يتميز هذا المجهر بأنه مجهز بكميرا تسمح بتتبع الخلايا مع الزمن. تم أخذ الصور عند الزمن 0 (قبل البدء بالمعالجة) وبعد 30 دقيقة من بدء المعالجة وذلك لثلاث

مجموعات: المجموعة الشاهدة أي خلايا غير معالجة بالزيت (الشكل. 5 - A - B)، المجموعة الثانية ، تمت معالجة خلاياها بتركيز 16 % من الزيت الأساسي (الشكل. 5 - C - D)، والمجموعة الثالثة تمت معالجة خلاياها بتركيز 0.06% من الزيت الأساسي (الشكل. 5 - E - F). تظهر صور المجموعة الشاهدة (الشكل. 5 - A - B) أنه لا توجد تبدلات عند الزمنين المدروسين. على العكس، تم تسجيل انخفاض في عدد الخلايا، كما لوحظ باختبار العيوشية عند المعالجة بتركيز 16 % من الزيت الأساسي. بمقارنة الصور C و D في الشكل رقم 2، عند الزمن 0 و 30 دقيقة من المعالجة لوحظ نقص في عدد الخلايا، تشير الدوائر المنقطة في الشكل 2 C إلى مساحات عالية الاقتران من الخلايا والتي تنقص مع التعرض للمعالجة (الشكل 5 D). وبشكل متوافق مع نتائج مقايسة MTT لم تلاحظ أي اختلافات ما بين الزمن صفر والزمن النهائي عند المعالجة بزيت الزعتر الأساسي عند التركيز 0.06% (الشكل 5 (10, 12)

التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات
الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الح



الشكل (5): يمثل صوراً للخلايا من نوع PNT1a عند الزمن 0 و 30 دقيقة بعد المعالجة بالزيت الأساسي. A: المجموعة الشاهدة عند الزمن 0، B: المجموعة الشاهدة بعد 30 دقيقة، C: المجموعة

المعالجة بأعلى تركيز من زيت الزعتر الأساسي (16%) عند الزمن 0، D: المجموعة المعالجة بأعلى تركيز من زيت الزعتر الأساسي (16%) بعد 30 دقيقة، E: المعالجة بأعلى تركيز من زيت الزعتر الأساسي المتوافق مع أعلى نسبة عيوشية (0.06%) حسب اختبار MTT عند الزمن 0، F: الخلايا المعالجة بأعلى تركيز من زيت الزعتر الأساسي المتوافق مع أعلى نسبة عيوشية (0.06%) حسب اختبار MTT بعد 30 دقيقة. المقياس المدرج يعادل: 500 ميكرومتر (500µm) في الصور A,B,C,D

5. الفعالية المضادة للفطور لبخاخ زيت الزعتر الأساسي داخل جسم الكائن الحي In Vivo:

5. 1 تقييم عملية الشفاء بعد 3 أيام من بدء التجربة:

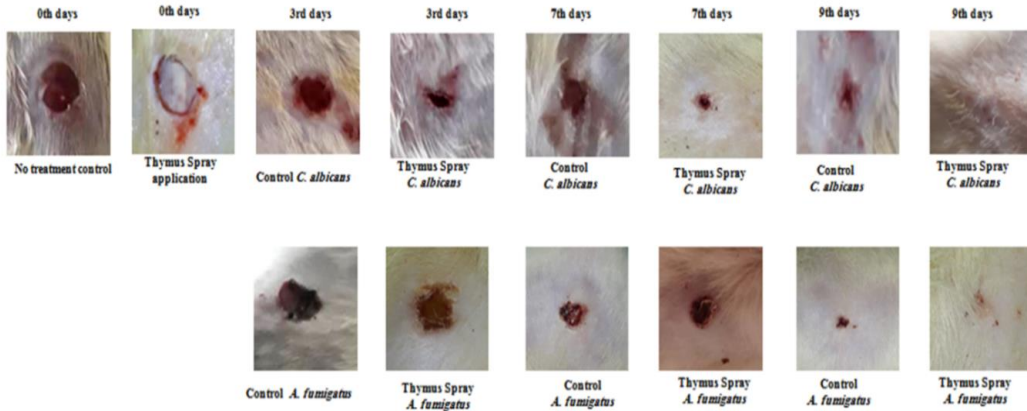
تبين بعد مرور 3 أيام من بدء العدوى اختلافاً بين مظهر جروح الحيوانات التي تمت إصابتها تجريبياً بالمُبيضُة البيضاء *C. albican* وبين تلك التي أصيبت بالرَّشَّاشِيَّةُ الدَّخْءاء *A. fumigatus* والتي تمت معالجتها جميعاً بتركيبية الزيت الأساسي، بالمقارنة مع المجموعات الشاهدة غير المعالجة. تمثل هذا الاختلاف في تقلص مساحة الالتهاب الحاد لدى الحيوانات التي اخمجت جروحها بالرَّشَّاشِيَّةُ أو بالمبيضات حيث كان لتطبيق هذه التركيبية من البخاخ أثر واضح إيجابي في تقلص مساحة الجرح والرجوع النزفي للجرح في المجموعات المعالجة بالمقارنة مع المجموعات الشاهدة غير المعالجة. (الشكل 6).

5. 2 تقييم عملية الشفاء بعد 9 أيام من تطبيق المعالجة:

لوحظ بعد 9 أيام من التطبيق الموضعي للعلاج تراجع واضح في الالتهاب و شفاء للجروح المخموجة بكلا الفطرين المُبيضُة البيضاء *C. albican* والرَّشَّاشِيَّةُ الدَّخْءاء *A. fumigatus* . في حين في العينات الشاهد يوجد تليف في النسيج (الشكل 7) تحت البشرة كبدائية شفاء، وبالمقارنة مع المجموعات العلاجية نجد أن تطبيق العلاج كان دون وجود عقابيل ندبية أو تليفية وبالتالي نلاحظ أن تطبيق هذه التركيبية من زيت الزعتر البري السوري الأساسي على شكل بخاخ ساهم في شفاء الجلد بصور فعالة

التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات
الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الح

بدون تشكل طبقة ليفية مكان الإصابة ويلاحظ هذا المسلك في علاج الإنتان الجلدي لدى كلا الفطرين



الشكل 6 : يوضح الشكل صور عيانية تتابع حادثة شفاء الجروح المخموجة بالسلالتين الفطريتين المدروستين المُمَيِّضَةُ البَيَضاء *C. albican* والرَّشَّاشِيَّةُ الدُّخْناء *A. fumigatus* قبل وبعد تطبيق العلاج المتمثل بالتركيبية المحضرة بشكل بخاخ عند النقاط الزمنية التالية 3,7,9 أيام.

6. نتائج الدراسة النسيجية

6.1 الارتباط بين النتائج النسيجية (الشكل 7) و المراقبة العيانية (الشكل 6) لتطور العدوى

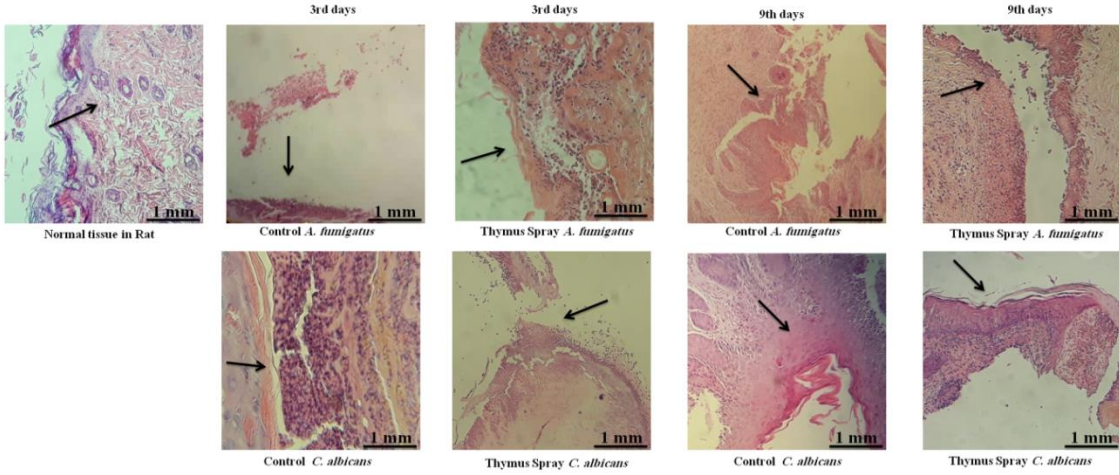
والشفاء:

بإسقاط الدراسة النسيجية على المتابعة العيانية للإصابة وتسجيل الملاحظات، يتضح التقاطع الكبير في النتائج. بداية يبدو الفرق واضحاً في العدوى الناتجة عن المبيضات وبالعودة إلى مراجع الإنتانات الجلدية نلاحظ أن أعراض الإصابة بالمُمَيِّضَةُ البَيَضاء *C. albican* قد تطابقت لدينا بحدوث تضرر

بالجلد مع لون أحمر وظهور بثرات صغيرة على حواف الجرح لدى مجموعة الحيوانات الشاهدة، في حين تتجلى الإصابة الفطرية الجلدية بالرشاشية الدخناء *A. fumigatus* بحدوث قاعدة النهائية حمراء غامقة مع وجود ندبة سوداء غامقة. بعد تطبيق المعالجة على كلا المجموعتين المخموجتين بنوعين مختلفين من الفطور نجد بعد 3 أيام؛ أصبح الجرح أصغر من حيث القطر والحواف تشكلت عليها طبقة متليفة سميقة وعلى سطح الجرح أيضاً وهذا يؤكد التشخيص النسيجي بتراجع وإحاطة مكان الالتهاب الناتج عن المبيضات. كما يلاحظ أن قطر الإصابة أصبح أصغر من قطر الشاهد ولكن الفارق الوحيد هو عدم ظهور الندبة السوداء الناتجة عن تكاثر الخيوط الفطرية للرشاشية الدخناء مكان الإصابة وهذا يؤكد الدراسة النسيجية بتراجع الالتهاب الحاد في هذه العينة.

أكدت الملاحظات العيانية بعد 9 أيام مع الاستمرار بتطبيق العلاج خلال هذه الفترة؛ بقاء ندبة صغيرة في مكان الإصابة وزوال أعراض الإصابة الجلدية ويتضح الشفاء بشكله التام لدى المبيضات والرشاشيات. بالمقارنة مع الشاهد حيث لوحظ بأن الشفاء ليس تام مع بقاء أعراض إنتانية خفيفة) احمرار وتورم مع وجود ندبة ليفية قاسية غير منتظمة في مكان الإصابة الفطرية)، تم خلال هذه الفترة مراقبة الجروح وتوثيقها بعد 7 أيام عيانياً لمتابعة الشفاء مقارنة مع الشاهد وخلالها نجد بدأ التراجع الكبير لقطر مساحة الالتهاب والأعراض الالتهابية بالتطبيق العلاجي. وبالعودة إلى النتائج النسيجية التي أكدت الملاحظات العيانية من خلال تراجع الالتهاب الحاد والشفاء دون تشكل ندبة ليفية في الطبقات تحت البشرة نتيجة العلاج المستمر خلال فترة الالتهاب بزيت الزعتر والذي تم ملاحظته بشفاء المنطقة المصابة تماماً وعودة الجلد إلى الشكل الطبيعي مقارنة مع الشاهد (9) (الشكل 6) و (الشكل 7).

التأثير المضاد الفطري لبخاخ زيت الزعتر الأساسي ضد سلالات فطرية معزولة سريريا و مقاومة على المضادات
الفطرية: دراسة داخل جسم الكائن الح



الشكل 7: يوضح صور الدراسة النسيجية لخزعات مأخوذة من الجروح المخموجة بالسلالتين الفطريتين المدروستين المُنْبِضَةُ البَيضاء *C. albican* والرَّشَّاشِيَّةُ الدَّخْءاء *A. fumigatus* قبل وبعد تطبيق العلاج (البخاخ المحضر). المقياس المدر يعادل 1mm (1 ملم) .

7. المناقشة:

بينت نتائج اختبار هذه التركيبة من زيت الزعتر الأساسي على شكل بخاخ كطريقة لإيتاء الزيت الأساسي فعالية يعتد بها مضادة للفطور المقاومة على المضادات الفطرية. وقد أثبت عند تطبيق هذه التركيبة داخل جسم الكائن الحي على الجروح المخموجة تجريبياً بسلالات فطرية مقاومة للمضادات الفطرية والمعزولة سريريا والتابعة للنوع المُنْبِضَةُ البَيضاء *C. albican* وللنوع الرَّشَّاشِيَّةُ الدَّخْءاء *A. fumigatus* ، فعالية قوية مضادة للفطور وحسنت بشكل ملحوظ من سرعة وكيفية التئام الجروح، والتي تم إثباتها أيضا على المستوى النسيجي. تم استعمال تراكيز آمنة من حيث السمية الخلوي من زيت الزعتر الأساسي داخل هذه التركيبة وذلك لضمان أمان استعمال هذه التركيبة موضعياً. و أخيراً، يمكن القول بأن هذه التركيبة من زيت الزعتر الأساسي أثبتت فعالية ممتازة مضادة للفطور وعند تطبيقها داخل

جسم الكائن الحي قضت على الفطور وحسنت من التئام الجروح. ومن الممكن لهذه التركيبة أن تكون بديل لمعالجة العديد من حالات الجروح والإنتانات الجلدية المخموجة بهذه الفطور الممرضة والمقاومة على المضادات الفطرية التقليدية التي تستعمل عادة في مثل هذه الحالات.

8. الاستنتاجات والتوصيات:

تعد الإنتانات الجلدية الفطرية وخاصة المعندة منها على المضادات الفطرية من الإنتانات صعبة المعالجة. مع تزايد عدد حالات المقاومة على المضادات الحيوية بات من الضرورة البحث عن علاجات بديلة للقضاء على هذه الإنتانات. تم اختراع تركيبة من زيت الزعتر الأساسي على شكل بخاخ. أثبتت نتائج دراسة تأثير هذه التركيبة المضادة للفطور على سلالتين فطريتين: المُبَيِّضَةُ البَيضاء *C. albican* والرَّشَّاشِيَّةُ الدَّخْء *A. fumigatus* والمعروفة بتسببها للإنتانات الجلدية، كما أثبتت النتائج فعالية هذه التركيبة داخل جسم الكائن الحي *in vivo*، عند تطبيقها على الجرذان المخموجة بهذه السلالات الفطرية، وذلك من خلال مساهمتها في التئام الجروح كما أكدت الدراسة النسيجية هذه النتائج، حيث بدأت الاستجابة للعلاج بالظهور بدءاً من اليوم الثالث وتم الوصول إلى الشفاء التام بعد 9 أيام من المعالجة وذلك بعكس المجموعة الشاهدة التي أظهرت شفاء غير تام مع بقاء أعراض إنتانية خفيفة.

9. المراجع References :

1. جهاد قزح ، أسباب الوفيات والعوامل المؤثرة بها عند حديثي الولادة في شعبة العناية بالوليد والخدّيج في مشفى الأطفال جامعة دمشق، مجلة جامعة دمشق المجلد السادس عشر. العدد الثاني (2000).
2. ألاء رمضان؛ محمد طاهر إسماعيل؛ شادي سكرية؛ دراسة تقانة Nested PCR في الكشف عن الرشاشية الدخلاء في عينات قشع مخموجة تجريبياً. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية -المجلد رقم (29)- العدد الثاني - 2013 ، 2012\5\28 .
3. Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H, Weis N (2011). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components, Journal of Essential Oil Research. *J. Eesential Oil Res.* 1: 119–128. [CrossRef]
4. Angane M, Swift S, Huang K, Butts C.A, Quek S.Y (2022). Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review on Antimicrobial Activities, Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. *Foods.* 11: 464–477. [CrossRef]
5. Al-Mariri A. et al (2013). Antibacterial Activity of Thymus Syriacus Boiss Essential Oil and Its Components against Some Syrian Gram–Negative Bacteria Isolates, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Atomic Energy Commission, Damascus, Syria; Department of Chemistry, Atomic Energy Commission, Damascus, Syria, *J Med Sci Supplement June.* 20 (38): 35–55.

6. Battah B, Shbibe L, Rajab A, Soukkarieh S (2022). Evaluation the antibacterial and anti-biofilm formation of R. officinalis essential oil against MDR clinically isolated bacteria. *International journal of pharmaceutical research*.3(4): 65–83.
7. Carvalho A, Costa-De-Oliveira S, Martins M.L, Pina-Vaz C, Rodrigues A.G, Ludovico P (2007). Multiplex PCR identification of eight clinically relevant Candida species. *Med. Mycol.* 45:619–627.
8. Battah B, Chemi G, Butini S, Campiani G, Brogi S, Delogu G and Gemma S (2019). A Repurposing Approach for Uncovering the Anti-Tubercular Activity of FDA-Approved Drugs with Potential Multi-Targeting Profiles. *Molecule*. 24(23): 45–65.
9. Battah B, Shbibe L, Ahmad O, Soukkarieh C, Al Okla S, Chianese T, Rosati L, Vora L K, Zhao L, Marrazzo A, Ferrari M, Li L, Donnelly R, Zanetti S, Mazzarello V and Donadu M (2023). Juniperus oxycedrus L. ssp. Essential Oil Microneedles: A Promising Antimicrobial and Wound Healing Activity. *Pharmaceutical*. 17(40): 44–67.
10. Gurtner G.C, Werner S, Barrandon Y, Longaker M.T (2008). Wound repair and regeneration.453:314–321. [CrossRef] [PubMed]

11. Brem H, Tomic-Canic M (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J. Clin. Investig.* 117: 1219–1222.
12. Forte M, Di Lorenzo M, Iachetta G, Mita D.G, Laforgia V, De Falco M (2019). Nonylphenol acts on prostate adenocarcinoma cells via estrogen molecular pathways. *Ecotoxicol. Environ.* 180:412–419.
13. Abd Kakhar U, Maria Bu, Sriwidodo S, Nasrul W (2020). Film-Forming Sprays for Topical Drug Delivery. *Drug design, development and therapy.* 5(7): 24–35.
14. Mileo A, Chianese T, Fasciolo G, Venditti P, Capaldo A, Rosati L, De Falco M (2023). Effects of Dibutylphthalate and Steroid Hormone Mixture on Human Prostate Cells. *int.j.ml.sci.* 24:34–41.
15. Zayzafoon G, Odeh A, Allaf A.W (2012). Determination of essential oil composition by GC-MS and integral antioxidant capacity using photochemiluminescence assay of two Thymus leaves: *Thymus syriacus* and *Thymus cilicicus* from different Syrian locations. *Herba Pol.* 58:70–84.
16. Tümen G, Kirimer N, Baser K (1995). Composition of the essential oil of Thymus species growing in Turkey. *Chem.Nat.comp.* 31:31–47.
17. Mohammed Z, Akhtar M.S, Said S, Weli A.M, Al-Sabahi J.N, Al-Riyami, Q, Alabri A.A (2016). Composition of Essential Oil of Thymus Vulgaris grown in Oman. *J. Esse.Oil Bear. Plants.* 19:475–47

18. Fernanda S, Sara M. C, Virginia M. S, Deila M. S, Nelson L, Luís B (2011). Evaluation of antifungal activity of essential oils against potentially mycotoxigenic *Aspergillus fl avus* and *Aspergillus parasiticus*. *Brazilian journal of pharmacology*.22(5):1002–1010.
19. Harshini J, Aditi R, Sahasrakshi S, Swethavarshini G, Abarna S, Harshavarthini V, Sudha R and Anand A (2026). Essential oils as nature–engineered antifungals: a comprehensive review of pharmacological mechanisms, drug synergism, and advanced formulation strategies. *Frontiers in pharmacology*.17(17): 66–87.
20. Gurajala S, Challapilla M (2026). A quiet but growing threat: Global perspectives on antifungal resistance and future therapeutic approaches. *Indian J Pharmacol*. 58(1):35–45.
21. Nour F, Sadri Z and Roy K (2026). Editorial: Insight into healthcare–associated fungal infections. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 16 (4):43–84.

