الكشف عن فعالية بعض المستخلصات النباتية الطبية في تثبيط نمو الفطريات المرضية المعزولة والمشخصة جزيئيا

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم /جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

رنا صباح عباس ضياء الدين

باشراف

أ.م.د. زهير حميد عبود
2024 م

أ.د. بلقيس هادي هاشم
1445 هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

سورة يوسف الاية (76)

إقرار المشرفين على الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة الموسومة ب (**الكشف عن فعالية بعض المستخلصات النباتية الطبية في تثبيط نمو الفطريات المرضية المعزولة والمشخصة جزيئيا**) وقد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة كلية العلوم -جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع :

المشرف الأول :ا.م.د زهير حميد عبود الظويهري

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : / / ٢٠٢٣

التوقيع :

المشرف الثاني : ا.د بلقيس هادي هاشم الموسوي

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم /جامعة كربلاء

التاريخ : / / ٢٠٢٣

توصية رئيس القسم

بناءً على التوصية المقدمة من قبل المشرفين ارشح هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :

رئيس القسم :د.خالد علي حسين

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : / / ٢٠٢٣

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة ، نشهد باننا قد اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (**الكشف عن فعالية بعض المستخلصات النباتية الطبية في تثبيط نمو الفطريات المرضية المعزولة والمشخصة جزينيا**) وقد ناقشنا الطالبة (**رنا صباح عباس**) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 3 / 1 / 2024 ونرى انها جدير لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة وبتقدير "**امتياز**".

رئيس اللجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : ا.م.د خالد علي حسين

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : ٤ / ٢ /٢٠٢٤

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم :ا.م.د وسام جاسم عبد علي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة سومر

التاريخ : ٤ / ٢ / ٢٠٢٤

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : ا.م .د ميساء تقي عبد الحسن

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم /جامعة كربلاء

التاريخ : ٤ / ٢ / ٢٠٢٤

عضو اللجنة (مشرف)

التوقيع :

الاسم : ا.م.د زهير حميد عبود

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : ٤ / ٢ / ٢٠٢٤

عضو اللجنة (مشرف)

التوقيع :

الاسم : ا.د بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : ٤ / ٢ /٢٠٢٤

مصادقة عمادة كلية العلوم

التوقيع :

الاسم :حسن جميل جواد

المرتبة:أستاذ

مكان العمل :كلية العلوم -جامعة كربلاء

التاريخ :٤/ ٢ /٢٠٢٤

الإهداء

إلى:

صاحب يوم الفتح وناشر راية الهدى إلى المطالب بدم المقتول بكربلاء إلى سيدي ومولاي الإمام الحجة المنتظر عجل الله فرجه وسهل مخرجه.

إلى :

أروع امرأة في الوجود التي تعجز الكلمات عن وصفها ..... أمي الغالية (رحمها الله)

إلى:

من وجوده حياة ..الى من حثني على العلم والنجاح ..... أبي العزيز أطال الله في عمره

الى:

من هم سندي وعوني والى من آنس بوجودهم .....اخواني واخواتي

إلى :

رفيق دربي و سندي في الحياة ..إلى من تحمّل معي عبء الرسالة خطوة بخطوة زوجي الحبيب

إلى :

روحي وحياتي وأغلى ماوهبني الله ..... ابنتي الحبيبة واولادي الأعزاء

إلى:

ولدي العزيز .....منتظر

رنا

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين حمداً كثيراً طيبا مباركاً فيه، اللهم ولك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك الكريم،اللهم ولك الحمد حتى ترضى ولك الحمد يالله اذا رضيت ولك الحمد يالله بعد الرضا والحمد لله الذي تتم بنعمته الصالحات. والصلاة والسلام على خير خلق الله البشير النذير والسراج المنير محمد صلى الله عليه وعلى اله وصحبه وسلم تسليما كثيرا. والصلاة والسلام على سيدتي ومولاتي ام البنين باب الحوائج وعلى أولادها المستشهدين مع الحسين عليهم السلام.

يسرني أنْ أتقدم بالشكر والتقدير الى استاذي المشرف الدكتور زهير حميد عبود و الأستاذة المشرفة الدكتورة بلقيس هادي هاشم، لأقتراحهما موضوع البحث واشرافهما ومتابعتهما المستمرة فلهما مني خالص الشكر والامتنان متمنية لهم الصحة والعافية والتقدم العلمي .

كما أتقدم بشكري وتقديري إلى عمادة كلية العلوم متمثلة بالاستاذ الدكتور جاسم حنون هاشم ورئاسة قسم علوم الحياة متمثلة بالدكتور خالد علي حسين لتوفيربعض متطلبات الدراسة.

واتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى أ.د. بان طه محمد و أ.د. وفاء صادق الوزني وأ.د.علي عبد الكاظم الغانمي لما قدموه لي من نصيحة ومساعدة طيلة مدة الدراسة فجزاهم الله خير الجزاء ومتعهم الله بالصحة والعافية وجعلها في ميزان حسناتهم .

كما اخص بالشكر الدكتورة ميساء تقي عبد الحسن التي لم تبخل علي بأي معلومة فضلاًعن جهودها الكبيرة والسخية في ابداء المساعدة والنصح طيلة فترة البحث وفقها الله لكل خير وحفظها من كل شر .

كما واتقدم بالشكر الى الدكتور زيدان خليف المعموري في محافظة بابل والدكتور عدنان عبد الجليل لهوف في كلية الزراعة جامعة كربلاء ، والدكتور نوفل حسين الدجيلي كلية العلوم في محافظة النجف ،لماقدموه لي من مساعدة في انجاز البحث عن طريق التشخيص الجزيئي ورسم الشجرة التطورية .

كما وأتقدم بالشكر الجزيل للدكتورة شروق كاني ياسين لماقدمته لي من مساعدة ودعم معنوي طيلة مدة البحث فلها مني خالص الامتنان متمنية لها كل الخير والتقدم وجزاها الله خير الجزاء .

وأتقدم بالشكر والامتنان إلى كادر مختبر الاحياء المجهرية في مستشفى الامام الحسن المجتبى عليه السلام لما قدموه لي من مساعدة في اثناء عملي معهم في المختبر .

ولاأنسى شكر زملائي الذين رافقوني في دراسة الماجستير متمنية لهم التقدم والنجاح واخص بالشكر الزميلة فاطمه رزاق محمد الجيلاوي.

وأسال الله سبحانه وتعالى ان يوفق كل من مد يد المساعدة وفاتني ان اذكر اسمه دعائي لهم بالموفقية والنجاح.

رنا

الخلاصة

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية التعرف على أنواع الفطريات الممرضة للجلد والفم وإمكانية دراسة الفعالية التثبيطية لبعض المستخلصات النباتية ضد الأنواع الفطرية المعزولة وتم التوصل الى الاتي :

من مجموع 115 عينة سريرية شملت 56 عينة قشور جلدية 42 عينة شعر و2عينة اظافر 15, عينة مسحة من الفم والتي والتي تم اخذها من مرضى يعانون من إصابات فطرية في الجلد والفم وكانوا من المراجعين لمستشفى الامام الحسن عليه السلام ومستشفى الأطفال التعليمي في محافظة كربلاء للمدة من كانون الأول 2022 ولغاية شهر أيار 2023 ، تبين وجود الفطريات في 42 عينة (32 عينة جلدية و 10 عينات من الفم) شخصت هذه الفطريات بالاعتماد على الصفات المظهرية والمجهرية وتم تأكيد التشخيص جزيئيا بأستخدام تفاعل البلمرة التسلسلي بوجود البادئات ITS5 و ITS4 التي نجحت في مضاعفة المنطقة ITS (Internal transcrided spacer) بلغت احجامه بين pb (510-870) وحدد لكل نوع رمز تسلسلي في قاعدة البينات Gen bank التابع للمركز الوطني لمعلومات التقنية الحيوية وهي على التوالي OQ999337.1 للفطر *Trichophyton indotinea* و oq978648.1 للفطر *Trichophyton interdigetale* و oq979238.1 للفطر *Trichophyton mentagraphytes* و OQ979239.1 للفطر *Trichophyton mentagraphytes* و OQ979292.1 *Trichophyton mentagraphytes* و or119458. للفطر *Microsporum canis* و OR083657.1 للفطر *Trichophyton quinckeueam* و or08591.1 لخميرة المبيضات *Candida albicans* .

تبعا لنوع المسبب المرضي صنفت الفطريات المعزولة ضمن مجموعتين ،مجموعة الفطريات الجلدية ومجموعة الخمائر سجلت اعلى نسبة للفطريات الجلدية اذ بلغت 76% وصنفت الفطريات ضمن جنسين *Trichophyton* و*Microsporum* ،وكان من بين الأنواع المشخصة الفطر *Trichophyton mentagraphyte* اذ سجل اعلى نسبة % 23.8 وتلاه النوع *Microsporum canis* بنسبة 19.4% والفطرين *Trichophyton quinckeueam* و*Trichophyton indotinea* بنسبة 14.2% وسجل الفطر *Trichophyton interdigetale* نسبة بلغت 4.7%،وقد تبين ان الفطر *Trichophyton indotinea* تم عزله وتشخيصه لأول مرة في محافظة كربلاء اما مجموعة الخمائر فقد سجل النوع *Candida albicans* نسبة بلغت 23.8% .

صنفت الإصابات الفطرية تبعا لموقع الإصابة الى شكلين سريرين هما السعفة (Tinea) وداء المبيضات الفموي (Oral candidiasis)وكان من بين السعفات الأكثر تكرارا هي سعفة الراس

ونسبتها %36.5 تلتها سعفة الوجه بنسبة %29.7 وسعفة الجسم بنسبة %15.6 وسعفة اليد %3.4 اما سعفة الاظافر فكانت النسبة %1.7 .

بخصوص تأثير الجنس على الإصابات الفطرية فقد أظهرت الدراسة ان اعلى إصابة بالفطريات الجلدية سجلت لدى الذكور بنسبة %80 مقارنة بالاناث %20 في حين كانت المبيضات للفم اعلى تكرارا نسبيا لدى الاناث اذ سجلت نسبة إصابة بلغت %53.3 مقارنة بالذكور%46.6 ،كما وجد في الدراسة الحالية ان تكرار الإصابة بالفطريات سجلت لدى الفئة العمرية الأقل من عشر سنوات %53 وتلاه لدى الفئة العمرية 11-29 بنسبة بلغت %34.7

لدراسة تاثير المستخلص المائي لازهار البابونج واوراق الاوليفيرا والبابونج والخروع وقشور الرمان ،على الفطريات المعزولة تم تحضير مستخلص مائي حار وأجريت عليها عدة كشوفات كيميائية للتعرف على نوعية المركبات الفعالة الموجودة فيها وتبين ان جميع المستخلصات تحتوي على العفصيات والكاربوهيدرات والكلايكوكسيدات والفينولات والفلافونيدات والصابونينات والكومارينات في حين وجدت الراتنجات والقلويدات في مستخلص أوراق الاوليفيرا والخروع والمورينكا وازهار البابونج في حين لم يسجل أي وجود للسترويدات والبروتينات في كافة المستخلصات المحضرة..

اثبتت الدراسة ان المستخلص المائي الحار لنبات عند التراكيز %10 و,%15 و%25 وجود فعالية تثبيطية لنباتي الرمان والاوليفيرا تجاه كافة الأنواع الفطرية المختبرة وهذا التاثير يزداد بزيادة التركيز ، اذ بلغت اعلى فعالية تثبيطية لمستخلص الرمان والاوليفيرا عند التركيز %25 اذ بلغت (43, 42 37, 30,45,50) % لكل من *T. quinckeueam* و *t. Mentagraphytes* و *t. Indotinea* و *T. interdigetale* و *M.canis* و *C. albicans* وبالنسبة لمستخلص الاوليفيرا سجل اعلى معدل تثبيط عند التركيز %25 أيضا اذ بلغت اقطار 63 ملم تجاه الفطر *M.canis* وتلاه 62 ملم تجاه الفطر *C. albicans* ثم 37 ملم تجاه الفطر *T. mentagraphyte* في حين سجلت اقل معدلات تثبيط عند التركيز %10 اذ بلغت لمستخلص الرمان(2,0,1,2,9,9.5) ملم تجاه الفطريات من *T.mentagraphyte* و *T. quinckeueam* *Indotinea* *t.* و *T. interdigetale* و *M.canis* و *C. albicans* اما بالنسبة لمستخلص نبات الاوليفيرا اقل معدلات تثبيط عند التركيز %10 والتي بلغت (16 ,14 ,2,1,1.5,1.5) ملم للفطريات من *T. quinckeueam* و *t. Mentagraphytes* و *t. Indotinea* و *T. interdigetale* و *M.canis* و *C. albicans* على التوالي في حين لم يسجل فعالية تثبيطية للتركيز %5 تجاه جميع الأنواع الفطرية المختبرة .وبخصوص مستخلص نباتي البابونج والخروع فلم يسجلا ليضا أي فعالية تثبيطية عند جميع التراكيز المختبرة وتجاه كافة الأنواع الفطرية المختبرة.

المحتويات

الرقم	العنوان	الصفحة
	الخلاصة	أ - ب
	قائمة المحتويات	III-I
	قائمة الجداول	V-IV
	قائمة الاشكال	VI
	الفصل الأول المقدمة	
1.1	المقدمة	1-2
	الفصل الثاني استعراض المراجع	
2	استعراض المراجع	3
1.2	الفطريات الطبية	3
2.2	الفطريات الجلدية	3
3.2	اجناس الفطريات الجلدية	5
1.3.2	*Trichophyton*	5
2.3.2	*Microsporum*	6
3.3.2	*Epidermophyton*	7
4.2	الاشكال السريرية لداء السعفة	7
1.4.2	سعفة الرأس	7
2.4.2	سعفة الجسم	7
3.4.2	سعفة الذقن	7
4.4.2	سعفة الاظافر	7
5.4.2	سعفة القدم	8
6.4.2	سعفة المغبن	8
7.4.2	سعفة اليد	8
5.2	المبيضات *Candida*	8
6.2	عوامل الضراوة في الفطريات الطبية	9
7.2	المضادات الحيوية المستخدمة لعلاج الامراض الفطرية	10
8.2	النباتات الطبية ومركباتها الفعالة	11
9.2	استعمال النباتات الطبية في علاج الامراض الفطرية	14
10.2	النباتات المستعملة في الدراسة	15 -19
	الفصل الثالث المواد وطرائق العمل	
3	المواد وطرائق العمل	20
1.3	المواد	20
1.1.3	ألاجهزة والأدوات المستخدمة في الدراسة	20

2.1.3	المواد الكيميائية والحياتية المستخدمة في الدراسة	21
3.1.3	الأوساط الزرعية	22
4.1.3	العدد المستخدمة في التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة	22
2.3	طرائق العمل	23
1.2.3	تحضير المحاليل والكواشف	23
.2.2.3	تحضير الأوساط الزرعية	25
.3.2.3	التعقيم	25
4.2.3	جمع العينات المرضية	25
1.4.2.3	الفحص المجهري المباشر	26
2.4.2.3	زرع العينات وعزل الفطريات	26
3.4.2.3	ادامة العزلات	26
5.2.3	التشخيص	27
1.5.2.3	الفطريات الجلدية	27
2.5.2.3	الخمائر	27
3.5.2.3	حساب النسبة المئوية للظهور	28
4.5.2.3	التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة	28
3.3	جمع وتشخيص نباتات الدراسة	31
1.3.3	تحضير المستخلصات النباتية	32
2.3.3	الكشف الكيميائي للمكونات الفعالة	32
4.3	تاثير المستخلصات النباتية على نمو الفطريات المعزولة	34
5.3	التحليل الاحصائي	35
الفصل الرابع النتائج والمناقشة		
4	النتائج والمناقشة	36
1.4	عزل وتشخيص المسببات المرضية	36
2.4	الاشكال السريرية للاصابات الفطرية	36
3.4	تشخيص الفطريات المعزولة	39
1.3.4	الفطريات الجلدية	39
2.3.4	الخمائر	44
4.4	التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة	46
5.4	الكشف الكيميائي التمهيدي للمكونات الفعالة في النباتات المدروسة	57
6.4	اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المدروسة على أنواع الفطريات المعزولة	57
1.6.4	مستخلص قشور الرمان	57
2.6.4	مستخلص أوراق نبات الاوليفيرا	59
3.6.4	مستخلص ازهار نبات البابونج	60
4.6.4	مستخلص أوراق نبات الخروع	61

الاستنتاجات والتوصيات	
الاستناجات	62
التوصيات	63
المصادر	
المصادر العربية	66-64
المصادر الأجنبية	85-67
الملاحق	
الملاحق	93-86

قائمة الجداول		
الجدول	العنوان	الصفحة
(1-3)	الأجهزة والأدوات المستعملة خلال الدراسة	20
(2-3)	المواد الكيميائية والحياتية المستعملة خلال الدراسة	21
(3-3)	الأوساط الزرعية المستخدمة خلال الدراسة	22
(4-3)	مكونات طقم استخلاص دنا الفطريات من شركة Favrofen	22
(5-3)	البوادئ المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل	23
(6-3)	المواد الكيميائية لخليط التفاعل	23
(7-3)	النباتات المستخدمة في الدراسة	31
(1-4)	نتائج الفحص الزرعي للحالات المشمولة بالدراسة	36
(2-4)	توزيع الأنماط السريرية لداء السغفة وداء المبيضات نسبة الى العمر والجنس	37
(3-4)	توزيع عينات الدراسة حسب نوع جنس المريض	38
(4-4)	مجاميع الفطريات المعزولة تبعا لنتائج الزرع	39
(5-4)	تردد أنواع الفطريات المعوزلة من الجلد والفم المعزولة نسبة الى الأنماط السريرية المسببة لها	46
(6-4)	الرموز التسلسلية المحددة في البنك الجيني لانواع الفطريات المرضية المعزولة	48
(7-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. indotineae* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	49
(8-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. interdigetal* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	50
(9-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. mentagrophytes* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	51
(10-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. mentagrophytes* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	52
(11-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. mentagrophytes* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	53
(12-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *M. canis* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	54
(13-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. quinckeanum* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات	55

	الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCB	
(14-4)	مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *C. albicans* المعزول في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا NCBI	56
(15-4)	الكشف التمهيدي للمكونات الفعالة لمستخلص الماء الحار للنباتات المدروسة	57
(16-4)	مقارنة بين تاثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات الرمان على معدل قطر نمو الفطريات المرضية	58
(17-4)	مقارنة بين تاثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات الاوليفيرا على معدل قطرنمو الفطريات المرضية	60
(18-4)	مقارنة بين تاثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات البابونج على معدل قطر منطقة تثبيط الفطريات المرضية	60
(19-4)	مقارنة بين تاثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات الحروع على معدل قطر نمو الفطريات المرضية	61

قائمة الاشكال		
الشكل	العنوان	الصفحة
(1-2)	أزهار نبات البابونج *Matricaria chamomilla*	16
(2-2)	A-شجرة نبات الخروع *Ricinus communis* B-أوراق نبات الخروع *Ricinus comminuis*	17
(3-2)	نبات الرمان *Punica granatum*	18
(4-2)	أوراق نبات الأوليفيرا *Aleovera*	19
(1-4)	مستعمرات الفطر *T. mentagrophytes* على وسط SDA	40
(2-4)	الابواغ الصغيرة والكبيرة للفطر T. mentagrophytes	40
(3-4)	مستعمرات الفطر*M.canis* على وسط SDA	41
(4-4)	الابواغ الكبيرة للفطر *M.canis* تحت المجهر وبقوة 40x	41
(5-4)	مستعمرات الفطر *T.indotineae*	42
(6-4)	الابواغ الكبيرة والصغيرة للفطر *T.indotineae*	42
(7-4)	مستعمرات الفطر *T. qunickeanum*	43
(8-4)	مستعمرات الفطر *T.interdigetal* على وسط SDA	43
(9-4)	الابواغ الصغيرة للفطر *T.interdigetal* على وسط SDA	44
(10-4)	مستعمرات *C.albicans*	44
(11-4)	شكل الخمائر تحت المجهر الضوئي	45
(12-4)	أنبوب الانبات في خميرة *C.albicans*	45
(13-4)	ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل لانواع الفطريات المعزولة	47
(14-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. indotineae*(محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	49
(15-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. interdigetal*(محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	50
(16-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. mentagrophytes* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	51
(17-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. mentagrophytes*(محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	52
(18-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. mentagrophytes*(محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	53
(19-4)	الشجرة الوراثية للفطر *M.canis* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	54
(20-4)	الشجرة الوراثية للفطر *T. quinckeanum* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	55
(21-4)	الشجرة الوراثية للفطر *C.albicans* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة بين السلالات الفطرية العالمية	56

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة introduction

تعد الإصابات الفطرية(Mycoses)من الإصابات الشائعة والمتنوعة التي تصيب أجزاء مختلفة من جسم الانسان وتشمل الجلد والاظافر والقناة التنفسية والأعضاء الداخلية (Sidrim,2023) وتمتاز هذه الإصابات بكونها مزمنة وبطيئة النمو وهي السبب الرئيسي للاصابات التي تهدد حياة الأشخاص ذوي المناعة الضعيفة (الزبيدي ومزهر ،2020) تسببها أنواع مختلفة من الفطريات التي تعيش اما بصورة مترممة على المواد العضوية الميتة اوتعيش بصورة تكافلية مع كائن اخر وبعضها يعيش متطفل على كائن على كائن حي اخر يسمى المضيف (Host) مسباً له المرض(الخزرجي ،2018) ومن بين تلك الفطريات التي لها أهمية لصحة الانسان والحيوان هي الفطريات الخيطية الجلدية (Dermatophytes) والمبيضات *Candida* (Murad *et al* ., 2018 ،الزبيدي ومزهر ,2020).

تصنف الإصابات الفطرية تبعا لموقع حدوثها الى إصابات فطرية سطحية (Super facial mycoses) واصابات جلدية (Cutaneous mycoses) واصابات تحت جلدية (Subcutaneous)واصابات جهازية (Systemic mycoses) واصابات فطرية انتهازية (Opportunistic)(Brooks *et al* .,2007) .تصيب الفطريات الجلدية الطبقة الخارجية المتقرنة للجلد والنسيج الكيراتيني للاظافر والشعر اذ تمتاز بقابليتها على افرازانزيمات حالة للكيراتين وتسبب امراض جلدية تعرف بالسعفات (Tineas) والتي تتروح اعراضها من البسيطة الى الصعبة وحسب مناعة الشخص المصاب اذ تزداد الإصابة تحت ظروف صحية خاصة مثل الإصابة بداء السكري وتدرن الرئة والعوز المناعي وفرط الاستخدام لبعض الادوية كالمضادات الحيوية والكورتيزونات (Parada *et al* .,2013).وتحدث هذه الإصابات في فئات عمرية مختلفة وتسببها فطريات جلدية تنتمي لصنف *Euascomycetes* وهي *Microsporum* و *Epidermophyton* و *Trichophytonl*

(Milena *et al* .,2010).اما المبيضات تسبب داء المبيضات (Candidiasis)وهذا يشير الى حدوث التهابات للاعضاء الجلدية والمخاطية الداخلية تسببها فطريات تنتمي الى جنس *Candida* وتصيب كل الاعمار وخاصة في حالات ضعف المناعة مثل مرض نقص المناعة المكتسبة (Barnet,2008).

تمتازالمبيضات بأمتلاكها عوامل ضراوة خاصة تساعدها على احداث الامراض والتغلب على دفاعات المضيف حيث تمتاز بقدرتها على النمو في اشكال مظهرية مختلفة تتروح من الخميرة أحادية الخلية الى الخيوط الكاذبة او الحقيقية وتمتلك على افراز انزيمات خارج خلوية مثل الانزيمات الحالة للبروتين والانزيمات الحالة للدهون كما تتميز أيضا بقدرتها على تكوين اغشية حيوية وإنتاج السموم (Mohmmade *et al* .,2019).

يتم علاج الإصابات التي تسببها الفطريات باستخدام مضادات الحيوية التقليدية مثل البولينات والازولات والتراكونازولات وEchinocandidins ولغالبية هذه المضادات تاثيرات جانبية منها السمية الخلوية وعدم انتظام ضربات القلب المرتبطة بالامفوتيرسين والسمية القلبية واظطربات الجهاز الهضمي المنسوبة الى الايتراكونازول اما الفوريكونازول فقد اظهر انه يسبب اظطرابات عصبية وكبدية .هذه الاثار الجانبية إضافة الى الاستخدام المفرط والعشوائي لهذه المضادات أدى الى تطور سلالات من الفطريات المقاومة للمضادات (Castillo *et al* .,2018) لذا دعت الحاجة الى تطوير عوامل مضادة للفطريات احدث من سابقاتها واكثر امانا وذات طيف واسع وتكبح عوامل الضراوة التي تشارك في امراضية الفطريات (Kidd *et al* .,2016) ومن هذه العوامل استخدام النباتات كعلاج لعدد من الامراض لما تتميزبه من سرعة تاثيرها العلاجي وخلوها من الاثار السلبية التي تحدثها العلاجات المصنعة كيميائيا (Mohammed *et al* .,2013) .لذا أجريت الدراسة الحالية للبحث عن علاج آمن وفعال لبعض الإصابات الفطرية الجلدية والانتهازية من خلال استخدام بعض النباتات ذات الاستخدام الواسع مثل البابونج والخروع والرمان والاوليفيرا للتقصي عن تاثيرها على نمو مجموعة من الفطريات المسببة لبعض الإصابات المرضية وذلك من خلال المحاور الاتية.

1-عزل أنواع الفطريات المرضية من حالات إصابات الجلد والفم بالفطريات وتشخيصها باستخدام الطرائق التقليدية والجزيئية .

2-معرفة العلاقات التطورية بين أنواع الفطريات المعزولة والتسلسلات الموجودة في البنك الجيني للانواع المحددة مسبقا .

3- الكشف الكيميائي التمهيدي للمكونات الفعالة للنباتات (البابونج و الخروع و والرمان والاوليفيرا).

4-ا تقييم تأثير مستخلصات بعض النباتات الطبية التي شملت (ازهار البابونج واوراق الخروع و والاوليفيرا وقشور الرمان)في نمو الفطريات المعزولة في المختبر.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

2-استعراض المراجع Literatures Review:

1.2 :الفطريات الطبية

تشكل الفطريات احد مكونات النظام البيئي الحي قسم منها تسبب إصابات مرضية مختلفة للإنسان والحيوان وتلك الفطريات عرفت بالفطريات الطبية اذ يوجد اكثرمن مئة الف نوع منها تسبب إصابات مختلفة وتتروح هذه الإصابات من إصابات ذات نطاق واسع يظهر تأثيرهاعلى أعضاء الجسم الداخلية وقد تؤدي الى الوفاة ،وقد تؤدي الى إصابات موضعية تؤثر على طبقات الجلد وتحت الجلد او الطبقات المخاطية (الخفاجي والمعموري ،2019).

اعتمادا على ضراوة وامراضية الفطريات الطبية صنفت الى مجموعتين (Tyagi, 2016) هما :

1-فطريات ممرضة حقيقية (True pathogenic fungi)تمتاز بقابليتها على على إصابة الانسان الطبيعي السليم من خلال امتلاكها لقدرات انزيمية فريدة اوقدرتها على القيام بحالة ثنائية المظهر المعتمدة على درجة الحرارة او امتلاكها القدرة على تثبيط الفاعات المناعية الأولية (شريف ،2012).

2- فطريات ممرضة انتهازية (Opportunistic pathogenic fungi) تستطيع هذه الفطريات إصابة الأشخاص المرضى الذين يعانون أصلا من انخفاض المناعة وهذه الفطريات تكون ذات انتشار عالمي ولها ضراوة وراثية محددة (شريف،2012).

2.2. الفطريات الجلدية Dermatophytes

تسبب هذه الفطريات إصابات فطرية تسمى السعفات Tineas أو داء الفطار الجلدي Dermatophytoses أو القوباء الحلقية Ringworm (Sepahvand *et al*., 2009)، وتكون هذه الفطريات محبة للكيراتين Keratinophilic Fungi (Moallaei *et al* ., 2006)، اذ تمتاز بأمتلاكها نظام إنزيمي خاص بتحليل الكيراتين ولذا فهي تستهدف الإنسجة الكيراتينية في الجلد والاظافر والشعر في الانسان والحيوان (Sharma *et al*.,2011).ولاتستطيع اقتحام الانسجة العميقة اسفل الطبقة المتقرنة كما ان اغلبها غير قادرة على ان تعيش في درجة حرارة اعلى من 35 مْ بالاضافة الى وجود المواد المثبطة لها في مصل الدم وسوائل الجسم التي تقوم بتثبيط انزيم تحلل الكيراتين (Brooks *et al* ., 2001) وتضم الفطريات المسببة لالتهاب الجلد ثلاثة اجناس(Gnat *et al*., 2019)هي :

1-جنس *Microsporum* يصيب الشعر والجلد يضم حوالي 16 نوعاً منها *M.canis* and *M.equinum*.

2-جنس *Epidermophyton* يصيب الجلد والاظافر ولا يصيب الشعر ويضم نوعان *E.Floccosum and E.stockdaleae*

3-جنس *Trichophyton* يصيب الجلد والاظافر والشعر والذي يعرف وهناك حوالي 27 نوعاً لهذا الجنس ومنها *.T.mentogrophytes and T.rubrum*

قسمت الفطريات الجلدية اعتمادا على موطنها الأصلي ومضيفها المفضل الى ثلاث مجاميع :

a - الفطريات الجلدية المحبة لجلد الانسان Anthropophilic Dermatophytes : ومن أمثلتها *E.floccosum* التي يكون جلد الانسان هو المضيف الطبيعي لها وقليلا ما تنتقل الى الحيوان (Nolte,1982) .

b) الفطريات الجلدية المحبة للارض Geophilic Dermatophytes : وتشمل الفطريات التي يكون موطنها الاصلي التربة ، وقد تنتقل للانسان او للحيوان عن طريق الغبار ، وتسبب له اصابة مثل : *M.gypseum*

. (Mahmooudabad and Zarrin:2008)

c) الفطريات الجلدية المحبة للحيوان Zoophilic Dermatophytes: هي الفطريات التي يكون جلد الحيوان الموطن الطبيعي لها وقد تنتقل للانسان فتصيبه مثل *M.canis* الذي يصيب القطط والكلاب و*T.verrocosum* الذي يصيب الاغنام والماعز والفطر *T.mentagrophytes*الذي يصيب الارانب (Kushwaha and Guarro, 2003).

أشار (2021) Segal and Elad الى ان الفطريات تصنف ضمن مملكة الفطريات وشعبة الفطريات الكيسية .

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Eurotiomycetes

Order: Onygenales

Family: Arthrodermataceae

عائلة المفصليات الجلدية هي التي تسبب اصابات جلدية تعرف بالسعفات , او داء الفطار الجلدي .وقد اوضح الباحثون ان الفطر *T.rubrum* هومن اكثر الفطريات الجلدية انتشارا يليه *T.mentagrophytes* (Kadhim *et al*., 2015) ;وقد يكون ذلك بسبب الحيوية العالية لتراكيبها التكاثرية ،التي يمكن ان تبقى حية في البيئة لمدة (6)اشهر (Wangواخرون 2006) وقد وجد ان مستوى انتاج الكيراتينيز لانواع جنس *Trichophyton* اعلى انتاجيه من جنس *Microsporum* (Sharma *et al*.,2012) ، ويعد انزيم البروتيزهو احد انزيمات الضراوة التي تنتجها الفطريات الجلدية المرضية (Chinnapun and Thammarat.,2015).

لاتمتلك الفطريات القدرة على اقتحام الانسجة العميقة اسفل الطبقة المتقرنة Stratum Corneum وان اغلبها غير قادرة على ان تعيش في درجة حرارة اعلى من 35مْ بالاضافة الى وجود المواد المثبطة لها في مصل الدم وسوائل الجسم التي تقوم بتثبيط انزيم تحلل الكيراتين (Brooks *et al*., 2001) . وتحوي مجموعة الفطريات الجلدية ثلاثة اجناس رئيسية:-

3.2 اجناس الفطريات الجلدية

Trichophyton 1.3.2

يعد هذا الجنس من اشهر اجناس الفطريات الجلدية اذ يضم تقريبا 27 نوع بعضها يعيش بصورة رمية في التربة ،وبعضها تكون ذا طبيعة حيوانية والبعض الآخر يفضل جلد الانسان حيث إنها تصيب مناطق مختلفة من جسم الانسان مسببة اصابات دائرية الشكل تسمى بالسعفة Tinea ،التي تتضمن سعفة القدم Tinea Pedis وسعفة الرأس Tinea capitis وسعفة الأظافر Tinea unguium وسعفة المغبن Tinea cruris وسعفة الجسم Tinea corporis اكثر أنواع هذاالجنس تنمو في درجة حرارة الغرفة وبمعدل بطيء وتكون مستعمرات بيضاء او بيجي مصفر او لماع او بنفسجي محمر اما صبغة قاعدة المستعمرة فتكون ذات لون بني مصفر باهت الى بني محمر(Raghuramulu *et al*., 2011) ويضم هذا الجنس عدة أنواع اكثرها شيوعا :

Trichophyton mentagrophytes.1

هي من الفطريات التي تكون ذات اصل حيواني وينتشر بشكل كبير حيث إنّه يغزو الجلد وفروة الرأس مسبباً التهابات، وينمو بشكل مستعمرات بيضاء الى كريمية اللون مسحوقية وتحت المجهر تشاهد خيوط فطرية مغزلية الشكل وخلايا منفردة غير منتظمة الشكل تشبه عناقيد العنب التي تمثل الابواغ الصغيرة (Microconidia)،بينما تكون الأبواغ الكبيرة (Macroconidia)طويلة تشبه السيكار متعددة الخلايا من 2-5خلية مع جدران رقيقة ناعمة(Seker and Dogan, 2011; Raghuramulu *et al* ., 2011).

Trichophyton rubrum .2

يصيب هذا الفطراجزاء كثيرة من الجسم باستثناء فروة الرأس وتكون في البالغين بمعدل اكثر، وينمو على وسط اكار السبرويد والدكستروز(Sabouraud Dextrose Agar(SDA على شكل مستعمرات بيضاء الى كريمية مسطحة او مرتفعة قليلا تشبه الجلد المدبوغ، اما مجهريا فتكون ابواغاً صغيرة تستند مباشرة على الخيوط الفطرية مع غياب الابواغ الكبيرة (Abdelal *et al* ., 2013).

Tricophyton violaceum.3

هي فطريات شائعة الانتشار في مناطق البحر الابيض المتوسط والبلدان الافريقية .وبصورة عامة هذا الجنس يصيب الشعر مسببا سعفة الرأس ونادرا مايسبب سعفة الجسم والأظافر(Zoulati *et al* ., 2018) ،وتكون المستعمرات النامية على وسط اكار السابرويد دكستروز ،ملساء شمعية المظهرذات لون بنفسجي ، وتكون بطيئة النمو . مجهريا فإنّها لاتنتج الابواغ الصغيرة ولا الكبيرة ولكنها قد تنتج ابواغ حرشفية وخاصة بالأوساط الزرعية القديمة (Ellis *et al*., 2007).

4.*Tricophyton Interdigitale*

تنتشر هذه الفطريات على نطاق واسع حيث إنّه يصيب الجلد وفروة الرأس ويسبب اصابات شديدة تكون المستعمرات على شكل مسحوق بيضاء الى كريمية اللون وتحت المجهر تشاهد خيوط فطرية مغزلية وخلايا غير منتظمة تشبه العناقيد، التي تمثل الابواغ الصغيرة بينما تكون الابواغ الكبيرة طويلة تشبه السيكار متعددة الخلايا من 2-5 خلية مع جدران رقيقة ناعمة (Seker &Dogan, 2011; Raghuramulu *et al*., 2011).

5.*Tricophyton indotineae*

وصف هذا الفطر مؤخرا كعامل ممرض في الهند وهو مسؤول عن الالتهابات السطحية المزمنة .ووصف خارج الهند ولاسيما في ايران ،وله علاقة بالاصابة بسعفة الوجه (Tinea faciei), وسعفة المغبن (Tinea cruris)،ويصيب جميع الاعماروبكلا الجنسين ويسبب التهاب وحكة للمنطقة المصابة تتشابه الصفات المظهرية له مع *T.interdigetale* و *T.mentographytes*على الوسط الزرعي وان الجانب العكسي للمستعمرة بني شاحب (UhrlaB *et al*., 2022).

6 . *Tricophyton quinckeanum*

يعد من الفطريات التي تكون محبة للحيوان وتعد القوارض والبيئة او التربة الملوثة هي طريق لانتقالها الى الكلاب والقطط وعن طريقها تنتقل للانسان وتم عزل هذا الفطر من الاطفال والبالغين المصابين بسعفة الرأس والجسم وان تحديد الشكل المظهري للفطر بشكل دقيق ليس ممكنا دائما وعندها يجب استخدام الطرق الجزيئية في التشخيص (De Hoog *et al*., (2017.

2.3.2. *Microsporum*

يضم هذا الجنس حوالي16 نوعا، تكون مستعمراتها ناعمة وصوفية المظهر وتنمو على اكار السابروید والدكستروز بشكل بطيء وعند درجة حرارة 27 مْ ويتنوع لون المستعمرة من ابيض الى بيجي اواصفر اما صبغة القاعدة فتكون ذات لون اصفر الى بني محمر، وهذا الاختلاف يساعد على التمايز بين الأنواع واما مجهريا فإنّها تنتج الابواغ الصغيرة والكبيرة ولكن الابواغ الكبيرة هي السائدة لاكثر انواع هذا الجنس وقد تختلف من حيث سماكة الجدران فهي قد تكون نحيفة الى متوسطة واحيانا سميكة ومغزلية الشكل وتكون متعددة الخلايا حيث تتروا ح من2-15خلية .اما الابواغ الصغيرة فتكون وحيدة الخلية رقيقة الجدران بيضوية الشكل، في اكثرالأحيان عدد الخلايا في الابواغ الكبيرة وطبيعة الجدار الخارجي فيما اذا كان مشوك اوناعم تعدّ من الصفات التصنيفية المهمة بين الأنواع .اما الابواغ الصغيرة فتكون قليلة وذات شكل هراوي والخيوط الفطرية والأبواغ الكلاميدية والتي تشبه مضرب التنس يمكن مشاهدتها بصورة متكررة (Graser *et al*., 2008)،ومن اكثر أنواعها ترددا هو الفطر *Microsporum canis* وهو من الفطريات ذات الطبيعة الحيوانية والتي تكون من المسببات الشائعة لداء السعفة تكون سريعة النمو، وتعطي مستعمرات ذات لون برتقالي مصفر وتكون صبغة قاعدة المستعمرة ذات لون اصفر برتقالي الى البرتقالي البني وبالنسبة للابواغ الكبيرة

فتكون كثيرة العدد مغزلية الشكل سميكة الجدران ومتعددة الحواجز، وتكون الابواغ الصغيرة قليلة العدد (Dismukes *et al* .,2003).

3.3.2 جنس *Epidermophyton*

يشمل هذا الجنس نوع يسمى *E.floccosum* يكون سببا للإصابة بسعفة الجلد والأظافر وتكون المستعمرات ذات لون مخضر بني الى الخاكي على وسط السابروید دكستروز اكار وسطحه يشبه الجلد المدبوغ .اما صبغة قاعدة المستعمرة فتكون بلون بني مصفر وتحت المجهر يمكن ملاحظة الأبواغ الكبيرة ،التي تكون ناعمة ونحيفة الجدران مفردة او تكون بشكل عناقيد تنمو بشكل مباشر من الخيط الفطري ،وينتج العديد من الابواغ الحرشفية (Abdelal *et al* ., 2013).

2. 4. الاشكال السريرية لداء السعفة Clinical types of Tineas

1.4.2. سعفة الراس Tinea capitis

تظهر الإصابة في فروة الرأس والحواجب ،و تتميز بتكون قشور كثيفة وتورم وتساقط الشعر واحيانا تكون ملتهبة وقد تصل الى الشكل المزمن التي تتطلب استخدام عقاقير جهازية غالبا مايسببها فطريات تنتمي الى الجنسين *Trichophyton*و *Microsporum*،تكثر هذه الإصابات بصورة خاصة عند الأطفال (Ghannoum *et al* .,2003).

2.4.2.سعفة الجسم Tinea corporis

تعرف على أنّها عدوى جلدية سطحية تتميز باصابات التهابية او غير التهابية تشمل مناطق الجسم ماعدا منطقة الرأس والمغبن و اليدين والقدمين والاظافر وتبدأ على شكل منطقة متقشرة ومحمرة وقد تتفاقم بسرعة مكونة منطقة ملتهبة حلقية

الشكل متقشرة اومتحوصلة (Pires *et al*., 2014) .تسببها فطريات جلدية اما تكون محبة للإنسان وتكون الإصابة بيضوية معتدلة الالتهاب وذات احمرار وتورم قليل .تكون من الأنواع المحبة للحيوان ،فتتميزالاصابة بتقشر كبير بحيث يفصل المنطقة المصابة عن الجلد والتهابات شديدة وكثيراً ما ترافقها حكة (Kalinowska .,2012).

3.4.2.سعفة الذقن Tinea barbae

تظهرهذه الاصابة في المناطق المشعرة من الوجه والعنق كالشارب واللحية وتكثرالاصابة في الذكور من المراهقين والبالغين (Bonifaz *et al* .,2003;Trotha *et al*., 2003) وعند ظهور الاصابة عند النساء او الاطفال تشخص على انها سعفة الوجه ، تمتازبظهور طفح جلدي ذي حافات مرتفعة عن الجلد مع تقشر وتكون بثور اضافة الى فقدان الشعر في منطقة الإصابة نتيجة لغزو الفطريات لجريبات الشعر و قد تكون مصحوبة بافراز خراج (Bladassarre *et al*., 2003).

4.4.2.سعفة الأظافر Tinea unguium(Onychomycosis)

إصابة فطرية لأظافر اليدين او أظافر القدمين وتمتاز بزيادة سمك الاظفر وتحول لونه إلى اللون الابيض الطباشيري ويكون في اظافر القدمين اكثر شيوعا ويحدث عند 10%في عامة الناس والاشخاص الذين تزيد اعمارهم عن 60 عام في المرضى الذين يعانون من الأظافر المشوهة وفرط التعرق والالتهابات الفطرية المزمنة والصدفية وتزداد عند المدخنين والاشخاص الذين يستخدمون الأحذية ومرافق الحمامات المشتركة. ; Babayani *et al* .,2018 (Spiliopoulou *et al* .,2015).

5.4.2.سعفة القدم Tinea pedis

تسمى أيضا بسعفة القدم الرياضي (Athlete ‘s foot) وهو مصطلح يطلق على الاصابات الفطرية الجلدية في باطن القدمين وما بين الاصابع الذي كثيراً مايسببه الفطر *T.rubrum*(Martinez *et al*., 2012). ويكون اكثر شيوعا عند البالغين من الاطفال (Ilkit and Durdu., 2015) ،وقد تمتد الاصابة الى راحة وجوانب القدم ،وتمتاز بموت وانسلاخ الجلد يصاحب ذلك تقشر وتشقق مابين الاصابع ومن اهم الفطريات المسببة لها هي *E.floccosum* (Martin, 2002).

6.4.2.سعفة المغبن Tinea cruris

يطلق عليها ايضا حكة جوك (Jock itch)وتحدث في منطقة الفخذ وهي التهاب تسببه الفطريات الجلدية ويكون شائعا عند الرجال اكثر من النساء ،اذ تكون درجات الحرارة المحيطة والرطوبة العالية الناتجة من الملابس الضيقة والرطبة بيئة مثالية لنمو وتكاثر الفطريات ويمكن ان تنتشر سعفة الفخذ الى الارداف والبطن اذ يعاني المرضى من حرقة وحكة وتكون الإصابة بلون احمر متدرج ذات حدود مرتفعة (Ankite and Zeng ,2018 ;Planganan *et al* ., 2017).

7.4.2.سعفة اليد Tinea manuum

تحدث الإصابة في يد واحدة أوكلتا اليدين ماعدا الاظافروتظهر بشكل قشور جافة مع أحمرار و ومن أهم الفطريات المسببة لها *T.rubrum*وT.*mentagrophytes* و*E. floccosum* وعادة ماتشخص سعفة اليد خطا اذ أنها مشابهة لبعض الامراض الجلدية الاخرى مثل الصدفية (Suhonen *et al* ., 1999).

5.2 المبيضات Candida

المبيضات هي خمائر انتهازية حقيقية النواة غير محاطة بكبسولة ،هوائية اواختيارية التهوية ،التكاثر يكون لاجنسيا ،اذ تنتج ابواغ برعمية تختلف في احجامها مابين 3-15 مايكروميتر ويحتوي جدارها الخلوي على سكريات متعددة تميزها عن باقي الخمائر بالإضافة على قدرتها بتكوين اشكال مختلفة فهي اما وحيدة الخلية اوتكون بشكل خيوط فطرية كاذبة اوحقيقية (Tamo,2020).هناك عوامل كثيرة توثر على عملية التحول منها قلة الاوكسجين ووجود مصدر للكاربون متعدد السكريات ووجود الأحماض الأمينية الخالية من الكبريت ووجود مصل الدم بالإضافة إلى الأس

الهيدروجيني الذي تبلغ قيمته 7.5 (الخفاجي والمعموري،2019).وقد ذكر Koundal &Cojandaraj (2020) ان جنس المبيضات تصنف ضمن مملكة الفطريات وضمن قسم الفطريات الكيسية .

تعد المبيضات البيضاء *C.albicans* من أكثر الأنواع المبيضات شيوعا التي تكون مسؤولة عن الاصابات المخاطية والاصابات الجهازية ،كما وجد انها مسؤولة عن 70%من الاصابات الفطرية حول العالم (Murad *et al* 2018.,)، وتعد المسبب الرئيسي للاصابات الغازية التي تهدد الحياة على الرغم من العلاج فإنّ معدل الوفيات بها يقترب من40% خاصة في ظروف المستشفى(Chen *et al* ., 2020; Basmaciyan *et al*, 2019).تكون تحت المجهر على شكل خلايا كروية اوبيضوية متبرعمة (Zafar *et al*.، 2017).

6.2.عوامل الضراوة في الفطريات الطبية Virulence factors of medical fungi

1 -المظهرMorphology

تكون العديد من المسببات الفطرية المرضية في الانسان والحيوان ثنائية المظهر أي قادرة على التحول من الشكل الخيطي الى الخميري او بالعكس استجابة لبعض المؤثرات البيئية او البيئة الداخلية للعائل (شريف ،2012).الفطر *C.albicans* من الفطريات ثنائية المظهر تتواجد بالشكلين المظهريين داخل جسم الانسان يستخدم الشكل الخيطي من اجل اختراق الانسجة والالتصاق بالسطوح كذلك الخروج من داخل الخلايا البلعمية وقتلها بينما الشكل الخميري يستخدم في تحقيق الانتشار الجهازي (Reedy *et al* ., 2007).

2 - عوامل الالتصاق Adhesion factors

تنتج بعض الفطريات مثل *C.albicans* عوامل التصاق مختلفة ترتبط مع مراكز استقبال على الخلايا البلعمية والخلايا الطلائية واغلفة تقاوم بعض العوامل الدفاعية للعائل (Williams *et al* .,2011).

3 -انتاج السموم والمواد الالتهابية Prodduction of toxins and Iritants

تسهم بعض المواد شبه السامة في ضراوة الفطريات الممرضة وان كان دورها في الامراضية لم يتوضح بعد ومن هذه العوامل تكوين الفطر *C.albicans* لسم يحدث صدمة وإنتاج الفطر *Asperigllus fumigatus* لسم gliotoxin وجدران خلايا الفطر *Blastomyces dermatitidis* تحدث تورمات حبيبية (شريف،2012) .

4 -انتاج الانزيمات Production of enzymes

تنتج العديد من الفطريات الطبية انزيمات مختلفة تلعب دورا مهما في أمراضيتها ومن هذه الفطريات *C.albicans* تفرزانزيمات Proteinase و Phosphomonesterase وAspartylhexosaminidase وPhospholipase و Lipase (Bhat *et al* .,2011) والفطر *A.fumigatus* يفرز انزيم Elastase وتنتج الفطريات الجلدية انزيمات Keratinases (شريف ،2012).

5 -انتاج الاغشية الحيوية Biofilm production

يمكن تعريف الاغشية الحيوية على انها تجمعات من الكائنات الحية الدقيقة غالبا ماتكون مرتبطة بالسطح ومغلفة داخل مصفوفة متعددة السكريات وخارج المادة الأساس التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة وتعد حالة الاغشية هي الطريقة المفضلة لنمو الكائنات الحية الدقيقة في البيئات الطبيعية ،كما تم التوصل الى سلالات المبيضات ذات القدرة العالية على تكوين الاغشية الحيوية تكون على النحو العام اكثر ضراوة من غيرها فالاغشية الحيوية تلعب دورا في حماية الخلايا الفطرية من تاثير التنظيف الميكانيكي الطبيعي للعاب اللثوي المفصلي كما انه يمثل حاجزا دفاعيا ضد تغلغل العوامل المناعية للمضيف والمضادات الميكروبية(Williams *et al* ., 2011).

7.2. المضادات الحيوية المستخدمة لعلاج الامراض الفطرية Antibiotics used to treat fungal diseases

المضادات الفطرية 4 مجموعات هي :

A- مجموعة Azoles

تعد هذه المضادات المصنعة من مشتقات الازول من اهم المضادات الفطرية اذ ان لها تاثير واسع المدى على الفطريات الجلدية والخمائر اذ تقوم هذه المجموعة بإعاقة تكوين المركب Ergosterol الموجود في الغشاء البلازمي للفطريات وكذلك يعمل على إعاقة تكوين الكايتين وتضم هذه المجموعة مجموعتين ثانويتين هما:

اولا:- Imidazole

وتشمل مجموعة من المضادات الفطرية

Clotrimazole وKetaconazole و Butoconazole وEconazole و Miconazole و Sulconazole و Terconazoleو oxiconazole وتستعمل اما بشكل مرهم خارجي اوبشكل تحميلة اوبشكل ابر عن طريق الوريد اوتأخذ عن طريق الفم .

ثانيا :- Triazole

تضم المضادات الفطرية ومنها Fluconazole وItraconazole وتستعمل اما بشكل مرهم خارجي اوتؤخذ عن طريق الفم (الخفاجي والمعموري ,2019).

B- مجموعة Polyenes

تنتج هذه المضادات الفطرية من مواد كيميائية مثل Nystatin ، Amphotericin B اذ تعمل على الارتباط بالمركب Ergosterol اذ تسبب تمزق الغشاء البلازمي للفطريات مما ينتج تسرب محتويات السايتوبلازم ونظرا للسمية العالية وعدم الامتصاص لهذه المضادات فإنها تستعمل بشكل مرهم خارجي فقط (Hugo and Russell.,1989).

C- مجموعةAllylamines

تضم المضادين الفطريين Naftatineو Terbinafine اذ يعملان على تثبيط تصنيع المركب Ergosterol عن طريق تثبيط انزيم Squalene epoxidase (Kwon-chung and Bennet 1992)ويمكن أخذهما عن طريق الفم اذ يتم امتصاصهما عن طريق الأمعاء وصولاً إلى الجلد (Degreef ,1993).

D- مجموعة Echinocandins

نوع حديث من المضادات الفطرية اذ يثبط الأنزيمات التي تقوم ببناء جدار الخلية ،والاشنوكاندين هي مضادات فطرية قوية وسريعة ضد .*Candida spp* ويشمل طيفها التثبيطي الواسع .*Aspergillus spp* و *Pneumocystis carinii* ،نظرا لتاثيرها التثبيطي القوي على انزيم 1,3-β- D-glucan synthase وهو انزيم مطلوب للتخليق الحيوي لجدار الخلية الفطرية (Denning ,2002).

8.2.النباتات الطبية ومركباتها الفعالة

يسمى النبات الذي يستعمل طبيا بالنبات الطبي Medicinal plant والذي يحتوي على المواد الفعالة (Active constituents) التي تتواجد أما في أحد أجزائه أوفي جميع اجزائه. وتحتوي النباتات على العديد من المواد ذات التاثيرات الطبية المختلفة وتوجد أما بشكل نواتج أيضية اوبوصفه مكوناً اساسياً في تركيب النبات ويكون تأثيرها أما ساماً وقاتلاً او مغذياً ومفيداً على الكائنات الحية وان لهذه المواد السامة وغير السامة تاثيرات حيوية وعلاجية عندما تؤخذ بكميات مناسبة وتحت اشراف مختصين (ستاري وجيراسيك 1986) وتم تقسيم محتويات النباتات على قسمين اساسيين بالاعتماد على فعاليتها (قطب 1981).

A- المكونات غير الفعالة :-مكونات ليس لها اي تاثير طبي مثال على ذلك اللكنين والسليلوز.
B -المكونات الفعالة:- مكونات يعزى لها الاثر الطبي للنبات التي لها قيمة دوائية وقد تم تقسيمها على عدة اقسام على اساس صفاتها الطبيعية والكيميائية تضمنت .

1-الكلايكوسيدات Glycosides

مركبات عضوية متبلورة عديمة اللون صلبة تتحلل بفعل الأنزيمات أو الأحماض الى مواد سكرية غالبا ماتكون سكر الكلوكوز ومادة غير سكرية،وتكون مرة المذاق وذات سمية خفيفة وتذوب في الماء والكحول ومن الامثلة عليها النيرين والنيريانثين في أوراق نبات الدفلة والساليسين الذي يوجد في أوراق الجوز والصفصاف (المنظمة العربية للتنمية الزراعية 1988) وكلايكوسيد الالوامودين الذي يوجد في جذور الحميض واوراق نبات السنا وتعد الكلايكوسيدات الستيرودية الموجودة في أوراق نبات الدفلة وبصل العنصل وأوراق ورد الدفلة مقوية للقلب (حمزة .،2006)

2-الراتنجاتResins

هي مواد تمتلك تركيب كيميائي معقد جداً، وتكون غير متبلورة وشفافة ولاتذوب في الماء ،ولكنها تذوب في المذيبات العضوية ،مثل الكحول والأيثر وتوجد في النبات أما ضمن تجاويف أوقنوات أفرازية أوفي شعيرات غدية ومن الأمثلة عليها راتنج ازهار القنب الذي يستعمل كمسكن للالم، وكذلك في علاج الاضطرابات العصبية والهستيريا (المنظمة العربية للتنمية الزراعية1988)وقد تختلط الراتنجات بالصمغ فتسمى الراتنجات الصمغية كما في المر والحلتيت أوتختلط بالزيت فتسمى بالراتنجات الزيتية ،كما في راتنج زيت التربنتينا في أشجار الصنوبر (حمزة ،2006).وللراتنجات خصائص مضادة للبكتريا والفطريات (Savluchinske *et al* ,.1997)

3- القلويدات Alkalodis

مركبات عضوية نيتروجينية تحتوي في تركيبها على ذرة واحدة أو اكثر من النتروجين، متبلورة وعديمة اللون والرائحة ذات مذاق مر لاتذوب في الماء ولكنها تذوب بالمذيبات العضوية كالأيثر والكحول ماعدا أملاحها اذ انها تذوب في الماء وقليلة الذوبان بالمذيبات العضوية وأن النباتات التي تحتويها تعد من أهم النباتات ذات الكفاءة الطبية حتى وان وجدت بكميات قليلة ،ومثال على ذلك الافيون والمورفين التي تم فصلها من نبات الخشخاش والحرمين والحرملين في بذور نبات الحرمل (قطب 1981).

4- الصابونينات Saponines

مركبات كيمائية عضوية تتشابه في تركيبها مع الكلايكوسيدات ،وتكون ذات وظيفة وقائية في النباتات ضد الاحياء المجهرية والحشرات وتمتاز بانّ لها رغوة عند اضافة الماء إليها ،وتكون مرة المذاق وتعد سامة للانسان اذ تسبب تحلل كريات الدم الحمراء، وذلك عن طريق ازالتها للغشاء البلازمي ،مما يؤدي الى خروج الهيموكلوبين اذا تم حقنها في الدم ،ولكنها غير ضارة إذا اخذت عن طريق الفم لانها لاتمتص في الأمعاء ومن امثلتها: الصابونينات الاسترودية التي تشبه الهرمونات الجنسية (قطب ،1981) ،ويستعمل الصابونيين الموجود في السبانخ الى خفض السكر في الدم (المنظمة العربية للتنمية الزراعية ،1988) ويمكن استعمال مركبات الصابونين لتصنيع الكورتيزون (Tyler *et al*.,1988).

5- الدباغيات (التانينات)Tannins

هي مركبات عضوية معقدة غير متبلورة وغير نتروجينية ،لذلك يصعب فصلها وتنقيتها .وهي أما ان تذوب بالكحول من دون أن تتحلل وقليلة الذوبان في الماء ،أو تذوب في الماء وتتفكك في الكحول (Reed.,1995) وترتبط مع بروتينات الجلد مما يجعلها غير قابلة للتحلل بفعل الانزيمات لذلك يمكن حفظها لمدة طويلة ،ولذلك سميت بالدباغيات (حمزة، 2006 :قطب ،1981) وتستعمل في معالجة الاسهال وكذلك لها القابلية على التئام الجروح بالإضافة الى قتل البكتريا إذ أنها ذات تاثير مطهر ومن الامثلة عليها الحناتانين في اوراق نبات الحناء (قطب ،1981)

6- المركبات الفينولية Phenolic compounds

مركبات عطرية اروماتية ذائبة في الماء وتتكون من حلقة بنزين ترتبط بها واحدة أواكثر من مجاميع الهيدروكسيل OH وتكون المركبات الفينولية إما احادية الحلقة مثل الفلافونيدات التي تمثل اكبر مجاميع الفينولات(Bowsher *et al*,.2008;Harborne,1984)، التي يصل عددها الى 2000 نوع،أوتكون متعددة الحلقات التي تشمل التانين واللكنين وتمتاز الفينولات بأنها عديمة اللون والرائحة وحساسة لدرجة الحرارة العالية وذات طعم مر وسامة ويعتقد أن لمجاميع الهيدروكسيل وعددها في الفينولات علاقة بسميتها وتاثيرها على الاحياء المجهرية لذا تعد المركبات الفينولية ذات عوامل مضادة للبكتريا والفطريات (Bowsher *et al*., 2008).

7-الزيوت الطيارةVolatiLe Oils

تسمى كذلك بالزيوت العطرية لرائحتها الزكية أو تسمى الزيوت الايثرية ،وذلك لسهولة ذوبانها في الايثر وسميت بالزيوت الطيارة لانها تتبخر وتتطاير*l*(Tyler *et al* ., 1988) . عند تعرضها للهواء من دون ان تتحلل وهي مركبات عديمة اللون أو ذات لون أصفر فاتح وقد تكتسب اللون الداكن نتيجة تاكسدها ،وذلك عند خزنها لفترة طويلة وتكون ذات طعم مستساغ وتتواجد في أجزاء معينة من النبات كما في جذور نبات الزنجبيل أوفي قلف نبات الدارسين (قطب 1981) وتعتبر مواد مطهرة لفعلها القاتل للفطريات والبكتريا ومن الأمثلة على ذلك السينول واليوكالبتول التي توجد في أوراق نبات اليوكالبتوس قطب (1981).

8-الزيوت الدهنية (الزيوت الاساسية)Essential oils

تختلف الزيوت الدهنية عن الزيوت الطيارة بأنها لاتتبخر ولاتتطاير وتتالف من كليسيرين مرتبط بحامض دهني غير مشبع غالبا ،ولايمكن تقطيرها من دون ان تتحلل ، لاتذوب في الماء ولكنها تذوب في المذيبات العضوية وتكون غير سامة كما تعد مادة غذائية مهمة (Tyler *et al* ,. 1988) . وتخزن بكميات كبيرة في البذور وبكميات أقل في الأوراق والسيقان والثمار (المنظمة العربية للتنمية والزراعة ،1988).ومن أمثلتها زيت الخروع وزيت الزيتون وكذلك الزيت المستخلص من أأوراق اليوكالبتوس ،ويمتلك فعالية ضد البكتريا (Cimmanga *et al* .,2002).

9- البروتينات Proteins

البروتينات هي مركبات معقدة متعددة الببتيد وتتكون من سلسلة واحدة أو اكثر من الأحماض الأمينية الصغيرة وتتركب كيميائيا من الكربون والهيدروجين والنتروجين،وبعضها يحتوي على الكبريت أو الفسفور وتدخل البروتينات في بناء أجسام الكائنات الحية فهي المسؤولة عن النمو في الانسان والحيوان ،وتوجد البرويتينات في النباتات وفي المصادر الحيوانية مثل البيض واللحوم .وتقوم البروتينات بتحفيز التفاعلات الأيضية وتفيد الدعم الهيكلي للخلايا وتضاعف ال DNA (Sanvictores and Farci 2020).

10-الكومارينات Coumarins

عزلت الكومارينات لأول مرة من حبوب التونكا عام 1820 من قبل العالم Vogal وهو نبات يعود إلى العائلة البقولية والأسم مشتق من الأسم الفرنسي لحبوب التونكا coumarou وتعد من ابسط الفينولات وتكون ذات طعم مر

ورائحة نفاثة وتذوب في الكحول وتوجد في نبات الحلبة والينسون ولها تأثير مثبط للفطريات المرضية لاحتوائها على المركب Hydro-Biosynthesis وعند تناولها عن طريق الفم تقل فعاليتها(Mills *et al*,. 2006).

11-التربينات Terpens

مركبات عضوية عطرية ذات أهمية وقد اشتق أسمها من زيت التربتين السائل الطيار الذي تم استخلاصه من أشجار الصنوبر وهذه المركبات غير ذائبة في الماء ، وغالبا ماتستعمل بوصفها مواداً طاردة للحشرات وبوصفها منظفات وعطور وأيضا تستعمل أيضا كمستحضرات طبية وتعد اكبر مجموعة من مواد الأيض الثانوي بعدد يتجاوز 30000 مركب غالبيتها من المصار النباتية والتي تشمل المضادات الحياتية والهورمونات النباتية والزيوت العطرية تستخرج التربينات من مجموعة ضخمة من النباتات تسمى المخروطيات (Steenackers *et al*., 2015).

12-الستيرويدات Steroids

هرمونات الستيرويدات : هي مركبات كيميائية تتكون من حلقات من الكاربون التي تلعب دورا أساسيا ومهما في العديد من الوظائف الفسيولوجية مثل النمو والتكاثر وإنتاج الطاقة والتطور اذ تؤثر على نمو الدماغ والإدراك (Adhya *et al*,2018). وهو نوع من أنواع الدهون التي توجد بشكل طبيعي في العديد من الكائنات الحية وتصنف كيميائيا ضمن الستيرويدات وتتكون هذه الدهون داخل اغشية النباتات والحيوانات والكائنات الدقيقة وتختلف تسميتها بناءعلى المكان الذي تم بناؤها فيه ،فمثلا الستيرول النباتي يطلق عليه فيتوستيرول أما الحيواني فيطلق عليه زوستيرول وفي الكائنات الدقيقة يسمى مايكروستيرول .وقد يقلل الستيرول النباتي الكوليسترول عن طريق الحد من الكمية القادرة على دخول الجسم وقد يقلل كمية الكوليسترول التي يتم صنعها في الجسم .

9.2. استعمال النباتات الطبية في علاج الامراض الفطرية

من المعروف إن النباتات تشكل مصدرا غنيا بالمواد الفعالة وقد استعملها الإنسان منذ القدم للعناية بصحته مما أدّى بالباحثين الى الدراسة و التحري لإيجاد علاجات فعّالة للسيطرة على الامراض الفطرية . وتستعمل النباتات الطبية بوصفها أدوية بديلة عن الأدوية التقليدية اذ تعتبر مصدر للمستحضرات الطبية الحديثة (Paul *et al*,. 2015).

أشار (2015),. Anushri *et al*الى أن نبات الزنجبيل *Zingiber officinalis* يمتلك زيوتاً أساسية استعملت لتسكين ألم الأسنان ولعلاج حالة السلاق الفموي. أما Al-Terehi *et al*. (2015) فقد توصل الى قابلية نبات المريمية و المردقوش و الرمان وعرق السوس على تثبيط اربعةٍ أنواع من المبيضات المقاومة للمضادات ،كما استعمل نبات الميريمية لعلاج التهابات اللثة ولعلاج السّعال وفي التئام الجروح ، ولاتزال تستعمل في جميع انحاء العالم فقداصبحت هدفا للمركبات الفعالة فهو يستعمل بوصفه مضاد للسكر ومضاداً للسمنة ويستعمل لعلاج حالات الخرف وامراض القلب كما أستخدم في حفظ الغذاء وفي صناعة العطور ومواد التجميل (Grdisa *et al*,. 2015) .

بينت نتائج دراسة قام بها Al-Masaoodi وجماعته (2020) ان مستخلص Marasmius palmivorus قام بتثبيط نمو الفطر *Trichophyton rubrum*.وقد درس Doughari وجماعته (2008)فعالية اوراق السنامكي *Senna obtusifolia* إزاء الفطريات الجلدية وكذلك ذكر امكانية معالجة الاصابات الفطرية Mycotic infectionوذلك نتيجة إحتوائها على المركبات الفعالة مثل :القلويدات والصابونينات والعفصيات والفلافونيدات . و تمت دراسة العديد من المركبات الفينولية وذلك لخصائصها البايولوجية وفوائدها اذ انها مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات وقد أظهرت المركبات الفينولية بالإضافة الى مركبات الفلافونيد خصائص مضادة للاكسدة ومضادة للميكروبات (Abdel-Hameed *et al*., 2014). اذ تعمل المركبات الفينولية على تغيير نفاذية الخلية الميكروبية مما يؤدي الى تلف الغشاء السايتوبلازمي وبالنهاية يؤدي إلى موت الخلية (Vieitez *et al*., 2018).

كما وقد تمت دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية لبعض النباتات الطبية والتي شملت الحامول Cuscta spp. وجوزة البوا *Myristica fragrans* والزيتون *Olea europaea* والحناء *Lawsonia inermis* اضافة الى الرمان *Punica granatum* على نمو الفطرين الجلديين *T.mentagrophytes*و *E.floccosum* التي اظهرت نتائج فعالية مستخلصات قشور الرمان وأوراق الحناء وثمار جوزة البوا في تثبيط نمو الفطريات، وقد اثبتت الدراسة تفوق المستخلصات الكحولية على المستخلصات المائية من حيث كفائتها اذ تسببت في تكوين أبواغ كلاميدية باعداد كثيرة اضافة الى تكتل البروتوبلازم الدعمي (2009). وقد أجرى عمران و المعموري (2008) دراسة حول فاعلية مستخلص قشور الرمان ضد عدد من الفطريات وتبين من نتائج تلك الد راسة أن هناك فاعلية تثبيطية يمتاز بها المستخلص المائي البارد والحار لقشور الرمان تجاه كل من الفطرين *Alternaria alternara* و*Fusarium solani*. في بحث قام به Khan (2004) لدراسة فعالية مستخلص نبات الطرفا *Tamarix dioica* ضد بعض الفطريات الممرضة والذي اعطى نتائج تثبيط عالية مع كل من الفطر *A.flavus* و *M.canis* وفعالية تثبيطية متوسطة ضد الفطر *F.solani*.

في جنوب افريقيا تم استعمال قلف نبات *Sclerocarya* في معالجة الأمراض الجلدية ولذلك قام Masoko وجماعته (2008) في دراسة التي تضمنت تحضير مستخلصات مختلفة لهذا النبات التي هدفها تقييم فعاليتها ازاء ثلاثة انواع من الخمائر *Candida parapsilosis and Cryptococcus albidus and Rhodtorula mucilaginosa*والتي اثبتت فعاليتها ضد هذه الخمائر.كما أشار Okemo وجماعته (2003) في دراسة تضمنت تحضير مستخلصات نباتية من الهكسان والميثانول والكلوروفورم لنبات *Maesa lanceolata* وذلك لاختبار فعاليتها ضد مجموعة من الفطريات الممرضة *Phytophthora cryptogea* و A.*niger* و*F.oxysporum* و *Rhizoctonia solani*و *Pyrenophora teres* و*Pythium ultimum* وقد كانت المستخلصات ذات فعالية عالية ضد جميع الفطريات المستعملة في الاختبار .

9.2.النباتات المستعملة في الدراسة :

1 -نبات البابونج *Matricaria chamomilla L*

ينتمي نبات البابونج إلى الفصيلة النجمية (Asteraceae) وازهاره بيضاء وفي وسطها اصفر وتكون عطرية وذات رائحة زكية ويترواح ارتفاع العشبة بين 15الى 50 سنتيمتر(شكل 2-1) وحسب نوعه ويزرع في الحقول والأودية وتزهر النباتات بعد حوالي 6الى 8 اسابيع من زراعتها ويتم استعمال نوعين من انواع البابونج للاغراض الصحية البابونج الألماني والبابونج الروماني أو الانكليزي .

تحتوي ازهار البابونج على زيت طيار له رائحة البابونج المعروفة واهم محتويات هذا الزيت الغازولين و الكمازولين و فلافونات (فلافون جليكوكسيد)،ومواد هلامية ومادة الازولين هي التي تكسب البابونج تأثيره الشافي اذ تبين ان هذه المواد لها قابلية على تثبيط نمو الفطريات من خلال تثبيط الخيوط والابواغ (Astiti and Suprapta 2012) .

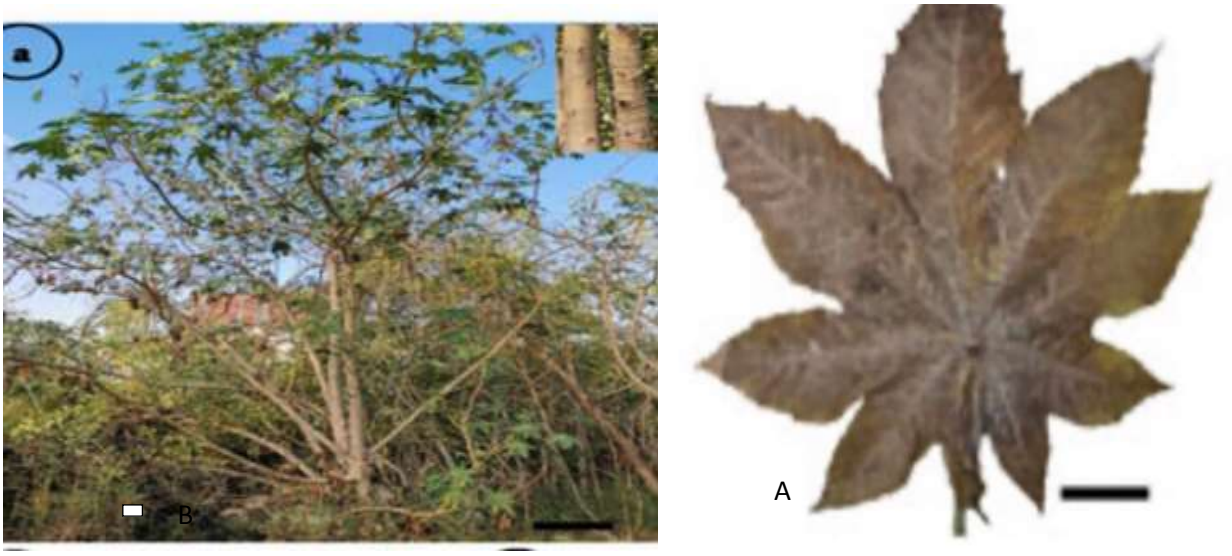
أشار Srivastava et al,.(2010) الى ان نبات البابونج يمتازبوجود مضادات الاكسدة التي تساعد على تحسين صحة القلب ويستعمل أيضا لعلاج الجروح وتهيج الجلد والكدمات والاكزيما وعرق النسا ولعلاج التهاب الانف والعين كما انه يساعد في تعزيز كثافة العظام مما يمنع هشاشة العظام خصوصا فترة انقطاع الطمث . وبين Cemek *et al.*, (2008) ان للبابونج أهمية في خفض مستويات السكر في الدم كما ان له خصائص مضادة للالتهابات تمنع تلف خلايا البنكرياس عن طريق تقليل الاجهاد التاكسدي المرتبط بارتفاع السكر في الدم.

شكل 2-1: نبات البابونج *Matricaria chamomilla L.* (Bahmani *et al*., 2015) .

2- نبات الخروع *Ricinus communis*

شجرة الخروع شجرة زيتية وتعود الى العائلة Euphorbiaceae (Yang *et al*,. 2020) نشأت في افريقيا ،وتزرع حاليا في العديد من المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وفي جميع انحاء العالم،وهي شجرة معمرة يبلغ ارتفاعها الى أكثر من (5)أمتاروتكون ساقها ملساء ملونة بالوان خضراء او ارجوانية والأوراق راحية الشكل كبيرة

الحجم مفصصة شكل (2-2)، والازهار صغيرة ذات لون اخضر مصفر وتكون في هيأة عناقيد ،الثمرة محفظة (كبسولة) شوكية ثلاثية الابعاد تحتوي على البذور التي يستخرج منها زيت الخروع وتكون البذور بيضوية مضغوطة قليلا يترواح طولها بين (8 - 18)ملم وتحتوي على مادة الريسين السامة جدا ،ويستخرج زيت الخروع بالعصر بالبرودة او بالضغط الهيدروليكي للبذور، يحتوي نبات الخروع على العديد من المركبات الفعالة منها تراي تربين وتانينات ورايبوفلافين ،ومواد صابونينية وحمض النيكوتين ،وتحتوي البذور على زيت من احماض دهنية اهمها :حمض الرسينواوليك والرايسين (Dunford ,. 2012)،ولاوراق نبات الخروع نشاط ضد خميرة المبيضات *C.albicans* (Khan and Yadva,.2011).



شكل 2-2 نبات الخروع *Ricinus communis* ، A- شجرة الخروع، B- ورقة نبات الخروع ، (Nour *et al.*, 2023).

3-نبات الرمان *Punica granatum L*

ينتمي الرمان شكل(2- 5)الى عائلة Punicaceae تنمو في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Farag *et al* 2014,.) هي من الاشجار النفضية المعمرة موطنها الاصلي ايران وانتشرت زراعتها في كثير من البلاد العربية ،وشجرة الرمان ذات ازهار بيضاء وحمراء جميلة تتحول إلى ثمار لذيذة ،وتكون ذات جلد قرمزي اللون اوذات لون اصفر محمر ،وتحتوي على المئات من الحبوب الحمراء اوالبيضاء ،وتكون مائية ولامعة .اما قشور الرمان، فتكون جلدية وتحتوي على مواد ملونة ودابغة شكل (2-3)استخدمت منذ مئات السنين للصباغة بسبب احتوائها على مادة قلوية تعرف باسم التانين ، .وقد عرف الرمان منذ القدم في الوطن العربي ،وقد شوهدت صورته منقوشة على جدران المعابد وقد استعمل قلف الرمان عند المصريين القدماء لقتل الدودة الوحيدة وايضا استعمل الرمان منذ القدم في الطب الشعبي ولعلاج العديد من الأمراض (Wu and Tian ,2017). قشور الرمان هي الجزء الغني بالمركبات الفعالة حيويا ،و تكون اكثر فعالية من العصارة (Alexandre *et al.*,2019) ويحتوي على فيتامين c وفيتامين k بالاضافة للمنغنيز

والبوتاسيوم والفسفور وغني بمادة Punicalaginوهي مادة مضادة للاكسدة ،اقوى من مضادات الاكسدة الموجودة بالشاي الأخضر وان التركيب الكيميائي لعصير الرمان يحتوي على السكروز والفركتوزوالغلوكور بالاضافة الى البرولين والميثونين والفالين و يحتوي على التانينات والفلافونيدات التي تعطيه الخواص العلاجية .اما قشور الرمان فإنه يحتوي على القلويدات واهمهما البلتيرين وهي مواد عفصية وقابضة اذ يستخدم كمادة طاردة للديدان وخصوصا الدودة الشريطية ويعد الرمان مطهراً للدم ومطهراً للصدر ولمجاري التنفس ويقي القلب والاوعية الدموية من الأمراض ،ويخفض نسبة الكوليسترول الضار وأيضا له تاثير مضاد للسرطان (Jurenka 2008).أظهرت العديد من الدراسات فوائد الرمان، لاسيما دوره في الحفاظ على سلامة القلب والشرايين ،ولأنّه من أكثر الفواكه غنى بالفيتامينات والمعادن ومضادات الأكسدة لذلك له دور كبير في علاج العديد من الفوائد حيث إنّه يعزز من صحة الفم والأسنان عن طريق تقليل خطر الاصابة بالتهاب اللثة، ويمنع تراكم البلاك او القلح على الأسنان ،وذلك لوجود مضادات الأكسدة التي تمنع تجمع البكتريا، وله دور في إلتئام الجروح وعلاج الإسهال والطفيليات وعلاج العقم ،وعلاج مرضى السكري (Alexandre *et al* .,2019) وكذلك ثبت أنّ للرمان دوراً في تعزيز نضارة البشرة وابطاء الشيخوخة .ويمكن استخدامه كبديل للمضادات الحيوية في علاج الامراض المايكروبية (Ferrazzano *et al* .,2017).

شكل 2-3: نبات الرمان *Punica granatum L* ، (Fakudze *et al*,. 2022).

4 - نبات الاوليفيرا Aloe vera

ينتمي نبات الاوليفرا الى عائلة العصاريات، ذا محتوى مائي عالي جدا ،ويترواح بين 99.0-99.5 والمادة المتبقية تحتوي على اكثر من 75عنصر غذائي و 200 مركب نشط وتحتوي أيضا على السكريات ،و الصابونينات والمعادن والاحماض الامينية والفيتامينات الذائبة في الماء والفيتامينات الذائبة في الدهون وسكريات معقدة وبسيطة ومواد فينولية (Radha and Laxmipriya,. 2015) ويكون النبات قصيرالجذوع يصل ارتفاعه الكلي من40 - 80 سم ويعمل على تخزين الماء في اوراقه وتكون أوراقه ،سميكة مثلثة الاضلاع وذات حواف مسننة والأزهار صفراء

انبوبية والثمار تحتوي على العديد من البذور وتتكون الورقة من ثلاث طبقات داخلية ووسطى وخارجية شكل (2-4) وتتميز الطبقة الداخلية باحتوائها على هلام شفاف 99%منه ماء والباقي سكريات واحماض امينية وفيتامينات ودهون والطبقة الوسطى تكون ذات لون اصفر وطعم مر وتحتوي على سكريات متحولة .اما الطبقة الخارجية تسمى القشرة ووظيفتها ايصال الماء والمواد الغذائية الى الطبقة الداخلية وكذلك لها وظيفة دفاعية بالاضافة الى تصنيع البروتينات والكاربوهيدرات للاوليفيرا خصائص مضادة لالتهاب المفاصل ،ومضادة للبكتريا ،ونقص السكر، (Newall *et al*,. 1996)، وقد اثبتت الدراسات ان لمستخلص الاوليفيرا خصائص مضادة للفطريات (Kumar *et al*., 2015). يستخدم هلام النبات في علاج حروق الشمس والمساعدة على تسريع شفاء وترميم الجروح وأظهرت الدراسات أنّه يعزز شفاء الجروح والحروق (Feily and Namazi 2009) وأستخدم ايضا في معاجين الاسنان ،والذي اثبت أنّ له دوراً في مكافحة التسوس والقضاء على بكتريا الفم ويستعمل كبديل للغرغرة الفموية لأنّها تحتوي على نسبة جيدة من فيتامين C كما ان له دور في مكافحة طبقة البلاك وتخفيف نزف وتورم اللثة ،ويستعمل في علاج حموضة المعدة، ويعمل نبات الاوليفيرا على خفض سكر الدم المرتفع (Boudreau,2006) . ويستعمل هلام الاوليفيرا للحفاظ على نظافة ورطوبة البشرة ، وله دور للوقاية من الاكتئاب وتحفيز الذاكرة وذلك عن طريق التجارب التي اجريت على فئران التجربة والتي أظهرت النتائج ان مادة الأوليفيرا تقوي الذاكرة ،وتعزز المزاج والتغلب على الاكتئاب الصبار غني بمضادات الأكسدة التي تقوم بإزالة الجذور الحرة وتمنع تلف الخلايا داخل الجسم . Steenkamp and Stewart,. 2007.

شكل 2-4: نبات الاوليفرا *Aloe vera* (Amar and Resham ,2008).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3 . المواد وطرائق العمل

1.3 المواد Materials

1.1.3.الأجهزة والادوات المستخدمة .

جدول (3-1) الأجهزة والأدوات المستعملة خلال الدراسة

ت	اسم الجهاز	المنشا
1	المؤصدة Autoclave	Korea(Lab tach)
2	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Germany(Minor)
3	ثاقب فليني Cork borer(6mm)	Germany(janetzki)
4	كاميرا رقمية digital camera	Japan (cannon)
5	جهاز تقطير Distiller	Korea(Lab tach)
6	ميزان كهربائي Electric balance	Germany (Sartorius)
7	مطحنة كهربائية Electric grinder	Korea(Denka)
8	فرن كهربائي Electric oven	Germany(Memmert)
9	جهاز الترحيل الكهربائي (gel electrophoresis)	England(Shandon)
10	الحاضنة Incubater	Germany(Memmert)
11	حجرة التلقيح Laminar cabinate	Korea(Jeio tech)
12	مجهر ضوئي Light microscope	Japan(Olympus)
13	مازج مغناطيسي Magnatic stirrer	England(Griffin)
14	جهاز قياس الاس الهيدروجيني pH-meter	Denmark (Raiometer)
15	ثلاجة Refrigerator	Japan (G FL)
16	جهاز الدوران الحراري Thermocycler apparatus	USA (Labnet)
17	حمام مائي Water bath	Germany(Tafesa)
18	مصدر الاشعة الفوق البنفسجية U.V.Tranilluminator	Spectroline)(USA
19	جهاز الاشعة فوق البنفسجية Ultra violet Analyze	France(Aplex)
20	شريحة عد الابواغ Hemocytometer	Germany
21	حوض الترحيل الكهربائي(Electrophoresis tank)	Germany(Binder)
22	انابيب ابندروف Eppendrof tubes	Taiwan (Extragene)
23	أوراق ترشيح Filter paper	Ahlstorm (USA)

2.1.3. المواد الكيميائية المستخدمة

جدول (3-2)المواد الكيميائية والحياتية المستخدمة خلال الدراسة

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة (المنشأ)
1	كحول الايثانول Ethanol	England(BDH)
2	اكاراكار Agar	India(Himedia)
3	اكاروز Agarose	Aerica(Sigma)
4	انزيم البروتينز Proteinase K	Canada(Bio basic)
5	البوادئ Primers	U.S.A (Bioneer)
6	صبغة البروموفينول الأزرق Bromophenole blue	U.S.A(Sigma)
7	صبغة ازرق القطن Lactophenole -cotton blue	U.S.A(Sigma)
8	صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium bromide	U.S.A(Sigma)
9	كلورامفينكول Chloramphenicol	Iraq (SDI)
10	المضاد الحيوي (Amoxicillin)	Pharmachem Biotech(india)
11	كليسيرول Glycerol	BDH(England)
12	هيدروكسيد البوتاسيوم Potassium Hydroxide	Fluka(Switzerland)
13	كبريتات النحاسيك (Sulfate Copper II)	England(BDH)
14	كاربونات الصوديوم المائية Sodium hydro	Fluka(Switzerland)
15	يود Iodine	England (Analar)
16	سترات الصوديوم Sodium citrate	England(BDH)
17	خلات الرصاص Lead Acetate	England(BDH)
18	بلورات الفينول Phenol Crystals	S.P.A CarloErba
19	كلوريد الحديديك Ferric Chloride	England(BDH)
20	كلوريد الزئبقوز Mercuric Chloride	England(BDH)
21	كلوريد الصوديوم Sadium Chloride	Thomas Baker
22	حامض الكبريتيك المركز Sulforic Acide	SEARLE
23	هيدروكسيد الصوديوم Sadium Hydroxide	Thomas Baker
24	حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric Acid	Analytical Rasayan
26	انهدريد الخليك Acetic anhydride	مركز بحوث ابن البيطار
27	فلوكونازول Fluconazole	Pfizer USA
28	مصل دم الانسان	مصرف الدم /كربلاء
29	توين 80 (Tween80)	(Germany) Fluka
30	مكونات طقم استخلاص ال DNA	Korea (Favrofen)

3.1.3 الأوساط الزرعية :

استعملت الأوساط الزرعية المبينة في الجدول (3-3)لغرض عزل الفطريات المرضية وتشخيصها واختبار فعالية المستخلصات النباتية المحضرة تجاهها .

جدول (3-3)الأوساط الزرعية المستخدمة خلال الدراسة

ت	الوسط الزرعي	الشركة المصنعة	المنشا
1	وسط اكار السابرويد والدكستروز Sabouraud dextrose agar	HI-media	India
2	وسط مرق السابرويد والدكستروز Sabouraud dextrose broth	HI-media	India

4.1.3 العدد المستخدمة في التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة

1.4.1.3 المواد المستخدمة في تقنية تفاعل سلسلة البلمرة PCR .

اولاً:عدة استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA.

جدول (3-4)مكونات طقم استخلاص دنا الفطريات من شركة Favrofen .

N0	Genomic DNA purification kit and buffer
1	Lyticase
2	FABG Buffer
3	FATG Buffer
4	Binding buffer (ethanol 100%)
5	Wash buffer1
6	Wash buffer2
7	Nuclease free water
8	Collecation tubes
9	Spin column

ثانياً:البوادئ المستخدمة في تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR)

صممت البوادئ الخاصة بمنطقة internal transcribed spacer rDNA (ITS) بالاعتماد على ماذكره Bellemain *et al* .,(2010) وكما مبين بالجدول(3-5) وحضرت حسب تعليمات الشركة المصنعة .

جدول (3-5) البوادئ المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل .

Primer	Sequence (5′ → 3′)	Size	Reference
Universal primer	ITS5: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC	500-850bp	Bellemain, *et al.*, 2010

ثالثا: مكونات Master mix

جهزت مكونات Master mixمن قبل الشركة المصنعة في انابيب معقمة وتحوي على المكونات المبينة في جدول (3-6).

جدول (3-6) المواد الكيميائية لخليط التفاعل .

المواد الكيميائية	الحجم /لكل انبوب
Master mix promega	12 مايكرو ليتر
Primer forward	1.5 مايكرو ليتر

1.5 مايكرو ليتر	Primer reverse
1 مايكرو ليتر	DNA
9 مايكرو ليتر	D.W
25 مايكرو ليتر	Total

2.3 طرائق العمل

1.2.3 تحضير المحاليل والكواشف Solution and Reagents

1.1.2.3. المحلول الملحي الفسلجي 85%

حضر حسب طريقة Macfadden (2000) بأذابة 8.5 غرام من كلوريد الصوديوم في 1000 مل ماء مقطر وعقم المحلول بألمؤصدة تحت درجة حرارة 121 وضغط جوي 15 باوند /انج^2 ولمدة 15 دقيقة وحفظ بعدها في الثلاجة لحين الاستخدام اذ استخدم لتحضير عالق الخميرة والتخافيف .

2.1.2.3 :محلول مضاد الاموكسسيلين Amoxicillin solution

حضر هذا المحلول بأذابة 250 ملغرام في 1000 مل من الماء مقطر معقم وتم تعقيمه باستخدام مرشحات Sterile syringe filter ذات قطر 0.22 مايكروميتر واضيف الى الوسط لمنع نمو البكتريا (سرحان ،2012).

3.1.2.3:كاشف واكنر Wagner reagent

تم تحضير هذا الكاشف بأذابة 1.3 غم من اليود I_2 مع 2 غرام من ايوديد البوتاسيوم في 100 مل ماء مقطر واستخدم للكشف عن القلويدات (شوكت واخرون 2012).

4.1.2.3 :كاشف كلوريد الحديديك Ferric chloride reagent

حضر هذا الكاشف حسب ماذكره Harborne(1984) للكشف عن وجود الفينولات في عينة النبات ،وذلك بأذابة 1 غرام من كلوريد الحديديك $FeCl_3$ في 100 مل ماء مقطر ثم أضيفت 3 مل من الكاشف لكل 3 مل من المستخلص المائي او الكحولي كلا على انفراد .وظهور راسب اخضر مزرق دليل على وجود الفينولات

5.1.2.3 :كاشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز Phenol and reagent Sulfuric acid

استخدم هذا الكاشف لغرض التحري عن وجود الكاربوهيدرات في عينة الدراسة وحضر بأذابة 25 غرام من بلورات الفينول في 500 مل من الماء المقطر (Jabir *et al* .,2017).

6.1.2.3 :تحضير محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 10% :

حضر المحلول بإذابة (10)غم من هيدروكسيد البوتاسيوم في (90) مل ماء مقطر ثم اضيف له (10)مل من الكليسيرول وذلك لمنع تبلور المحلول ولمنع جفاف العينة ، بعدها حفظ بدرجة حرارة الغرفة ،واستخدم لغرض إجراء الفحص المجهري المباشر ومشاهدة التراكيب الفطرية.

7.1.2.3 صبغة اللاكتوفينول الزرقاء Lactophenol-cotton blue

استخدمت صبغة اللاكتوفينول ازرق القطن الجاهزة لتصبيغ وتثبيت الفطريات لغرض الفحص المجهري حسب تعليمات الشركة المصنعة.

8.1.2.3 كاشف بندكت

اتبعت طريقة الشيخلي وجماعته (1993) في تحضير هذا الكاشف وذلك بأذابة 137 غم من سترات الصوديوم و 100 غم من كاربونات الصوديوم المائية في 800 مل من الماء المقطر ورشح المحلول واضيف اليه محلول كبريتات النحاسيك (17.3 غم في 100 مل ماء مقطر) ثم اكمل الحجم الى 1000 مل بأستعمال ماء مقطر واستعمل للكشف عن الكلايكوسيدات .

2.2.3 :تحضير الأوساط الزرعية Culture media

1.2.2.3 : وسط اكار السابروید دکستروز مع الاموکسسلین Sabouraud dextrose agar with Amoxicillin

حضر الوسط باذابة65غم من مسحوق اكار السابروید دکستروز في1000مل من الماء المقطراستنادا لتعليمات الشركة المصنعة ،ومن ثم اضيف 5 .0غم من السيكلوهكسيمايد وذلك لتثبيط الفطريات الرمية ،وبعد ذلك عقم بالمؤصدة تحت درجة حرارة 121 م وضغط جوي 15 باوند / انج ^{2} ولمدة 15 دقيقة وترك ليبرد الى درجة 45 مْ بعدها اضيف اليه محلول المضاد البكتيري الاموكسيلين (المحضر في فقرة 2.1.2.3)بنسبة 1 مل من محلول المضاد لكل 10 مل من الوسط الزرعي لمنع نمو البكتريا (سرحان ،2012).

2.2.2.3.وسط السابروید السائل Sabouraud broth Medium

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة باذابة 30غم من وسط السابروید في لتر من الماء المقطروبعدها عقم بالمؤصدة ،وترك ليبرد ثم أضيف اليه محلول الاموکسسلين (المحضر في فقرة 2.1.2.3)بنسبة 1 مل من محلول المضاد لكل 10 مل من الوسط الزرعي لمنع نمو البكتريا واستخدم الوسط لحفظ العزلات الدائمي (سرحان ،2012) .

3.2.3التعقيم Sterilization

استعمل جهاز المؤصدة (Autoclve) بدرجة حرارة (121)مْ وضغط (15)باوند/انج^2 ولمدة (20)دقيقة لتعقيم الأوساط الزرعية واستخدم جهاز الفرن الكهربائي Ovenوبدرجة 180مْ لمدة ساعتين لتعقيم الزجاجيات والأدوات التي تحتاج الى تعقيم جاف ، واستخدمت المرشحات الغشائية ذات القطر 0.22 مايكرون لتعقيم المستخلصات النباتية .

4.2.3 جمع العينات المرضية .

جمعت 115عينة من المرضى المصابين بأمراض فطرية في الجلد والفم الذين تم تشخيصهم سريريا من قبل الطبيب المختص وكانوا من المراجعين الى استشارية الامراض الجلدية في مستشفى الامام الحسن المجتبى (عليه السلام) ومستشفى الأطفال التعليمي في محافظة كربلاء المقدسة ومن كلا الجنسين وبأعمار مختلفة .اذ تم جمع 100 عينة من مرضى الإصابات الجلدية , والتي شملت 42 عينة من منطقة الراس ،و 24 عينة بثور وقشورمن الوجه ،و14عينة من منطقة الرقبة ،و10 عينات من منطقة الجبهة و4 عينات من منطقة البطن و4 من منطقة اليد و2عينة اظافر. واخذت 15 عينة من الأطفال المشتبه بأصابتهم بمرض السلاق الفموي ، للفترة من كانون الاول 2022 ولغاية ايار 2023 ، وسجلت البيانات الخاصة لجميع المرضى والتي تمثلت معلومات عن الجنس والعمر ،والأمراض الأخرى ومنطقة الاصابة ومكان الإصابة ،جمعت العينات بتعقيم منطقة الاصابة بالكحول الاثيلي 70% ،لتقليل التلوث

بالجراثيم ،ثم اخذت قشور صغيرة من حافة التقرحات باستعمال شفرة عمياء معقمة وتم الحصول على عينات شعر باستعمال ملقط معقم فيما اخذت قطع من الاظافر المصابة مع ماتحت الاظافر من حطام ايضا بواسطة مشرط معقم ،من المرضى الذين يعانون من إصابات جلدية بينما اخذت مسحات بواسطة مسحة قطنية معقمة من فم الأطفال . نقلت جميع العينات الماخوذة من المصابين الى المختبر لغرض التأكد من وجود الفطريات ولاجراء الفحوصات المختبرية عليها.

1.4.2.3 الفحص المجهري المباشر :

اخذت كمية قليلة من القشطات الجلدية او الشعر او البقايا المتقرنة الرقيقة للاظافر بواسطة أداة التلقيح ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة واضيف اليها قطرة او قطرتان من محلول هيدروكيد البوتاسيوم 10% ثم غطيت بغطاء الشريحة وسخنت بهدوء وذلك بتحريكها فوق اللهب مرتين اوثلاث مع تجنب التسخين حتى الغليان لانه يؤدي الى تبلور هيدروكيد البوتاسيوم ،ثم تركت لمدة 20 دقيقة وبعدها ضغط عليها بلطف بواسطة قاعدة أداة التلقيح لغرض فرش العينة .

اما بخصوص قطع الاظافر السميكة فقد وضعت في انابيب اختبار واضيف اليها كمية قليلة من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 10% وتركت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة 3-4 ساعات ثم اخذت كمية قليلة من هذه العينة بواسطة أداة التلقيح ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ثم غطيت بغطاء الشريحة وضغط عليها بلطف بواسطة قاعدة الأداة لغرض فرش العينة .

فحصت جميع الشرائح الزجاجية المحضرة تحت المجهر باستخدام القوى الصغرى (10x) اولاً ثم القوى الكبرى (40x) للتاكد من وجود الابواغ و/ او الخيوط الفطرية (Ilhan *et al* ., 2015).

2.4.2.3. زرع العينات وعزل الفطريات

بعد اجراء الفحص المجهري المباشر اخذت العينات المتبقية وزرعت كل عينة على وسط زرعي اكار السابروید دكستروز المضاف اليه المضاد الفطري والبكتيري وبواقع مكررين لكل عينة وذلك بوضع عينات القشور او الشعر او الاظافر في وسط الطبق وحضنها تحت درجة حرارة 28م ولمدة 1-3أسبوع اما عينات الفم فتم تخطيط المسحة على سطح الطبق وحضنت بدرجة حرارة37 م ولمدة 48-24ساعة وفحصت جميع الاطباق المزروعة باستمرار على 3-2 أيام والى ان يبدأ النمو الفطري بالظهور(Ellabib and Kalifa ., 2001).

3.4.2.3 ادامة العزلات Maintenance of isolates

1- حفظ قصير الأمد Short term storage

أجريت هذه الطريقة بتنمية عزلات المبيضات المعزولة بعمر (ساعة 24) في انابيب اختبار تحتوي وسط اكار السابرويد المضاف اليه الاموكسسلين المصبوب بشكل مائل وتم حضن الانابيب بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة 24 ساعة ثم حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ ويتم تجديد المزارع كل شهر (Kwon Chung and Bennet . 1992).

2- حفظ طويل الأمد Long term storage

استعمل وسط السابرويد السائل المضاف اليه الاموكسسلين والحاوي على 15% من الكليسيرول ، وزرع الوسط بعد تعقيمه بالمؤصدة في انابيب اختبار وبعدها لقحت كل انبوبة بمستعمرة واحدة من كل عزلة (بعمر 24ساعة) وحضنت الانابيب بدرجة 37مْ لمدة 18ساعة ثم حفظت العينات في الثلاجة تحت درجة -20م ْولمدة تصل الى ست اشهر (Kwon Chung and Bennet , 1992) .

5.2.3 التشخيص

1.5.2.3 -الفطريات الجلدية:

1-الفحص المظهري

بعد ظهور نمو الفطريات على سطح الوسط الزرعي ،فحص شكل المستعمرة الظاهري ولونها ونسجتها (مسحوقية ،قطنية ، زغبية)،وقيس قطرها ، وسجلت فترة نموها واعتمد بالتشخيص على المصادر الاتية :- (Nolte, 1982; Suhonen *et al* 1999 ;Kane and Summerbell, 1999)

2-الفحص المجهري للمستعمرات:

تم فحص صفات الفطريات الجلدية المجهرية ذلك باخذ لقاح من المزرعة باستعمال ابرة معقمة ،ووضعها على شريحة زجاجية ،ومن ثم وضع قطرة من صبغة اللاكتوفينول ازرق القطن ، ثم تغطيتها بغطاء الشريحة وفحصها تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير 10xو 40x ،وذلك لملاحظة التراكيب الفطرية كالخيوط الفطرية والأبواغ اللاجنسية كالابواغ الكبيرة Macroconidiaوالأبواغ الصغيرة Microconidiaوالابواغ الحرشفية Chlamydospores)(Forbes *et al* ,1998.

2.5.2.3 - الخمائر

1 .الفحص المظهري للخمائر

بعد ظهور النمو الفطري على سطح وسطSabourarud dextrose agar المضاف اليه الاموكسسلين ، فحص المظهر الخارجي للمستعمرات النامية والمتضمن شكل المستعمرة ،ولونها ،وارتفاعها ،وقطرها (Zafar *et al*., 2017 ;الخفاجي والمعموري ،2019).

2 .الفحص المجهري للخمائر

تم اخذ كمية قليلة من النمو الفطري ،ونقلت على شريحة زجاجية نظيفة تحتوي على قطرة من صبغة اللاكتو فينول الزرقاء ،وغطيت بغطاء الشريحة وفحصت تحت المجهر بقوة 40x لملاحظة شكل الخلايا وحجم البراعم (Zafar *et al*., 2017 و Bhargava; 2019).

3.اختبار تكوين أنبوب الإنبات Germ tube formation test

اجري هذا الاختبار بأستعمال مصل دم الانسان وبمعدل مكررين لكل عزلة وذلك بوضع 1 ملليتر من المصل في انبوبة اختبار ولقحت بمستعمرة نقية من الخميرة وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 3-4 ساعات بعد ذلك اخذت قطرة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت مجهريا لمشاهدة الانبوب الجرثومي الذي يبرزمن احد جوانب الخلية بشكل برعم ويكون أطول من الخلية الأم بثلاث إلى أربع مرات ويستخدم هذا الاختبار لتمييز *C.albicans* (Bhargava; 2019).

2.5.2.3 حساب النسبة المئوية للظهور (%) Occurrence percentage

تم حساب النسبة المئوية لظهور الاجناس والانواع الفطرية (بركات ،2019) وفق المعادلة الأتية:

عدد العينات التي ظهر فيها الجنس او النوع

النسبة المئوية لظهور الفطريات %= ----------100x

العدد الكلي للعينات الموجبة للزرع

عدد العينات التي ظهرت فيها السعفة

النسبة المئوية لظهور السعفة %= ----------100x

العدد الكلي للعينات

4.5.2.3 التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة .

تم اعتماد منطقة (ITS) Internal transcribed spacer كافضل واسمة جزيئية (Barcording region) في تشخيص الفطريات المعزولة واتبعت الخطوات المدرجه ادناه :

1- استخلاص وتنقية الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA :

تم استخلاص ال DNAمن الفطريات باستخدام طقم الاستخلاصFavrogene الكوري المنشا وفق تعليمات الشركة المصنعة جدول (3-4)وعلى النحو التالي:

1 -تم نقل 1.5غم من غزل فطري لكل عزلة منتخبة من الفطريات الجلدية بعمر 5-8 يوم في حين اخذت نقلة جرثومية صغيرة براس الناقل الجرثومي (loop) مستعمرة مفردة لخميرة المبيضات 24 ساعة الى انبوب ابندروف سعة1.5مل لكل عزلة .

2 - تم اضافة200 مايكروليتر من FATG Buffer الى الخلايا وتعليق الخلايا عن طريق الماصات (سحب ودفع عدة مرات).

3 - تم اضافة 20 مايكرو ليتر من انزيم اللايتكيز Lyticase enzyme ،ومزجت بالمازج الكهربائي Vortexوحضنت بدرجة 37مْ ولمدة 15 دقيقة.

4- تمت إضافة انزيم البروتينيزK Protinase بواقع 40 مايكرو ليتر لكل أنبوب ،وحضن بدرجة 60 مْ لمدة نصف ساعة .

5 -تمت اضافة 200 مايكروليتر من FBA Buffer ومزجت بالمازج الكهربائي ،وتركت 10 دقائق وبدرجة 25 مْ.

6 - وبعد ذلك تم إضافة 200 مابكروليتر من الكحول الاثيلي المطلق لكل أنبوب ومزجت بالمازج الكهربائي.

7-تم وضع العمود الدوار spin column في انبوب الجمع واحد لكل عينة قيد الاستخلاص.

8 - نقلت كل محتويات الخطوة 6 الى العمود الدوار Spin column واخضعت للطرد المركزي تم التخلص من الراشح في انبوب الجمع.

9-تمت اضافة 600 مايكروليتر من محلول الغسل (washing buffer)ونبذت الأنابيب بواقع 12000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة

10 - تم التخلص من الراشح ونقلت من أنابيب السلكا الى أنابيب تجميع جديد ونبذت وهي فارغة لمدة 3 دقايق بسرعة 12000 دورة /دقيقة لغرض تجفيفها

11-تم نقل أنبوب السليكا الى أنابيب ابندروف 1.5مل وتم استحصال الDNA خلال إضافة 100 مايكروليتر من محلول TE بدرجة 70مْ.

12 - نبذت الأنابيب مركزيا 12000دورة/دقيقة وتم التخلص من انابيب السليكا Spin columnوعلم كل انبوب بندروف برقم عينة الفطر قيد الاستخلاص ،وتم حفظ الدنا بالتجميد حتى الاستعمال.

2 - تفاعل (PCR) Polymerase chin reaction:

A-تحضير محلول البادئ الخزين :

استخدمت البرايمرات الموضحة في جدول (3-5)والتي حضرت حسب تعليمات الشركة المجهزة للحصول على تركيز نهائي 100 Picomol/ml .

B-تحضير عدة Ready To Go PCR Beads

اجري اختبار PCR باستخدام عدة Ready To Go PCR Beads والمجهز من قبل الشركة المصنعة جدول (3-6)وكان الحجم النهائي للتفاعل 25 مايكروليتر، اذ اضيف لكل انبوبة 1 مايكرو ليتر DNA ، 1 مايكروليتر من البادئ الامامي و1 مايكروليتر من البادئ الخلفي ويكمل الحجم الى 25 مايكروليتر بأضافة الماء المزال الايونات .

c-ظروف تفاعل البلمرة

تمت مضاعفة الحامض النووي DNA للفطريات المعزولة باستخدام الخطوات الاتية: -

1-الدنترة وهي اول خطوة ،ويتم فيها صهر جزيئة DNA أي فصل الأشرطة وابعادها عن بعضها وتكون حرارة التفاعل 95مْ ،لمدة20-30 ثانية.

2- ارتباط البوادئ: تتم بخفض درجة الحرارة 50-60 مْ تودي الى تكوين أواصر هيدروجينية بين البوادئ وبين التتابعات المكملة لها على اشرطة القالب لمدة 40 ثانية .

3-الاستطالة :تتم على درجة حرارة72م وتعد هذة الدرجة مثالية لعمل انزيم البلمرة.وتستغرق دقيقة واحدة ،تمتلك البوادئ قوة جذب ايوني عالية أتجاه DNA القالب، إذ ترتبط البوادئ بالمواقع الخاصة بها على القالب ،ويباشر انزيم البلمرة ببناء شريط جديد مكمل للقالب بإضافة قواعد نايتروجينية الى البوادئ باتجاه 5الى 3وبانتهاء هذة المرحلة يتم الحصول على عدد كبير من الDNA الذي يكون قيد التضخيم.

3-الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز

1-في دورق زجاجي مخروطي تم وضع 100مل من دارئ1 X-TBE، واضيف له 1غم من الاكاروز بعدها تم وضع الدورق على لوح التسخين الى حد الغليان بحيث اذيبت جميع المكونات بعد ذلك نرفعه من التسخين وننتظره ليبرد لدرجة حرار50-65 مْ، ثم نضيف له 0.5 مايكرو ليتر من صبغة ال Ethidium bromide

2-تحضير حوض اسناد الاكاروز (Tray)وثبت مشط تكوين الحفر (comb) على بعد 1سم من احد طرفي الصفيحة ثم صب هلام الاكاروز في الصفيحة ،وترك ليتصلب لمدة 30 دقيقة ثم رفع مشط تكوين الحفر بهدوء من الهلام المتصلب الذي نقل الى حوض الترحيل الكهربائي (Electrophoresis Tank).

3-نغطي هلام الاكاروز بدارىءTBE بارتفاع 3 ملم حتى ينغمر سطح الهلام

4-نظيف 6 مايكروليتر من الحامض النووي منقوص الاوكسجين الى 2 مايكروليتر من صبغة ال DNA Bromophenol blueاي بنسبة 3:1 ثم نضعه في الحفر في جل الاكاروز .

5-يتم ربط الاقطاب بصورة صحيحة اذ يربط القطب الموجب بالموجب والقطب السالب بالقطب السالب الموجود بمجهز الطاقة لجهاز الترحيل الكهربائي .

6-أجريت عملية الترحيل الكهربائي بفولتية مقدارها100 فولت وب (80) ملي امبير ولمدة ساعة واحدة ولحين وصول الصبغة الزرقاء إلى الربع الأخير من الهلام اذ يتم بعدها ايقاف عملية الترحيل ،وبعدها يتم فحص الهلام تحت الاشعة فوق البنفسجية وبطول موجي (320 نانوميتر)وبوساطة صندوق الاشعة فوق البنفسجية (Ultra violet Analyzer)،وتم تصوير الهلام باستخدام كاميرا Digital ولملاحظة ال DNA المتداخل مع صبغة Ethidium bromide على شكل حزم برتقالية اللون براقة.

4-تحليل نتائج القواعد النايتروجينية للحامض النووي المضاغف من الفطريات المعزولة

أرسلت نتائج تضاعف الحامض النووي المعزولة من تفاعل الPCR الى شركة Macrogen في كوريا الجنوبية ،لغرض تحديد تسلسل القواعد النايتروجينية حللت التسلسلات النايتروجينية باستعمال برنامج (BLAST) Basic Local Alignment Search TOOL،وذلك لمعرفة التشابه بين الفطريات المرضية المدروسة ،والفطريات المسجلة عالميا وتم مقارنتها مع البيانات المسجلة في Gen Bank التابع لمركز المعلومات التقنية الحيوية NCBI (National Center For Biotechnology information) (العابدي واخرون ،2018) .

3.3 جمع وتشخيص نباتات الدراسة Collection and identification of study plant

تم جمع ازهار نبات البابونج *Matricaria chamomilla* وقشور نبات الرمان *Punica granatum* واوراق نبات الخروع *Ricinus communis* واوراق نبات الاوليفيرا *Aloe vera* جدول (3-7)،من الأسواق المحلية في محافظة كربلاء وشخصت من قبل أ.د.بلقيس هادي هاشم التدريسية في كلية العلوم / جامعة كربلاء ، تم التخلص من الشوائب والاتربة العالقة بها وبعدها جففت باستعمال الفرن بدرجة 45مْ ، ثم طحنت بالمطحنة الكهربائية ووضعت في علب زجاجية معقمة في الثلاجة بدرجة 4مْ لحين الاستخدام (الغزالي ،2008).

جدول (3-7)النباتات المستخدمة في الدراسة

ت	الاسم المحلي للنبات	الاسم العلمي	الجزء المستخدم
1	البابونج	*Matricaria chamomilla*	الازهار
2	الخروع	*Racinus communis*	الأوراق
3	الرمان	*Punica granatum*	قشور الثمرة

4	الاوليفيرا	*Aloe vera*	الأوراق

1.3.3.تحضير المستخلصات النباتية Preparation of plant extracts:

تم تحضير المستخلصات النباتية بأخذ 10غرام من مسحوق كل نبات في دورق واضيف اليه 200مل من الماء المقطر الساخن الذي تراوحت درجة حرارته 90-98مْ وترك بشكل نقيع ومزج الخليط بالتحريك بوساطة قطب ممغنط ثم تركت المحتويات لمدة 24ساعة بالحاضنة الهزازة ،وبعد ذلك رشحت بوساطة 2-3 طبقات من الشاش المعقم ،وبعد ذلك وضع الراشح في طبق مفتوح ليجف في الفرن لمدة 2-3 ايام وبدرجة 45-50 مْ ،وبعدها جمع المترسب بطريقة القشط وحفظه بالثلاجة بدرجة 4مْ لحين الاستعمال.

2.3.3 الكشف الكيميائي التمهيدي للمكونات الفعالة:

A -تحديد الأس الهيدروجيني .PH determination

مزج (10)غرام من مسحوق النبات مع 50 مل من الماء المقطر بوساطة مازج مغناطيسي لمدة (10)دقائق وباستخدام جهازph -meter قدرت قيمة الاس الهيدروجيني (Adewale *et al*,. 2007)

B- الكشف عن الصابونين Saponins .

تم تحضير محلول مائي وذلك بمزج 1غم من مسحوق النبات مع 5مل من الماء المقطر، ثم وضع في انبوبة إختبار، ورج بشدة لمدة (5)دقائق وعند تكون رغوة كثيفة تبقى لمدة طويلة يمكن الإستدلال على وجود الصابونينات شوكت وآخرون (2012).

C- الكشف عن الراتنجات Resins

أضيف 5غم من المستخلص النباتي (مائي او كحولي) الى 50 ملليتر كحول الأثيلي، وغُلِي في حمام مائي بدرجة (100)مْ لمدة دقيقة واحدة ، ثم رشح المحلول وأضيف إليه (100) مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 4%، يد ل ظهور العكورة على وجود الراتنجات في المسحوق النباتي (Jabir e*t al*., 2017) .

D -الكشف عن الفينولات phenols:

استعمل كاشف كلوريد الحديديك المحضر في الفقرة 4.1.2.3 للكشف عن وجود الفينولات في عينة النبات ، اضيف 3 مليليتر من الكاشف لكل 3 مليليتر من المستخلص المائي اذ ان ظهور راسب اخضر مزرق على وجود

الفينولات (Harborne., 1984)تم مزج 1مل من المستخلص المائي مع 1مل من حامض الكبريتيك المركز، فكان اللون الأصفر الداكن دليلاً على النتيجة الموجبة للكشف (1991، Al- Khazragi).

E - الكشف عن التانينات Tannins

اتبعت طريقة (1998)., Ahmed *et al* في الكشف عن التانينات وذلك بإضافة عدة قطرات من محلول خلات الرصاص 1% الى 0.5 مل من المستخلص المائي للنبات ،اذ ان ظهور راسب ابيض هلامي القوام يعد دليلا على وجود التانينات .

F - الكشف عن الكربوهيدرات Carbohydrate

لغرض التحري عن وجود الكاربوهيدرات في عينة الدراسة استعمل كاشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز ،اذ تم إضافة 0.5 مل من كاشف الفينول المحضر في الفقرة 5.1.2.3 الى 0.5 مل من المستخلص المائي ثم رجت جيداً واضيف اليها 2.5 ملليتر من حامض الكبريتيك المركز ، حيث يدل ظهور اللون الأحمر على وجود الكاربوهيدرات في مستخلص النبات (Jabir *et al* .,2017) .

G -الكشف عن الفيوكومارينات Fuocoumarins

حضر محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي 10 % ،واضيف الى 1مل من المستخلص المائي فإنّ تكون اللون الأصفر او الأصفر المخضر دلالة على تكون الفيوكيومارينات(Harborne , 1984) .

H - الكشف عن الكلايكوسيداتGlycosides

اتبعت طريقة الشيخلي وجماعته (1993) في الكشف عن وجود الكلايكوسيدات وذلك بوضع 1 ملليتر من المستخلص المائي في انبوبة اختبار واضيف اليه 2 ملليتر من كاشف بندكت المحضر في الفقرة8.1.2.3 ثم اكمل الحجم الى 1000 مل باستعمال ماء مقطر ونقلت الى حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق بعدها تركت لتبرد ، فكان ظهوراللون الأحمر دليلا على النتيجة الموجبة للكشف .

I -الكشف عن القلويداتAlkaloid

اجري الاختبار بأستعمال كاشف واكنر المحضر في الفقرة 3.1.2.3 بإضافة 1-2 مل من الكاشف الى 5 مل من المستخلص المائي ويشير ظهور راسب بني على وجود القلويدات (شوكت واخرون ،2012).

J -الكشف عن البروتينات

يتم الكشف عن البروتينات عن طريق اختبار بيوريت اذ يضاف 1مل من الكاشف (البايوريت)،الذي يكون ازرق اللون الى 1مل من محلول النبات ويكون الكشف موجب عند تكون حلقة بنفسجية وهو دلالة على وجود البروتين (Fenk., 2007).

K -الكشف عن الكومارينات

ناخذ 1 مل من المستخلص الكحولي للنبات في انبوبة اختبار ونضع في داخله ورقة ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم ثم سخنت في حمام مائي مغلي لبضع دقائق وعرضت ورقة الترشيح لمصدر الاشعة فوق البنفسجية ويظهر لون اصفر مخضر براق دلالة على وجود الكومارينات(Jaffer *et al* .,1988).

L -الكشف عن التربينات

يمزج 1مل من الايثانول مع 1مل من الكلوروفورم مع قطرتين من انهدريد الخليك و قطرتين من حامض الكبريتيك الى وتضاف الى1 مل من مستخلص النبات المراد الكشف عنه ،فظهور اللون البني هو دليل على وجود التربينات . (Harborne 1984).

M -الكشف عن الستروريدات

نأخذ واحد مل من المستخلص المائي للنبات يضاف له واحد مل من الايثانول مع 1مل من الكلوروفوم ثم قطرتين من انهدريد الخليك وقطرتين من حامض الكبريتيك وعند ظهور اللون الأزرق دلالة على وجود الستروريد. Harborne .(1984)

N-الكشف عن الفلافويندات

تم تحضير محلولين المحلول (A) باذابة 10 غم من المستخلص المائي للنبات في 50 مل كحول اثيلي 59% ثم رشح المحلول . المحلول (B)حضر بإضافة 10 مل من الكحول الاثيلي 50% الى 10 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 50% ،ثم مزجت كميات متساوية من كل من المحلولين ،ظهور اللون الأصفر يدل على وجود الفلافونيدات (شوكت واخرون ،2012).

4.3. تأثيرالمستخلصات النباتية على نمو الفطريات المعزولة .

1 -تحضير تراكيز المستخلصات النباتية

تم تحضير المستخلص المائي باذابة (0.25, 0.15,0.20 و0.10و 0.05) غم في 1مل من الماء المقطر المعقم كل على حدة للحصول على تركيز(25%,20%,15%,10%,5%)على التوالي (كتلة بالغرام /الحجم بلملليتر*100) .

2 -تحضير عالق الفطريات المعزولة

نشطت العزلات الفطرية الجلدية بأنمائها على وسط السابرويد دكستروز اكارالمضاف اليه السايكلوهكسمايد لتثبيط الفطريات الرمية والاموكسلين المضاد للبكتريا.ونحسب الخلايا الفطرية بأستخدام شريحة عد الخلايا التي تستعمل لعد خلايا الدم الحمراء (Hemocytometer) نقوم بتحضير العالق الفطري بإضافة 2 مل من الماء المقطر المضاف اليه قليل من(80)Tween التي تستخدم لتقليل الشد السطحي وبعد إضافة الماء إلى المستعمرة الفطرية نحاول ان نضغط عليها كي نمزق المستعمرة الفطرية لخروج الابواغ بوساطة ملقط او مسحة قطنية ، ننظف سطح شريحة العد ونضع ال coveslip فوق الشريحة بحذر ،بوساطة تب نضيف نسحب من العالق ونضيف تحت الغطاء وبرفق ونتجنب حدوث فقاعات هوائية ونبدأ بالعد نحسب الخلايا في المربعات الأربعة التي تكون في الزوايا ونحسب الخلايا في حدود الأعلى و على اليسار ونتجنب الخلايا التي تكون على حدود اليمين اوفي الأسفل ونجمع كل الخلايا التي تم حسابها في المربعات الأربعة للحصول على تركيز 10^8 بتطبيق المعادلة :عدد الابواغ / مل =$N*10^4$ (Farhat ,2019).

اما تحضير عالق الخميرة فيتم نقل عدد من المستعمرات المنماة على وسط السابرويد دكستروز اكار المضاف اليه الاموكسلين وبعمر24 ساعةالى أنبوب اختبار تحتوي على 5 مل من المحلول الفسلجي بتركيز 0.85% ،ورج المحلول للحصول على عالق تركيزه 1-5*10^6خلية / مل من خلال مقارنته مع محلول مكفر لاند 0.5 (Schwalbe *et al*., 2007)

3 -اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه الفطريات المعزولة:

اتبعت طريقة الانتشار في الحفر حسب طريقة Zinedine and faid (2007) وكما يلي :

A- لقح سطح السابرويد دكستروز اكار بأضافة 0.5مل من المستعمرة الفطرية بواسطة بابيت معقمة الى نصف طبق وسط السابرويد دكستروز اكار ونضيف اليها 2 مل من الماء المعقم ونقوم بمجانسة الطبق باستخدام قضيب زجاجي على شكل حرف L ونتركه لمدة لاتتجاوز ال 60 دقيقة لغرض تشرب الماء الزائد في الوسط الزرعي ،وبعد ذلك نعمل ثقوب بقطر0.8 ملم باستخدام الثاقب الفليني .

B- تم إضافة 100 مايكروليتر من كل مستخلص من كل تركيز وبواقع ثلاث مكررات وتم اعتماد الماء المقطر في في احدى الحفر للتقييم ، على وفق طريقة (Esteban *et al* ., 2005)، حضنت الاطباق بدرجة 28-30مْ ولمدة 1-3 أسبوع للفطريات الجلدية ،و بدرجة 37 مْ ولمدة 24-48 ساعة بالنسبة للخمائر.

C- وتمت متابعة نمو الفطريات في الاطباق بشكل يومي لتقييم تقدم العمل ومن ثم قياس منطقة التثبيط ان وجدت بوساطة المسطرة المترية اذ تم قياس اقطارمتعامدة لمنطقة التثبيط ولكل المعاملات وتم تسجيل القياسات وقد اخذ اكثر من قياس لمناطق التثبيط لمراعاة الفعل التثبيطي والنمو الشعاعي للفطريات الجلدية ومدى تحسسها لوجود مادة سامة.

5.3.التحليل الاحصائي

تم استخدام برنامج التحليل الإحصائي Statistical Packageforthe Social Sciences(SPSS) بنسخته 22.0 لسنة (2009) إذ استخدم الاختبار Independent -Samples T-test عند قيمة P=0.05. وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي L.S.D وعلى مستوى احتمالية 0.01.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Rusults and Discussion

4.النتائج والمناقشة Rusults and discussion:

1.4. عزل وتشخيص المسببات المرضية

أظهرت نتائج الفحص المجهري المباشر للعينات التي تم جمعها من المرضى المصابين بالامراض الجلدية والمصابين بالسلاق الفموي عن وجود الفطريات في 42 عينة (37%)من مجموغع 115 عينة جدول (4-1) ،و كان من بينها 32 عينة (32%)عينة تعود لاصابات فطرية جلدية و10 عينات تعود لمرضى مصابين بالسلاق الفموي ،وهذه النتيجة مقاربة نسبيا لما توصل إليه(2009) ,.Zaini *et al* اذ بلغت النسبة المسجلة في دراستهم 41.9% . تختلف عما توصل اليه الظويهري (2007) و (2017).,Study *et al* في دراستهم اذ سجلوا نسب مقاربة الى 80% ان سبب انخفاض النتيجة الموجبة للزرع الى أنّه من الممكن ان تموت الكونيدات وتبقى أجزاء منها في بعض النماذج السريرية مثل داخل عينة الشعر او الاظافر ،أولان المريض المصاب بالسعفة قد تناول بعض المضادات الحيوية، مما اثر على ظهورها في الزرع المختبري، (Nada *et al*. ,2005) .

جدول (4-1) نتائج الفحص الزرعي للحالات المشمولة بالدراسة.

نتائج الفحص الزرعي	العدد	العدد	(%)
الحالات الموجبة للفطريات 42 عينة (37%)	إصابات فطرية جلدية	32	27.8
	إصابات بالسلاق الفموي	10	8.6
الحالات السالبة للفطريات		73	63.4
المجموع		115	100

2.4 الأشكال السريرية للاصابات الفطرية :

أظهرت الملاحظات السريرية لحالات الإصابات الكلية المشموله بالدراسة عن وجود ستة اشكال سريرية للاصابات الفطرية الجلدية جدول(4-2) وتبين ان سعفة الراسTiena capitis هي الشكل السريري السائد بنسبة 36% (42) حالة وتلتها سعفة الوجه Tiena faciei بعدد 34 وبنسبة 29.5% ،فيما سجلت سعفة الجسم Tiena corporis 18 ،وبنسبة 15.6% وكانت سعفة اليد Tiena manum بعدد 4 وبنسبة 3.4% ،والسلاق الفموي 13.04% في حين سجلت اقل نسبة إصابة بالشكل السريري سعفة الاظافر، فقد سجلت 2 وبنسبة1.7 % .واظهر التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية في حدوث الإصابة تبعا لجنس المريض ماعدا إصابات الاظافر لم تظهر أي فروقات معنوية في

حدوث الإصابة بين الجنسين ،وفيما يخص اعمار المصابين تبين من الجدول أيضا ان هناك فروقا معنوية في حدوث الإصابة بين الاشكال المختلفة اذ كانت اعلى نسبة إصابة مسجلة لدى المصابين ضمن فئة الاعمار اقل من 10 سنة اذ بلغت اعدادهم 61 وتلتها لدى فئة الاعمار 11-29 سنةاذ بلغت اعدادهم 40 .هذه النتائج جائت مطابقة لما توصل اليه Abd Elmegeed *et al* .,(2015) وتخالف ماسجله موسى (2012).اذ سجل اعلى نسبة بداء السعفة في الفئة العمرية الأكبر من 30 سنة .ويعزى سبب هذه النتائج الى احتمال تناول المضادات الحيوية بكثرة(Marsh and Martin ., 2015) اوبسبب الرضاعة الاصطناعية او الإصابة ببعض الامراض مثل الايدز او السرطان او الأشخاص الذين يعانون من ضعف المناعة اونتيجة الإصابة بداء السكر(Sharma,2019).

اما نسبة سعفة الراس ،وسعفة الوجه ،وسعفة الجسم، وسعفة اليد ،وسعفة الأظافر بالنسبة لعدد الإصابات المعزولة من الجلد والبالغ عددها 100 فقد كانت وعلى التوالي (42%،34% ،18%،4%،2%).

وقد سجلت سعفة الراس Tiena capitis فروقاً معنوية عالية مقارنة بباقي الإصابات ،وكانت في الذكور اعلى من الاناث اذ بغلت قيمة Pvalue اقل من 0.01، اما سعفة الاظافر لم تسجل أي فرق معنوي اذ بلغت Pvalue= 0.095 حيث إنها اكثر من 0.05.

جدول (4-2) توزيع الأنماط السريرية للسعفة وداء المبيضات نسبة الى العمر والجنس(n=115).

نوع الاصابة	الجنس	الفئات العمرية ( )			Total	Total Summation	%	Chi squared test P value
		< 10	11-29	> 30				
T.capitis	ذكر	29	5	2	36	42	36.52	4.453 0.001HS
	انثى	5	1	0	6			
T.faciei	ذكر	7	13	2	22	34	29.56	3.004 0.042S
	انثى	3	7	2	12			
T.corporis	ذكر	5	8	3	16	18	15.65	2.101 0.044S
	انثى	1	1	0	2			
T.manum	ذكر	0	1	3	3	4	3.47	3.011 0.036S
	انثى	0	0	0	0			
T.ungium	ذكر	0	0	2	2	2	1.73	1.401 0.095NS
	انثى	0	0	0	0			
Oral candidiasis	ذكر	5	2	0	7	15	13.04	2.491 0.039S
	انثى	6	2	0	8			
total		61	40	14	115	115	100	
Chi squared test P value		3.401 0.039S						

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)

HS: high significant difference at 0.01 level(0.01<p value < 0.05)

NS:Non significant difference at 0.05 level(p value >0.05)

كما تم تسجيل اعداد ونسب الامصابين بالفطريات في الاحالات الموجبة تبعا للجنس جدول(3-4) وحسب التحليل الاحصائي تبين وجود فروق معنوية في حدوث الإصابة بين الذكور والاناث حيث سجلت اعلى نسبة الإصابة الكلية لدى الذكور 28% ولدى الاناث 14% وحسب التحليل الاحصائي كانت هناك فروق معنوية وحسب قيمة P value= 0.029،التي هي اقل من 0.05 وأيضا كانت هناك فروق معنوية بين العينات الموجبة زرعيا والموجبة سريريا اذ كانت P value =0.021 والتي هي أيضا اقل من 0.05 ،وقد يعزى ذلك الى تعرض الذكور الى بيئات متنوعة من العمل مثل العمل في المجازر وورشات تصليح السيارات والكهربائيات وتعرضهم للتربة والزيوت وكذلك العمل في مجال الزراعة وتربية الحيوانات التي تعد بمجموعها مواطن لنقل اللقاح الفطري وتتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Kaur and Puri(2012 الذي وجد أنّ الاصابة ترتفع في عمال الخدمة ورجال الاعمال بنسبة 32% ثم فئة الفلاحين بنسبة 8% و أخيرا فئة الطلبة والعمال بنسبة 4%،،ودراسة Falahati *et al* .(2018); Afroz *et al*.(2018) الذين وجدوا ان نسبة إصابة الذكور اكثر الاناث . هذا بالنسبة الى العينات الماخوذة من الأفراد المصابين بالفطريات الجلدية .اما العينات المأخوذة من الفم ،فقد جمعت (15)عينة من فم المرضى الذين راجعوا مستشفى الأطفال التعليمي في محافظة كربلاء ، وكانت عدد العينات الموجبة للزرع 10 وبنسبة 66% وهذه النسبة تتفق نسبيا إلى ماتوصل إليه محمد وجماعته (2021) اذ كانت النسبة 69.6% وأيضا تتفق نسبيا مع الشيخلي وجماعته (2022) اذ بلغت النسبة 74% وهي اقل مما سجله الخفاجي (2017) ،اذ كانت النسبة 94%،اما عبد الواحد وجماعته (2016) فقد كانت النسبة اقل بكثير اذ سجل 10.64% .

جدول(3-4) توزيع عينات الدراسة حسب نوع جنس المريض

Gender / samples	Positive in culture		total	%	Chi squared test P value
	ذكور	اناث			
Skin scales	13	5	18	42.8	3.401 0.029[S]
Hair scales	10	3	13	30.9	
Nails	1	0	1	2.3	
Oral sample	4	6	10	23.8	
total	28	14	42	100	
T test P value	3.201 0.035[S]				

.

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)

HS: high significant difference at 0.01 level (p value < 0.01)

صنفت الحالات المرضية الموجبة للفطريات تبعا لمجموعة الفطريات التي شخصت بواسطة الزرع الى مجموعتين أساسية كما مبين في الجدول (4-4) هما مجموعة الفطريات الجلدية والتي كانت الأكثر تكرارا اذ بلغت نسبتها 76% (32عينة) مقارنة بالخمائر التي سجلت نسبة 23 %(10 عينة).

جدول (4-4) مجاميع الفطريات المعزولة تبعا لنتائج الزرع

المجموعة	العدد	%
الفطريات الجلدية	32	76.2
الخمائر(المبيضات)	10	23,8
المجموع	42	100

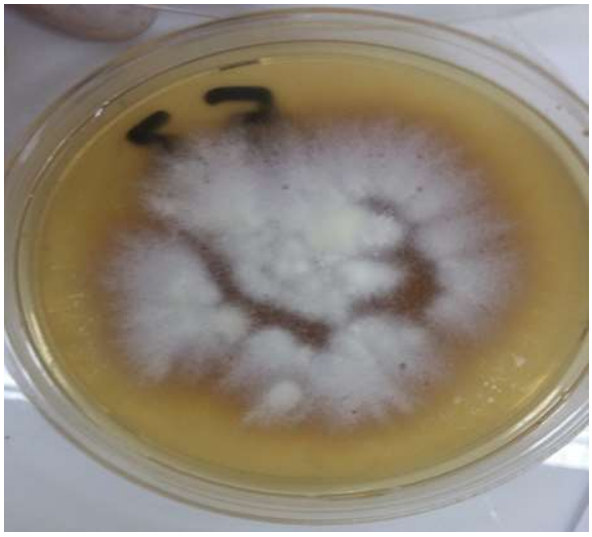
3.4. تشخيص الفطريات المعزولة

1.3.4. الفطريات الجلدية

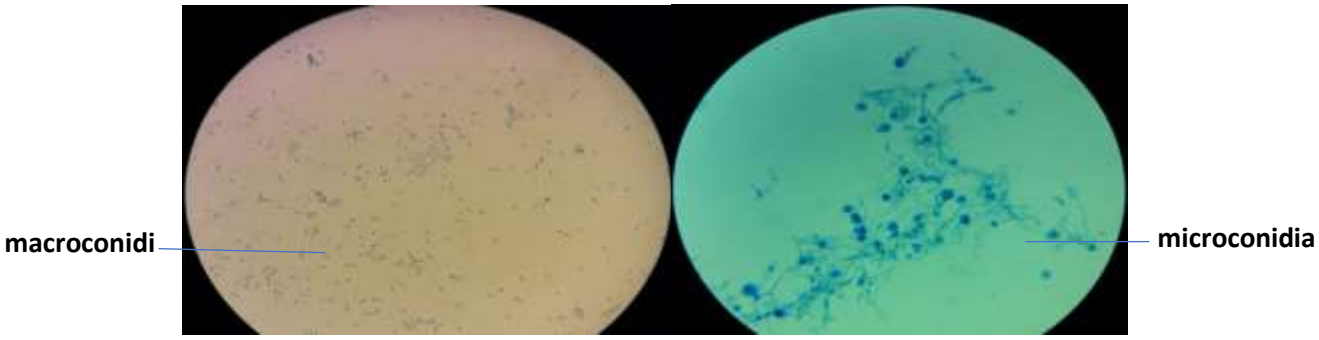
شخصت الفطريات المعزولة خلال فترة الدراسة ،وذلك بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات على الأوساط الزرعية مثل شكل ولون وقوام وحجم طبيعة المستعمرات بالإضافة الى صبغة قاعدة المستعمرة التي تنتجها من الجهة الخلفية للطبق وكذلك الصفات المجهرية ،والتي تشمل الابواغ الحرشفية ،والابواغ الكبيرة والصغيرة من حيث الشكل والعدد وسماكة الجدران والفواصل ،وقد وجد أن ّالفطريات المسببة لداء السعفة تضمنت خمسة أنواع تعود الى الفطريات الجلدية Dermatophytes بالإضافة الأنواع التابعة للفطريات الرمية والخمائر.

T.mentogrophytes.1.1.3.4

ظهرت المستعمرات النامية على وسط السابرويد اكار (SDA) بيضاء حبيبية المظهر مسطحة وفي بعض العزلات تكون مطوية من المركز ومرتفعة وتشبه الجلد المدبوغ شكل (4-1)،اما صبغة القاعدة (reverse) فكانت بنية اللون مائلة إلى الإحمرار ،أما الفحص المجهري فقد أظهر أبواغ صغيرة، وحيدة الخلية، رقيقة الجدران شكلها كروي الى كمثري .الابواغ الكبيرة فقد كانت رقيقة الجدران متعددة الخلايا وذات نهاية مدورة ،والأبواغ الحرشفية كروية ومتفاوته الأعداد شكل (4-2).وهذا يتفق مع ماذكره Raghuramulu *et al* ., (2011) و(Seker and Dogan,(2011.



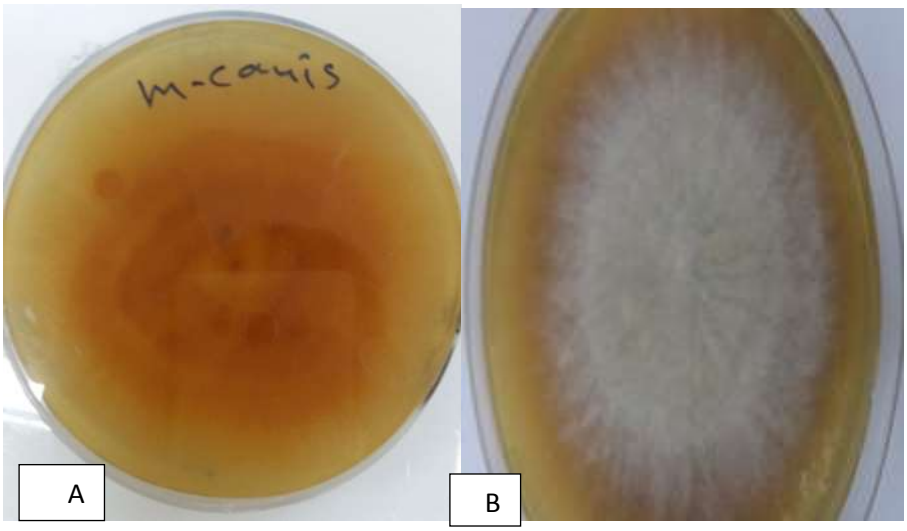
شكل (4-1) مستعمرات الفطر *T. mentogrophytes* على وسط SDA



شكل (4-2)الأبواغ الصغيرة والكبيرة للفطر *T.mentogrophytes* تحت المجهر وبقوة 40x

M. canis.2.1.3.4

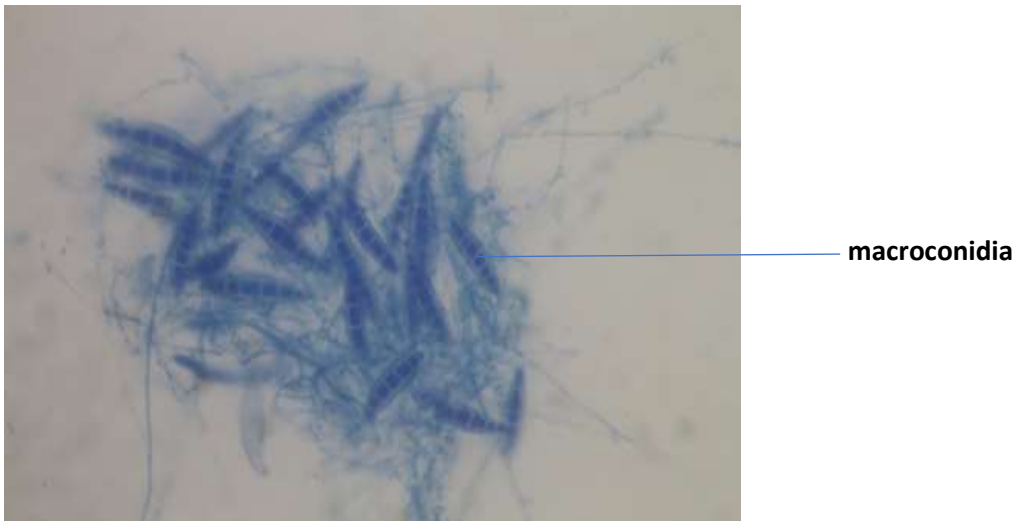
ظهرت المستعمرات النامية على وسط السابرويد اكار SDAعند الحضن بدرجة 27مْ وبعد نمو لمدة أسبوعين كانت بيضاء من الوسط ومحاطة بلون برّاق أصفر ثم تحول بالتدريج الى اللون الأصفر مع الوقت حتى بدت بمظهر قطني كثيف أما صبغة القاعدة فكانت بلون أصفر ذهبي الى برتقالي وبزيادة النمو تتحول الى اللون البني شكل (4-3).الأبواغ الصغيرة (Microconidia)تكون قليلة وصغيرة وشكلها كمثري اما الابواغ الكبيرة(Macroconidia) فتكون كثيرة وسميكة الجدران وشكلها مغزلي شكل (4-4) ،وهذا متفق مع ماذكره (2003)., Dismukes *et al*



شكل(4-3) مستعمرات الفطر *M.canis* على وسط SAD

A -الجهة العليا للطبق

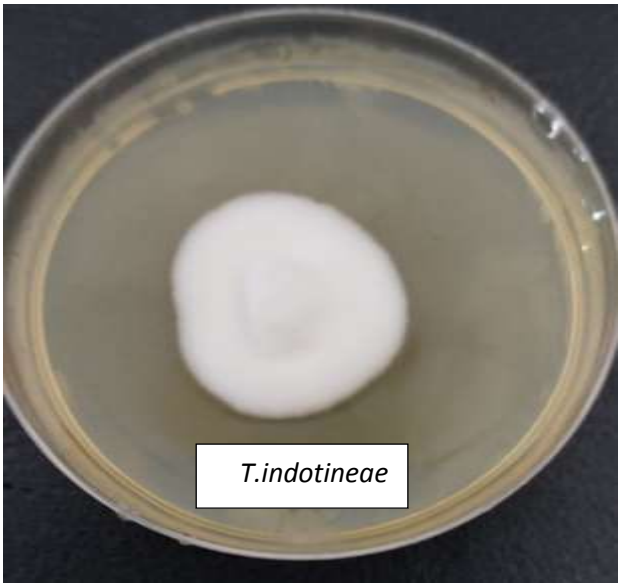
B -الجهة السفلية للطبق



شكل (4-4)الأبواغ الكبيرة *M.canis* تحت المجهر وبقوة 40x

***indotineae*.3.1.3.4**

تكون المستعمرات على وسط السابرويد اكار وبدرجة حرارة 27م ولمدة أسبوعين بيضاء مشعة ومرتفعة شكل (4-5)أما صبغة القاعدة فتكون ذات لون أصفر باهت أما الأبواغ تكون لولبية الشكل مع ترتيب يشبه العنب شكل (4-6)



شكل (4-5) مستعمرات الفطر *T.indotineae* على وسط SDA

شكل (4-6) الأبواغ الصغيرة والكبيرة للفطر *T.indotineae* على وسط SDA تحت المجهر وبقوة تكبير 40x

T.quinickueam 4.1.3.4

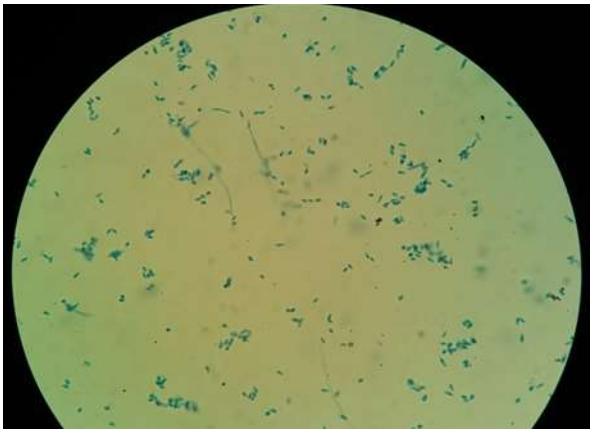
تكون مستعمرات على وسط السابرويد اكار و بدرجة 27 م ولمدة أسبوعين بيضاء وصبغة القاعدة صفراء فاتحة شكل (4-7) ومن الصعب تمييز هذا الجنس مظهريا إلا بالطرق الجزيئية

شكل (4-7)مستعمرات الفطر *T.qunickeanum* على وسط الSDA

T. interdigitale .5.1.3.4

يكون شكل المستعمرات النامية على وسط السابرويد اكار (SDA) بدرجة 27م ولمد أسبوعين بيضاء الى كريمية اللون قطنية مسحوقية المظهر منخفضة تشبه الجلد المدبوغ شكل (4-8)،أما صبغة القاعدة (Reverse) يكون لونها اصفر جوزي إلى وردي وتكون الأبواغ الصغيرة قليلة وتكون كروية الى كمثرية الشكل شكل (4-9) أما الأبواغ الكبيرة فلم تلاحظ وهذا يتفق مع ماذكره (Ellis, *et al*., 2007).

شكل (4-8)مستعمرات الفطر *T.interdigetal* على وسط SDA



شكل (4-9) الابواغ الصغيرة للفطر *T.interdigetal* تحت المجهر بقوة 40x

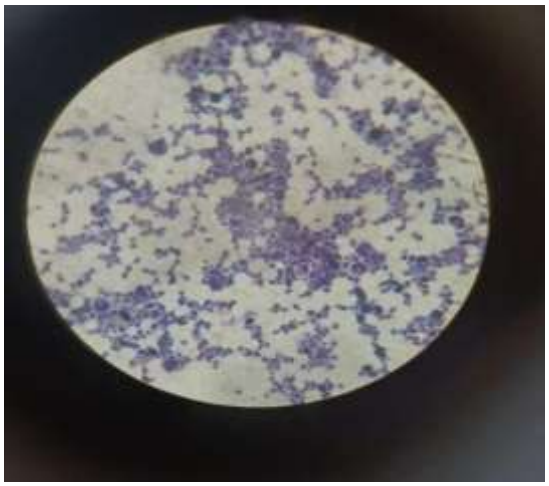
2.3.4. الخمائر

Candida albicans.1.2.3.4

تكون مستعمرات هذا النوع من الخمائر على وسط السابرويد اكار وبدرجة 37مْ ولمدة 24-48 ساعة كانت مستعمرات خميرة المبيضات ذات لون كريمي مصفر وكانت لامعة وناعمة وجافة الشكل (4-10) (Bhavan *et al*,. 2010) .

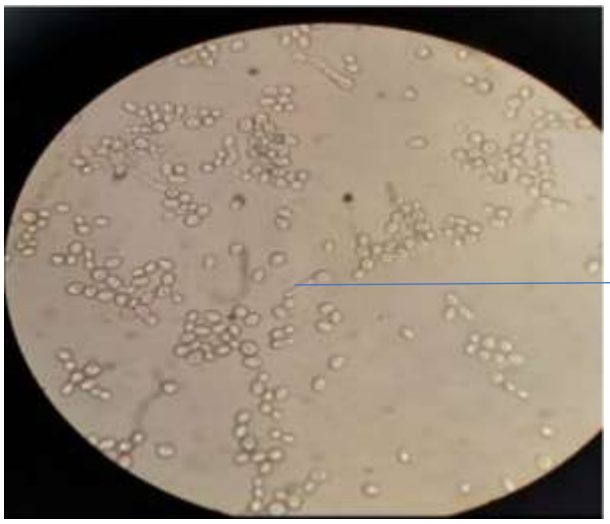
شكل (4-10)مستعمرات *C.albicans* على وسط SDA

اظهرت العزلات جميعها تحت المجهر خلايا كروية أوبيضوية متفرعة أو متبرعمة وهذه النتائج تطابق ماذكره Zafar *et al.*,(2017) و(Bhargava 2019) شكل(4-11).



شكل (4-11) يوضح شكل الخمائر في المجهر الضوئي بقوة 40X

كما أظهرت جميع عزلات المبيضات البيضاء المعزولة القدرة على انتاج الانبوب الجرثومي الذي يكون على شكل نمو خيطي رقيق ينمو من خلية الخميرة ويعتبر هو احد عوامل الضراوة فيها، يظهر أنبوب الإنبات تحت المجهر كما في الشكل(4-12).



شكل (4-12) يوضح أنبوب الانبات في خميرة *C.albicans*

أظهرت النتائج ان الفطر *T. mentogrophytes* و *C.albicans* كانا اكثر الأنواع المعزولة تكرارا اذ بلغت نسبتهم 23.8% وتلاه الفطر *M.canis* بنسبة 19.4% ثم *T. quinckeanum* و*T.indotineae* إذ سجلت نسبة 14.2% لكل منهما في حين سجلت اقل نسبة عزل للفطر *T.interdigital* جدول (4-5) تعزى هذه النتائج الى ان غالبية الفطريات المعزولة هي من النوع المحب للحيونات التي تنتقل الى الانسان عن طريق التلامس المباشر مع الحيونات مثل الكلاب والقطط والماشية التي من الصعوبة التعرف على اصابتها بالفطريات اذ انها تحمل الفطريات بدون

وجود اعراض مرضية (Ilhan *et al* .,2015) كما ان الإصابات الفطرية قد تنتقل عند ملامسة شخص مصاب اخر وباستعمال ادواته ، ويعد سكان محافظة كربلاء اكثر عرضة من غيرهم للامراض المعدية وخاصة الفطريات الاجلدية بوصفها مركزا للسياحة الدينية التي يزورها اكثر من مليون شخص سنويا من مختلف محافظات العراق ودول العالم ، وكانت هناك فروق معنوية بين الفطريات المسببة للامراض الجلدية اذ كانت قيمة Pvalue =0.043 ،والتي هي اقل من 0.05 اما بالنسبة لنوع الإصابة ،فقد كانت هناك فروق معنوية عالية اذ بلغت P value=0.009 ،والتي تكون اقل من 0.01.

جدول (4-5) تردد أنواع الفطريات المعزولة من الجلد والفم المعزولة نسبة الى الأنماط السريرية المسببة لها (n=42)

Type of Fungi	T.corporis	T.capitis	T.facial	T.unguium	T.manum	Oral candidasis	total	%	Chi squared test P value
T.mentagrophytes	6	2	0	1	1	0	10	23.8	
C.albicanis	0	0	0	0	0	10	10	23.8	
M.canis	3	4	1	0	0	0	8	19.4	2.601
T.quinckum	3	3	0	0	0	0	6	14.2	0.043[S]
T. indotinieae	0	2	4	0	0	0	6	14.2	
T. interdigital	0	2	0	0	0	0	2	4.7	
total	12	13	5	1	1	10	42		
%	28.5	30.9	11.9	2.38	2.38	23.8			
Chi squared test P value	4.341 0.009[HS]								

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)

HS: high significant difference at 0.01 level(0.01<p value < 0.05)

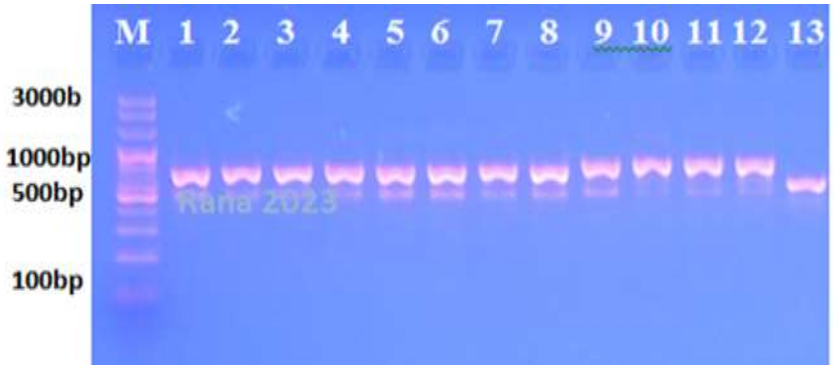
NS:Non significant difference at 0.05 level(p value >0.05)

4.4 التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة :

أظهرت نتائج التشخيص باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل إمكانية المضاعفة الكاملة لمنطقة ITS المهمة في تشخيص الفطريات .ان اختيار هذه المنطقة في تشخيص الفطريات الى مستوى الجنس والنوع يعزى الى أسباب منها وجود عدد من البادئات العالمية الخاصة بالفطريات القائمة على المناطق المحفوظة لجين rDNA الذي يجعل من الممكن الحصول على نواتج تفاعل بلمرة متسلسل فضلا عن إيداع عدد كبير من تسلسلات هذه المنطقة في قاعدة بيانات البنك الاجيني مما يجعل عملية البحث عن التشابه سهلة اذا ان هذا الجين مناسب لايجاد مناطق محفوظة داخل مجموعة من الفطريات لتأسيس علاقات النشوء والتطور بين الفطريات وثيقة الصلة (Chan *et al* .,2013).

تم الحصول في هذه الدراسة على ناتج تضاعف تراوحت احجامه بين 700-550bp كما مبين في الشكل (4-13) 550 bp. لعزلات *C.albicans* و670bp للفطر *T. interdigitale* و680bp للفطر *T.mentogrophyte* و700 للفطر *T. indotineae* و*T.qunickueam* و*M.canis* .

جاءت نتيجة الدراسة متفقة مع نتائج (Mirhindi *et al.*,(2006 الذي استعمل الباءى ITS4 وITS5 في تضخيم منطقة ITS للمبيضات بناتج تضاعف بلغ 510-870 زوج قاعدي ،ونتائج (2020).,Alkafaj اذ تراوحت احجام نتائج تضاعف ال DNA للفطريات الجلدية في دراستهم بين 680-700 زوج قاعدي ، بينما بلغت 550 زوج قاعدي للمبيضات البيضاء ،ويعود سبب تباين حجم منطقة ITS4-8 وITS1-5 بين الفطريات كونها منطقة محافظة بين الفطريات المختلفة (Fujita *et al* ., 2001).



شكل(4-13): ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل لأنواع الفطرية المعزولة. العزلات (1,4,8)= *T.mentogrophyte* 680 bp، العزلات (5,7)= *M.canis* 655bp ،العزلات (9,10)= T. *indotineae* 690bp ،العزلات 11,12= *T.qunickueam* 700bp العزلة (6)= *T.interdigital* 67bp أما العزلة (13)= *C.albicans* 550bp .

. DNA Ladder =100-3000bp

إن للتشخيص المظهري أهمية كبيرة في تحديد الفطريات المستعملة اثناء الدراسة إلاإنّه توجد العديد من المشاكل التي ترافق هذا التشخيص منها حاجة الباحث الى خبرة عالية للتشخيص بالإضافة الى الجهد والوقت الكبيرين ،الا ان تشخيص الفطريات باستعمال تقانة تفاعل البلمرة التسلسلي يتميز بالدقة العالية ويتجنب مشكلات التشخيص بالطرق التقليدية (Aslam .,2017). كماان التشخيص الدقيق والسريع باستعمال الطرق الجزيئية يساعد في تحديد الفطريات الممرضة ومن ثم يزيد من فرصة الشفاء باستعمال العلاج المناسب المضاد للفطريات (Khot *et al*,. 2009). وتعد تقنية التنميط الجزيئي هي الطريقة التشخيصية الدقيقة التي تعتمد على مزج العديد من البوادئ الخاصة بالنوع في أنبوبة PCR واحدة، لِذلك، يمكن أن يستعمل في تشخيص أكثر من نوع واحد في وقت واحد (2002) , .Luo and Mitchell. كما تستعمل الشجرة الوراثية لمعرفة ارتباط كل الأنواع الخاصة بجنس معين مع النوع المراد تحديده. اثبتت نتائج تحليل القواعد النايتروجينية لنواتج الحامض النووي المضاعفة باستعمال برنامج BLAST بأن العزلات المدروسة تعود

إلى الأنواع، *T.mentagrophytes,T.indotineae,T.interdigetal,T.qunickeaium*, *M.canis,C.albicanis* ،اتضح عن طريق مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لعزلات الدراسة أن هنالك تطابق بنسب مختلفة بين العزلات التي استعملت في الدراسة وبين العزلات العالمية وقد تم تأكيد ذلك عن طريق نتائج تحليل النشوء والتطور الوراثي التي أظهرت تجمع العزلة الفطرية مع تجمعات تتالف من العزلات التي تعود للنوع نفسه وذلك عن طريق رسم الشجرة الوراثية وبالاعتماد على تطابقات القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS الخاصة بكل سلالة إضافة الى تتابعات السلالات العالمية المعروفة وللنوع نفسه وقد تم حساب المسافة الوراثية باستعمال طريقة neighbor-joining وتم استعمال برنامج التحليل الوراثي التطوري MEGA V.6 وهو احدى البرامج المصممة لمقارنة وتحليل تسلسل الجينات المتماثلة ونمط تطور الحامض النووي والبروتين، وكذلك العلاقات التطورية وقد حدد لكل عزلة رمز تسلسلي خاص وكما مبين في الجدول(4-6)وتقارير البنك الجيني المرفقة في الملحق (1 ,2,3,4,5,6,7,8) ،كما، وقد قدم هذا البرنامج تسهيلات كثيرة عن طريق بيانات تسلسلية ومن الممكن عرض هذه البيانات على شكل شجرة تطورية (Kumar *et al* ., 2016).

جدول (4-6):الرموز التسلسلية المحددة في البنك الجيني لانواع الفطريات المرضية المعزولة

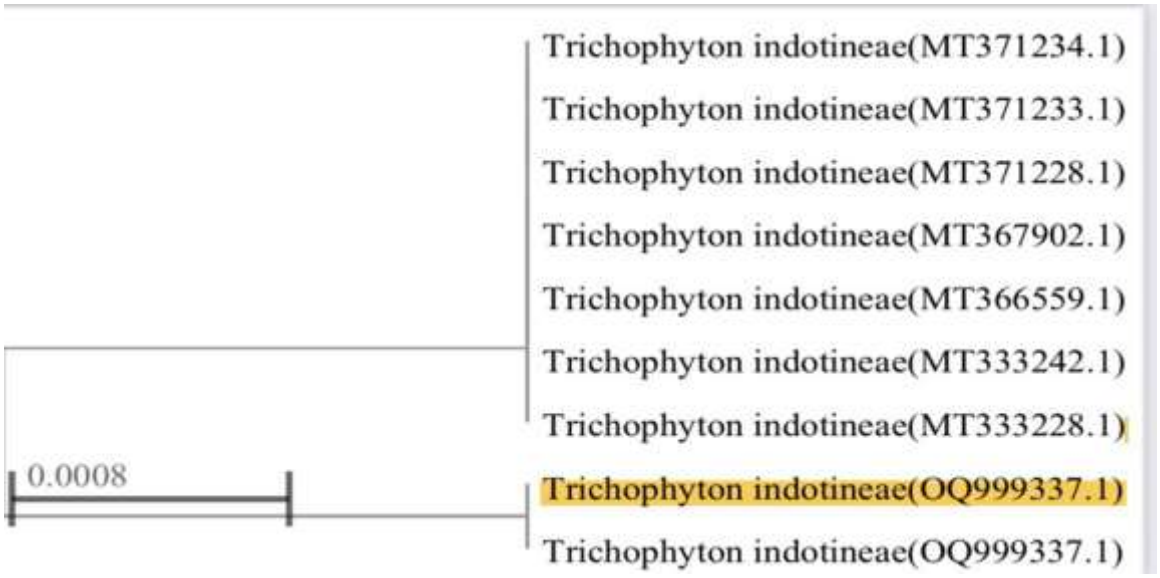
النوع	الرمز التسلسلي	التقرير
T.indotineae	OQ999337.1	ملحق 1
T.interdigetal	OQ978648.1	ملحق 2
T.mentogrophytes	OQ979238.1	ملحق 3
T.mentogrophytes	OQ979239.1	ملحق 4
T.mentogrophytes	OQ979292.1	ملحق 5
M.canis	OR119758.1	ملحق 6
C.albicans	OR085961.1	ملحق 7
T.qunckeaium	OR083657.1	ملحق 8

من خلال ذلك تبين ان عزلة الدراسة *T. indotineae* أظهرت تشابهاً وراثياً بلغ 99.25% مع كل من العزلات العالمية للفطر *T. indotineae* المعزولة من العراق (بغداد) وألمانيا وفنلدا جدول (4-7) شكل (4-14).

جدول(4-7) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. indotineae* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في البنك

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق%
OQ999337.1	*T. indotineae*	Iraq	*
MT371234.1	*T. indotineae*	Iraq-Baghdad	99.25
MT3712233.1	*T. indotineae*	Iraq-Baghdad	99.25
MT333228.1	*T. indotineae*	Germany	99.25
MN661259.1	*T. indotineae*	Finland	99.25
MT333225.1	*T. indotineae*	Germany	99.25
MH791418.1	*T. indotineae*	Germany	99.25
OM951144.1	*T. indotineae*	Germany	99.25
MH791424.1	*T. indotineae*	Germany	99.25
MT330253.2	*T. indotineae*	Germany	99.25

سلالة *Trichophyton indotineae* strain Rana. S.A.1 المعزولة في هذه الدراسة الجيني.



شكل(4-14)الشجرة الوراثية للفطر *Trichophyton indotineae* (محدد باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

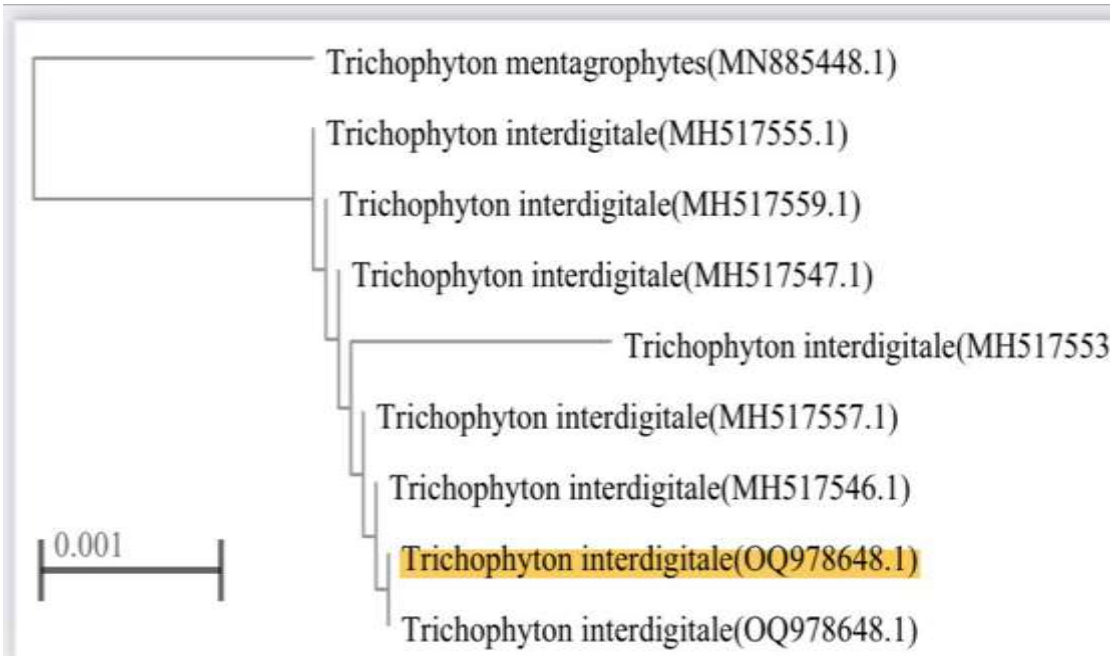
تبين أيضا من خلال مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS4 و ITS 5 المضاعفة من الفطر *T. interdigetal* وجود تشابهاً وراثياً بلغ 90.40 % و98.96 %مع عزلة الفطر المعزولة من الهند جدول (4-8) شكل(4-15)

جدول (4-8) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية لمنطقة ITS للفطر *T. interdigetal* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق
OQ978648.1	*T. interdigetal*	Iraq	*
MH517555.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517547.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517559.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517557.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517553.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517546.1	*T. interdigetal*	India	99.40
MH517552.1	*T. interdigetal*	India	98.96
ON059700.1	*T. interdigetal*	India	98.96

سلالة *Trichophyton interdigetal* strain Rana .S.A المعزولة في هذه الدراسة

NCBI



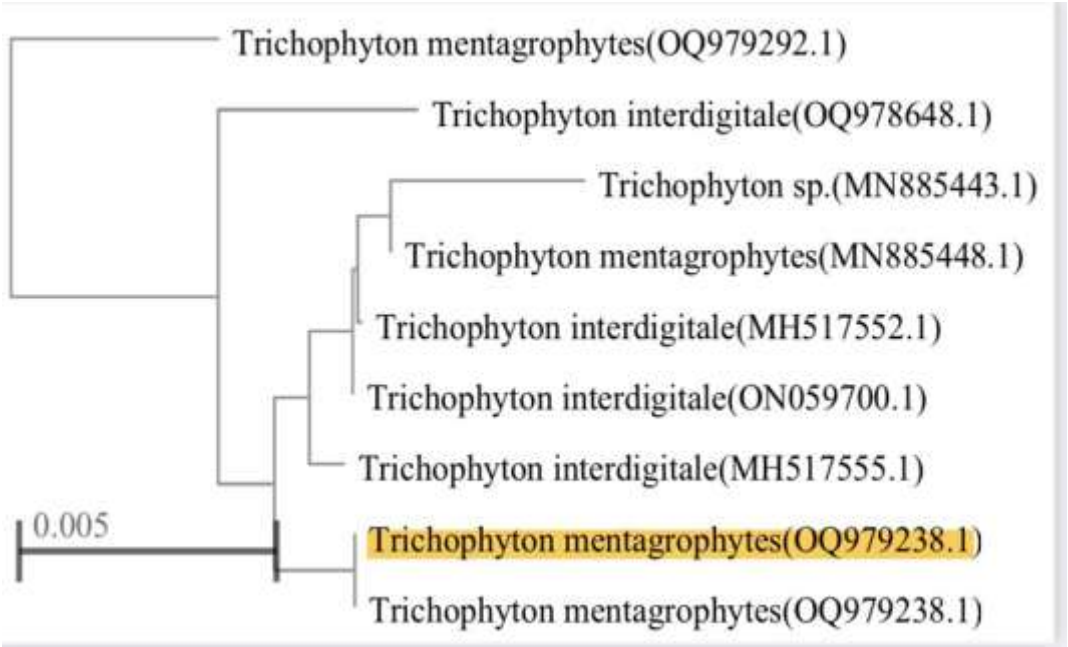
شكل (4-15) الشجرة الوراثية للفطر *Trichophyton interdigital* (محددة باللون الأصفر)تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية .

اظهرت عزلة الدراسة *Trichophyton mentogrophytes* تشابهاً وراثياً بلغ 99.54 %مع العزلة المعزولة من الهند و 98.12 %مع العزلات المعزولة من مصر وألمانيا وايران وبولندا جدول (4-9) شكل (4-16).

جدول (4-9) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *Trichophyton mentogrophytes*المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في NCBI

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق
0Q979238.1	*T.mentogrphytes*	Iraq	*
MN88448.1	*T.mentogrphytes*	India	99.54
MT261767.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.12
MT261766.1	*T.mentogrphytes*	Egept	98.12
MN064822.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.12
MZ452906.1	*T.mentogrphytes*	Iran	98.12
MZ452897.1	*T.mentogrphytes*	Iran	98.12
MZ614627.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.12
MW010372.1	*T.mentogrphytes*	Poland	98.12

سلالة Rana.S.A *Trichophyton mentogrophytes* المعزولة في هذه الدراسة.



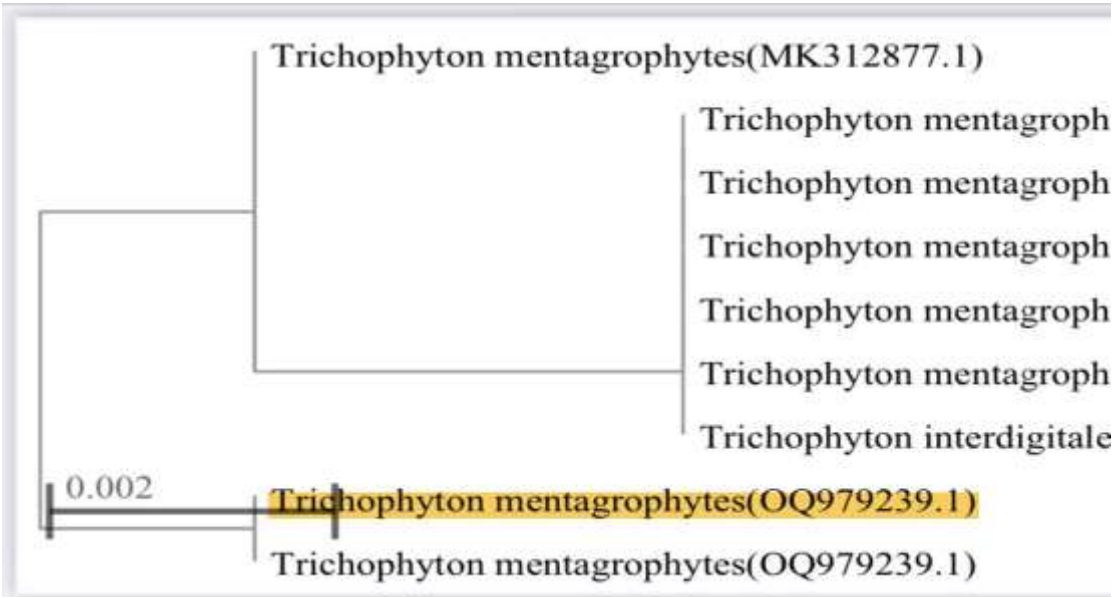
شكل(4-16) الشجرة الوراثية للفطر *Trichophyton mentagrophytes* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

اماعزلة الدراسة *Trichophyton mentogrophytes*أظهرت تشابهاً وراثياً بلغ 99.54 %مع عزلات ايران و98.81 %مع عزلات كل من مصر وألمانيا وإيطاليا .جدول (4-10) شكل (4-17)

جدول (4-10) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *T. mentogrophytes*المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في NCBI

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق
OQ979239.1	*T.mentogrphytes*	Iraq	*
MK312877.1	*T.mentogrphytes*	Iran	99.54
MT261762.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.81
MT261761.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.81
MK918486.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.81
MK447606.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.81
MK447604.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.81
OM777225.1	*T.mentogrphytes*	Italy	98.81
OM777219.1	*T.mentogrphytes*	Italy	98.81

سلالة Rana.S.A *Trichophyton mentogrophytes* المعزولة في هذه الدراسة.



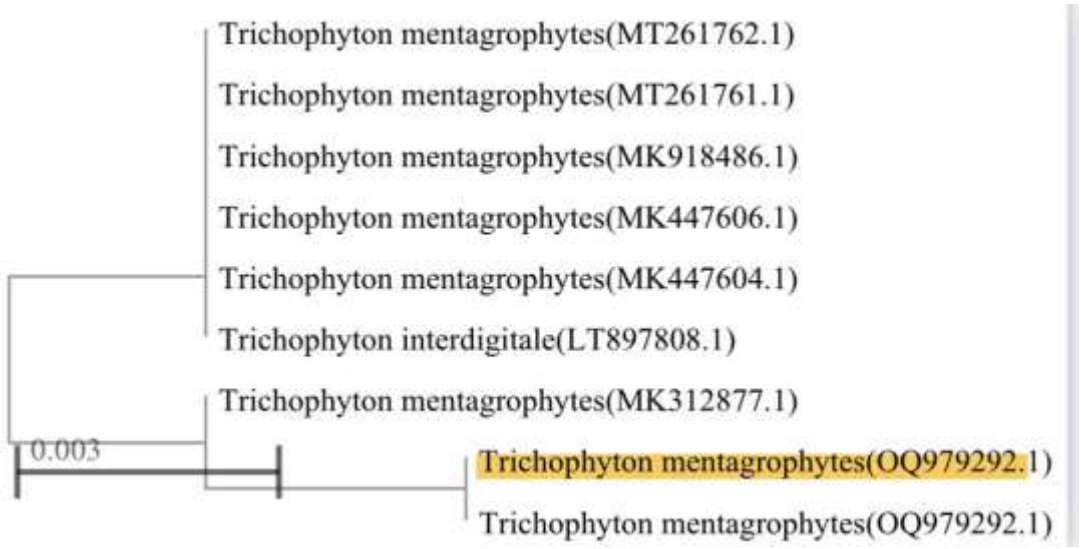
شكل (4-17)الشجرة الوراثية للفطر *Trichophyton mentagrophytes* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

كما ان العزلة الأخرى للفطر *Trichophyton mentogrophytes* أظهرت تشابهاً وراثياً بلغ 99.39% مع عزلة دولة ايران و98.52 % مع عزلات كل من مصر وألمانيا وإيطاليا جدول(4-11) شكل (4-18).

جدول (4-11) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *T. mentogrophytes* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في NCBI.

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق
OQ979292.1	*T.mentogrphytes*	Iraq	*
MK312877.1	*T.mentogrphytes*	Iran	99.39
MT262762.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.52
MT261761.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.52
MK918486.1	*T.mentogrphytes*	Egypt	98.52
MK447606.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.52
MK447604.1	*T.mentogrphytes*	Germany	98.52
OM777225.1	*T.mentogrphytes*	Italy	98.52
OM777224.1	*T.mentogrphytes*	Italy	98.52

سلالة Rana.S.A *Trichophyton mentogrophytes* المعزولة في هذه الدراسة.



شكل (4-18) الشجرة الوراثية للفطر *Trichophyton mentagrophytes* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

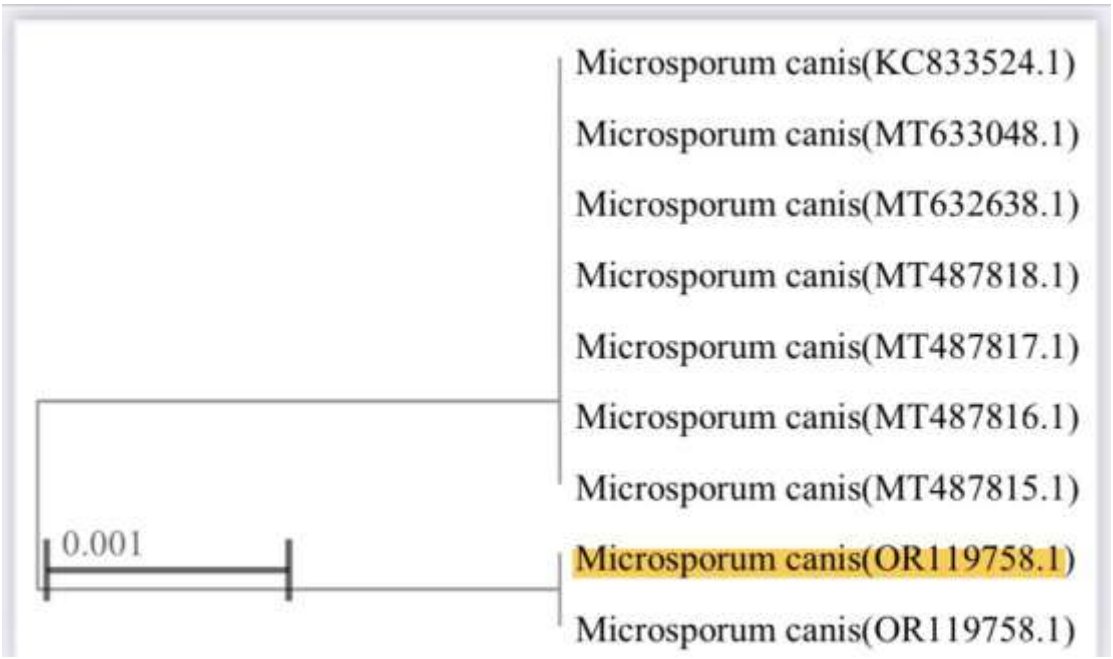
وأثبتت التحاليل ان عزلة الدراسة *Microsporum canis* أظهرت تطابقا وراثياً بلغ 99.14 % مع العزلة المعزولة من دولة استونيا و99.0 مع عزلات كل من مصر وتايلند جدول (4-12) شكل (4-19).

جدول (4-12) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *Microsporum canis* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في

الرمز التساسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق %
OR119758.1	*M.canis*	Iraq	*
KC923429.1	*M.canis*	Estonia	99.14
KC833524.1	*M.canis*	Estonia	99.14
MT633048.1	*M.canis*	Egypt	99.00
MT632638.1	*M.canis*	Egypt	99.00
MT487818.1	*M.canis*	Thailand	99.00
MT487817.1	*M.canis*	Thailand	99.00
MT487816.1	*M.canis*	Thailand	99.00
MT487815.1	*M.canis*	Thailand	99.00
MT487811.1	*M.canis*	Thailand	99.00

NCBI

سلالة Rana .S.A *Microsporum canis* المعزولة في هذه الدراسة



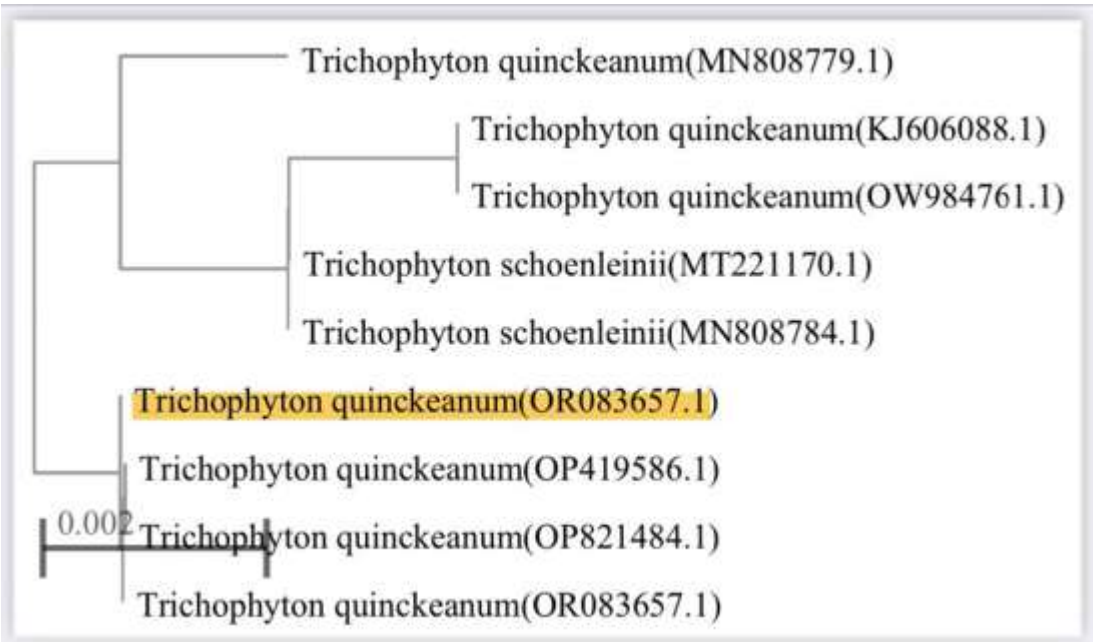
شكل(4-19) الشجرة الوراثية للفطر *Microsporum canis*(محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

أظهرت عزلة الدراسة *T. quinckeanum* تشابهاً وراثياً بلغ 95.37%مع عزلة أخرى في العراق و90.80 % مع كل من بلجيكا والولايات المتحدة الامريكية و98.81 % مع عزلة في ايران و100% مع عزلتين اخرتين في العراق و99.11 %عزلة في ايران أيضا جدول(4-13) شكل (4-20).

جدول(4-13) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *T. quinckeanum* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في NCBI

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق %
OR083657.1	*T. quinckeanum*	Iraq	*
OQ979292.1	*T. quinckeanum*	Iraq	95.37
OW984761.1	*T. quinckeanum*	Belgium	98.80
KJ606088.1	*T. quinckeanum*	USA	98.80
MN808779.1	*T. quinckeanum*	Iran	98.81
OP821484.1	*T. quinckeanum*	Iraq	100
OP4195960.1	*T. quinckeanum*	Iraq	100
OP391642.1	*T. quinckeanum*	Iran	99.11

سلالة Rana.S.A *T. quinckeanum* المعزولة في هذه الدراسة.



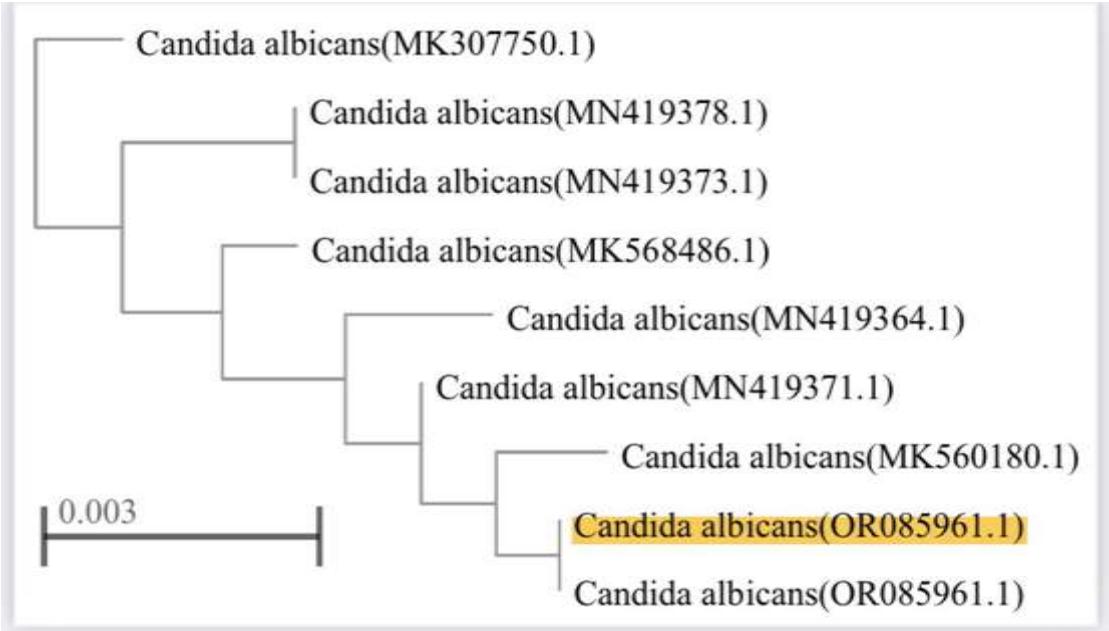
شكل (4-20)الشجرة الوراثية للفطر *T. quinckeanum* (محددة باللون الأصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

عند مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينية للسلالة *C.albicans* المعزولة في الدراسة الحالية تبين هناك تشابهاً وراثياً مع عدة عزلات في دولة السعودية العربية وبنسب مختلفة اذ كانت النسبة98.51 % مع ثلاث عزلات و99.06 %مع عزلة و99.25 % مع عزلة أخرى و99.0% مع العزلتين الأخيرتين جدول(4-14) شكل (4-21)

جدول (4-14) مقارنة تسلسل القواعد النايتروجينة لمنطقة ITS للفطر *C.albicans* المعزولة في هذه الدراسة مع العزلات الأخرى التابعة للفطر نفسه والمسجلة عالميا في NCBI

الرمز التسلسلي	اسم السلالة	المنشا	نسبة التطابق%
OR085961.1	*C.albicans*	Iraq	*
MN419373.1	*C.albicans*	Saudi arabia	98.51
MN419378.1	*C.albicans*	Saudi arabia	98.51
MK3077501.1	*C.albicans*	Saudi arabia	98.51
MK568486.1	*C.albicans*	Saudi arabia	99.06
MN419377.1	*C.albicans*	Saudi arabia	99.25
MN419364.1	*C.albicans*	Saudi arabia	99.0
MK560180.1	*C.albicans*	Saudi arabia	99.0

سلالة Rana.S.A *C.albicans* المعزولة في هذه الدراسة.



شكل-(4-21) الشجرة الوراثية للفطر *C.albicans* (محددة باللون الاصفر) تبين العلاقة مع السلالات الفطرية العالمية.

5.4 الكشف الكيميائي التمهيدي للمكونات الفعالة في النباتات المدروسة :

تم التحري عن بعض المركبات الفعالة لمسنخلص الماء الحار لنباتات الدراسة باستعمال بعض الكواشف الكيميائية نظرا للفعالية التثبيطية التي اظهرتها المستخلصات النباتية التي تضمنتها الدراسة ،وقد أظهرت النتائج إحتواء العينات النباتية على عدد من المركبات الفعالة جدول (4-15).

جدول (4-15)الكشف التمهيدي للمكونات الفعالة لمستخلص الماء الحار للنباتات المدروسة.

ت	المركبات الفعالة	قشور الرمان	أوراق الاوليفيرا	أوراق الخروع	أزهار البابونج
1	كشف العفصيات	+	+	+	+
2	كشف الكاربوهيدرات	+	+	+	+
3	كشف الكلايكوسيدات	+	+	+	+
4	كشف الفينولات	+	+	+	+
5	كشف الراتنجات	-	+	+	-
6	كشف الفلافونيدات	+	+	+	+
7	كشف الصابونينات	+	+	+	+
8	كشف القلويدات	-	+	+	+
9	كشف البروتين	-	-	-	-
10	كشف الكومارينات	+	+	+	+
11	كشف التربينات	-	+	-	+
12	كشف الستيرويدات	-	-	-	-
13	الاس الهيدروجينيph	7.2	7.1	7.0	7.1

+ : وجود المركب الكيميائي الفعال

-: عدم وجود المركب الفعال

6.4.اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المدروسة على أنواع الفطريات المعزولة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن هناك تثبيط لكل من مستخلصات الماء الحار لنباتي الرمان والاليفيرا حيث كان لهما فاعلية مضادة واسعة الطيف على عزلات الفطريات الممرضة المأخوذة من الجلد والفم وتعزى هذه الفعالية الى وجود عدد من المركبات الفعالة الموجودة في قشور الرمان واوراق الاوليفيرا

1.6.4. مستخلص قشور الرمان

أجريت دراسة تاثير المستخلص المائي الحار لقشور الرمان تجاه ستة أنواع فطرية عزلت في هذه الدراسة جدول (4-16) وتبين ان الفعالية التثبيطية للمستخلص ظهرت عند التركيز 10% لجميع الأنواع المختبرة ماعدا الفطر

C.albicans اذ ظهر التركيز 5% فعالية تثبيطية تجاهه بلغت 2 ملم ،وهذه الفعالية تزداد بزيادة التركيز اذ سجل اعلى معدل للتثبيط عند التركيز 25% بلغ (50,45,43,42,37,30) ملم لكل *T.indotineae ,T. mentagrophytes,* *Candida albicans ,M.canis, T.interdigital, T.Quinckeanum,* ، وهذه النتائج توافقت ماتوصل اليه Reddy *et al*.,(2007) و Dahham *et al*،.(2010) و Ahmed *et al* .,(2013) وFoss(2014) وعجة واخرون (2015).وتأتي الفعالية التضادية لمستخلص الرمان كونه يحتوي على مركبات فينولية وتانينات فعالة بايولوجيا ضد العديد من الاحياء المجهرية ، ان افضل تركيز لمستخلص نبات الرمان هو 25 % وهو اكثر معنوية من بين التراكيزحيث ان معدل تاثير التركيز يساوي41.17 اذ انه اكثر معنوية من التراكيز (5,10,15,20)% اذ كانت معدلات تاثير التراكيز (0.33,3.92,13.75.23.0) على التوالي . وان الفرق بين المعدلات هو أكبر من قيمة LSD التي تساوي 4.631 وان قيمة P value = 0.0054 والتي هي اقل من 0.01. تجود فروق معنوية بين الخميرة وباقي الفطريات وان الفرق بين المعدلات هواكبر من قيمة ال LSD والتي تساوي 3.692 وان قيمة P value =0.0247 وهو أقل من 0.05. جدول (4-16).

جدول(4-16) مقارنة بين تاثير تراكيز مختلفة لمستخلص المائي الحار لنبات الرمان على معدل قطر نمو الفطريات المرضية قيد الدراسة.

Fungi / onc-ntration	*T.Mentagrophytes*	*T.quinckaum*	*T.indotineae*	*T.interdigital*	*M.Canis*	*C.albicans*	average	LSD P value
5	0	0	0	0	0	2	0.33 e	4.631 0.0054[HS]
10	2	0	1	2	9	9.5	3.92 d	
15	9	5	17	16	17	18.5	13.75 c	
20	25	15	25	21	25	27	23.00 b	
25	45	30	50	37	42	43	41.17 a	
average	13.5 cd	8.33 d	15.5 c	16 c	20.5 b	22 a		
LSD P value	3.692 0.0247[S]							

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)

HS: high significant difference at 0.01 level (p value < 0.01)

Different letters are significantly difference between groups

2.6.4 مستخلص أوراق نبات الاوليفيرا

أظهر مستخلص نبات الاوليفيرا فعالية تثبيطية عالية ضد الفطريات الممرضة اذ ان معدل قطر التثبيط يتناسب طرديا مع تركيز المستخلص وكلما زاد تركيز المستخلص زاد قطر التثبيط سجلت اقل معدلات التثبيط للمستخلص تجاه كل من *T.mentagrophytes T.quinckeanum,T.indotineae ,T.interdigital ,M.canis, Candida albicans* اذ بلغت اقطار التثبيط عند التركيز 10%(1,2,1.5,1.5,14,16)ملم على التوالي،وسجلت اقل معدلات التثبيط للفطرين *T.quinckeanum*و*Candida albicans* اذ بلغت 0.5 و5 ملم على التوالي مقارنة بتاثيره على بقية الفطريات اذ لم يسجل هذا التركيز أي فعالية تثبيطية كما مبين في الجدول(4-17) في حين سجل اعلى معدل التثبيط تجاه جميع الفطريات المختبرة عند التركيز 25% اذ بلغت (63, 62 , 37, 35, 27 ,15) ملم على التوالي *T.interdigitale, T.quinckeanum, T.indotinea* و*T.mentagrophytes* و *M.canis, C.albicans* تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه (Pathak and Sharma,. 2017) على ان نبات الأوليفيرا له دور في تثبيط نمو الفطريات المرضية ومنها خميرة المبيضات ، وكذلك اتفقت مع (Shireen *et al* .,2015) من أن نبات الأوليفيرا يؤدي الى تكوين منطقة تثبيط حول مستعمرة *C.albicans* ويزداد التثبيط بزيادة تركيز المستخلص ،وتعزى الفعالية التثبيطية لاوراق نبات الأوليفيرا على احتوائها على العديد من المركبات الفعالة والتي أظهرت نشاطا مضادا للفطريات المرضية ،مثل الانثراكينوس والصابونين والمركبات الفينولية التي لها تأثير مضادٌ للفطريات عن طريق اليات مختلفة بما في ذلك تثبيط الأنزيمات الفطرية والتداخل مع إشارات الخلايا الفطرية أو تغيير الاستجابة المناعية للمضيف حيث يمكن ان يقلل الصابونين من التوتر السطحي، مما يؤدي الى زيادة النفاذية وخروج المركبات إلى خارج الخلية (Nabila and Putra,.2020). ، إن افضل تركيز هو 25 وهو اكثر معنوية من بين التراكيزحيث ان معدل تاثير التركيز يساوي83 .39 اذ أنه أكثر معنوية من التراكيز (5,10,15,20) حيث كان معدل تاثير التراكيز هو (0.92,6.0,12.08,23.33) على التوالي . اذ كانت قيمة P value= 0.0019 التي هي اقل من 0.01 وان الفرق بين المعدلات هو اكبر من قيمة LSD التي تساوي 3.182،وأظهرت خميرة*C. albicans* اذ سجلت أكبر معدل تأثير وهو 32 فيما سجلت باقي الفطريات معدلات تاثير اقل بين الفطريات ومعنى ذلك توجد فروقات معنوية بين الخميرة وباقي الفطريات الجلدية وذلك لان الفرق بين المعدلات اكبر من قيمة LSD والتي تساوي 2.292 و كانت قيمة P value =0.0428 وهي اقل من 0.05 قيمة LSD . جدول (4-17) .

جدول(4-17) مقارنة بين تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات الأوليفيرا على معدل قطر نمو الفطريات المرضية قيد الدراسة

fungi / conc-entration	*T.Mentagrophytes*	*T.quinckaum*	*T.indotineae*	*T.interdigital*	*M.Canis*	*C.albicans*	average	ANOVA (LSD) P value
5	0	0.5	0	0	0	5	0.92e	3.182 0.0019^{HS}
10	1	2	1.5	1.5	14	16	6.00 d	
15	7	4	5.5	8	21	27	12.08c	
20	20	9	21	19	32	39	23.33 b	
25	37	15	35	27	63	62	39.83 a	
average	10.83 b	5.08 c	10.50 b	12.58 b	26.67 a	30.17 a		
LSD P value	2.292 0.0428^{S}							

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)
HS: high significant difference at 0.01 level (p value < 0.01)
Different letters are significantly difference between groups

3.6.4 مستخلص ازهار نبات البابونج

لم يظهر تأثير لمستخلص نبات الباونج لنمو الفطريات الممرضة حتى عند التركيز25% فقد تم استعمال خمسة تراكيز(5,10 ,15 ,20,25)%اذ أعطت جميع التراكيز تثبيط مساوي للصفر ولاتوجد فروق معنوية بين معدل تثبيط الفطريات لأن الفرق بين المعدلات يكون اقل من قيمة LSD التي قيمتها 3.223 جدول (4-18) .وهذة النتيجة تختلف عن ماتوصل اليه (2019).,El- Hefny *et al* في أن نبات البابونج يعمل على منع نمو الفطريات عن طريق تثبيط نمو الأبواغ والخيوط الفطرية نظرا لاحتوائه على بعض المواد الفعالة مثل الفينولات والفلافونيد .

جدول(4-18) مقارنة بين تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات البابونج على معدل قطر نمو الفطريات المرضية.

fungi / Conc-entration	*T.Mentagrophytes*	*T.quinckaum*	*T.indotineae*	*T.interdigital*	*M.Canis*	*C.albican*	average	LSD P value
5	0	0	0	0	0	0	0a	3.223 0.0429^{S}
10	0	0	0	0	0	0	0a	
15	0	0	0	0	0	0	0 a	
20	0	0	0	0	0	0	0 a	
25	0	0	0	0	0	0	0 a	
average	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a		
LSD P value	3.113 0.0071^{HS}							

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)
HS: high significant difference at 0.01 level (p value < 0.01)

4.6.4 مستخلص أوراق نبات الخروع

كذلك لم يعطِ مستخلص نبات الخروع تأثيرا على نمو الفطريات الممرضة حتى مع التركيز 25% اذ تم تحضير خمس تراكيزلمستخلص الماء الحار لنبات الخروع هيs (25, 20 ,15 ,10 ,5)% ولاتوجد فروق معنوية بين معدل تثبيط النبات للفطريات ،لان الفرق بين المعدلات اقل من قيمة LSD التي تساوي 5.223 جدول (4-19). وهذا لا يتفق مع (2014).Yakeen *et al*, في أن نبات الخروع يستعمل لعلاج العديد من الأمراض ومن ضمنها الأمراض الجلدية مثل الحكة وداء السعفة .

جدول(4-19) مقارنة بين تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الماء الحار لنبات الخروع على معدل قطر نمو الفطريات المرضية

fungi / conc-entration	*T.Mentagrophytes*	*T.quinckaum*	*T.indotineae*	*T.interdigtal*	*M.Canis*	*C.albicans*	average	LSD P value
5	0	0	0	0	0	0	0.00a	5.223 0.0029^{HS}
10	0	0	0	0	0	0	0.00a	
15	0	0	0	0	0	0	0.00 a	
20	0	0	0	0	0	0	0.00 a	
25	0	0	0	0	0	0	0.00 a	
average	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a		
LSD P value	4.733 0.0071^{HS}							

S: significant difference at 0.05 level (p value <0.05)
HS: high significant difference at 0.01 level (p value < 0.01)

ومن الجدير بالذكر يتاثر انتاج المواد الكيمائية النباتية في النبات بالعديد من العوامل منها ماقبل الحصاد ظروف المناخ وموسم الزراعة ونوع التربة والاسمدة ،ومنها مابعد الحصاد مثل طريقة الحصاد والتخزين والمعالجة ، وربما يكون لعلم الوراثة تاثير كبير على انتاج المستقبلات الثانوية (Taso *et al* ., 2006) ،ايضا للتركيب المعدني ونوع التربة ودرجة الحرارة والضوء والمحتوى المائي هي من بين العوامل التي تؤثر على اجمالي المحتويات الكيميائية النباتية .(Rao and Rao .,2007)

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Reccommendations

الاستنتاجات Conclusions

1- احتلت سعفة الرأس المرتبة الأولى من حيث التكرار تلتها سعفة الوجه والجسم وأقلها سعفة اليد تكرارا ،وقد كان الذكور أكثر إصابة من الاناث بينما كانت نسبة الإناث مقاربة لنسبة الذكور بداء المبيضات الفموي Oral Candidiasis.

2- احتلت الفئة العمرية أقل من 10 سنوات اعلى إصابة بسعفة الراس وسجلت سعفة الوجه اعلى نسبة إصابة للفئة العمرية بين 29-11 بينما سجلت سعفة الأظافر فقط في الفئة العمرية اكبر من 30 سنة.

3- أظهرت النتائج ان اكثر نوع فطري تم عزلة هو *Trichophyton* وبعده الفطر *Microsporum* وقد احتلت الأنواع المحبة للحيوان Zoophilic المرتبة الأولى وهذا دليل على ان للحيوانات الأليفة دورأساسي للإصابة بالأمراض الجلدية.

4-أظهر مستخلص الماء الحار لنبات الرمان والأوليفيرا فعالية تثبيطية عالية ضد الفطريات الممرضة بينما لم يظهر مستخلص الماء الحار لنبات الخروع والبابونج أي فعالية تثبيطية ضد هذه الفطريات .

التوصيات Recommendations

1- استخدام كل من مستخلص قشور الرمان واوراق الاوليفيرا ضد الفطريات الجلدية والمبيضات بتركيز 25% .

2- اختبار تأثير المستخلصات النباتية على حيوانات مختبرية مصابة ومقارنتها مع المضادات الحيوية

3- إن زهرة نبات البابونج واوراق نبات الخروع لم يعطيا تثبيطاً مع الفطريات الممرضة تحت الدراسة ،لذلك ينصح بعدم استعمالهم في دراسة تثبيط الفطريات المرضية في بحوث أخرى .

4- استخلاص المركبات الفعالة من المستخلصات المائية التي تفوقت في قدرتها التثبيطية واختبار تأثيرتها المثبطة للفطريات الجلدية الممرضة داخل وخارج الجسم الحي .

5- اختبار سمية هذه المستخلصات والتي أعطت تاثرات معنوية .

6- دراسة تاثير هذه المستخلصات على التعبير الجيني لانزيم الكيراتنيز بأعتباره الانزيم الأكثر فعالية في الفطريات الجلدية.

7- دراسة تاثير هذه المستخلصات على التعبير الجيني لبعض عوامل الضراوة الخاصة بخميرة *C.albicans* .

8- اجراء المزيد من البحوث والدراسات في تشخيص الفطريات الجلدية باستعمال طرق التشخيص الجزيئي للكشف عن الأنواع والسلالات الجديدة والمسببة لداء السعفة.

9- تحضير مستخلصات كحولية لاجزاء النباتات المستخدمة في الدراسة واختبار فعاليتها ضد الفطريات الجلدية والمبيضات .

المصادر

Refernces

المصادر العربية

-الجبوري ، مهند جواد كاظم و جواد كاظم عبود الجنابي (2011). تاثير بعض المضادات الفطرية في نمو وتجرثم الفطر Trichophyton في الظروف المختبرية مجلة جامعة بابل .

الخزرجي ،طالب عويد .(2018)،الفطريات . مطبعة جامعة ديالى / العراق

-الخفاجي ،زهراء خضير عباس ،(2017) توصيف بعض عوامل الظراوة والتعبير الجيني لانزيم Secreted Aspartyl Proteinase في المبيضات المعزولة من داء المبيضات الفموي في مرضى السرطان . أطروحة دكتورا كلية التربية /جامعة القادسية .

-الخفاجي ، كريمة امين حسين والمعموري زيدان خليفة عمران .(2019) اهم الفطريات الطبية وامراضها ،طرائق عزل :تشخيص وعالجة .بيروت -لبنان .

الدعمي ، علاء عبد الحسين . (2009). تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو الفطرين الجلديين

Epidermophyton floccosum و *Trichophyton mentagrophytes* رسالة ماجستير /كلية التربية -جامعة كربلاء.

الزبيدي ،علاء عبد الودود احمد ومزهر ميلاد عدنان (2020).عزل وتشخيص بعض أنواع الفطريات الجلدية من مستشفى صلاح الدين العام وقدرتها على انتاج انزيميProtease وHemolysine مجلة الدراسات التربوية والعلمية -كلية التربية -الجامعة العراقية :(3)15.224-214 .

-الشيخلي ،زيدون وليد محمد وهوزان احمد عبد .(2022).عزل وتشخيص المبيضات عند الأطفال المصابين بداء السلاق الفموي ودراسة قدرتها على انتاج انزيميhemolysin protease ،مجلة الدراسات التربوية والعلمية - الجامعة العراقية .2 1(2):47- 57.

-العابدي ،عقيل نزال ; أبو دكة ،احمد برير ; الغزالي ،نور علي وعلي ،امل عاجل (2018).التشخيص الجزيئي لعزلات تابعة للفطريات *Rhizoctonia solani* و *Fusarium verticilliodes* و *Pencillium tardoysgenum* المعزولة من جذور بعض نباتات الطماطة .مجلة كربلاء الزراعية .(2)5:41-59.

الغزالي ،ليندا حميد تركي.(2008).دراسة الفعالية التثبيطية لبعض المستخلصات النباتية ضد بعض الفطريات الجلدية .رسالة ماجستير .كلية العلوم /جامعة كربلاء.

-المنظمة العربية للتنمية الز ا رعية . (1988). النباتات الطبية والعطرية السامة في الوطن العربي -الخرطوم -

الموسى ، احمد هادي عبد الصاحب(2012). عزل وتشخيص الفطريات الجلدية وتأثير المستخلصات المائية لبعض النباتات الطبية في نمو وفعالية انزيم الكيراتينيز للفطر *Trichophyton mentagrophytes* . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم – جامعة بابل

-الظويهري ، زهير حميد عبود (2007). تأثير مستخلصات نباتات القرنفل والعفص والاهليلج في معالجة بعض أخماج البكتريا والفطريات الجلدية. أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

- علي عجة، د. حمزية& د. عبد الخالق صحبت عبد الله. (2015). دراسة تأثير بعض المضادات الفطرية والمستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الجلدية المسببة لامراض الدودة الحلقية [Ring worm]. Journal of the College of Basic Education, 21(90), 165-184

-حمزة ، علي منصور. (2006) . النباتات الطبية العالمية ، وصفها –مكوناتها-طرق استعمالها وز ا رعتها . منشأة المعارف، جلال حزى وشركاه-الاسكندرية

- سرحان ،عبد الرضا طه ،(2012).علم الفطريات العملي وزارة التعليم العالي والبحث العلمي كلية مدينة الجامعة ط1 -بغداد

-ستاري ، فراتشيك و جيراسيك ، فلاكوف . (1986). الأعشاب الطبية .دار الشوون والثقافة العامة .

-عبد الواحد ،وفاء ;الحمداني ،عدنان حمد والشبلي ،ماجد كاظم ،(2016) .التوصيف المظهري والجزيئي لبكتريا Streptococcus mutans المعزولة من الفم واختبار قدرتها على تكوين الاغشية الحيوية.مجلة القادسية للعلوم الصرفة .21(2) :1-20

-شوكت ،مؤيد صبري ; احمد ،نجوى شهاب ; عبد الأمير ،علي صبيح والدراغجي ،واثق عباس (2012) استخلاص بعض المركبات الفعالة والمعدنية من أوراق نبات الميرمية ودراسة التاثير التثبيطي ضد بعض الفطريات الممرضة للنبات . مجلة ديالى للعلوم الصرفة .(3)8 :308-324

شريف ،فياض .(2012)الفطريات الطبية .الذاكرة للنشر والتوزيع / بغداد ص108 .

عمران ، زيدان خليف و إشراق عبد الأمير المعموري (2008) . تقويم كفاءة النواتج الطبيعية لمجموعة من النباتات في حيوية فطري *Fusarium solani* و*Alternaria alternara* . مجلة جامعة بابل1 (1) ،14-121.

-قطب ، حسين فوزي طه . (1981) . النباتات الطبية وز ا رعتها ومكوناتها . دار المريخ للنشر، الرياض . منشورات جامعة اليرموك – الأردن

-محمد ،بان طه ،المطيري ،محمد كام والعبودي ،خنساء عبد الحسين .(2016)عزل وتشخيص *Candida albicans* مظهريا وجزيئيا من منطقتي الفم والحفاظة لاطفال من مستشفى كربلاء التعليمي للأطفال في مدينة كربلاء المقدسة.مجلة جامعة كربلاء العلمية .14 (4) 116-121

محمد ،عائشة :زوبي ، وفاء :مريم ،م .ورجاء ،ف.(2021).عزل وتشخيص عزلات أنواع المبيضات المسببة لمرض السلاق الفموي في الأطفال .مجلة العلوم الإنسانية والطبيعية .2(4)469-479.

-ناصر حمزة جبير البركات (2019) .تأثير الإصابات الفطرية الجلدية في بعض المعايير المناعية والفسلجية في محافظة كربلاء المقدسة رسالة ماجستير .كلية العلوم -جامعة كربلاء

المصادر الأجنبية

Abd Elmegeed, A. S. M., Ouf, S. A., Moussa, T. A., and Eltahlawi, S. M. R. (2015). Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt. Brazilian Journal of Microbiology, 46: 799-805.

Abdelal, E. B.; Shalaby, M. A.; Abdo, H. M.; Alzafarany, M. A.; Alaaeldin, A.; Abubakr, A., & Ch, M. B. B. (2013). Detection of dermatophytes in clinically normal extra-crural sites in patients with tinea cruris. Journal of Dermatology and Venereology, 20(1): 31–39.

Abdel-Hameed. El-Sayed S, Salih A. Bazaid and, Mohamed M. **Shohayeb, 2014**. "RP-Hplc-UV-ESI-MS Phytochemical Analysis of Fruits of Conocarpus Erectus 014.

Achterman, R. R., and White, T. C. (2012). Dermatophyte virulence factors Identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections. International Journal of Microbiology.

Adedayo,O. ; Anderson,W. ; Young,M. ; Sncickus,V. ; Patil,P and Kolawole,D. (2001). Phytochemistry and antibacterial activity of Senna alata flower. Pharmacut. Biol. 39 : 1-5.

Adewale,A.O. ; David,A.A. ; Abiodun,O.O. and Craig,O.A(2007).Studies on antimicrobial, antioxidant and phytochemical analysis of Urena lobata leave extract. J. Physical & Natural Sci 1(2):2-9.

Adhya, D.; Annuario, E.; Lancaster, M. A.; Price, J.; Baron-Cohen, S. and Srivastava, D. P. (2018). Understanding the role of steroids in typical and atypical brain development: Advantages of using a "brain in a dish" approach. Journal of neuroendocrinology, 30(2): e12547.

Afroz, T.; Islam, B.; Majid, F.; Ahmed, M.; & Afrin, S. (2018). Prevalence of Dermatophytic Infection and Detection of Dermatophytes by Microscopic and Culture Methods . Journal of Enam Medical College , 8(1): 11–15.

Ahmed ,S. A. ; Abood , W.H. and AL- Janabi , A.A. (2013). Antimicrobial effect of Pomegranate Peel Extract on some pathogenic microorganisms Eng. Tech. J. 31(3): 316-324.

Ahmed,I. ; Mehmood,Z. and Mohammad,F. (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties J. Ethnopharmacol. 62 : 183-193.

Al jabre, S. H. ;Richardson, M. D. ;Scott, E. M. ;Rashid, A and Shankland,G.S.(1993). Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Trichophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis Clin.Exp.Dermatol.,18:231-235.

Alexandre, E. M.; Silva, S.; Santos, S. A.; Silvestre, A. J.; Duarte, M. F.; Saraiva, J. A., and Pintado, M. (2019). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high .pressure and enzymatic assisted extraction. Food research international, 115: 167-176.

Alkhafaji F.H.M., Sallal H.J., and Imran Z. K. (2020). Genotyping Tinea Capitis Fungi based on Barcoding ITS rDNA Marker. Medico-legal Update. 20(3):1243-1247.

Al-Khazragi, S.M. (1991). Biopharmacological study of Artemisia herba Alba. M. Sc. Thesis. Baghdad University.

Al-Masaoodi, N. N. H.;Al-Janabi J.K.A, and Mohammed B.T. (2020). "Molecular Characterization and Gene Expression Profiling of Trichophyton Rubrum Treated with a .Marasmius Palmivorus Filtrate." Drug Invention Today 14(6):877-888

Al-Rawahi, A. S.; Edwards, G.; Al-Sibani, M.; Al-Thani, G.; Al-Harrasi, A. S.; Rahman, M. S. (2014). Phenolic constituents of pomegranate peels&(*Punica granatum* L.) cultivated in Oman. European Journal of Plants,315-331.

Al-Terehi,M.; Al-Saadi,A.; Abed-Neama,Z.; Al-Askeri,M.;Zaidan,H.; Habeeb,R. Noora ,M. and Zahraa , H.(2015). Some Herbal Medicina**l** Plants Activity against *Candida spp*. which Resistance to Antifungal Drugs. Advances in Life Science and Technology .36:53-56.

Amar, S. and Resham ,V.(2008). Aleo vera: ashort review. Indian J. Dermatol.1.53(4):163-166.

Ankit, S., and Zeng, P. T. (2018). Diagnosis and treatment of dermatophytes infections. .International journal of science invention today, 7(3): 665–678

Anushri,M.;Yashoda,R.and Puranik,M.(2015).Herbs:Agood alternatives to current treatments for oral health problems.dermatitis(from topical application) .Int.J.Health.Sci.1(12):9-12.

Aslam,S.; Tahir,A.;Mohammed , F.A.;Muhammed,W.; Arshad,A.and Sehrish,S.(2017). Recent advances in molecular techniques for the identificationofphytopathogenic fungi.Amini review.J.Plant.Int.12(1):493-5504.

Astiti, N. P. A., & Suprapta, D. N. (2012). Antifungal activity of teak (Tectona grandis Lf) leaf extract against Arthrinium phaeospermum (corda) MB Ellis, the cause of wood decay on Albizia falcataria (L.) FOSBERG. J. ISSAAS, 18(1): 62-69.

Babayani, M.; Salari, S.; Hashemi, S. J.; Ghasemi Nejad Almani, P., & Fattahi, A. (2018). Onychomycosis due to dermatophytes species in Iran: Prevalence rates, causative agents, predisposing factors and diagnosis based on microscopic morphometric findings. Journal de Mycologie Medicale, 28(1): 45–50.

Bahmani, M.; Saki, K.; Golshahi, H.; et al.,... (2015). Ethnobotanical and therapeutic uses of camomille. J Chem Pharm Res, 7(1): 640-5.

Barnett,J .A ,2008 . Ahistory of research on yeasts 12:medical yeasts part I, *Candida albicans* Yasts ,25:385-417.

Basmaciyan, L.; Bon, F.; Paradis, T.; Lapaquette, P.; and Dalle, F. (2019). *Candida albicans* interactions with the host: crossing the intestinal epithelial barrier. Tissue Barriers, 7(2): 1612661.

Bellemain E.; Carlsen T.; Brochmann C.; Coissac E.; Taberlet P. and Kauserud H.(2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. BMC Microbiol.10(189): 2-9.

Bhargava,B.(2019).Standard operating procedures for fungal identification and detection of antifungal resistance.2nd .ICMR.India.

Bhat , V .; Sharma , S.M .; Shetty , V .; Shastry , C.S. and Rao , V. (2011) Extracellular Enzyme of *Candida albicans* and their role in development of Denture Stomatitis - a Review .. JIADS VOL - 2 Issue 1 January - March : 26- 30

Bhavan, P. S.; Rajkumar, R.; Radhakrishnan, S.; Seenivasan, C., and Kannan, S. (2010). Culture and Identification of *Candida albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. International Journal of Biology, 2(1): 84.

Bladassarre,M.A. ; Belli,M.A. ; De Luca,T. and Ruocco,E(2003). Tinea faciei : presentazion di un caso.41st . Italian National Dermatology Congress Abstract Book. Capri, Italy. Berutti,G **.**Ruocco,V. 169 barbae (tinea sycosis) : experience with nine cases. J. Dermatol. 30:898-903.

Bonifaz,A. ; Ramirez-Tamayo,T. and Saul,A. (2003). Tinea barbae (tinea sycosis) : experience with nine cases. J. Dermatol. 30:898-903.

Bowsher, C. ; Steer,M. and Tobin, A. (2008). Plant Biochemistry. 1st. ed. Taylor &Francis Group . LLC. U.S.A Chadegani,M. ; Momeni,A. ; Shadzi,Sh. and Javaheri,A

Boudreau, M. D. (2006). An evaluation of biological and toxicological proprieties of Aleo Barbandesis (Miller) *Aleo vera* Environ .Sci.Health. 24 :103-154.

Brasch, J. (2009). Current knowledge of host response in human tinea. Mycoses, 52(4): 304-.312.

Brooks,G.F.;Butel,J.S.and Morse,S.A(2001).Jawetez,Melnick and Adelbergs.Medical microbiology.23th .ed.McGraw-Hill .U.S.A

Brooks,G.F;Carrol,K,C.; Buttal ,J. S. and Morse , S.A.(2007).Jawetz,Melnick and adelbergs medical Microbiology .24th ed .Appleton and Lange. Pp.224-370.

Brown G. D., Denning D. W., Gow N. A. R., Levitz S. M., Netea M. G., White T. C. (2012). Hidden killers: human fungal infections. Sci. Transl Med. 4:165rv13 .

Carris, L. M., Little, C. R., and Stiles, C. M. (2012). Introduction to fungi.

The plant health instructor,DOI:10.1094.PHI-2012-0426-10.

Castillo , A.; Laila ,N.; Rigoberto ,M.; Reyna ,R . and Erasmo, O. (2018). Nanoparticles as New Therapeutic Agents against *Candida albicans* .www.intechopen.com

Cemek, M., Kağa, S., Şimşek, N., Büyükokuroğlu, M. E., and Konuk, M. (2008). Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla L*. in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of natural medicines, 62: 284-293.

Chinnapun, D., and Thammarat, N. S. (2015). Virulence Factors Involved in Pathogenicity .of Dermatophytes. 12(7): 573–580.

Champion ,R. ;Burton,J.; Burns, D. and Breathnach ,S.(1998). Text book of dermatology .6th. ed.Blackwell science Ltd. P . 1277-1376.

Chan,G.; Sivaranjini,S.;Tengku,I.;Mohamad, S.and Ahmed , z. (2013).Multiple rare opportunistic and pathogenic fungi in persistent foot skin infection .Pak.J.Biol.Sci.16(5) ; .208218

Chen, H., Zhou, X., Ren, B., and Cheng, L. (2020). The regulation of hyphae

growth in *Candida albicans*. Virulence, 11(1): 337-348.

Cimmanga, K. ; Kambu, K. ; Tona, L. ; Aper, S. ; De-Bruyne T. ; Hermans, N. ; Tottle, J. ; Pieters, L. and Vlienk, A(2002). Correlation between chemical composition & antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in Demogratic Republic .of Congo. J. Ethnopharmacol. 79(2): 13-20.

Dahham ,S.S. ; Ali , M.N. ; Tabassum , H. and Khan , M.(2010) :Studies on Antibacterial and Antifungal activity of Pomegranate (Punica granatum). A. Eur. J. Agric and Environ .Sci. 9(3) : 273-281.

De Hoog, G.S.; Dukik, K.; Monod, M.; Packeu, A.; Stubbe, D.; Hendrickx, M.; Kupsch, **C.; Stielow, J.B.; Freeke, J. and Göker, M.(2017**) Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. Mycopathologia, 182: 5–31.

Degreef,H.(1993). New antifungal agents in the treatment of superficial dermatomycoses .Ann,Dermatol .Venereol.120: 21-31.

Antimicrobial Chemotherapy, 49(6), 889-891

Denning, D. W. (2002). Echinocandins: a new class of antifungal. Journal of Antimicrobil

Chemotherapy, 49(6), 889-891.

Diekema, D. J.and Pfaller, M. A. (2007). A persistent public health problem.Clin Microbiol .Rev.20:133-163.

Dismukes, W. E.; Pappas, P. G., and Sobel, J. D. (2003). Clinical mycology. OXFORD University press (Vol. 53).

Doughari,J. ; EL-Mahmood,A.M. and Tyoyina,I.(2008). Antimicrobial activity of leaf extracts of Senna obtusifolia (L.) Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2(1): 7-13.

Duek, L. ;Kaufman, G. ;Ulman, Y. and Berdicevsky, I.(2004).The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin section.J.Infect.,48:175-180.

Dunford, N. T. (2012). Traditional and emerging feedstocks for food and industrial bioproduct manufacturing. Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing, 1-35

Ellis, D.; Davis, S.; Alexiou, H.; Handke, R., & Bartley, R. (2007). Descriptions of medical .fungi. 2nd edi. Australia: Adelaide Medical Centre for Women and Children.

Ellis, D.H.; Watson, A.B.; Marlay, J.E. and Williams, T.G. (1997). Non-Dermatmatophytes in onychomycosis of the toenails. Br. J. Dermatol, 136(4): 490-493.

EL-Hefny, M., Abo Elgat, W. A., Al-Huqail, A. A., & Ali, H. M. (2019). Essential and recovery oils from Matricaria chamomilla flowers as environmentally friendly fungicides against four fungi isolated from cultural heritage objects. Processes, 7(11), 809.

Ellabib, M.S. and Khalifa, Z.M. (2001). Dermatophytes and other fungi

associated with skin mycoses in Tripoli, Libya Ann. Saudi Med., 21(3-4):

Erdogan ,A.and Rao,S.(2015).Small intestinal fungal overgrowth.Curr.Gastroenterol Rep. 17:1-16

Esteban A., Abarca M.L. and Cabañes F.J.(2005). Comparison of disk diffusion method and broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. Med Mycol 43(1):61-66.

Escalante,A. ; Svetaz,L. ; Zacchino,S. and Monache,F.D. Malheiros,A. ; Filho,V.C. ; Schmitt,C.B. and Yunes,R.A.(2005) Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from .Drimys brasiliensis using bioassy – guided fractionation. J. Pharm& Pharmaceut.

Fakudze, N. T.; Aniogo, E. C.; George, B. P., and Abrahamse, H. (2022). The Therapeutic Efficacy of *Punica granatum* and Its Bioactive Constituents with Special Reference to Photodynamic Therapy. Plants, 11(21): 2820.

Falahati, M.; Fateh, R.; Nasiri, A.; Zaini, F., and Fattahi, A. (2018). Specific Identification and Antifungal Susceptibility Pattern of Clinically Important Dermatophyte Species Isolated from Patients with Dermatophytosis in Tehran , Iran, 13(3). https://doi.org/10.5812/archcid.63104.Research

Farag, A. G. A.; Hammam, M. A.; Ibrahem, R. A.; Mahfouz, R. Z.; **Elnaidany, N. F.; Qutubuddin, M., & Tolba, R. R. E. (2018)**. Epidemiology of dermatophyte infections among school children in Menoufia Governorate, Egypt. Mycoses, 61(5): 321–325.

Farag, R. S.; Abdel-Latif, M. S.; Emam, S. S. and Tawfeek, L. S.(2014). Phytochemical screening and polyphenol constituents of pomegranate peels and leave juices. Agric Soil Sci, 1(6): 86-93.

Farhat A. Avin.(2019).Easy way to count spores and prepare spore suspension by .Hemocytometer.Tennessee State University

Feily, A., and Namazi, M. R. (2009). Aloe vera in dermatology: a brief review. Giornale italiano di dermatologia e venereologia: organo ufficiale, Societa italiana di dermatologia e sifilografia, 144(1): 85-91.

Fenk, C. J., Kaufman, N., & Gerbig Jr, D. G. (2007). A New colorimetric assay of tabletop sweeteners using a modified biuret reagent. Journal of chemical education, 84(10), 1676.

Ferrazzano, G. F.; Scioscia, E.; Sateriale, D.; Pastore, G.; Colicchio, R Pagliuca, et al., (2017). In vitro antibacterial activity of pomegranate juice and peel extracts on cariogenic bacteria. BioMed research international, 2017.

Foss, S. R., Nakamura, C. V. and Ueda-Nakamura T. (2014). Antifungal activity of pomegranate peel extract and isolated compound punicalagin against dermatophytes. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.31:1-6.

Forbes,B.A. ; Sahm, D.F.and Weissfeld,A.S. (1998). Laboratory method in basic mycology , In Diagnostic Microbiology.10th .ed .Mosbyinc.

Fujita, S. I.; Senda, Y.; Nakaguchi, S., and Hashimoto, T. (2001). Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. Journal of clinical microbiology, 39(10): 3617-3622.

Ghannoum,M. ; Isham,N. ; Hajjeh,R. ; Cano,M. ; ALHasawi F. ; Yearach,D. ; Warner,J. ; Lon,L. ; Jessup,C.; ; Jessup,C. and Elewski,B. (2003). Tinea capitis in Cleveland : Survey of elementary school students. Am. Acad. of Dermatol. Inc. 48(2):190-193.

Gnat, S., Nowakiewicz, A., and Zięba, P. (2019). Taxonomy of dermatophytes–the classification systems may change but the identification problems remain the same. Postępy Mikrobiologii-Advancements of Microbiology, 58(1): 49-58.

Grdiša ,M.; Marija, J.; Matija, L.; Klaudija C.; Tonka, N.; Zlatko ,L.; Ivan ,R. and Zlatko ,S.(2015). Dalmatian Sage (Salvia officinalis L.): A Review of Biochemical Contents, Medical Properties and Genetic Diversity. Agriculturae Conspectus Scientifi cus . 80 (2): 69-78.

Gräser, Y., Scott, J., & Summerbell, R. (2008). The new species concept in dermatophytes—a polyphasic approach. Mycopathologia, 166, 239-256.

Harborne,J.B. (1984). Phytochemical methods aguide to modern techniques of plant .analysis . 2nd ed.Chapman and,Hall,London,NewYork.P288.

Hugo ,W.B and Russell,A.D.(1989).Pharmaceutical microbiology .4th .ed Blackwell Scientific Publications .London.

Ilhan, Z.; Karaca, M.; Hakki, I., & Solmaz, H. (2015). Detection of seasonal asymptomatic dermatophytes in Van cats. Brazilian Journal of Microbiology, 47(1): 225–230.

Ilkit, M., and Durdu, M. (2015). Tinea pedis: The etiology and global epidemiology of a common fungal infection. Critical Reviews in Microbiology, 41(3): 374–388.

Jaffer, H.J.;Mahmod,M.J.;Jawad.A.M.,Naji A, and Al-Naib A.,(1988).Phytochemical and biological screeining of Iraqi plant .Fitoerapia LEX.3:229-233.

Jabir ,M.;Saleh,Y. and Yaseen ,N .(2017).Detection of active compounds in the crude aqueous extract of Annona muricata plant peels and used as an anti-oxidant . Engineering and Technology Journal ,35(1):157-160

Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (Punica granatum L.): a review. Alternative medicine review, 13(2)

Karki, J.; Liu, P.; Xian, J.; Zhi, G. S., & Aryal, S. (2017). Clinical and mycological study of tinea capitis aresearch , 6(1), 636–645.

Kadhim SK, Al-Janabi JK, Al-Hamadani AH. (2015). In vitro, determination of optimal conditions of growth and proteolytic activity of clinical isolates of Trichophyton rubrum. J Contemp Med Sci, 1:9-19.

Kalinowska, K. (2012). Epidemiology of Dermatomycoses in Poland over the Past Decade. Epidemiology Insights 31-50.

Kane,J. and Summerbell,R.C. (1999). *Trichophyton ,MicrosporumEpidermophyton* and agents of superficial mycoses .Mannual of fclin.Microbio.7th .ed.Am.Society for Microbiology .1275-1292.

Kaur, T. and Puri, N.(2012). Onychomycosis- aclinical and mycological study of 75 cases. Dermatol Online, 3(3): 172-177.

Khaled, J. M.; Golah, H. A.; Khalel, A. S.; Alharbi, N. S., & Mothana, R. A. (2015). Dermatophyte and non dermatophyte fungi in Riyadh City , Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(5): 604–609. **Khan,S. ; Khan,G.M. ; Mehsud,S. ; Rahman,A. and Khan,F.(2004)** Antifungal activity of Tamarix dioica an In vitro study Gomal J. of Med. Sci. 2(2) : 40-42.

Khan, J.A., and Yadav, K.P.(2011). Assessment of antifungal properties of Ricinus communis. J Pharm Biomed Sci. 11(11).

Kidd,S.;Catoriona ,H.Helen,A& David ,E.(2016). Descriptions of medical fungi .3 ed . edition .Pfizer Australia.Pp.34-49.

Khot,P.;Daisy,L. and David ,N. (2009).Sequencing and analysis of fungal rRNA operons for development of broad range fungal PCR assays.75(6):1559-1565..

Kobayashi.G.S. (1990).Mycology. Part 2 ,in : Medical Microbiol- ogy . 1th ed .The C.V. Mosby Co. St. Louis. 681.

Koundal,S. and Cojandaraj,L.(2020). *Candida* Species – Morphology, Medical Aspects And Pathogenic Spectrum. European Journal of Molecular & Clinical Medicine . 7(7):4015 -4021.

Kumar,S.;Glen,s. and Koichiro,T.(2016).Molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for biggar datasets.Mol.Evolu.Gene.Ana. 33(7):1870-1874.

Kushwaha,R.S. and Guarro,J. (2003).Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi .Curr.Sci. 84 (7) : 945-946.

Kwon –Chung,K.J. and Bennett, J.E. (1992).Medical mycology. Lea and Febiger.philadelphia,Pa

Kumar S, Yadav M, Yadav M, Yadav JP(2015). Comparative analysis of antimicrobial activity of methanolic extracts of *Aloe vera* and quantification of Aloe Emodin collected from different climatic zones of India. A C Microb. (6)2:1.

Leon,Lira-De,I. karla, Marco V Ramírez-Mares, Vladimir Sánchez-López ، Mario Ramírez-Lepe , Raúl Salas-Coronado Norma F. Santos-Sánchez ،Rogelio Valadez-Blanco and Beatriz.

Lewis , R .E.; Klepser, M .E & Pfuller ,M. A. ,2000 . Invitro pharmcodynomic characteristics .of flucytosine determined by time-kill methods.Diagan.Microbiol infect. Dis. 36:101-105.

Luo, G. and Mitchell, T. G. (2002).“Rapid identification of pathogenic fungi directly from cultures by using multiplex PCR,” Journal of Clinica Microbiology, 40(8): 2860–2865. .

Macfaddin ,J.F. (2000) . Biochemical tests for identification of medical bacteria 3rdEd . Williams and willkins company . USA . , pp . , 912.

Mahmoudabadi,A.A. and Zarrin,M. (2008). Isolation of dermatophytes and relat . (2000) . Biochemical tests for identification of medical Macfaddin , J. FEd . Williams and willkins company . USA . , pp . rdbacteria , 3912.ed keratinophilic fungi from two public parks Ahvaz. Jundishapur J. Microbiol. 1 : 20-23.

Martin,E.S. (2002). Tinea pedis . Med. J. 3(1) : 1-15.

Marsh ,P.;Martin ,M.V.(2003). Oral Microbiology,4th ed.; Wright Edinburgh : London , UK .. Shoker , R.(2021).Areview Article, Identification and isolation plants constitutents by HPLC .Journal NX- Amultidisciplinary peer Reviewd Journal .6(12):1-7.

Martinez-Rossi, N. M.; Peres, N. T. A., and Rossi, A. (2017). Pathogenesis of Dermatophytosis: Sensing the Host Tissue. Mycopathologia, 182(1–2): 215–227. **Malheiros,A. ; Filho,V.C. ; Schmitt,C.B. ; Yunes,R.A. ; Escalante,A. ; Svetaz,L. ; Zacchino,S. and Monache,F.D. (2005**). Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from Drimys brasiliensis using bioassy – guided fractionation. J. Pharm. & Pharmaceut. 8(2) : 335-339

Martinez, D. a.; Oliver, B. G.; Graser, Y.; Goldberg, J. M.; Li, W.; **Martinez-Rossi, N. M., and White, T. C. (2012**). Comparative genome analysis of *Trichophyton rubrum* and related dermatophytes reveals candidate genes involved in infection. mBio, 3(5): e00259-12e00259-12.

Mashkoor, A., Sanjay G., Satish, G. (2010). A clinico-mycological study of onychomycosis. Egyptian Dermatology Online Journal 6.)4.

Masoko,P. ; Mmushi,T.J. ; Mogashoa,M.M. ; Mokgotho,M.P Mampuru,L.J. and Howard,R.L. (2008). In vitro evaluation of the antifungal activity of Sclerocarya birrea extracts against pathogenic yeasts . Afr. J. Biotech. 7(20) : 3521-3526.

Meyer,E. and Walther,A.(1988). Methods for the estimation of protein lipid ,carbohydrate and chitin in fresh water invertebrates .J Arch.Hydrobiol.,13 : 161-177.

Metin, A;Dilek, N. and Bilgili,S.(2018).Recurrent candida intertyigo: chatenges and solutions. Clini.cosmet Investigo Dermatol.11: 175-185

Milena ML dos Santos; Salvador Amaral; Sonia P Harmen; Hayley M Joseph; J. L. F. and M. L. C. (2010). The prevalence of common skin infections in four districts in Timor- Leste: a cross sectional survey. BMC Infectious Diseases, 10: 61.

Milne, L.J. (1996) . Fungi. in . Practical Medical Microbiology . Colle,J.G. ; Marmion, B.P. and Simmons, A. 14th .ed. Churchill Li ngston 695-717vi.

Mirhendi, H.; Makimura, K.; Khoramizadeh,M. and Yamaguchi, H. (2006). A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically.

Mills , E ,J .J Duguoa, ,D.Perri, and G. Koren. (2006). "Herbal Medicines in Pregnancy and Lactation. An Evidence-Based Approach." Abingdon ،Oxon Taylor & Francis Medical.2nd Edition.348.

Moallaei ,H. ; Zaini ,F. ; Pihet , M. ; Mahmoudi , M. and Hashemi, J(2006). Isolation of keratinophilic fungi from soil samples of forests and farm yards. Iranian J. of Publ. Health , 35(4) : 62-69.

Murad, H., Jazairi, B., Khansaa, I., Olabi, D., and Khouri, L. (2018). HLA-DQ2 and-DQ8 genotype frequency in Syrian celiac disease children: HLA-DQ relative risks evaluation. BMC gastroenterology, 18(1): 1-4.

Muhammad, B. T. and Al-Daami, A. A. (2012). A study of infection percentage of some dermatophytosis isolated from patients with skin infections in Al-Hindya general Hospital in Karbala Governorate. Karbala University Scientific Journal. Issue (1)/ The First Scientific Conference on Education for Pure Sciences/pg. 224-232.

Mohammad, J.;Mohammad A. A.;Syed, G. A ;,Haris, M, K.;Ahmad, A.and Mohammad, I. S.(2019). Anticandidal activity of biosynthesized silvernanoparticles: effect on growth, cell morphology,and key virulence attributes of *Candida spp*.International Journal of Nanomedicine:14

Mohammad,A.;Sallal,A. and Ali,S.(2013).Biochemical study of ethanol extracts of Salvia officinalis leaves.Engineering and Technology Journal.31(1):15-23..

Nabila, V. K., and Putra, I. B. (2020). The effect of *Aloe vera* ethanol extract on the growth inhibition of Candida albicans. Med Glas (Zenica), 17(2): 485-489.

Nada, H.; Mokhtar M. and Saad, S.(2005). ALLAH Yeast Infections as a Cause of Nail Disease In the Western Province of Saudi Arabia Egypt. J. Med. Lab. Sci., (ESIC), 14(2).

Newall, C. A., Anderson, L. A., and Phillipson, J. D. (1996). Herbal medicines. A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press.

Nour, I. H.; Alhadead, K.; Ellmouni, F. Y.; Badr, R.; Saad, T. I.; EL-Banhawy, A., and Abdel Rahman, S. M. (2023). Morphological, Anatomical and Chemical Characterization of Ricinus communis L.(Euphorbiaceae). Agronomy, 13(4): 985.

Nolte,W.A. (1982). Mycology . in : Oral Microbiology with Basic Microbiology and Immunology .4th . ed . Mosby company . 514:1328-1330.

Okemo,P.O. ; Bais,H.P. and Vivanco,J.M. (2003). In vitro activities of Maesa lanceolata extracts against fungal plant pathogens. Fitoterapia. 74 : 312-316.

Pandagod,G.J.;Ellepola,A.V and Samaronyake,L.P.,2001. Adhesion of Candida parapsilosis to Epithelial& a crylic surface correlates with surface hydrophobicity-Mycoses 44(1-2):29-35.

Pankaj,k.;D.D.Sahul Giri;R; Singh;P.Pandey;S.Gupta;A.K.Shrivastava;A.Kumar;and K.D.Pandy(2013). Therapeutic and medicinal uses of *Aloe vera* :A Review.Pharmacology and Pharmacy .4:599-610.

Parada, H.; Veríssimo, C.; Brandão, J.; Nunes, B.; Boavida, J.; Duarte, R., and Sabino, R. (2013). Dermatomycosis in lower limbs of diabetic patients followed by podiatry consultation. Revista Iberoamericana de Micologia, 30(2): 103–108.

Pathak, D. and Sharma, R. (2017). Review On “Aloe Vera- Medicinal Plant”; International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education, 3(1):661

Paul, D., Biswas, K., and Sinha, S. N. (2015). Biological activities of Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult.: a concise review. Malaya Journal of Biosciences, 2(4), 214-221.

Pires, C. A. A.; da Cruz, N. F. S.; Lobato, A. M.; de Sousa, P. O.; Carneiro, F. R. O., and Mendes, A. M. D. (2014). Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. Anais Brasileiros de Dermatologia, 89(2): 259–264.

Plangnan, G.A ; Pandukur, S.G. and Itelima, J. (2017). Prevalence of Superficial Mycoses Affecting the Feet of Some Primary Schools Pupils in Jos Metropolis, International Journal of Innovative Biochemistry & Microbiology,5(4): 12–17.

Radha, M. H., and Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloeávera: áAásystematic review. Journal of traditional and complementary medicine, 5(1): 21-26.

Raghuramulu, P. G.; Pradesh, A.; Pradesh, A.; Pradesh, A., and Pradesh, A. (2011). Identification of two species *Trichophyton mentagropytes* and Trichophyton rubrum on the basis of biochemical tests and cultural characteristics . Journal of pharmaceutical andbiomedical sciences, 5(5): 1–3.

Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. Pharmacological research, 55(3), 207-216.

Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloeávera*: áAásystematic review. Journal of traditional and complementary medicine, 5(1), 21-26

Reddy , M.K. ; Gupta , S.K. ; Jacob , M.R. ; Khan., S.I. and Ferreira , **D.(2007)** : Antioxidant , antimatarial and antimicrobial activites of tannin-rich fractions , ellgitannins and phenolic acids from Punica granatum L.Planta Med . 73 : 461-467.

Reed, J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins & related Polyphenols for age legumes . J. Animal Soc. 73 : 1516-1528.

Savluchinske, S. ; Carios, J. ; Gigante, B. and Marcelo, J(1997) Antimicrobial activity of dehydroabietic acid derivatives vital real,Portugal.

Sanvictores, T., & Farci, F. (2020). Biochemistry, primary protein structure.

Schwalbe , R.;Lynn,S. and Avery,C. (2007). Anitimicrobial susceptibility testing protocols.CRC Press,London.U.S.

Seker, E., & Dogan, N. (2011). Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey. Preventive Veterinary Medicine, 98(1): 46–51.

Sepahvand, A. ; Abdi, J.; Shirkhani ,Y.; Fallahi,Sh. ; Tarrahi, M and Soleimannejad,S. (2009) . Dermatophytosis in western part of Iran,Khorramabad . Iran . J. bio. Sciences 2 (3) : 58-65.

Segal, E., & Elad, D. (2021). Human and zoonotic dermatophytoses: Epidemiological aspects. Frontiers in Microbiology, 12: 713532.

Sharma, M. and Sharma, M. (2010). Incidence of dermatophytes and other keratinophilic fungi in the schools and college playground soils of Jaipur India. African Journal of Microbiology Research 4(24): 2647¬- 2654.

Sharma, M. ; Sharma, M. and Rao,V.M. (2011). In vitro biodegradation of keratin by dermarophytes and some soil keratinophiles African J. of biochemistry Research . 5(1):1-6

Sharma, A., Chandra, S. and Sharma, M. (2012). Difference in keratinase activity of dermatophytes at different environmental conditions is an attribute of adaptation to parasitism. Mycoses, 55 (5): 410–415.

Sharma,A.(2019).Oral candidiasis :An opportunistic infection- Areview.International Journal of Applied Dental Sciences.5(1):23-27.

Shireen, F., Manipal, S., and Prabu, D. (2015). Anti-fungal activity of Aloe vera: In vitro study. SRM Journal of Research in Dental Sciences, 6(2):

Simpanya, M. F. (2000). "Dermatophytes Their Taxonomy ,Ecology and Pathogenicity.Rev Iberoam Micol 171-12.

Sidrim,J.D.(2023)Mycosis:understanding fungal infections and their impact an human health. Medical Microbiology . open access .9(1:56):1-2

Srivastava, J. K., Shankar, E., and Gupta, S. (2010). *Chamomile*: A herbal medicine of the past with a bright future. Molecular medicine reports, 3(6): 895-901.

Spiliopoulou, A., Bartzavali, C., Jelastopulu, E., Anastassiou, E. Dand Christofidou, M. (2015). Evaluation of a commercial PCR test for the diagnosis of dermatophyte nail infections. Journal of Medical Microbiology64(1): 25–31.

Sofowora, A. (1993). Screening plants for bioactive agents. In Spectrum Books Ltd. Sunshine House, Ibadan, Nigeria. P: 134-156.

Steenkamp, V. and Stewart ,M.J(2007).Medicinal applications and toxicological activities of Aleo vera Products. Pharmaceutical Biol. 45: 411-420.

Steenackers, B., De Cooman, L., & De Vos, D. (2015). Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. Food Chemistry, 172: 742-756.:

Study, M.; Opd, S., and Bhagalpur, J. (2017). Microbiology Mycological Study of Dermatophytosis in patients attending Skin OPD in JLNMC Bhagalpur . indian journal of applied research, 79–81.

Suhonen,R.E. ; Dawber,R.P. and Ellis,D.H. (1999). Fungal infections of the skin, hair and nails . Martin Dunittz Ltd. London P:1-130-

Tocci, N.; Perenzoni, D.; Iamonico, DF.; Weil ,T. and Mattivi, F.(2018). Extracts from Hypericum hircinum subsp. majus exert antifungal activity against a panel of sensitive and drug-resistant clinical strains. Front Pharmacol. 9(5):1-10.

Tamo,B.(2020). Candida Infections: Clinical Features, Diagnosis and Treatment. Infect Dis Clin Microbiol . 2(2): 91-102.

Tsao, R., Khanizadeh, S., & Dale, A. (2006). Designer fruits and vegetables with enriched phytochemicals for human health. Canadian Journal of Plant Science, 86(3), 773-786.

Trease, G.E. and Evans, W. (2002). Pharmacognosy. 15th. ed Saunders Publishers . London. P: 42-44.

Trotha,R. ; Graser,Y ; Platt,J. ; Koster,A. ; Konig,B Konig,W. and Freytag,C. (2003). Tinea barbae caused by a zoophilic strain of *Trichophyton interdigitale*. Mycoses. 46 : 3-60

Tyler, V.E. ; Brady, L.R. and Robbers, J.E(1988). Pharmacognosy. 9th . ed. Lea & Febbiger. Philadelphia. U.S.A.

Tyagi,Shagun.(2016).fungal pathogenicity and diseases in fluman,are view.Jairan of pharmocognosy and phytochemistry.5(6):192-193.

Uhrlaß, S., Verma, S. B., Gräser, Y., Rezaei-Matehkolaei, A., Hatami, M., Schaller, M., & Nenoff, P. (2022). *Trichophyton indotineae*—An Emerging Pathogen Causing Recalcitrant Dermatophytoses in India and Worldwide—A Multidimensional Perspective. Journal of Fungi, 8(7): 757.

Uppuluri,P;Chaturvedi,AK.;Sriniasan,A.;Banerjee,M. ;Rama , S . and Kohler, JR.(2010). Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle.Plos pathogen 6:1-12.

Vieitez, I., Maceiras, L., Jachmanián, I., & Alborés, S. (2018). Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. The Journal of Supercritical Fluids, 13358-64.

Wagner and Sohnle (1995). Cutaneus defenses against dermatophytes and yeasts.Clin.Microbiol.Rev (8):317-335.

Wang, L.; Ma, L.; Leng, W.; Liu, T.; Yu, L.; Yang, J., et al. ,(2006).Analysis of the

dermatophyte *Trichophyton rubrum* expressed sequence tags. BMC Genomics. 7:255.

Williams ,D.and Lewis,m.(2011).Pathogenesis and treatment of oral candidosis ,J.Oral Microbiol.3:57-71.

Williams, D.;Tomoari ,K.; Sonia ,S.; Sladjana, M. and Michael A. (2011). *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. Periodontology . 55: 250–265.

Wu, S., & Tian, L. (2017). Diverse phytochemicals and bioactivities in the ancient fruit and modern functional food pomegranate (*Punica granatum*). Molecules, 22(10), 1606.

Yang, S.; Mao, L.; Zheng, Z.; Chen, B., and Li, J. (2020). Pollen atlas for selected subfamilies of Euphorbiaceae from Southern China: a complementary contribution to Quaternary pollen analysis. Palynology, 44(4): 659-673

Yekeen, M. O., Ajala, O. O., & Alarape, A. B. (2014). Antifungal activities of Citrus sinensis seed oil against Lentinus sajor-caju. Advances in Applied Science Research, 5(3),109-113.

Zaini, F., Mahmoudi, M., Mehbod, A. S. A., Kordbacheh, P., & Safara, M. (2009). Fungal nail infections in Tehran, Iran. Iranian Journal of Public Health, 38(3): 46-53

Zafar,A.;Kauser,J.&Joveria,F.(2017).Practical guide and atlas for the diagnosis of fungal infections.United states.

Zoulati, G.; Maïga, R. Y.; El Haouri, M., and Er-Rami, M. (2018). Dermat**o**phytosis due to Trichophyton violaceum at the parasitology-mycology laboratory of the military hospital of Meknes (about twelve cases). Journal de Mycologie Medicale, 28(1): 1–7.

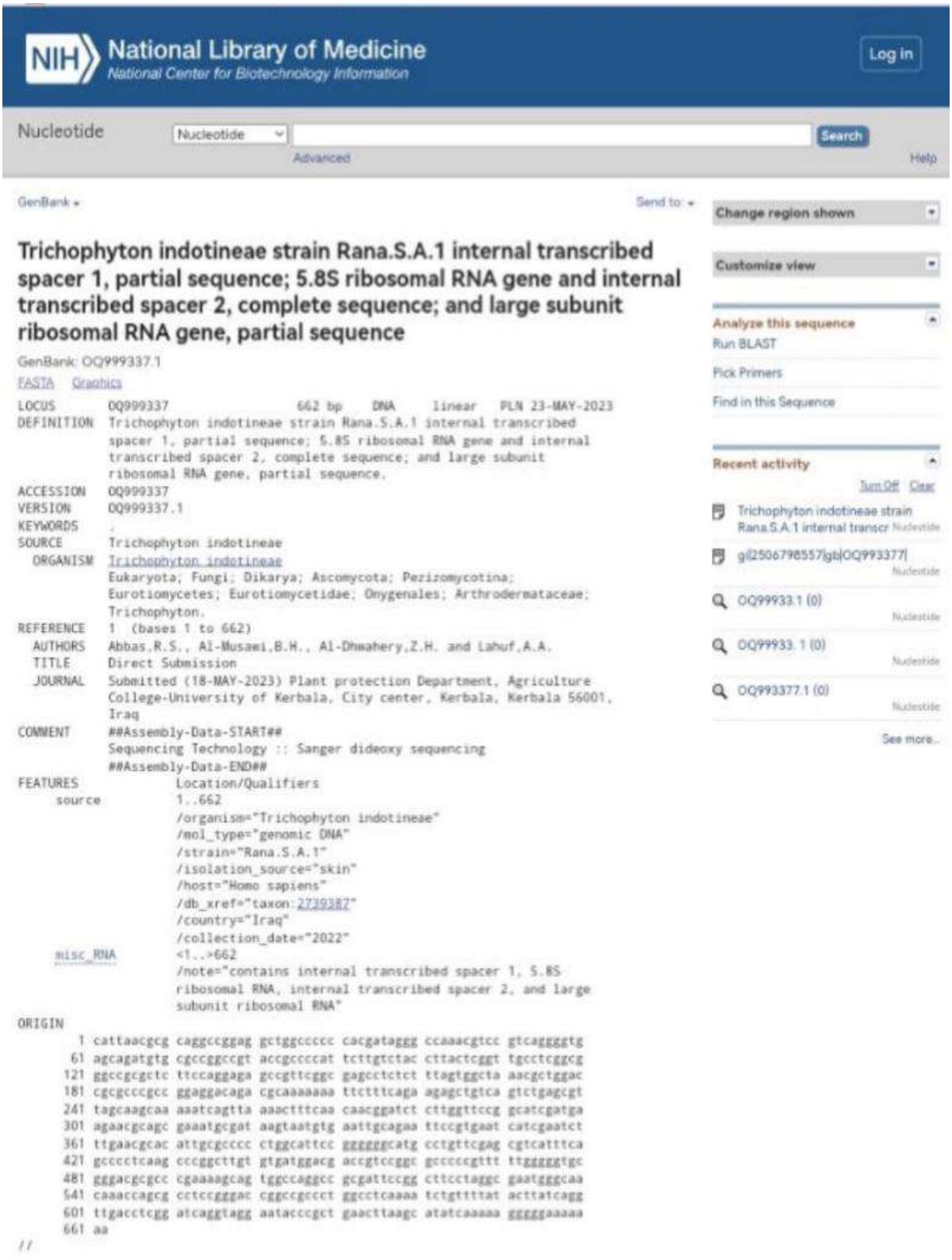
الملاحق

Appendice

الملحق (1): إثبات تسجيل عزلة الفطر Trichophyton indotineaeفي المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information
Log in

Nucleotide | Nucleotide | Search | Advanced | Help



GenBank ▾ Send to: ▾

Trichophyton indotineae strain Rana.S.A.1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OQ999337.1

FASTA Graphics

```
LOCUS       OQ999337                 662 bp    DNA     linear   PLN 23-MAY-2023
DEFINITION  Trichophyton indotineae strain Rana.S.A.1 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OQ999337
VERSION     OQ999337.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton indotineae
  ORGANISM  Trichophyton indotineae
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 662)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Al-Musawi,B.H., Al-Dhwahery,Z.H. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (18-MAY-2023) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..662
                     /organism="Trichophyton indotineae"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.1"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:2739387"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2022"
     misc_RNA        <1..>662
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 cattaacgcg caggccggag gctggccccc cacgataggg ccaaacgtcc gtcaggggtg
       61 agcagatgtg cgccggccgt accgccccat tcttgtctac cttactcggt tgcctcggcg
      121 ggccgcgctc ttccaggaga gccgttcggc gagcctctct ttagtggcta aacgctggac
      181 cgcgcccgcc ggaggacaga cgcaaaaaaa ttctttcaga agagctgtca gtctgagcgt
      241 tagcaagcaa aaatcagtta aaactttcaa caacggatct cttggttccg gcatcgatga
      301 agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttccgtgaat catcgaatct
      361 ttgaacgcac attgcgcccc ctggcattcc ggggggcatg cctgttcgag cgtcatttca
      421 gcccctcaag cccggcttgt gtgatggacg accgtccggc gccccgttt ttgggggtgc
      481 gggacgcgcc cgaaaagcag tggccaggcc gcgattccgg cttcctaggc gaatgggcaa
      541 caaaccagcg cctccgggac cggccgccct ggcctcaaaa tctgttttat acttatcagg
      601 ttgacctcgg atcaggtagg aatacccgct gaacttaagc atatcaaaaa gggggaaaaa
      661 aa
//
```

Change region shown

Customize view

Analyze this sequence
Run BLAST
Pick Primers
Find in this Sequence

Recent activity
Turn Off Clear
Trichophyton indotineae strain Rana.S.A.1 internal transcr Nucleotide
gi|2506798557|gb|OQ993377| Nucleotide
OQ99933.1 (0) Nucleotide
OQ99933. 1 (0) Nucleotide
OQ993377.1 (0) Nucleotide
See more...

الملحق(2) إثبات تسجيل عزلة الفطر Trichophyton interdigital في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

Nucleotide

GenBank

Trichophyton interdigitale strain Rana.S.A.2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OQ978648.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OQ978648                686 bp    DNA     linear   PLN 19-MAY-2023
DEFINITION  Trichophyton interdigitale strain Rana.S.A.2 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OQ978648
VERSION     OQ978648.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton interdigitale
  ORGANISM  Trichophyton interdigitale
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 686)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     molecular identification of Trichophyton interdigitale from skin
            samples in Iraq
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 686)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (14-MAY-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..686
                     /organism="Trichophyton interdigitale"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.2"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:101480"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>686
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tctttaggga ctgcggagac attaacgcgc aggccggagg ctggcccccc acgatagggc
       61 caaacgtccg tcaggggtga gcagatgtgc gccggccgta ccgccccatt cttgtctacc
      121 ttactcggtt gcctcggcgg gccgcgctct tccaggagag ccgttcggcg agcctctctt
      181 tagtggctaa acgctggacc gcgcccgccg gaggacagac gcaaaaaaat tctttcagaa
      241 gagctgtcag tctgagcgtt agcaagcaaa aatcagttaa aactttcaac aacggatctc
      301 ttggttccgg catcgatgaa gaacgcagcg aaatgcgata agtaatgtga attgcagaat
      361 tccgtgaatc atcgaatctt tgaacgcaca ttgcgccccc tggcattccg gggggcatgc
      421 ctgttcgagc gtcatttcag cccctcaagc ccggcttgtg tgatggacga ccgtccggcg
      481 cccccgtttt tgggggtgcg ggacgcgccc gaaaagcagt ggccaggccg cgattccggc
      541 ttcctaggcg aatgggcaac aaaccagcgc ctccaggacc ggccgccctg gcctcaaaat
      601 ctgttttata cttatcaggt tgacctcgga tcaggtagga atacccgctg aacttaagca
      661 tataaaaagg ggggagagag agaaaa
//
```

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OQ978648 1/1

الملحق (3) إثبات تسجيل عزلة الفطر *Trichophyton mentagrophytes* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات Gen Bank

5/22/23, 6:02 PM Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.3 internal transcribed spa - Nucleotide - NCBI

An official website of the United States government
Here's how you know

Log in

Nucleotide

GenBank

Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OQ979238.1

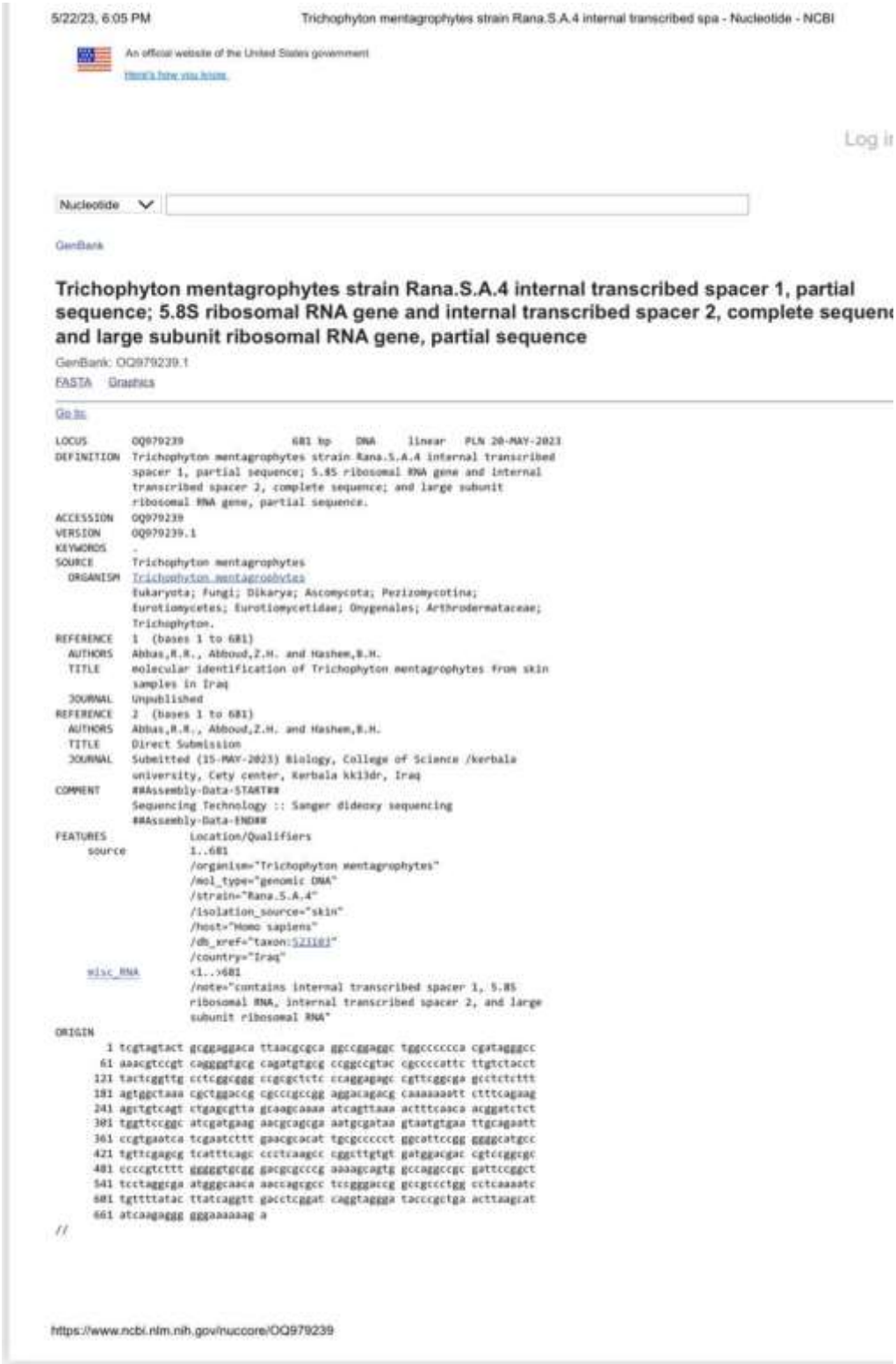
FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OQ979238                 864 bp    DNA     linear   PLN 20-MAY-2023
DEFINITION  Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.3 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OQ979238
VERSION     OQ979238.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton mentagrophytes
  ORGANISM  Trichophyton mentagrophytes
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 864)
  AUTHORS   Abbas,R.R., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     molecular identification of Trichophyton mentagrophytes from skin
            samples in Iraq
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 864)
  AUTHORS   Abbas,R.R., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-MAY-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..864
                     /organism="Trichophyton mentagrophytes"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.3"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:523103"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>864
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tcgtaggtac tgcggagaca ttaacgcgca ggccggaggc tggcccccca cgatagggcc
       61 aaacgtccgt caggggtgag cagatgtgcg ccggccgtac cgccccattc ttgtctacct
      121 tactcggttg cctcggcggg ccgcgctctt ccaggagagc cgttcggcga gcctctcttt
      181 agtggctaaa cgctggaccg cgcccgccgg aggacagacg caaaaaaatt ctttcagaag
      241 agctgtcagt ctgagcgtta gcaagcaaaa atcagttaaa actttcaaca acggatctct
      301 tggttccggc atcgatgaag aacgcagcga aatgcgataa gtaatgtgaa ttgcagaatt
      361 ccgtgaatca tcgaatcttt gaacgcacat tgcgccccct ggcattccgg ggggcatgcc
      421 tgttcgagcg tcatttcagc ccctcaagcc cggcttgtgt gatggacgac cgtccggcgc
      481 ccccgttttt gggggtgcgg gacgcgcccg aaaagcagtg gccaggccgc gattccggct
      541 tcctaggcga atgggcaaca aaccagcgcc tccgggaccg gccgccctgg cctcaaaatc
      601 tgttttatac ttatcaggtt gacctcggat caggtaggaa tacccgctga acttaagcat
      661 atcataaagg gggagagaag aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaggggg ggctgggggg
      721 cggagggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg
      781 gggggggggg gggggggggg gggggggggg ggtggggggg gggggggggg gggggggggg
      841 gggggggggg gggggggggg ggcc
//
```

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OQ979238 1/2

5/22/23, 6:02 PM Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.3 internal transcribed spa - Nucleotide - NCBI



الملحق (4): إثبات تسجيل عزلة الفطر *Trichophyton mentagrophytes*في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

5/22/23, 6:05 PM Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.4 internal transcribed spa - Nucleotide - NCBI

An official website of the United States government
Here's how you know

Log in

Nucleotide

GenBank

Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequen and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

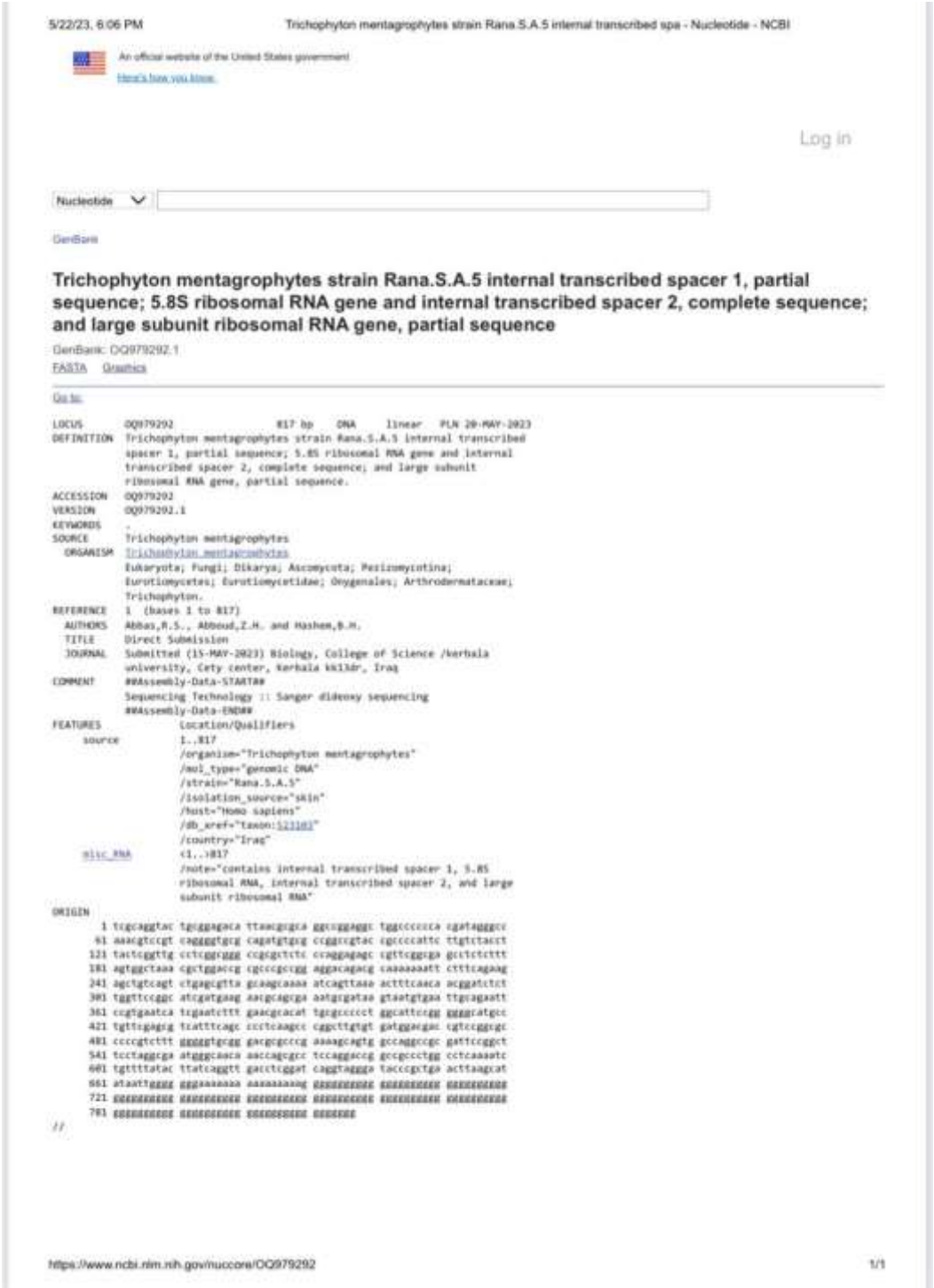
GenBank: OQ979239.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OQ979239                 681 bp    DNA     linear   PLN 20-MAY-2023
DEFINITION  Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.4 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OQ979239
VERSION     OQ979239.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton mentagrophytes
  ORGANISM  Trichophyton mentagrophytes
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 681)
  AUTHORS   Abbas,R.R., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     molecular identification of Trichophyton mentagrophytes from skin
            samples in Iraq
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 681)
  AUTHORS   Abbas,R.R., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-MAY-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..681
                     /organism="Trichophyton mentagrophytes"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.4"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:523103"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>681
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tcgtagtact gcggaggaca ttaacgcgca ggccggaggc tggcccccca cgatagggcc
       61 aaacgtccgt caggggtgcg cagatgtgcg ccggccgtac cgccccattc ttgtctacct
      121 tactcggttg cctcggcggg ccgcgctctc ccaggagagc cgttcggcga gcctctcttt
      181 agtggctaaa cgctggaccg cgcccgccgg aggacagacg caaaaaaatt ctttcagaag
      241 agctgtcagt ctgagcgtta gcaagcaaaa atcagttaaa actttcaaca acggatctct
      301 tggttccggc atcgatgaag aacgcagcga aatgcgataa gtaatgtgaa ttgcagaatt
      361 ccgtgaatca tcgaatcttt gaacgcacat tgcgccccct ggcattccgg ggggcatgcc
      421 tgttcgagcg tcatttcagc ccctcaagcc cggcttgtgt gatggacgac cgtccggcgc
      481 ccccgtcttt ggggtgcgg gacgcgcccg aaaagcagtg gccaggccgc gattccggct
      541 tcctaggcga atgggcaaca aaccagcgcc tccgggaccg gccgccctgg cctcaaaatc
      601 tgttttatac ttatcaggtt gacctcggat caggtaggga tacccgctga acttaagcat
      661 atcaagaggg gggaaaaaag a
//
```

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OQ979239



الملحق(5): إثبات تسجيل عزلة الفطر *Trichophyton mentagrophytes*في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

5/22/23, 6:06 PM Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.5 internal transcribed spa - Nucleotide - NCBI

An official website of the United States government
Here's how you know

Log in

Nucleotide

GenBank

Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OQ979292.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OQ979292                 817 bp    DNA     linear   PLN 20-MAY-2023
DEFINITION  Trichophyton mentagrophytes strain Rana.S.A.5 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OQ979292
VERSION     OQ979292.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton mentagrophytes
  ORGANISM  Trichophyton mentagrophytes
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 817)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (15-MAY-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..817
                     /organism="Trichophyton mentagrophytes"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.5"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:523103"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>817
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tcgcaggtac tgcggagaca ttaacgcgca ggccggaggc tggcccccca cgatagggcc
       61 aaacgtccgt caggggtgcg cagatgtgcg ccggccgtac cgccccattc ttgtctacct
      121 tactcggttg cctcggcggg ccgcgctctc ccaggagagc cgttcggcga gcctctcttt
      181 agtggctaaa cgctggaccg cgcccgccgg aggacagacg caaaaaaatt ctttcagaag
      241 agctgtcagt ctgagcgtta gcaagcaaaa atcagttaaa actttcaaca acggatctct
      301 tggttccggc atcgatgaag aacgcagcga aatgcgataa gtaatgtgaa ttgcagaatt
      361 ccgtgaatca tcgaatcttt gaacgcacat tgcgccccct ggcattccgg ggggcatgcc
      421 tgttcgagcg tcatttcagc ccctcaagcc cggcttgtgt gatggacgac cgtccggcgc
      481 cccgtctttt gggggtgcgg gacgcgcccg aaaagcagtg gccaggccgc gattccggct
      541 tcctaggcga atgggcaaca aaccagcgcc tccaggaccg gccgccctgg cctcaaaatc
      601 tgttttatac ttatcaggtt gacctcggat caggtaggga tacccgctga acttaagcat
      661 ataattgggg gggaaaaaaa aaaaaaaaag gggggggggg gggggggggg gggggggggg
      721 gggggggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg gggggggggg
      781 gggggggggg gggggggggg gggggggggg ggggggg
//
```

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OQ979292 1/1

الملحق (6):اثبات تسجيل عزلة الفطر *Microsporum canis* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide

Microsporum canis strain Rana S.A.9 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR119758.1

FASTA Graphics

```
LOCUS       OR119758                 699 bp    DNA     linear   PLN 14-JUN-2023
DEFINITION  Microsporum canis strain Rana S.A.9 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   OR119758
VERSION     OR119758.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Microsporum canis (Arthroderma otae)
  ORGANISM  Microsporum canis
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Microsporum.
REFERENCE   1  (bases 1 to 699)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Al-Musawi,B.H. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (09-JUN-2023) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001,
            Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..699
                     /organism="Microsporum canis"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana S.A.9"
                     /isolation_source="skin"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:63405"
                     /country="Iraq"
                     /collection_date="2022"
     misc_RNA        <1..>699
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
//
```

الملحق (7): إثبات تسجيل عزلة الفطر *Candida albicans* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

Nucleotide

GenBank

Candida albicans strain Rana.S.A.13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and larg subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR085961.1

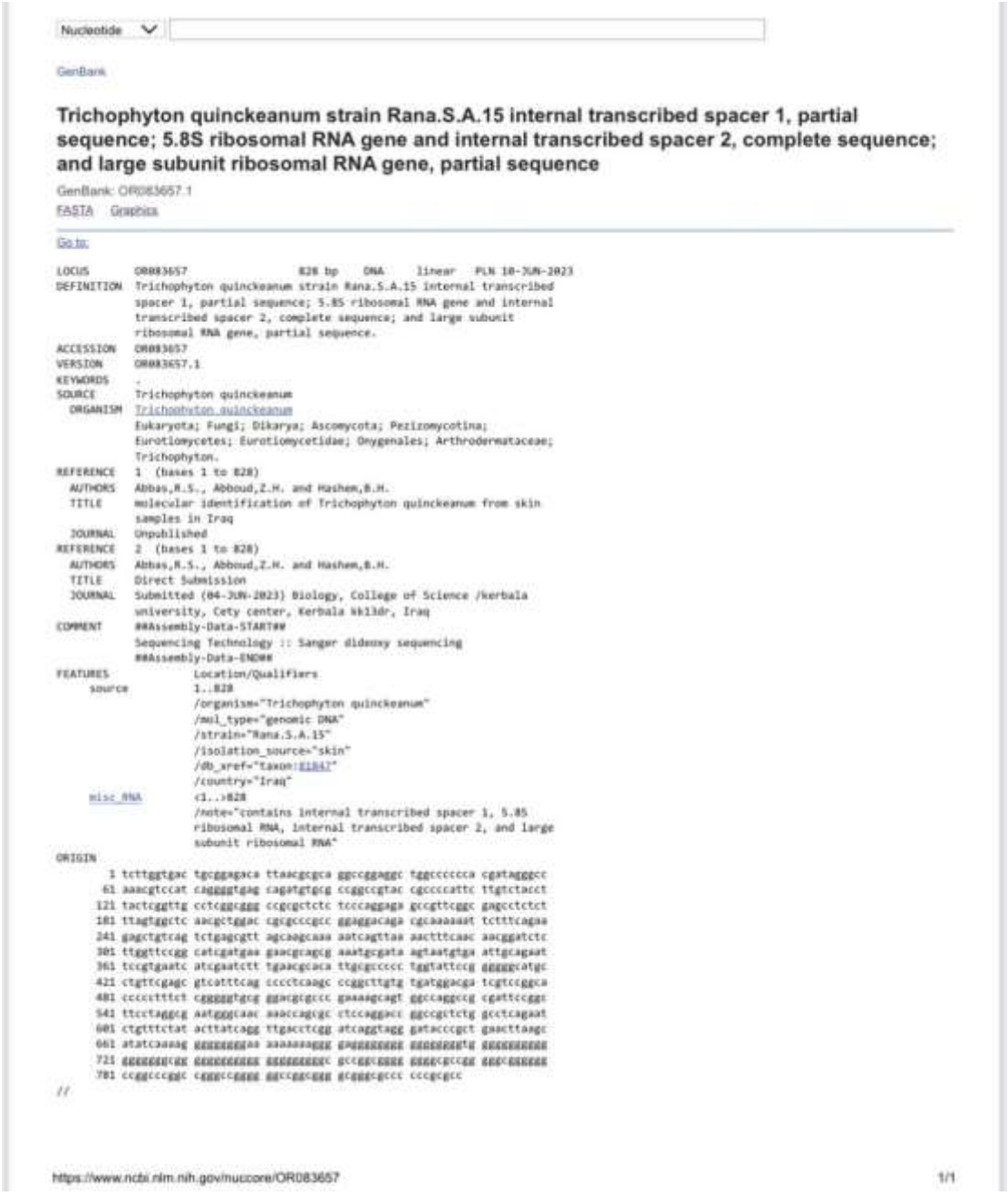
FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OR085961                665 bp    DNA     linear   PLN 11-JUN-2023
DEFINITION  Candida albicans strain Rana.S.A.13 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   OR085961
VERSION     OR085961.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Candida albicans
  ORGANISM  Candida albicans
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Saccharomycotina;
            Saccharomycetes; Saccharomycetales; Debaryomycetaceae;
            Candida/Lodderomyces clade; Candida.
REFERENCE   1  (bases 1 to 665)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     molecular identification of Candida albicans from oral candidiasis
            in Iraq
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 665)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (05-JUN-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..665
                     /organism="Candida albicans"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.13"
                     /isolation_source="Human-mouth"
                     /db_xref="taxon:5476"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>665
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tctttagtac tgcggagaca ttactgattt gcttaattgc accacatgtg tttttctttg
       61 aaacaaactt gctttggcgg tgggcccagc ctgccgccag aggtctaaac ttacaaccaa
      121 ttttttatca acttgtcaca ccagattatt actaatagtc aaaactttca acaacggatc
      181 tcttggttct cgcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga tacgtaatat gaattgcaga
      241 tattcgtgaa tcatcgaatc tttgaacgca cattgcgccc tctggtattc cggagggcat
      301 gcctgtttga gcgtcgtttc tccctcaaac cgctgggttt ggtgttgagc aatacgactt
      361 gggtttgctt gaaagacggt agtggtaagg cgggatcgct ttgacaatgg cttaggtcta
      421 accaaaaaca ttgcttgcgg cggtaacgtc caccacgtat atcttcaaac tttgacctca
      481 aatcaggtag gactacccgc tgaacttaag catatcaaga ccggggaaaa aaaaattttt
      541 ttgctgctcc tatgcgactg ggccccgcgc cgtcgcctcc cggaccggcc gctctggcct
      601 cataatctgt ttctatactt atcaggttga cctcggatca gtgggatacc cgctgaactt
      661 aagca
//
```

الملحق (8) إثبات تسجيل عزلة الفطر *Trichophyton quinckeanum* في المركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية ضمن بيانات ال GenBank

Nucleotide



GenBank

Trichophyton quinckeanum strain Rana.S.A.15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR083657.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       OR083657                 828 bp    DNA     linear   PLN 10-JUN-2023
DEFINITION  Trichophyton quinckeanum strain Rana.S.A.15 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   OR083657
VERSION     OR083657.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Trichophyton quinckeanum
  ORGANISM  Trichophyton quinckeanum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Onygenales; Arthrodermataceae;
            Trichophyton.
REFERENCE   1  (bases 1 to 828)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     molecular identification of Trichophyton quinckeanum from skin
            samples in Iraq
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 828)
  AUTHORS   Abbas,R.S., Abboud,Z.H. and Hashem,B.H.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (04-JUN-2023) Biology, College of Science /kerbala
            university, Cety center, Kerbala kk13dr, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..828
                     /organism="Trichophyton quinckeanum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="Rana.S.A.15"
                     /isolation_source="skin"
                     /db_xref="taxon:81847"
                     /country="Iraq"
     misc_RNA        <1..>828
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tcttggtgac tgcggagaca ttaacgcgca ggccggaggc tggcccccca cgatagggcc
       61 aaacgtccat caggggtgag cagatgtgcg ccggccgtac cgccccattc ttgtctacct
      121 tactcggttg cctcggcggg ccgcgctctc tcccaggaga gccgttcggc gagcctctct
      181 ttagtggctc aacgctggac cgcgcccgcc ggaggacaga cgcaaaaaat tctttcagaa
      241 gagctgtcag tctgagcgtt agcaagcaaa aatcagttaa aactttcaac aacggatctc
      301 ttggttccgg catcgatgaa gaacgcagcg aaatgcgata agtaatgtga attgcagaat
      361 tccgtgaatc atcgaatctt tgaacgcaca ttgcgccccc tggtattccg gggggcatgc
      421 ctgttcgagc gtcatttcag cccctcaagc ccggcttgtg tgatggacga tcgtccggca
      481 ccccctttct cgggggtgcg ggacgcgccc gaaaagcagt ggccaggccg cgattccggc
      541 ttcctaggcg aatgggcaac aaaccagcgc ctccaggacc ggccgctctg gcctcagaat
      601 ctgtttctat acttatcagg ttgacctcgg atcaggtagg gatacccgct gaacttaagc
      661 atatcaaaag [illegible]
      721 [illegible]
      781 [illegible] cccgcgcc
//
```

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OR083657 1/1

Summary

The current study included identifying the type of fungi that are pathogenic to the skin and mouth and the possibility of studying the inhibitory effectiveness of some plant extract against isolated fungi species.The outcomes of the study reached that:

Out of total of 115 clinical samples ,56 skin samples included 42 hair sample ,2 nails, 15 mouth swab samples, which were taken from patients with fungi injuries to the skin and mouth . they were among the reviewers of imam Al-Hassan hospital ,and the childrens teaching hospital in Kerbala Governorate for the period from December 2022to May 2023 the presence of fungi found 42 samples (32 skin samples and 10 sample of the mou th). These fungi were diagnosed based on the phenoscopic and microscopic qualities . the diagnosis was confirmed molecularly by use of polymerization sequence of prefixes ITS 4 and ITS 5 ,which succeed in doubling the area ITS(internal transcribed spacer) it size were between (870-510)pb and each type was determinedby serial code in the database of the national center for biotechnology information which are respectively OQ999337.1 for *Trichophyton indotineae*,OQ978648.1for the fungus *Trichophyton interdigetal* and OQ979238.1 for *Trichophyton mentographytes*, and OQ979239.1 for *Trichophyton mentographytes, and* OQ979292.1 *Trichophyton mentographytes* and OR119758.1 fo rthe *Microsporum canies* and OR083657.1 for the *Trichophyton qunickeium* and OR085961.1 for *Candida albicans*.

According to the type of pathogen , the isolated fungi were classified into two group , the skin fungi group and the group of yeast ,recorded the highest percentage of skin fungi reaching 76% , and the fungi were classified into the genera *Trichophyton* and *Microsporum* .among the diagnosed species were

Summary

*Trichophyton mentographytes*the highest percentage was 23.8%,followed by the type *Microsporum canies* by 19.4% the fungi *Trichophyton qunickeium* and *Trichophyton indotineae* 14.2% and the *Trichophyton interdigital* recorded ratio of4.7%. it was found that the fungus *Trichophyton indotineae* was isolated and diagnosed the first time in Kerbala Governorate .as for the group of yeast ,the type *Candida albicans* recorded a percentage of 23.8%

Fungal infection ,according to the location of the injury , were calassified into two forms, namely tinea and oral candidiasis.a mong the most frequent ringwarm was tinea capitis which was 36% followed by tinea feaciei by 29.7%,tinea corporis by 15.6%and the tinea manum 3.4%while the tinea unguium was 1.7%

Recording the effect of sex on fungal infection , the study showed the highest infection of skin fungi was recorded in male by 80% compared to females 20%.while oral cadidasis was relatively higher frequency in females 53%.an infection rate was recorded 46.6%.

It was also found in the current study that the frequency of fungi infection was recorded in the age group less than ten years 53% followed by the age group 29-11 by 34%

To study the effect of the aqueous extract of peel of *Punica granatum* ,and leaves of *Aloe vera* and *Ricinus commuis* and flower of *Matricaria chamomille* ,on the isolated fungi , a hot water extract was prepared and several chemical examination were conducted in it . it was found that all extract contain stellans ,carbohydrates ,glycoxides ,phenols and comarins .while resins were found in the leaf extract of Aleo vera Castor and Chamomile flowers, while no presence of steroids and proteins was recorded in all prepared extract.

Summary

The study proved that the aqueous extract of the *Pomegranate* plant and *Aloe vera* was highly effective against pathogenic fungi , the concentration recorded 25%with the highest rate inhibition diameter comparedto the rest of the concentration (5 ,10 , 15, 20)% which give a rate of inhibition ,but the hot water extract to the *Pomegranate plant* at the concentration gave 25% high inhibitory effectiveness. The fungus *Trichophyton indotineae* recorded the highest inhibition rate which reached 50 mm and *Trichophyton quninckaum* 30mm , at the same concentration , while recorded very little inhibition recorded at concentration 5%.the Aleo vera plant also give high inhibition result and at the concentration 25%where the fungi recorded the highest inhibition rate reaching 63mm and the least the fungus *Trichophyton quninckaum*,which record 15 mm ,also gave few inhibition result with a concetration of 5%.

As for the plants of *Chamomile and Castor* they did not record any inhibition even at the concentration of 25%.

University of Kerbala

Detecting the effectiveness of some medicinal plant extracts in growth of pathogenic fungi isolated and identified molecularly

Athesis

Submitted to the council of the

College of science-University of Karbala

In partial of fulfillment of requirements for degree of Master of Science in Biology

Written by

Rana Sabah Abbas Dhiaaldeen

Supervised by

Assit PROF.Dr. Zuhair Hameed Abboud

Prof.Dr Balqees Hadi Hashim

2024 AD 1445 AH