Journal of College of Education for pure sciences(JCEPS)
Web Site: http://eps.utq.edu.iq/ Email: com@eps.utq.edu.iq
Volume 7, Number 4, December 2017

تطهير خميرة *Candida albicans* باستخدام بلازما الاركون غير الحرارية المنتجة عند الضغط الجوي

ندى صباح رزوقي[1] ، حامد حافظ مربط [2] ، نسرين خليل عبد الامير [2] اثير قاسم مريوش[2] شيماء محسن زبون[1]

1قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد

2قسم الفيزياء / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد

الخلاصة

تم استخدام بلازما الاركون المنتجة عند الضغط الجوي في تطهير خميرة Candida albicans ، استخدمت منظومة نفاث البلازما المصنعة مختبرا لهذا الغرض، وكانت معلمات البلازما هي: فولتية التفريغ (8) كيلو فولت ، تردد الفولتية (22) كيلو هيرتز، معدل جريان غاز الاركون (3) لتر/دقيقة.

تضمنت هذه الدراسة الحصول على عزلة سريرية ل خميرة *C.albicans* والتي تم تشخيصها مبدئيا وفق شكل مستعمراتها على الوسط الصلب SDA والتي تميزت بكونها ملساء ، كريمية ومخاطية، في حين تميزت المستعمرات النامية على وسط اكار الذرة الصلب (CMA) بقابليتها على انتاج الخيوط الفطرية الكاذبة (Pseudohyphae) ووجود الابواغ البلاستولية والكلاميدية، وعند معاملتها بصبغة غرام اعطت تفاعلاً موجباً وكانت خلاياها بيضوية الشكل الى متبرعمة كما اجري اختبار تكوين انبوب الانبات لها والذي كانت نتيجته موجبة فضلا عن قدرتها على النمو عند درجة حرارة 45 م . وعند تعريض عزلة الخميرة قيدالدراسة لتاثير البلازما الباردة لفترات زمنية مختلفة للتحري عن فاعليتها التثبيطية على نموها، دللت النتائج التي تم الحصول عليها عدم تاثر نمو عزلة الخميرة قيد الدراسة عند تعريضها للبلازما الباردة خلال المرحلة الاولى من التعريض والتي كانت مدة التعريض فيها بالثواني عند مقارنة نموها بمعاملة السيطرة في حين لوحظ تناقص في نموها عند زيادة فترة التعريض الى دقائق خلال المرحلة الثانية من المعاملة وصولا الى انعدام النمو كليا عند مدة التعريض البالغة 10 دقائق، كما تم التحري عن كفاءة تثبيط تكوينها لانبوب الانبات بعد تعريضها للبلازما غير الحرارية حيث لوحظ ان زيادة وقت التعريض ل لبلازما غير الحرارية زاد من النسبة المئوية لتثبيط انبوب الانبات لعزلة خميرة*C.albicans* من 59% عند وقت التعريض لمدة 6 دقائق وصولا الى 96% عند وقت التعريض لمدة 9 دقائق مقارنة بمعاملة السيطرة ، كما دلت النتائج على عدم تاثر الشكل المظهري لخلايا الخميرة وتقبلها للتصبيغ بعد تعريضها للبلازما غير الحرارية لفترات زمنية مختلفة (6-9) دقائق مقارنة بعينة السيطرة عند فحص عدد من الشرائح الزجاجية المصبغة لها قبل وبعد التعريض لجهاز البلازما غير الحرارية.

Journal of College of Education for pure sciences(JCEPS)
Web Site: http://eps.utq.edu.iq/ Email: com@eps.utq.edu.iq
Volume 7, Number 4, December 2017

Sterilization of candida albicans yeast by nonthermal atmospheric pressure argon plasma

Nada Sabah Rezouqi[1] , Hamid H. Murbat [2] ,Nisreen Khaleel[2] , Atheir Kassim[2] Shima Mahsin Zboin[1]
1Biology Department/College of Science for Women / University of Baghdad
2PhysicsDepartment/College of Science for Women / University of Baghdad

Abstract:

The sterilization of candida albicans yeast was done by using atmospheric pressure non thermal argon plasma, the plasma jet system was used for this purpose with following operations conditions: the discharge voltage was (8) kV, with frequency (22) kHz and argon gas flow (3) l/min.

This study included obtaining clinical isolate of C.albicans yeast which diagnosed initially according to its colonies appearance on SDA as a a smooth, creamy and mucosa colonies , while it characterized by a production of Pseudohyphae and the presence of chlamidospores on CMA, also it has the ability to grow at 45 C , positive to germ tube production , Gram positive oval shape cells .

This study also included investigation the inhibitory effect of cold plasma at different periods of time on the yeast isolate growth, where the results obtained did not show any effect of cold plasma on the growth of the yeast during the first stage of exposure in seconds comparing to control while it was noted a decrease in growth when increasing the exposure time to minute during the second phase of treatment till yeast growth entirely down to zero when the exposure period reached 10 minutes, also This study was Investigated the inhibiting efficiency of cold plasma exposure on the ability of *C.albicans* yeast isolate to produced germ tube before and after exposure to a non-thermal plasma where the results showed increased in the inhibition percentage of yeast germination along with increased time of exposure from 59 % at exposure time 6 min down to 96% when the exposure time 9 min compared with the control,but the exposure to a non-thermal plasma did not demonstrated demonstrated any morphological changes in yeast cells and their acceptance of staining compared to the control not treated with cold plasma .

المقدمـــــــــــة

في السنوات القليلة الماضية نجحت تطبيقات لبلازما الباردة في تطهير اصناف مختلفة من الكائنات الدقيقة [1-8]. تحوي ان البلازما على اصناف مختلفة من الجسيمات مثل (OH,O) بالاضافة الى الايونات والالكترونات والتي تتفاعل مع السطوح الكائنات الدقيقة اثناء عملية المعالجة، ان مدى التأثيرات والتفاعلات التي تحدث بين مكونات البلازما مع سطوح الاجسام الحية لم تفسر بصورة كاملة لحد الان [9-12]. ولكن احرز تقدما كبيراً في علاج ابسط خلية بدائية النواة التي ليس لها عضيات اخرى من الرايبوسوم وتكون ذات غشاء مغلق [13-15]. هنالك العديد من الطرائق لانتاج البلازما غير الحرارية منها طريقة تفريغ الحاجز العازل Dielectric Barrier Discharge (DBD) و تفريغ الهالة Corona Discharge ونفاث بلازما الضغط الجوي Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) و ابرة البلازما Plasma Needle [16] . نفاث بلازما الضغط الجوي يتألف من قطبين متحدي المركز يسري من خلالها خليط غازي من غازي الهليوم والاوكسجين أو من غازات اخرى بسرعة جريان عالية في هذا النوع يربط القطب الخارجي الى الأرض بينما يربط القطب الداخلي الى مجهز عالي قدرة فولتيته تتراوح بين 1 الى عدة كيلوفولتات[17].

خميرة *C.albicans* تعد من من الفلورا الطبيعية المتواجدة على الجلد و الاغشية المخاطية للاشخاص الاصحاء خاصة عند منطقة البلعوم الفمي على الرغم من ذلك فان لها القدرة على احداث عدد من الاصابات المرضية للاشخاص ذوي المناعة الضعيفة [18] لامتلاكها عدد من عوامل الضراوة مثل انتاجها لعدد من الانزيمات المختلفة و قدرتها على الالتصاق بخلايا العائل و انسجته [19] وهي من الفطريات الثنائية الطور ولها القدرة على تكوين خيطا فطريا كاذبا. وتنمو عند درجة حرارة 37 م عادة [20] و يمكن ان تسبب التهاب رئوي و تسمم الدم و التهاب شغاف القلب و تتواجد بصورة كبيرة عند النساء الحوامل في منطقة المهبل والذي يمكن ان ينقل العدوى بها الى الاطفال عند الولادة [21] .

ولذا فقد هدفت هذه الدراسة للتحري عن الفعل التثبيطي لمنظومة البلازما الاركون غير الحرارية على نمو و فاعلية خميرة *Candida albicans* كمطهر او معقم للحد والسيطرة على الاصابات المتسببة بفعل هذه الخميرة المرضية بديلا عن استعمال المواد الكيمياوية .

طرائق العمل :

1 - منظومة البلازما

استعملت منظومة نفث البلازما المصنعة مختبريا لانتاج البلازما الغير حرارية، تتالف المنظومة من اسطوانتين متحدتي المركز احدهما زجاجية طولها (100) ملم و بقطر داخلي (10) ملم تنتهي بفتحة ضيقة بقطر (2) ملم لخروج البلازما، والاسطوانة الاخرى من النحاس طولها (90) ملم وقطرها الداخلي (3) ملم تمتد على طول الاسطوانة الزجاجية عدا مسافة (10) ملم في نهايتها لتكون منطقة انتاج البلازما. تعمل اسطوانة النحاس الداخلية كمجرى للغاز وكذلك تربط الى احدى اقطاب مصدر عالي القدرة (الانود) اما القطب الارضي من مصدر عالي القدرة فيربط الى حلقة تحيط بالاسطوانة الزجاجية من الخارج قرب نهايتها الخارجية المعدة لخروج البلازما، استعمل غاز الاركون في تغذية المنظومة وبمعدل جريان للغاز (3) لتر/دقيقة، ومصدر قدرة عالي الفولتية بذروة بفولتية قدرها (25) كيلوفولت وتردد (30) كيلوهيرتز.اما بالنسبة للنسبة الفولتية المستعمل في بحثنا هذا فقد ثبتت قيمتها على (8) كيلوفولت وتردد (22) كيلوهيرتز. الشكل (1) يوضح صورة فوتغرافية لمنظومة نفاث البلازما في حالة المستخدمة في معالجة الاغشية.

2 - مصدر عزلات خميرة *Candida albicans* :

تم الحصول على عزلتين لهذه الخميرة معزولتان سريريا ، الاولى عزلة مشخصة من مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات والثانية اخذت من مريضة مصابة بالتهاب المهبل ، زرعت العزلتان على وسط السابروويد دكستروز الصلب (Sabourauds dextrose Agar) عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لملاحظة نموهما عليه ودراسة الصفات الشكلية للمستعمرات النامية لهما مع فحص عدد من المسحات المصبغة لهما و فحص قابليتهما على تكوين الأنبوب الجرثومي (الانباتي) و تكوين الابواغ الكلاميدية والنمو عند درجة حرارة 45م وفقا لما ذكره كلا من [24،23،22 ، 25] وكالاتي :

- **الفحص المجهري**

اجري فحص الشريحة لعزلات خميرة المبيضات وذلك بتحضير شريحة زجاجية من مستعمرات الخمائر النامية على وسط SDA وصبغت بصبغة غرام ثم فحصت بالمجهر الضوئي وسجلت صفاتها من حيث الشكل والحجم والقابلية على الاصطباغ .

- **تكوين الانبوب الجرثومي**

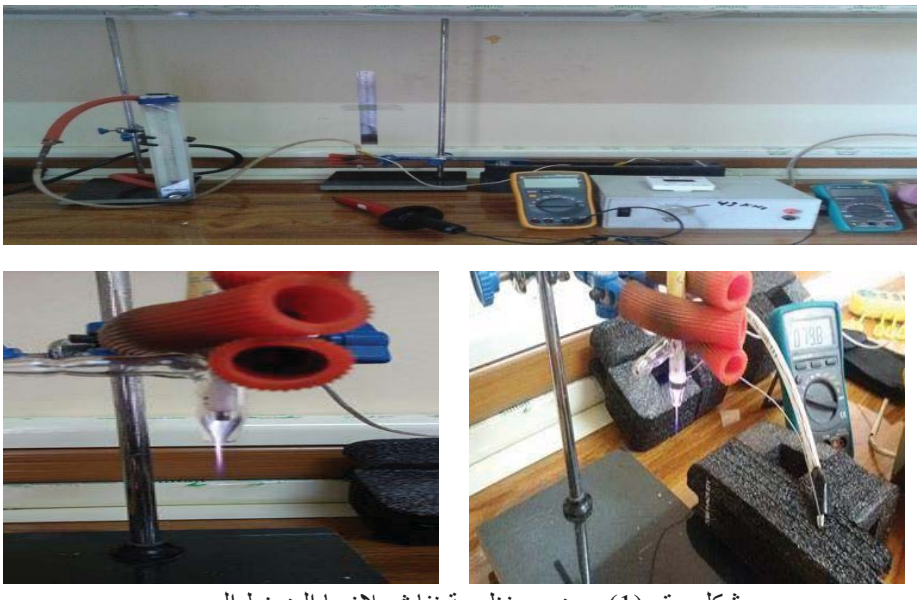
اخذ جزء من مستعمرة الخميرة المراد تشخيصها ومزج مع 0.5 مل من مصل انسان في انبوبة اختبار ثم وضعت في الحاضنة عند درجة حرارة 37مْ لمدة لاتزيد عن 3 ساعات ثم اخذت بعدها قطرة من هذا المحلول ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي لملاحظة تكوين الانبوب الجرثومي او عدم تكوينه .

- **اختبار تكوين الابواغ المتدثرة Chlamydospores Formation Test**

نقل جزء من مستعمرة الخميرة المراد تشخيصها بوساطة الناقل الى وسط اغار طحين الذرة ، حيث زرعت بطريقة التخطيط وذلك بعمل ثلاثة خطوط متوازية يبعد احدهما عن الاخر حوالي نصف سنتيمتر ووضع فوقها غطاء شريحة معقم ثم حضنت الاطباق عند درجة حرارة 30 مْ لمدة (48- 72) ساعة لملاحظة تكوين الابواغ المتدثرة .

2- تحضير اللقاح :

حضر اللقاح لعزلات هذه الخميرة باخذ عدد من المستعمرات النامية لها على وسط SDA بعد مدة حضن 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية و من ثم علقت في المحلول الملحي الفسلجي المعقم (Nacl 0.85%) ثم قورنت كثافة العالق بالمحلول القياسي ماكفرلاند (McFarland standard of 0.5 ~1 x 10^6 خلية / مل بالنسبة لخلايا الخميرة) .



شكل رقم (1) يوضح منظومة نفاث بلازما الضغط الجوي

لاجل معاملة العينات وضعت قطرة من العالق المحضر انفا على سطح طبق الاكار ونشرت على مساحة سنتمتر مربع واحد من سطح الاكار و من ثم عرضت للبلازما لمعاملتها كما هوموضح في الشكل (1) لاوقات زمنية مختلفة تراوحت ما بين (5-30) ثانية ;في المرحلة الاولى بعد تثبيت المسافة ما بين سطح الاكار للعينة والقطب الاعلى للمنظومة عند مسافة 2 ملمتر وفولتية التفريغ عند (8 كيلو فولت) و تردد (22 كيلو هرتز) خلال فترة المعاملة بالبلازما غير الحرارية وعند المرحلة الثانية من التعريض تراوحت الفترة الزمنية للتعريض ما بين (0- 10) دقائق . اما بالنسبة لعينات السيطرة فقد تمثلت في النماذج التي زرعت بالعالق من دون معاملتها بالبلازما غير الحرارية.

الخطوة التي تلت المعاملة تمثلت في حضن العينات المعاملة عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ومن ثم سجلت النتائج من خلال تثبيت عدد مستعمرات الخميرة النامية في كل طبق من الاطباق المعاملة بالبلازما في اوقات زمنية مختلفة من اجل التحقق من كفاءة تثبيط الخميرة باستخدام البلازما غير الحرارية فضلا عن تحديد النسبة المئوية لتكوينها انبوب ا لانبات بعد تعريضها لاوقات مختلفة بجهاز البلازما غير الحرارية كما ذكر سابقا مع فحص عدد من الشرائح الزجاجية لمسحات ا لخميرة المصبغة عند ازمان التعريض المختلفة لدراسة شكلها المظهري و قابلية تصبغها بالصبغة بعد المعاملة .

النتائج والمناقشة

شخصت خميرة *C.albicans* المعزولة مبدئياً من خلال شكل مستعمراتها على الوسط الصلب SDA والتي تميزت بكونها ملساء ، كريمية ومخاطية، في حين تميزت المستعمرات النامية على وسط اكار الذرة الصلب (CMA) بقابليتها على انتاج الخيوط الفطرية الكاذبة (Pseudohyphae) ووجود الابواغ البلاستولية والكلاميدية، وعند معاملتها بصبغة غرام اعطت تفاعلاً موجباً وكانت خلاياها بيضوية الشكل الى متبرعمة (جدول 1) والذي يتفق مع ماورد في عدد من الدراسات (26,25,24).

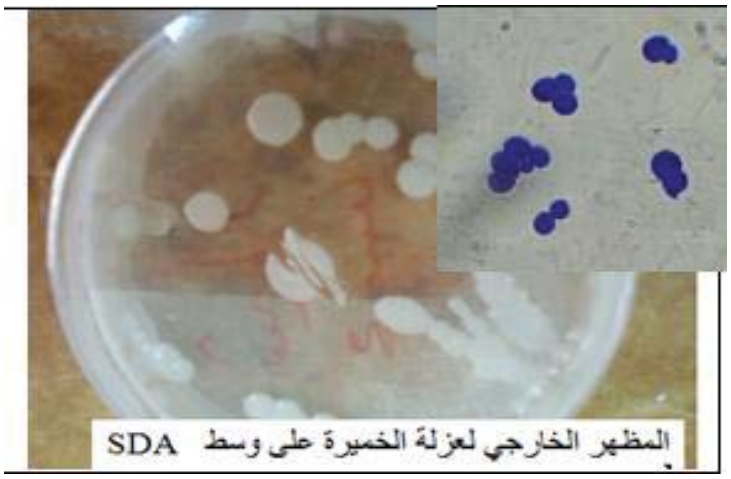
جدول (1): نتائج الاختبارات الزرعية التي اجريت لتشخيص عزلة خميرة *C.albicans* .

الاختبار	النتيجة
صبغة غرام	+
الغزل الفطري الكاذب	+
الابواغ المتدثرة	+
تكوين انبوب الانبات	+
النمو عند درجة حرارة 45 م	+

+ : نتيجة موجبة

كما اجري اختبار تكوين انبوب الانبات والذي اكد عائدية هذه الخميرة الممرضة الى *C.albicans* (جدول 1) وهذا يتفق مع ما اورده (24) .فقد اظهرت عزلة خميرة الـ *Candida* المعزولة نتيجة ايجابية لهذا الاختبار بعد ان لوحظ تكون نمو انبوبي على شكل بروز متطاول من الخلية الناتجة في اثناء الفحص المباشر لنموذج العزلة قيد الاختبار . ويعد انبوب الانبات عاملا من عوامل ضراوة *C.albicans* وعاملاً مهماً للامراضية (29,28,27) . حيث ذكر بعض الباحثين ان هذا التحول من الشكل الخميري الى

الشكل الخيطي يعد من عوامل الضراوة المهمة للخميرة، لان النمو الخيطي يشكل دورا اكثر خطورة في الامراضية(30,28) . اذ يؤدي انبوب الانبات الى تكوين هايفا حقيقية تساعد في التصاق الخميرة بالانسجة واحداث الامراضية. حيث انها تعد كبداية لغزو انسجة المضيف (28,27) . لذا فقد استخدمت نتيجة هذا الفحص لتأكيد التشخيص لهذه العزلات على انها *C.albicans* وبنفس الوقت فقد استخدمت كمؤشر على حيوية وامراضية عزلة الخميرة قيد الدراسة (شكل 2) .

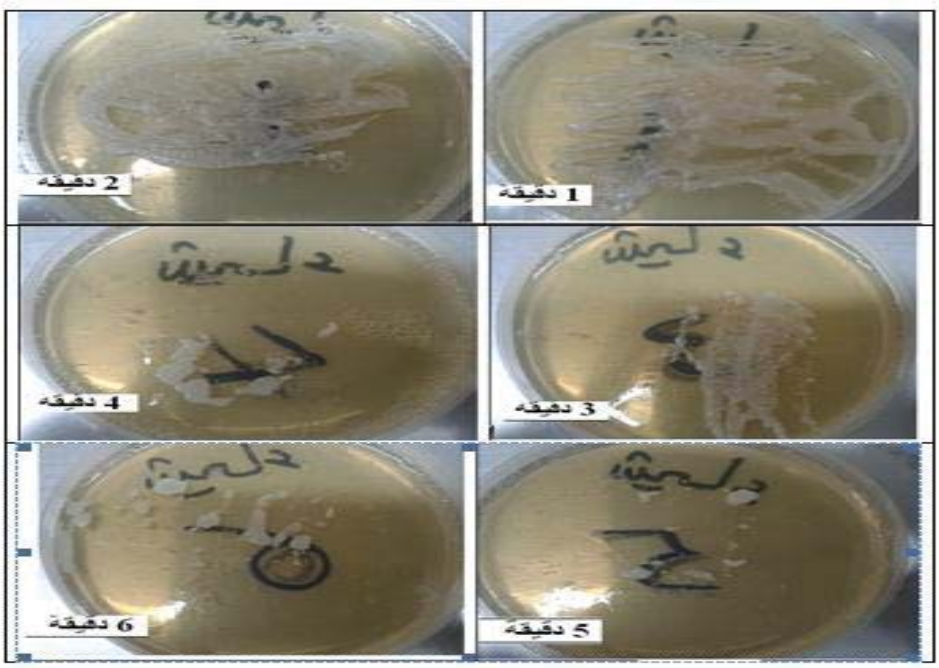


شكل (2): عزلة خميرة *C.albicans* المستخدمة في هذه الدراسة .

وعند تعريض عزلة الخميرة قيدالدراسة لتاثير البلازما الباردة لفترات زمنية مختلفة وعلى مرحلتين (المرحلة الاولى كانت بالثواني امرحلة الثانية فقد كانت بالدقائق) للتحري عن فاعليتها التثبيطية على نموها، دلت النتائج التي تم الحصول عليها عدم تاثر نمو عزلة الخميرة قيد الدراسة عند تعريضها للبلازما الباردة خلال المرحلة الاولى من التعريض والتي كانت مدة التعريض فيها بالثواني عند مقارنة نموها بمعاملة السيطرة في حين لوحظ تناقص في نموها عند زيادة فترة التعريض الى دقائق خلال المرحلة الثانية من المعاملة وصولا الى انعدام النمو كليا عند مدة التعريض البالغة 10 دقائق كما موضح في الجدول 2 والشكلين 3 و4 . والذي يتفق مع ما ذكرته عدد من الدراسات في ان البلازما الباردة تمتلك فعلا تثبيطيا ضد عدد كبير من الاحياء المجهرية كالبكتيريا والخمائر والفطريات على الرغم من ان هذا التاثير يختلف في شدته ما بينهم اذ تكون البكتيريا اكثر حساسية لهذا الفعل التثبيطي للبلازما غير الحرارية من البقية (33,32,31) . والذي يعود لفعل البلازما في التاثير على الاس الهيدروجيني للماء والسوائل داخل وخارج الخلية بجعلها اكثر حامضية والذي سوف يؤثر بالتالي على حيوية وفاعلية ونمو الخلية المايكروبية (35,34) عبر تاثيره في فاعلية عدد من الانزيمات الخلوية وتاين بعض الجزيئات الخلوية وعبورها عبر الغشاء البلازمي للخلية المكروبية فضلا عن تاثيره في ذوبانية بعض الغازات (36).

جدول (2): الفعل التثبيطي للبلازما الاركون غير الحرارية ضد نمو عزلة خميرة*C.albicans* عند المرحلة الاولى والثانية من المعاملة

المرحلة الاولى			المرحلة الثانية	
مدة التعرض (ثانية)	نمو عزلة الخميرة		مدة التعرض (دقيقة)	نمو عزلة الخميرة
السيطرة	+++		السيطرة	+++
5 ثواني	+++		1 دقيقة	++
10 ثواني	+++		2 دقيقة	++
15ثانية	+++		3 دقيقة	++
20 ثانية	+++		4 دقيقة	+
25ثانية	+++		5 دقيقة	+
30 ثانية	+++		6 دقيقة	+
			7 دقيقة	few
			8 دقيقة	few
			9 دقيقة	Very few
			10 دقيقة	-



وعند التحقق من كفاءة تثبيط الخميرة باستخدام البلازما غير الحرارية تم تحديد النسبة المئوية لتكوينها انبوب ا لانبات بعد تعريضها لجهاز البلازما غير الحرارية وقورنت النتائج مع معاملة السيطرة كما موضح في جدول 3 حيث ان زيادة وقت التعريض للبلازما غير الحرارية زاد من النسبة المئوية لتثبيط انبوب الانبات لعزلة خميرة*C.albicans* من 59% عند وقت التعريض لمدة 6 دقائق وصولا الى 96% عند وقت التعريض لمدة 9 دقائق مقارنة بمعاملة السيطرة ، والذي يتفق مع ما وجده كلا من (38,37) من ان للبلازما غير الحرارية فعلا تثبيطيا لنمو خميرة *C.albicans* نتج بفعل تاثيرها في خلية الخميرة نفسها مما اثر على التراكيب الخلوية المتواجدة فيها مثا البروتينات الخلوية والاحماض النووية وحتى انتاجها للطاقة وبالتالي فان نسبة تكوينها لانبوب الانبات لابد لها ان تتاثر بفعلها التثبيطي هذا .

جدول (3): اثر الفعل التثبيطي للبلازما غير الحرارية ضد تكوين انبوب الانبات(%) لعزلة خميرة*C.albicans* المعرضة لفترات زمنية مختلفة.

وقت تعريض العينة	الفاعلية التثبيطية لتكوين انبوب الانبات (%)
غير معرضة (السيطرة)	0
6 دقائق	59
7 دقائق	64
8 دقائق	86
9 دقائق	96

كما فحصت عدد من الشرائح الزجاجية لمسحات ا لخميرة المصبغة بعد تعريضها لجهاز البلازما غير الحرارية لدراسة شكلها المظهري و قابلية تصبغها بالصبغة بعد المعاملة وايضا وقورنت النتائج مع معاملة السيطرة حيث دلت النتائج على عدم تاثر الشكل المظهري لخلايا الخميرة وتقبلها للتصبيغ بعد تعريضها لجهاز البلازما غير الحرارية لفترات زمنية مختلفة (6-9) دقائق مقارنة بعينة السيطرة . وهذا ما وجده (39) عند فحصه لمسحات مصبغة لخميرة نامية في وسط YPD بعد تعريضها لجهاز البلازما غير الحرارية .

المصادر :

1. M.Laroussi,Plasma processes polym. 2, 391 (2005).
2. X.Lu,T. Ye, Y. Cao, Sun, Q. Xiong, Z. Xiong, J. Hu, Z. Jiang. And Y.Pan, J, APPL, PHYS. 104, 053309 (2008).
3. A. Shashurin,M, N, Shneider. A, DOGARIU, R. B. Miles, and M. KEIDAR, APPL. Phys. Left. 94, 231504(2009)
4. Levchenko, K. Ostrikov, j. khachanl, and s. v. vladimirov, phys, plasmas 15, 103501 (2008).
5. U, Cvelbar, vujosevic, Z. Vratnica, and M, Mozetic, J, Phys, D 39, 3487(2006).
6. P, Bruggeman and C, Leys, J, Phys. D 42, 053001(2009).
7. M.Laroussi and X, Lu, APPL, Phys, left, 87, 113902(2005).
8. J, L, Walsh and M, G, Kong, APPL, PHYS,LEFT, 93, 111501 (2008).
9. G. Fridman, A, Brooks, M, Balasubramanian, A. Fridman, A, Gutsol, V.Vasilets, H, Ayan, and G, Fridman, PLASMAS processes polym. 4, 370 (2007).
10. D, Mariotti, APPL, Phys. Left.er, J, 92 151505 (2008).
11. Z. Machala, E. Marode, C, O, Laux, and C. H. Kruger, J, Adv, Oxid, Technol, 7, 133 (2004).
12. E.Stoffels, I. Kieft, R, Sladek, L,van den Bedem, E, van der Laan, and M, Steinbuch, plasmas soures sci, technol. 15, S 169(2006).
13. M, Keidar and I. Beilis, APPL, PHYS, LEFT, 94, 191501(2009).
14. N, Mericam – Bourdet, M, Laroussi, A, B,egum, and E, Karakas, J, PHYS,D 42, 055207(2009).
15. G, C, KIM, G, J, KIM, S, R, PARK, S, M, JEON, H, J, SEO, F, IZA, and J, K, Lee, J, PHYS, D 42, 032005 (2009).
16. Hoffmann,C.; Berganza,C. and John Zhang, J.(2013) Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. Medical Gas Research, 3:21 .
17. M.I.Boulos. "New frontiers in thermal plasma processing ".Pure Appl. Chem, 68:1007-1010, 1996.

18. Doughari , J.H. and Naya , P. (2008) . *In vitro* antifungal activity of determium microcarpum . Pak .J .Med . Sci ., 24(1) : 91-95 .
19. Mavar , A . ; Thewes , S . and Hube, B . (2005) . systemic fungal infections caused by *Candida* species : epidemiology , infection process and virulence attributes . Curr. Drug . Targets , 6:863-874.
20. kuleta , J.K. ;Kozik ,M.R. and Kozik , A . (2009). Fungi Pathogenic to humans : molecular bases of virulence of *Candida albicans* , *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus Fumigatus* . Acta Biochimica Polonica, 56(2) : 211-224
21. Lamb, D.C.; Kelly, D.E.; Baldwin ,B.C. and Kelly ,S (2000).Differential inhibition of Human CYP3A4 and *Candida albicans* CYP51 with azole antifungal agents .Chemico-Biol. Interact.,25:165-175
22. Stukus, P. E. (1997) Investigation Microbiology : A laboratory manual for general microbiology. Saunders College Publishing , Orlando.
23. Shadomy,S.;Ingroff, E. and Cartwright ,R.Y. (1985). Laboratory Studies with antifungal agenst : Suseptibility test and bioassays. In:Manual of clinical microbiology(ed.E. H. Lennette; A. Balows; W. J. Jawsler and H. J. Shadomy). 4th ed. , American Society for Microbiology.
24. Evans , E .G .v. & Richardson , M. D. (1989) .Medical Mycology apractical approach . practical Approach series . Oxford , England .
25. Gales ,A.C.; Pfaller, M.A.; Houston ,A.K.; Joly, S.; Sullivan, D.J. Coleman, D.C. and Soll, D.R. (1999)Identification of Candida dubliniensis based on temperature and utilization of xylose and alpha-methyl-D-glucoside as determined with the API 20C AUX and vitek YBC systems. J Clin Microbiol., 37(12):3804-8.
26. Kwon – chung , K. G. & Bennett , J. E. (1992) Dermatophytosis In : Medical Mycology . Lea & Fabiger , Philadelphia .
27. Bennett , J. E. ; Hay , R. J. & Peterson , P. K. (1992) Frontiers of infectious Diseases – New strategies in Fungal Disease . Butler & Tanner Ltd ., Britain.
28. Molero,G.;Orejas,R.D.;Garcia,F.N.;Monteoliva,L.;Pla,J.;Gil,C.; Perez,M.;Nombela,C.(1998)*Candida albicans* :genetics,dimorphism and pathogenicity.Internat. L. Microbiol., 1:95- 106.
29. Wagner , D. & Sohnle , P. G. (1995) Cutaneous Defenses against Dermatophytes & Yeasts . Clinical Microbiology Reviews , 8 : 317 – 335 .

30. Marot-Leblond, A. ; Grimand , L. ; Nail, S.; Bouterige , S. ; Apaire – Marchais , V. ; Sullivan , D.J. & Robert , R. (2000) New monoclonal antibody specific for *Candida albicans* germ tube. J. Clin. Microbial. , 38:61 – 67.
31. Xiong, Z.; Lu ,X.P.; Feng, A.; Pan, Y. and Ostrikov, K. (2010) Highly effective fungal inactivation in He+ O_2 atmospheric-pressure nonequilibrium plasmas. Phys Plasmas, 17: 123502.
32. Park, J.C.; Park, B.J.; Han, D.W.; Lee, D. and Lee, I.S. (2004) Fungal sterilization using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. J Microbiol Biotechnol, 14: 188–192.
33. Avramidis, G.; Stuwe, B.; Wascher, R.; Bellmann, M. and Wieneke, S. (2010) Fungicidal effects of an atmospheric pressure gas discharge and degradation mechanisms. Surf Coat Technol, 205: S405–S408.
34. Korachi ,M. and Aslan, N. (2011) The effect of atmospheric pressure plasma corona discharge on pH, lipid content and DNA of bacterial cells. Plasma Sci Technol, 13: 99–105.
35. Park, G.; Ryu, Y.H.; Hong, Y.J.; Choi, E.H. and Uhm, H.S. (2012) Cellular and molecular responses of *Neurospora crassa* to non-thermal plasma at atmospheric pressure. Appl Phys Lett ,100: 063703.
36. Baik ,K.Y.; Kim, Y.H.; Ryu, Y.H.; Kwon, H.S.and Park, G. (2013) Feeding-Gas Effects of Plasma Jets on *Escherichia coli* in Physiological Solutions. Plasma Process Polym ,10: 235–242.
37. Erik Kvam, E.; Davis, B.; Mondello,F. and Garner,A.(2012)Nonthermal Atmospheric Plasma Rapidly Disinfects Multidrug-Resistant Microbes by Inducing Cell Surface Damage. Antimicrob. Agents Chemother. , 56 (4): 2028-2036.
38. Koban, I.; Matthes, R.; Hübner, N. and Welk , A . (2010). Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. New J. Phys. ,12:073039.
39. Hyo Ryu,Y.;Hee Kim, Y.;Young Lee,J.; Bo Shim, G.;Sup Uhm, H.; Park, G. and Ha Choi ,E.(2013) Effects of Background Fluid on the Efficiency of Inactivating Yeast with Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma. PLoS ONE, 8(6): e66231.