Isolation And Identification Of *Candida spp.* from *Gingivitis* and Dental Caries and Study their ability to produce Biofilm

عزل وتشخيص خمائر المبيضات *Candida spp.* من حالات التهاب اللثة وتسوس الاسنان والكشف عن قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي

م . ميساء تقي عبد الحسن الخزعلي
كلية العلوم / جامعة كربلاء

الخلاصة

تم جمع 120 مسحة فم من مرضى مصابين بالتهاب اللثة وتسوس الأسنان وكانوا من المراجعين للمركز التخصصي لطب الأسنان في محا فظة كربلاء .فحصت العينات مختبريا بوساطةة الفحص ألمجهري المباشر والزرع على وسط السابروید دكستروز أكارلتأكيد وجود الخميرة وللتعرف على أنواع المبيضات *Candida* spp المسؤولة عنها .اظهرالفحص ألمختبري نتائج ايجابية لوجود الخميرة لدى 102عينة اي بنسبة 85% واظهرت الفحوصات الفسيولوجية والكيموحيويةعن تشخيص أربعة أنواع من هذه الخمائر وتبين إن خميرة المبيضات البيضاء *Candida albicanis* كانت ألأكثر تكراراً بنسبة 54.9%وتلتها خميرة *C. kefyr* بنسبة 25.5% و *C.glabrata* بنسبة13.7% ثم *C.krusei* بنسبة 5.9% وبينت نتائج الأختبارات الكيموحيوية والفسيولوجية إن عزلات *C . albicanis* هي الوحيدة التي لها القابلية على تكوين أنبوب الإنبات في المصل والأبواغ الكلاميدية عند تنميتها على وسط آكار طحين الذرة مقارنة بالأنواع الباقية،في حين تمكنت خميرة *C.krusei* من تكوين النمو السطحي على وسط السابروید السائل مقارنة ببقية الأنواع التي لم تتمكن من تكوين هذا النمو. لم تسجل في الدراسة الحالية أي علاقة معنوية بين الاصابة بانواع الخمائر المعزولة وجنس المرضى اذ بلغت نسبة الاصابة لدى الذكور 38.2% والاناث 61.8% وكذلك بالنسبة لاعمار المصابين فلم تسجل اي فروقات معنوية في نسب حدوث الاصابة بين الفئات العمرية المختلفة ولم يكن لاستخدام المضادات الحيوية وداء السكر والتدخين والحمل ونزف اللثة اي تاثير على نسب الاصابة بالانواع المختلفة . في حين وجد ان 62 عزلة (60.8%) لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي وكانت غالبية العزلات تنتمي للنوع *C. albicanis* بنسبة 48.4% وكانت 24عزلة منها ضعيفة الى متوسطة الالتصاق بينما 6 عزلات فقط اظهرت قدرة عالية ، في حين اظهرت باقي الانواع قدرة اقل معنويا لتكوين الغشاء الحيوي اذبلغت نسبها 30.6% *C. kefyr* و 14.5% *C.glabrata* و6.5% *C.krusei* وكانت غالبية عزلاتهم ضعيفة الالتصاق .

الكلمات المفتاحية : المبيضات ، الغشاء الحيوي ، انبوب الا نبات .

Abstract

Atotal of 120 mouth swabs were collected from patients infected with gingivitis and dental caries whom attending to specialist center of dental care in Karbala city . this samples were examined laboratory by direct microscope and culture on sabouraud Dextrose Agar fore identified the presence of yeast in study samples .

The laboratory examination of study samples were appeared positive result in 102 samples(%85) and by physiological and biochemical tests were appeared that *Candida albicans* (%54.9) were the predominant type followed by *C.kefyr*(% 25.5), *C.glabrata* (%13.7) and *C.krusei* (5.9%). The product of biochemical and physiological test appear *C.albicans* was alone produced of germ tube in serum and chlamydospores on corn meal agar medium and *C.krusei* were produse surface growth on the surface of sabouraud broth.

Concerning sex and age of patients , ther is no significant differentiated between male 38.2% and female 61.8% in different age group, and there was no significant difference concerning the residence of the patient such as diabetes, uses antibiotic, smoking ,bregnant, and anemia.

Concerning biofilm production , out of 62(60.8%) isolates of *Candida* spp. Were positivity and the biofilm production was observed more with *C . albicans* 48.4% (24 isolates were show weak to moderate positive biofilm but 6 isolates only were appear strong positive) compared to other *Candida* spp. %30.6for *C. kefyr* , %14.5for *C.glabrat*a and %6.5 for *C.krusei* .

Key words : *Candida* , Biofilm , Germ tube .

المقدمة

يستوطن فم الإنسان منذ الولادة أنواع وأعداد كثيرة من الميكروبات المفيدة والضارة لصحة الإنسان على حدً سواء وتساهم عوامل متعددة في بيئة الفم على تكاثر وتنوع هذه الميكروبات ومنها بالأخص انتظام الأسنان الطبيعية ونظافة وصيانة أطقم الأسنان الاصطناعية ومقدار سلامة وحيوية أنسجة اللثة والأربطة حول السن فضلاً عن عامل هام يتعلق بنوعية الأغذية [1]، وتعد خميرة المبيضات *Candida* واحدة من هذه الميكروبات التي تعيش بصورة طبيعية في الفم فضلاً عن تواجدها في الجهاز الهضمي والتناسلي الأنثوي والتنفسي والجلد وتصبح ممرضة تحت ظروف صحية خاصة لاسيما عند الأطفال الصغار والأشخاص المسنين وفي مراحل الحمل وعند الإصابة بداء السكري ونقص الفيتامينات والإسهال والمعالجة الطويلة بالمضادات الحياتية والإيدز وفقر الدم وتصيب عادةً الأغشية المخاطية الفموية والتناسلية [2]. يضم جنس المبيضات حوالي 200 نوعاً وتكون بشكل خلايا بيضوية تتكاثر لا جنسياً بالتبرعم وتعتبر خميرة المبيضات البيضاء *C . albicans* من أكثر الأنواع شيوعاً إذ تبلغ نسبة الأمراض التي تسببها 50-60% [4] وتليها *C.glabrata* و *C.tropicalis* [3] وتمتلك كافة هذه الأنواع عوامل ضراوة تساعدها على إحداث الأمراض مثل قدرتها على تكوين أنبوب الإنبات Germ tube وإنتاج الأنزيمات الحالة والسموم والقدرة على التحول الى الشكل الخيطي [4] فضلاً عن قدرتها على تشكيل الغشاء الحيوي Biofilm [5] ، والذي يتكون من مواد بوليمرية خارج خلوية ويتشكل نتيجة التصاق الميكروبات على السطح الموجودة فيه وتمر مراحل تطور الغشاء الحيوي النموذجية في الفطريات بمرحلتين الاولى تشمل الالتصاق على سطح الخلية والثانية نمو الغشاء ونضوجه وهذه المرحلة تمر بثلاثة اطوار واضحة وهي الطور الابتدائي ويستغرق 0-11 ساعة والطور المتوسط 12- 30 -ساعة وطور النضوج ويستغرق 38-72 ساعة ويتالف طورالنضوج الذي تكونه خميرة *C . albicans* من شبكة كثيفة من الخمائر والخيوط الفطرية الحقيقية والكاذبة [6] . واشار [7] الى ان عزلات المبيضات التي تمتلك قدرة عالية على تكوين الغشاء الحيوي تكون اكثر ضراوة من العزلات الباقية واكثر مقاومة للمضادات الحيوية الفطرية ،لانه يوفر لها الحماية من الظروف البيئية وايضا يوفر التغذية ويعزز الايض المشترك ويعمل على توفير توليفات وراثية جديدة [8] ونظرا لأهمية هذه الفطريات جاءت الدراسة الحالية لتهدف إلى :

1-عزل وتشخيص أنواع خمائر المبيضات من حالات التهابات اللثة وتسوس الأسنان .
2- التحري عن نسب حدوث الإصابة بالتهاب اللثة وتسوس الأسنان بخمائر المبيضات في الأجناس والأعمار المختلفة .
3- دراسة تأثير بعض العوامل مثل الإصابة بداء السكر،فقر الدم، التدخين ،الحمل، نزف اللثة وتناول المضادات الحياتية على حدوث الإصابة بأنواع المبيضات المعزولة.
4 – دراسة قابلية الانواع المعزولة على تكوين الغشاء الحيوي .

طرائق العمل

1 - جمع العينات

جمعت 120 عينة باستخدام مسحات قطنية معقمة من عدة أشخاص مصابين بألتهاب اللثة وتسوس الأسنان ومن مناطق التكلس وكانوا من المراجعين إلى المركز التخصصي لطب الأسنان في محافظة كربلاء وذلك للمدة بين 2015/12/9 ولغاية 2016/5/9 وتم جمع العينات بمساعدة طبيب الأسنان المختص ثم جمعت من كل مريض بيانات ضمنت في استمارة خاصة تضمنت العمر، الجنس، الحالة العامة مثل التدخين،الحمل، استخدام المضادات الحياتية ،الإصابة بالسكر ،فقر الدم ووجود نزف باللثة ثم نقلت العينات إلى المختبر.

2- الفحص ألمجهري المباشر للعينات

تم فحص العينات مباشرة وذلك بوضع المسحة في محلول فسلجي ورجها جيداً ثم أخذت قطرة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ووضع عليها غطاء شريحة وفحصت بالمجهر الضوئي لملاحظة خلايا الخمائر[9] .

3 - زرع العينات

زرعت العينات مباشرة بعد نقلها إلى المختبر على وسط السابروید دكستروز آكار المضاف اليها الكلورامفنيكول وحضنت جميع الأطباق تحت درجة 37مْ لمدة 24-48 ساعة [9].

4 - تشخيص عزلات الخمائر

بعد ظهور النمو على وسط السابروید دكستروز آكار شخصت العزلات مبدئياً بحسب ما ذكره [10] اعتمادا على المظهر الخارجي للمستعمرات المتمثل بالحجم واللون وباجراء بعض الأختبارات الكيموحيوية والفسلجية الخاصة للتمييز بين أنواع المبيضات المعزولة وهذه الاختبارات شملت الاتي :

-أختبار تكوين أنبوب الإنبات

اجري هذا الاختبار وفقاً لما ذكره [10] بوضع 1مل من مصل دم الإنسان في أنابيب اختبار معقمة وتلقيحها بجزء من مستعمرة الخميرة ثم تحضن بدرجة 37مْ ولمدة ثلاث ساعات ثم تفحص بأخذ قطرة من العالق ووضعها على شريحة زجاجية وتغطيتها بغطاء الشريحة وفحصها مجهرياً لملاحظة تكوين أنبوب الإنبات.

-اختبار تكوين الأبواغ الكلاميدية

أستخدم لهذا الغرض وسط آكار طحين الذرة حيث تم زراعة الخميرة بعمل ثلاثة شقوق متوازية داخل الوسط الزرعي ووضع عليها غطاء شريحة ثم حضنت الأطباق بدرجة 28مْ لمدة (24-48) ساعة وبعدها فحصت برفع غطاء الشريحة ووضعها على شريحة نظيفة تحتوي قطرة من صبغة اللاكتوفينول وفحصت مجهرياً لملاحظة قدرة الخميرة على تكوين الابواغ الكلاميدية والخيوط الفطرية الكاذبة [11].

- أختبار تكوين النمو السطحي

اجري الاختبار بتلقيح أنابيب اختبار نظيفة حاوية على وسط الكلوكوز السائل بقطرة من عالق التلقيح المحضر بنقل جزء من مستعمرة الخميرة بعمر (24-48) ساعة إلى أنبوبة أختبار حاوية على المحلول الملحي الفسلجي ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة 28مْ لمدة (48-72) ساعة ثم فحصت لملاحظة تكوين النمو السطحي الذي يكون بشكل حلقة دائرية غشائية على سطح الوسط السائل [9].

-أختبار تخمر السكريات

أتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [9] باستخدام وسط التخمر المضاف إليه كاشف الفينول الأحمر وبتوزيع الوسط في أنابيب اختبار ويضاف لكل منها باستخدام ماصة دقيقة (0.25) مل من محلول السكر 2% (كلوكوز، لاكتوز، سكروز، كلاكتوز) ثم تلقح كل أنبوبة بقطرة من عالق التلقيح وتغطى بشمع البارافين مباشرةً لمنع وصول الهواء ولتوفير ظروف لا هوائية للتخمر وحضنت الأنابيب بدرجة 28م ولمدة 48-72 ساعة ثم فحصت الأنابيب لملاحظة وتسجيل أي تغير يحدث في لون الوسط إذ إن تغير اللون من الأحمر إلى الأصفر يعد دليل على قابلية الفطر على تخمير السكر.

-اختبار تمثيل السكريات

اجري هذا الاختبار باتباع الخطوات المذكورة من قبل [12] وذلك بتحضير اقراص صغيرة بقطر 5 ملم من اوراق ترشيح واتمان وتعقيمها بالموصدة ثم يضاف اليها كمية من محلول السكر (كلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز ، سكروز ، رافينوز) تركيزه 5% ثم تترك الاقراص في الحاضنة بدرجة 37 مْ لكي تجف ثم توضع على سطح الوسط الخاص بتمثيل السكريات المضاف اليه كاشف البروموكريسول الارجواني 1.6% وا لمغطى بعالق الخميرة المحضر بنقل جزء من مستعمرة الخميرة الى انبوبة اختبار حاوية على المحلول الملحي الفسلجي . تحضن الاطباق بدرجة حرارة 28 مْ ولمدة 24-72 ساعة ثم تفحص لملاحظة نمو الخمائر حول القرص وتغير لون الوسط الى البنفسجي – الارجواني والذي يعد دليلا على قابلية الفطر على تمثيل السكر المختبر .

- اختبار تكوين الغشاء الحيوي

اتبعت طريقة الانبوبة الموصوفة من قبل [13] اذ تم تلقيح وسط السابروبد السائل المزود ب 8% كلوكوز بمستعمرة الخميرةالمنماة على وسط اكار السابويد وحضنت الانابيب لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 مْ ثم سكب المحتوى الزرعي وغسلت الانابيب بالمحلول الملحي الفسلجي وتركت لتجف بعدها صبغت الانابيب بصبغة السفرانين (2%) لمدة 10 دقائق ومن ثم ازيلت الصبغة بغسل الانابيب بالماء المقطر وتركت الانابيب بالشكل المقلوب لتجف . النتيجة الموجبة لتكوين الغشاء الحيوي تحدد من خلال ظهور الصبغة على جدار وقعر الانبوبة وتكون قراءة النتائج على النحو الاتي 1+ نمو ضعيف 2+ وسط 3+ قوي [5] .

5- إدامة العزلات

تم حفظ العزلات بشكل مؤقت على مائل وسط السابروبد دكستروز آكارالمائل ثم حضنت بدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4 مْ ويتم تجديدها كل أسبوعين [9].

6 - التحليل الإحصائي

حللت البيانات التي جمعت في الدراسة الحالية باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSD للمقارنة بين المتغيرات المدروسة وذلك عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) [14] .

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج الخاصة بالدراسة وخصوصا قيما يتعلق بالفحص ألمجهري وجود خميرة المبيضات لدى102 عينة أي بنسبة 85% وكما مبينة في جدول (1) . وهذه النسبة تقارب ما سجله [15] إذ سجل 86.1% في العراق ومن جانب آخر فقد كانت النسبة الحالية أقل مما سجله [16] في إيران حيث بلغت النسبة المسجلة في دراسته 93% وأعلى مما سجله [17] إذ بلغت النسبة 43% هذا التباين في النتائج يعود الى حجم العينة المفحوصة والى أن المبيضات من الفطريات الانتهازية التي تصيب الإنسان بالأمراض عند توفر ظروف فسيولوجية وحيوية منها أمراض نقص المناعة والسرطانات الخبيثة والمعالجة بأدوية ستيرويدية قشرية وبعض المضادات ذات الطيف الواسع وفي حالات مرضى السكر وغرس الأعضاء الحيوية وأثناء فترة الحمل [18].

جدول (1) : نتائج الفحص المجهري المباشروالزرعي للعينات المشمولة في الدراسة.

العينات	العدد	%
الموجبة بالفحص المجهري	102	85
السالبة بالفحص المجهري	18	15
المجموع	120	100

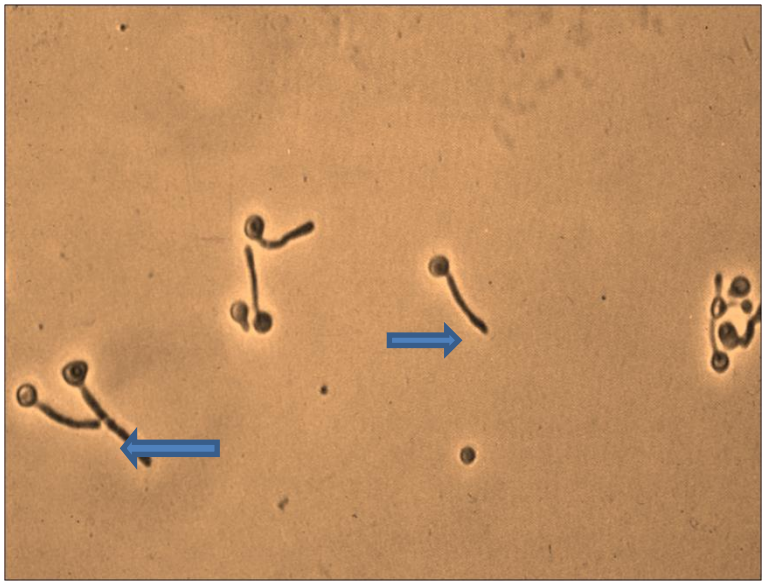
كشفت نتائج زرع العينات على وسط السابرويد دكستروز أكار ظهور مستعمرات بعد فترة حضانة 48-72 ساعة حيث بلغ معدل أقطارها 1.5 ملم و كانت قرصية الشكل بيضاء اللون و ذات سطح أملس مرتفعة و أما من جهة القاعدة فقد كانت كريمية اللون و جميع العزلات تميزت مجهرياً بظهور خلايا شبه كروية متبرعمة. و لغرض التعرف على أنواع المبيضات المعزولة أجريت فحوصات كيموحيوية وفسيولوجيا لخصت في جدول(2) .

جدول (2):نتائج الاختبارات الكيموحيوية و الفسيولوجية الخاصة للتميز بين أنوع المبيضا ت المعزولة خلال الدراسة .

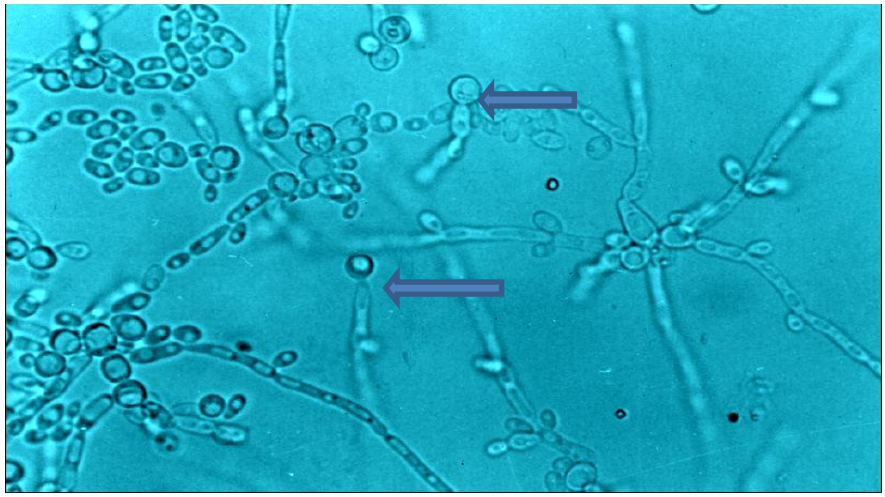
نوع الأختبارات	أنواع المبيضات المعزولة			
	C.albicans	*C.kefyr*	*C.glabrata*	*C.krusei*
تكوين أنبوب الأنبات	+	–	–	–
تكوين الأبواغ الكلاميدية	+	–	–	–
تكوين الخيوط الفطرية الكاذبة	+	+	–	+
تكوين النمو السطحي	–	–	–	+
تخمر السكريات كلوكوز سكروز لاكتوز كلاكتوز	 + – – +	 + + + +	 + – – –	 + – – –
تمثيل السكريات كلوكوز سكروز مالتوز لاكتوز رافينوز	 + + + – –	 + + – + +	 + – – – –	 + – – – –

+: جميع العزلات أعطت نتيجة موجبة للأختبار.
- : جميع العزلات أعطت نتيجة سالبة للأختبار .

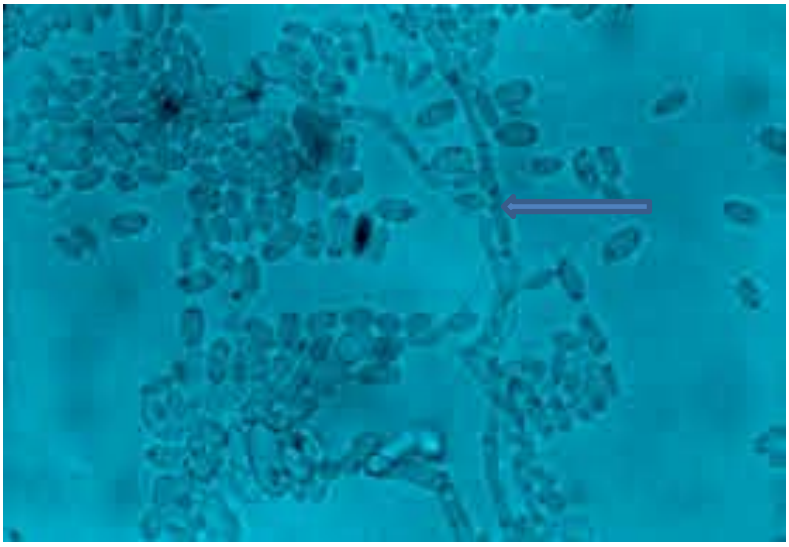
من خلال الجدول أعلاه تبين أن خميرة *C.albicans* هي الوحيدة التي لها القابلية على تكوين أنبوب الإنبات والابواغ الكلاميدية (شكل 1و2) مقارنة ببقية الأنواع وبخصوص تكوين الخيوط الفطرية الكاذبة فقد تبين إن *C.albicans* و*C.kefyr* و*C.krusei* تكون هذه الخيوط على وسط آكار طحين الذرة المضاف اليه Tween 80(شكل 2 و 3 و 4) في حين أن خميرة *C.krusei* تمكنت من تكوين نمو سطحي على وسط السابرويد السائل (شكل , 5) مقارنة بالأنواع الأخرى التي لم تتمكن من تكوين هذا النمو .وفيما يخص اختبار تخمر السكريات أظهرت النتائج أن جميع أنواع الخمائر المعزولة لها القابلية على تخمير سكر الكلوكوز بينما تمكنت *C.kefyr* من تخميرسكري السكروز واللاكتوز مقارنة بالأنواع الباقية التي أعطت نتيجة سالبة وفي ما يخص تخمر سكر الكالاكتوز تمكنت خمائر *C.albicans* و*C.kefyr* من تخميره مقارنة بالأنواع الباقية في حين اظهرت نتائج اختبار تمثيل السكريات ان جميع العزلات التابعة للنوع *C.albicans* قد مثلت الكلوكوز والمالتوز والسكروز اما العزلات التابعة للنوع *C.kefyer* فقد مثلت جميع السكريات المختبرة باستثناء المالتوز اما النوعين *C. glabrata* و*C. krusei* فان جميع العزلات مثلت الكلوكوز ولم تمثل بقية السكريات .وجاءت نتائج الفحص المجهري المباشر والزرع والأختبارات الكيميائية مطابقة لما ذكره [9] و[10],



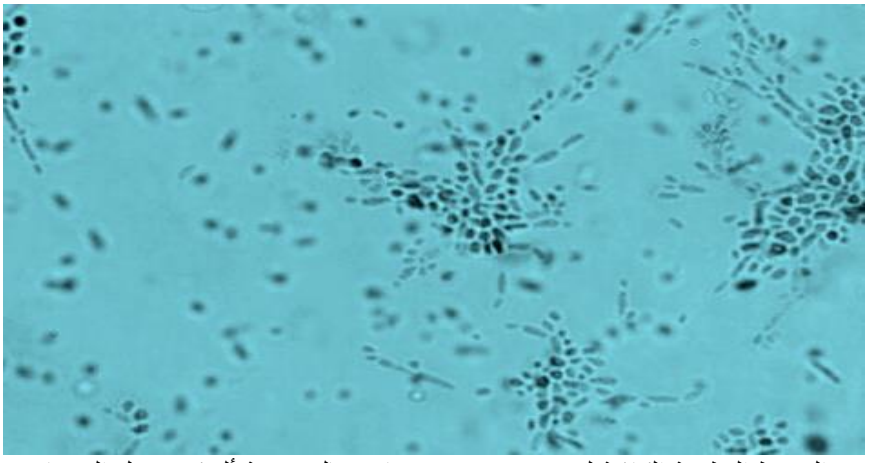
شكل(1): أنبوب الإنبات الذي أنتجته خميرة *C.albicans* في مصل الدم خلال ثلاث ساعات بدرجة 37 مْ (X40).



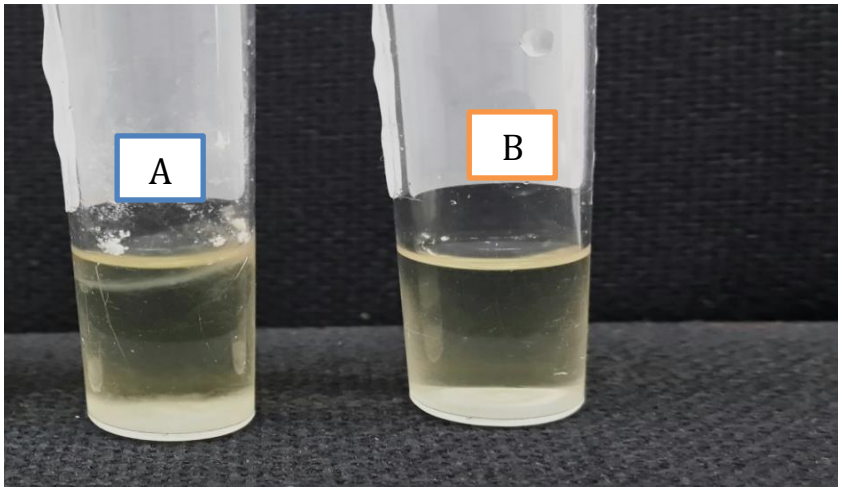
شكل(2): الأبواغ الكلاميدية والخيوط الفطرية الكاذبة لخميرة *C.albicans* باستعمال صبغة اللاكتوفينول الزرقاء(X40) .



شكل(3): الخيوط الفطرية الكاذبة لخميرة *C.kefyr* باستعمال صبغة أللاكتوفينول الزرقاء (X40) .

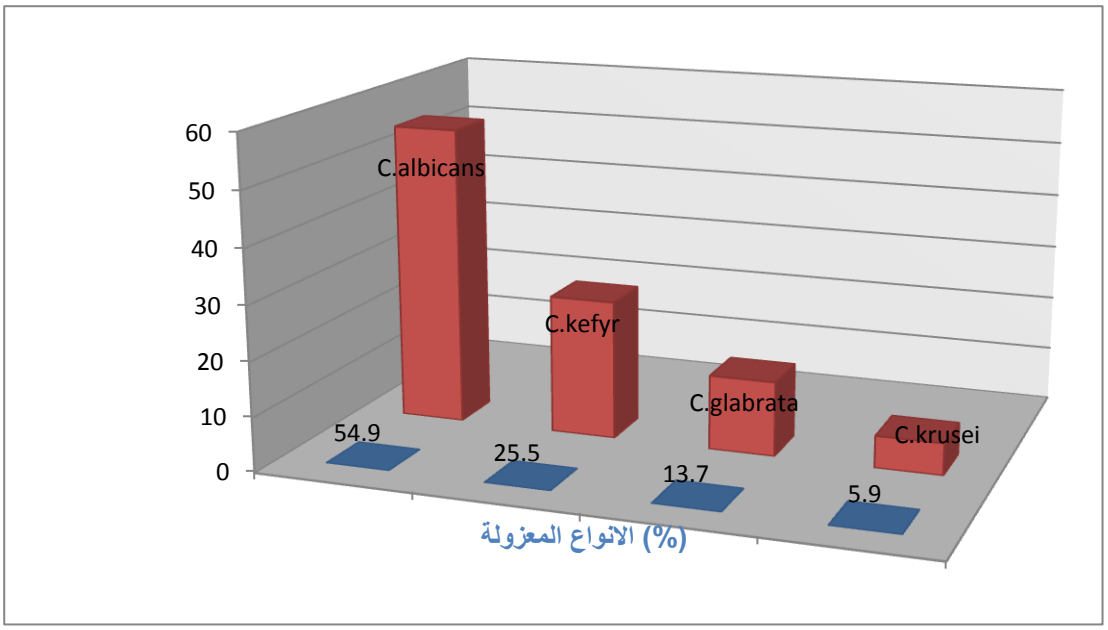


شكل(4): الخيوط الفطرية الكاذبة لخميرة *C.krusei* باستعمال صبغة أللاكتوفينول الزرقاء (X40) .



شكل(5): تكوين النمو السطحي على وسط السابرويد السائل خلال فترة حضانة 48 ساعة وبدرجة حرارة 28 مْ .
A – نتيجة موجبة لخميرة *C. krusei* .
B – نتيجة سالبة من قبل خميرة *C.albicans* .

كشفت نتائج الفحوصات الكيموحيوية والفسيولوجية عن تشخيص أربعة أنواع من خمائرالمبيضات وكما موضحة في الشكل(6).



شكل (6): النسب المئوية لأنواع المبيضات المعزولة خلال الدراسة.

ومنه تبين أن النوع *C.albicans* كان من أكثر ألانواع المعزولة شيوعاً إذ بلغت نسبتها 54.9% وتليها خميرة *C.kefyr* بنسبة 25.5 % و *C.glabrata* بنسبة 13.7% و *C.krusei* بنسبة 5.9%. وهذه النتيجة تتفق مع [16]الذي عزل خمسة انواع من هذه الخميرة وكان النوع *C.albicans* ايضا الاكثر تكرارا وبنسبة *75%* وتلته بقية الانواع و[17]إذ عزل ثلاث أنواع من *Candida* جاء في مقدمتها *C.albicans* (70%) وتلتها الأنوا ع الآتية *C.glabrata* بنسبة 16.6 % وتليها *C.krusei* بنسبة 6.7% . ان احد احد اسباب زيادة نسبة الاصابة بالنوع *C.albicans* يعود لكونها من اغلب انواع الميكروبات الطبيعية المعزولة من الفم كما انها تمتلك القدرة على تكوين انبوب الانبات والالتصاق وافراز الانزيمات الحالة [7].

بخصوص علاقة جنس المريض بأنواع المبيضات المعزولة من حالات الاصابة وكما مبين في الجدول (3) لم تظهراية فروقات معنوية عند مستوى احتمالية P>0.05.وهذا يتفق مع ماتوصل اليه [19] وتخالف ماتوصل اليه [16] اذ سجل اعلى نسبة اصابة في دراسته لدى الاناث وبلغت 64% مقارنة بالذكور 36% . اشار [20]ان للوراثة والغذاء والصحة الشخصية تاثيرا على الاصابة بالتهاب اللثة .

تم تسجيل أعداد ونسب المصابين بأنواع الخمائر المعزولة تبعا للفئات العمرية(جدول 4) وتبين ايضا عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية P >0.05 في حدوث الاصابة بين المرضى من الفئات العمرية المختلفة وهذا يمكن تفسيره وفق ماشار اليه [19] بان انتشار الاصابة بالمبيضات في مختلف الاعمار يعتمد على معدل جريان اللعاب ووجود الاجسام المضادة للخمائروبعض مكونات اللعاب مثل الانزيم الحال للنشا والانزيمات الحالة والالبومين والكلوبيولينات المناعية وقطع المتمم C3 والكلوكان والتي تثبط نمو الخمائر .

جدول (3): العلاقة بين الأصابة بأنواع المبيضات المعزولة وجنس المربض.

أنواع المبيضات	ذكر		أنثى		المجموع	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
C.albicans	20	51.3	36	57.2	56	54.9
C.kefyr	11	28.2	15	23.8	26	25.5
C.glabrata	8	20.5	6	9.5	14	13.7
C.krusei	0	0	6	9.5	6	5.9
المجموع	39	38.2	63	61.8	102	100

LSD بين انواع المبيضات وجنس المريض = 15.604

جدول (4): العلاقة بين نسب الإصابة بأنواع المبيضات وعمر المريض.

الفئات العمرية	*C.albicans*		*C.kefyr*		*C.glabrata*		*C.krusei*		المجموع	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
11-1	6	10.7	0	0	0	0	0	0	6	5.9
21-12	8	14.3	0	0	8	57.1	4	66.7	20	19.6
31-22	20	35.7	14	53.8	3	21.4	2	33.3	39	38.2
41-32	14	25	12	46.2	3	21.4	0	0	29	28.4
51-42	8	14.3	0	0	0	0	0	0	8	7.8
المجموع	56	54.9	26	25.5	14	13.7	6	5.9	102	100

قيمة LSD بين الانواع واعمار المصابين = 64. 694

وحول علاقة الإصابة بالمبيضات ووجود أو عدم وجود عوامل مهيئة لحدوث الإصابة والمبينة في جدول (5) لم تسجل في الدراسة الحالية اي علاقة معنوية بين تناول المضادات الحياتية ، داء السكر والتدخين والحمل ونزف اللثة وفقر الدم وحدوث الاصابة بالانواع المعزولة . اشار [21] الى ان اللعاب يقوم في الفم بترسيب مركبات بروتينية سكرية تشكل طبقة رقيقة تسمى الطهاوة pellicle على سطوح الاسنان مما يساعد الميكروبات على الالتصاق بهذه الطبقات ومن ثم التكاثر والتراكم بكميات كبيرة وبشكل طبقات عضوية رقيقة تعرف باسم اللويحات السنية الميكروبية على سطوح الاسنان وفوق وتحت اللثة ومن المؤكد علميا انه اذا لم تنظف جيدا او بصورة دائمية يومية واذا استمر تراكم اللويحات الميكروبية فانه يؤدي الى التهاب اللثة , Gingivitisوالذي يتميزباحمرار اللثة وسهولة نزفها وقد يتطور الى مرض التهاب حول السن والانسجة الداعمة السنية ويمكن ازالة اللويحة الميكروبية وتامين وقاية من امراض الانسجة المحيطة بالسن فقط بعناية يومية جيدة وعناية مهنية منتظمة .

جدول (5): العلاقة بين الأ صابة بانواع المبيضات المعزولة وبعض العوامل المهيئة لحدوث الأصابة .

العوامل المهيئة لحدوث الأصابة	*C.albicans*		*C.kefyr*		*C.glabrata*		*C.krusei*	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
تناول المضادات الحياتية	12	21.4	4	15.4	5	35.7	4	66.7
داء السكر	15	26.8	6	23.1	1	7.1	0	0
التدخين	14	25	5	19,2	1	7.1	1	16.7
الحمل	14	25	4	15.4	0	0	0	0
نزف اللثة	31	73.2	11	42.3	6	42.9	1	16.7
فقر الدم	13	2.23	4	15.4	1	7.1	0	0

LSD بين انواع الخمائر المزولة والعوامل المهيئة = 42. 355

بين [22] ان تكوين الغشاء الحيوي يعتبر واحد من عوامل الضراوة المهمة لنوع ال *Candida* اذ يمكن ان يتكون على سطوح الانسجة فضلا عن المواد الحيوية والادوات الطبية وفي الدراسة الحالية وجد ان من بين 102عزلة من الخمائر المعزولة والمبينة في الجدول (6) 62 عزلة (60.8%) لها القدرة على تكوين الغشاء الحيوي مقارنة بالعزلات الباقية وهذه النسبة تقارب ماسجل في دراسات سابقة منها [23] ,[24]اذ بلغت النسب المسجلة في دراساتهم 65.74% و 54.7% على التوالي واعلى مما

سجله [25] (51.3%) واقل من [8] (73%) و [22] (78.9%) كما سجلت في الدراسة الحالية اعلى قدرة لتكوين الغشاء الحيوي معنويا بين عزلات النوع *C.albicans* بنسبة 48.4% اذ اظهرت 24 عزلة منها قدرة ضعيفة (+1)ومتوسطة (+2) بينما 6عزلات فقط اظهرت قدرة عالية (+3) شكل (7) .اشار [26] ان النوع *C.albicans* مايزال من غالبية انواع الفطريات الشائعة بتكوين الغشاء الحيوي وان ازدياد الاصابة بها في العقود الاخيرة يعود الى الاستخدام المتزايد والواسع للاجهزة الطبية المزروعة والذي يضعف دفاعات المضيف ، وان تكوين المبيضات للغشاء الحيوي يحمل صدى سريري مهم بسبب قدرتها على مقاومة العلاج بالمضادات الحيوية وقدرة الخلايا ضمن هذا الغشاء على مقاومة الدفاعات المناعية للمضيف ، وتبين ايضا من الجدول(6) ان باقي انواع المبيضات المعزولة لها القدرة على تكوين الغشاء الحيوي وبنسب اقل معنويا وهي النوع *C. kefyr* ونسبته 30.6% و *C. glabrata* ونسبته 14.5% ثم *C .krusei* بنسبة 6.5% وكانت غالبية عزلات هذه الانواع ضعيفة الالتصاق، في حين وجد[23]النوعين *C. tropicalis* (72.7%) و *C. krusei* (30.7%) من اغلب انواع الخمائر غير المبيضات المعزولة تكرارا لتكوين الغشاء الحيوي وكلا النوعين اظهرت غالبية عزلاتهم قدرة ضعيفة الى متوسطة لتكوين الغشاء بينما في دراسة [26] سجلت غالبية عزلات النوع *C. parapsilosis* (62.5%)و *C.glabrata* (64.28%) قدرة التصاق ضعيفة .

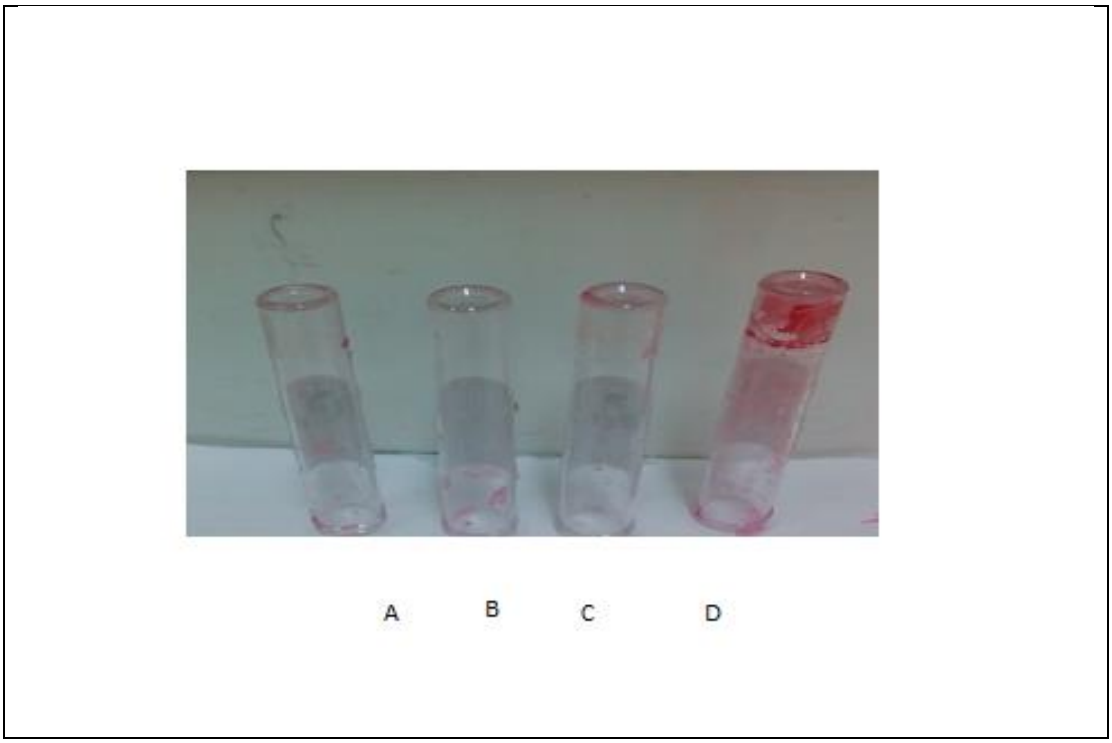
جدول(6): تكوين الغشاء الحيوي من قبل انواع المبيضات المعزولة .

انواع المبيضات	تكوين الغشاء الحيوي					المجموع
	الحالات الموجبة				الحالات السالبة	
	العدد (%)	+1	+2	+3	العدد (%)	العدد (%)
C. albicans	30 (48.4)	12	12	6	26 (65)	56 54.9
C. kefyr	19 (30.6)	8	6	5	7 (17.5)	26 25.5
C. glabrata	9 (14.5)	5	3	1	5 (12.5)	14 13.7
C. krusei	4 (6.5)	2	1	1	2 (5)	6 5.9
	62 (60.8)				40 (39.2)	102 100

LSD بين الانواع المعزولة والقدرة على تكوين الغشاء الحيوي = 7.769 .

LSD بين نوع العزلة = 5.493 .

LSD بين الحالات الموجبة والسالبة = 3.884 .



شكل(7) : تكوين الغشاء الحيوي بواسطة انواع الخمائر المعزولة خلال 24 ساعة .
A - نتيجة سالبة ،B- التصاق ضعيف، وC- التصاق متوسط ، D-التصاق قوي .

المصادر

1- Nisengard, J.,R.and Newman,M.G.(1994).Oral Microbiology andimmunology. 2end., ,W.B.Saunder ,Phildelphia .

2- الخطيب ، عماد ابراهيم : هشام ابراهيم الخطيب : عبد المجيد مصطفى الشاعر وعبد القادر العكاية . (1989) ،علم الامراض الباثولوجي . عمان –الاردن . صفحة 70 .

3-Anane ,S.;Kallel,K.;Kauech,E.andChaker ,E.(2007).Candida dubliniensis anorel emerging species ,An.Rio.Clin., 65(1): 13-14 .

4-Hazen ,K.C.(1995) .New and emerging yeast pathogens .Clin.Micro.Rev. ,8:62-78 .

5-Kuhn ,D.M.(2002) .Comparison of biofilms formed by Candida albicans and Candida parapsilosis on bioprosthetic surface , Infect .Immuno. ,70: 878-888 .

6- Aparna ,MS.and Yadav,S.,(2008) . Microbes and disease . The Braz.J.Infect.Dise., 12 : 526-530.

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

8-Mohand, V.and Ball ,M., (2011) , Distribution of Candida species in different clinical samples and their virulence biofilm formation ,proteinaseand hospholipase production , astudy on hospitalized patients in southern India , J.Glab.Infect.Dis. ,3(1) :4-8 A.(1998) . Practical Medica l

9- Collee , J.;Fraser ,A.G.;Marmion ,B.P.and Simmon Medical Microbiology.14thedn.,ChurehillLivingston

10- Ellis ,D.;Stephen,D.;Helen,A.;Rosemar,H.and Robyn ,B.(2007).Description s of medical fungi .2edn.Adelaide.Austration .Pp.21-40 .

11- Forbes , B.A.;Sohm,D.F.and Weissfeld ,A.S.(1998). Diagnostic Microbiology .10th edn. ,Mosby Inc.

12-Wong ,K.O.and Chan ,Y.F.,(1968) .Dermatophytosis in Hong Kong ,Brit.J.Dermatol.,80: 287-292 .

13- Yigit,N.;Aktas,E.;Dagistan , S. and Ayyildiz,A.(2011) .Invisting biofilm production coagulase and hemolytic activity in *Candida* species isolated from denture stomatistis patient s . The Eurasion. J.of Medisine . 43: 27- 32 .

14-الامام ، محمد محمد(2007) . تصميم وتحليل التجارب ، دار المريخ للنشر ، المملكة العربية السعودية .

15- حبيب ، رجاء علي ، علي محمود السعدي ونيران عبيد جاسم ،(2015) ، عزل وتشخيص بعض انواع خمائر *Candida* species ودراسة حساسيتها لبعض المضادات الفطرية ، مجلة جامعة بابل –العلوم الصرفة والتطبيقية – العدد(3) المجلد (32) .

16- Nijad ,B.S. ; Albollah ,R.and Fereshteh ,M. (2011) . Prevalence of *Candida* species in the oral cavity of patient with perio-dentitis ,African Journal of Biotechnology ,vol.10(15) : 2987-2990 .

17-Manikandan,C.and Asmath,A.(2013).Isolation and rapid identification of*Candida* species from the oral cavity.International Journal of pure and Applied Bioscien.,1(3):23-27

18- ا لشهباني ، عاصم عطا .(1998) . الميكروبات المعدية للانسان . ط1 ، عمان – الاردن ، صفحة . 115-121

19- Kaur ,A.;Puneet ,S. ; Kanwaleep ,S.and Pratiskshoop .(2014). Evaluation of prevalence of *Candida* species in the root canals and oral cavity of children and adult patient . IOSR.J.of Dent. And Med. Sci. 13(7) : 100-104 .

20- البستاني ، علي .(2001) . امراض اللثة وعلاقتها بامراض القلب . المؤتمر الاردني العاشر لطب الاسنان ، عمان – الاردن .

21- Darout, I.and Skaug,N. (2004). Comparative oral health status of an adult Sudanese populations using miswak or teeth brush regularly.Saudi.Den.G.16(1):29-38.

22- Deepa,K.;Jeevitha ,T.and Michae l ,A. (2015) . Invitro evaluation of virulence factors of *Candida* species isolated from oral cavity .J.OF Microbiol .and Antimicrob .7(3) : 28-32.

23- Golia ,S.;Vivek,H.;Sangeetha,K.I.and Vasudha ,C.,L., (2012). Study of biofilm 1(2) : formation as avirulence marker in *Candida* species isolated from various clinical specimens .J.of Evolution of Med. And Dent. Scien. ,1(6): 1238-1246 .

24- Khater ,E.S. and Mohamed ,H.(2014) . Exoenzymes activity and biofilm production in *Candida* species isolated from various clinical speciemens in Benhe ,4(6) : 654- 667.

25- Ramu, T.G.; Pramohin ,S.; Noyal,M.J.; Umederi ,S.;Srirangra ,J.S. and Selvaraj ,S.,(2012) . Virulence factor of *Candida* species isolated from respiratory tract and urine ,Reserch J. ofPharma. Biol. And Chemical Scie .5(5): 960-975.

26- Nerurk , A.;Priti,S.;Nilesh,C. ;Hinal ,B. and Binit ,D.(2012) . Isolation of *Candida* species from clinical specimens and its virulence factor ; the biofilm . Int. J. of Med.Scie .and public health 97-100.

.