عزل وتشخيص المبيضات البيضاء *Candida albicans* من المهبل ودراسة بعض عوامل ضراوتها

*الهام سعيد بنو** *أياد فضيل نقاش** *شيماء نغيمش مزعل**

تاريخ قبول النشر 1 /3 /2010

الخلاصة

جمعت (197) مسحة مهبلية من نساء في اعمار مختلفة، وتم الحصول على (60) عزلة للمبيضات البيضاء *Candida albicans* أي بنسبة (30.45%) وبلغت الانواع الاخرى للمبيضات نسبة (18.27%)، اما الاصابات البكتيرية فكانت نسبتها (41.11%) في حين شكلت المشعرات المهبلية *Trichomonas vaginalis* (2.03%) من حالات التهاب المهبل .

تم اختيار (10) عزلات عشوائياً من المبيضات البيضاء لدراسة عاملين من عوامل ضراوتها وهي الالتصاق، حيث كانت اعلى نسبة التصاق (52%) واقل نسبة (32%) ،و عامل الضراوة الاخر وهو قدرة العزلات على انتاج انزيم الفوسفولايبيز وقياس فعاليته)،فقد كانت (50%) من العزلات غير منتجة لهذا الانزيم و (50%) انتجته بدرجات مختلفة من الفعالية.

الكلمات المفتاحيه: المبيضات البيضاء ،*Trichomonas vaginalis*

المقدمة :

يعد التهاب المهبل(Vaginitis) من اكثر المشاكل شيوعآ عند النساء في سن الاخصاب[1]،وهنالك أسباب عديدة لحدوث التهاب المهبل كالبكتريا والفيروسات والطفيليات الا أن اكثر المسببات حدوثآ هي الخمائر من جنس المبيضات *Candida* spp. [2،3].

ازداد خلال العقود الاخيرة حدوث الاصابات الفطرية وربما يعود هذا الى تزايد عدد المصابين بامراض نقص المناعة المكتسبة(الايدز AIDS) وامراض السكري وامراض السرطان [4،5]. وتعد المبيضات البيضاء مسؤولة عن (85-90%) بداء المبيضات المهبلي [6]

على الرغم من ان المبيضات البيضاء تعد من النبيت الطبيعي (Normal flora) في الفم والجهاز الهضمي والمهبل بكميات قليلة ولاتسبب أي مرض عند تواجدها مع البكتيريا التي تثبط نموها، ولكن عند غياب وجود البكتيريا (كالعصيات اللبنية) التي تثبط التصاق المبيضات بالخلايا الطلائية فان الفطريات سوف تتكاثر وتصبح لها القدرة على أحداث اصابات في مناطق مختلفة لكون المبيضات من الفطريات الانتهازية[7،8]

ان نجاح الفطريات في احداث المرض ناتج عن قدرتها في تحمل الحرارة المرتفعة 37° م[9]وقابليتها في تغيير شكلها 10].

هدفت هذه الدراسة الى:-

1-عزل المبيضات *C.albicans* من حالات التهاب المهبل وتشخيصها.

2-التحري عن نسبة حدوث الاصابة بالتهاب المهبل بالمبيضات البيضاء في الاعمار المختلفة .

3- دراسة بعض من عوامل ضراوة المبيضات البيضاء .

المواد وطرائق العمل :

جمع مسحات المهبل

جمعت (197) مسحة مهبلية (Vaginal swab) من نساء مشكوك باصابتهن بالتهاب المهبل (في مستشفى النعمان العام في بغداد) بأعمار تراوحت ما بين (17-45) سنة . وتم اخذ المعلومات من كل مريضة وتم فحص كل مسحة فحصا مباشرا للتحري عن وجود *T.vaginalis* والخلايا الطلائية والقيحية بعمل عالق للعينة باستخدام المحلول الملحي حيث وضعت قطرة من العالق على الشريحة الزجاجية وغطت بغطاء الشريحة وفحصت تحت العدسة الكبرى الخاصة بالمجهر (11) وتم زراعتها على وسط اكآرالدم و وسط ماكونكي لمعرفة الاصابات البكتيرية للمسحات المشكوك بأنها حاوية *C.albicans*. اتبعت الطريقة[12]لتشخيصها وكما ياتي:-

الصفات المظهرية للمستعمرات Morphology of Colonies تم زرع العزلات على وسط السابرويد دكستروز الصلب وحضنت الإطباق لمدة 4 أيام بحرارة (30° م) وبعدها تم فحص شكل المستعمرات ، وأخذت المستعمرات المشكوك بكونها *Candida* أجريت عليها الفحوصات والتجارب التأكيدية الاتية :-

*قسم علوم الحياة/كلية التربية(ابن الهيثم) جامعة بغداد

الفحص المجهري Microscopic Examination :

اخذ جزء من المستعمرة ووضع على شريحة زجاجية وثبتت بالحرارة ثم تم صبغها بصبغة كرام (Gram Stain) وغطيت بغطاء الشريحة (Cover Slide) وتم فحصها بالمجهر تحت العدسة الزيتية .

تكوين انبوب الانبات Formation of germ tube: تم إجراء التجربة وفق على ما جاء به[13]باخذ حجم (2) مليلتر من بياض البيض ووضعه في أنابيب اختبار معقمة ثـم لقحت الأنابيب بجزء من مستعمرة نامية على وسط السابروید دكستروز وحضنت بحرارة (30° م) لمدة (2-3) ساعة . ثم أخذت قطرة ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي لملاحظة تكوين أنبوب الإنبات .

فحص تكوين السبورات الكلاميدية Chlamydospores formation assay

تم الفحص على وفق ما جاء به[14]:

حضر طبق بتري زجاجي حاوٍ على شريحة زجاجية وورقة ترشيح وقضيب زجاجي بشكل حرف V . تم تعقيم الطبق الزجاجي ومحتوياته بالفرن الحراري بحرارة (180° م) لمدة نصف ساعة .

تم صب قطرات من وسط أكار مسحوق الذرة على الشريحة الزجاجية المعقمة وتركت لتجف، تم بعدها تخطيط جزء من مستعمرة بعمر4 أيام نامية على وسط سابروید دكستروز على الشريحة بعد جفافه، ثم أضيفت عدة قطرات من الماء المقطر المعقم على ورقة الترشيح للحفاظ على رطوبة معينة وتمنع جفاف النموذج .

حضنت الأطباق بحرارة (37° م) لمدة (4-6) أيام بعدها ثم أضيفت قطرة من صبغة اللاكتوفينول الى الشريحة وغطيت بغطاء الشريحة وفحصت تحت المجهر لملاحظة السبورات الكلاميدية .

الاختبارات البايوكيميائية Biochemical tests:

القابلية في تخمير السكريات Sugar Fermentation تمت على وفق ما جاء به[15]. وذلك بأضافة(2) مل من وسط تخمر السكريات الى انابيب اختبار حاوية علىانبوب درهم (Durham tube) بوضع مقلوب واضيفت لها (2) مليلتر من محلول السكر الخزين للسكريات(سكروز، كلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز، كالكتوز) واضيفت قطرات من احمر الفينول Phenol red الى حين تغير لون الوسط الى الاحمر ثم لقحت الانابيب بعالق الخميرة وحضنت بحرارة (30 م) . وتمت متابعة النتائج كل يوم ولمدة 10 ايام وملاحظة تغير اللون الاحمر الى االاصفر وتكون الغاز في انابيب درهم.

القابلية في تمثيل السكريات Sugar Assimilation تمت على وفق ما جاء به[16]بعد ان حضر وسط تمثيل السكريات تم صبه في اطباق زجاجية، وبعد تصلبه زرع عليه بحجم (1) مليلتر من محلول الخميرة بعمر (48-24) ساعة بنشرها بقضيب زجاجي . تم عمل اقراص ورقية بقطر (6) مليلتر من اوراق الترشيح نوع (Whatman No.3) غمست هذه الاقراص في حجم معين من محاليل السكريات الخزينة(سكروز، كلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز، كالكتوز)، ثم وضعت على سطح آكار تمثيل السكريات الصلب وحضنت بحرارة (30° م) لمدة (2-4) يوم ، وتمت ملاحظة وجود او عدم وجود نمو خميري حول الاقراص الورقية .

دراسة بعض عوامل الضراوة للعزلات:-

اختيرت عشر عزلات من *C.albicans* عشوائياً واعطيت الارقام الاتية(10,9,8,7,6,5,4,3,2,1) لدراسة عوامل الضراوة كالاتي :-

تقدير فعالية انزيم الفوسفولايبيز Phospholipase Determination of activity أستخدمت طريقة[17]حيث حضر لقاح بعمر 18 ساعة نامي على وسط السابروید الصلب وتم نقل جزء من المستعمرة ووضعها في 5مليلتر من المحلول الملحي المعقم ، تم ضبط عدد الخلايا الى10^6 خلية / مليلتر باستخدام عداد كريات الدم Haemocytometric Counter ، اخذ من العالق 10 مايكروليتر وزرع على وسط آكار السابروید الحاوي على مح البيض والمحضر وفق ما جاء (11) ، ثم حضنت الاطباق بحرارة (37°م) لمدة 4 ايام وبعدها تم قياس قطر المستعمرة وقطر منطقة الترسب (precipitation zone) لأحتساب فعالية الانزيم (Pz value) وهي النسبة بين قطر المستعمرة وقطر منطقة الترسب .

الالتصاق بالخلايا الطلائية للمهبل :

تمت على وفق ما جاء به[18].تم تحضير الخلايا الطلائية للمهبل(VEC) من نساء بالغات شابات سليمات وذلك بأخذ مسحة بلطف من الخلايا الطلائية للمهبل بأستخدام مسحات قطنية (Cotton Swabs) وضعت المسحة في انبوب زجاجي حاوٍ على (20)مليلتر من دارىء الفوسفات الملحي PBS وتم طرده مركزياً بسرعة (250) دورة \دقيقة لمدة (5)دقائق ،وبعد غسلها ثلاث مرات بأستخدام 20مل منPBS، تم تعليق الخلايا الطلائية VEC في (4) مليلتر من PBS وتم حساب تركيز VEC بأستخدام hemocytometer وضبط تركيزها الى ($2x10^5$) خلية/ مليلتر .

اخذ (0.5) مليلتر من عالق الخميرة الحاوي على ($5x10^6$) خلية وتم حضنها مع(0.5) مليلتر من عالق VEC لمدة (90) دقيقة في حرارة (37 م)

في حمام مائي هزاز وتم اجراء مكرر لكل عينة وفحص الالتصاق بأستخدام المجهر.

النتائج :

تم الحصول على (60) عزلة للمبيضات البيضاء وبنسبة (30.45%) من المجموع الكلي للمسحات المهبلية (197) اخذت من النساء الاتي كن يراجعن مستشفى النعمان التعليمي ببغداد . وقد شكلت نسبة الانواع الاخرى للمبيضات (*Candida* spp.) 18.27% (36 مسحة)من المجموع الكلي لهذه المسحات . كما أظهرت نتائج الفحص المختبري لهذه العزلات وجود نسبة 41.11% (81 مسحة) من العزلات البكتيرية، في حين كانت نسبة الاصابات بالمشعرات المهبلية *Trichomonas vaginalis* نسبة قليلة 2.03% (4 مسحة). اما الحالات التي لم تعطي نتائج موجبة للفحص المختبري فقد بلغت نسبتها 8.12% (16 مسحة)وكما هو موضح في الجدول(1) .

مقارنة هذه النتائج مع نتائج الباحثين بهذا المجال يلاحظ انها نجدها مقاربة في كثير من الاحيان، حيث ذكر[19]ان من بين (306) امرأة حامل كانت نسبة المبيضات البيضاء (33.3%) والاصابات البكتيرية (35.7%) ونسبة الاصابة بالمشعرات المهبلية *T.vaginalis* (10.6%)، بينما ذكرت[20]ان نسبة الاصابات البكتيرية كانت (37.30%) عند النساء الحوامل و(20%) بين النساء غير الحوامل، فيما كانت نسبة الاصابات بالمبيضات البيضاء فكانت (28.57%) و(6.66%) بين النساء الحوامل وغير الحوامل على التوالي اما الاصابة بالطفيلي*T.vaginalis* فكانت النسبة(5.55%) بين النساء الحوامل و(3.33%) بين النساء غير الحوامل .

جدول(1) الاعداد والنسب المئوية للاحياء المجهرية المعزولة من الاصابات المهبلية *

نوع المسبب المرضي	عدد النماذج	النسب المئوية%
Candida albicans	60	30.45
Candida spp.	36	18.27
Bacterial isolates*	81	41.11
Trichomonas vaginali	4	2.03
No growth	16	8.12

العدد الكلي للمسحات المأخوذة =197 مسحة .
*** تم تشخيصها وفق ما جاء في (21)**
***البكتريا المعزولة *Staphylococcus* و *E.coli* و ß-haemolytic *Streptococci* وكانت اعدادها (50،15،16)على التوالي.**

تشخيص عزلات المبيضات البيضاء :-
تم تشخيص المبيضات البيضاء كما يلي :-

1- الصفات المظهرية للمستعمرات :-
تم دراسة الصفات المظهرية لمستعمرات *C.albicans* وذلك بزرعها على وسط السابروید دكستروز الصلب (SDA) وظهرت المستعمرات مستديرة،محدبة ملساء وذات لون ابيض كريمي .

2- الفحص المجهري :-
أوضح الفحص المجهري لخلايا المبيضات البيضاء بعد التصبيغ بصبغة كرام انها خلايا كروية – بيضوية الشكل موجبة لهذه الصبغة

3- فحص تكوين انبوب الانبات :-
اكد اختبار تكوين الانبوب الجرثومي (انبوب الانبات) ان جميع العزلات كانت موجبة لهذا الفحص حيث اعطت تركيب خيطي ينشأ من خلية الخميرة .

4- فحص تكوين السبورات الكلاميدية:-
أظهر هذا الفحص بعد التصبيغ بصبغة اللاكتوفينول الزرقاء وجود خيوط وسبورات كلاميدية (صورة-1-) . حيث ظهرت الخلايا كروية وذات جدار سميك واستخدم هذا الاختبار لتفريق*C.albicans* عن الانواع الاخرى من المبيضات البيضاء حيث لا تكون بقية الانواع سبورات كلاميدية .

5-القابلية في تخمير و تمثيل السكريات:-
أظهرت نتائج التخمر وجود غاز في انبوبة درهم وكذلك تحول لون الوسط من اللون الاحمر الى اللون الاصفر بالنسبة للفحص الموجب اما بالنسبة لاختبار تمثيل السكريات فتمثل النتيجة الموجبة وجود نمو حول القرص الحاوي على السكر حيث أظهرت العزلات قابلية في تخمير وتمثيل جميع السكريات المستخدمة في هذان الاختباران (سكروز، مالتوز،كلوكوزوكالكتوز) ما عدا سكر اللاكتوز (جدول 2

جدول(2) تمثيل وتخمير السكريات من قبل عزلات *C.albicans* المعزولة من المهبل (التي اختيرت للدراسة بصورة عشوائية).

رقم االعزلة	*تمثيل السكريات**					*تخمير السكريات**				
	سكروز	مالتوز	كلكوز	لاكتوز	كالكتوز	سكروز	مالتوز	كلكوز	لاكتوز	كالكتوز
1	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
2	+	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+
3	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
4	+	+	+	-	+	(+)	+	+	-	+
5	(+)	+	+	-	+	+	+	+	-	(+)
6	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
7	+	+	+	-	(+)	+	+	+	-	+
8	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
9	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
10	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+

*** + موجب(وجود نمو حول الاقراص الورقية).**
- سالب(عدم وجود نمو حول الاقراص الورقية).
**** + موجب(تغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر).**
(+) موجب ضعيف(تغير ضعيف باللون الاحمر الى الاصفر).
- سالب (عدم تغير اللون الاحمر)

صورة (1) : تكوين السبورات الكلاميدية Chlamydospore من قبل خميرة *C.albicans* النامية على وسطCMA بدرجة حرارة 30° م (X40).

تتفق نتائج الفحص المظهري والتصبيغ ونتائج الفحص البايوكيميائي مع ما توصل اليه الكثير من الباحثين في هذا المجال(22،23).
بعد التشخيص تم اختيار (10) عزلات من المبيضات البيضاء وبصورة عشوائية لغرض دراسة بعض من عوامل ضراوتها.

الاصابة بداء المبيضات البيضاء حسب الفئات العمرية:-

ان اعلى نسبة اصابة كانت (53.3%) وظهرت في الفئة العمرية (20-29) سنة اما اقل نسبة اصابة فبلغت(13.3%) في الفئة العمرية (40-49) سنة .
اشارت النتائج الموضحة في الجدول (3) ان الارتفاع في نسبة الاصابة عند الفئة العمرية (20-29) سنة قد يعزى الى ان معظم النساء في هذه الفئة العمرية كن من الحوامل اذ بلغت نسبة الحمل لهذه الفئة (93.75%)، وهذه النتيجة اتفقت مع نتائج الكثير من الباحثين (23،24،25) اذ يصاحب الحمل زيادة في مستوى الاستروجين في الخلايا الطلائية للمهبل يرافقه زيادة في محتوى الكلايكوجين لهذه الخلايا مما يزيد نشاط بكتيريا حامض اللاكتيك ، التي تستهلك الكلايكوجين مؤديا الى انخفاض في الاس الهيدروجيني للمهبل، ويعد هذا من الظروف المشجعة على استيطان المبيضات البيضاء وانتشارها [26] كذلك فأن لهرمون الاستروجين دور في زيادة التصاق المبيضات البيضاء بالخلايا الطلائية للمهبل (VEC) مشجعاً بذلك قابلية التحول من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي (1). اما الاصابات المتبقية للنساء غير الحوامل فقد تعزى الى عدد من العوامل منها استخدام موانع الحمل التي تعمل على ترسيب الكلايكوجين في الخلايا الطلائية للمهبل مما ينتج عنها انخفاض الاس الهيدروجيني للمهبل ويجعله بيئة ملائمة لنمو الخميرة [27،28]او قد يعود السبب الى الافراط في تناول المضادات الحياتية التي تساهم في قتل الاحياء المجهرية الطبيعية (Normal flora) في الجسم مما يشجع استيطان المبيضات في المهبل[29،30]ويعتبر داء السكري احد العوامل المشجعة للاصابة بالمبيضات البيضاء وذلك لزيادة نسبة السكر في المهبل للمصابات بهذا الداء مما يجعله بيئة ملائمة لنمو الخمائر [29].

جدول (3) النسبة المئوية للاصابة المهبلية بداء المبيضات البيضاء وفق الفئات العمرية للمصابات .

الفئة العمرية(سنة)	اعداد ونسب النساء المصابات بداء المبيضات البيضاء				
	الحوامل	%	غير الحوامل	%	العدد الكلي
20-29	30	93.75	2	6.25	32
30-39	10	50	10	50	20
40-49	1	12.5	7	87.5	8
	41		19		60

الالتصاق Adhesion

تعتبر عملية الالتصاق بخلايا المضيف هي اول خطوة ممهدة لاحداث الاصابة[31]ونلاحظ من خلال نتائجنا في هذا المجال(صورة-2-) ان العزلات المستخدمة في التجربة اعطت نسبة التصاق مختلفة (جدول4) اذ لوحظ ان اعلى نسبة للالتصاق كانت (52%) واقلها هي (32%) .

يحدث الالتصاق بفعل تكوين المبيضات البيضاء طبقة ليفية (Fibrillar layer) مكونة من سكريات متعددة على اسطح خلاياها[31]،وهذه الطبقة ذات طبيعة بروتينية سكرية تساعد على ارتباط الخميرة ببروتينات وكاربوهيدرات اغشية خلايا المضيف 32].

من خلال التطبيق الاحصائي لهذه النتائج وجدنا هنالك فروق معنوية بين العزلات تحت مستوى احتمالية (0.001,0.01, 0.05) وهذه الاختلافات قد تعود الى الاختلاف في قابلية العزلات على الالتصاق بالخلايا الطلائية وهذا يتفق مع ما جاء به كل من[18،33]حيث لاحظ هؤلاء الباحثين ان خلايا *C. albicans* المعزولة من نساء مصابات بالتهاب المهبل لها قدرة التصاق اكثر من النساء الحاملات لهذه الخمائر بدون ظهور اعراض سريرية .

ان الاختلاف في قابلية الالتصاق قد تعود الى الاختلاف ما بين السلالات ، اذ اجريت عدة دراسات لمحاولة التمييز بين سلالات النوع *C. albicans* التي ربما تساعد على معرفة اختلاف سلوك الالتصاق بين هذه السلالات[18،34]

كما اظهرت دراسات اخرى ان عملية الالتصاق تعتمد على الفة خلايا الخميرة للماء ، فاذا كانت الخلايا ذات الفة قليلة للماء أي تمتلك (hydrophobicity) عالية يكون التصاقها اكبر بمقدار الضعف عن الخلايا التي تمتلك (hydrophobicity) واطئة بالاضافة الى دور الشحنة فالخلايا الملتصقة لها شحنة موجبة اكبر بعشرة اضعاف الخلايا غير الملتصقة [35.]

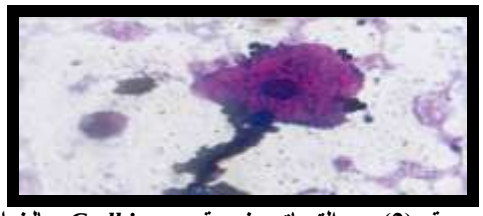
جدول (4) التصاق خلايا المبيضات البيضاء *C. albicans* بالخلايا الطلانيةالمهبلية(VEC*)

رقم العزلة	النسبة المئوية للالتصاق**
1	1.15±37
2	1.2±35
3	0.88±40 a
4	1.15±52 c
5	0.57±39
6	0.33±32 b
7	1.45±42 c
8	0.88±50 c
9	0.33±33 b
10	0.57±37

* الخلايا الطلائية المهبلية .

** تم التعبير عن النسبة المئوية للالتصاق بدلالة المعدل ± الخطأ القياسي .

*** الاحرف(c,b,a) تمثل الاحتمالية (0.001,0.01,0.05) على التوالي



صورة (2) : التصاق خميرة *C.albicans* بالخلايا الطلانية المهبلية (40x).

فعالية انزيم الفوسفولايبيز Phospholipase activity

تعد الطريقة المستخدمة في قياس فعالية الانزيم بالاطباق هي طريقة ناجحة في الكشف عن قدرة المبيضات البيضاء المعزولة على انتاج الانزيم الحال للشحوم المفسفرة Phospholipaze اذ تم تحديد الفعالية من خلال قياس قطر منطقة الترسب(Precipitation zone) الناتجة من تكون معقد بين ايونات الكالسيوم (Ca^{+2}) والاحماض الشحمية المتحررة من تحلل الشحوم المفسفرة الموجود في مح البيض (Egg Yolk) في الوسط الخاص بأنتاج هذا الانزيم .وأظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية عالية تحت احتمالية (0.001) في مستوى فعالية الانزيم .

يظهر الجدول(5) نتائج هذه الفعالية حيث يلاحظ ان (50%) من العزلات المهبلية للمبيضات البيضاء اعطت نتيجة موجبة لانتاج هذا الانزيم مع درجات مختلفة من الفعالية وهذا يتفق مع ما جاء به (17) ان (55%) من المبيضات البيضاء المعزولة من الدم كانت موجبة لهذا الانزيم و(50%) من عزلات المبيضات البيضاء المعزولة من الجروح و(30%) من المعزولة من الادرار كانت موجبة لهذا الانزيم، حيث لاحظ ايضا ان قابلية عزلات المبيضات لانتاج هذا الانزيم وفعاليته تعتمد على عدة عوامل منها فيزياوية متعلقة بدرجات حرارة انتاج وحفظ الانزيم ، وفقدت عند الحفظ بحرارة (20-) م° و (80-) م° كما ان حفظ السلالات بهذه الدرجة أدى الى فقدان قابليتها على انتاج هذا الانزيم ،ومنها جينية متعلقة بوجود الجينات اللازمة لانتاج هذا الانزيم اذ وجد ان انتاج الانزيم وفعاليته قد تختلف بين السلالات ضمن النوع الواحد استناداً للتركيب الجيني لهذه السلالات .

جدول(5) فعالية انزيم الفوسفولايبيز المنتج من قبل عزلات *C. albicans* المعزولة من المهبل

رقم العزلة	فعالية الانزيم (P_2value)
1	0.00±0.00
2	0.00±0.00
3	3.33±0.8 c
4	3.33±0.7 c
5	3.33±0.8 c
6	0.00±0.00
7	3.33±0.8 c
8	5.77±0.8 c
9	0.00±0.00
10	0.00±0.00

المصادر:

1. **Vazques,**J.A. and Sobel ,J.D. 2002.Mucosal candidiasis . Infect. Dis. Clin .N.Am., 16:793-820

2-Dennerstein , G. 2001. The treatment of *Candida* vaginitis and Vulvitis .Aust.Preser.;24:62-64 .

3-Vazques,J.A. and Sobel,J.D. 1995.Fungal Infection in diabetes. Infection disease clinics of North America ., 9(1):97-116

5- Ellis , D.H. 1994 . Clinical Mycology .The human opportunistic Mycosis. Gillingham printers pty Itd . Australia., pp166.

6-Witkin , S.S. and Giraldo , P.C 2000. The quanadary of Recurrent vaginal candidiasis .J. patient care., 34:123-129.www. patientcareoline.com .

7-Krajewska-Kutaka,E.and Niczyporuk,W. 1998.Hydrolytic activity of *Candida albicans* and their susceptibility to antimycotic.Med.Sci.Monit.;4:616-621.

8-Perry, J. J. and Staley, J.T. 1997.Microbiology and dynamic .printed in USA. Library of congres .

9-Smith , J.M.B. 1986.The pathogenesis of opportunistic myco- ses in man .Microbiol .Sci.,3(4) .

10-Rhodes , J. C. 1988.Virulence factors in fungal pathogens . Microbiol. Sci ., 5(8):252-254 .

11-Atlas,R.M. 1995.Principles of microbiology . Mosby , Missour 590pp .

12-Willmott ,F.E. 1975.Genital yeasts in female patients attending a venereal disease clinic.Br.J. Ven. Dis., 51(119):119-122.

13-Al-Hamadani,A.H.A. 1997. Enzymic activity , purifcation of keratinase and proteinase and there roles in the. Pathogenicity and immunogenicity of clinical isolates of dermatophytes and yeast. Ph.D.thesis,College of Education ,Univ. Basrah .

14-Rose, A. H. and Harisson , J. S. 1969. The yeast: Biology of 14 Yeast ., 1,Academic press, London .

15-Lodder, J.1974. The yeasts :Ataxonomic study .2nd ed., revised and enlarged edition .Amsterdam .

16-Refai , M.; Gobba , A.H. and Rieh ,H. 1969. Monograph on yeast diagnosis , disease and treatment . Egypt. Vet. Med. J. XVI:255-316 .

17-Price , M.F.; Wilkinson , I .D. and Gentry , L .O. 1982. Plate method for detection of phospholipas activity of *Candida albicans* Saubouraudia .,20:7-14 .

18-Segal , E. ; Soroka , A. and schechter , A. 1984. Correlative relationship between adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells in vitro and candidal vaginitis. Sabouraudia ., 22:191-200 .

19-Balaka ,B.;Agbere, AD. ; BaetaS. ;Kessie,K.and Assimadi, K. 2003. Bacterial flora in the genital tract the last trimester of pregnancy .J. Gynecol Obstet .Biol .Reprod. (paris):32(6): 555-561.[abst.].

20-AL-Zuhairi,O.K.R. 2001. Microorganisms isolated from vagina of pregnant women in Baquba city .Thesis ,Dilopma, Univ. Baghdad .

21-Bergey's Manual of Determenative Becteriology. 1994) 9th ed. Williams and Winkins ,USA.

22. حـ وار، سمية نعيمة 2002 . تأثير ليزر القدرة الواطئة (الهليوم- نيون) على حيوية خلايا خميرة المبيضات الـ*Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية، رسالة ماجستير، كلية التربية ابن الهيثم ،جامعة بغداد،93 صفحة .

23. مجيد ، هديل عبد اللطيف 2004 . دراسة تشخيصية ومناعية لانواع المبيضات المسببة لالتهابات *Candida* ssp. المهبل Vaginitis .رسالة ماجستير ،كلية العلوم للبنات ،جامعة بغداد ، 76صفحة

24. Little,C.H.; Georgious, G.M.; Marceglia,A.;Ogedgebe,H. Cone. R.E. and Mazze,D. 2000..Measurement of T-cell-derived dantigen binding molecules and immunoglobulin G specific to *Candida albicans* mannan is sera of patient With recurrent vulvovaginal candidiasis. Infect .Immun. 68(7):3840-3847 .

25-Gentry, L.O. and Price, M.F. 1985.Urinary and Genital *Candida* infections .In candidiasis , Bodey G.,P.and Fainstein ,V. (eds.) Raven press New York :169-179 .

26-Mahdi, N.K. and Al-Hamdani, M.M. 1998.Sexually transmitted diseases among women with habitual abortion. East. Med.H.J.;4:343-349 .

27-Spinillo , A. ; Pizzol ,G.; Colonna ,L.; Nicola, S.;De-Seta, F. and Guaschino, S. 1993. Epidemiologic characteristic of women with idiopathic recurrent vulvovaginal Candidiasis Obstet .Gynecol.,81(5):721-727.

28-Khider, M. 1985.*Candida* species and other Microorganisms isolated from female Genital tract infection. Msc.Thesis University of Baghdad college of Medicine .Iraq .

29-De-leon,E.M.;Jacober,S.J .; Sobel, J.D. and Foxman,B. 2002. Prevalence and risck Factors for Vaginal *Candida* Colonization in women with type 1and 2 diabetes.BMC .Infect.Dis. , 2:1-11 .

30-Willmott ,F.E. 1975.Genital yeasts in female patients attending a venereal disease clinic.Br.J. Ven. Dis., 51(119):119-122.

31-Klotz,S.A. 1992.Fungal adherence to the vascular compartment :acritical step in the pathogenesis of disseminated candidiasis. Clin. Infect.Dis.,14:340-347 .

32-Wood , J.P. 2001. *Candida albicans* and other species and Candidiasis .MMI 410,3/27/01,Electornic version (Internet) [http://www. Amedo .com/medicine/infd /jbacter.htm

33-Svandborg-Egen ,C.;Hanson ,L.A.;Jodal,U.;Lindberge,U.and Shol-Akerland,A. 1976.Variable adherence to normal human urinary tract epithelial cells of *Escherichia coli*.strains associated with various forms of urinary tract infections.Lancet ,2,490-492.

34-Odds,F.C.;Cockayne, A.; Hayward, J.and Abbott,A.B. 1985.Effects of Imidazole and Triazole-derivative antifungl compounds on the growth and morphological devlopment of *Candida albicans* hyphae. J.General Microbiol., 131:2581-2589 .

35-Klotz,S.A.and Penn, R.L. 1987.Multiple mechanisms may contribute to the adherence of *Candida* yeasts to living Cells.Curr. Microbiol. ,16:119-122 .

Isolation and Idintification of *candida albicans* from vagina and Study of some Virulance Factors

Ilham Saeed Banno *** ***Ayad F. Nakkash *
Shaimaa Nghamish Mizi'l *

* Biology Dep.-College of Education(Ibn Al-Haithem) University of Baghdad.

Abstract:

197 vaginal swabs were collected from women of different ages. (60) Isolates of *Candida albicans* (30.4%) were obtained, and the other species of *Candida* represent (18.27%). Bacterial infections showed (41.11%), and infection with *Trichomonas vaginalis* was (2.03%).

Ten isolates of *C. albicans* were chosen randomly for farther study which include two virulence factors tendency of adhesion wich showed a percentage of (52%) to(32%) , and the ability to produce phospholipaze enzyme and it's activity which showed (50%) of the isolates have the ability to produce the enzyme in different degrees .