دراسة كيميو حيوية وبيئية لخميرة المبيضات البيضاء Candida albicans المعزولة من الاطفال المرضى في ميسان

ا.م.د. طلال حسين صالح

جامعه ميسان - كلية الزراعة - قسم وقاية النبات

الخلاصة:

جمعت(20) مسحه من الاطفال المرضى ومن كلا الجنسين الذين راجعوا مستشفى الصدر التعليمي في ميسان للفترة من ايلول الى كانون الاول 2014 وبأعمار تراوحت بين(2- 5) سنوات لغرض عزل وتشخيص خميرة Candida albicans وشملت الدراسة اصابات الفم، الاذن والجروح.

تم الحصول على (12) عزلة للمبيضات البيضاء C.albicans (60%) وان العدد الاكبر من العزلات عزلت من الفم(7) عزلات.

اكثر فئه عمرية كانت عرضه للإصابة هي من (2-3) سنوات وكان الذكور اكثرها اصابه حيث ظهرت في (8) مسحات.

شملت الاختبارات الكيميوحيوية: تخمر و تمثيل السكريات (الكلوكوز، السكروز واللاكتوز) واختبار تحلل اليوريا.

الاختبارات البيئية شملت: درجه الحرارة (37و45)م • والرقم الهيدروجيني pH (4،5 ،6) .

Biochemical & Ecological Study Of Candida albicans Isolated From patients Childrens in Misan

Dr. Talal Hussain Saleh

Misan University - College of Agriculture - Plant protection Department

Summary :

Twenty swabs were collected from patients childrens of both sex which were visiting AL-sader Teaching Hospital in misan during the period September – December 2014with ages(2-5)years , for isolation and Identification of Candida albicans.

The study included the infection of mouth , ear and wounds. Twelve isolates of Candida albicans (60%)were obtained.

The highest number of isolates were isolated from the mouth(7).

The most suspected age –group most susceptible to infection was (2-3) years.

The highest number of infection was from male(8) .

Biochemical tests included: fermentation& assimilation sugars (glucose , sucrose and lactose) and urea hydrolysis .

Ecological tests included: Temperature(37 and 45)c• and pH(4,5,6) .

Introduction : المقدمة

تعد خميرة المبيضات Candida واحدة من الفطريات ثنائية الشكل حيث تظهر بشكل خميرة وبشكل خيوط فطرية كاذبه حسب المكان الذي تتواجد فيه وبشكل عام فهي تعتبر جزء من النبيت الطبيعي للجسم (Normal Human flora) وذلك لتواجدها بشكل طبيعي في الفم والقناة التنفسية والهضمية وغيرها لكنها تنتهز الفرصة حينما تضعف مناعة الجسم لتصبح ممرضة مسببة المرض المعروف بداء المبيضات (Candidiasis) (Reedy etal.,2007).

يستوطن تجويف الفم اكثر من(700) نوع من الاحياء المجهرية ومنها جنس الCandida ، بعض انواع الاحياء المجهرية التي تستوطن تجويف الفم تعمل كعوامل تؤثر في تركيب الانواع الممرضة وكذلك في نشاطاتها الايضية وبالتالي تحد من امراضيتها (Nejad etal., 2011) .

في العشر سنوات الاخيرة زادت نسبة الاصابة بخميرة المبيضات Candida لأكثر من (15) مره (Torba etal.,2012).

ان ظهور الاصابه بداء المبيضات وانتشارها تتحكم به مجموعة من العوامل منها ما يتعلق بالوضع الصحي للمريض فمن المعروف ان خميرة المبيضات Candida تتمكن من اصابة الاشخاص المرضى الذين يعانون اصلاً من انخفاض المناعة (Ellis,2007). ومنها ما يتعلق بالظروف المحيطة والمتمثلة بدرجة الحرارة والرطوبة والرقم الهيدروجيني ومنها ما يتعلق بنوع المبيضات(Aisner &Murillo , 1989) .

تبدي الانواع الممرضة من المبيضات جملة من عوامل الضراوة التي تجعلها قادرة على احداث الاصابة ومن هذه العوامل قابليتها على تكوين انبوب الانبات Body(1993) ، وانتاجها مجموعة من الانزيمات المحللة للدهون المفسفرة والبروتينات(Kaminishi etal.(1986 ، كما ان لسطح الخلية القدرة على تغيير الفتها للمحاليل (Soll,1992) .

يضم جنس الCandida حوالي (200) نوعا تختلف في امراضيتها الا ان اكثرها إمراضيه هي خميرة (C .albicans) مقارنة بالأنواع الاخرى (Ellis,2007).

تعد الخميرة Candida albicans من الفطريات ثنائية المظهر فهي تتواجد بالشكلين المظهريين داخل جسم الانسان يستخدم الشكل الخيطي من اجل اختراق الانسجة والالتصاق بالسطوح وكذلك الخروج من داخل الخلايا البلعمية بينما يستخدم الشكل الخميري في تحقيق الانتشار الجهازي، كما تستخدم التغير المظهري في تحمل ظروف الاوكسجين المنخفض(Hypoxia) داخل القناة الهضمية والانسجة العميقة (Reedy etal.,2007).

كما تنتج عوامل التصاق مختلفة ترتبط مع مراكز استقبال على الخلايا البلعمية والخلايا الطلائية تقاوم بعض العوامل الدفاعية (Ellis , 2007) .

ومن العوامل المشجعة على الاصابة بهذه الخميرة هو تثبيط الفلورا الطبيعية نتيجة استخدام المضادات الحيوية حيث يسبب ذلك في تثبيط الكائنات الحية المنافسة لها مثل البكتريا Lactobacillus وازدهار خميرة C. albicans (Mehdi,1993) .

كما طورت خميرة C.albicans اليات تمكنها من البقاء في انسجة الجسم المختلفة للتغذية والانتشار عبر الاوعية الدموية ومقاومة ردود الفعل المناعية المختلفة وتحمل ظروف التغذية المنخفضة الموارد وخاصة السكريات وقلة الاوكسجين وتغير الحموضة والازموزية ودرجة الحرارة المرتفعة نسبيا (Veses etal.,2009) .

وبسبب ما تحدثه هذه الخميرة من امراضية فأنها تعد اليوم من اكثر الخمائر اهمية من الناحية الطبية (Samsherkhan etal.,2013) .

اجريت دراسات عديدة عن المبيضات ومنها دراسة عن الفطريات المسببة لالتهاب الاذن الخارجية (Ootomycosis) من قبل(Al-Duboon,1997) حيث وجد ان خميرة(Candida Spp) قد ظهرت بنسبة كبيرة ، كما قام عبد الحسين (2001) بعزل خميرة (Candida Spp.) من مرضى يعانون من التهاب الاذن الوسطى وجرت دراسة عن وجود الاصابات الفطرية في 300 من مرضى الامراض الخبيثة في العراق ظهر ان الخميرة C. albicans هي الاكثر انتشارا حيث شخصت في 53% من الحالات (Al-Doorky,2005) ، كما استطاع الشبلي (2006) من عزل وتشخيص عشرة انواع من Candida spp من المرضى الذين راجعوا مستشفى الديوانية التعليمي حيث شمل العزل مناطق الجلد ، الاظافر، الفم و الاذن .

المواد وطرائق العمل : Material & Methods

١- جمع المسحات : Collection of Swabs

جمعت(20) مسحه من الاطفال المرضى ومن كلا الجنسين الذين يعانون من امراض فطرية مختلفة خصوصا في منطقه الفم، الاذن والجروح، والذين راجعوا مستشفى الصدر التعليمي في ميسان وبواقع (13) من الذكور و (7) من الاناث وللفئات العمرية من (2-5) سنوات حيث شملت

المسحات : الفم (12) مسحة ، الاذن (5) مسحات والجروح (3) مسحات .

دونت المعلومات الخاصة بكل طفل بعد ان شخص حالتهم الطبيب المختص.

عملت مساحات قطنية لكل من افواه واذان والمناطق المجروحة والمصحوبة بتقيح ثم حفظت في حاويات بلاستيكية معقمة لحين الاستعمال. (Aisner & Murillo ,1989)

٢- الأوساط الزرعية : Cultures Media

أ- وسط السابروید – دكستروز اكار (SDA) Sabourauds Dextrose Agar حضر الوسط حسب طريقه Emmons etal., 1974 وحسب تعليمات الشركه المصنعه (Himedia). استعمل هذا الوسط لعزل الخميرة.

ب- وسط تخمر السكريات: Sugars Fermentation Medium (SFM)

حضر حسب طريقة Kreger - van (1984) . استعمل هذا الوسط لاختبار قدره الخمائر على تخمير السكريات.

ج- وسط تمثل السكريات: Sugars Assimilation Medium (SAM)

حضر الوسط حسب طريقه Buckley (1989) .استخدم هذا الوسط لاختبار قدره الخمائر على تمثيل السكريات.

د- وسط اليوريا : Urea Medium

حضر هذا الوسط حسب طريقه Buckley (1989) .استخدم هذا الوسط لاختبار قدره الخمائر على تحلل اليوريا.

٣- التعقيم : Sterilization

عقمت الاوساط الزرعية باستعمال الموصدة بدرجة حرارة ١٢١ ْم وضغط 15 باوند / انج ٢ لمده ١٥ دقيقه اما بقية المواد مثل محاليل السكر ومحلول اليوريا فأنها عقمت بالترشيح بمرشحات دقيقه(Millilore papers) بقطر 0.22 مايكرومتر.

٤- زرع العينـــــات :

زرعت العينات التي جمعت والمتمثلة بالمسحات القطنية التي جمعت وذلك بامرارها مباشرة على الوسط الزرعي(SDA) والمستخدم لغرض عزل وتشخيص وحفظ عزلات الخميرة وبواقع مكررين لكل عينة وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجه حرارة 37ْم ولمده(4-7) يوم. فحصت الاطباق لملاحظة النمو بعد مرور(4) ايام.

٥- العزل والتشخيص:

بعد ظهور النمو على الوسط (SDA) استبعدت الفطريات التي ظهرت وتم التأكيد فقط على صفات الخميرة حيث لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية من حيث اللون وشكل المستعمرة وارتفاعها عن سطح الاكر وقوامها، ولغرض التشخيص نقلت اجزاء من المستعمرة بواسطة ناقل معقم الى شريحة زجاجية نظيفة تحتوي على صبغة اللاكتوفينول حيث شخصت خميرة الـC.albicans بالاعتماد على المصادر (Elli,1994; De Hoog & Guarro,1995)، ولغرض تنقية وحفظ هذه العزلات نقلت اجزاء من المستعمرة الى اوساط مائلة(Slant) للوسط الزرعي (SDA) وحظنت في درجه حرارة 37 م.

الاختبارات الكيميوحيوية : Biochemical tests

أ- القابلية على تخمر السكريات : Sugars fermentation

اجري هذا الاختبار طبقا لطريقه Buckley (1989) وكما يلي:

حضر عالق الخميرة C.albicans باستعمال مزرعه فتية بعمر يومين(48) ساعة زرعت على وسط(SDA) اذ اضيف 5 مل من الماء المقطر لكل مزرعة ثم رجت جيداً للحصول على العالق.

تم وضع انبوب درهم(Durham) في داخل انبوبة اختبار حاوية على 5 مل من وسط تخمير السكريات الحاوي على كاشف البروموثايمول الزرقاء كدليل على تغيير اللون ، اضيف بعدها 0.5مل من محلول السكر المراد اختباره (استخدمت ثلاث سكريات هي الكلوكوز ، السكروز واللاكتوز) ثم لقح باضافة 0.2 مل من عالق الخميرة بعد حضن لمده (٢٤-٧٢) ساعة بدرجة حرارة 30ْم، تم التعرف على النتيجه الموجبه من خلال تجمع الغاز في الجزء العلوي من أنبوب درهم الموضوع بشكل مقلوب داخل أنبوبة الاختبار والذي يدل على قدرة الخميرة على تخمير السكر وإنتاج CO2 وبالتالي تغير لون الكاشف الى الاصفر.

ب- القابلية على تمثيل السكريات : Sugars assimilation

اعتمدت طريقه Buckley (1989) وكما يلي :

حضر عالق الخميرة C.albicans المراد اختبارها وكما ورد في طريقه تخمر السكريات وحضرت محاليل السكريات التالية والتي استخدمت في الاختبار(سكر الكلوكوز، السكروز واللاكتوز) بعدها صب وسط تمثيل السكريات والحاوي على كاشف بروموكريسول الارجواني كدليل على تغيير اللون في اطباقه بتري. عملت حفر في الوسط تحت ظروف معقمة وبعدها تم نشر عالق الخميرة C.albicans المحضر باستخدم مسحه قطنية.

ملئت الحفر الموجودة في اطباق بتري بالمحاليل السكرية المراد اختبارها وبمقدار 0.1 مل، حضنت الاطباق في درجه حرارة 30ْم ولمده(48) ساعة. دونت النتيجة الايجابية حال ظهور نمو حول الحفر الحاوية على السكر والذي تمكنت من تمثيله حيث يتغير لون الوسط الى الاصفر.

جـ - القابلية على تحلل اليوريا: Urea hydrolysis

استعمل هذا الاختبار للكشف عن قدره خميرة C.albicans في انتاج انزيم اليوريز Urease محلل اليوريا بالاعتماد على طريقه Buckley (1989) وكما يلي:

تم نقل لقاح من مزرعة C.albicans والنامية على وسط (SDA) الى وسط اليوريا وملاحظة تغير لون الوسط من الأصفر الى الأحمر في حال النتيجة الايجابية.

الاختبارات البيئية : Ecological tests

أ- درجه الحرارة:

اجري هذا الاختبار بتنمية الخميرة C.albicans على الوسط الزرعي(SDA) في درجه حرارة 37 ْم و ٤٥ ْم لمدة (٣-٦) ايام حيث يعد الاختبار موجبا عند ظهور النمو (Ellis,1994)، تم قياس أقطار النمو لكل درجة حرارة.

ب- الرقم الهيدروجيني : (pH)

اجري هذا الاختبار بتنمية الخميرة C.albicans على الوسط الزرعي (SDA) وفي ارقام هيدروجينية مختلفة (٤- ٥- ٦) ولمدة (3) أيام حيث يعد الاختبار موجبا عند ظهور النمو ، تم قياس اقطار النمو لكل رقم هيدروجيني.

النتائج : Results

١- عزل و تشخيص الخميرة Candida albicans

جمعت(20) مسحة من الأطفال المرضى الذين راجعوا مستشفى الصدر التعليمي في ميسان ومن كلا الجنسين.

تم الحصول على خميرة Candida albicans من(12) مسحه وبنسبة (60 %) وبواقع(7) مسحات من الفم و(4) مسحات من الاذن و(1) من الجروح.

اظهرت الدراسة الحالية ان الذكور اكثر اصابة من الإناث حيث ظهرت الخميرة في (8) مسحات للذكور و(4) مسحات للاناث.

كما بينت هذه الدراسة ان الفئة العمرية من (2-3) سنة اكثر الفئات اصابه حيث بلغ عددها (8) .(جدول ١) .

٢- الدراسة الكيميوحيوية : Biochemical study

أ- اختبارات تخمير وتمثيل السكريات:

أظهرت نتائج اختبار التخمر وجود غاز في انبوب درهم بالنسبة للفحص الموجب وكذلك تحول لون الوسط من بنفسجي الى اللون الاصفر، اما تمثيل السكريات فأن ظهور النمو حول الحفر الموضوع بها السكر وتغير لون الوسط الى اللون الأصفر يعد نتيجة ايجابية حيث اظهرت عزلات خميرة Candida albicans قدره في تخمر وتمثيل السكريات (الكلوكوز والسكروز) ماعدا سكر اللاكتوز(جدول٢) .

ب- اختبار تحلل اليوريا:

كانت نتيجه هذه الاختبارات سالبه حيث لم تستطيع العزلات تغيير لون الوسط من الاصفر الى الاحمر(جدول٢).

٣- الدراسة البيئية : Ecological study

أ- درجه الحرارة:

اظهرت العزلات نمو واضحا عند درجه حرارة 37ْ م بينما كان النمو ضعيفا عند درجه حرارة 45ْ م وبقياس اقطار المستعمرات ظهر ان قطر المستعمرات عند 37ْ م تراوحت بين(٣٥-٣٧)ملم بينما كان قطر المستعمرات عند درجة الحرارة 45ْ م هو بين (20-22) ملم.(جدول 2)

ب- الرقم الهيدروجيني (pH):

اظهرت العزلات المختبرة نموا واسعا عند الرقم الهيدروجيني(6) وبمعدل اقل عند الرقم الهيدروجيني(5) واقل من ذلك عند الرقم الهيدروجيني(4) اذ بلغت اقطار المستعمرات بين(٣٨-٤٠) ملم عند الرقم الهيدروجيني(6) و (٢٥-٢٨) ملم عند الرقم الهيدروجيني (5) و (١٨-٢٠) ملم عند الرقم الهيدروجيني١ذ(4) . (جدول ٢).

جدول(١): توزيع العزلات حسب موقع الاصابه والجنس والعمر.

الخميرة المعزولة	عدد العزلات حسب موقع الاصابه			عدد العزلات حسب الجنس والفئات العمرية					
	الفم	الاذن	الجروح	ذكور* (٢-٣) سنة	اناث* (٢-٣) سنة	ذكور(4) سنة	اناث (4) سنة	ذكور (5) سنة	اناث (5) سنة
Candida albicans	7	4	1	6	2	2	1	-	1

(*)الفئات العمرية (٢-٣) سنة تمثل السنة الثانية والثالثة داخل.

جدول (٢): بعض الصفات الكيميوحيوية والبيئية المختبرة لخميرة Candida albicans

الخميرة المعزولة	اختبار تخمر السكريات			اختبار تمثيل السكريات			اختبار تحلل اليوريا	اختبار درجة الحرارة*			اختبار الرقم الهيدروجيني pH			
	الكلوكوز	السكروز	اللاكتوز	الكلوكوز	السكروز	اللاكتوز		37	45	4	5	6
Candida albicans	+	+	-	+	+	-	-	+ +	+	+	++	+ + +

* جميع العزلات نمت في درجه 37 ° م 45ْم ، ++ (قطر المستعمرة يتراوح من 35-37 ملم)، +(قطر المستعمرة يتراوح من 20-22 ملم).

- جميع العزلات نمت عند الأرقام الهيدروجينية 4 ، 5، 6، +++ (قطر المستعمرة يتراوح من
- 38-40 ملم)، ++ (قطر المستعمرة يتراوح من 25-28 ملم)، + (قطر المستعمرة يتراوح من 18-20 ملم).

المنـــاقشـــة : Discussion

بينت الدراسة الحديثة الى ان خميرة الـCandida albicans كانت الاكثر ظهورا من بقية المبيضات ، ان هـذه النتيجـة تتفـق مـع الكثيـر مـن النتـائج الدراسـية ومنهـا Mbakwem etal., (2012) والحجامي(2001) الذين ذكرا الى ان هذا النوع يشكل اعلى نسبه من اصابات المبيضات كونه جزء من النبيت الطبيعي للجسم وكذلك بسبب امتلاكه لعوامل الضراوة التي تساعدها في احداث اصابة (Prescott etal.,2002).

كما اظهرت الدراسة ان منطقة الفم هي الاكثر اصابة وهذا يعود الى ان هذه الخميرة تتواجد بشكل طبيعي في الفم وان اي تغيير في النبيت الطبيعي للفم كالنقص الحاد في البكتريا سيؤدي الى تواجد هذه

الخميرة في الفم وهذا يتفق مع ما توصل اليه Mbakwem etal., (2012) علاوة على ان اغلب المسحات التي جمعت في هذه الدراسة هي لأطفال يعيشون في مجتمعات فقيرة حيث يقل الاهتمام بالنظافة الشخصية وخاصة نظافة الفم والذي يعد من عوامل الاصابة بهذه الخميرة (Ryan and Ray, 2009).

كما يمثل الفم حلقة الوصل بين الجسم والمحيط الخارجي وهو المكان الذي تدخل من خلاله بعض الاحياء المجهرية الممرضة خصوصا من الهواء او عن طريق تناول المواد الغذائية (Ruby and Goidner, 2007) وان المسبب الرئيسي للمبيضات الفموية يعود الى خميرة C. albicans (Nejad etal.,2011)

ان عزل خميرة المبيضات Candida albicans من الاذن يعود لعدم تنظيف هذه المنطقة حيث تكون عرضة دائما للتلوث كما ان العوامل البيئية المتوفرة في الاذن من رطوبة وحرارة كلها عوامل تساعد على تزامن وتواجد هذه الخميرة مع تلوث الاذن (Mackic and McCartney,2008).

اما بالنسبة للفئات العمرية فقد ظهر من خلال هذه الدراسة ان الفئة العمرية من (٢-٣) سنة هي الاكثر اصابة وقد يرجع السبب في ذلك الى ان هذه الفئات هي الاكثر حركة ونشاط وخاصة بالنسبة للذكور الذين هم أكثر إصابة من الإناث حيث تزداد حركتهم في الاماكن الملوثة بأبواغ المبيضات وحيث ان إمراضيه الخميرة C. albicans تعتمد بالأساس على عاملين رئيسيين اولهما مناعة المضيف وثانيهما عوامل الضراوة التي تمتلكها (Calderone,2002) ، وهذان العاملان متوفران في الدراسة الحالية فضعف مناعة الاطفال لصغر اعمارهم وعوامل الضراوة العالية التي تمتلكها خميرة C. albicans جعل هذه الفئة العمرية اكثر اصابة وهذا يتفق مع ما ذكره (Qi etal.,2005) .

وفيما يخص الدراسة الكيميوحيوية فقد اظهرت الدراسة الحالية قدرة عزلات الخميرة Candida albicans على تخمر السكريات(سكر الكلوكوز والسكروز) من خلال تغير لون الكاشف الى اللون الأصفر وكذلك تجمع الغاز في الجزء العلوي من انبوب درهم بينما لم يستطيع تخمير سكر اللاكتوز كما أظهرت العزلات قدره على تمثل السكريات(الكلوكوز والسكروز) من خلال ظهور نمو حول الحفر المملؤة بالسكر قيد الاختبار مع تغير لون الوسط الى اللون الاصفر، ولم تستطيع تمثيل سكر اللاكتوز وهذا يؤكد اهمية هذه السكريات في تحفيز هذه الخميرة وزيادة قدرتها على الالتصاق (McCourtie &Douglas, 1984) وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (الشبلي،2006 ; Al-Saidy,2015) .

وفي اختبار تحلل اليوريا عجزت جميع العزلات عن تحلل اليوريا وهذا يشير الى عدم قدرتها على انتاج انزيم اليوريز Urease وهذا يتفق مع ما توصل اليه الشبلي (2006).

اما الدراسة البيئية فقد اظهرت عزلات الخميرة Candida albicans قدره على النمو في درجه حرارة 37ْم و 45ْم الا ان النمو عند درجه 37ْم كان اسرع وبقطر اكبر من النمو عند درجة حرارة 45ْ م.

وبينت الدراسة الحالية قدره الخميرة Candida albicans على النمو بشكل واسع عند الرقم الهيدروجيني(6) اكبر من الرقمين (5-4) وبقطر نمو اكبر حيث يمثل هذا الرقم الاس الهيدروجيني الامثل لنموها (Oods,1979).

المصـــــــادر : References

اولا : المصادر العربية:

١. الحجامي، شيماء نغيمش مزعل (2001) . عزل وتشخيص المبيضات البيضاء Candida albicans من المهبل ودراسة عوامل ضراوتها وحساسيتها للمضادات الفطرية. رسالة ماجستير - كلية التربية - ابن الهيثم - جامعه بغداد.

٢. الشبلي، ماجد كاظم عبود (2006) . تأثير العزلات السريرية لخميرة المبيضات Candida Spp. دراسة بيولوجيه ونسيجيه مرضية في محافظه الديوانية. اطروحه دكتوراه - كلية التربية - جامعه القادسية.

٣. عبد الحسين، محمد محسن(2001) . دراسة حول الفطريات الانتهازية المصاحبه لالتهابات الاذن الوسطى في محافظه القادسية - رسالة ماجستير - كلية التربية- جامعه القادسية.

ثانيا : المصادر الاجنبية:

1. Aisner, J. and Murillo, j.(1989). Invasive mycosis in acute Leukemia .J. Ann. Med.8:12-16.

2. Al-Doorky,S.Y.(2005). Isolation and identification of fungi associated with immune compressed patients and study of the immune response against Candida albicans . Ph.D. Thesis college of science , Al-Mustansiriya university.

3. Al-Duboon, A.H. (1997).A Study on Superficial Cutaneous Mycosis in Basrah (Iraq) Ph.D. thesis. Collage of science Univ. of Basrah .

4. Al-Saidy,H.A.M.(2015).Diagnosis of some types of yeast associated with the human body and treated in the garlic and colocynths extracts, European journal of Agriculture and forestry research , vol3,no.1,pp1-14.

5. Bodey, G.P.(1993). Candidiasis diagnosis and treatment .(2nd)ed. New york. Raven press.

6. Bukley, H.R.(1989).Identification of yeast in Evans ,E,Q &Richard, M.D. Medical Mucosis: A practical approach . IRL . press. Oxford univ. press.

7. Calderone, R.A.(2002). Candida and Candidiasis , American society for Microbiology press, Washington, DC.USA.

8. DeHoog, G.S. and Guarro, j.(1995).Atlas of clinical fungi central bureau voors chimmel cultures. Universitar Rovira invirgili, Netherlands, Spain pp:720.

9. Ellis ,D.H.(1994).Clinical Mycology : The human opportunistic mycosis.Gillingham printers .Pty. Ltd. Australia.

10. Ellis,D. (2007). An Introduction to medical mycology .mycology unit women's and children's hospital , Adelaide.

11. Emmons,C.W.; Binford ,C.H. and Utz,J.P.(1974).Candidiasis.in medical mycology .Lea and Fibiger.2nd ed.Philadelphia.

12. Kaminishi, H.; Hagihara,Y. ; Hayashi , S.and Cho, T. (1986). Isolation and characteristic of a collagenolytic enzyme produced by Candida albicans .infect.immun. 53:312-316.

13. Kreger –Van, N.j.(1984).The yeast : A taxonomic study .3rd ed. Eiservier science publishers.B.V. Amsterdam .Netherlands.

14. Mackie,T.J. and McCarthey,J.E.(2008).Medical Microbiology : A guide to microbial infection: pathogenesis ,immunity, laboratory diagnosis and control 15th edtion.pp175-78,309-11 189,406 and 464.

15. Mbakwem,A.C.;Odoemelam,H.A. and Okonko,I.O.(2012).Isolation and Identification of Candida albicans and Staphylococcus aureus from oral swabs amony primary school pupils in Uzuakoli,Abia state ,Nigeria, Nature and Science: 10(8).

16. Mc Courtie, j and Dauglas, L.T. (1984). Relationship between cell surface composition, adherence and virulence of Candida albicans . infection and immune. 45:6-12.

17. Mehdi,L.K.(1993). Candida species as intestinal flora , their over growth and absence . M.Sc.Thesis .College of Medicine ,University of Baghdad .Iraq.

18. Nejad,B.S;Rafiei,A. and Moosanejad,f.(2011). Prevalence of Candida species in the oral cavity of patients with peridentitis . African journal of Biotechnology , 10(15):2987-2990.

19. Oods,F.S.(1979).Candida and Candidiasis .Leicester University press.pp.381.UK.

20. Prescott,M.L. ;Harley,P.J. and Klein,A.D.(2002). Microbiology 5th edition .McGraw Hill Companies INC.NewYork .919-923.

21. Qi,Q,G;Hu,T; and Zhou,X.O.(2005). Frequancy,spices and molecular characterization of oral Candida in hospital of different age in China. J oral pathol Med;34:352-356.

22. Reedy,J.L. ; Bastides,R.J.A and Heitman,J. (2007) .The virulence of Human pathogenic Fungi : Notes from the south of France .

23. Ruby,J.Geidner,M.(2007). Nature of Symbiosis in oral disease .J.Dent.Res.86:8-11

24. Ryan,K.J. and Ray,C.G.(2009). Sherris medical microbiology ,4th edition .McGraw Hill companies INC. NewYork.pp34-36.

25. Samsherkhan,S.;Pathan and Dr. Mitesh H.Patel.(2013). A Microbiological study of Fungal etiology in various clinical specimens of patients attending the tertiary care hospital .Int J pharm sci. 5 (3);333-335.

26. Soll, D.(1992). High frequency switching in Candida albicans . clin. Microbial. Rev. 5:183-203.

27. Torba,D.H.;Lika,M. and Sinani,F.(2012) . Frequency of Candida genus at the pulmonary patients, their identification and characterization Albanin. J.Agric. sci 11:2218-2220.

28. Veses,V;Richard, A. and Gow,N.A.R.(2009). Vacuole inheritance regulates cell size and branching frequency of Candida albicans hyphae. Molecular Microbiology , 71(2):505-519.