مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد التاسع عشر - المجلد الثاني - علوم الحياة - كانون الثاني 2022 م
doi.org/10.52866/esj.2022.02.19.04

عزل وتشخيص المبيضات عند الاطفال المصابين بداء السلاق الفموي ودراسة قدرتها على أنتاج انزيمي Protease , hemolysins

زيدون وليد محمد الشيخلي ، هوازن احمد عبد
جامعة تكريت / كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة :

تضمنت ألدراسة الحالية عزل وتشخيص الخمائر المسببة لداء المبيضات الفموي عند الاطفال المصابين بداء السلاق الفموي في مستشفى صلاح الدين العام والمشخصة اصابتهم من قبل الاطباء خلال المدة من(4-11 -2019) ولغاية (27-1-2020) بواقع 100 عينة والكشف عن بعض عوامل الضراوة ، اظهرت نتائج الفحص المجهري المباشر عن وجود 87 عينة موجبة بنسبة 87٪ فيما كانت العينات السالبة 13 عينة وبنسبة 13٪ من المجموع الكلي للعينات، بينما اظهرت نتائج زراعة المسحات على وسط السابروبد دكستروز الصلب (SDA) بان 74٪ كانت موجبة بينما 26٪ من المسحات لم تظهر أي نمو. في هذه الدراسة تم عزل وتشخيص خمسة أنواع من الخمائر، وهي ، *Candida albicans* ، *Candida topicals* ، *Candida glabrata* , *Candida Krusei* , *Candida parapsilosis* ، السائدة منها هي خميرة *C.albicans* بنسبة بلغت 56.8٪ اما الأنواع الأخرى فقد كانت بالنسب المئوية (17.6٪ ، 12.1٪، 8.1٪ ، 5.4٪) على التوالي . وتم دراسة قابلية انواع الخمائر المعزولة على انتاج انزيم البروتييز Protease فكان كل من خميرة *Candida albicans* و *Candida topical* و *Candida parapsilosis* لديها القدرة على انتاج هذا الانزيم بنسب مئوية بلغت 88.1٪)، 61.5٪ ، 25.0٪)، كذلك تم اختبار قدرة الخمائر على انتاج Hemolysin الذي يعد عامل ضراوة مهم في احداث الاصابة ، أذ كانت الخمائر *Candida glabrata* ، *Candida topicals* ، *Candida albicans* قادرة على انتاج الهيمولايسين بنسبة مئوية بلغت 100٪.

كلمات مفتاحية: المبيضات ، هيمولايسين ، بروتييز ، داء السلاق .

Isolation and Diagnosis of Candida in Children with Oral Thrush and Studying its Ability to Produce the Enzyme Protease, hemolysins

Zaidoun Walid M. Al-Sheikhly Hawazin Ahmed Abid
Tikrit University / College of Science -Biology Department

Abstract :

The current study included the isolation and diagnosis of the yeasts that cause oral candidiasis in children with oral thrush in Salah El-Din General Hospital who were diagnosed with infection by doctors during the period from 2019-11-4 Up to 2020-1-27 by 100 Sample. Moreover, detect some factors pathogenicity , The results of direct microscopy showed the presence of 87 A positive sample with a ratio 87% Whereas, While the negative samples were 13 samples, at a rate of 13% of the total sample, the results of the swabs culture were shown on solid dextrose saproid medium (SDA) that 74% was positive while 26 % Of swabs did not show any growth. In this study it was isolated and diagnosed five types of yeast, and is *Candida albicans* ، *Candida topicals* ، *Candida glabrata* , *Candida Krusei* , *Candida parapsilosis* ، yeast is predominant C. albicans Rate reached 56.8. Whereas, the other types, they were in percentages (17.6%, 12.1%, 8.1% ,5.4%) straight. The rate of male infection was higher than that of females, when it reached puberty 68.9 % in males and 31.1% For females. The ability of the isolated yeast species to produce the protease enzyme was studied. *Candida albicans, Candida topical* and *Candida parapsilosis* had the ability to produce this enzyme at percentages of (88.1%, 61.5%, and 25.0%). The ability of the yeast to produce Hemolysin was also tested. Candida albicans, Candida topicals, and Candida glabrata were able to produce hemolysin at a percentage of 100%.

المقدمة Introduction

داء المبيضات Candidiasis هو إصابة فطرية أولية أو ثانوية تحدث بواسطة انواع جنس *Candida spp* وهذه الأصابة تكون أما حادة Acute، معتدلة Sub-acute، أو مزمنة Chronic، ويسبب الممرض أصابة موضوعية في الفم والبلعوم والجلد والمهبل والأصابع والأظافر والقصبة الهوائية ومن الممكن أن ينتشر داخل الجسم فيصيب الرئتين والقناة المعدية المعوية او أصابات جهازية System infection إذ إن وجود الفطريات في الدم تعد حالة مرضية تعرف بـ Funge-mia او قد يكون التهاب شغاف القلب الداخلي En-docarditis, والتهاب السحايا Meningitis ويختلف المظهر السريري للمرض حسب مكان الإصابة [2,1]. ازدادت في السنوات الأخيرة اهمية البحث عن حالات الإصابة بالفطريات وتكرارها؛ ويعزى ذلك إلى تزايد عدد المصابين بالأمراض التي تضعف الجهاز المناعي كالسكري (Diabetes Mellituts) والتدرن الرئوي (Tuberculosis) وسرطان الدم (ابيضاض الدم: Leukemia) ومرض نقص المناعة المكتسب - الإيدز (Acquad Imunmodeficiency Syndrome)[3].

اذ ان الالتهابات أو الإصابات التي تصيب الجسم في مناطق مختلفة كالفم والقناة التنفسية والجلد والقناة التناسلية المهبلية كان المسبب هو *Candida Spp* وتشترك بعض انواع البكتريا في إحداث الإصابة ، إلا أن أكثر المسببات تعود الى الخمائر التابعة لجنس المبيضات *Candida spp* [2]. وتكون المبيضات Candida مسؤولة أيضا عن داء السلاق الفموي الذي يصيب الأطفال، وهي مسؤولة أيضا عن داء المبيضات المهبلي Vagini-tis فضلا عن الإصابات الجلدية Skin infection [1]. بالرغم من كون المبيضات جزء من الاحياء المجهرية الطبيعية في الفم والجهاز الهضمي أذ تتواجد بكميات قليلة ولا تسبب أية إصابة عند تواجدها مع البكتريا *Lactobacillus* التي تثبط نموها والتصاقها، إلا أنه عند غياب البكتريا تتحول هذه الخمائر إلى كائنات ممرضة لها القابلية على أحداث الإصابة في مناطق مختلفة أذ تعد من الفطريات الانتهازية. يتواجد ما يقارب (200) نوع يرجع الى جنس *Candida spp* الأ أنه هنالك حوالي (20) نوع فقط تكون مسؤولة عن داء المبيضات للانسان والحيوان[3]، تعد خميرة *C.albicans* المسبب الرئيسي للإصابة، ويأتي بعده الأنواع الأخرى مثل *C.glabrata , C.krusei ، C.kefyr ، C.parapsilosis C.norvegenesis*, وغيرها[5,4]. ترجع قدرة المبيضات في احداث الاصابة الى امتلاكها لعوامل الضراوة التي تمكنها من مقاومة الظروف المحيطة بها، إذ تمتلك القابلية على تحمل درجات الحرارة المرتفعة 37 مْ، والقدرة على تغيير شكلها (Dimorphism)، وانتاجها للانزيمات المحللة، بالإضافة إلى قدرتها على الالتصاق بجدران الخلايا واختراق انسجة المضيف من خلال إفراز الأنزيمات المحللة [6] .

المواد وطرائق العمل
Materials and methods

جمع العينات

تم الحصول على العزلات الفطرية من الاطفال المرضى المصابين بداء المبيضات الفموي المراجعين أو الراقدين في مستشفى صلاح الدين العام، حيث اخذت مسحات فموية بواسطة مسحات قطنية معقمة Sterile cotton swabs عن طريق امرار الممسحة فوق منطقة الاصابة وتدويرها بلطف مع مراعاة عدم لمس الاجزاء غير المصابة لتفادي التداخل مع الاحياء المجهرية الطبيعية للفم. اذ تم جمع 100 مسحة للفترة من 2019/ 11/ 4 ولغاية 2020/ 1/ 27 .

الفحص المجهري المباشر

Direct microscopial Examination

وضع جزء من العينة المأخوذة بالمسحات على شريحة زجاجية وأضيف اليها قطرة من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH 10 ٪ ، بعدها غطيت بغطاء الشريحة وتم تمريرها على اللهب وذلك بتحريكها فوق اللهب مرتين او ثلاث مع تجنب الغليان وبعدها تم فحصها بالمجهر تحت القوة 10X تم القوة 40X للتأكد من وجود الخمائر [7] .

زراعة العينات :

تم زراعة العينات المأخوذة بالمسحات على الوسط الزرعي سابرود دكستروز اكار وحضنت الاطباق المزروعة بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة تتراوح بين 24– 48 ساعة [8].

التشخيص Identification

الخصائص المظهرية Morphological Characteristics

تم فحص المظهر الخارجي للمستعمرات والمتضمن شكل ولون وقطر المستعمرة وارتفاعها بعد أن تم زرعها على وسط (SDA) [9].

الخصائص المجهرية Microscopic Characteristics

تم تحضير شريحة زجاجية ونقل اليها جزء من المستعمرة بواسطة الناقل ومزجت مع قطرة من المحلول الملحي الفسلجي (Normal saline) وتركت لتجف ، بعدها تم تثبيتها على لهب النار وتم تصبيغها بصبغة اللاكتوفينول ازرق القطن وغطيت بغطاء الشريحة الزجاجية ثم فحصت بالمجهر الضوئي تحت القوة 10X و 40X لملاحظة شكل وحجم الخميرة وتبرعمها [10] .

الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

اذ تم اجراء عدد من الاختبارات الكيموحيوية ومنها :

فحص اليوريا Urease test

تم اجراء هذا الاختبار من خلال تلقيح انابيب تحتوي على وسط أكار اليوريا بشكل مائل بعزلات نقية بعمر 24 ساعة بطريقة الطعن والتخطيط وتم تحضينها لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 مْ، أن التحلل التام لليوريا يحدث اذا تغير لون الوسط من اللون الأصفر إلى الأحمر او الوردي الغامق[11] ، في حين بقاء لون الوسط اصفر وعدم تغييره فأن ذلك يدل على عدم قدرة الخميرة على تحلل اليوريا، أما عند تحول لون الوسط من الأصفر الى وردي فاتح فأنه يدل على حدوث تحلل جزئي لليوريا .

اختبار تكوين الأنبوب الجرثومي

Germ tube Forming test

تم اجراء هذا الاختبار بنقل مستعمرة نقية من الخميرة بعمر 24 ساعة في إنبوب إختبار يحتوي على 0.5 مل من مصل الإنسان، ثم حضن المزيج بدرجة حرارة 37 مْ لمدة لا تزيد عن 3 ساعات، بعدها أخذت قطرة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت بالمجهر لمشاهدة أنبوب الإنبات، أن الاختبار مميز للنوع *C.albicans* حيث نلاحظ بروز الأنبوب الجرثومي من إحدى جوانب الخلية بشكل تبرعم بطول (3–4) مرات من طول الخلية الفطرية نفسها [10].

القابلية على تكوين الأبواغ الكلاميدية

Chlamydospores Forming test

تم اجراء هذا الاختبار للكشف عن قابليه عزلات خميرة *C.albicans* قيد الدراسة على انتاج الأبواغ الكلاميدية وذلك على طريق استعمال وسط اكَار الذرة (Com Meal Agar)، أذ اخذت كمية من المستعمرة النامية على SDA دون ملامسة الوسط بوساطة ابرة الزرع المعقمة جيداً ومنها تم عمل خطين متوازيين على

وسط الذرة CMA ثم عقمت الابرة وعملت خطوط متعامدة على الخطين السابقين لغرض التخفيف وبدون خدش الوسط الزرعي ووضع غطاء الشريحة فوق الخطين السابقين.وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25مْ لمدة 24 ساعة، ثم رفع الغطاء بواسطة ملقط معقم وتم وضعه على الشريحة الزجاجية ووضعت قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء وفحصت تحت المجهر لملاحظة وجود السبورات الكلاميدية او عدم وجودها[12].

اختبار النمو على وسط كروم اكار

Growth test on Chrom Agar

أجري هذا الاختبار بأخذ جزء من مستعمرة الخميرة النامية على وسط SDA بعمر 24 ساعة وزرعت على وسط كروم اكار وحضنت لمدة (48-24) ساعة بدرجة حرارة 37 مْ، حيت ظهرت خميرة C.albicans بلون أخضر و *C.glabrata* وردي فاتح الى كريمي، بينما *C.krusei* وردي غامق، أما *C.parapsiosis* بلون ابيض، و *C.tropicals* فظهرت بلون ازرق او اخضر مزرق [13] .

اختبار تخمر السكريات Sugar fermentation test

تم اجراء هذا الاختبار على وفق ما جاء به Milne [14] وذلك بأضافة 2مل، من وسط تخمر السكريات الى أنابيب أختبار، وأضيف اليها 2 مل من محلول السكريات الخزين (مالتوز، سكروز، لاكتوز، كالكتوز، كلوكوز)، واضيف اليها بعد ذلك قطرات من أحمر الفينول (Phe-nol Red) لغاية ملاحظة تغيير لون الوسط الى الأحمر، ثم لقحت الانابيب بعالق الخميرة وتم حضنها بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة يومين ، وان دليل ايجابية الاختبار هو تغيير لون الوسط من الأحمر الى الاصفر.

اختبار قدرة الخميرة على النمو في درجة حرارة 45 مْ

يتم اجراء هذا الاختبار للتميز بين الخمائر التي تظهر متقاربة على وسط الكروم اكَار مع لون خميرة *C.albicans* وتم الاختبار بالاعتماد على ماورد في Pinjon [15] وذلك بتنمية الخمائر على وسط SDA بدرجة حرارة 45 مْ ولمدة (72-48) ساعة وعند ظهور النمو فأنة دلالة على وجود خميرة *C.albicans* .

الكشف عن عوامل الضراوة:

اختبار تحليل الدم Hemolysin Test

اجري هذا الاختبار على وفق ما جاء في Collee [16] وذلك للكشف عن قدرة الخمائر على تحلل الدم، أذ استخدم وسط SDA المعقم واضيف اليه 7٪ من دم الأغنام، ونقل جزء من المستعمرة الفطرية الى الطبق بطريقة التخطيط او باستعمال ثاقب فليني، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة ودونت النتائج على اساس ملاحظة منطقة التحلل حول [17] .

اختبار انتاج البروتيز Proteinase Test

تم تلقيح وسط أكَار الحليب بنقل مستعمرة فتية بعمر 24 ساعة بلقاح على شكل بقع، على وسط الحليب، ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة (24 -48) ساعة وأن ايجابية الاختبار تقرأ من خلال تكون منطقة شفافة حول منطقة التلقيح [18] .

النتائج والمناقشة
Results and Discussiom

فحص العينات المعزولة

جمعت 100 عينة من الاطفال المصابين بداء المبيضات الفموي مشخصة سريرياً من قبل أطباء الاطفال المختصين في مستشفى صلاح الدين العام للفترة الزمنية من 4-11-2019 ولغاية -1-2020 27، أذ خضعت العينات المعزولة لكل من الفحص

المجهري المباشر باستخدام ٪10 KOH اثناء العزل والفحص المختبري بعد زراعة العينات، عندها اظهر الفحص المجهري المباشر بوجود 87 عينة موجبة وبنسبة ٪87 فيما كانت العينات السالبة 13 عينة وبنسبة ٪13 من المجموع الكلي للعينات بينما اظهرت نتائج زراعة المسحات على وسط السابرويد دكستروز الصلب (SDA) بان ٪74 كانت موجبة بينما ٪26 من المسحات لم تظهر أي نمو. هذه النتائج تتفق مع ما توصلت اليه الخفاجي(21) اذ جمعت 100 اصابة من مرضى مصابين بداء المبيضات الفموي وبلغت نسبة الاصابة في الفحص المجهري المباشر٪96 اما نتائج الزرع المختبري فكانت اقل وبنسبة ٪94. بينما لاتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه السبهاني (20) اذ كانت نسبة الاصابة ٪40 الفحص المجهري المباشر وكانت نسبة ٪50 للزرع المختبري، وكما موضحة في الجدول (1).

جدول رقم (1) نتائج الفحص المجهري المباشر والزرع المختبري

نوع الفحص	الفحص المجهري المباشر	٪	الزرع على الاطباق	٪
VE +	87	٪ 87	74	٪ 74
VE–	13	٪ 13	26	٪ 26
المجموع	100	٪ 100	100	٪ 100

Chi-Square = 5.383 P-Value = 0.020 *

قد يعود سبب وجود نتائج سالبة في الفحص المجهري والزرع المختبري الى ان هذا التشخيص يعتمد على خبرة الاطباء كما ان هنالك عدة امراض تشابه داء المبيضات في الاعراض مثل التهاب الفم الفيروسي والبكتيري أو بسبب تعاطي المصابين للمضادات الفطرية دون استشارة الطبيب، ويمكن ان تكون ظروف التنمية على الاوساط الغذائية او الظروف البيئية التي اعتمدت في الدراسة غير ملائمة لنمو الخميرة [19]. كما ويعزى السبب إلى ان كمية العينة التي تم جمعها قليلة وغير كافية لإعطاء نتيجة موجبة، أو خطأ في طريقة جمع العينة.

الاختبارات التشخيصية :

الصفات الزرعية: تم تشخيص جنس الـ *Candida spp* بحسب ما جاء به Ellis وجماعته[10] بالاعتماد على الصفات الزرعية والمجهرية والفحوصات الكيموحيوية، حيث ظهرت انواع هذا الجنس عند تنميتها على الوسط الزرعي SDA في درجه حرارة 37 °م ولمدّة من (24_ 48) ساعة بشكل مستعمرات بيضاء اللون إلى حليبية، ملساء لماعة، ومحدبة كما وتمتاز برائحتها المميزة. ويستعمل الوسط SDA بشكل واسع لعزل انواع الخمائر لمختلفة[22].

الفحص المجهري : فحصت المستعمرة بعد تصبغيها بصبغة الكريستال البنفسجية وصبغة اللاكتوفينول الزرقاء، فظهرت الخلايا كروية الشكل إلى بيضوية أو طولية مفردة ومتبرعمه، أذ جاءت هذه النتيجة متطابقة مع ما اشار اليهSudbery وجماعته [23].

التشخيص بأستعمال الوسط الزرعي Chrom Agar

يعتبر اختبار النمو على وسط كروم اكار (Chrom

Agar) من الطرق الجديدة والسريعة في تشخيص أنواع المبيضات على مستوى اللون بعد التلقيح والحضن، أذ بينت نتائج الاختبار ظهور المستعمرات بالوان مختلفة على وسط Chrom Agar، حيث ظهرت مستعمرة *C.albicans* بلون اخضرفاتح ، خميرة *C.parapsilosis* باللون الأبيض، بينما خميرة *C.glabrata* ظهرت مستعمراته باللون الوردي الفاتح الى الكريمي، وخميرة *C.troipcals* ظهرت باللون الازرق ، اما خميرة *C.krusei* وردي غامق، هذه النتائج مطابقة لما توصل اليه kumar و Edward[2]، علي[24] وكذلك مطابقة لألوان الشركة المصنعة للوسط .

قابلية تكوين الابواغ الكلاميدية

Chlamydospores formation

أجري هذا الاختبار للكشف عن قابلية انواع جنس *Candida spp*. على تكوين الابواغ الكلاميدية، ومن خلال ملاحظتنا للجدول (2) نجد أن جميع العزلات التابعة لخميرة *C.albicans* لها القابلية على تكوين الابواغ الكلاميدية، أما الانواع الاخرى فلم تكن لها القدرة على انتاج هذه السبورات تحت نفس الظروف، جاءت هذه النتائج مطابقة لما توصل اليه Saroj وجماعته[25]، والسعدي[26]. تعتبر أمكانية تكوين الابواغ الكلاميدية صفة تشخيصية خاصة بالنوع *C.albicans* وتعد أحد عوامل الضراوة .

قابلية تكوين الانبوب الجرثومي

Germ Tube Formation Test

استعمل هذا الاختبار للتميز بين المبيضات بالاعتماد على مقدرتها على تكوين انبوب الانبات .ومن خلال النتائج في الجدول (2) الاختبار نجد أن جميع العزلات العائدة للنوع *C.albicans* قد كونت الانبوب الجرثومي، اما العزلات التابعة للأنواع الاخرى لم تكون الانبوب الجرثومي تحت نفس الظروف، وجاءت هذه النتيجة متفقة مع Kumar و Edward [2] والسبهاني[21].

اختبار تخمر السكريات : بينت نتائج اختبار تخمر السكريات للمبيضات بعد تنميتها على وسط تخمر السكريات السائل كما موضحة في الجدول (2) اذ ان النتيجة الموجبة تشير لتغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر، اما بلنسبة للنتيجة السالبة هو عدم تغير لون الوسط، أن خميرة *C.albicans* لها القدرة على تخمير سكر الكلوكوز والمالتوز والكالكتوز اما السكروز واللاكتوز فلم تستطع العزلات العائدة لهذا النوع على تخميره. اما النوع *C.tropicalis* فأن العزلات العائده لهذا النوع استطاعت ان تخمر سكر المالتوز والكلوكوز والسكروز وكالاكتوز، اما النوع *C.parapsilosis* فان جميع العزلات العائده لهذا النوع قد خمرت سكر الكلوكوز ولم تخمر باقي السكريات، أما *C.glabrata* و *C. krusei* لهما القابلية على تخمير سكر الكلوكوز فقط، نلاحظ من خلال هذه النتائج ان جميع الانواع كانت لها القابلية على تخمير سكر الكلوكوز، حيث أن معظم الانواع المعزولة تميل الى استعمال سكر الكلوكوز كمصدر غذائي بسيط وغني بالطاقة، تتفق هذا النتيجة مع ما توصل اليه Ellis وجماعته [10].

اختبار تحلل اليوريا Urease test : بينت نتائج اختبار تحلل اليوريا والموضحة في الجدول (2) نجد أن جميع عزلات خميره Candida spp. غير قادرة على أنتاج انزيم اليوريز، وهذه النتائج تتفق مع ما جاء به Eellis وجماعته [10] وHorvath وجماعته [13].

Sugar fermentation					Chlamydospore	Ureas	Germ tube	*Candida spp*
Suc	Malt	Gala	lact	glu				
–	+	+	–	+	+	–	+	*C.albicans*
+	+	+	–	+	–	–	–	*C.tropicalis*
–	–	–	–	+	–	–	–	*C.galbrata*
–	–	–	–	+	–	–	–	*C. krusei*
–	–	–	–	+	–	–	–	*C.parapsilosis*

جدول (2) نتائج اختبارات انبوب الانبات ، اليوريا ، تخمر السكريات ، تكوين السبور الكلاميدي

أنواع المبيضات المعزولة من المرضى :

اظهرت نتائج الزرع المختبري والفحص المجهري للمبيضات الى تشخيص (5) انواع تعود للجنس *Candida spp*. أذ نلاحظ أن اكثر الانواع المعزولة تعود الى النوع *C.albicans* , حيث بلغ عدد العزلات 42 عزلة وبنسبة ٪56.8، تتفق هذة النتيجة تتفق مع الكثير من الدراسات المهتمة بعزل المبيضات الفموية والذين سجلوا بالمرتبة الاولى الخميرة *C.albicans* بالمقارنة مع الانواع الاخرى ومن هذه الدراسات ماجاء به كل من [28,27]، تليها خميرة *C.tropicalis* بواقع (13) عزلة وبنسبة ٪17.6، أما خميرة *C.glabrata* بلغ عدد عزلاتها (9) وبنسبة ٪12.1، تليها خميرة *C. krusei* بواقع (6) عزلات وبنسبة بلغت ٪8.1، واخيراً تأتي خميرة *C.parasilosis* بـ (4) عزلات وبنسبة 5.4 ٪، أتفقت هذه النتائج مع دراسة Hussain [29].

الكشف عن عوامل الضراوة

قابلية المبيضات على انتاج انزيم البروتيز Protease

من خلال نتائج الدراسة والموضحة في الجدول (3)، نلاحظ امكانية العزلات التابعة لخميرة *C.albicans* على انتاج انزيم البروتيز (Protease) اذ بلغ عدد العزلات المنتجة للإنزيم (37) من اصل (42) عينة وبنسبة ٪88.1 ، تلتها خميرة *C.tropicalis* بعدد(8) عزلات من اصل (13) عزلة وبنسبة ٪61.5، أما *C.parapsilosis* فكانت منها عزله واحدة من اصل (4) وبنسبة ٪25.0، اما النوعان *C.glabrata* و *C. krusei* فلم تكن لهما القابلية على انتاج الانزيم .

جدول (3) نتائج اختبار انتاج انزيم البروتيز protease

التشخيص	نوع الخمائر					
	C. albicans	٪	*C. tropical*	٪	*C.parasilosis*	٪
VE +	37	٪88.1	8	٪61.5	1	٪ 25.0
VE–	5	٪11.9	5	٪ 38.5	3	٪ 75.0
المجموع	42	٪ 100	13	٪ 100	4	٪ 100

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Rossoni وجماعته[30] والذين بينوا قدرة خمائر ، *C.albicans* *C.parapsilosis* و *C.tropicalis* على انتاج إنزيم protease وتحليل البروتين إذ كانت جميع عزلات

C.albicans محللة للبروتين، اما *C.parapsilosis* فكانت 15 عزلة محللة من اصل 16 عزلة، بينما خميرة *C.tropicalis* فكانت عزلتان محللة فقط من اصل ثلاث عزلات .

قد يرجع السبب في عدم القدرة على انتاج انزيم البروتيز الى الاختلاف مابين سلالات النوع اوبسبب قلة نشاط الجين SAP المسؤول على انتاج الانزيم المحلل للبروتين والذي يعتبر من المكونات الاساسية في جينوم المبيضات[31]. حيث يعد انزيم البروتينيز من عوامل الضراوة الاساسية للفطريات الممرضة والذي يمكنها من غزو انسجة المضيف وله القدرة على تحليل الالبومين albumin، الكلوبينات المناعية immuno-globulins، البروتينات الموجودة في الجلد، وتثبيط الاستجابة المناعية المسببة لحدوث التهاب [32] .

قابلية المبيضات على انتاج انزيم Hemolysin

من خلال نتائج الدراسة والموضحة في الجدول (4)، نلاحظ ان جميع العزلات العائدة للخميرة *C.albicans* ، و *C.tropicalis* ، و *C.glabrata* كانت محللة للدم ، بعدد عزلات بلغت (42 ، 13، 9) على التوالي وبلغت النسبة المئوية الكلية للتحلل 87.82 ٪، اما الخميرتان *C.parapsilosis* و *C. krusei* فأنهما كانت غير محللة للدم وبلغت النسبة المئوية 19.05 ٪ .اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Rossoni وجماعته [31] والذين قد بينوا ان جميع عزلات الخمائر التابعة للانواع *C.tropicalis* ، *C.glabrata* ، *C.albicans* كانت لها القابلية على تحلل الدم .

جدول (4) نتائج اختبار انزيم الهمولايسين Hemolysin

التشخيص	نوع الخمائر					
	C. albicans	٪	C. tropical	٪	C. glabrata	٪
VE +	42	٪ 100	13	٪ .100	9	٪ 100
VE–	0	٪0.0	0	٪0.0	٠	٪0.0
المجموع	42	٪ 100	13	٪ 100	9	٪ 100

Chi-Square = 0.0 P-Value = 1.00

وجاءت هذه النتائج مطابقة أيضاً مع دراسة كل من الزبيدي[33] والحمداني [34]، تعتبر قدرة الخمائر على تحليل الدم عامل ضراوة مهم لحدوث الامراضية، وهذا ما أكدته العديد من الدراسات ومنها دراسة Nayak وجماعته[35]، و Berne وجماعته[36]، عندما يتحلل الدم سوف يتم تحرير الحديد وهو عامل مهم لنمو وتكاثر الكائنات الممرضة [37]، أذ يعتبر الحديد عامل نمو مهم للفطريات والخمائر ويحفز ايضا العمليات الكيميائية الحيوية المختلفة [37].

المصادر

(1) Monia, Ouederni, ; Ozden Samal ; Aydan Ikinciog ˘ Ullari, Ilha Tezcan. ; Figen Dogum ; Ithaisa Sologuren, ; Sigifredo Pedraza-Sánchez, Melike Keser, ; Gonul Tanir, and Chris Nieuwhof. (2014). Clinical Features of Candidiasis in Patients With Inherited Interleukin 12 Receptor β 1De ficiency. Clinical Infectious aDiseases 58. (2). pp:204 - 13.

(2) Kumar, M. B. and Edward, C.K. (2014). Robbins and Cotran Review of Pathol-

ogy, Elisever. 6-7.

(3) AL- Hussainy, A. and Kadhim, M. (2014). Isolation and identification of dermatophytes fungi from under two year children in diaber location. 19. (3). 98-110.

(4) كاظم، ايناس رزاق، ياس خضير عباس(2014). عزل وتشخيص بعض انواع الاحياء المجهرية المسببة لاصابات القناة التناسلية الانثوية ودراسة التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية والمضادات الحياتية عليها. مجلة جامعة ذي قار، المجلد (9) العدد (1).

(5) محمد، نجوان عباس (2012). التحري عن انواع المبيضات وبقية الممرضات المسببة لالتهاب المهبل لدى الساء اللاتي يستخدمن وسائل منع الحمل، رسالة ماجستير كلية العلوم جامعة بغداد.

(6) François, L. M. ; Duncan, W. and Bernhard, H. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. 4. (2). Pp: 119-128.

(7) Koneman , E.W. ; and Roberts , G.D.;(1985).Practical Mycology,3rd ed Baltimore, MD Williams and Wilkins.

(8) Ellis, D.H. (1994).Clinical microbiology. The human opportunistic mycosis. gillingham .Printters pty .Ltd, Australia. P:166.

(9) DevkatteA N ,Zore G B ,Karuppayil SM,(2005), Potential of plant oil inhibition of Candida albicans growth ,FEMS Yeast Research ,5:867-73.

(10) Ellis, D.; Stephan, D.; Helen, A.; Rosemary, H. and Roben, B.(2007). Description of Medical Fungi. 2nd ed. Ltd. Australia, PP: 147 -150.

(11) Forbes, B.; Sahm.D. & Weissfeld, A.(2007). Bacillus cereus . Center for food safety and applied nurtrition . U.S.A .

(12) Kangoga, M.C.; Wanyoike , M.W.; Revathi, G.and Bii, C.C. (2011). Phenotypic chatectarization of *Candida albicans* from clinical sources in Nairobi, Kenya. African Journal of Health Sciences, 19(3-4):21-25.

(13) Horvath , L.L.; Hospenthal , D.R.; Murray , C.K. and Doooley, D.P.; (2003). Direct isolation of *Candida* spp. From blood cultures on the chromogenic medium CHROMagar Candida . J.Clin .Microbiol.,41:2629-32.

(14) Milne, L.J.R. 1996 . Fungi in : Mackie and MacCartney Practical Medical Microbiology . Collee , J.G ; A.G. Fraser ; B.P.Marmion & A. Simmons . (eds). 14th ed . Churchill Livingstone , London .

(15) Pinjon, E. ; Sullivan, D. ; Salkin, I. ; Shanley, D. and Coleman, D. (1998). Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. J. Clin. Microbiol., 36(7): 2093-2095.

(16) Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, Eds. Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology, 14th ed. New York & London: Churchill Livingstone 1996;131-149

(17) Jabber , Milad Adnan Mezher . (2015). Cytokines profiles among immunocompromised patients with fungal infections .Ph.D. Thesis .College od science - Tikrit university .

(18) AL-Dabag ,N. N..(2015).Detection of enzymatic active of candida species isolated from hospitalialize pattinents in Hilla .J.of pharmacy and Biology Sceinces.2278-3008.

(19) Floyd, E., Dewhirst,1.,Tuste, C., Jacques, I., Wen-Han,Y., Lakshmanan, A. and Wade, W. G.(2010).The human Oral Microbiome. Journal of Bacteriology doi:10.1128/JB.00542-10.

(20) **الخفاجي، زهراء خضير عباس** (2017). توصيف بعض عوامل الضراوة والتعبير الجيني لإنزيم se-creted aspartyl protease في المبيضات البيضاء المعزولة من داء المبيضات الفموي في مرضى السرطان. اطروحة دكتوراه. كلية التربية للعلوم الصرفة، علوم الحياة. جامعة القادسية. العراق.

(21) **السبهاني، حازم صبار مطر** (2015). تأثير مستخلص نبات الـ Panax ginseng على بعض الاعفان

والخمائر المعزولة من اصابات مرضية مختلفة في مدينة بغداد . رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة تكريت.

(22) Liguori, G. ; Di Onofrio, V. ; Gallẻ, F., Lucariello, A. ; Albano, L.; Catania, M. R. and Guida, M. (2010). *Candida albicans* identification : comparison among nine phenotypic systems and a multiplex PCR. J. Prev. Med. Hyg., 51: 121-124.

(23) Sudbery, P., Gow, N., Berman, J., (2004). The distinct morphogenic states of Candida albicans. Trends Microbiol, 12(7): 317-324. supplements. Marcel Dekker, New York, pp 603-622

(24) **علي، همام سعدي حسين.** (2015). التحري عن العلاقة الوراثية ومقاومة عزلات ممرضة لانواع خميرة المبيضات لبعض المضادات الفطرية بأستخدام مؤشرات ISSR .كلية العلوم جامعة تكريت. العراق.

(25) Saroj, G.K., Mallika R.k., Sugatha,K., Vivek, H.,(2013).Speciation of candida using chromogenic and corn meal agar with determination of fluconazole sensitivity.

(26) **السعدي، حبيب** (2015). عزل وتشخيص بعض انواع خمائر الـ *Candida Spp* ودراسة حساسيتها لبعض المضادات الفطرية. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية .3(23).

(27) De Sousa ,Lourimar V. ; Nascimento F. and Vera L. S. (2016). Isolation and identification of *Candida* species in patients with orogastric cancer:susceptibility to antifungal drugs, attributes of virulence in vitro and immune response phenotype , Infectious Diseases.

(28) Thiyahuddin, N. M.,Erwin Lamping, Alison M. Rich and Richard D. Cannon . (5091). Yeast Species in the Oral Cavities of Older People I:A comparison between people living in Their own Homes and Those in Rest homes .Fungi 5,30.

(29) Hussain, R.,A.,(2011). Acomparsion of biological and molecular parameters of some candida species sensitive and resistance to some antifungal agents. Athesis. College of science. Kufa university .

(30) Rossoni, R. D., Barbosa, J. O., Vilela, S. F. G., Jorge, A. O. C., and Junqueira, J. C. (2013). Comparison of the hemolytic activity between C. albicans and non-albicans Candida species. *Brazilian oral research*, 27(6), 484-489.

(31) Julian, R. Naglik, S. ; Challacombe, J.and Bernhard, H. (2003). *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis, 67(3): 400-428.

(32) Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. J Med Microbiol. 62(Pt 1):10-24.

(33) **الزبيدي، علاء عبد الودود أحمد.** (2019). عزل المركبات الفعالة من الفطر *Ganoderma lucidum* والتعرف على الفعالية التثبيطية لها تجاة بعض الفطريات الجلدية المعزولة من المرضى المراجعين لمستشفى صلاح الدين العام، رسالة ماجستير. كلية العلوم جامعة تكريت.العراق.

(34) **الحمداني، نور عدنان محمود باش،** (2020). تقييم الفعالية الحيوية للفطر *Ganoderma lucidum* ضد المبيضات *Candida spp* المسببة لداء المبيضات الفموي. رسالة ماجستير .كلية التربية للعلوم الصرفة. جامعة تكريت.

(35) Berne S , Krizaj I , Pohleven F , et al . (2002) Pleurotus and Agrocybe hemolysins, new proteins hypothetically involved in fungal fruiting . Biochim Biophys Acta; 1570 : 153 - 159.

(36) Bullen, J. J. (1981). The significance of iron in infection. Rev. Infect. Dis. 3:1127-1138.

(37) Calera JA , Haas H . Cations (Zn, Fe) . (2009). In: Latge JP , Steinbach WJ , eds Aspergillus fumigatus and Aspergillosis . Washington, DC: ASM Press ;: 107 - 129 .