العدد 9 لسنة 2023
No. 9 – May 2023
المجلة العراقية للبحوث الانسانية والاجتماعية والعلمية
Iraqi Journal of Humanitarian, Social and Scientific Research
Print ISSN 2710-0952 -Electronic ISSN 2790-1254

التخليق الحيوي لجسيمات السلينيوم النانوية بواسطة candida albicansواختبار دورها المضاد للأكسدة

ايمان عادل قاضي
Taj8259@gmail.com
Majid K. Al-Shibly
Majid.shibly@qu.edu.iq

الملخص

لقد تداخلت تقنية النانو في جمع القطاعات نظراً لتأثيراتها الفريدة والواضحة، والتي اعطت للوسط العلمي نتاجات عديدة في مجال الطب والزراعة والبايولوجيا والصناعة وغيرها، اذ ارتفعت المواد النانوية الى مكانة بارزة في الاختراعات التكنولوجية نظرا لما تمتلكه من خصائص فيزيائية وكيميائية وبيولوجية قابلة للتعديل والاداء المتفوق في اغلب المجالات (Salem *et al*., 2022).وتعتبر(NMs) حجر الزاوية في علم النانو وتكنولوجيا النانو، كما تُعد علوم وتكنولوجيا البُنية النانوية مجالاً واسعاً في التخصصات و أنشطة البحث والتطوير التي نمت بشكل كبير في جميع أنحاء العالم في السنوات القليلة الماضية. هذه المواد لديها القدرة على إحداث ثورة في الطرق يتم بها إنشاء المواد والمنتجات وطبيعة الوظائف التي يمكن الوصول إليها (Al-Douri, 2022).

كلمات مفتاحية : التخليق الحيوي ، السلينيوم النانوية

Biosynthesis of selenium nanoparticles by *Candida albicans* yeasts and testing of their antioxidant role

iman adil Qadhi
Majid K. Al-Shibly
Majid.shibly@qu.edu.iq

Summary

Nanotechnology has overlapped in all sectors due to its unique and clear effects, which have given the scientific community many outcomes in the field of medicine, agriculture, biology, industry and others. (Salem et al., 2022) NMs are the cornerstone of nanoscience and nanotechnology, and nanostructure science and technology is a broad field of discipline and R&D activity that has grown exponentially around the world in the past few years. These materials have the potential to revolutionize the ways in which materials and products are created and the nature of accessible jobs (Al-Douri, 2022.)

اهداف الدراسة

1- عزل وتشخيص خميرة *C.albicans* من منطقة الفم لأشخاص مضعفين مناعيا واخرين اصحاء وكذلك من عدة انواع من الفاكهة المحلية والمستوردة ومن الحليب ومشتقاته.
2- اختبار قابلية الخميرة على انتاج جسيمات السيلينيوم النانوية .
3- اختبار الجسيمات النانوية كمضادات للأكسدة

المقدمة

خمائر المبيضات .*Candida* spp أو كما كانت تسمى سابقاً *Monilia* هي احد اشباه الاجناس الفطريات، وهي كائنات حقيقية النواة تعيش بصورة وحيدة الخلية (García-Galindo *et al*., 2022)r تتواجد في التربة والاطعمة وفي أجسام الحيوانات، حيث تتعايش بصورة طبيعية في جسم الانسان وتتواجد على الجلد وفي الجهاز الهضمي والاغشية المخاطية (de Melo Pereira *et al*., 2022)، من بين جميع الانواع فقط 20 نوعا يمكن ان يتسبب في اصابات انتهازية للإنسان، اذ ترتبط الإصابة بضعف الجهاز المناعي وتعرض المضيف للأمراض او عند مرضى السكري او المصابين بالسرطان او عند المثبطين مناعياً كمرضى المناعة الذاتية او عند زرع الانسجة والاعضاء(Jana *et al*., 2023).

وتعد المبيضات أشباه خمائر ذات طبيعة انتهازية تنتشر في جميع انحاء العالم، غير ملونة، وغير محاطة بكبسولة (Siscar-Lewin *et al*., 2022)، وتكون هوائية او اختيارية التنفس، تتكاثر لا جنسياً بالانقسام وتكوين الأبواغ البرعمية، تتباين في احجامها حيث تتراوح بين 3-15 مايكرومتر(Haq *et al*., 2022).

إنَّ لقابلية الخميرة على التحول من الشكل الخيطي الى الشكل الخميري له اهمية في إحداث الاصابة (Casagrande Pierantoni *et al*., 2021).

تصنيف جنس المبيضات

صُنف هذا الجنس حسب تصنيف (Reiss *et al*., 2011)

Kingdom: Fungi (EUMYCOTA)

Phylum : Ascomycota

Class: Saccharomycetes

Family: Saccharomycetaceae

Genus: *Candida*

Candida albicans

تُعد من أكثر أنواع الخمائر شيوعاً بسبب انتشارها الواسع وقدرتها لإصابة الانسان بالأمراض الفطرية ،والتي تتراوح من الامراض السطحية السهلة الى الجهازية الخطيرة التي قد تؤدي الى الوفاة في حالات نادرة(Talapko *et al*., 2021)، من العوامل التي ساعدتها على الانتشار وإحداث الامراضية هي تغيير شكلها من الشكل الخميري الى الشكل الخيطي كذلك تكوين اغشية خلوية تمكنها من مقاومة الجهاز المناعي(Czechowicz *et al*., 2022).

عوامل الانتشار الواسع لـ *C.albicas*

تعتبر المبيضات من الكائنات الانتهازية لذا فإن انتشارها الواسع تحدده عوامل تتعلق بالمبيضات نفسها ومن أهم هذه العوامل هي امتلاكها لعدد من عوامل الضراوة ذات امكانية لإحداث الاصابات الجهازية ومن اهم هذه العوامل هو قدرتها على الالتصاق بخلايا المضيف (Talapko *et al*., 2021) ، وافراز الانزيمات

المحللة للبروتين والدهون والدم وكذلك قدرتها على تحليل الدهون الذي له علاقة ودور في نشوء الاصابات المرضية والانتشار على سطح الاغشية الظهارية (Kadry *et al*., 2018) .

أولاً: الانبوب الجرثومي Germ Tube

الانبوب الجرثومي عبارة عن استطالة خيطية قصيرة تنشا من الجدار الخلوي لخلية الخميرة حيث يمتد للخارج وتكوينه صفة مميزة لخميرة *C. albicans* و *C. dubliniensis* اما باقي انواع المبيضات الانبوب الجرثومي لا يتكون فيها (Fajoyomi Bridget *et al*., 2022).

ثانياً: القدرة على الالتصاق The ability of Adherence

تمتلك *C. albicans* طبقة يطلق عليها Fuzzy Coat وهي موجودة على سطح الجدار الخلوي وهي طبقة ليفية تلعب دورا مهم جدا في مقاومة الالتهام Phagcytosis وتسهيل عملية الالتصاق(Buckner et al., 2016).

ثالثاً: **الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores**

احد الصفات المميزة للفطريات الممرضة للإنسان وتتداخل عوامل متعددة في تكوينها اهمها عوامل وراثية وكذلك عوامل بيئية بالإضافة الى بعض انواع البروتينات التي تشارك بتكوين الكلاميديا ومنها ارتفاع مستويات السكريات او التجويع كما توجد صلة وثيقة بين تنظيم التخليق الحيوي للأحماض الامينية وتطور Chlamydospores(Alkhuzaie & Jasim, 2022)

رابعا: تكوين الغشاء الحيوي Biofilm formation

يعد الغشاء الحيوي مجموعة من خلايا دقيقة تتحد مع بعضها بصورة منتظمة وتحاط بمصفوفة من البوليمير تنتجها ذاتياً حيث تندمج معها بعض من مكونات المضيف مثل Platels Immunoglobulins, Fibrin في مصفوفة الاغشية الحيوية(Lohse *et al*., 2018).

Nanotechnology

أصبحت NPs مواد مهمة في العديدِ من المجالاتِ والصناعاتِ بفضلِ حجمها الصغير للغاية وخصائصها المتعلقة بالشكل، حاليا يتم تصنيع NPs والمواد ذات البنية النانوية على نطاق واسع ولا غنى عنها للعديد من الصناعات هذه الحقيقة تعزز وتدعم البحث في الكيمياء الحيوية والفيزياء الحيوية وتطبيقات الهندسة الكيميائية الحيوية، في الآونة الأخيرة ، تم دمج تقنية النانو مع العلوم الأخرى لتصنيع أشكال جديدة من المواد النانوية التي يمكن استخدامها (Barhoum *et al*., 2022) .

ولقد أثبتت الدراسات ان الكائنات الحية وخصوصا الدقيقة مثل الخمائر والأعفان والبكتريا لها قدرة وبكفاءة عالية على امتصاص وتراكم الأيونات المعدنية غير العضوية الموجودة في بيئتها المحيطة (Rahman *et al*., 2019)، وقدرة هذه الكائنات على استعمال عملياتها البيوكيميائية الأصلية لتقوم بتحويل ايونات المواد غير العضوية الى مواد نانوية (Vargas & Shon, 2019)

جسيمات السيلينيوم النانوية كمضادة للأكسدة Anti-oxidant SeNPs

تتولد الجذور الحرة ROS وأنواع من النيتروجين التفاعلية بشكل عام في جسم الإنسان خلال العديد من التفاعلات الفيزيائية والكيميائية الحيوية (Soheili *et al*., 2022)، الكميات الكبيرة من المركبات الوسيطة

مثل superoxide وبيروكسيد الهيدروجين التي تنتج خلال هذه التفاعلات مسؤولة عن التلف الخلوي، مما يؤدي إلى أمراض قد تكون قاتلة (Ernst *et al*., 2021)، لذلك تم استخدام المركبات المضادة للأكسدة لقمع تكوين وازالة هذه الجذور الحرة (Basavegowda, 2021)، أن جزيئات السيلينيوم النانوية يمكن أن تلعب دوراً مهماً في تقليل تركيز الجذور الحرة لمنع الضرر التأكسدي للحمض النووي في كل من الظروف التجريبية في الجسم الحي وفي المختبر(BisHt & PhalswalBis, 2022)، كما تم توثيق أن بروتين السلينوبروتين هو مصدر رئيسي للسيلينيوم وينتج مضادات الأكسدة الحيوية مثل ديوديناز واختزال ثيوردوكسين والجلوتاثيون بيروكسيديز. إفراز والتخليق الحيوي للجلوتاثيون (Al-Qaraleh *et al*., 2022) ، ان شكل وحجم الجسيمات النانوية يمكن أن يلعب دوراً رئيسياً لذا أظهرت جزيئات السيلينيوم خصائص مضادة للأكسدة فريدة من نوعها (Al Jahdaly *et al*., 2021).

المواد وطرق العمل Materials and methods

الإدارة الاخلاقية للدراسة Ethical Management of the Study

أُخذِت الموافقة الاخلاقية من جميع المرضى والمُضَّعفينَ مناعياً قيد الدراسة، وأجريت الدراسة وفقا للمعايير الموصي بها من قبل قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة القادسية في التعامل مع المواد البيولوجية والكائنات المجهرية الممرضة منها والانتهازية، إذ جمعت عينات الدراسة من المرضى المراجعين والراقدين في مستشفى الشوملي العام، وبعض العيادات النسائية في محافظة بابل بعد استحصال الموافقات الأصولية من إدارة المستشفى ومرضاها كما تم استحصال الموافقات الرسمية للعمل داخل مختبرات مستشفى الشوملي العام وكذلك مختبر وقاية النبات في مديرية زراعة الديوانية

جمع العينات Sampling Collection

جُمعت 200 عينة من خميرة المبيضات من عدة مصادر بيئية منها فاكهة مختلفة محلية ومستوردة، والحليب ومشتقاته المختلفة ، كذلك تم عزل الخمائر من منطقة الفم لأشخاص اصحاء وآخرين مصابين بمرض السكري، وكذلك ممن يعانون من الاصابة بالسرطان من المراجعين والراقدين في مستشفى الشوملي العام في محافظة بابل، استعملت خلال عملية الجمع مسحات قطنية معقمة ذات استعمال لمرة واحدة ، ونُقلت مباشرةً العينات الى اوساط زرعية معدة للتنمية .

التشخيص

1-اختبار تكوين الانبوب الجرثومي Germ tube formation test

زرعت على مصل لدم الانسان ثم اخذت قطرة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت مجهرياً لمشاهدة الانبوب الجرثومي الذي يبرز من احد جوانب الخلية بشكل برعم ويكون أطول من الخلية الام بثلاث الى اربع مرات ، ويستخدم هذا الاختبار التمييز بين *C.albicans* و *C.dubliniesis* (Rajpal, 2022)

2-اختبار تكوين الابواغ الكلاميدية والخيوط Chlamydial and filamentous formation test

زرعت الخميرة على وسط الذرة وذلك بعمل ثلاثة خطوط متوازية داخل الوسط الزرعي وغطيت بغطاء الشريحة ثم حضنت الاطباق بدرجة 28 م^{o} لمدة 24-48 ساعة ، بعد ذلك رفع غطاء الشريحة ووضعه على شريحة نظيفة تحتوي على صبغة اللاكتوفينول وفحصت مجهرياً لمشاهدة الأبواغ الكلاميدية والبرعمية والخيوط الفطرية (Forbes *et al*., 2007)

3-التشخيص باستخدام وسط Candida Crome Differential Agar

اجري هذا الاختبار بتخطيط الخميرة على وسط Crome Candida Differential Agar وحضنت الاطباق بدرجة 37م° ولمدة 48 ساعة. يستخدم هذا الاختبار للتمييز بين أنواع المبيضات على أساس لون المستعمرة الذي تنتجه على هذا الوسط واعتمادا على تعليمات الشركة المصنعة المجهزة للوسط (Zafar *et al*., 2017).

التشخيص بواسطة المجهر الالكتروني الماسح Diagnosis by scanning electron microscope

أُجري هذا الاختبار في مختبرات كلية العلوم جامعة القادسية ، لزيادة تشخيص الخمائر المستخدمة .

التشخيص باستخدام جهاز الفايتك2 Diagnosis using the Vitec 2

وهو نظام تشخيصي آلي بالكامل يستعمل في تشخيص الخمائر المرضية باستخدام بطاقة Vitek 2 YSTاذ يستند نظام التشخيص بشكل رئيسي على التفاعلات الكيميائية الحياتية

التشخيص الجزيئي لعُزلات المبيضات Molecular diagnosis of candida isolates

أُجري فحص PCR لغرض تأكيد التشخيص المظهري والمجهري والكيميائي الحيوي والفسيولوجي ، بعد غربلة العزلات من حيث الكفاءة في انتاج المركب النانوي ، اذ تم انتخاب عزلة واحدة لتشخيصها جزيئيا وحسب طريقة (Gherbawy & Voigt, 2010)

تخليق الجسيمات النانوية Synthesis of nanoparticles

حُضر محلول بإذابة µ800g من سيلينات الصوديوم Na_2Seo_4 في 10 مل من الماء المقطر، ثم أُخذ منه 1 مل اضيف لكل 100 مل من الراشح ثم حُضن لمدة 24-48 ساعة بدرجة حرارة 35-37 مْ داخل الحاضنة الهزازة بعيداً عن الضوء (Bafghi *et al*., 2021)

نشاط SeNps المضاد للأكسدة SeNps antioxidant activity

في هذه التجربة تم استخدام مادة (DPPH) (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) المولدة للجذور الحرة لتحديد قدرة الجسيمات النانوية على ازالة الجذور الحرة ، حيث حُضرت مادة DPPH بعد اذابتها بالميثانول لتصبح بتركيز 0.006 (W\v) ، تم اجراء التجربة بجهاز ELISA حيث وضع في الحفرة الاولى للصفيحة 200 مايكروليتر من الميثانول لتكون بمثابة Negative control ثم وضع في الحفر الاربع التالية 100 مايكرو ليتر من محلول مادة (DPPH) اضيف اليها 100 مايكرو ليتر من معلق SeNps وبالتراكيز التالية (1، 0.5، 0.25 ، 0.125 ملغم \مل) على التوالي ، فيما كانت الحفرة الاخيرة Posative control التي احتوت فقط على معلق الجسيمات النانوية .

حُضنت الصفيحة في الظلام وقيست بجهاز ELISA ليتم بعدها حساب النسبة المئوية لكسح الجذور الحرة وفقاً للمعادلة التالية

DPPH scavenging impact (%) = (Ao –A1) / Ao X 100

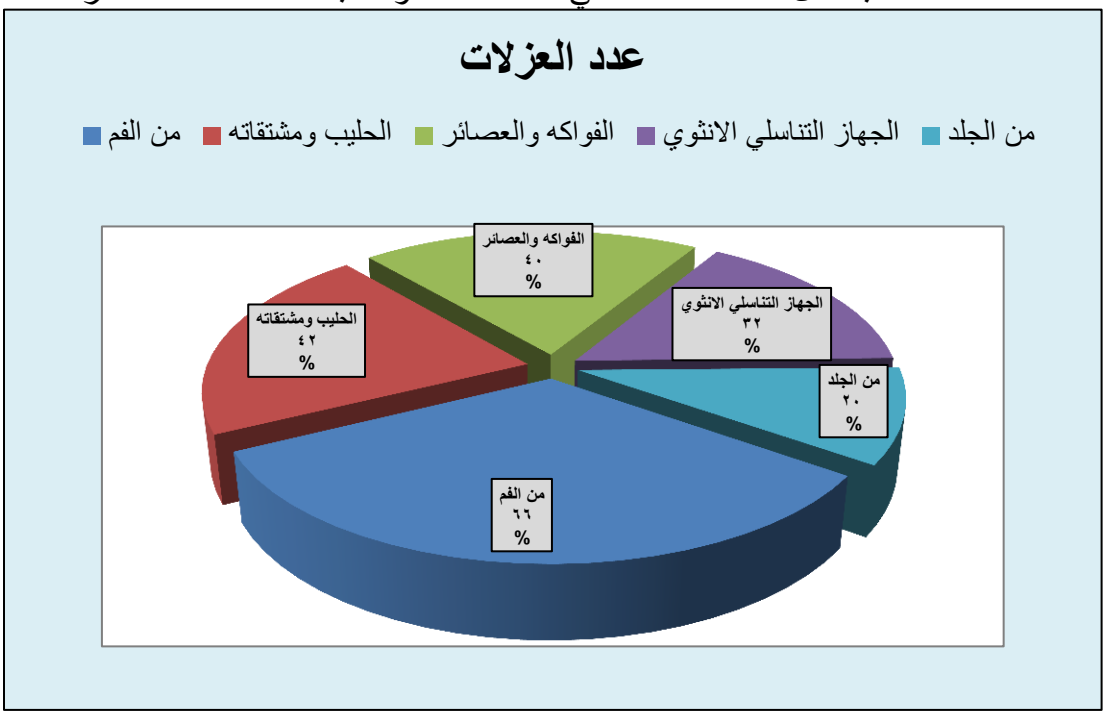
حيث ان Ao يمثل الامتصاص الخاص بعنصر التحكم

اما A1 يمثل الامتصاص بوجود SeNps(Arnab *et al*., 2010)

النتائج والمناقشة

جمع وعزل وتشخيص المبيضات

جُمعت 200عزلة مختلفة من *Candida albicans* بيئية ومرضية كذلك عزلات غذائية وكانت مقسمة بالشكل التالي وحسب مصادر الجمع



شكل (1) يمثل تردد عزلات *Candida albicans* من حيث مصادر العزل والنسب المئوية

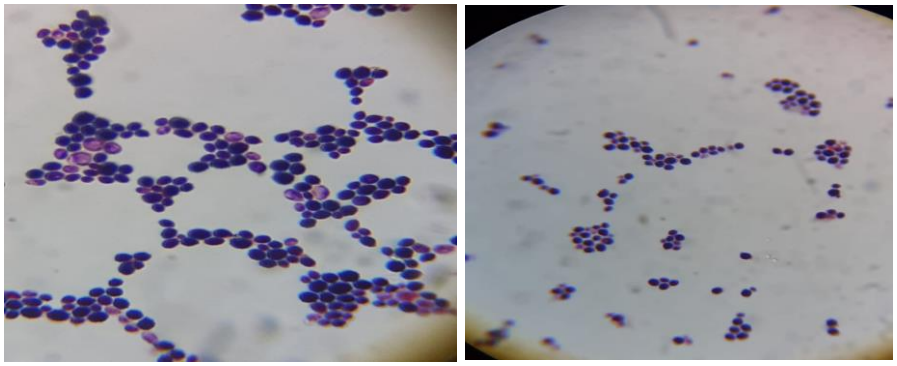
الفحص المظهري للمستعمرات Colony morphology examination

ظهرت مستعمرات المبيضات عند زرع العينات على وسط SDA بلون ابيض مائل الى الكريمي لماع.

الفحص المجهري microscopic examination

الفحص المجهري هو اختبار أولي لتشخيص الخميرة، بالاعتماد على شكل وابعاد الخلية، حيث ان الفحص المجهري لخلايا *Candida albicans* يظهر ان هذه ذات شكل بيضوي او كروي

يمكن للمبيضات ان تتخذ اللون الارجواني عند صبغها بصبغة غرام نتيجة تجمع صبغة غرام على الجدار الموجب بسبب وجود طبـــقةPeptidoglycan (Leite Padilha *et al*., 2014) Wibawa & Aman,) 2015) كما ذكر(2017) Vila *et al* أن جميع الفطريات وبضمنها الخمائر هي موجبة لصبغة كرام .



الشكل (2) يوضح خلايا خميرة المبيضات بعد تصبيغها بصبغة غرام بقوة تكبير 40 X

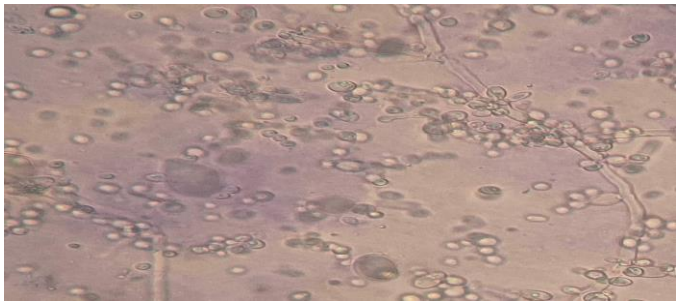
اختبار تكوين الانبوب الجرثومي

تمتاز خميرة *C.albicans* ان لها القدرة على تكوين انبوب الانبات tube Germ بعد وضعها في انبوبة اختبار حاوية على مصل الدم لمدة 3 ساعات ودرجة حرارة 37 مْ لوجود مواد محفزة في مصل الدم ويعد انبوب الانبات هذه صفة تشخيصية لنوع *albicans* وهذا ما ذكراه (Mehta & Wyawahare, 2016)

شكل (3) تكوين الانبوب الجرثومي بعد مرور 3 ساعات كاملة بدرجة37مْ وبقوة تكبير X40

اختبار تكوين الابواغ الكلاميدية والخيوط

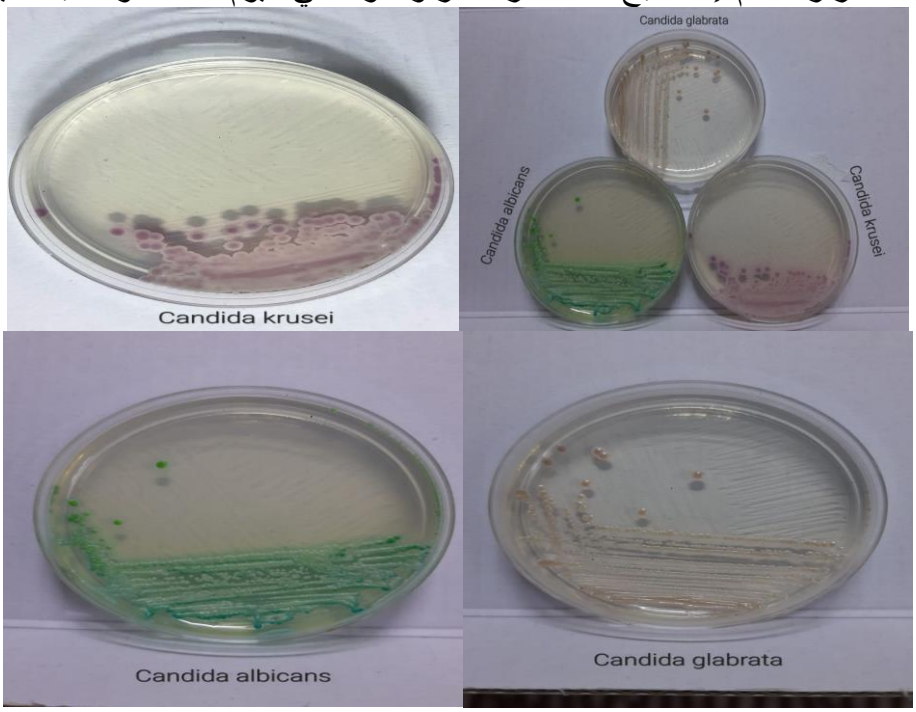
اجري اختبار تكوين الابواغ الكلاميدية والخيوط الكاذبة للكشف عن انوع *Candida* spp. على تكوين الابواغ الكلاميدية ، وقد اظهرت جميع عزلات *Candida albicsns* قدرتها على تكوين هذه السبورات ذات الجدران السميكة والتي تقاوم الظروف على خلاف الانواع الاخرى (Golia *et al*., 2013)



شكل (4) السبورات الكلاميدية والخيوط الفطرية

التشخيص باستخدام وسط Candida Crome Differential Agar

أظهرت خمائر المبيضات ألواناً مختلفة على الوسط Candida Crome Agar التفريقي عند زراعتها عليه وحضنت بدرجة حرارة 37مْ إذ تصبح المستعمرة أكثر وضوحاً في اليوم الثالث، وحسب تعليمات الشركة.

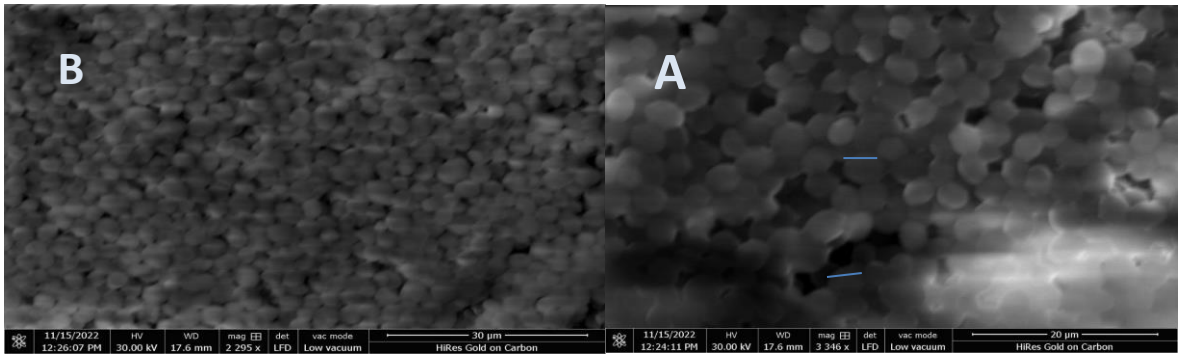


شكل (5) سلوك الانواع التابعة للمبيضات على وسط الكروم اكار حيث يعطي الواناً متغايرة

إن استعمال الوسط التفريقي Candida chromogenic agar يعتبر من الطرق السهلة لتشخيص أنواع المبيضات الأكثر شيوعاً وذلك بالاعتماد على الدليل اللوني، حيث انه من الممكن أن يكون الوسط التفريقي من وسائل العزل والتمييز الأولية للعينات السريرية التي يحتمل أن تحتوي على المبيضات(Mulet (Bayona *et al*., 2022 تتفق هذه النتائج مع 2021(Merad *et al*.,) .

التشخيص بواسطة المجهر الالكتروني الماسح

لزيادة التأكيد في تشخيص المبيضات استخدام المجهر الالكتروني الماسح (SEM) المواد النانوية وقد تم تصوير المبيضات تحت SEM وبقوى تكبير مختلفة



شكل (6) يوضح شكل وحجم خلايا المبيضات تحت المجهر الالكتروني الماسح

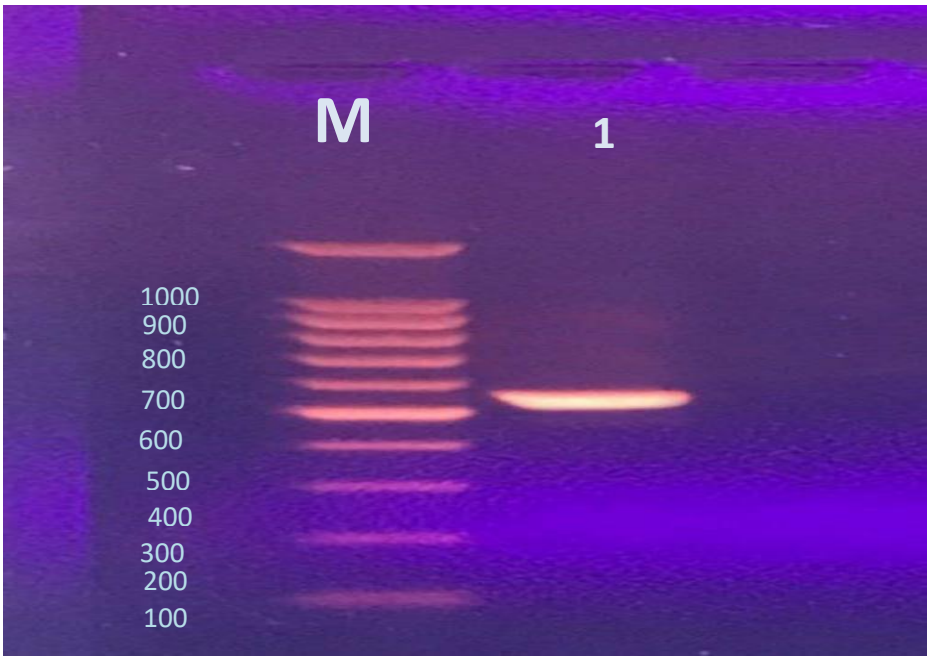
التشخيص باستخدام جهاز الفايتك 2

تم تأكيد التعرف على عزلات *C. albicans* بواسطة نظام Vitek2 وكانت نسب احتمالية التحديد مقبولة وتراوحت بين (85-87٪). تم الاتفاق على هذه النتيجة مع العديد من الدراسات (Vijgen *et al.*, 2011) (Melhem *et al.*, 2013) و (Kaur *et al.*, 2016)

التشخيص الجزيئي لعُزلات المبيضات

اجري فحص PCRلعزلة واحدة من *C.albicas* المرقمة (39) والتي كانت اكثر العزلات كفاءة في انتاج المركب النانوي حيث كانت اكثر العزلات التي شهدت تغييراً لونياً ملحوضاً حيث اعتمدت هذه العزلة لانتاج المركب النانوي فيما بعد .

أظهرت النتائج المعتمدة على منطقة (ITS1-ITS4) ، حيث كان الوزن الجزيئي لهذه المنطقة هو 529.535 وهذا ما اشار اليه (Shin-ichi *et al.*, 2001) ،تم الاعتماد على مفاتيح تشخيصية من (Brochmann *et al.*, 2010) وبالاعتماد على نواتج PCR و تحليل rDNA لمناطق ITS مع باستخدام برنامج Bioالذي يقدم معلومات مفيدة تصنيفياً لتحديد تسلسلات التتابعات بصورة ذكية يمكنها تحديد العلاقات بين أصناف الخمائر بدقة.



شكل (7) يوضح الترحيل الكهربائي لهلام الاغاروز لمنطقة ITS بواسطة نواتج PCR للعزلة (39)

(80 فولت لمدة ساعة واحدة) (M: Leader)

تحضير المركب النانوي

التخليق الحيوي خارج الخلوي لـ SeNps بواسطة *C.albicas*

ان آليات التخليق الحيوي للسيلينيوم بهيئة الجسيمات النانوية يحدث بسبب الاختزال الفطري للسيلينيت والسيلينات مع تكوين Se NPs والبروتينات المشاركة في هذه العمليات، ومع زيادة فترة الحضانة يصبح اللون أغمق و هذا يدل على تكوين الجسيمات النانوية بسبب الاستهلاك الحيوي.

إن تغير اللون الذي يحدث عندما ينخفض تركيز أيونات السيلينيوم إلى SeNPs مما يسمح بالملاحظة البصرية الدالة على تكوين الجسيمات النانوية ، وهذا ما لاحظه (Torres *et al*., 2012)

نشاط SeNPs المضاد للأكسدة

إنَّ آلية عمل مضادات الأكسدة لا تكمن عن طريق إزالة الجذور الحرة فحسب ، بل عن طريق تثبيط تكوين الجذور الحرة (Mittal *et al*., 2022) ولان الجذور الحرة لها تأثير قوي على لجراثيم من خلال تأثيرها على الإجهاد التأكسدي، لذا فإن الضرر لا يشمل التأثير الغشاء الخلوي فحسب ، بل تضرر الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والدهون وإنزيمات DNAو RNA من الناحية البيولوجية وبالتالي تسبب موت الخلايا بسبب تلك الأضرار(Gomaa, 2019).

أظهرت نتائج الدراسة إلى قدرة الجسيمات النانوية على كسح الجذور الحرة التي تم استحداثها بواسطة مادة DPPH تم ملاحظة ذلك من خلال ملاحظة تغيير اللون الأصلي لـ DPPH من اللون الأرجواني الى اللون الأصفر فعالية الجسيمات النانوية في ازالة الجذور الحرة ، تزداد قدرة المواد النانوية على ازالة وتثبيط تكوين الجذور الحرة مع زيادة تركيز المواد النانوية ، حيث سجل تركيز 1 mg /ml أعلى نسبة تثبيط وازالة للجذور الحرة وبنسبة تثبيط بلغت 45% يليه التركيز 0.5 mg /ml بنسبة 43.5% ثم التركيز 0.25% بنسبة 40.26% وسجل التركيز0.12 اقل نسبة تثبيط تكوين جذور حرة بنسبة 36% وكما موضح في الجدول .

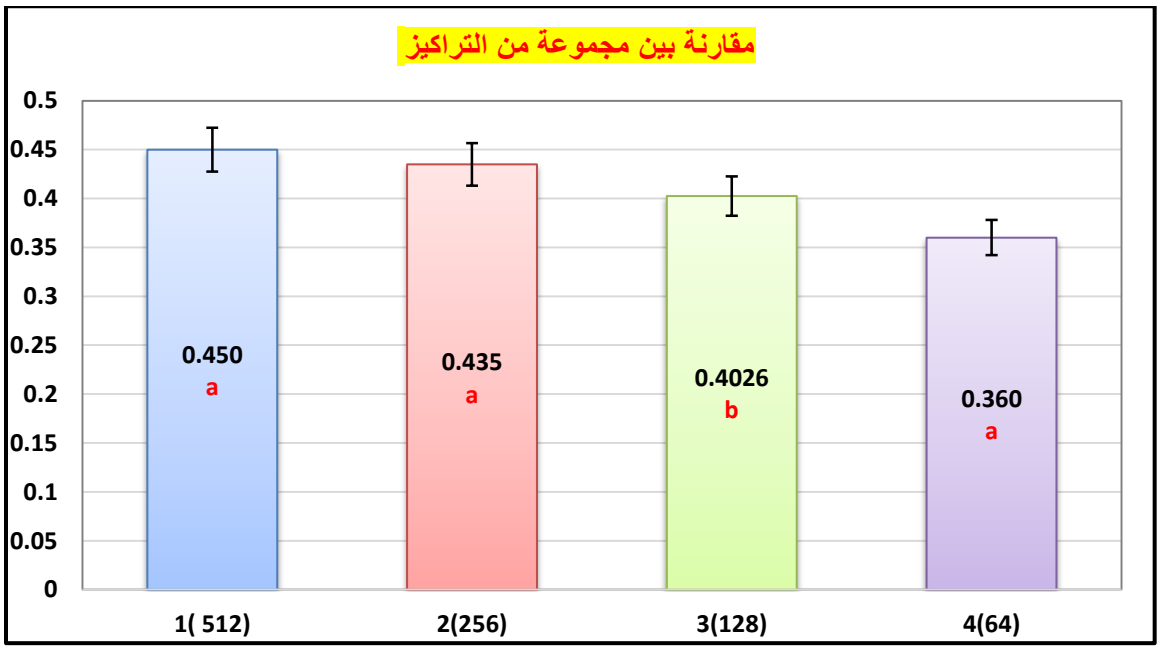
Table1: Comparison between positions

التراكيز	Antioxidant percentage	**$LSD_{0.05}$ (p value) (sig. or Non-sig)**
1(512)	0.450 **a**	**4.083 (0.0031) Sig.**
2(256)	0.435 **a**	
3(128)	0.4026 **b**	
4 (64)	0.360 **c**	

Sig.: significant difference between groups
.different letter are significant difference between groups.

تتقارب نتائج الدراسة مع (Pyrzynska & Sentkowska, 2022) اللذان تضمنت دراستهما بتحضير SeNPs حيوياً باستخدام اوراق الزنجبيل وحامض الاسكوربك كمركب قياسي ثم اختبار قدرة المركب

النانوي المضاد للأكسدة بعد استحداث الجذور الحرة وبطرق مختلفة منها استخدام DPPH والاختزال الحديدي حيث اظهرت النتائج لدراستهما نشاطاً معتدلاً مضاداً للأكسدة حيث تم تقدير قيمة التثبيط للجذور الحرة لـSeNPs عند تركيز 125 µg/ mL ، اما(Alagesan & Venugopal, 2019) فقد اظهرت الـ SeNPs والتي تتراوح اقطارها من 45-90 nm وبتركيز 14.81كانت نسبة اكتساح الجذور الحرة هي 50%، بينما اظهرت SeNPs والتي تتراوح اقطارها 4-16 nm في دراسة (Kokila et al., 2017) نسبة تثبيط حوالي 100%.



شكل (8) يوضح الفرق بين التراكيز في النسبة المئوية لنشاط SeNPs المضاد للأكسدة

المصادر

Al-Douri, Y. (2022). Nanomaterials Properties. In *Nanomaterials* (pp. 1–22). Springer.

Al-Qaraleh, S. Y., Al-Zereini, W. A., Oran, S. A., Al-Sarayreh, A. Z., & Sa'ed, M. (2022). Evaluation of the antioxidant activities of green synthesized selenium nanoparticles and their conjugated polyethylene glycol (PEG) form in vivo. *OpenNano*, 100109.

Alagesan, V., & Venugopal, S. (2019). Green synthesis of selenium nanoparticle using leaves extract of withania somnifera and its biological applications and photocatalytic activities. *Bionanoscience*, *9*, 105–116.

Alkhuzaie, M., & Jasim, N. O. (2022). Candida spp. associated with COVID-19 and its Susceptibility to some Antifungals. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, *27*(1), 26–38.

Arnab, A., Goyal, A., & Middha, S. (2010). Evaluation of the DPPH radical scavenging activity, total phenols and antioxidant activities in Indian wild Bambusa vulgaris “Vittata” methanolic leaf extract. *Journal of Natural Pharmaceuticals*, *1*(1), 40. https://doi.org/10.4103/2229-5119.73586

Bafghi, M. H., Darroudi, M., Zargar, M., Zarrinfar, H., & Nazari, R. (2021). Biosynthesis of selenium nanoparticles by Aspergillus flavus and Candida albicans for antifungal applications. *Micro and Nano Letters*, *16*(14), 656–669. https://doi.org/10.1049/mna2.12096

Barhoum, A., García-Betancourt, M. L., Jeevanandam, J., Hussien, E. A., Mekkawy, S. A., Mostafa, M., Omran, M. M., S. Abdalla, M., & Bechelany, M. (2022). Review on natural, incidental, bioinspired, and engineered nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. *Nanomaterials*, *12*(2), 177.

Basavegowda, N. (2021). *Multimetallic Nanoparticles as Alternative Antimicrobial Agents : Challenges and Perspectives*.

BisHt, N., & PhalswalBis, P. (2022). *Materials Advances Selenium nanoparticles : a review on synthesis and biomedical applications*. 1415–1431. https://doi.org/10.1039/d1ma00639h

Brochmann, C., Coissac, Bellemain, E., Eric, C., Taberlet, P., & Kauserud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology*, *10*, 1–9.

Buckner, C. A., Lafrenie, R. M., Dénommée, J. A., Caswell, J. M., Want, D. A., Gan, G. G., Leong, Y. C., Bee, P. C., Chin, E., Teh, A. K. H., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., Masuelli, M., Korrapati, S., Kurra, P., … Mathijssen, R. H. J. (2016). We are IntechOpen , the world ’ s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech*, *11*(tourism), 13. https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics

Casagrande Pierantoni, D., Corte, L., Casadevall, A., Robert, V., Cardinali, G., & Tascini, C. (2021). How does temperature trigger biofilm adhesion and growth in Candida albicans and two non-Candida albicans Candida species? *Mycoses*, *64*(11), 1412–1421.

Czechowicz, P., Nowicka, J., & Gościniak, G. (2022). Virulence Factors of Candida spp. and Host Immune Response Important in the Pathogenesis of

Vulvovaginal Candidiasis. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(11), 5895.

de Melo Pereira, G. V., Maske, B. L., de Carvalho Neto, D. P., Karp, S. G., De Dea Lindner, J., Martin, J. G. P., de Oliveira Hosken, B., & Soccol, C. R. (2022). What Is Candida Doing in My Food? A Review and Safety Alert on Its Use as Starter Cultures in Fermented Foods. *Microorganisms*, *10*(9), 1855.

Ernst, L. M., Casals, E., Italiani, P., & Boraschi, D. (2021). *The Interactions between Nanoparticles and the Innate Immune System from a Nanotechnologist Perspective*.

Fajoyomi Bridget, U., Azubike Faustina, C., & Daodu Bamidele, T. (2022). Prevalence of Candida albicans species among females with symptoms. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, *18*(1), 73–77.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Diagnostic microbiology*. Mosby St Louis.

García-Galindo, A. I., Sepúlveda, L., & Aguilar, C. N. (2022). Classification of Microorganisms and Food Microbiology Generalities. In *Quantitative Methods and Analytical Techniques in Food Microbiology* (pp. 1–9). Apple Academic Press.

Gherbawy, Y., & Voigt, K. (2010). *Springer Heidelberg Dordrecht London New York*.

Golia, S., Reddy, K. M., Karjigi, K. S., & Hittinahalli, V. (2013). Speciation of Candida using chromogenic and cornmeal agar with determination of fluconazole sensitivity. *Al Ameen J Med Sci*, *6*(2), 163–166.

Gomaa, E. Z. (2019). Synergistic antibacterial efficiency of Bacteriocin and silver nanoparticles produced by probiotic Lactobacillus paracasei against multidrug resistant bacteria. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, *25*, 1113–1125.

Haq, I. U., Ijaz, S., & Khan, I. A. (2022). *Phytomycology and molecular biology of plant pathogen interactions*. CRC Press.

Jana, S., Gayen, S., Kumari, R., Patra, S., Haldar, P. K., Bhowmik, R., Shaharyar, M. A., Mandal, A., Mazumdar, H., & Karmakar, S. (2023). Mechanism of action of antifungal agents. In *How Synthetic Drugs Work* (pp. 431–445). Elsevier.

Kadry, A. A., El-Ganiny, A. M., & El-Baz, A. M. (2018). Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of Candida albicans. *African Health Sciences*, *18*(4), 1166–1174.

Kaur, R., Dhakad, M. S., Goyal, R., Haque, A., & Mukhopadhyay, G. (2016). Identification and antifungal susceptibility testing of Candida species: a comparison of Vitek-2 system with conventional and molecular methods. *Journal of Global Infectious Diseases*, *8*(4), 139.

Kokila, K., Elavarasan, N., & Sujatha, V. (2017). Diospyros montana leaf extract-mediated synthesis of selenium nanoparticles and their biological applications. *New Journal of Chemistry*, *41*(15), 7481–7490.

Leite Padilha, C. M., Sayed Picciani, B. L., Dos Santos, B. M., Silva, A., & Dias, E. P. (2014). Comparative analysis of gram's method and PAS for the identification of candida spp. samples from the oral mucosa. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, *50*(5), 352–358. https://doi.org/10.5935/1676-2444.20140039

Lohse, M. B., Gulati, M., Johnson, A. D., & Nobile, C. J. (2018). Development and regulation of single-and multi-species Candida albicans biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(1), 19–31.

Mehta, R., & Wyawahare, A. S. (2016). Evaluation of Hicrome Candida Differential Agar for Species Identification of Candida Isolates from Various Clinical Samples. *International Journal of Contemporary Medical Research ISSN (Online*, *43*(4), 2393–2915. www.ijcmr.com

Melhem, M. S. C., Bertoletti, A., Lucca, H. R. L., Silva, R. B. O., Meneghin, F. A., & Szeszs, M. W. (2013). Use of the VITEK 2 system to identify and test the antifungal susceptibility of clinically relevant yeast species. *Brazilian Journal of Microbiology*, *44*(4), 1257–1266. https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000018

Merad, Y., Derrar, H., Ouldsaid, K., & Benallel, K. (2021). N. syndrome, associated to Candida parapsilosis otomycosis. BMJ case reports, 14(7), & Https://doi.org/10.1136/bcr-2021-243260, E. (2021). Netherton syndrome associated to Candida parapsilosis otomycosis. *BMJ Case Reports CP*, *14*(7), e243260.

Mittal, A., Vashistha, V. K., & Das, D. K. (2022). Recent advances in the antioxidant activity and mechanisms of chalcone derivatives: A computational review. *Free Radical Research*, *56*(5–6), 378–397.

Mulet Bayona, J. V., Salvador García, C., Tormo Palop, N., Valentín Martín, A., González Padrón, C., Colomina Rodríguez, J., Pemán, J., & Gimeno Cardona, C. (2022). Novel chromogenic medium CHROMagarTM Candida Plus for detection of Candida auris and other Candida species from surveillance and environmental samples: A multicenter study. *Journal of Fungi*, *8*(3), 281.

Pyrzynska, K., & Sentkowska, A. (2022). Biosynthesis of selenium nanoparticles using plant extracts. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, *12*(4), 467–480. https://doi.org/10.1007/s40097-021-00435-4

Rahman, M. T., Hoque, M. A., Rahman, G. T., Azmi, M. M., Gafur, M. A., Khan, R. A., & Hossain, M. K. (2019). Fe2O3 nanoparticles dispersed unsaturated polyester resin based nanocomposites: effect of gamma radiation on mechanical properties. *Radiation Effects and Defects in Solids*, *174*(5–6), 480–493.

Rajpal, K. (2022). *Comparison of seven different liquid media for germ tube test for candida albicans*. *9*(3), 5599–5604.

Reiss, E., Shadomy, H. J., & Lyon, G. M. (2011). *Fundamental medical mycology*. John Wiley & Sons.

Salem, S. S., Hammad, E. N., Mohamed, A. A., & El-Dougdoug, W. (2022). A comprehensive review of nanomaterials: Types, synthesis, characterization, and applications. *Biointerface Res. Appl. Chem*, *13*(1), 41.

Shin-ichi, Senda, Y., Nakaguchi, S., & Hashimoto, T. (2001). Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(10), 3617–3622.

Siscar-Lewin, S., Hube, B., & Brunke, S. (2022). Emergence and evolution of virulence in human pathogenic fungi. *Trends in Microbiology*.

Soheili, M., Alinaghipour, A., & Salami, M. (2022). Good bacteria, oxidative stress and neurological disorders: Possible therapeutical considerations. *Life Sciences*, 120605.

Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). Candida albicans—the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, *7*(2), 79.

Torres, S. K., Campos, V. L., León, C. G., Rodríguez-Llamazares, S. M., Rojas, S. M., González, M., Smith, C., & Mondaca, M. A. (2012). Biosynthesis of

selenium nanoparticles by pantoea agglomerans and their antioxidant activity. *Journal of Nanoparticle Research*, *14*(11). https://doi.org/10.1007/s11051-012-1236-3

Vargas, K. M., & Shon, Y.-S. (2019). Hybrid lipid–nanoparticle complexes for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, *7*(5), 695–708.

Vijgen, S., Nys, S., Naesens, R., Magerman, K., Boel, A., & Cartuyvels, R. (2011). Comparison of Vitek identification and antifungal susceptibility testing methods to DNA sequencing and Sensititre YeastOne antifungal testing. *Medical Mycology*, *49*(1), 107–110.

Vila, T., Fonseca, B. B., da Cunha, M. M. L., Dos Santos, G. R. C., Ishida, K., Barreto-Bergter, E., de Souza, W., & Rozental, S. (2017). Candida albicans biofilms: comparative analysis of room-temperature and cryofixation for scanning electron microscopy. *Journal of Microscopy*, *267*(3), 409–419. https://doi.org/10.1111/jmi.12580

Wibawa, T., & Aman, A. T. (2015). Virulence of Candida albicans isolated from HIV infected and non infected individuals. *Springerplus*, *4*, 1–10.

Zafar, A., Jabeen, K., & Farooqi, J. (2017). *Practical guide and atlas for the diagnosis of fungal infections*.