تأثير الظروف البيئية والمضادات الفطرية في نمو وتبوغ الفطر *Trichophyton Tonsurans* المعزول من السعفة الراسية في الانسان

أ.د. عصام داؤد سليمان وعد محمود جاسم

قسم علوم الحياة /كلية التربية /جامعة الموصل

تاريخ الاستلام ٢٠١٤/٠٥/٠٤ تاريخ القبول ٢٠١٤/٠٦/٠٤

Abstract:

Trichophyton tonsurans was isolated from epidermal scales and infected hairs of infected child with tinea capitis from AL- salam Education Hospital at Mosul city. The fungus was identified according to the morphological characteristics and microscopic features, as well as penetration of the hair by the fungal hyphae Results on the effects of environmental conditions on the growth and sporulation of the pathogen showed that the best medium for optimum growth of the fungus occurred on Potato Dextros Agar (PDA) medium with an average diameter of colonies 88 mm followed by 85.33mm and 82.66mm and 60.00mm for Sabouraud dextrose agar (SDA), Oatmeal agar (OMA) and *Trichophyton* agar no.4 (TNo.4) respectively. The least growth was observed on Rice agar +tween 80 (R-t80) with 44.66 mm Minimum sporulation of the fungus was detected on SDA and reached $2.84x10^2$ conidia/ml Optimum temperature for the growth of the fungus was 28Ċ with 84.88 mm colony diameter while 62.33 mm at 15Ċ. No growth was observed at 35Ċ on (PDA). Average diameter of fungal colonies was 84.66 mm at the optimum pH 5.5, Growth and sporulation of the fungus increased proportionally with incubation period reached maximum after 12 days and gave 88.00 mm and $3.18x10^2$ conidia/m respectively . While the least incubation period was noticed at the 4^{th} day and colony reached 29.33 mm and $1.40x10^3$ conidia/ml sporulation . Testing the efficacy of four antifungal drugs viz - Nystatin (Nys), Griseofulvin (GRF), Fluconazol (FLZ) and Itraconazol (ITZ) on the growth and sporulation of *T.tonsurans* proved that Griseofulvin was the most effective antifungal which cause complete inhibition (100%) at 40 mg/ml followed by Fluconazol and then Itraconazole, while the least effect was detected with Nystatin which gave colony diameter 25.00 mm and 66.33 conidia/ml.

الخلاصة :

تم عزل الفطر *Trichophyton tonsurans* من فروة رأس طفلة مصابة بالسعفة الرأسية من مستشفى السلام التعليمي وتم تشخيص الفطر بالاعتماد على الصفات المظهرية والمجهرية واختراق الشعرة, اظهرت نتائج دراسة تأثير الظروف البيئية على نمو وتبوغ الفطر بأن افضل نمو كان على وسط اكار دكستروز البطاطا (PDA) اذ بلغ متوسط اقطار مستعمرات النمو الشعاعي للفطر 88 ملم يليه 85.33ملم و82.66 ملم و60 ملم لكل من وسط سابرويد اكار (SDA) واكار دقيق الشوفان (OMA) وترايكوفايتون اكار رقم4 وكان اقل نمو في وسط اكار الرز مع توين80 (R-t80) وبلغ 44.66ملم. واقل نسبة لإنتاج الابواغ كانت في وسط سابرويد دكستروز اكار وبلغت 2.84 x 10² بوغ/مل. وكانت درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر هي 28 مْ اذ بلغ متوسط اقطار المستعمرات 84.66 ملم في حين بلغ 62.33 ملم عند 15 مْ ولم يحدث نمو اطلاقا عند 35 مْ على وسط اكار دكستروز البطاطا بعد تحضين الفطر لمدة 12يوما, وكان الاس الهيدروجيني الامثل لنمو الفطر 5.5 اذ بلغ متوسط النمو 84.66 ملم, وقد تناسب متوسط النمو وتجرثم الفطر طرديا مع مدة الحضانة اذ بلغ اعلى متوسط للنمو وتجرثم الفطر في اليوم الثاني عشر 88.00 ملم و 3.18x 10²بوغ/مل لكل منهما على التوالي, في حين كان اقل متوسط لهما في اليوم الرابع اذ بلغ 29.33 ملم و1.40 x 10³ بوغ/مل. اظهر اختبار تأثير اربع مضادات فطرية هي نستاتين(Nys) وكريزيوفولفين (GRF) ووفلوكونازول (FLZ) وايتراكونازول (ITZ) في متوسط نمو وتجرثم الفطر, ان المضاد (GRF) هو الاكثر فعالية في تثبيط نمو وتجرثم الفطر اذ بلغ متوسط النمو وعدد الابواغ عند التركيز 40 ملغم/مل 0.00 ملم و 0.00 بوغ/مل يليه (FLZ) ثم (ITZ), بينما كان (Nys) اقلها تأثيرا في نمو وتجرثم الفطر اذ بلغ 25.00ملم و66.33 بوغ/مل. لكل منهما على التوالي عند تركيز 40 ملغم/مل.

المقدمة Introduction

الفطريات الجلدية Dermatophytes لها القدرة على غزو الانسجة الكيراتينية مثل الشعر والجلد والاظافر للإنسان والحيوان, وتسبب الحالة المرضية التي تعرف بـ Dermatophytosis وتضم هذه المجموعة ثلاثة اجناس هي: *Trichophyton, Microsporum*، *Epidermophyton* [1].

هذه الفطريات لا تستطيع اصابة الانسجة الداخلية للجسم وتقتصر الاصابة على الطبقات السطحية المتقرنة [2] لكن في حالات نادره يمكن للإصابة ان تمتد الى الانسجة العميقة خاصة عند اصابة الجسم بالتقيحات والاورام الحبيبية او اصابة الجسم بمتلازمة نقص المناعة المكتسبة [3]. واشار [4] ان الجنس *Trichophyton* هو المسبب الرئيسي للاصابات الجلدية السطحية مثل السعفة الرأسية Tinea capitis وهو مسؤول عن اكثر من 70% من الاصابات الفطرية الجلدية. تحدث الاصابات الفطرية اما عن طريق افراز السموم الفطرية او اختراق الفطر للأنسجة مباشرة بعد غزوها [5]. يعد الفطر *Trichophyton tonsurans* المسبب الرئيسي لسعفة الرأس في امريكا واوربا ومن اعراضها حصول تكسر في الشعر عند فتحات البصيلات حيث تترسب ماده سوداء مؤلفة من بقايا الشعر وافرازات الفطر, اذ يغزو الفطر نصل الشعرة وتتجزأ الخيوط الفطرية مكونة ابواغ مفصليه داخل الشعرة [Endothrix 6]. استخدمت عدد من المضادات الحياتية الفطرية مثل Nystatin و Griseofulvin وFluconazol و Itraconazol كمضادات فطرية لتثبيط نمو الفطريات الجلدية في المختبر [7] ورغم الاهمية العلاجية لهذه المضادات الا انها لا تخلو من التأثيرات الجانبية, فضلا عن ظهور سلالات من الفطريات المرضية مقاومة لتأثير بعض المضادات الحيوية اضافة الى المطاولة بالعلاج مما يجعلها اقل تأثيرا [8 و 9]. تم في هذا البحث دراسة الظروف البيئية الملائمة لنمو وتبوغ الفطر *Trichophyton tonsurans* المسبب لمرض سعفة الرأس Tinea capitis ودراسة تأثير بعض انواع المضادات الفطرية عليه.

المواد وطرائق العمل :

1- عزل وتشخيص الفطر : تم الحصول على العينات من فروة رأس طفلة مصابة بالسعفة الراسية Tinea capitis من العيادة الاستشارية الجلدية في مستشفى السلام التعليمي في مدينة الموصل. اخذت العينات السريرية بعد ان عقمت منطقة الاصابة بالكحول الاثيلي 70% ثم اخذت حراشف صغيرة من حافة التقرحات الجلدية باستعمال شفره جراحية معقمة وتم جمع عينات الشعر المصاب بواسطة ملقط معقم[2]. . وضعت هذه العينات على شريحة زجاجية نظيفة ووضع عليها قطرتين من هيدروكسيد البوتاسيوم10 %, ثم تسخن الشريحة بعد وضع غطاء الشريحة بإمرارها مرتين على مصباح بنزين وتترك لمدة 30 دقيقه بدرجة حراره المختبر وبعدها تفحص الشريحة تحت المجهر لملاحظة الغزل الفطري والتراكيب الفطرية الاخرى [10]. تم زراعة الفطر الموجود في عينات الجلد والشعر على وسط Sabouraud dextrose agar المحتوي على المضاد الحيوي الكلورمفينيكول وحضنت

الاطباق بدرجة حرارة 28 مْ ولمدة 12يوما [11]. شخص الفطر بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمرة وشمل هذا الفحص شكل المستعمرة الخارجي ولونها وقوامها وكذلك بالاعتماد على الفحص المجهري, اذ نقل جزء من المستعمرة الفطرية بواسطة ابره معقمة على شريحة زجاجية معقمة ووضع عليها قطره من صبغة اللاكتوفينول وغطيت الشريحة بغطاء الشريحة, وبعدها تفحص الشريحة تحت المجهر لملاحظة الخيوط الفطرية واشكالها وتفرعاتها والابواغ بأشكالها وطريقة ترتيبها على الخيوط الفطرية [2]. كما اعتمد التشخيص على اختبار اختراق الشعرة[اذ اظهر ان الفطر يخترق قصبة الشعرة ويضع داخلها سلاسل من الابواغ وتسمى هذه الاصابة داخلية الشعرة Endothrix .[١٢]

2 – تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر *Trichophyton tonsurans*

1- الوسط الغذائي : تم تنمية الفطر على خمسة اوساط غذائية هي Sabouraud dextrose agar (SDA), Potato dextrose agar (PDA), Oatmeal cereal agar (OMA), Rice-tween 80 agar (R-t80) و (*Trichophyton* agar No.4 TNo.4) وذلك بأخذ قرص بقطر 5 ملم من حافة المستعمرة الفطرية بعمر 7-10 ايام ووضع في مركز الطبق الذي يحوي الوسط الغذائي, وحضنت الاطباق بدرجة حراره 28 مْ ولمدة 12 يوم, حسب النمو بقياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية [13].

2- تحديد الوسط الملائم لتجرثم الفطر: تم تنمية الفطر على الاوساط الزرعية المستخدمة في الفقرة (1) في درجة حراره 28 مْ ولمدة سبعة ايام, وفي نهاية مدة الحضن تم حساب اعداد الابواغ الكونيديه بحسب طريقة [14].

3- درجة الحرارة :تم حساب تأثير مديات مختلفة من درجات الحرارة على نمو الفطر الممرض وهي (15 ,20 , 28 ,25و35)ْ م وذلك بأخذ قرص بقطر 5 ملم من حافة المستعمرة الفطرية ووضع في مركز الطبق الذي يحوي على وسط PDA لمدة 12 يوم وحسب النمو بقياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية [13]

4- الاس الهيدروجيني (pH) : تم حساب نمو الفطر الممرض في وسط ذو اسس هيدروجينيه مختلفة وهي (5 ,5.1 ,5.2 ,5.3 ,5.4 ,5.5, 5.6 ,5.7 ,5.8 ,5.9 ,6) وذلك بأخذ قرص بقطر 5 مل حافة المستعمرة الفطرية ووضع في مركز الطبق الذي يحوي على وسط PDA لمدة 12 يوم بدرجة حراره 28 مْ وحسب النمو بقياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية [14].

5- مدة الحضن : تم تقدير نمو الفطر بعد فترات حضانة مختلفة امتدت من (4-12) يوما وذلك بأخذ قرص بقطر 5 ملم من حافة المستعمرة الفطرية ووضع في مركز الطبق الذي يحوي على وسط PDA عند الاس الهيدروجيني5.5 ودرجة حرارة 28مْ وحسب النمو بقياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية [13].

3- اختبار حساسية الفطر *T. tonsurans* تجاه المضادات الفطرية:

1- تحديد التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى للمضادات الفطرية: تم تحديد التركيز المثبط الادنى (Minimal Inhibitory Concentration(MIC والتركيز القاتل الادنى (Minimal Fungicidal Concentration (MFC لاربعة مضادات فطرية هي(Itraconazol ,Nystatin Griseofulvin,Fluconazol) واعتمدت هذه التجربة على مرحلتين:

أ- المضادات الفطرية: تم تحضير المحلول الاساسي Stock solution للمضادات الفطرية المستخدمة بتركيز10 ملغم/مل وحسب ما ورد في [5] واذيب مع التحريك المستمر 50 ملغم من المضادات الفطرية (Fluconazol , Nystatin) مع 5 مل من الماء المقطر المعقم وبعد ذلك وضعت هذه المضادات في قناني زجاجية معقمة محكمة الغلق, اما بالنسبة للمضادين (Griseofulvin و Itraconazol) فقد تم اذابة 50 ملغم من هذه المضادات في 5 مل من مادة Dimethyl sulfoxide وتركت المحاليل بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقه قبل استخدامها واما المتبقي فقد حفظ بالثلاجة عند درجة حراره 4 مْ لحين الاستخدام .

ب- اختبار حساسية الفطر *T. tonsurans* تجاه المضادات الفطرية : بعد تحضير المحلول الاساسيStock solution للمضادات الفطرية الاربعة وفي ظروف التعقيم تم تحضير التراكيز(10 ,5 , 1.5,3, 15, 20, 40,25, 30,35) ملغم/مل من كل مضاد فطري ووضع كل تركيز في 100 مل من الوسط الزرعي (SDA), وصب في اطباق بتري معقمة ليتم الحصول على MIC و MFC للفطر الممرض تجاه المضادات الفطرية, وذلك بزراعة اقراص فتية للفطر المرضي في وسط الاطباق الحاوية على تلك التراكيز, حضنت جميع الاطباق عند درجة حراره 28 مْ لمدة 7 ايام وتمت ملاحظة النمو من عدمه ومقارنة النمو مع اطباق السيطرة التي تخلو من اضافة المضاد الفطري [15].

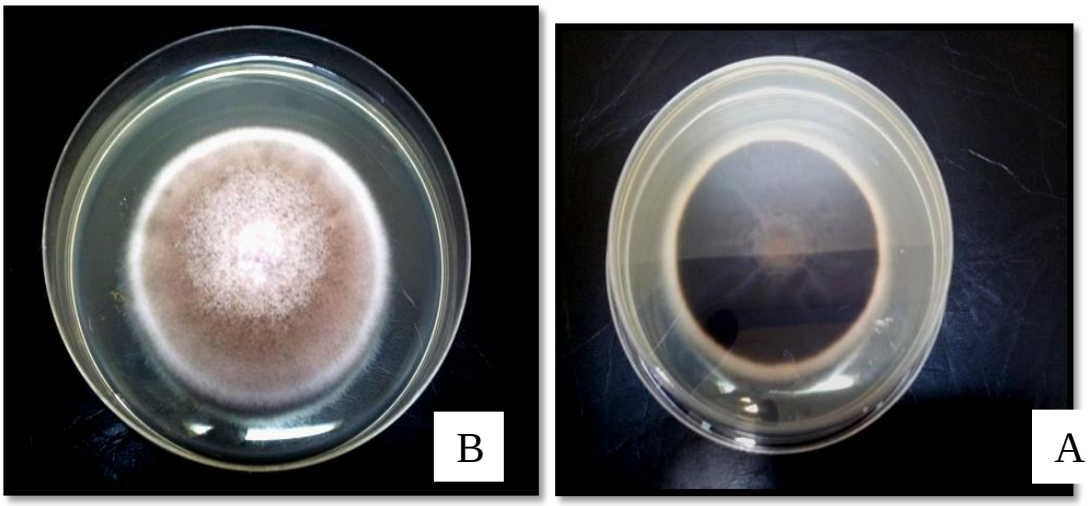
2- تأثير المضادات الفطرية في نمو وتبوغ الفطر *T. tonsurans*: تم حساب القدرة التثبيطية لهذه المضادات على النمو القطري ونسبة انتاج الابواغ للفطر الممرض اذ استعملت نفس التراكيز السابقة لهذه المضادات ممزوجة مع الوسط (SDA), وبعد تصلب

الوسط تـم زرع قـرص بقـطـر 5 ملـم مـن الفطـر الممرض فـي هـذا الوسط, حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 28مْ لمـدة 7 ايام وفـي نهاية مدة الحضن تم قياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية, وتم قياس النسبـة المئويـة للتثبيط وذلك بالمقـارنة مع اطبـاق السيطرة الخالية من المضاد الفطري حسب طريقة [16]. ومن ناحية اخـرى تـم حسـاب عدد الابواغ الكونيدية للفطر الممرض باستخدام شريحة عد الابـواغ slide Hemacytometer counting وبنفس تراكيز المضاد الفطـري, اذ اخذ 1 غرام من الوسط الزرعـي للفطـر الممـرض المعامـل بالمضاد ووضع في انبوبة اختبار سعـة 50 ومزج مع 10 مل من الماء المقطـر المعقم ثم اضيفت قطرتين من سائل tween 80 لتقليل الشد السطحي للابـواغ الكونيدية ولتقليل تجمعها او ترسبها, وبعـد الرج ترك المحلول لمـدة 10 دقائق بعـدها اخذ 1مل من المحلول اعلاه ومزج مع 9 مل مـن الماء المقطـر المعقم للحصول علـى تخفيف 10^{-1}, ثم نقلـت قطـرة واحـدة مـن العالـق الـى شريحـة العد باستخدام قطارة معقمة وتم حساب اعداد الابواغ الكونيديـة لخمسـة مربعـات قطريـة كبيـرة علـى شريحـة العـد ومقارنـة ذلك مـع مجموعـة السيطـرة لاستخـراج النسبـة المئويـة لتثبيط اعداد الابواغ الكونيدية [17].

التحليل الاحصائي :حلـلـت النـتائـج احصائيـا باستخدام التصميم العشوائي الكامـل (C.R.D) Complete Randamized Designe وقورنت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دنكـن متعـدد الحـدود Duncan's Range Test بمستوى معنوية [0.05 18].

4- النتائج والمناقشة :

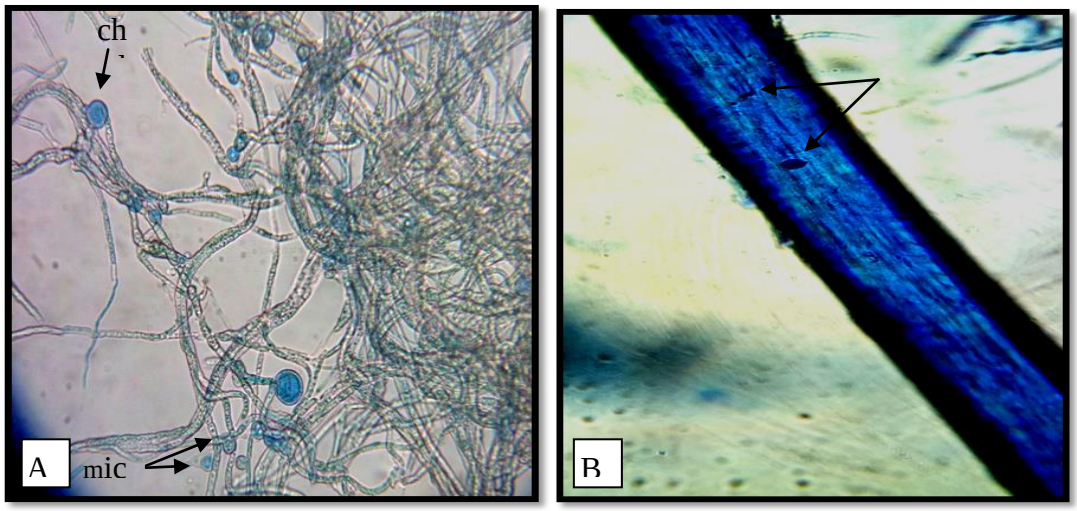
1- عزل وتشخيص الفطر : تـم عـزل الفطـر الممـرض مـن فـروة رأس طفـلـة بعمـر ثـلاث سنوات مصابة بسعفة الرأس وكان الشعر متكسر عنـد فتحـات البصيـلات حيث تترسب مادة سوداء مؤلفة من بقايا الشعر وافرازات الفطر, اذ يغـزو هـذا الفطر نصل الشعرة وتتجزأ الخيوط الفطرية مكونة ابواغ مفصليـة, واعتمـادا على الفحص المجهري المباشر لعينـات الشعر المصاب وكذلك مـن خلال الخصائص المظهرية للمستعمرة, و تبيـن ان المستعمـرة ذات قـوام شبيه بجلد الغزال الى الشكل الصوفي ويكون مركز المستعمرة مرتفع قليلا, اما لون المستعمرة فيكـون متبايـن مـن البرتقالـي الشاحـب الـى البني الاسـود ولون المستعمـرة العكسـي فيكـون متبايـن من الليموني الى البني الاحمر(الشكل 1)هذا الوصف جاء مطابقا للعديد من الباحثين [19,6]



شكل (1) مستعمرة الفطر *Trichophyton tonsurans* : A- من الجهة الامامية

B - من الجهة الخلفية

اظهر الفحص المجهري للعينات ان الخيوط الفطرية (الهايفات) مقسمة بحواجز عرضية متناسقة مع وجود اعداد كبيرة من الابواغ الصغيرة Microcinidia ذات اشكال واحجام مختلفة كالشكل الكمثري والصولجاني وشكل البالون تحمل على طول الغزل الفطري او على حوامل كونيدية قصيرة, اما الابواغ الكبيرة Macroconidia فتتكون بأعداد قليلة او نادرة وتكون ذات جدران ملساء او رقيقة, وتوجد الابواغ الكلاميدية Chlamydospores في المزارع القديمة (الشكل 2A) هذا الوصف جاء متطابق لما توصل الية كل من [6, 20, 21]. واوضح اختبار اختراق الشعرة ان اصابة الشعرة تكون داخليةEndothrix وتتكون الابواغ بشكل سلاسل داخل الشعرة المصابة مما يؤدي الى تكسرها بالقرب من فروة الرأس(الشكل 2B) وهذه النتيجة جاءت متوافقة مع العديد من الباحثين [٦ , 22]. ولم تتفق هذه النتيجة مع ما ذكره [٢٣] الذي اشار الى ان الفطر *T. tonsurans* لا يسبب اختراق للشعرة المصابة خارج الجسم الحي *In vitro*.



شكل (2) :A- الغزل الفطري والكونيدات الصغيرة(mic) والكبيرة والابواغ الكلاميدية (chl) للفطر *T.tonsurans* B- اختراق الفطر للشعرة المصابة

2-4 تأثير الاوساط الغذائيه في *T. tonsurans*

A – نمو الفطر *T.tonsurans* : تـم استعمال خمسـة اوسـاط غذائيـة مختلفـة وهـي Potato Dextrose Agar (PDA), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Oatmeal Cereal Agar (OMA), Rice-tween 80 (R-t80), *Trichophyton* Agar No.4 (T.no4).اذ درس تأثير هـذه الاوساط فـي نمـو الفطـر الـممرض عند درجـة حـرارة 28 مْ ولمدة 12 يوما, وبينت نتائج الجدول(4-1) التجربة وجود زيادة في نمـو المستعمرات بزيـادة مدة الحضن لكل الاوسـاط الغذائيـة المستعملـة اذ تفـوق الوسـط (PDA) معنويا على بقيـة الاوسـاط المستعملـة وفي جميـع فتـرات النمـو, وبـلغ اعلى معدل لنمو مستعمرات الفطر على هذا الوسط 61.66 ملـم, يليـه الوسـط الغذائي (OMA) اذ بلـغ معـدل اقطـار مستعمرات الفطر 59.46 ملـم, وانخفض معدل نمـو المستعمرة الفطرية فـي الوسط الغذائـي(R-t80) معنويـا اذ بلغت اقطار مستعمرات الفطر 28.43 ملم. واوضحت نتائج الجـدول (4-1) بان الوسط الغذائي PDA قد تفوق معنويا على بقيـة الاوسـاط فـي معـدل اقطـار المستعمـرات جميعهـا لفترات التحضين (4, 6, 8, 10, 12) يـوم, امـا نمـو المستعمـرات الفطرية خلال الفترات الزمنية المختلفة مـن التحضيـن فقد ظهـر من النتائـج حدوث زيـادة معنوية لنمو مستعمرات الفطـر بزيـادة مـدة الحضن. جـاءت هـذه النتائـج متوافقـة مـع مـا توصـل اليه [24] الـذي توصل الـى ان الوسـط PDA هـو افضل الاوساط لنمـو الفطريـات الجلديـة ويرجع السبب لوجود سكر الكلوكوز 2% في هـذا الوسط, اذ ان الفطريـات الجلديـة يمكنها استغلال السكريات البسيطة مثل سكر الكلوكوز كمصدر للكاربون الذي يعد من العوامل المهمة في نمو الفطريات [25]. اذ ان وجوده فـي الوسـط الغذائـي يـؤدي الـى زيـادة معـدل النـمو وزيادة

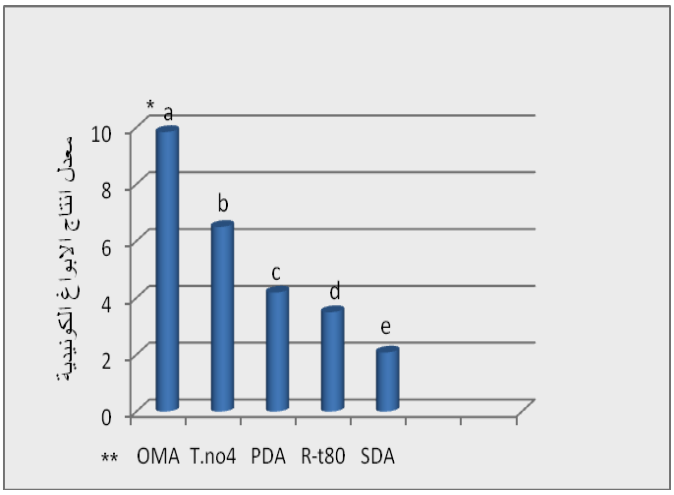
الوزن الجاف, ولا يحتوي الوسط الغذائي OMA على الكلوكوز لذا لوحظ انخفاض نسبي في معدل اقطار نمو المستعمرات ولا تتمكن الفطريات الجلدية من تحليل السكريات المتعددة كالنشأ الموجود في الوسط R-t80 غير انها لها القابلية على استغلال الاحماض الامينية المكونة للببتون والكازائين الموجودفي الوسط T.no4 كمصدر للنتروجين والكاربون وهذا يؤدي الى ارتفاع الرقم الهيدروجيني للوسط الغذائي والذي يصبح غير ملائم لنمو الفطريات[26, 27]

جدول (4-1) تاثير نوع الوسط الغذائي على معدل اقطار مستعمرات الفطر*T.tonsurans* (ملم) في فترات التحضين المختلفة (بالأيام) **

نو نوع الوسط	فترات التحضين (يوم)					المعدل
	4	6	8	10	12	
PDA	29.33 p*	48.33 j	64.66 g	77.66 d	88.00 a	61.66 a
OMA	30.66 o	46.33 k	64.50 g	72.83 e	82.66 c	59.46 b
SDA	26.66 q	39.66 m	55.00 i	69.33 f	85.33 b	55.20 c
T.no4	22.66 r	29.66 po	36.66 h	46.66 k	60.00 h	39.00 d
R-t80	12.83 s	21.66 r	27.33 q	35.66 h	44.66 i	28.43 e
المعدل	24.50 e	37.13 d	49.63 c	60.36 b	72.13 a	

*** الارقام المتبوعه باحرف مختلفه تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية 0.05 حسب اختبار دانكن ** كل رقم يمثل معدل اقطار مستعمرات الفطر لثلاث مكررات**

B- تبوغ الفطر *T. tonsurans* : بينت نتائج الشكل(3) حدوث زياده في معدل انتاج الابواغ الكونيدية بزيادة مدة الحضن, اذ لوحظ وجود فروقا معنوية في معدل انتاج الابواغ للفطر على الاوساط الغذائية هي R-t80,T.no4,OMA,SDA, PDA ولمدة سبعة أيام من التحضين في درجة حرارة 28مْ وتفوق الوسط الغذائي OMA في معدل انتاج الابواغ معنويا مقارنة بالأوساط الغذائية الاخرى وبلغ 9.84 10 x ² بوغ/مل وكان اقل ما يمكن عند استخدام وسط SDA وبلغ 210 2.08xبوغ/مل (الشكل 3).

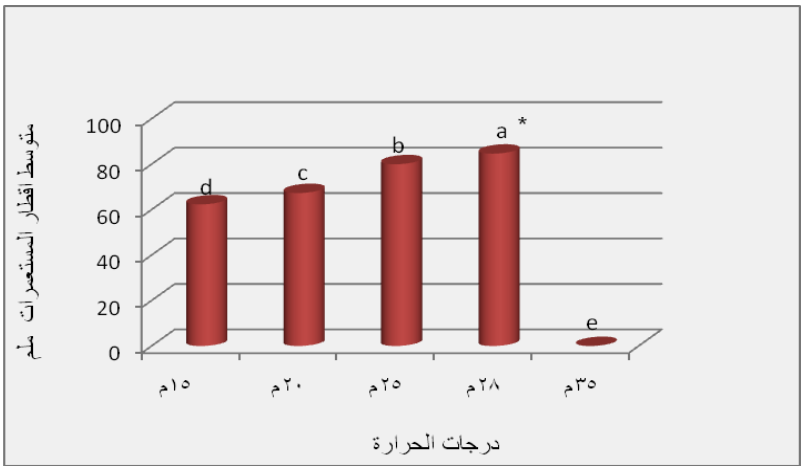


* الحروف المختلفة في قمة الاشكال تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05
** OMA: Oatmeal Cereal
T.no4: Agar Trichophyton
Agar no.4
PDA : Potato Dextrose Agar
R-t80: Rice-tween 80
SDA : Sabouraud Dextrose Agar

الشكل (3) تأثير نوع الوسط الغذائي في معدل انتاج ابواغ الفطر *T.tonsurans*

وهذه النتائج جاءت متوافقة مع 14 و24 الذين توصلوا الى ان الوسط OMA هو احسن وسط لتبوغ الفطريات الجلدية, ويعزى هذا الاختلاف في نسبة انتاج الابواغ للأوساط المختلفة الى وجود اختلافات تركيبية هامة في هذه الاوساط الغذائية كاختلاف البروتين ومحتوى الدهون والتي تؤثر مباشرة في انتاج الابواغ 28] [كما اشار [29] الى ان الوسط R-t80حفز انتاج الابواغ للفطر *Dactylaria higginsii* ولكن نسبة انتاج الابواغ فيه انخفضت بمقدار 50% مقارنة بنسبة الانبات 100% على وسط PDA, لذلك فان انتاج ونوعية الابواغ وقابليتها على الانبات اضافة الى ان امراضية وضراوة الفطر الممرض تتأثر بتركيز الكاربون ونسبته الى النتروجين في الوسط الغذائي [٢٨، ٣٠].

3-4 درجة الحرارة : اشارت النتائج في الشكل (4) حصول زيادة معنوية في متوسط اقطار المستعمرات الفطرية بزيادة درجات الحرارة, اذ بينت النتائج حصول زيادة معنوية في متوسط اقطار مستعمرات الفطر *T. tonsurans* النامية على وسط PDA طيلة 12 يوما من الحضن ولجميع درجات الحرارة (15, 20, 25, 28 و35) مْ الا ان متوسط اقطار مستعمرات الفطر عند درجة حرارة 28مْ قد تفوق معنويا عن مثيلاتها من الدرجات الحرارية الاخرى طيلة مدة الحضن اذ بلغ متوسط اقطار مستعمرات الفطر في نهاية مدة الحضن 84.66 ملم في حين كانت 80.00 ملم عند درجة 25مْ , بينما بلغ متوسط اقطار مستعمرات الفطر 67.33 ملم عند درجة 20مْ واظهرت النتائج انخفاضا معنويا في معدل النمو عند درجة 15مْ عن مثيلاتها اذ بلغ 62.33 ملم, بينما لم يحدث نمو عند درجة 35مْ



*الأعمدة ذات الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية في المعاملات عند مستوى معنوية 0.05

الشكل(4) تأثير درجات الحرارة في معدل نمو مستعمرات الفطر *T.tonsurans*(ملم) النامية على وسطPDA

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل الية [32,31] الذين وجدا ان افضل درجة حرارة لنمو الفطريات الجلدية هي 25-28 مْ, الا ان هذه النتائج لا تتفق مع ما ذكره [4] من عدم وجود اختلافات في تأثير كل من درجة الحرارة 30 و35مْ في معدل نمو الفطريات الجلدية العائدة لجنس *Trichophyton* وقد يرجع الى اختلاف ظروف التجربة واختلاف النوع ويعزى سبب زيادة النمو في المدى الحراري 25-28مْ الى ان الفعاليات الحيوية للنمو تصل الى قمة نشاطها عند الدرجة الحرارية المثلى, ومن ثم يسهل لها استغلال المصادر الغذائية في الوسط لغرض بناء الجزيئات الكبيرة Macromolecular ومن ثم بناء كتلة الفطر, ومن اهم الفعاليات الحيوية المرتبطة بنمو الفطر التي تتأثر بتغير درجات الحرارة عملية التنفس, اذ تنخفض عملية التنفس عند انخفاض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو ومن ثم تتأثر عملية بناء الجزيئات الكبيرة وهذاما يحدث عند خفض درجة الحرارة, وعند رفع درجة الحرارة تتوقف عملية التنفس وتؤدي الى موت الفطر حتى ولو انخفضت درجة الحراة الى الدرجة المثلى للنمو[٣٣].

4-4 الاس الهيدروجيني pH: اظهرت النتائج في جدول (4-2) حصول زيادة معنوية في متوسط اقطار مستعمرات الفطر *T. tonsurans* النامي على وسط PDA بدرجة حرارة 28مْ وللأسس الهيدروجينية المختبرة طيلة مدة الحضن البالغة 12 يوما, اذ ظهر تفوقا معنويا في متوسط اقطار مستعمرات الفطر عند الاس الهيدروجيني 5.5 مقارنة مع مثيلاتها اذ بلغ متوسط اقطار مستعمرات الفطر للاس الهيدروجيني 5.5 في اليوم الثاني عشر84.66ملم وفي اليوم الخامس 32.83ملم بينما انخفض الاس الهيدروجيني 5.2 معنويا عن مثيلاته فقد بلغ متوسط اقطار مستعمرات الفطر لليوم الثاني عشر42.83 ملم. وهذه النتائج جاءت متوافقة

مع ما ذكره [31] من ان الاس الهيدروجيني الامثل لنمو الفطريات الجلدية يقع بين(5.6- 5.4) لكنها تختلف مع ما توصل اليه [24] من ان افضل اس هيدروجيني لنمو الفطريات الجلدية هو(6) ويعود هذا الاختلاف نتيجة لاختلاف ظروف التجربة واختلاف نوع الفطر اشار[27] الى ان الفطريات الجلدية تنمو بشكل افضل في الاوساط الغذائية المحتوية املاح الدوارئ وبأس هيدروجيني (5-6), يؤدي الاس الهيدروجيني للوسط او البيئة دورا مهما ومؤثرا في الكائنات الممرضة والتي يختلف نموها باختلاف الاس الهيدروجينية, وهذا ينعكس دوره على الاحياء المجهرية اذ تتباين بقدرتها على احداث المرض وذلك بحسب انواعها اذ تتمكن بعض الفطريات من احداث المرض في الوسط الحامضي او القاعدي ام المتعادل وان للاس الهيدروجيني اهمية كبيرة في تنظيم التبادل الايوني عبر الغشاء النووي, اذ ان عملية دخول الايونات الموجبة تزداد بزيادة الاس الهيدروجيني والايونات السالبة يزداد دخولها عندما ينخفض الاس الهيدروجيني ومن ثم لابد من وجود قيمة للاس الهيدروجيني تكون فيها دخول الايونات الموجبة والسالبة بصورة متوازنة وهذا الاس سمي بالاس الهيدروجيني الامثل [٣٤]. يتركز تأثير الاس الهيدروجيني في نمو الفطريات من خلال التأثير في صفات الوسط الغذائي كإذابة المواد الغذائية وانتقالها وتأينها وتركيز البيكاربونات الناتجة من ذوبان ثاني اوكسيد الكاربون الذي يؤثر في السعة الدارئة للوسط الغذائي وينعكس على نمو الفطريات [35].

جدول (4-2) يبين تأثير الاس الهيدروجيني في معدل نمو مستعمرات الفطر *T.tonsurans* (ملم) النامية على الوسط PDA بعد فترات تحضين مختلفة

	متوسط اقطار المستعمرات الفطرية (يوم)				
	5	7	9	12	المعدل
5	16.33 ab*	22.83 x	33.00 s	49.50 l	30.45 i
5.1	17.33 a	27.33 v	34.50 r	52.33 j	32.87 g
5.2	14.33 c	20.00 y	29.33 u	42.83 o	26.58 j
5.3	16.00 b	24.83 w	35.66 q	50.00 k	31.62 h
5.4	31.66 t	42.16 o	61.66 g	80.33 b	53.25 c
5.5	33.83 r s	47.50 m	68.00 e	84.66 a	58.58 a
5.6	32.83 s	45.50 n	61.00 g	80.66 b	55.00 b
5.7	31.66 t	49.66 l	62.66 f	77.66 c	55.41 b
5.8	20.83 y	39.66 p	54.16 i	76.33 c	47.78 e
5.9	26.66 v	42.66 o	56.33 h	72.66 d	49.57 d
6	19.50 z	31.33 t	47.83 m	61.33 g	39.99 f
المعدل	23.69 d	35.76 c	49.40 b	66.24 a	

*** الارقام المتبوعة بأحرف مختلفة تعني وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية 0.05 حسب اختبار دنكن**

4-5 تأثير فترات الحضانة المختلفة في انتاج ابواغ الفطر *T. tonsurans* : اظهرت النتائج وجود زيادة في نسبة انتاج الابواغ الكونيدية التي ينتجها الفطر الممرض النامي على وسط PDA برجة حرارة 28م مع زيادة فترة الحضن اذ بلغت اعلى نسبة لإنتاج الابواغ الكونيدية في نهاية مدة الحضن (12 يوم) 3.18 x 10^2 بوغ/مل تلية 2.77 x 10^2 بوغ/مل عند التحضين لمدة (10 ايام), بينما بلغت نسبة انتاج الابواغ لمدتي الحضن (6-8) 1.59 x10^2 و10^3 2.16 x بوغ/مل على التوالي وانخفضت نسبتها في فترة الحضن (4) وبلغت1.40 x 10 ^{3} بوغ/مل, تمتلك مدة الحضن تأثيرا كبيرا في تبوغ الفطريات الجلدية, اذ لوحظ ان انواع جنس *Trichophyton*تنتج الابواغ الكونيدية بغزارة بعد فترة حضانة 4 ايام على وسطHeinz Oatmeal Cereal Agar ولم تنتج الابواغ الكونيدية على وسطيMycosel Agar وPotato Dextrose Agar الا بعد مدة حضانة 7 ايام [14]. تختلف مدة الحضن للفطريات الجلدية اعتمادا على نوع الفطر وسلالات النوع الواحد والوسط الغذائي اضافة الى نوع الاختبار وظروف التجربة[27]. وقد تم الاستنتاج من نتائج هذه الدراسات ان درجة الحرارة 28مْ والاس الهيدروجيني 5.5 عدت قياسية للتجارب الاخرى .

4-6 اختبار حساسية الفطر *T. tonsurans* تجاه المضادات الفطرية المختبرة :

4-6-1 تحديد التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى للمضادات الفطرية : يعرف التركيز المثبط الادنى MIC بانه اقل تركيز للمضاد الحيوي الذي يسبب تثبيط 80% من النمو الفطري بينما يعرف التركيز القاتل الادنى MFC بانة اقل تركيز للمضاد الحيوي الذي يسبب تثبيطا كاملا للنمو الفطري (100%)او لا يظهر عنده النمو حتى بعد نقل الفطر الى وسط خالي من المضادات36] [استعمل في هذه التجربة 10 تراكيز متزايدة من كل مضاد فطري للحصول على MIC و MFC تجاه الفطر الممرض عند درجة حرارة 28 مْ ووسط غذائيSDA وبعد سبعة ايام من الحضن, اذ بينت نتائج التجربة تناقص اقطار المستعمرات الفطرية بزيادة تركيز المضاد الفطري, اذ ظهرت فروقا معنوية بسيطة في قيمة MIC وMFC للمضادات الفطرية Griseofuvin, Fluconazol, Itraconazol اذ كانت قيمة التركيز المثبط الادنىMIC للمضادين Griseofuvin, Fluconazol هو 25 ملغم/مل وسجل المضاد Itraconazol اعلى قيمة للتركيز المثبط الادنى اذ بلغت 35 ملغم/مل, واوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية في قيمة التركيز القاتل الادنى MFC للمضادات الفطرية الثلاث اذ بلغ 40 ملغم/مل اما المضاد الفطريNystatin فلم يسجل اي قيمة التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى في هذه التجربة, هذه النتائج جاءت مؤيدة لما توصل اليه [٣٧]

الذي اشار الى ان كلا من المضادات الفطرية المستعملة في الدراسة تحمل تركيز مثبط ادنى MIC وتركيز قاتل ادنىMFC متفاوتة بحسب نوع الفطر المعزول.

2-6-4 تأثير المضادات الفطرية المختبرة في نمو مستعمرات الفطر *T.tonsurans* وانتاج الابواغ : تشير النتائج الواردة في جدول (4-3) ان المضادات الفطرية المستعملة في التجربة تتقارب بالتأثير في نسبة التثبيط لنمو الفطر الممرض ونسبة انتاج الابواغ الكونيدية, اذ تفوق المضاد الفطري Griseofulvin عن بقية المضادات معنويا في نسبة التثبيط, وبلغت نسبة تثبيط الفطر الممرض 100% عند التركيز 35ملغم/مل يلية كل من المضادات الفطرية Fluconazolو Itraconazole اذ بلغت نسبة التثبيط لنمو وتبوغ الفطر 100% عند التركيز 40 ملغم/مل, بينما سجل المضاد الفطري Nystatin اقل نسبة عند التركيز 40 ملغم/مل اذ بلغت 47.91 % للنمو الشعاعي و 65.80% بوغ/مل نسبة مئوية لتثبيط عددالابواغ, وبينت النتائج ايضا انخفاض في النسبة المئوية لتثبيط النمو وتبوغ الفطر الممرض معنويا وللمضادات الفطرية جميعها عند التركيز 1.5 ملغم/مل اذ بلغت (34.36,5.55و5.64,30.62و1.92,31.94و2.94,30.15) للمضادات الفطرية Fluconazol Nystatin Griseofulvin وItraconazole على التوالي.

جدول(4-3) تاثير المضادات الفطرية على النسبة المئوية للتثبيط في النمو الشعاعي وتبوغ الفطر *T. tonsurans*.

تراكيز المضادات ملغم/مل	المضادات الحيويه							
	Nystatin		Griseofulvin		Fluconazol		Itraconazole	
	% لتثبيط النمو	% لتثبيط اعداد الابواغ	% لتثبيط النمو	% لتثبيط اعداد الابواغ	% لتثبيط النمو	% لتثبيط اعداد الابواغ	% لتثبيط النمو	% لتثبيط اعداد الابواغ
1.5	5.55 h*	34.36 j	30.62 i	5.64 I	31.94 j	1.92 j	30.15 j	2.94 j
3	9.71 g	37.28 i	36.93 h	11.28 h	36.10 i	13.48 i	34.91i	8.83 i
5	16.66 f	38.31 h	41.44 g	23.49 g	41.66 h	29.09 h	38.09 h	16.38 h
10	17.35 f	39.68 g	51.34 f	42.98 f	56.94 g	42.77 g	43.64 g	27.43 g
15	26.38 e	40.89 f	71.17 e	53.18 e	65.27 f	50.09 f	60.31 f	42.90 f
20	32.63 d	42.95 e	76.57 d	63.74 d	76.38 e	62.42 e	63.48 e	60.95 e
25	36.80 c	47.59 d	80.17 c	75.40 c	81.94 d	76.48 d	69.04 d	78.08 d
30	38.88 c	52.91 c	87.38 b	88.34 b	90.27 c	88.81 c	72.21 c	88.58 c
35	43.05 b	59.78 b	100 a	100 a	94.44 b	92.28 b	86.50 b	91.34 b
40	47.91a	65.80 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

*الارقام المتبوعه باحرف مختلفه تعني وجود فروق معنوية في المعاملات عند مستوى معنوية 0.05

جاءت هذه النتائج متوافقة مع بعض الدراسات التي تؤكد على حصول نسب تثبيط متفاوتة للمضادات الفطرية المختبرة باختلاف الفطريات المرضية, بالنسبة للمضاد الفطري Griseofulvin فقد جاءت متوافقة مع [38, 39] الذين اكدوا الى ان هذا المضاد اعطى تأثير فعال ومثبط ضد الفطريات الجلدية, بينما اختلفت هذه النتائج مع ما توصل اليه [40] الذي اشار الى ان هذا المضاد يمتلك فعالية ضعيفة تجاه الفطريات الخيطية واوضح [٤١] الى ان فعالية هذا المضاد تكون اكثر وضوحا في الفطريات الجلدية التي تمتلك نظام نقل طويل معتمد على الطاقة على العكس من الكائنات غير الحساسة اذ يستبدل ذلك النظام بنظام نقل سريع وقصير وغير معتمد على الطاقة, ان هذا المضاد يؤثر على البروتينات المصاحبة للانبيبات الدقيقة وقد يوقف الانقسام الاعتيادي للفطريات المرضية [42]. بينما نتائج المضاد الفطري Fluconazol فجاءت ايضا متفقة مع ما اورده [43] اذ اشار الى حصول نسب تثبيط في نمو وتبوغ الفطريات الجلدية تصل الى 100% بتراكيز تراوحت (1-50), لكن هذه النتائج لم تتفق مع ما ذكره [39] الذي اشار الى ان هذا المضاد يمتلك فعالية مثبطة قليلة للنمو الشعاعي ولتبوغ الفطر الممرض وذلك نتيجة لان مكونات الوسط SDA تتداخل مع هذا المضاد مما يجعل النتيجة ضعيفة, يمتاز هذا المضاد بتثبيط تكوين Ergosterol وهو المكون الرئيسي للغشاء البلازمي للفطريات, اذ ينظم نفاذية وفعاليات انزيمات هذا الغشاء وهي المكون الرئيسي للحويصلات الافرازية ولهذه المادة دورا مهما في تنفس المايتوكوندريا[44]. وكذلك جاءت نتائج المضاد الفطري Itraconazole متوافقة مع ما توصل اليه [٢٤] الذي اشار ان هذا المضاد قد ثبط نمو الفطر *T. rubrum* بنسبة 93% وكذلك بالنسبة لإنتاج الابواغ للفطر المذكور اذ بلغت 73.8% وهي نسب متقاربة لما حصلنا عليه في هذه الدراسة, وهذه النتائج جاءت متوافقة مع نتائج [٤٥] والذي اشار الى ان المضاد الفطري Itraconazole كان الاكثر فعالية تجاه الفطريات الجلدية, واشار [44] الى ان هذا المضاد هو الاكثر فعالية في تثبيط تكوين Ergosterol مقارنة ببقية المضادات. اما نتائج المضاد الفطري Nystatin في هذه الدراسة جاءت مؤيدة لدراسة اجراها [46] عند استعمال هذا المضاد في تثبيط نمو *Candida albicans* ودراسة اخرى للباحث [47]على نفس الفطر اعلاه اذ اشار الى حصول نسب تثبيط لنمو الفطر تراوحت 16-30% لذلك يعد ال Nystatin من المضادات التي تستخدم لعلاج الاصابات السطحية للكانديدا كداء المبيضات الموضعية Local candidiasis للفم والمهبل [48]. كما اشار[49] الى ان التغير في العوامل المؤثرة على تقنية اختبار الحساسية للفطريات الجلدية مثل حجم اللقاح ونوع الوسط الغذائي

ودرجة الحرارة ومدة الحضن قد توضح الاختلاف في نتائج اختبار الحساسية للمضادات الفطرية.

المصادر :

1- Matsmmoto,I.,Fungal in Dermatology Principles and Practice Clinical Mycology. John Wiley ad Sons.ltd New york.103-129(1996).USA.

2- Kwon-chung,K.J.K.,and Bennett,J.E.,Medical mycology.Williams and Wilkins London.(1992). UK .

3-Arther,R.,Wilkineson,D.S.,Ebling,F.J.,Champion,R.H.,and Burton,J. L.,Textbook of Dermatology.4th ed Vol.1,Blackwell Sci.Publ. Oxford (1986). UK.

4- Norris,H.A.,Elewski,B.E.,and Ghannoun,M.A.,Optimal growth conditions for the determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of microdilution method.J.Am Acad.Dermatol.,40:9-13(1999).

5- McGinnis,M.R.,Laboratory Handbook of Medical Mycology. Academic press,USA. 661 pp. (1980).

6- شريف, فياض محمد(2012).الفطريات الطبية.الطبعة الاولى, ديموريرس,بيروت, لبنان.

7- Lesher,J.L.,Oral therapy of common superficial fungi infection of the skin. J. of the American Academy of Dermatology., (1999). 31-4:40

8- Friedlander,S.F.,The optimal therapy for tinea capitis.Pediatr Dermat-Ol.,17:6-325(2000).

9- Watanabe,S.,Present state and future direction of topical antifungals Japanese J. of Medical Mycology.,40:5-151(1999).

10- Koneman,E.W.,Roberts,G.D.,and Wright,S.E.,Practical Laboratory Mucology. The Williams and Wilkins Company(1978).UK.

11- Lee,K.,Park,K.K.,Park,S.and Lee,J.B.,Isolation purification and char-Acterization of keratinolytic proteinase from *microsporum canis*. Yonsei Med.J.28(2):131-138(1987).

12- Clayton,Y.M.,Midgley,G.,Identification of Agent of Superficial Mycosis.in Medical Mycology.Apracctical.Evans.E.G.V&M.D Richar dson ed.,I.R.L. Press University of Oxford.:65-95 pp (1989). UK .

13- Aubaid,A.H.,Enzymatic activity,purification of keratinase and proteinase and their role in the pathogenicity and immunogenicity of clinical isolates of dermatophytes and yeast.Ph.D.thesis, college of Science,University of Basrh (1997). IRAQ .

14- Jessup,C.J.,Warner,J.,Isham,N.,Hasan,I.,and Ghannoum,M.A., Antifungal susceptibility testing of dermatophytes:Establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates.J.Clin.Microbiol.,38:341-344 (2000).

15- الجنابي, علي عبد الحسين صادق(2004).معالجة الامراض الجلدية المتسببة عن الفطريات بمراهم حاوية على بعض مركبات البورين, اطروحة دكتوراه, كلية العلوم الجامعة المستنصرية جمهورية العراق.

16- Nothan,P.,Law,E.J.,and murph,D.F.,A laboratory method for selecti on of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds.J. Burns.,4:177-187(1978).

17- Lomer,C.J.,and Lomer,C.H.,Insect Pathology Mannal, 241pp(1997).

18- الراوي, خاشع محمود وخلف الله, عبدالعزيز محمد (2000).تصميم وتحليل التجارب الزراعية, دار الكتب للنشر. جامعة الموصل. جمهورية العراق.

19- Friedlander,S.F.,Use of the cotton swab method in diagnosing tinea capitis. Pediatries August, 104:276(1999).

20- Carrion,A.L.,Silva,M.Ringworm of scalp in Puerto Rrico.Puerto Rico J.Pub.Health &Trop. Med.19:329-391(1944).

21- Sowinski,W.,Rzepecka,B.,Mazurk,M.,*Trichophyton tonsurans*-studi-um kliniczne I Mikologiczne.Post Dermatol.,3:349-354(1986).

22- Hijazy,M.,Principles of Pediatric Dermatology.chapter 10 :Fungal skin infection.superfacial fungal infection.first ed.D:Medical Mycology., 40 :15-20 (2000). 18

23 - deHoog,G.S.,Guarro,J.,Gene,J.&Figueras,M.J.,Atlas of Clinical Fungi,2nd.Utrecht:CentraalbureauVoorSchimmelculture (2000).

24- الجبوري, مهند جواد كاظم(2007).تقويم بعض المضادات الفطرية والعوامل الحياتية في حياتية الفطر *Trichophyton* في الزجاج, رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة بابل .جمهورية العراق.

25- Philport,CH.M.,The use of nutritional test for the differentiation of Dermatophytes,Sabouraudia.,15:141-50(1977).

26- Drori,N.,Kramer-Haimovich,H.,Rollins,J.,Dinoor,A.,O;am,Y., Pines,O.,and Prusky,D.External PH and nitrogen source affect secretion of pectatelyase by *Colletotrichum gloeosporioides*. app. En viron.Microbiol.,69:3258-3262(2003).

27- Kunert,J.,Physiology of keratinophilic fungi :Revista Tberoamericana De Micologia.,1:77-85(2000).

28- Jackson,M.A.,and Bothast,R.J.,Carbon concentration and carbon to nitrogen ratio influence submerged-culture conidiation the potential bioherbicide *Colletotrichum truncatum* NRRL 13737. Appl. Environ., 56:3435-3438(1990).

29- Wyss,G.S.,Charudattan,R.,and Devalerio,J.T.,Evaluation of agar and grain media for mass production of conidia of *Dactylaria higginsii* Plant Dis., 85:1165-1170.

30- Schisler,D.A.,Jackson,M.A.,and Bothast,R.J.,Influnce of nutrition du-

ring conidiation of *Colletotrichum truncatum* on conidial germination and afficacy in inciting disease in *Sesbania exaltata*.Phytopathology 81:587-590(1991).

31- حمد, عبد الله غانم قدوري(2000) التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية في نمو فطريات جلدية ممرضة معزولة من المرضى, رسالة ماجستير, كلية العلوم جامعة تكريت. جمهورية العراق.

32- Weitzman,I.,and Summerbell,R.C.,The Dermatophytes. Clin. Microbiol. Rev.,8:240-25(1995).

19

33- Maheshwari,R.,Bharadwaj,G.,and Bhat,M.,Thermophilic fungi,their Physiology and enzymes,Microbiol. and Mol. Biol. Rev.63:461-488(2000).

34- Marchisio, V. F. Keratinophilic Fungi: Their role in nature and degradation of keratinic substrates. Revista Iberoamericana de Micrologia., 86-92. (2000).

35- Bull,A.T.,and Bushnell,M.E.,Environmental Control of Fungal Growth.The Filamentous Fungi.Wdward Arnold. London.,2:1-26 (1976). UK .

36- Mukherjee,P.K.,Leidich,S.D.,Isham,N.,Leither,I.,Ryder,N.S.,and Ghannoum,M.A.,Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine.Autimicrob Agents Chemother.,47:82-86 (2003) .

37- Adimi,P.,Hashemi,S.J.,Mahmoud,m.,Mirhendi,M.,Shidfar,M.R.,Emmami,M.,Matehkolaei,A.,Gramishoar,M.,Kordbacheh,P,*In vitro* activity of 10 antifungal agents against 320 dermatophytes strains using microdilution method in Tehran,Iranian J. of Pharmaceutical,12(3): 537-545(2012).

38- Chadeganipour,M.,Nilippour,S.,Havaaei,A.,*In vitro* evaluation of griseofulvin against clinical isolates of dermatophytes from isfahan Mycosis.,47:503-507(2004).

39- Pakshir,K.,Bahaedinie,L.,Rezaei,Z.,Sodaifi,M.,Zomorodian,K.,*In vitro* activity of six antifungal drug against clinical important dermatophytes, Undishapur Journal of Microbiology, 2(4):158-163(2009).

40- الربيعي, انعام محمود نجم(2001). دراسة حول الفطريات المعزولة من القناة التنفسية لمرضى التدرن والامراض الصدرية في البصرة, رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة البصرة. جمهورية العراق.

41- Polak,A.,Mode of Action Studies.In:J.F.,Ryley(ed.).Chemotherapy of Fungal Diseases. Springer-Verlag, Berlin J. 153-182 pp(1990).Germany .

42- Heath,I,B.,Experimental Studies of Mitosis in the Fungi. in : I.B.Heath(ed.).*Nuclear division in the fungi.*Academic press,New york.89-176 pp(1978). USA

43- Elahi,S.S.M.,Sabokbar,A.,Riazipour,M.,Bayat,M.,Saghazadeh,M. Evaluation of effect of Fluconazole and Terbinafine against 35 isolates of *Trichophyton rubrum* isolated from dermatophytes, Patient Sin Tehran,World Applied Science J. 14:481-484(2011).

44- Vanden Bossch,H.,Engelen,M.,Bochette,E.,Antifungal agents of use In animal health-chemical,biochemical and pharmacological as-pects. J.Vet.Pharmacol.Ther.,26:5-29(2003).

45- Fernandez-Torres,B.,Carrilo,A.J.,Martyn,E.,Delpalacio,A.,Moore, M.K.,Valverde,A.,Serrano,M.and Guarro,J.*In vitro* activites of 10 antifungal drugs against 508 dermatophytes strains. Antimicrob. agents Chemother.,45:2524-2528(2001).

46 - Manoher,V.,Ingram,C.,Gray,J.,Talpur,N.A.,Echard,B.W.,Bachi,D., Preuss,H.G.,Antifungal activities of origannm oil against *Candida albicans*,Molecul. Cellul. Biochem. 288:111-117 (2001).

47- AL-Hashime,S.A.H.,The role of *Candida albicans in vivo* vaginosis MSc. thesis submitted to the college of science AL-Mustansiriya University (2000).

48- Wasan,K.M.,Diversity of lipid-based polyene formulation and their behavior in biological system.Eur.J.Clin.Microbiol.Infection. Dis.,16: 81-92(1997).

49- Perea,S.,Fothergill,A.W.,Sutton,D.A.,and Rinaldi,M.C.,Comparison of *in vitro* activities of voriconazole and five established antifungal agents against different species of dermatophytes using a broth macrodilution method.J Clin.Microbiol.,39:385- 388(2001).