تشخيص بعض انواع الخميرة *Candida Spp.* المعزولة من المرضى المصابين بداء المبيضات في محافظة ديالى/العراق

أ.م.د.هادي علوان محمد الساعدي
قسم الثروة الحيوانية- كلية الزراعة- جامعة ديالى
ايميل:drh.alsaidy@yahoo.com
٠٧٩٠٣٢٤٤٨١٧-ه

ابتهال قاسم محمد دنبوس
مديرية صحة ديالى- وزارة الصحة

أ.م.د.نجم عبدالله جمعة الزبيدي
قسم علوم الحياة- كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة ديالى

المستخلص

بهدف تشخيص بعض انواع الخميرة*Candida spp.* اجريت هذه الدراسة في قسم علوم الحياة- كلية التربية للعلوم الصرفة لفترة من تموز- ٢٠١٠ وحتى شباط ٢٠١١ . اظهرت النتائج بان ٤١.٢٤% من العينات موجبة بالفحص المجهري المباشر والزرع و ٣٦.٠٨% منها موجبة بالزرع وسالبة بالفحص المجهري و ١٠.٣٠% موجبة بالفحص المجهري وسالبة بالزرع و ١٢.٣٨% سالبة بالفحص المجهري والزرع . شخصت انواع الخميرة *Candida spp.* من خلال صفاتها المظهرية والزرعية والاختبارات الكيموحيوية. حيث اظهر نوعي الخميرة *Candida albicans* و *C.tropicalis* القابلية على تكوين الانبوب الجرثومي ، وقدرة النوعين *C.albicans* و *C.glubrata* على تكوين السبورات الكلاميدية ، وقدرة النوعين *C.tropicalis* و *C.krusie* على النمو السطحي، وبينت النتائج كذلك قدرة الخمائر *C.glubrata* و *C.albicans* و *C.tropicalis* و *C.krusie* على تخمر سكر الكلوكوز، واظهرت الخميرة *C.tropicalis* قدرتها على تخمر سكر Galactose ، وتميزت الخميرة *C.glubrata* عن الانواع *C.albicans* و *C.tropicalis* و *C.krusie* بقدرتها على تمثيل سكر Lactose ، وكانت نسبة التصاق خلايا المبيضات بالخلايا الطلائية للفم ١٧.٥% ، ١٠.٠% ، ٧.٦% و ٤.٠% للخمائر *C.albicans* ، *C.tropicalis* ، *C.glubrata* و *C.krusie* على التوالي. وكانت قدرة المبيضات على انتاج الانزيمات المحللة للدهون المفسفرة ٠.٣٣ ،٠.٢٩ ، ٠.٢٦ و ٠.١٩ للخمائر، *C.tropicalis* ، *C.glubrata* و *C.krusie* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: مرضى، مسحات قطنية، انابيب اختبار، اوساط غذائية، مجهر ضوئي

DIAGNOSIS OF SOME TYPES OF YEAST *CANDIDA SPP.* ISOLATED FROM PATIENTS WITH CANDIDIASIS IN DIYALA PROVINCE / IRAQ.

Hadi Alwan Mohammed Alsaidy.
Animal Resources Dep. College of Agric. Diyala Univ.
E-mail: drh.alsaidy@yahoo.com. Phone: 07903244817

Ibtihal K.M. Danbuss
Directorate of Diyala Health. Minstry of Health

Najim G. Al-Zzebedee
Dep. Of Biology. College of Education for Pure Science

Received 16 April 2014 ; Accepted 13 August 2014

ABSTRACT

In order to diagnose some types of yeast *Candida spp*. This study was conducted at the Department of Biology - College of Education Pure Sciences for the period of July - 2010 until February 2011.The results showed that 41.24% of the samples positive direct microscopic examination and planting and 36.08% positive in transplantation and negative in microscopic examination and 10.30% positive microscopic examination and negative in transplantation and 12.38% negative in microscopic examination and transplantation. Diagnosed types of yeast Candida spp.Through phenotypic characteristics and transplantation and biochemical tests.Where showed the type of yeast *Candida albicans* and *C.tropicalis* susceptibility to germ tube configure، and the ability of species *C.albicans* and *C.glubrata* on configure the chlamidospore، and the ability of types *C.tropicalis* and *C.krusie* on the growth surface، the results also showed capacity of yeasts *C.glubrata*, and *C.albicans* and *C.tropicalis* and the *C.krusie* fermenting sugar glucose, yeast C.tropicalis showed their ability to fermenting sugar Galactose، and distinguish type *C.glabrata* all species *C.albicans* and *C.tropicalis* and the *C.krusie* its ability to representation of the sugar Lactose, the percentage of Candidiasis cells adhesion to epithelial cells of the mouth 17.5%, 10.0%, 7.6% and 4.0% for yeast *C.albicans, C.tropicalis C.glubrata , C.krusie* respectively. the ability of Candidiasis to produce analyst enzymes of fat phospholipide 0.33, 0.29, 0.26 and 0.19 for yeast *C.tropicalis, C.glabrata, C.krusie* respectively.

Key words: patients, cotton swabs, test tubes, food amid, an optical microscope

المقدمة

ازدادت في السنوات الاخيرة أهمية البحث حول تزايد حدوث الإصابات الفطرية بسب تزايد اعداد المصابين بامراض نقص المناعة المكتسبة ومـرض السكـــري وامراض سرطان الدم والتدرن الرئوي (Granger ،1992)، ويعد داء المبيضات Candidaisis من الإمراض الانتهازية ت الفطرية، ويعزى ذلك إلى تزايد عدد المصابين بأمراض نقص الشائعة في العالم والناتجة عن الاصابة ببعض أنواع جنس المبيضات *Candida spp.*، ومنها الإصابات الفموية والجلدية والجهازية وإصابات ألقناة البولية والتناسلية (Maza ،٢٠٠٢ و Saporiti ،٢٠٠١) . تعد خميرة المبيضات البيضاء *Candida albicans* النوع الرئيس للاصابة بداء المبيضات ، تليها الأنواع الأخرى كخميرة C.krusie و *C.tropicalis* و *C.dubliniensis* و *C.glabrata* وغيرها (Satana وآخرون ،٢٠١٠).

يعد تشخيص أنواع المبيضات الخطوة الأولى في العلاج، إذ لوحظ إن *C.krusie* و *C. glabrata* و *C.tropicalis* و *C.dubliniensis* تمتلك حساسية عاليه ضد المضادات الفطرية (Pfaller ، ٢٠٠٥). ومما تقدم تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص بعض انواع خمائر الجنس *Candida Spp.* المسببة لداء المبيضات من المرضى في بعض مدن محافظة ديالى .

البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني

المواد وطرائق البحث

العزلات الفطرية Isolation of Candidasis

تم الحصول على ٩٧ عينة بوساطة مسحات قطنية Swabs من حالات سريرية مرضية لأشخاص مصابين بداء المبيضات، شملت العينات مناطق الجسم المختلفة منها المهبل والفم والإذن الوسطى و الجلد والاظافر والإدرار، أخذت النماذج من مستشفى بعقوبة التعليمي العام ومستشفى البتول للولادة والطفل و المركز الصحي في كنعان من تموز-٢٠١٠

وحتى شباط-٢٠١١، وضعت المسحات في أنابيب اختبار معقمة وحاوية على محلول الملح الفسيولوجي، حفظت العينات في الثلاجة لحين المختبر الفحص والتشخيص.

الفحص المباشر Direct Examination

فحصت العينات بصورة مباشرة بوضع المسحة في المحلول الفسلجي ورجها جيداً ، اخذت قطرة من العالق على شريحة زجاجية، فحصت تحت المجهر الضوئي(X١٠٠ ، X٤٠) لمشاهدة خلايا الخمائر والخيوط الفطرية الكاذبة، كما صبغت شريحة زجاجية ثانية بعد تثبيتها بصبغة كرام لملاحظة خلايا الخمائر الموجبة لهذه الصبغة (Collee وآخرون، ١٩٩٦ و Kwon- Chungو Bennett ، ١٩٩٢). وتم قياس حساسية الفحص المباشر من خلال مقارنة نتائج الفحص المباشر بنتائج الزرع ألمختبري (مجيد، ٢٠٠٤).وحسب المعادلة التالية :

$$\text{الحساسية} = \frac{\text{عدد الحالات الموجبة}}{\text{عدد الحالات السالبة الكاذبة + عدد الحالات الموجبة}} \times ١٠٠$$

زراعة العينات

زرعت المسحات على وسط السابرويد الصلب في إطباق بلاستيكية (قطر٩ سم)، وحضنت الإطباق بدرجة حرارة تتراوح بين 25-30 م° لمدة 2-4 أيام، شوهدت الصفات المظهرية لمستعمرات الخميرة إثناء فترة الحضن والمتضمنة لون وقوام وشكل المستعمرة.

صبغ المسحات Staining of the Smears

اخذ جزء من مستعمرة الخميرة ومزج مع قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء على شريحة زجاجية لمشاهدة الخيوط الفطرية والابواغ العملاقة بالفحص المجهري، واخذت مسحة ثانية على شريحة زجاجية، ثبتت على لهب النار وصبغت بصبغة كرام لملاحظة التبرعم.

الاختبارات الزرعية والكيموحيوية

اختبار تكوين أنبوب الانبات Germ Tube Formation

اتبعت طريقة AL-Hamadani (١٩٩٧) بأخذ 2 مل من بياض البيض في أنابيب اختبار معقمة، لقحت الأنابيب بجزء من مستعمرة نامية على وسط السابرويد دكستروز، حضنت بدرجة حرارة 30 م° لمدة 2-3 ساعة. أخذت قطرة على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي لمشاهدة تكوين أنبوب الإنبات .

تكوين الابواغ الكلاميدية (المندثرة) Chlamydospores formation

يعد هذا الاختبار من الصفات التشخيصية المميزة للمبيضات حيث خطط وسط خلاصة الذرة بثلاثة خطوط متوازية طولها ١٠ مليمتر بزاوية ٤٥ درجة ، ثم لقحت بالخميرة المراد تشخيصها ووضع غطاء شريحة معقم على سطح الوسط، حضنت الإطباق بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٤٨ ساعة، بعدها فحصت بالمجهر الضوئي لملاحظة تكوين الابواغ الكلاميدية (البلاستولية blastoconidia)، فضلاعن تكوين الخيوط الفطرية الكاذبة (Konemam و آخرون، ١٩٧٩).

اختبار النمو السطحي Surface Growth

أُجري هذا الاختبار بتلقيح أنابيب اختبار معقمة حاوية على وسط السابرويد سكروز السائل(SSB) بجزء من مستعمرة الخميرة وحضنت الإطباق بدرجة حرارة ٢٥-٣٠ م° لمدّة ٢٤ ساعة لملاحظة النمو السطحي (Van Der Waltt، ١٩٧٠).

القابلية على تمثيل السكريات Sugar Assimilation

اتبعت طريقة Refai وآخرون (١٩٦٩) بوضع وسط تمثيل السكريات في إطباق بلاستيكية، زرع فيها ١مل/طبق من محلول الخميرة بعمر 24-48 ساعة بنشره بقضيب زجاجي. تم عمل حفربقطر ٦ ملم في الوسط بعد تصلبه، واضافة

محاليل السكريات المحضرة سابقا، حضنت بدرجة حرارة 30 مْ لمدة 2-4 ايام ، بعدها لوحظ وجود أوعدم وجود النمو الخميري في الحفر .

القابلية على تخمير السكريات Sugar Fermentation

أجريت التجربة وفقا لطريقة Lodder (١٩٧٤) بإضافة ٢ مل من وسط تخمر السكريات إلى انابيب اختبار حاوية على أنبوب درهم (Durham tube) بشكل مقلوب، اضيف لها 2 مل من محلول السكر الخزين للسكريات(سكروز، كلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز، كالكتوز) وأضيفت قطرات من احمر الفينول حتى تغير لون الوسط إلى الأحمر ثم لقحت الأنابيب بعالق الخميرة وحضنت بدرجة حرارة30 م°. وتمت متابعة النتائج يوميا لمدة 10 أيام وملاحظة تغير اللون الأحمر الى االاصفر وتكون الغاز في أنابيب درهم.

عوامل الضراوة Virulence factor

تم تقدير بعض عوامل الضراوة لجنس المبيضات البيضاء ومنها:

تقدير فعالية إنزيم الفوسفولايبير Phospholipase assay

استخدمت طريقة Abu-Elteen وآخرون (٢٠٠١) بتحضير لقاح الخمائر *Candida albicans* و *C.glubrates* و *C.tropicalis* و *C.krusie* بعمر 18 ساعة ناميا على وسط السابر ويد الصلب، نقل جزء من المستعمرة الى 5مل من المحلول الملحي المعقم، تم ضبط عدد الخلايا إلى10^6 خلية / مل باستخدام عداد كريات الدم (Haemocytometric Counter)، اخذ من العالق 10 مايكروليتر وزرع على وسط أكار السابرويد الحاوي على صفار البيض Egg Yalk، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 4 أيام، بعدها تم قياس قطر المستعمرة وقطر منطقة الترسب precipitation (zone) لاحتساب فاعلية الإنزيم (Pz value) وهي النسبة بين قطري المستعمرة ومنطقة الترسب .

تقدير إلية الالتصاق Adherence assay

اتبعت طريقة Abu-Elteen (٢٠٠٠)، بتحضير الخلايا الطلائية لبطانة الفم لشخص سليم وذلك بأخذ مسحة من الخلايا الطلائية لبطانة فمه بلطف باستخدام المسحات القطنية (Cotton Swabs) وضعت المسحة في أنبوب زجاجي حاوٍ على 20مل من المحلول الفوسفاتي الملحي (PBS) و نبذت مركزياً بسرعة 250 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق، غسلت ثلاث مرات باستخدام 20 مل من محلول PBS ، علقت الخلايا الطلائية في 4 مل من محلول PBS، وحسب تركيز الخلايا الطلائية بأستخدام العداد haemocytometeric Counter وضبط تركيزها إلى ٢×10^5 خلية/ مل، اخذ 0.5مل من عالق الخميرة الحاوي على ٥×10^6 خلية /مل وحضنت مع 0.5 مل من عالق الخلايا الطلائية لمدة 90 دقيقة بدرجة حرارة 37م° في حمام مائي هزاز وبمكررين لكل عينة، فحص الالتصاق باستخدام المجهر الضوئي.

النتائج والمناقشة

فحص العينات

أظهرالجدول (١) نتائج الفحص ألمجهري المباشر والزرع على وسط دكستروزسابرويد الصلب مع الكلورامفينيكول Sabouraud Dextrose Ager Chloramphenicol(SDAC) لسبع وتسعون عينة من المسحات الفموية، الجلدية، الإدرار، المهبلية ، الإذن الوسطى و الأظافر لمصابين بداء المبيضات بان 40 مسحة موجبة بالفحص ألمجهري المباشر والزرع أي (٤١.٢٤%)، و٣٥ مسحة موجبة بالزرع وسالبة بالفحص ألمجهري (٣٦.٠٨%) و ١٠مسحات موجبة بالفحص ألمجهري وسالبة بالزرع (١٠.٣٠%)، وكان مجمل المسحات السالبة بكلا الفحصين 12 مسحة (١٢.٣٨%)، ويعزى ظهور النتائج السالبة بالفحص ألمجهري المباشر والزرع إلى عدم كفاية العينة التي تم جمعها، أو ان المسبب ليس من الفطريات (Milne، ١٩٩٦)، أو ان يعود السبب إلى استعمال لعلاجات موضعية بصورة عشوائية بدون استشارة الطبيب المختص وذلك بسبب الازعاج الذي تسببه هذه الإصابة (Collee وآخرون، ١٩٩٦).

جدول١. نتائج الفحص ألمجهري المباشر والزرع لخمائر *Candida spp.* على وسط SDAC

نوع الفحص		عدد العينات	االنسبة المئوية (%)
ألمجهري المباشر	الزرع على وسط SDAC		
+	+	٤٠	٤١.٢٤
–	+	٣٥	٣٦.٠٨
+	–	١٠	١٠.٣٠
–	–	١٢	١٢.٣٨
العدد الكلي للعينات		**٩٧**	**١٠٠**

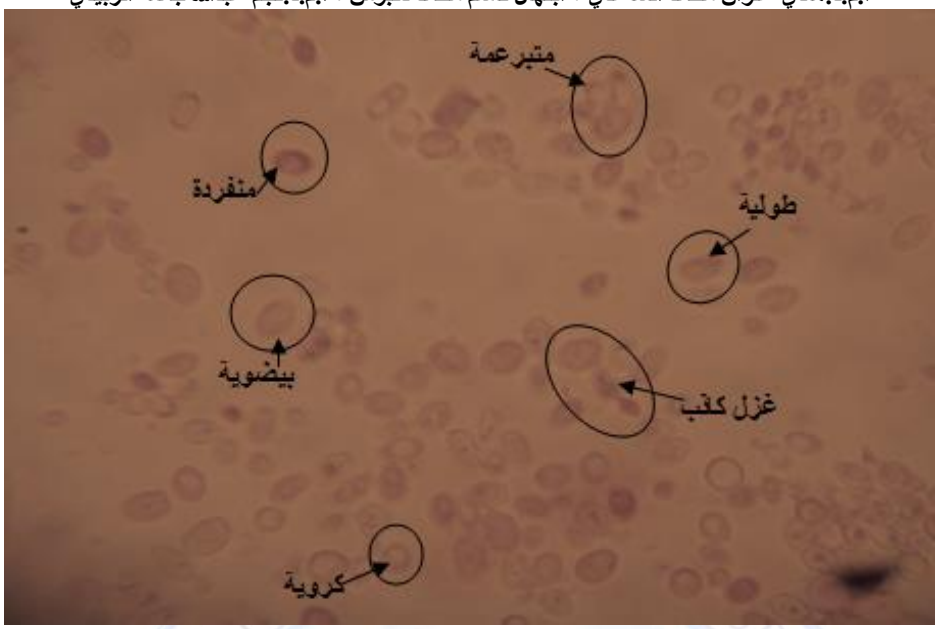
+= لوحظ وجود خميره *Candida spp* – = لم يلاحظ وجود خميره *Candida spp*

وتتوافق النتائج ألموجبة بالزرع (٧٥ عينة) وبنسبة ٧٧.٣٢ % مع ما توصل إليه Gravine وجماعة (٢٠٠٧) من إن نسبة الاصابة بداء المبيضات المعزولة من إصابات فموية لأطفال مصابين بالسرطان ٦٩.٣٥% ، ومع الصادق (٢٠٠٦) الذي اشار الى إن نسبة الاصابة بداء المبيضات ٦٦.٦ % ومع ما ذكره Al-Albiad(٢٠٠٤) بان نسبة الاصابة لأشخاص مصابين بالسرطان ٧٦.٦% ويعزى سبب الاختلافات في النتائج إلى المواقع الجغرافية وطرائق اخذ العينات (Campisic وآخرون، ٢٠٠٢).

وبينت نتائج الدراسة كذلك بان طريقة الفحص المباشر غير معبرة عن الوجود الفعلي لخميرة المبيضات عند الأشخاص الذين يعانون من أعراض المرض إذْ بلغت نسبة وجود الخميرة بالفحص المباشر ٥١.٥٤% و77.32% عند الزرع في الوسط الصلب و٥٨.٨% بالفحص المباشر مقارنة بنتائج الزرع ألمختبري ، تتفق النتائج كذلك مع ما اشار إليه الصادق (٢٠٠٦) بوجود تفاوت بين نتائج الفحص ألمجهري المباشر والزرع في إصابات السلاف ألفمي، ومع مجيد في ٢٠٠٤ والذي أشار إلى عجز الفحص المباشر في اكتشاف حالات الاصابة بداء المبيضات، وأشارت بعض الأبحاث إلى إن سبب الإصابة قد يكون نتيجة الاستخدام المستمر لمضادات الحياة في بعض الحالات المرضية والذي يؤدي إلى قتل البكتريا المضادة لهذه المبيضات (Ollia، 1997).

الاختبارات الزرعية والكيميائية

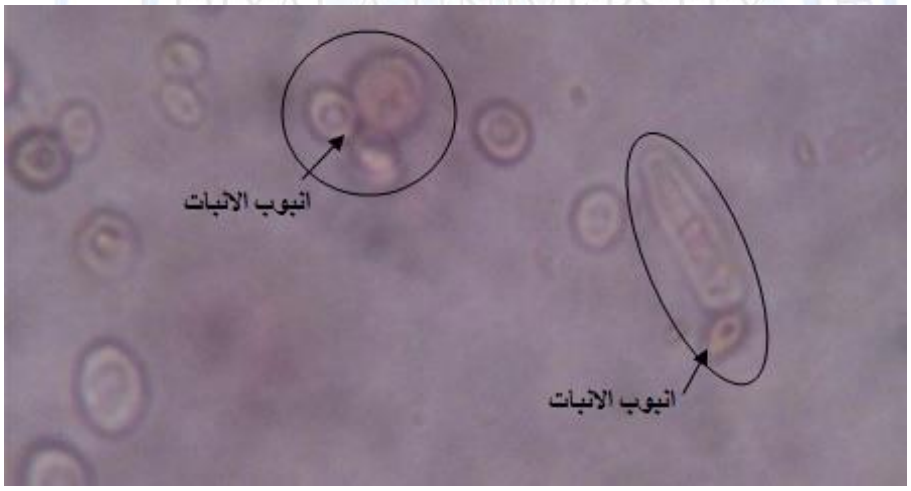
شخصت انواع الخميرة *Candida spp* وفقا لطريقة Cletus و Jack (١٩٩٨)، حيث تم التعرف على جنس المبيضات *Candida* بالاعتماد على الصفات المظهرية والصفات الزراعية والفحوصات الكيموحيوية ، حيث ظهرت انواعه بشكل مستعمرة بيضاء إلى حليبية اللون ملساء لماعة ومحدبة عند تنميتها على وسط دكستروزسابروبد الصلب مع الكلورامفينيكول (SDAC) لمدّة 3-٧ أيام بدرجة حرارة 37 م°، فحصت المستعمرة مجهرياً بعد تصبغيها بصبغتي كرام و اللاكتوفينول الزرقاء، لوحظت خلايا كروية الشكل إلى بيضوية أو طولية مفردة ومتبرعمة ووجود غزل فطري كاذب في بعض الاحيان، الشكل (١).



شكل١. المظهر العام لجنس المبيضات *Candida spp* على وسط SDAC(X١٠٠)

قابلية الخمائر على تكوين أنبوب الجرثومي

ا ظهرت النتائج الجدول (٢) قابلية خميرتي *Candida albicans* و *C. tropicalis* على تكوين الأنبوب الجرثومي ويعد هذا الاختبار صفة تشخيصية (Cletus و Jack، ١٩٩٨) الشكل (٢).



شكل ٢. تكوين ألانبوب الجرثومي Germ tube لـ *C.albicans* (X١٠٠)

جدول٢. بعض المظاهر البيولوجية والاختبارات الكيموحيوية للخمائر

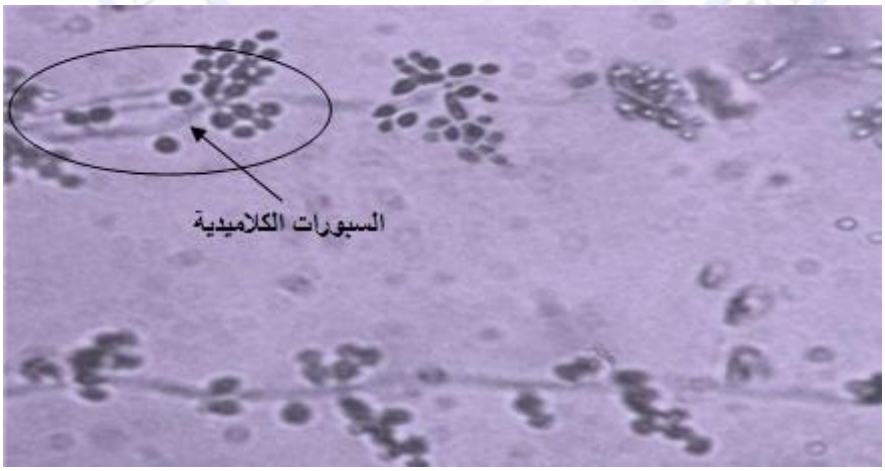
أنواع الخمائر	تكوين الأنبوب الجرثومي	تكوين الأبواغ المنثورة	خاصية النمو السطحي	قابلية الخمائر على تخمر السكريات				قابلية الخمائر على تمثيل السكريات					
				Glucose	Galactose	Sucrose	Maltose	Glucose	Galactose	Sucrose	Maltose	Starch solution	Lactose
C.albicans	+	+	–	+	–	–	+	+	+	V	+	+	–
C.tropicalis	+	–	+	+	+	V	+	+	+	–	v	+	–
C.glabrata	–	+	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	+
C.krusie	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–

V = متغير بين ايجابية وسالبية الفحص

+ = النتيجة موجبة الفحص – = النتيجة سالبة الفحص

قابلية الخمائرعلى تكوين السبورات الكلاميدية Chlamydospoer

اظهرت النتائج في جدول (٢)ان لنوعي الخميرة *C.glubrata* و *C.albicans* مستعمرات كريمية بيضاء اللون ذات مظهر دبق slimy، تأخذ شكل شجيري متفرع على الاكار



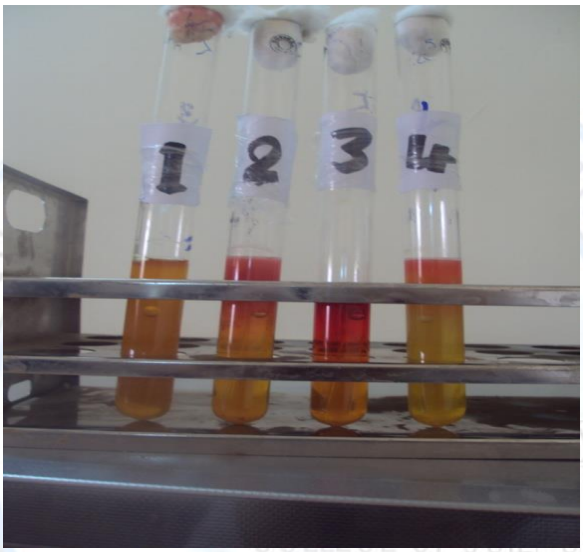
شكل ٣. تكوين السبورات الكلاميدية للخميرة *C.albicans* (X١٠٠)

قابلية الخمائر على النمو السطحي growth surface

اظهرت نتائج الفحص الجدول (٢) قدرة خميرتي *C.tropicalis* و *C.krusie* على تكوين نمو زاحف للأعلى على جدار أنبوبة الاختبار الحاوية على وسط سابرويد سكروز السائل SSB.

قابلية الخمائرعلى تخمير وتمثيل السكريات

أظهرت النتائج الجدول (٢) قابلية الخمائر *C.glabrata* و *C.albicans* و *C.tropicalis* و *C.krusie* على تخمير سكر الكلكوز، واظهر النوع *C.tropicalis* قابليته على تخمر سكر الكالكتوز (Galactose) لتفريقها عن الانواع الاخرى نتيجة أكسده المصدر الكاربوني وإنتاج غاز في أنبوب درهم وتحول لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر، الشكل (٣). وتمييزت الخميرة *C.glabrata* عن الانواع الثلاثة الاخرى بقابليتها على تمثيل سكر اللاكتوز(Lactose) وذلك بظهور نموها حول الحفر الحاوية على السكر.



شكل(٤)أنماط تخمر السكريات للخميرة *C.albicans*

1= Glucose 2= Galactose 3= sucrose 4= Maltose

وتتفق نتائج الفحص المظهري والتصبيغ و الاختبارات الكيموحيوية مع ما توصل إليه Cletus و Jack (١٩٩٨) و حوار(2002) ومجيد (٢٠٠٤) والصادق(٢٠٠٦).

اظهر الجدول ٣ إن خميرة *Candida albicans* هي السائدة عند تشخيص العزلات المرضية بنسبة ٦٩.٣% تليها *C.tropicales* ١٣.٣% ثم خميرة *C.glubrata* ١٠.٧%، واخيرا *C. krusie* ٦.٧% ، واقتربت هذه النتائج مع ما توصل إليه Satana وآخرون (٢٠١٠) بان نسبة الخميرة *C.albicans* المعزولة من التجويف ألفمي لأشخاص يعانون من إصابات فموية 73.1% و *C.glubrata* بنسبة ١٣.٤% وخميرتي *C.krusie* و*C.tropicles* بنسبة ٣% و١.٥% على التوالي، ومع Gravina وآخرون (٢٠٠٧) بان نسب الخمائر *C.albicans* و *C.glubrata* و *C.krusie* و*C.tropicles* ٤٢.٥٥% و٢.١٣% و ٤.٢٦% و١٢.٧٦ % المعزولة من التجويف ألفمي للمرضى المصابين بالسرطان على التوالي، ومع الصادق (٢٠٠٦) الذي ذكرالسيادة العالية للخميرة *Candida albicans* بنسبة ٧٨.٧%، تليها خميرة *C. tropicalis* ١٣.٧%، ثم خميرتي *C.flabrata* و *C. guillermond* ٣.٧% و ٢.٥% على التوالي، ويعزى السبب في تفوق الخميرة *C.albicans* لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة كالشكل الثنائي الذي يمكنها من التحول من شكلها الخميري إلى شكلها الخيطي حيث تبدأ خيوطها بالنمو واستعمار سطح الأغشية المخاطية (Erkose و Erturan ، ٢٠٠٧)، وكذلك قدرتها على الالتصاق بأغشية الخلايا الطلائية بدرجة عالية مقارنة بالأنواع الأخرى، وقد يعود السبب في ذلك إلى وجود عدد من المستقبلات السطحية ذات الاثر المهم في زيادة قدرة الخميرة *C.albicans* على الالتصاق بخلايا النسيج ألطلائي لجسم العائل، فضلاً على قدرتها على إفراز الإنزيمات مثل الإنزيمات الهاضمة للبروتين

وأهمها Aspartic Proteinase المسؤول عن تحليل البروتين والذي يسبب زيادة سرعة عملية نفاذ خلايا الخميرة إلى داخل أنسجة المضيف وإحداث الإصابة، وكذلك إفرازها لانزيمات الدهون المفسفرة Phospholipase المسؤولة عن تحليل الدهون الفوسفاتية التي تعد المكون الرئيس لغشاء الخلايا (Gary و Kevin، ٢٠٠٠).

جدول ٣. اعداد ونسب تواجد الخمائر

الخمائر	عدد النماذج	النسبة المئوية %
C.albicans	٥٢	٦٩.٣
C.tropicales	١٠	١٣.٣
C.glubrata	٨	١٠.٧
C.krusie	٥	٦.٧
المجموع	**٧٥**	**١٠٠**

عوامل ضراوة الخمائر

أظهرت نتائج الدراسة بصورة عامة قدرة أنواع المبيضات على إحداث الاصابة، مما تطلب دراسة بعض عوامل الضراوة لها ومنها :

قابلية الخمائرعلى الالتصاق بخلايا المضيف

أظهرت النتائج في الجدول (٤) نسب التصاق خلايا الخمائر *C.albicans* و *C.tropicalis* و *C.glabrata* و *C.krusie* بنسبه ١٧.٥% ١٠% و ٧.٦% و٤ % بالخلايا الطلائية للفم على التوالي ، مع وجود فروقا معنوية ($P<0.01$) بين خميرة *C.albicans* وبقية الخمائر، ولاتوجد فروقا معنوية بين الخمائر *C.tropicalis* و *C.glabrata* و *C.krusie*، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره Klotz (١٩٩٢) بحدوث الالتصاق بفعل تكوين المبيضات البيضاء لطبقة ليفية (Fibrillar layer) مكونة من سكريات متعددة على أسطح خلايا الطور الثبات (Stationary Phase) من النمو ، وتقترب النتائج مع ماشار إليه Al Abeid وآخرون (٢٠٠٤) بان نسب الالتصاق لخمائر *C.albicans* و *C.glabrata* ٢١.٠ % و ١٨.٤%، وتختلف مع الحجامي (٢٠٠٤) الذي ذكر إن اعلى نسب الالتصاق 52% وادناها 32% للخميرة *C.albicans*.

جدول ٤.نسب التصاق الخمائر بخلايا المضيف

الخمائر	نسب الالتصاق*
C.albicans	17.5±4.12
C.tropicalis	10±3.00
C.glabrata	7.6±4.04
C.krusie	4±1.41

*تمثل الاعداد معدل المبيضات الملتصقة بالخلايا الطلائيه للفم ∓الخطا القياسي عند LSD=8.3

ويعزى ظهور هذه الاختلافات إلى ألفة خلايا الخميرة للماء (hydrophobicity) ، فإذا كانت الخلايا ذات ألفة قليلة للماء يكون التصاقها اكبر بمقدار الضعف عن الخلايا ذات الفة قليلة للماء ، فضلا عن اثر الشحنة فالخلايا الملتصقة لها شحنة موجبة اكبر بعشرة إضعاف من الخلايا غير الملتصقة (Klotz ،١٩٩٢)، كما لوحظ إن الالتصاق خارج الجسم (in vitro) يزداد عند نمو المبيضات البيضاء في أوساط تحوي تراكيز عالية من السكريات ، كالسكروز والكالكتوز (كمصدر كاربوني للنمو) (Mc Courtie وDoglas ،1984)

قابلية الخمائرعلى إنتاج الانزيمات المحللة للدهون المفسفرة Phospholipase

دلت النتائج في الجدول ٧ على قدره أنواع المبيضات لإنتاج الإنزيمات المحللة للدهون المفسفرة Phospholipase ، حيث أظهرت الخميرة *C.albicans* اعلى فاعلية لإنتاج الإنزيم ٠.٣٣ من خلال قياس قطر منطقه الترسيب Precipitation zone إلى قطر مستعمره المبيضات، وللخمائر *C.tropicalis* و *C.glabrata* و *C.krusie* ٠.٢٩ و٠.٢٦ و٠.١٩ مع عدم وجود فروقا معنوية ($P<0.01$) ويعزى السبب في ذلك إلى قابلية عزلات المبيضات لإنتاج الإنزيم وفعاليته التي على تعتمد عوامل فيزياوية متعلقة بدرجة حرارة إنتاج وحفظ الإنزيم، وعوامل جينية متعلقة بوجود الجينات اللازمة لإنتاج هذا الإنزيم، إذ وجد إن إنتاج الانزيم Phosph0lipase وفعاليته يختلفان باختلاف السلالات ضمن النوع الواحد اعتمادا على التركيب الجيني لهذه السلالات.

جدول ٥. قابلية الخمائرعلى انتاج انزيمات المحللة للدهون المفسفرة

الخمائر	فاعلية الإنزيم PzValue
C.albicans	0.33±6.32
C.tropicalis	0.29±3.60
C.glabrata	0.26±8.50
C.krusie	0.19±2.12

تراوحت نسبة انتاج الانزيم Phospholipase من الخميرة *C.albicans* بين ٠.١٣ -٠.٢١ % (Al-Abied وآخرون (٢٠٠٤)، وتتفق النتائج كذلك مع الحجامي (٢٠٠٤) الذي ذكر بان نسبة انتاج الانزيم Phospholipase من الخميرة *C.albicans* تراوحت بين ٠.٧-٠.٨%، و يعود السبب إلى إن حفظ عزلات خميرة المبيضات بدرجة حرارة - ٢٠ م° و - ٨٠م° أدى الى فقدان قابليتها على إنتاج الإنزيم، و أشار Price و آخرون في (١٩٨٢) كذلك إلى إن – 70 30% من عزلات المبيضات البيضاء منتجة للأنزيم بالرغم من اختلاف فعاليته بين هذه السلالات .

المصادر العربية

١. الحجامي . ٢٠٠٤. شيماء نغيمش مزعل، عزل وتشخيص المبيضات البيضاء Candida albicans من المهبل ودراسة عوامل ضراوتها وحساسيتها للمضادات الفطرية , رسالة ماجستير.كلية التربية/ ابن الهيثم ،جامعة بغداد .
٢. الصادق، سرى مؤيد ، 2006 , تاثير بعض المركبات الفعالة المستخلصة من حشيشة الليمون و الزعتر في في انواع المبيضات رسالة ماجستير، كليه العلوم جامعه بداد.
٣. حوار، سمية نعيمة ، 2002 ، تأثير ليزر القدرة الواطئة (الهليوم- نيون) على حيوية خلايا خميرة المبيضات الـ*Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية، رسالة ماجستير، كلية التربية ابن الهيثم ،جامعة بغداد،93 صفحة .
٤. مجيد، هديل عبد اللطيف, 2004 ، دراسة تشخيصية ومناعية لانواع المبيضات , *Candida* ssp المسببة لالتهابات المهبل *Vaginitis* ، رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، 76صفحة .

المصادر الاجنبية

1. Abu- Elteen , K. H. (2000): Effects of date extract on adhesion of Candida species to human buccal epithelial cells in vitro . *J. Oral Pathol. Med*., 29: 200-205 .
2. Abu-Elteen , K. H., Elkarmi , A. Z. and Hamad , M.2001. Characterization of phenotype – based pathogenic determine of various *Candida albicans* strains in Jordan , *Jpn. J. Infect* . *Dis*., 54: 292-236 .
3. AL-Abeid , H.M. ; K.H. Abu-Elteen ; A.Z. Elkarmi & M.A. Hamad. 2004. Isolation and Characterization of *Candida* spp. in Jordanian Cancer patients : prevalence , pathogenic determinants, and antifungal sensitivity *Jpn. J. Infect. Dis*. , 57 : 279-284.
4. Al-Hamadani, A.H.A.(1997).Enzymic activity , purifcation of keratinase and proteinase and there roles in the. Pathogenicity and immunogenicity of clinical isolates of dermatophytes and yeast. Ph.D. thesis. College of Education .Univ. Basrah .
5. Campisi , G ; G. Pizzo ; M.E. Milici ; S. Mancuso & V. Margiotta. 2002. Candidal carriage in the oral cavity of human immunodeficiency virus- infected subjects . Oral Surg. Oral Med. Oral pathol .oral Radoil .Endod 93:281-286.
6. Cletus P. Kurtzman , Jack W. Fell .1998. The Yeasts, A Taxonomic Study,Fourth edition . New York . Oxford .
7. Collee, J. C., Fraser, A. G., Mamain, B. P. and Simmons, A.1996. Mackie and McCartney. Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone Inc., USA.
8. Erkose, G, Z.Erturan . 2007.Oral candida colonization of human immunodeficiency virus inficted subjects inTurkey and its relation with viral load and CD4 T-lymphocyte count . Mycoses 50:485-490.
9. Gary , C. & K.Kevin . (2000). Adherence Mechanisms of *Candida albican. Brit. J. of Biomed. Sci*. , P.1-4 .
10. Granger , S.E. 1992. The aetiology and pathology of vaginal candidosis. *British J. Clin. Practicle, 46 (4).*
11. Gravina,H. G., E. G. de Moran, O. Zambrano,M.L. Chourio, S.R. de Valero, S. Robertis and L. Mesa .2007. "Oral Candidiasis in children and adolescents with cancer Identification of candida spp ", Med Oral Patol Oral Cir Bucal.
12. Klotz,S.A.1992.Fungal adherence to the vascular compartment: acritical step in the pathogenesis of disseminated candidiasis. *Clin. Infect.Dis*.,14:340- 347 .
13. Konemon ,E.W. ; G.D. Roberts & S.E. Wright . 1979 . Practical Laboratory Mycology . 2nd ed . Williams & Wilkins Company , Baltimore .
14. Kwon - Chung , K.J . and J. E. Bennett . 1992 . Medical Mycology . Lea & Febiger , Philadelphia , London .
15. Lodder, J.1974.The yeasts:Ataxonomic study .2nd ed., method for detection of phospholipas activity of *Candida albicans* Saubouraudia .,20:7-14 .
16. Maza J L , Elguezabal N ,Prado C Ellacuria J .Soler I,Ponton J.2002.*Candida albicans* adherence to resin-composite restorative dental material :Influence of whole human saliva . *Oral Sirg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*.94:589-92.

17. Mc-Courtie, J.and Doglas,L.J.1984.Relation ship between cell Surface *Infect.Immun*.,45:6-12 .
18. 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 .
19. Ollia , P. ; M. Niemela ; M. Uhari & M. Larmas . 1997 . Risk factors for colonization of salivary *Lactobacilli* and *Candida* in children . *Acta. Odontol. Scand.* , 55 : 9-13.
20. PfallerMA ,Diekema DJ,Rinaldi MG ,Barner R,Hu B,Veselov AV, et al .2005.RESULT FROM THE Aremis Disk Global Antifungial Surveillance Study: a6.5 –year analysis of susceptibilities of Candida an ather yeast species to flucanazole and voriconazole by standardized disk testing .*J. Clin. Microbiol. ,Des*:43(12):5848-59.
21. Refai , M.; Gobba , A.H. and Rieh , H. 1969. Monograph on yeast diagnosis , disease and treatment. *Egypt. Vet. Med. J. XVI : 255-316*.
22. Saporiti AM ,Gomez D, Levalle S,et al.2001.Vaginal candidiasis :etiology and sensitivity profile to antifunal agents in clinical use .*Rev. Argent. Microbiol*, 33:217-22.
23. Satana, Dilek , Gonca Erkose Genc and Zayre Erturan,2010, "The antifungial susceptibilities of oral candida spp isolates from HIV-infacted patents ", *African J. of Microbiol. Res.* , Vol.4(6),pp466-470.
24. VanDerwatt, J. P. 1970. Criteria and method used in classification In: J. Lodder (ed). The yeast A taxonomic study. Second revised and enlarged edition North Hell and Publishing company. Amsterdam London. pp3213.