



**Evaluation Some Antifungals and
environmental Factors in the Biology of
Trichophyton In Vitro**

**A Thesis
Submitted By**

Muhanned Jawad Kadhim Al-Juboury

**To the Council of the College of Science
University of Babylon
In Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
in Biology / Microbiology / Fungi**

Supervised by

Ass. Prof. Dr. Jawad Kadhim Al-Janabi

Jun - 2007

Jamadi Aloula – 1428



تقويم بعض المضادات الفطرية والعوامل البيئية في حياتية الفطر *Trichophyton* في الزجاج

رسالة مقدمة من
مهند جواد كاظم الجبوري
مجلس كلية العلوم - جامعة بابل
وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم
في علوم الحياة/ الأحياء المجهرية/ الفطريات

بإشراف
أ.م.د. جواد كاظم الجنابي

جمادى الأولى - 1428

حزيران - 2007

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ نَزَفْنَا مَارَّجَاتٍ مِّنْ نَّشَأٍ وَفَوْقَ كُلِّ ذَاكِ عَلِيمٌ عَلِيمٌ ﴾ (76)

مِمَّا قَالَهُ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَلِيمُ

لِلنُّورَةِ يُولُوفُ

الْآيَةُ (76)

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله والحمد حقّه كما يستحقّه، حمداً كثيراً، والصلاة والسلام على خير خلقه وسيد أنبيائه وأشرف رسله أبي القاسم محمد، وعلى آله الغر الميامين، والأئمة المعصومين، ولاسيما بقية الله في الارضين، الحجة بن الحسن (الإمام المهدي) عجل الله فرجه الشريف.

يسرني ويشرفني وأنا في نهاية هذا المشوار الطويل من البحث أن أنتهز هذه الفرصة لأعبر عن شكري وامتناني للأب والأستاذ الفاضل الدكتور جواد كاظم الجنابي المحترم لاقتراحه موضوع البحث ودعمه العلمي المتواصل وتحمله وصبره اللامتناهي على ولده الذي أتعبه كثيراً خلال مدة البحث الطويل. وأدعو الله سبحانه وتعالى أن يحفظه من بين يديه ومن خلفه من كل سوء وأن يوفقه لكل خير في الدنيا والآخرة انه سميع مجيب.

كما أتقدم بالشكر والعرفان إلى رئاسة جامعة بابل وعمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة لإعطائهم الفرصة لي لإكمال دراسة الماجستير.

ولا يسعني إلا أن أتقدم بالشكر الخاص إلى الدكتور عدنان حمد الحمداني في كلية الطب جامعة القادسية لمساعدته لي في تشخيص الفطريات وإلى الدكتورة كريمه أيمن الخفاجي استشارية الأمراض الجلدية في مستشفى مرجان التعليمي لمساعدتها لي في اخذ العينات السريرية.

ولا يفوتني أن اشكر الأخوة والأخوات زملاني في قسم علوم الحياة وأخص منهم الأخ حيدر شخير وفاخر مكطوف وشاكر حماد وبهاء أحمد. وشكري إلى زملاني في منتدى شباب القاسم وشكر خاص للأخ عقيل داود وإلى كل من مد لي يد المساعدة أو نطق بكلمة اتخذتها نصيحة.

وأخيراً شكري وحيي واعتزازي إلى اللؤلؤة الفريدة زوجتي الغالية لمساعدتها لي في طباعة الرسالة.

محمد بن
مهاجر

الإهداء

إلى إمامي قاسم العطاء والإيمان....
إلى من حبلتني في الصغر وقاسمتني العناء في
الكبر... والدتي رفعة
إلى والدي.. كرامة
إلى رفاق الروح... إخوتي وأخواتي
إلى شريكة كفاحي.. والرباب في سباتي..
وختام أحلامي.. زوجتي الغالية
أهدي ثمرة سهدي وجهدي مع الحب

بسم الله الرحمن الرحيم

توصية الأستاذ المشرف

أشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (تقويم بعض المضادات الفطرية والعوامل البيئية في حياتية الفطر *Trichophyton* في الزجاج) قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بابل، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / الأحياء المجهرية / الفطريات.

التوقيع:

المشرف: د. جواد كاظم الجنابي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: 2007/ /

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى توصية الأستاذ المشرف أعلاه، أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراساتها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: د. كريم حميد رشيد
المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية العلوم/ جامعة بابل
التاريخ: 2007/ /

بسم الله الرحمن الرحيم

قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، بأننا اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالب مهند جواد كاظم في محتوياتها، وفيما له علاقة بها، ووجدنا أنها جديرة لنيل درجة ماجستير بتقدير (امتياز) في علوم الحياة – الأحياء المجهرية / الفطريات.

رئيس اللجنة

التوقيع:

الاسم: محمد عامر فياض

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية الزراعة / جامعة البصرة

التاريخ: 2007/ /

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: جبار محسن جابر

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية الزراعة / جامعة بابل

التاريخ: 2007/ /

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: زيدان خليف عمران

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية علوم البنات / جامعة بابل

التاريخ: 2007/ /

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:

المشرف: د. جواد كاظم الجنابي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية العلوم / جامعة بابل

التاريخ: 2007/ /

مصادقة عمادة كلية العلوم

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة اعلاه.

التوقيع:

الاسم: د. عوده مزعل ياسر

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية العلوم / جامعة بابل

التاريخ: 2007/ /

Abstract

Laboratory experiments were achieved to explore the effect of some environmental factors such as medium composition, temperature, pH and incubation period on the growth of three species of *Trichophyton*, (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes* and *T. verrucosum*). This study included in vitro susceptibility test of isolated species against four antifungal agents, Itraconazole (ITZ), Clotrimazole (CTZ), Fluconazole (FLZ) and Griseofulvin (GRF) to demonstrate the effect of these agents on growth and sporulation of isolated species through out the determination of the minimal inhibition concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) by agar dilution method.

The specimens were collected from infected patients with tinea cruris, tinea capitis and tinea corporis and the casual agents were identified as *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* and *T. verrucosum*, respectively. The identification based on macroscopic and microscopic features as well as diagnosis tests which included hair perforation test and growth on Trichophyton agar (1-7).

The results showed that PDA was the best medium gave support to the fungal growth compared with OMA and RTA, while the sporulation of isolated species in OMA was better than in RTA and PDA. Optimum temperature of growth was 30 °C on PDA for 14 days, while the temperature 20 °C showed great reduction in the growth compared with the other temperature. The optimum pH of growth was 6 on PAD at 30 °C for 14 days followed by pH₇ and pH₅, but the growth was greatly reduced at pH₈ compared with the other pH levels. The effect of incubation period on PDA at pH₆ and 30 °C showed substantially increased in growth along

the incubation time, where, the optimum growth for isolated species was at the end of incubation (14 days).

In vitro susceptibility test of isolated species showed that ITZ was the most active agents for the inhibition of growth and sporulation of these species followed by CTZ and FLZ, whereas GRF was the less active agents compared with other drugs, where the MIC of ITZ was 0.5 mg/ml, while MIC of CTZ was 2.5, 1.25 and 4.12 mg/ml, MIC of FLZ was 4.12 mg/ml, and MIC of GRF was 2.5, 8.25 and 15.75 mg/ml for *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* and *T. verrucosum*, respectively. The results also showed that all antifungal agents had fungistatic and fungicidal effect against isolated species with different concentrations depended on the species and the type of drug.

الخلاصة

أجريت دراسة مختبرية لبيان تأثير بعض العوامل البيئية مثل نوع الوسط الغذائي ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني ومدة الحضان في نمو ثلاثة أنواع من الفطريات الجلدية التابعة لجنس *Trichophyton* وهي *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum*. وقد تضمنت الدراسة إجراء اختبار حساسية هذه الأنواع المعزولة تجاه أربعة مضادات حيوية فطرية وهي Itraconazole (ITZ) و Clotrimazole (CTZ) و Fluconazole (FLZ) و Griseofulvin (GRF) في المختبر لبيان تأثير هذه المضادات الحياتية في نمو وتجرثم الأنواع الفطرية المعزولة من خلال تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لهذه المضادات بطريقة التخفيف Agar dilution method.

تم عزل الأنواع الفطرية من وحدة الأمراض الجلدية في مستشفى مرجان التعليمي في الحلة، إذ تم عزل الفطر *T. rubrum* من شخص مصاب بالسعفة الفخذية وعزل النوع *T. mentagrophytes* من طفلة مصابة بالسعفة الرأسية في حين تم عزل النوع *T. verrucosum* من شخص مصاب بالسعفة الحلقية في الذراع. شخّصت الأنواع الفطرية اعتماداً على الخصائص المظهرية والمجهريّة وكذلك الاختبارات التشخيصية والتي تضمنت اختبار ثقب الشعرة واختبار النمو على أوساط (1-7) *Trichophyton agar*.

أظهرت نتائج الدراسة أن أفضل وسط غذائي لنمو الأنواع الفطرية المعزولة هو PDA مقارنة مع وسطي OMA و RTA في حين كان أفضل وسط للتجرثم هو OMA مقارنة بوسطي PDA و RTA. أما تأثير درجات الحرارة فقد وصلت معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية إلى ذروتها عند درجة حرارة 30 م° على وسط PDA ولمدة 14 يوم مقارنةً بالدرجات الحرارية 25 و 35 و 20 م° بينما أظهرت درجة الحرارة 20 م° تأثيراً واضحاً في خفض معدلات أقطار مستعمرات الفطريات مقارنة بدرجتي الحرارة 25 و 35 م°. وبالنسبة لتأثير الرقم الهيدروجيني فقد بينت النتائج إن أفضل رقم هيدروجيني للنمو هو 6 على وسط PDA عند درجة حرارة 30 م° ولمدة 14 يوم يليه الرقم الهيدروجيني 7 و 5 وفي المقابل انخفضت معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة بصورة كبيرة عند الرقم الهيدروجيني 8. أوضحت نتائج تأثير مدة الحضان على وسط PDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° زيادة معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية بزيادة مدة الحضان، إذ بلغ أقصى معدل لأقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة في اليوم 14 من الحضان.

أما بالنسبة لتأثير المضادات الحياتية الفطرية على نمو وتجراثم الأنواع الفطرية المعزولة فقد أظهرت النتائج إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية وتجراثمها، يليه مضاد CTZ ثم مضاد FLZ ، في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية في تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة وتجراثمها، إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى للمضاد ITZ 0.5 مايكرو غرام/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمضاد CTZ 2.5 و 1.25 و 4.12 مايكرو غرام/مل وللمضاد FLZ 4.12 مايكرو غرام/مل وللمضاد GRF 2.5 و 8.25 و 15.75 مايكرو غرام/مل بالنسبة لـ *T. rubrum* و *T. verrucosum* و *mentagrophytes* على التوالي. كما أظهرت النتائج إن المضادات الفطرية المختبرة تمتلك تأثيراً مثبطاً وقاتلاً تجاه الأنواع الفطرية المعزولة وبتركيزات مختلفة اعتماداً على نوع الفطر ونوع المضاد الفطري المستعمل.

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الخلاصة باللغة العربية	أ
	قائمة المحتويات	ج
	المختصرات	و
	قائمة الجداول	ز
	قائمة الأشكال	ح
	قائمة الصور	ي
1	الفصل الأول: المقدمة	1
2	الفصل الثاني: استعراض المراجع	5
1-2	الفطريات الجلدية الخيطية	5
2-2	الجنس <i>Trichophyton</i>	8
1-2-2	الفطر <i>T. rubrum</i>	9
2-2-2	الفطر <i>T. mentagrophytes</i>	10
3-2	الفطر <i>T. verrucosum</i>	12
3-3-2	أنواع الإصابات الفطرية Types of Mycoses	13
4-2	إصابات الفطريات الجلدية الخيطية	15
5-2	إصابات الجنس <i>Trichophyton</i>	25
6-2	بعض العوامل البيئية المؤثرة في نمو الفطريات	26
1-6-2	الوسط الغذائي	26
2-6-2	درجة الحرارة	28
3-6-2	الرقم الهيدروجيني	29
4-6-2	مدة الحضان	30
7-2	المضادات الفطرية Antifungals	30
1-7-2	المضادات الفطرية الحيوية	34
1-1-7-2	مجموعة البوليين Polyene's group	34
2-1-7-2	مضادات الساييتوسكليتون Cytoskeleton agents	37
2-7-2	المضادات الفطرية المصنعة كيميائياً	39
1-2-7-2	مجموعة الازول Azole's group	39
2-2-7-2	مجموعة مناهضات الباييريميدين Pyrimidine Analogues	47
3-2-7-2	مجموعة Echinocandins and Pneumocandins	48
3	الفصل الثالث/ المواد وطرائق العمل	50
1-3	المواد والأجهزة المستخدمة Materials & Equipments	50
1-1-3	الأجهزة المستخدمة	50
2-1-3	المواد الكيميائية	51
2-3	المحاليل المستخدمة	52
3-3	الأوساط الغذائية	53
4-3	طرائق العمل	58
1-4-3	جمع العينات السريرية	58
2-4-3	التشخيص المباشر	58
3-4-3	عزل الأنواع الفطرية	59
4-4-3	تنقية الأنواع الفطرية وحفظها	59

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
5-4-3	تشخيص الأنواع الفطرية	60
1-5-4-3	الاختبارات المستخدمة في تشخيص الفطريات	60
2-5-4-3	الخصائص المظهرية	61
3-5-4-3	الخصائص المجهرية	61
6-4-3	تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الأنواع الفطرية المعزولة <i>T. verrucosum</i> و <i>T. mentagrophytes</i> و <i>T. rubrum</i>	61
1-6-4-3	الوسط الغذائي	61
2-6-4-3	درجة الحرارة	62
3-6-4-3	الرقم الهيدروجيني	63
4-6-4-3	مدة الحضان	63
7-4-3	اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية	64
8-4-3	تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة	68
9-4-3	التحليل الإحصائي	69
4	الفصل الرابع/ النتائج	70
1-4	تشخيص الفطريات	70
2-4	تأثير بعض العوامل البيئية في نمو أنواع جنس <i>Trichophyton</i>	76
1-2-4	الوسط الغذائي	76
2-2-4	تأثير درجات الحرارة في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة <i>T. rubrum</i> و <i>T. mentagrophytes</i> و <i>T. verrucosum</i> .	80
3-2-4	تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة <i>T. rubrum</i> و <i>T. mentagrophytes</i> و <i>T. verrucosum</i>	82
4-2-4	تأثير مدة الحضان في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة <i>T. rubrum</i> و <i>T. mentagrophytes</i> و <i>T. verrucosum</i>	84
3-4	اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة	86
4-4	تأثير المضادات الفطرية المختبرة في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة	91
5	الفصل الخامس/ المناقشة	93
1-5	تشخيص الفطريات	93
2-5	تأثير بعض العوامل البيئية في نمو أنواع جنس <i>Trichophyton</i> المعزولة	94
1-2-5	الوسط الغذائي	94
2-2-5	درجة الحرارة	97
3-2-5	الرقم الهيدروجيني	99
4-2-5	مدة الحضان	101
3-5	اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة	102
4-5	تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة	105
	الاستنتاجات	113
	التوصيات	114
	المصادر	115

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	ت
A	الخلاصة باللغة الإنكليزية	

المختصرات

الوصف	الرمز
Clotrimazole	CTZ
Emmons Sabourad Dextrose Agar	ESDA
Fluconazole	FLZ
Griseofulvin	GRF
Itraconazole	ITZ
Ketoconazole	KTZ
Minimal Fungicidal Concentration	MFC
Minimal Inhibitory Concentration	MIC
Oatmeal Cereal Agar	OMA
Potato Dextrose Agar	PDA
Rice – Tween Agar	RTA
Sabouraud's Dextrose Agar	SDA
Sabouraud's Dextrose Broth	SDB

قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
8	توزيع أنواع <i>Trichophyton</i> على أساس المضيف الطبيعي لها	1
33	أصناف المضادات الفطرية المستخدمة في علاج الاخماج الفطرية	2
50	الأجهزة المستخدمة في التجارب المختبرية والشركات المصنعة لها	3
51	المواد الكيميائية المستعملة في التجارب المختبرية والشركات المصنعة لها	4
70	نتائج اختبار النمو على أوساط <i>Trichophyton agar</i> (1-7) للأنواع الفطرية المعزولة	5
71	الصفات العامة التي أظهرتها الفطريات المعزولة من مواقع الإصابة بمرض السعفة و تشخيصها في المختبر	6
87	قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية المختبرة تجاه الأنواع الفطرية المعزولة	7

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	التركيب الكيميائي للمضاد Amphotericin B	35
2	التركيب الكيميائي للمضاد Nystatin	37
3	التركيب الكيميائي للمضاد Griseofulvin	39
4	التركيب الكيميائي للمضاد Ketoconazole	41
5	التركيب الكيميائي للمضاد Fluconazole	42
6	التركيب الكيميائي للمضاد Clotrimazole	44
7	التركيب الكيميائي للمضاد Itraconazole	46
8	التركيب الكيميائي للمضاد Flucytosine	47
9	التركيب الكيميائي لمضاد Caspofugin	48
10	المواقع الفعالة في الخلية الفطرية التي تعمل عليها المضادات الفطرية	49
11	تأثير نوع الوسط الغذائي في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة على درجة حرارة 30 ± 2 م° ولمدة حضن 14 يوماً. (أ) <i>T. rubrum</i> ، (ب) <i>T. mentagrophytes</i> ، (ج) <i>T. verrucosum</i>	77
12	تأثير نوع الوسط الغذائي في معدل إنتاج الأبواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة بعد مدة حضن 7 أيام وبدرجة حرارة 30 م°.	79
13	تأثير درجات الحرارة في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA ولمدة حضن 14 يوماً. (أ) <i>T. rubrum</i> ، (ب) <i>T. mentagrophytes</i> ، (ج) <i>T. verrucosum</i>	81
14	تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA بدرجة حرارة 30 م° ولمدة حضن 14 يوماً. (أ) <i>T. rubrum</i> ، (ب) <i>T. mentagrophytes</i> ، (ج) <i>T. verrucosum</i>	83
15	تأثير مدة الحضن في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م°.	85
16-أ	تأثير المضادات الفطرية في النسبة المئوية لتنشيط معدلات أقطار الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة	90

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
	30 م ولمدة حضن 7 أيام.	
90	تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م ولمدة حضن 7 أيام.	16-ب
92	تأثير المضادات الفطرية في النسبة المئوية لتنشيط إنتاج الأبواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م ولمدة حضن 7 أيام.	17

قائمة الصور

رقم الصورة	عنوان الصورة	الصفحة
1	مستعمرة الفطر <i>T. rubrum</i> النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضان وبدرجة 30 ± 2 م. (أ) الجهة الأمامية للمستعمرة، (ب) الجهة الخلفية للمستعمرة	72
2	مستعمرة الفطر <i>T. mentagrophytes</i> النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضان وبدرجة 30 ± 2 م. (أ) الجهة الأمامية للمستعمرة، (ب) الجهة الخلفية للمستعمرة	73
3	مستعمرة الفطر <i>T. verrucosum</i> النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضان وبدرجة 30 ± 2 م. (أ) الجهة الأمامية للمستعمرة، (ب) الجهة الخلفية للمستعمرة	74
4	الغزل الفطري والابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA بعد مدة حضان 14 يوماً وبدرجة حرارة 30 ± 2 م ، قوة التكبير 400X. (أ) <i>T. rubrum</i> ، (ب) <i>T. mentagrophytes</i> ، (ج) <i>T. verrucosum</i>	75

1- المقدمة Introduction

الفطريات الجلدية هي فطريات خيطية لها القدرة على مهاجمة الأنسجة الكيراتينية للإنسان والحيوانات كالشعر والجلد والأظافر وتنتج الحالة المرضية التي تسمى بالـ Dermatophytosis. تضم هذه الكائنات ثلاثة أجناس هي

Trichophyton و *Epidermophyton* و *Microsporum* (Larone,)

(1996; Weitzman & Summerbell, 1995). تتكيف هذه الفطريات للعيش على الطبقة المتقرنة Stratum Corneum أو التراكيب الكيراتينية وهناك عدة عوامل مهمة لتحديد طريقة الانتقال الناجح للفطر واختراقه للطبقة المتقرنة منها حيوية وأمراضية الفطر ونوع النسيج المعرض للإصابة ووراثية المضيف وتركيب الزهم Sebum وشدة ثنائي أكسيد الكربون CO₂ على سطح الجلد (Hay, 1986). تسمى الفطريات الجلدية التي تنتشر بواسطة الاتصال المباشر مع الإنسان بـ Anthropophilic والتي تنتشر من الحيوان تسمى Zoophilic أما التي تنتشر من التربة تسمى Geophilic، عادةً يجري تشخيص الإصابات الجلدية اعتماداً على تاريخ الإصابة والفحص الفيزيائي وفحص KOH، ويتطلب التشخيص الاعتيادي فحص Wood's lamp والزرع الفطري أو الفحص النسيجي (Hainer, 2003).

تعد Dermatophytosis إحدى أغلب الإصابات المرضية الشائعة في الإنسان والناجمة عن مهاجمة الطبقة المتقرنة بواسطة أحد أنواع الفطريات الجلدية مثل T.

mentagrophytes و *T. rubrum* (Weitzman and Summerbell, 1995). يعد الجنس *Trichophyton* من أهم أجناس الفطريات الجلدية الخيطية وأكثرها انتشاراً إذ أشار Monod وجماعته (2002) إلى أنه من بين حوالي عشرة أنواع مرضية للإنسان (

المعزولة في أوروبا) تم ملاحظة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* بصورة شائعة، كما ذكر Nenoff and Haustein (1997) إن الفطر *T. tonsurans* هو المسبب الرئيسي للسعفة الرأسية في الولايات المتحدة الأمريكية وبعض الدول الأوروبية، وأشار Ali (1990) الذي ركز دراسته على السعفة الرأسية في بغداد إلى إن الفطر *T. verrucosum* هو المسبب المرضي الثاني لهذه الإصابة إذ شكل نسبة 26.1% من حالات الإصابة بالسعفة الرأسية. تشكل إصابات *Trichophyton* المشكلة الرئيسية العامة للصحة (Fuller et al.,)

(2003; Hay, 2001; Ghannoum et al., 2000; Gupta et al., 1998).

استخدمت العديد من المضادات الحيوية الفطرية كـ Imidazoles و Butenafine و Terbinafine سريرياً للعلاج السطحي للإصابات الفطرية (Watanabe, 1999). كما تم استعمال Triazoles و Griseofulvin و Terbinafine كمضادات فطرية فموية للعلاج

الجهازي للإصابات الفطرية الجلدية الشديدة (Leshner, 1999). ورغم الأهمية العلاجية لهذه المضادات إلا إنها لا تخلو من التأثيرات الجانبية إضافة إلى المطاولة بالعلاج مما يجعلها أقل تأثيراً (Friedlander, 2000; Watanabe, 1999).

تعتمد معالجة الإصابات الفطرية الجلدية Cutaneous infections على استخدام المضادات الفطرية السطحية Topical antifungal والمضادات الفطرية الجهازية Systemic antifungal، على الرغم من أن تطبيق العلاج بالمضادات الفطرية السطحية عادةً يكون كافياً لاستئصال الفطر الممرض ومعالجة الكثير من هذه الأمراض، إلا أن أغلب الإصابات الفطرية الجلدية الشديدة والمزمنة كالسعة الرأسية Tinea capitis والسعة الظفرية Tinea unguinum تتطلب استخدام العلاجات الجهازية Systemic treatments. (Watanabe, 1999)

تمتلك المضادات الحيوية الفطرية مثل Allylamines (Terbinafine) والمضادات الفموية Triazoles (Itraconazole) فعالية كبيرة لمعالجة الإصابات الفطرية الجلدية (Roberts, 1997; Weitzman and Summerbell, 1995; Gupta et al., 1988). أكد عدد من الباحثين Ghannoum وجماعته (2004) و Perea وجماعته (2001) و Fernandez-Torres وجماعته (2000) و Norris وجماعته (1999) أن الجنس *Trichophyton* هو المسبب الرئيسي للإصابات الفطرية الجلدية السطحية مثل السعة القدمية Tinea pedis و إصابات الأظافر Onychomycosis. وأيضاً مسؤول عن أكثر من 70% من الإصابات الفطرية الجلدية (Weitzman and Summerbell, 1995). كما إن الإصابات الناتجة عن هذا الجنس غالباً ما تكون مقترنة بالانتكاسات المتبوعة بانقطاع العلاج الفطري (Mukherjee et al., 2003).

نظراً لأهمية جنس *Trichophyton* في مجال الإصابات الجلدية ولقلة الدراسات حول هذا الجنس في القطر خاصة في ما يتعلق بالظروف البيئية الملائمة لنموه وقدرته على إنتاج الابواغ الكونيدية وكذلك في تحديد المضادات الفطرية التي تمتلك تأثيراً فعالاً على نمو وتجراثم هذا الفطر، كما إن دراسة تحليل فعالية المضادات الفطرية مختبرياً قد يسهل المقارنة بين تأثير مختلف المضادات الفطرية والتي قد تفسر أسباب الافتقار إلى الاستجابة السريرية وتساعد الأطباء في اختيار العلاج الفعال لمرضاهم. لذلك كانت أهداف هذه الدراسة هي:

- 1- عزل وتشخيص بعض أنواع جنس *Trichophyton*.
- 2- دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو وتجراثم الأنواع الفطرية المعزولة من خلال:
 - a- تحديد الوسط الغذائي الملائم لنمو الفطر و تجراثمه
 - b- درجة الحرارة
 - c- حموضة الوسط
 - d- مدة الحضان
- 3- دراسة حساسية الأنواع الفطرية المعزولة التابعة لجنس *Trichophyton* مخبرياً للمضادات الفطرية وتأثيرها على نمو وإنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة.

2- استعراض المراجع Literatures review

1-2- الفطريات الجلدية الخيطية:

تصنف الفطريات الجلدية الخيطية Dermatophytes لا جنسياً ضمن Hyphomycetes و جنسياً ضمن Euscomycetes. والتي تضم ثلاثة أجناس تتكاثر جنسياً ولا جنسياً وهي *Epidermaphyton* و *Trichophyton* و *Microsporum* والتي يمكن تمييزها بوساطة صفات الأبواغ الكونيدية الصغيرة (Matsumonto & Ajello, 1987). تعد الفطريات الخيطية الجلدية محبة للكيراتين ولها القدرة على غزو الأنسجة الكيراتينية للإنسان والحيوان كالجلد والشعر والأظافر، لامتلاكها إنزيمات خارجية تقوم بتحطيم مادة الكيراتين مثل إنزيم البروتيز والكيراتينييز (Samdani & Al-Bitar, 2003). توجد هذه الفطريات بصورة طبيعية متطفلة على الأنسجة الكيراتينية (Matsumoto, 1996). لكنها لا تستطيع مهاجمة الأنسجة تحت البشرة لوجود عوامل مضادة للفطريات بشكل طبيعي في المصل إضافة لانخفاض تركيز الحديد في تلك الأنسجة كما إن بعض أنواع الفطريات لا تستطيع احتمال درجة حرارة أعلى من 35 م (Myrvik & Weiser, 1988).

إن مقاومة المضيف للإصابة بالفطريات الجلدية الخيطية تحدد بعاملين رئيسيين هما: المناعة الذاتية Innate Immunity والمناعة المكتسبة Acquired Immunity تتمثل المناعة الذاتية بوجود عوامل في المصل مثبطة لنمو الفطريات الجلدية الخيطية مثل الترانسفيرين Transferrin غير المشبع، إذ تتنافس الفطريات الجلدية الخيطية على الحديد مع هذا النوع من بروتينات المصل وكذلك معدل تقشر البشرة حيث إن زيادة معدل تقشر البشرة يمنع الإصابة (إذ يؤدي التقشر إلى إزالة الفطر المسبب مع البشرة المقشرة) وكذلك وجود الزهم Sebum الذي يحد أو يمنع نمو الفطريات الجلدية في المرضى حتى لو كانوا يعانون من ضعف في الجهاز المناعي Immunosupressed، إذ إن السعفة الراسية نادرة الحدوث في البالغين ولكن الأطفال قبل البلوغ أكثر عرضة للإصابة (Hay, 1986).

أما بالنسبة للمناعة المكتسبة ضد الفطريات الجلدية الخيطية، فتتمثل بالعمليات التي تجري على Antigens الفطريات الجلدية التي تخترق البشرة من قبل خلايا لانكرهانز (Braathen & Kaaman, 1983) وكذلك تطور الأجسام المضادة ضد الفطريات الجلدية الخيطية موجود في عدد من المرضى (Grappel et al , 1972)

تختلف تفاعلات المضيف باختلاف أنواع الفطريات الجلدية الخيطية حيث إن السلالات الحيوانية تكون الأكثر معدية وأمراضية وتثير الاستجابات المناعية والالتهابية (Evan, 1997)، إذ إن تفاعلات المضيف الناتجة من تحطيم الكيراتين واستجابة المضيف الالتهابية تشمل حكة Itch وتقشر Squamation وأحياناً لطفحاً التهابياً Inflammatory patches في الجلد وفقدان الشعر (Ellis, 1994).

يمكن تقسيم الفطريات الجلدية الخيطية حسب البيئة أو أماكن تواجدها إلى ثلاثة أنواع هي Anthropophilic و Zoophilic و Geophilic، ففي الفطريات Anthropophilic يكون الإنسان هو المضيف الطبيعي لها مثل *T. tonsurans* و *E. floccosum* و *M. audouinii*، أما الفطريات Zoophilic فتشكل الحيوانات المنزلية والبرية المضيف الأساسي لها لكنها تمتلك القابلية على إصابة الإنسان مثل *T. mentagrophytes* و *M. canis*، ينتشر كلا النوعين في المناطق الباردة والمعتدلة الحرارة أكثر من المناطق الاستوائية كما إنها لا تستطيع البقاء والتكاثر كمترومة في التربة فسرعان ما تتحلل بواسطة الكائنات الميكروبية المتواجدة فيها، يصاب الإنسان بالفطريات الحيوانية إما عن طريق الاتصال المباشر مع الحيوانات المصابة أو بواسطة شعرها المصاب المتساقط منها، بينما الفطريات البشرية تستمر في المجاميع البشرية كحامل للإصابة الفطرية بدون أعراض سريري، أما بالنسبة إلى الفطريات الأرضية Geophilic فهي تعيش كمترومة في التربة ولها القابلية على مهاجمة الأنسجة الكيراتينية للحيوانات الوطئة والإنسان مثل *T. ajello* و *M. gypseum* و *E. stockdaleae* (Filipello Marchisio et al., 1996; Matsumoto and Ajello, 1987; McGinnis, 1985). ويشير الجدول (1) إلى توزيع أنواع جنس *Trichophyton* على أساس المضيف الطبيعي لها.

الجدول (1) توزيع أنواع *Trichophyton* على أساس المضيف الطبيعي لها
(Sutton et al., 1998).

Anthropophilic species	Zoophilic species	Geophilic species
<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. ajello</i>
<i>T. schoenleinii</i>	<i>T. equinum</i>	<i>T. flavescens</i>
<i>T. violaceum</i>	<i>T. erinacei</i>	<i>T. gloriae</i>
<i>T. tonsurans</i>	<i>T. simii</i>	<i>T. phaseoliforme</i>
<i>T. yaoundei</i>	<i>T. verrucosum</i>	<i>T. terrestre</i>
<i>T. soudanense</i>		<i>T. vanberuseghemii</i>
<i>T. megnini</i>		
<i>T. interdigital</i>		
<i>T. mentagrophytes</i>		
<i>T. concentricum</i>		

2-2- الجنس *Trichophyton*

يعد هذا الجنس من الفطريات الجلدية الخيطية ذات الانتشار العالمي والذي يضم مجموعة من الأنواع الفطرية ذات القدرة على إحداث إصابات جلدية مختلفة (Kwon-Chung & Bennett, 1992). نادراً ما تنتج الأبواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia من قبل الأنواع التابعة لهذا الجنس في حين تمتلك الأبواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia أهمية كبيرة خاصةً من الناحية التشخيصية إذ أنه إضافة إلى الصفات المزرعية تعد مفيدة أيضاً في التشخيص. تتضمن الأنواع الشائعة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. tonsurans* و *T. equinum* , *T. verrucosum* وقد ينتج أبواغ كونيدية على بعض الأوساط الزرعية (Ellis, 1994).

1-2-2- الفطر *T. rubrum*

1. الخصائص المظهرية للفطر

يعد الفطر *T. rubrum* من أهم الأنواع الفطرية الجلدية واسعة الانتشار التي تهاجم الإنسان Anthrophilic، إذ تسبب إصابات القوباء الحلقية Ringworm خصوصاً السعفة الفخذية Tinea cruris والسعفة الحلقية Tinea corporis والسعفة القدمية Tinea pedis وليس لها القدرة على اختراق الشعر Hair-perforating وتمثيل السوربتول Sorbitol وهذا ما يميز هذا النوع عن النوع *T. mentagrophytes*. ينتج هذا النوع مستعمرات بطيئة النمو، ذات لون ابيض، زغبي ناعم إلى زغبي مع صبغة حمراء غامقة في الجهة الخلفية وقد تختفي الصبغة في بعض العزلات وخصوصاً العزلات المأخوذة من المرضى الذين تم معالجتهم بمضاد Griseofulvin لمدة من الزمن، تنتج بعض عزلات هذا النوع مستعمرات مرتفعة وكروية مع صبغة اقل شدة في الجهة الخلفية، وتكون هذه المستعمرات متشابهة مع مستعمرات النوع *T. violaceum*، وأيضاً هناك عزلات من هذا النوع تنتج صبغة Melanoid الخضراء المنتشرة ويكون وسط PDA ووسط Cornmeal agar أفضل من وسط SDA لملاحظة الصبغة الحمراء لهذا النوع (Kwon – Chung & Bennett, 1992).

2. الخصائص المجهرية للفطر

اغلب عزلات هذا النوع لا تنتج ابواغ كونيدية كبيرة Macroconidia لكنها تنتج عدداً قليلاً من الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia التي تأخذ شكل الوتد أو الدمعة Tear-Peg-Shaped وذات أبعاد ($3-2 \times 5-3$) مايكرو متر وتكون على جانبي الخيوط الفطرية، هنالك عزلات أخرى لها القدرة على إنتاج الابواغ الكونيدية الكبيرة بصورة مفردة على قمة الخيوط الفطرية أو بشكل عناقيد مباشرة من الخيوط الفطرية المنتظمة. وتتميز الابواغ الكونيدية الكبيرة بأنها ضيقة وطويلة ومشابهة لأقلام الرصاص وذات أبعاد ($4-6 \times 15-30$) مايكرو متر بينما الابواغ الكونيدية الصغيرة تميل إلى أن تكون كثيرة العدد ومدببة الشكل وغالباً ما تنتج بصورة مباشرة على طول الجوانب السفلية للابواغ الكونيدية الكبيرة أو تكون بشكل عناقيد على الخيوط الفطرية، قد تنقسم الابواغ الكونيدية الكبيرة والخيوط الفطرية لتصبح ابواغ مفصلية Arthroconidia. يمكن تمييز عزلات هذا النوع عن *T. tonsurans* و *mentagrophytes* من خلال الابواغ الكونيدية الصغيرة التي تنتج بصورة

مباشرة على طول الجوانب السفلية للابواغ الكونيدية الكبيرة الضيقة، أما الطور الكامل Teleomorph لهذا النوع فهو غير موجود. (Kown – Chung & Bennett, 1992).

2-2-2- الفطر *T. mentagrophytes*

1. الخصائص المظهرية للفطر

نوع واسع الانتشار عالمياً ومن الشائع عزلة من الإنسان والحيوان. هنالك نوعان من هذا الفطر هما نوع Zoophilic ونوع Anthropophilic، ونتيجةً للتكيفات المظهرية والوراثية والبيئية لهذا النوع فقد قسم إلى ضروب، إذ يشمل Zoophilic كلاً من *T. mentagrophytes var mentagrophytes* و *T. mentagrophytes var erinacei*، ويضم النوع Anthropophilic *T. mentagrophytes var interdigital*، تكون المستعمرات النموذجية للضرب *T. mentagrophyte var mentagrophyte* مسطحة، حليبية إلى صفراء غامقة أو بنية مصفرة، مسحوقية المظهر نتيجةً لغزارة عناقيد الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia، حافة المستعمرة عادة تكون شعاعية Ray-like ذات نسيج حبيبي، ويميل الضرب *T. mentagrophytes var quinckcanum* لإنتاج مستعمرات غامقة الصبغة Deeply pigmented، أما الضرب *T. mentagrophytes var erinacei* فغالباً ما ينتج أشكالاً حبيبية صفراء، وينتج الضرب *T. mentagrophytes var interdigital* مستعمرات زغبية كثيفة مع مراكز حليبية معتمدة وحافات بيضاء، إن المستعمرات القديمة لهذا الفطر قد تكون وردية معتمدة، رغم أن العديد من العزلات تكون بيضاء وزغبية بشكل كامل، الجهة الخلفية لمستعمرات هذا النوع على وسط SDA قد تكون بنية، صفراء، أو حمراء قاتمة، العزلات ذات الخلفية الحمراء القاتمة تكون مشابهة للنوع *T. rubrum*، علماً أن الصبغة الحمراء القاتمة لا تنتج من *T. mentagrophytes* على وسط PDA أو وسط Cornmeal agar مع (1%) (Kwon – Chung & Bennett, 1992).

2. الخصائص المجهرية للفطر

تنتج الضروب ذات الأصل الحيواني Zoophilic لهذا النوع عناقيد كبيرة متعددة من الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia الكروية الشكل في حين تنخفض نسبة تكوين هذه الابواغ في الأنواع البشرية Anthrophilic ولا تتواجد غالباً في العزلات من النوع Pleomorphic، قد تأخذ الابواغ الكونيدية الصغيرة شكل الدمعة Tear-shape مقارنة بالشكل الكروي في السلالات ذات الأصل البشري Anthrophilic، تأخذ الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia شكل العصا أو السيجارة Cigar-Club shape مع ثلاثة أو أربعة غزول فطرية مقسمة وناعمة ومثخنة الجدران وذات أبعاد (6-8 × 20-50) مايكرو متر مع قواعد التصاق ضيقة، قد تكون أعداد الابواغ الكونيدية الكبيرة أكثر غزارة في السلالات ذات الأصل الحيواني Zoophilic وتكون هذه الابواغ مقترنة مع عناقيد من الابواغ الكونيدية الصغيرة والتي تتطور إلى الشكل الحلزوني، ويتميز هذا النوع بوجود الطور الكامل (Teleomorph Kwon) (Chung & Bennett, 1992 –).

3-2-2- الفطر *T. verrucosum*

1. الخصائص المظهرية للفطر

يعد من الأنواع ذات الأصل الحيواني، عالمي الانتشار وهو المسبب الرئيسي للقوباء الحلقية Ringworm في الماشية، ويكتسب الإنسان الإصابة مباشرة من الماشية أو من الفضلات الملوثة والإصابة تكون التهابية وتتركز في فروة الرأس و الوجه، ينمو الفطر بصورة بطيئة جداً على وسط SDA إلا إذا كان الوسط غنياً بالثايمين Thiamine والانوسيتول Inositol أو خلاصة الخميرة Yeast extract، مستعمرات الفطر بيضاء، مرتفعة، كروية، الجهة الخلفية للضرب *T. verrucosum var album* تكون فاقدة للصبغة، هناك ضربان آخران من هذا النوع، *T. verrucosum var discoides* تكون مستعمراته بيضاء، رمادية و مسطحة، أما الضرب *T. verrucosum var ochraceum* فتكون مستعمراته صفراء مسطحة على وسط SDA، وتظهر فروع مشابهة للخيوط الفطرية تماثل تلك الموجودة في النوع *T. schoenleinii* (Kwon – Chung & Bennett, 1992).

2. الخصائص المجهرية للفطر

ينتج هذا الفطر على وسط Blood agar الغني بالثايمين Thiamine والانوسيتول Inositol ابواغ كونيدية صغيرة Microconidia قليلة العدد، تأخذ شكل الدمعة Tear-shape. أما الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia فتأخذ شكل حبة الفاصوليا، وتحوي (5-)

3) خلايا، كما ينتج الفطر سلاسل الكلاميدوسبور Chlamydospores عند درجة 27 م°،
الطور الكامل لهذا النوع Teleomorph غير معروف (Kwon -)
(Chung & Bennett, 1992).

3-2- أنواع الإصابات الفطرية Types of Mycoses

تعرف الإصابات التي تسببها الفطريات طبياً بـ Mycoses (مفردتها Mycosis) والتي
يمكن تمييزها حسب الموقع السريري للإصابة ومن تلك الإصابات ما يلي:
(Roberts, 1990 ; Rippon, 1979).

1. الإصابات الفطرية السطحية Superficial Mycoses

وهي الإصابات التي تحدث في طبقات الجلد الخارجية المتقرنة Stratum
Corneum و قد يتعرض الشعر للإصابة بها وبالتحديد الطبقات السطحية الميتة من البشرة
والشعر ولا تمتد إلى الأنسجة الحية. ولا يوجد تفاعل للمضيف ضد هذه الطفيليات ومثال على
هذه الإصابات هي النخالية المبرقشة Tinea Versicolor والإصابة العقديّة Piedra)
(Roberts, 1990).

2. الإصابات الفطرية الجلدية Cutaneous Mycoses

وهي إصابات محددة بالطبقات السطحية المتقرنة للجلد Stratum Corneum و في أحيان
قليلة تهاجم الخلايا الحية، ويمكن تمييز هذا النوع من الإصابات بوجود تفاعل التهابي حاد لوجود
الكائن المجهرى. ويتمثل هذا النوع من الإصابة بالإصابات التي تحدثها الفطريات الخيطية
Dermatophytes وجنس Candida (Rippon, 1979)

3. الإصابات الفطرية تحت الجلد Subcutaneous Mycoses

وهي إصابة الأنسجة تحت الجلد من دون انتشار إلى المواقع البعيدة مثل
Chromoblastomycosis و Mycetoma و Sporotrichosis (Rippon, 1979).

4. الإصابات الفطرية الجهازية Systemic Mycosis

وهي أكثر الإصابات خطورة وغالباً ما تكون هذه الأمراض مميتة وتسببها فطريات
ثنائية الشكل Dimorphic والمتحملة للحرارة وتعود للأجناس Blastomyces و

Coccidioides و *Histoplasma* و *Paracoccidioides*، توجد الإصابة التي تحدثها هذه الفطريات بصورة ابتدائية في الرئتين وقد تمتد الإصابة لتشمل أعضاء عديدة من الجسم، وتضم الإصابات الجهازية الإصابات الانتهازية الفطرية مثل داء الرشاشيات الرئوي *Aspergillosis* وداء الفطور المقترنة *Zygomycosis* وداء المكورات الخفية *Cryptococcosis* وداء المبيضات *Candidiosis*، وهذه الإصابات شائعة في المرضى الذين يعانون من نقص مناعي مثل المرضى الذين يكونون تحت المعالجة من هذا المرض أو إذا كانت هناك عوامل مثبطة للمناعة (Roberts, 1990).

4-2- إصابات الفطريات الجلدية الخيطية

وهي عبارة عن إصابات فطرية سطحية للأنسجة الكيراتينية وجريبات الشعر الدهنية وتسبب هذه الإصابات بأنواع الفطريات الجلدية الخيطية التي تعود إلى ثلاثة أجناس وهي *Epidermophyton* و *Trichophyton* و *Microsporum*. (Matsumoto, 1996).

الفطر الجلدي تاريخياً يعني النبات الجلدي *Skin plant* وقد عرّف Hawksworth مصطلح الفطر الجلدي بأنه فطر متطفل على الأنسجة الكيراتينية (الشعر والجلد والأظافر) للإنسان والحيوان مسبباً لها الأمراض الفطرية الجلدية الخيطية والتي تعرف بالسعفة *Tinea* أو القوباء الحلقية *Ringworm* (Matsumoto & Ajello, 1987). وكلمة السعفة *Tinea* هي كلمة لاتينية تعني الديدان القارضة أو الحافرة *Gnawing worm* ويستعمل هذا المصطلح للإصابات الفطرية التي تبدأ كطفح صغير ثم تنتشر على شكل حلقي (Lionyel fry et al, 1985). تنتج الصفات السريرية للإصابات الفطرية الجلدية الخيطية من تحطيم الكيراتين واستجابة المضيف الالتهابية التي تعتمد على أنواع وسلالات الفطريات الجلدية الخيطية وحجم اللقاح وموقع الإصابة في الجسم ومناعة المضيف (Ellis, 1994). تصنف الإصابات الفطرية الجلدية حسب موقع الإصابة إلى الأشكال السريرية التالية :

(Matsumoto, 1996 ; Roberts & Mackenzie, 1986).

1- السعفة الرأسية *Tinea Capitis*

تعد هذه الإصابة من أكثر الإصابات الفطرية الجلدية الشائعة في الأطفال ونادراً ما تحدث في الكبار (Clayton, 1986). وحالات حدوث مرض السعفة الرأسية في الذكور أكثر من الإناث (Blank et al., 1974)، إذ تهاجم هذه الفطريات فروة الرأس ومحاور الشعر (Abdel-Rahman & Nahata, 1997). ومما يساعد في انتشار الإصابة هو ضعف الإرشاد

الصحي وخاصة في المناطق السكنية المزدحمة، ويمكن أن يظهر من خلال الأغذية الملوثة والمفروشات والأشياء غير الحية الأخرى، بعد أن يبدأ شعر المصاب بالتساقط، فإن الفطر الممرض قد يختلف لأكثر من سنة واحدة، تتميز السعفة الراسية بالتساقط غير المنتظم والكثيف للشعر و تقشّر فروة الرأس وتكسر الشعر الضعيف لمسافات محدودة من فروة الرأس ويطلق على هذا النوع من السعفة الراسية ذي النقط السوداء Black dot ويرتبط بالأنواع ذات الاختراق الداخلي Endothrix للشعرة، من أكثر الأنواع التي تسبب السعفة الراسية من النوع ذي النقط السوداء هي *T. violaceum* و *T. tonsurans*، أما النوع الملتهب الذي يطلق عليه Kerion type فإن إصابة فروة الرأس قد تتكون في الخلية المتوسطة الاستجابة المناعية Cell-mediated immune response، إذ تظهر جريبات الشعر بثرية ومتناثرة ومؤلمة، ويرافق ذلك حمى وظهور مناطق التهاب العقد اللمفاوية Lymphadenopathy، وأيضاً وجود عقد صغيرة مع شعر متكسر بنسبة 2-3 % وكذلك ظهور مادة دبقية متقيحة هي Kerion مسببات هذا النوع من السعفة الراسية هي الأنواع ذات الأصل الحيواني Zoophilic مثل *M. canis* و *T. verrucosum* وكذلك الأنواع التي مصدرها التربة مثل *M. gypseum*، هناك نوع آخر من السعفة الراسية غير التهابي يسمى Grey patch، إذ تظهر في البدء بثور حُمَامِيه Erythematous حول محور الشعرة وتتطور إلى رقعة واحدة أو أكثر من الشعر المتساقط الحرشفي ويكون الشعر متكسراً فقط فوق مستوى فروة الرأس، وقد تبدو الشعرة فاقدة للمعان ورمادية اللون وذلك لأنها تكون مغطاة بالسبورات المفصلية Arthrospores، ومن أكثر الأنواع التي تسبب هذا النوع من الإصابة هي *M. feregrinum* و *M. audouinii* (Higgins et al., 2000; Martin & Kobayashi, 1999). يمكن تشخيص السعفة الراسية بالفحص المجهرى للخيوط الفطرية والسبورات باستخدام KOH. وفي حالة فشل هذا الاختبار يمكن استخدام فحص Wood's lamp، فإذا كانت نتيجة الفحصين السابقين سالبة، عندها يتم اللجوء إلى عزل الفطر على وسط غذائي ملائم مع تدوين الصفات السريرية في التشخيص (Hubbard, 1999).

2-سعفة الفخذ Tinea cruris

سعفة الفخذ كثيراً ما تسمى بحكة الفارس Jock itch، وهي إصابة جلدية في المنطقة الاربية groin، ناتجة عن الإصابة بالأنواع *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *Epidermatophyton floccosum*، يحدث هذا المرض في كلا الجنسين ولكنه أكثر شيوعاً في الإناث و كثيراً ما يكون مقترناً مع السعفة القدمية Tinea pedis (

(Hay & Mackenzie, 1987). تتطور السعفة الفخذية عندما ترتفع درجة حرارة المحيط وكذلك الرطوبة النسبية خاصة في المناطق الاستوائية وان زيادة الرطوبة من العوامل المشجعة على الإصابة (Bergfled *et al.*, 1993; Hay, 1983)، ويعاني المرضى المصابون بسعفة الفخذ من الحرقنة والحكة وتظهر بثور وحويصلات في الحافات الفعالة من مناطق الإصابة، وتكون حرشفية ومرتفعة ومتقرحة مع وجود بقعة حمراء على طول منطقة الإصابة. ويمكن تشخيص الإصابة بالاعتماد على ما يلي :-

- 1- داء المبيضات السحجي (Candidal intertrigo) Uniformly red, with on (central clearing, satellite lesions)
- 2- قوباء الارفاغ الفطرية (Erythrasma) Uniformly brown and scaly, (with on active edge; fluoresces a brilliant coral red)
- 3- Mechanical intertrigo (Sharp edge, on central clearing or scal)
- 4- داء الصدفية (Psoriasis) Silvery scal and sharp margination; pitted (nails;knee,elbow, and scalp lesion)
- 5- التهاب الجلد الدهني (Seborrheic dermatitis))
- (Greasy scales; scalp (dandruff) and sternal involvement)
- (Zuber & Baddam, 2001; Goldstein *et al.*, 2000)

3-السعفة الحلقية *Tinea corporis*

تظهر السعفة الحلقية أو القوباء الحلقية Ringworm بصورة نموذجية كإصابات حرشفية، حلقية، مفردة أو حلقات متحدة المركز، تتميز بحافة حمراء مرتفعة قليلاً و حافة حادة، وربما تحتوي حافة الإصابة على بثور أو انتفاخات حويصلية مصحوبة بحكة، يعتمد تشخيص السعفة الحلقية على الظهور السريري وفحص KOH لحراشف الجلد من حافة الإصابة، يتضمن التشخيص التفاضلي (داء الاكزما الدهني Nummular eczema والنخالية الوردية Pityriasis rosea ومرض ليبي Lyme disease والنخالية المبرقشة Tinea versicolor والتهاب الجلد التماسي Contact dermatitis وورم حبيبي حلقي Granuloma annular وداء الصدفية Psoriasis) (Rosen, 1997). يشمل هذا النوع جميع الإصابات الفطرية الجلدية الخيطية للجلد الأملس Glabrous skin للجسم ما عدا بعض المناطق الخاصة مثل راحة اليد وباطن القدم والمنطقة الاربية (Velho *et al.*,)

(2000; Marchisio *et al.*, 1996).

تستطيع جميع أنواع الفطريات الجلدية الخيطية أن تسبب السعفة الحلقية وأكثر الأنواع شيوعاً هي *M. canis* و *T. rubrum* و *T. mentagrophytes*) (Matsumato, 1996; Roberts & Mackenzie, 1986.

4-القرع (*Tinea Favosa*)

تعني القرع باللاتيني قرص العسل وهي إصابات فطرية مزمنة لفروة الرأس ويمكن تمييزها بظهور غلاف قشرة صفراء في فروة الرأس يطلق عليها العلبة *Scatula* وتتكون خلال فترة الطفولة وقد تستمر طيلة الحياة في حالة عدم علاجها، وتمثل *Scatula* كتلة كثيفة من الخيوط الفطرية والسبورات المفصالية التي تظهر في جريبات الشعر فتأخذ الشكل المعيني واغلب الأنواع الشائعة التي تسبب القرع هو *T. schoenleinii* وهناك أنواع من الفطريات الجلدية الخيطية تعطي صورة مشابهة لمرض القرع هي *M. gypseum* و *T. violaceum*) (Matsumato, 1996; Emmons et al., 1977.

5-سعفة الذقن *Tinea barbae*

سعفة الذقن هي إحدى الإصابات الفطرية التي تحدث في الجلد والشعر الخشن لمناطق اللحية والشارب للبالغين من الذكور والإناث المشعرات. مسبب هذا المرض هو ذو مصدر حيواني *Zoophilic*، إذ يكتسب الفطر المسبب من الماشية مثل النوع *T. verrucosum* أو من الخيول والكلاب مثل النوع *T. mentagrophytes*، وفي الغالب يعد الفلاحون الأكثر تعرضاً للإصابة، أما الفطريات ذات الأصل البشري فهي لا تسبب التهاباً حاداً كما هو الحال في الفطريات ذات الأصل الحيواني، وقد يسبب فطر *M. canis* أحياناً السعفة الذقنية (Emmons et al., 1977). يصاحب المرض التهاب جريبات الشعر مع ظهور بثور حوبصيلية واحمرار الجلد، وقد تحدث الإصابة في وجه الإنسان وللجنسين قبل البلوغ ويطلق عليها في مثل هذه الحالة بالسعفة الوجهية *Tinea faciei*، يتضمن التشخيص التفريقي (التهاب الجربة البكتيري *Bacterial folliculitis* و التهاب الجلد الفموي *Perioral dermatitis* و التهاب جريبات الذقن الكاذب *Pseudofolliculitis barbae* و التهاب الجلد التماسي *contact dermatitis*)، وهناك طريقة بسيطة لتمييز هذه الإصابة عن الإصابات البكتيرية وهي إن إزالة الشعر في سعفة الذقن يكون غير مؤلم بينما يكون مؤلماً في الإصابات البكتيرية) (Zuber & Baddam, 2001.

6-السعفة الوجهية *Tinea Faciei*

تميل السعفة الوجهية للظهور في الجلد الأملس أو المناطق غير المغطاة بالشعر في الوجه Non- bearded area، تظهر الإصابة على هيئة بقع حمراء حلقية أو دائرية وقد يعاني المريض من الحكة والحرقة وربما تتطور عند التعرض لأشعة الشمس. يصعب تمييز المناطق الحمراء خصوصاً في الجلد الأسود Darkly pigmented skin وقد تحتوي الإصابة على حافات حرشفية مرتفعة قليلاً، من مسببات هذه الإصابة هي *T. rubrum* و *T. mentagrophytes*، ونتيجة للظهور الماكر لهذه الإصابة الجلدية فإنها تعرف في بعض الأحيان بالسعفة المتخفية *Tinea incognito* (Zuber & Baddam, 2001). يتضمن التشخيص التفريقي (التهاب الجلد الدهني Seborrheic dermatitis و داء الوردية Rosacea والتهاب الجلد التماسي Contact dermatitis) (Goldstein et al., 2000).

7- السعفة القدمية *Tinea Pedis*

السعفة القدمية أو ما يسمى بمرض قدم الرياضي (Athlete's foot) هي إحدى الإصابات الجلدية الناتجة من تداخل الفطريات والبكتيريا، وتتواجد السعفة القدمية بعدة أشكال هي:

A. الشكل بين الأصابع Interdigital form: وهو الشكل الشائع من السعفة القدمية ويتميز بوجود تشقق وتغفن وتقرش في الفراغات بين الأصابع الرابع والخامس من القدم وقد تنتشر الإصابة تحت الأصابع ويعاني المصابون بهذا النوع من الإصابة من حرقة وحكة في أصابع القدم (Noble et al., 1998). هناك نوعان من هذا الشكل من الإصابة :

1. النوع البسيط Dermatophytosis simplex : وتكون الفراغات بين الأصابع في هذا النوع حرشفية وجافة وقليلة التقشر.

2. النوع المعقد Dermatophytosis complex : ويتميز هذا النوع بتقرش وضعف وتعطن الفراغات بين الأصابع مصحوبة بفرط التقرن Hyperkeratosis والتهاب الجلد الأبيض Leukokeratosis (Leyden & Kligman, 1977). إن ضعف الأنسجة بين الأصابع الناتج من مهاجمة الفطريات وكذلك وجود الرطوبة يزيد من إمكانية حدوث الإصابة البكتيرية كما هو الحال في الإصابة بـ *T. mentagrophytes* لاسيما المرضى الذين يعانون من نقص المناعة المكتسبة HIV وضعف في وظيفة الخلايا التائية T-

Cell، إذ تنتشر الإصابة بشكل واسع وتمتد إلى ظهر القدم (Smith et al., 1994)

B. شكل الخف (الحذاء) Moccasin form: وتكون هذه الإصابة أشد وأطول من الشكل السابق إذ تغطي الإصابة باطن وجوانب القدم وتظهر بشكل الخف (الحذاء) لذلك يسمى

Moccasin form، يكون باطن القدم في هذا النوع حشفي ومثخن أما أخمص وجوانب القدم فتتميز باحمرار الجلد وفرط التقشر

Hyperkeratosis مع وجود انتفاخات Papules (Hainer, 2003)

(Hirschman & Raugi, 2000 ;). من أكثر الأنواع الفطرية المسببة لهذا الشكل من الإصابة هو *T. rubrum* ويتضمن التشخيص التفريقي لها (داء احتباس العرق Dyshidrotic والتهاب الجلد السطحي Atopic dermatitis وتحلل الكيراتين المنقط Pitted Keratolysis (Fitzpatrick et al., 2001).

C. الشكل الحويصلي Vesiculobullous form: وهو الشكل الثالث من السعفة القدمية ويتميز بظهور بثور أو حويصلات على جوانب وسطح القدم ()

(Hirschman & Raugi, 2000). تعد الإصابة البكتيرية في هذا الشكل من الصفات التفريقية والتي تجرى عن طريق الفحص المجهرى أو زراعة عينات الجلد المصابة، تحتوي الحويصلات على سوائل صافية ولكن وجود القيح فيها يشير إلى حدوث الإصابة البكتيرية وغالباً بـ *Staphylococcus aureus* أو بعض أنواع جنس *Streptococcus*، يتضمن التشخيص التفريقي (التهاب الجلد التماسي الرجائي Allergic Contact Dermatitis وداء القوباء الفقاعية Bullous Impetigo ومرض الفقاعات Bullous disease وداء احتباس العرق Dyshidrotic) (Fitzpatrick et al., 2001).

من المضاعفات المحتملة في جميع أشكال السعفة القدمية هي التهاب الأنسجة الخلوية بالمكورات العقدية Streptococcal cellulites، أما إصابة الجلد بالمكورات العقدية فتكون بعيدة الاحتمال، وعموماً وجود التعفن الفطري Fungal maceration والتشقق Fissuring يسمح لـ *Streptococci* بأن تستعمر الأنسجة بين الأصابع في المرضى الذين يعانون من السعفة القدمية (Noble et al., 1998).

8- سعفة راحة اليد Tinea manuum

هي إصابة فطرية لراحة اليد، وتظهر غالباً في المرضى الذين يعانون من الإصابة بالسعفة القدمية Tinea pedis، إذ يصبح سطح راحة اليد جافاً وغنياً بالكيراتين hyperkeratotic كما يلاحظ تقشر قليل في الجلد مع وجود الحويصلات عندما تمتد الإصابة إلى الأظافر، وتظهر الأعراض مشابهة لمرض الأكزما الاحمراري Dyshidrotic eczema، يتضمن التشخيص

التفريقي (التهاب الجلد التماسي Contact dermatitis وداء الصدفية Psoriasis). (Goldstein et al et al., 2000).

9-السعفة الظفرية *Tinea unguium*

هي إصابة فطرية جلدية للأظافر، وهي نوع من داء الأظافر الفطري Onychomycosis، قد تسبب في الإصابة بالخمائر Yeast والاعفان غير الجلدية Non-dermatophyte molds (Noble et al., 1998)، ومن العوامل المشجعة على تطور الإصابة هو تقدم العمر Aging وداء السكر Diabetes والأحذية الضيقة وكذلك وجود السعفة القدمية Tinea pedis، وتعد إصابة الأظافر بالفطريات الجلدية الخيطية من الإصابات المزمنة للأظافر (Zaias, 1972). يتضمن التشخيص التفريقي (داء الحزاز المبسط Lichen planus وداء الصدفية Psoriasis وورم الاظفر Nail tumor والتهاب الجلد السطحي Atopic dermatitis والتهاب الجلد التماسي Contact dermatitis ومتلازمة الاظفر الصفراء Yellow nail syndrome) (Goldstein et al., 2000).

10- الأورام الحبيبية *Mycetoma*

هي من الإصابات الفطرية غير الشائعة ولكنها مميزة حيث تصيب الأنسجة الحية تحت الجلد مع تكوين حبيبات بيضاء مصفرة بقطر 50-80 مايكرو متر. الحبيبات مكونة من الغزل الفطري المقسم Septate hyphae إضافة إلى حويصلات تشبه مادة الاسمنت Cement like material تربط الغزل الفطري وتكون بشكل ورم في فروة الرأس الذي يعد من أكثر مواقع الإصابة (Rinaldi, 1983). الإصابة لا تتمثل في أدمة الجلد dermis فقط وإنما تصيب البشرة Epidermis أيضا وقد تمتد الإصابة إلى الجهة الخلفية للعنق (Kwon – 1992). من الأنواع التي تسبب هذه الإصابة هي *M. canis* و *M. audouinii* (Chung & Bennett, 1992). (King et al., 1999; Ajello et al., 1980).

2-5- إصابات الجنس *Trichophyton*

يعد جنس *Trichophyton* من الفطريات الجلدية الخيطية الواسع الانتشار والذي يحتوي على أنواع مختلفة من الفطريات المسؤولة عن الإصابات الجلدية المعروفة باسم السعفة Tinea أو القوباء الحلقية Ringworm (Ellis et al., 1997). أشار Chadegui pour وجماعته (1997) إلى إن السعفة الراسية هي أكثر الأنواع السريرية انتشاراً في إيران وإن الفطر *T. verrucosum* هو أكثر أنواع الفطريات الجلدية انتشاراً.

ولاحظ Attapatu (1989) إن الفطر *T. mentagrophytes* يشكل نسبة 81% من حالات الإصابة بالسعفة الراسية. وفي دراسة عن السعفة الراسية في ليبيا (بنغازي) لوحظ إن الفطر *T. schoenleinii* هو أكثر الفطريات الجلدية الخيطية المعزولة. وأشار محمود (2000) إلى إن النوع *T. rubrum* هو المسبب الرئيسي لسعفة الفخذ من بين جميع أنواع جنس *Trichophyton* وكان النوع *T. verrucosum* من أكثر الفطريات الجلدية المعزولة من السعفة الحلقية في حين كان النوع *T. schoenleinii* والنوع *T. mentagrophytes* من أكثر الأنواع المسببة للسعفة الراسية في محافظة بابل. يعد النوع *T. rubrum* من أكثر أنواع الفطريات الجلدية الخيطية المسببة للإصابات الجلدية المزمنة مثل السعفة الفخذية *Tinea cruris* والسعفة الحلقية *Tinea corporis* والسعفة الظفرية *Tinea unguium* (Kwong – Chung & Bennett, 1992).

2-6- بعض العوامل البيئية المؤثرة في نمو الفطريات

2-6-1- الوسط الغذائي

يختلف معدل النمو الأمثل للفطريات الجلدية الخيطية باختلاف الأوساط الغذائية (Meletiadiis et al., 2001)، كما إن مكونات الأوساط الزراعية التي تنمو عليها الفطريات تؤثر بصورة مباشرة في نمو تلك الأحياء المجهرية فسرعة النمو تتناسب طردياً مع تراكيز المواد المغذية للأحياء المجهرية الموجودة في تلك الأوساط (السعد، 1990). يعد الكربون والنيتروجين من أهم مكونات الأوساط الزراعية الضرورية لنمو الأحياء المجهرية ومن ضمنها الفطريات باختلاف أنواعها (Meletiadiis et al., 2001; Cuenca–Estrclla et al., 2001). تستخدم في تنمية الفطريات المختلفة بعض المصادر النتروجينية العضوية وغير العضوية، فالبيتون و خلاصة الخميرة والأحماض الامينية تعد من المصادر النتروجينية العضوية (Drori et al., 2003;) (Takasuka, 2000; Larcher et al., 1996). أما المصادر النتروجينية غير العضوية فتكون بشكل كبريتات أو كلوريدات أو فوسفات الامونيوم (السعد، 1990).

يعد الكلوكوز من مصادر الكربون المهمة التي تستخدم في تنمية الفطريات المختلفة إذ يؤثر بشكل واضح على معدل نمو الفطريات (Meletiadiis et al., 2001). كما إن هنالك بعض

الزيوت النباتية تستخدم أيضا كمصدر للكربون أثناء نمو بعض الفطريات كما في فطر *Penicillim aurantiogriseum* (Lima et al., 2003).

يؤثر نقص المصادر الغذائية على معدل نمو الفطريات وقد يتغير شكلها إذ تتحول الفطريات ثنائية الشكل Dimorphism من شكل الخميرة Yeast form إلى الشكل الخيطي Filamentous form في الحالات التي تعاني فيها الفطريات من النقص أو التجويع في مصادر الكربون (Palecek et al., 2002). تنمو الفطريات المحبة للكيراتين بصورة جيدة عند وجود السكريات مثل الكلوكوز كمصدر للكربون مع البروتينات بالإضافة إلى أنها تستغل البروتينات مصدراً للكربون والنتروجين معا (Kunert, 2000). يستخدم البيبتون مصدراً للكربون أيضا في عزل الفطريات الجلدية الخيطية كما هو الحال في وسط سابرويد دكستروز أكار Sabouraud Dextrose Agar ووسط مايكوبايوتك أكار Mycobiotic Agar (Mignon et al., 1998; ; Audaid, 1997; Marchisio et al., 1996).

هناك بعض الدراسات حول تأثير نوع الوسط الغذائي في عملية عزل الفطريات، فقد قام Sinski وجماعته (1977) باستخدام وسط سابرويد دكستروز أكار ووسط Taplin dermatophyte test medium ووسط Yossef في عزل النوعين *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* ووجدوا أن جميع هذه الأوساط تدعم نمو الفطريات ولا يوجد هناك اختلافات معنوية في عدد المستعمرات الناتجة، كما وجد Takasuka (2000) إن هذين النوعين ينموان بشكل أفضل في وسط Yeast nitrogen base مقارنة بوسط مرق السابرويد دكستروز. يعتمد معدل إنتاج الكونيدات في الفطريات الجلدية أيضا على نوع الوسط الغذائي، إذ لاحظ Jessup وجماعته (2000) إن معدل إنتاج الكونيدات للنوع *T. rubrum* و النوع *T. mentagrophytes* على وسط Heinz oatmeal ceral agar كان كبيرا مقارنة بوسط Potato dextrose agar ووسط Mycoseal agar الحاوي على 1% من خلاصة الخميرة. وكذلك وجد أن وسط مرق السابرويد ديكستروز هو أفضل الأوساط المستخدمة في تحفيز نمو الغزل الفطري ونسبة الإنبات في الفطريات *Aspergillus fumigatus* و *Rhizopus microsporus* مقارنة بوسط Yeast nitrogen base و *Sclerosporum prolificans* والوسط 1640 (RPMI) Rose well parl's memorial instudiant والوسط Antibiotic medium 3 (Meletiadis et al., 2001).

2-6-2- درجة الحرارة

تقسم الأحياء المجهرية إلى ثلاثة مجاميع بالنسبة لمتطلباتها الحرارية هي الأحياء المحبة للحرارة العالية Thermophilic والتي تنمو بصورة جيدة في درجة حرارة أعلى من 40 م°، والأحياء المحبة للحرارة المتوسطة Mesophilic وهذه تنمو بشكل أفضل بين درجتَي الحرارة 25-40 م° وأخيراً الأحياء المحبة للبرودة Psychrophilic فإنها تنمو في درجة حرارة أقل من 25 م° (السعد، 1990). الفطريات المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة تنمو بصورة جيدة بين درجتَي 30-32 م° (Bull & Bushnell, 1976). تعد الفطريات الجلدية من الأحياء المجهرية متوسطة التحمل الحراري Moderately thermophilic ومعظمها تنمو جيداً بدرجة حرارة 37 م° خارج الجسم الحي، وإن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطريات الجلدية تتراوح بين 25-35 م° ولا تتمكن من النمو بدرجة حرارة 40 م° وهناك أنواع أخرى من الفطريات الجلدية لا تستطيع النمو بدرجة 37 م° (Weitzman and Summerbell, 1995).

أشار كل من Mignon وجماعته (1998) و Muhsin وجماعته (1997) و Marchisio وجماعته (1996) إلى أن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطريات الجلدية تتراوح بين 25-27 م°. من جهة أخرى وجد أنه ليس هنالك اختلافات على مستوى النمو لكل من النوعين *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* عند نموها في درجة حرارة 35 و 30 م° (Norris et al., 1999). تؤثر درجة حرارة الوسط الغذائي في الفعاليات الحيوية للخلية إذ إن لكل فعالية حيوية تقوم بها الأحياء المجهرية درجة حرارة دنيا ومثلى وعليا (السعد، 1990). أشار Jessup وجماعته (2000) إلى أن درجة الحرارة المستخدمة لحساب معدل إنتاج الأبواغ الكونيدية في عزلات سريرييه ومنها النوعين *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* هي 30 م° بينما درجة الحرارة التي استخدمت في اختبار فعالية بعض المضادات الحيوية في نمو هذه الفطريات هي 35 م°.

2-6-3- الرقم الهيدروجيني

يتأثر نمو الفطريات والعديد من فعاليتها الحيوية الأخرى بالرقم الهيدروجيني للوسط الزراعي، إذ أنه يؤثر في الحالة الأيونية لمكونات الوسط الزراعي وجاهزية الأحماض الأمينية والمغذيات الأخرى في الوسط وإمكانية استغلالها من قبل الفطريات (Danew & Klossek, 1989). كما وجد أن الرقم الهيدروجيني يؤثر في عملية التعبير الجيني لبعض الجينات المسؤولة عن تغير الشكل في خميرة *Candida spp.* (Ramon et al., 1999). أشار Kunert (1988) إلى أن نمو الفطريات الجلدية في وسط

غني بالسكريات يؤدي إلى جعل الوسط حامضياً مما يؤدي إلى تثبيط نموها لذلك تضاف أملاح الدوارى للأوساط الزرعية للمحافظة على الرقم الهيدروجيني للوسط ضمن المدى الأمثل للنمو. كذلك أوضح الباحث نفسه Kunert (2000) أن إمكانية الفطريات الجلدية على النمو في مديات واسعة من الرقم الهيدروجيني تتراوح من 4-11 إلا أنها تنمو بشكل أفضل في الأوساط الزرعية المحتوية على أملاح الدوارى وبرقم هيدروجيني يتراوح بين 6-7.5 وقد يتحول الوسط إلى القاعدية حول الغزل الفطري في أثناء نموها.

2-4-6- مدة الحضانة

تؤثر مدة الحضانة في نمو الفطريات الجلدية وإنتاج الكونيدات، فقد ذكر Jessup وجماعته (2000) أن النوع *T. rubrum* ينتج عدداً كبيراً من الكونيدات في وسط Heinz oatmeal cereal agar بعد مدة حضانة 4 أيام إلا أنه لا ينتج إلا عدداً قليلاً من الكونيدات في وسط Potato dextrose agar ووسط Mycoseal agar بعد مدة حضانة 7 أيام. تتباين مدة الحضانة اللازمة لنمو الفطريات باختلاف أنواعها، إذ تحضن الفطريات الجلدية مدة لا تقل عن 15 يوماً عند عزلها، والزراعة التي لا يظهر فيها نمو بعد مدة أربعة أسابيع (Muhsin et al., 1997; Marchisio et al., 1996; Kwon-Chung & Bennett, 1992).

2-7- المضادات الحياتية الفطرية Antifungals

تعرف المضادات الحياتية على إنها تلك المواد المنتجة من الكائنات الحية المجهرية كنواتج ابيضية ثانوية أو التي تصنع بتراكيب كيميائية مشابهة بصورة جزئية أو كلية لها والتي تقتل أو تثبط نمو الكائنات المجهرية الأخرى عند التراكيز الواطئة منها دون أن يكون لها تأثير أو إنها تؤثر قليلاً في خلايا اللبائن (Hugo & Russel, 1989). بدأ العلاج بالمضادات الفطرية سنة 1903، مع نجاح استعمال ايوديد البوتاسيوم لمعالجة داء الشعريات البوغية Sporotrichosis، وخلال الخمسين سنة اللاحقة حصل تقدم بطيء في تطور المضادات الفطرية إذ تم اكتشاف Nystatin في عام 1951، والذي يعد أول مضاد مهم من مجموعة البوليين (Steven, 1995).

تؤثر المضادات الحياتية والمصنعة الفطرية في الأحياء المجهرية بطريقتين فهي إما أن تؤدي إلى تثبيط نموها Fungistatic أو قتلها نهائياً Fungicidal وان عمليتي التثبيط والقتل قد تكون مقتصرة على مجموعه معينة أو مجاميع مختلفة من الأحياء المجهرية فالمضادات الفطرية

أما أن تكون ضيقة المدى Narrow Spectrum أو واسعة المدى Broad Spectrum، وعلى العموم فإن فعالية المضادات الفطرية تعتمد على كيفية أدائها لهذه الفعالية وعلى الهدف الخلوي Cell Target الذي تختاره (الزيدي، 2000). لم يتم توحيد اختبار الحساسية للمضادات الفطرية لحد الآن ومع ذلك تستعمل في العلاج اعتمادا على الأعراض السريرية الظاهرة على المريض (Espinal–Ingroff, 1996). استخدمت العديد من المضادات الفطرية مثل Imidazoles و Butenafine و Terbinafine ً كعلاج طبي سطحي Topical Treatment للإصابات الجلدية Dermatophytosis (Watanabe, 1999). استخدمت المضادات Triazoles و Griseofulvin و Terbinafine كمضادات فطرية فموية Oral antifungal لحالات الإصابة بالفطريات الجلدية الخيطية الحادة وللإصابات الجهازية (Leshner, 1999). يعد المضاد Clotrimazole من المضادات شائعة الاستخدام في إصابات السعفة الظفرية Tinea unguium وإصابة فروة الرأس الحلقية Scalp ringworm والإصابات المتعددة Extensive infections وآفة الجلد Skin lesion (Alou et al., 2001; Debruyne & Coquerel, 2000; Millikan, 2001; Niewerth & Kortling, 2000). تشاطر الخلايا الفطرية الثدييات في العديد من العمليات الحياتية المعقدة وهذا يعد عائقاً رئيسياً لتطوير أنواع جديدة من المضادات الحياتية لذلك اقتصر فعل المضادات على استغلال الاختلاف بين خلايا الثدييات والفطريات. هناك أنواع عديدة من المضادات الفطرية والتي تستخدم لمعالجة الإصابات الفطرية وهي متفاوتة في التأثير والانتقائية للإصابات التي يراد معالجتها (Vasquez et al., 2004). إن اختيار العلاج المناسب يحدده نوع الفطر المسبب للمرض وموقع وحجم الإصابة بالإضافة إلى حركية وسلامة وفعالية العلاج المتوفر (Millikan, 2001). على الرغم من وجود العديد من المضادات الفطرية لكن معظمها تتداخل مع البناء الحيوي لمركب الاركوستيرون Ergosterol الموجود في أغشية الخلايا الفطرية وبسبب وجود الكولسترول في خلايا اللبائن أيضا لذلك فإن المضادات الفطرية قد تكون سامة إضافة إلى أعراضها الجانبية على اللبائن لذلك فهي محدودة الاستعمال وفعاليتها ضعيفة في اختراق الأنسجة مما يزيد من صعوبة الحصول على علاج محدد ضد نوع معين من الفطريات (Jawetz et al., 1998)، إذ إن المضادات الفطرية بالإضافة إلى قابليتها على قتل الفطريات المزمدة للإنسان إلا أنها في الوقت ذاته قادرة على تحطيم خلايا المضيف بكل سهولة (Wetter, 2004; Wheat, 1994).

الجدول (2) أصناف المضادات الفطرية المستخدمة في علاج الاخماج الفطرية وميكانيكية عملها. (Vasquez et al., 2004)

المضاد الفطري Antifungal	ميكانيكية عمل المضاد الفطري	طيف الفعالية ضد الأنواع الفطرية
Azoles	تشبيط تحويل الانوسيتول إلى الاركوستيرون من خلال تشبيط انوستيرون إلى 14-x Demethylase	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus spp.</i> Dermatophytes
Polyenes	ارتباط الاركوستيرون الموجودة في غشاء الخلية الفطرية وتسهيل التغيرات في نفوذية الغشاء	<i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Zygomycetes</i> <i>variable</i>
Echinocandins	تشبيط بناء B – 1, 3-glucan من خلال تشبيط إنزيم B-1,3-D-glucansynthase	<i>Candida spp</i> (including azole resistant species) <i>Aspergillus spp.</i>
Allylamines	إعاقة بناء الاركوستيرون بواسطة إنزيم Squalene epoxidase	Dermatophytes, <i>Candida spp</i> <i>Aspergillus spp.</i>
Nikkomycins	تشبيط إنزيم Chitinsynthase في جدار الخلية الفطرية	Dimorphic Fungi
Sphingolipid Synthesis inhibitor	تستهدف عمل إنزيمات متنوعة تشترك في الايض الخلوي Sphigo lipids والمهمة في تركيب الغشاء البلازمي للخلية الفطرية	<i>Candida spp.</i> <i>C. neoformans</i>

<i>Candida spp. (not C. krusei or C. parapsilosis</i>	تتداخل مع بناء البروتين من خلال تثبيط تطويل العامل الثاني (Factor two)	Sadarins
Limited informations	تثبيط عامل ADP-ribosylation وهو بروتين يشترك في النقل الحويصلي الناتج من توقف النمو	NMT

يمكن تقسيم المضادات الفطرية إلى مجموعتين (Peacock and Herrington, 1993):

1-7-2- المضادات الفطرية الحيوية:

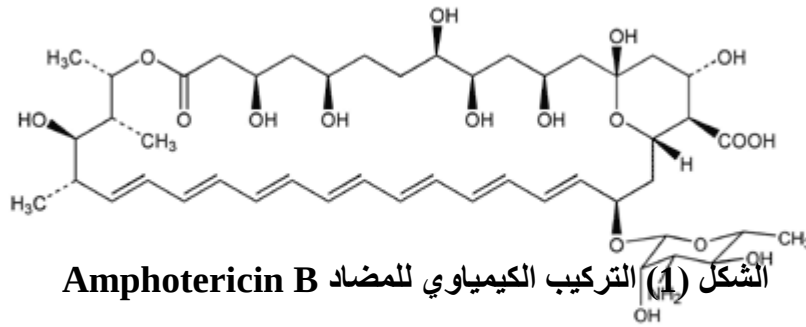
1-1-7-2- مجموعة البولين Polyene's group

هناك ما يقارب 200 مضاد فطري في هذه المجموعة والتي تحتوي من 4-7 أواصر ثنائية ومترابطة، وتكون مضادات هذه المجموعة قليلة الذوبان بالمذيبات المائية، وتضم هذه المجموعة نوعين من المضادات الفطرية الواسعة الاستخدام هما مضاد Amphotericin B ومضاد Nystatine (Kwon- Chung & Bennett, 1992). أشار Hiemenz & Walsh (1996) إلى إن آلية عمل هذه المجموعة يستهدف الاركستيرول الموجود في الأغشية الخلوية للخلية الفطرية وبالتالي تكوين معقدات معها مكونة ثقباً في غشاء الخلية الفطرية مما يؤدي إلى خروج الايونات والجزيئات من داخل الخلية إلى خارجها وبالتالي موت الخلية الفطرية (شكل 10).

a. مضاد Amphotericin B

يعد أهم مضاد من مجموعة Polyenes اكتشفه العالم Gold في عام 1955 (الشكل 1) وينتج من *Streptococcus nodosus* (Terrell & Hughes, 1992). المضاد واسع الطيف، ويستخدم لعلاج العديد من الإصابات الجهازية للفطريات مثل التهاب المكورات الخفية Cryptococcosis وداء الفطور الكوسيدية Coccidioidomycosis وداء الشبكة البطانية النسيجي Histoplasmosis وداء الفطار الجرثومي Blastomycosis وداء المبيضات Candidiasis وداء الشعريات البوغية Sporotrichosis وداء الفطار المخاطي Mucormycoses، وتكون أغلب الفطريات حساسة لهذا المضاد ولا توجد ميكانيكية معروفة لمقاومته لحد الآن رغم وجود أنواع من الفطريات لها القدرة على مقاومته في تراكيز مختلفة (Rex et al., 1995). يعمل المضاد بآلية تعتمد على تكوين معقدات الاركستيرول

Ergosterols الموجودة في الأغشية الخلوية للخلايا الفطرية وبالتالي تحطيم الغشاء من خلال تغيير نفاذيته وتكوين ثغوب في الغشاء تفقد من خلالها الأيونات والجزيئات الصغيرة المهمة لنشاط الخلية الفطرية (Laurence & Bennett, 1997). لا يعطى المضاد عن طريق الفم بل يعطى عن طريق الحقن الوريدي مع أملاح Sodium Deoxycholate المذاب في محلول Dextrose Solution لتقليل سمية المضاد لخلايا الكلية (Bodey, 1993). ينتشر هذا المضاد بعد مدة من إعطائه في أغلب الأنسجة الجسمية لكن انتشاره محدود في سائل النخاع الشوكي. للمضاد القابلية على الارتباط مع الكوليسترول الموجود في أغشية اللبائن وهذا ما يفسر سمية المضاد لخلايا الإنسان (Jawetz et al., 1998). للمضاد أعراض جانبية منها الحمى، القشعريرة، ضيق التنفس، القيء، الصداع، فقر الدم إضافة إلى تأثيره على الكلية (Brooks et al., 2001).



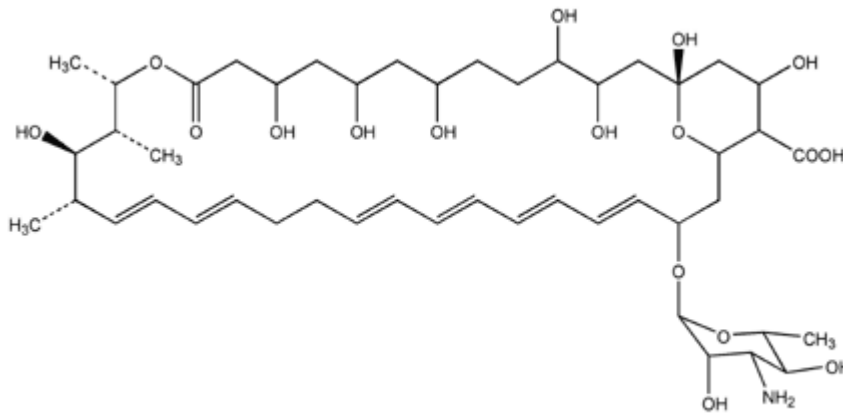
تتواجد
العديد من
الصيغ

ذات الطبيعة الدهنية لـ Amphotericin B التي تستعمل حالياً بوصفه دواءً وهي (Ablect) Amphotericin B lipid complex و (AmBisome) liposomal Amphotericin B و (Amphocil) Amphotericin B colloidal dispersion (Hann & Prentice, 2001).

إن الهدف الرئيس من تطوير هذه المضادات الفطرية هو إنتاج تركيبة أقل سمية وذات كفاءة عالية مقارنةً مع Amphotericin B (Wong-Beringer et al., 1998). إن الجرعات المستعملة من هذه المضادات هي 5 ملغم/كغم/يومياً وهي مكافئة لـ Amphotericin B بجرعة 1 ملغم/كغم/يومياً ورغم ذلك فهي لا تمتلك فعالية مقارنة بالمضاد الأصلي ولكنها تمتلك تأثيرات جانبية أقل مثل التسمم الكلوي (Owen et al., 2004).

b. مضاد Nystatin

اكتشفه العالمان Elizabeth & Rachal عام 1950 وهو من المضادات الفطرية واسعة الانتشار والمستعملة في علاج الأمراض الفطرية و التي تنتج من النوع *Streptomyces noursei* (الشكل 2) (Pelezar et al., 1986)، يمتلك تأثيراً مشابهاً لتأثير الـ Amphotericin B لذلك يستخدم لعلاج الالتهابات السطحية Superficial infections لهذا المضاد أعراض جانبية ويعد ساماً إذا ما استعمل عن طريق الحقن الوريدي وهو لا يمتص من الغشاء المخاطي أو الجهاز الهضمي اغلب استخداماته لعلاج الاخماج الموضعية بخميرة المبيضات البيضاء Local Candidiasis للفم والمهبل (Wasan, 1997). إلا إن هناك تركيبة دهنية جديدة من النستاتين قيد الدراسة تمتاز بفعاليتها ضد عزلات *Aspergillus spp* المتضمنة العزلات المقاومة لـ Itraconazole مختبرياً وعندما استعمل هذا المضاد في علاج الأرانب المصابة بداء الرشاشيات الرئوي Pulmonary Aspergillosis فإنه قلل من الأنسجة المصابة وعمل على تحسين الحالة الصحية للأرانب المدروسة (Andriole, 1999). آلية عمل هذا المضاد مشابه لآلية عمل المضاد Amphotericin B.



الشكل (2) التركيب الكيميائي للمضاد Nystatin

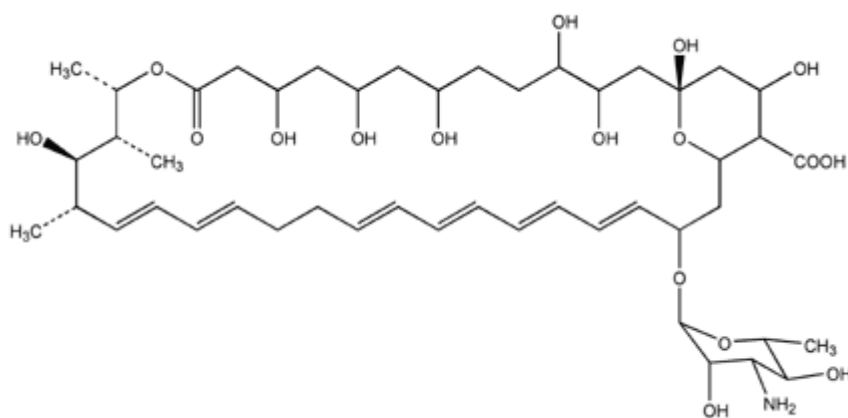
2-1-7-2- مضادات السايكليتوتون Cytoskeleton agents

تتداخل هذه المضادات مع الأنابيب الدقيقة Microtubules داخل الخلية الفطرية وبالتالي تحطيم مغزل الانقسام الخيطي Mitotic spindle ومن هذه المضادات هو مضاد الـ Griseofulvin (GRF) وهو مضاد له تأثير ملحوظ ضد بعض الإصابات الفطرية وأنتج من

الفطر *Penicillium griseofulvin* عام 1939، وهو فعال ضد الإصابات الجلدية مثل السعفة الرأسية *Tinea capitis* أو امراض القوباء الحلقية *Ringworm diseases*. المركب غير ذائب في الماء ويكون فعالاً عن طريق الفم بعد الهضم وعندما يصل إلى الجلد و الشعر، يترسب هذا المضاد بصورة أولية في الخلايا الكيراتينية كما يحتاج إلى وجبة غذاء جيدة لزيادة قابلية الجسم على امتصاص هذا المضاد (الشكل 3) (Lin et al., 1973).

ينتج هذا المضاد من شركات مختلفة والعلامة التجارية له هي Grifulvin VTM، آلية عمل هذا المضاد هي تثبيط الانقسام الخيطي Fungal mitosis بواسطة تحطيم مغزل الانقسام الخيطي Mitotic spindle وكذلك الأنابيب الدقيقة المضاعفة polymerized microtubules (Gull & Trinci, 1973).

يمنح Griseofulvin تركيزاً مثبطاً أدنى MICs عالياً مقارنةً مع المضاد Terbinafine عندما اختبر ضد النوع *T. rubrum* (Jessup et al., 2000; Korting et al., 1995). أشار Wildfeuer وجماعته (1998) إلى أن هذا المضاد اقل فعالية مقارنة بمضاد Voriconazole ضد الفطريات الجلدية، في حين وجد (Korting et al., 1995) اختزال في فعالية هذا المضاد ضد النوع *T. mentagrophytes* مقارنةً بالنوع *T. rubrum*. التفاعلات العكسية لهذا المضاد تكون غير شائعة، أما الأعراض الجانبية التي لوحظت في هذا المضاد فهي الإغماء، الإسهال، الصداع، هيجان الجلد، الحساسية للضوء Photosensitivity، وتكون الأعراض العصبية وكذلك الذيفانية الكبدية Hepatotoxicity نادرة الظهور (Montero-Gei, 1998; Korting et al., 1993). وفي دراسة أجريت في العراق اختبر Al-Duboon (1997) حساسية خمسة مضادات ومن ضمنها GRF ضد الفطريات والخمائر المعزولة من الجلد باستعمال طريقتي التخفيف والانتشار من الأقراص وقد اظهر GRF فعالية ضد معظم فطريات الجلد.



الشكل (3) التركيب الكيميائي للمضاد Griseofulvin

2-8-2- المضادات الفطرية المصنعة كيميائياً: ويمكن تقسيمها إلى المجاميع التالية)

(Drouhet & Dupont, 1987

1-2-7-2- مجموعة الازول Azole's group

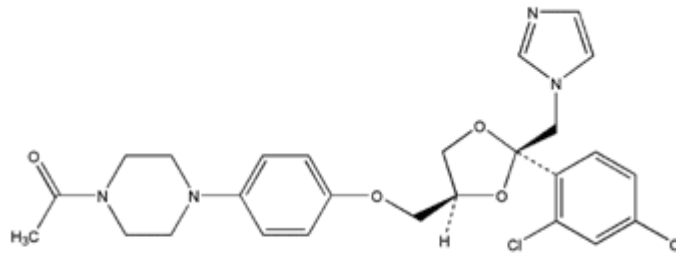
تضم هذه المجموعة مضادات Imidazoles مثل Ketoconazole و Clotrimazole و Miconazole والتي تتداخل مع إنزيمات الأكسدة في الفطريات مسببة تراكمات مميتة من بيروكسيد الهيدروجين والتي تقلل من تركيب الاركوستيرون المركب المهم في جدار الخلية الفطرية (الشكل 10)، كما تضم أيضاً مضادات Triazole مثل Fluconazole و Itraconazole التي تعطى عن طريق الفم ويكون عملها مثبطاً للفطريات إذ تعمل على تحطيم غشاء الخلية الفطرية من خلال تثبيط عمل إنزيم Demethylase (الشكل 10) (Laurence & Bennett, 1997).

تستعمل هذه المضادات لعلاج الخمجات الفطرية الرئوية وتمتلك تأثيراً مثبطاً للفطريات Fungistatic effect من خلال تثبيط بناء السيترول Sterol، إذ ترتبط هذه المضادات مع إنزيم P450-14 α -demethylase مما يمنع هذا الإنزيم من القيام بإزالة مجموعة المثل من Lanosterol وبالتالي يؤدي إلى تراكم 14 α -methylase في غشاء الخلية بدلاً من Ergosterol مما يؤدي إلى نفاذ هذا المركب في الغشاء البلازمي للخلية الفطرية يعقبه حصول تغيير في نفاذية غشاء الخلية الفطرية (Groll et al., 1998). تستهدف هذه المضادات اختياريًا الخلايا الفطرية أكثر من أغشية اللبائن والسبب يعود إلى أن إنزيم Cytochrome P-450 في الفطريات حساس 100.000 مرة لمضادات الازول أكثر من اللبائن (Michael & Pharm, 2001). تمتاز هذه المجموعة بأنها ذات طيف واسع ضد العديد من الإصابات الفطرية الجهازية والموضعية (Bodey et al., 1992). وفيما يلي نبذة مختصرة عن بعض المضادات التابعة لهذه المجموعة:

a. Ketoconazole (KTZ)

أنتج هذا المضاد عام 1978، وهو من المركبات المحبة للدهون لذلك فإن تركيزه عال في الأنسجة الدهنية (الشكل 4)، ويمتاز بأنه قليل الانتشار في سائل النخاع الشوكي، كما أنه يعطى عن طريق الفم وأفضل امتصاص له عندما تزداد حموضة المعدة (Sheehan et al., 1980; Van der merr et al., 1999). ومن الأفضل أن يعطى مع الطعام وذلك لتقليل الآثار الجانبية له، كما أن إعطاء هذا المضاد مع الريفامبين يقلل من تأثيره الدوائي على

الاحماج المنتشرة لخميرة المبيضات *Dessiminated Candidiasis* (Collin et al., 1999). إن العيب الرئيسي لهذا المضاد هو الآثار الجانبية المتمثلة بفقدان الشهية والغثيان والتقيؤ وسوء الهضم (Como & Dismukes, 1994). بالإضافة إلى زيادة في مستوى إنزيم Transaminase وقد يحدث تسمم الكبد (Walsh et al., 1991)، فضلا عن التقليل من هرمون التسترون، والنتيجة تضخم الخصى وقلة الحيوانات المنوية لدى الرجال كذلك عدم انتظام الدورة الشهرية لدى النساء (O'Conner et al., 2002). هذا المضاد فعال ضد *Candida spp.* و *Cryptococcus neoformans* وكذلك فعال ضد الفطريات الثنائية الطور مثل *Histoplasma capsulatum* و *Blastomyces dermatitidis* و *Coccidioides immitis* و *Sporothrix schenckii* و *Paracoccidioides brasiliensis* و *Penicillium marneffeii* (Como & Dismukes, 1994).

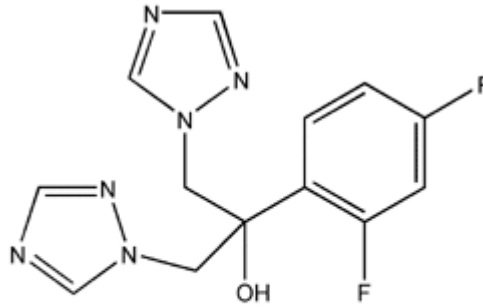


الشكل (4) التركيب الكيميائي للمضاد Ketoconazole

b. Fluconazole (FLZ)

وهو من المضادات التي تذوب في الماء، طور عام 1981 ويمكن إعطائه عن طريق الفم والوريد. له القابلية على اختراق سائل النخاع الشوكي والعين ويصل إلى مستوى علاجي في الإدرار (الشكل 5) (Debruyne & Ryckelynck, 1993). إن هذا المضاد فعال في علاج الالتهابات المتسببة عن *Candida* و *Cryptococcus* و *Blastomyces* (Bodey et al, 1992). كما إن النوع *C. albicans* عادة يكون حساساً للمضاد بينما الأنواع الأخرى من الخمائر تكون غير حساسة منها *C. glabra* و *C. krusei* و *C. tropicalis* وبالرغم من ذلك فإن مقاومة *C. albicans* للمضاد سجلت زيادة 10-15% لاسيما عند المرضى المصابين بنقص المناعة المكتسبة HIV لذلك فإن لهذا المضاد فعالية أكثر من

(Clotrimazole و Ketoconazole في علاج حالات داء المبيضات Candidiasis) (Bodey, 1993)، ويمتلك هذا المضاد فعالية مشابهة لمضاد Amphotericin B، إذ إن المضادين فعالين في علاج حالة التسمم الدموي Candidemia الناجم عن الخميرة (Voss & Depauw, 1999). من جهة أخرى لا ينصح باستعماله لعلاج داء المبيضات Candidiasis التي تصيب الرئتين لأن التعاطي الواسع لهذا المضاد يؤدي إلى زيادة في المقاومة (Pomerantz et al., 1993). إن زيادة طرح هذا المضاد مع البول دليل على أنه قليل السمية (Gallis, 1996). تشمل التأثيرات الجانبية لهذا المضاد دوار وتقيؤ واضطرابات معوية وطفح جلدي وآلام الرأس وزيادة في إنزيم Transaminase في الكبد (Pomerantz et al., 1993). وجد Patel (2000) إن هذا المضاد ذو فعالية قليلة ضد *Aspergillus spp.* وأغلب الفطريات الخيطية.



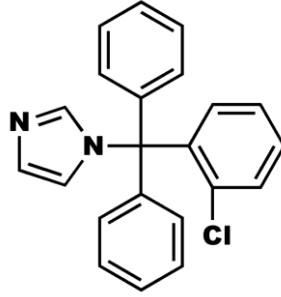
الشكل (5) التركيب الكيميائي للمضاد Fluconazole

c. Clotrimazole (CTZ)

هو احد مضادات Imidazoles التي لا تذوب في الماء ويكون امتصاص هذا المضاد من الجلد السليم دون مستوى للقياس. يوجد هذا المضاد بأشكال متنوعة منها مرطب Cream وغسل Lotion ومحلول Solution ورذاذ Spray وقرص Troche وأقراص مهبلية Vaginal tablets (Schopf et al., 1999). وهو مضاد فطري واسع المدى وطور سريرياً لسيطرته على الإصابات الفطرية المرضية للإنسان والحيوانات ويتوفر على هيئة محلول (1%) أو مرطب Cream للاستعمال الخارجي كما يمتلك فعالية عالية في المختبر لتنشيط

نمو اغلب سلالات الفطريات الجلدية الخيطية والتي تسبب السعفة القدمية *Tinea pedis* والسعفة الفخذية *Tinea cruris* والسعفة الحلقية *Tinea corporis* فضلا عن قدرته على تثبيط نمو بعض سلالات البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وله فعالية مضادة لـ *Trichomonas spp* وبتراكيز عالية (الشكل 6) (Sawyer et al., 1975).

تكون 100 ملغم من الأقراص المهبلية Vaginal tablets لهذا المضاد ذات تأثير كبير ضد داء الوحيدات المشعرة المهبلية Vaginal trichomoniasis (Schnell, 1974) بالإضافة إلى ذلك فقد استخدم المحلول الفموي لهذا المضاد بنجاح لمعالجة الإصابات الفطرية الجهازية وبجرعة تراوحت بين 40-100 ملغم/كغم/يوم (Hoffbrand et al., 1974). عندما يعالج المرضى بجرعة 1.5 غم عن طريق الفم يصل مستوى الدم إلى الذروة 1 ملغم/مل لأيام قليلة بعدها تصبح تدريجيا تراكيز هذا المضاد دون مستوى القياس بسبب اختزال إنزيمات المايكروسومل الكبدية Hepatic microsomal enzymes وهذه الجرعة عن طريق الفم تسبب الإغماء، التقيؤ، ألم معدي وفقدان في الوزن (Kwon-) (Chung & Bennett, 1992) يستخدم هذا المضاد في علاج حالات مختلفة من الإصابات الفطرية مثل داء المبيضات Candidiasis وداء المبيضات المهبلية Vulvovaginal Candidiasis، يمتص تقريبا من 3-10% من هذا المضاد في المهبل، تبقى التراكيز القاتلة لهذا المضاد في المهبل أكثر من 3 أيام بعد نهاية العلاج (Schopf et al., 1999).

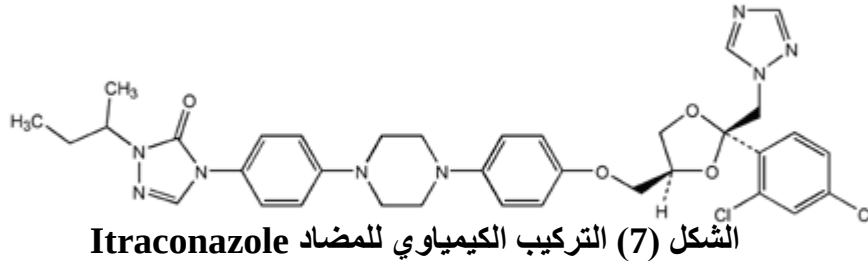


الشكل (6) التركيب الكيميائي للمضاد Clotrimazole

d. Itraconazole (ITR)

وهو احد مضادات Triazole وقد تم تطويره عام 1986. وكما في مضادات Triazole الأخرى يحتوي هذا المضاد على خمسة تراكيب حلقية تحتوي على ثلاث ذرات نتروجين (الشكل 7) (Sheehan et al., 1999). يتوفر هذا المضاد على شكل كبسول فموي oral

capsule ومحلول فموي oral solution ومستحضر وريدية intravenous formulation، الاسم التجاري لهذا المضاد هو $\text{Sporanox}^{\text{TM}}$ إذا كان على شكل كبسول أو محلول فموي، هذا المضاد هو من المركبات المحبة للدهون بدرجة عالية Lipophilic compound، على الرغم من وصول هذا المضاد إلى تراكيز عالية في الأنسجة الدهنية والإفرازات المتقيحة، إلا إن اختراقه للسوائل المائية محدود جداً، تؤثر حموضة القناة المعوية والغذاء على امتصاصية المحلول الفموي لهذا المضاد (Bailey et al., 1990)، يكون امتصاص الكبسول الفموي متغير وغير مكتشف، ويعد المحلول الفموي لهذا المضاد أفضل من الكبسول الفموي في مصطلحات الامتصاص والانتشار ومستوى القياس، يمتلك المحلول الفموي نسبة 30% أفضل من الكبسول الفموي من حيث الامتصاص والانتشار ومستوى القياس ويصل إلى تراكيز عالية في المصل ومن المحتمل أن يمتلك تأثيراً نموذجياً والذي يكون مهم في معالجة التهاب الحلقوم Oropharyngeal وداء المبيضات Candidiasis لذلك يفضل المحلول الفموي على الرغم من ندرته، ونفس الشيء بالنسبة للمستحضر الوريدي إذ يصل إلى مستويات ملائمة في الدم بصورة أسرع وامتصاصيته وانتشاره ومستويات القياس له مكتشفة وغير متغيرة مقارنة بالكبسول الفموي Oral capsule (Arikan et al., 1999; Zhou et al., 1998; Vandewoude et al., 1997; Cartledge et al., 1997). تعمل ميكانيكية التأثير لهذا المضاد عن طريق تثبيط إنزيم Cytochrome P450 14 α demethylase الذي يدخل في عملية تكوين الستيروول Sterol الذي يحول اللانوستيروول Lanosterol إلى اركوستيروول Ergosterol (Sheehan et al., 1999). يمتلك هذا المضاد فعالية عالية ضد الفطريات الخيطية، ويعد المضاد الأول ضمن مجموعة الازول التي تمتلك فعالية ضد *Aspergillus spp* إذ يمكن الإفادة منه في علاج الإصابات بداء الرشاشيات الرئوي، كما إن *Aspergillus spp* ممكن أن يصبح مقاوماً لهذا المضاد. كذلك يمتاز المضاد بفعاليته ضد داء المكورات الخفية Cryptococcosis إلا إنه أقل تأثيراً من المضاد FLZ (Williams et al., 2001). كما يمتلك فعالية محدودة ضد *Fusarium spp*. (Arikan et al., 1999)، والفطريات اللقاحية Zygomycetes (McGinnis et al., 1998). استعمال الأدوية التي تقلل من حموضة المعدة يقلل من امتصاص ITZ ويمكن التغلب على هذه المشكلة من خلال خلطه مع سايكلوديكسترين Cyclodextrin والذي هو عبارة عن سكر متعدد قليل الوحدات يعمل على زيادة امتصاص ITZ، تمتلك تركيبة ITZ التي تعطى عن طريق الوريد Hydroxy Itraconazole فعالية مشابهة لـ ITZ الذي يعطى عن طريق الفم ويمكن أن يصل إلى التركيز العلاجي بسرعة في المرضى.

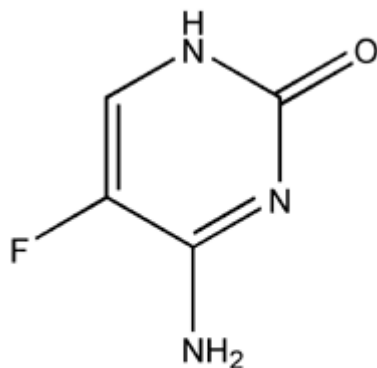


لقد تم

تطوير الجيل الثالث من مجموعة الازول مثل Voriconazole وهو ذو تركيبة مشابهة لـ ITZ و FLZ ويعطى عن طريق الفم والوريد وهو فعال ضد *Candida spp* المقاومة لـ FLZ ويمتاز أيضا بفعاليتته ضد *Cryptococcus neoformans* أكثر من FLZ و ITZ. والمضاد الثاني Pasaconazole وهو مناظر لـ ITZ (مضافا إليه مجموعة هيدروكسيل) ومضاد Ravuconazole وهو مشتق من FLZ ولا يزال قيد الدراسة وقد اظهر فعالية ضد *Aspergillus spp*. مشابهة لـ ITZ (Hoffman et al., 2000).

2-2-7-2- مجموعة مناظرات البايرميدين Pyrimidine Analogues

من أهم مضادات هذه المجموعة هو مضاد Flucytosine ويسمى أيضا 5-Fluorocytosine، يدخل هذا المضاد إلى الخلية الفطرية عن طريق إنزيم ناقل Permease ومن ثم يتحول إلى 5-fluorouracil بواسطة إنزيم Cytosine deaminase، إن Flucytosine ليس مضادا بحد ذاته بل إن 5-fluorouracil هو الفعال ضد الفطريات (الشكل 8) والذي يندمج مع RNA للخلية الفطرية وبالتالي يربك بناء البروتين، كما إن تحوله إلى 5-fluorodeoxy uridine monophosphate يؤدي إلى تثبيط إنزيم thymidine synthetase الذي يشترك في بناء DNA وبالتالي إيقاف عملية الانقسام النووي (Owen et al., 2004) (الشكل 10). يعطى هذا

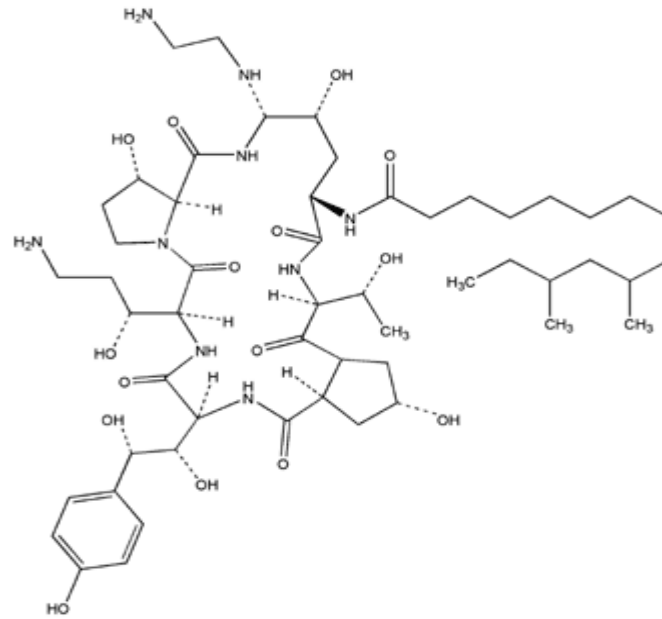


المضاد عن طريق الفم، وإن استعماله لوحده في معالجة الأمراض الفطرية يؤدي إلى ظهور المقاومة وذلك بسبب حدوث تغييرات في الأنزيم الناقل للسايتوسين Cytosine أو في إنزيم Cytosine deaminase

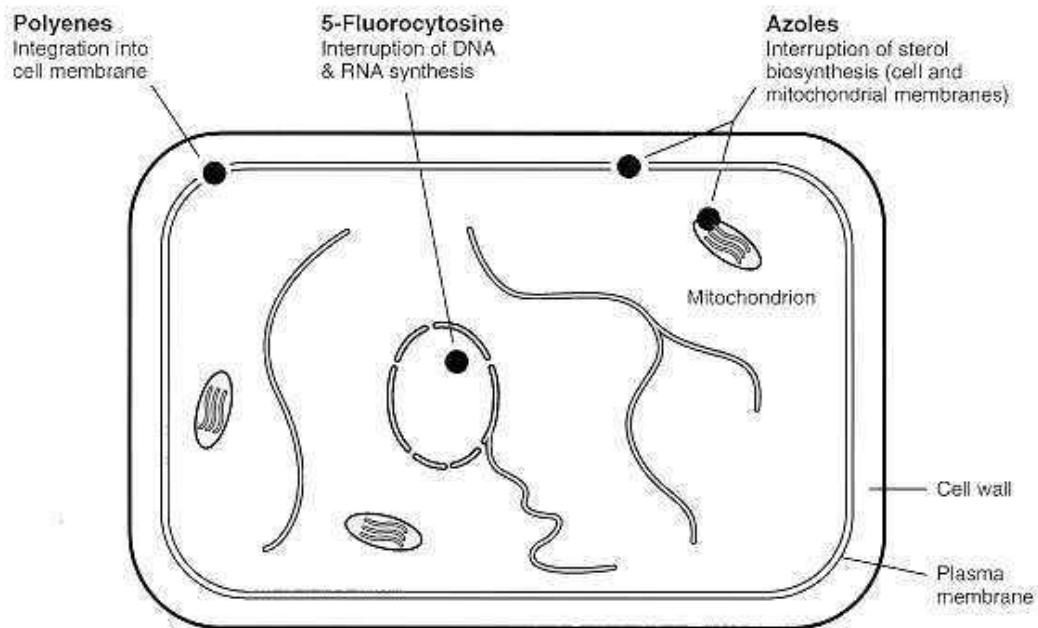
(Polak & Scholer, 1975)، لذلك فإن Flucytosine يعطى دائما مع Amphotericin B كتوليفة علاجية (Dismukes *et al.*, 1987; Just-Nubling *et al.*, 1996). وجد انه أكثر فعالية في علاج الإصابة بالتهاب السحايا بالمكورات الخفية Cryptococcal meningitis (Dismukes *et al.*, 1987). أظهرت بعض سلالات *Candida* قابليتها على إحداث المقاومة لهذا المضاد لذلك يجب تجنب استعماله لوحده في العلاج (Barchiesi, *et al.*, 2000).

2-7-2-3- مجموعة Echinocandins and Pneumocandins

تعمل هذه المجموعة من المضادات الفطرية على تثبيط بناء جدار الخلية، ونتيجة لكون خلية اللبائن لا تمتلك هذا الجدار لذا فإن جدار الخلية الفطرية هو الموقع الهدف لهذه المضادات، إن آلية عمل هذه المضادات هو تثبيط عمل إنزيم المعقد الفطري beta-(1,3)-D-glucan synthase مؤدياً إلى استنفاد الكلوكان الموجود في الجدار الخلوي. ومن الأمثلة على هذه المجموعة مضاد Caspofugin وهو من المضادات حديثة الظهور (الشكل 9)، وله الفعالية في المختبر ضد كل من *Candida spp.* و *Blastomycosis dermatitis* و *Coccidioides immitis* و *Histoplasma capsulatum* و *Aspergillus spp.* وهو قليل الفعالية ضد *Cryptococcus* بسبب قلة محتواها من beta-(1,3)-D-glucan، وحاليا تم تأكيد فعالية هذا المضاد ضد *Aspergillus* التي تصيب الرئتين (Georgopapadakou, 2001).



الشكل (9) التركيب الكيميائي للمضاد Caspofungin



الشكل (10) المواقع الفعالة في الخلية الفطرية التي تعمل عليها المضادات الفطرية

3- المواد وطرائق العمل Materials & Methods

1-3- الأجهزة والمواد المستخدمة Materials & Equipments

1-1-3 الأجهزة المستخدمة

الجدول (4) الأجهزة المستخدمة في التجارب المختبرية والشركات المصنعة لها.

المنشأ والشركة المصنعة	اسم الجهاز	ت
Gallenkamp (England)	Incubator	-1
Gallenkamp (England)	Sensitive balance	-2
Olympus (Japan)	Compound Microscope	-3
Gallenkamp (England)	Electric oven	-4
Gallenkamp (England)	Water bath	-5
Gallenkamp (England)	Autoclave	-6
Gallenkamp (England)	Hot plat	-7
Gallenkamp (England)	Milli profilter	-8
Difco (England)	Hemocytometer	-9
Sartorius (U.K)	Balance	-10
Philips (Holoand)	pH- meter	-11
Ishtar (Iraq)	Refrigerator	-12
Organon – Teknika (Belgium)	Micropipette	-13
H-Juregens-Co. (Germany)	Distiller	-14

2-1-3 المواد الكيميائية

الجدول (5) المواد الكيميائية المستعملة في التجارب المختبرية والشركات المصنعة لها.

المنشأ والشركة المصنعة	المادة	ت
BDH (England)	Agar – Agar	-1
BDH (England)	Peptone	-2
BDH (England)	Phenol crystals	-3
BDH (England)	Lactic acid	-4
BDH (England)	Ethyl alcohols	-5
BDH (England)	Sodium Chloride	-6
BDH (England)	Potassium Chloride	-7
BDH (England)	Chloramphenicol	-8
Difco (England)	Inositol	-9
Difco (England)	Thiamine	-10
Difco (England)	Dextrose	-11
BDH (England)	MgSO ₄ .7H ₂ O	-12
BDH (England)	NaNO ₃	-13
Difco (England)	Tween – 80	-14
BDH (England)	Glycerol	-15
BDH (England)	Hydrochloric acid	-16
BDH (England)	Calcium chloride	-17
Difco (England)	Tris base	-18
Difco (England)	Ammonium Nitrate	-19
Difco (England)	Ammonium Hydroxide	-20
BDH (England)	Ethanol	-21
Difco (England)	Nicotinic Acid	-22
Difco (England)	Histidine	-23
Difco (England)	Casein	-24
Pfizer Pharmaceuticals Group, New York, N.Y.	Fluconazole	-25
Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium	Itraconazole	-26
Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo.	Griseofulvin, Clotrimazole	

2-3- المحاليل المستخدمة:

Lacto phenol – cotton blue stain

A- صبغة اللاكتوفينول

وتتكون من :

0.05 غم

• ازرق القطن

- حامض اللاكتيك 20 مل
- كليسرول 20 مل
- فينول 20 مل
- ماء مقطر 20 مل

B- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم Potassium hydroxide solution

ويتكون من :

- هيدروكسيد البوتاسيوم 10 غم
- كليسرول 10 مل
- ماء مقطر 80 مل

يضاف الكليسرول إلى 10% هيدروكسيد البوتاسيوم لمنع تبلور هذا المحلول وكذلك لمنع جفاف العينة (Emmons et al., 1977).

C- محلول دارئ الفوسفات بتركيز 0.2 مولر وأرقام هيدروجينية 6 و 7.

D- محلول دارئ Tris وحامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.5 مولر وأرقام هيدروجينية 8 و 9.

E- محلول دارئ الصوديوم اسيتيت (خلاص الصوديوم) بتركيز 0.2 مولر وأرقام هيدروجينية 3 و 5.

حضرت هذه المحاليل الدارئة (C و D و E) حسب المصدر (Gomori, 1955)

3-3- الأوساط الغذائية:

A- وسط أكار السابرويد- دكستروز Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)

حضر وفقاً لما ورد في (Emmons et al., 1977) وحسب تعليمات الشركة المصنعة Oxiod بإذابة 40 غم دكستروز، 10 غم بيتون، 20 غم أكار، 0.05 غم من المضاد الحيوي كلورامفينيكول ثم أكمل الحجم إلى 1000 مل من الماء المقطر المعقم.

B- وسط مرق السابرويد – دكستروز Sabouraud's Dextrose Broth (SDB)

حضر وفقاً لما ورد في (Emmons *et al.*, 1977) وحسب تعليمات الشركة المصنعة Oxiod بإذابة 40 غم دكستروز، 10 غم بيتون، 0.05 غم من المضاد الحيوي الكلورامفينيكول ثم أكمل الحجم إلى 1000 مل من الماء المقطر المعقم.

C- وسط ايمونز المحور للسابرويد Emmons Sabourad Dextrose Agar (ESDA)

حضر هذا الوسط وفقاً لما ورد في (McGinnis, 1980) بإذابة 20 غم دكستروز، 10 غم بيتون، 20 غم أكار، 0.05 غم من المضاد الحيوي الكلورامفينيكول ثم أكمل الحجم إلى 1000 مل من الماء المقطر المعقم.

D- وسط أكار البطاطا – دكستروز (PDA) Potato Dextrose Agar

حضر الوسط بإضافة 200 غم من البطاطا إلى لتر من الماء المقطر المعقم وجرى الحصول على مستخلص البطاطا بعد ترشيحه بواسطة قطعة قماش نظيفة ثم أضيف إليه، 20 غم دكستروز، 20 غم أكار. وأكمل الحجم إلى 1000 مل ماء مقطر.

E- وسط (OMA) Oatmeal Cereal Agar

حضر وفقاً لما ورد في (Kwon–Chung & Bennett, 1992) وحسب تعليمات الشركة المصنعة Difco بإذابة 10 غم معجون طماطه، 10 غم Beechnut baby oatmeal، 1 غم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 1 غم KH_2PO_4 ، 1 غم $NaNO_3$ ، 18 غم أكار ثم أكمل الحجم إلى 1000 مل من الماء المقطر المعقم. عقت الأوساط (E-A) بالمؤصده Autoclave لمدة 15 دقيقة وبدرجة 121 م° وتحت ضغط 1 جو.

F- وسط (RTA) Rice – Tween Agar

حضر هذا الوسط وفقاً لما ورد في (Kwon–Chung & Bennett, 1992) وحسب تعليمات الشركة المصنعة Difco من المواد الآتية:

10 غم Cream of rice، 10 غم Tween80، 10 غم أكار، إذ تم إضافة الكمية أعلاه من مسحوق الرز إلى لتر من الماء المقطر المعقم المغلي مع التحريك لمدة 30 ثانية. رشح المزيج عن طريق سداده قطنية وأكمل الحجم إلى 1000 مل بإضافة الماء المقطر المعقم ثم أضيف إليه الأكار و Tween80. إذ تم تذويب الوسط بالتسخين المستمر بعد ذلك عقم الوسط بالمؤصده Autoclave لمدة 15 دقيقة بدرجة 121 م° و ترك ليلة كاملة في حمام مائي على درجة 60 م° وفصل الجزء الصافي وصب في دورق زجاجي آخر وعقم مرة ثانية بالمؤصده Autoclave بدرجة 121 م° لمدة 15 دقيقة.

G- أوساط **Trichophyton Agars**: (de Hoog & Guarro, 1995).

Trichophyton Agar (1) -1

وهو مكون من الوسط الرئيسي Casamino acid-based media والذي يدخل في التركيب الرئيسي للأوساط Trichophyton من 2-5 ويتكون من: 25 مل Casein (vitamin free) 10 %، 40 غم دكستروز، 0.1 غم Magnesium Sulfate، 1.8 غم Monopotassium phosphate، 20 غم أكار، 1000 مل ماء مقطر. تم غلي مكونات الوسط وعقم بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة ثم أضيف إليه 25 مل من محلول Casein المعقم بالترشيح.

Trichophyton Agar (2) -2

ويسمى أيضا Inositol-casein agar ويتكون من: 2 مل Stock inositol solution، 100 مل من وسط Trichophyton Agar (1). حضر محلول متجانس مكون من 0.025 غم من مادة inositol و 10 مل ماء مقطر وعقم بالترشيح ثم أضيف 2 مل منه إلى 100 مل من وسط Trichophyton agar 1.

Trichophyton Agar (3) -3

ويسمى هذا الوسط أيضا Thiamine-inositol-casein agar ويتكون من 2 مل Stock inositol² solution، 2 مل Stock thiamin³ solution، 100 مل من وسط Trichophyton agar 1. حضر محلول قياسي من مادة thiamine وذلك بإذابة 0.01 غم من هذه المادة في 1000 مل ماء مقطر، وعقم المحلول المتجانس بالترشيح ثم أضيف 2 مل من thiamin³ و 2 مل من مادة inositol² إلى 100 مل من وسط Trichophyton agar 1.

Trichophyton Agar (4) -4

ويتكون من 2 مل Stock thiamin³ solution، 100 مل 1 Trichophyton Agar ويسمى بـ Thiamine-casein agar.

Trichophyton Agar (5) -5

ويسمى Nicotinic acid-casein agar ويتكون من 2 مل Stock nicotinic acid⁴ solution، 100 مل 1 Trichophyton agar. حضر محلول قياسي لمادة nicotinic acid بإذابة 0.001 غم منها في 10 مل ماء مقطر وعقم المحلول المتجانس بالترشيح ثم أضيف 2 مل منه إلى 100 مل من وسط 1 Trichophyton agar.

Trichophyton Agar (6) -6

وهو مكون من الوسط الرئيسي ammonium nitrate-based media ويتكون من 40 غم كلوكوز، 1.5 غم NH_4NO_3 ، 0.1 غم MgSO_4 ، 1.8 غم KH_2PO_4 ، 20 غم أكار، 1000 مل ماء مقطر. عقم الوسط بعد غلي مكوناته بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة.

Trichophyton Agar (7) -7

ويسمى Histidine-ammonium nitrate agar ويتكون من 2 مل Stock histidine solution، 100 مل 6 Trichophyton agar. حضر محلول متجانس من مادة Histidine بإذابة 0.015 غم من هذه المادة في 10 مل من الماء المقطر وعقم المحلول بالترشيح ثم أضيف 2 مل منه إلى 100 مل من وسط 6 Trichophyton agar.

4-3- طرائق العمل:

1-4-3- جمع العينات السريرية:

تم اخذ العينات السريرية بمعاملة منطقة الإصابة بكحول ايثيلي تركيزه 70 % ثم أخذت حراشف صغيرة من حافة التقرحات باستعمال شفرة جراحة معقمة وتم الحصول على عينات الشعر باستعمال ملقط معقم (Kwon–Chung & Bennett, 1992).

تم عزل ثلاثة أنواع من فطر *Trichophyton* من وحدة الأمراض الجلدية في مستشفى مرجان التعليمي في الحلة، إذ تم عزل فطر *T. rubrum* من شخص مصاب بسعفة الفخذ *Tinea cruris* و فطر *T. mentagrophytes* من طفلة مصابة بالسعفة الرأسية *Tinea capitis* بينما تم عزل فطر *T. verrucosum* من شخص مصاب بالسعفة الحلقية *Tinea corporis* في الذراع.

2-4-3- التشخيص المباشر:

فحصت عينات الشعر والجلد حسب : (Konemam et al., 1978).

a. تم وضع كمية قليلة من العينة باستخدام إبرة التلقيح في قطرة من هيدروكسيد البوتاسيوم تركيز 10 % على شريحة زجاجية نظيفة ثم وضع غطاء الشريحة الزجاجية فوق العينة.

b. سخنت الشريحة الزجاجية المحضرة بهدوء وذلك بتحركها خلال اللهب مرتين أو ثلاثة.
c. تركت العينة لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة بعد ذلك ضغطت العينة بواسطة قاعدة الإبرة لفرشها على الشريحة.

d. فحصت العينة مجهرياً على القوى (40X و 100X) لملاحظة الغزل الفطري والتراكيب الفطرية الأخرى.

3-4-3- عزل الأنواع الفطرية:

بعد الفحص المجهرى المباشر للعينات تم زرع العينات على وسط سابرويد دكستروز أكار مع كلورامفينيكول 0.05 غم لمنع نمو البكتيريا وكذلك تم إضافة هيدروكسيد الامونيوم تركيز 30 % إلى الوسط الزراعي بدلا من السايكلوهكسامايد لمنع نمو الفطريات الملوثة إذ تم إضافة قطرة واحدة من هيدروكسيد الامونيوم تركيز 30 % إلى حافة الأطباق الزراعية م حُركت حركة رحوية أو دائرية وتركت لمدة 20 دقيقة قبل زراعتها، حضنت الأطباق بدرجة حرارة 30 ± 2 م لمدة 7-14 يوماً (Larone et al., 1999).

4-4-3- تنقية الأنواع الفطرية وحفظها:

تم تنقية العزلات الفطرية الثلاث *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* و *T. verrucosum* بطريقة التخطيط على وسط سابرويد دكستروز أكار وبأطباق معقمة قطرها 9 ملم وعلى درجة حرارة 30 م. حفظت الأنواع المعزولة لمدة حضان 14-30 يوم وبدرجة حرارة 4 م. تم تجديد هذه الأنواع الفطرية كل 14-30 يوماً (Kwon- (Chung & Bennett, 1992).

3-4-5- تشخيص الأنواع الفطرية:

3-4-5-1- الاختبارات المستخدمة في تشخيص الفطريات:

A- اختبار ثقب الشعرة Hair penetration test

أخذ شعر سليم بطول 15-20 ملم لطفل رضيع ووضع في طبق زجاجي وعقم بالموصدة بدرجة 121 م وتحت ضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة. أضيف إلى الطبق بعد تبريده 25 مل من الماء المقطر الذي يحتوي من 2-3 قطرات من خلاصة خميرة 10% Yeast extract المعقمة بالترشيح. لقح الشعر بجزء من المستعمرة الفطرية المعزولة بعمر 10-14 يوماً وحضنت الأطباق بدرجة (1 ± 26) م لمدة أربعة أسابيع. تم فحص الشعر خلال هذه المدد بأخذ جزء من الشعرة ووضعها في قطرة من Lactophenol blue وملاحظة وجود الثقوب تحت المجهر ومعرفة فيما إذا كان الفطر قد هاجم الشعرة أم لا. (Padhye et)

(Clayton & Midgley, 1989; al., 1980)

B- اختبار Trichophyton Agar media

استخدمت سلسلة من أوساط (1-7) Trichophyton Agar للتمييز بين بعض أنواع جنس *Trichophyton spp* من خلال ملاحظة متطلبات عوامل النمو. حضرت الأوساط وصبت في أطباق زجاجية معقمة ولقحت بصورة متساوية بالأنواع الفطرية التابعة لجنس *Trichophyton* وحضنت الأطباق بدرجة (1 ± 26) م ولمدة 7-14 يوماً. وسجلت النتائج بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز المستعمرة الفطرية (deHoog & 1995). وتم اعتماد جدول متطلبات النمو لتشخيص أنواع جنس

Trichophyton وحسب (Kwon-Chung & Bennett, 1992)

3-4-5-2- الخصائص المظهرية :

وتشمل شكل المستعمرة ولونها وحجمها وقوامها والصبغة التي تنتجها من الجهة الخلفية للطبق (Konemam et al., 1978; kwon – Chung and Benett, 1992)

3-4-5-3- الخصائص المجهرية :

وتشمل وجود الابواغ الكونيدية الكبيرة والصغيرة وشكلها وأبعادها وعدد الخلايا. إذ تم نقل جزء صغير من كل مستعمرة فطرية للأنواع الثلاثة باستعمال إبرة معقمة إلى قطرة من صبغة اللاكتوفينول على شريحة زجاجية نظيفة ثم وضع غطاء الشريحة وثبتت بإمرارها على لهب مصباح بنزن قليلاً ثم فحصت بالمجهر لملاحظة الصفات المجهرية للغزل الفطري. (Kwon–Chung and Bennett, 1992).

3-4-6- تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum*

و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum*

3-4-6-1- الوسط الغذائي:

A- تحديد الوسط الملائم لنمو الأنواع الفطرية:

تم حساب نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على ثلاثة أوساط زرعية هي PDA و OMA و RTA. وذلك بأخذ قرص بقطر 10 ملم من حافة المستعمرة الفطرية بعمر 7-10 أيام ووضع في مركز الطبق الذي يحوي الوسط الغذائي، كررت العملية بالنسبة للأنواع الفطرية الثلاث ولجميع الأوساط الزرعية المستخدمة. حضنت الأطباق لمدة 14 يوماً وبدرجة 30 ± 2 م. حسب النمو بقياس قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة الفطرية يمران بمركز القرص كل 48 ساعة وسُجل معدل أقطار المستعمرات لثلاثة مكررات (Aubaid , 1997).

B- تحديد الوسط الملائم لتجريم الأنواع الفطرية:

تم تنمية الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على ثلاثة أوساط غذائية مختلفة PDA و OMA و RTA بدرجة 30 م ولمدة 7 أيام وبواقع ثلاثة مكررات لكل فطر ولكل وسط. وفي نهاية مدة الحضانة تم حساب أعداد الابواغ الكونيدية، إذ تم إضافة 5 مل من محلول الملح الفسيولوجي لكل طبق وقشطت الابواغ باستخدام الناقل الجرثومي ثم سحب بواسطة ماصة معقمة ووضع في أنبوبة معقمة وتم إضافة قطرتين من سائل الصابون liquid soap. حُسبت أعداد الابواغ الكونيدية

لكل نوع في خمسة حقول بواسطة Hemocytometer وحسب طريقة (Jessup et al., 2000). سُجل معدل إنتاج الأبواغ الكونيدية لثلاثة مكررات بالنسبة للأنواع الفطرية الثلاثة وعلى الأوساط الغذائية الثلاثة.

3-4-6-2- درجة الحرارة:

تم حساب تأثير درجة الحرارة على نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على مدى يتراوح بين 20-40 م° وعلى درجات حرارية هي 20 و 25 و 30 و 35 و 40 م° وذلك بأخذ قرص قطره 10 ملم من حافة مستعمرة فطرية حديثة بعمر 7-10 أيام ووضع في مركز الطبق الذي يحتوي على PDA ولمدة 14 يوماً. تم حساب معدل أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية الثلاث بنفس الطريقة المتبعة في الفقرة (3-4-6-1) وبواقع ثلاثة مكررات لكل نوع فطري ولكل درجة حرارية. وقد تم استبعاد درجة الحرارة 40 م° وذلك لعدم ظهور أي نمو للأنواع الفطرية المعزولة عند هذه الدرجة الحرارية.

3-4-6-3- الرقم الهيدروجيني:

تم حساب نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* في أرقام هيدروجينية مختلفة هي 5 و 6 و 7 و 8 و 9 وذلك بأخذ قرص بقطر 10 ملم من حافة المستعمرات الفطرية بعمر 7-10 أيام ووضع في مركز طبق بتري حاو على PDA ولمدة 14 يوماً وبدرجة 30 م° وبواقع ثلاثة مكررات لكل نوع من الفطريات الثلاث ولمستويات الحموضة الخمسة. حُسِب معدل أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية بالطريقة السابقة نفسها. وأيضاً تم استبعاد الرقم الهيدروجيني 9 وذلك لحدوث تثبيط كامل لنمو الأنواع الفطرية المعزولة عند هذا الرقم الهيدروجيني.

3-4-6-4- مدة الحضان:

تم حساب نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* بعد مدة حضان هي 4-14 يوم وذلك بنقل قرص بقطر 10 ملم من حافة المستعمرات الفطرية بعمر 7-10 أيام إلى مركز الطبق الحاوي على PDA برقم هيدروجيني 6، وحضنت الأطباق للأنواع الفطرية المعزولة بدرجة حرارة 30 م°. حُسِب معدل أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية لثلاثة مكررات بالطريقة السابقة نفسها.

3-4-7- اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية:

1. تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية:

تم تحديد التركيز المثبط الأدنى (Minimal Inhibitory Concentration (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (Minimal Fungicidal Concentration (MFC) لأربعة مضادات فطرية هي ITZ و CTZ و FLZ و GRF تجاه الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* وذلك باستخدام طريقة تخفيف الاكار Agar Dilution Method التي وصفت من (McGinnis, 1980) و حورت من (Okeke & Gugnani, 1987) ولغرض إجراء ذلك اتبعت التحضيرات التالية :

A- اللقاح الفطري: Fungal Inoculum

حضر حسب ما ورد في (Jessup *et al.*, 2000; McGinnis, 1980)، إذ أضيف 5 مل من محلول الملح الفسيولوجي إلى الطبق الحاوي على مستعمرة الفطر النامي بعمر 5-7 أيام ثم قشطت الابواغ باستخدام الناقل الجرثومي، سحب محلول الابواغ بواسطة ماصة معقمة ووضع في أنبوبة معقمة وتم إضافة قطرتين من سائل الصابون liquid soap. تم حساب تركيز اللقاح الفطري بواسطة عد الابواغ على شريحة عد كريات الدم Hemocytometer، إذ بلغ تركيز اللقاح الفطري (2×10^4 conidia/ml).

B- المضادات الفطرية: Antifungal Drugs

استخدمت المضادات الفطرية ITZ و CTZ و GRF و FLZ وحضر لكل منها محلول أساسي Stock Solution بتركيز 10.000 مايكرو غرام/مل وحسب ما ورد في (McGinnis, 1980). أذيب مع التحريك المستمر 50 ملغم من مضاد FLZ في قنينة زجاجية معقمة ومحكمة الغلق حاوية على 5 مل من الماء المقطر المعقم. أما بالنسبة للمضادات CTZ و GRF و ITZ فقد تم تحضير ثلاث قناني زجاجية معقمة ووضع في كل منها 5 مل من مادة Dimethyl Sulfoxide 100% وأضيف لكل قنينة 50 ملغم من المضادات ITZ و CTZ و GRF كل على حدة. وبذلك تم الحصول على المحلول الأصلي لكل مضاد من المضادات الفطرية الأربعة بتركيز 10.000 مايكرو غرام/مل. تركت المحاليل بدرجة حرارة الغرفة لمدة

30 دقيقة قبل استخدامها وأما المتبقي فقد حفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لحين استخدامه مرة ثانية.

C- تحضير وسط السيطرة:

حضر حسب ما ورد في (McGinnis, 1980) وذلك بإضافة 3 مل من وسط SDB إلى ثلاثة أنابيب اختبار سعة 50 مل يحتوي كل أنبوب على 27 مل من وسط ESDA المحفوظة في حمام مائي بدرجة 50-52 م° ومزج الوسطين معا بصورة جيدة وبعدها صب في صحن زجاجي وترك ليتصلب.

وبعد إجراء التحضيرات السابقة اتبعت الخطوات التالية لتحديد MIC و MFC : (McGinnis, 1980).

- a. اخذ 2 مل من المحلول الأصلي للمضاد الفطري وأضيف إلى 18 مل من وسط SDB وبذلك تم الحصول على تركيز 1000 مايكرو غرام/مل ورمز له بالرقم 1.
- b. اخذ 7 مل من المحلول رقم 1 وأضيف إلى 7 مل من وسط SDB وبذلك تم الحصول على تركيز 500 مايكرو غرام/مل ورمز له بالرقم 2.
- c. اخذ 7 مل من المحلول رقم 2 وأضيف إلى 7 مل من وسط SDB واستمر على هذا المنوال إلى حد التركيز 0.25 مايكرو غرام /مل ووفي الوقت نفسه علمت كل أنبوبة برقم من 3-13.
- d. اخذ من كل تخفيف 3 مل وأضيف إلى ثلاثة أنابيب اختبار سعة 50 مل يحتوي كل أنبوب على 27 مل من وسط ESDA المحفوظة في حمام مائي بدرجة حرارة 50-52 م° وخلط المزيج جيدا وبعدها صب في طبق زجاجي معقم.
- e. سحب 0.05 مل من اللقاح الفطري باستخدام الماصة الدقيقة ووضعت قطرة في منتصف الأطباق ونشرت بشكل متجانس وتركت الأطباق على حالها وبدون تحريك لكي تسمح للقاح بأن يمتص من الوسط.
- f. حضنت الأطباق الملقحة في درجة حرارة 30 م° و pH₆ لحين ظهور نمو يمثل مستعمرات الفطر في أطباق السيطرة. بعد ذلك سجل MIC كأقل تركيز للمضاد اللازم لتنشيط نمو المستعمرات وسجل MFC كأقل تركيز قاتل لا يظهر فيه نمو المستعمرات.

إذ تم نقل قرص بقطر 10 ملم من مستعمرة الفطر غير النامي في وسط ESDA الحاوي على المضاد الفطري إلى وسط غذائي جديد خالٍ من أي مضاد وحضنت الأطباق لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ لملاحظة النمو من عدمه. فعند حصول نمو فطري للمستعمرة الفطرية نثبت كون تركيز المضاد في وسط ESAD الذي اخذ منه قرص اللقاح هو مثبط للنمو MIC وعند عدم حصول النمو فهذا يعني إن تركيز المضاد قاتل للفطر MFC (الجنابي، 2004).

2. تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة

بعد تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات الفطرية المختبرة تم حساب القدرة التثبيطية لهذه المضادات على النمو الفطري للأنواع الفطرية المعزولة، إذ تم اخذ قرص بقطر 10 ملم من حافة المستعمرة الفطرية لكل نوع بعمر 7-10 أيام ووضع في مركز طبق حاوٍ على وسط SDA مع المضاد الفطري، حضنت الإطباق لمدة 7 أيام بدرجة حرارة 30°C وبمعدل ثلاثة مكررات لكل نوع من الفطريات ولكل مضاد فطري، وفي نهاية مدة الحضانة تم قياس قطرين متعامدين بالمليمتر للمستعمرات الفطرية النامية ثم جرى حساب الزيادة في نمو المستعمرة بطرح قطر اللقاح المستعمل أصلاً 10 ملم وتمت المقارنة مع الزيادة في قطر مستعمرة السيطرة التي تمثلت بوسط SDA الخالي من المضادات الفطرية للوصول إلى النسبة المئوية للتثبيط في نمو المستعمرات وذلك باستخدام المعادلة التالية: (Nothan et al., 1978).

قطر مستعمرة السيطرة – قطر المستعمرة المعاملة

النسبة المئوية للتثبيط = $100 \times \frac{\text{قطر مستعمرة السيطرة} - \text{قطر المستعمرة المعاملة}}{\text{قطر مستعمرة السيطرة}}$

3-4-8 تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الأبواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة

تم حساب كمية إنتاج الأبواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة المعاملة بالمضادات الفطرية باستخدام طريقة Hemocytometer counting chamber والموصوفة من (Lomer & Lomer, 1997)، إذ أخذ 1 غم من الأوساط الزرعية لكل نوع من الفطريات المعزولة *T. verrucosum* و *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30°C ولمدة 7 أيام، ووضع في أنبوبة اختبار سعة 50 مل ومزج مع 10 مل من الماء المقطر المعقم. تم إضافة قطرتين من سائل الصابون liquid

soap لكل أنبوبة اختبار لتقليل الشد السطحي للابواغ الكونيدية ولتقليل تجمعها أو ترسبها، ورج المحلول بقوة وترك لمدة 10 دقائق. أخذ 1 مل من المحلول أعلاه ومزج مع 9 مل من الماء المقطر المعقم (10^{-1} dilution)، نقلت قطرة واحدة من العالق إلى شريحة العد باستخدام قطارة معقمة مع مراعاة تعقيم القطارة بعد كل عملية. تم حساب أعداد الابواغ الكونيدية لخمسـة مربعات قطرية كبيرة على شريحة العد. كررت هذه العملية لثلاث مرات وبواقع ثلاثة مكررات لكل نوع من الأنواع الفطرية المعزولة ولكل مضاد فطري. سجل معدل إنتاج الابواغ الكونيدية وتم حساب النسبة المئوية لتنشيط إنتاج الابواغ الكونيدية مقارنة بمجموعة السيطرة وحسب المعادلة التالية.

$$\text{النسبة المئوية لتنشيط} = \frac{\text{أعداد الابواغ الكونيدية في السيطرة} - \text{أعداد الابواغ الكونيدية المعاملة}}{100 \times \text{أعداد الابواغ الكونيدية في السيطرة}}$$

9-4-3 التحليل الإحصائي

حُللت نتائج التجارب بواسطة اختبار تحليل التباين ANOVA والاستعانة بجداول النسب المثلثية عند مستوى احتمالية (0.01) وتم استخدام اختبار أقل فرق معنوي (Least Significant Difference) لبيان معنوية النتائج. (الراوي وخلف الله، 2000)

4- النتائج

1-4- تشخيص الفطريات

تم تشخيص الأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* اعتماداً على الفحص المجهرى المباشر لعينات الشعر والجلد وكذلك من خلال الخصائص المظهرية والمجهريّة لمستعمرات الفطريات أعلاه إذ أظهرت النتائج وجود الابواغ المفصليّة *Arthroconidia* وهي تراكيب فطرية على شكل سلاسل والتي تعد من علامات وجود الفطريات الجلدية المسؤولة عن الإصابة. كما إن مستويات النمو على أوساط *Trichophyton agar* واختبار ثقب الشعرة وألوان مستعمرات الأنواع الفطرية الثلاثة (صورة 1-أب) و (الصورة 2-أب) و (الصورة 3-أب) إضافة إلى خصائصها المجهريّة (الصورة 4-أب-ج) و (الجدول 7 و 8) قد أكدت تشخيص تلك الأنواع الفطرية.

الجدول (5) نتائج اختبار النمو على أوساط *Trichophyton agar* (1-7) للأنواع الفطرية المعزولة.

معدل قطر المستعمرة (ملم)			الأنواع الفطرية
<i>T. verrucosum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. rubrum</i>	الأوساط الغذائية
-	36	35	Trichophyton agar 1
10	20	37	Trichophyton agar 2
45	10	34	Trichophyton agar 3
-	15	40	Trichophyton agar 4
25	40	10	Trichophyton agar 5
25	25	39	Trichophyton agar 6
26	27	40	Trichophyton agar 7

الجدول (6) الصفات العامة التي أظهرتها الفطريات المعزولة من مواقع الإصابة بمرض السعفة النامية على وسط SDA وتشخيصها في المختبر.

الفطر	صفات المستعمرات	خصائص الابواغ الكونيدية	اختبار ثقب الشعرة	مدة الحضان
<i>T. rubrum</i>	تميزت المستعمرات الناتجة بأنها حبيبية بيضاء ومرتفعة قليلا وذات حافة شعاعية وتنتج صبغة حمراء غامقة من الجهة الخلفية للطبق مع تقدم عمر المستعمرة.	الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia مقسمة وطويلة صولجانية الشكل. أما الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia تشبه الدمعة Tear وتتوزع بصورة مفردة ومتبادلة على سطح الهياضات.	سالب لاختبار ثقب الشعرة إذ تتكون سلاسل من السبورات الكبيرة على سطح الشعرة .	(14-7) يوم تحت درجة حرارة (28-25) م .
<i>T. mentagrophytes</i>	مستعمرات هذا الفطر تميزت بأنها بيضاء حبيبية منتشرة، مسطحة، مسحوقية المظهر، أما الجهة الخلفية للطبق فتتميز بلون وردي فاتح.	الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia مدورة النهاية و تحتوي على (2-5) خلايا مع جدار سميك أملس، أما الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia فهي كثيرة العدد، كروية وتتجمع بشكل عنائيد مستعمرات هذا الفطر تحتوي على هايفات حلزونية الشكل Spiral.	موجبة لاختبار ثقب الشعرة إذ تتكون سلاسل من السبورات الصغيرة داخل محور الشعرة و تسبب تنخن الشعرة وتكسرها.	(14-7) يوم تحت درجة حرارة (28-25) م .
<i>T. verrucosum</i>	مستعمراتها بيضاء صغيرة، بطينة النمو، مرتفعة المركز و شكلها يشبه القرص، وتتميز بغياب الصبغة في الجهة الخلفية للطبق.	الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia قليلة العدد وطويلة وتشبه حبة الفاصوليا . أما الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia غير موجودة، يكون هذا الفطر سلاسل من الكلاميدوسبور و التي تعد من أهم الصفات التشخيصية لهذا النوع.	سالبة لاختبار ثقب الشعرة إذ تتكون سلاسل من السبورات الكبيرة على سطح الشعرة.	(14-7) يوم تحت درجة حرارة (28-25) م .



(أ)



(ب)

الصورة (1) مستعمرة الفطر *T. rubrum* النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضانة ودرجة 30 ± 2 م.

الأمامية
الجهة الخلفية



(أ) الجهة
للمستعمرة، (ب)
للمستعمرة

(أ)



(ب)

الصورة (2) مستعمرة الفطر *T. mentagrophytes* النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضانة وبدرجة 30 ± 2 م°.

الأمامية
الجهة الخلفية



(أ) الجهة
للمستعمرة، (ب)
للمستعمرة

(أ)



مستعمرة الفطر
verrucosum

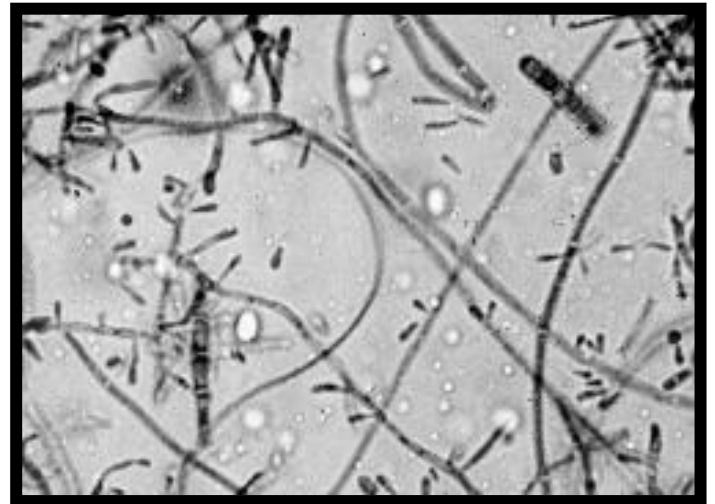
الصورة (3)
T.

النامي على وسط SDA بعد مدة 14 يوماً من الحضان وبدرجة 2 ± 30 م .

(أ)



ال
ج
ه
ة
ال
أم
م
ة
ت
ل
م
س
ت
ع



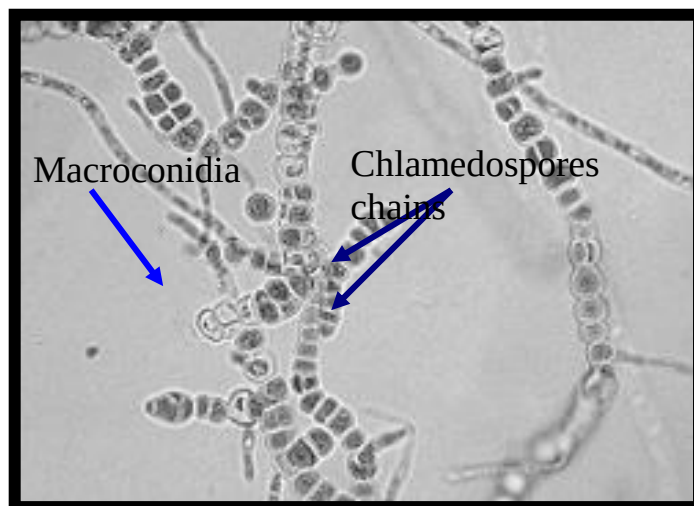
رة، (ب) الجهة الخلفية للمستعمرة

Macroconidia

Microconidia

Macroconidia

(إ)



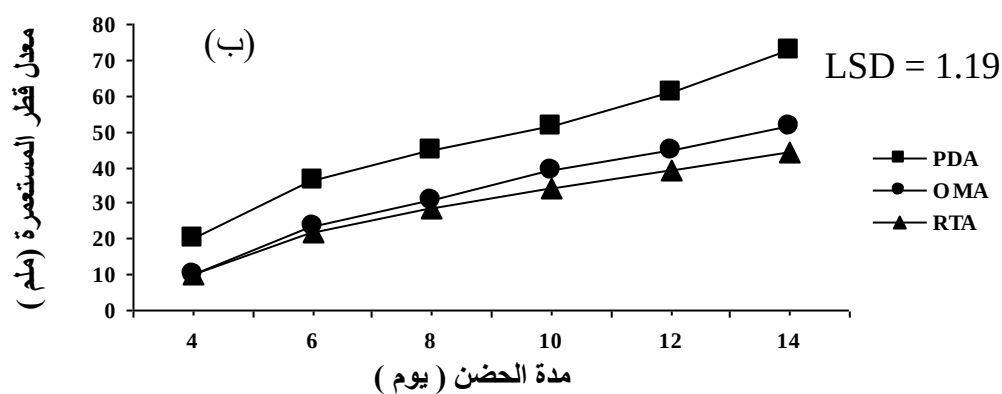
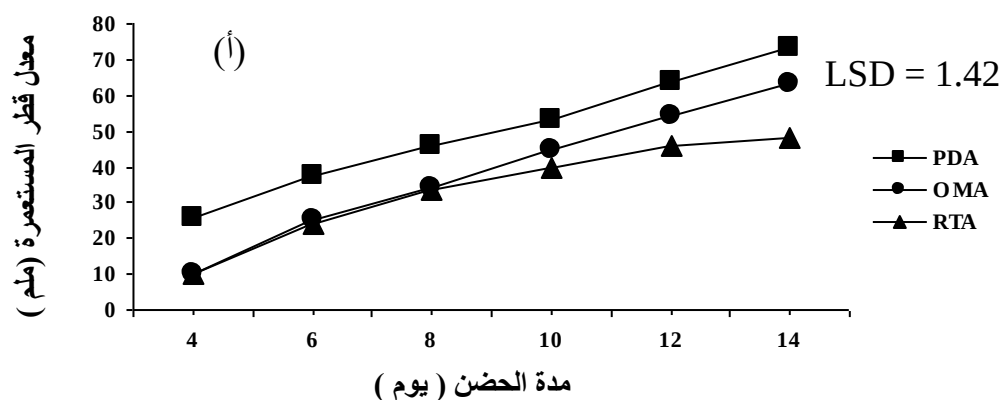
الصورة (4) الغزل الفطري والابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA بعد مدة حضن 14 يوماً وبدرجة حرارة 30 ± 2 م° ، قوة التكبير 400X.
(أ) *T. rubrum* ، (ب) *T. mentagrophytes* ، (ج) *T. verrucosum*

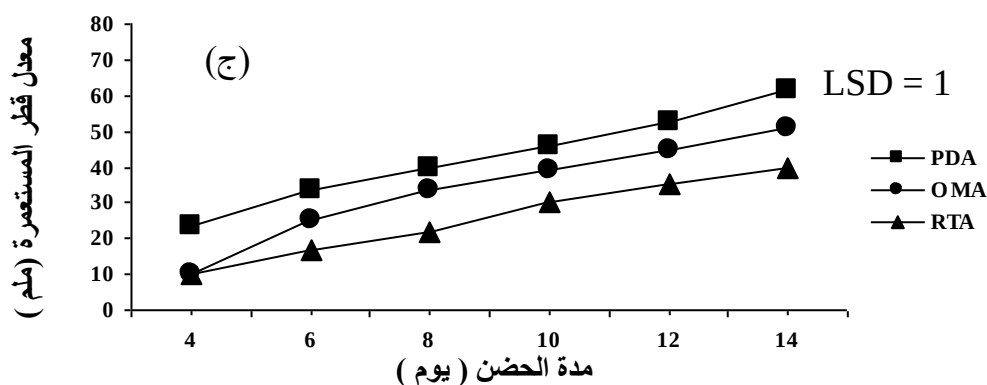
2-4- تأثير بعض العوامل البيئية في نمو أنواع جنس *Trichophyton*

4-2-1- الوسط الغذائي

a. الوسط الغذائي الملائم لنمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum*
أظهرت نتائج التجربة (الشكل 11-أ-ب-ج) حصول زيادة معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار المستعمرات للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* بزيادة مدة الحضن وللأوساط الغذائية الثلاثة PDA و OMA و RTA عند درجة حرارة 30 ± 2 م° إلا أن معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة على الوسط الغذائي PDA قد تفوقت معنوياً ($0.01 >$) على مثيلاتها بالنسبة للوسطين OMA و RTA طيلة مدة الحضن إذ بلغت 73.3 و 72.5 و 61.6 ملم على وسط PDA و 63.3 و 51.6 و 50.8 ملم على وسط OMA و 48.3 و 44 و 40 ملم في نهاية مدة الحضن بالنسبة للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.

كما بينت نتائج التجربة أن الفروقات في معدلات أقطار المستعمرات للأنواع الفطرية المعزولة بين وسطي OMA و RTA لم تكن معنوية ($0.01 >$) إلا بعد اليوم الرابع من الحضان إذ تفوقت معنويا ($0.01 >$) معدلات أقطار المستعمرات على وسط OMA مقارنة بمثيلاتها وسط RTA واستمرت إلى نهاية مدة الحضان.

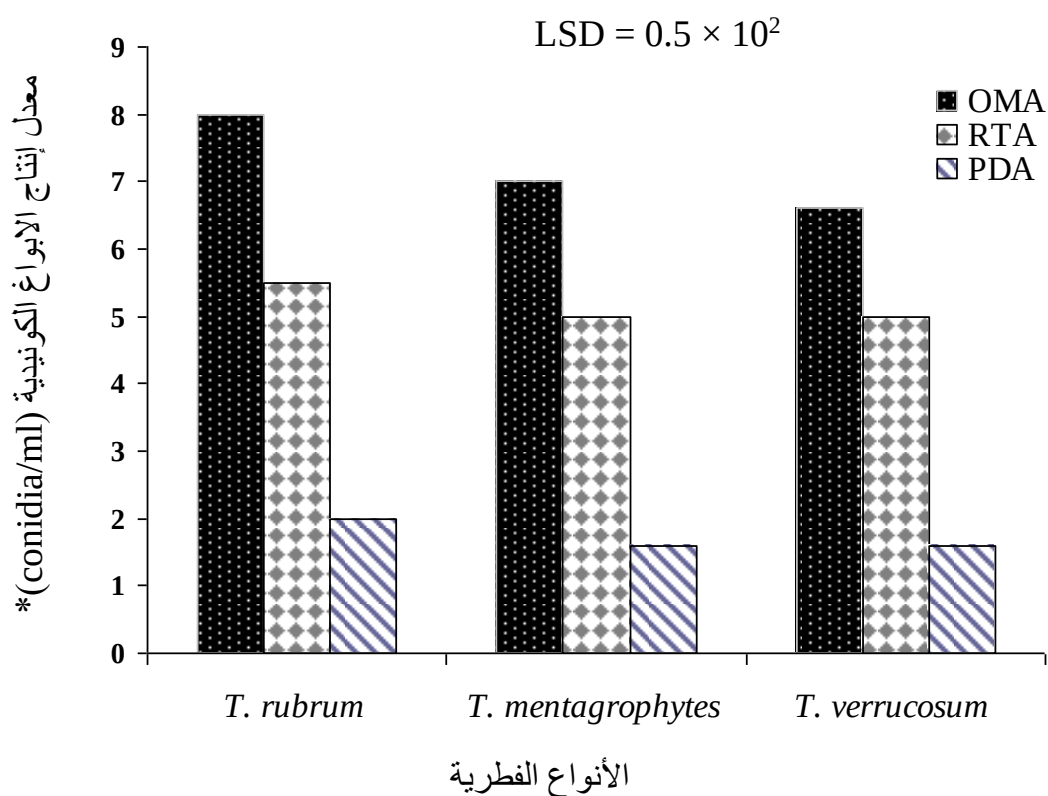




الشكل (11) تأثير نوع الوسط الغذائي في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة على درجة حرارة 30 ± 2 م ولمدة حضن 14 يوماً.

(أ) *T. rubrum* ، (ب) *T. mentagrophytes* ، (ج) *T. verrucosum*
 b. الوسط الغذائي الملائم لتجربتهم الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. verrucosum* و *T. mentagrophytes*

بينت نتائج هذه التجربة (الشكل 12) وجود فروقات معنوية ($0.01 >$) في معدل إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على ثلاثة أوساط غذائية هي PDA و OMA و RTA ولمدة حضن 7 أيام بدرجة حرارة 30 م إذ لوحظ أن معدل إنتاج الابواغ الكونيدية على وسط OMA قد تفوق معنوياً ($0.01 >$) مقارنة بمثيلاتها على الوسط PDA و RTA، إذ بلغ معدل إنتاج الابواغ الكونيدية 8×10^2 و 7×10^2 و 6.6×10^2 (conidia/ml) على وسط OMA للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي في حين كان معدل إنتاج الابواغ الكونيدية 5.5×10^2 و 5×10^2 و 5×10^2 (conidia/ml) على وسط RTA و 2×10^2 و 1.6×10^2 و 1.6×10^2 (conidia/ml) على وسط PDA بالنسبة للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. كذلك أظهرت النتائج تفوقاً معنوياً ($0.01 >$) في معدل إنتاج الابواغ الكونيدية للفطر *T. rubrum* مقارنة بالفطر *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على وسطي OMA و RTA ولم تظهر فروقات معنوية ($0.01 >$) في معدل إنتاج الابواغ الكونيدية على وسط PDA بين الأنواع الفطرية المعزولة.



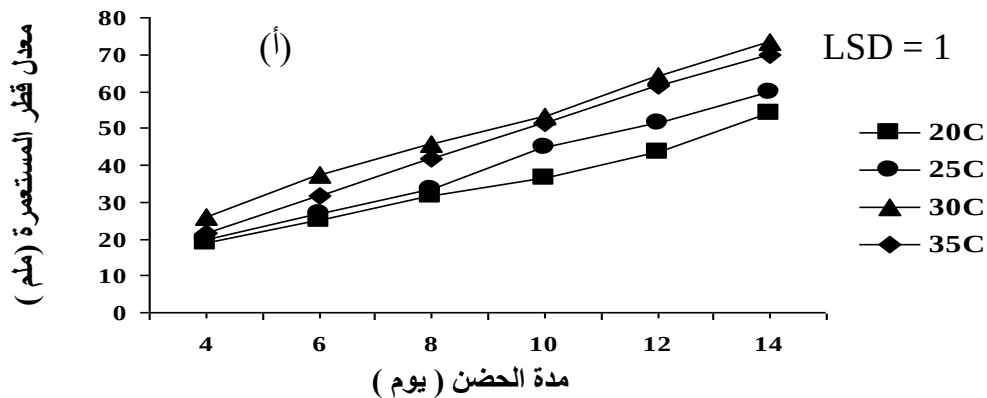
* معدل إنتاج الأبواغ الكونيدية مضروب 10^2

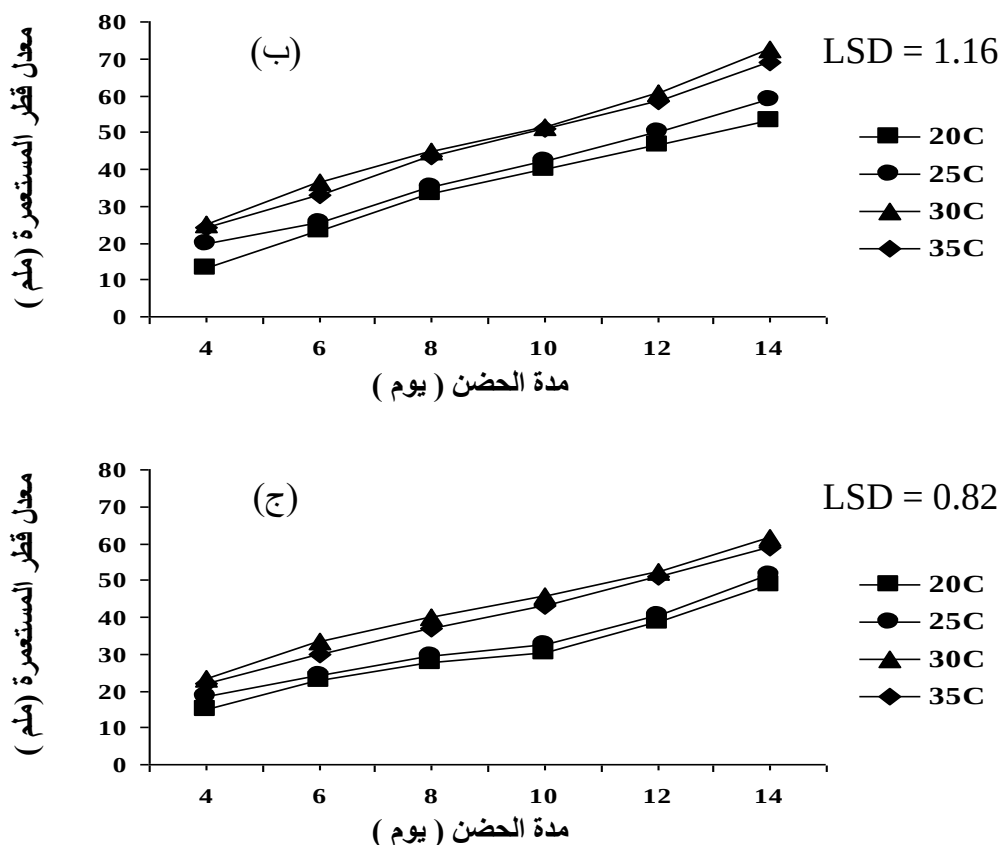
الشكل (12) تأثير نوع الوسط الغذائي في معدل إنتاج الأبواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة بعد مدة حضن 7 أيام وبدرجة حرارة 30 م.

2-2-4- تأثير درجات الحرارة في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة T.

T. verrucosum و *T. mentagrophytes* و *rubrum*

أوضحت نتائج هذه التجربة (الشكل 13-أ-ب-ج) حصول زيادة معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار المستعمرات للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط PDA طيلة 14 يوماً من الحضانة ولجميع المستويات الحرارية 20 و 25 و 30 و 35 م° إلا أن معدلات أقطار المستعمرات الفطرية عند درجة 30 م° قد تفوقت معنوياً ($0.01 >$) عن مثيلاتها عند درجة 20 و 25 و 35 م° طيلة مدة الحضانة إذ بلغت معدلات أقطار المستعمرات في نهاية مدة الحضانة 73.3 و 72.5 و 61.6 ملم عند درجة 30 م° لكل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي في حين كانت معدلات أقطار المستعمرات 70 و 69 و 59 ملم عند درجة 35 م° ، 60 و 59 و 51.6 ملم عند درجة 25 م° ، 54 و 53.3 و 49 ملم عند درجة 20 م° في نهاية مدة الحضانة وللأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة عند درجة 20 م° عن مثيلاتها عند درجتي 25 و 35 م° طيلة مدة الحضانة بينما تفوقت معنوياً ($0.01 >$) معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة عند درجة 30 م° مقارنة بمثيلاتها عند درجة 25 م° وطيلة مدة الحضانة.





الشكل (13) تأثير درجات الحرارة في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA ولمدة حضان 14 يوماً.

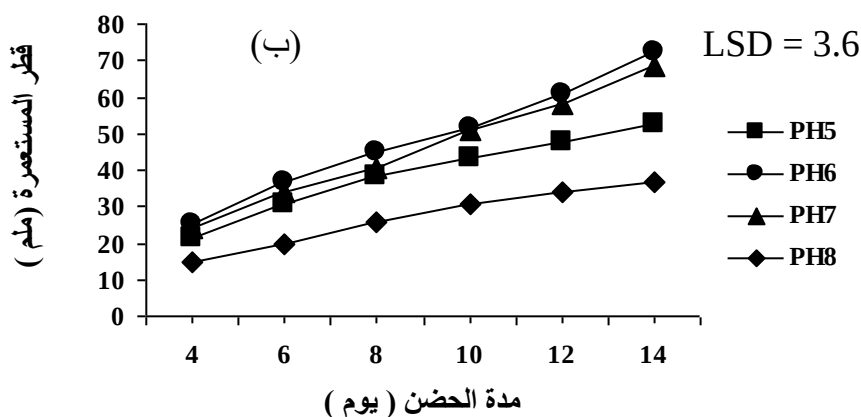
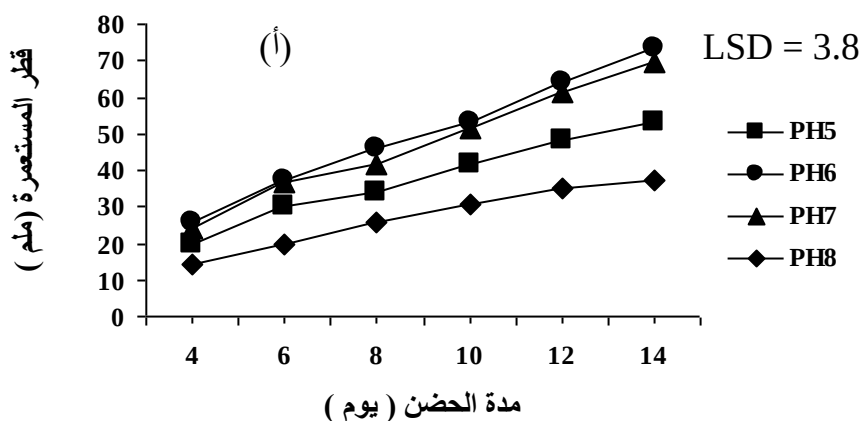
T. verrucosum (ج) ، *T. mentagrophytes* (ب) ، *T. rubrum* (أ)

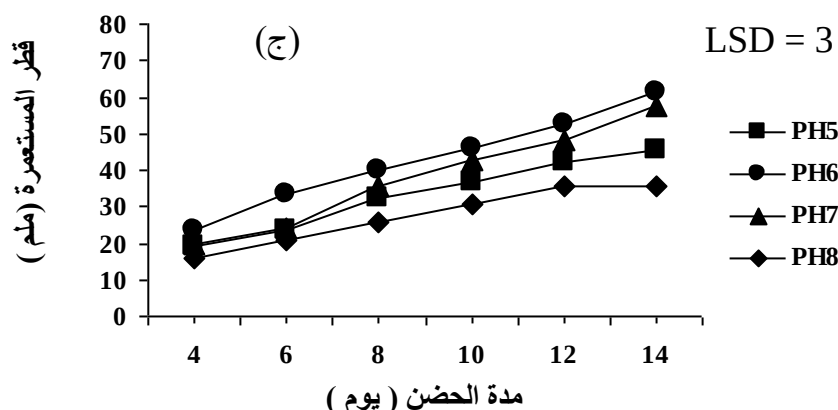
3-2-4- تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة *T.*

T. verrucosum و *T. mentagrophytes* و *rubrum*

أظهرت نتائج التجربة (الشكل 14-أ-ب-ج) حصول زيادة معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار المستعمرات للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط PDA بدرجة 30 م° وللأرقام الهيدروجينية 5 و 6 و 7 و 8 طيلة مدة الحضان وأظهرت النتائج تفوقاً معنوياً ($0.01 >$) لمعدلات أقطار المستعمرات عند الرقم الهيدروجيني 6 مقارنة مع مثيلاتها في 5 و 7 و 8 طيلة مدة الحضان إذ بلغت معدلات أقطار مستعمرات الفطريات *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* بعد 14 يوماً من الحضان 73.3 و 72.5 و 61.6 ملم عند الرقم الهيدروجيني 6

على التوالي. في حين كانت معدلات أقطار المستعمرات لهذه الأنواع المعزولة 52.5 و 53.3 و 45.3 ملم عند الرقم الهيدروجيني 5 و 69.5 و 68.5 و 53.3 ملم عند الرقم الهيدروجيني 7 و 37.3 و 36.6 و 35.8 ملم عند الرقم الهيدروجيني 8 بالنسبة للأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. كما لوحظ انخفاض معنوي ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات الفطريات عند الرقم الهيدروجيني 8 عن مثيلاتها عند الرقم الهيدروجيني 5 و 7 طيلة مدة التجربة في حين تفوقت معنوياً ($0.01 >$) معدلات أقطار مستعمرات الأنواع عند الرقم الهيدروجيني 7 مقارنةً بمثيلاتها عند الرقم الهيدروجيني 5 طيلة مدة الحضان.





الشكل (14) تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA بدرجة حرارة 30 م° ولمدة حضان 14 يوماً.

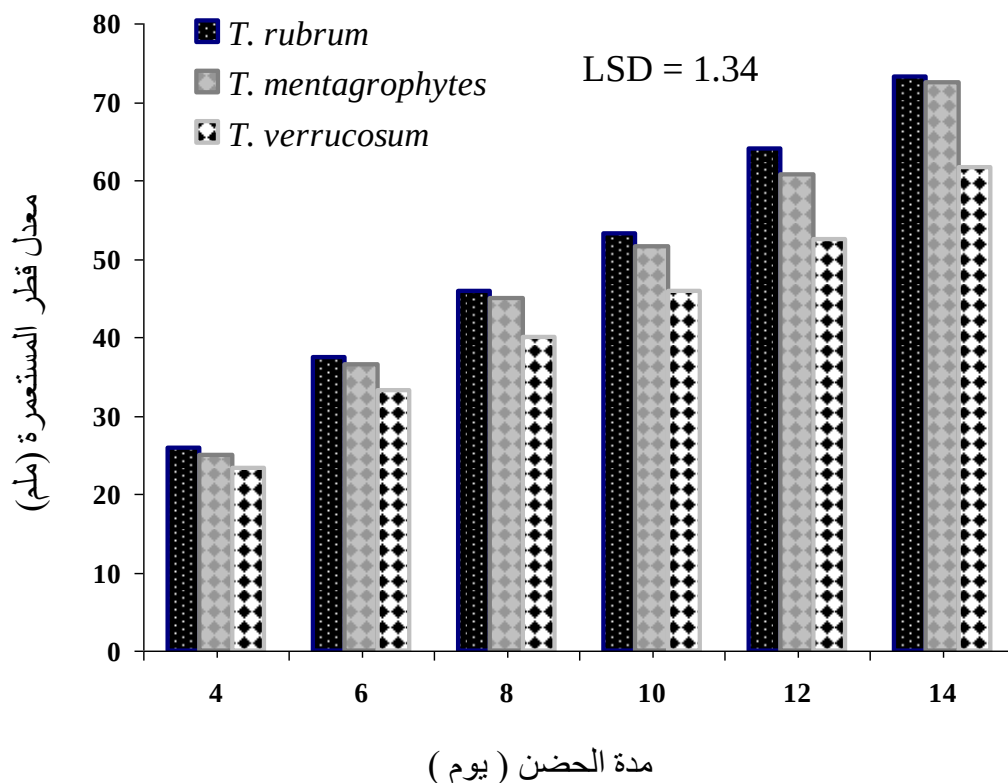
(أ) *T. rubrum* ، (ب) *T. mentagrophytes* ، (ج) *T. verrucosum*

4-2-4- تأثير مدة الحضان في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة *T.*

T. verrucosum و *T. mentagrophytes* و *rubrum*

أظهرت نتائج هذه التجربة (الشكل 15) وجود زيادة معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط PDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° طيلة مدة الحضان، إذ بلغت أعلى معدلات لأقطار مستعمرات الأنواع الفطرية في نهاية مدة الحضان 73.3 و 72.5 و 61.6 ملم بالنسبة لـ *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.

بينت نتائج هذه التجربة انخفاضاً معنوياً ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات الفطر *T. verrucosum* مقارنة بمثيلاتها بالنسبة لـ *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* طيلة مدة الحضان، في حين لم تظهر فروقات معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار المستعمرات بين النوعين *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* إلا بعد اليوم الثامن من الحضان، إذ تفوقت معنوياً ($0.01 >$) معدلات أقطار مستعمرات النوع *T. rubrum* مقارنة بمثيلاتها للنوع *T. mentagrophytes* واستمرت إلى نهاية مدة الحضان.



الشكل (15) تأثير مدة الحضانة في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط PDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م.

3-4- اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة

1- تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية

أظهرت نتائج هذه التجربة (الجدول 9) وجود علاقة معنوية ($0.01 >$) بين الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* والمضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin، إذ

تباينت معنوياً ($0.01 >$) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى اعتماداً على نوع الفطر والمضاد الفطري المستخدم. بينت النتائج تفوقاً معنوياً ($0.01 >$) لمضاد ITZ و CTZ في قيمة التركيز المثبط الأدنى مقارنة بالمضاد FLZ و GFR، إذ سجل مضاد ITZ و CTZ أقل قيمة للتركيز المثبط الأدنى والتركيز والتي بلغت 0.5 و 1.25 مايكرو غرام/مل على التوالي في حين كان معدل التركيز المثبط الأدنى 4.12 و 8.83 مايكرو غرام/مل لمضاد FLZ و GRF على التوالي، كذلك تفوق معنوياً ($0.01 >$) مضاد FLZ مقارنة بمضاد GFR في قيمة التركيز المثبط الأدنى للأنواع الفطرية المعزولة. ولم تكن هناك اختلافات معنوية ($0.01 >$) بين مضاد ITZ و CTZ في قيمة التركيز المثبط الأدنى. كما بينت النتائج تفوقاً معنوياً ($0.01 >$) لمضاد ITZ مقارنة بالمضادات CTZ و FLZ و GFR في قيمة التركيز القاتل الأدنى، إذ بلغ معدل التركيز القاتل الأدنى 1.25 مايكرو غرام/مل لمضاد ITZ في حين كانت معدلات التركيز القاتل الأدنى 4.95 و 8.25 و 17.04 مايكرو غرام/مل للمضادات CTZ و FLZ و GRF على التوالي. أظهرت نتائج التجربة تفوقاً معنوياً ($0.01 >$) للأنواع *T. rurbum* و *T. mentagrophytes* مقارنة بالأنوع *T. verrucosum* في قيمة التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى، إذ بلغ معدل MIC و MFC 2.4 و 4.43 مايكرو غرام/مل و 3.53 و 6.93 مايكرو غرام/مل على التوالي بالنسبة لـ *T. rurbum* و *T. mentagrophytes* على التوالي، في حين كان معدل MIC و MFC 6.12 و 12.25 مايكرو غرام/مل على التوالي للفطر *T. verrucosum*

المعدل للفطريات		التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى (مايكرو غرام/مل)								المضادات الفطرية الأنواع الفطرية
		GRF		FLZ		CTZ		ITZ		
MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	

4.43	2.4	4.12	2.5	8.25	4.12	4.12	2.5	1.25	0.5	<i>T. rubrum</i>
6.93	3.53	15.75	8.25	8.25	4.12	2.5	1.25	1.25	0.5	<i>T. mentagrophytes</i>
12.25	6.12	31.25	15.75	8.25	4.12	8.25	4.12	1.25	0.5	<i>T. verrucosum</i>
		17.25	8.83	8.25	4.12	4.95	2.62	1.25	0.5	المعدل للمضادات

الجدول (7) قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية المختبرة تجاه الأنواع الفطرية المعزولة.

MFC	MIC
LSD * للفطريات = 4.52	LSD * للفطريات = 2.31
LSD * للمضادات = 3.49	LSD * للمضادات = 1.7
LSD * للتداخل = 0.58	LSD * للتداخل = 0.52

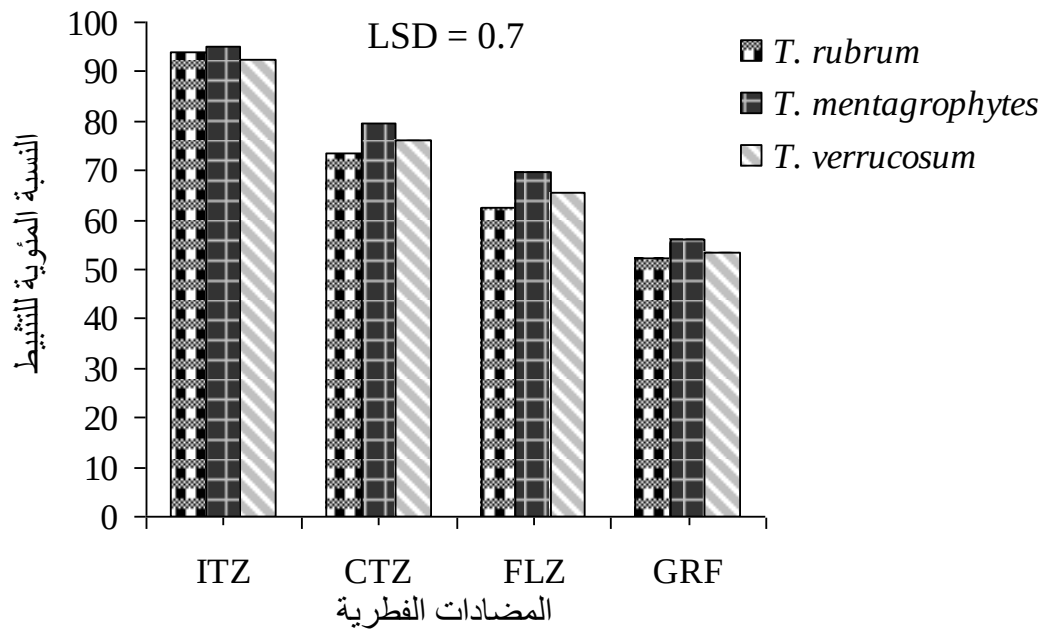
• توجد علاقة معنوية بين نوع الفطر والمضاد الفطري المستخدم

2- تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة

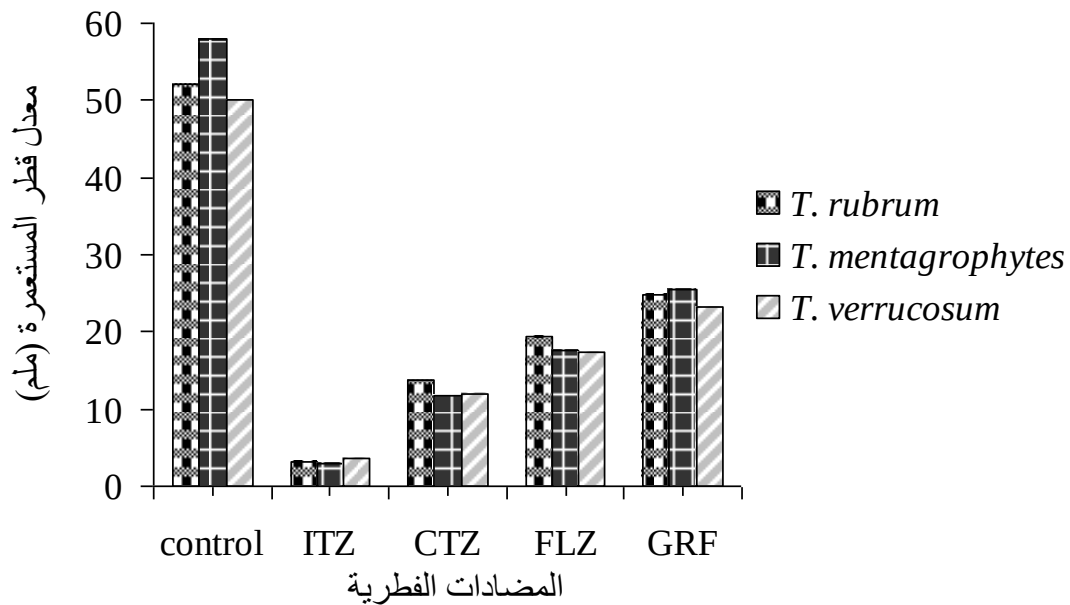
أوضحت نتائج هذه التجربة (الشكل 16-أ) وجود فروقات معنوية ($0.05 >$) في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° ولمدة 7 أيام للمضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin، إذ وجد بان المضاد الفطري ITZ قد تفوق معنوياً ($0.01 >$) في نسبة تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة مقارنة بالمضادات الفطرية الثلاث الأخرى وكانت النسبة المئوية للتثبيط 93% و 95% و 92.5% لكل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. بينت النتائج وجود فروقات معنوية ($0.01 >$) في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة بمضاد CTZ مقارنة بمضاد FLZ و GRF، إذ كانت النسبة المئوية للتثبيط لمضاد CTZ 73.5% و 79.6% و 76.2% في حين كانت النسبة المئوية للتثبيط لمضاد FLZ 62.6% و 69.8% و 65.4% ولمضاد GRF 52.4% و 55.9% و 53.5% بالنسبة للأنواع

T. verrucosum و *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* على التوالي. بالإضافة إلى ذلك فقد تفوق معنوياً ($0.0 >$) مضاد FLZ مقارنة بمضاد GRF في النسبة المئوية لتنشيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة.

أظهرت نتائج التجربة ذاتها (الشكل 16-ب) انخفاضاً معنوياً ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° ولمدة 7 أيام مقارنة بمجموعة السيطرة ولجميع المضادات الفطرية المختبرة كما لوحظ وجود فروقات معنوية ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات هذه الأنواع المعزولة المعاملة بالمضادات الفطرية، إذ وجد بان معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد GRF قد تفوقت معنوياً ($0.01 >$) عن مثيلاتها بالنسبة للمضادات ITZ و CTZ و FLZ في حين وجد أن هناك انخفاضاً معنوياً ($0.01 >$) في معدلات أقطار مستعمرات هذه الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد ITZ عن مثيلاتها بالنسبة لمضاد FLZ و CTZ. من جهة أخرى تفوقت معنوياً ($0.05 >$) معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد FLZ عن مثيلاتها بالنسبة لمضاد CTZ. بلغت معدلات أقطار المستعمرات في نهاية مدة الحضان 3.1 و 2.9 و 3.7 ملم بالنسبة لمضاد ITZ و 11.8 و 11.9 و 23.2 ملم لمضاد CTZ و 19.5 و 17.5 و 17.3 ملم بالنسبة لمضاد FLZ و 24.7 و 25.5 و 23.2 ملم بالنسبة لمضاد GRF وللأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.

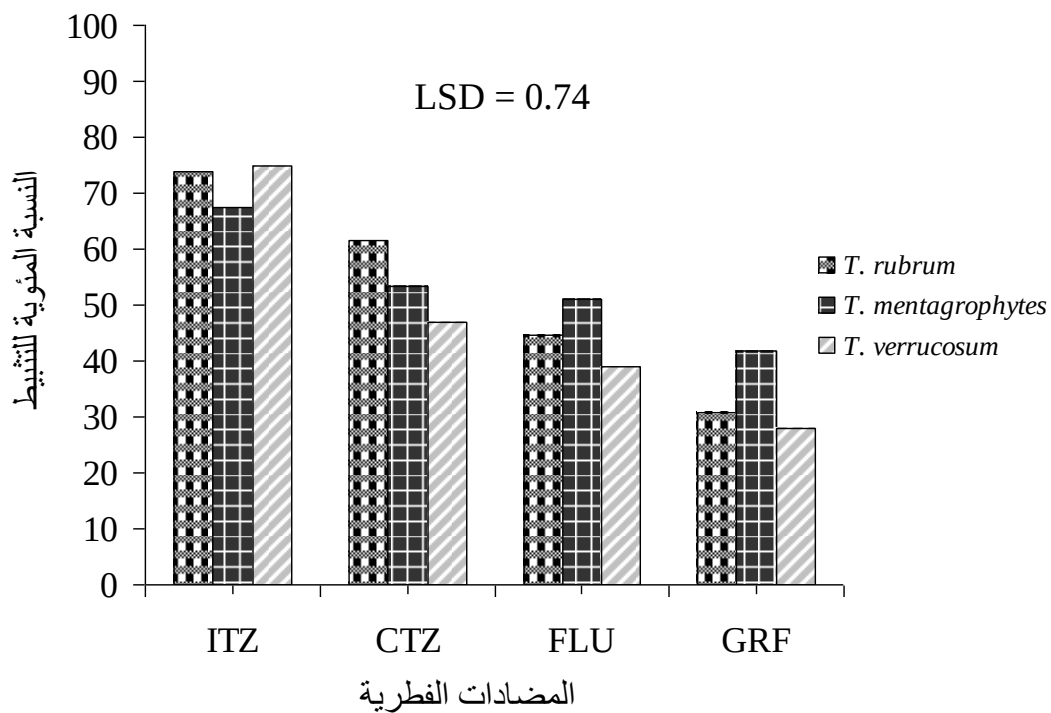


الشكل (16-أ) تأثير المضادات الفطرية في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° ولمدة حضن 7 أيام.



الشكل (17) تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة 4-4- تأثرياً على وسط SDA البرقم هيدروجيني 6 وتتراوح الإمتلغ الكونديوم والأنواع الفطرية أيام المعزولة

بينت نتائج هذه التجربة (الشكل 17) وجود فروقات معنوية (0.01) في النسبة المئوية لتثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° ولمدة 7 أيام ولجميع المضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin، إذ كانت أعلى نسبة تثبيط في إنتاج الابواغ الكونيدية لمضاد ITZ والتي تفوقت معنوياً ($0.01 >$) عن مثيلاتها بالنسبة للمضادات CTZ و FLZ و GRF وللأنواع الفطرية الثلاث في حين انخفضت معنوياً ($0.01 >$) نسبة التثبيط لمضاد GRF مقارنة بمثيلاتها للمضادات الفطرية CTZ و FLZ وأيضا للأنواع الفطرية الثلاثة، كما لوحظ وجود فروقات معنوية ($0.01 >$) في نسبة التثبيط لمضاد CTZ مقارنة بنسبة التثبيط لمضاد FLZ وللأنواع الفطرية الثلاثة. كانت النسبة المئوية للتثبيط هي (73.8 % و 67.5 % و 75 %) و (61.5 % و 53.4 % و 46.6 %) و (44.6 % و 51.1 % و 39 %) و (30.7 % و 41.8 % و 28 %) بالنسبة للمضادات ITZ و CTZ و FLZ و GRF وللأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.



الشكل (17) تأثير المضادات الفطرية في النسبة المئوية لتنشيط إنتاج الأبواغ الكونيدية لأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني 6 ودرجة حرارة 30 م° ولمدة حضان 7 أيام.

5- المناقشة Discussion

5-1- تشخيص الفطريات

بينت النتائج قدرة الفطر *T. rubrum* المسبب للسعفة الفخذية على تكوين مستعمرات حبيبية بيضاء ذات حافة شعاعية مع صبغة حمراء غامقة في الجهة الخلفية للطبق وتميزت الابواغ الكونيدية الكبيرة بأنها طويلة ومقسمة وصولجانية الشكل كما ظهرت الابواغ الكونيدية الصغيرة بصورة متبادلة ومفردة على سطح الهايفات وهي تشبه الدمعة. كما أوضحت الاختبارات التشخيصية بان هذا الفطر سالب لاختبار ثقب الشعرة وازداد نموه بوجود histidine و casamino acid وبالمقابل انخفض نموه بوجود nicotinic acid، وقد اتفق هذا التوصيف مع نتائج العديد من الباحثين محمود (2000) و Velho

وجماعته (2000) و Marchisio وجماعته (1996) على الرغم من وجود بعض الاختلافات في إنتاج الابواغ الكونيدية الكبيرة، إذ أشار بعض الباحثين Kwon-

Fry و Chung & Benett (1992) و Fry وجماعته (1979) إلى أن النوع *T. rubrum* يتميز بعدم إنتاجه للكونيدات الكبيرة وقد يعود السبب في ذلك إلى نوع العزلة ومكان الإصابة فضلاً عن اختلاف ظروف التجربة. كذلك بينت نتائج الدراسة أن الفطر *T.*

mentagrophytes المسبب للسعفة الرأسية يكوّن مستعمرات بيضاء منتشرة ومسطحة ومسحوقية المظهر ولوناً وردياً فاتحاً من الجهة الخلفية للطبق وينتج ابواغ كونيدية كبيرة مدورة النهاية وتحتوي على 2-5 خلايا مع جدار سميك أملس ابواغ كونيدية صغيرة كروية كثيرة العدد وتتجمع بشكل عنائيد مع هايفات حلزونية الشكل، كما أن هذا الفطر موجب لاختبار ثقب الشعرة وينمو بغزارة بوجود nicotinic acid لكن نموه يضعف بوجود inositol أو thiamine وقد توصل العديد من الباحثين إلى نتائج مماثلة (الرجبو، 2004؛ الجنابي، 1996؛

يحيى، 1980). أما بالنسبة للفطر *T. verrucosum* المسبب للسعفة الحلقية الذي تميز بإنتاجه مستعمرات بيضاء بطيئة النمو مرتفعة المركز، تشبه القرص مع انعدام الصبغة في الجهة الخلفية للطبق إلا أنه غير قادر على إنتاج الابواغ الكونيدية الصغيرة أما الابواغ الكونيدية الكبيرة فقليلة العدد، طويلة وتشبه حبة الفاصوليا، كما أنه تميز بإنتاجه سلاسل من الابواغ الحرشفية Chlamydospores وهي من أهم الصفات التشخيصية لهذا النوع. وكان هذا الفطر سالب لاختبار ثقب الشعرة وازداد نموه بوجود inositol و thiamine في حين كان نموه ضعيفاً بوجود casamino acid و inositol وحصل تثبيط كامل لنمو هذا النوع على وسطي

Trichophyton agar1 و Trichophyton agar4 وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ذكره العديد من الباحثين (Velho et al., 2000; Marchisio et al., 1996).

2-5- تأثير بعض العوامل البيئية في نمو أنواع جنس *Trichophyton*

1-2-5- الوسط الغذائي

1. الوسط الغذائي الملائم للنمو

إن الزيادة المعنوية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* المعزولة على وسط PDA مقارنة بمثيلاتها على وسطي OMA و RTA قد يرجع إلى وجود سكر الكلوكوز (2%) في وسط PDA والذي يخلو منه وسطي OMA و RTA ()

(Kurbanoglu & Algur, 2002; Kwon-Chung & Benett, 1992)، إذ إن الفطريات الجلدية يمكنها استغلال السكريات البسيطة مثل سكر الكلوكوز كمصدر للكربون الذي يعد من العوامل المهمة في نمو الفطريات (Philpot, 1977)، كما إن نسبة الكربون إلى النتروجين C:N هي 10:1 و 4:1 و 3:1 بالنسبة للأوساط PDA و OMA و RTA على التوالي (Wyss et al., 2001). يتناسب معدل نمو الأحياء المجهرية طردياً مع تركيز الكربون (الكلوكوز) في الوسط الغذائي ضمن حدود معينة (السعد، 1990). إذ إن وجوده في الوسط الغذائي يؤدي إلى زيادة معدل النمو وزيادة الوزن الجاف، وقد يؤدي إلى إنتاج الأحماض التي تسبب انخفاض الرقم الهيدروجيني للوسط الغذائي وجعله ملائماً لنمو الفطريات (Kunert, 2000). يعتقد

الباحث إن الكلوكوز هو أحد أهم العوامل المحددة للنمو بالنسبة للأوساط الغذائية PDA و OMA و RTA هو الكلوكوز. الفطريات الجلدية لا يمكنها تحليل السكريات المتعددة كالنشأ والسيليلوز الطبيعي ومشتقاته وهي تقوم باستغلال الأحماض الامينية المكونة للبيتون والكازئين كمصدر للنتروجين والكربون على الرغم من وجود الكلوكوز وهذا يؤدي بدوره إلى ارتفاع الرقم الهيدروجيني للوسط الغذائي والذي يصبح غير ملائم لنمو الفطريات (Drori et al., 2003; Kunert, 2000). أما

بالنسبة لوسط RTA فهو يحتوي على العديد من المواد المعقدة كالنشأ التي قد لا يستطيع الفطر استغلالها مما ينعكس سلباً على نمو الأنواع الفطرية فيه مقارنة بوسط OMA الذي يخلو من الكلوكوز أيضاً، فضلاً عن انخفاض تركيز بعض العناصر الغذائية

المحددة للنمو، إذ تستمر الزيادة في معدل نمو الأحياء المجهرية مع ازدياد مدة الحضان عند توفر المواد الغذائية الضرورية في الوسط حتى استنفادها (السعد، 1990).

2. الوسط الغذائي الملائم للتجريم

بينت نتائج هذه الدراسة إن الزيادة المعنوية في معدل إنتاج الابواغ الكونيدية على وسط OMA مقارنةً بمثيلاتها على وسطي PDA و RTA بالنسبة للأنواع الفطرية الثلاثة المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* يعزى إلى وجود اختلافات تركيبية هامة في هذه الأوساط الغذائية الثلاثة كاختلاف البروتين ومحتوى الدهون والتي تؤثر مباشرةً في إنتاج الابواغ الكونيدية (Jackson & Bothast, 1990). وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ذكره Jessup وجماعته (2001) من أن وسط Heinz oatmeal cereal agar هو أفضل وسط لإنتاج الابواغ الكونيدية لأنواع جنس *Trichophyton* يليه وسط Rice agar و PDA. وفي دراسة أخرى ذكر Thomas وجماعته (1987) إن نسبة C:N (5:1) حفزت الفطر *Beauveria bassiana* النامي على وسط TKI broth على إنتاج نسبة عالية من الابواغ الكونيدية بينما زيادة تركيز النتروجين خفض من هذه النسبة. إن إضافة تركيز واطئ 10 غرام/لتر من الكلوكوز إلى وسط Water rice أدى إلى زيادة إنتاج الابواغ الكونيدية للفطر *Dactylaria higginsii* في حين إن ارتفاع تركيز الكلوكوز إلى 100 غرام/لتر سبب تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للفطر نفسه (Wyss et al., 2001)، كذلك أشار الباحث نفسه إلى أن وسط Water rice حفز إنتاج الابواغ الكونيدية للفطر أعلاه ولكن نسبة إنبات الابواغ الكونيدية فيه قد انخفضت بمقدار 50% مقارنة بنسبة الإنبات 100% على وسط PDA. لذلك فإن إنتاج ونوعية السبور وقابليته على الإنبات إضافة إلى امراضيته وضرارته تتأثر بتركيز الكربون ونسبته إلى النتروجين في الوسط الغذائي (Schisler et al., 1991; Jackson & Bothast, 1990).

5-2-2- درجة الحرارة

أظهرت نتائج دراسة تأثير درجة الحرارة في نمو الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* (الشكل 13-أ-ب-ج) إن لهذه الأنواع القابلية على النمو في مدى حراري يتراوح بين 20-35 م° وكان أفضل نمو لهذه الأنواع عند درجة 30 م° في حين انخفضت معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية بصورة كبيرة عند درجة حرارة 20 م°

مقارنة بالدرجات الحرارية 30 و 35 و 25 م°، بينما حصل تثبيط كامل للنمو عند درجة حرارة 40 م°.

إن توقف نمو الأنواع الفطرية عند درجة حرارة 40 م° قد يعود إلى فقدان الغشاء الخلوي لوظيفته الحيوية أو تحطيم المكونات الساييتوبلازمية وتحلل الخلايا (De Maranon et al., 1999). ويعزى سبب زيادة النمو في المدى الحراري 20-35 م° إلى أن الفعاليات الحيوية للنمو تصل إلى 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، من أهم الفعاليات الحيوية المرتبطة بنمو الفطر التي تتأثر بتغير درجات الحرارة عملية التنفس Respiration processes إذ تنخفض عملية التنفس عند خفض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو ومن ثم تتأثر عملية بناء الجزيئات الكبيرة Macromolecular وهذا ما يحدث عند خفض درجة الحرارة. في حين أنه عند رفع درجة الحرارة فإن عملية التنفس سوف تتوقف وتؤدي إلى موت الفطر حتى ولو انخفضت درجة الحرارة إلى الدرجة المثلى للنمو (Maheshwari et al., 2000). فضلاً عن ذلك فإن فعالية إنزيمات النمو تتأثر بارتفاع درجات الحرارة إذ يحدث مسخ denaturation للتركيب البروتيني للإنزيم وحدوث خلل في الفعالية الإنزيمية مسبباً انخفاض النمو أو موت الفطر (السعد، 1990). إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع ما ذكره Weitzman and Summerbell (1995) من أن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطريات الجلدية تتراوح بين 25-35 م° ولا تنمو بدرجة حرارة 40 م°. وجاءت هذه النتائج متقاربة مع ما ذكره Ulfig (2003) من أن الفطريات الجلدية تنمو بمدى حراري يتراوح بين 23-33 م° وأفضل نمو لها عند درجة حرارة 29 م°. وكذلك جاءت هذه النتائج متقاربة مع ما أشار إليه Knight (1976) إلى أن أفضل مدى حراري لنمو الفطر *T. mentagrophytes* يتراوح بين 27-33 م° في حين كان نمو هذا الفطر معتدل عند درجة حرارة 24 و 36 م°. ذكر Wyss وجماعته (2001) أن الفطر *Dactylaria higginsii* ينمو بشكل جيد بمدى حراري يتراوح بين 25-30 م° لكن يصبح نمو هذا الفطر ضعيفاً بمدى حراري بين 10-20 م°. أظهرت نتائج هذه التجربة وجود فروقات معنوية ($0.01 >$) في معدلات نمو الأنواع الفطرية المعزولة بين درجتَي حرارة 30 و 35 م°، وهذه النتائج غير متوافقة مع ما ذكره Norris وجماعته (1999) من عدم وجود اختلافات في تأثير كل من درجة الحرارة 30 و 35 م° في معدل نمو الفطريات الجلدية العائدة إلى الجنس *Trichophyton*، وقد يرجع السبب إلى اختلاف

ظروف التجربة واختلاف النوع كذلك وجد الباحث نفسه إن أفضل نمو لأنواع هذا الجنس يكون بين درجة حرارة 28-30 م° وهذه النتائج جاءت مقارنة لنتائج الدراسة الحالية.

تحدد درجات الحرارة المثلى لنمو الأحياء المجهرية بمدى تأثير جميع تفاعلات الخلية التي تشترك فيها الإنزيمات وأن الانخفاض السريع في معدلات النمو عند رفع درجة الحرارة أكثر من المثلى ربما ناتج عن الخلل الذي يحدث في عمل هذه الإنزيمات ويشار إلى الدرجة الحرارية الدنيا للنمو بأنها الدرجة التي بعدها يتوقف فيها عبور المواد المذابة في الوسط خلال الغشاء الساييتوبلازمي (السعد، 1990; Tanner, 1997).

5-2-3- الرقم الهيدروجيني

بالرغم من التغيرات الحاصلة في المحيط (الوسط) الذي ينمو فيه الفطر إلا أن ساييتوبلازم الخلية يبقى محافظاً على نسبته من أيونات الهيدروجين والهيدروكسيل وذلك لأن الغشاء البلازمي يعد غير ناضج نسبياً لهذه الأيونات إلا أن الإنزيمات الموجودة في الغشاء الساييتوبلازمي نفسه تتأثر بتركيز أيون الهيدروجين مما يؤدي إلى تأثير الفعاليات الأخرى التي من أبرزها ألفة هذه الإنزيمات الموجودة في الغشاء للمواد المذابة في الوسط (السعد، 1990).

وقد أظهرت نتائج هذه التجربة (الشكل 14-أ-ب-ج) إن أفضل نمو للأنواع الفطرية المعزولة عند الرقم الهيدروجيني 6 يليه الرقم الهيدروجيني 7 و 5 في حين كان للرقم الهيدروجيني 8 تأثيراً واضحاً في خفض معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية مقارنة بالأرقام الهيدروجينية الأخرى. وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما أشار إليه Tanner (1997) من أن الرقم الهيدروجيني 8 يعد غير ملائم لنمو أغلب الفطريات. كذلك جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ذكره العديد من الباحثين (Danew & Klossek (1989) و Braun & Lieschke (1969) و Rippon & LeBeau (1965) الذين أشاروا إلى أنه في أوساط المحاليل المنظمة يكون أفضل نمو للفطريات الجلدية عند رقم هيدروجيني يتراوح بين 6-7.5 في حين تبدأ هذه الفطريات بالنمو في أوساط المحاليل غير المنظمة عند رقم هيدروجيني يتراوح بين 4-11. كذلك لاحظ Kushwaha (1981) و Ziegler & Bohme (1969) و Ziegler & Bohme (1962) أن أفضل نمو للفطريات الجلدية في الأوساط المائية كان عند رقم هيدروجيني يتراوح بين 6-7.5، أما تثبيط نمو الفطر *Candida albicans* بواسطة الخللات Acetate فقد كان محدداً عند رقم هيدروجيني يتراوح بين 5.5-8 في حين حصل تثبيط كامل لنمو الفطر عند الرقم

الهيدروجيني 9 (Shmokawa & Nakayama, 1999). قد تحفز زيادة الرقم الهيدروجيني عملية التحلل الذاتي autolysis للخلية الفطرية وهذه العملية تكون مرافقة للزيادة في إنتاج الامونيا (Kunert, 2000). يؤدي الرقم الهيدروجيني للوسط أو البيئة دوراً مهماً ومؤثراً في الكائنات الممرضة والتي يختلف نموها باختلاف الأرقام الهيدروجينية، وهذا ينعكس بدوره على الأحياء المجهرية إذ تتباين بقدرتها على إحداث المرض حسب نوعها إذ تتمكن بعض الفطريات من إحداث المرض في الوسط الحامضي أو القاعدي أو المتعادل، وإن للرقم الهيدروجيني أهمية كبيرة في تنظيم التبادل الأيوني عبر الغشاء النووي، إذ إن عملية دخول الأيونات الموجبة تزداد عندما يزداد الرقم الهيدروجيني والأيونات السالبة يزداد دخولها عندما ينخفض الرقم الهيدروجيني ومن ثم لا بد من وجود قيمة للرقم الهيدروجيني تكون فيها دخول الأيونات الموجبة والسالبة بصورة متوازنة وهذا الرقم سمي بالرقم الهيدروجيني الأمثل (Marchisio, 2000).

تحفز الطاقة الايضية الفطريات والكائنات المجهرية الأخرى لاستغلال Macromolecules كمصادر لمغذيات النمو الضرورية ضمن مدى واسع من الرقم الهيدروجيني (Davis, 2000; Meunier, 1993; Caddick et al., 1986; Nahas & Terenzi, 1982)، إذ إن امراضية العديد من الكائنات المجهرية تعتمد على الإحساس بمدى الرقم الهيدروجيني للمضيف وقدرتها على التكيف فيه والتي تتطلب تطورها وبقاءها في المضيف، لذلك من الضروري فهم الاستجابات الايضية التي تحكم الرقم الهيدروجيني المستقر والرقم الهيدروجيني خارج الخلايا للفطريات الجلدية (Ferrerira-Nozawa et al., 2003).

5-2-4- مدة الحضانة

يزداد معدل النمو للغزل الفطري مع ازدياد مدة الحضانة عند توفر المواد الغذائية الضرورية في وسط النمو حتى تستنفد المواد الغذائية الضرورية لنمو الفطر أو يقل تركيز أحد العناصر المحددة للنمو (Cuenca-Estrella et al., 2001). إذ أوضحت نتائج هذه التجربة (الشكل 15-أ-ب-ج) إن معدل نمو الأنواع الفطرية المعزولة يتناسب طردياً مع زيادة مدة الحضانة، فقد بلغ أقصى معدل للنمو في اليوم 14 من الحضانة وهو 73.3 و 72.5 و 61.6 ملم لكل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع ما ذكره الجنابي (2005) من أن معدل نمو الفطر *M. canis* يزداد تدريجياً مع ازدياد مدة الحضانة، إذ وصل نمو هذا الفطر إلى ذروته بعد مدة حضانة 14 يوماً على وسط SDA. أشار بعض الباحثين وجود مدد حضانة مختلفة لاختبار حساسية الفطريات الجلدية فقد

لاحظ Barchiesi وجماعته (2001) و Butty وجماعته (1995) أن الفطر *T. rubrum* ينمو بشكل بطيء بعد مدة حضن 4 أيام لكن 7 أيام كانت كافية لملاحظة نمو الفطريات الجلدية. في حين احتاج Norris وجماعته (1999) إلى 6 أيام لملاحظة نمو الفطريات الجلدية. وأشار Santos & Hamadan (2005) إلى أن زيادة مدة الحضن 10 أيام مقارنة بمدة الحضن 7 أيام معدلات النمو للنوعين *T. rubrum* و *T. mentagrophytes*. تمتلك مدة الحضن تأثير كبير في تجرثم الفطريات الجلدية، إذ لوحظ أن أنواع جنس *Trichophyton* تنتج الأبواغ الكونيدية بغزارة بعد مدة حضنة 4 أيام على وسط Heinz oatmeal cereal agar ولم تنتج الأبواغ الكونيدية على وسطي Mycosel agar و Potato dextrose agar إلا بعد مدة حضنة 7 أيام (Jessup et al., 2000). تختلف مدة الحضن للفطريات الجلدية اعتماداً على نوع الفطر وسلالات النوع الواحد والوسط الغذائي إضافة إلى نوع الاختبار وظروف التجربة (Kunert, 2000).

3-5- اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة

يُعرف التركيز المثبط الأدنى MIC بأنه أقل تركيز للمضاد والذي يسبب تثبيط 80% من النمو الفطري بينما يُعرف التركيز القاتل الأدنى بأنه أقل تركيز للمضاد والذي يسبب تثبيطاً كاملاً للنمو الفطري 100% أو لا يظهر عنده النمو حتى بعد نقل الفطر إلى وسط خالي من المضادات (Mukherjee et al., 2003). أظهرت نتائج هذه التجربة (الجدول 9) أن المضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin تمتلك تأثيراً مثبطاً وقاتلاً على الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* وبتراكيز مختلفة اعتماداً على نوع الفطر المعامل وكذلك المضاد الفطري المستخدم. إن هذه النتائج جاءت مقارنة مع ما ذكره العديد من الباحثين، إذ أشار Favre وجماعته (2003) إلى أن التركيز المثبط الأدنى لمضاد ITZ 0.5 مايكرو غرام/مل في حين كان التركيز القاتل الأدنى لهذه المضاد 4 مايكرو غرام/مل تجاه أنواع جنس *Trichophyton spp.* بينما كان التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لمضاد CTZ مختلف باختلاف أنواع جنس *Trichophyton* فالنسبة للفطر *T. rubrum* كان MIC 0.25 و 1 مايكرو غرام/مل على التوالي في حين كان MFC 4 و 8.25 مايكرو غرام/مل على التوالي. أما بالنسبة لمضاد GRF فقد كان MIC و MFC 8 و 32 مايكرو غرام/مل على التوالي لجميع أنواع جنس *Trichophyton*, أما MIC و MFC لمضاد FLZ فهو 4 و 32 مايكرو غرام/مل. ذكر Barchiesi وجماعته

(2001) إن التركيز المثبط الأدنى لمضاد ITZ كان 1 مايكرو غرام/مل في حين كان التركيز القاتل الأدنى لهذا المضاد 2-4 مايكرو غرام/مل ضد أنواع جنس *Trichophyton* و *Microsporum* و *Epidermophyton*. وجد Tatsumi وجماعته (2001) إن MIC لمضاد CTZ 0.25 مايكرو غرام/مل و 0.5 MFC مايكرو غرام/مل تجاه النوع *T. rubrum* و *T. mentagrophytes*.

أظهرت نتائج هذه الدراسة (الشكل 16-أ ب) إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في نسبة تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة يليه مضاد CTZ و FLZ في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية ضد الأنواع الفطرية المعزولة. إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع نتائج Fernandez-Torres وجماعته (2001) والذي أشار إلى إن مضاد ITZ كان الأكثر فعالية تجاه الفطر *T. rubrum* وكان متوسط التركيز المثبط الأدنى له 0.09 مايكرو غرام/مل يليه مضاد CTZ ومتوسط التركيز المثبط الأدنى له 0.01 مايكرو غرام/مل في حين كان مضاد FLZ هو الأقل فعالية وبمتوسط تركيز مثبط أدنى 2.8 مايكرو غرام/مل. كما أشار كل من Santos & Hamdan, 2005 (2005) إلى إن مضاد ITZ بتركيز مثبط أدنى 0.125 مايكرو غرام/مل كان الأكثر فعالية ضد كل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* مقارنة بمضاد FLZ بتركيز مثبط أدنى 64 مايكرو غرام/مل. ذكر الكنانى (2005) و Al-Ameri (2005) إن مجموعة الازول ومن ضمنها مضادات ITZ و CTZ و FLZ تمتاز بفعاليتها ضد الفطريات الخيطية، بينما يمتلك مضاد GRF فعالية أقل ضد الفطريات الخيطية. ويعزى السبب إلى إن هذا المضاد يمتاز بتثبيطه للإنبات أكثر من تثبيطه للنمو الفطري (الربيعي, 2001)، وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج الدراسة الحالية.

قدر العديد من الباحثين اختبار الحساسية للفطريات الجلدية Mock وجماعته (1998) و Butty وجماعته (1995) و Granade & Artis (1980) بطرق مختلفة لكن نتائجهم أظهرت اختلافات كبيرة وهذا من المحتمل ناتج عن الافتقار إلى توحيد المقياس لمختلف العوامل التي تؤثر على قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC مثل حجم اللقاح ومدة الحضان ودرجة الحرارة ومعايير نقطة التوقف endpoint. لذلك تحتاج الفطريات الجلدية إلى تحديدها على الرغم من إن العديد من الدراسات كرست لهذه الفطريات ولكن لا توجد بيانات أكيدة تعد نتائج لهذه الدراسات (Fernandez-Torres et al., 2002). علما أن الظروف المثلى لاختبار الحساسية قد حددت مختبريا للخمائر وبعض الفطريات الخيطية المهمة (Espinel- Ingroff et al., 1995; Fromtling et al., 1993). كما أشار Perea وجماعته (2001) إلى إن التغيير في العوامل المؤثرة على تقنية اختبار الحساسية للفطريات الجلدية مثل

حجم اللقاح ونوع الوسط الغذائي ودرجة الحرارة ومدة الحضان قد توضح الاختلاف في نتائج اختبار الحساسية للمضادات الفطرية.

إن صعوبة إجراء تقنية اختبار حساسية الفطريات الجلدية تجاه المضادات الفطرية ناتجة عن الصفات المظهرية لهذه الفطريات وكذلك صعوبة إنتاج السبورات لبعض أنواعها خصوصا ذات المصدر البشري Anthrophilic والتي تكون أكثر تعقيدا بعد إعادة زراعتها لعدة مرات (Fernandez-Torres *et al.*, 2002).

وأخيرا من المعروف عن الفطريات أنها تشبه خلايا اللبائن، كالتاهما حقيقة النواة، وبالتالي فإن العلاج المستعمل ضد الفطريات قد يملك التأثير نفسه على خلايا اللبائن (Wheat, 1994). لذلك فإن العلاج بالمضادات الفطرية يتطلب فحص الحساسية الدوائية للفطريات في المختبر والحصول على الجرعة المثالية للمريض (Fukayama, 1999).

4-5- تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة

إن فعالية مضادات Azoles و Imidazoles تمتاز بتثبيط تكوين معقد Ergosterol الذي يعد المكون الرئيسي للغشاء البلازمي للفطريات، إذ ينظم نفاذية وفعاليات إنزيمات هذا الغشاء وهي المكون الرئيسي للحويصلات الإفرازية ولهذا المعقد دور مهم في عملية تنفس المايكوتونديريا (Vanden Bossche *et al.*, 2003; Daum *et al.*, 1998)، إذ تعمل مضادات Azoles على إنزيم هدف هو sterol 14 α -demehtylase والذي يشفر له عن طريق الجين CYP51 ونتيجة التداخل مع هذا الجين يحدث انخفاض في معقد Ergosterol وتراكم 14-methylsterols وبالتالي يربك عمل الخلية الفطرية وربما يؤدي إلى موتها (Vanden Bossche *et al.*, 2004).

أظهرت نتائج هذه التجربة (الشكل 17) إن مضادات الازول والمتمثلة بـ ITZ و CTZ و FLZ هي الأكثر فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة وكان مضاد ITZ هو الأكثر فعالية مقارنة بمضاد CTZ و FLZ في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية. إن هذه النتيجة متوافقة مع ما ذكره Santos وجماعته (2006) من إن مضادات الازول CTZ و FLZ كانت أكثر فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية المرشحة filtered conidia والابواغ الكونيدية غير المرشحة non-filtered conidia مقارنة بمضاد GRF. والسبب يعود إلى إن مضاد GRF يعمل على تثبيط إنبات الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia التي تمتاز بجدار سميك ومقاوم للمضادات

الفطرية في حين تعمل مضادات الازول على تثبيط تخليق معقد Ergosterol في الغشاء البلازمي للخلية الفطرية (Fernandez-Torres *et al.*, 2003).

أشار العديد من الباحثين Vanden Bossche وجماعته (2004) و Odds وجماعته (2004) إلى إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في تثبيط تكوين معقد Ergosterol مقارنة بمضادات الازول الأخرى.

الاستنتاجات Conclusions

1. تم الحصول على ثلاث أنواع محلية من جنس *Trichophyton* وهي *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum*.
2. إن الظروف المثلى لنمو الأنواع الفطرية المعزولة تمثلت بوسط غذائي PDA ودرجة حرارة 30 م° ورقم هيدروجيني 6 ومدة حضان 14 يوم.
3. إن أفضل وسط غذائي لتجريم الأنواع الفطرية المعزولة هو OMA مقارنة بوسطي PDA و RTA.
4. أظهر اختبار حساسية المضادات الفطرية ITZ و CTZ و FLZ و GRF ضد الفطريات المعزولة إن هذه المضادات تمتلك تأثيراً مثبطاً وقاتلاً تجاه الأنواع الفطرية المعزولة وبتراكيز مختلفة اعتماداً على نوع الفطر ونوع المضاد الفطري وكانت قيم MIC و MFC لمضاد ITZ منخفضة مقارنة بالمضادات المختبرة الأخرى.
5. إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في تثبيط نمو وتجريم الأنواع الفطرية المعزولة مقارنة بمضاد CTZ و FLZ وفي المقابل كان مضاد GRF هو الأقل فعالية مقارنة بالمضادات الفطرية المختبرة.

التوصيات Recommendations

1. إجراء دراسات على المستوى الجزيئي لمعرفة أسباب المقاومة لدى هذه الأنواع الفطرية تجاه المضادات الفطرية.
2. دراسة بعض العوامل المساعدة على زيادة الإصابة بمرض السعفة مثل طبيعة العمل والبيئة والجنس.

3. إجراء دراسات لتتقنية بعض إنزيمات الأنواع الفطرية المعزولة ومعرفة تأثير المضادات الفطرية المختبرة في تثبيط إنتاج هذه الإنزيمات والتي تعد من العوامل المهمة في ضراوة هذه الأنواع الفطرية المعزولة.
4. دراسة كفاءة مزج المضادات الفطرية مع بعض المستخلصات النباتية الطبية وبيان تأثيرها في نمو وتجراثم الأنواع الفطرية المعزولة وتأثير المزج في قيمة MIC و MFC.
5. دراسة فعالية الابواغ الكونيدية المعاملة بالمضادات الفطرية لمعرفة قدرتها على الإنبات وإحداث الإصابة في حيوانات المختبر ومقارنتها مع الابواغ الكونيدية غير المعاملة.

المصادر العربية

- الجنابي، حيدر شخير عبيس. (2005). تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر *Microsporum canis* وفعالية إنزيم البروتيز. رسالة ماجستير / كلية العلوم-جامعة بابل.
- الجنابي، علي عبد الحسين صادق. (1996). تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الإنسان. رسالة ماجستير / كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.
- الجنابي، علي عبد الحسين صادق. (2004). معالجة الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات الجلدية بمراهم حاوية على بعض مركبات البيورين. أطروحة دكتوراه / كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.
- الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد. (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب للنشر. جامعة الموصل.
- الربيعي، إنعام محمود نجم. (2001). دراسة حول الفطريات المعزولة من القناة التنفسية لمرضى مركز التدرن والأمراض الصدرية في البصرة. رسالة ماجستير / كلية العلوم-جامعة البصرة.
- الرجب، مها أكرم محمد علي. (2004). دراسة تأثير مستخلصات نبات الزعر *Thymus spp.* على بعض الفطريات. أطروحة دكتوراه / كلية العلوم-جامعة الموصل.
- الزبيدي، حامد مجيد. (2000). علم الأحياء المجهرية النظري. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- السعد، مها رؤوف. (1990). فسلجة الأحياء المجهرية. الطبعة الثانية. جامعة بغداد، بغداد.
- الكناني، فاضل جبار فرحان. (2001). حساسية الفطريات الجلدية والانتهازية لبعض المستخلصات النباتية الخام. رسالة ماجستير / كلية التربية-جامعة البصرة.
- محمود، وجدان رضا. (2000). مسح الإصابات الفطرية الجلدية في محافظة بابل. رسالة ماجستير / كلية العلوم-جامعة بابل.
- يحيى، مناهل محمد. (1980). عزل الفطريات الجلدية في الموصل والمناطق المجاورة. رسالة ماجستير / كلية الطب-جامعة الموصل.

المصادر الأجنبية

- Abdel-Rahman, S. M. and Nahata, M. C. (1997). Treatment of tinea capitis. Ann. Pharmacother., **31**: 48-338.
- Ajello, L.; Kaplan, W. and Chandle, F.W. (1980) Dermatophyte mycetoma: fact or fiction, the fifth International conference on the mycoses, Scientific publication No. 396, Pan American Health Organization. P :135-140.
- Al-Ameri, N. O. (2005). A study of taxonomy and epidemiology of pulmonary mycotic infections in Al-Qadisiya province. Ph. D. Thesis. Collage of Education - Al-Qadisiya University.
- AL-Duboon, A. H. (1997). A study on superficial-cutaneous Mycoses in Basrah(Iraq).ph. D. Thesis .College of Science, University of Basrah.
- Ali , T. M. (1990). A study of tinea eajoitis in Baghdad (Iraq). Msc. Thesis. College of Medicine . University of Baghdad.
- Alou, L.; Maestre, J. R. and Moreno, R. (2001). Consumo de antifungicos de uso topico en Espana. Rev. Esp. Quimioterap., **14**:340–344.
- Andriole, V. T. (1999). Current and future antifungal therapy: new argets for antifungal agents. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., **44**:151-162.
- Arikan, S.; Lozano-Chiu, M.; Paetznick, V.; Nangia, S. and Rex, J. H. (1999). Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. J. Clin. Microbial., **37**:3946-3951
- Attapatu , M. C. (1989) . A study of tinea capitis in Serilanka . J. Med. Vet. Mycol., **27**(1) : 27-32.

- Aubaid, A. H. (1997) Enzymatic activity, purification of keratinase and proteinase and their roles in the pathogenicity and Immunogenicity of clinical isolates of dermatophytes and yeasts. Ph. D. thesis, collage of education, Basrah University.
- Bailey, E. M.; Krakovsky, D. J. and Rybuk, M. J. (1990). The triazole anti-fungal agents: a review of itraconazole and fluconazole. Pharmacotherapy., **10**:146-153.
- Barchiesi, F.; Arzeni, D.; Camiletti, V.; Simonetti, O.; Cellini, A.; Offi-dani, A. M. and Scalise, G. (2001). In vitro activity of posaconazole against clinical isolates of dermatophytes. J. Clin. Microbiol., **39**: 4208–4209.
- Barchiesi, F.; Arzeni, D.; Caselli, F. and Scalise, G. (2000). Primary resistance to flucytosine among clinical isolates of *Candida spp.* J. Antimicrob. Chemother., **45**:408-409.
- Bergfeld, W. F.; Elewski, B. E.; Hay, R. J.; Odom, R. B. and Scher, R. K. (1993) .Cutaneous Mycoses An update for 90 S. Int. society for human and animals Mycology .USA.
- Blank, F.; Mann, S. J. and Reale, R. A. (1974). Distribution of Dermatophytoses according to age, ethnic groupe and sex. Sabouraudia., **12**: 352-361.
- Bodey, G. B.; Bueltmann, W.; Duguid, D.; Gibbs, H.; Hanak, M.; ZHotchi, G.; Mall, P.; Martino, F.; Meunies, S.; Milliken, S.; Naco, M.; Okudaira, D.; Scicola, F. and Vantwout, J. (1992). Fungal Infection Cancer Patients: An International Autopsy Survey. Eur. J. Clin. Microbi. Infect. Dis., **11**:99-109.

- Bodey, G. P. (1993). *Candidiasis Pathogenesis, Diagnosis and Treatment*. 2nd ed. Raven Press. USA.- Bohme, H.; Grundhoff, R.; Tausch, I. and Zieqler, H. (1978). Detection of Precipitation Antibodies Against Dermatophyte by Means of Counterimmuno Electrophoresis. *Dermatol. Monatsscgy.*, **164**:416-422.
- Bossche, H. and Borgers, M. (2004). In vitro and in vivo activities of the novel azole antifungal agent R126638. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**:388–391.
- Braathen, L. R. and Kaaman, T. (1983). Human epidermal langerhans cells induced cellular immune responses to *Trichophyton* in dermatophytosis . *Brit. J. Dermatol.*, **109** : 295-300.
- Braun, W. and Lieschke, E. (1969). Beziehungen der Wasserstoffionenkonzentration der Haut zur Infektionsmöglichkeit mit *Trichophyton*. *Dermatol. Monatsschrift.*, **155**: 651-660.
- Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2001). *Jawetz and Adelberg's Medical Microbiology*. 2nd ed. Middle East. Beirut, Lebanon.
- Bull, A. T. and Bushnell, M. E. (1976) Environmental control of fungal growth. In the filamentous fungi. (eds. J. E. Smith and D. R. Berry). Edward Arnold. London., **2**: 1-26.
- Butty, P.; Lebecq, J. C.; Mallie , M. and Bastide, J. M. (1995). Evaluation of the susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a new technique. *J. Med. Vet. Mycol.*, **33**:403–409.
- Caddick, M. X.; Brounlee, A. G.; Arst, H. N. and Jr. (1986) Regulation of gene expression by pH of the growth medium in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Gen. Genet.*, **203**: 346-353.

- Cartledge, J. D.; Midgely, J. and Gazzard, B. G. (1997). Itraconazole solution: higher serum drug concentrations and better clinical response rates than the capsule formulation in acquired immunodeficiency syndrome patients with candidosis. *J. Clin. Pathol.*, **50**:477-480.
- Chadeganipour, M.; Shadzi, J. S.; Dehghan, P. and Movahed, M. (1997). Prevelence and Aetiology of dermatophytoses in Esfahan, Iran, *Mycoses*, **40** (7-8) : 321-324 (Abst.)
- Clayton, Y. M. (1986) . Scalp ringworm (*Tinea capitis*) In : Verbov, J. L. ed. *New Clinical Applications dermatology . Superficial fungal infections .* Butler and Tanner Ltd , London . pp: 1-20 .
- Clayton, Y. M. and Midgley, G. (1989). Identification of agents of superficial mycoses in medical mycology a practical approach by Evans, E. G. V. and Richardson, M. D., Printing by Information press 1 td., Oxford, England.
- Collin, B.; Clancy, C. J. and Nguyen, M. H. (1999). Antifungal resistance in *non-albicans Candida* species. *Drug Resist. Update.* , **2**:9-14.
- Como, J. A. and Dismukes, W. E. (1994). Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N. Engl. J. Med.*, **330**:263-272.
- Cuenca-Estrella, M.; Diaz-Guerra, T. M.; Mellado, E. and Rodriguez-Tudela, J. L. (2001). Influence of glucose supplementation and inoculum size on growth kinetics and antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. *J. of clin. Microbiol.*, **39**(2): 525-532.
- Danew, P. and Klossek, P. (1989) The dependence of the physiological properties of *Trichophyton mentagrophytes* on the pH value of the culture medium . *Mycoses*; **32**(6): 303-308.
- Davis, R. H. (2000). *Neurospora Contributions of a Model Organism*. Oxford University Press, New York., pp. 333.

- De Maranon, I. M.; Chandanson, N.; Joly, N. and Gervais, P. (1999). Slow Heat Rate Increase Yeast Thermotolerance by Maintaining Plasma Membrane Integrity. *Biotechnol. Bioeng.*, **65**: 176-181.
- Debruyne, D. and Ryckelynck, I. P. (1993). Clinical Pharmaceutics of Fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.*, **24**: 10-27.
- Debruyne, D., and Coquerel, A. (2001). Pharmacokinetics of antifungal agents in onychomycoses. *Clin. Pharmacokinet.*, **40**:441-472.
- deHoog, G. S. and Guarro, J. (1995). *Atlas of Clinical Fungi*. Universitat Rovirai Virgili, Spain, pp. 720.
- Dismukes, W. E.; Cloud, G.; Gallis, H. A.; Kerkering, T. M.; Medoff, G.; Craven, P. C.; Kaplowitz, L. G.; Fisher, J. F.; Gregg, C. R.; Bowles, C. A.; Shadomy, S.; Stamm, A. M.; Diasio, R. B.; Kaufman, L.; Soong, S.-J.; Blackwelder, W. C. and National Institute of Allergy & Infectious Diseases Mycoses Study Group. (1987). Treatment of cryptococcal meningitis with combination amphotericin B and flucytosine for four as compared with six weeks. *N. Engl. J. Med.*, **317**:334-341.
- Drori, N.; Kramer- Haimovich, H.; Rollins, J.; Dinoor, A.; Okam, Y.; Pines, O. and prusky, D. (2003). External pH and nitrogen source affect secretion of pectatelyase by *Colletrichum gloeosporioides*. *App. Environ. Microbiol.*, **69**(6) : 3258-3262.
- Drouhet, E. and Dupont, B. (1987). Evolution of antifungal agents: past, present, and future. *Rev. Infect. Dis.*, **9**(11):S4-S14.
- Ellis, D. H. (1994). *Clinical Mycology .The human opportunistic mycosis . Pfizer*. New York.

- Ellis, D. H.; Watson, A. B.; Marley, J. E. and Williams, T. G. (1997).
Nondermatophytes in onychomycosis of the toenails. *Br. J. Dermatol.*,
136:490–493.
- Emmons, C. W.; Bmford, C. H.; UTZ, J. P. and Kwon-Chung, K. J. (1977).
Medical Mycology: 3rd . ed , Lea and Febiger -Philadelphia.
- Espinel-Ingroff, A. (1996). Standardization of antifungal susceptibility testing.
Review. Update, Revista.
- Espinel-Ingroff, A.; Dawson, K.; Pfaller, M.; Anaissie, E.; Breslin, B.; Dixon,
D.; Fothergill, A.; Paetznick, V.; Peter, J.; Rinaldi, M. and Walsh, T.
(1995). Comparative and collaborative evaluation of standardization of
antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. *Antimicrob.
Agents Chemother.*, **39**:314–319.
- Evan, E. G. V. (1997) .Fungi: thrush, ringworm, subcutaneous and systemic
mycoses In: Green wood, D.; Slack, R . and Peutheres, J.(eds). *Medical
Microbiology* 15th . Edition . Churdrill living stone .pp. 556-567.
- Favre, B.; Hofbauer, B.; Kwang-Soo, H. and Ryder, N. S. (2003). Comparison
of in vitro activities of 17 antifungal drugs against a panel of 20
dermatophytes by using a microdilution assay. *J. Clin. Microbiol.*,
41:4817–4819.
- Fernandez-Torres, B.; Cabanes, F. J.; Carrillo-Munoz, A. J.; Esteban, A.;
Inza, I.; Abarca, L. and Guarro, J. (2002). Collaborative study of
optimal anti-fungal susceptibility testing conditions for dermatophytes.
J. Clin. Microbiol., **40**:3999–4003.
- Fernandez-Torres, B.; Carrilo, A. J.; Martýn, E.; Del Palacio, A.; Moore, M.
K.; Valverde, A.; Serrano, M. and Guarro, J. (2001). In vitro activities
of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. *Antimicrob.
Agents Chemother.*, **45**:2524–2528.

- Fernandez-Torres, B.; Vazquez-Veiga, H.; Llovo, X.; Pereiro, M.; Jr. and Guarro, J. (2000). In vitro susceptibility to itraconazole, clotrimazole, ketoconazole and terbinafine of 100 isolates of *Trichophyton rubrum*. *Chemotherapy*, **46**:390–394.
- Ferreira-Nozawa, M. S.; Nozawa, S. R.; Martinez-Rossi, N. M. and Rossi, A. (2003). The dermatophyte *Trichophyton rubrum* secretes an EDTA-sensitive alkaline phosphatase on high-phosphate medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, **34**:161-164.
- Filipello Marchisio, V.; Preve, L. and Iulio, V. (1996). Fungi responsible for skin mycoses in Turin (Italy). *Mycoses*, **39**:141 -150 .
- Fitzpatrick, T. B.; Johnson, R. A.; Wolff, K. and Suurmond, D. (2001). Fungal Infections of the Skin and Hair. In: Cooke Darlene, Englis Mariapaz Ramos, Morriss John M., editor. *Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology Common and Serious Diseases*. 4. McGraw Hill Medical Publishing Division., pp. 684–707.
- Friedlander, S. F. (2000). The optimal therapy for tinea capitis. *Pediatr Dermatol*, **17**: 6-325.
- Fromtling, R. A.; Galgiani, J. N.; Pfaller, M. A.; Espinel-Ingroff, A.; Bartizal, K. F.; Bartlett, M. S.; Body, B. A.; Frey, C.; Hall, G.; Roberts, G. D.; Nolte, F. B.; Odds, F. C.; Rinaldi, M. G.; Sugar, A. M. and Villareal, K. (1993). Multicenter evaluation of a macrobroth antifungal susceptibility test for yeasts. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**:39–45.
- Fry, D. T.; Old-field, R. J. and Bridger, R. C. (1979). *A colour atlas of pathogenic fungi*, Wolfe Medical Publication Ltd. London. U.K.
- Fukayama, M. (1999). Evaluation of antimycotics in the elderly. *Nippon-Ishinkin-Gakkai-Zasshi*, **40**(3): 129-133.

- Fuller, L. C.; Child, F. C.; Midgley, G. and M. Higgins, E. (2003). Scalp ringworm in south-east London and an analysis of a cohort of patients from a paediatric dermatology department. *Br. J. Dermatol.*, **148**:985–988.
- Gallis, H. A. (1996). Amphotericin B: a commentary on its role as an antifungal agent and as a comparative agent in clinical trials. *Clin. Infect. Dis.*, **2** (2):S145-S7.
- Georgopapadakou, N. H. (2001). Update on antifungals targeted to the cell wall: focus on beta-1,3-glucan synthase inhibitors. *Expert. Opin. Investig. Drugs.*, **10**:269-280.
- Ghannoum, M. A.; Chaturvedi, V.; Espinel-Ingroff, A.; Pfaller, M. A.; Rinaldi, M. G.; Lee- Yang, W. and Warnock, D. W. (2004). Intra and interlaboratory study of a method for testing antifungal susceptibilities of dermatophytes. *J. Clin. Microbiol.*, **42**:2977-2979.
- Ghannoum, M. A.; Haijeh, R. A.; Scher, R.; Konnikov, N.; Gupta, A. K.; Summerbell, R.; Sullivan, S.; Daniel, R.; Krusinski, P.; Fleckman, P.; Rich, R.; Odom, P.; Aly, R.; Pariser, D.; Zaiac, M.; Rebell, G.; Leshner, J.; Gerlach, B.; Ponce-de-Leon, G. F.; Ghannoum, A.; Warner, J.; Isham, N. and Elewski, B. (2000). A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **43**:641–648.
- Goldstein, A. O.; Smith, K. M.; Ives, T. J. and Goldstein, B. (2000). Mycotic infections. Effective management of conditions involving the skin, hair, and nails. *Geriatrics.*, **55**: 2-51.

- Gomori, G. (1955). Preparation of buffer for use in enzyme studies, Vol.1, In “ Methods in Enzymol., S. P. Colowick and N. O. Kaplaneds” Academic Press. New York
- Granade, T. C. and Artis, W. M. (1980). Antimycotic susceptibility testing of dermatophytes in microcultures with a standardized fragmented mycelial inoculum. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **17**:725–729.
- Grappel, S. F.; Blank, F. and Bishop, C. T. (1972). Circulating antibodies in Dermatophytosis . *Dermatologica.*, **144**, 1-11.
- Groll, A. H.; Piscitelli, S. C. and Walsh, T.J. (1998): Clinical pharmacology of systemic antifungal agents: a comprehensive review of agents in clinical us, current investigational compounds, and putative targets for antifungal drug development, p. 343-500. In J. T. August, M. W. Anders, F. Murad, and J. T. Coyle (eds.), Academic Press, San Diego.
- Gull, K. and Trinci, A. P. J. (1973). Griseofulvin inhibits fungal mitosis. *Nature*, **244**:292-294.
- Gupta, A. K.; Einarson, T. R.; Summerbell, R. C. and Shear, N. H. (1988). An overview of topical antifungal therapy in dermatomycoses. A North American perspective. *Drugs.*, **55**:645–674.
- Gupta, A. K.; Konnikov, N.; MacDonald, P.; Rich, P.; Rodger, N. W.; Edmonds, M. W.; McManus, R. and Summerbell, R. C. (1998). Prevalence and epidemiology of toenail Onychomycosis in diabetic subjects: a multicentre survey. *Br. J. Dermatol.*, **139**:665–671.
- Hainer, B. L. (2003). Dermatophyte infections. *Am. Fam. physician.*, **67**: 101–108.
- Hann, L.M. and Prentice, H. G. (2001). Lipid-based amphotericin B: a review of the last 10 years of use. *Int. J. Antimicrob. Agents.* , **17**:161-169.
- Hay, R. J. (1983). Fungal skin diseases .*Postgraduate Doctor.*, **6**(11):576-584.

- Hay, R. J. (1986). Chronic dermatophyte infections In : Verbov, J.L.(ed) .New Clinical applications dermatology superficial fungal infections . Butler and Tanner Ltd . London, pp: 21-35.
- Hay, R. J. (2001). The future of Onychomycosis therapy may involve a combination of approaches. Br. J. Dermatol., **145** (Suppl. 60):3–8.
- Hay, R. J. and Mackenzie, J.D.W.R. (1987) .Fungal infections (Mycoses) in: Weatherall , D.J. Ledingham J.G.G. and Warrell ,D A. (eds). Oxford text book of Medicine 2nd edition, Oxford Medical publication., **1** : 675-678.
- Hiemenz, J. W. and Walsh, T. J. (1996). Lipid formulations of amphotericin B: Recent progress and future directions. Clin. Infect. Dis., **22**:S133-S144.
- Higgins, E. M.; Fuller, L. C. and Smith, C. H. (2000). Guidelines for the management of tinea capitis. British Association of Dermatologists. Br. J. Dermatol., **143**: 8-53.
- Hirschmann, J. V. and Raugi, G. J. (2000). Pustular tinea pedis. J. Am. Acad. Dermatol., **42**:132–133.
- Hoffbrand, B. J; Allan, H. B and Good C. S. Editors. (1974). Clotrimazole. Proc. of Conf. Royal Coll. of Physicians. Postgrad, Med. J. July, Suppl., 24-108.
- Hoffman, H. L.; Ernst, E. J. and Klepser, M. E. (2000). Novel triazole antifungal agents. Expert. Opin. Investig. Drugs., **9**:593-605.
- Hubbard, T. W. (1999). The predictive value of symptoms in diagnosing childhood tinea capitis. Arch. Pediatr. Adolesc. Med., **153**: 3-1150.
- Hugo, W. B. and Russell, A. D. (1989). Pharmaceutical microbiology.4th ed., Blackwell Scientific Publications. Boston-Melbourne ., **2**:43-58.

- Jackson, M. A., and Bothast, R. J. (1990). Carbon concentration and carbon-to-nitrogen ratio influence submerged-culture conidiation by the potential bioherbicide *Colletotrichum truncatum* NRRL 13737. Appl. Environ. Microbiol., **56**:3435-3438.
- Jawetz, C.; Melnick, J. L. and Adelburg, E. A. (1998). Review of Medical Microbiology. 21st ed. Appleton and Lange. USA.
- Jessup, C. J.; Warner, J. ; Isham, N.; Hasan, I. and Ghannoum, M. A. (2000) Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes: Establishing a Medium for Inducing Conidial Growth and Evaluation of Susceptibility of Clinical Isolates. J. Clin. Microbiol., **38**(1): 341-344.
- Just-Nubling, G.; Heise, W.; Rieg, G.; Dieckmann, S.; Enzensberger, W.; L'Lage, M.; Helm, E. B. and Stille, W. (1996). Triple combination of amphotericin B, flucytosine and fluconazole for treatment of acute cryptococcal meningitis in patients with AIDS. 3rd International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis, Abstract No. V5.
- King, D.; Cheever, L. W.; Hood, A.; Horn, T. D.; Rinaldi, M. G.; and Merz, W. G. (1999). Primary invasive cutaneous *Microsporium canis* infections in immuno compromised patients . J. of clin. Microbiol., **34**(2): 460-462.
- Knight, A. G. (1976). The effect of temperature and humidity on the growth of *Trichophyton mentagrophytes* spores on human stratum corneum in vitro. J. Clinical and Experimental Dermatology., **1**: 1-2.
- Koneman, E. W., Roberts, G. D. and Wright, S. E. (1978). Practical laboratory Mycology .The Williams and Wilkins company Baltimore .USA.

- Korting, H. C.; Ollert, M. W.; Abeck, D. and the German Collaborative Dermatophyte Drug Susceptibility Study Group. (1995). Results of German multicenter study of antimicrobial susceptibilities of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* strains causing tinea unguium. Antimicrob. Agents Chemother., **39**:1206-1208.
- Korting, H. C.; Schafer-Korting, M.; Zienicke, H.; Georgii, A. and Ollert, M.W. (1993). Treatment of tinea unguium with medium and high doses of ultramicrosize griseofulvin compared with that with itraconazole. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, **37**:2064-8.
- Kunert, J. (1988). Utilization of cystine by dermatophytes on glucose-peptone media. Folia Microbiol., **33**: 188-197.
- Kunert, J. (2000). Physiology of keratinophilic fungi. Revista Iberoamericana de Micologia., **1**: 77-85.
- Kurbanoglu, E. B. and Algur, Ö. F. (2002). Use of Ram Horn Hydrolyste as a peptone for bacterial growth. Turk. J. Biol.; **26**: 115-123.
- Kushwaha, R.K.S. (1981). Physiological studies of some common Indian keratinophilic molds. Proc. Nat. Acad. Sci. India., **51**: 105-106.
- Kwon-Chung, K. S. and Bennett. E. (1992). Medical Mycology. Williams and Wilkins, 2nd.ed.U. S. A.
- Larcher, G.; Cimon, B.; Symoens, F.; Trongchin, G.; Chabase, D. and Bouchara, J. (1996). A 33 Kda serine proteinase from *Scedosporium apiospermum*. J. Biochem., **315**: 119-126.
- Larone, D. H. (1996). Culture and identification of dermatophytes. Clin. Microbiol. Newsl., **18**:33-38.
- Larone, D. H.; Mitchell, E. and Walsh, T. J. (1999). In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

- Laurence, P. N. and Bennett, M. J. (1997). Clinical pharmacology. Inter. Stude .Edi of 8th . edition. Published.
- Leshner. J. L. (1999). Oral therapy of common superficial fungal infections of the skin. Journal of the American Academy of Dermatology., **40**: S31-4.
- Leyden, J. J. and Kligman, A. M. (1977). Interdigital athlete's foot: new concepts in pathogenesis. Postgrad Med., **61**:113–116.
- Lima, V. M. G.; Krieger, N.; Sarquis, M. I. M.; Mitchell, D. A.; Ramos, L. P. and Fontana, J. D. (2003). Effect of nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantio-griseum*. Food Technol. Biotechnol., **41**(2): 105-110.
- Lin, C.; Magat, J.; Chang, R.; McGlotten, J. and Symchowicz, S. (1973). Absorption, metabolism and excretion of ¹⁴C–grisofulvin in man. J. Pharmacol. Exp. Ther., **187**:415-422.
- Lionyel fry Fenella, T., Mojnarowska and Parvin, S. (1985). Illustrated Encyclopac Dia. of Dermatology. 2nd edition, pp 133-167.
- Lomer, C. J. and Lomer, C. H. (1997). Insect pathology manual., pp. 241.
- Maheshwari, R.; Bharadwaj, G. and Bhat, M. (2000). Thermophilic Fungi; their physiology and enzymes. Microbiology and Molecular Biology Review. **63**: 461-488.
- Marchisio, V. F. (2000). Keratinophilic fungi: Their role in nature and degradation of keratinic substrates. Revista Iberoamericana de Micrologia., 86-92.
- Marchisio, V. F.; Preve, L. and Tullio, V.(1996) Fungi responsible for skin mycoses in Turin (Italy). Mycoses; **39** : 141-150.

- Martin, A. G. and Koboyashi, G. S. (1999). Superficial fungal infection: dermatophytosis, tinea nigra, piedra. In: Freedberg, I. M. *et al.*, eds. Fitzpatrick's Dermatology in general medicine. 5th ed. New York: McGraw-Hill., **2**: 57-2337.
- Matsumoto, T. (1996). Fungal disease in dermatology. In: Principle and practice of clinical mycology, Kibbler, C. C.; Mackenzie, D. W. and Odds, F. C. (eds). J. wiley and Sons Ltd., USA. PP: 103-129.
- Matsumoto, T. and Ajello, J.L. (1987). Current taxonomic concepts Pertaining to the dermatophytes and Related fungi .Int. J. Dermatol., **26**:491-499.
- McGinnis, M. R. (1980). Laboratory handbook of Medical Mycology. Academic press, New York .
- McGinnis, M. R. (1985). Current topics in Medical Mycology. Vol.1. Springer-Verlag . New York.
- McGinnis, M. R., Pasarell, L.; Sutton, D. A.; Fothergil, A. W.; Cooper, C. R. and Rinaldi, M. G. (1998). In vitro activity of voriconazole against selected fungi. Med. Mycol., **36**:239-242.
- Meletiadiis, J.; Meis, J. F. G. M.; Mouton, J. W. and Verweij, P. E. (2001) Analysis of Growth characteristics of Filamentous Fungi in Different Nutrient Media. J. Clin. Microbi., **39**(2): 478-484.
- Meunier, J. R. and Grimont, P.A.D. (1993). Factors affecting reproducibility of random amplified polymorphic DNA fingerprinting. Res. Microbiol., **144**: 373-379.
- Michael, E. K. and Pharm, D. (2001). Antifungal resistance among *Candida* species .Pharmacotherapy., **21**:124-132.

- Mignon, B. R.; Swinnen, M.; Bouchara, J. P.; Hofinger, M.; Nikkels, A.; Pierard, G.; Gerday, C. H. and Losson, B. (1998). A Purification and characterization of a 31.5 kda Keratinolytic subtilisin-like serine protease from *Microsporum canis* and evidence of its secretion in naturally infected cats. Med. Mycology., **36**: 395-404.
- Millikan, L. E. (2001). Role of oral antifungal agents for the treatment of superficial fungal infections in immuno compromised patients. Cutis., **68**:6-14.
- Mock, M.; Monod, M.; Baudraz-Rosselet, F. and Panizzon, R. G. (1998). Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested in vitro and in vivo. Dermatology., **197**:361–367.
- Monod, M.; Jaccoud, S.; Zaugg, C.; Léchenne, B.; Baudraz, F. and Panizzon, R. (2002). Survey of dermatophyte infections in the Lausanne area (Switzerland). Dermatology., **205**: 201–203.
- Montero-Gei, F. (1998). Fluconazole in the treatment of tinea capitis. Int. J. Dermatol., **37**:870-871.
- Muhsin, T. M.; Aubaid, A. H. and Al-Duboon, A. H. (1997). Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolated on solid media. Mycoses., **40**: 455-469.
- Mukherjee, P. K.; Leidich, S. D.; Isham, N.; Leitner, I., Ryder, N. S. and Ghannoum, M. A. (2003). Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob. Agents Chemother., **47**:82–86.
- Myrvik, Q. N. and Weiser, R. S. (1988). Fundamentals of Medical Mycology and Bacteriology .2nd.edn., Lea and Febiger philladelphia.p:534-542.

- Nahas, E. and Terenzi, H. F. and Rossi, A. (1982). Effect of carbon source and pH on the production and secretion of acid phosphatase (EC 3.1.3.2) and alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1) in *Neurospora crassa*. J. Gen. Microbiol., **128**: 2017-2021.
- Nenoff, P. and Haustein, U. K. (1997). Tinea corporis due to *Trichophyton tonsurans* Malmsten report of a patient aus Zaire. Mycoses., **40**: 127-129.
- Niewerth, M., and Korting, H. C. (2000). The use of systemic antimycotics in dermatotherapy .Eur. J. Dermatol., **10**:155-160.
- Noble, S. L.; Forbes, R. C. and Stamm, P. L. (1998). Diagnosis and management of common tinea infections. Am. Fam. Physician., **58**: 8-177.
- Norris, H. A.; Elewski, B. E. and Ghannoum, M. A. (1999). Optimal growth conditions for determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of a microdilution method. J. Am. Acad. Dermatol., **40**:S9-S13.
- Nothan, P.; Law, E. J. and Murph, D. F. (1978). A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. J. Burns., **4**:177-187.
- O'Connor, J. C.; Frame, S. R. and Ladies, G. S. (2002). Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. Toxicol. Sci., **69**:79-91.
- Odds, F. C.; Ausma, J.; Van Gerven, F.; Meerpoel, L.; Heeres, J.; Vanden Okeke, C. N. and Gughani, A. C. (1987). In vitro sensitivity of environmental of pathogenic dermtiaceous fungi to azole compounds aphenylpropyl morpholine derivative. Mycopathalogia., **99**: 175-181.

- Owen, M. W.; Green, D. S. and George, R. B. (2004) .Treatment of fungal pneumonia Lesson 22., 15.
- Padhye, A. A.; Young, C. N. and Ajello, L. (1980). Hair perforation as a diagnostic criterion in the identification of *Epidermophyton*, *Microsporum* and *Trichophyton* species. Fifth International Conference on the Mycoses, Caracas, pp. 115-120.
- Palecek, S. P.; Parikh, A. S. and Kron, S. J. (2002). Sensing, Signalling and integrating physical processes during *Saccharomyces cerevisiae* invasive and filamentous growth. Microbiol., **148**: 893-907.
- Patel, R. (2000). Prophylactic fluconazole in liver transplant recipients: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial (Reprinted from Ann Intern Med, vol 131, pg 729-737, 1999). Liver Transplant., **6**:376-379.
- Peacock, J. E.; Herrington, D. A. and Cruz, J. M. (1993). Amphotericin B therapy: past, present, and future. Infect. Dis. Clin. Pract., **2**:81-93.
- Pelezar, M. J.; Chan , E. C. and Krieg, N. R. (1986). Microbiology. 5th ed. McGraw- Hill book company. USA.
- Perea, S.; Fothergill, A. W.; Sutton, D. A. and Rinaldi, M. G. (2001). 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.
- Polak, A. and Scholer, J. H. (1975). Mode of action of 5-fluorocytosine and mechanisms of resistance. Chemotherapy., **21**:113-130.
- Pomerantz, S.; Singh, V. R. and Sarosi, G. A. (1993).The role of new drugs in the treatment of fungal diseases. Pulm. Crit. Care Update., **8**(29): 1-5 .

- Ramon, A. M.; Porta, A. and Fonzi, W. A. (1999). Effect of Environmental pH on Morphological Development of *Candida albicans* Is Mediated Via The Pac C-Related Transcription Factor Encoded by *PRR2*. J. of Bacteriol., **181**(24): 7524-7530.
- Rex, J. H. Rinoldi, M. G. and Pfaller, M. A. (1995). Resistance of *Candida* species to fluconazole. Antimicrob. Agents chemother., **39**: 1-8.
- Rinaldi, M. G. (1983). Invasive Aspergillosis. Rev. infect. Dis., 5: 1061-1077.
- Rippon, J. W. (1979). Medical Mycology: The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. In: Freeman, Bob A. Burrows. Text book of Microbiology 21St edition W. B. Saunders Co. Philadelphia pp. 717-784.
- Rippon, J. W. and LeBeau, L. J. (1965). Germination and initial growth of *Microsporum audouinii* from infected hairs. Mycopathologia., **26**: 273-288.
- Roberts, D. T. J. (1997). Oral terbinafine (Lamisil) in the treatment of fungal infections of the skin and nails. Dermatology., **194**:37-39.
- Roberts, G. D. (1990). Laboratory method in basic mycology In: Baily and Scoffs : Diagnostic Microbiology (Ed. E.J. Barron and S.M. Fmegold). The C.V. Mosby Co.
- Roberts, S. O. B and Mackenzie, D. W. R. (1986). Mycology In: Rook, A. J. Wilknsn, D. S. , Eblmg, F. J. G., Champion , R. H. and Burton , J. L. (eds). Text book of dermatology. Vol 2, 4th(ed). Black Well scientific publication . London .pp. 885-896.
- Rosen, T. (1997). Dermatophytosis: diagnostic pointers and therapeutic pitfalls. Consultant., 37: 57-1545. Sabouraudia., **12**: 352-361.
- Samdani, A. J. and Al-Bitar, Y. (2003) The effect of proteinases (keratinases) in the pathogenesis of dermatophytes infection using electron microscope. Pakistan J. Med. Sci., **19**(4): 264-267.

- Santos, D. A. and Hamdan, J. S. (2005). Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. J. Clin. Microbiol., **43**: 1917-1920.
- Santos, D. A.; Barros, M. E. S. and Hamdan, J. S. (2006). Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. J. Clin. Microbiology., **44**: 98-101.
- Sawyer, P. R.; Brogden, R. N.; Pinder, R. M.; Splight, T. M. and Avery, G. S. (1975). Clotrimazole: A Review of its Antifungal Activity and Therapeutic Efficacy. Drugs., **9**:424-427.
- Schisler, D. A., Jackson, M. A., and Bothast, R. J. (1991). Influence of nutrition during conidiation of *Colletotrichum truncatum* on conidial germination and efficacy in inciting disease in *Sesbania exaltata*. Phytopathology., **81**:587-590.
- Schnell, J. D. (1974). The incidence of vaginal *Candida* and *Trichomonas* infections and treatment of Trichomonas vaginitis with Clotrimazole. Postgrad Med. J. July Suppl., 79-81.
- Schopf, R.; Hettler, O.; Brautigam, M; Weidinger, G.; Kaben, U.; Mayser, H. and Resl, V. (1999). Efficacy and tolerability of terbinafine 1% topical solution used for 1 week compared with 4 weeks clotrimazole topical solution in the treatment of interdigital tinea pedis: a randomized double-blind, multi-center, 8- week clinical trial. Mycoses., **42**: 415-420.
- Sheehan, D. J.; Hitchcock, C. A. and Sibley, C. M. (1999). Current and emerging azole antifungal agents. Clin. Microbiol. Rev., **12**:40-79.

- Shimokawa, O. and Nakayama, H. (1999). Acetate-Mediated Growth Inhibition in Sterol 14 α -Demethylation-Deficient Cells of *Candida albicans*. J. Antimicrob. Agents. Chemother., **43**(1): 100-105.
- Sinski, J. T.; Kelley, L. M.; Flynt, P. M. and Miegel, J. (1977). Dermatophyte isolation Media: Quantitative Appraisal using skin scales infected with *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*, J. clinical Microbiol., **5**(1): 34- 38.
- Smith, K. J; Skelton, H. G; Yeager, J.; Ledsy, R.; McCarthy, W.; Baxter, D.; Turiansky, G. W.; Wagner, K. F. and Turianski, G. (1994). Cutaneous findings in HIV-1-positive patients: a 42-month prospective study. Military Medical Consortium for the Advancement of Retroviral Research (MMCARR). J. Am. Acad. Dermatol., **31**:746–754.
- Stevens, D. A. (1995). Coccidioidomycosis. N. Engl. J. Med ., **332**:1077-82
- Sutton, D. A.; Fothergill, A. W. and Rinaldi, M. G. (1998). Clinically Significant Fungi, 1st ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Takasuka, T. (2000). Amino acid or protein dependent growth of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. FEMS Immnuol. and Med. Microbiol., **29**(4): 241-245.
- Tanner, R. S. (1997). Cultivation of bacteria and fungi. In: Manual of environmental microbiology (ed. Hurs, C.J.; Knudsen, G.R.; McInerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. and Walter, M.V.) American Society for Microbiology, Washington. pp. 52-60.
- Tatsumi, Y.; Yokoo, M.; Arika, T. and Yamaguchi, H. (2001). In vitro antifungal activity of KP-103, a novel triazole derivative, and it's therapeutic efficacy against experimental plantar tinea pedis and cutaneous candidiasis in guinea pigs. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., **45**: 1493-1499.

- Terrell, G. L. and Hughes, C. E. (1992). Antifungal agents used for deep-seated mycotic infections. Mayo clin proc., **67**:69-91.
- Thomas, K. C., Khachatourians, G. G., and Ingledew, W. M. (1987). Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture. Can. J. Microbiol., **33**:12-20.
- Ulifig, K. (2003). Studies of Keratinolytic and Keratinophilic Fungi in Sewage Sludge by Means of a Multi-Temperature Hair Baiting Method. J. Environmental studies., **12**: 461-466.
- Van der Merr, J. W.; Keuning, J. J.; Scheijgrond, H. W.; Heykants, J.; Van Cutsem, J. and Brugmans, J. (1980). The influence of gastric acidity on the bioavailability of ketoconazole. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., **6**:552-554
- Vanden Bossche, H.; Engelen, M. and Rochette, F. (2003). Antifungal agents of use in animal health—chemical, biochemical and pharmacological aspects. J. Vet. Pharmacol. Ther., **26**:5–29.
- Vanden Bosseche, H.; Ausma, J.; Bohets, H.; Vermuyten, K.; Willemsens, G.; Marichal, P.; Meerpoel, L.; Odds, F. and Borgers, M. (2004). The novel azole R126638 is a selective inhibitor of ergosterol synthesis in *Candida albicans*, *Trichophyton* spp. and *Microsporum canis*. Antimicrobial agents and Chemotherapy., **48**: 3272-3278.
- Vandewoude, K.; Vogelaers, D.; Decruyenaere, J.; Jaqmin, P.; De Beule, K.; Van Peer, A.; Woestenborghs, R.; Groen, K. and Colardyn, F. (1997). Concentrations in plasma and safety of 7 days of intravenous itraconazole followed by 2 weeks of oral itraconazole solution in patients in intensive care units. Antimicrob. Agents Chemother., **41**:2714-8.
- Vasquez, M. D.; Jose, A. and FACP, F1DSA. (2004). Treatment of Candidiasis in Hospitalized patients. Current Science, Inc. 1-12.

- Velho, G.; Lopess, V.; Amorim, M. L.; Cardoso, L.; Massa, A. and Amorin, J. M. (2000). Dermatophytes isolated at H. G. Santo Antonio, Portugal. Rev. Iberoam. Micol., 17: 139.
- Voss, A. and Depauw, B. E. (1999). High-dose Fluconazole therapy in patients with severe fungal infection. Eur. J. Clin. Microbial. Infection. Dis., **18**: 165-174.
- Walsh, T. J.; Rubin, M.; Hathorn, J.; Gress J.; Thaler, M.; Skelton, J.; McKnight, J.; Browne, M.; Marshall, D. and Cotton, D. (1991). Amphotericin B vs high-dose ketoconazole for empirical antifungal therapy among febrile, granulocytopenic cancer patients. A prospective, randomized study. Arch. Intern. Med., **151**:765-70.
- Wasan, K. M. (1997). Diversity of lipid-based polyene formulation and their behavior in biological systems. Eur. J. Clin. Microbial. infection. Dis., **16**: 81-92.
- Watanabe, S. (1999). Present state and future direction of topical antifungals. Japanese Journal of Medical Mycology., 40: 5-151.
- Weitzman, I. and Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. Clin. Microbiol. Rev., **8**(2): 240-25.
- Weitzman, T.; McGmms, M. R.; Padhye, A. A. and Ajello, L. (1986). The Genus *Arthroderma* and its later synonym *Nannizzia*. Mycotaxon., **2**:505-518.
- Wetter, T. J. (2004). Advances in yeast and mold mono-drug and combination drug antifungal susceptibility testing. Microbiology. Ph. D. Thesis. Montana state University .
- Wheat, L. J. (1994). Endemic Mycosis in AIDS. Infect. Dis. Clin. North. Amer.

- Wildfeuer, A.; S'eidl, I. P.; Paule, I. and Ifaberreilcr, A. (1998). In vitro evaluation of voriconazole against clinical isolates of yeasts, moulds and dermatophytes in comparison with itraconazole, ketoconazole, amphotericin B and griseofulvin. *Mycoses.*, **41**:309-319.
- Williams, L.; Van Der Geest, R. and De Beule, K. (2001). Itraconazole oral solution and intravenous formulations: a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J. Clin. Pharm .Then.*, **26**:159-169 .
- Wong-Beringer, A.; Jacobs, R. A. and Guglielmo, B. J. (1998). Lipid formulations of amphotericin B: Clinical efficacy and toxicities. *Clin. Infect. Dis.*, **27**:603-618.
- Wyss, G. S.; Charudattan, R. and DeValerio, J. T. (2001). Evaluation of Agar and Grain Media for Mass Production of Conidia of *Dactylaria higginsii*. *Plant Dis.*, **85**:1165-1170.
- Zaias, N. (1972) . Onychomycoses. *Arch. Dermatol.*, **105**:263-274 .
- Zhou, H. H.; Goldman, M.; Wu, J.; Woestenborghs, R.; Hassell, A. E.; Lee, P.; Baruch, A.; Pesco-Koplowitz, L.; Borum, J. and Wheat, L. J. (1998). A pharmacokinetic study of intravenous itraconazole followed by oral administration of itraconazole capsules in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *J Clin Pharmacol.*, **38**:593-602.
- Ziegler, H. and Böhme, H. (1962). Untersuchungen über den Stoffwechsel der Dermatomyzeten. *Mykosen.*, **5**: 1-17.
- Ziegler, H. and Böhme, H. (1969). Über die active Alkalisierung des Terrains als physiologisches Prinzip bei der Keratinolyse durch Dermatophyten. *Dermatol. Monatsschrift.*, **155**: 178-181.

- Zuber, T. J. and Baddam, K. (2001). Superficial fungal infection of the skin. Where and how it appears help determine therapy. Postgrad. Med., **109**(1): 2-131.