



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ميسان / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التوصيف المظهري والجزئي للفطريات الجلدية المعزولة من المرضى المصابين بالفطريات الجلدية ودراسة بعض فعاليتها الايضية في مركز محافظة ميسان

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم / جامعة ميسان

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة

من قبل

مهند مهدي محمد

بكالوريوس علوم الحياة / جامعة ميسان

(2016)

بإشراف

أ.د. علي عبد الواحد قاسم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا)

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيِّ الْعَظِيمِ

(من سورة الإسراء ، الآية : 85)

توصية الأستاذ المشرف

أقر أن اعداد هذه الرسالة المقدمة من قبل الطالب مهند مهدي محمد والموسومة (التوصيف المظهري والجزيئي للفطريات الجلدية المعزولة من المرضى المصابين بالفطريات الجلدية ودراسة بعض فعاليتها الايضية في مركز محافظة ميسان) جرى تحت اشرافي في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ميسان كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

التوقيع :

أسم المشرف : أ. د. علي عبد الواحد قاسم

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2019 م

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصية المقدمة من قبل الاستاذ المشرف أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :

أسم المشرف : أ. م. د. زاهد عزيز سعدون

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2019 م

الإهداء

إلى الذي كللت أنا مله ليقدّم لي السعادة

... أبي

إلى التي علمتني الصمود مهما تبدلت الظروف

... أمي

إلى الذين أثروني على أنفسهم وأظهروا ما هو أجل من الحياة

... إخوتي

إلى الإنسانية التي علقت عليها آمالي في اجنيّاز هذا الدرب الطويل إلى رفيقة دربي

... زوجتي

إلى الذين كانوا معي على طريق الخير والنجاح إلى من عرفت كيف أجدهم

... أصدقائي

إلى الأيادي التي ساعدتني لكي أسير وأصل إلى ما أنا به حتى كتابة هذه السطور

... أساتذتي

أهدي الجميع ثمرة جهدي

الشكر والتقدير

الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحاً لذكره ، وخلق الاشياء الناطقة بحمده وشكره ،
والصلاة والسلام على اشرف الانبياء والمرسلين محمد وال بيته الطيبين الطاهرين .

كما يدعوني الواجب ان اقدم شكري وتقديري إلى عمادة كلية العلوم وبالأخص الأستاذ
الدكتور صبيح جاسم المحترم لتقديمها كافة التسهيلات لطلبة الدراسات العليا ، ووافر الشكر
والامتنان إلى السيد رئيس قسم علوم الحياة السابق الأستاذ المساعد الدكتور زاهد سعدون
عزيز وإلى جميع كادر قسم علوم الحياة .

وانا انهي هذا الجهد المتواضع لابد لي القول من دواعي العرفان بالجميل أن اقدم
بشكري وتقديري لأستاذي الفاضل الاستاذ الدكتور علي عبد الواحد قاسم لاقتراحه موضع
الرسالة والاشراف عليها وإغنائها بالتوصيات والارشادات السديدة والمصادر العلمية القيمة
وتوفير المستلزمات العلمية المطلوبة وتذليل المعوقات كافة خلال مده كتابة الرسالة .

كما اعبر شكري إلى كل من الدكتور محمد سلمان والدكتورة هدى علي والطبيبة حوراء
كريم وجميع العاملين في استشارية الامراض الجلدية في مستشفى الصدر التعليمي لما ابدوه
من مساعدة في جمع العينات.

ولا انسى المدرس المساعد شيماء ربيع بعنون لما بذلته من تعاون في اجراء فحوصات الـ
DNA ، كما اتقدم بشكري الى الدكتور ميثم عبد الكاظم لما ابداه من مساعده في التشخيص
الجزئي .

واقدم شكري الجزيل الى اخي و صديقي حسين حميدي لما قدموه لي من مساعدة في كتابة
هذه الرسالة وتنضيدها .

واشكر زملائي طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة واشكر كل من أسهم في انجاز هذا
البحث ولو بكلمة طيبة .

الخلاصة

هدفت الدراسة الى التعرف على الفطريات الجلدية التي تصيب الاشخاص المصابين والذين يراجعون مستشفى الصدر التعليمي والفترة من كانون الاول 2018 لغاية أيار 2019 .

شخصت الفطريات الجلدية بالطريقة التقليدية من خلال الفحوصات المظهرية لمستعمرات الفطريات الجلدية المعزولة فضلاً عن دراسة الصفات المجهرية من خلال ملاحظة اشكال الأبواغ وأبعادها وشكل الحوامل الكونيدية.

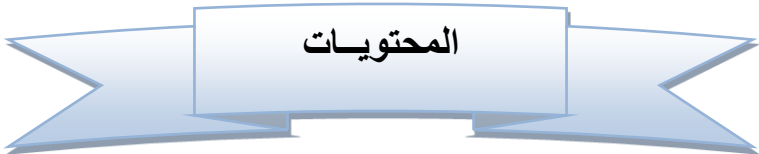
وبينت نتائج الفحوصات المظهرية للفطريات الجلدية المعزولة انها تعود الى أجناس *Epidermophyton* و *Microsporum* و *Trichophyton* وسجل 12 نوع تابع لهذه الأجناس الثلاثة وهي *M. canis var.distortum* ، *M. canis var.equinum* ، *M. audouinii* ، *E. floccosum* ، *T. interdigitale* ، *T. erinacei* ، *T. equinum* ، *T. ajelloi* ، *M. persicolor* ، *M. nanum* ، *T. rubrum* ، *T. mentagrophytes* ووجد ان نسبة إصابة الذكور اعلى مما هي عليه في الإناث.

وأظهرت النتائج ان الفطر *T. interdigitale* هو الأكثر إصابة للأفراد الذين خضعوا للفحص وأن سعة الجسم هي أنواع الإصابات ظهوراً من جانب اخر كانت الفئة العمرية الصغيرة والتي تتراوح 6 اشهر – 9 سنوات هي أكثر الفئات العمرية إصابة ، كذلك بينت النتائج أن أكثر الإصابات الفطرية انتشارا في شهر كانون الأول.

وأظهرت النتائج أن جميع رواشح الفطريات الجلدية المختبرة *M. audouinii* ، *T. interdigitales* ، *T. rubrum* ، *T. erinacei* لها القدرة على إنتاج المركبات الفعالة فوجد جميع ان الفطريات المختبرة لها القدرة على إنتاج المركبين *Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione* و *hexahydro-Cyanoacetylure*

كما أظهرت النتائج إن جميع الفطريات الجلدية المختبرة تمتلك قدرة مختلفة على إنتاج الانزيمات *Phospholipase* و *Lipase* و *Elastase* و *Protease* ووجد أن الفطرين *M. nanum* و *T. mentagrophytes* لها القدرة على إنتاج جميع الانزيمات المختبرة .

وتم استخلاص الـ DNA لـ 12 نوع من الفطريات الجلدية المدروسة حيث استخدمت في الدراسة الجزيئية وباستخدام منطقة ITS1 و ITS4 وأربع بادئات متخصصة OPAA11، OPU15، OPAA17، OPD18 حيث أظهرت الدراسة الجزيئية أن جميع البادئات المستخدمة قد ضخمت الشريط الوراثي DNA للفطريات المدروسة حيث ظهرت الحزم في الموقع 550-750 bp وكان عدد الحزم الكلي 579 حزمة وأظهر البادئ OPAA17 أعلى تشكّل وراثي 18.2% اما البادئ OPAA11 فأظهر أقل تشكّل وراثي 7.7% كذلك عملت الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات الجلدية المدروسة وباستخدام برنامج MEGA المتخصص برسم الخرائط الوراثية حيث أظهرت نتائج الشجرة الوراثية انها تتألف من مجموعتين جينية متقاربتين ضمنت المجموعة الجينية الأولى العزلات *Microsporum canis* ، *Trichophyton ajelloi* ، *var.equinum* و المجموعة الجينية الثانية فشملت العزلات *Trichophyton interdigitale* ، *Trichophyton rubrum* ، *Trichophyton erinacei*.



المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
الفصل الأول : المقدمة واستعراض المراجع		
1	المقدمة Introduction	1-1
2	نبذة تاريخية عن الفطريات الجلدية الخيطية History of Dermatophytes	2-1
4	تصنيف الفطريات الجلدية الخيطية Classification of Dermatophytes	3-1
4	الوصف المظهري للفطريات الجلدية الخيطية Morphology of Dermatophytes	4-1
4	الجنس <i>Epidermophyton</i>	1-4-1
5	الجنس <i>Microsporum</i>	2-4-1
5	الجنس <i>Trichophyton</i>	3-4-1
5	بيئة الفطريات الجلدية الخيطية Ecology of Dermatophytes	5-1
6	الفطريات الجلدية المحبة للحيوان Zoophilic dermatophytes	1-5-1
6	الفطريات الجلدية المحبة للتربة Geophilic dermatophytes	2-5-1
6	الفطريات الجلدية المحبة للإنسان Anthropophilic dermatophytes	3-5-1
6	وبائية الفطريات الجلدية الخيطية Epidemiology of Dermatophytes	6-1
8	طرق انتقال الفطريات الجلدية Transmission route of Dermatophytes	7-1

9	Clinical Forms Of الأشكال السريرية للفطريات الجلدية الخيطية Dermatophytoses	8-1
9	Tinea corporis (Ring worm of the body) سعفة الجسم	1-8-1
10	Tinea pedis سعفة القدم	2-8-1
11	Tinea cruris سعفة المغبن	3-8-1
11	Tinea mannum سعفة اليد	4-8-1
12	Tinea unguium سعفة الأظفر	5-8-1
13	Tinea faciale سعفة الوجه	6-8-1
13	Tinea Barbae سعفة الذقن	7-8-1
14	Tinae Capitis سعفة الرأس	8-8-1
15	الطرائق الجزيئية في تشخيص الفطريات الجلدية الخيطية Molecular methods of dermatophytes identification	9-1
16	تشخيص المركبات الفعالة في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	10-1
16	قابلية الفطريات الجلدية لإنتاج الانزيمات على الاوساط الصلبة	11-1
17	Virulence Factors in عوامل الضراوة في الفطريات الجلدية dermatophytes	12-1
18	Adhesion الالتصاق	1-12-1
18	Invasion الغزو	2-12-1
19	The Aim of study الهدف من الدراسة	13-1
الفصل الثاني : المواد وطرائق العمل		
20	المواد	1-2

20	الأجهزة والمعدات Equipment and Instrument	1-1-2
21	المواد الكيميائية Chemical Materials	2-1-2
22	الأوساط الزرعية Culture media	3-1-2
22	طرائق العمل Methods	2-2
22	جمع العينات Samples Collection	1-2-2
22	تحضير الاوساط الزرعية	2-2-2
22	وسط سابرويد دكستروز اكار Sabourauds Dextrose Agar	1-2-2-2
23	وسط مرق السابرويد _ دكستروز Sabourauds Dextrose Broth(SDB)	2-2-2-2
23	وسط Trypticase Soy Agar (TSA)	3-2-2-2
23	وسط اللايبيز Lipase	4-2-2-2
23	وسط الاكار المغذي المدعم باللسثين	5-2-2-2
23	وسط Nutrient Agar مع Gelatin	6-2-2-2
24	التعقيم Sterilization	7-2-2-2
24	تحضير محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH بتركيز 10 %	3-2-2
24	الفحص المجهرى المباشر Direct microscopic examination	4-2-2
24	زرع العينات Culturing of Specimens	5-2-2
24	فحص المستعمرات الفطرية وتشخيصها	6-2-2
24	تنقية عزلات للفطريات	1-6-2-2

24	الفحص المظهري لتراكيب الفطريات	2-6-2-2
25	الفحص المجهرى لتراكيب الفطريات	3-6-2-2
25	حساب النسب المئوية للتردد Frequency percentage	7-2-2
25	الكشف عن المركبات الكيماوية في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية GC-MS	8-2-2
26	قياس الفعالية الانزيمية لبعض الانواع الفطرية	9-2-2
26	الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Elastase	1-9-2-2
26	الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Lipase	2-9-2-2
26	الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Phospholipase	3-9-2-2
26	الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم (Protease) (Gelatinase)	4-9-2-2
26	الدراسة الجزيئية للفطريات الجلدية Molecular study of dermatophytes	10-2-2
26	استخلاص الـ DNA من الفطريات المعزولة	1-10-2-2
26	الترحيل الكهربائي للـ DNA Electrophoresis of DNA	2-10-2-2
27	مكونات مزيج PCR master mix	3-10-2-2
27	اختبار تفاعل سلسلة انزيم البلمرة Polymerase chain reation (PCR)	4-10-2-2
الفصل الثالث : النتائج والمناقشة		
29	عزل وتشخيص الفطريات الجلدية Isolation of Dermatophytes and Identification	1-3

31	Classification of Dermatophytes تصنيف الفطريات الجلدية	2-3
45	الإصابة بالفطريات الجلدية حسب الجنس والعمر	3-3
47	الإصابة بالفطريات الجلدية حسب مناطق الجسم	4-3
48	الإصابة بالفطريات الجلدية حسب أشهر السنة	5-3
49	الكشف عن المركبات الكيميائية في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية GC-MS	6-3
51	قابلية الفطريات الجلدية لإنتاج الانزيمات على الاوساط الصلبة	7-3
59	استخدام تقنية (PCR) لتشخيص عزلات الفطريات الجلدية	8-3
59	ITS- PCR	1-8-3
59	RAPD – PCR	2-8-3
61	الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات الجلدية المدروسة	3-8-3
الاستنتاجات والتوصيات		
65	الاستنتاجات	
66	التوصيات	
67	المصادر العربية	
68	المصادر الأجنبية	
I	الملاحق	

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1-2	يمثل الأجهزة والمعدات المختبرية التي استخدمت أثناء مدة الدراسة مع أسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ	20
2-2	يمثل جميع المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ	21
3-2	الأوساط الزرعية المستخدمة أثناء الدراسة	22
4-2	يمثل مكونات مزيج الـ PCR master mix للـ ITS-PCR (ITS1 و ITS4)	27
5-2	يمثل مكونات مزيج الـ PCR master mix للـ RAPD-PCR (OPU15 و OPD18، OPAA17 ، OPAA11)	27
6-2	تتابع القواعد النيروجينية في البادئات Primers المستخدمة في عملية التضخيم	28
7-2	برنامج عملية التضخيم للـ PCR للبادئات ITS1 و ITS4	28
8-2	برنامج عملية التضخيم للـ PCR للبادئات OPAA17 ، OPAA11 ، OPU15 و OPD18	28
1-3	الانواع الفطرية المعزولة خلال الدراسة	29
2-3	النسب المئوية للفئات العمرية للأشخاص المصابين بالفطريات الجلدية	45
3-3	مناطق الإصابة بالفطريات الجلدية والنسبة المئوية للأشخاص المصابين	47
4-3	عدد العزلات و النسبة المئوية للإصابة بالفطريات الجلدية حسب أشهر السنة	48
5-3	انواع المركبات الكيميائية المشتركة المنتجة من قبل الفطريات المختبرة	49
6-3	قابلية الفطريات على إنتاج الانزيمات في الأوساط الصلبة	52

59	التشخيص الجزيئي للفطريات الجلدية المدروسة	7-3
60	اعداد الحزم والتنوع والتشكل الوراثي للبادئات RAPD المستخدمة في تضخيم الشريط الوراثي	8-3

قائمة الاشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
9	خطوات دخول الفطريات الجلدية إلى جسم المضيف	1-1
10	سعة الجسم	2-1
11	سعة القدم	3-1
11	سعة المغبن	4-1
12	سعة اليد	5-1
12	سعة الأظفر	6-1
13	سعة الوجه	7-1
14	سعة الذقن	8-1
15	سعة الرأس	9-1
32	<i>M.canis var.equinum</i> : B – A : المستعمرات على وسط SDA ، D -C : الجهة الخلفية للمستعمره ، E – G : الكونيدات الكبيرة للفطر ، H : الأبواغ الكلاميدية.	1-3
34	<i>M.audouinii</i> : B – A : المستعمرات على وسط SDA ، D -C : الجهة الخلفية للمستعمره ، E : الكونيدة الكبيرة للفطر ، F : الأبواغ الكلاميدية ، G – H : الخيوط الفطرية.	2-3
35	<i>M.canis var.distortum</i> : B – A : المستعمرات على وسط SDA ، D -C : الجهة الخلفية للمستعمره ، E - F : الكونيدات الكبيرة للفطر ، G : الخيوط الفطرية ، H : الخيوط الفطرية	3-3

36	<i>M. persicolor</i> A : المستعمره على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الكبيرة والصغيرة.	4-3
37	<i>M. nanum</i> A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرات ، C : الكونيدات الكبيرة والصغيرة.	5-3
38	<i>T. rubrum</i> A : المستعمرة على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الصغيرة للفطر.	6-3
39	<i>T. interdigitale</i> A - B : المستعمرات على وسط SDA ، C - D : الجهة الخلفية للمستعمرة ، E - F : الكونيدات الصغيرة للفطر ، G : الكونيدات الكبيرة ، H : الأبواغ الكلاميدية.	7-3
41	<i>T. equinum</i> A - B : المستعمرات على وسط SDA ، C - D : الجهة الخلفية للمستعمرة ، E : الخيوط الفطرية ، F - G : الكونيدات الصغيرة للفطر	8-3
42	<i>T. mentagrophytes</i> A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الكبيرة و الكونيدات الصغيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر .	9-3
43	<i>T. erinacei</i> A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الصغيرة للفطر	10-3
44	<i>T. ajelloi</i> A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر	11-3
45	<i>E. floccosum</i> A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الكبيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر .	12-3
53	قابلية <i>M. nanum</i> على إنتاج انزيمات A : Elastase ، B : Lipase ، C : Protease ، D : Phospholipase	13-3
54	قابلية <i>T. mentagrophytes</i> على إنتاج انزيمات A : Elastase ، B : Lipase ، C : Protease ، D : Phospholipase	14-3
55	إنتاج انزيم Lipase بواسطة A : الفطر <i>T. ajelloi</i> B : الفطر <i>M. canis</i> C : الفطر <i>T. rubrum</i>	15-3
56	إنتاج انزيم Protease بواسطة A : الفطر <i>T. interdigitale</i> B : الفطر <i>M. persicolor</i> C : الفطر <i>T. equinum</i>	16-3

57	قابلية <i>T.erinacei</i> على إنتاج انزيمات Elastase :B ، Lipase :A ، Phospholipase :C	17-3
58	قابلية <i>M.audouinii</i> على إنتاج انزيمات Elastase :A ، Lipase :B ، Protease :C	18-3
59	نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام البادئات (iTs1 ، iTs4) . Markar :M :1 ، <i>E.floccosum</i> :4 ، <i>T.interdigitale</i> :2 ، <i>T.equium</i> :3 ، <i>M.audouinii</i> :6 ، <i>M.persicolor</i> :5 ، <i>T.mentagrophytes</i> :7 ، <i>M.audouinii</i> :8 ، <i>M.canis</i> var. <i>distortum</i> :9 ، <i>T.erinacei</i> :10 ، <i>M.canis</i> var. <i>equinum</i> :11 ، <i>M.nanum</i> :12 ، <i>T.interdigitale</i> :13 ، <i>T.rubrum</i> :14 ، <i>T.mentagrophytes</i> :15	19-3
61	نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام تقنية RAPD باستعمال البادئات (OPAA11 و OPU15 و OPAA17 و OPD 18) . Markar :M :1 ، <i>E.floccosum</i> :4 ، <i>T.mentagrophytes</i> :3 ، <i>M.persicolor</i> :2 ، <i>M.audouinii</i> :4 ، <i>T.mentagrophytes</i> :5 ، <i>M.canis</i> var. <i>distortum</i> :6 ، <i>T.mentagrophytes</i> :7 ، <i>M.canis</i> var. <i>distortum</i> :8 ، <i>T.mentagrophytes</i> :9 ، <i>M.audouinii</i> :10 ، <i>T.ajelloi</i> :11 ، <i>T.equinum</i> :12 ، <i>M.audouinii</i> :13 ، <i>M.canis</i> var. <i>equinum</i> :14 ، <i>T.rubrum</i> :15 ، <i>T.interdigitale</i> :16	20-3
62	الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات الجلدية المدروسة	21-3
63	عدد الحزم المتشكلة لكل بادئ باستخدام تقنية PCR-RAPD للفطريات المدروسة	22-3
64	عدد الحزم المفردة والمزدوجة للبادئات المستخدمة للفطريات المدروسة	23-3

قائمة المختصرات

المختصر	المعنى
DNA	Deoxyribonuclei acid
ITS	Internal transcribed spacer
SDA	Sabouraud Dextros Agar

SDB	Sabouraud Dextros broth
UV	Ultra-violet
TSA	Trypticase Soy Agar
KOH	Potassium hydroxide
GC-MS	Gas chromatography- mass spectrometry

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

Introduction and Literature

Review

1-1: المقدمة Introduction

تعرف الإصابات الفطرية الناتجة عن الفطريات الجلدية Dermatophytes بعدة أسماء منها القوباء الحلقية Ring worm أو الفطار الجلدي Dermatophytosis أو السعفة Tinea وهي أمراض جلدية شديدة العدوى للإنسان والحيوان (Pal, 2017) ، إذ تعد الإصابة بالفطريات الجلدية من الإصابات الأكثر شيوعاً في جميع أنحاء العالم وتقدر بحوالي 20-25 % من الإصابات الجلدية (Sahoo and Mahajan, 2016).

تقسم الفطريات الجلدية حسب البيئة التي تفضلها الى ثلاثة أنواع هي : الفطريات المحبة للحيوان (Zoophilic) و الفطريات المحبة للتربة (Geophilic) والفطريات المحبة للإنسان (Anthropophilic) (Ziolkowska et al., 2015)، وتضم هذه الفطريات ثلاثة أجناس هي *Microsporum* و *Trichophyton* و *Epidermophyton* ، والإصابة بهذه الأجناس الفطرية تحدث في الجلد وملحقاته كالشعر والأظافر (Reddy, 2017). وتقدر الكلفة السنوية لعلاج الإصابات حوالي 500 مليون دولار على مستوى العالم وتأتي هذه الأمراض بالمرتبة الثانية من بين الأمراض التي تصيب الجلد (El- Diasty et al., 2013).

وتفرز الفطريات الجلدية الخيطية العديد من المواد الأيضية التي تساهم في حدوث الإصابة ومنها الانزيمات ، وكلما كان هناك قدرة عالية لإنتاج هذه الانزيمات كلما كان هناك شراسة وضراوة عالية للفطر المحدث للإصابة ، وقد تسبب تقرحات تسمى Kerion وعادة ما ترافق هذه الحالة الفطريات التي تهاجم الإنسان والتي تأتي من مصدر حيواني لأن جلد الإنسان يعد رقيقاً مقارنة مع جلد الحيوان (Mohammed et al., 2015)، ومن اللافت للنظر ، أن الإنزيمات التي تفرزها الفطريات الجلدية يمكن أن تكمن وراء بقاء الفطريات على العائل وتطور الإصابة، ليس فقط عن طريق توفير المواد الغذائية بسبب تضرر حاجز الكيراتين ، ولكن أيضاً من طريق تعديل الاستجابة المناعية (Elavarashi et al., 2017 ; Gnat et al., 2018) . واعتماداً على فعالية هذه الانزيمات فإن أجناس الفطريات تتباين في تفضيلها لنوع النسيج الكيراتيني ، إذ يفضل الجنس *Epidermophyton* أنسجه الأظافر و الجلد، أما الجنس *Microsporum* يفضل أنسجه الجلد و الشعر ، وفيما يتعلق بالجنس *Trichophyton* فإنه يهاجم جميع الأنسجة الكيراتينية سواء أكانت جلداً أم شعراً أو أظافر (Rippon, 1982).

وكنتيجة لقابلية هذه الفطريات على إفراز أنزيمات التي تكون قادرة على تحليل و إذابة طبقة الكيراتين الموجودة في الشعر والجلد والأظافر وطبقة الخلايا المتقرنة (Stratum Corneum) المغطية لمعظم أجزاء الجسم الخارجية لهذه الكائنات (Jochen and Yvonne, 2005) ذلك مما أعطى أهمية بالغة لهذه الفطريات من الناحية الطبية ، إذ تتمثل الإصابة بداء الفطار الجلدي على شكل بقع دائرية أو لطخا التهابية (Inflammator Patches) ذات حافات مرتفعة ومميزة فضلاً عن ظهور احمرار وتقشر (Desquamation) و حدوث حكة (Itch) في المنطقة المصابة من الجلد ، كذلك حدوث فقدان للشعر (Ellis, 1994) .

أن الفطر الجلدي ينمو في جميع الاتجاهات و بالتساوي تقريباً مكوناً بقعاً دائرية (Circular lesions) على الجلد أو فروة الرأس تشبه الثقوب التي يحدثها العث في الملابس، لذلك سميت هذه الإصابة الفطرية بالقوباء الحلقية (Ajello, 1974).

تقتصر الإصابة بالفطار الجلدي بشكل أساسي على الطبقات السطحية غير الحية المعزولة لأن العوامل الفطرية fungal agents غير قادرة على اختراق الأنسجة العميقة أو العضو في المضيف، ومع ذلك فإن هذه الإصابة تعتمد أيضاً على قابلية الفطريات على تحطيم الطبقة المتقرنة، والحالة المناعية للمضيف، وموقع الإصابة (Upadhyay *et al.*, 2019)، تعود عدم قدرتها على مهاجمة الأنسجة الداخلية وجود عدة أسباب منها: وجود العوامل المثبطة في مصل الدم وسوائل الجسم التي تثبط تحلل الكيراتين وعدم قابليتها على النمو في درجات حرارة أعلى من 35 م° (Brooks *et al.*, 2001 ; Matsumoto, 1996)، كما تلعب الحواجز المناعية دوراً في اقتصار تواجدتها على الأنسجة المتقرنة الميتة فقط (Murray *et al.*, 1999) فضلاً عن ذلك فإن الطبقة السطحية من الجلد تمتلك نسبة عالية من الرطوبة والتي تنتج من افرازات الغدد العرقية وخاصة في مناطق الطيات الجلدية بين الفخذين وأصابع القدمين وتحت الإبطين وأماكن وجود الشعر في الرأس والجسم لاحتوائه على المواد الكيراتينية التي تعد وسطاً مناسباً لها مما يشجع نموها في هذه المناطق من الجسم (Roberts and Mackenzie, 1986).

تنمو هذه الفطريات الجلدية بشكل أفضل في البيئات الدافئة والرطبة لذا فهي أكثر شيوعاً في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Ozkutuk *et al.*, 2007) كما في ليبيا وإيران والعراق وتركيا وغيرها من البلدان الدافئة، تنتشر الأمراض الجلدية أكثر من البلدان ذات المناخات الباردة (Gnat *et al.*, 2018).

تتميز هذه الفطريات بعدد من الصفات منها أنها محبة للكيراتين (Keratinophilic fungi) لأنها تنمو على المواد الكيراتينية في الشعر والجلد والأظافر وبذلك تؤدي إلى حدوث التهابات جلدية (Hawksworth *et al.*, 1983). كما تتميز بوصفها محللة للكيراتين (Keratinolytic Fungi) أي امتلاكها قابلية على هضم الكيراتين خارج الجسم الحي (*In vitro*) في حالتها الرمية وتستفاد منه بوصفه مادة أساس والبعض منها يغزو الأنسجة داخل الجسم الحي (*In vivo*) وتحدث الإصابة (Simpanya, 2000) ولوجود هاتين الصفتين في الفطريات الجلدية فهي تمتلك القابلية على غزو الطبقة السطحية في الجلد والشعر والأظافر (Leite *et al.*, 2014).

2-1: نبذة تاريخية عن الفطريات الجلدية الخيطية History of Dermatophytes

تشير الدراسات إلى أن الفطريات الجلدية وجدت في زمن ما قبل التاريخ بواسطة دراسة المتحجرات وتم العثور عليها على جلود أشخاص وحيوانات واطئة مصابة بالفطريات الجلدية وأول مصدر مسجل للإصابة بهذه يعود إلى العالم celsus ووضعت الموسوعة الرومانية في عام 30 قبل الميلاد الاصابات التي تحدث في فروه الرأس وسميت Kerion من قبل Celsus الذي وصف أربع من العلامات السريرية للإصابة وهي الاحمرار (Redness) والتورم (Swelling) والحرارة (Heat) والألم (Pain) في حين وصف الطبيب الاغريقي Galen العلامة الخامسة وهي فقدان الوظيفة (Loss of Function) عام 200 بعد الميلاد (Ajello, 1974).

أن طبيعة المسبب المرضي لأمراض الفطريات الجلدية اكتشفت في بداية القرن التاسع عشر (Grasse *et al.*, 2000) وان Remak عام 1837 أول من لاحظ خيوطاً فطرية و ابواغا مفصلياً (Arthroconidia) في شعر أحد الأطفال المصابين في سعة الرأس (Tinea capitis)، اما Schoenlein عام 1839 فقد بين الدور المرضي للفطريات التي تصيب الراس في حالة القرع (Favus)

ووصفه طبيعتها ، أما في عام 1845 فقد أعطى Remak مصطلح (Achrion) للفطر المسبب وتعني القشرة باليونانية وقد سمي الفطر المسبب (*Achorion schoenleinii*) نسبة إلى العالم Schoenlein ، في حين اكتشف Gruby عام (1841-1844) الأبواغ الصغيرة المحاطة بالشعرة عند أحد المصابين بسعفة الرأس لذلك سمي الفطر المسبب *Microsporum audouinii* تكريماً لـ Audouin ، و وصف Malmsten عام 1848 أبواغ الفطر التي توجد داخل الشعرة وسمي الفطر *Trichophyton tonsurans* ، كما وصف Harz عام 1870 الفطر المسمى *Trichothecium* أو قد يسمى *Acrothecium floccosum* والذي عرف بعد ذلك باسم *Epidermophyton floccosum* أما Megnin عام 1881 فقد وصف طبيعة المسبب المرضي لحالة القرع في الدواجن وسمي الفطر المسبب *Achorion gallinae* بينما وصف Zopf عام 1890 الفطر الذي يسبب حالة القرع للقوارض وسمي *Trichophyton quinckeanum* بعد ذلك استمرت اكتشافات لأنواع أخرى من الفطريات المسببة للأمراض الفطرية (Refai and El-Yazid, 2013 ; Weitzman and Summerbell, 1995)

أن الصفات التشخيصية للفطريات واضحة في المزرعة لكنها قد تكون ذات أولوية تصنيفية قليلة ، إضافة لذلك فقد تم تأكيد النموذج المحدد من المزارع الأولية ولذلك أعطيت عدة مرادفات لأسماء بعض الأنواع فقد أعطي Sabouraud ما لا يقل عن عشرة مرادفات للفطر *T. tonsurans* لعزلات متنوعة ومختلفة الأشكال كما وضع العالم Emmons النظام النهائي لتصنيف الفطريات الجلدية مظهرياً في بداية القرن العشرين فصنف الطور غير الجنسي لها بالاعتماد على الأبواغ وأشكال التراكيب الخضرية وقد إلغى الجنس *Achorion* كما اختصر الأنواع المعترف بها إلى 19 نوعاً وإدراج 35 اسماً مرادفاً (Graser et al., 2008).

بشكل عام قد صيغت أسماء الأجناس إما على أساس نوع غزو الشعر أو على أساس الحالة السريرية ، أما بالنسبة لأسماء الأنواع فأنها تأخذ أسماء العلماء مثل: *A. schenlenii* و *M. canis* و *M. quinkan* و *M. audouin* أو تسمى نسبة إلى المضايغ التي تتواجد بها مثل *A. gallinae* و *T. eqinum* و *M. canis* أو قد تعتمد تسميتها على شكل الفطريات الجلدية على الوسط الزراعي مثل *M. gypseum* و *T. rubrum* (Refai and El-Yazid, 2013). وأن العالم Sabouraud أول من قام بتسمية أنواع الفطريات المسببة للأمراض الجلدية على أوساط صناعية لهذا سمي الوسط بأسمه وما يزال يستعمل حتى الآن في المختبرات في تشخيص الصفات الزرعية والمظهرية للفطريات الجلدية (Graser et al., 2000). وقد اكتشفت الأطوار الجنسية لبعض الفطريات الجلدية في بداية ستينات القرن الماضي من قبل Berkeley و Nannizzi و Stockdale و Griffin و Gentles و Dawson (Simpanya, 2000) ; Kawasaki et al., 1992).

أن المجال الطبي يستخدم كلمة (Tinea) للإصابات الفطرية حيث أن كلمة (Tinea) و تشير إلى الإصابة الفطرية في الجلد متبوع بكلمه توصف موقع الإصابة، أن كلمة (Tinea) جاءت من أصل لاتيني وتعني الدودة المتنامية (growing worm) لكن التسميه الشائعة لبعض أشكال السعفة (Tinea) هو الدودة الحلقية (Ringworm) (Achterman and White, 2011) ، ان اسم (Tinea) او القوباء استعمل مسبقاً لعته الملابس نتيجة التشابه الحاصل بين الثقوب الدائرية التي تحدثها العثة في الملابس والطفح دائريه الشكل الناتج عن الإصابة بالفطريات في الجلد الاملس، وال (Tinea) هو الاسم العام للفطريات التي تحطم

طبقة الكيراتين ، وجدت في العمل النقدية التي ترجع للقرن السادس عشر كلمه (Ringworm) التي تصف الإصابات الفطرية الجلدية (Ajello, 1974).

3-1: تصنيف الفطريات الجلدية الخيطية Classification of Dermatophytes

صنفت الفطريات الجلدية الخيطية مسبقاً ضمن الفطريات الناقصة (Deutromycetes) وتتضمن ثلاثة أجناس تتكاثر لا جنسياً *Microsporum* (Asexual) و *Trichophyton* و *Epidermophyton* (Ichhpnjani and Bhatia, 1994). بينما تصنف الفطريات الجلدية حالياً ضمن عائلة (Arthrodermataceae)، رتبة (Onygenales) صنف الفطريات الكيسية الكروية (Plectomycetes) ، ضمن شعبة الفطريات الكيسية (Ascomycota) وهذه العائلة تضم العديد من الفطريات التي تسبب إصابات جلدية للإنسان والحيوان وتسبب إصابات متنوعة على الشعر ، الجلد ، الأظافر وعدد من فطريات لا تسبب الإصابة حيث عزلت من التربة ومن مواد مختلفة حاوية على الكيراتين مثل فراء الحيوانات أو أعشاش الطيور (Webster and Weber, 2007 ; Alexopoulos et al., 1996).

4-1: الوصف المظهري للفطريات الجلدية الخيطية Morphology of Dermatophytes

تتكاثر الفطريات الجلدية الخيطية لاجنسياً عن طريق تكوين أبواغ أو كونيديات مختلفة وبسيطة مثل الكونيديات الكبيرة والمفصليّة والصغيرة (Macroconidia, Arthroconidia and Microconidia) التي تنتج من الخلايا المولدة للكونيديات (Conidiogenous cells) ، كما أن بعض أنواع الفطريات الجلدية تحتوي في أجزائها الخضرية على تراكيب ذات ترتيب مميز هي الخيوط الحلزونية (Spiral hyphae) والأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) والخيوط المشطية (pectinate hyphae) وخيوط مضريبه الشكل (Racquet hyphae) وخيوط فطرية تشبه قرن الغزال والأعضاء العقدية (Nodular organs) (Simpanya, 2000).

واعتماداً على الطور غير التام (Anamorph) فإن هناك نوعين للجنس *Epidermophyton* و 19 نوعاً للجنس *Microsporum* و 25 نوعاً للجنس *Trichophyton*، عامةً يوصف كل جنس من الفطريات الجلدية على أساس شكل المستعمرة colony ، شكل و حجم الكونيديات Conidia ، وتشكيلها (Simpanya, 2000) وأن أهم المميزات الرئيسة لهذه الأجناس هي:

1-4-1: الجنس Epidermophyton

يضم هذا الجنس على نوعين هما *E. floccosum* و *E. stockdale* ، حيث شخص الأخير بأنه يصيب الإنسان والحيوان فيصيب الجلد والأظافر ونادراً ما يصيب الشعر (Padhye and Summerbell, 2005). *E. floccosum* هو من الفطريات الجلدية المحبة للإنسان ينتشر في جميع أنحاء العالم والذي غالباً ما يسبب سعفة القدم (Tinea pedis) ، سعفة المغبن (Tinea cruris) ، سعفة الجسم (Tinea corporis) وفطار الأظافر (Onychomycosis)، عادة ما تكون المستعمرات بطيئة النمو بيضاء أو كريمية اللون ونادراً ما تصبح خضراء اللون مع سطح يشبه الجلد المدبوغ ، مرفوع ومطوي في المنتصف ، مع محيط مستوي وحافة مغمورة داخل النمو، يوجد عادة صبغة عكسية بنية مصفرة. الكونيديات الكبيرة (Macroconidia) تتكون بوفرة و تكون رقيقة الجدران ملساء التي غالباً ما تنتج في مجموعات تنمو مباشرة من الخيط الفطري وأبعادها 4 - 13 x 20 - 60 مايكرون و مقسمة مكونة من 1-9 خلية ،

تتكون العديد من الأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) في المزارع القديمة، أما الكونيدات الصغيرة (Microconidia) فهي لا تتكون بالمقارنة مع الجنسين *Microsporum* و *Trichophyton* (De Hoog et al., 2015).

2-4-1: الجنس *Microsporum*

مستعمرات هذا الجنس على وسط Sabouraud Dextros Agar (SDA) إما مخملية (Velvety) مع تلون ابيض أو بني أو تكون ذات نسجه دقيقة كما أن هذا الجنس ينتج كلا من الكونيدات الكبيرة والصغيرة ، تكون الكونيدات الكبيرة بأنها متعددة الخلايا ، خشنة وهذه هي الصفة المميزة في هذا الجنس وقد تكون الخلايا عديده في أنواع وقليلة في أنواع أخرى، كما تتميز الكونيدات الكبيرة بأنها مغزلية الشكل عادة (باستثناء النوع *M.nanum* إذ أنها تختلف في أشكالها) و تتكون بشكل مفرد على الخيط الفطري ، ابعادها 6-25 x 60-160 مايكرون ، أما الكونيدات الصغيرة فهي ذات شكل كمثري قطرها حوالي 2-3 مايكرون وهي تنشا بشكل تجمعات أو بشكل مفرد على طول الخيط الفطري وهي تكون أقل عدداً من الكونيدات الكبيرة عادة ، توجد بعض الأنواع في هذا الجنس تنتج الكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة وبعضها تنتج كونيدات كبيرة فقط والبعض الآخر ينتج كونيدات صغيرة فقط ، وأكثر الفطريات شيوعاً لهذا الجنس هما *M.canis* و *M.gypseum* (Weitzman and Summerbell, 1995) ; De Diego, 2011).

3-4-1: الجنس *Trichophyton*

تكون مستعمرات هذا الجنس إما مخملية أو شمعية أو ذات نسجه دقيقة ، ويكون هذا الجنس قادراً على إنتاج الكونيدات الكبيرة والصغيرة، الكونيدات الكبيرة ذات جدران رقيقة ملساء، اسطوانية أو مغزلية الشكل أو قلمية وغالبا ما تكون متباعدة وأبعادها 4 – 14 x 8-68 مايكرون وتحتوي على 1-2 خلية ، أما الكونيدات الصغيرة فتكون غير منتظمة الشكل في بعض الأنواع أو كمثريه الشكل في أنواع أخرى ، قد تكون بشكل تجمعات أو تنشا بشكل مفرد على طول الخيط الفطري. كما تكون الكونيدات الصغيرة عادة أكثر بكثير من الكونيدات الكبيرة حيث توجد أنواع من هذا الجنس نادراً ما تنتج الكونيدات الكبيرة، وأكثر الفطريات شيوعاً لهذا الجنس هما *T.rubrum* و *T.mentagrophytes* (Weitzman and Summerbell, 1995) ; (De Diego, 2011).

5-1: بيئة الفطريات الجلدية الخيطية Ecology of Dermatophytes

تقسم الفطريات الجلدية إلى ثلاث مجموعات اعتماداً على تفضيل وطبيعة المضيف هي الفطريات الجلدية المحبة للتربة Geophilic و الفطريات الجلدية المحبة للحيوان Zoophilic والفطريات الجلدية المحبة للإنسان Anthropophilic (Priyam et al., 2019) ، ووجد أن معظم مسببات الأمراض الفطرية التي تصيب الإنسان تنتمي إلى المجموعتين الفطريات الجلدية المحبة للإنسان والحيوان ويعتقد ان هاتين المجموعتين تطورت من أصل الفطريات الجلدية المحبة للتربة ، و أصبحت الفطريات الجلدية المحبة للإنسان هي المجموعة الأكثر تخصصاً (Hayette and Sacheli, 2015).

1-5-1: الفطريات الجلدية المحبة للحيوان Zoophilic dermatophytes

هذه الفطريات تصيب الحيوانات أولاً ويمكن أن تصيب الإنسان أيضاً مسببة له نفس الإصابة ، غالباً ما تنمو على مضيف واحد أو يكون لها مدى ضيق من المضائف ، حيث تصيب الحيوانات الأليفة والبرية مثل الطيور ، الكلاب ، القطط ، الخيول ، الأبقار إلخ ، عادة ما تنتقل إلى الإنسان عن طريق التماس مع الحيوانات المصابة وتتضمن هذه الفطريات *T. mentagrophytes* ، *T. verrucosum* ، *T. equinum* ، *T. simii* ، *M. canis* ، *M. equinum* ، *M. gallinae* و هذه الفطريات يمكن أن تسبب آفات الجلد الالتهابية الشديدة (Reddy, 2017) .

2-5-1: الفطريات الجلدية المحبة للتربة Geophilic dermatophytes

تتواجد هذه الفطريات في التربة وعادة ما تكون مترمة (Saprophytic) على المواد الكيراتينية (Keratinous substrates) المتحللة مثل الشعر والريش والفراء والقرون، يمكن أن تصيب الإنسان ولكنها قد تكون مسببة للأمراض في بعض الحيوانات وتتضمن : *M. gypseum* ، *M. fulvum* و *T. ajelloi* (Baranova et al., 2018 ; Kumar et al., 2016).

3-5-1: الفطريات الجلدية المحبة للإنسان Anthropophilic dermatophytes

هي فطريات عادة ما تكون مقتصره في أحداث الإصابة في الإنسان ونادراً ما تصيب الحيوانات ، وتتضمن هذه الفطريات *T. rubrum* ، *T. mentagrophytes* ، *T. schoenleinii* ، *T. tonsurans* ، *T. concentricum* ، *T. soudanense* ، *M. audouini* ، *E. floccosum* (Reddy, 2017) ، الفطريات الجلدية المحبة للإنسان تنتج عدد أقل من الإصابات لدى الإنسان مقارنة بالفطريات الجلدية المحبة للحيوان والتربة (Nweze, 2010).

6-1: وبائية الفطريات الجلدية الخيطية Epidemiology of Dermatophytes

درست وبائية الفطريات الجلدية الخيطية منذ بداية أربعينيات القرن الماضي حيث وجد الفطرين *M. audouinii* و *E. floccosum* هما المسببان الرئيسيان للإصابة بالفطريات الجلدية في ألمانيا في تلك المدة ، أما في الخمسينيات وما بعدها أصبح الفطر *T. rubrum* أكثر أنواع الفطريات الجلدية شيوعاً ، ويمثل 80-90 % من حالات الإصابة الجلدية ويليه الفطر *T. mentagrophytes* وحدث مثل هذا التغير أيضاً في أمريكا الوسطى وشمال أوروبا إذ أن هذه الأنواع ظهرت تزامناً مع الإصابة بسعفة القدم وسعفة الأظفر على النقيض من ذلك لوحظ انه في جنوب أوروبا والبلدان العربية ، تعد الفطريات الجلدية المحبة للحيوان مثل *M. canis* أو *T. verrucosum* أكثر شيوعاً خاصة في حالة سعفة الرأس عند الأطفال (Seebacher et al., 2008).

أن أنتشار الفطريات الجلدية يتغير من منطقة إلى أخرى بفعل عوامل عديده منها الحالة الاقتصادية والاجتماعية ،العوامل البيئية ، والعمر إضافة إلى التماس مع الحيوانات الأليفة (Kalinowska , 2012) ، أشارت دراسات عديدة أن متوسط معدل أنتشار الإصابة بالفطريات الجلدية في أوروبا وأمريكا الشمالية كانت 4.3 % من بين السكان عامة 8.9 % حصلت من بيانات المستشفيات ، كلتا الدراستين أثبتت أن فطار الأظفر Onychomycosis هو أكثر شيوعاً في أظافر القدمين وأكثر شيوعاً عند الذكور وكان المسبب الرئيسي له هو الفطر *T. rubrum* ونسبة 65 % (Sigurgeirsson and Baran, 2014) ، كانت سعفة الرأس هي

الأكثر انتشاراً بين الأطفال الذي تتراوح أعمارهم بين 2- 10 سنوات في حين وجد أن سعة المغبن تكون أكثر تخصص في الرجال وخصوصاً المراهقين والشباب (Cortez et al., 2012).

إن سعة القدم التي يمكن أن تكون إصابة مزمنة أو متكررة للمناطق البينية أو مناطق أخرى من القدمين ، غالباً ما تسببها الفطريات الجلدية المحبة للإنسان (Anthropophilic) ، بما في ذلك الفطر *T. rubrum* وهو المسبب الأكثر شيوعاً، يليه الفطرين *T. interdigitale* و *E. floccosum* ، ولوحظ زيادة عالمية في هذا الفطر وانتشار الفطر *T. rubrum* وذكروا أن هذه الظواهر ربما ترجع إلى زيادة التحضر ، واستخدام المرافق الرياضية ، وتزايد انتشار السمنة (Ilkit and Durdu, 2015).

تشير الدراسات إلى أن الإصابة بسعة الرأس في جميع أنحاء العالم وخصوصاً في الولايات المتحدة الأمريكية في حالة تزايد والسبب في ذلك هو أنتشار الفطر *T. tonsurans* بشكل واسع ويكون أكثر شيوعاً في المجتمعات الفقيرة وخاصة العرق الأسود مقارنة بالمجتمعات المتحضرة (Kally, 2012).

ذكر (Silveira-Gomes et al. (2013) ، أن سعة الجسم في البرازيل هي أكثر الأشكال السريرية شيوعاً تليها سعة الرأس ، ووجد أن العامل المسبب الأكثر شيوعاً هو الفطر *T. mentagrophytes* يليه الفطر *T. rubrum* وفي دراسة أخرى لوحظ أن سعة الأظفر هي أكثر الإصابات شيوعاً تليها سعة القدم أما العامل المسبب الأكثر شيوعاً هو *T. rubrum* يليه الفطر *T. interdigitale* (Jarabran et al. (2015; Heidrich et al., 2015; Chiacchio et al., 2014) أما في شيلي وجد (Jarabran et al. (2015) أن سعة الأظفر أكثر الإصابات تكراراً وأن الفطر *T. rubrum* هو المسبب الأكثر شيوعاً متبوعاً بـ *T. mentagrophytes* ، في اليونان وجد (Nasr et al. (2016) أن أكثر الإصابات شيوعاً هي سعة الجسم تليها سعة الرأس ووجد أن الفطر *T. rubrum* هو المسبب الأكثر شيوعاً يليه الفطر *T. mentagrophytes* ، وفي فرنسا ذكر (Faure-Cognet et al. (2016) أن سعة الأظفر من الإصابات الأكثر شيوعاً وتليها سعة القدم أما بالنسبة للعامل الأكثر شيوعاً هو الفطر *T. rubrum* يليه الفطر *T. interdigitale* ، أما في إيطاليا وجد (Farina et al. (2015) أن سعة الرأس هي أكثر الإصابات شيوعاً وأن الفطر *T. violaceum* هو المسبب الأكثر شيوعاً.

في الكامبيرون ذكر (Kechia et al. (2014) أن سعة الرأس أكثر الإصابات الجلدية شيوعاً وأن العامل الرئيسي المسبب لها هو الفطر *T. soudannense* ، أما في السنغال ذكر (Seck et al. (2014) أن سعة الأظفر أكثر الإصابات شيوعاً والمسبب المرضي لها هو الفطر *T. rubrum* ، أما في المغرب وجد أن سعة الرأس أكثر الإصابات شيوعاً وأن الفطر *M. canis* هو المسبب الأكثر انتشاراً (El Mezouari et al., 2016).

أما الدراسات التي أجريت في إيران وجد أكثر الإصابات شيوعاً هي سعة الجسم تليها سعة المغبن والمسبب الرئيسي لها هو *T. interdigitale* (Rezaei-Matehkolaei et al., 2016) وفي فلسطين وجد أن سعة القدم هي أكثر الأشكال السريرية شيوعاً وتليها سعة الرأس و الفطر *M. canis* هو المسبب الأكثر شيوعاً يليه الفطر *T. mentagrophytes* (Ali-Shtayeh et al., 2015).

أما في العراق فالدراسة التي أجريت في محافظتي الديوانية والنجف الاشرف بينت أن الفطر *T. rubrum* هو الأكثر تردداً يليه الفطر *T. violaceum* وكانت الإناث أكثر إصابة مقارنة بالذكور ووجد أن سعة الأظفر أكثر الإصابات شيوعاً مقارنة بباقي مناطق الجسم (مجبل وآخرون، 2010).

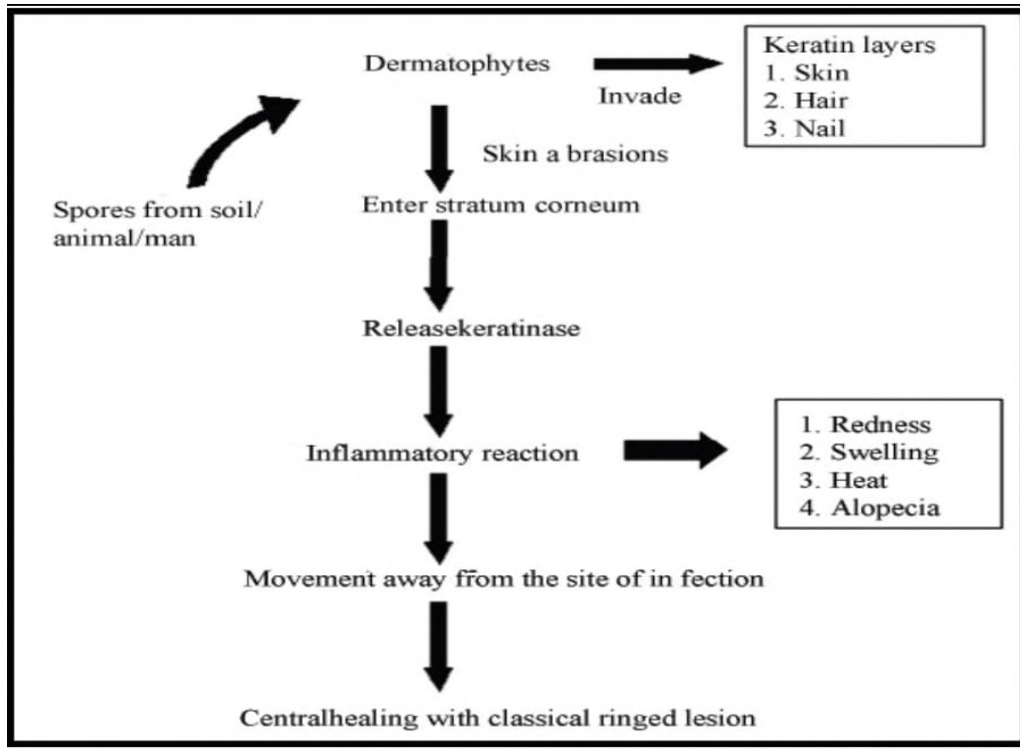
اما في تكرير وجد ان سعفة الرأس أكثر الإصابات تكراراً مقارنة مع باقي مناطق الجسم وان حدوث الإصابة في النساء اكثر مما عليه في الذكور ووجد ان الفطر *T. mentagrophytes* أكثر شيوعاً ويليه الفطر *M. ferrugineum* (عبود وآخرون، 2013). وفي كربلاء وجد ان سعفة القدم تكون الأكثر انتشاراً بين الأشكال السريرية وتليها سعفة الأظفر ووجد ان نسبة الإصابة في الإناث اكبر مما في الذكور وتم عزل وتشخيص نوعين من الفطريات الجلدية وهما *T. mentagrophytes* و *E. floccosum* (محمد و الدعي، 2012). و في ديالى وجد ان أكثر الإصابات شيوعاً هي سعفة الجسم تليها سعفة الرأس ، وتبين ان الفطر السائد هو *T. mentagrophytes* ويليه الفطر *T. rubrum* (عبد الحسن وآخرون، 2014). اما الدراسة التي أجريت في ذي قار بينت ان الإصابة بسعفة الرأس احتلت المرتبة الأولى بين الإصابات تليها سعفة الجسم، وكانت نسبة حدوثهم بالذكور أعلى مما في الإناث ، ووجد ان الفطر *M. canis* يشكل أعلى نسبة ويليه الفطر *T. verrucosum* (عباس والسهلاني، 2015) اما الدراسة التي أجريت في محافظة البصرة وجد ان الفطر *T. mentagrophytes* هو أكثر الأجناس شيوعاً ويليه الفطر *E. floccosum* (Al-Duboon, 1997).

اما في ميسان وجد ان نسبة الإصابة في الأطفال الإناث أكبر مما عليه في الاطفال الذكور ووجد ان الفطر *T. rubrum* أكثر الفطريات شيوعاً ويليه الفطرين *T. verrucosum* و *T. violaceum* وجد ان سعفة الأظافر هي أكثر الإصابات شيوعاً (صالح، 2008). وفي دراسة أخرى وجد ان نسبة الإصابة في الأطفال الذكور أكبر مما عليه في الإناث ووجد ان الفطر *T. rubrum* أكثر الفطريات شيوعاً ويليه الفطر *T. tonsurans* ووجد ان سعفة الرأس هي أكثر الإصابات شيوعاً (صالح، 2010).

7-1: طرق انتقال الفطريات الجلدية Transmission route of Dermatophytes

ان دخول الفطريات الجلدية إلى الجسم المضيف يكون عن طريق إصابة الجلد او الندبات والحروق ، والإصابة التي تسببها الفطريات تحدث بسبب الأبواغ المفصليّة (Arthrospores) أو الكونيدة (Conidia) (Arthi, 2017).

يغزو المسبب المرضي الطبقة الكيراتينية الخارجية الغير الحية من الجلد وهي الطبقة القرنية (Stratum corneum) ، وينتج انزيم Keratinase والتي يحث على تفاعل التهابي في موقع الإصابة ، تظهر العلامات التقليدية للتفاعلات الالتهابية مثل الاحمرار (Redness) والتورم (Swelling) والحرارة (Heat) و تساقط الشعر (Loss of hair) في موقع الإصابة الموضحة في الشكل (1-1) ، تنتقل هذه الالتهابات المسبب المرض بعيداً عن مكان الإصابة و تأخذ موقع جديد من الجسم . هذه الانتقال للمسبب المرض بعيداً عن موقع الإصابة ينتج إصابات حلقيّة (Lakshmipathy and Kannabiran, 2010).



الشكل (1-1): خطوات دخول الفطريات الجلدية إلى جسم المضيف (Deepika et al., 2010).

8-1 : الأشكال السريرية للفطريات الجلدية الخيطية Clinical Forms Of Dermatophytoses

اعتماداً على موقع الإصابة في الجسم تم تصنيف الاصابات الفطرية الجلدية الخيطية سريريّاً الى سعفة الرأس *Tinea capitis* ، سعفة الوجه *Tinea faciei* ، سعفة اللحية *Tinea barbae* ، سعفة الجسم *Tinea corporis*، سعفة اليد *Tinea manuum*، سعفة المصباح *Tinea cruris* ، سعفة القدم *Tinea pedis* ، وسعفة الاظفر *Tinea unguium* (Sahoo and Mahajan, 2016).

وتتضمن الاشكال السريرية للإصابات الجلدية ما يأتي :

1-8-1 : سعفة الجسم (*Tinea corporis*) (Ring worm of the body)

سعفة الجسم هي إصابة فطرية جلدية خيطية في الجلد الأملس للإنسان غالباً ما تكون في الرقبة والجذع والكتفين والأطراف ما عدا بعض المناطق مثل راحة اليد و باطن القدم والوجه والمنطقة الاربية (Ran et al., 2015) ، وبشكل متقطع في الساقين (Hawkins and Smidt, 2014)، أهم ما يميزها به هذه الإصابة من غيرها هو ان موقع الإصابة يكون بشكل بقع دائرية جافة وواضحة الحدود وتحتوي منطقة الإصابة على طفح وردي وحوصلات أحياناً وتكون الإصابة بشكل بقعة واحدة او عدة بقع وهذه الأخيرة يمكن ان تبقى منفصلة عن بعضها أو قد تندمج ببعضها (Kalinowska, 2012) ، ان سعفة الجسم تنتشر في البيئات الدافئة والرطوبة وتحدث الإصابة عن طريق الملامسة المباشر مع الجلد المصاب المقشر أو الشعر او الملابس وفرش الشعر وكذلك تنتقل من شخص إلى آخر خاصة إذا كان هناك ألفة عالية للإصابة، تصيب سعفة الجسم الأشخاص من الأعمار المختلفة وبدون تمييز جنسي (Chin, 2000) ومن اهم المسببات الفطريات *M. canis* و *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. tonsurans* و *E. floccosum* ، على الرغم من أنه قد تم الكشف عن مسببات أخرى ، مثل الفطريات *M. audouinii*

T. verrucosum ، و *M. gypseum* (Nenoff et al., 2017) وقد تحدث الإصابة بسبب الفطر *T. concentricum* وهو من الفطريات المحبة للإنسان وفي هذه الحالة تسمى الإصابة بـ *Tinea imbricata* وهو أمر نادر الحدوث (Ayatollahi et al., 2011 ; Bonifaz and Vazquez, 2011)، اما عند إصابة المصارعين بـ *Tinea corporis* تعرف الإصابة بهذه الحالة باسم *Tinea gladiatorum* (Bassiri- Jahromi et al., 2010). كما في شكل (2-1).



الشكل (2-1): سعة الجسم (Nenoff et al., 2014).

2-8-1: سعة القدم *Tinea pedis*

تدعى أيضاً بقدم الرياضي (Athletes foot) وهي إصابات فطرية للقدمين أو الأصابع وتحدث الإصابة للفئات العمرية كافة لكنها تكون أكثر شيوعاً في البالغين مقارنة مع الأطفال ونسبة حدوث الإصابة في الذكور أعلى منها في الإناث حيث أصيب ما يقرب 70% من الأشخاص في مدة من حياتهم في جميع أنحاء العالم (Dawson et al., 2012 ; Marais and Osuch, 2017) وقد يعزى ذلك إلى الاختلافات الطبيعية والمهنية بين الجنسين حيث تشارك النساء بشكل أقل في الأنشطة الرياضية ويرتدين أحذية مفتوحة أكثر من الذكور علاوة على ذلك، تكرر النساء وقتاً أطول لنظافة القدم أكثر من الرجال (Rossaneis et al., 2016). كذلك تعرف *Tinea pedis* أيضاً باسم "متلازمة اليد الواحدة والقدمين" (One Hand Two Feet Syndrome) ، وهو ما يعني مرض التهاب الجلد في كلتا القدمين ويد واحدة ويوجد في المرضى ذوي الكفاءة المناعية المنخفضة ، مثل مرضى السكري (Havlickova et al., 2008) ، تسود سعة القدم في المناطق ذات المناخ الدافئ الرطب ومن العوامل المسببة للإصابة بسعة القدم هي الرطوبة ودرجات الحرارة المرتفعة و ارتداء الأحذية المغلقة لفترة طويلة واستخدام غرف الحمامات المشتركة واستخدام المناشف بين أكثر من شخص ،السباحة في البرك والمشي حافي القدمين (Achterman and White, 2011) تحدث الإصابة بين أصابع القدم ولاسيما بين الإصبعين الرابع والخامس ومنها تنتقل إلى بقية الأصابع الأخرى وقد تصيب أخمص القدم وظهره ولكنها قد تمتد إلى راحة وجوانب القدم، وتمتاز بموت وانسلاخ الجلد ويصاحب ذلك تقشر وتشقق ما بين أصابع القدم ويشكو المريض حكة وحرقة واحمرار في المنطقة وغالباً ما تحدث إصابات ثانوية بسبب البكتيريا مما يؤدي إلى أعراض طفح وألم والتهاب الأوعية اللمفاوية وتورم في الغدة اللمفاوية في منطقة الأصابع ومن مسببات سعة القدم الفطريات *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. interdigitale* و *E. floccosum* في جميع أنحاء العالم (Rezaei- Matehkolaei et al., 2013). كما في شكل (3-1)



الشكل (3-1): سعفة القدم (Nenoff et al., 2014).

3-8-1: سعفة المغبن Tinea cruris

تدعى الإصابة بعدة تسميات منها حكة جوكي (jock itch) وهي إصابة المنطقة الاربية (منطقة أصل الفخذ) بالفطريات الجلدية في جهة واحدة أو كلا الجهتين وحكة الصالة الرياضية (gym itch) (Rapini et al., 2007)، تمتاز منطقة الإصابة بوجود حكة في المنطقة الاربية يرافقها ظهور بقع حمراء مرتفعة وذات قشور مع وجود بثور حويصلية الشكل وتظهر حواف الإصابة أكثر التهاباً من الجزء المركزي وذات انحناءات خاصة في المنطقة السفلية للإصابة (Moriarty et al., 2012)، من مسببات سعفة المغبن أو الساق هو فطر *T. rubrum* الذي يعد المسبب الرئيسي لها وكذلك من المسببات الأخرى هو الفطريات *T. mentarophytes* و *E. floccosum* و *M. Canis* (Sharma et al., 2012)، تحدث الإصابة بسعفة المغبن في كلا الجنسين لكن نسبة حدوثها في الذكور أكثر من الإناث (Behzadi et al., 2014). كما في شكل (4-1).



الشكل (4-1): سعفة المغبن (Rameshwari et al., 2016).

4-8-1: سعفة اليد Tinea mannum

هي إصابة جلدية سطحية التي تشمل اليدين و راحة اليد والمنطقة الواقعة ما بين أصابع اليد أو تحت الساعة اليدوية أو المنطقة الموجودة تحت خاتم الزواج (Moriarty et al., 2012) عادة تحدث الإصابة في يد واحدة وفي الغالب تظهر الإصابة مع سعفة القدم ، الشكل السريري للإصابة بسعفة راحة اليد تمتاز بوجود مناطق منتشرة من الجلد الجاف المتقرن بشدة Hyper keratotic ومحمرة ومن مسبباتها الفطريات

Rezaei- Matehkolaei *et al.*,) *T. interdigitale* و *E. floccosum* , *T. mentagrophytas* (2013). كما في شكل (5-1).



الشكل (5-1): سعفة اليد (Degreef, 2008).

5-8-1: سعفة الاظفر *Tinea unguium*

إصابة جلدية تحدث للأظافر في صفيحة الأظفر وتعرف أيضاً باسم فطار الاظافر *Onychomycosis* (Harvey and Stoppler, 2011; Thomas *et al.*, 2010)، العلامات السريرية للإصابة تشمل تشوه وتغير لون الاظفر إلى أصفر باهت ذات حافة منتفخة هشة سريعة الكسر وفقدان اللمعان وتحدث الإصابة في حالة ارتداء أحذية غير مناسبة والرطوبة والصدمات وكذلك في حالة وجود سعفة القدم (Dawson *et al.*, 2012) تكثر الإصابة بسعفة الاظفر بين البالغين الشباب من كلا الجنسين وتزداد معدلات الإصابة مع تقدم العمر وتتأثر الذكور أكثر من الإناث (Asz *et al.*, 2017) وكذلك تكثر في المرضى ذو المناعة القليلة وذوي الأمراض المزمنة مثل السكري وبالتالي تعتبر سعفة الاظفر بشكل خاص مؤشراً لمتلازمة القدم السكرية (Nenoff *et al.*, 2014) وتكون نادرة الحدوث في الأطفال (Wood & Folk, 2005).

وجد ان الخمائر (*Candida sp*) و الالعفان تسبب فطار الأظافر (Nail infections) أو (onychomycosis) ولكن النوعين الفطريين *T. rubrum* و *T. interdigitale* يكونا مسؤولين عن (85%) من هذه الإصابة وتؤثر على حوالي 10% من السكان في جميع أنحاء العالم (Marais and Osuch, 2017) كما في شكل (6-1).



الشكل (6-1): سعفة الاظفر (Nenoff *et al.*, 2014).

6-8-1: سعفة الوجه *Tinea faciale*

هي إصابة الجلد الأملس والمناطق غير الملتهبة في الوجه بأنواع الفطريات الجلدية الخيطية وتمتاز عن غيرها بوجود بقع صغيرة وحبوب حمراء اللون فضلاً عن وجود بقع كبيرة ذات حافات منقوشة (Rapini *et al.*, 2007)، تمتاز المناطق الملتهبة بتقشر وحكة وحرقة وتشتد الأعراض عند التعرض لأشعة الشمس و الفطر *T. mentagrophyte* هو المسبب الأكثر شيوعاً لسعفة الوجه يليه الفطرين *M. canis* و *gypseum* اما بين الأطفال المصابين فقد وجد ان الفطريات *T. tonsurans* ، *T. violaceum* و *M. canis* هي الأكثر شيوعاً (Malhotra *et al.*, 2015) ، الإصابة تنتقل إما بصورة مباشرة بواسطة إصابة بشرة الوجه بالفطريات الجلدية من مصدر خارجي أو عن طريق انتقال الإصابة من مكان آخر في الجسم مصاب مسبقاً بالفطريات الجلدية إلى الوجه وهناك طرائق أخرى لانتقال الإصابة وذلك عن طريق التماس المباشر مع الحيوانات وخاصة عند الأطفال أو بواسطة التماس مع مصدر بشري وعادة تحدث الإصابة بصورة رئيسية عند الأطفال (Behzadi *et al.*, 2014). كما في شكل (7-1).

الشكل (7-1): سعفة الوجه (Nenoff *et al.*, 2014).7-8-1: سعفة اللحية *Tinea Barbae*

تعرف هذه الإصابة بـ (Barber itch) (James and Berger, 2006) وهي إصابة فطرية نادرة تكون محدودة في مناطق الشعر الخشن اللحية والشارب وجزء من منطقة العنق (Behzadi *et al.*, 2014) تحدث هذه الإصابة في الذكور البالغين والمراهقين ويصيب أيضاً النساء اللواتي تمتلك شعر كثيف في هذه المناطق وكذلك تزداد في الرجال الذين يتعاملون مع الحيوانات (Ghannoum *et al.*, 2000) أما كبار السن فتكون الإصابة نادرة الحدوث (Hainer, 2003) لكن الدراسات الحديثة بينت أن الذكور البالغين هم أكثر الفئات تأثراً بهذه الإصابة لأنها تتواجد في الشعر وجريبات شعر اللحية والشارب (Feldmeyer *et al.*, 2010) وأعراض الإصابة تتراوح ما بين متوسطة التي تتميز بظهور بقع حمراء في الوجه والشعر ويصبح أقل لمعاناً وهشاً وسهل التكسر إلى أعراض قوية التي تتميز بالتهاب قوي وعقيدات حمراء مع ظهور بثور التي تؤدي إلى تكوين كتل ممتلئة بالقبح وأحياناً تنزف تاركة قشور وهذه الإصابة تؤدي إلى اتساع في الغدد اللعابية في العنق وألم في الجسم وحمى من مسببات سعفة اللحية الفطريات *T. verrucosum* و *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* (Rezaei- Matehkolaei *et al.*, 2013) كما في شكل (8-1).



الشكل (8-1): سعة اللحية (Furlan et al., 2017).

8-8-1: سعة الرأس *Tinea Capitis*

تسمى سعة الرأس أيضاً بالدودة الحلقية لفروة الرأس (Ringworm of the scalp) وهي إصابة فطرية للطبقة السطحية لفروة الرأس (Superficial) وتكون شائعة جداً بين اطفال المدارس حيث تكون بحدود 45 % منهم (Dogo et al., 2016 ; Nweze and Eke, 2016) ، اعتماداً على طريقة غزو الشعر ، نوع الفطر المسبب والاستجابة المناعية للمضيف يمكن تحديد أربعة أنواع سريرية من المرض هي : النقطة السوداء (Black dot) الذي يكون غير التهابي لكنه يمكن ان يتحول الى التهابي والقرع (Favus) والنوع القشري (Scaly type) والكريون الالتهابي (Inflammatory kerion) (Glavan et al., 2014) ، كما يقسم إلى نوعين نسبة إلى إصابة الفطر لفروة الرأس وهما الإصابة الداخلية (Endothrix) حيث توجد الكونيدات داخل نصل الشعرة بالكامل وهذا يسبب تكسر الشعرة وظهور نقاط سوداء تمثل الأجزاء المتبقية وهذه الإصابة تسببها الفطرين *T. tonsurans* ، *T. violaceum* ، أما الإصابة الخارجية (Ectothrix) حيث يحيط نصل الشعرة بالكونيدات والتي تسبب هذه الإصابة هي الفطريات *M. canis* و *M. gypseum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* (Refai and El-Yazid, 2013) ، ويحدث انتقال الإصابة عن طريق ملامسة الجلد مباشرة مع فرد أو حيوان مصاب، الإصابة قد تحدث أيضاً نتيجة الانتشار من مواقع أخرى مصابة مسبقاً بالفطريات الجلدية مثل فروة الرأس أو القدمين (Marais and Osuch, 2017) ، ومن الأعراض السريرية لفروة الرأس ان تتصف المنطقة باحمرار ، التقشر ، الحكة وتساقط الشعر أو يصبح الشعر المصاب في هذه المنطقة سهل السقوط في بعض الأحيان قد يصاب الأطفال من دون اي اعراض تذكر وهو بدوره ممكن ان يكون مصدر للفطريات الجلدية البشرية (Ely et al., 2014) وتسببها بشكل رئيسي أنواع الجنس *Trichophyton* و *Microsporum* ومع ذلك قد تختلف الأنواع المسببة حسب المواقع الجغرافية حول العالم (Wiegand et al., 2016)

على الرغم من أن العامل المسبب للمرض يختلف من بلد إلى آخر ، إلا أن الفطر *M. canis* هو النوع الأكثر انتشاراً في بعض أنحاء العالم ، ويعد الفطر *T. tonsurans* من الأنواع السائدة في حدوث الإصابة في بعض البلدان (Hay, 2017) تحدث الإصابة بفروة الرأس لدى فئة الأطفال حيث سجلت اغلب البحوث ان هذه الفئة هي أكثر الفئات عرضة للإصابة بهذا النوع من الإصابات الجلدية بينما فئة البالغين فتكون نسبة الإصابة قليلة (Grover et al, 2012) ، في حالة الإصابة بالفطر *T. tonsurans* لا توجد فروق بين

الجنسين ، حيث يتأثر الذكور بمعدل مماثل للإناث. أما في حالة الإصابة بالفطر *M. canis* تكون الذكور أكثر عرضة للإصابة من الإناث (Shemer et al., 2013). كما في شكل (9-1)



الشكل (9-1): سعة الرأس (Nenoff et al., 2014).

9-1: الطرائق الجزيئية في تشخيص الفطريات الجلدية الخيطية Molecular methods of dermatophytes identification

أن الخصائص المظهرية للفطريات الجلدية تتغير عن طريق العديد من العوامل البيئية والغذائية والكيميائية ، ولهذا السبب يفضل الباحثون الطرق الجزيئية ، والخصائص الوراثية ، لتحديد الفطريات الجلدية ، كما أن الطرق الجزيئية سريعة وأكثر تحديداً (Faggi et al., 2001).

لذلك فإن تطور التقنيات المستخدمة في تشخيص هذا النوع من الفطريات كالتقنيات الجزيئية المعتمدة على تشخيص الاختلافات الجينية في الكائنات الممرضة وليس على الصفات المظهرية إذ تكون هذه الطرائق أكثر دقة وأسرع من الطرائق التقليدية المعتمدة على الصفات المظهرية والتي تتطلب فترات زمنية طويلة (Mitchell et al., 1994)، ومن أهم هذه التقنيات الجزيئية التي ذكرت هي تقنية Polymerase Chain Reaction (PCR) .

أصبحت تقنية الـ PCR شائعة ولا غنى عنها في مختبرات البحث البيولوجي والطبي لمختلف التطبيقات ويستخدم PCR وعلى نحو متزايد في مجال تشخيص الأحياء المجهرية مثل الفايروسات ، البكتيريا ، الطفيليات والفطريات (Wellingshausen et al., 2004) إذ أن تشخيص الفطريات الجلدية جزيئياً استطاع حل ما هو متعلق بوبائية الفطريات الجلدية مثل كشف المصادر الشائعة في الإصابة والطرق المعدية ومساحات الانتشار وكذلك تحديد فيما إذا كان المسؤول عن إعادة الإصابة هي العزلة الأصلية أم أن هناك سلالات جديدة (Baeza et al., 2006) ، كما أن التقنيات الجزيئية تهدف إلى تطوير التصنيف خاصة بالنسبة للجنس والنوع أو السلالة ودراسة الارتباط التطوري بين الرتب التصنيفية الجديدة إذ أن هذه الدراسات وغيرها ميزت بين الأنواع المتشابهة فسلجياً ، وشكلية وميزت أيضاً بين السلالات التي تعود للنوع نفسة (Putignani et al., 2010) في السنوات الأخيرة استخدمت بادئات متخصصة specific PCR region primers للكشف المباشر عن الفطريات في عينات الجلد والأظافر (Kim et al., 2011) (Jensen and Arendrup, 2012 ;).

واستخدام ال-PCR في تشخيص الفطريات الجلدية ، حيث شخص (Zarrin et al., 2015) عشرة أنواع من الفطريات هي *M. gypseum* و *M. canis* و *M. ferrugineum* و *T. rubrum* و *T. schoenleinii* و *T. violaceum* و *T. verrucosum* و *T. tonsurans* و *mentagrophytes* و *E. floccosum* بينما وجد (Wiegand et al., 2016) ان الفطر *T. violaceum* العامل المسبب الرئيسي للإصابة بسعفة الرأس عند الأطفال و يليه الفطر *T. rubrum* في شمال ايران شخص خمسة انواع من الفطريات الجلدية *T. interdigitale* و *T. tonurans* و *T. rubrum* و *E. floccosum* و *M. canis* (Didehdar et al., 2016) وفي وسط ايران شخص ثلاثة أنواع من الفطريات *T. tonurans* و *T. rubrum* و *T. interdigitale* (Allahdadi et al., 2019) أما في مصر شخص خمسة أنواع من الفطريات هي *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. violaceum* و *E. floccosum* و *M. canis* (Taha et al., 2017)

10-1: تشخيص المركبات الفعالة في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية -Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

أن أيض الفطريات الجلدية عامةً شديد التعقيد ويتكون من مواد عديدة مختلفة ، حيث تستخدم تقنيات عالية الدقة للكشف عن مركبات الايض منها تقنية (Thin-Layer Chromatography(TLC ، High Performance Liquid Chromatography (HPLC و Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS ، حيث يعزى اختراع كروماتوغرافيا الغاز إلى James و Martin عام 1952 (James and Martin, 1952).

تقنية GC-Mas تمتلك مجالاً واسعاً جداً من التطبيقات ولكن مجال الاستخدام الأول والأهم هو فصل وتحليل مخاليط متعددة المكونات مثل الزيوت الأساسية والهيدروكربونات والمذيبات (Kadhim et al., 2016 ; Mohammed et al., 2016)، وتحديد المركبات العضوية المتنوعة مثل الأحماض والكحول والألدهايدات والإسترات والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة وأكاسيد الدهون والتربين والفينوليك (Roze et al., 2012).

كذلك تستخدم لتحليل المركبات المتطايرة التي تنتجها الفطريات الخيطية التي تنمو في الأوساط السائلة و تبين أن المركبات المتطايرة في طورها السائل تلعب دوراً مهماً في تطور الفطريات ، والدفاع ، والحماية من الإجهاد والأمراضية (Roze et al., 2010).

11-1: قابلية الفطريات الجلدية لإنتاج الإنزيمات على الاوساط الصلبة

الفطريات الجلدية Dermatophytes لها القدرة على غزو الأنسجة الكيراتينية في الجلد والشعر والظافر وهذا يرجع لقابليتها على افراز الانزيمات مما تسبب إصابة جلدية تسمى الفطار الجلدي (Gnat et al., 2019) وأن الإنزيمات التي تفرزها تكمن وراء بقاء الفطريات على العائل وتطور الإصابة ، وليس فقط عن طريق توفير المواد الغذائية بسبب تضرر حاجز الكيراتين ، ولكن أيضاً عن طريق تعديل الاستجابة المناعية (Dogen et al., 2015 ; Gnat et al., 2018).

تفرز الفطريات الجلدية مجموعة متنوعة من الأنزيمات مثل keratinase و protease و lipase و Phospholipase و Elastase و Collagenas لكن مع ذلك إن طيف الإنزيمات التي تفرزها هذه

الفطريات أوسع بكثير وتختلف مدة إنتاج الإنزيم وكثافته بين سلالات الفطريات الجلدية (Chinnapun, 2015 ; Elavarashi et al. 2017).

أن نوع واحد من الجنس *Microsporum* وأنواع عديدة من الجنس *Trichophyton* أنتجت أنزيم Elastase الذي يلعب و يؤثر في أحداث افات الجلد و يسمح لهذه الفطريات باستخدام Elastin ، وهو مكون من أنسجة الجلد البشري، سلالة واحدة من *T.schoenleinii* أنتجت أنزيمات قادرة على اذابة البروتينات الصلبة Scleroproteins الثلاث Collagen ، Elastin و Keratin (Rippon and Varadi, 1968 ; Elavarashi et al., 2017) اما انزيمي lipase و protease فهما ضروريان في المرحلة الأولى من غزو الفطار الجلدي للطبقة القرنية ويمكن أن يكونا مهمين في التسبب في الأمراض الجلدية (Veromut et al., 2008).

اما الفطر *T. mentagrophytes* فوجد انه ينتج ثلاثة انواع من انزيم keratinase I و II و III) وأن أكثر من 75 % من سلالات معزولة من الفطريات *M. canis* ، *M. gypseum* ، *E. floccosum* و *T. mentagrophytes* تكون منتجة لأنزيم Lipase على الرغم ان التفاعلات بين المسبب المرضي والمضيف غير مفهومة حيث اظهر تحليل النشاط الأنزيمي للفطريات الجلدية من الأجناس *Trichophyton* و *Microsporum* و *Epidermophyton* وجود اختلافات واضحة في تكوين الإنزيمات التي تنتجها هذه الفطريات (Odds 1991) (Calvo et al., 1985 ; Nober and Viegas, 1972) اما وسط (SDB) ، وأشار إلى أن Phospholipase قد يؤثر في الحفاظ على وظيفة غشاء الخلية وقد يساعد في غزو خلايا المضيف.

ان الاستخدام المكثف الوحيد لطريقة الأوساط الصلبة تم بواسطة Berkenkamp, Berkenkamp (1973) ، وعلى الرغم من التقنيات المختلفة التي تم استخدامها للكشف عن الإنزيمات المنتجة بواسطة الفطريات ، الا ان استخدام الأوساط الصلبة يسمح بالكشف السريع عن وجود أو عدم وجود إنزيمات معينة تفرزها الفطريات الجلدية عليها ويسمح بالبحث عن المتغيرات الوراثية بسهولة أكبر (Hankin and Anagnostakis, 1975) وبالتالي هناك المزيد من الاهتمام لإنتاج الإنزيمات عن طريق الفطريات المسببة للأمراض بسبب أثرها في الأمراض البشرية (Brasch and Zaldua, 1994).

12-1: عوامل الضراوة في الفطريات الجلدية Virulence Factors in dermatophytes

تعرف الضراوة بانها مقياس لدرجة الامراضية Pathogenicity أو لشدة الاضرار التي تحدث في العائل، ولا يمكن لأي مسبب مرضي ان يحدث الإصابة الا اذا كان ضاريا Virulent أذ تعد الضراوة مرتبطة بجينات تفقد او تكتسب أثناء النمو التطوري وهي معرضة للانتخاب الطبيعي وهذا يعني ان عوامل الضراوة تكون على شكل تراكيب خلوية أو إنزيمات أو سموم أو غيرها وهي تساهم في أحداث الإصابة وتؤثر في بقاء المسبب المرضي (Pfaller and Diekeme, 2007) وتعود إمراضيه الفطريات الجلدية إلى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة المهمة لأحداث الإصابة أهمها :

1-12-1: الالتصاق Adhesion

المرحلة الأولى من الإصابة الجلدية تشمل الالتصاق وتشبث الكونيدات المفصليّة (Arthroconidia) بسطح الأنسجة المتقرنة وهذه العملية تعتمد على الوقت أذ كلما ازداد الوقت ازدادت أعداد الكونيدات الملتصقة إذ أظهرت التجارب بان الفطر *T. mentagrophytes* يحتاج إلى 12 ساعة للالتصاق الكونيدات المفصليّة و 24 ساعة من اجل الانبات (Chinnapun, 2015 ; Al-jabre et al., 1993).

أن زيادة أعداد الكونيدات الملتصقة لا يعتمد فقط على الوقت أذ وجد ان هناك مادة بوليمرية تتوسط بين الكونيدة الصغيرة وخلايا الطبقة القرنية والتي ربما تؤثر في عملية الالتصاق، أما في الوقت الحاضر فقد اقترح أن يكون المانوز والكالأكتوز الموجودان على سطح الجلد عبارة عن مواد لاصقة تساعد على التصاق الفطريات الجلدية وخاصة الفطرين *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* (Duek et al., 2004).

2-12-1: الغزو Invasion

بعد ان تلتصق الفطريات الجلدية بالأنسجة المتقرنة تنبت الأبواغ لاخترق الطبقة القرنية ، وان قدرة الفطريات الجلدية على تحطيم طبقة الكيراتين من أهم عوامل الضراوة ، أثناء عملية الغزو تنتج هذه الفطريات مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة والتي تشمل المواد الانزيمية والمواد الغير انزيمية وغيرها (Achtermann and White, 2011).

تفرز الفطريات الجلدية مجموعة متنوعة من أنزيمات الضراوة والتي تتميز بخصائص مختلفة مثل انزيمات Cellulase و lipase وأهم الانزيمات التي تفرزها هو أنزيم Keratinase وتفرز هذه الانزيمات للحصول على العناصر الغذائية اللازمة لتطورها والبقاء على قيد الحياة إلى جانب ذلك فان هذه الانزيمات تعمل أيضاً كمستضدات وتحفز درجات مختلفة من الالتهاب وتستخدم الفطريات الجزيئات الكبيرة الموجودة في النسيج المضيف كمصدر للكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت (Jensen et al., 2007).

يعد انزيم الـ protease من أكثر الأنواع التي تمت دراستها من بين مجموعة واسعة من الإنزيمات التي تفرزها الفطريات الجلدية ، وهي النوع الرئيسي لعوامل الضراوة الناتجة عن الفطريات الجلدية المشاركة في عملية في الغزو واستغلال utilization الطبقة القرنية للمضيف ، مثل مسببات الأمراض الفطرية الأخرى تفرز الفطريات الجلدية انزيم protease كعامل ضراوة. وقد اقترح أن الفطريات الجلدية تفرز هذا الانزيم لتسهيل التصاق الفطريات بالأنسجة المضيف (Liu et al., 2014).

وجد ان قدرة الفطريات الجلدية على غزو انسجة العائل يعتمد أيضاً على عمل انزيم Lipase والانزيمات الأخرى اللازمة لتحطيم طبقة الكيراتين مثل : الأنزيمات الحالة للدهون المفسفرة phospholipase حيث تعمل هذه الأنزيمات على هضم الدهون المفسفرة في غشاء خلية المضيف وتعمل أيضاً على تنظيم نمو الفطر، ويمكن لهذه الأنزيمات ان تبقى داخل الخلية أو تفرز إلى الخارج (Price et al., 1982).

13-1: الهدف من الدراسة The Aim of study

هدفت الدراسة الى التعرف على انواع الفطريات الجلدية المنتشرة في محافظة ميسان وتضمن محاور الدراسة :

1. جمع العينات من المرضى المصابين بالفطريات الجلدية *In vitro*.
2. تنمية العينات على اوساط زرعيه وأجراء تشخيص مظهري ومايكروسكوبي للفطريات الموجودة في تلك العينات .
3. أجراء تشخيص جزيئي لبعض الفطريات الجلدية المعزولة.
4. تقييم الفعالية الانزيمية لبعض الفطريات الجلدية المعزولة
5. تشخيص بعض المركبات الايض الثانوي لبعض الفطريات المعزولة باستخدام الـ GC-MS .

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-1-2: الأجهزة والمعدات Equipments and Instruments

الجدول (1-2) : يمثل الأجهزة والمعدات المختبرية التي استخدمت أثناء مدة الدراسة مع أسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ

الشركة المصنعة (المنشأ)	أسم الجهاز
Shownic(Korea)	Microwave مسخن
Bio neer (Korea)	Epindroff 2ml ابندروف (انابيب)
Iso Lab (Germnay)	Cylinder اسطوانات مدرجة باحجام مختلفة
Bio zek medical (Holland)	Petri Dishes أطباق بتري
ALS(Canada)	Test tubes انابيب اختبار
Whatman No.1(UK)	Filter papers أوراق ترشيح
Vistal(Poland)	Refrigerator ثلاجة
Shimadzu(Japan)	UV جهاز الاشعة فوق البنفسجية visible Spectroscop
Consort(Belgium)	Electrophoresis جهاز الترحيل الكهربائي
GFR® (Germnay)	Distallwato جهاز التقطير
Hettich(Germnay)	Centrifuge جهاز الطرد المركزي
Epindroff(Germnay)	Epindroff centrifuge جهاز الطرد المركزي
Medilab (Korea)	Vortex mixturee جهاز المازج الدوار
Heidolph(Germnay)	Magnatic stirrers جهاز المازج المغناطيسي
Vilber lourmat (France)	Gel Documentation جهاز تصوير الهلام
Agilent (USA)	جهاز كروماتو غرافيا الغاز المتصل بمطياف الكتلة GC-MS
Eppendorf (Germany)	Cooling Centrifuge جهاز نبد مركزي مبرد
Human Lab(Korea)	Incubator الحاضنة
Zenith lab(China)	Shaking Incubator الحاضنة الهزازة
Memmert(Germnay)	Water path الحمام المائي
Iso Lab (Germnay)	flask دورق مختلفة
Superestar(India)	Slides and شرائح زجاجية وغطاء الشريحة cover slides
Memmert(Germnay)	oven فرن كهربائي
Pyrex (England)	Screw cap bottles قناني محكمة الغلق
Lab Tech (France)	Biosafety cabinet كابينة الزرع
Broche(Malaysia)	Gloves كفوف
Dragon(China)	Micropipettes 0.5-10µL, 10-100 µL, 100-1000 µL ماصات
Olympus(Japan)	Light Microscop مجهر ضوئي

Superestar(India)	Disposable Syringes	محاقن طبية
Prime (UK)	Thermo cycler	المدور او المضخم الحراري
Iraq	Benzen burner	مصباح بنزن
Knf laboport(USA)	vaccum pump	مضخة ضغط
Hirayama(Japan)	Autoclave	المؤصدة
Sartorius(Germnay)	Sensitive Balace	الميزان الحساس
Himedia (India)	Standard wire loop (1m)	الناقل الزرعي

2-1-2: المواد الكيميائية Chemical Substances

الجدول (2-2): يمثل جميع المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة مع أسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ

الشركة المصنعة (المنشأ)	اسم المادة
Bio neer (Korea)	Free nuclease water
Bio neer (Korea)	Ladder 100bp
Bio basic (Canada)	TBE buffer
TEDIA (USA)	Acetone
KR (Chile)	Agar
Bio basic (Canada)	Agarose
RBL (Spain)	Absolute ethanol
Bio basic (Canada)	Isopropanol
Bio neer (Korea)	Primers
BDH (England)	Pepton
Bio basic (Canada)	Ethidium bromide
CHEMLAB(Belgium)	Ethyl acetate
AVONCHEM (UK)	Dextrose
Himedia (India)	Cycloheximide
Sigma-Aldrich (USA)	Ammonium sulfate saturated
Bio neer (Korea)	Lactophenol-cotton blue stain
Bio neer (Korea)	Bromo phenol Blue
Lifeline® (UK)	phosphate buffered saline
AQUA (Turkey)	Ethanol 95%
Alpha® (Turkey)	Ethanol 70%
INF (Indonasia)	Chloramphenicol
SCR® (China)	Sodium chloride
SCR® (China)	calcium chloride
BDH (England)	Normal saline
Bio neer (Korea)	Master Mix

Sigma-Aldrich (UDA)	Elastin	مسحوق الايلاستين
SCR® (China)	KOH	هيدروكسيد البوتاسيوم

3-1-2: الأوساط الزرعية Culture media

تضمنت الدراسة استخدام عدد من الأوساط الزرعية الموضحة في جدول (3-2)

الجدول (3-2): الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

اسم الوسط الزرع	الشركة المصنعة (المنشأ)
Nutrient agar	Himedia (India)
Sabouraud Dextros Agar	Himedia (India) Bio Mark (India)
Sabouraud Dextros broth	حضر مختبرياً
Trypticase Soy Agar (TSA)	Sigma-Aldrich(UK)

2-2: طرائق العمل Methods

1-2-2: جمع العينات Samples Collection

تم جمع 137 عينة سريرية من الأشخاص المصابين بالفطريات الجلدية من الاستشارية الجلدية في مستشفى الصدر التعليمي العام وبعض العيادات الخاصة بمحافظة ميسان وللمدة ما بين 2018/12/6 ولغاية 2019/5/29 اذ شملت الدراسة جمع العينات من المناطق المصابة للجلد والشعر والاطافر وبإشراف مباشر من الطبيب المختص وللأعمار كافة ولكلا الجنسين .

وأخذت عينات الجلد بطريقة القشط Scrapping اذ تم تعقيم المنطقة المصابة بكحول ايثيلي بتركيز 70% وبعدها تم قشط القشور من حافة بؤرة الإصابة باستعمال شفرة حادة معقمة، اما عينات الاظافر فقد تم اخذ قطعة منها بواسطة شفرة حادة من المنطقة المصابة ذات الشكل واللون غير الطبيعي ، اما بالنسبة لعينات الشعر حيث اخذ الشعر المصاب بواسطة ملقط معقم ووضعت العينات في أنابيب اختبار معقمة وجلبت إلى مختبر الفطريات في كلية العلوم /جامعة ميسان لغرض فحصها وزراعتها .

2-2-2: تحضير الأوساط الزرع

1-2-2-2: وسط سابرويد دكستروز اكار Sabourauds Dextrose Agar

حضر هذا الوسط حسب توصيات الشركة المجهزة (Himedia) بإذابة 65 غم من مسحوق (SDA) في 1000 مل ماء مقطر ثم أضيف إلى الوسط 0.05 غم من المضاد الحيوي Chloramphenicol و 0.5 غم من Cycloheximide لمنع نمو الفطريات الانتهازية وبعد التعقيم صب في اطباق بلاستيكية ذات قطر 9 ملم، استخدم هذا الوسط لعزل الفطريات الجلدية (Emmons et al., 1974).

2-2-2-2: وسط مرق السابرويد _ دكستروز Sabourauds Dextrose Broth (SDB)

حضر هذا الوسط مختبريا بإذابة 40 غم دكستروز و 10 غم بيتون في 1000 مل ماء مقطر واستخدم هذا الوسط لتنمية الفطريات الجلدية لغرض تشخيص المركبات الفعالة باستخدام تقنية GC-MS (McGinnis, 1980).

3-2-2-2: وسط Elastin مع Trypticase Soy Agar (TSA)

تم تحضير الوسط حسب الطريقة الموصوفة بواسطة Rippon and Varadi (1968) وذلك بإضافة 1 غم من مسحوق Elastin إلى 100 مل من وسط Trypticase Soy Agar (TSA) بعد تعقيمه (pH 8) واستخدم هذا الوسط للكشف عن قدرة الفطريات على إفراز انزيم Elastase .

4-2-2-2: وسط اللايباز Lipase

تم تحضير الوسط حسب الطريقة الموصوفة بواسطة Sierra (1957) ويتكون الوسط من المواد الآتية : 10 غم بيتون ، 5 غم NaCl ، 0.1 غم من $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، 20 غم أكار ، مادة Tween 20 ، ثم اذيت هذه المواد في 1000 مل ماء مقطر عقم الوسط بصورة منفصلة عن مادة Tween 20 التي عقت على حده ، حيث تم تعقيم Tween 20 بشكل منفصل بعد ذلك اضيف 1 مل من Tween 20 إلى 100 مل من الوسط الأساس المعقم و المبرد قبل تصلبه (pH 5.5) واستخدم هذا الوسط للكشف عن قدرة الفطريات على إفراز انزيم Lipase.

5-2-2-2: وسط الاكار المغذي المدعم باللسثين

حضر هذا الوسط حسب الطريقة الموصوفة بواسطة Price *et.al.* (1982) والتي حورها Aubaid (1997) وحضر الوسط من المواد الآتية : 20 غم Nutrient Agar ، 1M من NaCl ، 0.05M من CaCl_2 ، 8% من صفار البيض المعقم.

تم تحضير صفار البيض كمسحوق كالاتي : اخذت بيضة طازجة ، فصل المح عن الزلال بواسطة حقنة معقمة ، وضع المح في وعاء زجاجي معقم ، ووضع الوعاء في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40 م لمدة ساعة واحدة لكي يجف المح ، خلط 8 غم من المادة الجافة مع 50 مل ماء مقطر معقم ومزجت جيدا باستخدام الهاون الخزفي وضع الخليط في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 500 rpm لمدة 15 دقيقة، أخذ الراسب وخفف مع 100 مل ماء مقطر معقم وأضيف إلى وسط الاختبار المعقم (pH 5) واستخدم هذا الوسط لغرض الكشف عن قدرة الفطريات على إفراز أنزيم Phospholipase.

6-2-2-2: وسط Nutrient Agar مع Gelatin

حضر هذا الوسط حسب طريقة Hankin and Anagnostakis (1975) ، يتكون هذا الوسط من 20 غم Nutrient Agar ، 0.8 % Gelatin ، 8 % محلول الجيلاتين . عقم الوسط بصورة منفصلة عن محلول الجيلاتين 8 % الذي عقم على حده ، وبعد انخفاض درجتي حرارتهما إلى ما قبل التصلب أضيف محلول الجيلاتين وبنسبة 5 مل لكل 100 وسط زرع (pH 7.4) واستخدم هذا الوسط لغرض الكشف عن قدرة الفطريات على إفراز أنزيم Protease.

Sterilization: 7-2-2-2: التعقيم

عقمت الأوساط الزرعية بجهاز المؤسدة البخاري (Autoclave) و تحت درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند / انج² ولمدة 15 دقيقة. اما الزجاجيات والادوات التي استخدمت في التجارب جرى تعقيمها بواسطة الفرن الكهربائي (Electric oven) عند درجة حرارة 180 م° ولمدة ساعتين (Harley and Prescott, 1996).

3-2-2: تحضير محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH بتركيز 10%

حضر هذا المحلول بإذابة 10غم في 100مل ماء مقطر واستخدم هذا المحلول لفحص التراكيب الفطرية عند الفحص المجهرى المباشر للنماذج السريرية (McGinnis, 1985).

4-2-2: الفحص المجهرى المباشر Direct microscopic examination

اخذ جزء من العينة ووضع على شريحة زجاجية نظيفة تحوي على قطرة من هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) بتركيز 10% وذلك لهضم الانسجة ولتوضيح العينة ، ثم وضع غطاء الشريحة عليها وسخنه بهدوء بواسطة تمريرها فوق اللهب مرتين او ثلاث بعدها تركت الشريحة لمدة 20-30 دقيقة لكي تلين العينة . اما بالنسبة لعينات الاظافر فقد وضعت الشريحة في طبق يحتوي على ورقة ترشيح رطبة طوال الليل ثم فحصت بالمجهر الضوئي تحت قوة تكبير 40X والكبرى 100X لملاحظة وجود تراكيب الفطر : الكونيدات والخيوط الفطرية (Ellis, 1994).

5-2-2: زرع العينات Culturing of Specimens

تم اخذ جزء من العينات السريرية الغير معاملة بهيدروكسيد البوتاسيوم باستخدام ملقط معقم وتم زراعتها على الوسط الزرعي (SDA) المضاف اليه السايكلوهيكسامايد والكلورومفينيكول ، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 28 م° ولمدة 2-4 أسابيع ، فحصت الاطباق لملاحظة ظهور أي نمو فطري (Kannan et al., 2006).

6-2-2: فحص المستعمرات الفطرية وتشخيصها

1-6-2-2: تنقية عزلات للفطريات

تم تحضير مزارع نقية للفطريات الجلدية المعزولة باستعمال اطباق حاوية على وسط (SDA)، نقلت إليها جزء من حافة المستعمرة عند ظهورها في الاطباق الحاوية على عينات الفطريات باستعمال لوب طعن ، وللغرض نفسه حضرت مزارع مائلة (Slant Cultures) حيث تم تلقيحها بجزء من المستعمرة النقية وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 28 م° ولمدة 2-4 أسابيع حسب نوع الفطر، ثم حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لاستخدامها عند الحاجة إليها.

2-6-2-2: الفحص المظهري لتراكيب الفطريات

لدراسة الصفات المظهرية للفطريات المعزولة وتشخيصها بشكل دقيق فحصت الاطباق بعد مرور 7 ايام من الحضانة ولمدة 4 أسابيع ، فحصت المستعمرات فيها من حيث لونها ، شكلها ونسجتها اذا كانت حبيبه (Granular) أو صوفيه (Wooly) أو دقيقه (Powdery) أو شمعية ملساء (Glabrous)

(Waxy) أو قطنية (Cottony)، و لون الصبغة التي تنتجها المستعمرات على الجهة الخلفية للطبق (Emmons *et al.*, 1977).

2-2-6-3: الفحص المجهرى لتراكيب الفطريات

تم دراسة الصفات المجهرية للفطريات المعزولة بواسطة فحص الخيوط الفطرية والكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة من حيث وجودها ، أشكالها ، أبعادها ، طريقة ترتيبها على الخيوط الفطرية ، وكذلك ملاحظة تكوين الأبواغ المفصليّة (Arthrospores) والأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) ، ولدراسة هذه الفطريات بدقة وتشخيصها تم عمل شرائح زجاجية وذلك بأخذ جزء من المستعمرة ووضعها على شريحة زجاجية حاوية على قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء وفحصها تحت المجهر الضوئي light microscope تحت قوى 40x و 100x .

وشخصت الفطريات بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات الفطرية على الوسط الغذائي والكونيدات الكبيرة و الكونيدات الصغيرة والخصائص المجهرية لها بالاعتماد على المصادر الآتية :- (Refai and El- ; Ellis *et al.*, 2007 ; Simpanya, 2000 ; Champion *et al.*, 1998) (Yazid, 2013).

2-2-7: حساب النسب المئوية للتردد Frequency percentage

حسبت النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة بتطبيق المعادلة ادناه (Krebs, 1978):

عدد عزلات النوع الواحد

$$\text{النسبة المئوية للتردد} \% = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{100} \times 100$$

العدد الكلي للعينات

2-2-8: الكشف عن المركبات الكيميائية في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية GC-MS

تم تنمية الفطريات على وسط (SDB) وذلك لغرض الحصول على المركبات الايض الثانوي ، حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل وحاوية على 250 مل من وسط SDB ثم عقم الوسط ، وبردت الدوارق ، ثم اضيفت 5 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الجلدية النامية على وسط SDA وبمعدل ثلاث مكررات لكل فطر ، حضنت الدوارق في حاضنة الهزازة (120دورة/دقيقة) تحت درجة حراره 25 ± 2 م° ولمدة أربعة أسابيع (Kim *et al.*, 1999).

بعد انتهاء مدة الحضن تم ترشيح المزراع الفطرية باستخدام ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، وباستخدام جهاز (Vacuum) وذلك لتنقية الراشح الفطري ، ثم مزج الراشح مع خلات الاثيل Ethyl acetate (1: 1) باستخدام قمع فصل زجاجي معقم وتحت ظروف معقمة ، ثم جمعت الطبقة العضوية في اطباق بتري معقمة ووضعته في الحاضنة تحت درجة حرارة 30 م° وتركته لحين الجفاف. تم قشط المادة الجافة ووضعها في انابيب معقمة (Zur, 2001) وتم الكشف عن المركبات بجهاز GC-MS (تم إجراء الكشف في ايران / جامعة طهران).

9-2-2: قياس الفعالية الانزيمية لبعض الأنواع الفطرية

1-9-2-2: الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Elastase

لقت الأطباق المحتوية على الوسط (TSA و Elastin) بالفطريات المراد اختبارها من خلال نقل جزء من المستعمرة على شكل قرص بقطر 6 ملم باستخدام الثاقب الفليني الى وسط الاطباق ، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 26 °م ولمدة أسبوعين، بعدها لوحظت المناطق الشفافة أو المترسبة حول المستعمرات الفطرية وفي حالة عدم ظهور المنطقة الشفافة ، يتم إضافة محلول مائي من كبريتات الأمونيوم المشبعة إلى الوسط لتعزيز ظهور المنطقة المترسبة.

2-9-2-2: الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Lipase

لقت الأطباق المحتوية على وسط الاختبار بالفطريات المراد اختبارها من خلال نقل جزء من المستعمرة على شكل قرص بقطر 6 ملم باستخدام الثاقب الفليني الى وسط الاطباق ، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 26 °م ولمدة أسبوعين، فحصت الأطباق بعد ذلك للكشف عن الفعالية الانزيمية للليباز ، ويشير تكوين الرواسب حول المستعمرات إلى إنتاج أنزيم Lipase.

3-9-2-2: الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Phospholipase

لقت الأطباق المحتوية على الوسط الزراعي (اكار المغذي المدعم بالليسيثين) بالفطريات المراد اختبارها من خلال نقل جزء من المستعمرة على شكل قرص بقطر 6 ملم باستخدام الثاقب الفليني الى وسط الاطباق، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 26 °م ولمدة أسبوعين، بعد ذلك فحصت الأطباق للكشف عن الفعالية الأنزيمية، ان ظهور الرواسب حول المستعمرات فدل على إنتاج أنزيم Phospholipase.

4-9-2-2: الكشف عن قابلية بعض الفطريات على إفراز أنزيم Protease (Gelatinase)

لقت الأطباق المحتوية على الوسط الزراعي بالفطريات المراد اختبارها من خلال نقل جزء من المستعمرة على شكل قرص بقطر 6 ملم باستخدام الثاقب الفليني الى وسط الاطباق، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 26 °م ولمدة أسبوعين، ويشير تكون المناطق الشفافة حول المستعمرات الى إنتاج أنزيم Protease.

10-2-2: الدراسة الجزيئية للفطريات الجلدية Molecular study of dermatophytes

1-10-2-2: استخلاص الـ DNA من الفطريات المعزولة

تم إجراء استخلاص الـ DNA لـ 12 نوع من مستعمرات الفطريات الجلدية المعزولة أثناء الدراسة وبعمر 8-10 ايام بعد تنشيطها على وسط SDA الحاوي على السايكلوهيكسامايد والكلورومفينيكول وذلك باستعمال عده الـ (Genomic DNA Mini Kit (Plant)) المجهزه من شركة Geneaid (ملحق 1) .

2-10-2-2: الترحيل الكهربائي للـ DNA Electrophoresis of DNA

إجريت عملية الترحيل الكهربائي حسب طريقة Sambrook (1989) وحسب الخطوات الآتية :

- تم وزن 1 غم من الاكاروز واذابته في 100مل من TBE buffer لكي يصبح بتركيز 1 x

- سخن المزيج بجهاز Microwave إلى أن أذيب الاكاروز بصورة تامة بعد ذلك ترك المزيج ليبرد إلى درجة حرارة 40-50 °م ثم أضيف إليه 0.5 مايكرو لتر من صبغة Ethidium bromide
- تحضير قالب الترحيل الكهربائي وربط المشط Comb في إحدى نهايتيه لعمل الحفر داخل الاكاروز ومن ثم صب محلول الهلام المحضر ثم ترك ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة بعد ذلك تم رفع المشط والقطع المطاطية واعيد قالب في مكانة لجهاز الترحيل وغمر بمحلول TBE حتى وصل الى ارتفاع 2-3 ملم تقريباً
- مزج 2 مايكرو لتر من صبغة Bromophenol Blue و 5 مايكرو لتر من الـ DNA ومن ثم وضع المزيج في حفر الاكاروز.
- ربطت اقطاب جهاز الترحيل إلى مجهز القدرة وثبتت قوة التيار الكهربائي 75 فولت وترك الهلام لمد 30 دقيقة ويدل خروج الفقاعات الهوائية من حوض الترحيل الكهربائي على بدء عملية الترحيل
- فحص هلام الاكاروز تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة وجود الـ DNA بعدها تم تصوير النتائج باستخدام الكاميرا الرقمية.

3-10-2-2: مكونات مزيج PCR master mix

حضر مزيج تفاعل الـ PCR باستعمال عدة الـ PCR perMIX Accupower® المجهزة من شركة Bioneer الكورية وبحسب تعليمات الشركة كما في جداول ادناه:

الجدول (4-2): يمثل مكونات مزيج الـ PCR master mix للـ ITS-PCR (ITS1 و ITS4)

PCR master mix	Volume
DNA template	7 µl
Forward primer (10pmol)	2 µl
Reverse primer (10pmol)	2 µl
PCR water	9 µl
Total	20 µl

الجدول (5-2): يمثل مكونات مزيج الـ PCR master mix للـ RAPD-PCR (OPAA11 ، OPAA17 و OPD18 و OPU15)

PCR master mix	Volume
DNA template	7 µl
Primer	4 µl
PCR water	9 µl
Total	20 µl

4-10-2-2: اختبار تفاعل سلسلة انزيم البلمرة (PCR) Polymerase chain reation

اتبعت طريقة Liu et al.(2000) لأجراء الاختبار ، اذ خلطت مكونات مزيج الـ master mix في انابيب حجمها 0.2 مل خاصة بعده فحص الـ PCR (PCR premix Accuoower®) والمحتوية على بقية مواد التفاعل ، وقد استخدمت ستة أنواع من البادئات Primers الموضحة في جدول (6-2)

(Mitchell *et al.*, 1994) والتي تم تخفيفها بإضافة 0.5 مل من TE وذلك حسب تعليمات الشركة المجهزة ، ومزجت مكونات الأنابيب جيداً بواسطة جهاز Vortex ومن ثم وضعت جميع العينات في جهاز المضخم الحراري PCR Thermocycler وتم تشغيله وفق البرامج الموضحة في الجداول (2-7 و 2-8). وبعد أنتهاء برنامج ال PCR تم وضع 4 مايكرو لتر من (1000-100 bp) DNA Ladder في الحفرة الأولى من هلام الاكاروز و 5 مايكرو لتر من منتج ال PCR في الحفرة الثانية وهكذا بالنسبة لبقية العينات ومن ثم رحل كهربائياً على هلام الأكاروز ، بوزن 1 غم من الاكاروز وأذابته في 100 مل من محلول ال TBE buffer وبتركيز 1x ثم تم اضافة 2 مايكرو لتر من صبغة Ethidium bromide وثبتت قوة التيار على (70 فولت) ولمدة 75 دقيقة وبعد الانتهاء من عملية الترحيل تم فحص الهلام بجهاز UV وتصوير النتائج بالكاميرا الرقمية .

الجدول (2-6): تتابع القواعد النيروجينية في البادئات Primers المستخدمة في عملية التضخيم

Primers	Primers Sequences	Length
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3'	19 Base
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3'	20 Base
OPAA11	5'-ACCCGACCTG-3'	10 Base
OPAA17	5'-GAGCCCGACT -3'	10 Base
OPD18	5'-GAGAGCCAAC -3'	10 Base
OPU15	5'-ACGGGCCAGT -3'	10 Base

الجدول (2-7): برنامج عملية التضخيم للـ PCR للبادئات ITS1 و ITS4

PCR Step	Repeat cycle	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95 C°	4 min
Denaturation	30	95 C°	1 min
Annealing		58 C°	1 min
Extension		72 C°	2 min
Final extension	1	72 C°	10 min
Hold	-	4 C°	Forever

الجدول (2-8): برنامج عملية التضخيم للـ PCR للبادئات OPAA11 ، OPAA17 ، OPD18 و OPU15

PCR Step	Repeat cycle	Temperature	Time
Denaturation	3	94 C°	60 sec
Annealing		36 C°	45 sec
Elongation		72 C°	90 sec
Denaturation	32	94 C°	30 sec
Annealing		36 C°	45 sec
Elongation		72 C°	90 sec

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

3-1: عزل وتشخيص الفطريات الجلدية Isolation and Identification of Dermatophytes

تم تشخيص الفطريات الجلدية المعزولة اعتماداً على الصفات الزرعية للمستعمرات النامية مثل اللون والحجم وطبيعة المزرعة والجهة الخلفية للطبق (Reverse) والصفات المجهرية كشكل الكونيدات وحجمها والخیوط الفطرية حيث تم عزل الفطريات في 46 عينة من مجموع 137 وبنسبة 33.6 % وشخص 12 نوعاً منها تعود إلى ثلاثة أجناس هي *Epidermophyton* و *Microsporum* و *Trichophyton* و أظهر الفطر *T. interdigitale* أعلى نسبة ظهور بلغت 32.6 % (15 عزلة) ويليه الفطر *M. canis var. distortum* وبنسبة ظهور بلغت 13 % (6 عزلات) ثم الفطرين *M. canis* و *var. equinum* و *T. equinum* وبنسبة ظهور بلغت 10.9 % (5 عزلات) لكل منهما بينما أظهرت الفطريات الجلدية *M. persicolor* و *M. nanum* و *T. rubrum* و *T. ajelloi* أقل نسبة ظهور بلغت 2.2 % (عزلة واحدة لكل فطر) بينما اختلفت نسبة ظهور بقية الفطريات والموضحة في الجدول (1-3).

الجدول (1-3): الأنواع الفطرية المعزولة خلال الدراسة

النسبة المئوية %	عدد العزلات	نوع الفطر
4.3	2	<i>Epidermophyton floccosum</i> (Harz) Langeron Milochevitch
8.7	4	<i>M. audouinii</i> Gruby
10.9	5	<i>M. canis var. equinum</i> (Delacroix and Bodin) Gueguen
13.0	6	<i>M. canis var. distortum</i> di Menna and Marples
2.2	1	<i>M. nanum</i> Fuentes
2.2	1	<i>M. persicolor</i> (Sabouraud) Guiart and Grigorakis
2.2	1	<i>T. ajelloi</i> Vanbreuseghem
10.9	5	<i>T. equinum</i> (Matruchot & Dassonville) Gedoelst
6.5	3	<i>T. erinacei</i> Smith and Marples , Sabouraudia.
32.6	15	<i>T. interdigitale</i> (priestley) Georg
4.3	2	<i>T. mentagrophytes</i> (Robin) Blanchard
2.2	1	<i>T. rubrum</i> (Castellani) Sabouraud
100	46	المجموع

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الأنواع المعزولة تعود إلى الأجناس الثلاثة وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه كل من صالح (2008) و Naik et al. (2019).

ولا تتفق مع ما توصل إليه الباحثين حمد (2008) و Baranova et al. (2018) إذ عزلوا الجنسين *Trichophyton* و *Microsporum* بينما عزل عبد الحسن وآخرون (2014) ست أنواع تعود جميعها إلى الجنس *Trichophyton* أما Dogo et al. (2016) فعزل 45 نوع تعود إلى الجنسين *Trichophyton* و *Microsporum*.

كذلك بينت نتائج الدراسة الحالية ان الجنس *Trichophyton* الأكثر شيوعاً في هذه الدراسة واتفقت مع كل من صالح (2008) و صالح (2010) و Haggag et al. (2017) ولا تتفق مع Shalaby et al (2016) إذ وجد الجنس *Microsporum* الأكثر شيوعاً.

تشير الدراسات إلى أن سبب سيادة الجنس *Trichophyton* عن الجنس *Microsporum* هو أن الجنس *Trichophyton* يضم أنواع كثيرة بعضها محبة للإنسان وأخرى محبة للحيوان والبعض الآخر محبة للتربة (Kannan et al., 2006). كما يعد الجنس *Trichophyton* من أهم الأجناس وأكثرها شيوعاً فقد أشار Monod et al. (2002) إلى أن من بين عشرة أنواع ممرضة للإنسان والمعرولة في أوروبا ممكن ملاحظة الفطرين *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* بصورة شائعة كما تشكل أيضاً إصابات الجنس *Trichophyton* مشكلة رئيسة عامة للصحة كما وجد الجنس *Trichophyton* بأنه مسؤول عن 75% من الإصابات الفطرية الجلدية (Norris et al., 1999 ; Weitzman and Summerbell, 1995)

كما بينت هذه الدراسة ان الفطر *T. interdigitale* هو أكثر الأنواع شيوعاً وهذا يتفق مع ما أشارت إليه الدراسات الأخرى (Razaei-Matehkolaei et al., 2016 ; Ansari et al., 2016)

ولا تتفق مع دراسات عديدة منها دراسة صالح (2008) و Sliva- Rocha et al. (2017) الذين وجدوا الفطر *T. rubrum* أكثر الأنواع شيوعاً، بينما الدراسة التي قام بها Basak et al. (2019) بينت ان الفطر *E. floccosum* أكثر الأنواع تكراراً، اما دراسة Abd Elmegeed et al. (2015) فوجد ان الفطر *T. tonsurans* أكثر الأنواع شيوعاً ، كذلك وجد (Taha et al. 2017) و Shalaby et al. (2016) الفطر *M. canis* أكثر الأنواع تكراراً ووجد (Coulibaly et al. 2015) الفطر *M. audouinii* أكثر الأنواع شيوعاً وغيرها من الدراسات الأخرى .

يعود هذا الاختلاف في النتائج إلى أسباب عديدة منها أن أنواع الفطريات الجلدية المسببة لأنواع مختلفة من السعفة تختلف من بلد إلى آخر كذلك تختلف من منطقة إلى أخرى في نفس البلد الواحد وتتغير أيضاً مع الوقت والبيئة والمناخ والمهنة وأنماط الحياة وتطور أنماط وراثية جديدة منها أو يعود سبب ذلك إلى انتشار الإصابة بواسطة المهاجرين (Emele and Oyeka, 2008) أو يعود سبب ذلك إلى أن بعض الفطريات الجلدية تكون ذات انتشار واسع على مستوى العالم أو ذات انتشار محدود وبالتالي فان حدوث الإصابات تختلف من مكان إلى آخر (Caretta et al., 1981) و يعود اختلاف الأنواع المسببة للإصابة في المنطقة الجغرافية أثناء مدد مختلفة إلى عوامل عديدة منها حركة السكان والظروف الاجتماعية والاقتصادية ومستوى المراقبة الصحية التي تقوم بها الجهات المختصة (Ghannoum et al., 2013)

أما سبب انتشار الفطر *T. interdigitale* بمحافظة ميسان والذي توصلت إليها الدراسة يعود ذلك إلى حقيقة أن معظم المصابين بالفطريات الجلدية كانوا من المناطق الريفية وعلى تماس مباشر مع الحيوانات وممارسة الأنشطة الزراعية والتي هي المهن الرئيسية في القرى اضافة إلى عوامل أخرى منها تدني الحالة الاجتماعية والاقتصادية وعدم الوعي بالعدوى التي تنتقل إليه من الحيوانات المصابة مباشرة أو الاتصال غير المباشر مع الأدوات الملوثة وبذلك فهي تساهم في ارتفاع معدل انتشار هذه الأصابات (Upadhyay et al., 2019).

كذلك وجد أن الفطر *T. interdigitale* أكثر شيوعاً في المناخ الحار والرطب من المناطق الأستوائية (Rameshwari et al., 2016) حيث أصبح الفطر *T. interdigitales* مصدر قلق متزايد في الهند مما يسبب إصابات جلدية لتحل محل الإصابة الأكثر شيوعاً بواسطة الفطر *T. rubrum* وأكدت

الدراسات التجريبية على ان الفطر *T. interdigitale* يمكن اعتباره كنوع يتكيف مع البشر (Symoens et al., 2011).

ويرجع السبب الرئيسي للإصابة بالفطريات الجلدية بواسطة الفطر *T. interdigitale* هو نتيجة لملامسة القطط والكلاب والحيوانات الأليفة الأخرى (Rezaei-Matehkolaei et al., 2016) كما وجد أن هذا الفطر *T. interdigitale* هو المسبب الرئيس لجميع الأشكال السريرية عدا سعة المغبن (Ansari et al., 2016).

وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان 46 عينة كانت موجبة للزرع وبنسبة 33.6 % وتعد هذه النسبة قليلة مقارنة مع (بندر، 2012) إذ وجد ان 102 عينة مصابة بالفطريات الجلدية من أصل 120 عينة كانت موجبة للزرع المختبري وبنسبة 85 % ، ويعود سبب النسبة المنخفضة بهذه الدراسة إلى عدة أسباب منها المكان الذي جمعت منه عينات الدراسة والاختلاف الثقافي للأشخاص المصابين والعوامل المناخية لمنطقة الدراسة وأيضاً قد يرجع سبب ذلك الى وقت جمع العينات وما يرافقها من تبدلات فصلية (Havlickova et al., 2008).

اما النتيجة السالبة للزرع لبعض العينات قد تعود إلى تناول الأشخاص المصابين بالفطريات الجلدية إحدى المضادات الحيوية من دون استشارة الطبيب المختص للتخلص من الأعراض المؤلمة المصاحبة للإصابة بالفطريات الجلدية (Collee, 1996) ، أو يرجع سبب ذلك ان كمية العينة التي تم جمعها قد تكون غير كافية لإظهار النتيجة الموجبة أو نوع الوسط الزراعي المستخدم أو ربما تعود إلى كون كمية اللقاح صغيرة (Milne, 1996) أو يرجع ذلك إلى الطريقة غير الصحيحة في عملية خزن العينات ، أو خزنها في علب تحتوي على رطوبة مما يؤدي ذلك إلى حدوث تلوث للعينة وذلك يعطي النتيجة السالبة (-AI Hashemi, 1979) بالإضافة إلى ذلك فان وجود الفطريات المترمة المصاحبة مع الفطريات الجلدية في موقع الإصابة قد تتنافس الفطريات الجلدية وتمنع نموها على الوسط الزراعي والسبب الأكثر شيوعاً لظهور النتيجة السالبة هو الاستخدام الموضعي للمضاد الحيوي Corticosteroid من قبل الأشخاص المصابين (Hayette and Sacheli, 2015).

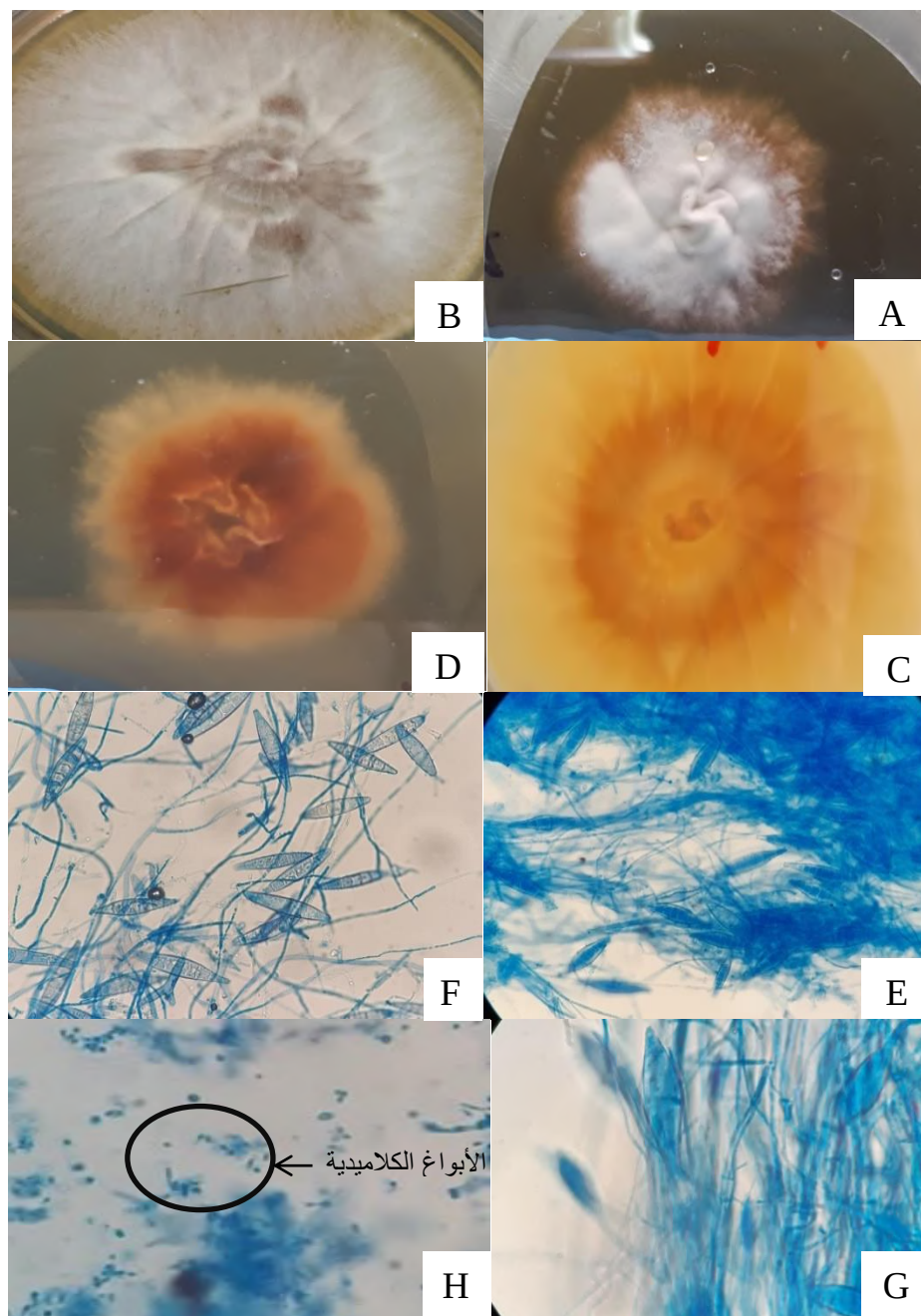
2-3: تصنيف الفطريات الجلدية Classification of Dermatophytes

1-*M.canis var.equinum*. (Delacroix and Bodin) Gueguen, Paris: Publishing House, شكل (1-3) ، رقم العزلة 73. (1904). p. 262

المستعمرات مسطحة ، منتشرة تشبه الجلد المدبوغ ، قطنية او صوفية ، ذات لون برتقالي باهت إلى برتقالي ، قد تكون الاخاديد على الطبقة ، اما الجهة الخلفية للطبق تكون ذات لون برتقالي الى أصفر بني . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، متفرعة ، سمكها 2-4 مايكرون . لا تكون حوامل كونيديا ، الكونيدات الكبيرة Macroconidia شفافة ، مغزلية الشكل ، أبعاده 5 – 15 x 30 – 90 مايكرون ، مقسمة بحواجز يتراوح عددها (6-9) مع جدران سمكية خشنة ، سمكها عند القاعدة 2-4 مايكرون و عند القمة 2-3 مايكرون . الكونيدات الصغيرة Microconidia كمثرية Pyriform أو صولجانيه Clavate الشكل ابعاده 1.5 – 3.5 x 3 – 9 مايكرون و هي نادراً ما تنتج . بعض العزلات تنتج الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores.

موقع الإصابة : حصل على 5 عزلات، اثنتين من الجسم ، وواحدة كل من الوجه والرأس واليد.

يتفق وصف هذه العزلات مع (Gueguen 1904) ، واهم ما يميز عزلات هذا النوع هو تكوين كونيئات كبيرة مغزليه الشكل تحتوي على خلايا والصبغة الموجودة على الجهة الخلفية للطبق.



الشكل (1-3): *M. canis var. equinum* : A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C – D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E – G : الكونيئات الكبيرة للفطر ، H : الأبواغ الكلاميدية 100 X.

2- *M. audouinii* .Gruby. Acad Sci , Paris. 17:301–303,(1843).

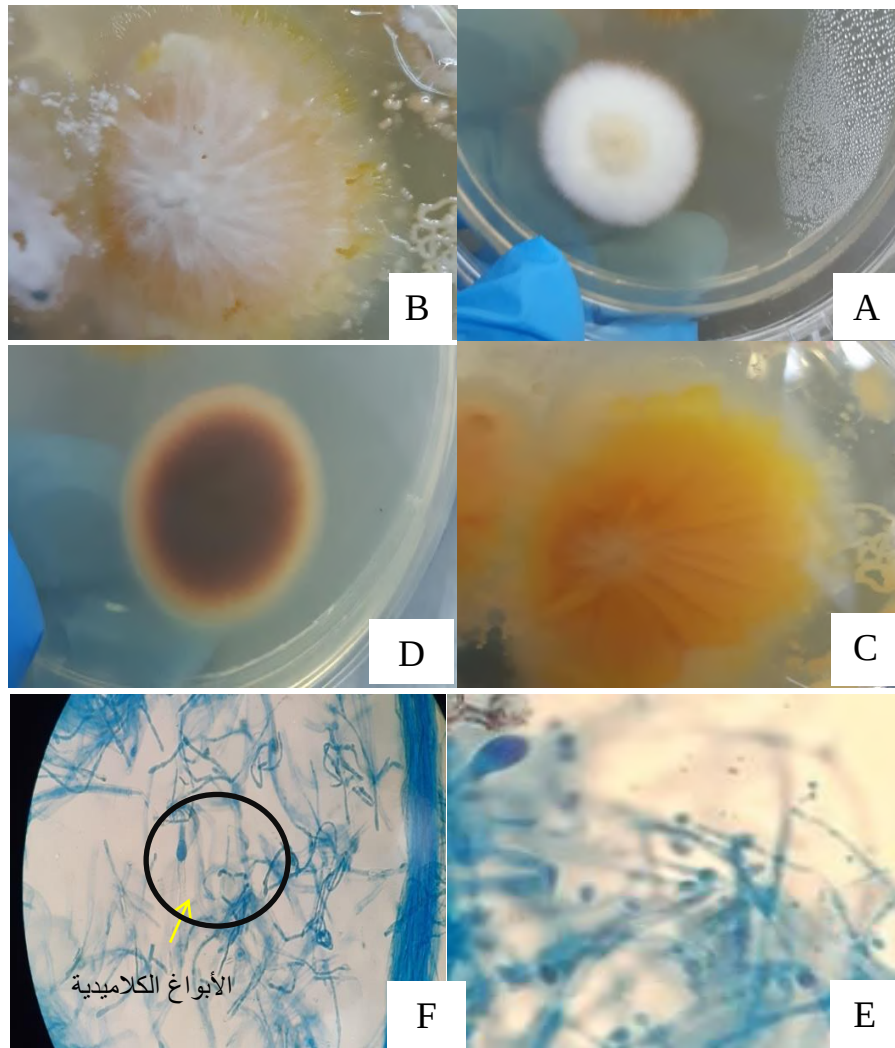
شكل (2-3) ، رقم العزلة 89

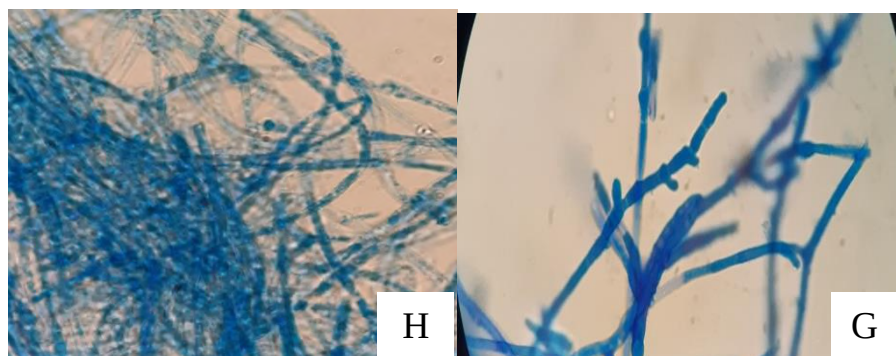
المستعمرات ، مسطحة ، منتشرة ، ذات لون ابيض رمادي إلى لون فاتح ، كثيفة تشبه السطح الناعم اما الجهة الخلفية للطبق تكون باللون الأصفر أو البني الى البني المحمر ، بعض العزلات قد لا تظهر اي لون على الجهة الخلفية . الخيوط الفطرية تكون ، شفافة ، مقسمة ، سمكها 1- 3 مايكرون . لا تكون حوامل

كونيدية . الكونيدات الكبيرة بيضوية ، ابعادها 2 - 8 x 2 - 10 مايكرون . الكونيدات الصغيرة كمثرية او صولجانية الشكل وهي نادرا ما تنتج وتكون الكونيدات جالسة على الخيط الفطري . تنتج في بعض الأحيان الأبواغ الكلاميدية .

موقع الإصابة: حصل على 4 عزلات ، أثنين من الرأس ، وواحدة كل من المغبن والجسم .

يتطابق وصف هذه العزلات مع (1843) Gruby ، الكونيدات الكبيرة لهذه العزلات تشبه الكونيدات الكبيرة الموجودة في الفطر *M. canis* لكنها تكون أطول ، ملساء ومغزليه غير منتظمة اما الكونيدات الصغيرة فهي تشبه الكونيدات الصغيرة الموجودة في الأنواع الأخرى من جنس *Microsporum*.





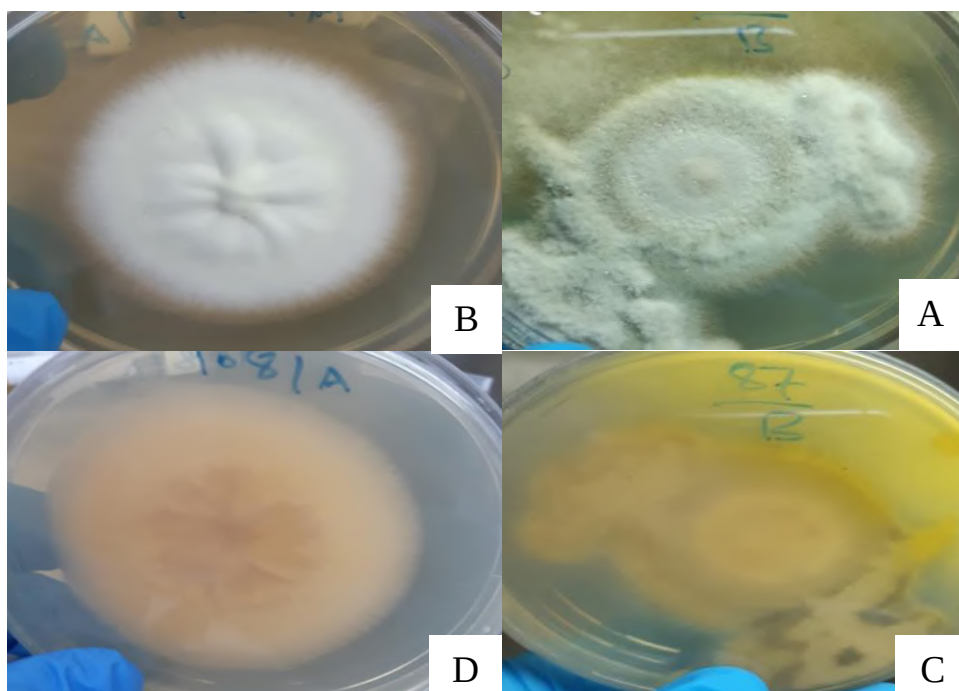
الشكل (2-3): *M. audouinii*. A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C – D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E : الكونيدية الكبيرة للفطر ، F : الأبواغ الكلاميدية، G – H : الخيوط الفطرية 100 X.

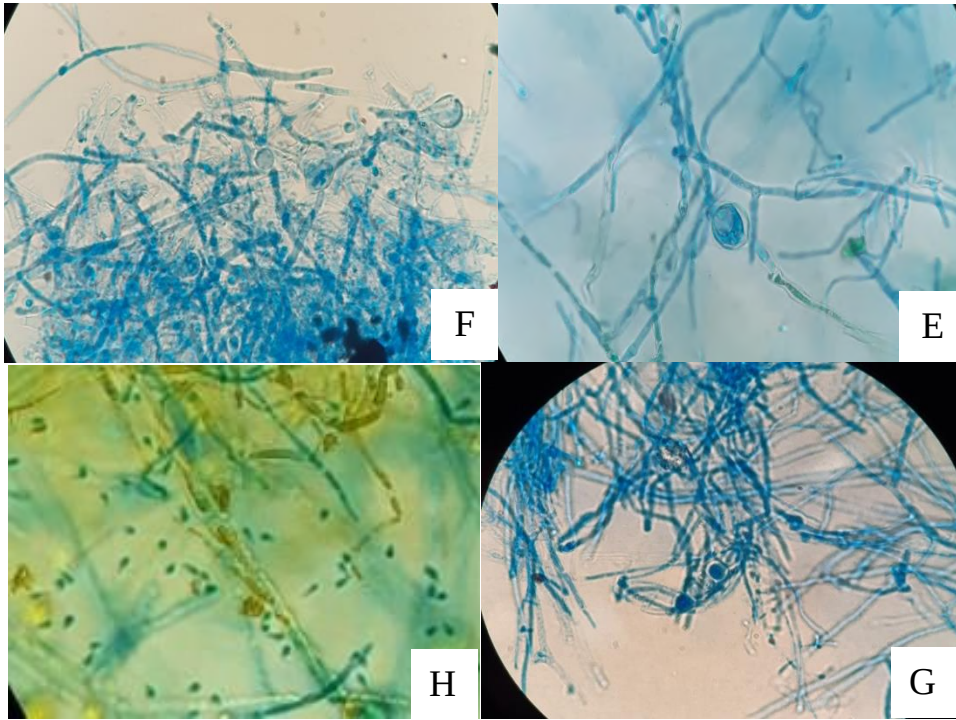
3-*M. canis ver. distortum*. di Menna and Marples, *Trans Br Mycol Soc* 37(4), شكل (3-3) ، رقم العزلة 47. (1954).

المستعمرات بيضاء ، صوفية ، الجهة الخلفية للطبق ذات لون بني مصفر . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 2-3 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة مدورة ، أبعادها 7 - 3 x 10 2 مايكرون وتكون جالسة على الخيط الفطري . لا تكون الكونيدات الصغيرة. الأبواغ الكلاميدية تكون قليلة.

موقع الإصابة : حصل على 6 عزلات ، ثلاثة منها من الرأس ، وواحدة كل من الوجه والجسم والمغبن.

أهم ما يميز هذا النوع هو أشكال الكونيدات الكبيرة والصبغة الموجودة على الجهة الخلفية للطبق ، وجميع هذه الصفات اتفقت مع ما ذكر من (Di Menna and Marples 1954).



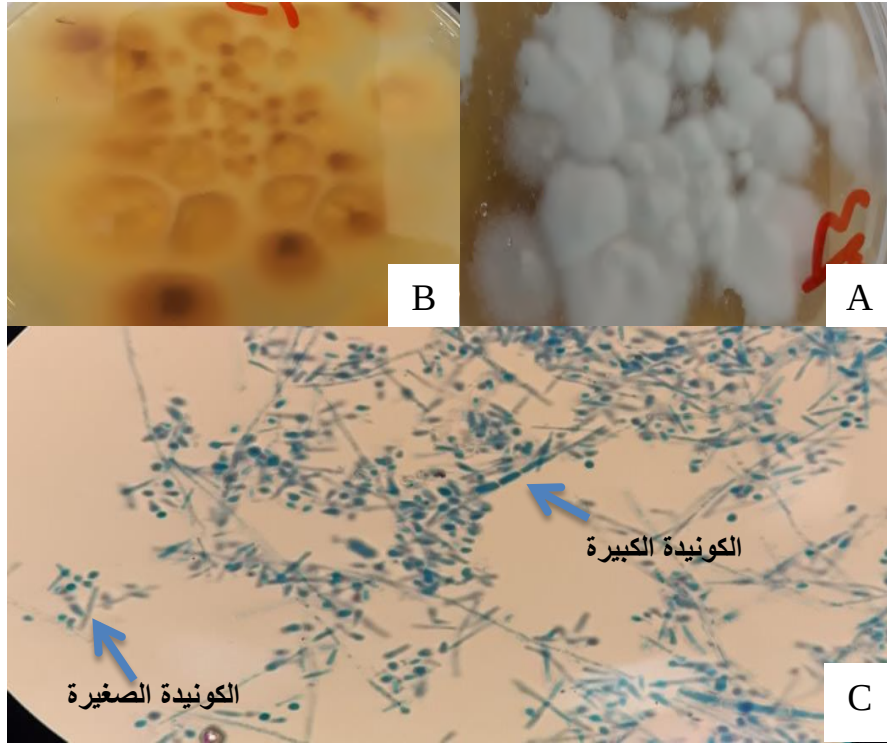


الشكل (3-3): *M. canis var. distortum*. A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C – D : الجهة الخلفية للمستعمرة ، E – F : الكونيدات الكبيرة للفطر ، G : الخيوط الفطرية ، H : الأبواغ الكلاميدية .100X

4 – *M. persicolor* (Sabouraud) Guiart and Grigorakis, *Lyon Med.* 141:369 (1928). شكل (3-4) ، رقم العزلة 43

المستعمرات مسطحة ، ذات لون أبيض مع شكل جلد الغزال على النسيج الحبيبي و محيط المستعمرات . الجهة الخلفية للطبق ذات لون برتقالي الى احمر . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 1-2 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة رقيقة الجدران على شكل سيجارة تحتوي على 3-4 خلايا ابعادها 6 – 8 x 40 – 60 مايكرون لكن نادراً ما تنتج . الكونيدات الصغيرة كروية ، تنتج بأعداد كبيرة وتكون الكونيدات جالسة على الخيط الفطري . الأبواغ الكلاميدية غير موجودة . موقع الإصابة: حصل على عزلة واحد من المغين .

جميع الصفات التصنيفية التي ذكرت اتفقت مع ما ذكر من (Guiart and Grigorakis 1928) ، واهم ما يميز هذه العزلات هو وجد صبغة ذات لون برتقالي على الجهة الخلفية للطبق.



الشكل (4-3): *M. persicolor*. A : المستعمره على وسط SDA، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الكبيرة والصغيرة 100 X.

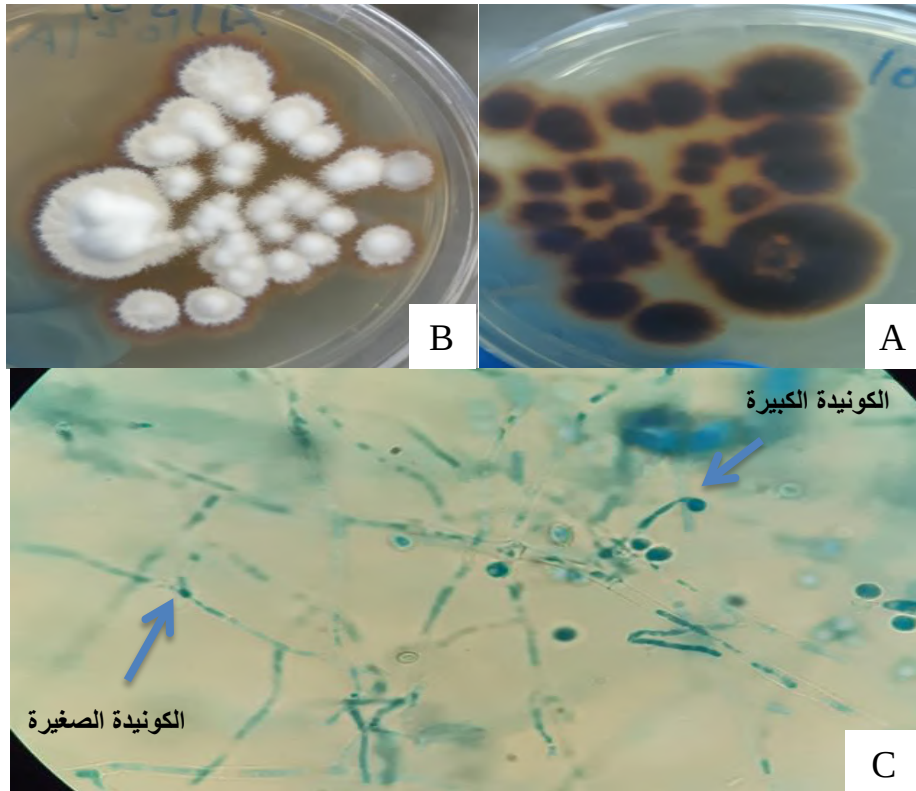
5- *M. nanum* Fuentes, *Mycologia* 48:613–614, (1956).

شكل (5-3) ، رقم العزلة 102

المستعمرات مسطحة ، كريمية او برتقالية اللون ، ملساء . الجهة الخلفية للطبق برتقالية تتعمق في الظلام وتكون ذات لون بني محمر مع التقدم في العمر . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 2 – 4 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة بيضوية ، تحتوي على 1- 3 خلية ، معظمها تحتوي على خليتين ، خشنة الجدران تقريبا ، محمولة مباشرة على الخيط الفطري وابعادها 2 - 3 x 4 – 6 مايكرون . الكونيدات الصغيرة متطاولة وتوجد بأعداد قليلة الى متوسطة . لا تكون أبواغ الكلاميدية.

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحد من الوجه.

أهم ما يميز عزلات هذا النوع هو امتلاكها كونيدات كبيره تكون على شكل بالون مع 2-3 خلايا (Sciortino , 2017) ، إلا أن جميع الصفات التصنيفية التي ذكرت تتفق مع ما ذكر من (Fuentes 1956).



الشكل (3-5): *M. nanum*. A: المستعمرات على وسط SDA ، B: الجهة الخلفية للمستعمرات ، C : الكونيدات الكبيرة والصغيرة 100 X .

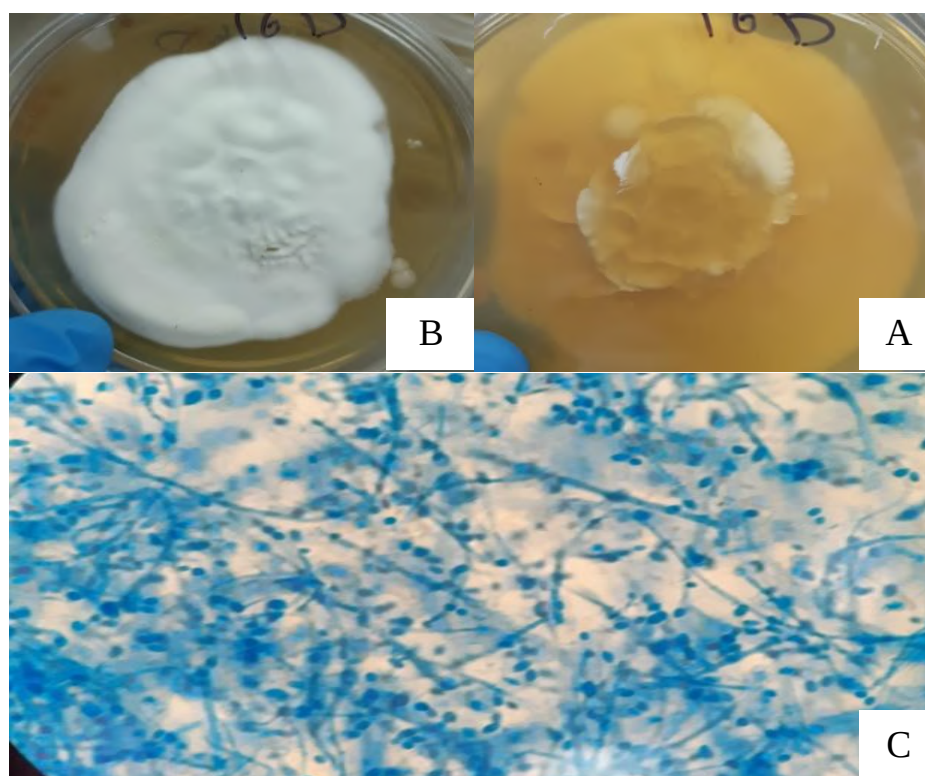
6- *T. rubrum* (Castellani) Sabouraud, Br *J Dermatol* 23:389, (1911).

شكل (3-6) ، رقم العزلة 16

المستعمرات بيضاء ، ملساء تشبه جلد الغزال ، مرتفعة . الجهة الخلفية للطبق تكون ذات لون اصفر بني . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 1-2 ميكرون . لا تكون حوامل كونيدية . لا تكون كونيدات كبيرة . الكونيدات الصغيرة بيضوية ، صغيرة الحجم، أبعادها 1 - 2 x 2 - 3 ميكرون ، محمولة مباشرة على الخيط الفطري . لا تكون أبواغ كلاميذية .

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحدة من الأظفر.

يتفق وصف هذه العزلات مع (Sabouraud 1911) ، يمكن تمييز هذه العزلات بواسطة مستعمراتها التي تكون بيضاء تشبه جلد الغزال وتكون بطيئة النمو على الوسط وعدم وجود الكونيدات الكبيرة.



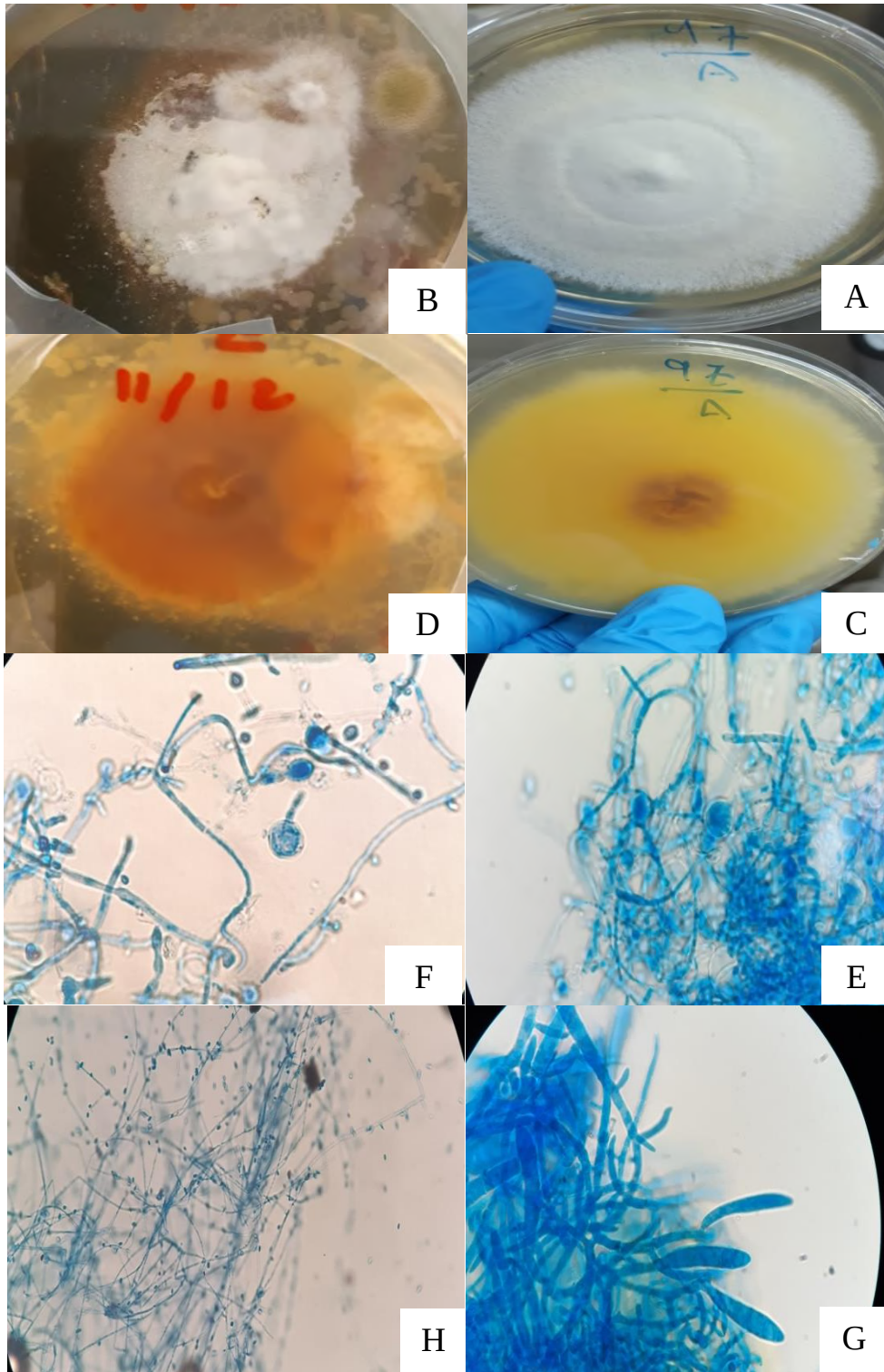
الشكل (3-6): *T. rubrum* : A : المستعمرة على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمرة ، C : الكونيدات الصغيرة للفطر 100 X.

7- *T. interdigitale* (priestley) Georg, *J. Invest Dermat.* 23(2),123-141, (1954). 82
شكل (3-7) ، رقم العزلة

المستعمرات مسطحة ، بيضاء أو كريمية ، تشبه الجلد المدبوغ أما الجهة الخلفية للطبق تكون ذات لون أصفر أو بني ، غالباً ما تصبح ذات لون أحمر مع تقدم العمر. الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 2-3 مايكرون . الحوامل الكونيدية سمكها 2-3 مايكرون . الكونيدات الكبيرة أسطوانية، أبعادها – 15 2×10 مايكرون ، تحتوي على 2-3 خلية ، وتمتاز بوجود العديد من الأشكال شبه كروية لتشكل الكونيدات الصغيرة. أما الأبواغ الكلاميدية تكون كروية.

موقع الإصابة: حصل على 15 عزلة ، عشرة منهم من الجسم ، وأثنين كل من المغبن والرأس ، وواحدة من القدم .

عزلات هذا النوع يمكن تمييزها عن الفطر *T. rubrum* بواسطة خصائص المزرعة حيث تكون هذه العزلات تنمو بصورة جيدة على الوسط وتنتج صبغة متميزة ذات لون أحمر داكن أو بني على الجهة الخلفية للطبق خلاف الفطر *T. rubrum* الذي ينتج صبغة ذات لون أصفر بني ، كذلك يمكن تمييزها عن الفطر *T. mentagrophytes* بواسطة مستعمراتها التي تكون بيضاء تشبه الجلد المدبوغ أما الفطر *T. mentagrophytes* فتكون المستعمرات ذات مظهر حبيبي (Ellis et al.,2007) ، والصفات التصنيفية اتفقت مع ما ذكر من (1954) Georg.



الشكل (7-3): *T.interdigitale*: A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C – D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E – F : الكونيدات الصغيرة للفطر ، G : الكونيدات الكبيرة ، H : الأبواغ الكلاميدية 100 X.

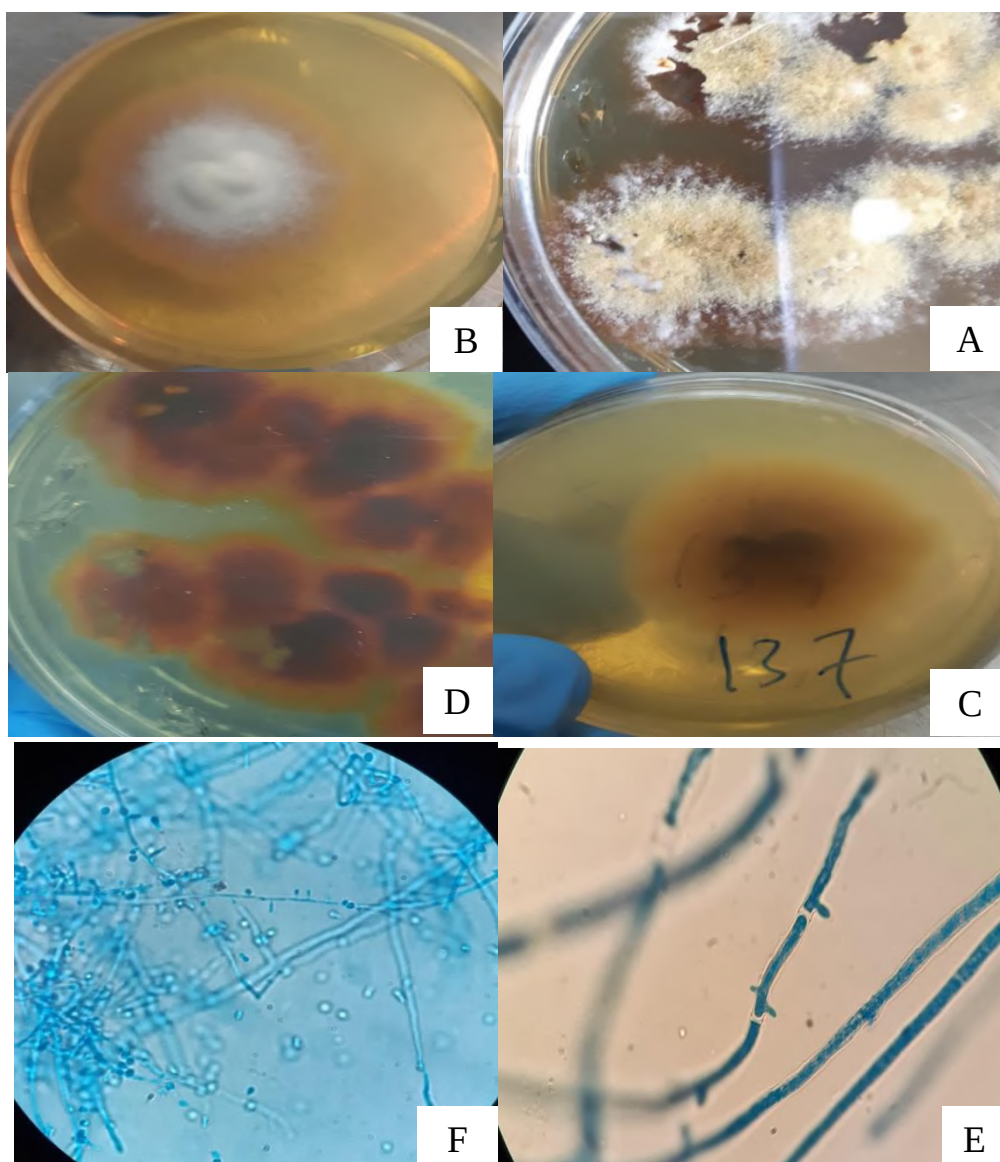
8- *T. equinum* (Matruchot & Dassonville) Gedoelst, Joseph Van In & Cie, Bruxelles, H. Lamertin. p.88, (1902). شكل (8-3) ، رقم العزلة 106

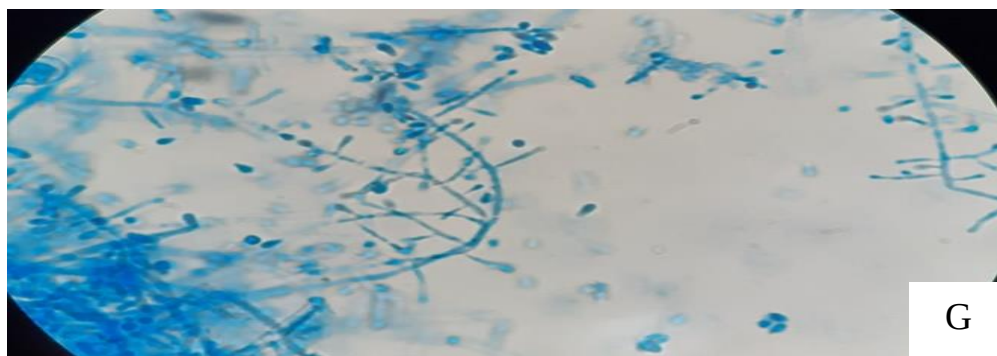
المستعمرات مسطحة ، بعضها قد يتحول إلى طيات أو اخاديد شعاعية من اللون الأبيض إلى اللون البرتقالي مثل الجلد المدبوغ على شكل ملمس ناعم ، عادة ما تكون للمستعمرات حافة مغمور باللون الأصفر

الغامق ، أما الجهة الخلفية للطبق ذات لون أحمر غامق . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، متفرعة ، سمكها 1 - 3 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة فهي نادراً ما تتكون . الكونيدات الصغيرة بيضوية كثيره العدد، ابعادها $1 \times 5 - 1$ مايكرون ، تتشكل افقياً على طول الخيط الفطري . تكون أبوغ كلاميدية . تمتاز بتكوين تراكيب تدعى الأعضاء العقدية (Nodular Organs) .

موقع الإصابة: حصل على 5 عزلات ، اثنين من الرأس ، وواحدة كل من الجسم والمغبن واليد .

يتطابق الوصف التصنيفي مع الخصائص التصنيفية التي تميز عزلات هذا النوع مع (Gedoelst 1902) ، وان اهم ما يميز هذه العزلات هو ان الكونيدات الكبيرة نادراً ما توجد والمستعمرات تتطور إلى طيات أو اخاديد شعاعية بالإضافة إلى وجود الأعضاء العقدية (Ellis et al.,2007).





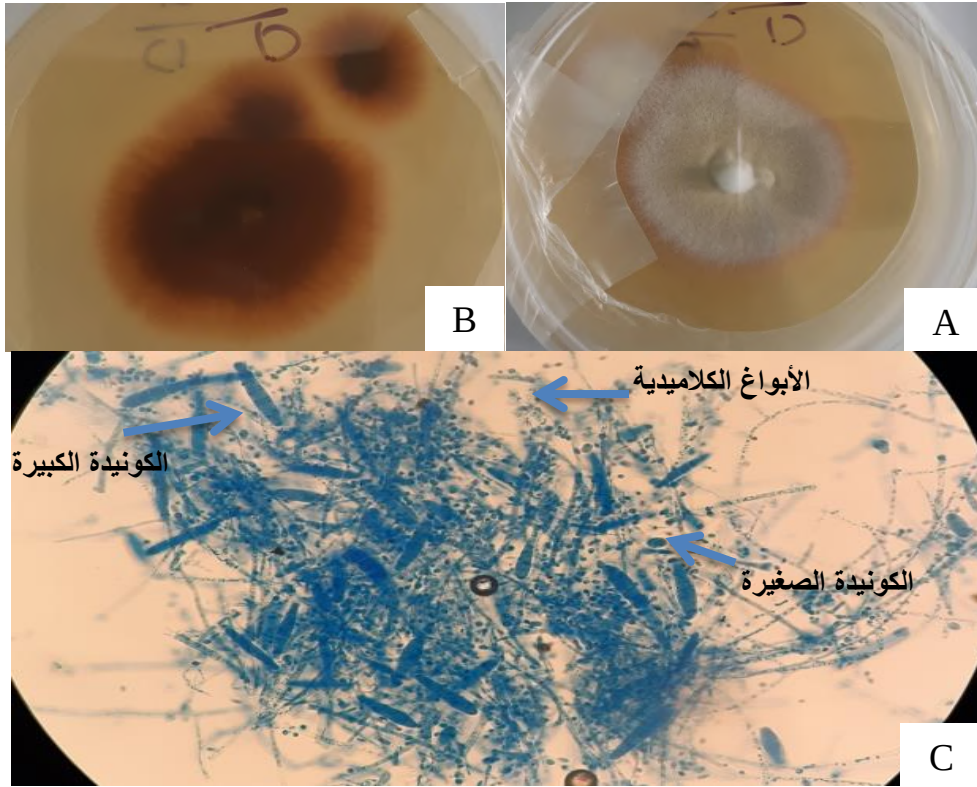
الشكل (8-3): *T. equinum* : A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C – D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E : الخيوط الفطرية، F – G : الكونيدات الصغيرة للفطر 100 X .

9- *T. mentagrophytes* (Robin) Blanchard, *Traite de pathologie generale*, vol. 2. Paris: Masson et Cie, p. 811, (1896). شكل (9-3) ، رقم العزلة 45

المستعمرات مسطحة ، بيضاء إلى كريمية اللون، حبيبية السطح تظهر بعض المستعمرات طياً مركزياً أو تطور خصلات مركزية مرتفعة تشبه الجلد المدبوغ متعدد الاشكال، الجهة الخلفية للطبق عادة ما تكون ذات لون أصفر بني أو بني محمر . الخيوط الفطرية شفافة، مقسمة ، سمكها 2-3 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة اسطوانية ، رقيقة الجدران، أبعادها 2 - 7 x 4 - 7 مايكرون ، تحتوي على 2-3 خلية . الكونيدات الصغيرة كروية الشكل أحادية الخلية، غالباً ما تكون كثيفة، أبعادها 3-2 X 3-2 مايكرون . الأبواغ الكلاميدية كروية الشكل ، توجد بأعداد متفاوتة .

موقع الإصابة: حصل على عزلتين ، واحد من الجسم والمغبن .

عزلات هذا النوع يمكن تمييزها عن الفطر *T. interdigitale* بواسطة مظهرها الحبيبي على الوسط الزراعي و الكونيدات الصغيرة الكروية والتي تكون أكثر من الكونيدات الكبيرة و الجهة الخلفية للطبق والتي تكون بلون أصفر إلى بني أو بني محمر (Ellis et al., 2007) ، وأن جميع الصفات التصنيفية اتفقت مع Blanchard (1896).



الشكل (9-3): *T. mentagrophytes*. A : المستعمرات على وسط SDA ، B: الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الكبيرة و الكونيدات الصغيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر 100 X .

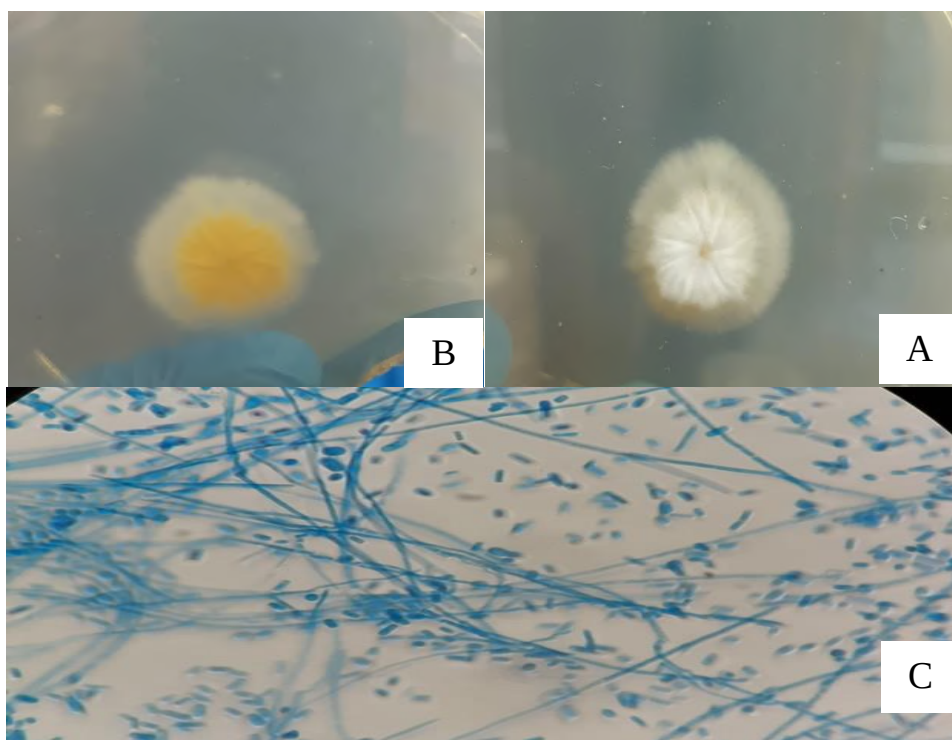
10-*T.erinacei*. Smith and Marples , Sabouraudia. 3:1-10, (1964).

شكل (10-3) ، رقم العزلة 86

المستعمرات بيضاء اللون ، الجهة الخلفية للطبق ذات لون أصفر ليموني متألقة . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 1-2 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة أن وجدت تكون ملساء ، أبعادها 5-10 X 20-52.5 مايكرون . الكونيدات الصغيرة أسطوانية الشكل ، أبعادها 1 - 2 x 2 - 4 مايكرون . لا تكون أبواغ كلاميدية .

موقع الإصابة: حصل على 3 عزلات، اثنين من الرأس، واحد من اليد .

يتفق وصف هذه العزلات مع (Smith and Marples 1963) ، عزلات هذا النوع يمكن تمييزها عن الفطر *T. mentagrophytes* عن طريق الكونيدات الكبيرة التي تكون صولجانية الشكل ، رقيقة الجدران والكونيدات الصغيرة التي تكون أسطوانية الشكل ، وفيرة توجد على جوانب الخيط الفطري والجهة الخلفية للطبق والتي تكون بلون أصفر ليموني متألقة (Ellis et al., 2007).



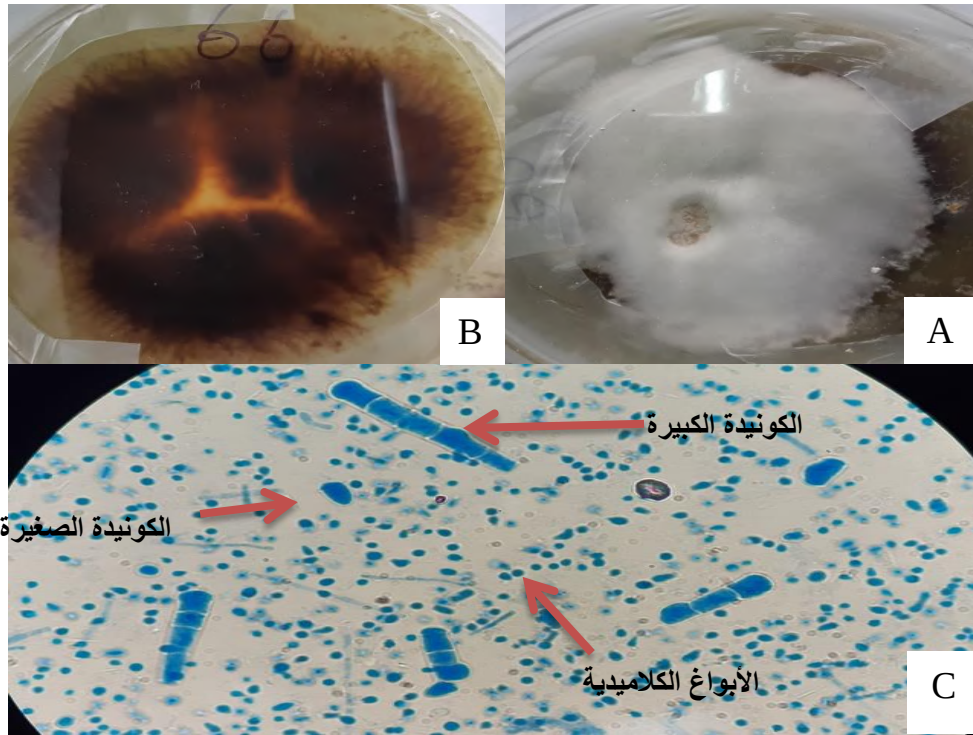
الشكل (10-3): *T.erinacei* : A : المستعمرات على وسط SDA ، B: الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الصغيرة للفطر X 100.

، رقم 11- *T. ajelloi* .Vanbreuseghem, Ann. Soc. Belg. Trop. 32:173–178, (1952). شكل (11-3) العزلة 66

المستعمرات مسطحة ، بيضاء أو كريمية اللون ، الجهة الخلفية للطبق ذات لون بني محمر غامق . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 1 - 2 مايكرون. لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة مستطيلة الشكل تشبه السيجار ، ناعمة ذات جدران سميكة، أبعادها 4-7 X 40-60 مايكرون . الكونيدات الصغيرة عادة ما تكون غير موجودة وان وجدت تكون بيضوية أو صولجانية الشكل، أبعادها 2 - 1 x 2 - 1 مايكرون وتكون ابواغ كلاميدية.

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحدة من الوجه.

أهم ما يميز هذا النوع ، الكونيدات الكبيرة التي تكون ملساء ، سميكة الجدران ، ذات شكل يشبه السيجارة ، وان جميع الصفات التصنيفية اتفقت مع ما ذكر من (1952) Vanbreuseghem.



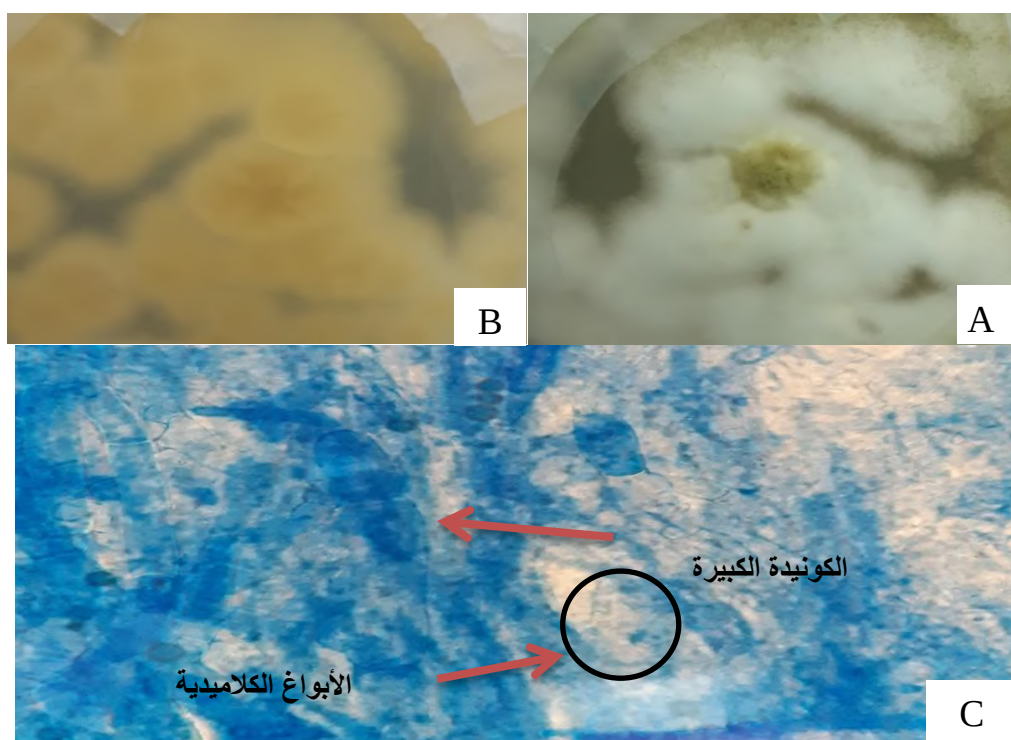
الشكل (11-3): *T. ajelloi* : A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر 100 X .

12- *E. floccosum*. (Harz) Langeron and Milochévitch, *Ann. Parasitol Hum Comp* 8:495–497 (1930). شكل (12-3) ، رقم العزلة 6

المستعمرات بطيئة النمو، تشبه الجلد المدبوغ ، مرفوع ومطوي في المنتصف ، مع محيط مستوٍ وحافة مغمورة بالنمو، بيضاء أو كريمية اللون ، نادراً ما تصبح ذات لون بني مخضر، الجهة الخلفية للطبق ذات لون بني داكن . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها 2-3 مايكرون . تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة أسطوانية أو صولجانية ، رقيقة الجدران ، أبعادها 7 – 12 x 20 – 75 مايكرون وتكون محمولة على حوامل كونيدية قصيرة Short Conidiophores ، تحتوي على 2-5 خلية . لا تكون الكونيدات الصغيرة . تكون الابواغ الكلاميدية .

موقع الإصابة: حصل على عزلتين من اليد .

الخصائص التشخيصية الرئيسية لهذه الأنواع هي إنتاج كونيدات كبيرة صولجانية الشكل في تجمعات أو مفردةً ، حوامل كونيدية قصيرة ، وغياب الكونيدات الصغيرة . صفات المستعمرات للعزلات الموجودة مشابه للعزلات الموصوفة بواسطة Frey et al.(1979) و Hoog and Guarou (1995) ، كذلك تكون الكونيدة الكبيرة أكبر نسبياً من تلك الموصوفة بواسطة Emmons et al.(1974) .



الشكل (3-12): *E. floccosum* : A : المستعمرات على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الكبيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر 100 X .

3-3: الإصابة بالفطريات الجلدية حسب الجنس والعمر

اتضح من النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة ان المصابين بالفطريات الجلدية من الذكور أعلى نسبة من الإناث اذ وجد أعلى نسبة من الذكور المصابة تقع ضمن الفئة العمرية 6 أشهر - 9 سنة وبنسبة 23.9 % بينما لم تظهر أي إصابة في الفئة العمرية 50 فما فوق، اما في الإناث فوجد أعلى نسبة تقع ضمن الفئة العمرية 19-10 وبنسبة 10.9 % بينما لم تظهر أي إصابة في الفئة العمرية 49-40 والموضحة بالجدول (3-2).

كذلك بينت النتائج ان الفئة العمرية 6 أشهر - 9 سنة هي أكثر عرضة للإصابة بالفطريات الجلدية و بنسبة 32.6 % تلتها الفئة العمرية 19-10 سنوات وبنسبة 28.3 % وقد كانت أقل فئة عمرية معرضة للإصابة هي 49-40 و الفئة الأكبر من 50 سنة فقد بلغت نسبة الإصابة في كل منهما 2.2 % كما في جدول (3-2).

الجدول (3-2) : النسب المئوية للفئات العمرية للأشخاص المصابين بالفطريات الجلدية

الفئة العمرية	الجنس		المجموع	النسبة المئوية %		
	ذكر	انثى		ذكر	انثى	المجموع
6 أشهر - 9 سنة	11	4	15	23.9	8.7	32.6
19-10	8	5	13	17.4	10.9	28.3
29-20	4	2	6	8.7	4.3	13.0
39-30	6	4	10	13.0	8.7	21.7
49-40	1	0	1	2.2	0.0	2.2

2.2	2.2	0.0	1	1	0	50 فما فوق
% 100	34.8	65.2	46	16	30	المجموع

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود اختلافات في نسبة الإصابة بالفطريات الجلدية باختلاف الفئات العمرية فقد وجد أعلى نسبة للإصابة في هذه الدراسة تقع ضمن الفئة العمرية 6 شهر - 9 سنة وهذه النتائج تتفق مع دراسات عديدة منها دراسة صالح (2008) و مجبل وآخرون (2010) بمحافظة الديوانية والنجف الاشرف إذ وجد نسبة الإصابة 39 % مقارنة بالأعمار الأخرى ودراسة (Nussipov et al., 2017).

في حين لا تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره كل من الباحثين (Parameswari و Basak et al., 2019) حيث وجدوا ان الفئة العمرية 21-30 أكثر إصابة مقارنة بالفئات الأخرى .

ويعود سبب زيادة نسبة الإصابة بالفئة العمرية 6 شهر - 9 سنة الى نقص نسبة الأحماض الدهنية المشبعة في أجسام الأطفال والتي تؤثر في حماية الجسم ضد الأمراض الفطرية مما يؤدي ذلك الى حدوث إصابات جلدية للأطفال مقارنة بالبالغين (Abd Elmegeed et al., 2015) ، أو أن الأطفال يلعبون لساعات طويلة تحت اشعة الشمس مما يؤدي الى زيادة التعرق كما أن لبس الملابس الصوفية المقاومة للظروف البيئية تزيد من حرارة ورطوبة الجسم وهذه العوامل تجعل الظروف ملائمة لنمو الفطرية الجلدية على الجسم ، كما أن مرافقة هذه الفئة العمرية للحيوانات المنزلية الأليفة واللعب معاً وكذلك اللعب بالتربة فضلاً للظروف البيئية مثل ارتفاع درجات الحرارة والرطوبة و النظافة الغير جيدة للأطفال والامية لدى الابوين كلها عوامل ساعدت على زيادة الإصابة عند الأطفال (صالح ، 2008).

يتضح من النتائج التي حصل عليها أثناء الدراسة الحالية بان هناك اختلاف في نسبة الإصابة بالفطريات الجلدية بين الذكور والإناث وقد أظهرت النتائج زيادة في نسبة إصابة الذكور مقارنة بالإناث، إذ بلغ عدد الإصابات في الذكور 30 عينة ونسبة 65.2 % بينما إصابات الإناث بلغت 16 عينة ونسبة 34.8 % وذلك لكون الذكور أكثر عرضة من الإناث للإصابة بالفطريات الجلدية وهذه النتائج التي حصل عليها تتفق مع دراسات عديدة أجريت سابقاً منها دراسة (Al-Janabi 2006) في بغداد ودراسة صالح (2010) ودراسة (Islam et al 2018) .

وهناك العديد من الدراسات التي أجريت داخل العراق والتي اعطت نتائج مخالفة للنتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية حيث تكون فيها نسبة الإصابة بالإناث أكبر مما عليه في الذكور منها دراسة صالح (2008) و دراسة عبود وآخرون (2013) ودراسات أخرى أجريت خارج العراق منها دراسة (Rassai et al., 2011) ودراسة (Balakumar et al., 2012)

وقد يعود السبب في أن الإصابة بالذكور أكبر مما عليه في الإناث هو بسبب عدم الذهاب للإناث المصابة إلى المستشفيات والاطباء الذكور في المناطق الشبة الحضرية والريفية بسبب العادات الاجتماعية والدينية (Balakumar et al., 2012) أو إلى الحالة الاقتصادية أو بسبب الطبيعة الوظيفية والنظافة الشخصية ، أو أن الذكور أكثر تردداً الى محلات الحلاقة حيث قد تحدث الإصابة بسعفة الرأس وانتقالها الى مناطق أخرى من الجسم عن طريق الأدوات الملوثة (Uneke et al., 2006) أو قد يرجع ذلك إلى صعوبة الحصول على العينات من الإناث بسبب العادات الاجتماعية والدينية أو استعمال علاجات منزلية أو جهلهم لطلب المشورة الطبية وخاصة في المناطق الريفية كما ان ظاهرة ارتداء الإناث للحجاب من الممكن ان يقلل

من حدوث الإصابة بسعفة الرأس وانتشارها لتسبب الإصابة في مناطق الجسم المختلفة ، اذ تمنع ابواغ الفطر من الوصول إلى الشعر ومن ثم حدوث الإصابة (Islam et al. , ; Abid – Ali and Jasim, 2010) (2018) او بسبب زيادة النشاط البدني مما يؤدي إلى زيادة التعرق بالإضافة إلى عوامل أخرى مثل الظروف البيئية وتشمل الطقس الحار والرطب مقارنة بالإناث أو وجود اختلافات فسيولوجية (Arthi, 2017).

3-4: الإصابة بالفطريات الجلدية حسب مناطق الجسم

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة الإصابة بالفطريات الجلدية كانت مختلفة باختلاف مناطق الجسم فوجد ان سعة الجسم أكثر المناطق إصابة ونسبة 34.8 % بينما ظهرت أقل نسبة إصابة في كل من سعة القدم وسعة الأظفر و بنسبة 2.2 % لكل منهما كما موضح في جدول (3-3).

الجدول (3-3): مناطق الإصابة بالفطريات الجلدية والنسبة المئوية للأشخاص المصابين

النسبة المئوية %			المجموع	الجنس		منطقة الإصابة
المجموع	أنثى	ذكر		أنثى	ذكر	
26.1	6.5	19.6	12	3	9	سعة الرأس Tinea capitis
34.8	10.9	23.9	16	5	11	سعة الجسم Tinea corporis
17.4	8.7	8.7	7	4	4	سعة المغبن Tinea cruris
8.7	4.3	4.3	4	2	2	سعة الوجه Tinea faciei
10.9	4.3	6.5	5	2	3	سعة اليد Tinea mannum
2.2	0.0	2.2	1	0	1	سعة القدم Tinea pedis
2.2	2.2	0.0	1	1	0	سعة الأظفر Tinea unguium
%100	34.8	65.2	46	16	30	المجموع

أوضحت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة الإصابة تختلف باختلاف مناطق الجسم اذ وجد ان سعة الجسم اكثر المناطق إصابة ونسبة 34.8 % ووجد ان نسبة الذكور 23.9 % اما الإناث 10.9 % عند هذه الإصابة بسعة الرأس وهذه الدراسة تتفق مع دراسات عديدة منها دراسة كل من Chandhary and Kumar, (2016) و Singh et al., (2016) الذين أوضحوا ان سعة الجسم أكثر إصابة مقارنة بباقي مناطق الجسم .

كذلك هذه النتائج لا تتفق مع ما توصل اليه كل من صالح (2008) و Sarika et al. (2014) حيث وجدوا أن سعة الأظفر أكثر المناطق إصابة اما الباحثين (Taha et al., ; Nussipov et al., 2017) (2017) وجدوا ان سعة الرأس أكثر المناطق إصابة ، وجد ان سعة المغبن اكثر المناطق إصابة وهذا الاختلاف يحدث بسبب الموقع الجغرافي والمهنة والنظافة الشخصية والفئة العمرية والجنس (Aghamirian , 2008 and Ghisaian).

وقد يعود سبب الإصابة بسعة الجسم إلى الدفاء وقلة التهوية والرطوبة اذ تعد عوامل ملائمة لحدوث الإصابة (Martin and Koboyashi, 1993) فضلاً عن تعامل الأشخاص مع الحيوانات الأليفة إذ يعزى أنتشار الإصابة بسعة الجسم إلى الإصابة بالفطريات الجلدية التي تنتقل عن طريق الحيوانات الأليفة كالقطط والحيوانات الأليفة الأخرى التي تربي بالمنزل والتي تعد مصدراً من مصادر الإصابة إضافة إلى

ذلك قد يعود سبب ذلك إلى انخفاض مستوى المعيشة والازدحام السكاني وغيرها من عوامل الإصابة (Hsu *et al.*, 2001).

ويمكن ان يعزى ارتفاع معدل انتشار سعة الجسم إلى حقيقة ان جزءاً معيناً من الجسم يتعرض بشكل متكرر أكثر من المناطق الأخرى بالجسم مثل اليدين وفيه يتلامس مع جزء آخر مصاب ، فهو يساعد في انتشار الإصابة بمجرد ظهور المرض ويمكن ان ينتقل إلى أي شخص آخر يتلامس مع المريض من متعلقاته مثل الملابس والمناشف والصابون أو إلى أنه عدد كبير من المصابين كانوا من المناطق الريفية ويعملون في مهن زراعية (Kumar, 2017) كذلك افراد الأسرة الذين هم على تماس دائم مع الشخص المصاب يجعلهم عرضة للإصابة بصورة كبيرة جدا (Sharma, 2008) .

ويعود سبب كون نسبة الذكور أكبر من نسبة الإناث عند الإصابة بسعة الجسم هو ان الذكور يمارسون أعمال شاقة وكذلك ممارسة الرياضة والعمل في الصيف الحار والبيئة الرطبة والتي تزيد التعرق مما توفر ظروف ملائمة لأحداث الإصابة بالفطريات الجلدية (Kumar, 2014)

3-5: الإصابة بالفطريات الجلدية حسب اشهر السنة

بالرغم من عدم دراسة انتشار هذه الفطريات على جميع اشهر السنة الا أن نتائج الدراسة بينت ان نسبة الإصابات الفطرية الجلدية تزداد في شهري كانون الأول وكانون الثاني حيث بلغ عدد الإصابات في شهر كانون الأول 13 إصابةً ونسبة 28.3 % اما في كانون الثاني فبلغت 12 إصابةً ونسبة 26.1 % ، بينما أظهر شهر أيار أقل نسبة إصابة ونسبة 2.2 % . كما في جدول 3-4.

وهذه النتائج اتفقت مع ما توصلت اليه دراسة (Mahmoud 2000) في حين لا تتفق مع إلية كل من طلال (2008) و سرحان (2010) و (Kumar 2014). ويعود سبب انتشار الإصابة في شهري كانون الاول والثاني الى عامل الرطوبة حيث يعد من اكثر العوامل المؤثرة في نمو الفطريات الممرضة (Zuber and Baddan, 2001). كما تحدث الإصابة أيضاً في فصل الشتاء نتيجة تواجد السكان في منازلهم مع زيادة فرصة التماس مع الحيوانات الأليفة، ولانه الإصابة بسعة الجسم تزداد معدلاتها في شهري كانون الأول والثاني (Caretta *et al.*, 1981).

الجدول (3-4): عدد العزلات و النسبة المئوية للإصابة بالفطريات الجلدية حسب أشهر السنة

الشهر	الجنس		المجموع	النسبة المئوية %	
	ذكر	انثى		ذكر	انثى
كانون الاول	8	5	13	17.4	10.9
كانون الثاني	5	7	12	10.9	15.2
شباط	6	1	7	13.0	2.2
اذار	5	2	7	10.9	4.3
نيسان	6	0	6	13.0	0.0
ايار	0	1	1	0.0	2.2
المجموع	30	16	46	65.2	34.8
					%100

6-3: الكشف عن المركبات الكيميائية في الفطريات الجلدية باستخدام تقنية GC-MS

أوضحت الدراسة الحالية ان بعض الفطريات الجلدية المختبرة لها القدرة على انتاج المركبات الفعالة حيث تم اجراء الكشف لأربع أنواع من الفطريات الجلدية هي *T. interdigitales* ، *T. erinace* ، *T. rubrum* (ملحق رقم 2).

أظهرت النتائج انه بعض الفطريات الجلدية المختبرة تمتلك نفس المركبات والموضحة بجدول (5-3) حيث يبين الجدول ان الفطريات الجلدية أظهرت مجموعة من المركبات المشتركة بينها فلو حظ ان جميع الفطريات المختبرة لها القابلية على انتاج المركبين Pyrrol [1,2-a]pyrazine-1,4-dione و hexahydro-3-Azabicyclo[3.2.2]nonane في حين ان المركبين Cyanoacetylurea و Methylpent-4-enylamine ظهر في رواشح جميع الفطريات عدا الفطر *T. interdigitales* بينما ظهرت المركبات Acetic acid, dichloro-, methyl ester و 2-Pyrrolidinone, 1-methyl- في الفطرين *T. erinace* ، *T. rubrum* اما الفطر *T. rubrum* كانت له القابلية على إنتاج المركب Chloramphenicol فقط.

الجدول (5-3): انواع المركبات الكيميائية المشتركة المنتجة من قبل الفطريات المختبرة

الفطريات الجلدية المختبرة				المركبات الكيميائية
<i>T.erinace</i>	<i>T.rubrum</i>	<i>T.interdigitale</i>	<i>M.audouinii</i>	
-	-	+	+	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-
-	+	-	+	Decane
-	+	+	+	Dodecane
-	-	-	+	1-Propanamine, N1-methyl-2-methoxy
+	+	+	+	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione hexahydro-
+	+	-	+	3-Azabicyclo[3.2.2]nonane
+	+	-	+	Methylpent-4-enylamine
-	-	+	+	2-Butanamine, 3,3-dimethyl-
+	+	+	+	Cyanoacetylurea
+	+	-	+	2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-
-	-	+	-	R-(-)-Cyclohexylethylamine
-	-	+	-	N-Desmethyltapentadol
-	+	+	-	4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-
+	+	+	-	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-
+	-	+	-	Urea, 1-ethyl-3-(propylsulfonyl)-2-thio-
+	-	+	-	Cyclohexanecarboxaldehyde, 3,3-dimethyl-5-oxo-
+	-	-	-	3,3'-Bis(1,2,4-oxadiazolyl)-5,5'-diamine
-	+	-	-	Chloramphenicol
+	+	-	-	Acetic acid, dichloro-, methyl ester
+	+	-	-	2-Pyrrolidinone, 1-methyl-
+	+	-	-	Amphetamine

+ قابلية الفطريات المختبرة على إنتاج المركب الكيميائي

أظهرت النتائج ان الفطريات الجلدية المختبرة لها القابلية على انتاج العديد من المركبات ، حيث ان لبعض هذه المركبات أضرار كبيره على الخلايا الحية في الإنسان ، فالفطر *T. interdigitale* ينتج مركبات Urea, 1-ethyl-3-(propylsulfonyl)-2-thio- ويكون له أثر مهم في تحرير النتروجين والذي يعد من المصادر التي تحتاجها الفطريات للنمو والمركب 3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid وهو مركب بروتيني مسؤول عن تحلل البروتينات في الخلية (Fenteany *et al.*, 1995) والمركب R-(-) Cyclohexylethylamine الذي يسبب خفقان القلب والصداع والتعرق وارتفاع الضغط (Hofstetter and Kreuder, 1985) و المركب 4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)- الذي يسبب التسمم الخلوي لخلايا سرطان عنق الرحم وخلايا سرطان القولون (Veverka *et al.*, 2015) ، ان الفطر *M. audouinii* ينتج مركبات عديد منها α -D-Glucose التي تستخدمه الفطريات كمصدر رئيس للطاقة (HMDB, 2019) و المركب 3-Azabicyclo[3.2.2]nonane الذي يسبب ارتفاع في درجات الحرارة ويؤثر على الجهاز العصبي المحيطي والمركزي (Goodman, 2010) والمركب 2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl- الذي يسبب أحمرار الجلد (Maximov *et al.*, 2013 ; Mirkin and Pickar, 2015)

كذلك اظهرت النتائج ان الفطر *T. erinace* ينتج مركبات عديدة منها المركب Azetidin-2-one الذي يسبب الحساسية المفرطة للجلد (ASHSP, 2019) و المركب Benzenepropanoic acid, 4-hydroxy- الذي يمنع نمو العفن والبكتريا (Bertleff *et al.*, 2000) والمركب Bis(2-ethylhexyl) phthalate وهو عامل محتمل لنشوء السرطان كذلك يؤدي إلى الأضرار التأكسدية (Rusyn and Corton, 2012) اما الفطر *T. rubrum* فينتج مركبات 2-Pyrrolidinone, 1-methyl- الذي يمتاز بقدرتها على اذابة المواد المختلفة ومنها مكونات الجلد فيساعد الفطريات على غزو الجلد (Albrecht *et al.*, 2011) والمركب 3,4-Furandiol, tetrahydro-, cis المشارك في تثبيط عمل كريات الدم البيضاء المتعادلة عندما يهاجم الفطر الانسجة (Gao *et al.*, 2008 ; Miwatashi *et al.*, 2008) والمركب Naproxen-M -CH₂O₂ الذي يسبب الصداع والطفح الجلدي واضطرابات الجهاز الهضمي (Drug, 2019) .

وبينت النتائج ان بعض المركبات تكون ضاره إلا أنه وجد ان هناك مركبات أخرى ذات فائدة للإنسان فلاحظ ان جميع الفطريات المختبرة تنتج المركب Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione hexahydro- الذي يمكن استخدامه كمركب مضاد للفطريات (Kannabiran , 2016) او له خصائص مضادة للأكسدة والتي من الممكن ان تقلل من تلف الخلايا الناتج عن الجذور الحرة (Gopi *et al.*, 2014) ، ويستخدم المركب 3-Azabicyclo[3.2.2]nonane الذي ينتج بواسطة الفطريات *T. erinace* ، *M. audouinii* ، *rubrum* في الكيمياء العضوية والطبية كذلك وجد الفطر *M. audouinii* ينتج المركب α -D-Glucose الذي يدخل في تركيب الأدوية التي تستعمل كمضادات للأورام وكذلك مضادات للفيروسات و الفطريات و البكتريا (Yao and Zhang, 2019) والمركب 3-Azabicyclo[3.2.2]nonane فهو مقاوم لـ *Plasmodium* المسببة لمرض الملاريا (Seebacher , 2015) والمركب 2-Hexanamine, 5-methyl يستخدم كمؤشر لتأكيد تشخيص التسمم في المرضى بالمستشفيات (Baselt, 2014 ; Gee *et al.*, 2012) والمركب 2H-Azepin-2-one, hexahydro- 1-methyl- الذي يستخدم لعلاج الربو والطفح الجلدي (Aronson, 2015).

وأظهرت النتائج ان الفطر *T. rubrum* له القدرة على إنتاج العديد من المركبات منها المركب 3,4- Furandiol, tetrahydro-, cis- الذي يستخدم في علاج الربو القصبي ويتداخل مع وظيفة حماية القلب المستديمة عند نقص تروية القلب (Gao et al., 2008 ; Miwatashi et al., 2008) والمركب Naproxen-M -CH₂O₂ يعمل كمضاد للالتهابات ويكون ذو تأثير مضاداً للسرطان والسمنة (Motawi et al., 2013) والمركب Furane-2-carboxylic acid, 5-(2,5-dimethylphenoxy)methyl- يمنع تحلل خلايا الدم الحمراء (White, 2005) بينما الفطر *T. erinace* ينتج مركبات عديدة مثل N- Methyl-2-phenyl-1-propylamine الذي يعمل كمضاد للاكتئاب (Francisco and Cecilio, 2011) و المركب Benzeneethanamine, 4-methoxy-.alpha.-methyl- يستخدم كمضادات للاحتقان الناتج عن نزلات البرد (Hagel et al., 2012).

كذلك اظهرت النتائج وجود مركبات مشتركة بين الفطرين *T. rubrum* و *T. erinace* منها مركب Acetic acid, dichloro-, methyl ester والمستخدم ضمن أدوية تعمل لتخفيف الألم والالتهابات مثل التهاب المفاصل وهشاشة العظام (Fischer et al., 2006) ولمعالجة الالتهابات الجلدية الناتجة عن سلالات *Pseudomonas* المقاومة للمضادات الحيوية التقليدية (Nagoba et al., 2013) وكعلاج لالتهابات الاذن الخارجية (WHO, 2015) والمركب Amphetamine لعلاج احتقان الأنف والاكتئاب أو علاج فرط الحركة واضطراب النوم والسمنة ويمكن ان يستخدم كمحسن للأداء الرياضي (Stahl, 2017) والمركب Benzaldehyde, 3-nitro الذي يدخل في تركيب Tipranavir الذي يعمل كمضاد للفيروسات اما الفطرين *T. rubrum* و *T. interdigitales* فوجد لها القدرة على إنتاج المركب 4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)- المستخدم لعلاج الأمراض الجلدية مثل الكلف ويحتوي على خواص مضادة للفطريات (Gan et al., 2019).

وبينت النتائج ان الفطر *T. interdigitales* له القدرة على انتاج العديد من المركبات منها Fructose الذي وجد عند تناوله بكثرة يساهم في مقاومة السمنة وارتفاع الكوليسترول الضار في البروتين الدهني ويكون ذو تأثير مخفض على مستويات السكر في الدم بعد الأكل (EFSA, 2011 ; Malik and Hu, 2015) والمركب Urea, 1-ethyl-3-(propylsulfonyl)-2-thio له تأثيرات مضادة لارتفاع ضغط الدم (Russell et al., 2002) و المركب [1,2,4]Oxadiazole, 5-(4-fluorophenyl)-3- (thiophen-2-yl)- الذي يستخدم في علاج مرض الزهايمر وشلل الرعاشي (Rogge et al., 2008).

7-3: قابلية الفطريات الجلدية لإنتاج الانزيمات على الأوساط الصلبة

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أثناء الدراسة أن قابلية الفطريات المختبرة على انتاج الانزيمات تختلف حسب نوع الفطر والمبيئة في الجدول (3-6) ، حيث وجد ان الفطرين *M. nanum* و *T. mentagrophytes* لهما القدرة على إنتاج الإنزيمات الأربعة التي تم اختبارها والموضحة بالشكل (3-13) والشكل (3-14) ، اما الفطريات *T. ajelloi* ، *T. rubrum* و *M. canis* فوجد أنها تنتج انزيم lipase فقط كما في الشكل (3-15) بينما الفطريات *T. interdigitale* ، *T. equinum* و *M. persicolor* تنتج انزيم Protease فقط كما في الشكل (3-16). و الفطر *T. erinacei* فوجد انه ينتج جميع الانزيمات المختبرة باستثناء انزيم Protease والموضحة بالشكل (3-17) ، اما الفطر *M. audouinii* فوجد انه ينتج جميع الانزيمات باستثناء انزيم Phospholipase والموضحة في الشكل (3-18).

الجدول (3-6): قابلية الفطريات المدروسة على إنتاج الأنزيمات في الأوساط الصلبة

نوع الفطر	Protease	Lipase	Phospholipase	Elastase
<i>M. audouinii</i>	+	+	-	+
<i>M. canis</i>	-	+	-	-
<i>M. nanum</i>	+	+	+	+
<i>M. persicolor</i>	+	-	-	-
<i>T. ajelloi</i>	-	+	-	-
<i>T. equinum</i>	+	-	-	-
<i>T. erinacei</i>	-	+	+	+
<i>T. interdigitale</i>	+	-	-	-
<i>T. mentagrophytes</i>	+	+	+	+
<i>T. rubrum</i>	-	+	-	-

(+) Present , (-) Absent

أظهرت النتائج أن جميع الفطريات الجلدية المختبرة تمتلك قدرة مختلفة على إنتاج الأنزيمات المختبرة حيث فيما يخص أنزيم Elastase فمن المعروف أن برونين Elastin واحد من المكونات الرئيسية للجلد (Rippon and Loincz, 1964) ورغم ذلك فإن قابلية هذه الفطريات على تحليل هذه المادة تكون محدودة (Muhsin et al., 1997; صالح ، 2008) فأظهرت أربعة فطريات لها القدرة على إنتاج هذا الانزيم وهذا خلاف ما توصل إليه كل من (Muhsin et al., 1997) و (AL-Hamdani (1997) باستثناء الفطر *T. mentagrophytes* وهو دليل على أن هذه الفطريات أكثر شدة في أصابه الجلد.

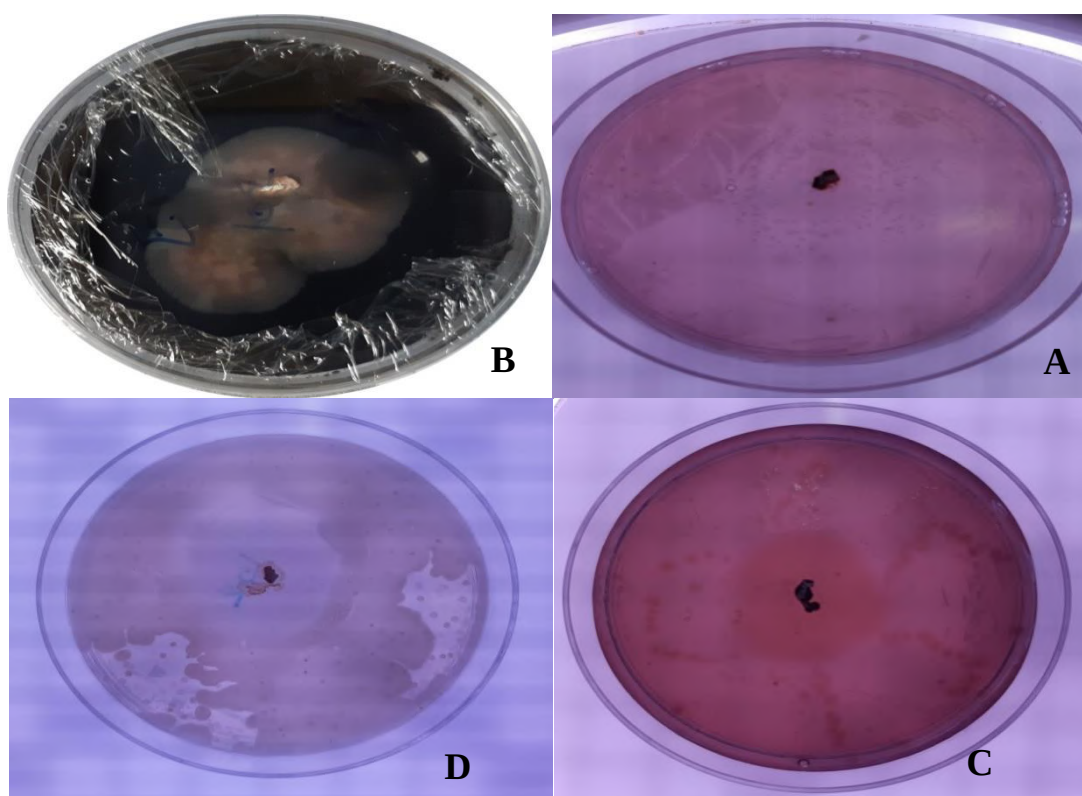
أما بالنسبة لأنزيم Lipase فمن المعروف أن هذا الانزيم يعمل على المحافظة على وظيفته الغشاء الخلوي للفطر كما أنه يساعد في غزو أنسجة المضيف ويحلل الدهون ((Das and Benarjee, 1974; Elavarashi et al., 2017) ووجد معظم الفطريات المختبرة لها القدرة على إنتاج الأنزيمات وهذا ما توصل إليه كل من (AL-Hamdani (1997) و (Gnat et al., 2018). أما فيما يخص أنزيم Phospholipase فمن المعروف أنه يقوم بتحليل الفوسفوليبيد إلى أحماض دهنية ومواد محبة للدهون لذلك ينتج أثناء الإصابة (Chinnapun, 2015). فأظهرت معظم الفطريات المختبرة عدم القدرة على إنتاج هذا الانزيم باستثناء الفطريات *M. nanum* و *T. erinacei* و *T. mentagrophytes* وهذا خلاف ما توصل إليه كل من (Muhsin et al., 1997) و (AL-Hamdani (1997).

أما بالنسبة لأنزيم Protease فأظهرت معظم الفطريات القدرة على إنتاج هذا الانزيم وهذا النتائج اتفقت مع ما توصل إليه كل من (Muhsin et al., 1997) و (AL-Hamdani (1997) و (Elavarashi et al., 2017) حيث أظهرت الفطريات الجلدية قدرات وإن كانت متفاوتة في إنتاج هذا الانزيم وذلك لحاجتها للبروتين كغذاء ولما له من دور عملية الأختراق والتسبب بالإصابة الجلدية (Kadhimi et al., 2015; North, 1982).

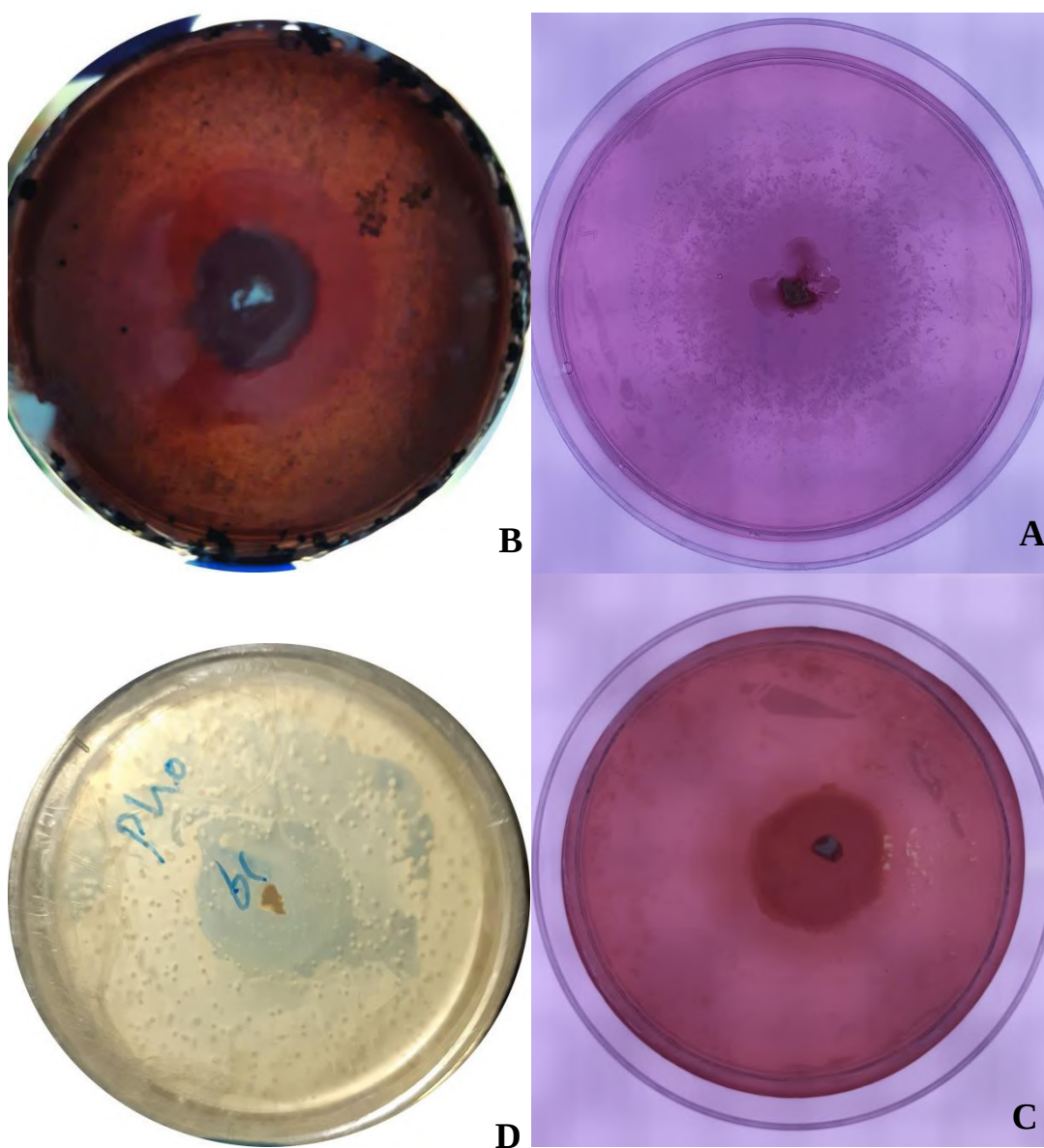
وبصورة عامة يعود سبب انخفاض أو عدم إنتاج الانزيم إلى تراكم الفضلات وعدم توفر المواد الغذائية اللازمة لنمو الفطريات (Raju and Divakar, 2013) أو إلى وقت الحضان كونه عاملاً مهماً ومسؤولاً عن تكوين الانزيم الأمثل وهو يختلف من فطر إلى آخر (Bhatti et al., 2007) أو إلى درجة الحرارة لأن الانزيم قد يتحطم بدرجة الحرارة العالية (Darrah and Lim, 2013) أو الأس الهيدروجيني

(Hankin and Anagonostakis, 1975) ، أذ تنمو الفطريات الجلدية ضمن نطاق محدد من الاس الهيدروجيني عامةً أن أفضل نمو جيد عند الاس الهيدروجيني 6 مما يؤثر على إنتاج الانزيمات (Kadhim et al., 2015) ومع ذلك وجد أفضل إنتاج لأنزيم Elastase في الوسط القلوي وانزيم Protease في الوسط المتعادل و Phospholipase و lipase في الوسط الحامضي لذلك من الأفضل أن يكون اختبار النشاط الانزيمي لكل عزلة فطرية تحت درجة حموضه محددة ودرجة حرارة محددة (AL-Hamdani , 1997) .

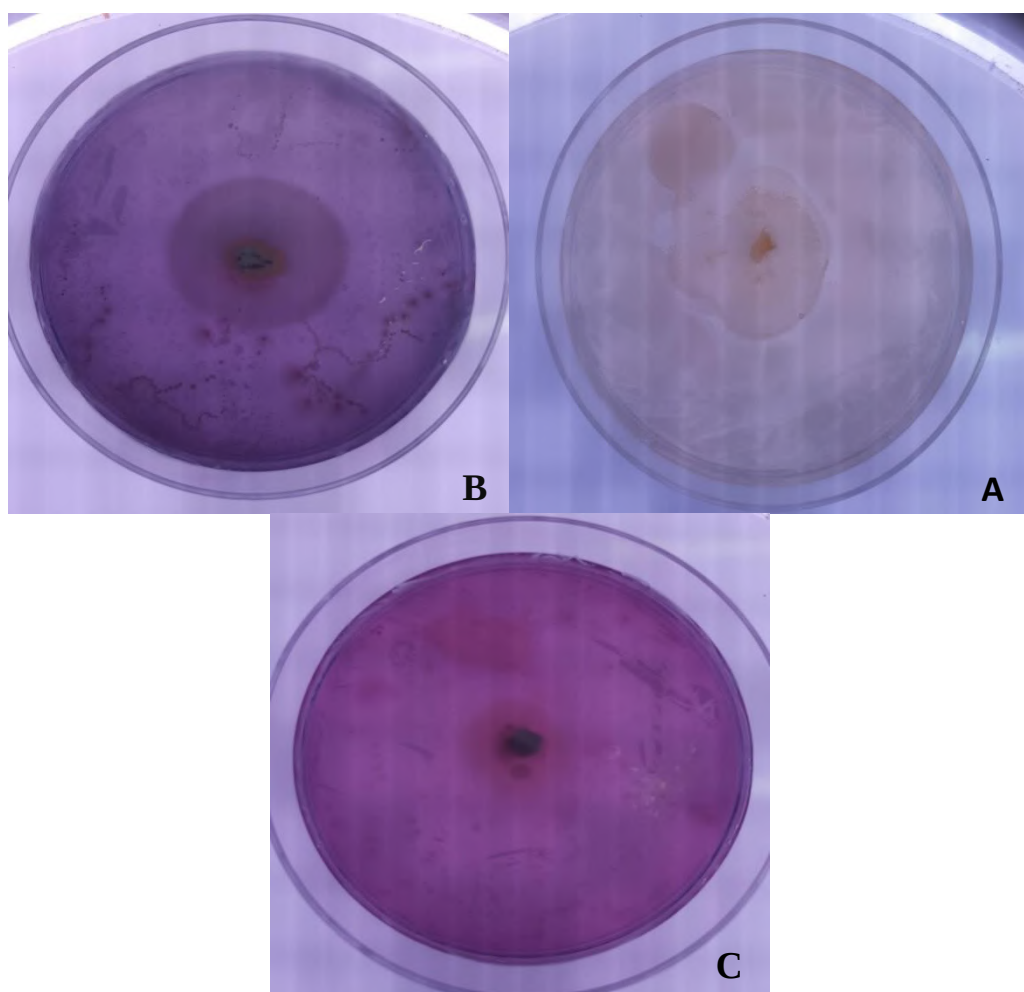
ان الانزيمات التي تفرزها الفطريات الجلدية لا تؤثر جميعها اثناء الإصابة اذ ان بعض الانزيمات يمكن ان تنتج أثناء مراحل محددة من الإصابة أو قد يكون لها أثراً أكثر فعالية في النمو (Achterman Gnat et al., 2018 ; and White, 2011) ولذلك من الصعب ان تقدم طريقة الزرع على الأوساط الصلبة استنتاجات واضحة لذلك تشير الدراسات الى أن استخدام الطرق التحليلية ، الحجم ، الطيف ، أجهزة الاستشعار ، الفحص الأشعاعي والفحص المناعي ، التوصيل ، التحليل اللوني ، أجهزة الاستشعار الحيوي قد تعطي نتائج أفضل عند قياس الانزيمات (Stoytcheva et al., 2012).



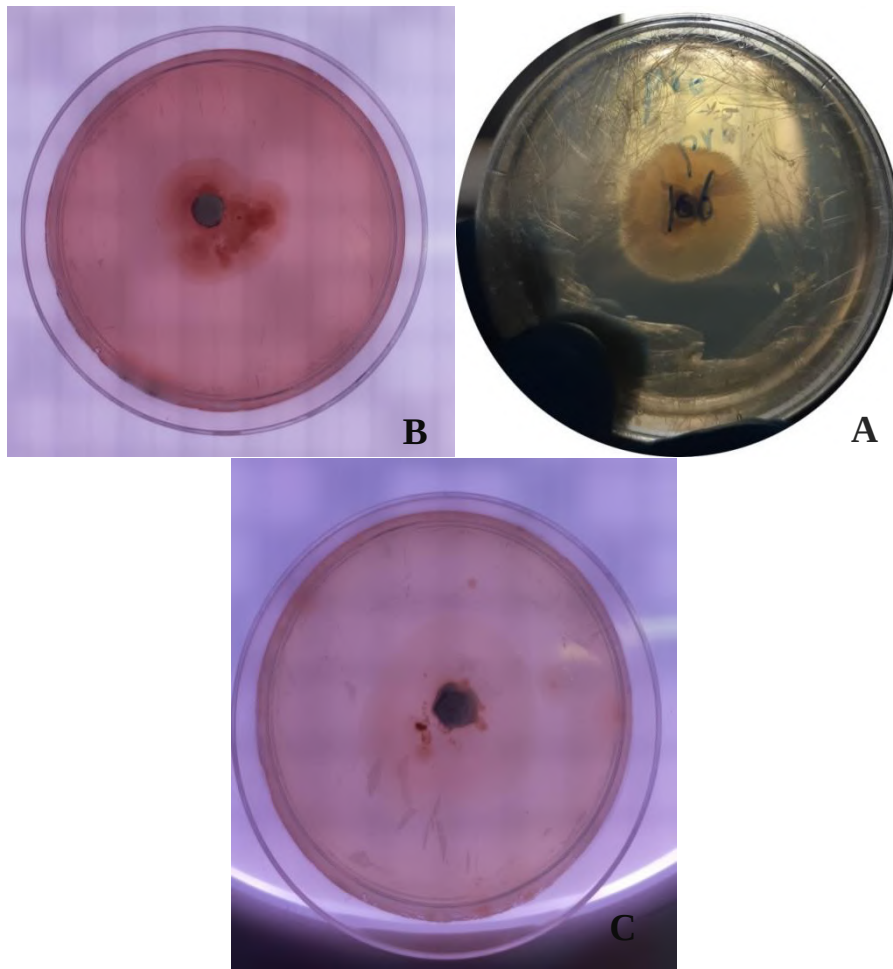
الشكل (3-13): قابلية الفطر *M. nanum* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Phospholipase ، D: Protease.



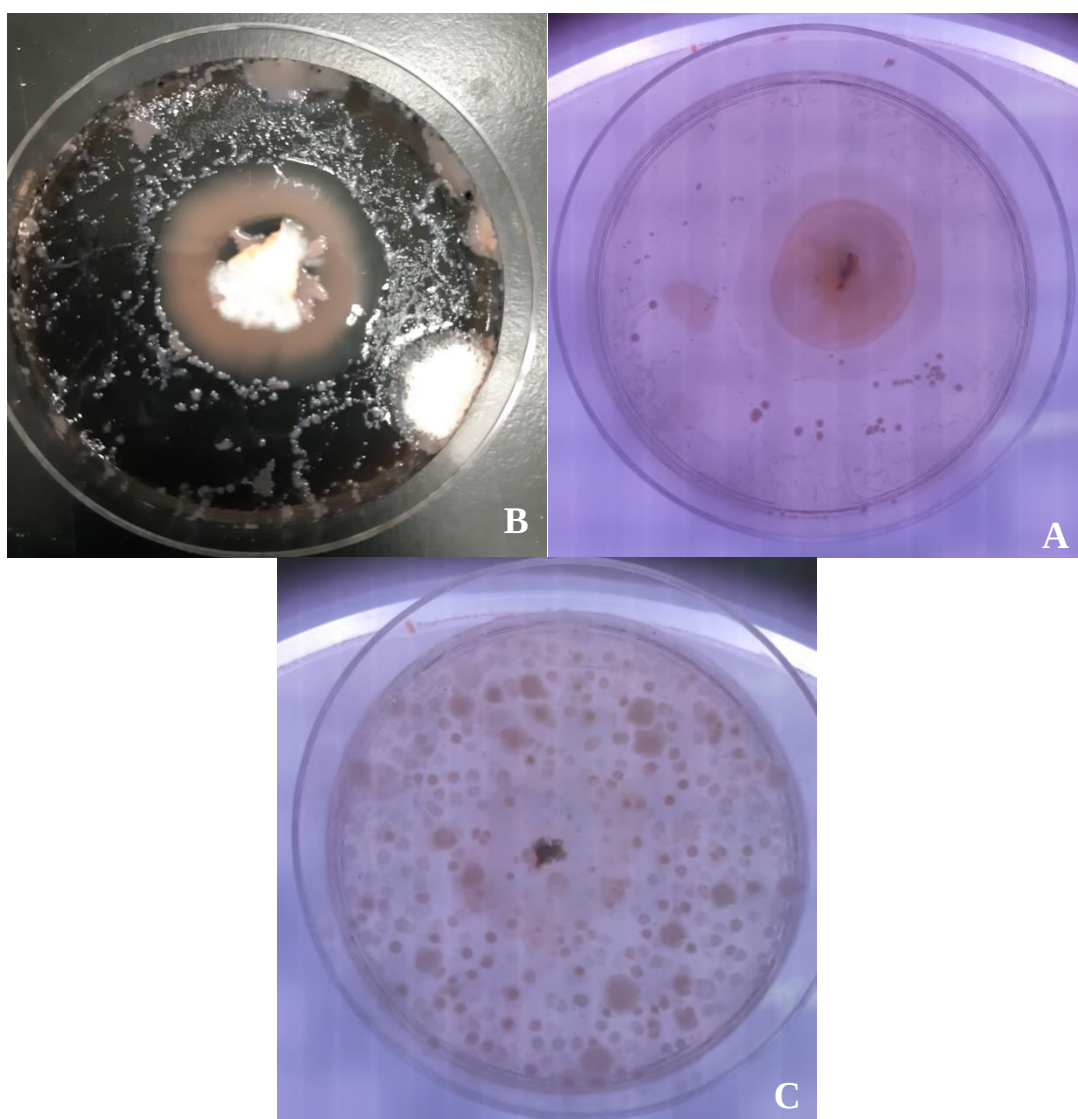
الشكل (3-14): قابلية الفطر *T.mentagrophytes* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Phospholipase ، D: Protease.



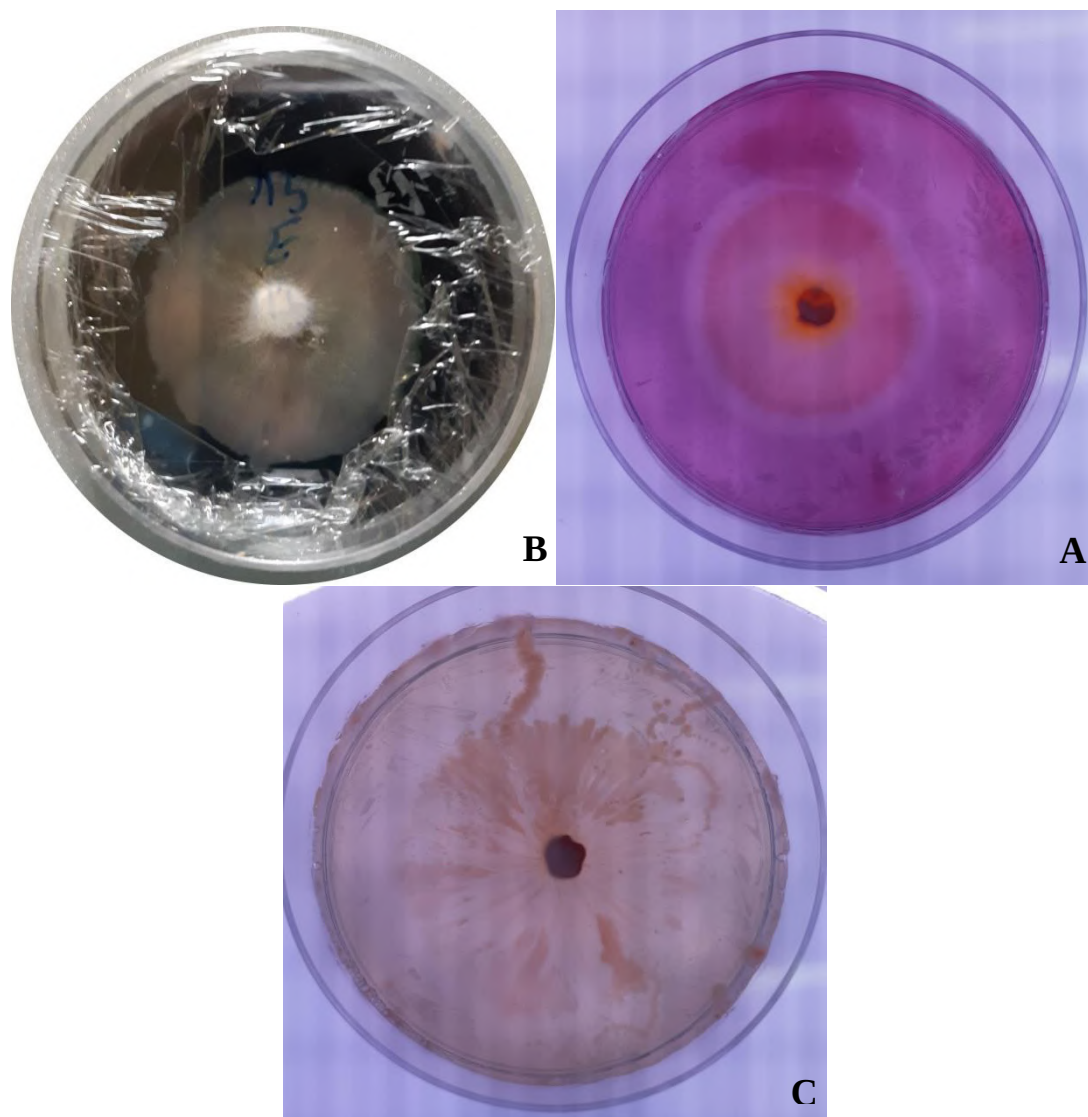
الشكل (3-15): إنتاج انزيم Lipase بواسطة A : الفطر *T.ajelloi* B : الفطر *T.rubrum* C : الفطر *M.canis*



الشكل (3-16): إنتاج انزيم Protease بواسطة A: الفطر *T.interdigitale* B: الفطر *T.equinum* C: الفطر *M.persicolor*



الشكل (3-17): قابلية الفطر *T.erinacei* على إنتاج انزيمات Lipase :A ، Elastase :B ، :C . Phospholipase

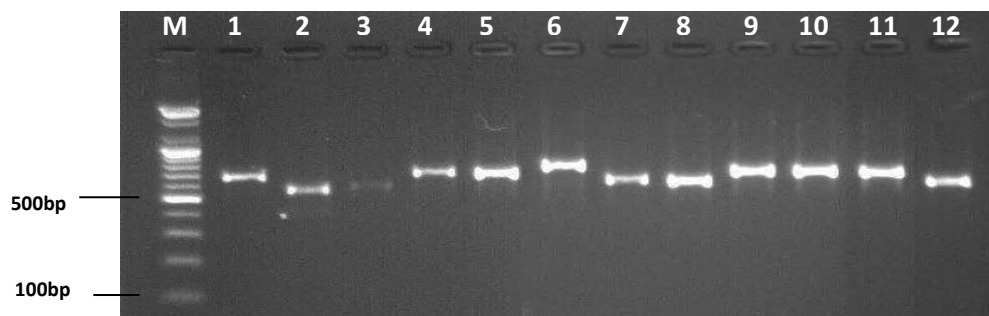


الشكل (3-18): قابلية الفطر *M.audouinii* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Protease

8-3: استخدام تقنية (PCR) لتشخيص عزلات الفطريات الجلدية

ITS- PCR :1-8-3

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها باستخدام تقنية PCR ان البادئات (ITS 4 ، ITS1) قد ضخمت الشريط الوراثي للفطريات قيد الدراسة حيث تراوحت الحزم المضخمة بين (550 – 750 bp) كما في شكل (3-19) وكانت نسبة التطابق تتراوح (88- 99 %) جدول (3-7).



الشكل (3-19): نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز

باستخدام البادئات (ITS 4 ، ITS1). Marker :M. *T. interdigitale* :2 ، *T. equium* :1 ، *E. floccosum* :3 ، *M. persicolor* :5 ، *M. audouinii* :6 ، *M. var.distortum* :7 ، *T. mentagrophytes* :4 ، *T. erinacei* :8 ، *M. canis var.equinum* :9 ، *M. nanum* :10 ، *T. ajelloi* :11 ، *T. rubrum* :12

الجدول (3-7): التشخيص الجزيئي للفطريات الجلدية المدروسة

رقم العينة	التشخيص المظهري	التشخيص الجزيئي	نسبة التطابق	*Accession number
A1	<i>T.interdigitales</i>	<i>T. terrestre</i>	94%	LN651123.1
A2	<i>T.equium</i>	<i>T. equium</i>	99%	AF170458.1
A4	<i>M.nanum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	99%	MK312877.1
A5	<i>T.ajelloi</i>	<i>T. interdigitale</i>	99%	KT192478.1
A6	<i>T.rubrum</i>	<i>T. rubrum</i>	95%	JX431933.1
A7	<i>M.canis ver.distortum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	92%	KY765898.1
A8	<i>T.erinace</i>	<i>T. rubrum</i>	95%	JX431933.1
A9	<i>M.canis ver.equinum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	99%	MN064822.1
A10	<i>T.mentagrophytes</i>	<i>T. simii</i>	99%	MH865899.1
A12	<i>E.floccosum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	91%	KX906484.1
A13	<i>M.persicolor</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	99%	MH791431.1
A14	<i>M.audouinii</i>	<i>T. simii</i>	88%	FM991864.1

* التسلسلات المرجعية في الجدول اعلاه تمثل السلالات الفطرية المسجلة في بنك الجينات والتي تم المقارنة معها.

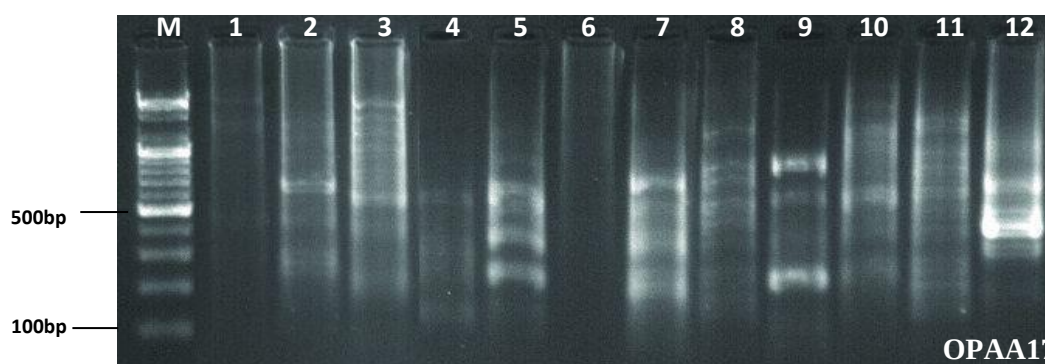
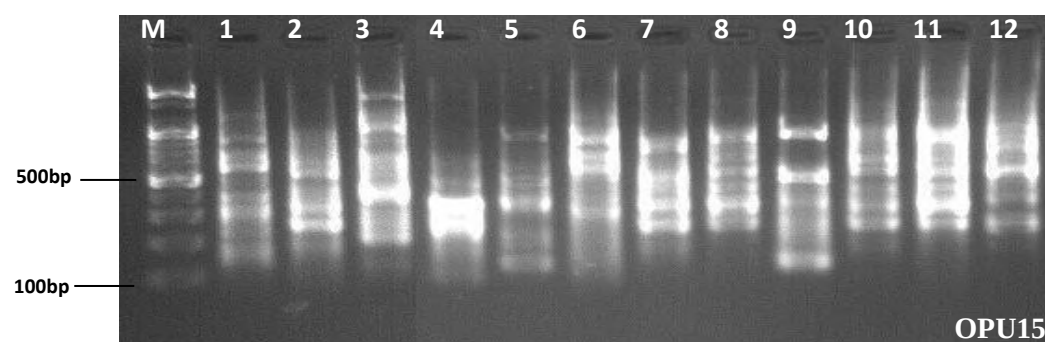
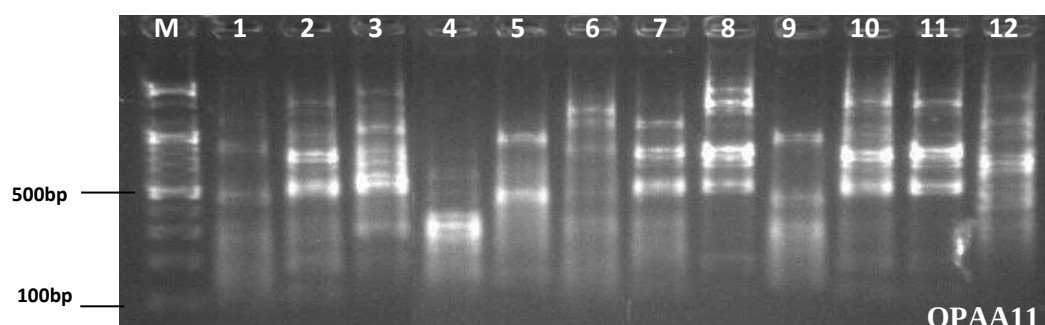
RAPD – PCR 2-8-3

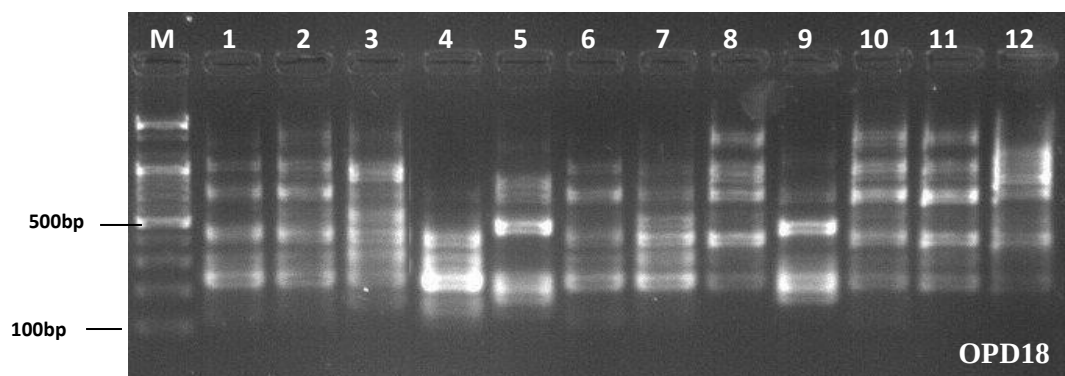
أظهرت الدراسة أن جميع البادئات RAPD المستخدمة (OPAA11 و OPU15 و OPAA17 و OPD18) قد ضخمت الشريط الوراثي DNA للفطريات قيد الدراسة (شكل 3-20) حيث كان العدد

الكلي للحزم المضخمة 579 حزمة واطهر البادئ (OPAA17) 82 حزمة واعلى تشكل وراثي 18.2 % اما البادئ (OPAA11) فاطهر 180 حزمة وباقل تشكل وراثي 7.7 % جدول (8-3).

الجدول (8-3): يوضح أعداد الحزم والتنوع والتشكل الوراثي للبادئات RAPD المستخدمة في تضخيم الشريط الوراثي

Primers	Total bands	Polymorphic	Monomorphic	Polymorphism %	Diversity
OPAA11	180	14	2	7.7 %	0.011
OPU15	158	16	4	10.1 %	0.025
OPAA17	82	15	3	18.2 %	0.036
OPD18	159	13	3	8.7 %	0.02
Total	579	58	12	11.175 %	0.023

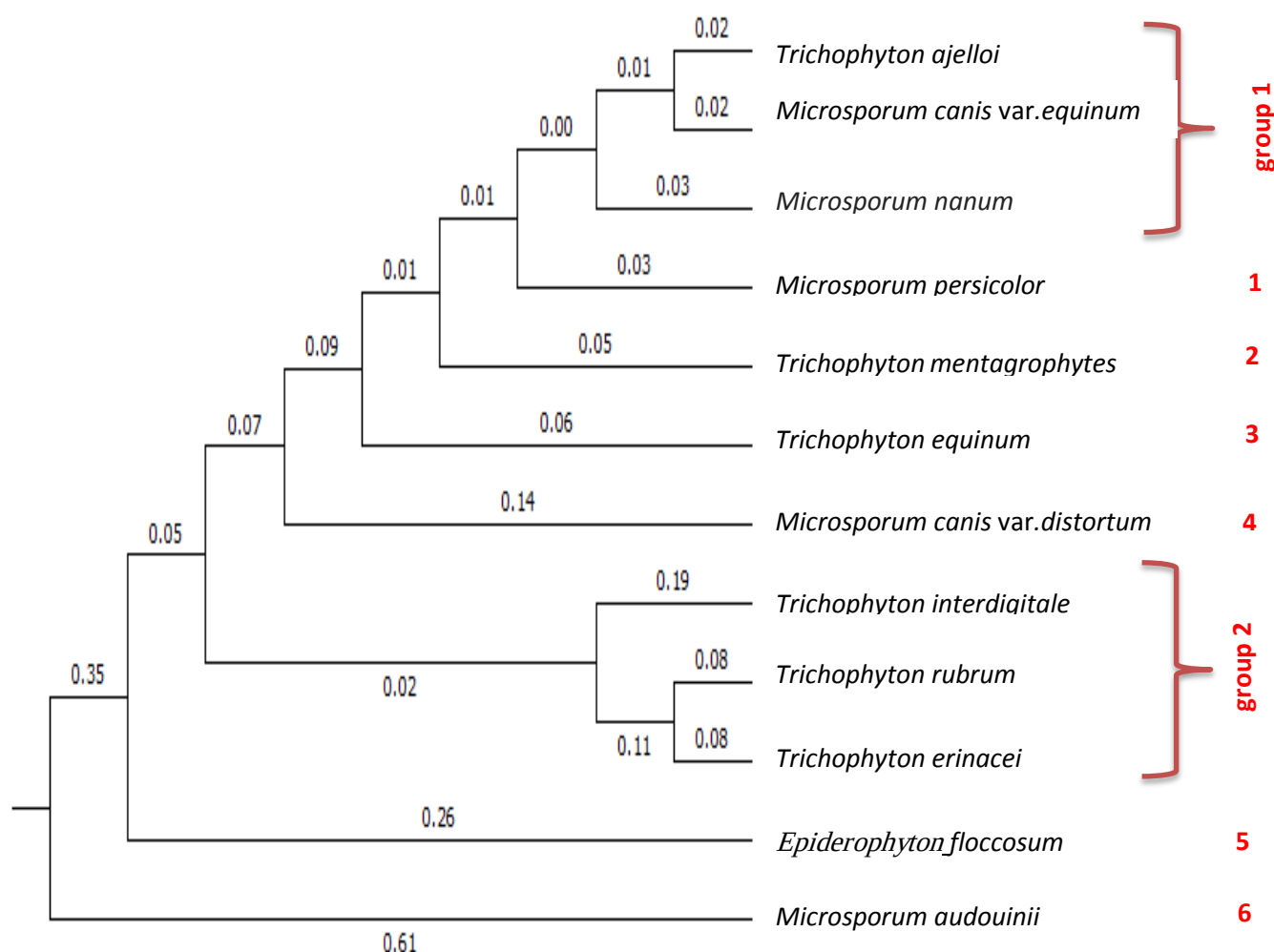




الشكل (3-20): نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام تقنية RAPD باستعمال البادئات (OPD 18 و OPAA17 و OPU15 و OPAA11).
 M: Marker 1: *E. floccosum* 2: *M. persicolor* 3: *T. mentagrophytes* 4: *M. var. distortum* 5: *T. erinacei* 6: *M. audouinii* 7: *T. equium* 8: *T. ajelloi* 9: *T. rubrum* 10: *M. canis var. equinum* 11: *M. nanum* 12: *T. interdigitale*

3-8-3: الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات الجلدية المدروسة

أظهرت نتائج الشجرة الوراثية التي تم الحصول عليها من تطبيق برنامج MEGA المتخصص برسم الخرائط الوراثية للفطريات المدروسة أنها تتألف من مجموعتين جينية ضمنيت المجموعة الجينية الاولى العزلات *Trichophyton ajello* ، *Microsporum canis ver. equinum* ، *Microsporum nanum* وهناك اربع عزلات *Microsporum persicolor* ، *Trichophyton* ، *Trichophyton mentagrophytes* ، *Trichophyton equinum* ، *Microsporum canis ver. distortum* ظهرت بشكل منفرد Singleton التي كانت اقرب جينيا الى المجموعة الجينية الاولى من خلال الاشتراك معها بـ Common ancestor. اما المجموعة الجينية الثانية فشملت العزلات *Trichophyton interdigitale* ، *Trichophyton rubrum* ، *Trichophyton erinace* ، *Trichophyton* اما العزلات *Microsporum audouinii* ، *Epidermophyton floccosum* فظهرت بشكل Singleton وعلى مسافة جينية بعيدة من المجاميع الجينية. والموضحة في شكل (3-21).



الشكل (3-21): الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات المدروسة (Tamura and Kumar,2002 ; Kumar et al.,2015).

الطرائق الجزيئية تقدم حلاً مناسباً للمشاكل التي نواجهها في تصنيف أنواع الفطريات الجلدية مقارنة بالطرق التشخيصية المظهرية (Zarrin et al., 2015) حيث وجد أن استخدام الطرق التقليدية لتحديد الأنواع يستغرق وقتاً طويلاً لا يمكن الاعتماد بدرجة كافية وفي بعض الحالات يكون التشخيص خاطئاً لذلك تعد الطرق الجزيئية أكثر سرعة ودقة وحساسية من الطرق المظهرية لتحديد أنواع الفطريات الجلدية ويمكننا الحصول على نتيجة في غضون 24 ساعة من العينات مباشرة من استخلاص DNA (Jha et al., 2012 ; Didehdar et al., 2016) وإيضاً قد سهل استخدام الطرق الجزيئية تقدماً كبيراً في تحديد وتحليل نتائج الشجرة الوراثية للأنواع الفطريات الجلدية (Jensen and Arendrup, 2012 ; Graser et al., 2012).

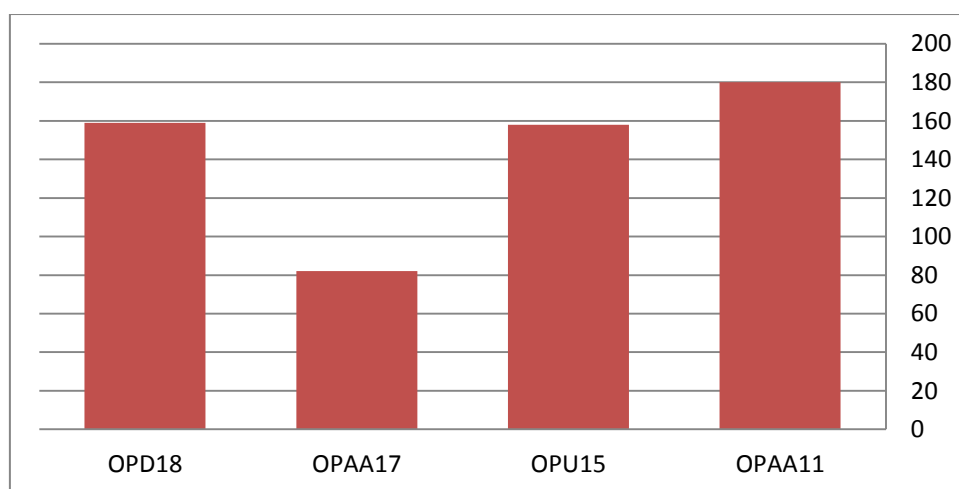
أظهرت نتائج تحليل تنابعات المادة الوراثية DNA للأنواع الفطريات الجلدية المدروسة عدم حصول تطابق في التصنيف المظهري مع التصنيف الجزيئي في بعض الحالات فلو حظ أن النوعين *T. rubrum* و *equinum* تطابق فيها التشخيص المظهري مع التشخيص الجزيئي حيث تطابقت بنسبة % 99-95 مع العزلات الموجودة في بنك الجينات NCBI بينما بقيت الأنواع لم يحصل فيها تطابق حيث تطابقت مع عزلات أخرى وبنسب تتراوح من 88-99 % كما في الجدول (3-7) ولكن وجد أختلاف كبير عند المقارنة مع تكوين الكونيدات الكبيرة والصغيرة وأشكالها وأبعادها وحجم الخلايا وأشكال المستعمرات

وتكوين الأبواغ الكلاميدية وذلك بواسطة ملاحظتها تحت المجهر الضوئي لذلك فإن نسبة التطابق بين التشخيص المظهري والجزيئي لم تكن 100% وقد يعود سبب ذلك إلى أن الفطريات الجلدية تتأثر بالعوامل البيئية المختلفة وهذا قد يؤدي إلى فقدان القابلية على تكوين الكونيدات بعد عملية إعادة الزرع المتعدد (Simmons, 2007).

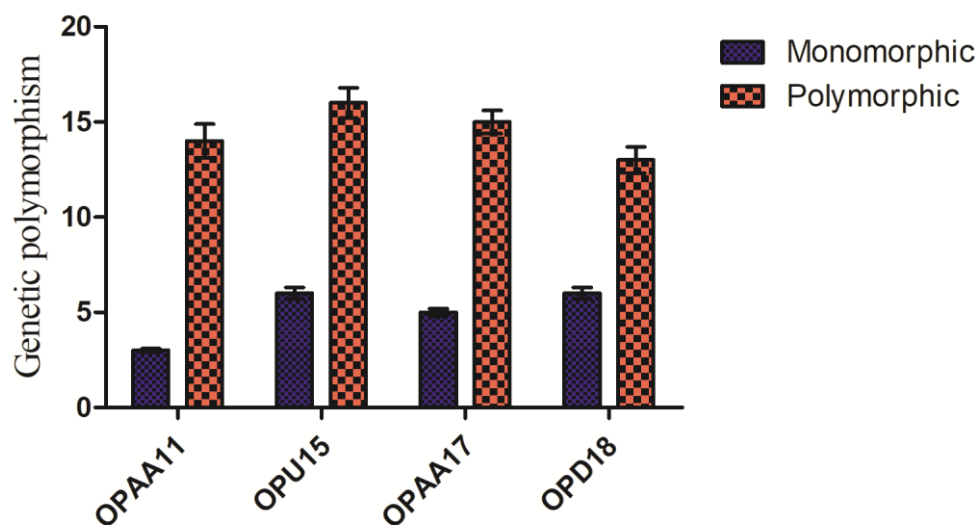
إن طرق التصنيف التقليدية والجزيئية لها إيجابيات وسلبيات لكن الطرق التقليدية لها بعض الإيجابيات تفوق الطرق الجزيئية في تقدير الاختلافات بين الفطريات ولهذا يجب علينا أن لا نعتمد فقط على البيانات التي نحصل عليها من الطرق الجزيئية بمعزل عن البيانات الأخرى مثل الصفات المظهرية، لأن ذلك قد يؤدي بالباحثين إلى استنتاج أفكار خاطئة من نتائج تحليل الأشجار الوراثية Phylogenetic trees (Lafta , 2019 ; Li et al., 2014).

والنتائج التي حصل عليها باستخدام البادئات ITS1 و ITS4 قد ضخمت الشريط الوراثي DNA حيث تراوحت الحزم المضخمة بين 550-750 bp وهذا الاختلاف الذي شوهد في منطقة ITS بين الفطريات الجلدية أكد نتائج التشخيص المظهري وأظهرت هذه النتائج تشابهاً جيداً مع نتائج Al- (Ghojoghi et al.(2015) ; Ahmadi et al.(2015) ; Khafajii(2014).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن للبادئات المستخدمة (OPAA11, OPAA17, OPU15) كفاءة عالية في تشخيص الفطريات الجلدية بواسطة الحصول على حزم الـ DNA التي ظهرت واضحة تحت الأشعة فوق البنفسجية وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل إليه Liu et al., (2000) فقد ذكروا أن هناك إمكانية لتشخيص ما يقارب 20-25 نوع من الفطريات الجلدية باستخدام أحد هذه البادئات وكان عدد الحزم للفطريات الجلدية المدروسة متباينة عند استعمال هذه البادئات كما في الشكل (3-22) وهذا قد يكون ناتج عن تحورات وراثية وصفات جديدة أو يكون بسبب الاختلاف في الفترات الزمنية التي تم الحصول عليها والذي يمكن أن يؤدي إلى حدوث تباين وراثي بين العزلات والتي حصل عليها في هذا الدراسة كما في الشكل (3-23) (الإبراهيم، 2013). وتعد هذه الطريقة سريعة وذات كفاءة عالية لتشخيص الفطريات الجلدية حيث إن التشخيص اعتماداً على الخصائص الجينية يكون أدق مما عليه بالاعتماد على الخصائص المظهرية (Mitchell et al., 1994) وقد استخدم عدد من الباحثين هذه التقنية في تشخيص الفطريات المرضية ومنها الفطريات الجلدية (Kano et al., 1998 ; Harmsen et al., 1995).



الشكل (3-22): عدد الحزم المتشكلة لكل بادئ باستخدام تقنية PCR-RAPD للفطريات المدروسة



الشكل (3-23): عدد الحزم المفردة والمزدوجة للبادئات المستخدمة للفطريات المدروسة

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions

and

Recommendation

الاستنتاجات

- 1- أظهرت الدراسة ان الاصابة الجلدية تعود الى 12 نوع من الفطريات الجلدية هي *M. persicolor* ، *M. canis ver.distortum* ، *M. audouinii* ، *canis var.equinum* ، *T.mentagrophytes* ، *T. equinum* ، *T. rubrum* ، *T. interdigitale* ، *M. nanum* ، *E. floccosum* ، *T. ajelloi* ، *T. erinacei* ،
- 2- وجد إن الفطر الجلدي *T. interdigitale* أكثر أنواع الفطريات الجلدية انتشارا و بنسبة 32.6%.
- 3- وجد ان نسبة إصابة الذكور بالفطريات الجلدية أعلى مما هي عليه في الإناث . و أن أعلى نسبة إصابة سجلت في الفئة العمرية 6 اشهر – 9 سنة بينما اقل نسبة إصابة سجلت في الفئتين العمرية 40-49 و 50 فما فوق.
- 4- بينت الدراسة ان سعة الجسم *Tinea corporis* اكثر الاشكال السريرية انتشارا وبنسبة 34.8% مقارنة بالأشكال السريرية الاخرى.
- 5- اظهرت الدراسة ان الاصابات الجلدية تكثر في شهر كانون الاول وبنسبة 28.3% وتقل في شهر ايار.
- 6- شخّصت العديد من الأحماض الدهنية والمركبات الفينولية في مستخلصات الايض الثانوي لبعض الفطريات الجلدية المختبرة باستخدام تقنية الغاز المتصل بمطياف الكتلة GC- Mass .
- 7- بينت الدراسة ان للفطريات الجلدية المختبرة قابلية على انتاج بعض الانزيمات وبنسب متفاوتة.
- 8- لوحظ من الدراسة الحالية ان استخدام الطرق الجزيئية بواسطة تقنية الـ PCR وعمل التتابعات Sequence ومقارنة النتائج مع العزلات المسجلة في بنك الجينات NCBI اعطت نتائج إيجابية في التشخيص لبعض هذه الفطريات.

التوصيات

- 1- ضرورة السيطرة على الحيوانات السائبة و تقليل أو عدم تربية الحيوانات في المنازل أو قريبا منها وخاصة في المناطق الريفية لأنها قد تشكل عاملا لانتشار الإصابة الجلدية لاحتكاك الأطفال الدائم مع هذه الحيوانات ، لاسيما إنه يعد من الأمراض التي تصيب الأطفال خاصة وهو من الأمراض المعدية كما يمكن انتقاله من الحيوانات الى الإنسان.
- 2- توفير المستلزمات الضرورية في المستشفيات والمستوصفات الفرعية لأجراء التشخيص الروتيني السريع لهذا النوع من الاصابات.
- 3- دراسة تفصيلية للمنتجات الايضية التي تفرزها الفطريات الجلدية وامكانية ربطها مع عامل او عوامل الضراوة لكل نوع فطري من الفطريات الجلدية.
- 4- انشاء مركز متخصص للإصابات الجلدية في محافظة ميسان تتوفر فيه التقنيات الحديثة المستخدمة في تشخيص الفطريات وطرق معالجتها.

المصادر

References

المصادر العربية :

- الإبراهيم، شروق عبد الله (2013). عزل وتشخيص بعض مسببات داء سعفة الرأس ودراسة فعالية مستخلصات البروبلس وبعض النباتات الطبية والمضادات الفطرية ضد الفطر *Microsporum canis* Bodin داخل الجسم الحي وخارجه. اطروحة دكتوراه ، جامعة البصرة ، العراق. ص -170 169.
- بندر، خليل إبراهيم. (2012). دراسة وبائية للإصابات الفطرية الجلدية في مدينة سامراء. كلية العلوم ، جامعة تكريت، مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، (1) 17 ، 24-17.
- حمد، عبدالله غانم قدوري (2008) . التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية في نمو فطريات الجلدية معزولة من المرضى . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تكريت . جمهورية العراق.
- سرحان، عبد الرضا طه. (2010). تشخيص الفطريات الجلدية الخيطية المعزولة من المرضى المصابين بسعفة الرأس *tinea capitis* في بغداد . كلية مدينة الطب، جامعة بغداد، مجلة علوم المستنصرية ، (6) 21 ، 212-207.
- صالح ، طلال حسين.(2008). دراسة حول الفطريات المرضية الجلدية والكيراتينية المعزولة من بعض الحيوانات والاشخاص الملامسين لها في محافظة ميسان. اطروحة دكتوراه جامعة البصرة ، كلية العلوم ، جمهورية العراق.
- صالح ، طلال حسين .(2010). ظهور إصابات القوباء الحلقية بين أطفال المدارس الابتدائية في ميسان. كلية التربية، جامعة ميسان، مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية المجلد التاسع العدد السابع عشر كانون الأول 201.
- عباس، ياس خضر و السهلاني ، ابتهاج قاسم (2015) . عزل وتشخيص بعض الفطريات الجلدية المسببة لداء السعفة *Tinea* . كلية التربية ، جامعة ذي قار، مجلة علوم ذي قار. (2) 5 ، 75-87.
- عبد الحسن، ميساء تقي ؛ فرحان ، عباس عبود و حسن ، عبدالرزاق شفيق. (2014). دراسة تشخيصية وإحصائية للفطريات الجلدية في محافظة ديالى. كلية العلوم ، جامعة كربلاء ، مجلة جامعة كربلاء. (3) 12 ، 26-33 .
- عبود، حسين عبد الرزاق ؛ بندر ، خليل أبراهيم و حمادة ، ذكرى أحمد. (2013). عزل الفطريات الجلدية من الانسان ودراسة تأثير المستخلصات النباتية والمضادات الفطرية عليها. كلية العلوم، جامعة تكريت، مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، (1) 18 ، 39-29 .
- مجبل، فاطمة عبد الحسين ؛ صالح ، طلال حسين و الحمداني ، عدنان حمد عبيد . (2010). عزل وتشخيص الفطريات الجلدية الممرضة للإنسان واختبار حساسيتها الدوائية لدى المرضى المراجعين للمستشفى التعليمي في محافظتي الديوانية والنجف الأشرف . كلية العلوم، جامعة الكوفة، مجلة جامعة كربلاء. (2) 8 ، 199-209.
- محمد، بان طه و الدعيمي ، علاء عبد الحسين . (2012). دراسة نسب الإصابة ببعض الفطريات الجلدية المعزولة من مرضى الاخماج الجلدية في مستشفى الهندية العام بمحافظة كربلاء. كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كربلاء، مجلة جامعة كربلاء ، المؤتمر العلمي الأول للتربية للعلوم الصرفة ، -232 224.

المصادر الأجنبية :

- Abd Elmegeed, A. S. M., Ouf, S. A., Moussa, T. A., & Eltahlawi, S. M. R. (2015). Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt. *Brazilian journal of Microbiology*, 46(3), 799-805.
- Abid-Ali ., Jasim ,W. (2010). Effect of some antifungals and medicinal herbal against dermatophytes isolated from Tinea capitis in Al-Diwaniya governorate. M. Sc. Thesis , College of Science , Baghdad Univ., Iraq. p 128.
- Achterman, R. R., & White, T. C. (2011). Dermatophyte virulence factors: identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections. *International journal of microbiology*.
- Aghamirian, M. R., & Ghiasian, S. A. (2008). Dermatophytoses in outpatients attending the dermatology center of Avicenna Hospital in Qazvin, Iran. *Mycoses*, 51(2), 155-160.
- Ahmadi, B., Mirhendi, H., Shidfar, M. R., Nouripour-Sisakht, S., Jalalizand, N., Geramishoar, M., & Shokoohi, G. R. (2015). A comparative study on morphological versus molecular identification of dermatophyte isolates. *J Mycol Med*, 25 (1), 29-35.
- Ahmadinejad, Z., Razaghi, A., Noori, A., Hashemi, S. J., Asghari, R., & Ziaee, V. (2013). Prevalence of fungal skin infections in Iranian wrestlers. *Asian journal of sports medicine*, 4(1), 29.
- Ajello, L. (1974). Natural history of the dermatophytes and related fungi. *Mycopathologia et Mycologia applicata*, 53(1-4), 93-110.
- Albrecht, L. H., Backes, R., Eichler, J.O. , Feuerhake, R. , Jakel, C., Mahn, U. , Pinkos, R., & Vogelsang, R. (2011). "2-Pyrrolidone" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim.
- Al-Duboon, A.A. (1997). A Study on Superficial-cutaneous mycoses in basrah (Iraq).doctoral thesis ,University of Basrah,Iraq.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology John Wiley & Sons. Inc., New York, 868.
- AL-Hamadani, A.H. (1997). Enzymic Activity and their Roles in Pathogenicity and Immunogenicity of Clinical Isolates of Dermatophytes and Yeasts . Doctorate thesis. University of Basrah, Iraq.
- Al-Hashemi ,J. M. (1979). Guid-book of applicatory to Mycology. University of Basrah.
- Ali-Shtayeh, M. S., Yaish, S., Jamous, R. M., Arda, H., & Husein, E. I. (2015). Updating the epidemiology of dermatophyte infections in Palestine with special reference to concomitant dermatophytosis. *Journal de mycologie medicale*, 25(2), 116-122.

- Al-jabre, S. H. M., Richardson, M. D., Scott, E. M., Rashid, A., & Shankland, G. S. (1993). Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Trichophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. *Clinical and experimental dermatology*, 18(3), 231-235.
- Al-Janabi, S. J. (2006). Dermatophytes infection in Baghdad clinical and laboratory study (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, College of Education.(Ibn-Al-Haitham) Univ. of Baghdad-Iraq.
- Al-Khafajii, K. (2014). Myco-epidemiologic and genetic study of rermatophytosis and non dermatophytes in middle euphrates Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 8 (24), 2381-2386.
- Allahdadi, M., Hajihosseini, R., Kord, M., Rahmati, E., Amanloo, S., & Didehdar, M. (2019). Molecular characterization and antifungal susceptibility profile of dermatophytes isolated from scalp dermatophyte carriage in primary school children in Arak city, Center of Iran. *Journal de mycologie medicale*, 29(1), 19-23.
- Ansari, S., Hedayati, M. T., Zomorodian, K., Pakshir, K., Badali, H., Rafiei, A., & Seyedmousavi, S. (2016). Molecular characterization and in vitro antifungal susceptibility of 316 clinical isolates of dermatophytes in Iran. *Mycopathologia*, 181(1-2), 89-95.
- Aronson, J. K. (2015). Meyler's side effects of drugs: the international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions. Elsevier.
- Arthi , R. (2017). Clinico- Mycological of dermatophytes and efficacy of the medicinal plant. *Aristolochia bracteolata* against dermatophytic strains. Doctoral thesis, University of Periyar , India.
- ASHSP. (2019). American Society of Health-System Pharmacists .
- Asz-Sigall, D., Tosti, A., & Arenas, R. (2017). Tinea unguium: diagnosis and treatment in practice. *Mycopathologia*, 182(1-2), 95-100.
- Aubaid, A. H., Muhsin, T. M & Al-Duboon, A. H. (1997). Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses*, 40(11-12), 465-469.
- Ayatollahi, S.A., Salari Sardoi, S., Shamsadini, S. (2011). A first case of tinea imbricata from Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2(2):71-4.
- Baeza, L. C., Matsumoto, M. T., Almeida, A. M. F., & Mendes- Giannini, M. J. S. (2006). Strain differentiation of *Trichophyton rubrum* by randomly amplified polymorphic DNA and analysis of rDNA nontranscribed spacer. *J. Medical Microbio.*, 55: 429-436.

- Balakumar, S., Rajan, S., Thirunalasundari, T., & Jeeva, S. (2012). Epidemiology of dermatophytosis in and around Tiruchirapalli, Tamilnadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(4), 286-289.
- Basak, P., Mallick, B., & Pattanaik, S. (2019). Prevalence of dermatophytic infections including antifungal susceptibility pattern of dermatophytes in a tertiary care hospital . International Journal of Research in Medical Sciences *Basak P et al. Int J Res Med Sci. Mar;7(3):xxx-xxx*
- Baselt, R.C. (2014). Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 10th edition. Seal Beach, Ca.: Biomedical Publications. p. 1329.
- Bassiri-Jahromi, S., Sadeghi, G., & Asghari Paskiaee, F. (2010). Evaluation of the association of superficial dermatophytosis and athletic activities with special reference to its prevention and control. *International journal of dermatology*, 49(10), 1159-1164.
- Behzadi, P., Behzadi, E., & Ranjbar, R. (2014). Dermatophyte fungi: infections, diagnosis and treatment. *SMU medical journal*, 1, 50-62.
- Berkenkamp, B. (1973). Qualitative assays of ribonuclease produced by plant pathogenic fungi. *Canad. J. Microbial*. 19: 1431-1434.
- Bertleff, W., Roeper, M., & Sava, X., (2000). Carbonylation. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH 2000.
- Bhatti, H. N., Mustafa, G., & Asgher, M. (2007). Production of glucoamylase by *Fusarium moniliforme* under solid-state fermentation. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 29(2), 161-165.
- Blanchard, R. (1896). Vegetable pests excluding bacteria. In: C Bouchard, ed. *Treaty of Pathology General*. vol 2. Paris, G.Masson, pp. 811-926.
- Bonifaz, A., & Vazquez-Gonzalez, D. (2011). *Tinea imbricata* in the Americas. *Current opinion in infectious diseases*, 24(2), 106-111.
- Brasch, J., & Zaldua, M. (1994). Enzyme patterns of dermatophytes: Enzymmuster von Dermatophyten. *Mycoses*, 37(1-2), 11-16.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, S.A. (2001) . Medical Microbiology. 24th ed. Appleton and Lange ,Asimon and Schuster Co. ,California .
- Calvo, M. A., Bruguera, T., Cabanes, F. J., Calvo, R. M., Trape, J., & Abarca, L. (1985). Brief communication: Extracellular enzymatic activities of dermatophytes. *Mycopathologia*, 92(1), 19-22.
- Caretta, G., Del Frate, G., Picco, A. M. & Mangiarotti, A. M.(1981). Superficial mycoses in Italy. *Mycopath*. 76 (1) : 27-32.
- Champion, R. H., Burton, J. L., Burns, D. A., & Breathnach, S. M. (1998). Text book of Dermatology. 6th ed. Black well science Ltd. pp 1277-1376.

- Chaudhary, J. K., & Kumar, A. (2016). A clinico-mycological profile of dermatophytosis at a tertiary care hospital in Bihar. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 5(2), 181-9.
- Chiacchio, N. D., Madeira, C. L., Humaire, C. R., Silva, C. S., Fernandes, L. H. G., & Reis, A. L. D. (2014). Superficial mycoses at the Hospital do Servidor Publico Municipal de Sao Paulo between 2005 and 2011. *Anais brasileiros de dermatologia*, 89(1), 67-71.
- Chin, J. (2000). control of communi cable diseases 1th ed. , Washing ton, pp:147-153
- Chinnapun, D. (2015). Virulence Factors Involved in Pathogenicity of Dermatophytes. *Walailak Journal of Science & Technology*, 12(7). 73-80.
- Collee, J. G., Miles, R. S., & Watt, B. (1996). Tests for the identification of bacteria. *Mackie and McCartney practical medical microbiology*, 14, 131-49.
- Cortez, A. C. A., de Souza, J. V. B., Sadahiro, A., & de Oliveira, J. A. A. (2012). Frequency and aetiology of dermatophytosis in children age 12 and under in the state of Amazonas, Brazil. *Revista iberoamericana de micologia*, 29(4), 223-226.
- Coulibaly, O., Thera, M. A., Piarroux, R., Doumbo, O. K., & Ranque, S. (2015). High dermatophyte contamination levels in hairdressing salons of a West African suburban community. *Mycoses*, 58(2), 65-68.
- Darah, I., Nisha, M., & Lim, S. H. (2013). Enhancement of polygalacturonase production from *Enterobacter aerogenes* NBO2 by submerged fermentation. *Advanced Studies in Biology*, 5(5), 173-189.
- Das, S. K. & Banerjee, A. B. (1974) Phospholipids of *Trichophyton rubrum* . *Sabouraudia* 12, 281-286.
- Dawson, A. L., Dellavalle, R. P., & Elston, D. M. (2012). Infectious skin diseases: a review and needs assessment. *Dermatologic clinics*, 30(1), 141-151.
- De Diego, A. M. (2011). Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 29, 33-39.
- De Hoog, G.S., J. Guarro, J. Gene and M.J. Figueras. (2015). Atlas of clinical fungi (version 4.1.2). centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Degreef, H. (2008). Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). *Mycopathologia*, 166(5-6), 257.
- Di Menna, M. E., & Marples, M. J. (1954). *Microsporum distortum* sp. nov. from New Zealand. *Transactions of the British Mycological Society*, 37(4).
- Didehdar, M., Shokohi, T., Khansarinejad, B., Sefidgar, S. A. A., Abastabar, M., Haghani, I., & Mondanizadeh, M. (2016). Characterization of clinically

- important dermatophytes in North of Iran using PCR-RFLP on ITS region. *Journal de mycologie medicale*, 26(4), 345-350.
- Dogen, A., Gümral, R., & Ilkit, M. (2015). Haemolytic and co-haemolytic (CAMP-like) activity in dermatophytes. *Mycoses*, 58(1), 40-47.
- Dogo, J., Afegbua, S. L., & Dung, E. C. (2016). Prevalence of Tinea capitis among school children in Nok community of Kaduna state, Nigeria. *Journal of pathogens*, 2016.
- Drugs.com (2019). American Society of Health-System Pharmacists.
- Duek, L., Kaufman, G., Ulman, Y., & Berdicevsky, I. (2004). The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. *Journal of Infection*, 48(2), 175-180.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2011). "Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to fructose and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 558) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006". *EFSA Journal*. 9 (6): 2223.
- El Mezouari, E., Hocar, O., Atarguine, H., Akhdari, N., Amal, S., & Moutaj, R. (2016). Tinea capitis in the military hospital Avicenna (Morocco): review of 8 years (2006-2013). *Journal de mycologie medicale*, 26(1), e1-5.
- Elavarashi, E., Kindo, A. J., & Rangarajan, S. (2017). Enzymatic and non-enzymatic virulence activities of dermatophytes on solid media. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: J Clin Diagn Res* 11, 23-25.
- El-Diasty, E. M., Ahmed, M. A., Okasha, N. A. G. W. A., Mansour, S. F., El-Dek, S. I., El-Khalek, H. M. A., & YOUSSEF, M. H. (2013). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against dermatophytic lesions of cattle. *Romanian j. biophys*, 23, 191-202.
- Ellis, D. H. (1994). Clinical mycology: The human opportunistic mycoses. *Pfizer Incorporated*. p 166.
- Ellis, D. H., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., & Bartley, R. (2007). Descriptions of medical fungi (pp. 61-167). *Adelaide: University of Adelaide*.
- Ely, J. W., Rosenfeld, S., & Seabury stone, M. A. R. Y. (2014). Diagnosis and management of tinea infections. *American family physician*, 90(10).
- Emele, F. E., & Oyeka, C. A. (2008). Tinea capitis among primary school children in Anambra state of Nigeria. *Mycoses*, 51(6), 536-541.
- Emmons, C. W., Binford, C. H., Utz, J. P., & Kown-chung, K. J. (1977). "Medical Mycology". 3rd ed. Lea and febiger, Philadelphia..pp: 508-509 .
- Emmons, C.W. , Binford ,C.H., & Vtzx ,J.P. (1974) . Medical mycology. 2nd ed. *Lea and Febiger* . Philadelphia .pp: 508-509 .

- Faggi, E., Pini, G., Campisi, E., Bertellini, C., Difonzo, E., & Mancianti, F. (2001). Application of PCR to distinguish common species of dermatophytes. *Journal of clinical microbiology*, 39(9), 3382-3385.
- Farina, C., Fazii, P., Imberti, G., Lombardi, G., Passera, M., & Andreoni, S. (2015). *Trichophyton violaceum* and *T. soudanense*: re-emerging pathogens in Italy, 2005-2013. *New Microbiologica*, 38(3), 409-415.
- Faure-Cognet, O., Fricker-Hidalgo, H., Pelloux, H., & Leccia, M. T. (2016). Superficial fungal infections in a French teaching hospital in Grenoble area: retrospective study on 5470 samples from 2001 to 2011. *Mycopathologia*, 181(1-2), 59-66.
- Feldmeyer, L., Werner, S., French, L. E., & Beer, H. D. (2010). Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *European journal of cell biology*, 89(9), 638-644.
- Fenteany, G., Standaert, R. F., Lane, W. S., Choi, S., Corey, E. J., & Schreiber, S. L. (1995). Inhibition of proteasome activities and subunit-specific amino-terminal threonine modification by lactacystin. *Science*, 268(5211), 726-731.
- Fischer, J., Ganellin, C., & Robin. (2006). *Analogue-based Drug Discovery*. John Wiley & Sons. p. 517.
- Francisco, L.M., & Cecilio, A. (2011). *Neurobiology of Depression*. CRC Press. pp. 132.
- Frey, D., Oldfield, R. J., & Bridger, R. C. (1979). *A colour atlas of pathogenic fungi*. Wolfe Medical Publications Ltd., Wolfe House, 3-5 Conway Street, London W1P 6HE.
- Fuentes, C. A. (1956). A new species of *Microsporum*. *Mycologia*, 48(4).
- Furlan, K. C., Kakizaki, P., Chartuni, J. C. N., & Valente, N. Y. S. (2017). Sycosiform tinea barbae caused by *trichophyton rubrum* and its association with autoinoculation. *Anais brasileiros de dermatologia*, 92(1), 160-161.
- Gan, D., Hines, M., Aravena, J., & Jones, B. (2019). U.S. Patent Application No. 16/046,621.
- Gao, Z. G., Ye, K., Goblyos, A., IJzerman, A. P., & Jacobson, K. A. (2008). Flexible modulation of agonist efficacy at the human A3 adenosine receptor by the imidazoquinoline allosteric enhancer LUF6000. *BMC pharmacology*, 8(1), 20.
- Gedoelst, L. (1902). *Les champignons parasites de l'homme et des animaux domestiques: Guide technique de parasitologie vegetale*. J. van In & cie.; Bruxelles, H. Lamertin. p.88.

- Gee, P., Tallon, C., Long, N., Moore, G., Boet, R., & Jackson, S. (2012). Use of recreational drug 1, 3-dimethylethylamine (DMAA) associated with cerebral hemorrhage. *Annals of emergency medicine*, 60(4), 431-434.
- Georg, L. K. (1954). The relationship between the downy and granular forms of *Trichophyton mentagrophytes*. *Journal of Investigative Dermatology*, 23(2), 123-141.
- Ghannoum, M. A., Hajjeh, R. A., Scher, R., Konnikov, N., Gupta, A. K., Summerbell, R., & Rich, P. (2000). A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 43(4), 641-648.
- Ghannoum, M.A., Mukherjee, P.K., Warshaw, E.M., Evans, S., Korman, N.J., & Tavakkol, A. (2013). Molecular analysis of dermatophytes suggests spread of infection among household members. *Cutis*. 91: 237–45.
- Ghojoghi, A., Falahati, M., Paghehm A. S., Abastabar, M., Ghasemi, Z., Ansari, S., Farahyar, S., & Roudbary, M. (2015). Molecular identification of epidemiological aspect of Dermatophytosis in Tehran, Iran. *J. Research in Molecular Medicine*, 3, 11-16.
- Glavan, N., Kastelan, M., Bosak, A., Gacanin, L., Pecanic, S., & Jonjic, N. (2014). Successful use of silver impregnated hydrofiber dressing in the treatment of kerion celsi caused by *Microsporum gypseum*. *Acta dermatovenerologica Croatica*, 21(4), 250-252.
- Gnat, S., Lagowski, D., Nowakiewicz, A., & Zieba, P. (2018). Phenotypic characterization of enzymatic activity of clinical dermatophyte isolates from animals with and without skin lesions and humans. *Journal of applied microbiology*, 125(3), 700-709.
- Gnat, S., Lagowski, D., Nowakiewicz, A., & Zieba, P. (2019). The host range of dermatophytes, it is at all possible? Phenotypic evaluation of the keratinolytic activity of *Trichophyton verrucosum* clinical isolates. *Mycoses*, 62(3), 274-283.
- Goodman, E. (2010). Historical Contributions to the Human Toxicology of Atropine: Behavioral Effects of High Doses of Atropine and Military Uses of Atropine to Produce Intoxication. *Eximdyne*. p. 120.
- Gopi, M., Dhayanithi, N. B., Devi, K. N., & Kumar, T. T. A. (2014). Marine natural product, Pyrrolo [-a] pyrazine–dione, hexahydro-(C₇H₁₀N₂O₂) of antioxidant properties from *Bacillus* species at Lakshadweep archipelago. *J. Coastal Life Med*, 2, 632-637.

- Graser, Y., Czaika, V., & Ohst, T. (2012). Diagnostic PCR of dermatophytes—an overview. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 10(10), 721-725.
- Graser, Y., De Hoog, G. S., & Kuijpers, A. F. A. (2000). Recent advances in the molecular taxonomy of dermatophytes. *Rev Iberoam Micol*, 17, 17-21.
- Graser, Y., Scott, J., & Summerbell, R. (2008). The new species concept in dermatophytes—a polyphasic approach. *Mycopathologia*, 166(5-6), 239.
- Grover, C., Arora, P., & Manchanda, V. (2012). Comparative evaluation of griseofulvin, terbinafine and fluconazole in the treatment of tinea capitis. *International journal of dermatology*, 51(4), 455-458.
- Gruby, D. (1843). Research on the cryptoganes that constitute the contagious disease of the scalp described under the name of tug tug (Mahon), Herpes tonsurans (Cazenave). *C R Acad Sci* 18: 583-585.
- Gueguen, F. (1904). Parasites Mushrooms of Man and Animals. Paris: Publishing House, 1904, p. 262.
- Guiart, J., & Grigorakis, L. (1928). La classification botanique des champignons des teignes. *Lyon med*, 141, 369.
- Hagel, J. M., Krizevski, R., Marsolais, F., Lewinsohn, E., & Facchini, P. J. (2012). Biosynthesis of amphetamine analogs in plants. *Trends in plant science*, 17(7), 404-412.
- Haggag, Y. N., Samaha, H. A., Nossair, M. A., & Mohammad, A. E. R. M. (2017). Prevalence of Dermatophytosis in some animals and Human in Behera Province, Egypt. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 53(2).
- Hainer, B. L. (2003). Dermatophyte infections. *American family physician*, 67(1), 101-110.
- Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*, 67(3), 597-607.
- Harley, J.P., & Prescott, L.M. (1996). Laboratory exercises in microbiology. 3rd ed. WCB /McGraw-Hill.
- Harmsen, D., Schwinn, A., Weig, M., Bröcker, E. B., & Heesemann, J. (1995). Phylogeny and dating of some pathogenic keratinophilic fungi using small subunit ribosomal RNA. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 33(5), 299-303.
- Harvey, A., & Stoppler, M. C. (2011). Fungal Nails (Onychomycosis, Tinea unguium).
- Havlickova, B., Czaika, V. A., & Friedrich, M. (2008). Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*, 51, 2-15.

- Hawkins, D.M., & Smidt, A.C.(2014). Superficial fungal infection in children. *Pediatr Clin* 61:443–455.
- Hawksworth , D.L.; Sutton. B.C. & Ainsworth, G.C., (1983). Ainsworth and Bisby's dictionary of Fungi. Common Wealth mycological institute, Kew.
- Hay, R. J. (2017). Tinea capitis: current status. *Mycopathologia*, 182(1-2), 87-93.
- Hayette, M. P., & Sacheli, R. (2015). Dermatophytosis, trends in epidemiology and diagnostic approach. *Current Fungal Infection Reports*, 9(3), 164-179.
- Heidrich, D., Garcia, M. R., Stopiglia, C. D. O., Magagnin, C. M., Daboit, T. C., Vettoratto, G., & Scroferneker, M. L. (2015). Dermatophytosis: a 16-year retrospective study in a metropolitan area in southern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(08), 865-871.
- HMDB. (2019). Human Metabolome Database. Wishart Research Group, University of Alberta. University of Alberta 116 St. and 85 Ave., Edmonton, AB, Canada, T6G2R3.
- Hofstetter, R., & Kreuder, J. (1985). The effect of oxedrine on the left ventricle and peripheral vascular resistance. *Arzneimittel-Forschung*, 35(12), 1844-1846.
- Hoog, G. S., & Guarro, J. (1995). Atlas of clinical fungi universital ropiran. prees. London & Spain.
- Hsu, S., Le, E. H., & Khoshevis, M. R. (2001). Differential diagnosis of annular lesions. *American family physician*, 64(2), 289-296.
- Ichhpnjani, R.L. & Bhatia, R. (1994). Microbiology for Nurses. Jay pee Brothers medical Publ. (p) LTD. 32:227-236.
- Ilkit, M., & Durdu, M. (2015). Tinea pedis: the etiology and global epidemiology of a common fungal infection. *Critical reviews in microbiology*, 41(3), 374-388.
- Islam, T. A. B., Majid, F., Ahmed, M., Afrin, S., Jhumky, T., & Ferdouse, F. (2018). Prevalence of Dermatophytic Infection and Detection of Dermatophytes by Microscopic and Culture Methods. *Journal of Enam Medical College*, 8(1), 11-15.
- James, A. T., & Martin, U. A. (1952). Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochemical Journal*, 50(5), 679.
- James, W. D., Berger, T. G., & Elston, D. M. (2006). Andrews' Diseases of the Skin Clinical Dermatology. 10 [sup] th ed. *Canada: Saunders Elsevier*, 487-98.
- Jarabran, M. C. D., González, P. D., Rodriguez, J. E., & Munoz, A. J. C. (2015). Evaluacion del perfil de sensibilidad in vitro de aislamientos clínicos de

- Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* en Santiago, Chile. *Revista iberoamericana de micología*, 32(2), 83-87.
- Jensen, J. M., Pfeiffer, S., Akaki, T., Schröder, J. M., Kleine, M., Neumann, C., & Brasch, J. (2007). Barrier function, epidermal differentiation, and human β -defensin 2 expression in *Tinea Corporis*. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(7), 1720-1727.
- Jensen, R.H., & Arendrup, M.C.(2012) Molecular diagnosis of dermatophyte infections. *Curr Opin Infect Dis*. 25:126-34.
- Jha, B. K., Murthy, S. M., & Devi, N. L. (2012). Molecular identification of dermatophytosis by polymerase chain reaction (PCR) and detection of source of infection by restricted fragment length polymorphism (RFLP). *Journal of College of Medical Sciences-Nepal*, 8(4), 7-15.
- Jochen, B., & Yvonne, G.(2005). *Trichophyton ebroyum* sp. Nov. isolated from human skin. *J. Clin. Microbial.*, 43(10): 5230-5237.
- Kadhim, M. J., Sosa, A. A., & Hameed, I. H. (2016). Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 8(6), 127-146.
- Kadhim, S. K., Al-Janabi, J. K., & Al-Hamadani, A. H. (2015). In vitro, determination of optimal conditions of growth and proteolytic activity of clinical isolates of *Trichophyton rubrum*. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 1(3), 9-19.
- Kalinowska, K. (2012). Epidemiology of Dermatomycoses in Poland over the Past Decades. *Epidemiology Insights*, 31.
- Kally, B. P. (2012). Superficial Fungal Infections. *J. American Academy of Pediatrics*, 33(4):22-37.
- Kannabiran, K. (2016). Bioactivity of Pyrrolo [1, 2-a] pyrazine-1, 4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-Extracted from *Streptomyces* sp. VITPK9 Isolated from the Salt Spring Habitat of Manipur, India. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm*, 10(04).
- Kannan, P., Janaki, C., & Selvi, G. S. (2006). Prevalence of dermatophytes and other fungal agents isolated from clinical samples. *Indian journal of medical microbiology*, 24(3), 212.
- Kano, R., Nakamura, Y., Watari, T., Watanabe, S., Takahashi, H., Tsujimoto, H., & Hasegawa, A. (1998). Molecular analysis of chitin synthase 1 (CHS1) gene sequences of *Trichophyton mentagrophytes* complex and *T. rubrum*. *Current microbiology*, 37(4), 236-239.

- Kawasaki, M., Aoki, M., Ishizaki, H., Nishio, K., Mochizuki, T., & Watanabe, S. (1992). Phylogenetic relationships of the genera *Arthroderma* and *Nannizzia* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mycopathologia*, 118(2), 95-102.
- Kechia, F. A., Kouoto, E. A., Nkoa, T., Nweze, E. I., Fokoua, D. C. M., Fosso, S., & Somo, M. R. (2014). Epidemiology of tinea capitis among school-age children in Meiganga, Cameroon. *Journal de mycologie medicale*, 24(2), 129-134.
- Kim, B. H., Ikeda, T., Park, H. S., Kim, H. J., Hyun, M. S., Kano, K., & Tatsumi, H. (1999). Electrochemical activity of an Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. *Biotechnology Techniques*, 13(7), 475-478.
- Kim, J. Y., Choe, Y. B., Ahn, K. J., & Lee, Y. W. (2011). Identification of dermatophytes using multiplex polymerase chain reaction. *Annals of dermatology*, 23(3), 304-312.
- Krebs ,C.J. (1978) . Ecology . The experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row Publisher ,New York .
- Kumar , B. (2014). Isolation and Molecular Characterization of dermatophytes by PCR. University of Mysore , India.
- Kumar , B. (2017). Clinico-Microbial identification and characterization of dermatophytes and mrsa in Jaipur. University of Jaipur Mysore, India.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).
- Kumar, R., Shukla, S. K., Pandey, A., Pandey, H., Pathak, A. & Dikshit, A.(2016). Dermatophytosis: Infection and Prevention -A Review. *Int J Pharm Sci Res*, 7(8), 18-25.
- Lafta , A.A. (2019). Taxonomical and Molecular Study of the Nematode-Trapping fungi and their antagonistic relationship with the *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas fluorescens*. Master thesis, University of Misan, Iraq. P72.
- Lakshmipathy, D. T., & Kannabiran, K. (2010). Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. *Natural Science*, 2(07), 726.
- Langeron, M., & Milochevitch, S. (1930). Morphologie des dermatophytes sur milieux naturels et milieux à base de polysaccharides. Essai de classification (Deuxieme memoire). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 8(5), 465-508.
- Leite, D. P., de Souza Amadio, J. V. R., Simoes, S. D. A. A., de Araújo, S. M., da Silva, N. M. R., Anzai, M. C., & Hahn, R. C. (2014). Dermatophytosis in

- military in the central-west region of Brazil: literature review. *Mycopathologia*, 177(1-2), 65-74.
- Li, J., Hyde, K. D., & Zhang, K. Q. (2014). Methodology for Studying Nematophagous Fungi. In *Nematode-Trapping Fungi* (pp. 13-40). Springer, Dordrecht.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R., & Pedersen, J. (2000). Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *Journal of medical microbiology*, 49(6), 493-497.
- Liu, T., Xu, X., Leng, W., Xue, Y., Dong, J., & Jin, Q. (2014). Analysis of gene expression changes in *Trichophyton rubrum* after skin interaction. *Journal of medical microbiology*, 63(Pt 5), 642.
- Mahmoud, W.R.,(2000).Survey of dermal fungi infection in Babelon governorate . Master thesis .College of sciences , University of Babelon.
- Malhotra, S., Malhotra, S. K., & Aggarwal, Y. (2015). Tinea faciei caused by *Trichophyton mentagrophytes* in a 20-day-old neonate. *Indian dermatology online journal*, 6(Suppl 1), S 43.
- Malik, V. S., & Hu, F. B. (2015). Fructose and cardiometabolic health: what the evidence from sugar-sweetened beverages tells us. *Journal of the American College of Cardiology*, 66(14), 1615-1624.
- Marais, A., & Osuch, E. (2017). Common cutaneous dermatophyte infections of the skin and nails. *South African Family Practice*, 59(3), 33-40.
- Martin, A. G., & Kobayashi, G. S. (1993). Fungal diseases with cutaneous involvement. *Dermatology in general medicine*. Ed. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K., Freedberg IM, Austen KF New York, McGraw-Hill. Inc, 2421-2451.
- Matsumoto, T. (1996). Fungal diseases in dermatology. *Principles and practice of clinical mycology*, 103-129.
- Maximov, P.Y., Lee, T.M., & Jordan, V.C. (2013). The discovery and development of selective estrogen receptor modulators (SERMs) for clinical practice. *Current Clinical Pharmacology*. 8 (2): 135–155.
- McGinnis, M.R., (1985). Current topics in medical mycology. Vol. 1. Speriner veraly. New York. USA. P:359.
- Milne, L. J. R. ,(1996). Fungi. In : Practical Medical Microbiology , by Collee , J.G. ; Fraser, A. G. ; Marmion, B. P. and Simmons, A. (eds). Longman Singapore Publishers Ltd, pp. 695 – 717.
- Mirkin, S., & Pickar, J. H. (2015). Selective estrogen receptor modulators (SERMs): a review of clinical data. *Maturitas*, 80(1), 52-57.

- Mitchell, T. G., Sandin, R. L., Bowman, B. H., Meyer, W., & Merz, W. G. (1994). Molecular mycology: DNA probes and applications of PCR technology. *Journal of medical and veterinary mycology*, 32(sup1), 351-366.
- Miwatashi, S., Arikawa, Y., Matsumoto, T., Uga, K., Kanzaki, N., Imai, Y. N., & Ohkawa, S. (2008). Synthesis and biological activities of 4-phenyl-5-pyridyl-1, 3-thiazole derivatives as selective adenosine A3 antagonists. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(8), 1126-1137.
- Mohammed, G. J., Kadhim, M. J., & Hussein, H. M. (2016). Characterization of bioactive chemical compounds from *Aspergillus terreus* and evaluation of antibacterial and antifungal activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(6), 889-905.
- Mohammed, S. J., Noaimi, A. A., Sharquie, K. E., Karhoot, J. M., Jebur, M. S., Abood, J. R., & Al-Hamadani, A. (2015). A Survey Of Dermatophytes Isolated From Iraqi Patients In Baghdad City. *AL-Qadisiyah medicall journal*, 11(19), 10-15.
- Monod, M., Jaccoud, S., Zaugg, C., Léchenne, B., Baudraz, F., & Panizzon, R. (2002). Survey of dermatophyte infections in the Lausanne area (Switzerland). *Dermatology*, 205(2), 201-203.
- Moriarty, B., Hay, R., & Morris-Jones, R. (2012). The diagnosis and management of tinea. *BMJ*. 345(7865):37-42.
- Motawi, T. M., Bustanji, Y., EL-Maraghy, S. A., Taha, M. O., & Al Ghussein, M. A. (2013). Naproxen and cromolyn as new glycogen synthase kinase 3 β inhibitors for amelioration of diabetes and obesity: an investigation by docking simulation and subsequent in vitro/in vivo biochemical evaluation. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 27(9), 425-436.
- Muhsin, T. M., Aubaid, A. H., & Al-Duboon, A. H. (1997). Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses*, 40(11-12), 465-469.
- Murray, R.P. , Baron , E. , Pfaller , A.M. , Tenover , C.F., & Tenover , I. V. (1999). Manual of Clinical Microbiology .Vol.1 , 7th (edn).American society Microbiology.
- Nagoba, B. S., Selkar, S. P., Wadher, B. J., & Gandhi, R. C. (2013). Acetic acid treatment of pseudomonal wound infections—a review. *Journal of infection and public health*, 6(6), 410-415.
- Naik , P.S , Mangala , G.K., & Lava , R. (2019). Spectrum of Dermatophytic Fungal Infection in Tertiary Care Hospital, Davanagere. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 8(3): 165-171.

- Nasr, A., Vyzantiadis, T. A., Patsatsi, A., Louka, A., Ioakimidou, A., Zachrou, E., & Sotiriadis, D. (2016). Epidemiology of superficial mycoses in Northern Greece: a 4-year study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 30(5), 837-839.
- Nenoff, P., Krüger, C., Ginter-Hanselmayer, G., & Tietz, H. J. (2014). Mycology— an update. Part 1: dermatomycoses: causative agents, epidemiology and pathogenesis. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 12(3), 188-210.
- Nenoff, P., Overbeck, C., Uhrlaß, S., Kruger, C., & Graser, Y. (2017). Tinea corporis durch den seltenen geophilen Dermatophyten *Microsporum praecox*. *Der Hautarzt*, 68(5), 396-402.
- Nobre, G. & Veigas, M.P. (1972). Lipolytic activity of dermatophytes. *Mycopathol: Mycol. Appl.* 46:319-340.
- Norris, H. A., Elewski, B. E., & Ghannoum, M. A. (1999). Optimal growth conditions for the determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of a microdilution method. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 40(6), S9-S13.
- North, M. (1982). Comparative biochemistry of the proteins eukaryotic microorganism. *Mycrobiol. Rev.* 46:308-340.
- Nussipova, Y., Markabayeva, A., Gianfaldoni, S., Tchernev, G., Wollina, U., Lotti, J., & Lotti, T. (2017). Clinical and Epidemiological Features of Dermatophyte Infections in Almaty, Kazakhstan. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 5(4), 409.
- Nweze, E. I. (2010). Dermatophytosis in Western Africa: a review. *Pak J Biol Sci*, 13(13), 649-56.
- Nweze, E. I., & Eke, I. (2016). Dermatophytosis in northern Africa. *Mycoses*, 59(3), 137-144.
- Odds, F. C. (1991). Potential for penetration of passive barriers to fungal invasion in humans. In *The fungal spore and disease initiation in plants and animals* (pp. 287-295). Springer, Boston, MA.
- Ozkutuk, A., Ergon, C., & Yulug, N. (2007). Species distribution and antifungal susceptibilities of dermatophytes during a one year period at a university hospital in Turkey. *Mycoses*, 50(2), 125-129.
- Padhye, A.A., & Summerbell, R.C. (2005). The dermatophytes. Medical Mycology. 10th ed. *American Society for Microbiology*, 22-34.
- Pal, M. (2017). Dermatophytosis in an Adult Cattle due to *Trichophyton verrucosum*. *Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science*, 1(1), 1-3.

- Parameswari, K. (2018). Clinico-Mycological study of dermatophytosis in and around Kakinada. *International Journal of Medical and Dental Sciences*, 4(2), 828-833.
- Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*, 20(1), 133-163.
- Price, M. F., Wilkinson, I. D., & Gentry, L. O. (1982). Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 20(1), 7-14.
- Priyam, B., Bandana, M., & Swetalona, P.(2019). Prevalence of dermatophytic infections including antifungal susceptibility pattern of dermatophytes in a tertiary care hospital. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 7(3).
- Putignani, L., D'Arezzo, S., Paglia, M. G., & Visca, P. (2010). DNA-based detection of human pathogenic fungi: dermatophytes, opportunists, and causative agents of deep mycoses. In *Molecular identification of Fungi*, Springer, Berlin, Heidelberg. (pp. 357-415).
- Raju, E. V. N., & Divakar, G. (2013). Production of pectinase by using *Bacillus circulans* isolated from dump yards of vegetable wastes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 2615.
- Rameshwari, T., Pragya, K., Harish, K., & Singh, P. (2016). Tinea cruris and Tinea genitalis due to *Trichophyton interdigitale* in and around Muzaffarnagar (Western UP), India: Possibly an Outbreak. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(9), 468-473.
- Ran, X., Zhuang, K., & Ran, Y. (2015). Tinea corporis on the stump leg with *Trichophyton rubrum* infection. *Medical mycology case reports*, 9, 31-33.
- Rapini, R. P., Bologna, J. L., & Jorizzo, J. L. (2007). *Dermatology: 2-Volume Set*. St. Louis, Mosby.
- Rassai, S., Feily, A., Derakhshanmehr, F., & Sina, N. (2011). Some epidemiological aspects of dermatophyte infections in Southwest Iran. *Acta Dermatovenereologica Croatica*, 19(1), 13-15.
- Reddy, K. R. (2017). Fungal Infections (Mycoses): Dermatophytoses (Tinea, Ringworm). *Journal of Gandaki Medical College-Nepal*, 10(1).
- Refai, M., & El-Yazid, H. A. (2013). Monograph on dermatophytes. *Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University*, 75.
- Rezaei-Matehkolaei, A., Makimura, K., de Hoog, S., Shidfar, M. R., Zaini, F., Eshraghian, M., & Mirhendi, H. (2013). Molecular epidemiology of

- dermatophytosis in Tehran, Iran, a clinical and microbial survey. *Medical mycology*, 51(2), 203-207.
- Rezaei-Matehkolaei, A., Rafiei, A., Makimura, K., Graser, Y., Gharghani, M., & Sadeghi-Nejad, B. (2016). Epidemiological aspects of dermatophytosis in Khuzestan, southwestern Iran, an update. *Mycopathologia*, 181(7-8), 547-553.
- Rippon, J. W. & Varadi, D. P. (1968) The elastase of pathogenic fungi and actinomycetes. 3. *Invest. Dermatof.* 50,54-58.
- Rippon, J. W. (1982). *Medical mycology; the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. Eastbourne, UK; WB Saunders Company.
- Rippon, J. W. & Loincz, A. L. (1964) Collagenase activity of *Streptomyces (.Nocardia) madurae*. 3. *Invest. Dermatol.* 43, 483-486.
- Roberts, S.O.B. & Mackenzie, D.W.R. (1986). Mycology. In: Textbook of dermatology By Rook, A.J.; Wilkinson, D.S.; Ebling, F.J.G.; Champion, R.H. and Burton, J.L. (eds). Vol.2, 4th ed., Blackwell Scientific Publication, London, pp. 885- 896.
- Rogge, G., Jones, D., Hubert, G. W., Lin, Y., & Kuhar, M. J. (2008). CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(10), 747.
- Rossaneis, M. A., Haddad, M. D. C. F. L., Mathias, T. A. D. F., & Marcon, S. S. (2016). Differences in foot self-care and lifestyle between men and women with diabetes mellitus. *Revista latino-americana de enfermagem*, 24.
- Roze, L. V., Beaudry, R. M., & Linz, J. E. (2012). Analysis of volatile compounds emitted by filamentous fungi using solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry. In *Fungal Secondary Metabolism* (pp. 133-142). Humana Press, Totowa, NJ.
- Roze, L. V., Chanda, A., Laivenieks, M., Beaudry, R. M., Artymovich, K. A., Koptina, A. V., & Linz, J. E. (2010). Volatile profiling reveals intracellular metabolic changes in *Aspergillus parasiticus*: veA regulates branched chain amino acid and ethanol metabolism. *BMC biochemistry*, 11(1), 33.
- Russell, A., Banes, A., Berlin, H., Fink, G. D., & Watts, S. W. (2002). 5-Hydroxytryptamine_{2B} Receptor Function Is Enhanced in the N ω -Nitro-l-arginine Hypertensive Rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303(1), 179-187.
- Rusyn, I., & Corton, J. C. (2012). Mechanistic considerations for human relevance of cancer hazard of di (2-ethylhexyl) phthalate. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 750(2), 141-158.

- Sabouraud, R. (1911). Trichophytic eruption caused by the *Trichophyton rubrum* of Castellani (Epidermophyton purpureum, Bang). *Brit. Jour. Dermat*, 23, 389.
- Sahoo, A. K., & Mahajan, R. (2016). Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian dermatology online journal*, 7(2), 77.
- Sambrook, H. C. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, NY.
- Sarika, G. U. P. T. A., Purva, A., Rahul, R., & Saksham, G. U. P. T. A. (2014). Prevalence of dermatophytic infection and determining sensitivity of diagnostic procedures. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(3), 35-38.
- Sciortino, J.r. C. V. (2017). *Atlas of clinically important fungi*. John Wiley & Sons.
- Seck, M. C., Ndiaye, D., Diongue, K., Ndiaye, M., Badiane, A. S., Sow, D., & Ndir, O. (2014). Mycological profile of onychomycosis in Dakar (Senegal). *Journal de mycologie medicale*, 24(2), 124-128.
- Seebacher, C., Bouchara, J. P., & Mignon, B. (2008). Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*, 166(5-6), 335-352.
- Seebacher, W., Wolking, V., Faist, J., Kaiser, M., Brun, R., Saf, R., & Kalia, Y. (2015). Synthesis of 3-azabicyclo [3.2. 2] nonanes and their antiprotozoal activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 25(7), 1390-1393.
- Shalaby, M. F. M., El-din, A. N., & El-Hamd, M. A. (2016). Isolation, identification, and in vitro antifungal susceptibility testing of dermatophytes from clinical samples at Sohag University Hospital in Egypt. *Electronic physician*, 8(6), 2557.
- Sharma, A., Chandra, S., & Sharma, M. (2012). Difference in keratinase activity of dermatophytes at different environmental conditions is an attribute of adaptation to parasitism. *Mycoses*, 55(5), 410-415.
- Sharma, M. (2008). Evaluation of some essential oils against fungi causing superficial mycoses and other infections in human beings. Ph.D. Thesis. University of Rajasthan, Jaipur.
- Shemer, A., Plotnik, I. B., Davidovici, B., Grunwald, M. H., Magun, R., & Amichai, B. (2013). Treatment of tinea capitis–griseofulvin versus fluconazole—a comparative study. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 11(8), 737-741.
- Sierra, G. (1957) A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the component between cells and fatty substrates. *Ned. 3. Hyg.* 23, 15-22.

- Sigurgeirsson, B., & Baran, R. (2014). The prevalence of onychomycosis in the global population—a literature study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28(11), 1480-1491.
- Silva-Rocha, W. P., De Azevedo, M. F., & Chaves, G. M. (2017). Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast Brazil. *Journal de mycologie medicale*, 27(1), 57-64.
- Silveira-Gomes, F., Oliveira, E. F. D., Nepomuceno, L. B., Pimentel, R. F., Marques-da-Silva, S. H., & Mesquita-da-Costa, M. (2013). Dermatophytosis diagnosed at the Evandro chagas institute, Pará, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 443-446.
- Simmons, E. G. (2007). *Alternaria: An Identification Manual* (No. PA 632.488 S56.).
- Simpanya, M. F. (2000). Dermatophytes: their taxonomy, ecology and pathogenicity. *Rev Iberoam Micol*, 17, 1-12.
- Singh, T. N., Zamzachin, G., & Singh, N. B. (2016). Recognition of dermatophytes by dermatophyte test medium. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(10), 1125-1129.
- Smith, J. M. B., & Marples, M. J. (1964). *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 3(1), 1-10.
- Stahl, S. M. (2017). *Prescriber's Guide: Stahl's Essential Psychopharmacology*. Cambridge University Press.
- Stoytcheva, M., Montero, G., Zlatev, R., A Leon, J., & Gochev, V. (2012). Analytical methods for lipases activity determination: A review. *Current Analytical Chemistry*, 8(3), 400-407.
- Symoens, F., Jousson, O., Planard, C., Fratti, M., Staib, P., Mignon, B., & Monod, M. (2011). Molecular analysis and mating behaviour of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(3), 260-266.
- Taha, M., Elfangary, M., Essa, S., & Younes, A. (2017). Species identification of dermatophytes isolated from human superficial fungal infections by conventional and molecular methods. *Journal of the Egyptian Women's Dermatologic Society*, 14(2), 76-84.
- Tamura K. and Kumar S. (2002). Evolutionary distance estimation under heterogeneous substitution pattern among lineages *Molecular Biology and Evolution* 19:1727-1736.
- Thomas, J., Jacobson, G. A., Narkowicz, C. K., Peterson, G. M., Burnet, H., & Sharpe, C. (2010). Toenail onychomycosis: an important global disease burden. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 35(5), 497-519.

- Uneke, C. J., Ngwu, B. A., & Egemba, O. (2006). Tinea capitis and Pityriasis versicolor infections among school children in the South-Eastern Nigeria: the Public Health implications. *The Internet Journal of Dermatology*, 4(2), 1-7.
- Upadhyay, V., Kumar, A., Singh, A. K., & Pandey, J. (2019). Epidemiological characterization of dermatophytes at a tertiary care hospital in Eastern Uttar Pradesh, India. *Current medical mycology*, 5(1), 1.
- Vanbreuseghem, R. (1952). Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. *Ann Soc Belge Med Trop*, 32(2), 173-8.
- Vermout, S., Tabart, J., Baldo, A., Mathy, A., Losson, B., & Mignon, B. (2008). Pathogenesis of Dermatophytosis. *Mycopathologia* 166, 267-275.
- Veverka, M., Dubaj, T., Gallovič, J., Jorík, V., Veverkova, E., Danihelová, M., & Simon, P. (2015). Cocystals of quercetin: synthesis, characterization, and screening of biological activity. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 146(1), 99-109.
- Webster, J., & Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Cambridge University Press.
- Weitzman, I., & Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clinical microbiology reviews*, 8(2), 240-259.
- Wellingtonhausen, N., Wirths, B., Franz, A. R., Karolyi, L., Marre, R., & Reischl, U. (2004). Algorithm for the identification of bacterial pathogens in positive blood cultures by real-time LightCycler polymerase chain reaction (PCR) with sequence-specific probes. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 48(4), 229-241.
- White, D. C., Geyer, R., Peacock, A. D., Hedrick, D. B., Koenigsberg, S. S., Sung, Y., ... & Löffler, F. E. (2005). Phospholipid furan fatty acids and ubiquinone-8: lipid biomarkers that may protect *Dehalococcoides* strains from free radicals. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12), 8426-8433.
- WHO (2015). 19th Model List of Essential Medicines.
- Wiegand, C., Mugisha, P., Mulyowa, G. K., Elsner, P., Hipler, U. C., Graser, Y., & Nenoff, P. (2016). Identification of the causative dermatophyte of tinea capitis in children attending Mbarara Regional Referral Hospital in Uganda by PCR-ELISA and comparison with conventional mycological diagnostic methods. *Medical mycology*, 55(6), 660-668.
- Yao, Y., & Zhang, J. J. (2019). *U.S. Patent Application No. 16/153,893*.
- Zarrin, M., Salehi, Z., & Mahmoudabadi, A. Z. (2015). Identification of dermatophytes by arbitrarily primed PCR. *Asian Biomedicine*, 9(3), 291-298.
- Ziolkowska, G., Nowakiewicz, A., Gnat, S., Troscianczyk, A., Zieba, P., & Majer Dziedzic, B. (2015). Molecular identification and classification of

Trichophyton mentagrophytes complex strains isolated from humans and selected animal species. *Mycoses*, 58(3), 119-126.

Zuber, T. J., & Baddan, K. (2001). Superficial fungal infection of the skin . Post grad. Med., 109(1): 27–32.

Zur, E.m. (2001). Isolation, Structure determination and biological activity assessment of secondary metabolites from marine – derived fungi. Ph.D. thesis. Von cludia Osterhage.186 pp.

الملاحق

Appendix

Genomic DNA Mini Kit (Plant)

For research use only

Sample: up to 100 mg of fresh plant tissue or up to 25 mg of dry plant tissue

Yield: 3-5 µg (100 mg *Arabidopsis thaliana* leaf), 20-25 µg (100 mg *Nicotiana tabacum* leaf)

Format: spin column

Time: within 30 minutes

Elution volume: 30-200 µl

Storage: dry at room temperature (15-25°C)

Geneaid



Introduction

The Genomic DNA Mini Kit (Plant) provides a quick and easy method for purifying total DNA (including genomic DNA, mitochondrial DNA and chloroplast DNA) from various plant species. Homogenized samples are treated with RNase A then filtered to remove cell debris and salt precipitates. In the presence of the binding buffer, coupled with chaotropic salt, genomic DNA in the lysate binds to the glass fiber matrix of the spin column. Contaminants are removed using a Wash Buffer (containing ethanol) and the purified genomic DNA is eluted by a low salt Elution Buffer, TE or water. The procedure does not require DNA phenol extraction or alcohol precipitation, and can be completed in less than 30 minutes. The purified genomic DNA is ready for use in PCR, Real-time PCR, Southern Blotting and RFLP.

Quality Control

The quality of the Genomic DNA Mini Kit (Plant) is tested on a lot-to-lot basis according to Geneaid's ISO-certified quality management system. Genomic DNA is isolated from 50 mg young leaf samples. More than 10 µg of genomic DNA is quantified with a spectrophotometer and analyzed by electrophoresis.

Kit Contents

Component	GP004	GP100
GP1 Buffer	2 ml	50 ml
GPX1 Buffer	2 ml	50 ml
GP2 Buffer	1 ml	15 ml
GP3 Buffer* (Add Isopropanol)	1.5 ml (3 ml)	30 ml (60 ml)
W1 Buffer	2 ml	45 ml
Wash Buffer** (Add Ethanol)	1 ml (4 ml)	25 ml (100 ml)
Elution Buffer	1 ml	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	25 µl	550 µl
Filter Columns	4	100
GD Columns	4	100
2 ml Collection Tubes	8	200

Order Information

Product	Package Size	Catalogue Number
Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell)	100/300 preps	GB100/300
Genomic DNA Maxi Kit (Blood/Cultured Cell)	10/25 preps	GDM10/25
Genomic DNA Mini Kit (Tissue)	50/100/300 preps	GT050/100/300
gSYNC™ DNA Extraction Kit	50/100/300 preps	GS050/100/300
Genomic DNA Mini Kit (Plant)	100 preps	GP100
Genomic DNA Maxi Kit (Plant)	10/25 preps	GPM010/25
GENEzol™ DNA Reagent Plant	100/200 rxns	GR100/200
Presto™ Mini gDNA Yeast Kit	100/300 preps	GBY100/300
Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit	100/300 preps	GBB100/101/300/301
Geneius™ Micro DNA Extraction Kit	100/300 preps	GMB100/300
Presto™ Buccal Swab gDNA Extraction Kit	100/300 preps	GSK100/300
Presto™ 96 Well Blood gDNA Extraction Kit	4/10 x 96 preps	96GBP04/10
Presto™ 96 Well Plant gDNA Extraction Kit	4/10 x 96 preps	96GPP04/10

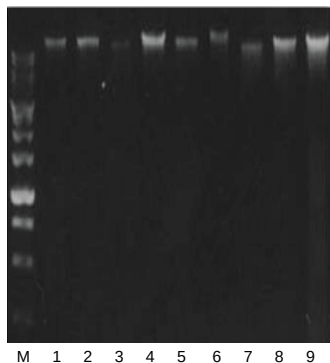
*Add isopropanol (see the bottle label for volume) to the GP3 Buffer immediately prior to initial use

**Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to the Wash Buffer prior to initial use

Caution

The components contain irritants. During operation, always wear a lab coat, disposable gloves, and protective goggles.

Genomic DNA Mini Kit (Plant) Functional Test Data



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Figure 1. Genomic DNA was extracted from a variety of 100 mg plant species using the Genomic DNA Mini Kit (Plant). A 3 µl aliquot from each 200 µl eluate was analyzed by electrophoresis on a 1% agarose gel.

M = Geneaid 1 Kb DNA ladder

1. *Cinnamomum camphora* (Camphor tree)
2. *Pisum sativum* (Pea sprout)
3. *Arabidopsis thaliana* (Thale cress)
4. *Oryza sativa* (Rice)
5. *Ipomoea batatas* (Sweet potato vine)
6. *Rhizoma dioscoreae* (Chinese yam)
7. *Populus tremula* (Aspen)
8. *Flammulina velutipes* (Mushroom)
9. *Oxalis corniculatus* (Clover)



Genomic DNA Mini Kit (Plant) Protocol

Various plant species contain different metabolites such as polysaccharides, polyphenols, and proteins. The standard protocol uses GP1 Buffer for lysis of most common plant species. Alternatively, GPX1 Buffer is provided with the kit to ensure efficient cell lysis of plant species with high polysaccharide content.

IMPORTANT BEFORE USE

- Add isopropanol (see the bottle label for volume) to the GP3 Buffer immediately prior to initial use
- Add absolute ethanol (see the bottle label for volume) to the Wash Buffer prior to initial use
- Additional Requirements: microcentrifuge tubes, isopropanol, absolute ethanol

Step 1 Tissue Dissociation	• Cut off 50 mg (up to 100 mg) of fresh or frozen plant tissue or 10 mg (up to 25 mg) of dry sample. • Freeze the sample with liquid nitrogen. • Grind the sample to a fine powder then transfer it to a 1.5 ml microcentrifuge tube. NOTE: Some plant samples can be ground sufficiently in the absence of liquid nitrogen.
Step 2 Lysis	NOTE: Mix GP1 Buffer or GPX1 Buffer and RNase A immediately prior to use. • Add 400 µl of GP1 Buffer or GPX1 Buffer and 5 µl of RNase A into the sample tube and mix by vortex. • Incubate at 60°C for 10 minutes. During incubation, invert the tube every 5 minutes. At this time, pre-heat the required Elution Buffer (200 µl per sample) to 60°C (for Step 5 DNA Elution). • Add 100 µl of GP2 Buffer and mix by vortex then incubate on ice for 3 minutes. • Place a Filter Column in a 2 ml Collection Tube then transfer the mixture to the Filter Column. • Centrifuge for 1 minute at 1,000 x g then discard the Filter Column. • Carefully transfer the supernatant from the 2 ml collection tube to a new 1.5 ml microcentrifuge tube.
Step 3 DNA Binding	• Add a 1.5 volume of GP3 Buffer (make sure isopropanol was added) then vortex immediately for 5 seconds. E.g. Add 750 µl of GP3 Buffer to 500 µl of lysate. NOTE: If precipitate appears, break it up as much as possible with a pipette. • Place a GD Column in a 2 ml Collection Tube. • Transfer 700 µl of mixture (and any remaining precipitate) to the GD Column. • Centrifuge at 14-16,000 x g for 2 minutes. • Discard the flow-through then place the GD Column back in the 2 ml Collection Tube. • Add the remaining mixture to the GD Column then centrifuge at 14-16,000 x g for 2 minutes. • Discard the flow-through then place the GD Column back in the 2 ml Collection Tube.
Step 4 Wash	• Add 400 µl of W1 Buffer to the GD Column then centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds. • Discard the flow-through then place the GD Column back in the 2 ml Collection Tube. • Add 600 µl of Wash Buffer (make sure ethanol was added) to the GD Column. • Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds. • Discard the flow-through then place the GD Column back in the 2 ml Collection Tube. • Centrifuge for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix. Optional Residual Pigment Removal Step If pigments remain on the column, perform this optional step. • Following Wash Buffer addition, add 400 µl of absolute ethanol to the GD Column. • Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds. • Discard the flow-through then place the GD Column back in the 2 ml Collection Tube. • Centrifuge for 3 minutes at 14-16,000 x g to dry the column matrix.
Step 5 DNA Elution	Standard elution volume is 100 µl. If less sample is to be used, reduce the elution volume (30-50 µl) to increase DNA concentration. If higher DNA yield is required, repeat the DNA Elution Step to increase DNA recovery and the total elution volume to approximately 200 µl. • Transfer the dried GD Column to a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. • Add 100 µl of pre-heated Elution Buffer or TE to the center of the column matrix. • Let stand for 3-5 minutes to ensure the Elution Buffer or TE is completely absorbed. • Centrifuge at 14-16,000 x g for 30 seconds to elute the purified DNA.

Troubleshooting

Problem	Possible Reasons/Solution
Column Clogged	Too much sample was used • Reduce the sample volume or separate it into multiple tubes.
Low Yield	Precipitate was formed at the DNA Binding step • Reduce the sample material. • Following GP3 Buffer addition, break up any precipitate as much as possible prior to loading GD Column. Incorrect DNA Elution Step • Ensure that the Elution Buffer or TE is added to the center of the GD Column matrix and is absorbed completely.
Eluted DNA does not perform well in downstream applications	Incomplete DNA Elution • Elute twice to increase yield. Residual ethanol contamination • Following the Wash Step, dry the GD Column with additional centrifugation at 14-16,000 x g for 5 minutes or incubate at 60°C for 5 minutes.

ملحق 1: استخلاص الـ DNA

ملحق 2 : نتائج GC-MS

1- *M.audouinii*

Compound name	Area %	At(min)	Peak
2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	19.40	2.769	1
Decane	1.48	4.888	2
Dodecane	1.70	9.306	3
alpha.-D-Glucose	4.23	20.938	4
1-Propanamine, N1-methyl-2-methoxy	13.07	21.235	5
3-Azabicyclo[3.2.2]nonane	4.45	21.453	6
1-Propanamine, N1-methyl-2-methoxy	2.27	21.987	7
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione hexahydro-	9.49	22.379	8
Ethyl propyl dimethylphosphorami	3.71	26.167	9
2-Butanamine, 3,3-dimethyl-	1.81	30.322	10
Methylpent-4-enylamine	1.57	30.665	11
2-Hexanamine, 5-methyl-	3.09	33.171	12
Cyanoacetylurea	2.62	33.351	13
3-Azabicyclo[3.2.2]nonane	12.44	34.117	14
1,5,6,7-Tetramethylbicyclo[3.2.0]hept-6-en-3-ylideneemcarbazine	8.73	34.235	15
1-Propanol, 2-amino-, (+/-)-	0.92	34.370	16
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	7.21	35.348	17
Octodrine	1.80	36.047	18

2- *T.interdigitale*

Compound name	Area %	At(min)	Peak
2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	4.22	2.719	1
2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	14.27	2.765	2
Tetradecane	0.83	4.890	3
Dodecane	0.94	9.304	4
Tetradecane	0.74	14.314	5
4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-	5.39	15.141	6
3-Chloro-N-methylpropylamine	0.45	19.813	7
Fructose	1.30	20.842	8
3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	1.95	21.459	9
3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	2.00	21.997	10
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-	6.62	22.381	11
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	0.94	25.981	12
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	2.97	26.169	13
2-Hydrazino-4-methyl-6-methylthiopyrimidine	1.73	30.338	14
2-Butanamine, 3,3-dimethyl-	2.14	30.432	15
Urea, 1-ethyl-3-(propylsulfonyl)-2-thio-	1.48	30.671	16
Cyclopentanone, dimethylhydrazone	6.23	33.176	17
2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy-	8.22	33.362	18
Cyanoacetylurea	0.53	33.564	19
N-Desmethylpentadol	1.03	33.958	20

[1,2,4]Oxadiazole, 5-(4-fluorophenyl)-3-(thiophen-2-yl)-	13.47	34.124	21
[1,2,4]Oxadiazole, 5-(4-fluorophenyl)-3-(thiophen-2-yl)-	12.11	34.240	22
Cyclohexanecarboxaldehyde, 3,3-dimethyl-5-oxo-	9.44	35.357	23
R-(-)-Cyclohexylethylamine	0.99	36.045	24

3 - *T.rubrum*

Compound name	Area %	At(min)	Peak
Acetic acid, dichloro-, methyl ester	0.17	2.743	1
3,4-Furandiol, tetrahydro-, cis-	0.11	2.801	2
Decane	0.17	4.887	3
2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	0.32	8.967	4
Dodecane	0.26	9.303	5
5-APB	0.29	10.925	6
2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-	0.09	10.967	7
Benzaldehyde, 3-nitro-	1.03	12.830	8
4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-	48.55	15.404	9
4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-	0.25	15.898	10
4H-Pyran-4-one, 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-	0.14	16.024	11
D-Galactonic acid, .gamma.-lactone	0.48	21.071	12
1-Propanamine, N1-methyl-2-methoxy	0.26	21.108	13
Heptanal	0.60	21.505	14
Aziridine, 2,3-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, cis-	0.54	22.041	15
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-	3.16	22.436	16
3-Azabicyclo[3.2.2]nonane	0.24	23.709	17
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	0.26	25.991	18
5,10-Diethoxy-2,3,7,8-tetrahydro-1H,6H-dipyrrolo[1,2-a:1',2'-d]pyrazine	0.98	26.184	19
Chloramphenicol	25.00	29.380	20
PMA @P244	0.48	29.749	21
Naproxen-M -CH2O2	0.91	30.374	22
N-acetyl-2-fluoroamphetamine	1.02	30.475	23
2H-Azepin-2-one, hexahydro-7-methyl-	0.87	30.709	24
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-	0.45	33.205	25
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	0.24	33.959	26
2-Furoic acid, TMS derivative	3.53	34.125	27
Furane-2-carboxylic acid, 5-(2,5-dimethylphenoxyethyl)-	5.46	34.245	28
Benzeneethanamine, 4-chloro-.alpha.-methyl-	0.43	34.853	29
Cyanoacetylurea	1.65	35.358	30
Tocainide	0.46	35.763	31
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	1.14	35.928	32
Methylpent-4-enylamine	0.29	36.045	33
Amphetamine	0.28	37.082	34
dl-Alanyl-dl-phenylalanine	-0.08	37.838	35

4 -*T.erinace*

Compound name	Area %	At(min)	Peak
Acetic acid, dichloro-, methyl ester	0.42	2.745	1
Urea, N,N-dimethyl-	0.25	2.804	2
Decane	0.22	4.887	3
Hexanal	0.53	5.405	4
Propanal, (1-methylethyl)hydrazine	-0.08	8.955	5
2-Pyrrolidinone, 1-methyl-	0.34	9.305	6
N-(3-Methylaminopropyl)-N-methylformamide	1.42	10.968	7
Azetidin-2-one 3,3-dimethyl-4-(1-aminoethyl)-	0.78	11.113	8
Benzaldehyde, 4-nitro-	2.07	12.828	9
Benzenethanol, 4-hydroxy-	0.65	14.890	10
Benzenepropanoic acid, 4-hydroxy-	0.60	19.813	11
3,3'-Bis(1,2,4-oxadiazolyl)-5,5'-diamine	1.33	21.476	12
3-Azabicyclo[3.2.2]nonane	0.92	22.014	13
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-	4.35	22.410	14
6H-Pyrazolo[1,2-a][1,2,4,5]tetrazine, hexahydro-2,3-dimethyl-	0.60	22.537	15
2-Thiophenecarboxylic acid, 5-(1,1-dimethylethoxy)-	0.50	23.698	16
l-Alanine, N-(cyclohexylcarbonyl)-, heptadecyl ester	0.40	24.200	17
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	0.74	25.987	18
Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	2.27	26.175	19
Methylpent-4-enylamine	0.42	26.581	20
Diisopropylamine	1.16	30.383	21
2,4,6,(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione, 5-acetyl-	1.53	30.494	22
Urea, 1-ethyl-3-(propylsulfonyl)-2-thio-	0.57	30.688	23
Cyanoacetylurea	0.47	32.555	24
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	0.71	32.758	25
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	1.06	33.205	26
2H-Azepin-2-one, hexahydro-1-methyl-	0.73	33.961	27
3-Methoxy-2(1H)-pyridone	22.27	34.146	28
Caparratriene	33.06	34.268	29
N-Methyl-2-phenyl-1-propylamine	0.75	34.861	30
Cyanoacetylurea	0.83	35.252	31
Cyclohexanecarboxaldehyde, 3,3-dimethyl-5-oxo-	10.31	35.382	32
Cyanoacetylurea	0.83	35.769	33
Cyclohexanecarboxaldehyde, 3,3-dimethyl-5-oxo-	3.67	35.961	34
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	1.86	36.723	35
Amphetamine	0.88	37.106	36
Benzenethanamine, 4-methoxy-.alpha.-methyl-	0.57	37.860	37

Abstract

The study aimed to identify the Dermatophytes that affect infected patients Who are reviewing Al-Sadr Teaching Hospital for the period from December 2018 to May 2019.

Dermatophytes were diagnosed in the traditional way through phenotypic examinations of isolated dermatophyte colonies as well as the study of microscopic traits by observing the shapes of spores, their dimensions and the shape of Conidiophore.

The results of phenotypic examinations of isolated dermatophytes showed that they belonged to the *Epidermophyton* , *Microsporum* and *Trichophyton* genera and recorded 12 species belonging to these three genera, namely *E. floccosum*, *M. audouinii*, *M. canis* var.*equinum*, *M. canis* var.*distortum*, *M. nanum*, *M. persicolor*, *T. ajelloi*, *T. equinum*, *T. erinacei*, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* and it was found that the male infection rate was higher than that of females.

The results showed that *T. interdigitale* is the most common infection for individuals who have been examined, and Tinea corporis is the most common type of infection. On the other hand, the small age group, which ranges from 6 months - 9 years, was the most affected age group ,The results also showed that the most common fungal infection was in December.

The results showed that all the filtrates of the tested dermatophytes *M. audouinii*, *T. interdigitales*, *T. rubrum*, *T. erinacei* have the ability to produce the active compounds and found that all the tested fungi have the ability to produce the two compounds Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1 , 4-dione hexahydro- and Cyanoacetylure.

The results also showed that all tested dermatophytes have different ability to produce enzymes Phospholipase, Lipase, Elastase, and Protease. It was found that *M. nanum* and *T. mentagrophytes* have the ability to produce all tested enzymes.

DNA was extracted for 12 types of studied dermatophytes, which were used in the molecular study and using the ITS1 and ITS4 region and four specialized primers OPAA11, OPU15, OPAA17 and OPD18, where the molecular study showed that all the primers used had amplified the DNA genetic strip of the studied fungi where the packages appeared in The location was 550-750 bp. The total number of packages was 579 packages. The primers OPAA17, showed the

Abstract

highest genetic formation, 18.2%. The primers OPAA11, showed the least genetic formation. 7.7%. The genetic tree worked for the studied fungi species using the MEGA program. The genetic mapping specialist showed that the results of the genetic tree showed that it consisted of two closely related genetic groups that included the first genetic group the isolates *Trichophyton ajelloi*, *Microsporum canis* var. *equinum*, *Microsporum nanum* and the second genetic group included the isolates *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton erinacei*.

**Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Misan
College Of Science
Department of Biology**



**Morphological and Molecular Characteristics of
Dermatophytes Isolated from Patients infected with
Superficial Fungal infection and Study of some metabolic
activities in Misan city**

A Thesis

**Submitted to the Council of The College of Sciences/University of
Misan as Partial Fulfillment of the Requirements for the Master
Degree in Biology**

**By
Muhannad M. Mohammed
B.Sc. Biology
(2016)**

**Supervised by
Prof. Dr. Ali A. Kasim**

September 2019 A.D

Muharram 1441 A.H