



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

## عزل وتشخيص بعض أنواع خميرة المبيضات من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي في محافظة

ميسان

رسالة مقدمه الى مجلس كلية العلوم – جامعة ميسان جزءاً من متطلبات نيل  
شهادة الماجستير في علوم الحياة

من الطالبة

ختام جبر حسن

بكالوريوس علوم الحياة 2013

بإشراف

أ.د. علي عبد الواحد قاسم

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

(قُلْ لَوْ كَانُ الْبَحْرُ مَدَادًا لَكَلِمَاتِ رَبِّي لَنَفَذَ الْبَحْرُ  
قَبْلَ أَنْ تُنْفَذَ كَلِمَاتُ رَبِّي وَلَوْ جِئْنَا بِمِثْلِهِ مَدَدًا)

صدق الله العلي العظيم

(سورة الكهف: الآية 109)

## توصية الأستاذ المشرف

أقر أن أعداد هذه الرسالة الموسومة ( عزل وتشخيص بعض أنواع خميرة المبيضات من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي في محافظة ميسان) من قبل الطالبة (ختام جبر حسن) قد جرى تحت إشرافي في قسم (علوم الحياة) كلية العلوم كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير.

التوقيع:

أسم المشرف: أ.د. علي عبد الواحد قاسم

اللقب العلمي: أستاذ

التاريخ: / / 2022 م

## توصية رئيس القسم

التوقيع:

اسم رئيس القسم :

اللقب العلمي:

التاريخ: / / 2022 م

## المقومون

### المقوم اللغوي

قومت الرسالة لغوياً من قبل ( أ.م.د. قاسم نجم عبد ) جامعة ميسان / كلية التربية الأساسية

### التقويم العلمي

قومت الرسالة علمياً من قبل كلاً من :

( أ.د. ضياء عبد عودة ) جامعة ذي قار / كلية العلوم و ( أ.م.د. عيسى سوادي طبيلي ) جامعة واسط /  
كلية الطب البيطري

## مصادقة عمادة كلية العلوم

بناء على الصلاحيات المخولة لنا نصادق على ما جاء في قرار لجنة المناقشة في أعلاه.

التوقيع :

الاسم :

العنوان : جامعة ميسان/ كلية العلوم

التاريخ : / / 2022 م

الأعداء

إله الذي خلقني صمراً..... وقتاء

والله من أخصاء بعلمة عقل خيرة.

ختم

## شكر وتقدير

أحمد الله حمداً كثيراً طيباً مباركاً ملئ السموات والأرض على ما أكرمني به من إتمام هذا البحث .....

يشرفني أن أتوجه بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى أستاذي ومشرفي الأستاذ الدكتور علي عبد الواحد قاسم الذي تفضل بإشرافه على هذا البحث ولما قدمه لي من توجيهات ومتابعة ودعم طيلة فترة البحث ،حفظه الله واطال في عمره .

وأقدم شكري إلى عمادة كلية العلوم المتمثلة بالدكتور صبيح جاسم ،كما وأقدم شكري إلى وحدة الدراسات المتمثلة بالأستاذ الدكتور أحمد هاشم عبود كما أوجه شكري الى رئاسة قسم علوم الحياة المتمثلة بالدكتور ميثم عبد الكاظم دراغ .

كما وأقدم خالص شكري واحترامي الى الدكتور حسام رحيم محمد .

وشكري موصول الى الست أماني منعم والست إيمان علي لدعمهم لي وإلى الأستاذ أحمد سلام والأستاذ مهند مهدي أسأل الله التوفيق لهم .

كما وأقدم شكري إلى كادر الاستشارية النسائية لمستشفى الطفل والولادة لمساعدتهم لي بالحصول على المسحات السريرية أسأل الله الشفاء للجميع .

كلمات الثناء لا توفيهم حقهم إلى عائلتي أقدم لهم كل الشكر والاحترام والاعتذار لتحملهم مني الكثير طيلة فترة الدراسة.....

كما وأشكر كل من ساعدني طيلة فترة إنجاز البحث .

ختم

## الخلاصة

يعد داء المبيضات المهيلي من الأمراض الشائعة والواسعة الانتشار، لذلك أجريت هذه الدراسة حيث تم جمع 100 عينة سريرية خلال المدة ما بين كانون الاول 2021 لغاية ايار 2022 من الاستشارية النسائية لمستشفى الطفل والولادة في محافظة ميسان فضلاً عن بعض العيادات الخاصة في المدينة حيث أخذت مسحات مهبلية بواسطة مسحات قطنية معقمه من المراجعات وتحت إشراف الطبيبة المختصة.

أجريت الدراسة في مختبر الفطريات كلية العلوم/ جامعة ميسان . هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص بعض أنواع خميرة ال *Candida* من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي ، حيث جمعت العينات بصورة عشوائية من فئات عمرية مختلفة تراوحت بين 15-65 سنة ، تم زراعتها مختبرياً على وسط SDA ، بينت نتائج الدراسة ان 45 مسحة مهبلية أعطت نتيجة موجبة و55 مسحة مهبلية أظهرت نتيجة سالبة ، أجري على العينات الموجبة عدة اختبارات مظهرية حيث تضمنت هذه الاختبارات اختبار نمو العزلات على وسط ال *CHROM agar* وتم التمييز بينها بالاعتماد على ظهور الألوان المختلفة ، كما ولوحظ من الاختبارات المظهرية فروقات واضحة بين الأنواع من خلال تكوين عزلات بعض الأنواع لتراكيب معينة بعد تنميتها على أوساط معينة فلوحظ تكوين أنبوب الإنبات (الذي بدوره يعد عامل من عوامل الضراوة) بعد تنميتها على مصل دم الإنسان ، وكذلك تكوين الابواغ الكلاميدية كنوع من أنواع التكيف عندما تكون الظروف غير ملائمة لنمو العزلات بعد تنميتها على وسط الكازئين اكار، كما وأجري على العينات اختبارات كيموحيوية تضمنت اختبار *API Candida* بالإضافة الى اختبار العينات بنظام الفايتهك حيث تستند نتائج هذه الاختبارات على حدوث تفاعلات كيموحيوية ، كما وتم تشخيص العينات باستخدام تقنية ال *PCR* ، واعتماداً على هذه الاختبارات أظهرت النتائج ظهور 6 أنواع من الخمائر التي تعود إلى جنس *Candida* وهي *C. albicans* و *C. glabrata* و *C. dubliniensis* و *C. parapsilosis* و *C. kefyr* و *C. krusei* ، وأظهر النوع *C. albicans* أعلى عدد من العزلات بلغت 20 عزلة واعلى نسبة ظهور (44.4%) وأقل عدد للعينات و نسبة تردد ظهرت في النوع *C. kefyr* (عينتين ، 4.4% على التوالي) . وتم عمل الشجرة الوراثية لكل نوع من الأنواع المعزولة خلال الدراسة الحالية لمعرفة العلاقات التطورية لعزلات هذه الدراسة مع العزلات المحفوظة في بنك الجينات بالاعتماد على التشابه والاختلاف بتتابع نيوكليوتيدات الحامض النووي . كما وتم الكشف عن مركبات الايض



الثانوي باستعمال تقنية ال GC-MS التي أجريت على 5 أنواع من الأنواع المعزولة وهي C. *albicans* و *glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. krusei* و *C. kefyr* ، حيث أظهرت نتائج هذه التقنية أن جميع الأنواع المختبرة تشترك في إنتاج خمس عشرة مركباً من المركبات الفعالة ، قد تسبب آثار صحية على الإنسان فالبعض منها يؤثر على الجلد والعينين والجهاز التنفسي ومنها ما يمتلك تأثيرات سامة على الخلايا ومنها مركبات مسرطنة للإنسان .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الاهداء	I
	الشكر والتقدير	II
	الخلاصة	III
	قائمة المحتويات	IV
	قائمة الجداول	VI
	قائمة الاشكال	VII
<b>الفصل الأول-المقدمة</b>		
2-1	<b>المقدمة INTRODUCTION</b>	
<b>الفصل الثاني- استعراض المراجع</b>		
3	الفطريات Fungi	1.2
3	الخمائر Yeasts	2.2
4	نبذة تاريخية حول جنس المبييضات History of <i>Candida</i>	3.2
5-4	الخمائر وداء المبييضات المهبل	4.2
6-5	أعراض داء المبييضات المهبلية Symptoms of Vaginal Candidiasis	5.2
7-6	العوامل التي تحفز الإصابة بالمبييضات المهبلية Factors that stimulated Vaginal Candidiasis	6.2
10-7	عوامل الضراوة للمبييضات	7.2
11-10	الآلية الأمراض للمبييضات Mechanisms Pathogenicity <i>Candida</i> spp.	8.2
16-12	أنواع خميرة المبييضات <i>Candida</i> spp.	9.2
16	الطرائق الجزيئية لتشخيص الخمائر	10.2
17-16	تشخيص المركبات الفعالة للخمائر باستخدام تقنية الـ GC-MS	11.2
<b>الفصل الثالث-المواد وطرق العمل</b>		
18	المواد Materials	1.3
19-18	الأجهزة والأدوات المخبرية Laboratory equipment and Tools	1.1.3
19	المواد الكيميائية المستعملة	2.1.3
19	الأوساط الزرعوية Culture media	3.1.3
20	طرق العمل Methods	2.3
20	جمع العينات samples collection	1.2.3
20	تحضير الأوساط الزرعوية المستخدمة	2.2.3

20	Sabourauds Dextrose agar وسط السابرويد دكستروز اكار	1.2.2.3
20	CHROM agar <i>Candida</i> وسط الكروم اكار كانديدا	2.2.2.3
20	Casein agar وسط الكازئين اكار	3.2.2.3
21	Sabourauds Dextrose Agar with Cyclohexamide وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلوهكساميد	4.2.2.3
21	Potato Dextrose Broth وسط بطاطا دكستروز السائل	5.2.2.3
21	Culture and purification of samples زرع وتنقية العينات	3.2.3
21	Identification test الأختبارات التشخيصية	4.2.3
22	اختبار النمو على وسط اكار كروم كانديدا	1.4.2.3
22	اختبار تكوين أنبوب الانبات	2.4.2.3
22	اختبار النمو على وسط الكازئين اكار	3.4.2.3
22	اختبار النمو على وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلوهكساميد	4.4.2.3
23	اختبار نمو العزلات تحت درجه حرارة 45 م	5.4.2.3
23	Biochemical test (API <i>Candida</i> الأختبارات الكيموحيوية (API <i>Candida</i> Kit)	5.2.3
25-23	تشخيص العزلات باستعمال تقنية جهاز الفايترك	6.2.3
26	Molecular diagnosis التشخيص الجزيئي	7.2.3
26	استخلاص ال DNA من الخمائر المعزولة	1.7.2.3
27-26	Electrophoresis of DNA الترحيل الكهربائي لل DNA	2.7.2.3
28-27	Polymerase Chain Reaction(PCR) اختبار تفاعل سلسلة انزيم البلمرة	3.7.2.3
29	الكشف عن المركبات الكيميائية في الخمائر باستخدام تقنية ال GC-MS	3.3
<b>الفصل الرابع-النتائج والمناقشة</b>		
30	النتائج والمناقشة	4
32-30	الدراسة المسحية للمبيضات المعزولة خلال الدراسة	1.4
32	تشخيص المبيضات المعزولة بالزرع المختبري وبالفحص المجهرى	2.4
35	الاختبارات التشخيصية	3.4
35	Chrome agar <i>Candida</i> اختبار النمو على وسط	1.3.4
36	اختبار تكوين أنبوب الانبات	2.3.4
37	اختبار النمو على وسط الكازئين اكار	3.3.4
38	اختبار النمو على وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلوهكساميد	4.3.4
39-38	اختبار نمو العزلات تحت درجة حراره 45 م	5.3.4
39	Biochemical test (API <i>Candida</i> الاختبارات الكيموحيوية (API <i>Candida</i> Kit )	4.4
42	تشخيص العزلات باستعمال جهاز الفايترك	5.4
44-43	ITS تقنية pcr لتشخيص عزلات الخمائر المهبلية باستخدام البادئ	6.4

45-46	مقارنة الاختبارات التشخيصية للعزلات المدروسة	7.4
47-56	الشجرة الوراثية لأنواع المبيضات المدروسة	8.4
59-57	الكشف عن المركبات الكيميائية التي تنتجها الخمائر باستخدام تقنية ال GC-MS	9.4
60		الاستنتاجات
61		التوصيات
82-62		المصادر

## قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	التسلسل
19-18	يمثل الأجهزة والأدوات المختبرية التي استخدمت أثناء فترة الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ	1
19	المواد الكيميائية التي استخدمت أثناء مدة الدراسة	2
19	يمثل الأوساط الزرع المستخدمة في الدراسة	3
28	يمثل مواد التضخيم المستخدمة في تقنية ال PCR	4
28	تتابع القواعد النيروجينية في البادئين ITS1 و ITS4 المستخدمين في عملية التضخيم	5
29	برنامج عملية ال PCR المستخدم في الدراسة الحالية	6
31	الفئات العمرية وعدد العينات المأخوذة من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي خلال هذه الدراسة	7
32	عدد أنواع وعدد عزلات جنس ال <i>Candida</i> المعزولة من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي خلال هذه الدراسة ونسبة تردها	8
39	قابلية أنواع خميرة ال <i>Candida</i> على النمو تحت درجة 45 م	9
40	نتائج اختبار ال <i>Candida Kit</i> API لأنواع الخمائر المعزولة خلال هذه الدراسة	10
42	نتائج تشخيص العزلات الخميرية حسب نظام Vitek2 Compact system	11
45	التشخيص الجزيئي للأنواع المعزولة خلال الدراسة الحالية	12
46	مقارنة الاختبارات التشخيصية للعزلات المدروسة	13
58-57	أنواع المركبات الكيميائية المشتركة المنتجة من قبل أنواع الخمائر	14

قائمة الاشكال

الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
11	الألية الامراضية لل <i>C.albicans</i>	1
24	جهاز الفايترك VITEK®	2
33	مستعمرات خميرية نامية على وسط SDA	3
33	خميرة ال <i>C.albicans</i> تحت المجهر	4
34	خلايا ال <i>C.krusei</i> تحت المجهر	5
34	التبرعم في <i>C.kefyr</i> تحت المجهر	6
36	أنواع جنس ال <i>Candida</i> المعزولة خلال هذه الدراسة على وسط CHROMagar <i>Candida</i>	7
37	تكوين أنبوب الإنبات لل <i>C. albicans</i>	8
38	الأبواغ الكلاميدية Chlamedospores التي كونتها خميرة <i>C. albicans</i> على وسط الكازئين اكار	9
41	نتائج اختبار ال <i>API Candida</i> لأنواع الخمائر المعزولة خلال هذه الدراسة	10
44	نتائج تقنية ال PCR للأنواع المعزولة خلال الدراسة الحالية على هلام الأكاروز باستخدام البادئات (ITS4 و ITS1)	11
49	الشجرة الوراثية للعزلة 1 <i>C. glabrata</i>	12
50	الشجرة الوراثية للعزلة 1 <i>C. albicans</i>	13
51	الشجرة الوراثية للعزلة <i>C. kefyr</i>	14
52	الشجرة الوراثية للعزلة 2 <i>C. albicans</i>	15
53	الشجرة الوراثية للعزلة 3 <i>C. glabrata</i>	16
54	الشجرة الوراثية للعزلة <i>C. krusei</i>	17
55	الشجرة الوراثية للعزلة <i>C. parapsilosis</i>	18
56	الشجرة الوراثية للعزلة <i>C. dubliniensis</i>	19

قائمة المختصرات

المختصر	المعنى
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
VVC	VuIvovaginal Candidiasis
PDB	Potato Dextrose Broth
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
PCR	Polymerase Chain Reaction
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
PDB	Potato Dextrose Broth
API	Analytical Profile Index
NCBI	National Center for Biotechnology Information

# الفصل الأول

المقدمة

*Introduction*

## 1-1: المقدمة Introduction

إنَّ الإصابات الفطرية التي تسمى أيضا بأمراض الفطريات Mycosis تسبب العديد من الأمراض للإنسان وقد تؤدي الى الوفاة ، فالأمراض الفطرية تحدث تحت ظروف تستطيع فيها الفطريات اختراق الحواجز الدفاعية للجسم مما ينتج عنها عددا من الأمراض ، تصنف الأمراض الفطرية فيما إذا كانت تصيب الاصحاء عندها تدعى الامراض الفطرية الاولية Primary Mycoses ، أما إذا كان المضيف يعاني من عدة أمراض تسبب ضعف الجهاز المناعي له ومن ثم ينتج عنها الإصابة بالأمراض الفطرية الانتهازية (Opportunistic Mycosis) (Beardsley *et al.*, 2018) ، من المعروف أن بعض الخمائر التي تعود الى الفطريات الممرضة الانتهازية Opportunistic Fungal Pathogen مسؤولة عن داء المبيضات Candidiasis التي تكون ناتجة عن الإصابة بأنواع تعود لجنس المبيضات *Candida spp.* (Barantsevich *et al.*, 2022).

يعد داء المبيضات من الأمراض الانتهازية الشائعة التي تصيب الإنسان ، ويكون على عدة أشكال سريرية اعتمادا على موقع الإصابة في الجسم فقد تكون الإصابات سطحية أو جلدية وتسمى بداء المبيضات الجلدية ، وقد تكون الإصابات في الأغشية المخاطية ومنها اللسان والاصابات المهبلية أو تكون الإصابات جهازية وتشمل ( التهاب شغاف القلب ، التهاب القصبات ، التهابات السحايا، داء المبيضات الرئوية ،أصابات العظام وتسمم الدم بالمبيضات ) (Maza, 2002 ; Saporiti, 2001) التي تحدث في الأشخاص الذين يعانون من الاضطرابات المناعية منها مرض نقص المناعة المكتسبة (AIDS) ( Acquired Immunodeficiency Syndrome) والمرضى الذين يعطون العلاج الكيميائي والمرضى الذين يعانون من أمراض مزمنة والأطفال الذين يعانون من نقص الوزن ( Ferreira *et al.*, 2010).

تعد الأنواع العائدة لجنس *Candida* جزءاً أساسياً من المجتمع الطبيعي للأحياء الدقيقة في القناة التناسلية الأنثوية ، ويمكن لهذه الأنواع أن تسبب الإصابة المرضية عند الزيادة في نموها أو عند حدوث تغيرات في بيئة العائل مثل تغير الـ pH والحرارة وغيرها ، وينتج عن ذلك أعراض مرضية عديدة منها : الألم وتهيج وحكة وإفرازات مهبلية بيضاء سميكة القوام (Falagas *et al.*, 2006) ، هذه الأعراض المهبلية أحد الأسباب الرئيسية التي تلزم النساء



لطلب استشارة أخصائية الأمراض النسائية ، وجد ان هناك ما يقارب 10 مليون استشارة طبية سنويا لهذه المشكلة (Akinbiyi *et al.*, 2008) . تدعى إصابة الغشاء المخاطي بأحد أنواع جنس *Candida* بداء المبيضات المخاطية Mucosal Candidiasis ، يعد داء المبيضات المهبلية (VVC) Vulvovaginal Candidiasis من إصابات المبيضات المخاطية الأكثر شيوعا بين النساء حيث يعد ثاني المسببات المرضية لحدوث التهابات المهبل بعد الالتهابات البكتيرية حيث تقدر الالتهابات البكتيرية بنسبة (22- 39 % ) في حين الالتهابات الناتجة عن المبيضات تقدر بنسبة (17-39%) (Boyd *et al.*, 2021) .

هنالك عدة عوامل تجعل النساء أكثر استعدادا للإصابة بداء المبيضات المهبلية منها الحمل وداء السكري الغير منضبط وعوامل وراثية وموانع الحمل عالية الأستروجين واستعمال المضادات الحياتية واسعة الطيف بشكل مفرط ( Bitew and ; Ferrer , 2000 ) . ( Abebaw, 2018 ) .

هنالك دراسات عديدة في العراق تناولت دراسة داء المبيضات المهبلية عند النساء لغرض عزل الخمائر المسببة لهذا المرض وتشخيصها بطرق عديدة منها المظهرية والجزئية فهناك دراسة أجريت في بابل قام بها (Zaidan and Hadeel (2014) ، وكذلك عزلت وشخصت الخمائر المسببة لداء المبيضات المهبلية في دهوك (Bander and Hamad, 2018) ، كما هنالك دراسة قام بها (Shekhany (2021) في أربيل، تضمنت هذه الدراسة عدة المحاور هي

1. عزل وتشخيص بعض أنواع خميرة المبيضات من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي .
2. إجراء فحوصات مظهرية وكيموحيوية للأنواع المعزولة.
3. دراسة تشخيصية جزئية لبعض العزلات باستعمال تقنية ال PCR .
4. دراسة مركبات الأيض الثانوي التي تنتجها بعض الأنواع باستخدام تقنية ال GC-MS .

# الفصل الثاني

السُّعْرَانُفِرُ الْمُرَاجِيءُ

*Literature review*

## 1-2: الفطريات Fungi

الفطريات كائنات حقيقيّة النواة (Eukaryote) تشكل أنواعها العديدة مملكة الفطريات توجد في مختلف البيئات تقريباً ، تضم هذه المملكة ما يقارب 1.5 مليون نوع من الفطريات ،جميع الفطريات متباينة التغذية أي أنها لا تصنع غذاءها بنفسها لعدم احتوائها على صبغات الكلوروفيل فغالبيتها مترمة على المواد العضوية والبقايا النباتية والحيوانية وبعضها متطفلة على النباتات فتسبب أمراضاً لها وبعضها يصيب الإنسان والحيوان ، وهناك فطريات تكون علاقات تكافلية مع بعض الاحياء مثل علاقة المايكورايزا الاشنات (Hawksworth , 2001) .

الفطريات قد تكون متعددة الخلايا على شكل خيوط فطرية Hyphae تتجمع لتكوّن غزلاً فطرياً Mycelium أو تكون وحيدة الخلية كالخمائر، وقد تتواجد الفطريات بشكل واحد خلال مدة حياتها سواء بشكل خمائر أو خيوط فتدعى أحادية الطور Monophasic أو تعيش جزءاً من حياتها على شكل خيوط وجزءاً آخر بشكل وحيد الخلية حسب الظروف البيئية والوسط الذي تعيش فيه فتسمى عندها ثنائية الطور Dimorphic (Tortora et al., 2010) .

## 2.2: الخمائر Yeasts

تعرف الخمائر بأنها فطريات أحادية الخلية ، بيضوية أو كروية الشكل ، يتراوح قطرها من 3-4 مايكرون توجد في معظم البيئات تقريباً فهي تعيش في التربة وعلى النباتات وفي الأنظمة المائية وعلى وداخل جسم الإنسان والحيوان ، وعند زرعها على الأوساط الزراعية الخاصة بها فأنها تمتاز بتكوين مستعمرات بعد 24 - 48 ساعة مع ملمس رطب ناعم يشبه المستعمرات البكتيرية وعادة تكون مستعمراتها اكبر من مستعمرات البكتيريا ، تتكاثر الخمائر لا جنسيا عن طريق تكوين البزاعم وهي الطريقة الشائعة أو عن طريق الانشطار العرضي وذلك بانقسام الخلية الام الى خليتين متساويتين (Moris et al., 2008) ، وبعض الخمائر قد تكون سلسلة من الخلايا ناتجة عن استمرار تبرعم خلايا الخميرة من دون أن تنفصل البزاعم عن بعضها البعض لذلك تظهر تحت المجهر بشكل سلسلة من الخلايا المرتبطة مع بعضها البعض مع وجود تخصصات بين الخلايا لتشكل ما يسمى بالخيوط الفطرية الكاذبة pseudohyphae التي لها دور في إحداث كثير من الأمراض (Kurtzman and Fell , 2006) .

### 3.2: نبذة تاريخية حول جنس المبيضات *History of Candida*

على الرغم من تواجد المبيضات بشكل طبيعي ( Normal Flora ) في المضيف الا أن تواجدها يكون مسيطر عليه من قبل أحياء مجهرية أخرى فعلى سبيل المثال في منطقة المهبل يكون مسيطر عليها من قبل بكتريا *Lactobacilli* ، الا انه تحت ظروف معينة تتحول الى خمائر ممرضة للإنسان ( Pereira et al., 2021 ) . فيعتبر النوع *Candida albicans* من أوسع أنواع الخمائر انتشارا وهذا يعزى لأسباب عديدة منها امتلاكها لعوامل ضراوة عالية منها مكونات الجدار والذي يتكون من الكلوكان والمانان والكايتين والبروتين والدهون ، حيث يشكل الكلوكان 50-70% من جدار خميرة المبيضات حيث يمثل طريق يعترض المضادات ، أما الكايتين فيعمل على ترميم أي ضرر يحدث في الجدار وصيانتته ، ومن عوامل الضراوة الأخرى قدرتها على التحول من شكل الى آخر ( خميرة الى خيط فطري ) ، كذلك قابليتها على تكوين الأبواغ المقاومة بالإضافة الى ذلك وجود طبقة خارجية يطلق عليها الغلاف الضبابي وهو عبارة عن طبقة ليفية له دور في عملية الالتصاق ومقاومة الالتهايم . هذه العوامل وغيرها تزيد من مقاومة ال *Candida* للمضادات الفطرية ، إذ تتميز هذه الخمائر بقدرتها على إحداث إصابات داخلية في الفم والقناة الهضمية وقنوات المجاري البولية والتناسلية وأحيانا تدخل مجرى الدم ونادرا ما تتواجد بصوره حرة في الأوساط البيئية كالتربة والمياه ( Akortha et al., 2009 ) هذه المبيضات تكون غير قادرة على إحداث الإصابة عند وجود بكتريا *Lactobacillus* بشكل متوازن لكونها تعمل على تثبيط نموها ، الا أنها في حالات معينة يمكن أن تتحول الى كائنات ممرضة للإنسان فتسبب إصابات جلدية وتحت جلدية وجهازية فهذه الخمائر فطريات انتهائية ( Opportunistic Fungi ) إذ تبدأ بإحداث الإصابة في حالة تعرض المضيف لأمراض تخفض عمل الجهاز المناعي لديه ( Pereira et al., 2021 ) .

يعد العالم Robin أول من أستخدم مصطلح *albicans* عام 1853 الذي يعني البياض ( Acharya et al., 2017 ) في حين تمكن Hansen عام 1888 من عزلها أول مرة واطلق عليها أسم *Monillia albicans* وفي عام 1923 أطلق العالم Berkhout عليها أسم الكانديدا *Candida* ، وقد صنفت من قبل العالم الروسي Kudriavzen عام 1954 من ضمن الفطريات الناقصة *Deuteromycetes* ( Mahrous et al., 1992 ) ، ومن أوائل الباحثين الذين أشاروا إلى العلاقة بين الإصابة الفطرية والافرازات المهبلية العالم Wilkinson إذ نشر أول وصف معتمد لداء المبيضات المهبلي ( Vaginal Candidiasis ) ( Horowitz et al., 1985 ) .

## 4.2: داء المبيضات المهلي Vaginal Candidiasis

إن إصابة الجسم بالالتهابات في مناطق مختلفة كالجلد والفم والقنوات التناسلية قد يرجع السبب فيها الى وجود الأنواع التابعة الى جنس الكانديدا *Candida spp.* وكما تشترك بعض الاحياء الدقيقة الأخرى كالبكتيريا في إحداث الإصابة ، الا إن أكثر المسببات حدوثا هي الخمائر التابعة لجنس المبيضات (Lee et al., 2018) . إن داء المبيضات المهلي Vulvovaginal Candidiasis مرض شائع واسع الانتشار يصيب نسبة كبيرة من النساء في جميع الأعمار ، حيث يصاب المهبل بالمبيضات نتيجة النمو المفرط لهذا النوع من الخمائر التي تعد جزءاً من الفلورا الطبيعية للمهبل ومن ثم يعرف على أنه علامات وأعراض الالتهاب بوجود المبيضات ، يعد التهاب المهبل الناتج عن المبيضات هو الأكثر شيوعاً ويأتي بالمرتبة الثانية بعد الالتهابات البكتيرية خاصة النساء في سن الانجاب وتشكل الالتهابات الناتجة عن الإصابة بالمبيضات حوالي ثلث حالات الالتهابات بالمقارنة مع الالتهابات الأخرى التي تصيب المهبل ( Ghadder et al., 2020 ) ، كما أشار (Makanjuola et al. (2018 أن *C. albicans* هي المسبب الرئيسي لداء المبيضات المهلي ، وانتشار الأنواع مثل *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. tropicalis* يمكن أيضا أن يزيد من الإصابة ، العديد من الدراسات أكدت أن 75% من النساء ستعاني مرة واحدة على الأقل من داء المبيضات المهلي خلال حياتهن ، يصنف داء المبيضات المهلي اعتمادا على شدة الإصابة ومعدل تكرارها الى داء المبيضات المهلي الغير معقد Uncomplicated Vulvovaginal Candidiasis وفي هذا النوع تتراوح شدة الإصابة من معتدلة الى متوسطة وهنا نادرا ما يحدث تكرار للإصابة وغالبا ما يحدث في النساء التي لا تعاني من انخفاض في المناعة ، اما النوع الثاني فهو داء المبيضات المهلي المعقد Complicated V.C وفيه تكون الأعراض شديدة ومتكررة بين مدة وأخرى مقارنة بالنوع الأول وهذا النوع عادة يكون مرافقا للنساء التي تعاني من انخفاض في المناعة ( Sherrard et al., 2018 ; Sharma , 2022 ).

## 5.2: أعراض داء المبيضات المهلي Symptoms of Vaginal Candidiasis

تعد أعراض وعلامات داء المبيضات المهلي شائعة جدا الا أن التشخيص الأمثل لها يكون دون المستوى المطلوب كون أعراضه تتشابه نوعا ما مع أعراض التهاب المهبل البكتيري ، داء المبيضات المهلي يتميز بالتهاب حاد في الأغشية المخاطية للمهبل فتظهر الإصابة بشكل

إفرازات مهبلية بيضاء سميكة عديمة الرائحة لها مظهر الجبن Appearance chees وكذلك احمرار و حكة و حرقة وتورم وألم شديد في المهبل والفرج بالإضافة الى طفح مهبلي (Gonçalves *et al.*, 2016).

## 6.2:العوامل التي تحفز الإصابة بالمبيضات المهبلي Factors That Stimulated Vaginal Candidiasis

أشار العديد من الباحثين الى أن هناك العديد من العوامل التي تحفز الإصابة بالمبيضات المهبلية ، وهي:

- أستخدم المضادات الحيوية واسعة الطيف بصورة مفرطة تلك التي تكون فعالة ضد مجموعة واسعة من الفلورا الطبيعي للمهبل ومن ثم يؤدي الى حدوث اضطراب في توازن هذه الفلورا في المهبل ما قد يؤدي الى حدوث الإصابة ، حيث تؤدي هذه المضادات الى تثبيط البكتريا التي تكون من ضمن الفلورا طبيعية (Barnes *et al.*, 2017).

- تزداد نسبة الإصابة بداء المبيضات المهبلي عند التعرض لانخفاض المناعة في الأشخاص الذين يعانون من العوز المناعي نتيجة الإصابة بفيروس نقص المناعة أو الإصابة ببعض الأمراض المزمنة مثل داء السكري أو بسبب تلقيهم للعلاج الكيميائي أو الأشخاص الذين خضعوا لعملية نقل الأعضاء (Ferreira *et al.*, 2010).

- نقص الحديد وحامض الفوليك و فيتامين B<sub>12</sub> فضلاً عن العوامل الغذائية المهمة الأخرى ، فنقصان هذه المواد يؤثر في مناعة الجسم وفقدان سلامة النسيج الطلائي .

- حدوث اختلال في توازن ميكروبات المهبل تعد من أهم العوامل التي تساهم في تطور الإصابة بداء المبيضات المهبلي ، فالعصيات اللبنية *Lactobacilli* تعد من أكثر ميكروبات المهبل الصحية السائدة فيه والتي بدورها تلعب دوراً رئيساً في حماية المهبل من الالتهابات البكتيرية والخميرية الأخرى حيث تنتج حامض اللاكتيك وغيره من المواد التي تحافظ على درجة حموضة منخفضة في المهبل ومن ثم تمنع النمو المفرط لمسببات الامراض ( Cribby *et al.*, 2008).

- تتضاعف الإصابة بداء المبيضات المهبلية في أثناء مدة الحمل Pregnancy ، لاسيما في الثلث الأخير من الحمل وقد يعزى ذلك الى كون الحمل يحدث تغيرات فسلجيه وهرمونية في جسم الحامل أهمها ارتفاع مستوى هرموني البروجيسترون والاستروجين حيث وجد إن كلاً الهرمونين يلعب دوراً مهماً في إصابة المهبل بالمبيضات ، فهرمون البروجيسترون يعمل على كبح نشاط خلايا Neutrophils المضادة للخمائر في حين أن هورمون الاستروجين يقلل من قدرة الخلايا الظهارية المهبلية على تثبيط نمو المبيضات فضلاً عن تقليل الكلوبولين المناعي في الإفرازات المهبلية مما يؤدي الى تعرض النساء الحوامل للإصابة بالمبيضات المهبلية بنسبة أكبر من غيرها (Al tayyar et al., 2016) ، كما أن زيادة نسبة السكر في الإفرازات المهبلية للحامل يساهم بشكل كبير في أحداث الإصابة ففي دراسة قام بها Arslan et al. (2016) وجد أن زيادة تركيز الكلوكوز سواء في اللعاب أو الدم أو الإفرازات المهبلية تعزز بدرجة كبيرة نمو المبيضات وقدرتها على الالتصاق كما وجد أن قابلية خلايا العدلة على قتل المبيضات تنخفض بوجود تراكيز عالية من الكلوكوز .

- استعمال موانع الحمل الفموية ذات الأستروجين العالي حيث تشكل هذه الموانع عبئاً على الجسم مما يؤدي الى تساقط خلايا المهبل وبالتالي زيادة سكريات المهبل التي تحولها مما يؤدي يزيد من حموضة المهبل أو العلاج بمركبات الكورتيكوستيد والتي بدورها تسبب اضطرابات في الاستجابة المناعية الذاتية .

## 7.2: عوامل الضراوة للمبيضات

تعد أنواع الـ *Candida spp* من مسببات الأمراض الانتهازية الفطرية وتمتاز بقدرتها على التسبب في الانتهابات السطحية والجهازية في المضيف البشري ، ولهذه العوامل الممرضة القدرة على الاستمرار داخل المضيف بسبب تطور خصائصها الإمبراضية Pathogenicity ومقاومتها للعديد من العقاقير مما يؤدي في كثير من الأحيان الى فشل الاستراتيجيات العلاجية إذ تمتلك المبيضات العديد من عوامل الضراوة التي تمنحها القدرة على إحداث المرض (Cavalheiro and Teixeira, 2018) وفيما يأتي ذكر لأهم عوامل الضراوة للمبيضات

## 1. الالتصاق Adhesion

إنّ القابلية على الالتصاق هي من أهم الخصائص التي يتميز بها جدار الخلية الخميرية فهو يسمح للمبيضات بإصابة الأغشية المخاطية لذلك تعد الخطوة الأولى والأكثر أهمية في تشكيل وتكوين الغشاء الحيوي الذي يمتاز بمقاومة عالية للأدوية ، إذ أن قابلية *C. albicans* على الالتصاق بالخلايا الطلائية للمهبل هي الخطوة الأولى في إحداث الأمراض ، وكلما زادت قابلية الممرض على الالتصاق بخلايا المضيف كلما كانت الإصابة أسرع ( Richardson *et al.*, 2018 ) وتحدث هذه العملية من خلال ارتباط البروتينات السكرية السطحية Surface Glycoprotein لاسيما Mannoprotein للخميرة بمستقبلات خاصة توجد على سطح الخلايا الطلائية للمضيف وبذلك تعتمد عملية الالتصاق على التكامل الحاصل بين المركبات الموجودة على سطح الخلية الممرضة والخلية المستقبلة ( Höfs *et al.*, 2016 ).

## 2. تكوين أنبوب الإنبات Germ tube Formation

تعد قابلية النوع *C.albicans* على تكوين أنبوب الإنبات من عوامل الضراوة المهمة لحدوث الأمراض عند غزو أنسجة المضيف كونه يمثل الخطوة الأولى في التحول من الشكل وحيد الخلية الى الشكل الخيطي ، فضلاً عن امتلاكه خاصية مقاومة عملية البلعمة Phagocytosis (Cutler,1991) ، وأشار العالم (Fidel *et al.* (1999) الى أهمية العلاقة بين تكوين أنبوب الإنبات وزيادة قابلية الخميرة على الالتصاق وغزو الأنسجة ، ولذلك تعد *C. albicans* من المسببات الرئيسة لداء المبيضات لكونها تتميز بقدرتها على تكوين أنبوب الإنبات ( Yakasiri and Siddabathuni, 2020 ).

## 3. تكوين الغشاء الحيوي Biofilm formation

الغشاء الحيوي عبارة عن تجمع من الكائنات الحية الدقيقة التي ترتبط بشكل لا رجعة فيه بسطح معين أو نسيج حي حيث تنتج الخلايا الخميرية بوليمرات خارج خلوية تكون مصفوفة أو بنية هيكلية Structural matrix وهي المسؤولة عن المقاومة العالية للأغشية الحيوية وبصورة خاصة ضد المضادات الحيوية ، حيث وجد أن المادة البوليميرية تعمل على وقاية خلايا المبيضات وحمايتها من التفكك بتأثير المضادات الحيوية أو بفعل الآليات الدفاعية للمضيف ( Sandai *et al.*, 2016 ; Lewis, 2001 ).



#### 4. التحول المظهري Phenotypic Switching

إنَّ القدرة على التحول المظهري ما بين الشكل الخميري Yeast form والشكل الخيطي Hyphal form تعد من عوامل الضراوة المهمة عند جنس المبيضات *Candida spp.* وخصوصا عند النوع *C. albicans* ويتم تنشيط عملية التحول من خلال مسارات معينة يتم تحفيزها بواسطة الاشارات البيئية مثل درجة الحرارة ودرجة الحموضة pH ومصل الدم (Viana et al., 2020) ، إنَّ من أهم الاليات التي تعتمد عليها المبيضات في غزو خلايا المضيف هي الاختراق النشط باستخدام الخيوط النامية Growing hyphae ، فضلا عن إفراز أنزيمات التحلل المائي Hydrolytic enzymes بواسطة هذه الخيوط (Richardson et al., 2018) وعلى الرغم من أن الانتقال من الشكل وحيد الخلية الى الشكل الخيطي قد تمت دراسته على نطاق واسع في ال *C. albicans* الا أن هذا التحول لا يزال غير مفهوم بشكل جيد ومع ذلك وجد أن الشكلين وحيد الخلية والخيطي في موقع الإصابة ، ويعتقد أن الشكل وحيد الخلية مهم جدا لنشر العدوى ، في حين الشكل الخيطي يكون أكثر ارتباطا بالالتصاق وغزو المضيف وتلف الانسجة (Lionakis et al., 2011).

#### 5. القدرة على التكيف الأيضي Metabolic Adaptability

أن النظام الغذائي ضروري لاستمرار كل الكائنات الحية وترتبط القدرة على التكيف الأيضي مع إمكانية التمثيل الغذائي النشط للعناصر الغذائية في وهذه المرونة الأيضية ضرورية بشكل خاص للمبيضات خلال مرحلة الإصابة ، حيث أثبتت الدراسات تكيف الـ *C. albicans* للبقاء في الأمعاء وأنسجة الجسم الأخرى دون إحداث تفاعلات تنافسية مع الميكروبات التي تضر ببقائها ، الا في حالات معينة مثل غياب البكتريا النافعة ، وانخفاض كفاءة الجهاز المناعي تتحول الى كائنات ممرضة ومن ثم تؤدي الى الإصابة (Kumamoto et al., 2020) فخلال أصابات المبيضات الجهازية تكون خلايا المبيضات لها القدرة على الانتشار بصورة فعلية داخل كل عضو في المضيف وهذا كله يرجع الى امكانية هذه الخلايا من التكيف فهي قادرة على التغذية على مواد مختلفة وتمتلك قدرة التمثيل الأيضي لعناصر غذائية بديلة (Ene et al., 2012).

## 6. إفراز الأنزيمات Secretion of Enzymes

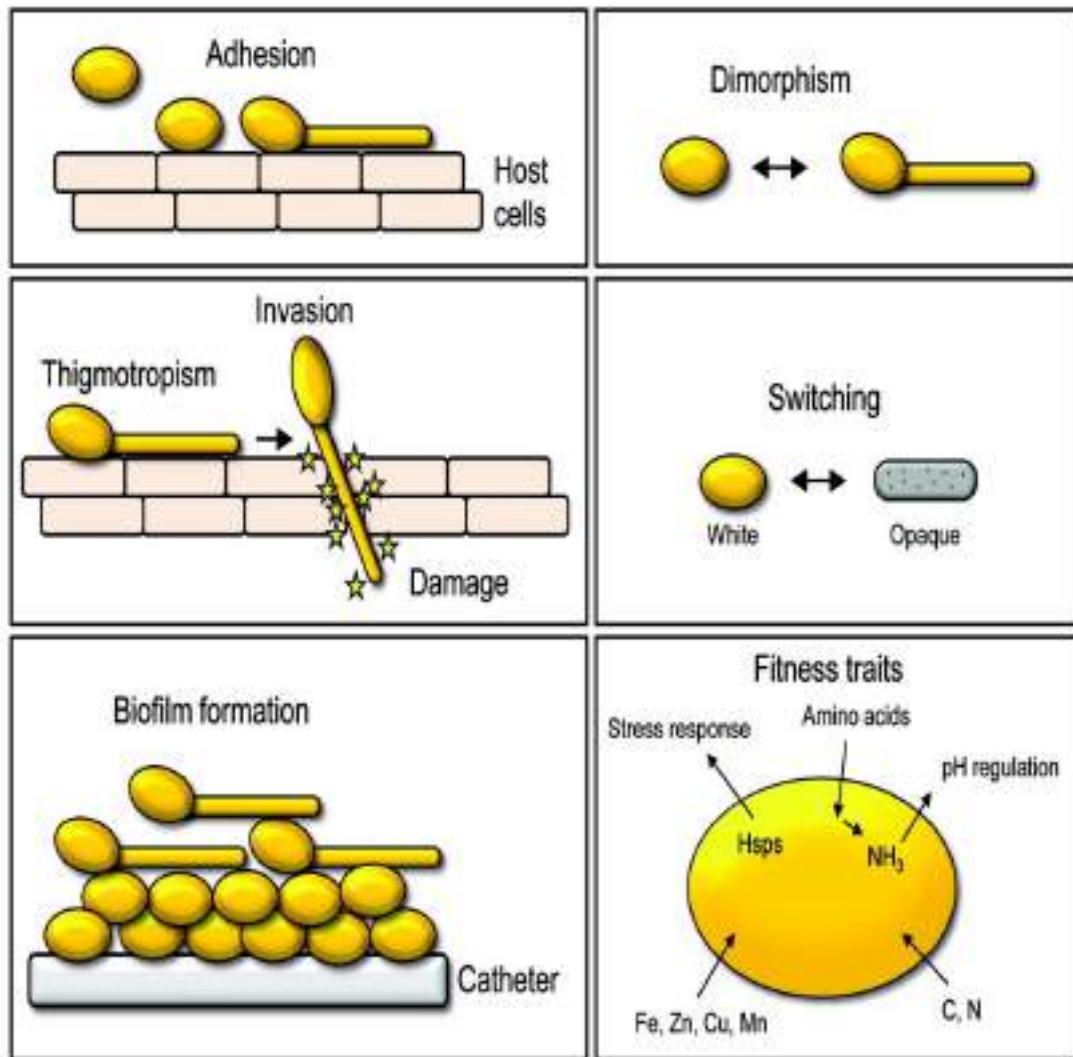
إنَّ احد أهم العوامل الفعالة في إمراضية المبيضات هو إفراز أنزيمات خارج خلوية (Extracellular enzymes) والتي تسهل عملية تحليل الأغشية الخلوية ، ومن ثم السماح للخلايا الفطرية باختراق أنسجة المضيف ( Kurnatowski *et al.*, 2016 ) حيث تمتلك المبيضات القابلية على إفراز العديد من الانزيمات ومنها الانزيمات المحللة للدم التي لها أهمية بالغة في إمراضية المبيضات ، أذ إن هذا الانزيمات هي المسؤولة عن تدمير وتحليل خلايا الدم الحمراء وتكسير هيمكلوبين المضيف مما يتيح لخلايا المبيضات الحصول على الحديد اللازم الذي يعد أساسياً لعملية إحداث الإصابة في المضيف ( Canela *et al.*, 2018 ; Nouraei *et al.*, 2021 ) ، ووجد أيضا أن المبيضات تقوم بإفراز أنزيمات تعمل على تحطيم الأواصر الببتيدية للبروتينات وينتج عن هذه العملية تحلل أو هضم الطبقة المخاطية التي تبطن أماكن مختلفة من الجسم وخلايا الجلد، وكذلك تعمل على مهاجمة خلايا الدم البيض وينتج عن ذلك تحطيم المكونات البروتينية الداخلة في تركيب الخلايا وزيادة سرعة غزو النسيج وتوفير العناصر الغذائية اللازمة لنمو الخميرة في المضيف ( Naglik *et al.*, 2003 ; Gharaghani *et al.*, 2022 ) ، وتعد الانزيمات المحللة للدهون من أهم الانزيمات المحللة للروابط الأسترية التي ستقل بدورها من ترابط أنسجة الخلايا وهذه تساعد المبيضات على الدخول الى خلايا المضيف وإحداث الإصابة ( Monod and Zepelin, 2002 ; Jafarian *et al.*, 2021 ) ، ووجد أيضا أن المبيضات لها قابلية على إفراز انزيمات أخرى منها esterase الذي له دور في قابليتها الإمراضية ( Nouraei *et al.*, 2021 ; Gharaghani *et al.*, 2022 ).

## 8.2: الآلية الإمراضية للمبيضات Pathogenicity Mechanisms of

### *Candida* spp.

يعد التصاق الأحياء الدقيقة على الأسطح المخاطية هو بداية نجاحها في تكوين المستعمرات ومن ثم غزو الأنسجة وحصول الامراضية ، إنَّ عملية الالتصاق تحفز الانتقال من الشكل الخميري الى الخيط الفطري بعد ذلك تبدأ خلايا الخيط الفطري التنامي الموجه growth Directe على وفق خاصية الانتحاء التلامسي Thigmotropism إذ تدخل الخلايا الفطرية تدريجيا الى الأنسجة عند ملامسة سطح الخلية ( Sheppard and Filler, 2015 ) ، إذ تعتمد خميرة ال *Candida* على آليتين رئيسيتين في غزو الخلايا هما الالتصاق الخلوي المستحث

Induced endocytosis والاختراق النشط Active penetration حيث تبدأ مرحلة الغزو الفعلي بالتهام الغزل الفطري خلايا المضيف وهذا ما يعرف Induced endocytosis الذي يعد أحد أنواع الإدخال الخلوي Endocytosis ، بعد ذلك يأتي دور القوى الفيزيائية والأنزيمات المحللة لتسهيل المرحلة الثانية من الغزو التي تتمثل بالاختراق النشط وذلك من خلال تحطيم الحواجز بين الخلايا ، حيث تنمو وتنتقل من خلية إلى أخرى ومن ثم تتطور الإصابة إلى كافة الأنسجة (Richardson *et al.*, 2018).



شكل (1) : الألية الإمراضية للـ *C. albicans* (Mayer *et al.*, 2013).

## 9.2: أنواع خميرة المبيضات *Candida* spp.

يضم جنس الكانديدا أكثر من 200 نوعاً من الخمائر حوالي 20 نوعاً يكون ممرضاً تم تشخيص أنواعاً منها في مضائفاها الطبيعية بما في ذلك الأنسان وهذه الأنواع لديها القدرة على أحداث الإصابة حيث تعزى الغالبية العظمى من الإصابات ( 80-95 % ) الى *C. albicans* ويأتي بعدها في الأمراض *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. tropicalis* و *C. Krusei* و *C. Kefyr* ( Arfiputri et al., 2018 ; Pfaller et al., 2014 ) ، فقد سجلت الإصابات بداء المبيضات في جميع مناطق الجسم بما في ذلك الأغشية المخاطية للفم والمهبل ( Mirhendi et al., 2006 ) ، صنفت أستنادا الى Webster and Weber, (2007) وكما يلي :

Kingdom :Mycetae

Phylum: Ascomycota

Sub Phylum: Saccharomycotina

Class: Saccharomycetes

Order: Saccharomycetales

Family : Saccharomycetaceae

Genus: *Candida*

بعض أنواع جنس المبيضات ذات الأهمية الطبية:

### *Candida albicans*

تعد من أهم أنواع جنس الكانديدا ، وتعتبر من أكثر الأنواع المسببة للأمراض الفطرية الانتهازية الخطيرة التي توجد ضمن الفلورة الطبيعية على وداخل جسم الأنسان، تتحول إلى مسبب للأمراض نتيجة انخفاض المناعة الخلوية وتثبيط الفلورة الطبيعية بعد العلاج بالمضادات الحيوية واسعة الطيف بشكل مفرط مما يؤدي إلى القضاء على الفلورة الطبيعية الأخرى مثل

بكتيريا العصيات اللبنية *Lactobacilli* وتفاقم الكانديدا ( Barnes *et al.*, 2017 ) يتميز هذا النوع من الخمائر بكونها ثنائية الشكل ، فتنمو بشكلها الخميري البيضي أحادي الخلية أو الخيطي وفقا للظروف البيئية التي تتواجد فيها من حرارة ورقم هيدروجيني ( pH ) ومكونات الوسط الغذائي فهي تنمو على شكل خميري على الأوساط الزرعية الصلبة الحامضية والحاوية على المواد السكرية والنيتروجينية العضوية كمصدر للكربون وفي درجة حرارة أقل من 35 م° ، أما الشكل الخيطي فينمو على الأوساط الزرعية الحاوية على مواد نشوية مثل اكار خلاصة الذرة Corn Meal Agar ووسط البطاطا دكستروز اكار Potato Dextrose Agar ووسط السابرويد دكستروز اكار (PDA) ووسط السابرويد دكستروز اكار (SDA) Sabouraud Dextrose Agar ذات رقم هيدروجيني يصل الى 6.5 ( Ellis *et al.*, 2007 )، تظهر خلايا هذه الخميرة تحت المجهر على شكل بيضوي وقد تكون غير منتظمة أو متطاولة بقطر يتراوح بين 10-12 مايكرون ، كما أن مستعمراتها تظهر محدبة وناعمة بلون أبيض كريمي لكن بعض السلالات تستطيع أن تتحول الى اللون الرمادي وتكون مسطحة يمكنها تشكيل غزل فطري كاذب وغزل فطري حقيقي إذ تتكون التراكيب التكاثرية الخضرية Blastoconidia بشكل عنقايد على طول الخيط الفطري ، إنَّ من أهم الخصائص التشخيصية للـ *C.albicans* تكوين أنبوب الإنبات حيث يعد تكوين هذا الأنبوب سمة تشخيصية مهمة لهذه الخمائر وهو عبارة عن استطالة خيطية ناشئة من الجدار الخلوي لخلية الخميرة له دور مهم في الأمراض حيث له علاقة بقابليتها على الالتصاق وغزو أنسجة المضيف بالإضافة الى قدرتها على إنتاج الأبواغ الكلاميدية Chlamydospores وهي عبارة عن أبواغ كبيرة يتراوح قطرها ما بين 8-12 مايكروميتر كروية الشكل ذات جدران سميكة تحتوي على نسبة عالية من الدهون والبروتينات تكون طرفية أو جانبية الموقع تتكون هذه الأبواغ تحت ظروف بيئية خاصة كقلة الاوكسجين والضوء والحرارة والمغذيات ومن ثم تمثل أبواغ مقاومة فضلاً عن قدرتها على تخمر السكريات والكاربوهيدرات الأخرى لإنتاج الايثانول ( Soll, 2014 ; Bhavan *et al.*, 2010 ).

### *C. parapsilosis*

عزل هذا النوع من مصادر غير بشرية مثل الحيوانات المنزلية Domestic animals والحشرات وتم عزله من التربة ايضا ويعد جزءاً من الاحياء الدقيقة المتعايشة بصورة طبيعية في الانسان حيث تم عزلة من أيدي العاملين في المستشفيات ومن ثم حدوث إصابات في المرضى الراقدين في المستشفى خاصة الذين يعانون من اضطرابات مناعية والمرضى الذين

تجرى لهم عمليات جراحية في القناة الهضمية (Almirante *et al.*; Bonassoli *et al.*, 2005) تعد *C. parapsilosis* هي المسبب الثاني لداء المبيضات الأكثر شيوعاً بعد *C. albicans* في بعض الدول الأوروبية وأمريكا اللاتينية ، ورغم ذلك فقد أظهرت انخفاضاً بالضراوة مقارنة بالأنواع الأخرى للمبيضات (Nucci *et al.*, 2013) ، في الفحص المجهرى لهذا النوع تظهر خلاياه بيضوية ، دائرية أو تظهر بشكل أسطوني ، بينما تبدو المستعمرات بيضاء كريمية الى صفراء ناعمة أو مجعدة ، لا تكون خيوط فطرية حقيقيه لكنها قد تكون خيوط فطرية كاذبة ، وهذا النوع من أصعب أنواع المبيضات في التشخيص بسبب ضعف النمو على الوسط الغذائي ، يسبب هذا النوع التهابات مختلفة في ظل ظروف بيئية مناسبة فضلاً عن الالتهابات الجهازية وأخطرها التهاب شغاف القلب Endocarditis والتهاب الغشاء المخاطي وتسمم الدم وكذلك عدوى المسالك البولية ، وهي ثاني أكثر الخمائر انتشاراً في الدم (Krcmery *et al.*, 2002).

### *C. dubliniensis*

تم عزل هذا النوع لأول مرة من قبل Sullivan *et al.* (1995) في مدينة دبلن/ أيرلندا كمسبب لداء المبيضات الفموي عند المرضى المصابين بفايروس نقص المناعة ، وتم تسجيله في المرضى الذين يعانون من نقص المناعة كمسبب للأمراض السطحية والجهازية ، كما تم العثور عليه في الأشخاص الأصحاء حيث أشار Ponton *et al.* (2000) أن هذا النوع يتواجد بنسبة 3.5% في التجويف الفمي للأصحاء ، بينما عزل بنسبة 18% من مرضى السكري الذين يستخدمون الأنسولين كعلاج (Willis *et al.*, 2000) . يعد هذا النوع أقل أمراضية بالمقارنة مع *C. albicans* إذ سجلت حالات تسمم الدم Candidaemia بـ *C. dubliniensis* بنسبة 2% في الولايات الأمريكية المتحدة والمملكة العربية السعودية ، في حين بلغت نسبة الإصابة بـ *C. albicans* 65% (Sebti *et al.*, 2001) ، وأيضا تم عزله من مناطق مختلفة في جسم الانسان مثل الرئتين والتجويف الفمي والمهبل ، كما عزل من عينات مختلفة مثل القشع والادرار والدم وفي مسحات الجروح والغائط وعزل أيضا من عينات البلعوم لمرضى الايدز في شمال أمريكا ( Kirkpatrick *et al.*, 1998 ; AI-Mosaid *et al.*, 2001 ; Gee *et al.*, 2002 ) هذا النوع يشترك مع الـ *C. albicans* كونه يكون أنبوب انبات وأبواغاً كلاميدية في حين يختلف عنه في أستغلال الكاربوهيدرات (Martines *et al.*, 2002) ، وفي

دراسة أجراها Gilfillan *et al.* (1998) تضمنت هذه الدراسة أن قابلية هذا النوع على الالتصاق بالخلايا الطلائية لتجويف الفم أكبر من قابلية *C. albicans*.

### *C. glabrata*

في عام 1978 صنف هذا النوع ضمن *Turoloopsis* لذا فإن الأسم الثاني لها *Turoloopsis glabrata* ويعزى ذلك لعدم تكوينها لغزل فطري كاذب أو حقيقي ، وأهم ما يميزها عدم قدرتها على التحول الشكلي وتواجدها بالشكل الخميري فقط ، تظهر مستعمراتها على الأوساط الزرعية بلون كريمي ذات قوام لزج لماع، تأتي في المرتبة الثانية من حيث الضراوة وشدة الامراضية بعد *C. albicans* (West *et al.*, 2013) ، عزلت من أماكن مختلفة من الجسم مثل التجويف الفمي والقناة الهضمي الجهاز التنفسي والجهاز البولي التناسلي وهي من الأنواع الممرضة عالية الانتهازية High opportunistic pathogen خاصة في الأعضاء البولية والتناسلية بالإضافة الى مجرى الدم مسببة ما يعرف تسمم الدم Candidemia (Hameed *et al.*, 2018).

### *C. krusei*

هذا النوع مسؤول عن حوالي من 10-35% من الإصابات المرضية الناتجة عن الأنواع غير ال *C. albicans* ، يمتاز هذا النوع بقدرته على تكوين خيوط فطرية حقيقية وكذلك خيوط كاذبة (Hope *et al.*, 2002) ، ظهرت في الأونة الأخيرة تواجدها بصورة مميزة عند المصابين بأمراض الدم الخبيثة والتهابات الاغلفة الداخلية للعين والتهاب المفاصل والشغاف ، معظم الإصابات بهذا النوع تحدث عند المرضى الراقدين في المستشفيات وكذلك تم عزله من الحليب والتربة والبييرة وبراز الطيور ( Fateh *et al.*, 2015 ) ، يمتاز هذا النوع بقدرته على النمو في درجة حرارة 45 م° ولكنها لا تستطيع النمو على أوساط حاوية على مادة السايكلوهكسامايد ، تظهر مستعمراتها بلون ابيض كما وتظهر الخلايا متطاولة لها مظهر يشبه شكل الشجرة (Hope *et al.*, 2002).

*C. kefyri*

عزل هذا النوع لأول مرة من الكفير kefir ( اللبن المتخمر ) عام 1909 ، كما وجد انها تتواجد في بيئات متنوعة بما في ذلك منتجات الألبان وكذلك يرافق الإصابات الجلدية السطحية وتم عزل أيضاً من الأظافر والرتنين ( Fonseca et al., 2008 ; Lachane, 2007 ) ، يعتبر هذا النوع سبب نادر للمرض ، حيث تم العثور عليه في 11 حالة فقط من أي 0.2 % من مجموع 5526 أصابه بالمبيضات ( Dufresne et al., 2014 ; Weichert et al., 2012 ).

**10.2: تشخيص الخمائر باستخدام تقنية ال PCR**

خضع اكتشاف الخمائر وتحديداتها وتصنيفها لتغيرات كبيرة خلال الخمس عشرة سنة الأخيرة بعد تطبيق تحليلات تسلسل الجينات ومقارنات الجينوم ، فيعد التسلسل الجيني هو الطريقة الأكثر دقة كونها تعد من الطرق السريعة والموثوقة لتحديد وتصنيف الخمائر ، فتقنية تفاعل سلسلة البلمرة (PCR) Polymerase Chain Reaction من الطرق الشائعة التي لا غنى عنها في مختبرات البحث لمختلف التطبيقات فضلاً عن ذلك تستخدم في مجال تشخيص الأحياء المجهرية مثل البكتريا والطفيليات والفايروسات والفطريات ( Wellinghausen et al., 2004 ) ، تعد *C. albicans* هي المسبب الرئيسي لداء المبيضات ( Mirhendi et al., 2006 ) وفي السنوات الأخيرة أظهرت الدراسات أن الأنواع الأخرى مثل *C. parapsilosis* و *C. glabrata* و *C. krusei* ظهرت بصورة واضحة وخاصة عند المرضى الذين يعانون من ضعف الجهاز المناعي (Chong et al., 2003) وتبين أن هذه الأنواع مقاومة للعديد من الأدوية المضادة للفطريات لذلك فان سرعة تشخيصها امر ضروري لغرض البدء باستخدام العلاج المناسب (Cirak et al., 2003) ففي دراسة قام بها García-Salazar et al. (2022) شخّصت الأنواع *C. albicans* و *C. tropicalis* و *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) و *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* بدقة عالية باستعمال هذه التقنية ، وفي دراسات أجريت على نساء مصابات بالتهابات الجهاز التناسلي شخّصت الأنواع التالية باستعمال هذه التقنية *C. albicans* و *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* و *C. glabrata* ( Mohammed and Agad et al., 2022 ; Farahyar et al., 2020 ; Abdullah, 2015 ) ، والأنواع *Kluyveromyces marxianus* و *Pichia kudriavzevii* (Farahyar et al., 2020).



## 11.2: تشخيص المركبات الفعالة للخمائر باستعمال تقنية GC-MS

**Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)**

مركبات الأيض الثانوي منتجات طبيعية ذات قيمة عالية تنتج من كائنات حية مختلفة مثل النباتات والبكتريا والفطريات (Rahmat and Kang, 2019) هذه المركبات لديها مجموعة واسعة من التطبيقات من بين الأنواع العديدة من الكائنات الحية الدقيقة تم استخدام الخميرة لبناء الجزيئات الحيوية المختلفة هذه الجزيئات لها أدوار بيولوجية مهمة مختلفة مثل الدفاع ضد الضغوط الحيوية وغير الحيوية ونقل الإشارات وكمضادات للميكروبات ومواد كيميائية وكمغذيات حيث يمكن للخمائر أن تنتج العديد من المركبات النشطة بيولوجيا مثل ال Polyketides و terpenoids و الببتيدات غير الريبوسومية ، تقنية الكروماتوغرافيا الغاز GC-Mass تمتلك مجالاً واسعاً جداً من التطبيقات ولكن يعد المجال الأول والأهم هو فصل وتحليل المركبات متعددة المكونات مثل الهيدروكربونات والزيوت الأساسية والمذيبات (Kadhim *et al.*, 2016) فضلاً عن تحديد المركبات العضوية المتنوعة مثل الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والكحول والالدهايدات والاسترات وأكاسيد الدهون والتربين والفينوليك (Roze *et al.*, 2012).

# الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

*Materials & Methods*

### 1.3: المواد Materials

#### 1.1.3: الأجهزة والأدوات المخبرية Laboratory equipment and tools

جدول ( 1 ) الأجهزة والأدوات المخبرية

الشركة المصنعة (المنشأ)	الأجهزة والأدوات المخبرية
Human Lab (Korea)	Incubator حاضنه
Zenith lab ( China )	Incubator Shaking حاضنة هزازة
Bio neer(Korea)	Epindroff 2 ml ابندروف (انابيب)
Shimadzu(Japan)	UV-visible Spectroscop جهاز الاشعة فوق البنفسجية
Bio zek medical (Holland)	Petri Dishes أطباق بتري
Vistal (Poland)	Refrigerator ثلاجة
Whatman No. (UK)	Filter PaPers أوراق ترشيح
ALS (Canada)	Test tubes أنابيب اختبار
GFR( Germany)	Distall Water جهاز التقطير
Consort (Belgium)	Electrophoresis جهاز الترحيل الكهربائي
Hettich (Germnay)	Centrifuge جهاز الطرد المركز
Vilber lourmat (France)	Gel Documentation جهاز تصوير الهلام
Heidolph (Germany)	Magnatic stirrers مازج مغناطيسي
Memmert (Germnay)	Water path الحمام المائي
Iso Lab (Germany)	flask دوارق مختلفة
Agilent (USA)	GC-MS جهاز كروماتو كرافيا الغاز المتصل بمطياف الكتلة
Superestar (India)	Slides and cover slides شرائح زجاجية وغطاء الشريحة
Olympus (Japan)	Light Microscope مجهر ضوئي
Sartorius (Germany)	Sensitive Balance ميزان حساس
Hirayama(Japan)	Autoclave مؤصدة
Iraq	Benzen burner مصباح بنزن
Hi- Media (India)	Standard Wire loop(1m) ناقل الزرعي

Iraq	Sterile cottons wabs	مسحات قطنية معقمة
China	Sterile cork borer	ثاقب فليني معقم
Pyrex(England)	Screw Cap bottles	قناني محكمة الغلق
Epindroff (Germany)	Eppendorf centrifuge	جهاز طرد مركزي
Shownic(Korea)	Microwave	مسخن
Lab Tech(France)	Biosafety cabinet	كابينة الزرع

### 2.1.3: المواد الكيميائية المستعملة

جدول ( 2 ) المواد الكيميائية التي استخدمت أثناء مدة الدراسة

المنشأ	المادة
CHEMLAB (Belgium)	مذيب عضوي خلات الاثيل
Samarra company (Iraq)	كلورامفينيكول
Bio neer (Korea)	صبغة الاكتوفينول الزرقاء
Alpha (Turkey)	كحول الايثيلي (70%)
Mumbai (India)	السايكلو هكسامايد
French	Skim milk
China	كلوريد الصوديوم

### 3.1.3: الأوساط الزرعية Culture media

جدول ( 3 ) يمثل الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة	الوسط الزرع
Hi- Media (India)	وسط السابرويد دكستروز الصلب
حضر مختبريا	وسط البطاطا دكستروز السائل
Hi-Media(India)	الوسط التفريقي الصلب CHROMagar Candida
حضر مختبريا	وسط الكازئين اكار
حضر مختبريا	وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلو هيكسامايد

## 2.3 : طرق العمل Methods

### 1.2.3: جمع العينات Samples Collection

تم جمع عينات سريرية بصورة عشوائية من نساء مصابات من فئات عمرية تراوحت بين ( 15- 65 ) خلال المدة ما بين كانون الاول 2021 لغاية ايار 2022 من الاستشارية النسائية لمستشفى الطفل والولادة في محافظة ميسان فضلاً عن بعض العيادات الخاصة في المدينة حيث أخذت مسحات مهبلية بواسطة مسحات قطنية معقمة من المراجعات وتحت إشراف الطبيبة المختصة ، وضعت المسحات في أنابيب اختبار معقمة حاوية على المحلول الملحي الفسيولوجي لغرض حفظ العينات لحين نقلها إلى المختبر لغرض زراعتها ومن ثم تشخيصها .

### 2.2.3 : تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة

#### 1.2.2.3 - وسط السابرويد دكستروز اكار Sabouraud's Dextrose Agar

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة بإذابة 65 غراماً من مسحوق الوسط SDA في لتر من الماء المقطر ، ثم عقم بجهاز المؤصدة بدرجة 121م° ولمدة 15 دقيقة تحت ضغط 1جو بعد التعقيم ترك ليبرد، اضيف إليه المضاد الحيوي (الكلورامفينيكول) بمقدار 0.05 غراماً لكل لتر من الوسط الزرعى ، وزع في أطباق بتري معقمة ، أستعمل هذا الوسط في العزل الأولي والتشخيص ( Lyon et al., 2008 ).

#### 2.2.2.3 - وسط الكروم اكار كانديدا CHROM agar Candida

حضر هذا الوسط حسب تعليمات بإذابة 49.5 غراماً من الكروم اكار في لتر من الماء المقطر المعقم ثم وضع على الصفيحة الساخنة مع التحريك وبعد اكمال ذوبانه برد وصب في اطباق بتري ، استعمل هذا الوسط لتمييز الخمائر بالاعتماد على اللون ( Hajjeh et al., 2004 ).

#### 3.2.2.3 - وسط الكازئين Casein agar

حضر هذا الوسط بإذابة 10 غرام من Skim Milk في 90 مل من الماء المقطر وإذابة 3 غرام من الاكار في 97 مل من الماء المقطر ، عقم المحلولين كلا على حده بجهاز المؤصدة بدرجة 121 م° لمدة 15 دقيقة وضغط 1جو ، بعد التعقيم مزجا معا ، ترك المزيج ليبرد ثم وزع في أطباق بتري معقمة أستعمل هذا الوسط للكشف عن تكوين السبورات الكلاميدية ( , Larone 1993 ).

### 4.2.2.3 - وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلوهكسامايد

#### Sabouraud's Dextrose Agar with Cychlohexamide

حضر هذا الوسط كما في الفقرة رقم (1) و اضيف إليه 0.5 غراماً من السايكلوهكسامايد بعد التعقيم ، أستعمل هذا الوسط لاختبار قابلية الخمائر للنمو بوجود السايكلوهكسامايد (Ellis,1994).

### 5.2.2.3 - وسط بطاطا دكستروز السائل (PDB) Potato Dextrose Broth

استخدم هذا الوسط لغرض تنمية الأنواع قيد الدراسة من أجل الكشف عن المواد الكيميائية التي تنتجها باستعمال تقنية GC-MS ، حيث قطعت 200غم من البطاطا الى قطع صغيرة وأضيف لها 1000مل من الماء المقطر وبعد ان تم غليها وهرسها تم ترشيحها باستعمال شاش طبي ثم اكمل الراشح بالماء المقطر الى 1000مل و اضيف لها 20 غم من سكر الدكستروز.

### 3.2.3: زرع وتنقية العينات Culture and Purification of Samples

نقلت المسحات المهبلية مباشرة بعد جمعها الى مختبر الفطريات كلية العلوم /جامعة ميسان ، وزرعت على وسط SDA بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة 37م لمدة 24-48 ساعة ، وبعد ظهور النمو في الاطباق ، تمت تنقية العينات وزراعتها على وسط SDA وذلك بأخذ جزء من مستعمرات الأطباق النامية وزرعها على أطباق حاوية على وسط SDA المعقم ، وعملت مزارع مائله slant للعزلات المشخصة وذلك عن طريق وضع وسط SDA في قناني زجاجية معقمة ووضعها بشكل مائل لكي يتصلب الوسط ثم لقت بنقل جزء من مستعمرة كل عزله وحضنت بدرجة 37م ولمدة 48 ساعة وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 م مع مراعاة التنشيط كل ثلاثة أسابيع ( González et al., 2007 ).

النسبة المئوية للتردد ( 100 % ) = ( عدد عزلات النوع الواحد / عدد العزلات الكلي ) × 100

### 4.2.3: الاختبارات التشخيصية Identification tests

نقيت عزلات الخمائر جميعها ثم شخصت باتباع الاختبارات الآتية :

### 1.4.2.3 - اختبار النمو على وسط اكار كروم كانديدا

بعد تحضير الوسط لثق بتريقة التخطيط بعزلات الخمائر التي تم تنقيتها مسبقا وحضنت الاطباق تحت درجة حراره 37 م° ولمدة من 24 - 48 ساعه ، يعد ال Chromagar وسط انتقائي يستعمل لعزل الخمائر وتنميتها وتشخيصها بالاعتماد على (Kaup *et al.*, 2016).

### 2.4.2.3 - اختبار تكوين أنبوب الانبات Germ tube test

تم إجراء الاختبار بوضع 0.5 ملليتر من مصل دم الانسان (Fresh) في أنابيب اختبار معقمة ولقح كل أنبوب بجزء صغير من المستعمرة النامية على وسط SDA ومزجه مع المصل، وحضنت الأنابيب بدرجة 37 م° ولمدة 2-4 ساعة ، وبعد الحضان أخذت قطرة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية مع وضع الغطاء على الشريحة وفحصت تحت المجهر تحت قوة X 40 لملاحظة تكوين أنبوب الانبات وهي عبارة عن أنبوب اسطواني قصير ينشأ من خلية الخميرة الام ولا يوجد تخصر عند منطقة الاتصال ( Yakasiri and Siddabathuni, 2020 ).

### 3.4.2.3 - اختبار النمو على وسط الكازئين اكار

يعد أحد الاختبارات المهمة للكشف عن تكوين الابواغ الكلاميدية حيث خط وسط الكازئين اكار بثلاث أخاديد متوازية باستخدام ال Loop المعقم ثم لقت هذه الأخاديد بالخميرة المراد تشخيصها ، حضنت الأطباق تحت درجه حراره 37 م° ولمدة 24-48 ساعة ، وبعد الحضان حضرت شرائح زجاجية للعزلات وبعد ذلك تم تصيغها بصبغة اللاكتوفينول الزرقاء وفحصت تحت المجهر لملاحظة الابواغ الكلاميدية فضلاً عن الخيوط (Sullivan *et al.*, 1995).

### 4.4.2.3 اختبار النمو على وسط السابرويد دكستروز اكار مع

#### السايكلوهيكسامايد

أخذ جزء صغير من مستعمرة عمرها 24 ساعة وزرعت بالتخطيط على وسط ال SDA الحاوي على السايكلوهيكسامايد ، وحضنت الأطباق تحت درجه حراره 37 م° ولمدة 24-48 ساعه، النمو على هذا الوسط دليل على مقاومة العزلة للسايكلوهيكسامايد ( McGinnis, 1980 ).

### 5.4.2.3 - اختبار نمو العزلات تحت درجة حرارة 45 م

أجري هذا الاختبار وذلك بإخذ جزء صغير من مستعمرة نامية على وسط SDA وزعت بالتخطيط على اطباق حاوية على وسط SDA ، حضنت هذه الاطباق تحت درجة حرارة 45 م لمدة 24- 48 ساعة ، فالنمو بدرجة الحرارة هذه يعد صفة تشخيصية لبعض أنواع الخمائر ( Gales et al.,1999).

### 5.2.3 : الاختبارات الكيموحيوية (API Candida Biochemical test

Kit)

أستخدم API Candida Kit لغرض الاختبارات الكيموحيوية للعزلات المشخصة حيث تم اختبار أربع عزلات وهي : *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* و *C. albicans* وكما يلي :

- 1- حضرت صناديق التحضين ووضع فيها 5 مل من الماء المقطر المعقم لتوفير الرطوبة للعزلات .
- 2- وضعت الأشرطة داخل صناديق التحضين .
- 3- حضر العالق الخميري بنقل جزء من المستعمرة التي تم تنشيطها على وسط SDA بعمر 24-48 ساعة بدرجة 37 م بواسطة الناقل الجرثومي الى الانابيب الحاوية على 0.85 % كلوريد الصوديوم (2مل) وعدلت بالمقارنة مع مقياس مكفر لاند الانبوب رقم (3).
- 4- نشر العالق داخل حفر الأشرطة بواسطة ماصة دقيقة وعلم كل شريط برقم العزلة .
- 5- تغطى الأختبارات الـ10 بواسطة زيت معدني ، تغلق الأشرطة وحضنت بدرجة 37 م لمدة 18-24 ساعة تحت ظروف لاهوائية .
- 6- بعد انتهاء مدة التحضين تم مقارنة النتائج مع الأشرطة القياسية المجهزة من قبل الشركة المصنعة.

### 6.2.3 : تشخيص العزلات باستعمال تقنية جهاز الفايترك

تم اجراء التشخيص باستعمال نظام Vitek 2 Compact شكل ( 2 ) وهو نظام تشخيص آلي بالكامل يستعمل في تشخيص الخمائر الطبية والبكتريا وكذلك يستعمل في اختبار الحساسية



للمضادات الحيوية ، حيث يتم إعطاء النتائج على شكل تقرير وبدقة عالية بالمقارنة مع الطرائق التقليدية في التشخيص التي تستغرق وقتا طويلا ولا تعطي نتائج دقيقة مقارنة بنظام Vitek system لكونه يستند على مجموعة من التفاعلات الكيموحيوية حيث يعطي نتائج دقيقة خلال عدة ساعات (Venugopal *et al.*, 2021 ; Kord *et al.*, 2020 ; Kaur *et al.*, 2016).



شكل ( 2 ) :جهاز الفايتهك® VITEKKh

شخصت الخمائر بهذا النظام باستعمال البطاقة المولدة للألوان إذ تحتوي على 64 حفرة كل حفرة تمثل المادة الأساس أو الوسط الخاص باختبار معين ، نتائج هذه الاختبارات تعطي صورة كاملة عن التفاعلات الكيموحيوية لأنواع من خلال مقارنتها مع قاعدة بيانات شاملة من قبل هذا النظام كما وتحتوي كل بطاقة على أنبوب ناقل لغرض التلقيح ( Sanguinetti *et al.*, 2007 ; Cuenca- Estrella *et al.*, 2010 ) ، حيث شخصت (8) أنواع (ملحق 2 ) وتم إجراء التشخيص في مختبر البيان (البصرة) ، وأجريت خطوات تشخيص الخمائر بهذا النظام كالتالي :

### Preparation of Yeast Suspension

### 1- تحضير العالق الخميري

تم تحضير العالق بأخذ جزء صغير من المستعمرات النامية على وسط SDA عمرها 24-48 ساعة بواسطة Loop ووضعها في أنبوبة معقمة تحتوي على 3 مليلتر من NaCl بتركيز 4.50 - 5.00 % ، وتم قياس عكوره العالق باستخدام جهاز قياس العكورة ومقارنة مع محلول ثابت العكورة مكفر لاند القياسي ( $3 \times 10^9$  خلية/مل).

## Inoculation of the card

## 2- تلقيح البطاقة

لقت البطاقة الخاصة بالجهاز حسب الخطوات التالية :

a- نقل العالق والبطاقة إلى حامل الجهاز ووضعهما في الأماكن المخصصة لهما ، بعد ذلك تم ربط البطاقة والعالق بواسطة قناة توصيل رفيعة جدا ويدخل رمز البطاقة بواسطة الماسح الضوئي.

b- وضع الحامل في حجرة خاصة مفرغة من الهواء Vacuum chamber ، إذ أن عملية تفريغ الهواء تعمل على نقل الميكروبات إلى البطاقة فضلاً عن توزيعها بالحفر الموجودة فيها.

## Card Sealing and Incubation

## 3- ختم البطاقة وحنها

يتم قطع قناة التوصيل آلياً من قبل الجهاز خلال مدة 10 – 15 دقيقة ويتم ختم البطاقة أي إحكام اغلاق منفذ القناة لمنع حدوث أي تسرب ، ثم تنقل إلى الحاضنة وتحضن البطاقات بدرجة 35 م° .

## Optical System

## 4- النظام البصري

يعمل هذا النظام في الجهاز على تسقيط عدد من الحزم الضوئية اتجاه البطاقة لغرض التعرف على الأطوال الموجية للتفاعلات وترجمتها من خلال التغيرات اللونية والعمودية فضلاً عن النواتج الأيضية .

## 5- نتائج الاختبار وتقنيات التحليل The Test Results and Analysis Techniques

يعمل الجهاز على حساب النتائج ومقارنتها بالنتائج المخزونة في الجهاز التي تضم العديد من قياسات الاختبارات ، ولعدد كبير من السلالات النامية في ظروف مختلفة التي تم عزلها من أماكن مختلفة ، ويظهر الجهاز نتائج الاختبارات بشكل + ، - ، ( + ) ، ( - ) وتشير النتيجة بين الأقواس إلى أن الاختبار ضعيف.

## 6- تحديد مستوى تشخيص الكائن Determine the Level of Microorganism

## Identification

يحدد مستوى تشخيص الكائن من خلال خارطة من الاختبارات ، ومن ثم تقارن بالصفات التصنيفية للجهاز فيعطى الكائن نسبة احتمالية ومستوى الثقة فمثال اذا كانت نسبة الاحتمالية 96 - 99 % فهي عند مستوى الثقة ممتاز ( Bobenchik et al., 2017 ).

### 7.2.3: التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis

#### 1.7.2.3 - استخلاص ال DNA من الخمائر المعزولة

تم الاستخلاص بإتباع طريقة ( Mirhendi *et al.* (2006) وكما يلي :

- 1- وضع 300 مايكروليتر من الدارئ المحلل للخلايا في أنبوبة إندروف معقمة حجم 1.5 مل.
- 2- أخذ مقدار ناقل مملوء Loop full من مستعمرة خميرية وعلق في الدارئ أعلاه.
- 3- أضيف 300 مايكروليتر من مزيج كلورامفينيكول:فينول (1:1) والذي حضر انيا.
- 5- تم استعمال جهاز ال Vortex لمدة 5 دقائق لتكسير الخلايا بصورة تامة ، وتحرر ال DNA خارجها.
- 6- وضع الأنبوب في جهاز الطرد المركزي 10000 دورة بالدقيقة لمدة 5 دقائق لترسيب حطام الخلايا.
- 7- بعد ذلك أخذت الطبقة المائية العليا بواسطة ماصة دقيقة ووضعت في أنبوب إندروف جديد.
- 8- أضيف لها حجم مساو من الكلوروفورم وأعيدت عملية الطرد المركزي مرة أخرى.
- 9- أخذت الطبقة العليا ووضعت في أنبوب إندروف جديد وأضيف لها حجم مساو من ISO-Propanol وأجري لها طرد مركزي اخر.
- 10- تم التخلص من السائل الموجود في الأنبوب ، بعدها غسل الراسب بواسطة 200 مايكروليتر كحول أثيلي 70% وأعيدت عملة الطرد المركزي.
- 11- أخيرا تم التخلص من الكحول الأثيلي وترك الأنبوب ليجمف بالهواء لمدة 10-15 دقيقة ، ثم أضيف له 100 مايكروليتر من الدارئ TE وحفظت في الثلاجة .

#### 2.7.2.3 - الترحيل الكهربائي لل DNA Electrophoresis of DNA

تم إجراء الترحيل الكهربائي حسب طريقة ( Sambrook *et al.* (1989) وكما يلي:

- 1- وزن 1غم من الاكاروز وتمت إذابته في 100مل من TBE ليصبح بتركيز 1 x .

- 2- سخن المزيج باستخدام جهاز Microwave الى أن أذيب الاكاروز بصورة تامة ، بعد ذلك ترك المزيج ليبرد 40-50م ثم اضيف اليه 0.5 مايكرو لتر من صبغة Ethidium bromide.
- 3- حضر قالب الترحيل الكهربائي وربط المشط في أحد نهايتيه لعمل الحفر داخل الاكاروز ومن ثم صب محلول الهلام المحضر ثم ترك ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة ، بعد ذلك رفع المشط والقطع المطاطية وأعيد القالب في مكانه بجهاز الترحيل وغمر بمحلول TBE حتى وصل الى ارتفاع 2-3 ملم تقريبا.
- 4- مزج 2 مايكرو لتر من صبغة Bromophenol Blue و 5 مايكرو لتر من ال DNA ومن ثم وضع المزيج في حفر الاكاروز .
- 5- ربط أقطاب جهاز الترحيل الى مجهز القدرة وتثبيت قوة التيار الكهربائي 75 فولت وترك الهلام لمدة 30 دقيقة حيث يدل خروج الفقاعات الهوائية من حوض الترحيل الكهربائي على بدء عملية الترحيل .
- 6- فحص هلام الاكاروز تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة وجود ال DNA .

### 3.7.2.3 - اختبار تفاعل سلسلة انزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)

تم إجراء الاختبار حسب طريقة ( Mirhendi *et al.* ( 2006 ) بخلط مواد التفاعل في ابندروف حجم 100 مايكرو ليتر جدول ( 4 ) اعتمادا على النشرة المرفقة مع Green Master Mix واستخدام البادئين ITS1 و ITS4 جدول ( 5 ) ، بعد ذلك أضيف للخليط Mineral oil / 25 مايكرو ليتر، ثم طردت العينات مركزيا بجهاز الطرد المركزي الدقيق 10000 دورة / الدقيقة لمدة 30 ثانية لضمان تجانس جميع المواد ، وضعت العينات بجهاز المضخم الحراري PCR Sprint Thermo cycler وشغل الجهاز وفق البرنامج الموضح في الجدول ( 6 ) استغرقت هذه العملية ساعة واحدة وخمس وعشرين دقيقة ، بعد انتهاءها أجريت عملية الترحيل الكهربائي بعد أن حضر هلام الاكاروز بخلط 0.5 غم مع 25 مل من محلول TBE ثم سخن على الصفيحة الساخنة وبعد تبريده الى 40-50 م أضيف له 0.5 مايكرو ليتر من صبغة Ethidium Bromide وصب في قالب الترحيل ، بعد ذلك أخذ 1 مايكرو ليتر من الصبغة و 5 مايكرو ليتر من Ladder ومزج الأثنان ثم وضعها في الحفرة الأولى لهلام الاكاروز وأخذ 9 مايكرو ليتر من ال DNA ووضع في الحفرة الثانية وهكذا لبقية العينات بعد ذلك مرر تيار

كهربائي في قالب الترحيل وبعد 60 دقيقة أُجري الكشف عن الحزم الناتجة من عملية التضخيم باستخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية وتم تصويرها . وأرسلت عينات ال DNA الى مركز psomagen في الولايات المتحدة لمعرفة تسلسل القواعد النيتروجينية للعينات وبعد ظهور النتائج أرسلت الى بنك الجينات NCBI وتم تسجيلها وعمل شجرة وراثية باستعمال برنامج MEGA لكل عينة لمعرفة مدى تطابقها مع العزلات المحفوظة في البنك.

جدول ( 4 ) يمثل مواد التضخيم المستخدمة في

#### تقنية ال PCR

المواد المستخدمة	التركيز	الحجم
Go Taq Green Master Mix	-	12.5 مايكرو ليتر
Primer Forward	10 p mole	1 مايكرو ليتر
Primer Revers	10 p mole	1 مايكرو ليتر
DNA template	20 n g	5 مايكرو ليتر
Nuclease free water	-	5.5 مايكرو ليتر
Mineral oil	-	25 مايكرو ليتر
Total reaction volume		50 مايكرو ليتر

جدول ( 5 ) تتابع القواعد النيتروجينية في البادئين ITS1 و ITS4

المستخدمين في عملية التضخيم

Primer	Primer Sequences(5-3)	Length	Tm	Ta
ITS1	F-5-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3	19 base	62C°	57C°
ITS4	R-5-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3	20 base	58C°	53C°

## جدول ( 6 ) برنامج عملية ال PCR المستخدم في

## الدراسة الحالية

Sr. No.	Steps	Temperature	Time	No.of cycles
L	Denaturation1	94C°	5 min.	1
L1	Denaturation2	94C°	30 Sec.	25
LII	Annealing	56C°	45 Sec.	25
IV	Extension	72C°	1 min.	25
V	Final Extension	72C°	7 min.	1

**3.3 : الكشف عن المركبات الكيميائية في الخمائر باستخدام تقنية ال GC - MS**

تم تنمية الخمائر على وسط البطاطا دكستروز السائل (PDB) وذلك لغرض الحصول على مركبات الأيض الثانوي ، حضّرت دوارق زجاجية حاوية على 250 مل من الوسط ، بعد ذلك عقم الوسط وبردت الدوارق ثم أضيف 5 أقراص (6 ملم) أخذت من مستعمرات الخمائر ناميه على وسط SDA عمرها (24-48) زرعت بطريقة التخطيط على هذا الوسط وبمعدل ثلاث مكررات لكل نوع حيث تم اختبار 5 أنواع من الخمائر المعزولة وهي (*C. parapsilosis* و *C. albicans* و *C. krusei* و *C. glabrata* و *C. kefyr*) ، وحضّنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بدرجة 25 م و 150 دورة في الدقيقة لمدة أربعة عشر يوماً ، وبعد انتهاء مدة الحضن تم الترشيح باستعمال ورقة ترشيح نوع Whatman No.1 وباستعمال جهاز Vacuum وذلك لتنقية الراشح الخميري ، ثم مزج الراشح مع خلاص الاثيل بنسبة (1:1) باستعمال قمع فصل زجاجي معقم وتحت ظروف معقمة ثم جمعت الطبقة العضوية ووضعت في أطباق زجاجية في الحاضنة بدرجة 37م وتركت لحين الجفاف ، بعد ذلك قشطت المادة الجافة ووضعت في أنابيب زجاجية معقمة (Kadhim et al., 2016) تم الكشف عن مركبات الأيض الثانوي للخمائر باستعمال جهاز GC-MS (تم إجراء الكشف في مختبرات نهران عمر/البصرة).

# الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

*Result & Discussion*

## 4: النتائج والمناقشة

## 1.4 : نتائج الدراسة المسحية للمبيضات المعزولة خلال الدراسة

نظراً لتزايد الإصابة بداء المبيضات المهبلي لذا أجريت هذه الدراسة لغرض عزل وتشخيص بعض أنواع خميرة المبيضات من النساء اللاتي تعاني من التهابات مهبلية ، تم في هذه الدراسة جمع 100 عينة سريرية من فئات عمرية ( 15-65 ) من النساء في مركز المحافظة ، أظهرت نتائج الزرع المختبري أن 45 مسحة مهبلية بواقع 45% من مجموع 100 مسحة أظهرت نتيجة موجبة مقابل 55 مسحة بواقع 55% أظهرت نتيجة سالبة ، وقد يعزى ذلك الى تشابه الأعراض بين التهاب المهبل الناتج عن أنواع جنس المبيضات *Candida spp.* والتهاب المهبل البكتيري ومن ثم يؤدي الى نتيجة سالبة للزرع المختبري لا تتفق مع التشخيص السريري كما موضح في جدول رقم ( 7 ) ، وبينت الدراسة أن عدد الاناث المتزوجات المصابات كنّ 35 أنثى 10 منهن نساء حوامل و25 من غير الحوامل ، اما الغير متزوجات فكّن 10 نساء مصابات.

كما هو واضح من جدول ( 7 ) معدل الإصابة كان مرتفع ضمن الفئة (26 - 35) ، انتشار الإصابة ضمن هذه الفئة من المتوقع أن تكون عالية كون النساء هنا تكون في ذروة النشاط الجنسي والانجاب حيث إن الاناث في سنوات الانجاب الأكثر عرضة للإصابة بداء المبيضات المهبلي كما أن معظمهن في هذا العمر قد تكون متزوجة أو حامل أو تستخدم حبوب منع الحمل التي تزيد من فرص التعرض للإصابة أكثر من الفئات العمرية الأخرى ( Mohamed and THWANI, 2010 ; Emeribe *et al.*, 2015 ; Abdullah, 2020 ).



جدول ( 7 ) الفئات العمرية وعدد العينات المأخوذة من النساء المصابات  
بالتهابات الجهاز التناسلي خلال هذه الدراسة

النسبة المئوية على أساس العدد الكلي الموجب %	عدد النساء الغير متزوجات	عدد النساء الغير حوامل	عدد النساء حوامل	عدد العينات الموجبة	عدد العينات	الفئات العمرية
33.33	5	8	2	15	35	25-15
44.44	3	10	7	20	37	35-26
11.11	1	3	1	5	11	45-36
6.66	1	2	-	3	12	55-46
4.44	-	2	-	2	5	65-56
100	10	25	10	45	100	المجموع

واعتمادا على التشخيص المظهري والاختبارات التشخيصية و التشخيص الجزيئي تم عزل (6) أنواع من الخمائر في هذه الدراسة حيث تبين أن النوع *C. albicans* الأكثر تردداً حيث تم عزل 20 عزلة بنسبة تردد بلغت 44.4 % تلاه النوع *C. glabrata* بـ 8 عزلات ونسبة تردد بلغت 17.8 % ، أما الفطر *C. dubliniensis* فقد شخصت منه 7 عزلات وبنسبة تردد 15.6 % واطهر الفطر *C. kefyr* اقل عدد من العزلات و اقل نسبة تردد (عزلتين و 4.4 % على التوالي) كما موضح بالجدول ( 8 ).

كما يلاحظ من الجدول ( 8 ) ارتفاع نسبة ال *C. albicans* وسيادته على بقية الأنواع التي تم عزلها خلال هذه الدراسة ومن ثم هي المسبب الرئيسي لداء المبيضات المهبطي وهذا يتفق مع ( Bitew and Abebaw, 2018 ) في تفوق ال *C. albicans* على بقية العزلات السريرية الأخرى ، يعزى ذلك لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة الضرورية لزيادة قدرتها الإراضية فقدرتها على التحول من الشكل الخميري أحادي الخلية الى الشكل الخيطي متعدد الخلايا أحد عوامل الضراوة المهمة حيث يلعب كلا النمطين دوراً مهماً في الإراضية فتبدء الخيوط بالنمو واستعمار سطوح الأغشية المخاطية ( Brown et al., 2014 ; Hall, 2015 ; Das et al., 2022 ; Czechowic et al., 2022 ; Gonçalves et al., 2016 ) ، وكذلك قابليتها على الالتصاق بأغشية الخلايا تكون عالية مقارنة بالأنواع الأخرى وهذا قد يعزى الى وجود عدد من المستقبلات السطحية التي تلعب دوراً مهماً في زيادة قابليتها على الالتصاق بخلايا النسيج الطلائي للمضيف ( Zhao et al., 2022 ) ، فضلاً عن قدرتها على إفراز الانزيمات ومنها أنزيم Phospholipase المسؤول عن تحليل الدهون الفوسفاتية التي تعد

المكون الرئيسي لغشاء الخلايا الطلائية فضلا عن قابليتها على إفراز أنزيم Aspartic Proteinase المسؤول عن تحليل البروتين ومن ثم يسرع من عملية اختراق خلايا الخميرة الى داخل أنسجة العائل واحداث الإصابة ( da Silva Dantas *et al.*, 2016 ) ;  
( Gharaghani *et al.*, 2022 ; Jafarian *et al.*, 2021 ).

جدول ( 8 ) عدد أنواع وعدد عزلات جنس *Candida* المعزولة من النساء المصابات بالتهابات الجهاز التناسلي خلال هذه الدراسة ونسبة ترددها

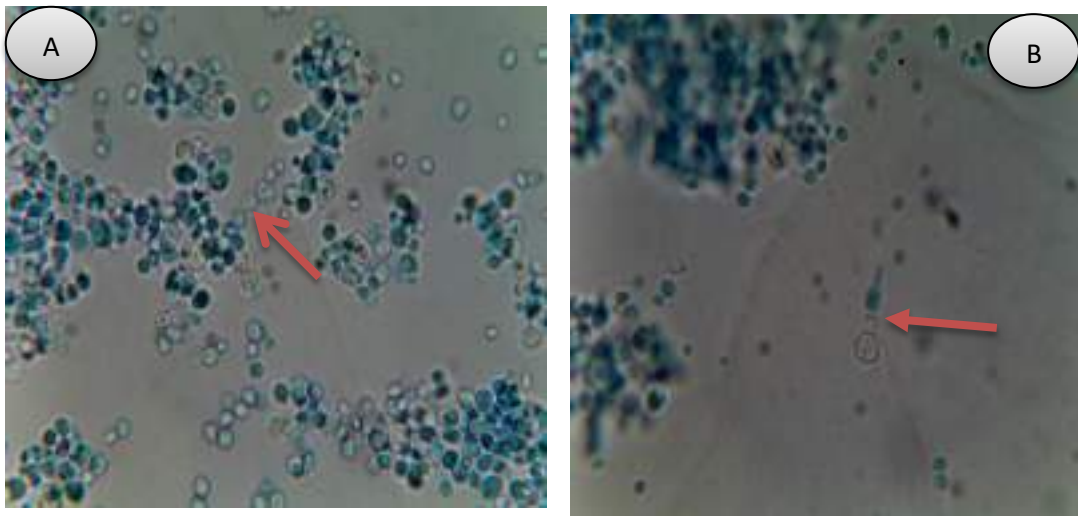
الأنواع	عدد العزلات	التردد %
<i>Candida albicans</i>	20	44.4
<i>C. glabrata</i>	8	17.8
<i>C. dubliniensis</i>	7	15.6
<i>C. parapsilosis</i>	5	11.1
<i>C. krusei</i>	3	6.7
<i>C. kefyr</i>	2	4.4
المجموع	45	100

#### 2.4 : تشخيص المبيضات المعزولة مظهرها بالزرع المختبري وبالفحص المجهرى

تم التعرف على المبيضات بعد نموها على وسط SDA مع الكلورامفينيكول بدرجة 37 م° لمدة 24-48 ساعة ، حيث ظهرت العزلات النامية على هذا الوسط في العزل الأولي بشكل مستعمرات دائرية محدبة ، براقه بيضاء إلى كريميه ، ملساء ذات قوام زبدي كما موضح بالشكل (3) ، وهذا يتفق مع صفات الخمائر التي وصفها ( Zafar *et al.* ( 2017 ) ، وظهرت الخلايا تحت المجهر بعد تصبيغها بصبغة اللاكتوفينول الزرقاء بأشكال كروية الى بيضوية أو طويلة مفردة أو متبرعمه أو اسطوانية متطاولة ، كما يلاحظ أحيانا وجود غزل فطري كاذب والتراكيب التكاثرية الخضرية لبعض العزلات كما موضح بالشكل ( 4 و 5 و 6 ) وهذه الصفات هي التي وصفت بها الخمائر من قبل ( kurtzman *et al.* ( 2011 ).



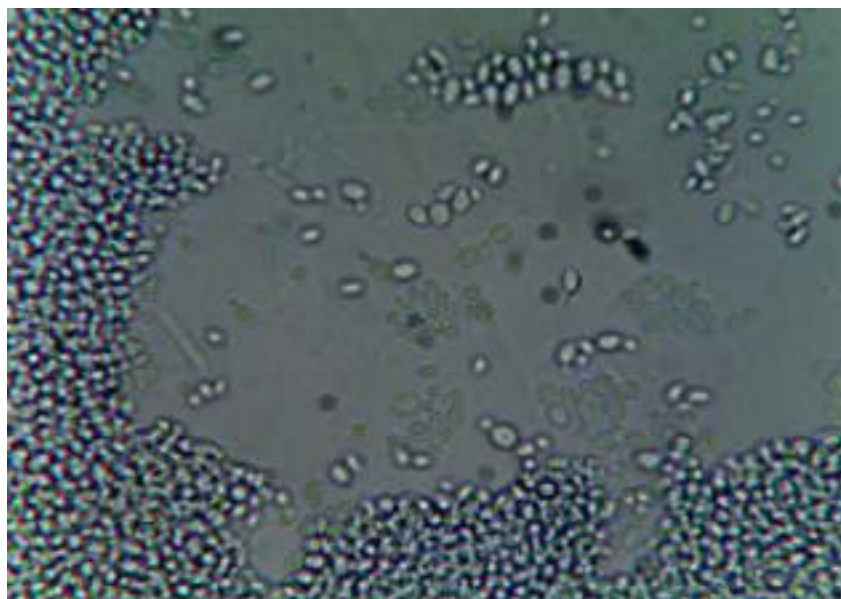
شكل ( 3 ) : مستعمرات خميرية نامية على وسط SDA



شكل ( 4 ) : *C. albicans* تحت المجهر قوة تكبير 100x (A): الخيوط الفطرية الكاذبة (B) تبرعم الخلايا



شكل ( 5 ) :خلايا *C.kruesi* تحت المجهر قوة تكبير 100x

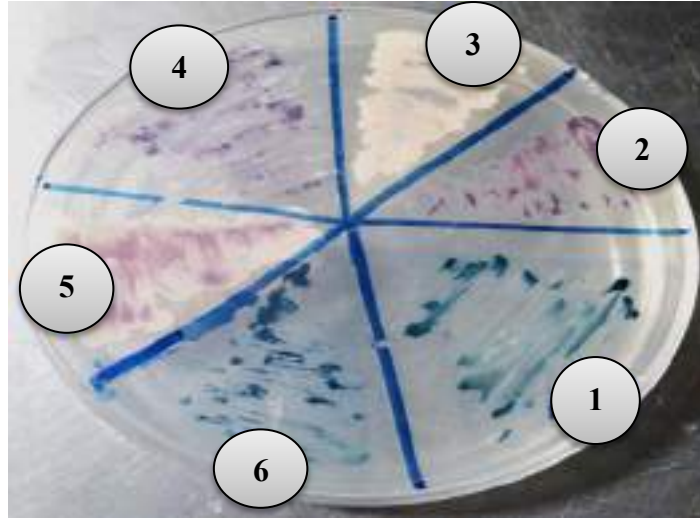


شكل ( 6 ) : التبرعم في *C. kefyri* تحت المجهر قوة تكبير 100x

### 3.4: الاختبارات التشخيصية

#### 1.3.4 - اختبار النمو على وسط *Chrome agar Candida*

يعد اختبار نمو أنواع جنس *Candida* على الوسط *Chrome agar* من الاختبارات الكيموحيوية الفعالة والسريعة في تشخيص أنواع المبيضات بعد زراعة العزلات على هذا الوسط بالمقارنة مع الاختبارات الأخرى حيث يستخدم كوسط عزل انتقائي للتشخيص المباشر لأنواع المبيضات بالاعتماد على الألوان التي تظهرها هذه الأنواع خلال 48 ساعة حيث تمكنت العزلات المختبرة من النمو بشكل جيد على هذا الوسط وأظهرت العزلات ألوان مختلفة ، اذ أظهرت 20 عزله التي تعود الى النوع *C. albicans* لون الأخضر الفاتح ، وظهرت 8 عزلات بلون ابيض - كريمي التي تمثل النوع *C. glabrata* ، في حين ظهرت 5 عزلات بلون بنفسجي التي تنتمي الى النوع *C. parapsilosis* ، بينما أعطت 3 عزلات لون وردي محمر التي تعود الى النوع *C. krusei* ، كما لوحظ ان عزلتين ظهرت بلون بنفسجي غامق والتي تمثل النوع *C. kefyfyr* ، وظهرت 7 عزلات بلون اخضر غامق التي تعود الى النوع *C. dubliniensis* ، كما موضح بالشكل ( 7 ) وهذا يتفق مع (Tintelnot et al., 2000 ; Stefaniuk ; Sariguzel et al., 2015 ; Murray et al., 2005 ; Khan et al., 2004 et al., 2016) ويعزى ظهور الألوان المختلفة لأنواع المبيضات لاحتواء هذا الوسط على مادة الـ Chromogenic mix التي هي المادة الأساس التي تعمل عليها الانزيمات التي ينتجها كل نوع ، إفراز هذه الأنزيمات يؤدي الى فصل المواد الأساس الموجودة في هذا الوسط وبالتالي ظهور مستعمرات العزلات بالوان مختلفة (Jabra-Rizk et al., ; Beighton et al., 1995) (2001).

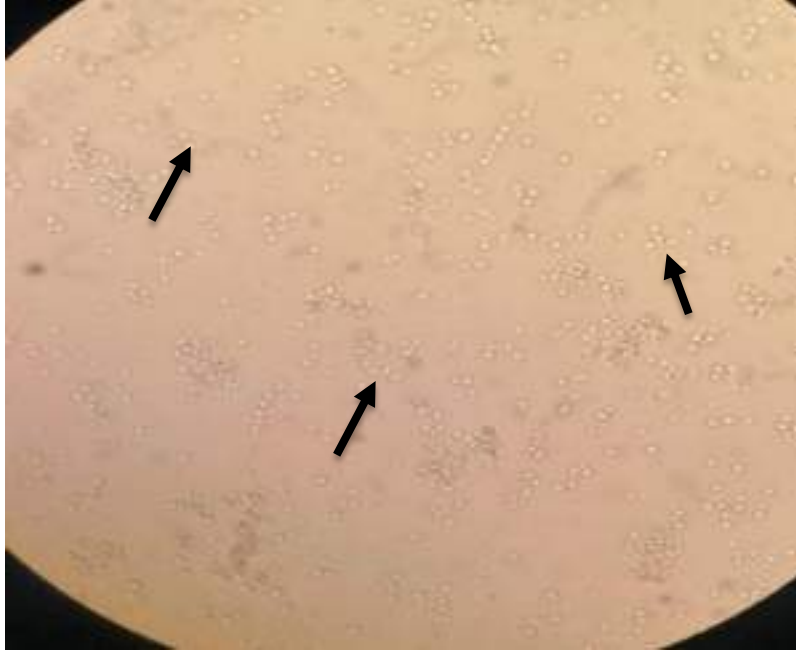


شكل ( 7 ): أنواع جنس *Candida* المعزولة خلال هذه الدراسة على وسط Chrome agar

- 1- *C. albicans* 2- *C. parapsilosis* 3- *C. glabrata* 4- *C. kefyr*  
5- *C. krusei* 6- *C. dubliniensis*

#### 2.3.4 - اختبار تكوين أنبوب الإنبات

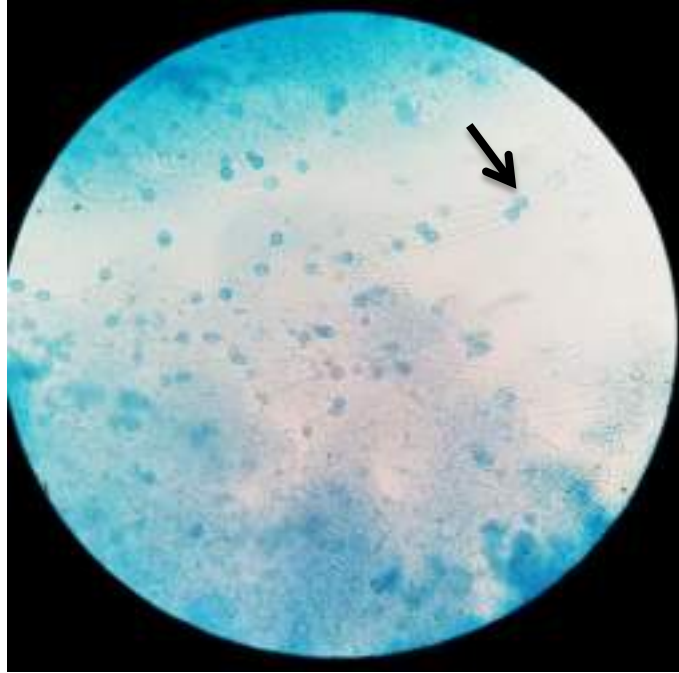
هو اختبار أستخدم للتمييز بين أنواع المبيضات بعد حضنها في وسط بروتيني ومن ثم يرتبط تكوين أنبوب الإنبات بوجود المادة المحفزة وهي مصل الدم ، وأنبوب الإنبات عبارة عن امتداد خيطي من الخلية الأم ، وقد أظهرت نتائج هذا الاختبار قدرة النوعين *C. albicans* و *C. dubliniensis* على تكوين أنبوب الإنبات بالمقارنة مع الأنواع الأخرى كما موضح بالشكل (8) حيث لوحظ بشكل يشبه مرآة اليد كما وصفه (Mackenzie, 1962) ولذا يعد من الصفات التشخيصية المميزة لكلا النوعين في جنس *Candida* وهذا يتفق مع (Martines et al., 2002 ; Akortha et al., 2009 ; Kumar and Shukla, 2010 ) ، ووجد أن أنبوب الإنبات يعزز الأمراض لكونه يلعب دوراً مهماً في عملية اختراق طبقة الخلايا المبطنة للجسم والانسجة ومن ثم الوصول الى مجرى الدم كما يعتقد بانه ضروري لتغذية الخميرة ( Jung et al., 2020 ).



شكل ( 8 ) : أنبوبة الإنبات في الخميرة *C.albicans* (السهم)

#### 3.3.4 - اختبار النمو على وسط الكازئين اكار

بينت نتائج هذا الاختبار بأن العزلات التي تعود للنوعين *C. albicans* و *C. dubliniensis* كونت أبواغ كلاميدية Chlamydospores بالمقارنة مع بقية الأنواع التابعة لجنس *Candida* التي لم تمتلك القابلية على تكوين هذه الابواغ ومن ثم تعد صفة تشخيصيه لهذين النوعين ، كما موضح بالشكل ( 9 ) ، ويعزى تكون هذا النوع من الأبواغ بسبب الظروف البيئية غير الملائمة ، والمعروف أن هذه الابواغ عباره عن تراكيب مثنخة الجدار لها القدرة على تحمل الظروف البيئية غير الملائمة لنمو الخمائر والقيام بفاعلياتها الحيوية ومن ثم استمرارها بالحياة لذلك تلجأ هذه الأنواع من الخمائر إلى تكوين الأبواغ الكلاميدية حيث تستعيد نشاطها عند عودة الظروف البيئية الملائمة (Al-Rubyae et al., ; Martines et al., 2002). (2013).



شكل ( 9 ) : يوضح الأبواغ الكلاميدية Chlamydozoetes التي كونتها خميرة *C. albicans* على وسط الكازئين اكار

#### 4.3.4 - اختبار النمو على وسط السابرويد دكستروز اكار مع السايكلوهيساماييد

أظهرت نتائج هذا الاختبار ان العزلات التي تعود إلى النوعين *C. albicans* و *C. dubliniensis* تمكنت من النمو على هذا الوسط بالمقارنة مع عزلات الأنواع الأخرى التي لم تستطيع النمو لعدم قدرتها على مقاومة السايكلوهيساماييد ومن ثم عدم قدرتها على تخليق البروتين كون السايكلوهيساماييد يمتاز بقدرته على تثبيط تخليق البروتين (Dal Pizzol et al.,2021).

#### 5.3.4 - اختبار نمو العزلات تحت درجة حرارة 45 م

أظهرت نتائج النمو على وسط SDA تحت درجة حراره 45 م أن العزلات التي تعود للأنواع *C. albicans* و *C. glabrata* و *C. krusei* و *C. kefyr* نمت بصورة جيدة تحت هذه الدرجة في حين العزلات التي تمثل النوع *C. parapsilosis* كان نموها ضعيفاً عند هذه الدرجة ، بينما عزلات النوع *C. dubliniensis* لم تنمو تحت هذه الدرجة كما موضح في جدول (9)، ويعزى ذلك كون درجة الحرارة العالية تؤثر على البروتينات الداخلة في تركيب غشاء الخلية الذي بدوره يتكون من طبقتين من البروتينات ومن ثم عند ارتفاع درجة الحرارة يحصل تخثر للبروتين وهذا بدوره يؤدي الى تغيير طبيعته ويؤدي ذلك الى التأثير على نفاذية



الغشاء الخلوي وينتج عن هذا تأثير جميع العمليات الحيوية ومن ثم يؤدي ذلك الى وقف النمو أو موت الخميرة (Rau and Varaiya, 2009 ; AI-Mosaid *et al.*, 2001).

جدول ( 9 ) قابلية أنواع خميرة الـ *Candida* على النمو تحت درجة حرارة 45 م°

قابلية النمو	النوع
++	<i>C. albicans</i>
++	<i>C. glabrata</i>
++	<i>C. krusei</i>
++	<i>C. kefyr</i>
+	<i>C. parapsilosis</i>
-	<i>C. dubliniensis</i>

++ نمو جيد ، + نمو ضعيف ، - لم يستطع النمو

#### 4.4:الاختبارات الكيموحيوية ( API *Candida* Kit ) Biochemical test

تم استعمال Analytical Profile Index (API) لأجراء الاختبارات البيوكيميائية لغرض تشخيص الخمائر على مستوى النوع العائدة لجنس الـ *Candida* ، يتكون شريط الـ API من 10 اختبارات بيوكيميائية خمس اختبارات تمثل carbohydrate-acidification ( glucose, galactose, saccharose, trehalose, and raffinose ) وخمس اختبارات انزيمية (  $\beta$ -maltosidase,  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -xylosidase,  $\beta$ -glucuronidase and urease ) . تظهر النتائج بعد 24 ساعة من الحضان وذلك من خلال مقارنتها مع النتائج القياسية المجهزة من قبل الشركة المصنعة ( Madhavan *et al.*, 2011 ; Verweij *et al.*, 1999 )، نتائج هذا الاختبار موضحة في الجدول ( 10 ) والشكل ( 10 ) وقد اتفقت هذه النتائج مع دراسة Haw *et al.* ( 2012 ) ولكنها لم تتفق مع Hassan *et al.* ( 2017 ) لأن النوع *C. albicans* التي تم عزلها خلال هذه الدراسة أظهرت نتيجة موجبة لاختبار  $\beta$ -xylosidase وكذلك النوع *C. glabrata* أعطت نتيجة موجبة لاختبار galactose ، اما النوع *C. parapsilosis* أظهر نتيجة سالبة لأختبار trehalose و  $\beta$ -xylosidase .

جدول ( 10 ) نتائج اختبار ال *Candida* API لأنواع الخمائر المعزولة خلال هذه الدراسة

الاختبارات	العزلات			
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C.dublinsiensis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
GLU	+	+	+	+
GAL	+	+	+	+
SAC	+	-	-	+
TRE	-	+	-	-
RAF	-	-	-	-
$\beta$ -MAL	-	-	-	-
$\alpha$ - AMY	-	-	-	-
$\beta$ -XYL	+	-	-	-
$\beta$ -GUR	-	-	-	-
URE	-	-	-	-



شكل ( 10 ) : نتائج اختبار ال API Candida لأنواع الخمائر

المعزولة خلال هذه الدراسة

1-*C. glabrata* 2-*C. parapsilosis* 3-*C. dubliniensis* 4-*C. albicans*

#### 5.4 : تشخيص العزلات باستعمال جهاز الفايترك

للتأكد من تشخيص العزلات تم تشخيصها باستعمال نظام الفايترك ، حيث أشار Kord et al. (2020) الى أن التشخيص بهذه التقنية يوفر نتائج سريعة ودقيقة بالمقارنة مع التقنيات الأخرى ، وأشار كذلك الى ضرورة استعمال هذه التقنية في تشخيص الأحياء المجهرية كالفايروسات والبكتيريا والخمائر.

جدول ( 11 ) نتائج تشخيص العزلات الخميرية حسب نظام

#### Vitek2 Compact System

رقم العينة	التشخيص المظهري	التشخيص بالفايترك	الاحتمالية
1	<i>C. glabrata</i> 1	<i>C. glabrata</i> 1	88%
2	<i>C. glabrata</i> 2	لم تشخص	-
3	<i>C. albicans</i> 1	<i>C. albicans</i> 1	99%
4	<i>C. kefy</i>	<i>C. kefy</i>	97%
5	<i>C. albicans</i> 2	<i>C. albicans</i> 2	98%
6	<i>C. glabrata</i> 3	<i>C. kefy</i>	98%
7	<i>C. krusei</i>	<i>C. kefy</i>	96%
8	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	95%
9	<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. krusei</i>	94%

كما موضح بالجدول أعلاه أظهرت النتائج دقة النظام في تشخيص النوع *C. glabrata* 1 بنسبة 88% ، اما العزلة العائدة للنوع *C. glabrata* 2 فأنها لم تشخص من قبل النظام ، في حين عزلة النوع *C. albicans* 1 شخضت بدقة 99% ، اما النوع *C. kefy* فشخص بنسبة 97% ، في حين النوع *C. albicans* 2 شخص بدقة 98% ، اما بالنسبة للنوع *C. parapsilosis* فشخص بدقة 95% ، اما بالنسبة لعزلات الأنواع *C. glabrata* 3 و *C. krusei* و *C. dubliniensis* فشخصت بهذا النظام على انها (*C. kefy* و *C. kefy* و *C. dubliniensis* و *C. krusei* على التوالي).

#### 6.4: استخدام تقنية ال PCR لتشخيص عزلات أنواع خميرة المبيضات باستخدام

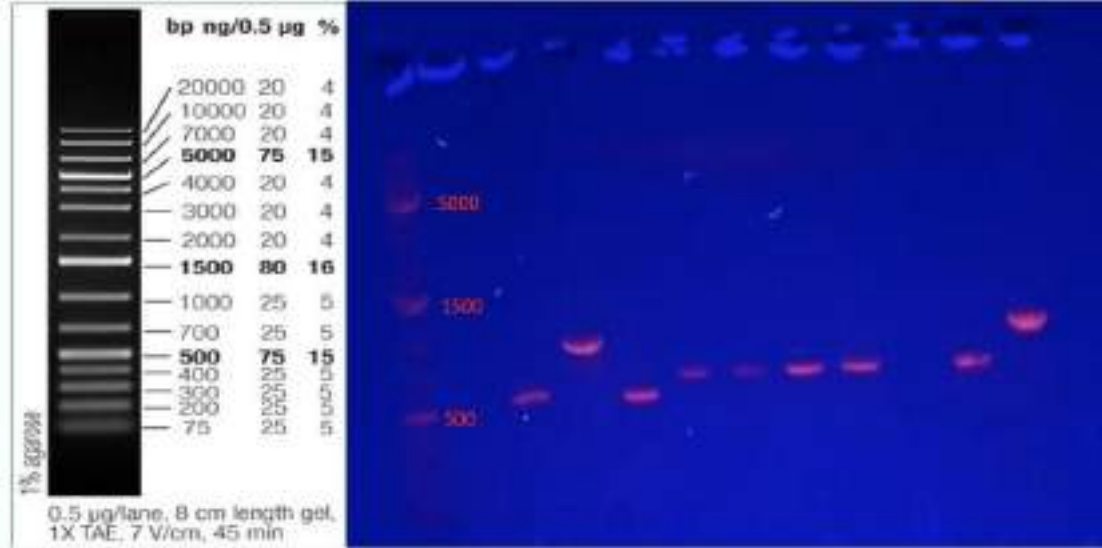
##### البادئ ITS

نظراً إلى أن الطرق التقليدية في تشخيص الأنواع كالفحص المظهري والاختبارات التشخيصية تحتاج كمية أكبر من الخلايا كما وانها تستغرق وقتاً مطولاً وجهداً فضلاً عن ذلك في بعض الحالات يكون التشخيص خاطئاً ، يؤدي كل هذا الى التأخر في إعطاء العلاج المضاد للفطريات في حالة الإصابة بالأمراض الفطرية ، وبالتالي الاستمرار في إعطاء العلاج التجريبي للمرضى يعرضهم للخطر بشكل متكرر ومن ثم يؤدي الى الإفراط في الاستعمال غير الضروري للمضادات مما يؤثر بصورة سلبية على صحة وحياة المريض ( Golan et al., 2005 ; Jha et al., 2012 ; Didehdar et al., 2016 ) ، وبالتالي ضرورة إيجاد طرق سريعة ودقيقة للتشخيص المبكر لأنواع المبيضات ، لان ذلك يلعب دوراً مهماً في تحديد العلاج المناسب لداء المبيضات ، في الوقت الذي تمكنت بعض هذه الأنواع من تطوير قدرتها لمقاومة المضادات ، لذلك فإن تقنية ال PCR تعتبر حلاً لكل هذه المشاكل ( Yamada et al., 2002 ; Pfaller and Diekema, 2007 ) ، حيث يكون تشخيص الأنواع المختلفة بواسطة هذه التقنية دقيقاً وفعالاً وسريعاً ويمكن الحصول على نتيجة خلال 6-8 ساعات بالمقارنة مع الطرق التقليدية التي تستغرق 4 أيام أو أكثر ( Nazzal et al., 2005 ) .

في الدراسة الحالية اعتمدت هذه التقنية باستعمال البادئات ITS1 و ITS4 من أجل تضخيم منطقة ( ITS1, 5.8s, ITS2 ) والمستخلصة من rDNA الخلايا الخميرية ( Mirhendi et al., 2006 ) ، إن تتابع ال DNA في منطقة ITS يختلف من نوع لآخر لذا يستفاد من هذا الاختلاف في عملية التفريق بين السلالات الفطرية ، واستعملت قطعة rDNA هذه من قبل الباحثين للكشف عن أنواع المبيضات ( Williams et al., 1995 ; Chen et al., 2000 ; Shokohi et al., 2003 ; Mirhendi et al., 2006 ; Nazzal et al., 2005 ; Cirak et al., 2010 ; Saltanatpouri et al., 2010 ) .

أظهرت نتائج تضخيم شريط ال DNA للخمائر باستعمال تقنية ال PCR ان البادئات ITS1 و ITS4 قد ضخمت الحامض النووي حيث تراوحت الحزم المضخمة بين ( 500 - 700 bp ) كما موضح بالشكل (11) التي أظهرت كفاءة عالية للبادئات المستخدمة في الحصول على حزم ال DNA التي ظهرت واضحة تحت الاشعة فوق البنفسجية وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل اليه ( Saltanatpouri et al., 2010 ) فقد بين إمكانية ظهور حزم باستعمال هذه البادئات ،

وتعد هذه الطريقة سريعة وذات كفاءة عالية لتشخيص الخمائر حيث إن التشخيص الجزيئي يعتمد على الصفات الوراثية لأنواع بالاعتماد على تسلسل القواعد النيتروجينية للحامض النووي DNA ومن ثم يكون أدق مما عليه بالاعتماد على الخصائص المظهرية (Weber, 2009).



الشكل ( 11 ) : ناتج تقنية ال PCR لأنواع المعزولة خلال الدراسة الحالية على هلام الاكاروز باستخدام البادئات ( ITS1 و ITS4 )

- M :Markar    1- *C. glabrata* 1    3- *C. albicans* 1    4- *C. kefyr*  
 5- *C. albicans* 2    6 - *C. glabrata* 3    7- *C. krusei*    8- *C. parapsilosis*  
 9- *C. dubliniensis*

اما بالنسبة للعينات المشخصة ومقارنتها بالعزلات الموجودة في بنك الجينات كما موضحة بالجدول (12) أظهرت النتائج تطابق التشخيص المظهري مع التشخيص الجزيئي للعزلات المختبرة حيث يلاحظ وجود تطابق بنسبة 100% لأنواع *C.glabrata*1 و *C.glabrata*3 و *C. kefyr* (*Kluyveromyces marxianus*) و *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) و *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* مع العزلات الموجودة في بنك الجينات ، بينما نسبة التطابق للنوع *C.albicans*1 و *C.albicans*2 مع العزلات الموجودة في NCBI واتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات (Mohammed and Abdullah, 2015 ; Agada et al., 2022 ; Farahyar et al., 2020) التي تناولت عزل وتشخيص الأنواع جزيئياً وهي *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. dubliniensis* و *C. albicans*

، وكذلك اتفقت مع (Farahyar et al . (2020) الذي قام بعزل وتشخيص النوعين *C. krusei* و *C. kefyr* (*Pichia kudriavzevii* و *Kluyveromyces marxianus* على التوالي) .

الجدول ( 12 ) التشخيص الجزيئي للأنواع المدروسة

رقم العينة	التشخيص المظهري	التشخيص الجزيئي	نسبة التطابق	*Accession number	تسجيل العزلات بينك الجينات
1	<i>C.glabrata1</i>	<i>C.glabrata1</i>	%100	OP042382	SUB11829667 KAM1_10
2	<i>C.glabrata2</i>	لم تشخص	-	-	-
3	<i>C.albicans1</i>	<i>C.albicans1</i>	%96	OP042383	SUB11829667 KAM3_30A
4	<i>C. kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	%100	OP042384	SUB11829667 KAM4_40B
5	<i>C.albicans2</i>	<i>C.albicans2</i>	%96	OP042385	SUB11829667 KAM5_50C
6	<i>C.glabrata3</i>	<i>C.glabrata3</i>	%100	OP042386	SUB11829667 KAM6_60D
7	<i>C. krusei</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>	%100	OP042387	SUB11829667 KAM7_70E
8	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	%100	OP042388	SUB11829667 KAM8_80F
9	<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. dubliniensis</i>	% 100	OP042389	SUB11829667 KAM9_90G

#### 7.4: مقارنة الاختبارات التشخيصية للعزلات المدروسة

بعد أن تم تشخيص العزلات الموجبة على مستوى الجنس والنوع وذلك من خلال الزرع المختبري على أوساط العزل والتشخيص من خلال الصفات المظهرية ونتائج الاختبارات التشخيصية تم التميز بينها مظهرياً وللتأكد من التشخيص تم فحص العزلات باستعمال جهاز

الفايتك ولزيادة دقة التشخيص تم اختبارها بتقنية تفاعل سلسلة البلمرة PCR . وكما موضح بالجدول ( 13 ) .

جدول ( 13 ) يمثل مقارنة الاختبارات التشخيصية للعزلات المدروسة

رقم العينة	التشخيص المظهري	تشخيص الفايتك	التشخيص الجزيئي
1	<i>C.glabrata1</i>	<i>C.glabrata1</i>	<i>C.glabrata1</i>
2	<i>C.glabrata2</i>	لم تشخص	لم تشخص
3	<i>C.albicans1</i>	<i>C.albicans1</i>	<i>C.albicans1</i>
4	<i>C.kefyr</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
5	<i>C.albicans2</i>	<i>C.albicans2</i>	<i>C.albicans2</i>
6	<i>C.glabrata3</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>C.glabrata3</i>
7	<i>C.krusei</i>	<i>C.kefyr</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>
8	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
9	<i>C.dublinskiensis</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.dublinskiensis</i>

يلاحظ من الجدول ( 12 ) وجود تطابق على مستوى التشخيص المظهري والفايتك والجزيئي للعزلات التالية *C.glabrata1* و *C.albicans1* و *C.albicans2* و *C.parapsilosis* اما بالنسبة للنوع *C.kefyr* تطابق التشخيص المظهري مع التشخيص بنظام الفايتك أما بالنسبة لتقنية ال PCR شخص الطور الجنسي له ( *Telomorph Kluyveromyces marxianus* ) وكذلك بالنسبة للنوع *C.krusei* ظهر بالتشخيص الجزيئي له الطور الجنسي *Pichia kudriavzevii* في حين التشخيص بالفايتك اظهر النوع *C.kefyr* ، كما يلاحظ من الجدول وجود تطابق مظهري وجزيئي للنوعين *C.glabrata3* و *C.dublinskiensis* بينما التشخيص بالفايتك لهذين النوعين اظهر (*C.kefyr* و *C.krusei* على التوالي).



#### 8.4: الشجرة الوراثية لأنواع المبيضات المدروسة

تعد معرفة العلاقات الجينية بين الأنواع أمراً أساسياً للعديد من الدراسات في علم الأحياء ، على الرغم من وجود العديد من التقنيات البيولوجية والفسولوجية التي ساهمت في تقديم معلومات عن التصنيف ، إلا أنه تعد الطرق الجزيئية هي الأكثر دقة كونها تعتمد على تسلسل القواعد النيتروجينية للحامض النووي الـ DNA ، كونها تعطي أوجه مقارنة بين الأنواع ومن ثم يمكن معرفة العلاقات التطورية بينها ، فتعد دراسة أوجه المقارنة لتتابع نيوكليوتيدات الحامض النووي وسيلة لتفسير العلاقات الوراثية ومن ثم رسم الشجرة الوراثية لسلاسل الأنواع (Demirel *et al.*, 2013).

فشجرة النشوء والتطور التي هي عبارة شجرة تظهر العلاقات التطورية بين مختلف الكائنات الحية التي يعتقد أن لها أصل مشترك ، ومن ثم تدعم فهم التحولات الرئيسية في التطور ، فهي مفتاح لاستنتاج أصل الجينات الجديدة وكذلك اكتشاف التكيف الجزيئي وفهم التطور المورفولوجي وإعادة بنا التغييرات الديموغرافية في الأنواع المتباينة (Kapli *et al.*, 2020).

يتضح من نتائج الشجرات الوراثية لعزلات الدراسة الحالية بعد ان تم مقارنتها بالعزلات المحفوظة في بنك الجينات أن الشجرة الوراثية للنوع ( OP042382 ) *C. glabrata* 1 (شكل 12) أن هذه العزلة قريبة جداً للعزلات التالية : ( LC042131 ) Hong Kong و ( KP674677 ) China و ( KP674678 ) China ( LS398118 ) Kuwait و ( LS398119 ) Kuwait و ( LS398122 ) Kuwait و ( LC389225 ) Iran و ( MN699325 ) Egypt و ( LR757909 ) Kuwait و ( LR757912 ) Kuwait و ( LR757914 ) Kuwait و ( LR757916 ) Kuwait و Saudi Arabia و ( MK300696 ) ، في حين كانت بعيدة عن العزلات التالية ( OM049826 ) Iran و ( ON851015 ) Iraq و ( ON851018 ) Iraq .

كما يلاحظ من الشجرة الوراثية للعزلة ( OP042383 ) *C. albicans* 1 (شكل 13) أن عزلة هذا النوع قريبة جداً من العزلات الأتية: ( MG757723 ) China و India و ( GQ280331 ) و ( KJ816924 ) China و ( GQ280316 ) India وكانت بعيدة جداً ( MN384436 ) Iraq .

في حين يلاحظ من الشجرة الوراثية للنوع ( OP042384 ) *C. kefyra* ( شكل 14 ) أن هذه العزلة قريبة جداً من العزلات التالية: ( OW983512 ) Kuwait و Kuwait ( OW983522 ) و ( OW983530 ) Kuwait و ( OW983835 ) Kuwait و ( OW984256 ) Kuwait و ( OW984311 ) Kuwait و ( OW985224 ) Kuwait و ( OW985263 ) Kuwait و ( OW988536 ) Russian Federation و ( OW988290 ) Kuwait وكانت بعيدة جداً من العزلة ( MH729032 ) Malaysia .

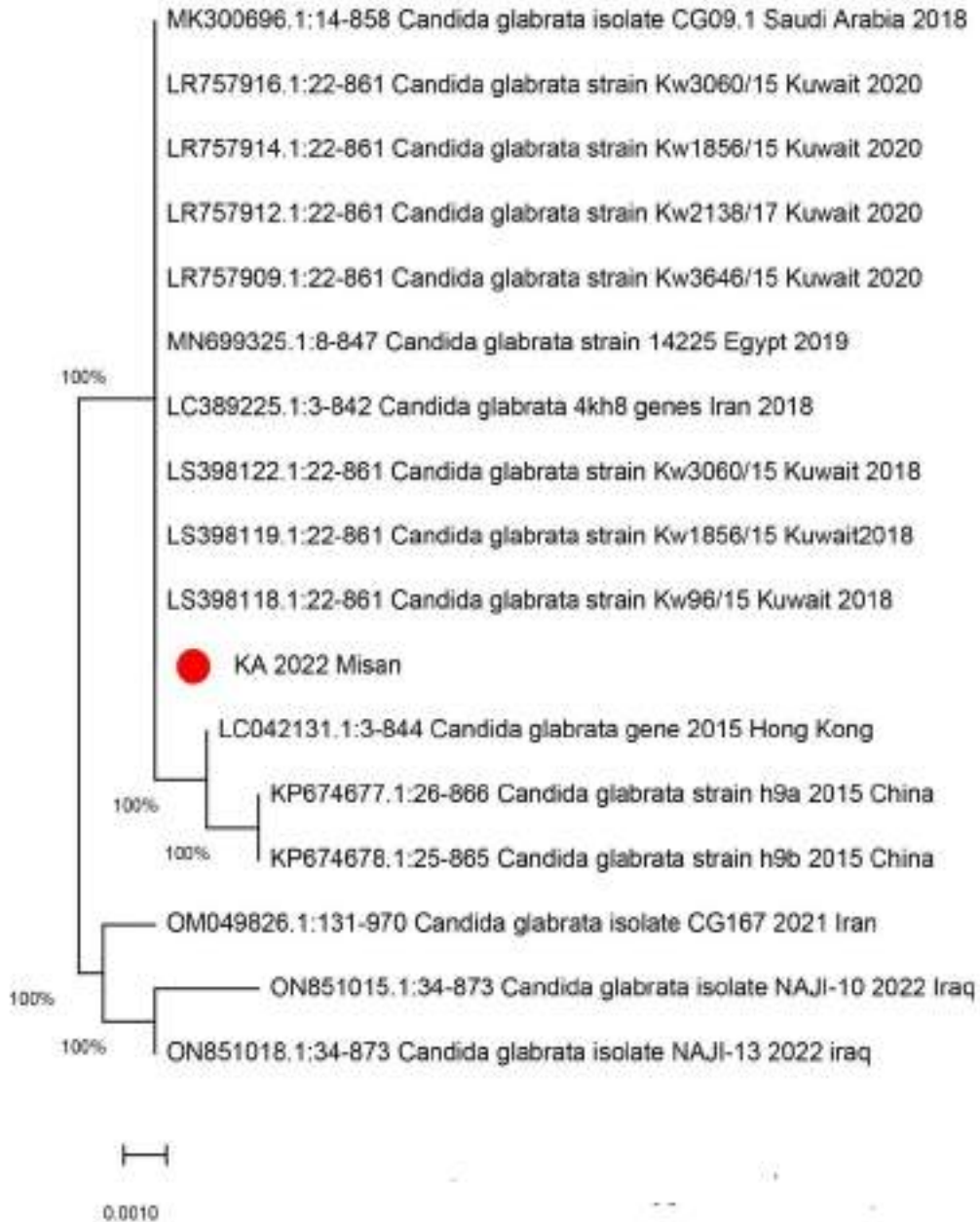
ويتضح من الشجرة الوراثية للنوع ( OP042385 ) *C. albicans*2 ( شكل 15 ) أنها قريبة جداً من العزلات التالية : ( MG757723 ) India و ( GQ280331 ) China و ( KJ816924 ) China و بعيدة جداً من العزلة ( GQ280323 ) China .

اما عزلة النوع ( OP042386 ) *C. glabrata* 3 ( شكل 16 ) قريبة جداً من العزلات الآتية : ( HE993756 ) Kuwait و ( ON391956 ) Germany و China ( KP675601 ) و ( KP675316 ) China و ( MZ255116 ) Thailand و ( MW358893 ) Thailand و ( LS398113 ) Malaysia و ( KP675600 ) Kuwait و ( KP675401 ) China ، و بعيدة جداً من العزلة ( ON391967 ) Germany .

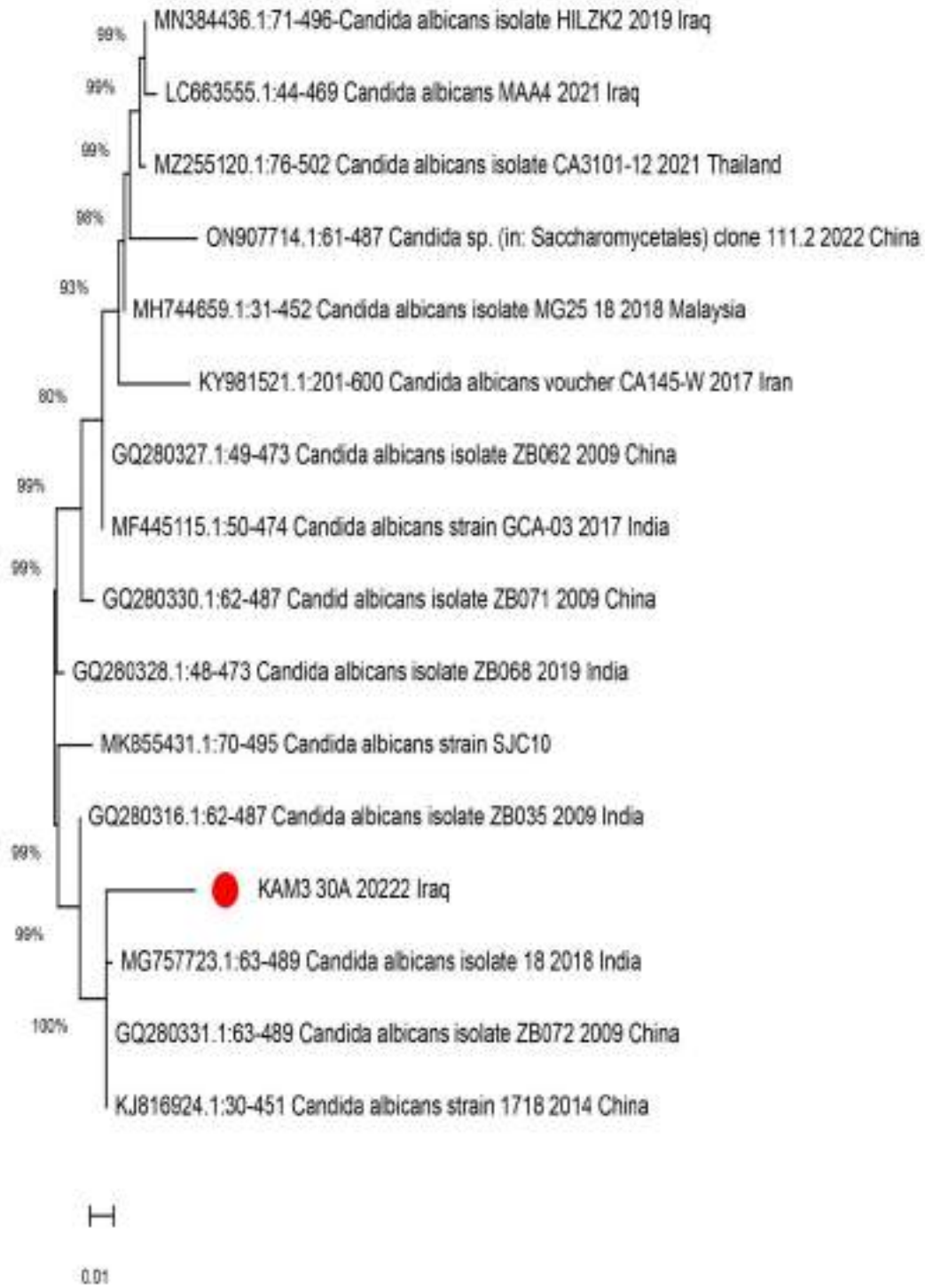
ويلاحظ من الشجرة الوراثية لعزلة النوع ( OP042387 ) *C. krusei* ( شكل 17 ) أن هذه العزلة قريبة جداً من العزلات التالية : ( KP721590 ) India و Netherlands ( MK394162 ) و ( KU870988 ) Pakistan و ( MG015966 ) Mexico و ( FM199964 ) BELGIUM و ( MH545928 ) Netherlands و Pakistan ( KT987926 ) و ( KU870987 ) Pakistan و ( KU962036 ) India و ( MK894151 ) China و ( LC388996 ) Japan و ( KY985267 ) Indonesia و ( MG015976 ) Mexico و ( OK267906 ) China و ( KT175187 ) Malaysia و بعيدة جداً من العزلة ( MF662390 ) China .

ويتضح من الشجرة الوراثية للنوع ( OP042388 ) *C. parapsilosis* ( شكل 18 ) أن هذا النوع قريب جداً من العزلات الآتية : ( ON954678 ) India و ( ON954677 ) India و ( OW986105 ) Belgium و ( OW986107 ) Belgium و ( OW987758 ) Belgium و بعيدة جداً من العزلة ( ON954678 ) India .

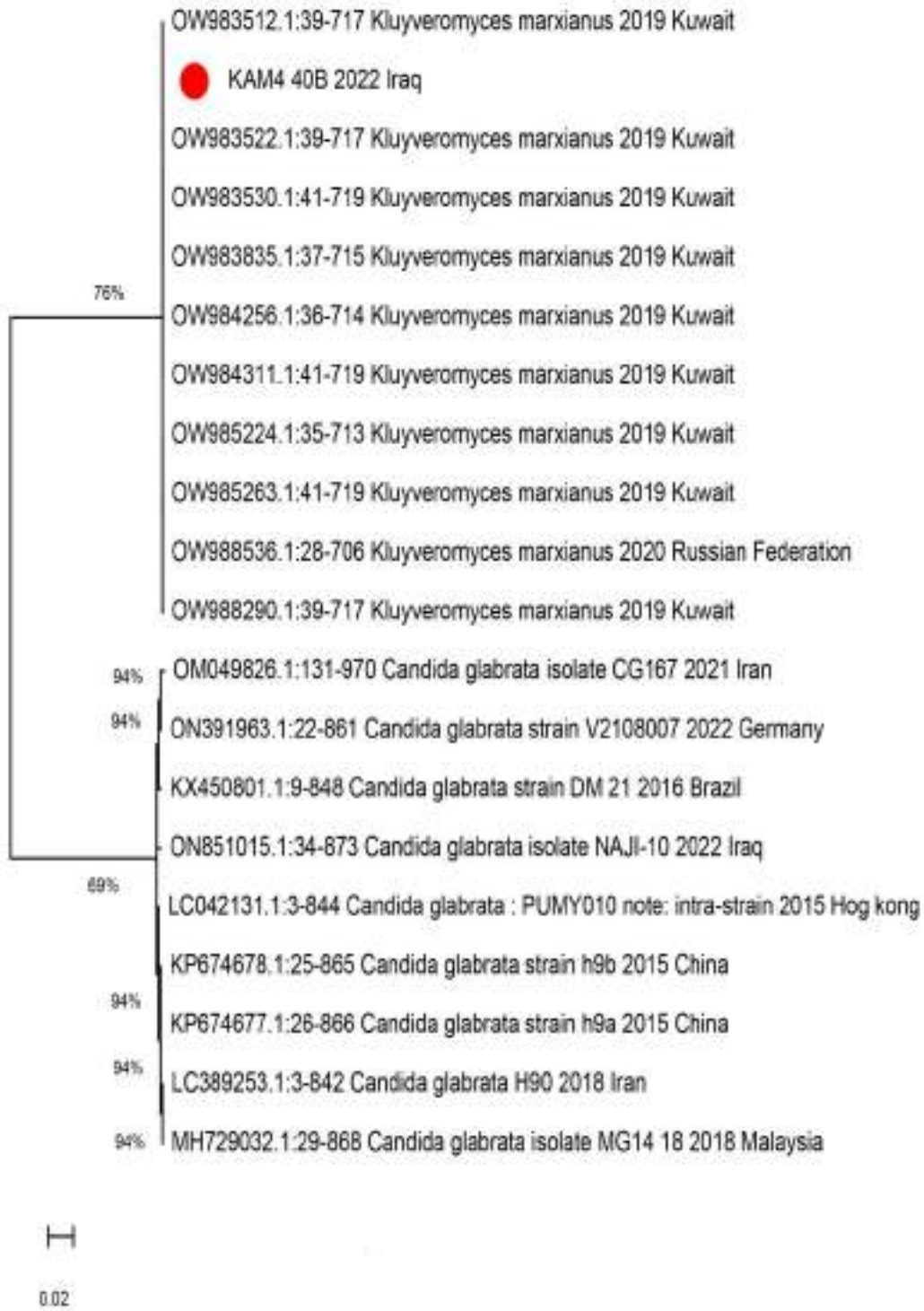
اما عزلة النوع ( OP042389 ) *C. dubliniensis* فيلاحظ من شجرتها الوراثية (شكل 19) أنها قريبة جداً من العزلات التالية: Argentina (HQ457426) و Argentina و UNITED KINGDOM ( HQ259078) و (HQ457423) و (FM992695) و Korea ( AF405231) و Japan ( AB369916) و Kw1387- و 11(LT608351) وبعيدة جداً من العزلة ( MH545916) CBS 7987 .



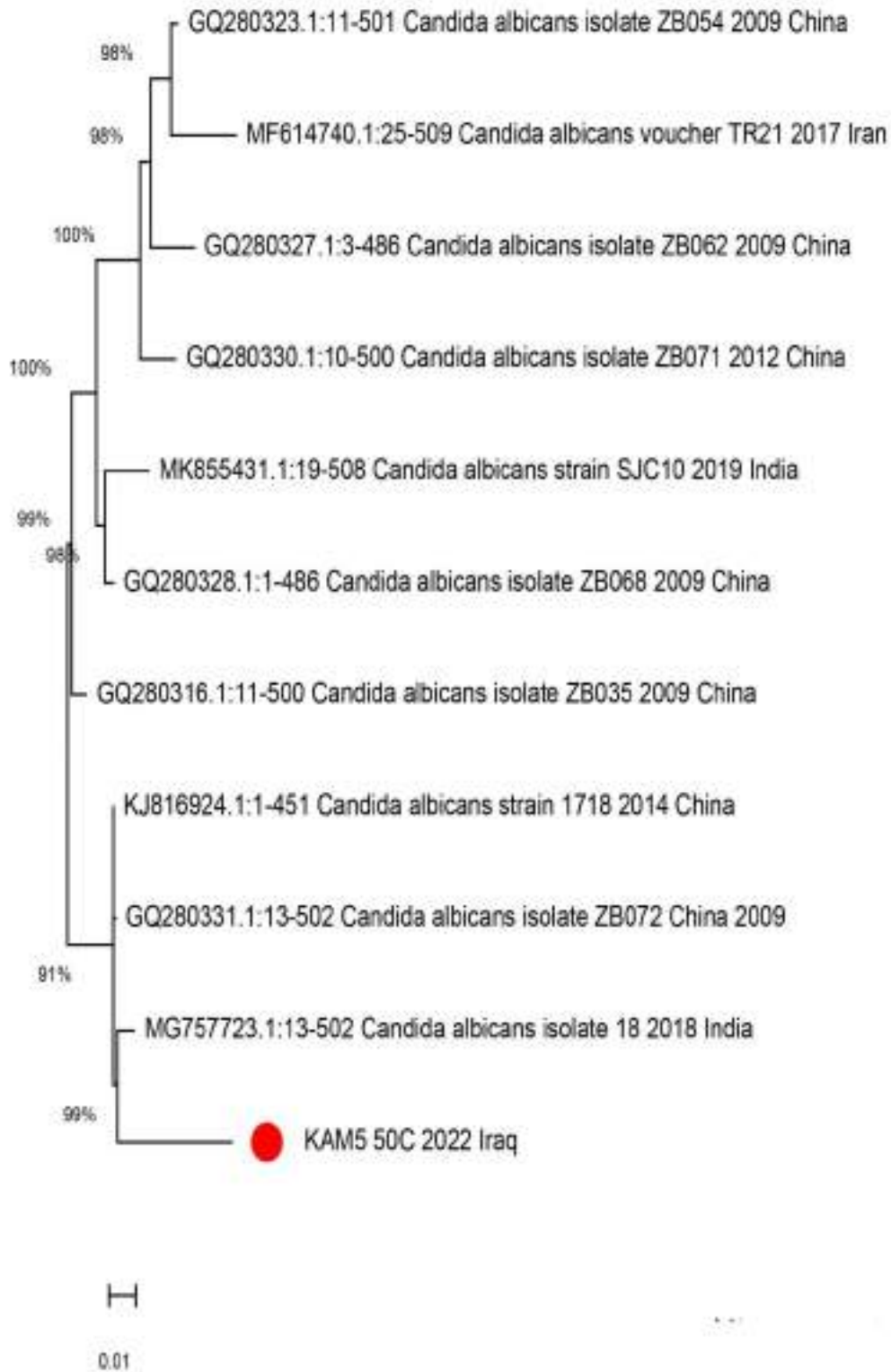
شكل 12 : الشجرة الوراثية للعزلة 1 *C. glabrata*



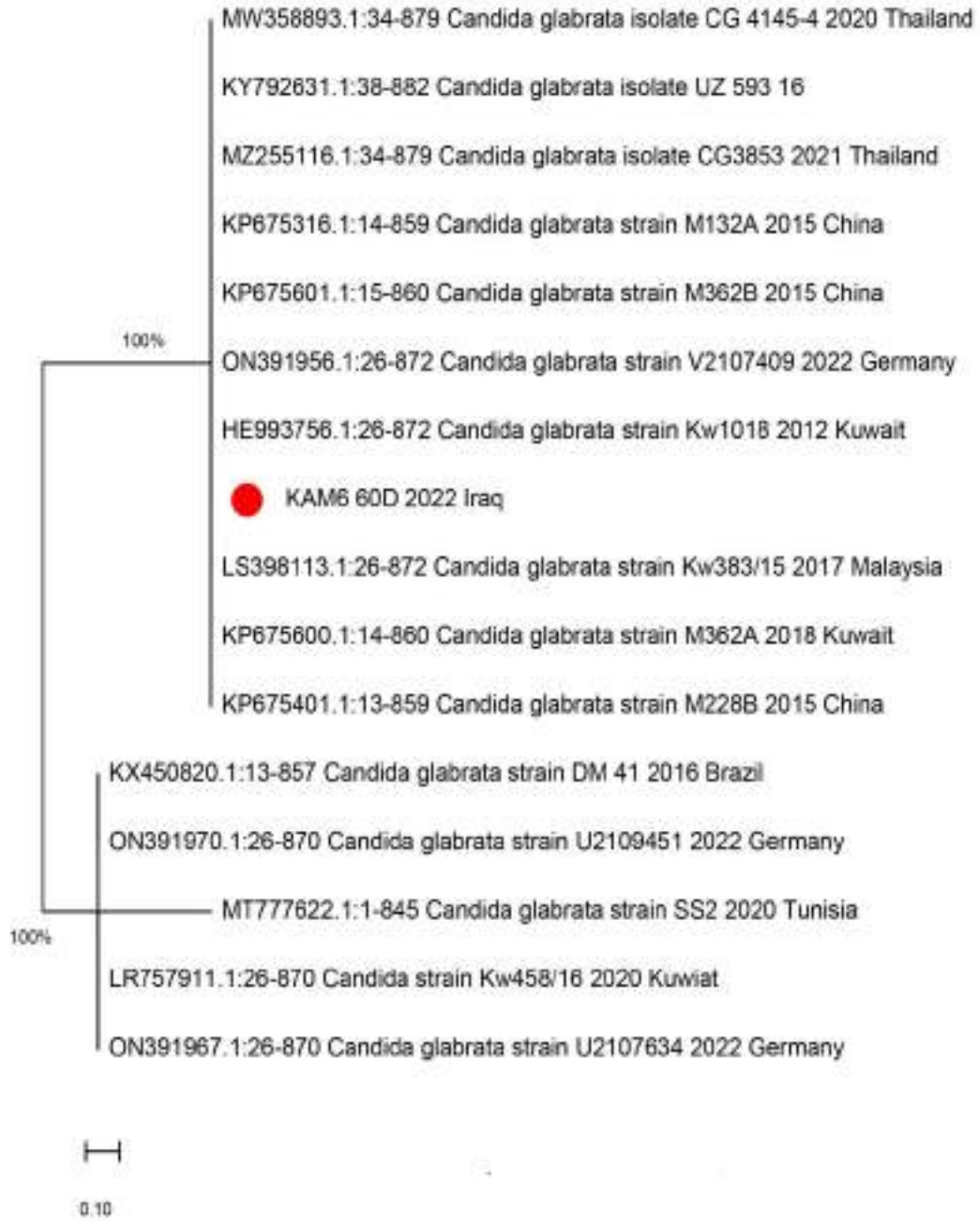
شكل 13 : الشجرة الوراثية للعزلة 1 *C. albicans*



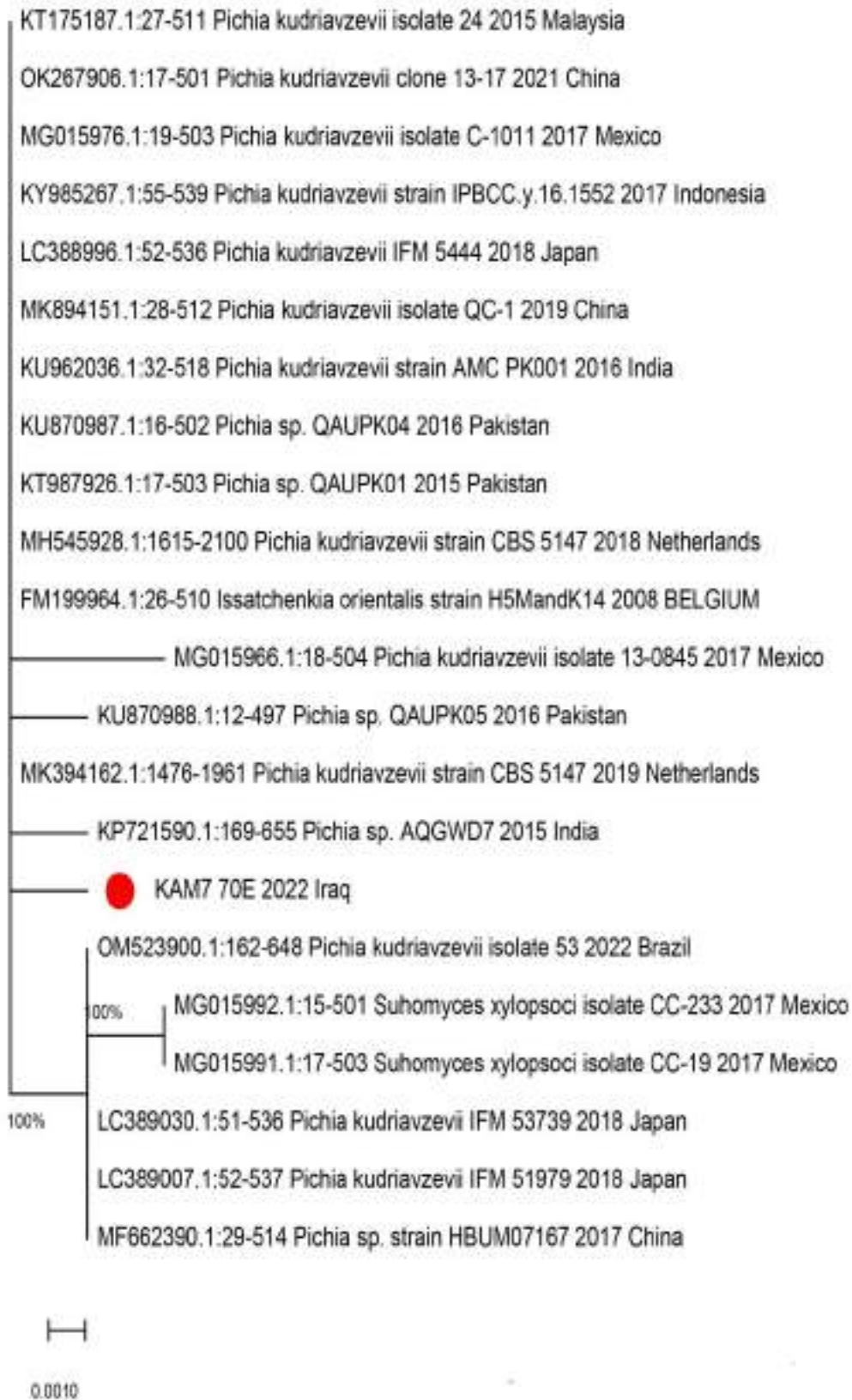
شكل 14 : الشجرة الوراثية للعزلة *C. kefyr*



شكل 15 : الشجرة الوراثية للعزلة 2 *C. albicans*

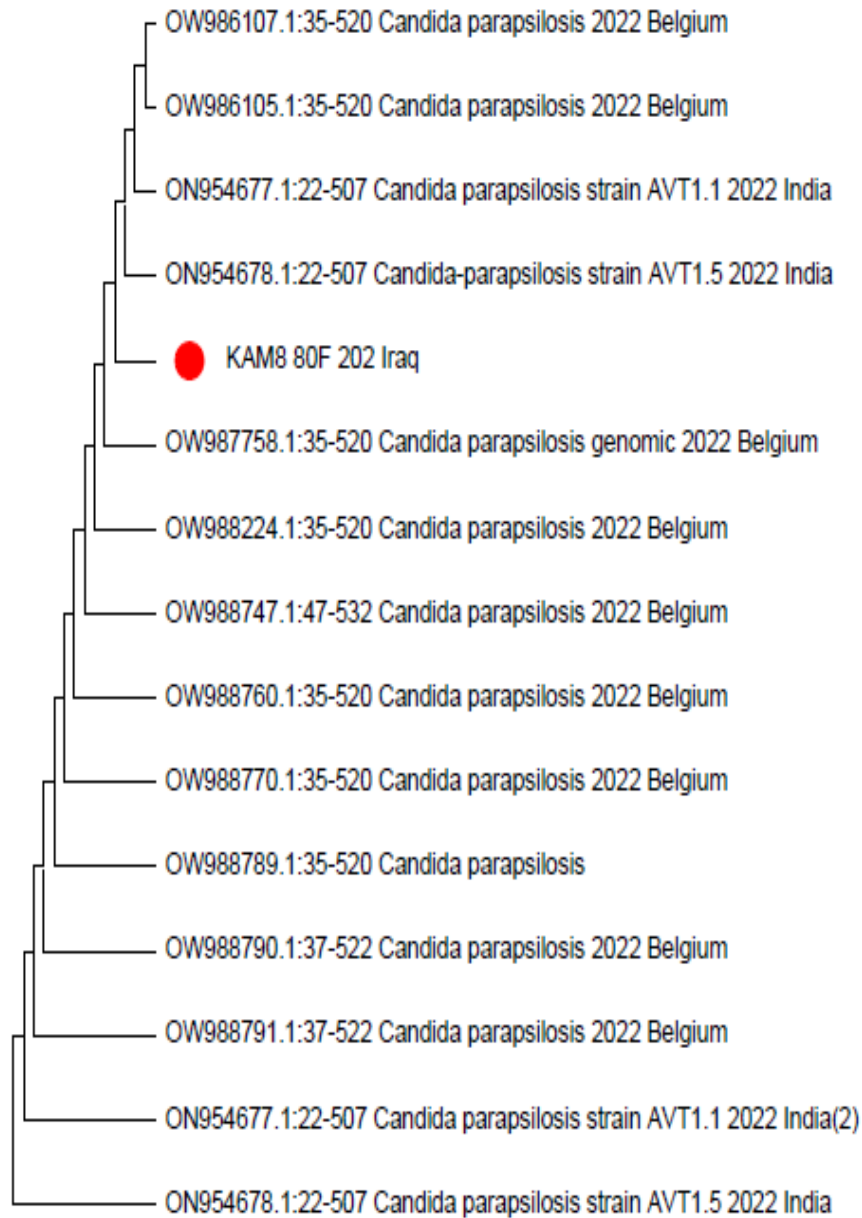


شكل 16 : الشجرة الوراثية للعزلة 3 *C. glabrata*

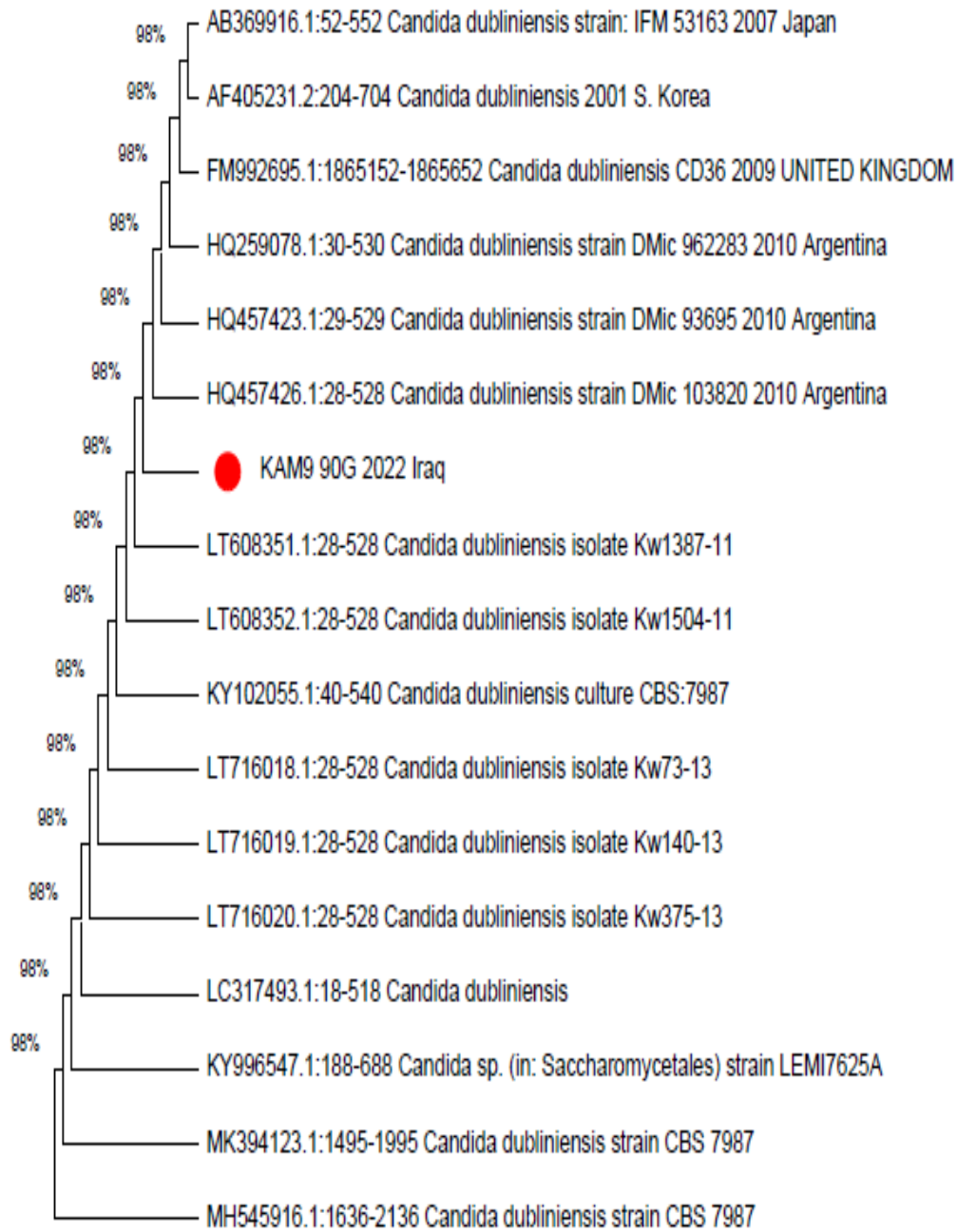


شكل 17 : الشجرة الوراثية للعزلة *C. krusei*





شكل 18 : الشجرة الوراثية للعزلة *C. parapsilosis*



شكل 19 : الشجرة الوراثية للعزلة *C. dubliniensis*

#### 9.4:الكشف عن المركبات الكيميائية التي تنتجها الخمائر باستخدام تقنية ال (GC-MS)

تم تشخيص المركبات الفعالة التي تنتجها أنواع جنس المبيضات ، حيث تم إجراء الكشف عن المركبات لخمس أنواع من الخمائر وهي *C. parapsilosis* و *C. albicans* و *C. krusei* . و *C. glabrata* و *C. kefyr* بعد تنميتها على الوسط PDB ، وبينت النتائج أن لهذه الأنواع القدرة على إنتاج المركبات الفعالة حيث أنتج النوع *C. parapsilosis* ستة وثلاثون مركباً في حين النوع *C. albicans* أنتج سبعة وعشرون مركباً ، بينما النوع *C. krusei* أنتج خمسة وثلاثون مركباً ، و *C. glabrata* أنتجت تسعة وثلاثون مركباً ، و *C. kefyr* أنتجت أربعة وأربعون مركباً (ملحق 3) ويتضح من الجدول ( 14 ) أن جميع الأنواع المختبرة تشترك في إنتاج خمسة عشر مركباً بينما تشترك الأنواع *C. parapsilosis* و *C. albicans* و *C. krusei* و *C. glabrata* في إنتاج أربعة مركبات ، في حين الأنواع ما عدا *krusei* *C.* تشترك في إنتاج مركبين ، ولوحظ أيضاً أن الأنواع المختبرة ما عدا النوع *C. albicans* تشترك في إنتاج مركب واحد ، بينما تشترك الأنواع ما عدا النوع *C. glabrata* في إنتاج مركب واحد ، كما تشترك الأنواع ما عدا *C. krusei* و *C. kefyr* في إنتاج مركب واحد.

جدول ( 14 ) أنواع المركبات الكيميائية المشتركة المنتجة من قبل أنواع الخمائر المعزولة

خلال هذه الدراسة

Chemical compounds	Formula	Molecular Weight	RT	Area Pct	Candida species				
					<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. Krusei</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. kefyr</i>
Benzene,1,3-dimethyl	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	6.226	0.8665	+	+	+	+	+
O-Xylene	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	6.499	5.3993	+	+	+	+	+
2-Octanol, 2-methyl-6-methylene	C <sub>10</sub> O	156	11.293	0.9156	+	+	+	+	+
Benzene,1,2,4,5-tetramethyl	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	12.001	1.8528	+	+	+	+	+
Benzen,2-ethyl-1,4-dimethyl	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	12.302	0.1489	+	+	+	+	+
Naphthalene1,2,3,4 tetrahydro-2-phenyl	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub>	208	13.122	1.2451	+	+	+	+	+
Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)-, acetate, trans	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	15.017	0.6599	+	+	+	+	+

Butanoic acid,1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	220	17.34	1.375	+	+	+	+	+
1,2 - Benzenedicarboxylic acid ethyl methyl ester	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	208	17.783	0.2804	+	+	+	+	+
2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	170	18.388	0.9535	+	+	+	+	+
Diethyl phthalate	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222	18.779	20.272 2	+	+	+	+	+
Octanal,2-phenylmethylene -	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O	216	20.379	4.3164	+	+	+	+	+
Benzeyl Benzoate	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	212	20.556	0.4477	+	+	+	+	+
Octadecanoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	24.376	1.106	+	+	+	+	+
Tris(2,4-di-tert-butylphenyl)phosphate	C <sub>42</sub> H <sub>63</sub> O <sub>4</sub> P	662	36.737	2.3387	+	+	+	+	+
Benzene, pentamethyl	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	148	13.306	0.2612	+	+	+	+	-
n-Hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	22.592	1.6207	+	+	+	+	-
1-Docosene	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	186	26.25	0.2386	+	+	+	+	-
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390	27.503	0.5973	+	+	+	+	-
3- Buten-1-ol	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	72	11.735	0.3605	+	+	-	+	+
Ethyl acetoacetate ethylene acetal	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	174	12.672	0.1479	+	+	-	+	+
Benzen , 2 - ethenyl-1,3-dimethyl-	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	11.462	0.5593	+	-	+	+	+
Benzene, (1-ethyl-1-propenyl)-	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	148	13.867	0.1237	+	+	+	-	+
Acetic acid, cyclohexyl ester	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	142	14.752	2.9283	+	+	-	+	-

+ لها قابلية على إنتاج المركب الكيميائي ، - ليس لها قابلية على إنتاج المركب الكيميائي

لوحظ من نتائج ال GC-MS أن بعض المركبات التي تنتجها الخمائر المختبرة لها تأثيرات مشتركة على بعض أجزاء وأعضاء وأجهزة الجسم فمنها ما يسبب تهيج للجلد والعينين والجهاز التنفسي ومن هذه المركبات هي O-Xylene و Benzene,1,3-dimethyl و Ethyl Bis(2- Diethyl phthalate و acetoacetate ethylene acetal و ethylhexyl)phthalate (USCG,1999) ، ووجد أن مركب Naphthalene له تأثيرات عديدة منها أنه يتسبب في تلف أو تحطيم خلايا الدم الحمراء وتلف الكبد والجهاز العصبي ويتسبب أيضا بنزف الشبكية وكذلك يعد مادة مسرطنة للإنسان حيث قد يترافق مع زيادة خطر الإصابة بسرطان الحنجرة والقولون والمستقيم (Zimmerman,1999) ، كذلك أظهرت النتائج أن المركب Diethyl phthalate الذي ينتج من جميع الأنواع التي تم اختبارها يؤثر على

التطور التناسلي للذكور عن طريق تثبيط الاندروجين وكذلك يتسبب في خسارة الجنين فضلاً عن أنه ذو سمية يمكن أن تسبب في تلف الجهاز العصبي (Yang *et al.*, ; Frazier,1998) ، كما وجد بأن المركب n-Hexadecanoic acid يسبب السمية الخلوية في الخلايا ( 2016 ) ، كما أظهرت النتائج المركب ( Luo *et al.*,2012 ; Bingham *et al.*, 2001 ) ، كما أظهرت النتائج المركب Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate الذي يعمل كمضاد للأكسدة ( Wolf and ) ( Babu and Wu, 2008 ; Kaul, 2000 ) كما تبين بأن المركب Bis(2-ethylhexyl) phthalate يسبب تقلصات في البطن و غثيان وإسهال (USCG,1999).

الاستنتاجات:

- هناك عدة أنواع تعود لجنس ال *Candida* تستطيع أن تحدث الإصابة الا أن النوعين *C. albicans* و *C. glabrata* تغلبوا على بقية الأنواع .
- للعمر علاقة وثيقة بالإصابة بداء المبيضات المهبطي فالنساء في سن الاخصاب يكونوا أكثر عرضة للإصابة .
- تعد تقنية ال PCR من أفضل الطرق في عملية التمييز بين الأنواع .
- قابلية الأنواع المعزولة على إنتاج مواد كيميائية ذات تأثيرات صحية على الإنسان .

التوصيات:

- دراسة مكملة على الالتهابات تشمل التحري عن الكائنات الدقيقة الأخرى كالبكتريا نظراً لظهور نسبة عالية من النساء يعانين من أصابات مهبلية لم تكن الـ *Candida spp* سبب لها .
- دراسة عن أفضل أنواع المضادات الفطرية في علاج داء المبيضات المهبلي .
- دراسة العلاقة بين حالات الإجهاض والإصابة المهبلية بـ *Candida albicans* .
- الاهتمام بنظافة المنطقة التناسلية وعدم لبس الملابس الداخلية المصنوعة من النايلون أو الملابس الضيقة .

- Abdullah, S. M. Z. (2020).** Prevalence of *Candida* spp. from in women with vulvovaginal infection in Maternity teaching hospital in Erbil, Iraq. *Iraq Medical Journal*, 4(1).
- Acharya, S., Lohe, V. K., & Bhowate, R. R. (2017).** Diagnosis and management of pseudomembranous candidiasis. *J Otolaryngol ENT Res*, 8(3), 00249.
- Agada, E. O., Ngwai, Y. B., & Sar, T. T. (2022).** Molecular Diversity of *Candida albicans* Isolated from High Vaginal Swab of Patients Attending Health Care Facilities in Nasarawa State, Nigeria. *NIGERIAN ANNALS OF PURE AND APPLIED SCIENCES*, 5(1), 1-11.
- Akinbiyi, A. A., Watson, R., & Feyi-Waboso, P. (2008).** Prevalence of *Candida albicans* and bacterial vaginosis in asymptomatic pregnant women in South Yorkshire, United Kingdom. *Archives of gynecology and obstetrics*, 278(5), 463-466.
- Akortha, E. E., Nwaugo, V. O., & Chikwe, N. O. (2009).** Antifungal resistance among *Candida* species from patients with genitourinary tract infection isolated in Benin City, Edo state, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 694-699.
- Al Mosaid, A., Sullivan, D., Salkin, I. F., Shanley, D., & Coleman, D. C. (2001).** Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib agar and caffeic acid-ferric citrate agar. *Journal of clinical microbiology*, 39(1), 323-327.
- Almirante, B., Rodríguez, D., Cuenca-Estrella, M., Almela, M., Sanchez, F., Ayats, J., ... & Barcelona Candidemia Project Study Group. (2006).** Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *Journal of clinical microbiology*, 44(5), 1681-1685.



**AL-Rubayae, I. M. et al., (2013) (Ph.D thesis).** Isolation and Identification of *Candida* species Associated with Urinary Tract Infections. University of Basra/ collage of Science/ Department of Biology.

**Altayyar, I. A., Alsanosi, A. S., & Osman, N. A. (2016).** Prevalence of vaginal candidiasis among pregnant women attending different gynecological clinic at South Libya. *European Journal of Experimental Biology*, 6(3), 25-29.

**Arfiputri, D. S., Hidayati, A. N., Handayani, S., & Ervianti, E. (2018).** Risk factors of vulvovaginal candidiasis in dermatovenereology outpatients clinic of soetomo general hospital, Surabaya, Indonesia. *African Journal of Infectious Diseases*, 12(1S), 90-94.

**Arslan, S., Koç, A. N., Şekerci, A. E., Tanriverdi, F., Sav, H., Aydemir, G., & Diri, H. (2016).** Genotypes and virulence factors of *Candida* species isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(1), 18-27.

**Babu, B., & Wu, J. T. (2008).** Production of natural butylated hydroxytoluene as an antioxidant by freshwater phytoplankton 1. *Journal of phycology*, 44(6), 1447-1454.

**Bander, K. I., & Hamad, T. A. (2018).** Prevalence of Vaginal Candidiasis among women and Diagnosis of *Candida* species from vaginal infection in Kirkuk city. *Tikrit Journal of Pure Science*, 20(4), 5-15.

**Barantsevich, N., & Barantsevich, E. (2022).** Diagnosis and Treatment of Invasive Candidiasis. *Antibiotics*, 11(6), 718.

**Barnes, P., Vieira, R., Harwood, J., & Chauhan, M. (2017).** Self-taken vaginal swabs versus clinician-taken for detection of *candida* and bacterial vaginosis: a case-control study in primary care. *British Journal*

of *General Practice*, 67(665), e824-e829.

**Beardsley, J., Halliday, C. L., Chen, S. C., & Sorrell, T. C. (2018).** Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. *Future microbiology*, 13(10), 1175-1191.

**Beighton, D., Ludford, R., Clark, D. T., Brailsford, S. R., Pankhurst, C. L., Tinsley, G. F., ... & Khalifa, N. (1995).** Use of CHROMagar *Candida* medium for isolation of yeasts from dental samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(11), 3025-3027.

**Bhavan, P. S., Rajkumar, R., Radhakrishnan, S., Seenivasan, C., & Kannan, S. (2010).** Culture and Identification of *Candida albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. *International Journal of Biology*, 2(1), 84.

**Bingham, E., Cohrssen, B., & Powell, C. H. (2001).** *Patty's toxicology. Volume 1: toxicology issues, inorganic particulates, dusts, products of biological origin and pathogens* (No. Ed. 5). John Wiley and Sons.

**Bitew, A., & Abebaw, Y. (2018).** Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. *BMC women's health*, 18(1), 1-10.

**Bobenchik, A. M., Deak, E., Hindler, J. A., Charlton, C. L., & Humphries, R. M. (2017).** Performance of Vitek 2 for antimicrobial susceptibility testing of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia* with Vitek 2 (2009 FDA) and CLSI M100S 26th edition breakpoints. *Journal of clinical microbiology*, 55(2), 450-456.

**Bonassoli, L. A., Bertoli, M., & Svidzinski, T. I. E. (2005).** High frequency of *Candida parapsilosis* on the hands of healthy hosts. *Journal of Hospital Infection*, 59(2), 159-162.

**Boyd Tressler, A., Markwei, M., Fortin, C., Yao, M., Procop, G. W.,**

- Soper, D. E., & Goje, O. (2021).** Risks for Recurrent Vulvovaginal Candidiasis Caused by Non-*Albicans Candida* Versus *Candida Albicans*. *Journal of Women's Health*, 30(11), 1588-1596.
- Brown, A. J., Budge, S., Kaloriti, D., Tillmann, A., Jacobsen, M. D., Yin, Z., ... & Leach, M. D. (2014).** Stress adaptation in a pathogenic fungus. *Journal of Experimental Biology*, 217(1), 144-155.
- Canela, H. M. S., Cardoso, B., Vitali, L. H., Coelho, H. C., Martinez, R., & Ferreira, M. E. D. S. (2018).** Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. *Mycoses*, 61(1), 11-21.
- Cavalheiro, M., & Teixeira, M. C. (2018).** *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. *Frontiers in medicine*, 5, 28.
- Chen, Y. C., Eisner, J. D., Kattar, M. M., Rassoulian-Barrett, S. L., LaFe, K., Yarfitz, S. L., ... & Cookson, B. T. (2000).** Identification of medically important yeasts using PCR-based detection of DNA sequence polymorphisms in the internal transcribed spacer 2 region of the rRNA genes. *Journal of clinical microbiology*, 38(6), 2302-2310.
- Chong, P. P., Lee, Y. L., Tan, B. C., & Ng, K. P. (2003).** Genetic relatedness of *Candida* strains isolated from women with vaginal candidiasis in Malaysia. *Journal of medical microbiology*, 52(8), 657-666.
- Cirak, M. Y., Kalkanci, A., & Kustimur, S. (2003).** Use of molecular methods in identification of *Candida* species and evaluation of fluconazole resistance. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98, 1027-1032.
- Cribby, S., Taylor, M., & Reid, G. (2008).** Vaginal microbiota and the use of probiotics. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2008.

- Cuenca-Estrella, M., Gomez-Lopez, A., Alastruey-Izquierdo, A., Bernal-Martinez, L., Cuesta, I., Buitrago, M. J., & Rodriguez-Tudela, J. L. (2010).** Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) broth microdilution reference methods and with the Sensititre YeastOne and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. *Journal of clinical microbiology*, 48(5), 1782-1786.
- Cutler, J. E. (1991).** Putative virulence factors of *Candida albicans*. *Annual review of microbiology*, 45(1), 187-218.
- Czechowicz, P., Nowicka, J., & Gościński, G. (2022).** Virulence Factors of *Candida* spp. and Host Immune Response Important in the Pathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 5895.
- da Silva Dantas, A., Lee, K. K., Raziunaite, I., Schaefer, K., Wagener, J., Yadav, B., & Gow, N. A. (2016).** Cell biology of *Candida albicans*–host interactions. *Current opinion in microbiology*, 34, 111-118.
- Dal Pizzol, M., Freitas, E. C., Locatelli, C., Guareze, F., Reginatto, P., Machado, G., ... & Marinho, D. (2021).** Antifungal Efficacy and Safety of Cycloheximide as a Supplement in Optisol-GS. *Drug Design, Development and Therapy*, 15, 2091.
- Das, S., Goswami, A. M., & Saha, T. (2022).** An insight into the role of protein kinases as virulent factors, regulating pathogenic attributes in *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis*, 105418.
- Demirel, R., Sariozlu, N. Y., & Ilhan, S. (2013).** Polymerase chain reaction (PCR) identification of *terverticillate Penicillium* species isolated from agricultural soils in eskişehir province. *Brazilian Archives*

*of Biology and Technology*, 56, 980-984.

**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.

**Dufresne, S. F., Marr, K. A., Sydnor, E., Staab, J. F., Karp, J. E., Lu, K., ... & Neofytos, D. (2014).** Epidemiology of *Candida kefyr* in patients with hematologic malignancies. *Journal of clinical microbiology*, 52(6), 1830-1837.

**Ellis, D. H. (1994).** *Clinical mycology: The human opportunistic mycoses*. Pfizer Incorporated.

**Ellis, D., Davis, S., HANDKE, R., & BARTLEY, R. (2007).** Description of medical fungi second edition. *Mycology Unit, Women's and Children's Hospital. North Adelaide Australia book*, 181-7.

**Emeribe, A. U., Nasir, I. A., Onyia, J., & Ifunanya, A. L. (2015).** Prevalence of vulvovaginal candidiasis among nonpregnant women attending a tertiary health care facility in Abuja, Nigeria. *Research and Reports in Tropical Medicine*, 6, 37-42.

**Ene, I. V., Adya, A. K., Wehmeier, S., Brand, A. C., MacCallum, D. M., Gow, N. A., & Brown, A. J. (2012).** Host carbon sources modulate cell wall architecture, drug resistance and virulence in a fungal pathogen. *Cellular microbiology*, 14(9), 1319-1335.

**Falagas, M. E., Betsi, G. I., & Athanasiou, S. (2006).** Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(2), 266-272.

**Farahyar, S., Mobaser, Z. G., Razmjou, E., Roudbary, M., Rahimi, M., & Fattahi, A. (2020).** Molecular investigation of etiologic agents

causing vulvovaginal candidiasis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 13(8), 1-7.

**Fateh, R., Zaini, F., Kordbacheh, P., Falahati, M., Rezaie, S., Ghazvini, R. D., ... & Heidari, M. (2015).** Identification and sequencing of *Candida krusei* aconitate hydratase gene using rapid amplification of cDNA ends method and phylogenetic analysis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(11).

**Ferreira, C., Silva, S., Faria-Oliveira, F., Pinho, E., Henriques, M., & Lucas, C. (2010).** *Candida albicans* virulence and drug-resistance requires the O-acyltransferase Gup1p. *BMC microbiology*, 10(1), 1-14.

**Ferrer, J. (2000).** Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 71, 21-27.

**Fidel Jr, P. L., Vazquez, J. A., & Sobel, J. D. (1999).** *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clinical microbiology reviews*, 12(1), 80-96.

**Fonseca, G. G., Heinzle, E., Wittmann, C., & Gombert, A. K. (2008).** The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 79(3), 339-354.

**Frazier, L. M. (1998).** *Reproductive hazards of the workplace*. Van Nostrand Reinhold Company.

**Gales, A. C., Pfaller, M. A., Houston, A. K., Joly, S., Sullivan, D. J., Coleman, D. C., & Soll, D. R. (1999).** Identification of *Candida dubliniensis* based on temperature and utilization of xylose and  $\alpha$ -methyl-D-glucoside as determined with the API 20C AUX and Vitek YBC systems. *Journal of clinical microbiology*, 37(12), 3804-3808.

**García-Salazar, E., Acosta-Altamirano, G., Betancourt-Cisneros, P., Reyes-Montes, M. D. R., Rosas-De-Paz, E., Duarte-Escalante, E., ... & Frías-De-León, M. G. (2022).** Detection and Molecular Identification

of Eight *Candida* Species in Clinical Samples by Simplex PCR. *Microorganisms*, 10(2), 374.

**Gee, S. F., Joly, S., Soll, D. R., Meis, J. F., Verweij, P. E., Polacheck, I., ... & Coleman, D. C. (2002).** Identification of four distinct genotypes of *Candida dubliniensis* and detection of microevolution in vitro and in vivo. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 556-574.

**Ghaddar, N., Anastasiadis, E., Halimeh, R., Ghaddar, A., Dhar, R., AlFouzan, W., ... & El Chaar, M. (2020).** Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among pregnant women in Lebanon. *BMC infectious diseases*, 20(1), 1-9.

**Gharaghani, M., Shabanzadeh, M., Jafarian, H., & Zarei Mahmoudabadi, A. (2022).** ABC typing and extracellular enzyme production of *Candida albicans* isolated from *Candida* vulvovaginitis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1), e24117.

**Gilfillan, G. D., Parkinson, T., Coleman, D. C., & Gow, N. A. (1998).** *Candida dubliniensis*: phylogeny and putative virulence factors. *Microbiology*, 144(4), 829-838.

**Golan, Y., Wolf, M. P., Pauker, S. G., Wong, J. B., & Hadley, S. (2005).** Empirical anti-*Candida* therapy among selected patients in the intensive care unit: a cost-effectiveness analysis. *Annals of internal medicine*, 143(12), 857-869.

**Gonçalves, B., Ferreira, C., Alves, C. T., Henriques, M., Azeredo, J., & Silva, S. (2016).** Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Critical reviews in microbiology*, 42(6), 905-927.

**González Gravina, H., González de Morán, E., Zambrano, O.,**

- Lozano Chourio, M., Rodríguez de Valero, S., Robertis, S., & Mesa, L. (2007).** Oral Candidiasis in children and adolescents with cancer: Identification of *Candida* spp. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 12(6), 419-423.
- Guard, U. C. (1999).** Chemical Hazard Response Information System (CHRIS)-Hazardous Chemical Data. *Commandant Instruction*, 16465.
- Hajjeh, R. A., Sofair, A. N., Harrison, L. H., Lyon, G. M., Arthington-Skaggs, B. A., Mirza, S. A., ... & Warnock, D. W. (2004).** Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *Journal of clinical microbiology*, 42(4), 1519-1527.
- Hall, R. A. (2015).** Dressed to impress: impact of environmental adaptation on the *Candida albicans* cell wall. *Molecular microbiology*, 97(1), 7-17.
- Hameed, A. R., Ali, S. M., & Ahmed, L. (2018).** Biological study of *Candida* species and virulence factor. *Int J Adv Res Eng Technol*, 1(4), 8-17.
- Hassan, M. H., Ismail, M. A., Moharram, A. M., & Shoreit, M. (2017).** Prevalence of vaginal infection by multidrug resistant *Candida* species among different ages in Egypt. *Am J Microbiol Res*, 5(4), 78-85.
- Haw, B. P., Venugopal, B., Eugene, O., Asma, I., & Sasidharan, S. (2012).** Isolation and identification of *Candida albicans* to produce in house helicase for PCR. In *Proceedings of The Annual International Conference, Syiah Kuala University-Life Sciences & Engineering Chapter* (Vol. 2, No. 1).
- Hawksworth, D. L. (2001).** The magnitude of fungal diversity: the 1·5 million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422-



1432.

**Höfs, S., Mogavero, S., & Hube, B. (2016).** Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *Journal of microbiology*, 54(3), 149-169.

**Hope, W., Morton, A., & Eisen, D. P. (2002).** Increase in prevalence of nosocomial non-*Candida albicans* candidaemia and the association of *Candida krusei* with fluconazole use. *Journal of Hospital Infection*, 50(1), 56-65.

**Horowitz, B. J., Edelstein, S. W., & Lippman, L. E. O. N. A. R. D. (1985).** *Candida tropicalis* vulvovaginitis. *Obstetrics and gynecology*, 66(2), 229-232.

**Jabra-Rizk, M. A., Brenner, T. M., Romagnoli, M., Baqui, A. A. M. A., Merz, W. G., Falkler Jr, W. A., & Meiller, T. F. (2001).** Evaluation of a reformulated CHROMagar *Candida*. *Journal of clinical microbiology*, 39(5), 2015-2016.

**Jafarian, H., Gharaghani, M., Seyedian, S. S., & Mahmoudabadi, A. Z. (2021).** Genotyping, antifungal susceptibility, enzymatic activity, and phenotypic variation in *Candida albicans* from esophageal candidiasis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 35(7), e23826.

**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.

**Jung, P., Mischo, C. E., Gunaratnam, G., Spengler, C., Becker, S. L., Hube, B., ... & Bischoff, M. (2020).** *Candida albicans* adhesion to central venous catheters: Impact of blood plasma-driven germ tube formation and pathogen-derived adhesins. *Virulence*, 11(1), 1453-1465.

- Kadhim, M. J., Mohammed, G. J., & Hussein, H. (2016).** Analysis of bioactive metabolites from *Candida albicans* using (GC-MS) and evaluation of antibacterial activity. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(7), 655-670.
- Kapli, P., Yang, Z., & Telford, M. J. (2020).** Phylogenetic tree building in the genomic age. *Nature Reviews Genetics*, 21(7), 428-444.
- Kaup, S., Sankarankutty, J., Balasubrahmanya, H. V., Kulkarni, S., & Nirmala, M. (2016).** Speciation of *Candida* using HiCrome *candida* differential agar. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 5(7), 267-74.
- Kaur, R., Dhakad, M. S., Goyal, R., Haque, A., & Mukhopadhyay, G. (2016).** Identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* species: a comparison of Vitek-2 system with conventional and molecular methods. *Journal of global infectious diseases*, 8(4), 139.
- Khan, Z. U., Ahmad, S., Mokaddas, E., & Chandy, R. (2004).** Tobacco agar, a new medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*, 42(10), 4796-4798.
- Kirkpatrick, W. R., Revankar, S. G., Mcatee, R. K., Lopez-Ribot, J. L., Fothergill, A. W., McCarthy, D. I., ... & Patterson, T. F. (1998).** Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from human immunodeficiency virus-infected patients in North America by primary CHROMagar *Candida* screening and susceptibility testing of isolates. *Journal of clinical microbiology*, 36(10), 3007-3012.
- Kord, M., Salehi, M., Khodavaisy, S., Hashemi, S. J., Ghazvini, R. D., Rezaei, S., ... & Arastehfar, A. (2020).** Epidemiology of yeast species causing bloodstream infection in Tehran, Iran (2015–2017); superiority of 21-plex PCR over the Vitek 2 system for yeast identification. *Journal of medical microbiology*, 69(5), 712.

- Krcmery, V., & Barnes, A. J. (2002).** Non-*albicans Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *Journal of hospital infection*, 50(4), 243-260.
- Kumamoto, C. A., Gresnigt, M. S., & Hube, B. (2020).** The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine. *Current opinion in microbiology*, 56, 7-15.
- Kumar, R., & Shukla, P. K. (2010).** Amphotericin B resistance leads to enhanced proteinase and phospholipase activity and reduced germ tube formation in *Candida albicans*. *Fungal biology*, 114(2-3), 189-197.
- Kurnatowski, P., Wójcik, A., Blaszkowska, J., & Góralska, K. (2016).** The hydrolytic enzymes produced by fungi strains isolated from the sand and soil of recreational areas. *Annals of parasitology*, 62(3).
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (2006).** Yeast systematics and phylogeny—implications of molecular identification methods for studies in ecology. In *Biodiversity and ecophysiology of yeasts* (pp. 11-30). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., & Boekhout, T. (Eds.). (2011).** *The yeasts: a taxonomic study*. Elsevier.
- Lachance, M. A. (2007).** Current status of *Kluyveromyces* systematics. *FEMS yeast research*, 7(5), 642-645.
- Larone, D. H. (1993).** Medically important fungi: a guide to identification, 2nd ed., p. 193–211. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Lee, J. H., Kim, Y. G., Gupta, V. K., Manoharan, R. K., & Lee, J. (2018).** Suppression of fluconazole resistant *Candida albicans* biofilm formation and filamentation by methylindole derivatives. *Frontiers in microbiology*, 9, 2641.

- Lewis, K. I. M. (2001).** Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(4), 999-1007.
- Lionakis, M. S., Lim, J. K., Lee, C. C. R., & Murphy, P. M. (2011).** Organ-specific innate immune responses in a mouse model of invasive candidiasis. *Journal of innate immunity*, 3(2), 180-199.
- Luo, Y., Rana, P., & Will, Y. (2012).** Cyclosporine A and palmitic acid treatment synergistically induce cytotoxicity in HepG2 cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 261(2), 172-180.
- Lyon, J. P., Moreira, L. M., Cardoso, M. A. G., Saade, J., & Resende, M. A. (2008).** Antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. oral isolates obtained from denture wearers. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 668-672.
- Mackenzie, D. W. R. (1962).** Serum tube identification of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Pathology*, 15(6), 563-565.
- Madhavan, P., Jamal, F., & Chong, P. P. (2011).** Laboratory isolation and identification of *Candida* species. *Journal of applied Sciences*, 11(16), 2870-2877.
- Mahrous, M., Sawant, A. D., Pruitt, W. R., Lott, T., Meyer, S. A., & Ahearn, D. G. (1992).** DNA relatedness, karyotyping and gene probing of *Candida tropicalis*, *Candida albicans* and its synonyms *Candida stellatoidea* and *Candida clausenii*. *European journal of epidemiology*, 8(3), 444-451.
- Makanjuola, O., Bongomin, F., & Fayemiwo, S. A. (2018).** An update on the roles of non-*albicans* *Candida* species in vulvovaginitis. *Journal of Fungi*, 4(4), 121.
- Martinez, M., Lopez-Ribot, J. L., Kirkpatrick, W. R., Bachmann, S. P., Perea, S., Ruesga, M. T., & Patterson, T. F. (2002).** Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from

an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(3), 515-524.

**Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013).** *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128.

**Maza, J. L., Elguezabal, N., Prado, C., Ellacuría, J., Soler, I., & Pontón, J. (2002).** *Candida albicans* adherence to resin-composite restorative dental material: influence of whole human saliva. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 94(5), 589-592.

**McGinnis, M. R. (1980).** Susceptibility testing and bioassay procedure. *Laboratory handbook of medical mycology*. Academic Press, Inc., New York, NY, 431.

**Mirhendi, H., Makimura, K., Khoramizadeh, M., & Yamaguchi, H. (2006).** A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically important *Candida* species. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 47(3), 225-229.

**Mohamed, B. J., & THWANI, A. (2010).** The susceptibility test of vaginal yeasts and their relationship with the age in Iraqi women. *Baghdad Science Journal*, 7(3).

**MohammedAB, A. J., & Abdullah, S. K. (2015).** Identification of *Candida* spp. isolated from vaginal swab by phenotypic methods and multiplex PCR in Duhok, Iraq. *Int J Res Med Sci*, 3(11), 3211-6.

**Monod, M., & Borg-von Zepelin, M. (2002).** Secreted proteinases and other virulence mechanisms of *Candida albicans*. *Fungal Allergy and Pathogenicity*, 81, 114-128.

**Moris, D. V., Melhem, M. S. C., Martins, M. A., & Mendes, R. P. (2008).** Oral *Candida* spp. colonization in human immunodeficiency

virus-infected individuals. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 14, 224-257.

**Murray, C. K., Beckius, M. L., Green, J. A., & Hospenthal, D. R. (2005).** Use of chromogenic medium in the isolation of yeasts from clinical specimens. *Journal of medical microbiology*, 54(10), 981-985.

**Naglik, J. R., Rodgers, C. A., Shirlaw, P. J., Dobbie, J. L., Fernandes-Naglik, L. L., Greenspan, D., ... & Challacombe, S. J. (2003).** Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase and phospholipase B genes in humans correlates with active oral and vaginal infections. *The Journal of infectious diseases*, 188(3), 469-479.

**Nazzal, D., Yasin, S., & Abu-Elteen, K. (2005).** A rapid PCR-based method for identification of four important *Candida* species. *The new Microbiologica*, 28(3), 245-250.

**Nouraei, H., Jahromi, M. G., Jahromi, L. R., Zomorodian, K., & Pakshir, K. (2021).** Potential Pathogenicity of *Candida* Species Isolated from Oral Cavity of Patients with Diabetes Mellitus. *BioMed Research International*, 2021.

**Nucci, M., Queiroz-Telles, F., Alvarado-Matute, T., Tiraboschi, I. N., Cortes, J., Zurita, J., ... & Latin American Invasive Mycosis Network. (2013).** Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. *PloS one*, 8(3), e59373.

**Pereira, R., dos Santos Fontenelle, R. O., de Brito, E. H. S., & de Moraes, S. M. (2021).** Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1), 11-22.

**Pfaller, M. A., & Diekema, D. (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*, 20(1), 133-163.

**Pfaller, M. A., Andes, D. R., Diekema, D. J., Horn, D. L., Reboli, A. C., Rotstein, C., ... & Azie, N. E. (2014).** Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-*albicans* species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004–2008. *PloS one*, 9(7), e101510.

**Ponton, J., Rüchel, R., Clemons, K. V., Coleman, D. C., Grillot, R., Guarro, J., ... & Sullivan, D. J. (2000).** Emerging pathogens. *Sabouraudia*, 38(Supplement\_1), 225-236.

**Rahmat, E., & Kang, Y. (2019).** Adventitious root culture for secondary metabolite production in medicinal plants: a review. *Journal of Plant Biotechnology*, 46(3), 143-157.

**Raut, S. H., & Varaiya, A. (2009).** Differentiation of *Candida dubliniensis* on chrom agar and Pal's agar. *Indian journal of medical microbiology*, 27(1), 55-58.

**Richardson, J. P., Mogavero, S., Moyes, D. L., Blagojevic, M., Krüger, T., Verma, A. H., ... & Naglik, J. R. (2018).** Processing of *Candida albicans* Ece1p is critical for candidalysin maturation and fungal virulence. *MBio*, 9(1), e02178-17.

**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.

**Saltanatpouri, Z., Shokohi, T., Soteh, M. B. H., & Hedayati, M. T. (2010).** PCR-RFLP Is a Useful Tool to Distinguish between *C. dubliniensis* and *C. albicans* in cancer patients in Iran. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*, 14-18.

**Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989).** *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory

press.

**Sandai, D., Tabana, Y. M., El Ouweini, A., & Ayodeji, I. O. (2016).** Resistance of *Candida albicans* biofilms to drugs and the host immune system. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(11).

**Sanguinetti, M., Porta, R., Sali, M., La Sorda, M., Pecorini, G., Fadda, G., & Posteraro, B. (2007).** Evaluation of VITEK 2 and RapID yeast plus systems for yeast species identification: experience at a large clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 45(4), 1343-1346.

**Saporiti, A. M., Gomez, D., Levalle, S., Galeano, M., Davel, G., Vivot, W., & Rodero, L. (2001).** Vaginal candidiasis: etiology and sensitivity profile to antifungal agents in clinical use. *Revista Argentina de microbiologia*, 33(4), 217-222.

**Sariguzel, F., Berk, E., Koc, A., Sav, H., & Aydemir, G. (2015).** Evaluation of CHROMagar *Candida*, VITEK2 YST and VITEK® MS for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Infez Med*, 23(4), 318-22.

**Sebti, A., Kiehn, T. E., Perlin, D., Chaturvedi, V., Wong, M., Doney, A., ... & Sepkowitz, K. A. (2001).** *Candida dubliniensis* at a cancer center. *Clinical infectious diseases*, 32(7), 1034-1038.

**Sharma, A. (2022).** Vulvo Vaginal Candidiasis: Prevalence and Risk in Pregnancy. *ECS Transactions*, 107(1), 3641.

**Shekhany, K. A. M. (2021).** Isolation and genotyping of *Candida albicans* involved in vaginal candidiasis among pregnant women in Sulaymaniyah and Erbil cities. *Zanco Journal of Medical Sciences (Zanco J Med Sci)*, 25(1), 493-502.

**Sheppard, D. C., & Filler, S. G. (2015).** Host cell invasion by medically important fungi. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(1),



a019687.

**Sherrard, J., Wilson, J., Donders, G., Mendling, W., & Jensen, J. S. (2018).** 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge. *International journal of STD & AIDS*, 29(13), 1258-1272.

**Shokohi, T., Soteh, M. H., Pouri, Z. S., Hedayati, M. T., & Mayahi, S. (2010).** Identification of *Candida* species using PCR-RFLP in cancer patients in Iran. *Indian journal of medical microbiology*, 28(2), 147-151.

**Soll, D. (2014).** The role of phenotypic switching in the basic biology and pathogenesis of *Candida albicans*. *Journal of oral microbiology*, 6(1), 22993.

**Stefaniuk, E. L. Ż. B. I. E. T. A., Baraniak, A., Fortuna, M., & Hryniewicz, W. (2016).** Usefulness of CHROMagar *Candida* medium, biochemical methods-API® ID32C and Vitek 2 Compact and two MALDI TOF MS systems for *Candida* spp identification. *Pol J Microbiol*, 65(1), 111-4.

**Sullivan, D. J., Westerneng, T. J., Haynes, K. A., & Coleman, D. C. (1995).** *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*, 141(7), 1507-1521.

**Tintelnot, K., Haase, G., Seibold, M., Bergmann, F., Staemmler, M., Franz, T., & Naumann, D. (2000).** Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(4), 1599-1608.

**Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2010).** Microbiology an introduction 10th edition.

**Venugopal, D., Husain, K., Mustafa, S. A., & Sabeen, S. (2021).**

Epidemiology, risk factors and antimicrobial profile of vulvovaginal candidiasis (VVC): a study among women in the central region of Saudi Arabia. *Journal of Medical Mycology*, 31(2), 101049.

**Verweij, P. E., Breuker, I. M., Rijs, A. J., & Meis, J. (1999).** Comparative study of seven commercial yeast identification systems. *Journal of clinical pathology*, 52(4), 271-273.

**Viana, R., Dias, O., Lagoa, D., Galocha, M., Rocha, I., & Teixeira, M. C. (2020).** Genome-scale metabolic model of the human pathogen *Candida albicans*: a promising platform for drug target prediction. *Journal of Fungi*, 6(3), 171.

**Weber, R. W. (2009).** Recent developments in the molecular taxonomy of fungi. In *Physiology and Genetics*. Springer, Berlin, Heidelberg.15: pp.1-5.

**Webster, J., & Weber, R. (2007).** *Introduction to fungi*. Cambridge university press.

**Weichert, S., Reinshagen, K., Zahn, K., Geginat, G., Dietz, A., Kilian, A. K., ... & Tenenbaum, T. (2012).** Candidiasis caused by *Candida kefyr* in a neonate: case report. *BMC Infectious Diseases*, 12(1), 1-4.

**Wellinghausen, 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.

**West, L., Lowman, D. W., Mora-Montes, H. M., Grubb, S., Murdoch, C., Thornhill, M. H., ... & Haynes, K. (2013).** Differential virulence of *Candida glabrata* glycosylation mutants. *Journal of Biological Chemistry*, 288(30), 22006-22018.

**Williams, D. W., Wilson, M. J., Lewis, M. A., & Potts, A. (1995).**

Identification of *Candida* species by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis of intergenic spacer regions of ribosomal DNA. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(9), 2476-2479.

**Willis, A. M., Coulter, W. A., Sullivan, D. J., Coleman, D. C., Hayes, J. R., Bell, P. M., & Lamey, P. J. (2000).** Isolation of *C. dubliniensis* from insulin-using diabetes mellitus patients. *Journal of oral pathology & medicine*, 29(2), 86-90.

**Wolf, R., & Kaul, B. L. (2000).** Plastics, additives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.

**Yakasiri, H. P., & Siddabathuni, A. (2020).** Utility of non-serum liquid media against conventional human serum in germ tube production test. *International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases* 2020;6(1):54-575.

**Yamada, Y., Makimura, K., Merhendi, H., Ueda, K., Nishiyama, Y., Yamaguchi, H., & Osumi, M. (2002).** Comparison of different methods for extraction of mitochondrial DNA from human pathogenic yeasts. *Japanese journal of infectious diseases*, 55(4), 122-125.

**Yang, G., Zhou, B., Zhang, X., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, Y., ... & Teng, L. (2016).** Effects of tomato root exudates on *Meloidogyne incognita*. *PLoS One*, 11(4), e0154675.

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

**Zaidan, K. I., & Hadeel, N. A. S. (2014).** Molecular diagnosis of vaginal candidiasis by polymerase chain reaction (PCR) and random amplification polymorphism DNA (RAPD-PCR) in Babylon Province, Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 8(6), 496-502.

**Zhao, T., Zhang, K., Shi, G., Ma, K., Wang, B., Shao, J., ... & Wang, C. (2022).** Berberine Inhibits the Adhesion of *Candida albicans* to

Vaginal Epithelial Cells. *Frontiers in Pharmacology*, 511.

**Zimmerman, H. J. (1999).** Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver.

Appendix

ملحق 1 استمارة

رقم العينه ( )

العمر

الحالة الزوجية      متزوجة      غير متزوجة

الحمل      حامل      غير حامل

طبيعة الأنجاب      تأخر الحمل      مدة كل حمل

عدد الأطفال

المدة الزمنية للمرض

الأمراض المزمنة

العقاقير المأخوذة

والعقاقير الخاصة بمرض التهابات الجهاز التناسلي

أمراض اخرى .

عنوان السكن

bioMérieux Customer: Laboratory Report Printed Mar 2, 2022 15:44 CST  
 System #: Printed by: Labadmin

Patient Name: Patient ID:  
 Isolate: kitam 1-1 (Qualified)

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454241 Testing Instrument: 000015F24F70 (12317)  
 Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 4000124020211110  
 Organism Quantity: Selected Organism: **Candida glabrata**

Comments:	

Identification Information	Card:	YST	Lot Number:	2431893203	Expires:	Feb 1, 2023 12:08 CST	
	Completed:	Mar 1, 2022 13:46 CST	Status:	Final	Analysis Time:	18:00 hours	
Organism Origin	VITEK 2						
Selected Organism	88% Probability	<b>Candida glabrata</b>				Confidence:	Low discrimination
SRF Organism							
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>							
Low Discrimination Organism							
Candida glabrata	CARDENOID(0),NITRATEa(0),SACCHAR.a(0)						
Rhodotorula glutinis/mucilaginosa(Crypto.laurentii)	CARDENOID(0),NITRATEa(0),SACCHAR.a(100)						
Rhodotorula glutinis	CARDENOID(100),NITRATEa(100),SACCHAR.a(100)						
Rhodotorula mucilaginosa	CARDENOID(100),NITRATEa(0),SACCHAR.a(100)						
<b>Analysis Messages:</b>							
See product information for additional information.							
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b>							
Candida glabrata	XLTa(1),GGT(1),ARAa(1)						
Rhodotorula glutinis/mucilaginosa(Crypto.laurentii)	GGT(1),TyrA(99),URE(90),ARAa(10)						

bioMérieux Customer:  
System #:

## Laboratory Report

Printed Mar 2, 2022 15:44 CST  
Printed by: Labadmin

Patient Name:  
Isolate: kitam 1-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454241 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)  
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Binumber: 4000124020211110  
Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida glabrata**

Biochemical Details																	
3	LysA	-	4	MLTa	-	5	LeuA	+	7	ARG	-	10	ERYa	-	12	GLYLa	-
13	TyrA	-	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	-	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MAAdGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	+	28	dMALa	-
29	dRAFa	-	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHaa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	-	44	SACa	-	45	URE	-	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	+	49	NO3a	-	51	IARaa	+	52	dOATa	-	53	ESC	-
54	dGLTa	+	55	dXYLa	-	56	LATa	-	58	ACEa	+	59	CITa	-	60	GRTax	-
61	IPROa	+	62	ZKCa	-	63	NAGa	-	64	dGNTa	-						

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01  
MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019  
AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic 2019

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC 2019  
AES Parameter Last Modified: Jun 29, 2021 17:19 CDT

bioMérieux Customer:  
System #:

## Laboratory Report

Printed Mar 2, 2022 16:00 CST  
Printed by: Labadmin

Patient Name:  
Isolate: k1am 2-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454240 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)  
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 6502100072433571

Organism Quantity:

**Selected Organism: Unidentified Organism**

Comments:	

Identification Information	Card:	YST	Lot Number:	2431893203	Expires:	Feb 1, 2023 12:00 CST
	Completed:	Mar 1, 2022 13:33 CST	Status:	Final	Analysis Time:	17.77 hours
Organism Origin	VITEK 2					
Selected Organism	Unidentified Organism Bionumber: 6502100072433571					
SRF Organism						
Analysis Organisms and Tests to Separate:						
Analysis Messages:						
Contraindicating Typical Biopattern(s)						

Biochemical Details																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	-	12	GLYLa	(+)
13	TyrA	-	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MdGa	-	26	sCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	-
29	dRAFa	-	30	NAGA1	-	32	dMNEa	-	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHAa	+	40	XLTa	+	42	dSDRa	+	44	SACa	-	45	URE	+	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	-	49	NO3a	+	51	ARAa	+	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	-	58	ACEa	+	59	CITa	-	60	GRTa	(+)
61	IPROa	+	62	2KGa	+	63	NAGa	+	64	dGNTa	+						

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01  
MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019  
AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic 2019

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC 2019  
AES Parameter Last Modified: Jun 29, 2021 17:19 CDT



bioMérieux Customer:  
System #:

## Laboratory Report

Printed Mar 2, 2022 16:00 CST  
Printed by: Labadmin

Patient Name:  
Isolate: kitam 3-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454239 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)  
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 4502548085307371

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida albicans**

<b>Comments:</b>	
------------------	--

<b>Identification Information</b>	Card: YST	Lot Number: 2431893203	Expires: Feb 1, 2023 12:00 CST
	Completed: Mar 1, 2022 13:34 CST	Status: Final	Analysis Time: 17.78 hours
<b>Organism Origin</b>	VITEK 2		
<b>Selected Organism</b>	99% Probability <b>Candida albicans</b>		<b>Confidence:</b> Excellent identification
<b>SRF Organism</b>	Bionumber: 4502548085307371		
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>			
<b>Analysis Messages:</b>			
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b>			

Biochemical Details																	
3	LysA	-	4	MLTa	-	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	-	12	GLYLa	(+)
13	TyrA	-	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MAdGa	+	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	+
29	dRAFa	-	30	NAGA1	+	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHaa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NC3a	-	51	lARa	-	52	dGATa	(-)	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTa	(-)
61	PRCa	+	62	2KGa	+	63	NACa	+	64	dGNTa	+						

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01  
MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019  
AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic 2019

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC 2019  
AES Parameter Last Modified: Jun 29, 2021 17:19 CDT

bioMérieux Customer:  
System #:

## Laboratory Report

Printed Mar 2, 2022 16:01 CST  
Printed by: Labadmin

Patient Name:  
Isolate: k1am 4-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454208 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)  
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 6013305021017310

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida kefyr**

Comments:	

Identification Information	Card:	YST	Lot Number:	2431893203	Expires:	Feb 1, 2023 12:00 CST
	Completed:	Mar 1, 2022 13:38 CST	Status:	Final	Analysis Time:	17.83 hours
Organism Origin	VITEK 2					
Selected Organism	97% Probability		<b>Candida kefyr</b>			Confidence: Excellent identification
SRF Organism	Bionumber: 6013305021017310					
Analysis Organisms and Tests to Separate:						
Analysis Messages:						
Contraindicating Typical Biopattern(s) Candida kefyr (ARAs(24))						

Biochemical Details																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	-	10	ERYa	-	12	GLYLa	-
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	+	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAaGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	-
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHNa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	-	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	-	49	NO3a	-	51	IARa	+	52	dGATa	-	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTa	-
61	IFROa	+	62	ZKCa	-	63	NAGa	-	64	dGNTa	-						

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01

MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019

AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic 2019

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC 2019

AES Parameter Last Modified: Jun 29, 2021 17:19 CDT

bioMérieux Customer:  
System #:

## Laboratory Report

Printed Mar 2, 2022 16:01 CST  
Printed by: Labadmin

Patient Name:  
Isolate: kitam 5-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: YST Bar Code: 2431893203454237 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)  
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 4502546065307771

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida albicans**

<b>Comments:</b>	
------------------	--

<b>Identification Information</b>	Card: YST	Lot Number: 2431893203	Expires: Feb 1, 2023 12:00 CST
	Completed: Mar 1, 2022 13:39 CST	Status: Final	Analysis Time: 17.85 hours
<b>Organism Origin</b>	VITEK 2		
<b>Selected Organism</b>	98% Probability <b>Candida albicans</b>		<b>Confidence:</b> Excellent identification
<b>SRF Organism</b>	Bionumber: 4502546065307771		
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>			
<b>Analysis Messages:</b>			
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b>			
Candida albicans dGATa(81)			

Biochemical Details																	
3	LysA	-	4	MLTa	-	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	-	12	GLYLa	+
13	TyrA	-	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	αGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MWGa	+	26	αCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	+
29	αRAFa	-	30	NAGA1	+	32	αMNEa	+	33	αMELa	-	34	αMLZa	-	36	ISBEa	-
38	IRHAa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	+	49	NO3a	-	51	ARAa	-	52	dGATa	-	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	αXYLa	+	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTa	(+)
61	PRCa	+	62	ZKCa	+	63	NAGa	+	64	αGNTa	+						

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01  
MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019  
AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic 2019

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC 2019  
AES Parameter Last Modified: Jun 29, 2021 17:19 CDT

bioMérieux Customer:

## Laboratory Report

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: Kitam6-1 (Qualified)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722523 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

Biomumber: 6013305061005300

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida kefyr**

<b>Comments:</b>	

<b>Identification Information</b>	<b>Card:</b> YST	<b>Lot Number:</b> 2432091503	<b>Expires:</b> Aug 18, 2023 12:00 AST
	<b>Status:</b> Final	<b>Analysis Time:</b> 17.82 hours	<b>Completed:</b> Aug 20, 2022 05:11 AST

<b>Organism Origin</b>	VITEK 2
------------------------	---------

<b>Selected Organism</b>	98% Probability Biomumber: 6013305061005300	<b>Candida kefyr</b> Confidence: Excellent identification
--------------------------	--	--

**Analysis Organisms and Tests to Separate:**

**Analysis Messages:**

**Contraindicating Typical Biopattern(s)**

<b>Biochemical Details</b>																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	-	10	ERYa	-	12	GLYLa	-
13	TyrA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	+	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAaGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	-
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHAa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	-	49	ND3a	-	51	IARa	(-)	52	dGATa	-	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	-	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CTTa	+	60	GRTAs	-
61	IPRCa	-	62	2KCa	-	63	NAGa	-	64	dGNTa	-						

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

# Appendix

bioMérieux Customer:

## Laboratory Report

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: Kitam6-1 (Qualified)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722523 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

Biometer: 6013305061005300

Organism Quantity:

Selected Organism: Candida kefyr

Action	Name (User ID)	Date/Time	Comment
--------	----------------	-----------	---------

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

Page 2 of 2

bioMérieux Customer:

**Laboratory Report**

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitm7-1 (Qualified)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722524 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

Biomumber: 6013305061025300

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida kefyr**

<b>Comments:</b>	

<b>Identification Information</b>	<b>Card:</b> YST	<b>Lot Number:</b> 2432091503	<b>Expires:</b> Aug 18, 2023 12:00 AST
	<b>Status:</b> Final	<b>Analysis Time:</b> 17.82 hours	<b>Completed:</b> Aug 20, 2022 05:11 AST

**Organism Origin** VITEK 2

**Selected Organism** 96% Probability **Candida kefyr**  
 Biomumber: 6013305061025300 Confidence: Excellent identification

**Analysis Organisms and Tests to Separate:**

**Analysis Messages:**

**Contradicting Typical Biopattern(s)**  
 Candida kefyr dGATa(9).

<b>Biochemical Details</b>																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	-	10	ERYa	-	12	GLYL	-
13	TyzA	+	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	+	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	+	24	MAaGta	-	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	-
29	dRAFa	+	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHAa	-	40	XLTa	+	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	-	49	NO3a	-	51	IARaA	-	52	dGATa	+	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dNYLa	-	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTa	-
61	IPRCa	-	62	2KCa	-	63	NAGa	-	64	dGNTa	-						

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

# Appendix

bioMérieux Customer:

## Laboratory Report

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitam7-1 (Qualified)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722524 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

Biometer: 6013305061025300

Organism Quantity:

Selected Organism: Candida kefyr

Action	Name (User ID)	Date/Time	Comment
--------	----------------	-----------	---------

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

Page 2 of 2

# Appendix

bioMérieux Customer:

## Laboratory Report

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitam8-1 (Qualified Duplicate)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722525 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

Bionumber: 4502544245111751

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida parapsilosis**

<b>Comments:</b>	

<b>Identification Information</b>	<b>Card:</b> YST	<b>Lot Number:</b> 2432091503	<b>Expires:</b> Aug 18, 2023 12:00 AST
	<b>Status:</b> Final	<b>Analysis Time:</b> 17.80 hours	<b>Completed:</b> Aug 20, 2022 05:10 AST

**Organism Origin** VITEK 2

**Selected Organism** 95% Probability **Candida parapsilosis**  
 Bionumber: 4502544245111751 Confidence: Very good identification

**Analysis Organisms and Tests to Separate:**

**Analysis Messages:**  
 See product information for additional information.

**Contraindicating Typical Biopattern(s)**  
 Candida parapsilosis 2KGa(81),dXYLa(85),dGATa(88).

<b>Biochemical Details</b>																	
3	LysA	-	4	IMLTa	-	5	LeuA	+	7	ARG	+	10	ERYa	-	12	GLYLa	+
13	TyrA	(-)	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MAaGa	+	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	+
29	dRAFa	-	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	+	38	ISBEa	-
39	IRHAA	-	40	XLTa	-	42	dSORa	+	44	SACa	+	45	URE	-	46	AGLU	+
47	dTURa	+	48	dTREa	-	49	NO3a	-	51	IARAA	+	52	dGATa	-	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	-	56	LATa	-	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTa	+
61	IPRCa	+	62	2KGa	-	63	NAGa	+	64	dGNTa	(+)						

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

Page 1 of 2



bioMérieux Customer:

**Laboratory Report**

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitm8-1 (Qualified Duplicate)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722525 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administration(Labadmin)

---

Bionumber: 4502544245111751

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida parapsilosis**

Action	Name (User ID)	Date/Time	Comment
--------	----------------	-----------	---------

---

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

Page 2 of 2

bioMérieux Customer:

**Laboratory Report**

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitano-1 (Qualified Duplicate)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722526 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionumber: 6402104020005150

Organism Quantity:

**Selected Organism: Candida krusei**

<b>Comments:</b>	

<b>Identification Information</b>	<b>Card:</b> YST	<b>Lot Number:</b> 2432091503	<b>Expires:</b> Aug 18, 2023 12:00 AST
	<b>Status:</b> Final	<b>Analysis Time:</b> 17.80 hours	<b>Completed:</b> Aug 20, 2022 05:09 AST
<b>Organism Origin</b>	VITEK 2		
<b>Selected Organism</b>	94% Probability <b>Candida krusei</b> Bionumber: 6402104020005150		Confidence: Very good identification
<b>Analysis Organisms and Tests to Separate:</b>			
<b>Analysis Messages:</b> See product information for additional information.			
<b>Contraindicating Typical Biopattern(s)</b> Candida krusei XLTa(3),dGALa(5).			

<b>Biochemical Details</b>																	
3	LysA	-	4	IMLTa	+	5	LeuA	+	7	ARG	-	10	ERYa	-	12	GLYLa	+
13	TyrA	(-)	14	BNAG	-	15	ARBa	-	18	AMYa	-	19	dGALa	+	20	GENa	-
21	dGLUa	+	23	LACa	-	24	MAaGa	-	26	dCELa	-	27	GGT	-	28	dMALa	-
29	dRAFa	-	30	NAGA1	-	32	dMNEa	+	33	dMELa	-	34	dMLZa	-	38	ISBEa	-
39	IRHAA	-	40	XLTa	+	42	dSORa	-	44	SACa	-	45	URE	-	46	AGLU	-
47	dTURa	-	48	dTREa	-	49	NO3a	-	51	IARAA	-	52	dGATa	-	53	ESC	-
54	IGLTa	+	55	dXYLa	-	56	LATa	+	58	ACEa	+	59	CITa	+	60	GRTaS	-
61	IPROa	+	62	2KCa	-	63	NAGa	+	64	dGNTa	+						

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02  
 MIC Interpretation Guideline:  
 AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:  
 AES Parameter Last Modified:  
 Page 1 of 2

bioMérieux Customer:

**Laboratory Report**

Printed by: Labadmin

System #:

Patient ID:

Patient Name:

Isolate: kitam9-1 (Qualified Duplicate)

Card Type: YST Bar Code: 2432091503722526 Testing Instrument: 000015F24F7D (12317)

Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

---

Bionumber: 6402104020005150

Selected Organism: *Candida krusei*

Action	Name (User ID)	Date/Time	Comment
--------	----------------	-----------	---------

---

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline:

AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:

AES Parameter Last Modified:

Page 2 of 2

ت	Compound name
1	Benzene, 1,3-dimethyl-
2	o-Xylene
3	Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)-,acetate,trans
4	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-
5	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
6	Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester
7	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl-
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ethyl methyl ester
9	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-
10	Diethyl Phthalate
11	Octanal, 2-(phenylmethylene)-
12	Benzyl Benzoate
13	Octadecanoic acid
14	Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate
15	Benzene, pentamethyl-
16	n-Hexadecanoic acid
17	1-Docosene
18	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
19	3-Buten-1-ol
20	Ethyl acetoacetate ethylene acetal
21	Benzene, (1-ethyl-1-propenyl)-

22	Acetic acid ,cyclohexyl ester
23	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-
24	Benzene, 2-butenyl-
25	2-Propanol, 1-(2-methoxy-1-methylethoxy)-
26	Propanedioic acid, (benzoylhydrazino)hydroxy-, dimethyl ester
27	Cathinone
28	1-Phenyl-1-butene
29	(E)-Hex-3-enyl isobutyl carbonate
30	2-Phenoxyethyl isobutyrate
31	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-(methoxymethyl)-
32	8-Heptadecene
33	1H-Pyrrole, 1-(4-chlorophenyl)-
34	2-(5-Nitro-2-furyl)benzimidazole monohydrate
35	Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-
36	Acetic acid, butyl ester

*C.albicans*

ت	Compound name
1	Benzene, 1,3-dimethyl-
2	O-Xylene
3	Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)-,acetate,trans
4	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
5	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl

6	Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester
7	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl-
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ethyl methyl ester
9	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-
10	Diethyl Phthalate
11	Octanal, 2-(phenylmethylene)-
12	Benzyl Benzoate
13	Octadecanoic acid
14	Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate
15	Benzene, pentamethyl-
16	n-Hexadecanoic acid
17	1-Docosene
18	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
19	3-Buten-1-ol
20	Ethyl acetoacetate ethylene acetal
21	Benzene, (1-ethyl-1-propenyl)-
22	Acetic acid ,cyclohexyl ester
23	Palmitoleic acid
24	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
25	Trifluoroacetoxy hexadecane
26	2-Butenedioic acid (E)-, bis(2-ethylhexyl) ester
27	Benzene, 1,3-dimethyl-5-(1-methylthyl)-

ت	Compound name
1	Benzene, 1,3-dimethyl-
2	O-Xylene
3	Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)- ,acetate,trans
4	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-
5	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
6	Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2- phenylethyl ester
7	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2- phenyl-
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ethyl methyl ester
9	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-
10	Diethyl Phthalate
11	Octanal, 2-(phenylmethylene)-
12	Benzyl Benzoate
13	Octadecanoic acid
14	Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate
15	Benzene, pentamethyl-
16	n-Hexadecanoic acid
17	1-Docosene
18	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
19	Benzene, (1-ethyl-1-propenyl)-
20	Silane, diazomethyl trimethoxy
21	1,2-Dibutoxyethane
22	1H-Indene, 2,3-dihydro-5-methyl-
23	Benzene, 1-ethyl-2,4,5-trimethyl-

24	Propane, 1,1,3,3-tetramethoxy-
25	5-Methyl-2,4-diisopropylphenol
26	2-(5-Nitro-2-furyl)benzimidazole monohydrate
27	(Z)-Methyl hexadec-11-enoate
28	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
29	Palmitoleic acid
30	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-
31	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
32	trans-13-Octadecenoic acid
33	Trifluoroacetoxy hexadecane
34	Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-
35	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester

*C.glabrata*

ت	Compound name
1	Benzene, 1,3-dimethyl-
2	O-Xylene
3	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-
4	Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)-,acetate,trans
5	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2- phenyl-
6	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
7	Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ethyl methyl ester



9	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-
10	Diethyl Phthalate
11	Octanal, 2-(phenylmethylene)-
12	Benzyl Benzoate
13	Octadecanoic acid
14	Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate
15	Benzene, pentamethyl-
16	n-Hexadecanoic acid
17	1-Docosene
18	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
19	3-Buten-2-ol
20	Ethyl acetoacetate ethylene acetal
21	Acetic acid ,cyclohexyl ester
22	2(5H)-Furanone, 5-methyl-
23	Benzene, 1,2,3-trimethyl-
24	Propanamide, 2,2-dimethyl-
25	Benzene, (2-methyl-2-propenyl)-
26	DL-Glyceraldehyde, dimethyl ether
27	Benzene, 1-methyl-3-propyl-
28	Benzene, 2-ethenyl-1,4-dimethyl-
29	4-tert-Butylcyclohexyl acetate
30	5,8-Dimethylenebicyclo[2.2.2]oct-2 -ene
31	Benzeneethanol, 4-hydroxy-
32	4-Methyl-1-dimethyl(dichloromethyl) silyloxypentane
33	5-Methyl-2,4-diisopropylphenol
34	Dibenzothiophene, 2-nitro-
35	Thiazole, 2-amino-4-(1H-indol-3-yl )-5- methyl-
36	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione,

	hexahydro-3-(2-methylpropyl)-
37	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-
38	1-Hexacosene

*C.kefyr*

№	Compound name
1	O-Xylene
2	Benzene, 1,3-dimethyl-
3	Cyclohexanol,4-(1,1-dimethylethyl)- ,acetate,trans
4	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-
5	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-
6	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2- phenyl-
7	Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester
8	1,2-Benzenedicarboxylic acid, ethyl methyl ester
9	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-
10	Diethyl Phthalate
11	Octanal, 2-(phenylmethylene)-
12	Benzyl Benzoate
13	Octadecanoic acid
14	Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphate
15	3-Buten-1-ol
16	Ethyl acetoacetate ethylene acetal
17	Benzene, (1-ethyl-1-propenyl)-
18	Benzene, (2-methyl-1-propenyl)-
19	Benzene, 1-ethyl-2,4-dimethyl-

20	1-Phenyl-1-butene
21	3-Phenylbut-1-ene
22	Benzene, 2-ethyl-1,3-dimethyl-
23	Benzene, 1,3-dimethyl-5-(1-methylethyl)-
24	2-Propanol, 1,1-dimethoxy-
25	1H-Benzimidazole, 2-(2-furanyl)-5- nitro-
26	Hexadecanoic acid, methyl ester
27	1-Heneicosanol
28	Methyl stearate
29	1-Octadecene
30	1,5-Anhydro-4-O-acetyl-2,3,6-tri-O - methyl-D-glucitol
31	O-Trifluoroacetyl dihydrocinnamyl alcohol
32	1-benzylindole
33	(2,3-Diphenylcyclopropyl)methyl phenyl sulfoxide, trans-
34	1,3,5-Cycloheptatriene, 7-ethyl-
35	1,3,5-Triphenyl-1,5-pentanedione Ketoprofen
36	[2.2]Paracyclophane
37	1-Benzyl-2-hydroxymethyl-cis-3-(p- methoxyphenylcarbamoyl)aziridine
38	Benzene, 1,1'-[3-(2-phenylethylidene)- 1,5-pentanediy]bis-
39	Mandelic acid
40	Benzeneacetic acid, .alpha.-hydrox y-, (S)-
41	2-Oxazolidinone, 4-methyl-5-phenyl -, cis-
42	5-Phenylvaleric acid, 2-methyloct- 5-yn-4- yl ester
43	Benzene, (5-iodopentyl)-

 *Appendix* 

---

44	1,2-Propanediol, 3-benzyloxy-1,2-diacetyl-
----	--

## **Abstract**

Vaginal candidiasis is a common and widespread disease, this study which is the first of its kind, was conducted on women in Misan Governorate , 100 clinical samples were collected during the period between December 2021 and May 2022 from the gynecological consultation of the Child and Maternity Hospital in Misan Governorate, in addition to some private clinics in the city, where vaginal swabs were taken using sterile cotton swabs from the Patients attend to the hospital and under the supervision of a specialized doctor.

The current study was conducted in the laboratory of fungi, College of Science / University of Misan , the study aimed to isolate and diagnose yeasts from women infected with infections of the reproductive system. The samples were collected from different age groups, ranging from 15-65 years, they were cultured laboratory on SDA medium, the results of the study showed that 45 swabs Vaginal Was a positive result and 55 vaginal swabs was a negative result. Several phenotypic tests were conducted on the positive samples, These tests included the isolates growth test on CHROMagar medium and they were distinguished based on the appearance of different colors , Clear differences between the species were also observed from the phenotypic tests through the formation of isolates of some species for a specific composition after they were developed on certain media , The germ tube (which in turn is a factor of virulence) after its growth on human blood serum, as well as the formation of Chlamydospores as a kind of conditioning when conditions are not suitable for the growth of isolates after growing them on a casein agar medium , Also, biochemical tests were conducted on the samples, which included the API *Candida* test in addition to testing the samples with Vitek 2 system , where the results of these tests are based on the

## Abstract

---

occurrence of chemical reactions, and the samples were diagnosed using the PCR technique and based on these tests, the results showed the emergence of 6 types of yeasts belonging to the genus *Candida*, which are: *C.albicans* , *C.glabrata* , *C. parapsilosis* , *C. krusei* , *C. kefyr*.

*C. albicans* showed the highest number of isolates (20 isolates)the highest occurrence rate (44.4%) and the lowest number of samples and frequency appearing in *C.kefyr* (2 samples, 4.4% , respectively). The phylogentic tree for each of the isolated species was made during the current study to know the evolutionary relationships of the isolates of this study with the isolates preserved in the gene bank based on the similarity and difference in the sequence of DNA nucleotides. Secondary metabolites were also detected using GC-MS technique, which was conducted on 5 species which are: *C.albicans*, *C.glabrata*, *C. parapsilosis*,*C. krusei* and *C. kefyr*, The results of this technique showed that all tested species participate in the production of fifteen active compounds , it was found that these compounds have health effects on humans, some of which affect the skin, eyes and the respiratory system, and others It has toxic effects on cells, In addition to human carcinogenic compounds.

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



# **Isolation and Identification of some species of Candida from women infected by Vaginal Candidiasis in Misan Governorate**

**A Thesis**

**Submitted to the council of College of Sciences/ University of Misan**

**In partial/ Fulfillment of the Requirements For the Degree**

**Master of Science in Biology**

**By**

**Khutam Jaber Hassan**

**B.Sc. Biology**

**2013**

**Supervised by**

**Prof. Dr. Ali A. Kasim**

**2022 A.D**

**1444 A.H**