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

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

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم / جامعة ميسان

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة

من قبل

مهند مهدي محمد

بكالوريوس علوم الحياة /جامعة ميسان

(2016)

بإشراف

أ. د. علي عبد الواحد قاسم

محرم 1441 هـ **أيلول 2019 م**

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُم مِّن الْعِلْمِ إِلاَّ قَلِيلاً)

صَدَّقَ اللهُ الْعَلِيِّ الْعَظِيمِ

(من سورة الإسراء ، الآية :85)

الإهداء

إلى الذي كللت اناملهُ ليقدمَ ليّ السعادة

... أبي

إلى التي علّمتني الصمود مهما تبدلت الظروف

... أمي

إلى الذين اثروني على انفسهم وأظهروا ما هو اجمل من الحياة

... إِخوتي

إلى الانسانة التي علَقتُ عليها آمالي في اجتياز هذا الدرب الطويل الى رفيقة دربي

... زوجتي

إلى الذين كانوا معي على طريق الخير والنجاح إلى من عرِفتُ كيف أجدهُمُ

... أصدقائي

إلى الأيادي التي ساعدتني لكي اسيرَ وأصِلَ إلى ما أنا به حتّى كتابة هذه السطور

... أساتذتي

أُهدي الجميع ثمرة جهُدي

مهند

الشكر والتقدير

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

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

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

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

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

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

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

مهند

توصية الأستاذ المشرف

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

التوقيع :

أسم المشرف : أ. د. **علي عبد الواحد قاسم**

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ : / / 2019 م

توصية رئيس قسم علوم الحياة

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

التوقيع :

أسم المشرف : أ. م. د. **زاهد عزيز سعدون**

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2019 م

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

تم تشخيص الفطريات الجلدية المعزولة أعتماداً على الصفات الزرعية للمستعمرات النامية مثل اللون والحجم وطبيعة المزرعة والجهة الخلفية للطبق (Reverse) والصفات المجهرية كشكل الكونيدات وحجمها والخيوط الفطرية حيث تم عزل الفطريات في 46 عينة من مجموع 137 وبنسبة 33.6 % وشخص 12 نوعاً منها تعود إلى ثلاثة اجناس هي *Epidermophyton* و *Microsporum* و *Trichophyton* و اظهر الفطر *T. interdigitale* أعلى نسبة ظهور بلغت 32.6% (15 عزلة) ويليه الفطر *M. canis* var.*distortum* وبنسبة ظهور بلغت 13 % (6 عزلات) ثم الفطرين *M. canis* var.*equinum* و *T. equinum* وبنسبة ظهور بلغت 10.9% (5 عزلات) لكل منهما بينما أظهرت الفطريات الجلدية *M. persicolor* و *M. nanum* و *T. rubrum* و *T. ajelloi* أقل نسبة ظهور بلغت اذ بلغت2.2 % (عزلة واحدة لكل فطر) بينما اختلفت نسبة ظهور بقية الفطريات والموضحة في الجدول (1-3).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

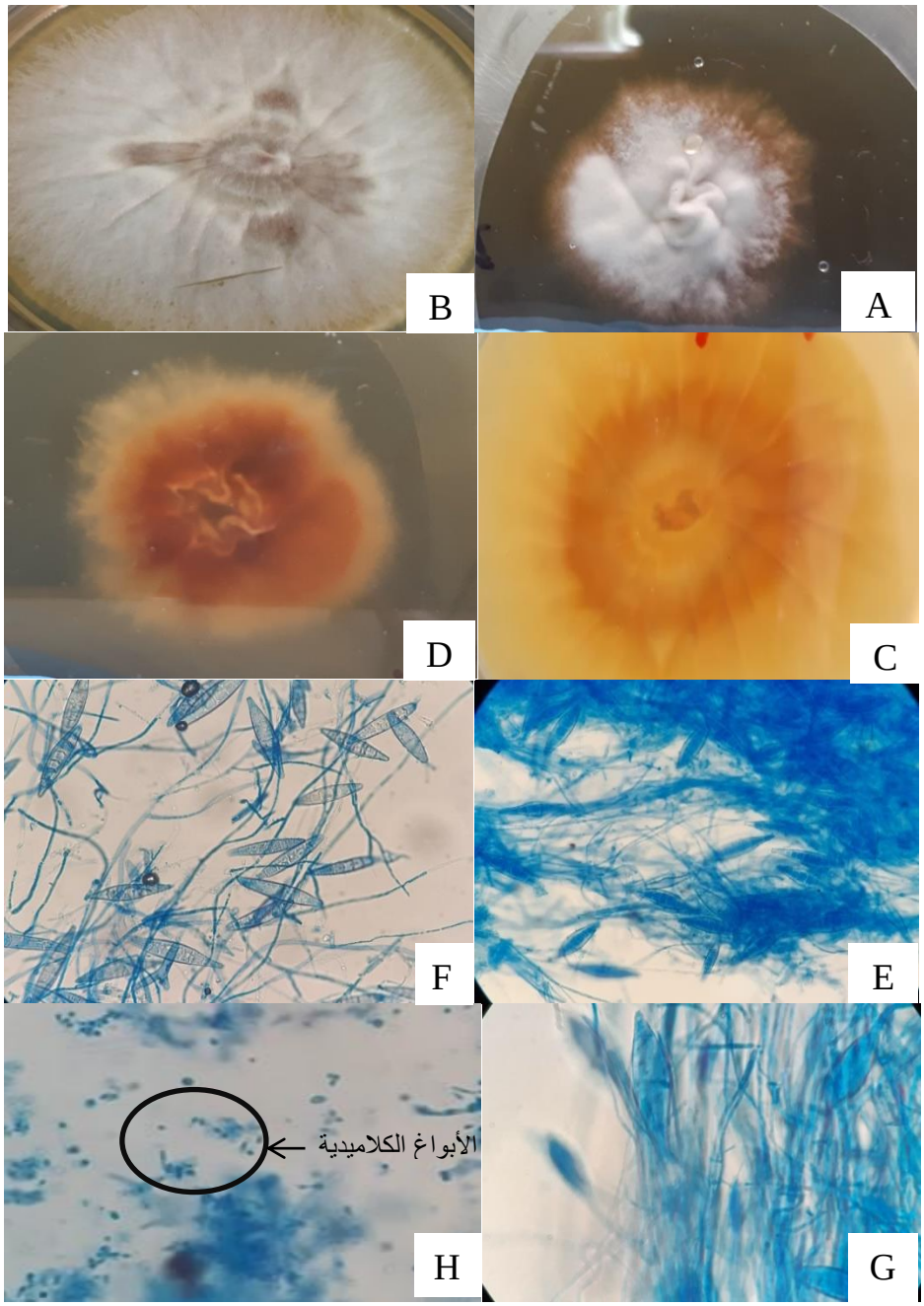
3-2: تصنيف الفطريات الجلدية Classification of Dermatophytes

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

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

موقع الإصابة : حصل على 5 عزلات، أثنين من الجسم ، وواحده كل من الوجه والرأس واليد.

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



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

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

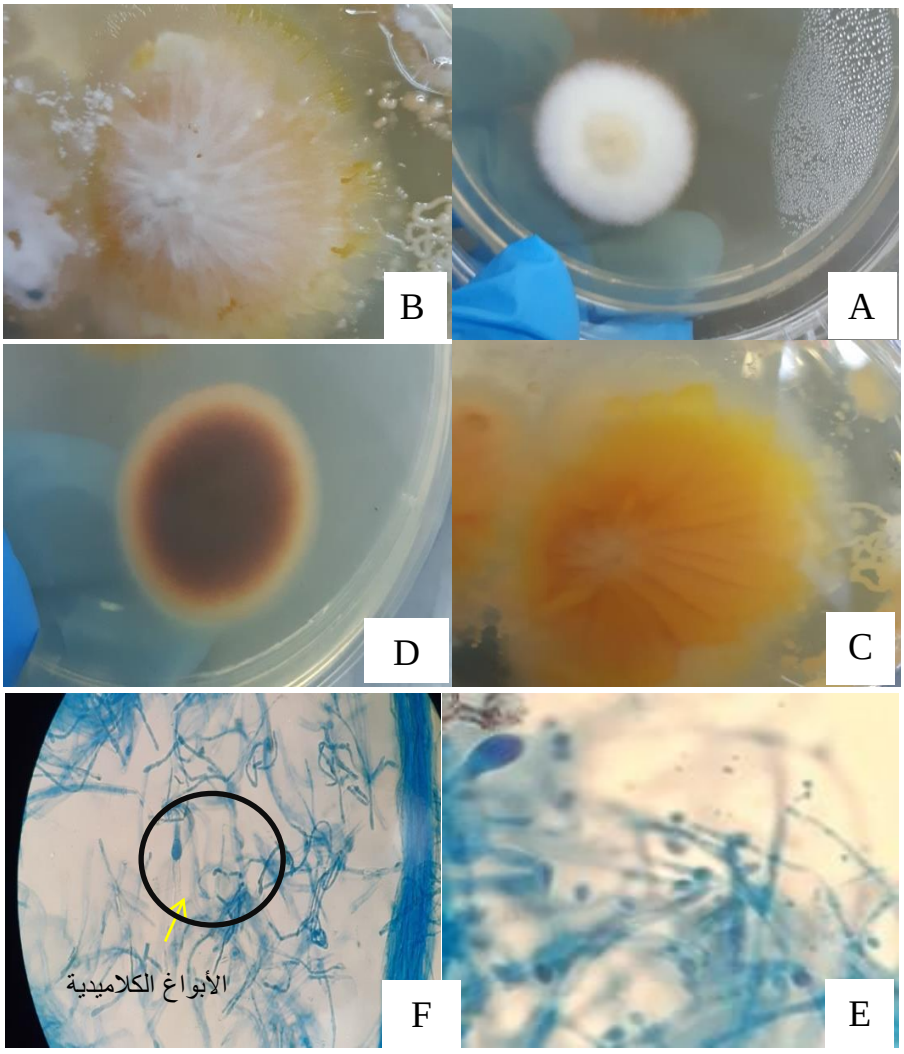
شكل (3-2) ، رقم العزلة 89

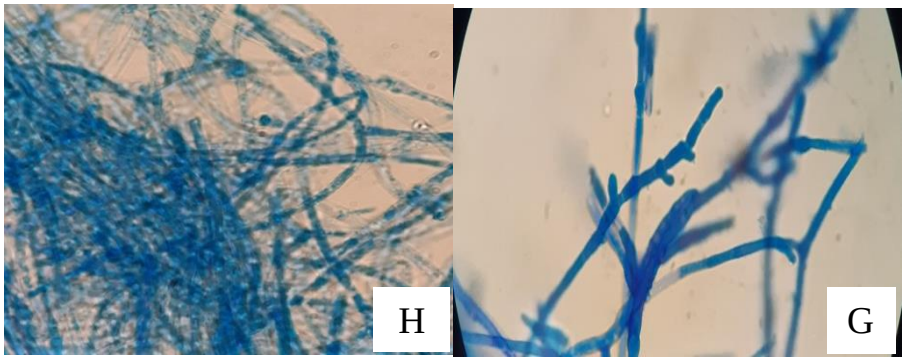
المستعمرات ، مسطحة ، منتشرة ، ذات لون ابيض رمادي إلى لون فاتح ،كثيفة تشبه السطح الناعم اما الجهة الخلفية للطبق تكون باللون الأصفر أو البني الى البني المحمر، بعض العزلات قد لا تظهر اي لون على الجهة الخلفية . الخيوط الفطرية تكون ، شفافة ، مقسمة ، سمكها 1- 3 مايكرون . لا تكون حوامل

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

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

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





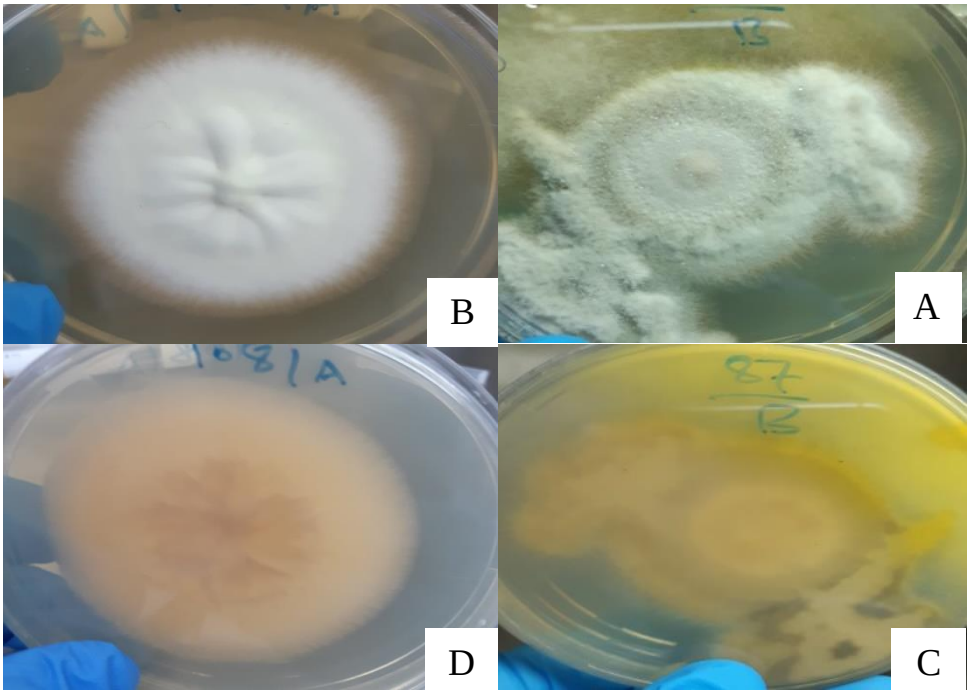
الشكل (2-3): *M.audouinii* A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C -D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E : الكونيده الكبيرة للفطر، F : الأبواغ الكلاميدية،G – H : الخيوط الفطرية X 100.

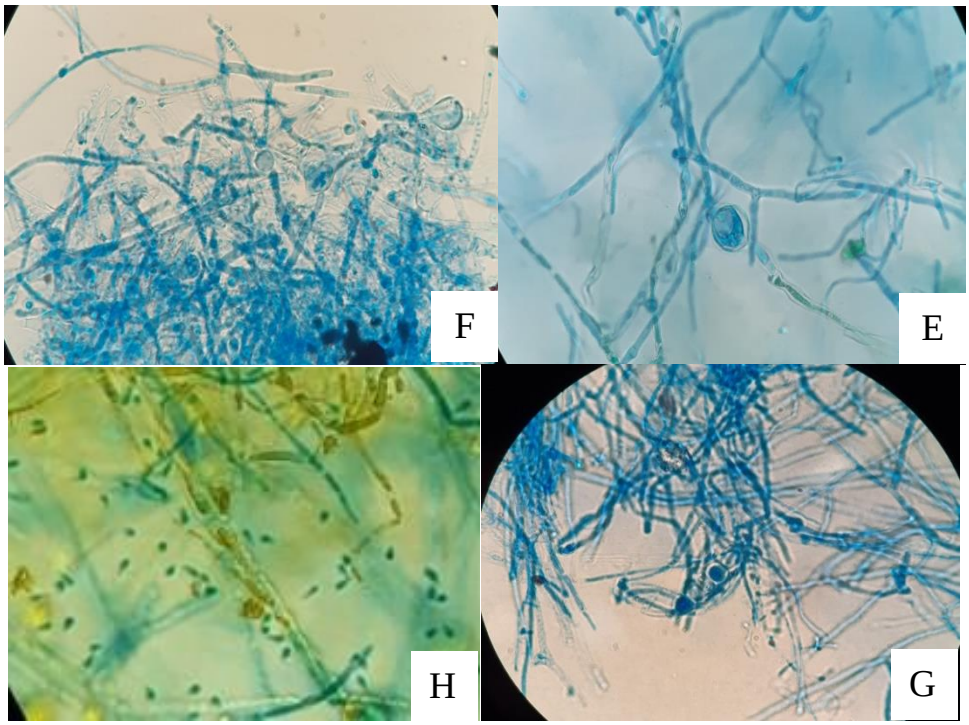
3-*M. canis ver. distortum*. di Menna and Marples,*Trans Br Mycol Soc* 37(4), (1954). 47 رقم العزلة ، (3-3) شكل

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

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

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





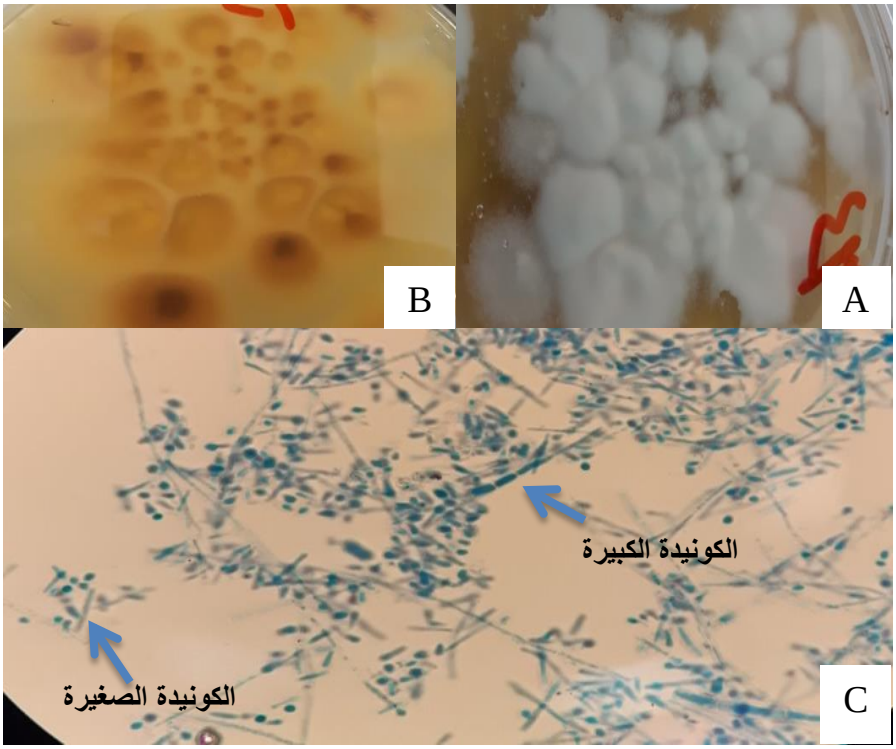
الشكل (3-3): *M.canis* var.*distortum* . A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C- D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E - F : الكونيدات الكبيرة للفطر، G: الخيوط الفطرية ، H : الأبواغ الكلاميدية .100X

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

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

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحد من المغبن .

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



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

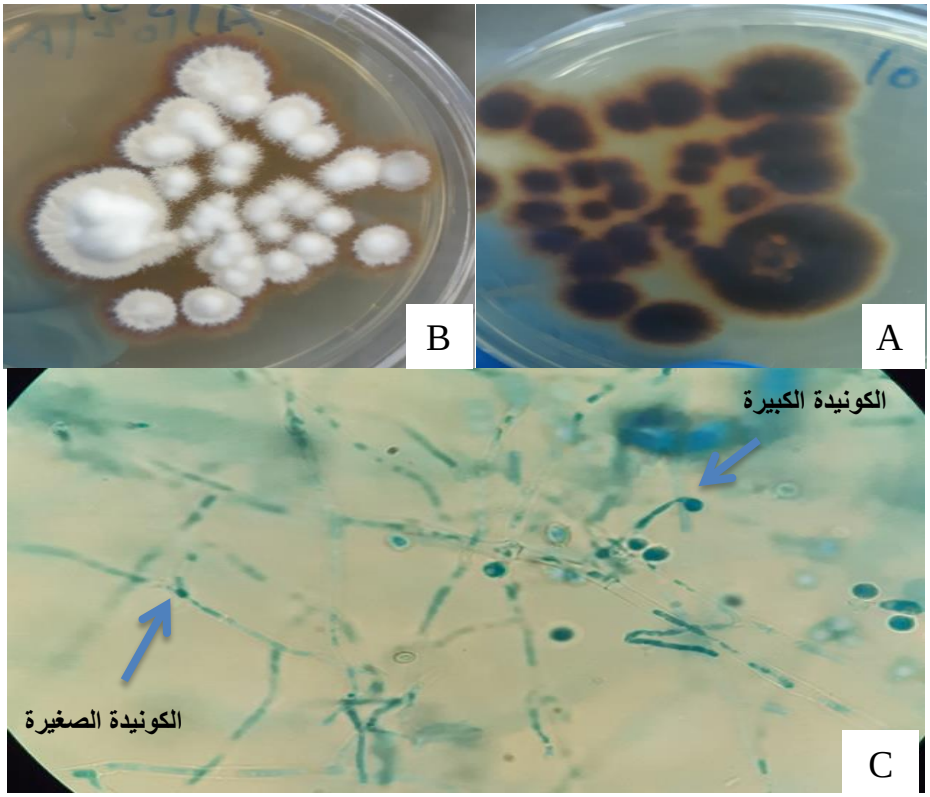
5- *M. nanum* Fuentes, *Mycologia* 48:613–614, (1956).

شكل (3-5) ، رقم العزلة 102

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

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحد من الوجه.

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



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

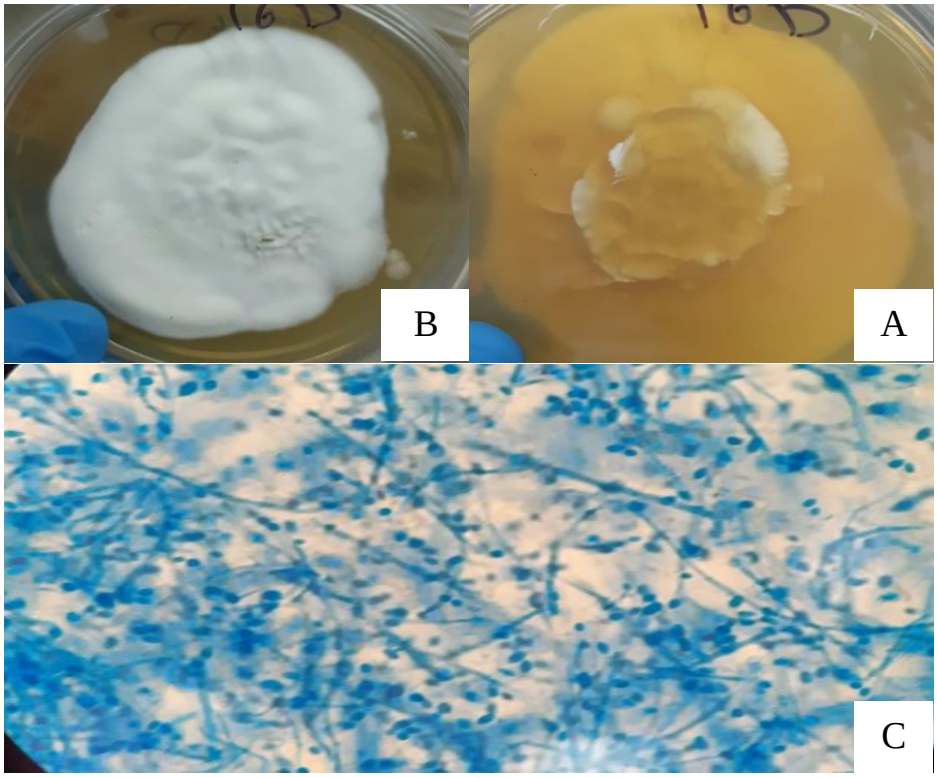
6- *T. rubrum* (Castellani) Sabouraud, Br *J Dermatol* 23:389, (1911).

شكل (3-6) ، رقم العزلة 16

المستعمرات بيضاء ، ملساء تشبه جلد الغزال ، مرتفعة . الجهة الخلفية للطبق تكون ذات لون اصفر بني . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، سمكها1-2 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . لا تكون كونيدات كبيرة . الكونيدات الصغيرة بيضوية ، صغيرة الحجم، أبعادها 1 -2 x 2- 3 مايكرون ، محمولة مباشرة على الخيط الفطري . لا تكون أبواغ كلاميدية .

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحده من الأظفر.

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



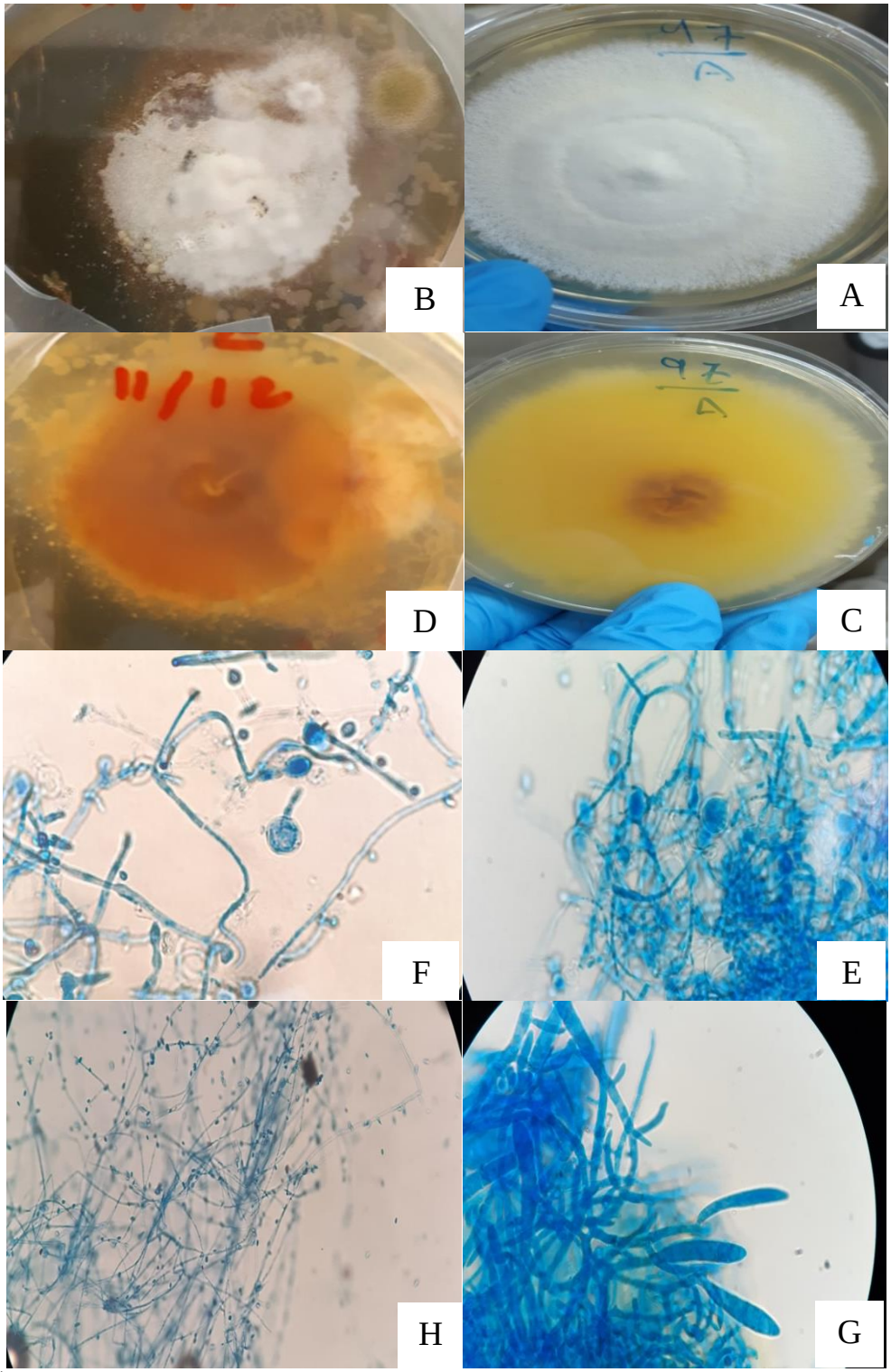
الشكل (3-6): *T.rubrum*. A : المستعمرة على وسط SDA ، B : الجهة الخلفية للمستعمره ، C: الكونيدات الصغيرة للفطر 100 X.

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

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

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

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



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

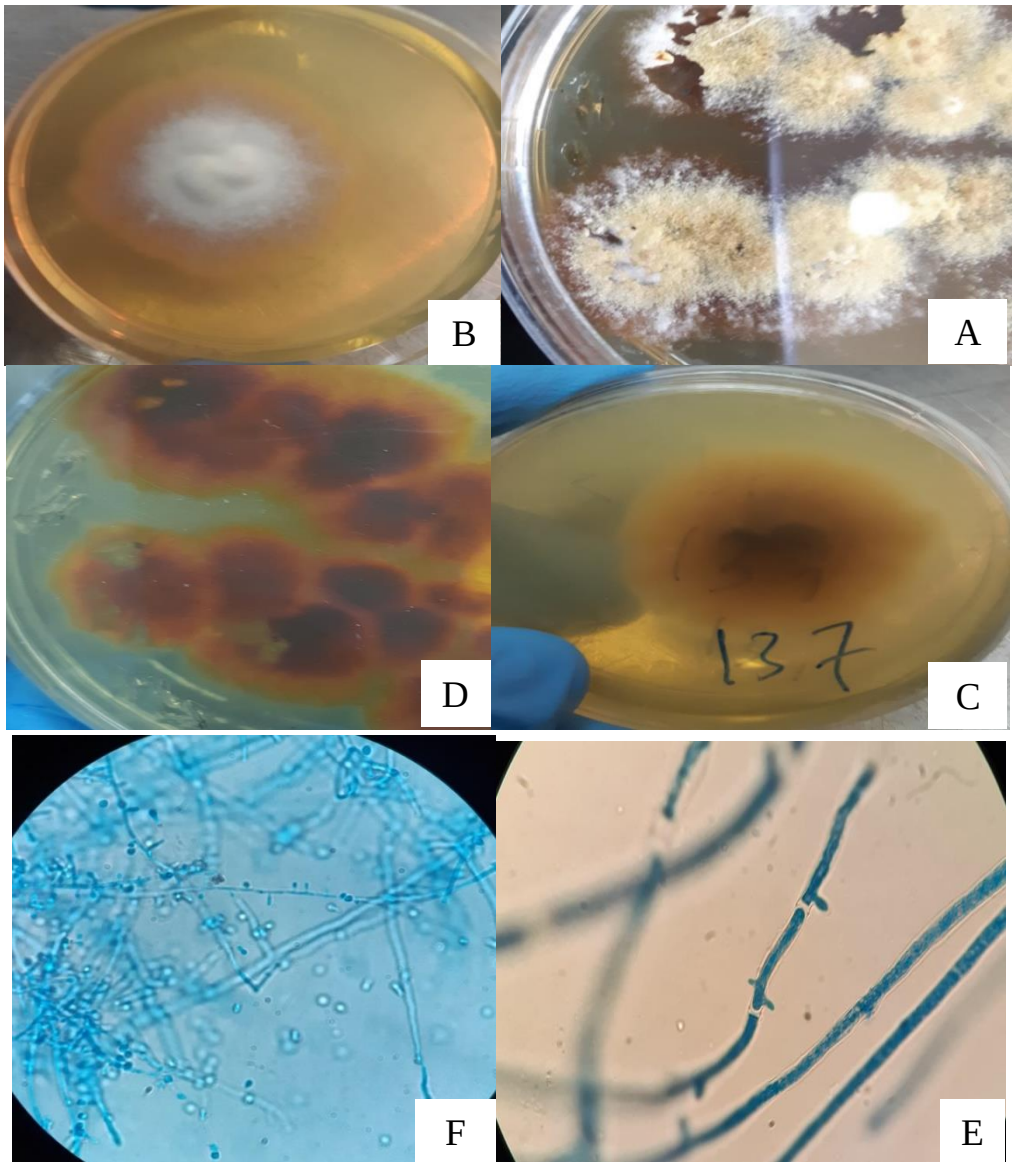
8- *T. equinum* (Matruchot & Dassonville) Gedoelst, *Joseph Van In & Cie, Bruxelles, H. Lamertin.* p.88 ,(1902). 106 رقم العزلة ، (3-8) شكل

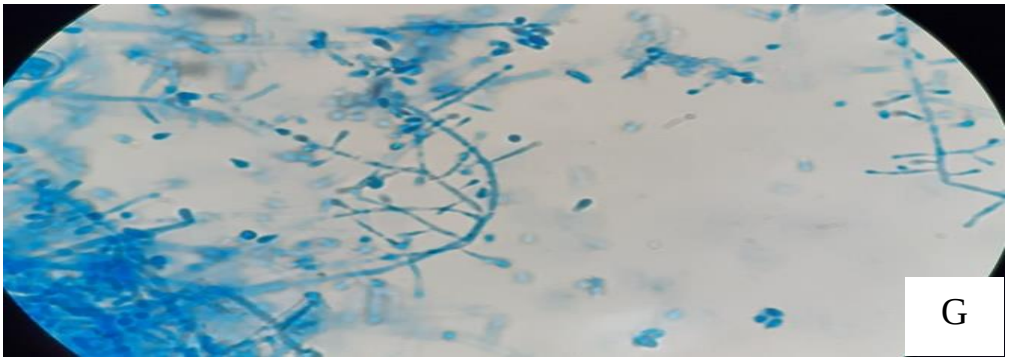
المستعمرات مسطحة ، بعضها قد يتحور إلى طيات أو اخاديد شعاعية من اللون ألابيض إلى اللون البرتقالي مثل الجلد المدبوغ على شكل ملمس ناعم ، عادة ما تكون للمستعمرات حافة مغمور باللون الأصفر

الغامق ، أما الجهة الخلفية للطبق ذات لون أحمر غامق . الخيوط الفطرية شفافة ، مقسمة ، متفرعة ، سمكها 1 - 3 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة فهي نادراً ما تتكون . الكونيدات الصغيرة بيضوية كثيره العدد، ابعادها 1 x 1 – 5 7- 1 مايكرون ، تتشكل افقياً على طول الخيط الفطري . تكون أبوغ كلاميدية . تمتاز بتكوين تراكيب تدعى الأعضاء العقدية (Nodular Organs) .

موقع الإصابة: حصل على 5 عزلات ، أثنين من الرأس ، وواحده كل من الجسم والمغبن واليد .

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





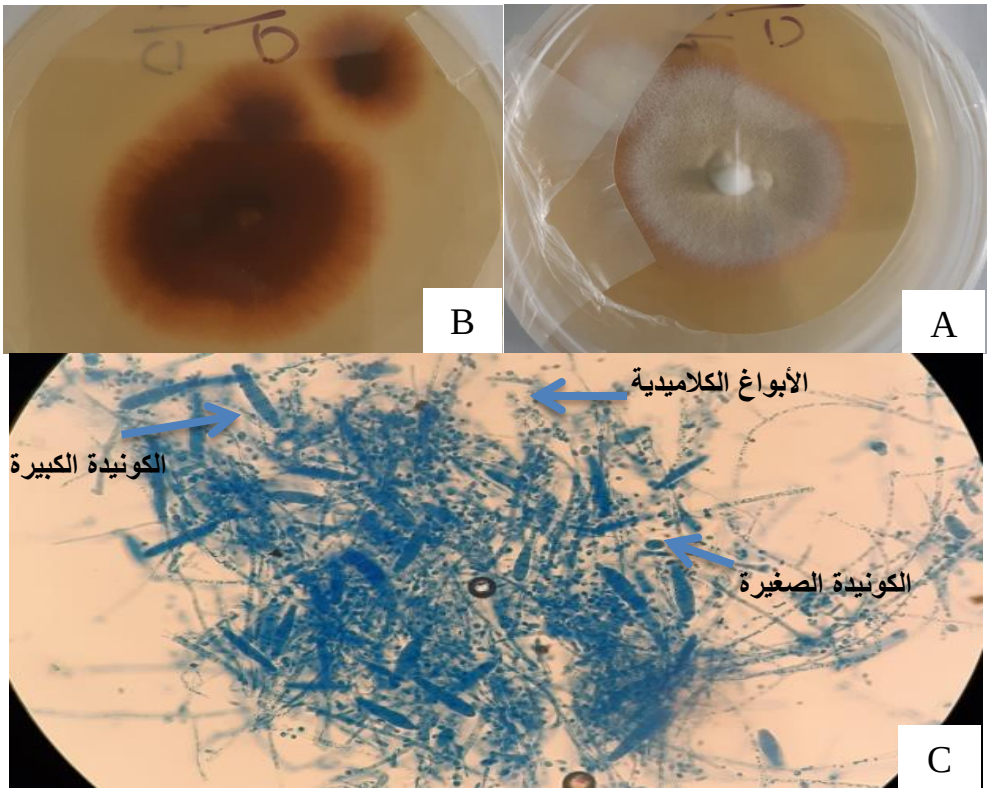
الشكل (3-8): *T.equinum*. A – B : المستعمرات على وسط SDA ، C- D : الجهة الخلفية للمستعمره ، E : الخيوط الفطرية، F- G: الكونيدات الصغيرة للفطر 100 X .

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

المستعمرات مسطحة ، بيضاء إلى كريمية اللون، حبيبية السطح تظهر بعض المستعمرات طياً مركزياً أو تطور خصلات مركزية مرتفعة تشبه الجلد المدبوغ متعدد الاشكال، الجهة الخلفية للطبق عادة ما تكون ذات لون أصفر بني أو بني محمر . الخيوط الفطرية شفافة، مقسمة ، سمكها 2-3 مايكرون . لا تكون حوامل كونيدية . الكونيدات الكبيرة اسطوانية ، رقيقة الجدران، أبعادها 2 - 7 x 4 – 7مايكرون ، تحتوي على 2-3 خلية . الكونيدات الصغيرة كروية الشكل آحادية الخلية، غالباً ما تكون كثيفة، أبعادها 2-3 X 3-1.5 مايكرون . الأبواغ الكلاميدية كروية الشكل ، توجد بأعداد متفاوتة .

موقع الإصابة:حصل على عزلتين ، واحده كل من الجسم والمغبن .

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



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

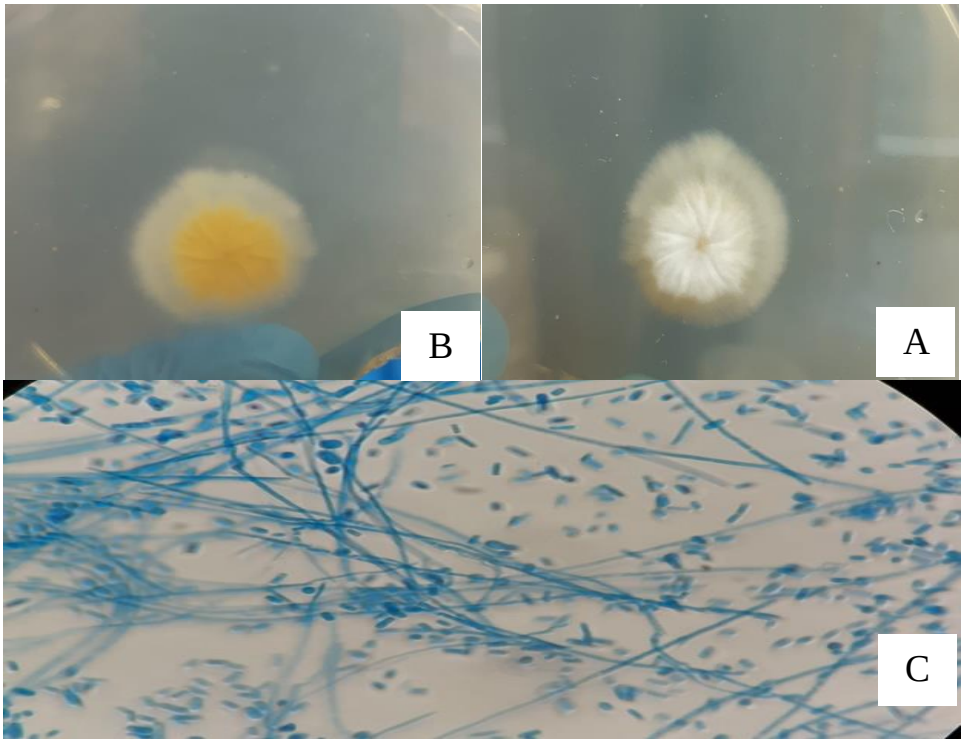
10-*T.erinacei*. Smith and Marples , Sabouraudia. 3:1-10, (1964).

شكل (3-10) ، رقم العزلة 86

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

موقع الإصابة: حصل على 3 عزلات، أثنين من الرأس، واحده من اليد .

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



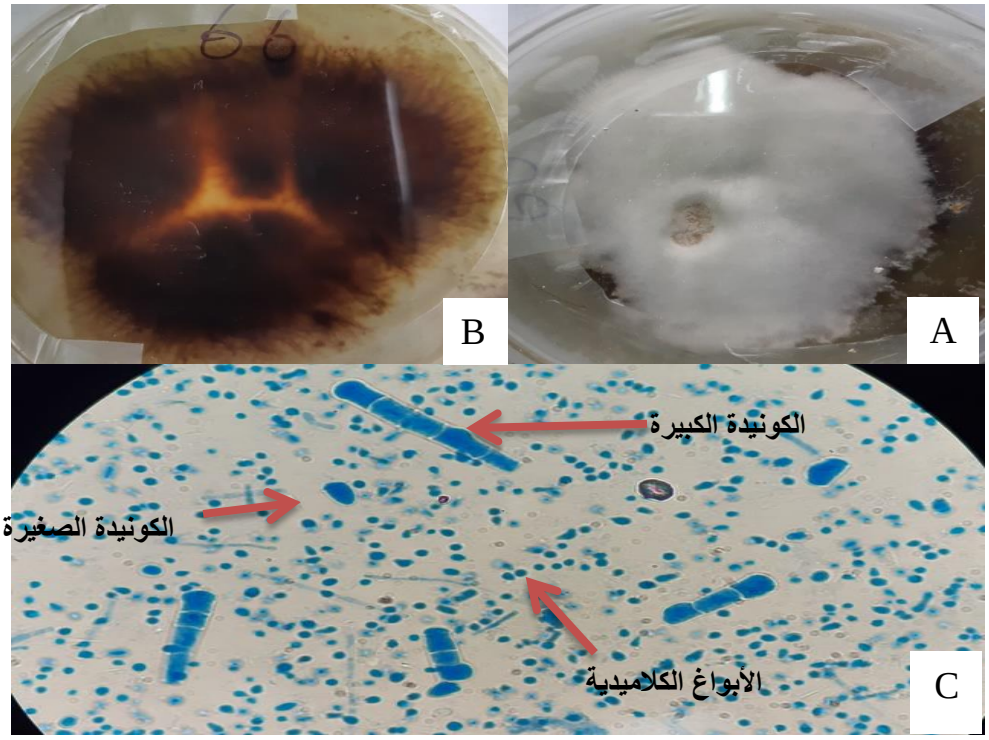
الشكل (3-10): *T.erinacei*. A : المستعمرات على وسط SDA ، B: الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الصغيرة للفطر X 100.

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

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

موقع الإصابة: حصل على عزلة واحده من الوجه.

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



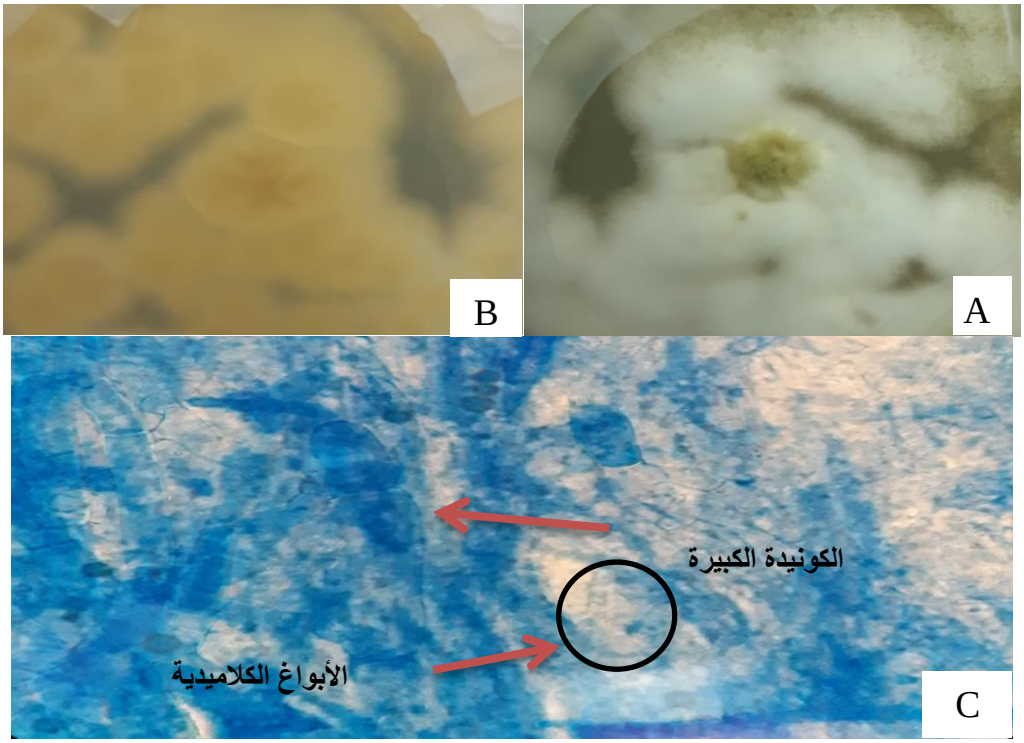
الشكل (3-11): *T.ajelloi*. A : المستعمرات على وسط SDA ، B: الجهة الخلفية للمستعمره ، C : الكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة والأبواغ الكلاميدية للفطر X 100 .

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

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

موقع الإصابة: حصل على عزلتين من اليد .

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



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

3-3: الإصابة بالفطريات الجلدية حسب الجنس والعمر

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

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

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

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

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

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

في حين لا تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره كل من الباحثين Parameswari (2018) و Basak *et al*.(2019) حيث وجدوا ان الفئة العمرية 21-30 أكثر إصابة مقارنته بالفئات الأخرى .

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

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

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

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

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

4-3: الإصابة بالفطريات الجلدية حسب مناطق الجسم

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

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

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

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

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

وقد يعود سبب الإصابة بسعفة الجسم إلى الدفء وقلة التهوية والرطوبة اذ تعد عوامل ملائمة لحدوث الإصابة (Martin and Koboyashi, 1993) فضلاً عن تعامل الاشخاص مع الحيوانات الاليفة إذ يعزى أنتشار الإصابة بسعفة الجسم إلى الإصابة بالفطريات الجلدية التي تنتقل عن طريق الحيوانات الأليفة كالقطط والحيوانات الأليفة الأخرى التي تربى بالمنازل والتي تعد مصدراً من مصادر الإصابة إضافة إلى

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

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

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

3-5: الاصابة بالفطريات الجلدية حسب اشهر السنة

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

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

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

الشهر	الجنس		المجموع	النسبة المئوية %		
	ذكر	انثى		ذكر	انثى	المجموع
كانون الاول	8	5	13	17.4	10.9	28.3
كانون الثاني	5	7	12	10.9	15.2	26.1
شباط	6	1	7	13.0	2.2	15.2
اذار	5	2	7	10.9	4.3	15.2
نيسان	6	0	6	13.0	0.0	13.0
ايار	0	1	1	0.0	2.2	2.2
المجموع	30	16	46	65.2	34.8	%100

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

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

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

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

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

+ قابلية الفطريات المختبرة على إنتاج المركب الكيميائي

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Elastase	Phosphplipase	Lipase	Protease	نوع الفطر
+	–	+	+	*M. audouinii*
–	–	+	–	*M. canis*
+	+	+	+	*M. nanum*
–	–	–	+	*M. persicolor*
–	–	+	–	*T. ajelloi*
–	–	–	+	*T. equinum*
+	+	+	–	*T. erinacei*
–	–	–	+	*T. interdigitale*
+	+	+	+	*T. mentagrophytes*
–	–	+	–	*T. rubrum*

(+) Present , (-) Absent

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

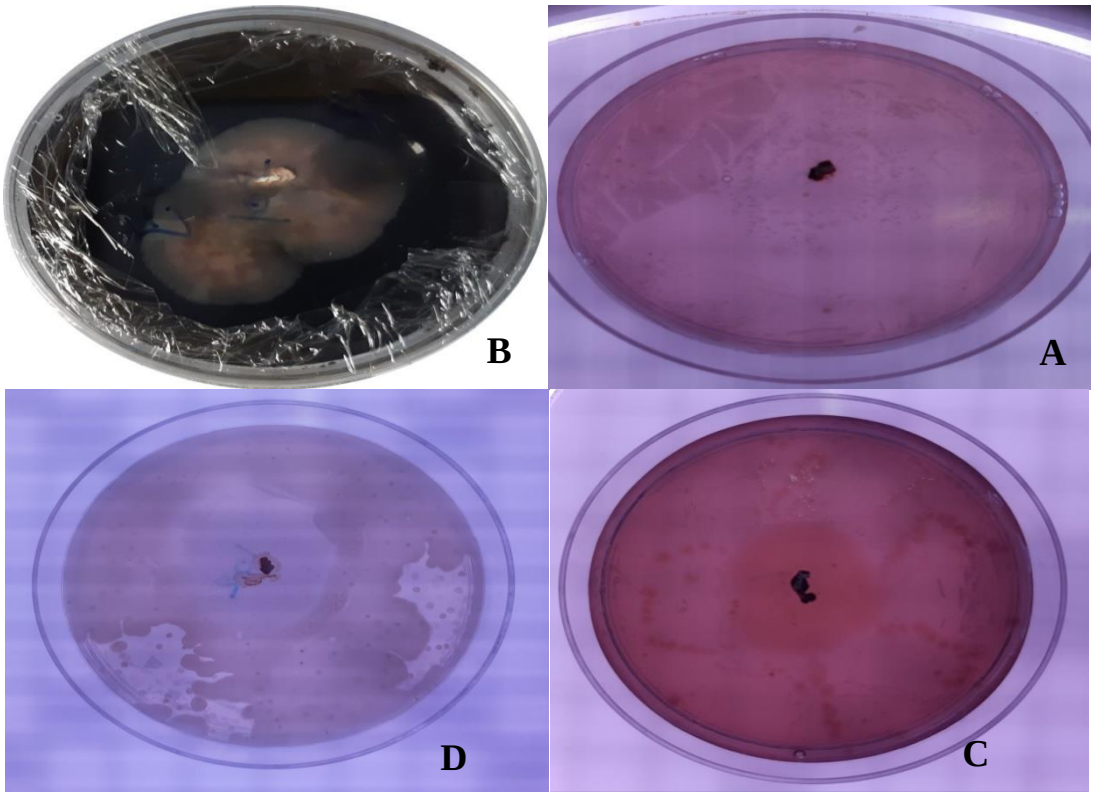
أما بالنسبة لأنزيم Lipase فمن المعروف أن هذا الانزيم يعمل على المحافظة على وظيفته الغشاء الخلوي للفطر كما انه يساعد في غزو انسجة المضيف ويحلل الدهون ((Das and Benarjee, 1974 ; Elavarashi *et al*., 2017) ووجد معظم الفطريات المختبرة لها القدرة على انتاج الانزيمات وهذ ما توصل الية كل من AL-Hamdani (1997) و Gnat *et al*.,(2018) . اما فيما يخص انزيم Phospholipase فمن المعروف انه يقوم بتحلل الفوسفولبد إلى احماض دهنية ومواد محبة للدهون لذلك ينتج أثناء الإصابة (Chinnapun, 2015). فأظهرت معظم الفطريات المختبرة عدم القدرة على أنتاج هذا الانزيم باستثناء الفطريات *M. nanum* و*T. erinacei* و*T. mentagrophytes* وهذا خلاف ما توصل إلية كل من Muhsin *et al*.(1997) و AL-Hamdani (1997) .

اما بالنسبة لأنزيم Protease فأظهرت معظم الفطريات القدرة على انتاج هذ الانزيم وهذا النتائج اتفقت مع ما توصل الية كل من Muhsin *et al*.(1997) و AL-Hamdani (1997) و (Elavarashi *et al*.,2017) حيث اظهرت الفطريات الجلدية قدرات وان كانت متفاوتة في انتاج هذا الانزيم وذلك لحاجتها للبروتين كغذاء ولما له من دور عملية الأختراق والتسبب بالإصابة الجلدية (Kadhim *et al*., 2015 ; North, 1982).

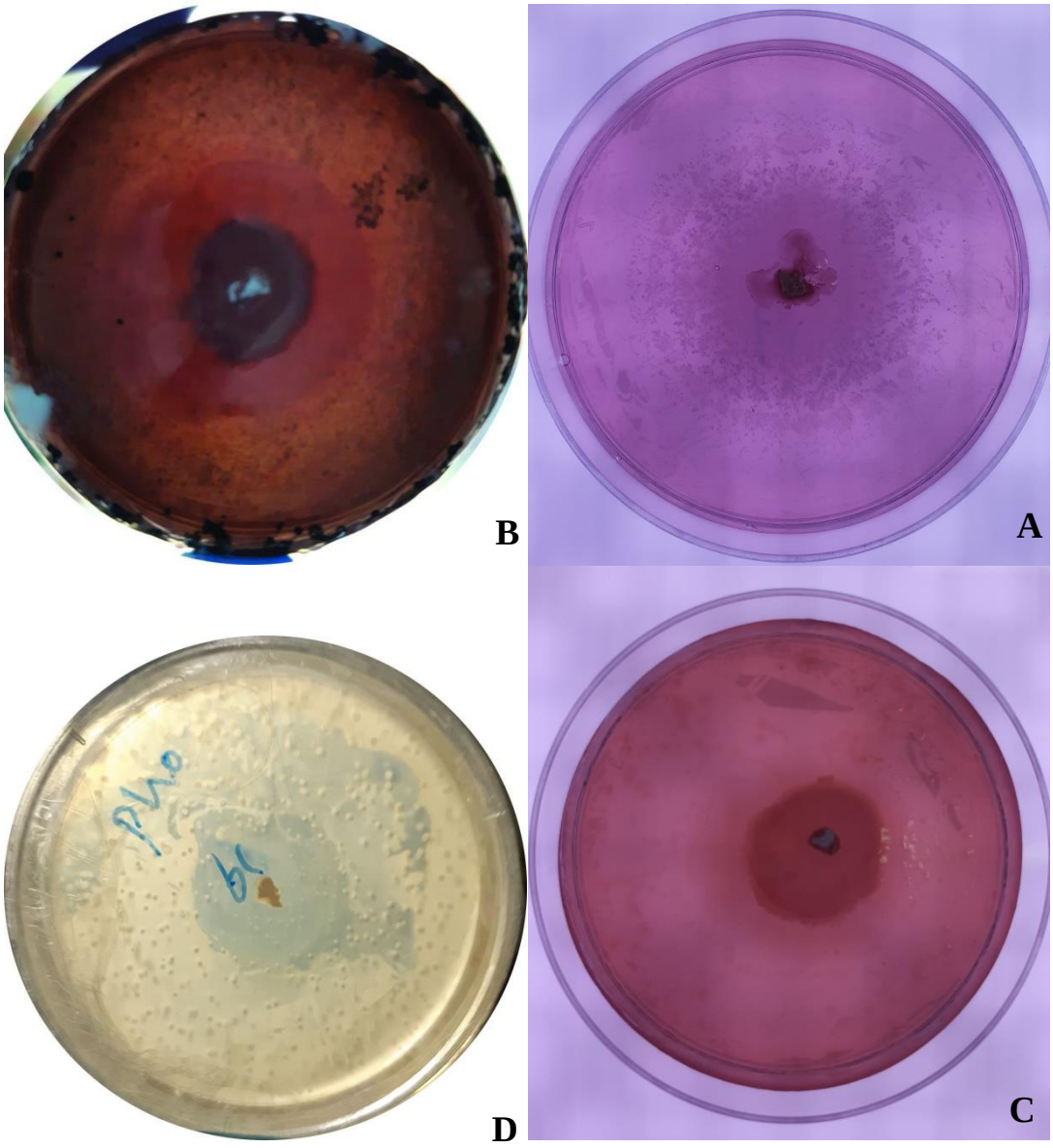
وبصورة عامة يعود سبب انخفاض أو عدم إنتاج الانزيم إلى تراكم الفضلات وعدم توفر المواد الغذائية اللازمة لنمو الفطريات (Raju and Divakar, 2013) أو إلى وقت الحضن كونه عاملاً مهماً ومسؤولاً عن تكوين الانزيم الأمثل وهو يختلف من فطر إلى آخر (Bhatti *et al*., 2007) أو إلى درجة الحرارة لأن الانزيم قد يتحطم بدرجة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

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

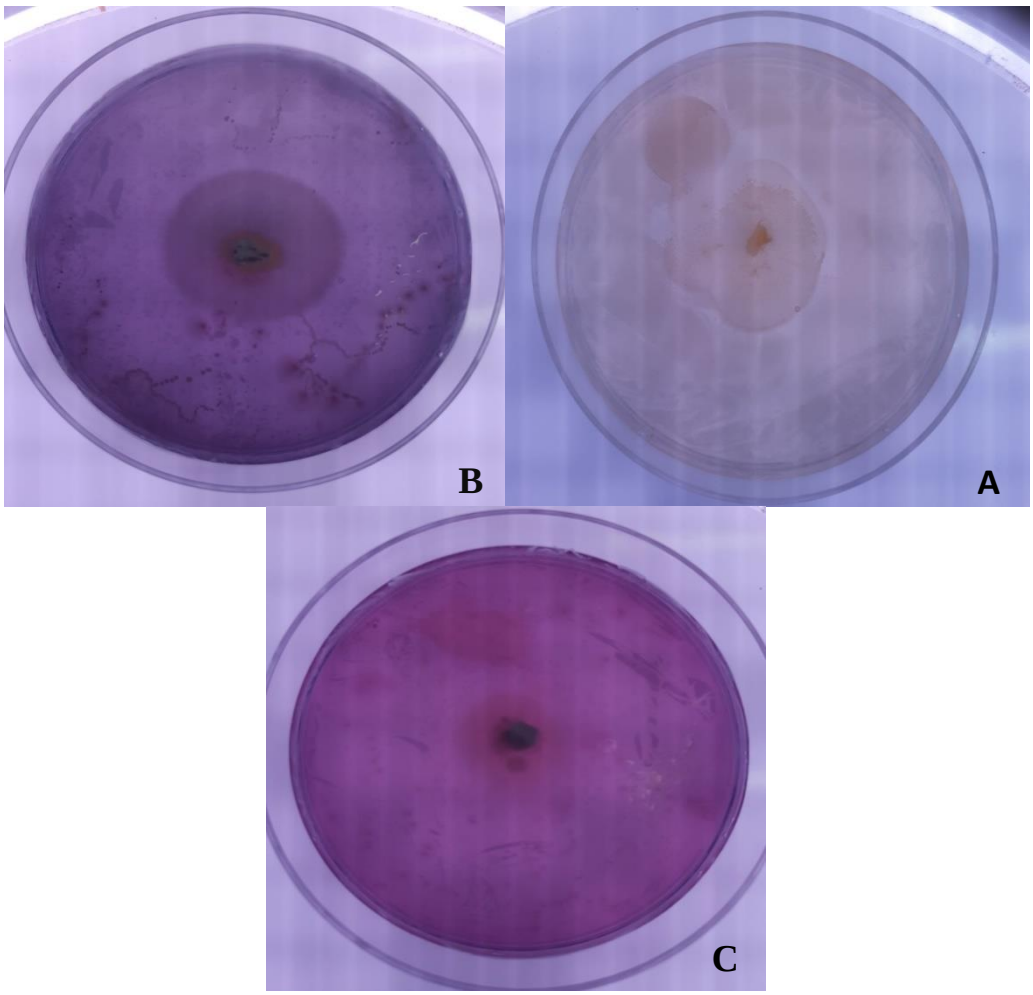
ان الانزيمات التي تفرزها الفطريات الجلدية لا تؤثر جميعها اثناء الإصابة اذ ان بعض الانزيمات يمكن ان تنتج أثناء مراحل محددة من الإصابة أو قد يكون لها أثراً اكثر فعالية في النمو (Achterman and White, 2011 ; Gnat *et al*., 2018) ولذلك من الصعب ان تقدم طريقة الزرع على الأوساط الصلبة استنتاجات واضحة لذلك تشير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



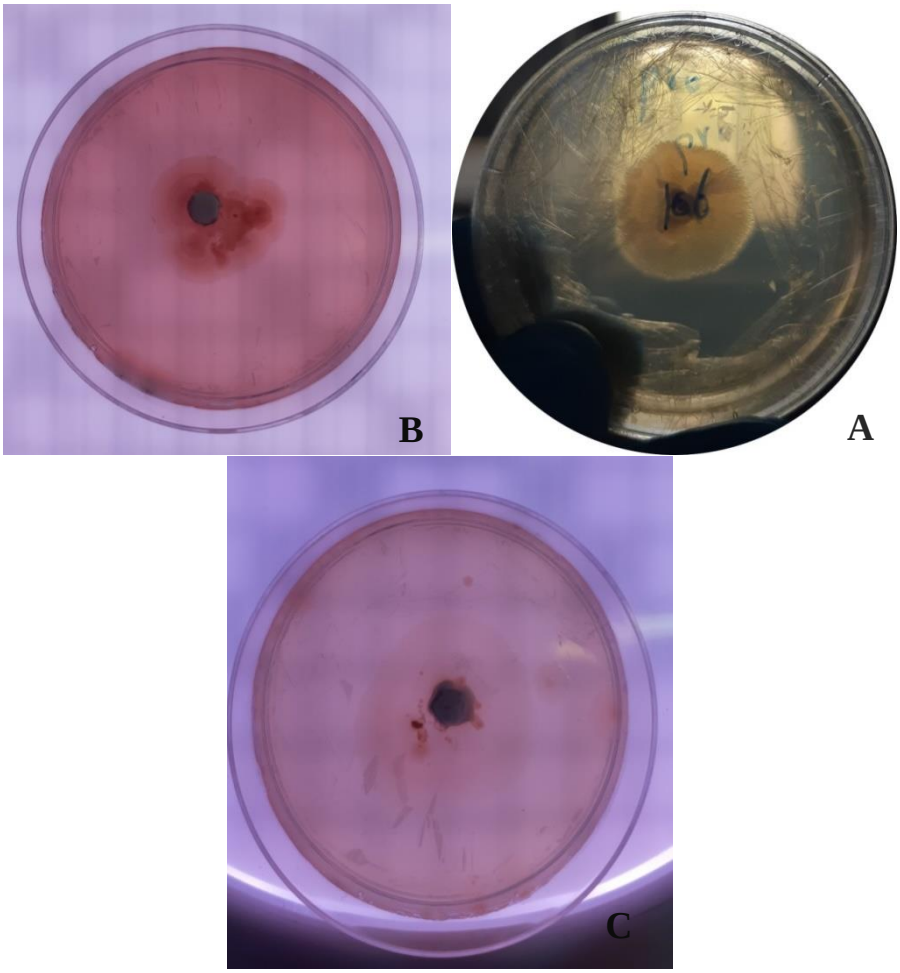
الشكل (3-13): قابلية الفطر *M.nanum* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Phosphplipase ، D: Protease.



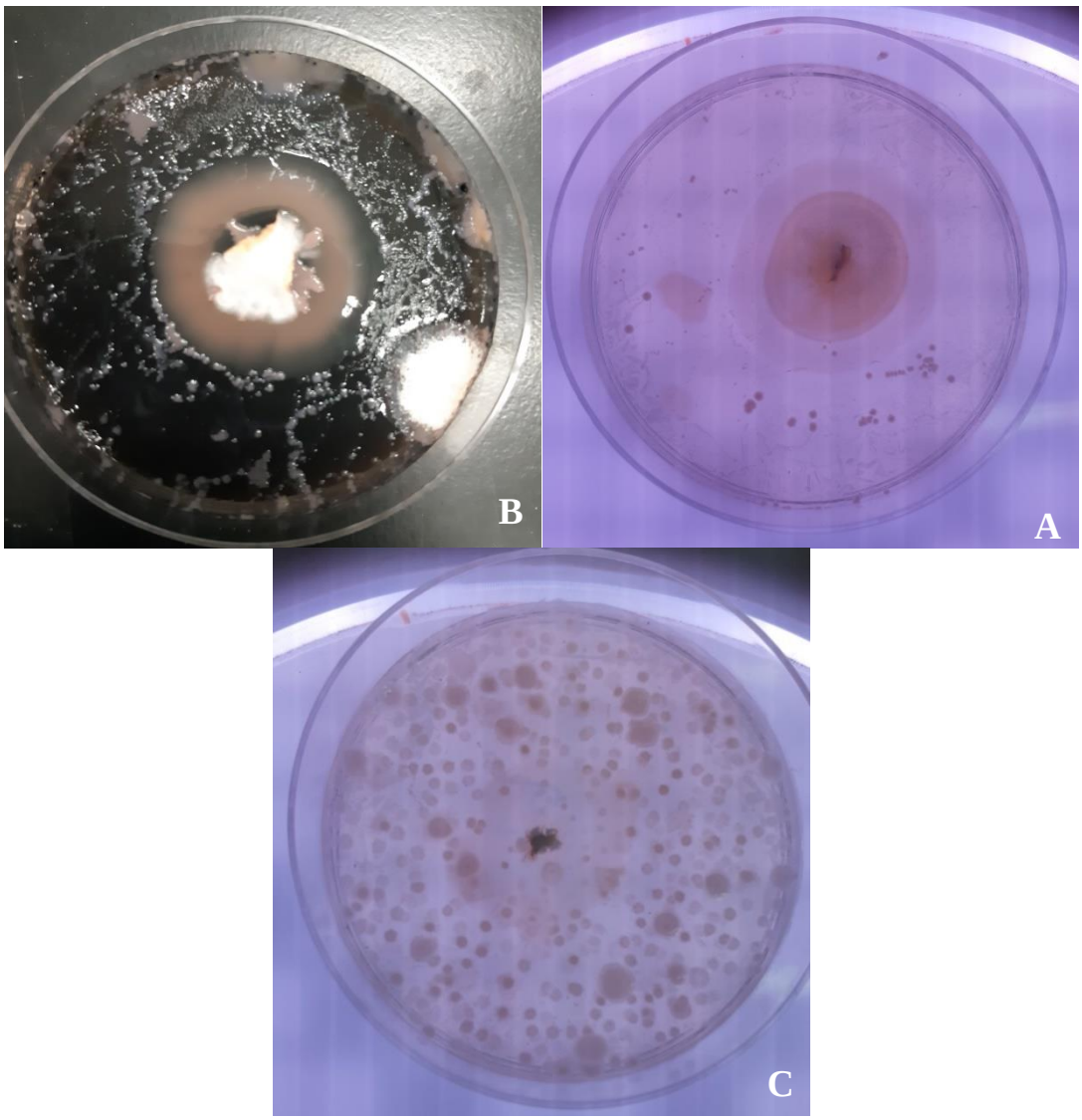
الشكل (3-14): قابلية الفطر *T.mentagrophytes* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Phosphplipase ، D: Protease.



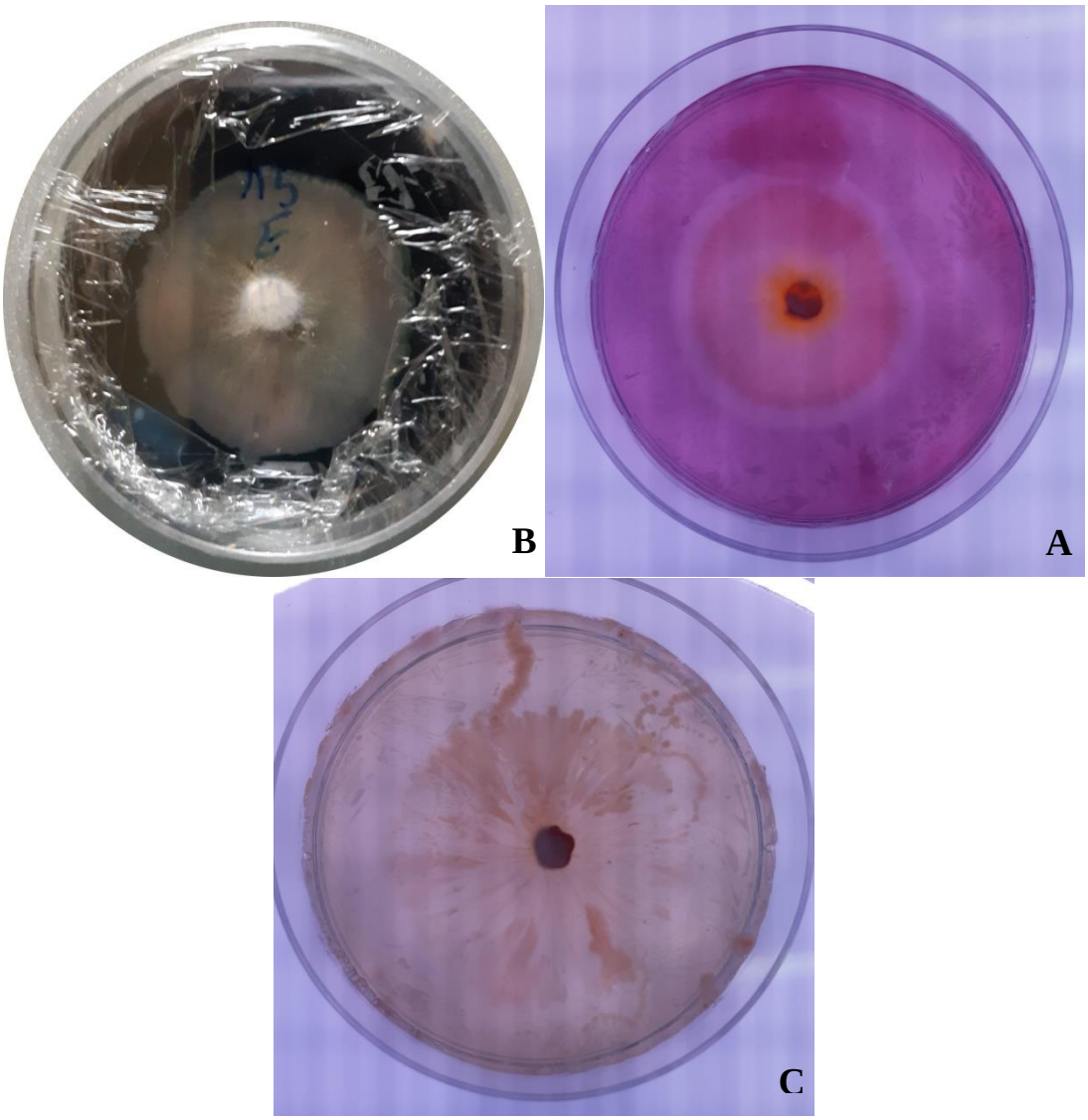
الشكل (3-15): إنتاج انزيم Lipase بواسطة A : الفطر *T.ajelloi* B : الفطر *T.rubrum* C: الفطر *M.canis*



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



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

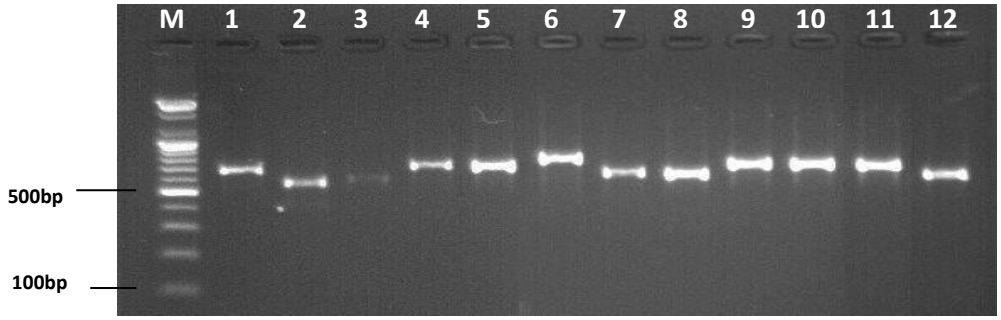


الشكل (3-18): قابلية الفطر *M.audouinii* على إنتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Protease

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

ITS- PCR :1-8-3

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



الشكل (3-19): نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام البادئات (ITS 4 ، ITS1). M: Markar 1: *T. equium*، 2: *T. interdigitale*، 3: *E. floccosum*، 4: *T. mentagrophytes*، 5: *M. persicolor*، 6: *M. audouinii*، 7: *M.* var.*distortum canis*، 8 : *T. erinacei*، 9: *M. canis* var.*equinum*، 10: *M. nanum*، 11: *T. ajelloi*، 12: *T. rubrum* .

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

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

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

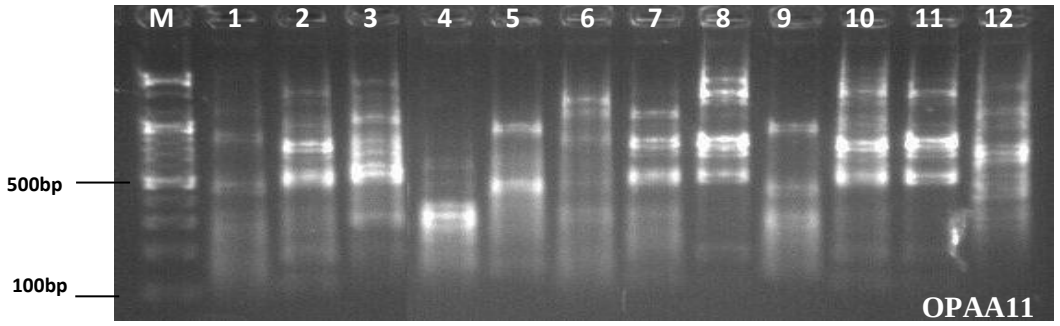
RAPD – PCR 2-8-3

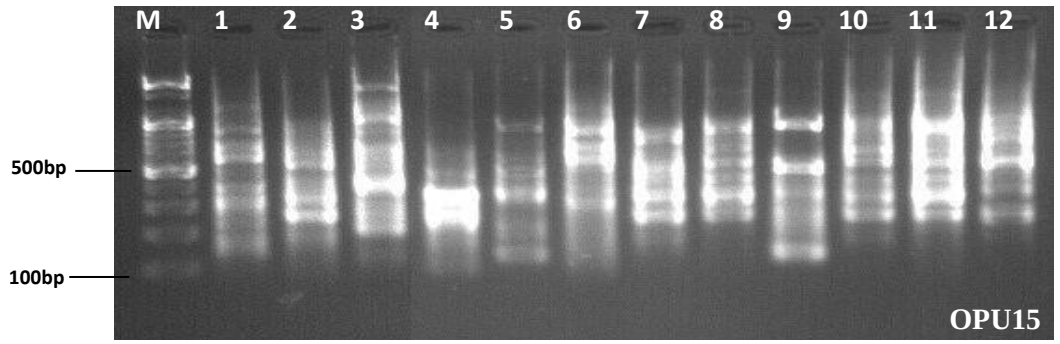
أظهرت الدراسة أن جميع البادئات RAPD المستخدمة (OPAA11 و OPU15 وOPAA17 وOPD18) قد ضخمت الشريط الوراثي DNA للفطريات قيد الدراسة (شكل 3-20) حيث كان العدد

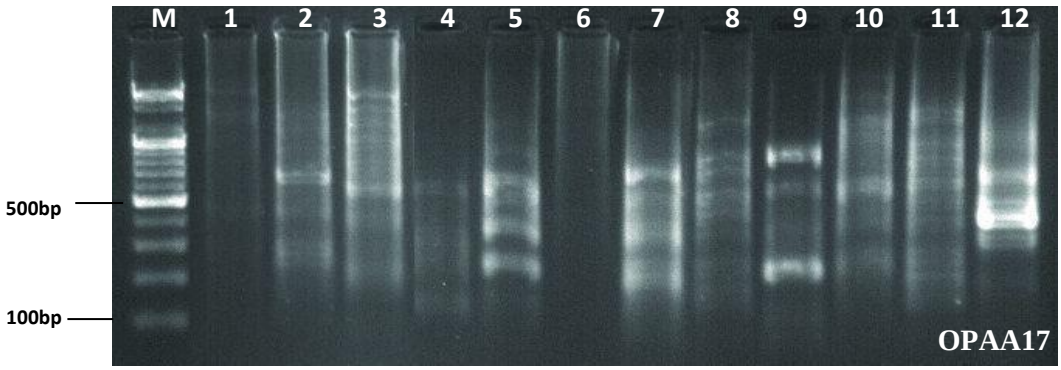
الكلي للحزم المضخمة 579 حزمة واظهر البادئ (OPAA17) 82 حزمة واعلى تشكل وراثي 18.2 % اما البادئ (OPAA11) فاظهر 180 حزمة وباقل تشكل وراثي7.7 % جدول (3-8).

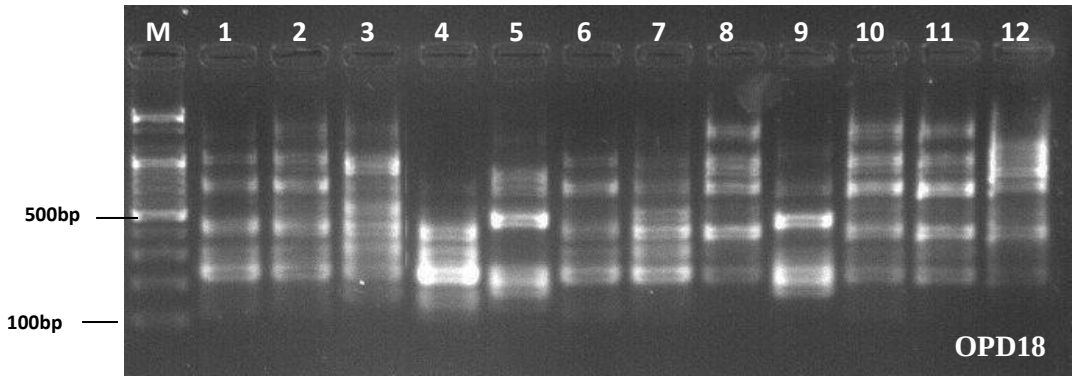
الجدول (3-8): يوضح أعداد الحزم والتنوع والتشكل الوراثي للبادئات RAPD المستخدمة في تضخيم الشريط الوراثي

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







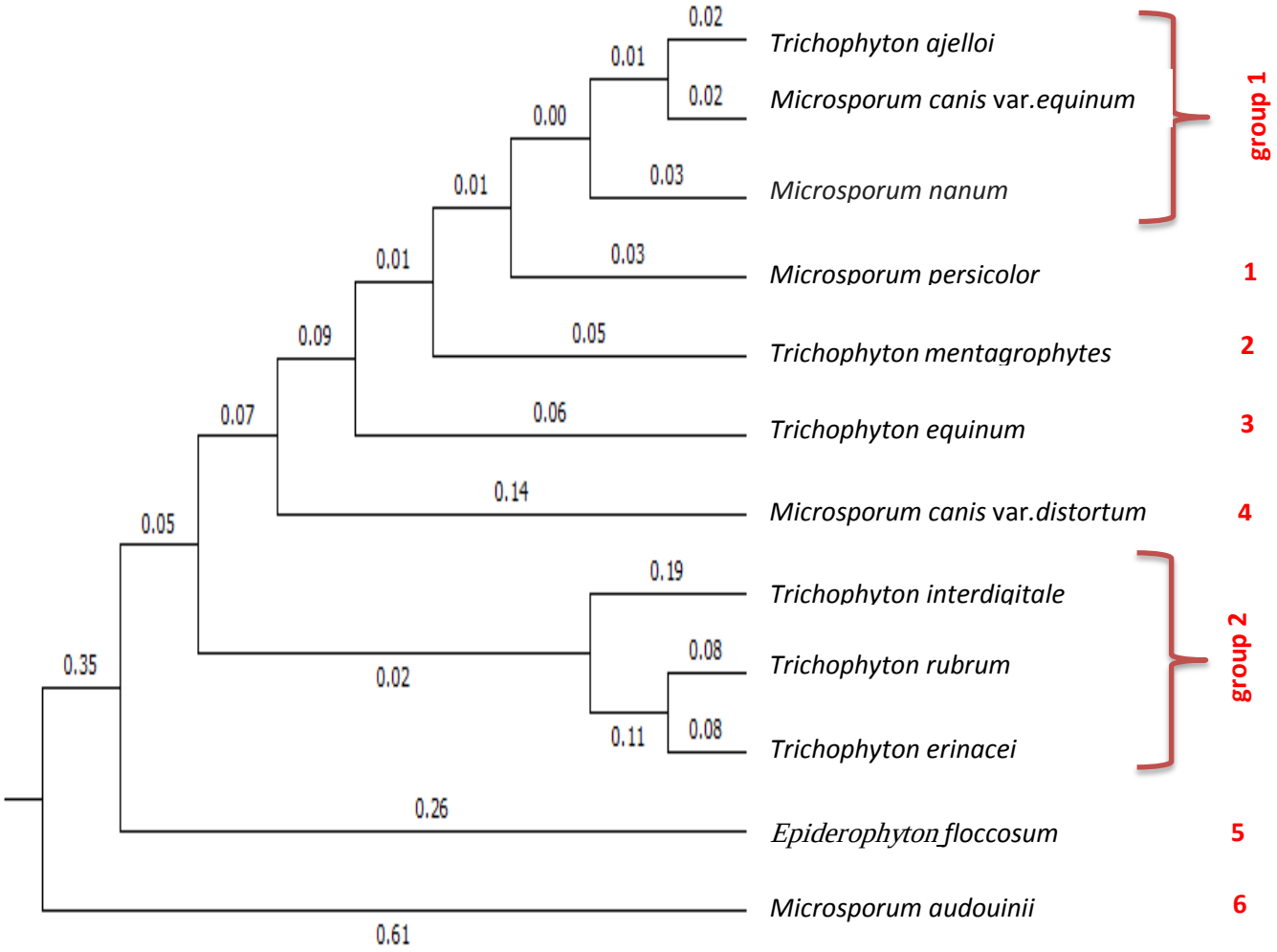


الشكل (3-20): نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام تقنية RAPD باستعمال البادئات (OPAA11 و OPU15 وOPAA17 وOPD 18) .

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

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

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



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

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

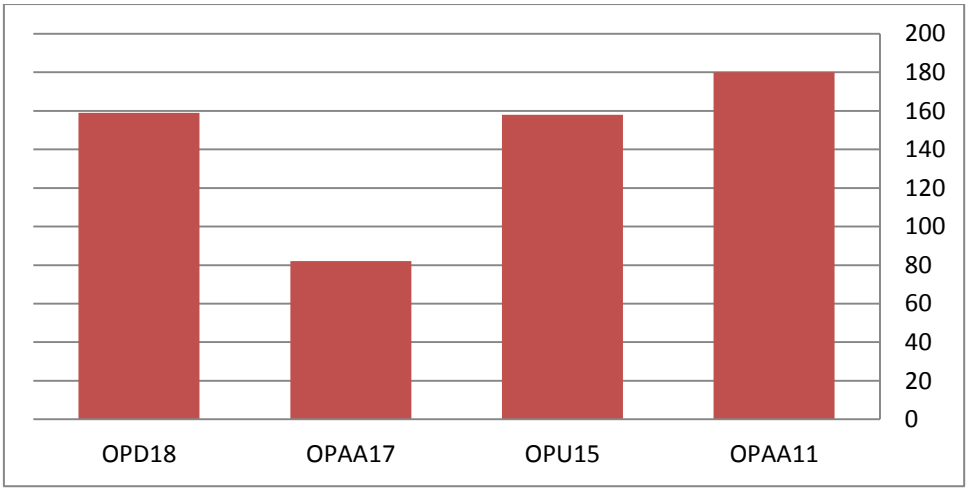
أظهرت نتائج تحليل تتابعات المادة الوراثية DNA للأنواع الفطريات الجلدية المدروسة عدم حصول تطابق في التصنيف المظهري مع التصنيف الجزيئي في بعض الحالات فلوحظ ان النوعين *T. equium* و *T. rubrum* تطابق فيها التشخيص المظهري مع التشخيص الجزيئي حيث تطابقت بنسبة 95-99% مع العزلات الموجود في بنك الجينات NCBI بينما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

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

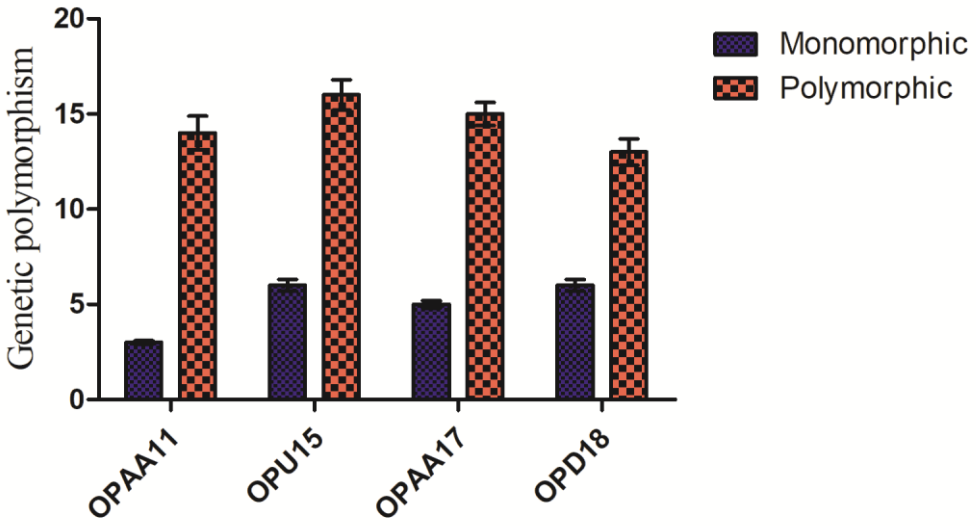
ان طرق التصنيف التقليدية والجزيئية لها إيجابيات وسلبيات لكن الطرق التقليدية لها بعض الإيجابيات تفوق الطرق الجزيئية في تقدير الأختلافات بين الفطريات ولهذا يجب علينا ان لا نعتمد فقط على البيانات التي نحصل عليها من الطرق الجزيئية بمعزل عن البيانات الأخرى مثل الصفات المظهرية، لان ذلك قد يؤدي بالباحثين إلى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

والنتائج التي حصل عليها باستخدام البادئات ITS1 وITS4 قد ضخمت الشريط الوراثي DNA حيث تراوحت الحزم المضخمة بين 550-750 bp وهذا الاختلاف الذي شوهد في منطقة ITS بين الفطريات الجلدية اكد نتائج التشخيص المظهري وأظهرت هذه النتائج تشابهاً جيداً مع نتائج Al-Ghojoghi *et al*.(2015) ; Ahmadi *et al*.(2015) ; Khafajii(2014).

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان للبادئات المستخدمة (OPAA11,OPAA17, OPU15 OPD18) كفاءة عالية في تشخيص الفطريات الجلدية بواسطة الحصول على حزم الـDNA التي ظهرت واضحة تحت الأشعة فوق البنفسجية وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل إليه Liu *et al*., (2000) فقد ذكروا ان هناك امكانية لتشخيص ما يقارب 20-25 نوع من الفطريات الجلدية باستخدام احد هذه البادئات وكان عدد الحزم للفطريات الجلدية المدروسة متباينة عند استعمال هذه البادئات كما في الشكل (3-22) وهذا قد يكون ناتج عن تحورات وراثية وصفات جديدة او يكون بسبب الاختلاف في الفترات الزمنية التي تم الحصول عليها والذي يمكن ان يؤدي الى حدوث تباين وراثي بين العزلات والتي حصل عليها في هذا الدراسة كما في الشكل (3-23) (الإبراهيم، 2013). و تعد هذه الطريقة سريعة وذات كفاءة عالية لتشخيص الفطريات الجلدية حيث إن التشخيص اعتمادا على الخصائص الجينية يكون أدق مما علية بالاعتماد على الخصائص المظهرية (Mitchell *et al*., 1994) وقد استخدم عدد من الباحثين هذه التقنية في تشخيص الفطريات المرضية ومنها الفطريات الجلدية (Kano *et al*., 1998 ; Harmsen *et al*., 1995) .



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



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

1-2: المواد

1-1-2: الأجهزة والمعدات Equipments and Instruments

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

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

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

2-1-2: المواد الكيميائية Chemical Substances

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

اسم المادة	الشركة المصنعة (المنشأ)
Free nuclease water	Bio neer (Korea)
Ladder 100bp	Bio neer (Korea)
TBE buffer	Bio basic (Canada)
Acetone اسيتون	TEDIA (USA)
Agar اكار	KR (Chile)
Agarose اكاروز	Bio basic (Canada)
Absolute ethanol ايثانول مطلق	RBL (Spain)
Isopropanol ايزوبروبانول	Bio basic (Canada)
Primers بادئات	Bio neer (Korea)
Pepton ببتون	BDH (England)
Ethidium bromide بروميد الاثيديوم	Bio basic (Canada)
Ethyl acetate خلات الاثيل	CHEMLAB(Belgium)
Dextrose دكستروز	AVONCHEM (UK)
Cycloheximide سايكلو هكيسامايد	Homedia (India)
Ammonium sulfate saturated سلفات الامونيوم المشبعة	Sigma-Aldrich (USA)
Lactophenol-cotton blue stain صبغة اللاكتوفينول	Bio neer (Korea)
Bromo phenol Blue صبغة بروموفينول الزرقاء	Bio neer (Korea)
phosphate buffered saline فوسفات بفر سلاين	Lifeline® (UK)
Ethanol 95% كحول اثيلي 95 %	AQUA (Turkey)
Ethanol 70% كحول اثيلي 70%	Alpha® (Turkey)
Chloramphenicol كلورامفينيكول	INF (Indonosia)
Sodium chloride كلوريد الصوديوم	SCR® (China)
calcium chloride كلوريد الكالسيوم	SCR® (China)
Normal saline محلول فسيولوجي	BDH (England)
Master Mix مزيج التفاعل	Bio neer (Korea)

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

3-1-2: الأوساط الزرعية Culture media

تضمنـت الدراسة استخدام عدد من الأوسـاط الزرعيـة الموضحـة في جـدول (2-3)

الجدول (2-3): الأوسـاط الزرعيـة المستخدمة في الدراسـة

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

2-2: طرائق العمل Methods

1-2-2: جمـع العينـات Samples Collection

تم جمع 137 عينة سريرية من الأشخاص المصابين بالفطريات الجلدية من الاستشارية الجلدية في مستشفى الصدر التعليمي العام وبعض العيادات الخاصة بمحافظة ميسان وللـمدة ما بين 2018/12/6 ولغاية 2019/5/29 اذ شملت الدراسـة جمـع العينات من المناطق المصابة للجلد والشعر والاظافر وبأشراف مباشر من الطبيب المختـص وللأعمار كافة ولكـلا الجنسـين .

وأخذت عينات الجلد بطريقة القشـط Scrapping اذ تم تعقيم المنطقة المصابـة بكحول اثيـلي بتركيز 70% وبعـدها تم قشط القشـور من حافة بـؤرة الإصـابة باستعمال شفرة حادة معقمة، اما عينات الاظافر فقـد تم اخـذ قطعة منها بواسـطة شفرة حـادة من المنطقة المصابة ذات الشكـل واللون غـير الطبيعي ، اما بالنسبة لعينات الشعـر حيث اخذ الشعر المصـاب بواسطة ملقط معقم ووضعت العينات في أنابيب اختبار معقمة وجلبت إلى مختبر الفطريات في كلية العلوم /جامعة ميسان لغرض فحصـها وزراعتها .

2-2-2: تحضيـر الأوسـاط الزرعيـه

1-2-2-2: وسط سـابرويـد دكستـروز اكـار Sabourauds Dextrose Agar

حضـر هـذا الوسـط حسب توصيات الشركة المجهزة (Himedia) بإذابـة 65 غم من مسحـوق (SDA) في 1000 مل ماء مقطر ثم أضيف إلى الوسـط 0.05 غم من المضاد الحيوي Chloramphenicol و 0.5 غم من Cycloheximaide لمنع نمو الفطريات الانتهازية وبعد التعقيم صب في اطباق بلاستيكية ذات قطر 9 ملم، استخدم هذا الوسـط لعزل الفطـريات الجلـديـة (Emmons *et al.*, 1974).

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

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

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

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

2-2-2-4: وسط اللاييز Lipase

تم تحضير الوسط حسب الطريقة الموصوفة بواسطة (1957) Sierra ويتكون الوسط من المواد الآتية : 10 غم بيبتون ، 5 غم NaCl ، 0.1 غم من $CaCl_2.2H_2O$ ، 20 غم أكار ، مادة Tween 20 ، ثم اذيبت هذه المواد في 1000 مل ماء مقطر عقم الوسط بصورة منفصلة عن مادة Tween 20 التي عقمت على حده ، حيث تم تعقيم Tween 20 بشكل منفصل بعد ذلك اضيف 1 مل من Tween 20 إلى 100مل من الوسط الأساس المعقم و المبرد قبل تصلبه (pH 5.5) واستخدم هذا الوسط للكشف عن قدرة الفطريات على إفراز انزيم Lipase.

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

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

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

2-2-2-6 : وسط Nutrient Agar مع Gelatin

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

2-2-2-7: التعقييم Sterilization

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

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

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

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

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

2-2-5: زرع العينات Culturing of Specimens

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

2-2-6: فحص المستعمرات الفطرية وتشخيصها

2-2-6-1: تنقية عزلات للفطريات

تم تحضير مزارع نقية للفطريات الجلدية المعزولة باستعمال اطباق حاوية على وسط (SDA)، نقلت إليها جزء من حافة المستعمرة عند ظهورها في الاطباق الحاوية على عينات الفطريات باستعمال لوب طعن ، وللغرض نفسه حضرت مزارع مائلة (Slant Cultures) حيث تم تلقيحها بجزء من المستعمرة النقية وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة28 °م ولمدة 2-4 أسابيع حسب نوع الفطر، ثم حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لاستخدامها عند الحاجة إليها.

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

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

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

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

تم دراسة الصفات المجهرية للفطريات المعزولة بواسطة فحص الخيوط الفطرية والكونيدات الكبيرة والكونيدات الصغيرة من حيث وجودها ، أشكالها ، أعداها ، أبعادها ، طريقة ترتيبها على الخيوط الفطرية ، وكذلك ملاحظة تكوين الأبواغ المفصلية (Arthrospores) والأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) ، ولدراسة هذه الفطريات بدقة وتشخيصها تم عمل شرائح زجاجية وذلك بأخذ جزء من المستعمرة ووضعها على شريحة زجاجية حاويه على قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء وفحصها تحت المجهر الضوئي light microscope تحت قوى 40x و100x .

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

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

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

عدد عزلات النوع الواحد

النسبة المئوية للتردد % = ——————————————— x 100

العدد الكلي للعينات

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2-2-10-3: مكونات مزيج PCR master mix

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

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

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

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

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

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

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

(Mitchell *et al*., 1994) والتي تم تخفيفها بإضافة 0.5 مل من TE وذلك حسب تعليمات الشركة المجهزة ، ومزجت مكونات الأنابيب جيدا بواسطة جهاز Vortex ومن ثم وضعت جميع العينات في جهاز المضخم الحراري PCR Thermocycler وتم تشغيله وفق البرامج الموضحة في الجداول (2-7 و2-8). وبعد أنتهاء برنامج ال PCR تم وضع 4 مايكرولتر من DNA Ladder (1000-100 bp) في الحفرة الأولى من هلام الاكاروز و 5 مايكرولتر من منتج الـ PCR في الحفرة الثانية وهكذا بالنسبة لبقية العينات ومن ثم رحل كهربائيا على هلام الأكاروز ، بوزن 1غم من الاكاروز وأذابته في 100 مل من محلول الـ TBE buffer وبتركيز 1x ثم تم اضافة 2 مايكرولتر من صبغة Ethidium bromide وثبتت قوة التيار على (70 فولت) ولمدة 75 دقيقةً وبعد الأنتهاء من عملية الترحيل تم فحص الهلام بجهاز UV وتصوير النتائج بالكاميرا الرقمية .

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

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

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

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

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

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

الاستنتاجات

1- أظهرت الدراسة ان الاصابة الجلدية تعود الى 12 نوع من الفطريات الجلدية هي *M.* : *M. persicolor* ، *M. canis* ver.*distortum* ، *M. audouinii* ، *canis* var.*equinum* *T.mentagrophytes* ، *T. equinum* ، *T. rubrum* ، *T. interdigitale* ، *M. nanum* ، . *E. floccosum* ، *T. ajelloi* ، *T. erinacei* ،

2- وجد إن الفطر الجلدي *T. interdigitale* أكثر أنواع الفطريات الجلدية انتشارا و بنسبة 32.6 %.

3- وجد ان نسبة إصابة الذكور بالفطريات الجلدية أعلى مما هي علية في الإناث . و أن أعلى نسبة إصابة سجلت في الفئة العمرية 6 اشهر– 9 سنة بينما اقل نسبة إصابة سجلت في الفئتين العمرية 40-49 و 50 فما فوق.

4- بينت الدراسة ان سعفة الجسم Tinea corporis اكثر الاشكال السريرية انتشارا وبنسبة 34.8% مقارنة بالأشكال السريرية الاخرى.

5- اظهرت الدراسة ان الاصابات الجلدية تكثر في شهر كانون الاول وبنسبة 28.3% وتقل في شهر ايار.

6- شخصت العديد من الأحماض الدهنية والمركبات الفينولية في مستخلصات الايض الثانوي لبعض الفطريات الجلدية المختبرة باستخدام تقنية الغاز المتصل بمطياف الكتلة GC- Mass .

7- بينت الدراسة ان للفطريات الجلدية المختبرة قابلية على انتاج بعض الانزيمات وبنسب متفاوتة.

8- لوحظ من الدراسة الحالية ان استخدام الطرق الجزيئية بواسطة تقنية الـ PCR وعمل التتابعات Sequence ومقارنة النتائج مع العزلات المسجلة في بنك الجينات NCBI اعطت نتائج إيجابية في التشخيص لبعض هذه الفطريات.

التوصيات

1- ضرورة السيطرة على الحيوانات السائبة و تقليل أو عدم تربية الحيوانات في المنازل أو قريبا منها وخاصة في المناطق الريفية لآنها قد تشكل عاملا لانتشار الإصابة الجلدية لاحتكاك الأطفال الدائم مع هذه الحيوانات ، لاسيما إنه يعد من الأمراض التي تصيب الأطفال خاصة وهو من الأمراض المعدية كما يمكن انتقاله من الحيوانات الى الإنسان.

2- توفير المستلزمات الضرورية في المستشفيات والمستوصفات الفرعية لأجراء التشخيص الروتيني السريع لهذا النوع من الاصابات.

3- دراسة تفصيلية للمنتجات الايضية التي تفرزها الفطريات الجلدية وامكانية ربطها مع عامل او عوامل الضراوة لكل نوع فطري من الفطريات الجلدية.

4- انشاء مركز متخصص للإصابات الجلدية في محافظة ميسان تتوفر فيه التقنيات الحديثة المستخدمة في تشخيص الفطريات وطرق معالجتها.

الخلاصة

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

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

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

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

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

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

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

1-1: المقدمة Introduction

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3-1: تصنيف الفطريات الجلدية الخيطية Classification of Dermatophytes

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

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

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

واعتماداً على الطور غير التام (Anamorph) فان هناك نوعين للجنس *Epidermophyton* و19 نوعاً للجنس *Microsporum* و25 نوعاً للجنس *Trichophyton*، عامةً يوصف كل جنس من الفطريات الجلدية على أساس شكل المستعمرة colony ، شكل و حجم الكونيدات Conidia ، وتشكيلها (Simpanya, 2000) وأن اهم المميزات الرئيسة لهذه الأجناس هي:

1-4-1: الجنس *Epidermophyton*

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

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

1-4-2: الجنس *Microsporum*

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

1-4-3: الجنس *Trichophyton*

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

1-5: بيئة الفطريات الجلدية الخيطية Ecology of Dermatophytes

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

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

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

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

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

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

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

6-1: وبائية الفطريات الجلدية الخيطية Epidemiology of Dermatophytes

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

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

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

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

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

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

في الكاميرون ذكر Kechia *et al*. (2014) ان سعفة الرأس أكثر الإصابات الجلدية شيوعاً وان العامل الرئيسي المسبب لها هو الفطر *T. soudannense* ، اما في السنغال ذكر Seck *et al*. (2014) ان سعفة الأظفر اكثر الإصابات شيوعاً والمسبب المرضي لها هو الفطر *T. rubrum* ،اما في المغرب وجد ان سعفة الرأس اكثر الإصابات شيوعاً وان الفطر *M. canis* هو المسبب الأكثر انتشاراً (El Mezouari *et al*., 2016).

اما الدراسات التي اجريت في أيران وجد اكثر الإصابات شيوعاً هي سعفة الجسم تليها سعفة المغبن والمسبب الرئيسي لها هو *T. interdigitale* (Rezaei-Matehkolaei *et al*.,2016) وفي فلسطين وجد ان سعفة القدم هي أكثر الأشكال السريرية شيوعاً وتليها سعفة الرأس و الفطر *M. canis* هو المسبب الأكثر شيوعاً ويليه الفطر *T. mentagrophytes* (Ali-Shtayeh *et al*., 2015).

اما في العراق فالدراسة التي اجريت في محافظتي الديوانية والنجف الاشرف بينت ان الفطر *T. rubrum* هو الأكثر تردداً يليه الفطر *T. violaceum* وكانت الإناث أكثر إصابة مقارنته بالذكور ووجد ان سعفة الأظفر أكثر الإصابات شيوعاً مقارنته بباقي مناطق الجسم (مجبل واخرون،2010).

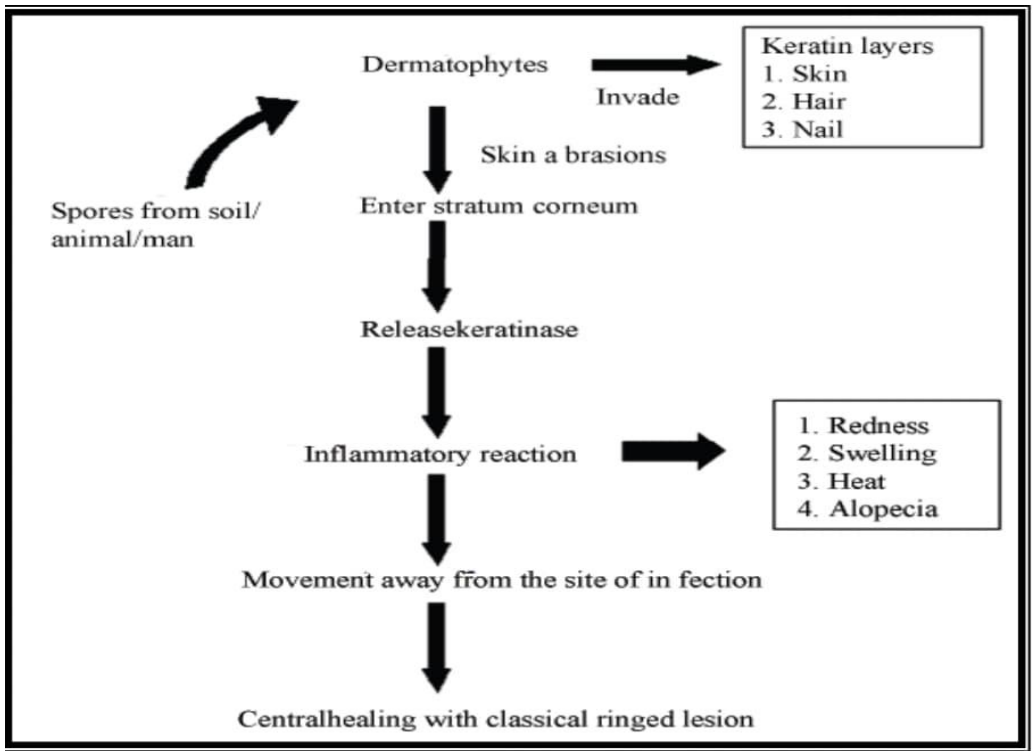
اما في تكريت وجد ان سعفة الرأس أكثر الإصابات تكراراً مقارنته مع باقي مناطق الجسم وان حدوث الإصابة في النساء اكثر مما علية في الذكور ووجد ان الفطر *T. mentagrophytes* أكثر شيوعاً ويليه الفطر *M. ferrgineum* (عبود واخرون، 2013). وفي كربلاء وجد ان سعفة القدم تكون الأكثر انتشارا بين الأشكال السريرية وتليها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

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

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

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

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



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

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

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

وتضم الاشكال السريرية للإصابات الجلدية ما يأتي :

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

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

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

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

1-8-2: سعفة القدم Tinea pedis

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

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

1-8-3: سعفة المغبن Tinea cruris

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

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

1-8-4: سعفة اليد Tinea mannum

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

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

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

1-8-5: سعفة الاظفر Tinea unguium

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

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

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

6-8-1: سعفة الوجه Tinea faciale

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

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

7-8-1: سعفة اللحية Tinea Barbae

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

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

1-8-8: سعفة الرأس Tinae Capitis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

تفرز الفطريات الجلدية مجموعة متنوعة من الأنزيمات مثل keratinase وprotease وlipase و Phospholipase وElastase وCollagenas لكن مع ذلك إن طيف الإنزيمات التي تفرزها هذه

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

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

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

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

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

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

1-12-1: الالتصاق Adhesion

المرحلة الأولى من الإصابة الجلدية تشمل التصاق وتشبث الكونيدات المفصلية (Arthroconidia) بسطح الأنسجة المتقرنة وهذه العملية تعتمد على الوقت أذ كلما أزداد الوقت ازدادت أعداد الكونيدات الملتصقة إذ أظهرت التجارب بان الفطر *T.mentagrophytes* يحتاج إلى 12 ساعة للالتصاق الكونيدات المفصلية و24 ساعة من اجل الانبات (Chinnapun, 2015 ; Al-jabre *et al*., 1993).

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

2-12-1: الغزو Invasion

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

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

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

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

13-1: الهدف من الدراسة The Aim of study

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

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

Genomic DNA Mini Kit (Plant)

For research use only

Sample: up to 100 mg of fresh plant tissue or up to 25 mg of dry plant tissue
Yield: 3-5 µg (100 mg *Arabidopsis thaliana* leaf), 20-25 µg (100 mg *Nicotiana tabacum* leaf)
Format: spin column
Time: within 30 minutes
Elution volume: 30-200 µl
Storage: dry at room temperature (15-25ºC)

Geneaid

CERTIFICATE NO. QAIC/TW/50077
ISO 9001:2008 QMS

Introduction

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

Quality Control

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

Kit Contents

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

Order Information

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

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

Caution

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

Genomic DNA Mini Kit (Plant) Functional Test Data

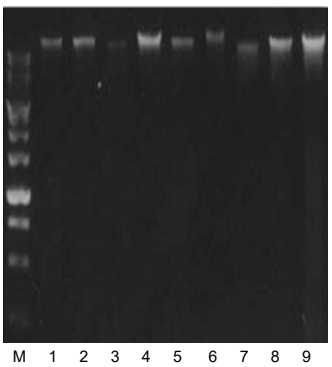


Figure 1. Genomic DNA was extracted from a variety of 100 mg plant species using the Genomic DNA Mini Kit (Plant). A 3 µl aliquot from each 200 µl eluate was analyzed by electrophoresis on a 1% agarose gel.

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

Genomic DNA Mini Kit (Plant) Protocol

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

IMPORTANT BEFORE USE

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

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

Troubleshooting

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

ملحق 1: استخلاص الـ DNA

ملحق 2 : نتائج GC-Ms

1- *M.audouinii*

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

2- *T.interdigitale*

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

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

3 - *T.rubrum*

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

4 -*T.erinace*

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

المحتويـات

التسلسل	العنوان	الصفحة
	الفصل الأول : المقدمة واستعراض المراجع	
1-1	المقدمة Introduction	1
2-1	نبذة تاريخية عن الفطريات الجلدية الخيطية History of Dermatophytes	2
3-1	تصـنيف الفطريـات الجلديـة الخيطيـة Classification of Dermatophytes	4
4-1	الوصف المظهري للفطريات الجلدية الخيطية Morphology of Dermatophytes	4
1-4-1	الجنس *Epidermophyton*	4
2-4-1	الجنس *Microsporum*	5
3-4-1	الجنس *Trichophyton*	5
5-1	بيئة الفطريات الجلدية الخيطية Ecology of Dermatophytes	5
1-5-1	الفطريات الجلدية المحبة للحيوان Zoophilic dermatophytes	6
2-5-1	الفطريات الجلدية المحبة للتربة Geophilic dermatophytes	6
3-5-1	الفطريات الجلدية المحبة للإنسان Anthropophilic dermatophytes	6
6-1	وبائيـة الفطريـات الجلديـة الخيطيـة Epidemiology of Dermatophytes	6
7-1	طـرق انتقـال الفطريـات الجلديـة Transmission route of Dermatophytes	8

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

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

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

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

قائمة الجداول

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

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

قائمة الاشكال

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

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

17-3	قابلية *T.erinacei* على إنتاج انزيمات A: Lipase ، B: Elastase ، C: Phospholipase	57
18-3	قابلية *M.audouinii* على انتاج انزيمات A: Elastase ، B: Lipase ، C: Protease	58
19-3	نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام البادئات (iTs1 ، iTs 4) . M: Markar 1: *T.equium* ، 2: *T.interdigitale* ، 3: *E.floccosum* ، 4: *T.mentagrophytes* ، 5: *M.persicolor* ، 6 : *M.audouinii* ، 7: *M.audouinii* ، 8: *M.canis* var.*distortum* ، 9 : *T.erinacei* ، 10: *M.canis* var.*equinum* ، 11: *M.nanum* ، 12: *T.interdigitale* ، 13: *T.ajelloi* ، 14: *T.mentagrophytes* ، 15: *T.rubrum*	59
20-3	نواتج التفاعل السلسلي للبوليميرز PCR التضاعفي لسلسلة DNA على هلام الاكاروز باستخدام تقنية RAPD باستعمال البادئات (OPAA11 و OPU15و OPAA17و OPD 18) . M: Markar :*E.floccosum* ، 2: *M.persicolor* ، 3: *T.mentagrophytes* ، 4 : *M.audouinii* ، 5: *T.mentagrophytes* ، 6 :*M.canis* var.*distortum* ، 7: *T.erinacei* ، 8: *M.audouinii* ، 9 : *T.equinum* ، 10: *T.ajelloi* ، 11: *T.rubrum* ، 12: *M.canis* var.*equinum* ، 13: *M.nanum* ، 14: *T.interdigitale*.	61
21-3	الشجرة الوراثية لأنواع الفطريات الجلدية المدروسة	62
22-3	عدد الحزم المتشكلة لكل بادئ باستخدام تقنية PCR-RAPD للفطريات المدروسة	63
23-3	عدد الحزم المفردة والمزدوجة للبادئات المستخدمة للفطريات المدروسة	64

قائمة المختصرات

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

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

المصادر العربية :

الإبراهيم، شروق عبد الله (2013). عزل وتشخيص بعض مسببات داء سعفة الرأس ودراسة فعالية مستخلصات البروبلس وبعض النباتات الطبية والمضادات الفطرية ضد الفطر *Microsporum canis* Bodin داخل الجسم الحي وخارجه. اطروحة دكتوراه ، جامعة البصرة ، العراق. ص -170 169.

بندر، خليل إبراهيم. (2012). دراسة وبائية للإصابات الفطرية الجلدية في مدينةِ سامراء. كلية العلوم ، جامعة تكريت، مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، (1)17 ، 24-17.

حمد، عبدالله غانم قدوري (2008) . التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية في نمو فطريات الجلدية معزولة من المرضى . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة تكريت . جمهورية العراق.

سرحان، عبد الرضا طه. (2010). تشخيص الفطريات الجلدية الخيطية المعزولة من المرضى المصابين بسعفة الرأس tinea capitis في بغداد . كلية مدينة الطب، جامعة بغداد، مجلة علوم المستنصرية ، (6) 21 ، 212-207.

صالح ، طلال حسين.(2008). دراسة حول الفطريات المرضية الجلدية والكيراتينية المعزولة من بعض الحيوانات والاشخاص الملامسين لها في محافظة ميسان. اطروحة دكتوراه جامعة البصرة ، كلية العلوم ، جمهورية العراق.

صالح ، طلال حسين .(2010). ظهور إصابات القوباء الحلقية بين أطفال المدارس الأبتدائية في ميسان. كلية التربية، جامعة ميسان، مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية المجلد التاسع العدد السابع عشر كانون الأول 201.

عباس، ياس خضر و السهلاني ، ابتهال قاسم (2015) . عزل وتشخيص بعض الفطريات الجلدية المسببة لداء السعفة Tinea . كلية التربية ، جامعة ذي قار، مجلة علوم ذي قار. (2) 5 ، 87-75.

عبد الحسن، ميساء تقي ; فرحان ، عباس عبود و حسن ، عبدالرزاق شفيق. (2014). دراسة تشخيصية وإحصائية للفطريات الجلدية في محافظة ديالى. كلية العلوم ، جامعة كربلاء ، مجلة جامعة كربلاء. (3) 12، 26-33 .

عبود، حسين عبد الرزاق ; بندر ، خليل أبراهيم و حمادة ، ذكرى أحمد. (2013). عزل الفطريات الجلدية من الانسان ودراسة تأثير المستخلصات النباتية والمضادات الفطرية عليها. كلية العلوم، جامعة تكريت، مجلة تكريت للعلوم الصرفة ، (1)18 ، 39-29 .

مجبل، فاطمة عبد الحسين ; صالح ، طلال حسين و الحمداني ، عدنان حمد عبيد . (2010). عزل وتشخيص الفطريات الجلدية الممرضة للإنسان واختبار حساسيتها الدوائية لدى المرضى المراجعين للمستشفى التعليمي في محافظتي الديوانية والنجف الأشرف . كلية العلوم، جامعة الكوفة، مجلة جامعة كربلاء. (2)8 ، 209-199.

محمد، بان طه و الدعمي ، علاء عبد الحسين . (2012). دراسة نسب الإصابة ببعض الفطريات الجلدية المعزولة من مرضى الاخماج الجلدية في مستشفى الهندية العام بمحافظة كربلاء. كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كربلاء، مجلة جامعة كربلاء ، المؤتمر العلمي الأول للتربية للعلوم الصرفة ،-232 224.

المصادر الأجنبية :

Abd Elmegeed, A. S. M., Ouf, S. A., Moussa, T. A., & Eltahlawi, S. M. R. (2015). Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt. *Brazilian journal of Microbiology*, *46*(3), 799-805.

Abid-Ali ., Jasim ,W. (2010). Effect of some antifungals and medicinal herbal against dermatophytes isolated from Tinea capitis in Al-Diwaniya governorate. M. Sc. Thesis , College of Science , Baghdad Univ., Iraq. p 128.

Achterman, R. R., & White, T. C. (2011). Dermatophyte virulence factors: identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections. *International journal of microbiology*.

Aghamirian, M. R., & Ghiasian, S. A. (2008). Dermatophytoses in outpatients attending the dermatology center of Avicenna Hospital in Qazvin, Iran. *Mycoses*, *51*(2), 155-160.

Ahmadi, B., Mirhendi, H., Shidfar, M. R., Nouripour-Sisakht, S., Jalalizand, N., Geramishoar, M., & Shokoohi, G. R. (2015). A comparative study on morphological versus molecular identification of dermatophyte isolates. *J Mycol Med*, 25 (1), 29-35.

Ahmadinejad, Z., Razaghi, A., Noori, A., Hashemi, S. J., Asghari, R., & Ziaee, V. (2013). Prevalence of fungal skin infections in Iranian wrestlers. *Asian journal of sports medicine*, *4*(1), 29.

Ajello, L. (1974). Natural history of the dermatophytes and related fungi. *Mycopathologia et Mycologia applicata*, *53*(1-4), 93-110.

Albrecht, L. H., Backes, R., Eichler, J.O. , Feuerhake, R . , Jakel, C., Mahn, U. , Pinkos, R., & Vogelsang, R. (2011). "2-Pyrrolidone" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH,Weinheim.

Al-Duboon, A.A. (1997). A Study on Superficial-cutaneous mycoses in basrah (Iraq).doctoral thesis ,University of Basrah,Iraq.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology John Wiley & Sons. *Inc., New York*, *868*.

AL-Hamadani, A.H. (1997). Enzymic Activity and their Roles in Pathogenicity and Immunogenicity of Clinical Isolates of Dermatophytes and Yeasts . Doctorate thesis. University of Basrah, Iraq.

Al-Hashemi ,J. M. (1979). Guid-book of applicatiory to Mycology. University of Basrah.

Ali-Shtayeh, M. S., Yaish, S., Jamous, R. M., Arda, H., & Husein, E. I. (2015). Updating the epidemiology of dermatophyte infections in Palestine with special reference to concomitant dermatophytosis. *Journal de mycologie medicale*, *25*(2), 116-122.

Al-jabre, S. H. M., Richardson, M. D., Scott, E. M., Rashid, A., & Shankland, G. S. (1993). Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of Trichophyton mentagrophytes to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. *Clinical and experimental dermatology*, *18*(3), 231-235.

Al-Janabi, S. J. (2006). Dermatophytes infection in Baghdad clinical and laboratory study (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, College of Education.(Ibn-Al-Haitham) Univ. of Baghdad-Iraq.

Al-Khafajii, K. (2014). Myco-epidemiologic and genetic study of rermatophytosis and non dermatophytes in middle euphrates Iraq. *African Journal of Microbiology Research*, 8 (24), 2381-2386.

Allahdadi, M., Hajihossein, R., Kord, M., Rahmati, E., Amanloo, S., & Didehdar, M. (2019). Molecular characterization and antifungal susceptibility profile of dermatophytes isolated from scalp dermatophyte carriage in primary school children in Arak city, Center of Iran. *Journal de mycologie medicale*, *29*(1), 19-23.

Ansari, S., Hedayati, M. T., Zomorodian, K., Pakshir, K., Badali, H., Rafiei, A., & Seyedmousavi, S. (2016). Molecular characterization and in vitro antifungal susceptibility of 316 clinical isolates of dermatophytes in Iran. *Mycopathologia*, *181*(1-2), 89-95.

Aronson, J. K. (2015). Meyler's side effects of drugs: the international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions. Elsevier.

Arthi , R. (2017). Clinico- Mycological of dermatophytes and efficacy of the medicinal plant. *Aristolochia bracteolatea* against dermatophytic strains. Doctoral thesis, University of Periyar , India.

ASHSP. (2019). American Society of Health-System Pharmacists .

Asz-Sigall, D., Tosti, A., & Arenas, R. (2017). Tinea unguium: diagnosis and treatment in practice. *Mycopathologia*, *182*(1-2), 95-100.

Aubaid, A. H., Muhsin, T. M & Al-Duboon, A. H. (1997). Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses*, *40*(11-12), 465-469.

Ayatollahi, S.A., Salari Sardoii, S., Shamsadini, S. (2011). A first case of tinea imbricata from Iran. Jundishapur Journal of Microbiology,2(2):71-4.

Baeza, L. C., Matsumoto, M. T., Almeida, A. M. F., & Mendes- Giannini, M. J. S. (2006). Strain differentiation of *Trichophyton rubrum* by randomly amplified polymorphic DNA and analysis of rDNA nontranscribed spacer. *J. Medical Microbio*., 55: 429-436.

Balakumar, S., Rajan, S., Thirunalasundari, T., & Jeeva, S. (2012). Epidemiology of dermatophytosis in and around Tiruchirapalli, Tamilnadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *2*(4), 286-289.

Basak, P., Mallick, B., & Pattanaik, S. (2019). Prevalence of dermatophytic infections including antifungal susceptibility pattern of dermatophytes in a tertiary care hospital . International Journal of Research in Medical Sciences *Basak P et al. Int J Res Med Sci. Mar;7(3):xxx-xxx*

Baselt, R.C. (2014). Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 10th edition. Seal Beach, Ca.: Biomedical Publications. p. 1329.

Bassiri-Jahromi, S., Sadeghi, G., & Asghari Paskiaee, F. (2010). Evaluation of the association of superficial dermatophytosis and athletic activities with special reference to its prevention and control. *International journal of dermatology*, *49*(10), 1159-1164.

Behzadi, P., Behzadi, E., & Ranjbar, R. (2014). Dermatophyte fungi: infections, diagnosis and treatment. *SMU medical journal*, *1*, 50-62.

Berkenkamp, B. (1973). Qualitative assays of ribonuclease produced by plant pathogenic fungi. *Canad. J. Microbial.* 19: 1431-1434.

Bertleff , W., Roeper , M., & Sava, X., (2000). Carbonylation. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH 2000.

Bhatti, H. N., Mustafa, G., & Asgher, M. (2007). Production of glucoamylase by Fusarium moniliforme under solid-state fermentation. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, *29*(2), 161-165.

Blanchard, R. (1896). Vegetable pests excluding bacteria. In: C Bouchard, ed. Treaty of Pathology General. vol 2. Paris, G.Masson, pp. 811-926.

Bonifaz, A., & Vazquez-Gonzalez, D. (2011). Tinea imbricata in the Americas. *Current opinion in infectious diseases*, *24*(2), 106-111.

Brasch, J., & Zaldua, M. (1994). Enzyme patterns of dermatophytes: Enzymmuster von Dermatophyten. *Mycoses*, *37*(1-2), 11-16.

Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse ,S.A. (2001) . Medical Microbiology. 24th ed. Appletone and Lange ,Asimon and Schuster Co. ,California .

Calvo, M. A., Bruguera, T., Cabanes, F. J., Calvo, R. M., Trape, J., & Abarca, L. (1985). Brief communication: Extracellular enzymatic activities of dermatophytes. *Mycopathologia*, *92*(1), 19-22.

Caretta, G., Del Frate, G., Picco, A. M. & Mangiarotti, A. M.(1981). Superficial mycoses in Itally. *Mycopath*. 76 (1) : 27-32.

Champion, R. H., Burton, J. L., Burns, D. A., & Breathnach, S. M. (1998). Text book of Dermatology. 6th ed. Black well science Ltd. pp 1277-1376.

Chaudhary, J. K., & Kumar, A. (2016). A clinico-mycological profile of dermatophytosis at a tertiary care hospital in Bihar. *Int J Curr Microbiol App Sci*, *5*(2), 181-9.

Chiacchio, N. D., Madeira, C. L., Humaire, C. R., Silva, C. S., Fernandes, L. H. G., & Reis, A. L. D. (2014). Superficial mycoses at the Hospital do Servidor Publico Municipal de Sao Paulo between 2005 and 2011. *Anais brasileiros de dermatologia*, *89*(1), 67-71.

Chin , J. (2000).control of communi cable diseases 1th ed. , Washing ton, pp:147-153

Chinnapun, D. (2015). Virulence Factors Involved in Pathogenicity of Dermatophytes. *Walailak Journal of Science & Technology*, *12*(7). 73-80.

Collee, J. G., Miles, R. S., & Watt, B. (1996). Tests for the identification of bacteria. *Mackie and McCartney practical medical microbiology*, *14*, 131-49.

Cortez, A. C. A., de Souza, J. V. B., Sadahiro, A., & de Oliveira, J. A. A. (2012). Frequency and aetiology of dermatophytosis in children age 12 and under in the state of Amazonas, Brazil. *Revista iberoamericana de micologia*, *29*(4), 223-226.

Coulibaly, O., Thera, M. A., Piarroux, R., Doumbo, O. K., & Ranque, S. (2015). High dermatophyte contamination levels in hairdressing salons of a West African suburban community. *Mycoses*, *58*(2), 65-68.

Darah, I., Nisha, M., & Lim, S. H. (2013). Enhancement of polygalacturonase production from Enterobacter aerogenes NBO2 by submerged fermentation. *Advanced Studies in Biology*, *5*(5), 173-189.

Das, S. K. & Banerjee, A. B. (1974) Phospholipids of *Trichophyton rubrum* . *Sabouraudia* 12, 281-286.

Dawson, A. L., Dellavalle, R. P., & Elston, D. M. (2012). Infectious skin diseases: a review and needs assessment. *Dermatologic clinics*, *30*(1), 141-151.

De Diego, A. M. (2011). Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, *29*, 33-39.

De Hoog, G.S., J. Guarro, J. Gene and M.J. Figueras. (2015). Atlas of clinical fungi (version 4.1.2). centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

Degreef, H. (2008). Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). *Mycopathologia*, *166*(5-6), 257.

Di Menna, M. E., & Marples, M. J. (1954). Microsporum distortum sp. nov. from New Zealand. *Transactions of the British Mycological Society*, *37*(4).

Didehdar, M., Shokohi, T., Khansarinejad, B., Sefidgar, S. A. A., Abastabar, M., Haghani, I., & Mondanizadeh, M. (2016). Characterization of clinically

important dermatophytes in North of Iran using PCR-RFLP on ITS region. *Journal de mycologie medicale*, *26*(4), 345-350.

Dogen, A., Gümral, R., & Ilkit, M. (2015). Haemolytic and co-haemolytic (CAMP-like) activity in dermatophytes. *Mycoses*, *58*(1), 40-47.

Dogo, J., Afegbua, S. L., & Dung, E. C. (2016). Prevalence of Tinea capitis among school children in Nok community of Kaduna state, Nigeria. *Journal of pathogens*, *2016*.

Drugs.com (2019). American Society of Health-System Pharmacists.

Duek, L., Kaufman, G., Ulman, Y., & Berdicevsky, I. (2004). The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. *Journal of Infection*, *48*(2), 175-180.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2011). "Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to fructose and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 558) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006". EFSA Journal. 9 (6): 2223.

El Mezouari, E., Hocar, O., Atarguine, H., Akhdari, N., Amal, S., & Moutaj, R. (2016). Tinea capitis in the military hospital Avicenna (Morocco): review of 8 years (2006-2013). *Journal de mycologie medicale*, *26*(1), e1-5.

Elavarashi, E., Kindo, A. J., & Rangarajan, S. (2017). Enzymatic and non-enzymatic virulence activities of dermatophytes on solid media. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: J Clin Diagn Res* 11, 23-25.

El-Diasty, E. M., Ahmed, M. A., Okasha, N. A. G. W. A., Mansour, S. F., El-Dek, S. I., El-Khalek, H. M. A., & YOUSSIF, M. H. (2013). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against dermatophytic lesions of cattle. *Romanian j. biophys*, *23*, 191-202.

Ellis, D. H. (1994). Clinical mycology: The human opportunistic mycoses. *Pfizer Incorporated*. p 166.

Ellis, D. H., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., & Bartley, R. (2007). Descriptions of medical fungi (pp. 61-167). *Adelaide: University of Adelaide.*

Ely, J. W., Rosenfeld, S., & Seabury stone, M. A. R. Y. (2014). Diagnosis and management of tinea infections. *American family physician*, *90*(10).

Emele, F. E., & Oyeka, C. A. (2008). Tinea capitis among primary school children in Anambra state of Nigeria. *Mycoses*, *51*(6), 536-541.

Emmons, C. W., Binford, C. H.,Utz, J. P., & Kown-chung, K. J.(1977)."Medical Mycology". 3rd ed. Lea and febiger, Philadelphia..pp: 508-509 .

Emmons, C.W. , Binford ,C.H., & Vtzx ,J.P. (1974) . Medical mycology. 2nd ed. *Lea and Febiger* . Philadeliphia .pp: 508-509 .

Faggi, E., Pini, G., Campisi, E., Bertellini, C., Difonzo, E., & Mancianti, F. (2001). Application of PCR to distinguish common species of dermatophytes. *Journal of clinical microbiology*, *39*(9), 3382-3385.

Farina, C., Fazii, P., Imberti, G., Lombardi, G., Passera, M., & Andreoni, S. (2015). Trichophyton violaceum and T. soudanense: re-emerging pathogens in Italy, 2005-2013. *New Microbiologica*, *38*(3), 409-415.

Faure-Cognet, O., Fricker-Hidalgo, H., Pelloux, H., & Leccia, M. T. (2016). Superficial fungal infections in a French teaching hospital in Grenoble area: retrospective study on 5470 samples from 2001 to 2011. *Mycopathologia*, *181*(1-2), 59-66.

Feldmeyer, L., Werner, S., French, L. E., & Beer, H. D. (2010). Interleukin-1, inflammasomes and the skin. *European journal of cell biology*, *89*(9), 638-644.

Fenteany, G., Standaert, R. F., Lane, W. S., Choi, S., Corey, E. J., & Schreiber, S. L. (1995). Inhibition of proteasome activities and subunit-specific amino-terminal threonine modification by lactacystin. *Science*, *268*(5211), 726-731.

Fischer, J ., Ganellin , C., & Robin. (2006). Analogue-based Drug Discovery. John Wiley & Sons. p. 517.

Francisco ,L.M. , & Cecilio, A. (2011). Neurobiology of Depression. CRC Press. pp. 132.

Frey, D., Oldfield, R. J., & Bridger, R. C. (1979). A colour atlas of pathogenic fungi. Wolfe Medical Publications Ltd., Wolfe House, 3-5 Conway Street, London W1P 6HE.

Fuentes, C. A. (1956). A new species of Microsporum. *Mycologia*, *48*(4).

Furlan, K. C., Kakizaki, P., Chartuni, J. C. N., & Valente, N. Y. S. (2017). Sycosiform tinea barbae caused by trichophyton rubrum and its association with autoinoculation. *Anais brasileiros de dermatologia*, *92*(1), 160-161.

Gan, D., Hines, M., Aravena, J., & Jones, B. (2019). U.S. Patent Application No. 16/046,621.

Gao, Z. G., Ye, K., Goblyos, A., IJzerman, A. P., & Jacobson, K. A. (2008). Flexible modulation of agonist efficacy at the human A 3 adenosine receptor by the imidazoquinoline allosteric enhancer LUF6000. *BMC pharmacology*, *8*(1), 20.

Gedoelst, L. (1902). Les champignons parasites de l'homme et des animaux domestiques: Guide technique de parasitologie vegetale. J. van In & cie.; Bruxelles, H. Lamertin. p.88.

Gee, P., Tallon, C., Long, N., Moore, G., Boet, R., & Jackson, S. (2012). Use of recreational drug 1, 3-dimethylethylamine (DMAA) associated with cerebral hemorrhage. *Annals of emergency medicine*, *60*(4), 431-434.

Georg, L. K. (1954). The relationship between the downy and granular forms of *Trichophyton mentagrophytes*. *Journal of Investigative Dermatology*, *23*(2), 123-141.

Ghannoum, M. A., Hajjeh, R. A., Scher, R., Konnikov, N., Gupta, A. K., Summerbell, R., & Rich, P. (2000). A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *43*(4), 641-648.

Ghannoum, M.A., Mukherjee, P.K., Warshaw, E.M., Evans, S., Korman, N.J., & Tavakkol, A. (2013). Molecular analysis of dermatophytes suggests spread of infection among household members. Cutis. 91: 237–45.

Ghojoghi, A., Falahati, M., Paghehm A. S., Abastabar, M., Ghasemi, Z., Ansari, S., Farahyar, S., & Roudbary, M. (2015). Molecular identification of epidemiological aspect of Dermatophytosis in Tehran, Iran. *J. Research in Molecular Medicine*, 3, 11-16.

Glavan, N., Kastelan, M., Bosak, A., Gacanin, L., Pecanic, S., & Jonjic, N. (2014). Successful use of silver impregnated hydrofiber dressing in the treatment of kerion celsi caused by *Microsporum gypseum*. *Acta dermatovenerologica Croatica*, *21*(4), 250-252.

Gnat, S., Lagowski, D., Nowakiewicz, A., & Zieba, P. (2018). Phenotypic characterization of enzymatic activity of clinical dermatophyte isolates from animals with and without skin lesions and humans. *Journal of applied microbiology*, *125*(3), 700-709.

Gnat, S., Lagowski, D., Nowakiewicz, A., & Zieba, P. (2019). The host range of dermatophytes, it is at all possible? Phenotypic evaluation of the keratinolytic activity of *Trichophyton verrucosum* clinical isolates. *Mycoses*, *62*(3), 274-283.

Goodman, E. (2010). Historical Contributions to the Human Toxicology of Atropine: Behavioral Effects of High Doses of Atropine and Military Uses of Atropine to Produce Intoxication. Eximdyne. p. 120.

Gopi, M., Dhayanithi, N. B., Devi, K. N., & Kumar, T. T. A. (2014). Marine natural product, Pyrrolo [-a] pyrazine–dione, hexahydro-(C7H10N2O2) of antioxidant properties from Bacillus species at Lakshadweep archipelago. *J. Coastal Life Med*, *2*, 632-637.

Graser, Y., Czaika, V., & Ohst, T. (2012). Diagnostic PCR of dermatophytes–an overview. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *10*(10), 721-725.

Graser, Y., De Hoog, G. S., & Kuijpers, A. F. A. (2000). Recent advances in the molecular taxonomy of dermatophytes. *Rev Iberoam Micol*, *17*, 17-21.

Graser, Y., Scott, J., & Summerbell, R. (2008). The new species concept in dermatophytes—a polyphasic approach. *Mycopathologia*, *166*(5-6), 239.

Grover, C., Arora, P., & Manchanda, V. (2012). Comparative evaluation of griseofulvin, terbinafine and fluconazole in the treatment of tinea capitis. *International journal of dermatology*, *51*(4), 455-458.

Gruby , D.(1843). Research on the cryptoganes that constitute the contagious disease of the scalp described under the name of tug tug (Mahon), Herpes tonsurans (Cazenave). C R Acad Sci 18: 583-585.

Gueguen , F. (1904). Parasites Mushrooms of Man and Animals. Paris: Publishing House, 1904, p. 262.

Guiart, J., & Grigorakis, L. (1928). La classification botanique des champignons des teignes. *Lyon med*, *141*, 369.

Hagel, J. M., Krizevski, R., Marsolais, F., Lewinsohn, E., & Facchini, P. J. (2012). Biosynthesis of amphetamine analogs in plants. *Trends in plant science*, *17*(7), 404-412.

Haggag, Y. N., Samaha, H. A., Nossair, M. A., & Mohammad, A. E. R. M. (2017). Prevalence of Dermatophytosis in some animals and Human in Behera Province, Egypt. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, *53*(2).

Hainer, B. L. (2003). Dermatophyte infections. *American family physician*, *67*(1), 101-110.

Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*, *67*(3), 597-607.

Harley ,J.P., & Prescott , L.M. (1996) . Laboratory exercises in microbiology .3rd ed. WCB /McGraw-Hill .

Harmsen, D., Schwinn, A., Weig, M., Bröcker, E. B., & Heesemann, J. (1995). Phylogeny and dating of some pathogenic keratinophilic fungi using small subunit ribosomal RNA. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, *33*(5), 299-303.

Harvey, A., & Stoppler, M. C. (2011). Fungal Nails (Onychomycosis, Tinea unguium).

Havlickova, B., Czaika, V. A., & Friedrich, M. (2008). Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*, *51*, 2-15.

Hawkins, D.M., & Smidt, A.C.(2014). Superficial fungal infection in children. *Pediatr Clin* 61:443–455.

Hawksworth , D.L.; Sutton. B.C. & Ainsworth, G.C., (1983). Ainsworth and Bisby's dictionary of Fungi. Common Wealth mycological institute, Kew.

Hay, R. J. (2017). Tinea capitis: current status. *Mycopathologia*, *182*(1-2), 87-93.

Hayette, M. P., & Sacheli, R. (2015). Dermatophytosis, trends in epidemiology and diagnostic approach. *Current Fungal Infection Reports*, *9*(3), 164-179.

Heidrich, D., Garcia, M. R., Stopiglia, C. D. O., Magagnin, C. M., Daboit, T. C., Vetoratto, G., & Scroferneker, M. L. (2015). Dermatophytosis: a 16-year retrospective study in a metropolitan area in southern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *9*(08), 865-871.

HMDB. (2019). Human Metabolome Database. Wishart Research Group, University of Alberta. University of Alberta 116 St. and 85 Ave., Edmonton, AB, Canada, T6G2R3.

Hofstetter, R., & Kreuder, J. (1985). The effect of oxedrine on the left ventricle and peripheral vascular resistance. *Arzneimittel-Forschung*, *35*(12), 1844-1846.

Hoog, G. S., & Guarro, J. (1995). Atlas of clinical fungi universital ropiran. prees. London & Spain.

Hsu, S., Le, E. H., & Khoshevis, M. R. (2001). Differential diagnosis of annular lesions. *American family physician*, *64*(2), 289-296.

Ichhpnjani, R.L. & Bhatia, R. (1994). Microbiology for Nurses. Jay pee Brothers medical Publ. (p) LTD. 32:227-236.

Ilkit, M., & Durdu, M. (2015). Tinea pedis: the etiology and global epidemiology of a common fungal infection. *Critical reviews in microbiology*, *41*(3), 374-388.

Islam, T. A. B., Majid, F., Ahmed, M., Afrin, S., Jhumky, T., & Ferdouse, F. (2018). Prevalence of Dermatophytic Infection and Detection of Dermatophytes by Microscopic and Culture Methods. *Journal of Enam Medical College*, *8*(1), 11-15.

James, A. T., & Martin, U. A. (1952). Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochemical Journal*, *50*(5), 679.

James, W. D., Berger, T. G., & Elston, D. M. (2006). Andrews' Diseases of the Skin Clinical Dermatology. 10 [sup] th ed. *Canada: Saunders Elsevier*, 487-98.

Jarabran, M. C. D., González, P. D., Rodriguez, J. E., & Munoz, A. J. C. (2015). Evaluacion del perfil de sensibilidad in vitro de aislamientos clínicos de

Trichophyton mentagrophytes y *Trichophyton rubrum* en Santiago, Chile. *Revista iberoamericana de micología*, *32*(2), 83-87.

Jensen, J. M., Pfeiffer, S., Akaki, T., Schröder, J. M., Kleine, M., Neumann, C., & Brasch, J. (2007). Barrier function, epidermal differentiation, and human β-defensin 2 expression in Tinea Corporis. *Journal of Investigative Dermatology*, *127*(7), 1720-1727.

Jensen, R.H., & Arendrup, M.C.(2012) Molecular diagnosis of dermatophyte infections. *Curr Opin Infect Dis*. 25:126-34.

Jha, B. K., Murthy, S. M., & Devi, N. L. (2012). Molecular identification of dermatophytosis by polymerase chain reaction (PCR) and detection of source of infection by restricted fragment length polymorphism (RFLP). *Journal of College of Medical Sciences-Nepal*, *8*(4), 7-15.

Jochen, B., & Yvonne, G.(2005). *Trichphyton ebroeum* sp. Nov. isolated from human skin. *J. Clin. Microbial*., 43(10): 5230-5237.

Kadhim, M. J., Sosa, A. A., & Hameed, I. H. (2016). Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of Ocimum basilicum using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, *8*(6), 127-146.

Kadhim, S. K., Al-Janabi, J. K., & Al-Hamadani, A. H. (2015). In vitro, determination of optimal conditions of growth and proteolytic activity of clinical isolates of Trichophyton rubrum. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, *1*(3), 9-19.

Kalinowska, K. (2012). Epidemiology of Dermatomycoses in Poland over the Past Decades. *Epidemiology Insights*, 31.

Kally, B. P. (2012). Superficial Fungal Infections. *J. American Academy of Pediatrics*, 33(4):22-37.

Kannabiran, K. (2016). Bioactivity of Pyrrolo [1, 2-a] pyrazine-1, 4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-Extracted from Streptomyces sp. VITPK9 Isolated from the Salt Spring Habitat of Manipur, India. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP): Free full text articles from Asian J Pharm*, *10*(04).

Kannan, P., Janaki, C., & Selvi, G. S. (2006). Prevalence of dermatophytes and other fungal agents isolated from clinical samples. *Indian journal of medical microbiology*, *24*(3), 212.

Kano, R., Nakamura, Y., Watari, T., Watanabe, S., Takahashi, H., Tsujimoto, H., & Hasegawa, A. (1998). Molecular analysis of chitin synthase 1 (CHS1) gene sequences of Trichophyton mentagrophytes complex and T. rubrum. *Current microbiology*, *37*(4), 236-239.

Kawasaki, M., Aoki, M., Ishizaki, H., Nishio, K., Mochizuki, T., & Watanabe, S. (1992). Phylogenetic relationships of the genera *Arthroderma* and *Nannizzia* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mycopathologia*, *118*(2), 95-102.

Kechia, F. A., Kouoto, E. A., Nkoa, T., Nweze, E. I., Fokoua, D. C. M., Fosso, S., & Somo, M. R. (2014). Epidemiology of tinea capitis among school-age children in Meiganga, Cameroon. *Journal de mycologie medicale*, *24*(2), 129-134.

Kim, B. H., Ikeda, T., Park, H. S., Kim, H. J., Hyun, M. S., Kano, K., & Tatsumi, H. (1999). Electrochemical activity of an Fe (III)-reducing bacterium, Shewanella putrefaciens IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. *Biotechnology Techniques*, *13*(7), 475-478.

Kim, J. Y., Choe, Y. B., Ahn, K. J., & Lee, Y. W. (2011). Identification of dermatophytes using multiplex polymerase chain reaction. *Annals of dermatology*, *23*(3), 304-312.

Krebs ,C.J. (1978) . Ecology . The experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row Publisher ,New York .

Kumar , B. (2014). Isolation and Molecular Characterization of dermatophytes by PCR. University of Mysore , India.

Kumar , B. (2017). Clinico-Microbial identification and characterization of dermatophytes and mrsa in Jaipur. University of Jaipur Mysore, India.

Kumar S., Stecher G., and Tamura K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets.Molecular Biology and Evolution (submitted).

Kumar, R., Shukla, S. K., Pandey, A., Pandey, H., Pathak, A. & Dikshit, A.(2016). Dermatophytosis: Infection and Prevention -A Review. *Int J Pharm Sci Res*, 7(8), 18-25.

Lafta , A.A. (2019). Taxonomical and Molecular Study of the Nematode-Trapping fungi and their antagonistic relationship with the *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas fluorescens.* Master thesis, University of Misan, Iraq. P72.

Lakshmipathy, D. T., & Kannabiran, K. (2010). Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. *Natural Science*, *2*(07), 726.

Langeron, M., & Milochevitch, S. (1930). Morphologie des dermatophytes sur milieux naturels et milieux à base de polysaccharides. Essai de classification (Deuxieme memoire). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, *8*(5), 465-508.

Leite, D. P., de Souza Amadio, J. V. R., Simoes, S. D. A. A., de Araújo, S. M., da Silva, N. M. R., Anzai, M. C., & Hahn, R. C. (2014). Dermatophytosis in

military in the central-west region of Brazil: literature review. *Mycopathologia*, *177*(1-2), 65-74.

Li, J., Hyde, K. D., & Zhang, K. Q. (2014). Methodology for Studying Nematophagous Fungi. In *Nematode-Trapping Fungi* (pp. 13-40). Springer, Dordrecht.

Liu, D., Coloe, S., Baird, R., & Pedersen, J. (2000). Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *Journal of medical microbiology*, *49*(6), 493-497.

Liu, T., Xu, X., Leng, W., Xue, Y., Dong, J., & Jin, Q. (2014). Analysis of gene expression changes in Trichophyton rubrum after skin interaction. *Journal of medical microbiology*, *63*(Pt 5), 642.

Mahmoud, W.R.,(2000).Survey of dermal fungi infection in Babelon governorate . Master thesis .College of sciences , University of Babelon.

Malhotra, S., Malhotra, S. K., & Aggarwal, Y. (2015). Tinea faciei caused by *Trichophyton mentagrophytes* in a 20-day-old neonate. *Indian dermatology online journal*, *6*(Suppl 1), S 43.

Malik, V. S., & Hu, F. B. (2015). Fructose and cardiometabolic health: what the evidence from sugar-sweetened beverages tells us. *Journal of the American College of Cardiology*, *66*(14), 1615-1624.

Marais, A., & Osuch, E. (2017). Common cutaneous dermatophyte infections of the skin and nails. *South African Family Practice*, *59*(3), 33-40.

Martin, A. G., & Kobayashi, G. S. (1993). Fungal diseases with cutaneous involvement. *Dermatology in general medicine. Ed. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K., Freedberg IM, Austen KF New York, McGraw-Hill. Inc*, 2421-2451.

Matsumoto, T. (1996). Fungal diseases in dermatology. *Principles and practice of clinical mycology*, 103-129.

Maximov, P.Y., Lee, T.M., & Jordan, V.C. (2013). The discovery and development of selective estrogen receptor modulators (SERMs) for clinical practice. *Current Clinical Pharmacology*. 8 (2): 135–155.

McGinnis, M.R., (1985). Current topics in medical mycology. Vol. 1. Speriner veraly. New York. USA. P:359.

Milne, L. J. R. ,(1996). Fungi. In : Practical Medical Microbiology , by Collee , J.G. ; Fraser, A. G. ; Marmion, B. P. and Simmons, A. (eds). Longman Singapore Publishers Ltd, pp. 695 – 717.

Mirkin, S., & Pickar, J. H. (2015). Selective estrogen receptor modulators (SERMs): a review of clinical data. *Maturitas*, *80*(1), 52-57.

Mitchell, T. G., Sandin, R. L., Bowman, B. H., Meyer, W., & Merz, W. G. (1994). Molecular mycology: DNA probes and applications of PCR technology. *Journal of medical and veterinary mycology*, *32*(sup1), 351-366.

Miwatashi, S., Arikawa, Y., Matsumoto, T., Uga, K., Kanzaki, N., Imai, Y. N., & Ohkawa, S. (2008). Synthesis and biological activities of 4-phenyl-5-pyridyl-1, 3-thiazole derivatives as selective adenosine A3 antagonists. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *56*(8), 1126-1137.

Mohammed, G. J., Kadhim, M. J., & Hussein, H. M. (2016). Characterization of bioactive chemical compounds from *Aspergillus terreus* and evaluation of antibacterial and antifungal activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *8*(6), 889-905.

Mohammed, S. J., Noaimi, A. A., Sharquie, K. E., Karhoot, J. M., Jebur, M. S., Abood, J. R., & Al-Hamadani, A. (2015). A Survey Of Dermatophytes Isolated From Iraqi Patients In Baghdad City. *AL-Qadisiyah medicalI journal*, *11*(19), 10-15.

Monod, M., Jaccoud, S., Zaugg, C., Léchenne, B., Baudraz, F., & Panizzon, R. (2002). Survey of dermatophyte infections in the Lausanne area (Switzerland). *Dermatology*, *205*(2), 201-203.

Moriarty, B., Hay, R., & Morris-Jones, R.(2012). The diagnosis and management of tinea. *BMJ*. 345(7865):37-42.

Motawi, T. M., Bustanji, Y., EL-Maraghy, S. A., Taha, M. O., & Al Ghussein, M. A. (2013). Naproxen and cromolyn as new glycogen synthase kinase 3β inhibitors for amelioration of diabetes and obesity: an investigation by docking simulation and subsequent in vitro/in vivo biochemical evaluation. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, *27*(9), 425-436.

Muhsin, T. M., Aubaid, A. H., & Al-Duboon, A. H. (1997). Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses*, *40*(11-12), 465-469.

Murray, R.P. , Baron , E. , Pfaller , A.M. , Tenover , C.F., & Yolken , I. V. (1999). Manual of Clinical Microbiology .Vol.1 , 7th (edn).*American society Microbiology.*

Nagoba, B. S., Selkar, S. P., Wadher, B. J., & Gandhi, R. C. (2013). Acetic acid treatment of pseudomonal wound infections–a review. *Journal of infection and public health*, *6*(6), 410-415.

Naik , P.S , Mangala , G.K., & Lava , R. (2019). Spectrum of Dermatophytic Fungal Infection in Tertiary Care Hospital, Davanagere. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 8*(3): 165-171.

Nasr, A., Vyzantiadis, T. A., Patsatsi, A., Louka, A., Ioakimidou, A., Zachrou, E., & Sotiriadis, D. (2016). Epidemiology of superficial mycoses in Northern Greece: a 4-year study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *30*(5), 837-839.

Nenoff, P., Krüger, C., Ginter-Hanselmayer, G., & Tietz, H. J. (2014). Mycology–an update. Part 1: dermatomycoses: causative agents, epidemiology and pathogenesis. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *12*(3), 188-210.

Nenoff, P., Overbeck, C., Uhrlaß, S., Kruger, C., & Graser, Y. (2017). Tinea corporis durch den seltenen geophilen Dermatophyten *Microsporum praecox*. *Der Hautarzt*, *68*(5), 396-402.

Nobre, G. &Veigas, M.P. (1972). Lipolytic activity of dermatophytes.*Mycopathol:Mycol*. Appl.46:319-340.

Norris, H. A., Elewski, B. E., & Ghannoum, M. A. (1999). Optimal growth conditions for the determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of a microdilution method. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *40*(6), S9-S13.

North, M. (1982). Comparative biochemistry of the prpteins eukaryotic microorganism. *Mycrobiol. Rev*. 46:308-340.

Nussipova, Y., Markabayeva, A., Gianfaldoni, S., Tchernev, G., Wollina, U., Lotti, J., & Lotti, T. (2017). Clinical and Epidemiological Features of Dermatophyte Infections in Almaty, Kazakhstan. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, *5*(4), 409.

Nweze, E. I. (2010). Dermatophytosis in Western Africa: a review. *Pak J Biol Sci*, *13*(13), 649-56.

Nweze, E. I., & Eke, I. (2016). Dermatophytosis in northern Africa. *Mycoses*, *59*(3), 137-144.

Odds, F. C. (1991). Potential for penetration of passive barriers to fungal invasion in humans. In *The fungal spore and disease initiation in plants and animals* (pp. 287-295). Springer, Boston, MA.

Ozkutuk, A., Ergon, C., & Yulug, N. (2007). Species distribution and antifungal susceptibilities of dermatophytes during a one year period at a university hospital in Turkey. *Mycoses*, *50*(2), 125-129.

Padhye, A.A., & Summerbell, R.C.(2005). The dermatophytes. Medical Mycology. 10th ed. *American Society for Microbiology*, 22-34.

Pal, M. (2017). Dermatophytosis in an Adult Cattle due to Trichophyton verrucosum. *Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science*, *1*(1), 1-3.

Parameswari, K. (2018). Clinico-Mycological study of dermatophytosis in and around Kakinada. *International Journal of Medical and Dental Sciences*, *4*(2), 828-833.

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

Price, M. F., Wilkinson, I. D., & Gentry, L. O. (1982). Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, *20*(1), 7-14.

Priyam, B., Bandana, M., & Swetalona, P.(2019). Prevalence of dermatophytic infections including antifungal susceptibility pattern of dermatophytes in a tertiary care hospital. *International Journal of Research in Medical Sciences, 7(3)*.

Putignani, L., D'Arezzo, S., Paglia, M. G., & Visca, P. (2010). DNA-based detection of human pathogenic fungi: dermatophytes, opportunists, and causative agents of deep mycoses. In *Molecular identification of Fungi* ,Springer, Berlin, Heidelberg. (pp. 357-415).

Raju, E. V. N., & Divakar, G. (2013). Production of pectinase by using Bacillus circulans isolated from dump yards of vegetable wastes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *4*(7), 2615.

Rameshwari, T., Pragya, K., Harish, K., & Singh, P. (2016). Tinea cruris and Tinea genitalis due to *Trichophyton interdigitale* in and around Muzaffarnagar (Western UP), India: Possibly an Outbreak. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, *5*(9), 468-473.

Ran, X., Zhuang, K., & Ran, Y. (2015). Tinea corporis on the stump leg with *Trichophyton rubrum* infection. *Medical mycology case reports*, *9*, 31-33.

Rapini, R. P., Bolognia, J. L., & Jorizzo, J. L. (2007). Dermatology: 2-Volume Set. St. *Louis, Mosby*.

Rassai, S., Feily, A., Derakhshanmehr, F., & Sina, N. (2011). Some epidemiological aspects of dermatophyte infections in Southwest Iran. *Acta Dermatovenerologica Croatica*, *19*(1), 13-15.

Reddy, K. R. (2017). Fungal Infections (Mycoses): Dermatophytoses (Tinea, Ringworm). *Journal of Gandaki Medical College-Nepal*, *10*(1).

Refai, M., & El-Yazid, H. A. (2013). Monograph on dermatophytes. *Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University*, *75*.

Rezaei-Matehkolaei, A., Makimura, K., de Hoog, S., Shidfar, M. R., Zaini, F., Eshraghian, M., & Mirhendi, H. (2013). Molecular epidemiology of

dermatophytosis in Tehran, Iran, a clinical and microbial survey. *Medical mycology*, *51*(2), 203-207.

Rezaei-Matehkolaei, A., Rafiei, A., Makimura, K., Graser, Y., Gharghani, M., & Sadeghi-Nejad, B. (2016). Epidemiological aspects of dermatophytosis in Khuzestan, southwestern Iran, an update. *Mycopathologia*, *181*(7-8), 547-553.

Rippon, J. W. & Varadi, D. P. (1968) The elastase of pathogenic fungi and actinomycetes. 3. *Invest. Dermatof.* 50,54-58.

Rippon, J. W. (1982). *Medical mycology; the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. Eastbourne, UK; WB Saunders Company.

Rippon,J. W. & Loincz, A. L. (1964) Collagenase activity of *Streptomyces (.Nocardia) madurae.* 3. *Invest. Dennatol.* 43, 483-486.

Roberts, S.O.B. & Mackenzie, D.W.R. (1986). Mycology. In: Textbook of dermatology By Rook, A.J.; Wilkinson, D.S.; Ebling, F.J.G.; Champion, R.H. and Burton, J.L. (eds).Vol.2, 4th ed., Blackwell Scientific Publication, London, pp. 885- 896.

Rogge, G., Jones, D., Hubert, G. W., Lin, Y., & Kuhar, M. J. (2008). CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions. *Nature Reviews Neuroscience*, *9*(10), 747.

Rossaneis, M. A., Haddad, M. D. C. F. L., Mathias, T. A. D. F., & Marcon, S. S. (2016). Differences in foot self-care and lifestyle between men and women with diabetes mellitus. *Revista latino-americana de enfermagem*, *24*.

Roze, L. V., Beaudry, R. M., & Linz, J. E. (2012). Analysis of volatile compounds emitted by filamentous fungi using solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry. In *Fungal Secondary Metabolism* (pp. 133-142). Humana Press, Totowa, NJ.

Roze, L. V., Chanda, A., Laivenieks, M., Beaudry, R. M., Artymovich, K. A., Koptina, A. V., & Linz, J. E. (2010). Volatile profiling reveals intracellular metabolic changes in Aspergillus parasiticus: veA regulates branched chain amino acid and ethanol metabolism. *BMC biochemistry*, *11*(1), 33.

Russell, A., Banes, A., Berlin, H., Fink, G. D., & Watts, S. W. (2002). 5-Hydroxytryptamine2B Receptor Function Is Enhanced in the N ω-Nitro-l-arginine Hypertensive Rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *303*(1), 179-187.

Rusyn, I., & Corton, J. C. (2012). Mechanistic considerations for human relevance of cancer hazard of di (2-ethylhexyl) phthalate. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *750*(2), 141-158.

Sabouraud, R. (1911). Trichophytic eruption caused by the *Trichophyton rubrum* of Castellani (Epidermophyton purpureum, Bang). *Brit. Jour. Dermat*, *23*, 389.

Sahoo, A. K., & Mahajan, R. (2016). Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian dermatology online journal*, *7*(2), 77.

Sambrook, H. C. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, NY.

Sarika, G. U. P. T. A., Purva, A., Rahul, R., & Saksham, G. U. P. T. A. (2014). Prevalence of dermatophytic infection and determining sensitivity of diagnostic procedures. *Int J Pharm Pharm Sci*, *6*(3), 35-38.

Sciortino, J.r. C. V. (2017). *Atlas of clinically important fungi*. John Wiley & Sons.

Seck, M. C., Ndiaye, D., Diongue, K., Ndiaye, M., Badiane, A. S., Sow, D., & Ndir, O. (2014). Mycological profile of onychomycosis in Dakar (Senegal). *Journal de mycologie medicale*, *24*(2), 124-128.

Seebacher, C., Bouchara, J. P., & Mignon, B. (2008). Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*, *166*(5-6), 335-352.

Seebacher, W., Wolkinger, V., Faist, J., Kaiser, M., Brun, R., Saf, R., & Kalia, Y. (2015). Synthesis of 3-azabicyclo [3.2. 2] nonanes and their antiprotozoal activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *25*(7), 1390-1393.

Shalaby, M. F. M., El-din, A. N., & El-Hamd, M. A. (2016). Isolation, identification, and in vitro antifungal susceptibility testing of dermatophytes from clinical samples at Sohag University Hospital in Egypt. *Electronic physician*, *8*(6), 2557.

Sharma, A., Chandra, S., & Sharma, M. (2012). Difference in keratinase activity of dermatophytes at different environmental conditions is an attribute of adaptation to parasitism. *Mycoses*, *55*(5), 410-415.

Sharma, M. (2008). Evaluation of some essential oils against fungi causing superficial mycoses and other infections in human beings. Ph.D. Thesis. University of Rajasthan, Jaipur.

Shemer, A., Plotnik, I. B., Davidovici, B., Grunwald, M. H., Magun, R., & Amichai, B. (2013). Treatment of tinea capitis–griseofulvin versus fluconazole–a comparative study. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *11*(8), 737-741.

Sierra,*G.* (1957) A simple method fo; 'the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the component between cells and fatty substrates. *Ned.* 3. *Hyg.* 23, 15-22.

Sigurgeirsson, B., & Baran, R. (2014). The prevalence of onychomycosis in the global population–a literature study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *28*(11), 1480-1491.

Silva-Rocha, W. P., De Azevedo, M. F., & Chaves, G. M. (2017). Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast Brazil. *Journal de mycologie medicale*, *27*(1), 57-64.

Silveira-Gomes, F., Oliveira, E. F. D., Nepomuceno, L. B., Pimentel, R. F., Marques-da-Silva, S. H., & Mesquita-da-Costa, M. (2013). Dermatophytosis diagnosed at the Evandro chagas institute, Pará, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *44*(2), 443-446.

Simmons, E. G. (2007). Alternaria: An Indentification Manual (No. PA 632.488 S56.).

Simpanya, M. F. (2000). Dermatophytes: their taxonomy, ecology and pathogenicity. *Rev Iberoam Micol*, *17*, 1-12.

Singh, T. N., Zamzachin, G., & Singh, N. B. (2016). Recognition of dermatophytes by dermatophyte test medium. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *5*(10), 1125-1129.

Smith, J. M. B., & Marples, M. J. (1964). *Trichophyton mentagrophytes* var. erinacei. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, *3*(1), 1-10.

Stahl, S. M. (2017). *Prescriber's Guide: Stahl's Essential Psychopharmacology*. Cambridge University Press.

Stoytcheva, M., Montero, G., Zlatev, R., A Leon, J., & Gochev, V. (2012). Analytical methods for lipases activity determination: A review. *Current Analytical Chemistry*, *8*(3), 400-407.

Symoens, F., Jousson, O., Planard, C., Fratti, M., Staib, P., Mignon, B., & Monod, M. (2011). Molecular analysis and mating behaviour of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. *International Journal of Medical Microbiology*, *301*(3), 260-266.

Taha, M., Elfangary, M., Essa, S., & Younes, A. (2017). Species identification of dermatophytes isolated from human superficial fungal infections by conventional and molecular methods. *Journal of the Egyptian Women's Dermatologic Society*, *14*(2), 76-84.

Tamura K. and Kumar S. (2002). Evolutionary distance estimation under heterogeneous substitution pattern among lineages Molecular Biology and Evolution 19:1727-1736.

Thomas, J., Jacobson, G. A., Narkowicz, C. K., Peterson, G. M., Burnet, H., & Sharpe, C. (2010). Toenail onychomycosis: an important global disease burden. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, *35*(5), 497-519.

Uneke, C. J., Ngwu, B. A., & Egemba, O. (2006). Tinea capitis and Pityriasis versicolor infections among school children in the South-Eastern Nigeria: the Public Health implications. *The Internet Journal of Dermatology*, *4*(2), 1-7.

Upadhyay, V., Kumar, A., Singh, A. K., & Pandey, J. (2019). Epidemiological characterization of dermatophytes at a tertiary care hospital in Eastern Uttar Pradesh, India. *Current medical mycology*, *5*(1), 1.

Vanbreuseghem, R. (1952). Technique biologique pour l'isolement des dermatophytes du sol. *Ann Soc Belge Med Trop*, *32*(2), 173-8.

Vermout, S., Tabart, J., Baldo, A., Mathy, A., Losson, B., & Mignon, B. (2008). Pathogenesis of Dermatophytosis. *Mycopathologia* 166, 267-275.

Veverka, M., Dubaj, T., Gallovič, J., Jorík, V., Veverkova, E., Danihelová, M., & Simon, P. (2015). Cocrystals of quercetin: synthesis, characterization, and screening of biological activity. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, *146*(1), 99-109.

Webster, J., & Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Cambridge University Press.

Weitzman, I., & Summerbell, R. C. (1995). The dermatophytes. *Clinical microbiology reviews*, *8*(2), 240-259.

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.

White, D. C., Geyer, R., Peacock, A. D., Hedrick, D. B., Koenigsberg, S. S., Sung, Y., ... & Löffler, F. E. (2005). Phospholipid furan fatty acids and ubiquinone-8: lipid biomarkers that may protect Dehalococcoides strains from free radicals. *Appl. Environ. Microbiol.*, *71*(12), 8426-8433.

WHO (2015). 19th Model List of Essential Medicines.

Wiegand, C., Mugisha, P., Mulyowa, G. K., Elsner, P., Hipler, U. C., Graser, Y., & Nenoff, P. (2016). Identification of the causative dermatophyte of tinea capitis in children attending Mbarara Regional Referral Hospital in Uganda by PCR-ELISA and comparison with conventional mycological diagnostic methods. *Medical mycology*, *55*(6), 660-668.

Yao, Y., & Zhang, J. J. (2019). *U.S. Patent Application No. 16/153,893*.

Zarrin, M., Salehi, Z., & Mahmoudabadi, A. Z. (2015). Identification of dermatophytes by arbitrarily primed PCR. *Asian Biomedicine*, *9*(3), 291-298.

Ziolkowska, G., Nowakiewicz, A., Gnat, S., Troscianczyk, A., Zieba, P., & Majer Dziedzic, B. (2015). Molecular identification and classification of

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

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

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

Abstract

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

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

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

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

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

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

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

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