

دراسة تأثير كل من Tolanaftate والـ Econazole والـ Miconazole على بعض انواع الفطريات الانتهازية المعزولة من جلد الانسان

مثال كريم الحسني /قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة القادسية .

الخلاصة :

خلال هذه الدراسة تم الحصول على (١٥) عزلة من الفطريات الانتهازية تعود الى (٣) اجناس *Aspergillus* , *Penicillium* , *Rhizopus* تتضمن (٥) عزلات من الفطر *Aspergillus niger* و (٤) عزلات من الفطر *A.terreus* و (٣) عزلات من فطر *Penicillium sp.* و (٢) عزلة من الفطر *A.candidus* وعزلة واحدة من الفطر *Rhizopus sp.* حيث اختبرت حساسية (٥) انواع عائدة لـ (٣) اجناس من الفطريات الانتهازية ضد (٣) انواع من المضادات الفطرية (*Miconazole* , *Econazole* , *Tolanaftate*) وقد كان المضاد الفطري *Tolanaftate* من أكفأ هذه المضادات المستخدمة وبنسبة حساسية (٨٠ %) من المجموع الكلي للانواع المختبرة .

عند استخدام الاقراص الحاوية على المضاد الفطري *Econazole* بينما اصغر مناطق للتنشيط فقد ظهرت عند استخدام المضاد الفطري *Miconazole* كما حدد التركيز المثبط الأدنى MIC لـ (3) من المضادات الفطرية ضد (١٥) عزله عائدة لـ (٣) اجناس من الفطريات الانتهازية المعزولة ، وظهر ان الـ *Tolanaftate* اكثر المضادات الفطرية المستخدمة فعالية ضد جميع العزلات المختبرة حيث اظهر نسبة تثبيط (١٠٠ %) عند تركيز (١.٥٦ مايكرو غرام / مل) يليه في الكفاءة المضاد الفطري *Miconazole* ثم *Econazole* .

المقدمة :

الفطريات لها القدرة على ان تصيب الانسان باضرار بالغة بحكم ما تنتجه من اضرار ثانوية خلال نموها والتي تتسم بخصائص سمية (Jawetz et al. , 1998) . وتحت الظروف الاعتيادية تكون الفطريات ذات امراضية قليلة وذات قدرة واطنة على غزو جسم الانسان ، ولكن عندما تضعف الالية المناعية للمضيف اما بسبب المرض او بسبب استعمال الادوية فان الفطريات سوف تجد الفرصة المناسبة لها لكي تغزو جسم الانسان وتسبب له المرض (Johnson et al.1996) وبالرغم من ان هذه الانواع الفطرية الممرضة قليلة الا ان الفطريات الانتهازية Fungi Opportunistic اصبحت ذات اهمية متزايدة وخاصة في المرضى ذوي النقص المناعي (Roberts & Mackenzie ,1986) .

ونظراً لما تسببه الفطريات الانتهازية من اضرار واصابات بالغة للانسان ومنها اصابتها للجلد ولقلة الدراسات في هذا الجانب لذا اختيرت هذه الدراسة التي تهدف الى اختبار الحساسية للعزلات الفطرية تجاه بعض المضادات الفطرية المستخدمة في علاج الاصابات الفطرية الجلدية باستخدام طريقتي الانتشار بالاقراص Disc diffusion method وطريقة التخفيف Dilution method لتحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) Minimum Inhibitory Concentration للمضادات الفطرية مختبرياً .

طريقة العمل :

١- جمع العينات .

جمعت العينات من المرضى المراجعين الى استشارية الامراض الجلدية والزهرية / مستشفى الديوانية التعليمي . وذلك بكشط جزء من المنطقة المصابة (مركز البؤره) بعد تعقيمها بكحول الايثانول (٧٠ %) ثم فحصها تحت المجهر لتمييز فيما اذا كانت العينة موجبة او سالبة. ثم زرعت العينة على سطح طبق بتري حاوي على وسط (سابرود - دكستروز - اكار) مضافاً اليه المضاد الحيوي كلورا مفينيكول Chloramphenicol لمنع نمو البكتريا ثم حضنت الاطباق المزروعة بدرجة حرارة (٢٨ - ٣٠ م) لمدة تتراوح من يومين الى اسبوعين .

٢- اختبار الحساسية الدوائية Sensitivity test of drugs

وتضمن استخدام طريقة الانتشار بالاقراص حسب ما ورد في (Gould ، ١٩٧٥) . وفيها تم قياس القدرة التثبيطية للمضادات الفطرية المستخدمة . وكذلك تم تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC حسب طريقة تخفيف الاكار التي وصفها (Mc Ginnis, 1980) وكما يلي :

- اخذ (٢ مل) من المحلول الاصلي واضيف الى (١٨مل) من وسط (SDB) وبذلك تم الحصول على تركيز (١٠٠٠ مايكروغرام/مل) ويرمز له بالرقم (١) .
- اخذ (٧مل) من المحلول رقم (١) واضيف الى (٧مل) من وسط (SDB) وبذلك نحصل على تركيز (٥٠٠ مايكروغرام/مل) ويرمز له بالرقم (٢) . واستمر على هذه الطريقة الى حد تركيز (٠.٢٥ مايكروغرام/مل) وكذلك استمر التأشير الى رقم (١٣) .
- من كل تخفيف سحب (٣مل) واضيف الى انبوتين تحتوي كل واحدة منها على (٢٧مل) من وسط SDA وخلط المزيج وتم سحب كل (٣٠مل) منها في طبق زجاجي وتركت لتبرد . ثم سحب (٠.٠٥ مل) من اللقاح الفطري ووضعت على سطح الاطباق ونشرت بشكل متجانس وتركت الاطباق بدون تحريك لكي يتم امتصاص اللقاح من قبل الوسط .
- حضنت الاطباق الملقحة بالاعفان بدرجة (٢٨-٣٠م) لحين ظهور نمو المستعمرات ثم تم تسجيل (MIC) كأقل تركيز للعقار يظهر فيه عدم نمو للفطريات .

النتائج والمناقشة :-

تم الحصول على (١٥) عزله من الفطريات غير الجلدية (الانتهازية) . وقد تضمنت (٥) عزلات من الفطر *Aspergillus niger* (٤ عزلات من إصابة اظافر اصابع اليد ، وعزلة واحدة من إصابة المنطقة خلف صيوان الاذن) ، و (٤) عزلات من الفطر *A.terreus* (٣ عزلات من إصابة اظافر اصابع اليد ، وعزلة واحدة من إصابة اظافر اصابع القدم) ، وعزلتين من الفطر *A.candidus* (احدهما من إصابة اظافر اصابع القدم والاخرى من إصابة المنطقة الاربية) ، و (٣) عزلات من الفطر *Penicillium sp.* (عزلتين من إصابة اظافر اصابع اليد وعزله من إصابة الجلد مابين اصابع القدم) ، وعزله من الفطر *Rhizopus sp.* من إصابة اظافر اصابع اليد (جدول ١) . اختبرت حساسية الفطريات الانتهازية المعزولة باستخدام طريقة الانتشار بالاقراص اتجاه (٣) انواع من المضادات الفطرية ، وقد تم تحديد النتائج بقياس مناطق منع النمو (Zone's of inhibition) اذ لوحظ ان (٤) عزلات قد ابدت حساسية عالية للمضاد الفطري Tolanaftate وبنسبة تثبيط (٨٠%) من المجموع الكلي للعزلات (٥/٤) . ويليه المضاد الفطري Econazole وبنسبة تثبيط (٦٠%) من المجموع الكلي للعزلات (٥/٣) ، بينما ابدت اغلب العزلات مقاومة اتجاه المضاد الفطري Miconazole ما عدا الفطر *Aspergillus terreus* ، اذ كانت نسبة التثبيط (٢٠%) من المجموع الكلي للعزلات (٥/١) . وعموماً فان اكبر مناطق منع النمو لوحظت باستخدام الاقراص الحاوية على المضاد الفطري Econazole بينما تم الحصول على اصغر مناطق منع النمو عند استخدام الاقراص الحاوية على Miconazole (جدول ٢) . كما بينت النتائج ايضاً ان اكبر مناطق منع النمو ظهرت عند استخدام الـ Econazole (احد مركبات الازول) والـ Tolanaftate وهذا يتفق مع ما توصل اليه (١٩٩٨) AL- Duboon و (٢٠٠١) Abd- Al Hussian . كما تبين ان الـ Tolanaftate كان اكفاً عقار ضد عزلات الفطريات الانتهازية المستخدمة في هذه الدراسة وهذا يتفق مع ما توصل اليه (١٩٩٧) Al- Duboon في ان هذا العقار كان الاكفاً ضد عزلات الاعفان الخيطية .

اما فيما يخص نتائج اختبار MIC (تخفيف الاكار Agar dilution) فقد حدد التركيز المثبط الادنى لثلاثة انواع من المضادات الفطرية (Econazole ، Tolanaftate ، Miconazole) ضد (١٥) عزلة عائدة لثلاثة اجناس من الفطريات الانتهازية (جدول ٣) . وقد اظهرت اغلب العزلات حساسية عالية لكل من (Econazole ، Miconazole) . وكان الـ (Miconazole) اكثر المضادات الفطرية (الحاوية على مجموعة الازول) فعالية ضد

جميع العزلات المختبرة حيث اظهر نسبة تثبيط (٧٨%) عند تركيز (٦.٢٥ مايكروغرام/مل) ، ونسبة تثبيط (١٠٠%) عند تركيز (١٢.٥ مايكروغرام /مل) .

واظهر كل من الـ (Econazole , Miconazole) فعالية ضد الاعفان الخيطية الانتهازية بمدى واسع من الـ MIC حيث اظهرت نسبة تثبيط (١٠٠%) عند تركيز (١٢.٥ مايكروغرام / مل) ، اما عند تركيز (٦.٢٥ مايكروغرام/مل) فان نسبة (٥٦%) من جنس الـ *Aspergillus* قد تم تثبيطها من قبل هذين المضادين . اما المضاد الفطري Tolanaftate فقد كان انشط مضاد فطري تم اختباره ضد هذه الاعفان حيث اظهر نسبة تثبيط (١٠٠%) عند التركيز (١.٥٦ مايكرواغرام/مل) .

اتضح بان مركبات الازول هي اكثر المضادات المستخدمة فعالية ضد جميع العزلات المختبره وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (١٩٩٧) Al- Abd- Al hussian (2001).

Duboon اما الـ Tolanaftate فقد كان انشط مضاد فطري تم اختباره ضد الاعفان الخيطية وهذا مطابق لما توصل اليه (١٩٩٨) Al- Duboon .

جدول (١) الفطريات الانتهازية المعزولة من الاصابات الفطرية الجلدية السطحية ونسبتها المئوية .

النسبة المئوية	عدد العزلات	الفطريات الانتهازية
33.3 (5/15)	٥	<i>Aspergillus niger</i>
26.7 (4.15)	٤	<i>A. terreus</i>
20 (3.15)	٣	<i>Penicillium sp.</i>
13.3 (2.15)	٢	<i>A. candidus</i>
6.7 (1/15)	١	<i>Rhizopus sp.</i>

جدول (٢) مناطق منع النمو للفطريات الانتهازية نتيجة لاستخدام ثلاثة من المضادات الفطرية مقاسة بالمليمتر.

Miconazole	Econazole	Tolanaftate	الانواع الفطرية المعزولة
-	12	10	<i>Aspergillus niger</i>
7	9	11	<i>A. terreus</i>
-	-	10	<i>A. candidus</i>
-	9	-	<i>Penicillium sp .</i>
-	-	8	<i>Rhizopus sp.</i>
20%	%60	%80	النسبة المئوية للتنشيط

جدول (٣) التركيز المثبط الأدنى (MIC) لثلاثة من المضادات الفطرية ضد (١٥) عزلة من الفطريات الانتهازية.

مدى الـ (MIC) (مايكرو غرام / مل)			عدد العزلات المختبرة	الانواع الفطرية
Miconazole	Econazole	Tolanaftate		
0.025-12.5	0.2-12.5	0.05-1.56	5	<i>Aspergillus niger</i>
0.2-6.25	0.78-6.25	0.05-0.78	4	<i>A. terreus</i>
0.05-6.25	0.2-12.5	0.05-0.2	2	<i>A. candidus</i>
0.2-0.78	0.025-0.2	0.025-1.56	3	<i>Penicillium sp.</i>
0.2	0.78	0.78	1	<i>Rhizopus sp.</i>

- Abd – Al hussain , M.M. (2001) . A study on opportunistic fungal correlated With Otitis Media in Al- Qadisiya province . MSc . thesis college Of Education – University of AL- Qadisiya .
- AL- Duboon , A.H. (1997). A study on superficial cutaneous mycosis in Barsah / Iraq. Ph.D .thesis .college of science – University of Basrah .
- AL- Duboon , A.H. (1998) .Antifungal susceptibility of Fungi causing Otomycosis in Basrah . Medic . J. of . Basr . University .16:87 – 98.
- Gould , J .C. (1975) Test's for sensitivity to antimicrobial agent's in : R. Cruick : j .p Duguid; Marmion & Swain. Medical Microbiology . churchil living stone .Edinburg London and NewYork .
- Jawetz , E.;Melnich , J.L .& Adelberg' s , E .A (1998) . Medical Microbiology middle East edition . Libraire du Liban Apple ton & lange 45 : 584-610 .
- Johnson A.G .;Ziegler ,R . J; lukasewycz , O.A & Hawley , L.B (1996) Microbiology & Immunology . 3rd ed .Lippincott Williams & Willkins a wolters kluwer company . U .S .A 5 :169-182.
- Mc Ginnis , M.R. (1980) . Loboratory handbook of Medical Mycology. Academic Press. New York .
- Roberts , S.O.B. & Mackenzie , D.W.R. (1986) . Mycology In: Rook, A.J. wilknson , D.S., Ebling , F.J.G. , champion , R.H. & Burton , J.L. (eds). Text book of dermatology. 4th (ed) . London .

Effect of Tolanaftate , Econazole and Miconazole on some Opportunistic fungi isolated from human skin

Summary

During the study we obtained on (15) isolates of opportunistic fungi belonged to (3) genera , *Aspergillus* , *penicillium* , *Rhizopus* (5) isolates related to *Aspergillus niger* , (4) isolates of *A . terreus* , (3) isolates of *penicillium sp.* , (2) isolates of *A. candidus* and one isolate of *Rhizopus sp* .The susceptibility test of (5 species) belonging to (3) genera of opportunistic fungi against to (3) types of antifungal drugs was carried out , these were (Tolanaftate ,Econazole , Miconazole). Tolanaftate was the best antifungal used . Larger inhibitaion zones were obtained with discs containing Econazole , as where the smaller inhibition zone were obtained with discs contain Miconazole . The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of antifungal drugs was determined , The results showed that Tolanaftate was the most active antifungal drug against all of the isolates tested, (100%) inhibition being achieved by (1.56 mg /ml) .