عنوان البحث

دراسة التأثير المثبط لحليب الماعز على عزلات Candida albicans المعزوله من الأطفال المصابين بداء المبيضات الفموي ومقارنته مع المضاد الفطري Nystatia

باشراف

م.د. غيداء جهادي محمد

من قبل الطالبة

ساره فليح حسين

الخلاصة Abstract

تم جمع ١٥ مسحة من الأطفال المصابين بالسلاق الفموي بواقع ١٠ ذكور و٥ اناث والذين راجعوا مستشفى النسائية والأطفال في الديوانية خلال شهر شباط ٢٠١٧ . أظهرت نتائج الاختبارات المظهرية للعينات المعزولة ان ال 13 عزلة كانت عائدة لخميرة المبيضات البيضاء *Candida albicans*. وقد أظهرت نتائج فحص الحساسية الدوائية بطريقة الخلط مع الوسط ان المضاد Nystatin قد ثبط عزلات المبيضات البيضاء بنسبة (١٠٠%). وكذلك أظهرت كفاءة حليب الماعز كمثبط لنمو الخميرة بتركيز(٣٠%). نستنتج من الدراسة الحالية أمكانية أستخدام حليب الماعز كعلاج لحالات السلاق الفموي.

الـفـصل

الاول

المقدمة واستعراض المراجع

1-1 المقدمة

تعتبر الفطريات من الكائنات الحية حقيقية النواة اذ يوجد ما يقارب ٥٠٠٠ نوع من الفطريات تعيش في الطبيعة منها(٨٠) نوعا من الاعفان والخمائر تسبب امراضا عديدة للإنسان والحيوان على حد سواء (Jawetz *et al.*,2004).وتعرف الامراض التي تسببها الفطريات بالأخماج الفطرية mycosis والتي هي عادة اخماج مزمنة لكون الفطريات تنمو بشكل بطئ وتضم الاخماج السطحية والجهازية والانتهازية والتي تصيب عادة الأشخاص الضعاف مناعيا (Tortora *et al.*,2002).

يعد جنس المبيضات جزء من النبيت الطبيعي للجسم (Normal human flora) ، يتواجد بشكل طبيعي في تجويف الفم في العديد من الأشخاص الاصحاء ولكن باعداد قليلة اذ ان العديد من الدراسات تشير الى ان مستعمرات خميرة المبيضات تتواجد في تجويف الفم عند ٢٠% الى٤٠% من الأشخاص الاصحاء فضلا عن تواجده في المهبل والقناة التنفسية وغيرها (Lewis, 2000)،ولكن تحول الخميرة من كائن متعايش الى ممرض بوصفها انتهازية نتيجة لما تمتلكه الكانديدا من عوامل ضراوة مثل الالتصاق بسطوح الخلايا الطلائية وإنتاج الانزيمات الهاضمة للدهون والبروتينات وتكوين أنبوبة الأنبات(Panagod *et al* .,2001)،فهي تنتهز فرصة ضعف مناعة الجسم لتصبح ممرضة فتسمى عندها بالفطريات الانتهازية وتعرف على انها فطريات رمية وتعد هذه الفطريات واسعة الانتشار وغير مقتصرة على منطقة جغرافية محددة (Rippon;1988).

تمتلك خميرة الكانديدا ضراوة واطئة وقابليتها على احداث الإصابة تعتمد على الحالة المناعية للمضيف اذ تزداد ضراوتها عند الأشخاص الذين يعانون من الوهن المناعي كما في متلازمة نقص المناعة المكتسبة (AIDS) والاورام الخبيثة والسكري والحمل والافراط في تناول المضادات الحيوية او الادوية الكابحة للمناعة مثل الكورتيزونات(Robert;1990) .اذ تتسبب المبيضات في عدد من الحالات المرضية منها الإصابات الجلدية المخاطية وهذه تكون واسعة الانتشار وتشمل إصابات القضيب والمهبل والسلاق وبعض الإصابات الجلدية المخاطية المزمنة كذلك فهي تسبب الإصابات الجلدية وتشمل إصابات الاظافر وطيات الاظافر والطيات الجلدية كما ان المبيضات تسبب إصابات جهازية تشمل الدم والقلب والدماغ والرئتين والعظام وغيرها(Rex *et al*.,2000) .

لقد استخدمت العديد من المضادات الفطرية للتقليل من الإصابات الفطرية لدى الأشخاص المصابون الا ان الاستخدام العشوائي للمضادات وبشكل متكرر أدى الى ظهور سلالات مقاومة لهذه المضادات (Paranhos *et al*.,2000). ان مقاومة السلالات الممرضة للمضادات يرجع الى امتلاكها عدة اليات منها وراثية تشفر لاليات مقاومة المضادات كما تمتلك المسببات المرضية العديد من الوسائل لمقاومة المضادات الحيوية منها تغير حاجز النفاذية وتغير موقع الهدف الى غير ذلك، وجميع هذه الوسائل تشفر من قبل عوامل وراثية تمتلكها الفطريات (Chelsea and Teodore.,2010).

يُعتبر حليب الماعز غذاءً ذا قيمة تغذويّة عالية؛ فهو يحتوي على البروتينات، وهو مصدر جيّد للأحماض الدهنية القصيرة السلسلة والمتوسطة السلسلة والمعادن والفيتامينات، ويعتبر بروتينه

أسهل للهضم وأقل فرصة للحساسية، وهو أقل في محتواه من سكر اللاكتوز من الحليب البقري .يُعتبر حليب الماعز مصدراً للعديد من المركّبات ذات الفوائد الصحية، مثل اللاكتوفيرين والسكريات قليلة التعدّد (Oligosaccharides) والتورين(Taurine) ، والأمينات المتعدّدة (Polyamines)والببتيدات النشطة، كما أنّه يُمكن أن يُحسّن من الإتاحة الحيوية للحديد.يمكن لحليب الماعز أن يقتل المبيضات البيضاء بشكل فعال(Xu *et al*.,2016.).

الهدف من الدراسة:-

-عزل وتشخيص المبيضات البيضاء *Candida albicans* من الأطفال المصابين بالسلاق الفموي Candidiasis .

- دراسة التأثير المثبط لحليب الماعز ضد عزلات *Candida albicans*.

- دراسة الحساسية الدوائية للمضاد الفطري Nystatin ضد عزلات *Candida albicans* ومقارنته بتأثير حليب الماعز.

١-٢ استعراض المراجع

١-٢-١ داء المبيضات الفموي أو السلاق الفموي Oral Candidiasis or Oral Thrush

داء المبيضات Candidiasis هو عدوى فطرية يسببها فطر المبيضة البيضاء بشكل خاص أو أي من فطريات عائلة جنس المبيضات السفيديات، تسبب هذه الفطريات عدوى مختلفة تتراوح ما بين عدوى سطحية مقتصرة على الجلد إلى عدوى مجموعية تهدد حياة المصاب. فقد يحدث وجود المبيضات في الدم (Candidemia) لدى المرضى ممن لديهم عوز مناعي كمرضى الإيدز والسرطان ومن خضعوا لعمليات نقل أعضاء.

توجد خمائر المبيضات على سطح الجلد والأغشية المخاطية بشكل طبيعي ويحد جهاز المناعة من نموها غير المنظم الذي قد يسبب الداء، كما أن بكتيريا النبيت الموجودة على سطح الجسم تمنع انتشار مبيضة البيضاء، تسبب العدوى السطحية للمبيضات الالتهاب في الجلد والأغشية المخاطية المصابة. تصنف عدوى المبيضات بشكل عام على أنها عدوى انتهازية . (Fidel,2002 and Pappas,2006)

داء المبيضات الفموي(Oral candidiasis) ، أو السلاق الفموي(Oral thrush) ، هو مرض فطري يظهر على شكل بقع بيضاء في جوف الفم وهو ينجم عن فطر, على الأغلب من نوع المبيضة البيضاء(*Candida albicans*) ، يمكن للفطر أن يسبب إحساسا بعدم الراحة حتى الوجع. في حالة الحك مكان الإصابة يمكن أن يحدث نزف. قلاع الفم شائع خصوصا بين الأطفال والأولاد الصغار والكبار في السن. وهو يحصل غالبا عندما يضعف جهاز المناعة نتيجة المرض أو العقاقير، أو عندما تعطّل المضادات الحيوية التوازن الطبيعي للكائنات المجهرية في الجسم.

يظهر عادةً مرض القلاع او السلاق الفموي عند الأطفال الرضع و لا تعتبر هذه الحالة غير طبيعية عند الرضع ما لم تستمر لفترة أطول من بضعة أسابيع (Moosa *et al*.,2004).

قلاع الفم أو داء المبيضات عبارة عن التهاب ناجم عن فطر الكانديدا (خميرة فطرية) الذي يتراكم على بطانة الفم.

١-٢-٢ المضاد الفطري Nystatin

النيستاتين Nystatin هو من مُضادٌّ للفُطريَّات والخَمائِر، من فئة البولييِنات Polyenes ،يتوفَّر الدواءُ بأشكال مختلفة؛ حيث يُعطى في داء المُبيَضَّات الفَموي Oral candidiasis بشكل

معلَّق فموي موضعي بمقدار ١٠٠٠٠٠ وحدة أربع مرَّات باليوم للأطفال الخُدَّج، و ٢٠٠٠٠٠ وحدة أربع مرَّات باليوم للأطفال الرضَّع، و ٤٠٠٠٠٠ وحدة أربع مرَّات باليوم للأطفال والبالغين. كما يُطبَّق موضعياً كمستحضرٍ جلدي مرَّتين إلى ثلاث مرَّات باليوم. وتتوفَّر منه أقراصٌ تُعطى في العدوى المعويَّة بمقدار ٥٠٠٠٠٠-١٠٠٠٠٠٠٠ وحدة كلَّ ٨ ساعات. ويُعطى كأقراص مهبليَّة بمقدار قرصٍ واحد في اليوم أو حسب توصيات الطَّبيب(Sheehan *et al*.,1999).

يقتل النِّيستاتين الفطريَّات والخمائر، بالتَّداخُل مع أغشية الخلايا، عن طَريق الارتباط بمادَّة تُسمَّى الإرغوستيرولergosterol ، والذي يُعَدُّ عنصراً أساسياً في أغشية الخلايا الفطرية. وهذا ما يُعطِّل غشاءَ الخلية، ويُسبِّب ظهورَ ثقوبٍ فيهSheehan *et al*.,1999).

١-٢-٣ حليب الماعز

يتميز حليب الماعز باحتوائه على مواد مثبطة للميكروبات بالاضافة الى تاثيراته المناعية المكثفة .يعتبر حليب الماعز مهم بالنسبة للأطفال حديثي الولادة لعدم اكتمال الجهاز المناعي لديهم حيث توجد صعوبة لحماية انفسهم من الإصابات (Mete *et al*.,2006). حيث يعد الحليب سائلا حيويا معقدا يحتوي على العناصر الغذائية المتكاملة من البروتينات والكربوهيدرات والدهون فضلا عن المعادن والفيتامينات والخلايا الجسمية ،والأخيرة تختلف في نسبتها من حيوان لاخر (Marion and Helen,2000).

ان جميع هذه المكونات لها أهميتها الخاصة بالنسبه للحليب .فالماء يعد من المكونات الطبيعية للحليب والمحافظه على التوازن الموجود بين مكوناته .في حين ان الدهون التي تتكون من الكليسريدات الثلاثية تشكل النسبة الأكبر .والبقية هي كليسريدات ثنائية واحادية فضلا عن الفوسفولوبيدات والاحماض الدهنيه الحرة وتعد جميعها من المكونات الأساسية التي تعطي للحليب ومنتجاته النكهة واللون المرغوب (عبود واخرون، ١٩٩١).

٢-١-٢ الأوساط الزرعية:-

١-وسط سابرويد دكستروز اكار Sabouraud Dextrose Agar /Oxoid

اذ تم تحضيرة باذابة ٦٥ غم من الوسط في ١٠٠٠ مل من الماء المقطر Distilled water ،ذوبت المكونات بواسطة الحمام المائي،ضبط الأس الهيدروجيني الى ٥,٤ وعقم الوسط بالموصدة وصب في أطباق معقمة استخدم الوسط لتنمية الخمائر وتشخيصها.

٢-وسط Mueller Hinton agar (OXOID)

استخدم الوسط لاجراء فحص الحساسية للمضاد الحيوي (النستاتين) ودراسة التأثير المثبط لحليب الماعز ضد عزلات ال *Candida albicans*. تم تحضير الوسط وفق تعليمات الشركة المصنعة والمصدر العلمي (Macfaddin,2000) وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة ١٢١م وضغط ١٥ باوند لمدة ١٥ دقيقة بعدها تركت لتبرد بدرجة حرارة ٥٠-٤٥م، بنفس الوقت تم تعقيم حليب الماعز بالترشيح بأستخدامMillipore filter (0.45µm) ثم أضيف للوسط بتركيز ١٠% و٢٠% و٣٠% .وأيضا تم تحضير أطباق بأضافة المضاد الفطري النستاتين Nystatin للوسط بتركيز ٣٠%. بعدها صب الوسط في أطباق وترك ليتصلب ثم لقح بالعزلات في مركز الطبق .

الفصل الثاني

المواد وطرق العمل

2-المواد وطرق العمل

2-1 المواد

2-1-1 الاجهزة Instruments

استخدمت الاجهزة والمعدات المختبرية الاتية :-

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
١	Incubatr	Gallenkamp	انكليزي
٢	Oven	Elektro:mag4420	تركي
٤	Sensitive balance	Gallenkamp	انكليزي
٥	Hood	Shinsueng	كوري
٦	Autoclave	Gallenkamp	انكليزي

٧	الناقل الزرعي القياسي	John Bolten	انكليزي
٨	اطباق بلاستيكية	Al-Hani	USA

٢-٢- طريقة العمل

٢-٢-١ جمع العينات

في الدراسة الحالية تم جمع ١٥ عينة من مستشفى النسائية والأطفال في الديوانية بواسطة مسحات فموية من الأطفال المصابين بالسلاق الفموي والذين راجعوا المستشفى خلال شهر شباط ٢٠١٧ وكانت أعمارهم تتراوح بين ().

٢-٢-٢ العزل والتشخيص

زرعت العينات على وسط Sabouraud's Dextrose-Agar/ Oxoid أذ خطط بالمسحات القطنية على سطح الوسط الغذائي المجهز مسبقا وحضنت الاطباق عند ٣٧م لمدة ٧ أيام (Atlas,1995) وقد شخص نوع المبيضات البيضاء اعتمادا على مجموعة من المواصفات المظهرية وحسب ما جاء في (Baron *et al*.,1994; Murray *et al*.,1999) .

أ-الفحص المجهري المباشر لعينات الخمائر

يتم فحص المسحة المأخوذة (العينة) تحت المجهر بعد معالجتها بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 10% وتثبيتها على الشريحة. يقوم محلول هيدروكسيد البوتاسيوم بتحليل خلايا الجلد تاركا خلايا المبيضة مما يسمح برؤية الخيطان الكاذبة النامية من خلايا الخميرة بوضوح، وهو

المشهد المميز للمبيضة. وأيضا تم الفحص بالاعتماد على طريقة (Sood, 1994 and Morello 2003., *et al*) عن طريق تصبيغ المسحة بصبغة كرام حيث تصطبغ خلايا الخميرة باللون البنفسجي.

ب-النمو على وسط كروم اكار *Candida* Growth on ChromAg

أجري الفحص بالاعتماد على طريقة (Ellis *et al*., 2007) .عند تنمية انواع المبيضات على الوسط المذكور انفا لمدة ٢٤-٤٨ ساعة بدرجة ٣٧م°، كل نوع له لون خاص به, ان النوع *Candida albicans* تظهر بلون اخضر Green بينما النوع *C.tropicalis* تظهر بلون ازرق Blue والنوع *C.parapsilosis* بلون ارجوانيPurple والنوع *C.krusei* بلون وردي.

الفصل الثالث

النتائج والمناقش

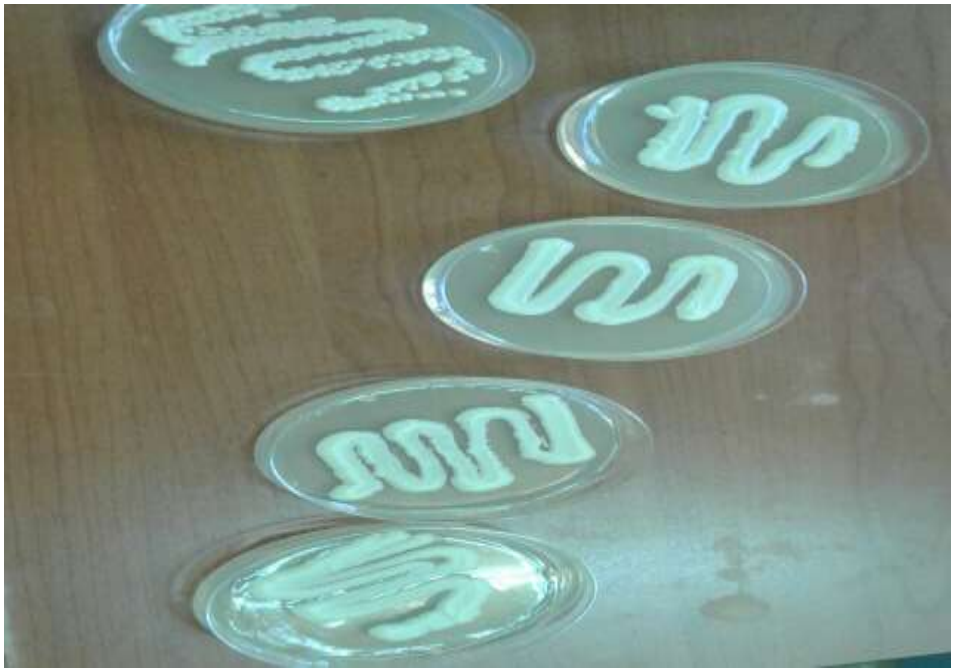
الفصل الثالث

٣-١ النتائج والمناقشة

اثبتت الدراسة الحالية عائدية ال13 عزلة (١٠٠%) الى خمائر المبيضات البيضاء من خلال دراسة الصفات الزرعية والفحوصات الكيموحيوية وكمايلي :-

٣-١-١-الصفات الزرعية Cultural Characteristics

ظهرت المستعمرات النامية على وسط السابروید دكستروز اكار(SDA) بشكل مستعمرات بيضاء الى كريمية اللون, ملساء, وبشكل مستعمرات دائرية (الشكل١-3). وبهذا الصدد يشير Ellis وجماعته (٢٠٠٧) الى ان مستعمرات الـ *Candida* spp. تمتلك مثل هذه الخصائص المظهرية عند زرعها على الوسط المذكور, وتتفق هذه النتيجة مع ما ذكره Singh وجماعته (٢٠١٣) بظهور مستعمرات ذات لون كريمي لماعه, ملساء ودائرية الشكل لتوفر ظروف الزرع الملائمة .



شكل (١-٣) نمو *Candida albicans* على وسط SDA بدرجة حرارة ٣٧م° و لمدة ٧ أيام.

٣-١-٢-الصفات المجهرية Microscopic Characteristics

أعطت الانواع المعزولة نتائج ايجابية التفاعل مع صبغة كرام حيث ظهرت الخلايا بيضوية الى كروية او بيضوية الى متطاولة او اسطوانية الشكل الخميري للفطر.وهذه النتيجة جاءت مطابقة مع Boon وجماعته (٢٠١٣) . وان ظهور خلايا الكانديدا متصبغة باللون البنفسجي نتيجة لاحتفاظ طبقة الـ Peptidoglycan الموجودة في الجدار الخلوي بهذه الصبغة Sudbery *et al.*, (2004) .

٣-١-٣-النمو على وسط كروم اكار كانديدا *Candida* Growth on CHROMagar medium

عند تنمية المبيضات المعزولة على الوسط المذكور انفا لمدة ٢٤-٤٨ ساعة بدرجة ٣٧م°.حيث ظهرت ال *Candida albicans* بلون اخضر Green .اذ تم استخدام هذا الوسط بوصفه وسط تفريقي ذو نتائج دقيقة في تشخيص انواع المبيضات وهذه النتيجة تتفق مع Raut and Varaiya (2009) وكذلك جاءت مطابقة لدراسة Manikandan and Asmath (2013) حول العزل والتشخيص السريع لانواع الكانديدا المعزولة من الفم ,بوصفه واحدا من اهم الاوساط التي استخدمت في مجال تشخيص الفطريات اذ يعتمد في التشخيص عى التلوين في الوسط.

٣-٢-اختبار الحساسية للمضاد الفطري النستاتين

تم اختبار الحساسية الدوائية لجميع عزلات الكانديدا قيد الدراسة باستعمال المضاد الفطري النستاتين Nystatin، وحددت النتائج بقياس قطر منطقة تثبيط النمو Zone of Inhibition بالاعتماد على (prize *et al.*,1990) .إذ أظهرت النتائج ان حساسية العزلات قيد الدراسة أتجاه المضاد المستخدم (١٠٠%) وكما مبين في الشكل (٢-٣) ، حيث يعتبر مضاد النستاتين من اكثر المضادات تأثيرا بظهور منطقة التثبيط (Sheehan *et al.*,1999) .يرجع ذلك الى ان مضاد النستاتين يعمل على تثبيط تصنيع ergosterol المهم في الغشاء الخلوي للخميرة .

شكل (٢-٣) نمو *Candida albicans* على وسط MHAحاوي على النستاتين بدرجة حرارة ٣٧م° و لمدة ٧ أيام.

٣-٣-اختبار التأثير المثبط لحليب الماعز ضد عزلات ال *Candida albicans*

أختبرت الفعالية التثبيطية لحليب الماعز ضد خميرة ال *Candida albicans* مقارنة بفعالية المضاد الفطري Nystatin(شكل ٣-٣) حيث كانت النتائج كما يلي:-

١- ظهور نمو كبير في الوسط الذي يحتوي على تركيز حليب (١٠%) حيث حضر الوسط باظافة ٩٠ مل من Muller Hinton agar مع ١٠مل من حليب الماعز.

٢-ظهور نمو متوسط في الوسط الذي يحتوي على تركيز ٢٠% من حليب الماعز حيث حضر بأضافة ٢٠مل من الحليب مع ٨٠ مل من الوسط.

٣- كان النمو في الوسط ذو التركيز ٣٠% قليل جدا يكاد يقارب فعالية النستاتين حيث حضر باظافة ٣٠مل من الحليب مع ٧٠مل من الوسط.

شكل (٣-٣) نمو *Candida albicans* على وسط MHA حاوي على حليب الماعز بتركيز (١٠%،٢٠%،٣٠%) بدرجة حرارة ٣٧م° و لمدة ٧ أيام.

المصادر References

المصادر العربية Arabic References

الشبلي.ماجد كاظم .٢٠٠٦ تاثير العزلات السريرية لخميرة المبيضات *Candida spp.* دراسة بايلوجية ونسيجية مرضية في محافظة الديوانية .اطروحة الدكتوراه .كلية التربية –جامعة القادسية.

الراوي .خاشع محمود.٢٠٠٠ .مدخل الى الإحصاء الحياتي .الطبعة الأولى جامعة بغداد.

المصادر الأجنبية English References

Al-Obady, M.,A., 2012. Detection of Intgrin-Like protein gene by polymerase chain reaction and it's correlation with phenotypic characteristic of *candida* species. Athesis, college of medicine.university of Al-Qadisiya.

Akortha, E.E.; Nawaugo,V.O.; Chikwe, N.O.,200.Antifungal resistance among candida species from patient with genitourinary tract infection isolated in Benin city, Edo state ,Nigeria. Afri J Micribiol; 3:694-699.

Atlas, R.M.,1995. Principle of Microbiolgy . 1st ed. Mosby year book .Inc. p.888 .

Buckly, H.R.,1989.Identification of yeast in Evans, E.G. & Richard, M .D .Medical Mycology: A practical approach. IRL. Press. Oxford Univ. Prss.

Baker, F.J.,1967. Hanbook of bacteriological technique, 2nd ed. Butterworth and C. Ltd.,London.

Bose, S.; Ghosh, A.K. and Barapatre, R.,2011. The incidence of Candiduria in an ICU – A study. Journal of Clinical and Diagnostic Research. Vol. 5(2):227-230.

Boon, p.h.,Ismail,A., Ong, E. and Sreenivasan, S., 2013. Phynotyping identification of candida albicans for the production of in house

helicase for nucleic acid-based detections for fast diagnosis. 2th ed. Pulau pinang . Malysia .

Chelsea Marie and Theodore C.white.,2010. Genetic Basic of Antifungal Drug Resistance.Curr Fungal Infect Rep.1;3(3):163-169.

Ellis, D.; Stephen, D.; Helen, A.; Rosemary, H. and Roben, B.,2007. Description Of Medical Fungi. Second Edition.

Ellis,D.H. ,1994.Clinical mycology.The human opportunistic. mycoses gillingham. Printters pty.Ltd,Australia.166P.

Fidel PL (2002). "Immunity to Candida". *Oral Dis*. 8: 69–75.

Forbes, B.E.; Sham,D.F. and Wiessfeld, A.S.,2007. Bailey&Escott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier. Taxas , USA. University.

Hussain, R.,A.,2011. Acomparsion of biological and molecular parameters of some candida species sensitive and resistance to some antifungal agents. Athesis. College of science. Kufa university.

Kangogo, M.C.; Wanyoike, M.W.; Revathi, G. and Bii, C.C.,2011. Phenotypic charectarization of candida albicans from clinical sources in Nairobi, Kenya. African Journal of Health Sciences , 19(3_4):21_25.

Lewis, R. E.; Klepser, M. E. & Pfuller, M. A.,2000. Invitro pharmocodynomic characteristics of flucytosine determined by time-kill methods.Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 36:101-105.

Mete E, Çatal, F,Tayman C, Uras N, Akca H, UlukanligilM and Özkarazozi F. 2009. Comparison of human milk, cow’s milk and

infant formulas for their antifungal effects against environmental fungi.*Turk J Med Sci.*, 39 (1): 67-72.

Moosa MY, Sobel JD, Elhalis H, Du W, Akins RA (2004). "Fungicidal activity of fluconazole against Candida albicans in a synthetic vagina-simulative medium"

Myrvik, Q. N. ,1988. Fundamentals of medical Bacteriology and Mycology. 2nd ed. Phildadelphia.

Murray, P. R.; Baron, E. J.; Pfaller, M. A.; Tenover, F. C. & Yolken, R. H.,1999. Manual of clinical Microbiology.7th ed. ASM press. Washington.

Morello, J. A.; Granato, P.A. and Mizer, H. E. ,2003 .Laboratory Manual and Workbook in Microbiology Application to Patient Care 7th Edition . The McGraw – Hill Companies , PP.304.

McGinnis, M. R.,1980.Laboratory hand book of medical Mycology. Academic press. New Yorck.

Nassir, Noor Ismaeel.,2010. Incidence of *C. albicans* isolates from oral and vaginal candidiasis, study of their susceptibility and cross-resistance to some antifungal agents.Thesis. College of Medicine / Al-Qadisiya University .

Prize,C.;Pauli,M.&Bazerque,P.,1990.Anantibiotic assay by the agar-well diffusion Method.J.Actabiologiae .15:113-115.

Panagoda, G.J.; Ellepola, A.V. & Samaronyake, L.P.,2001. Adhesion of *Candida parapsilosis* to Epithelial & a crylic surface correlates with surface hydrophobicity-Mycoses. 44(1-2):29-35.

Pappas PG (2006). "Invasive candidiasis". *Infect. Dis. Clin. North Am*. 20 (3): 485–506.

Paranhos, Y. T. ; Cambel, S. ; Samarany & Bush, F.,2000. Resistant of some antibiotics by some species of yeast exposure for randomized concentrations of drugs . J. Med. Mycol. 38 (10): 449-451.

Rippon, J.W.(1988).Medical Mycology.3rd.W. B. Saunders Co. Philadelphia .U.S.A.

Robert,G.D.,1990.Laboratory method for basic Mycology .In Baily & Scotts: Diagnostic Microbiology (Ed. E.J.Barron & S.M.Finegold).The C.V.Mosby Co.

Rex, J. H. ; Hwalsh, T. J. ; Sobel, S. G. ; filler, P. G. Pappas, W. E. ; Dismukes, T. W. & Edwards, J. E.,2000. Practice guide lines for the treatment of Candidiasis. Clin. Infect. Dis. 30: 662- 678.

Raut, S.H. and Varaiya , A.,2009.Differentiation of *candida dubliniensis* on Chromagar and pal's Agar .Indian Journal of Medical icrobiology, 27(1):55-8.

Sheehan, D. J. ; Hitchock, C. A. & Sibely, C. M.,1999. Current and emerging azole antifungal agent. Clin. Microbiol. 12 : 40 – 79 .

Sibanda,T. and Okoh,A.I.,2007. The Challenges of Overcoming Antibiotic Resistance : Plant Extracts as Potential Sources of Antimicrobial and Resistance Modifying Agents. Afr. J. Biotechnol. 6(25),2886-2896 .

Singh S., Kumar,A. and Kumar, A.,2013. Species identification , antifungal susceptibilty testing and genetic variability among *Candida* species isolated from clinical samples. Journal of drug discovery and therapeutic . 1(3):01-11 .

Sood, R.(1994). Medical Laboratory Technology: methods & interpretation. 4th ed. Jaype Brothers Medical publishers.

Sudbery, P., Gow, N., and Berman, J.,2004. Trend Microbial; 38(6): 869-881.

Seleivra-Gmes, F.;Sarmento, D.N. and Espirito-Santo, E.P.T.,2011.Differentiatin between candida albicans and candida dubliensis using hypertonic sabroud broth and tobacco agar Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 44(4):457-460.

Saroj, G.K., Mallika R.k., Sugatha,K., Vivek, H.,2013.Speciation of *candida* using chromogenic and corn meal agar with determination of fluconazole sensitivity.

Tortora,G.J.;Funke,B.R.&Case,Ch.L.,2002 .Microbiology An Introduction.7th ed., Benjamin Cummings, Sanfrancisco. Boston New york.

Xu M. *et al*.(2016). "Comparison of Growth and Nutritional Status in Infants Receiving Goat Milk–Based Formula and Cow Milk–Based Formula: A Randomized, Double-Blind Study", Food & Nutrition Research, Page 59.