



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

تأثير بعض المضادات الحيوية على نمو بعض الفطريات الانتهازية المعزولة من الجلد في مستشفى عفك العام

بحث مقدم الى
كلية العلوم – قسم علوم الحياة
كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس
علوم – علوم الحياة

من قبل الطالب
مرتضى سعيد راجح

بإشراف الدكتور
علي عبد الهادي ماهود

٢٠١٦ – ٢٠١٧

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

صدق الله العلي العظيم
(الاسراء : ٨٥)

الاهداء

الى من انزل عليه القران وبعث بالقران واوصى بالقران
علينا حتى نلقاه (صلى الله عليه واله وسلم)
الى من ارفدني بالعلم والمعرفة اساتذتي
الى من اضاء لي قناديل الحياة ابي
الى شجرة الحب والظل الوافر ونبع الحنان أمي
الى احبتي واعزائي اخوتي واخواتي
الى من يرجون لي الخير دوماً الاصدقاء الاحبة
اهدي جهدي المتواضع .

الشكر والتقدير

لا يسعني - بعد ان انجزت البحث بعون الله - الا ان اتقدم بالشكر والتقدير

والعرفان الى الدكتور (علي عبد الهادي ماهود)

والسيد رئيس قسم علوم الحياة الدكتور (حبيب وسيل كاظم) ولكل من مد لي يد

العون لأنجاز هذا الجهد المتواضع الذي لا يشكل الا خطوة في الطريق الطويل المنار

بنور مشاعل اساتذتي الاجلاء ...

الا ان اتقدم بجزيل الشكر لأنني لا املك حق الاهداء

فكيف لي ان اهدي شيئاً هوليس لي ؟

كيف لي ان اهدي ثمرة تعب وجهد انسان اخر ؟

انا فقط املك حق الشكر لا اكثر ...

فشكراً على طول بالك ... وعلى صبرك ...

لا املك الا هذه الكلمة التي تحمل الكثير من معاني الامتنان والعرفان

التي تنشي اجلالاً وتقدير على وجه الخصوص استاذي الفاضل

الدكتور (علي عبد الهادي ماهود)

الذي سدد خطواتي لبلوغ ما اردت

تمنياتني بالتوفيق والسداد والتقدم

الخلاصة

تم الحصول في هذه الدراسة على (34) عزله من فطريات غير جلدية (انتهازية) تضمنت : 9 عزلات من الفطر *Aspergillus niger* و 7 عزلات من الفطر *Aspergillus flavus* و 8 عزلات من الفطر *Penicillium notatum* و 3 عزلات *oxysporium* و *Fusarium* و 7 عزلات من الفطر *Rhizopus stolonifer* واختبرت حساسية هذه الفطريات تجاه ثلاث انواع من المضادات الفطرية وهي *Terbinafine* و *Econazol* و *Nystatin* وكانت اكبر مناطق منع النمو قد لوحظت للمضاد *Terbinafine* تجاه الفطر *Aspergillus flavus* وقد بلغت 11.90 ملم ، اما للمضاد *Econazole* فإن اكبر مناطق منع النمو لوحظت تجاه الفطر *Aspergillus niger* اذ بلغت 12.8 ملم بينما ابدت اغلب العزلات مقاومة تجاه المضاد الفطري *Nystatin* ما عدا الفطر *Aspergillus flavus* و الفطر *Rhizopus stolonifer* .

المقدمة

الفطريات لها القدرة على ان تصيب الانسان بأضرار بالغة بحكم ما تنتجه من ايضات ثانوية خلال نموها والتي تتسم بخصائص سميها (Jawetz et al. ، 1998) وتحت الظروف الاعتيادية تكون الفطريات ذات امراضية قليلة وذات قدرة واطئة على غزو جسم الانسان ولكن عندما تضعف الالية المناعية للمضيف اما بسبب المرض او بسبب استعمال الادوية فأن الفطريات سوف تجد الفرصة المناسبة لكي تغزو جسنا الانسان وتسبب له المرض (Johnson et al. ، 1996) وبالرغم من ان هذه الانواع الفطرية الممرضة قليلة الا ان الفطريات الانتهازية Opportunistic fungi اصبحت ذات اهمية متزايدة وخاصة في المرضى ذوي النقص المناعي (Roberts @ Mackenzi ، 1986) وهناك العديد من العوامل التي تعمل على خفض مناعة الجسم وزيادة احتمال حدوث الاصابات الفطرية المختلفة بالفطريات الانتهازية ومن اهم هذه العوامل هي الامراض السرطانية وتسمم الدم وكذلك المعالجة بالأدوية المضادة للأورام والستيرويدات وكذلك الاستخدام غير الدقيق والطويل للمضادات الحياتية وكذلك الامراض المزمنة مثل السكري والايذز والتدرن الرئوي وغيرها .

ونظراً لما تسببه الفطريات الانتهازية من اضرار واصابات بالغة للانسان ومنها اصابتها للجلد فقد هدفت الدراسة ما يلي :

١- عزل وتشخيص الفطريات الانتهازية المعزولة من الجلد في مستشفى عفاك

العام

٢- دراسة تأثير بعض المضادات الحياتية على نمو هذه الفطريات التي تم عزلها وتشخيصها .

طريقة العمل

جمع العينات :

جمعت 50 عينة من المرضى المراجعين الى استشارية الامراض الجلدية في مستشفى عفك العام وذلك بقشط جزء من المنطقة المصابة بعد تعقيمها بكحول الايثانول (٧٠ %) ، تم فحصها تحت المجهر للتمييز فيما اذا كانت العينة موجبة او سالبة ، ثم زرعت العينة على سطح طبق بتري الحاوي على وسط Sabaurouds Dextrose agar (S.D.A) مضافاً اليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بمقدار ٢٥ ملغم / لتر لمنع نمو البكتريا ثم حضنت الاطباق المزروعة بدرجة حرارة ٢٥ م° لمدة تتراوح بين ٣ - ٤ ايام ، ثم قحصت الاطباق بشكل يومي وعند ظهور نمو الفطريات تم عزلها وتنقيتها ثم شخصت اعتماداً على المظهر الخارجي للمستعمرة مثل الشكل واللون وقطر المستعمر وارتفاعها وايضاً اعتماداً على الصفات المجهرية مثل شكل ولون وحجم وتركيب الحوامل والابواغ والتراكيب الاخرى وفق الاسس التصنيفية المعتمدة وبأستخدام المفاتيح التصنيفية الواردة في المصادر التي تناولت تصنيف ودراسة الفطريات للأجناس المدروسة مثل :

(Barnett @ Hunter , 1972 : Domsch et al. , 1980 : Mustafa, 1982)

وبعدها تم حساب النسبة المئوية لظهور الفطريات من خلال المعادلة الاتية :

النسبة المئوية لظهور الفطر = $\frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الفطر}}{100} \times 100$

العدد الكلي للعينات

اختبار الحساسية الدوائية :

تضمن استخدام طريقة الانتشار في الحفر حسب ما ورد في (Gould , 1975) وكما يلي :

إذا تم تحضير عالق ابواغ الفطريات المدروسة من مزارع نقيه عمرها اسبوع واحد وذلك بأضافة ٥ ملم ماء مقطر معقم لكل طبق بعدها فصلت الابواغ بأستخدام ناقل معقم Loop ورشح العالق بأستخدام الشاش المعقم لغرض عزل الخيوط الفطرية وبقايا الوسط الزراعي الغذائي الموجود في العالق جراء عملية فصل الابواغ بعدها تم اجراء سلسلة من التخفيفات على الراشح بأستخدام الماء المقطر المعقم وبعد ان اصبح العالق جاهزاً اخذ 0.2 مل من اللقاح الفطري ووضع على سطح الاطباق ونشرت بشكل متجانس وتركت الاطباق بدون تحريك لكي يتم امتصاص اللقاح من قبل الوسط بعدها عملت 4 حفر بواسطة ثاقب قلبي احدهما مثل السيطرة واضيف في كل حفرة 0.1 مل من محلول المضادات الفطرية المحضرة مسبقاً بتركيز ١٠٠٠ مايكر غرام / مل بأستخدام ماصة دقيقة بواقع ٣ مكررات لكل مضاد فطري وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٥ م° مئوية لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة بعدها حددت فعالية لكل مضاد وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط للنمو (Inhibition zone) حول كل حفرة بأستعمال المسطرة الاعتيادية (معدل ثلاث اقطرا متعامدة) .

التحليل الاحصائي :

اخضعت النتائج للتحليل الاحصائي لتحديد الفروق المعنوية عند مستوى ٥ % وتم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات بواسطة اختبار دنكن متعدد الحدود (الراوي وخلق الله , ٢٠٠٠)

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص :

تم الحصول على 34 عزلة من الفطريات غير الجلدية (الانتهازية) (الجدول 1) تضمنت 9 عزلات من الفطر *Aspergillus niger* 8 عزلات من اصابة اضاقر اصابع اليد وعزله واحدة من اصابة المنطقة خلف صيوان الاذن و7 عزلات من الفطر *Aspergillus flavus* (6 عزلات من اصابة اضاقر اصابع اليد وعزله واحده من اصابة اضاقر اصابع القدم) و 8 عزلات من الفطر *Penicillium notatum* (6 عزلات من اصابة اضاقر اصابع اليد وعزلتين من اصابة الجلد ما بين اصابع القدم) و 3 عزلات من الفطر *Fusarium oxysporium* وعزلتين من اصابة اضاقر اصابع القدم وعزلة من اصابة اضاقر اصابع اليد و 7 عزلات *Rhizopus Stolonifer* و 5 عزلات من اصابة اضاقر اصابع اليد وعزلتين من ما بين اصابع القدم .

الجدول (1)

الفطريات الانتهازية المعزولة من الاصابات الفطرية الجلدية ونسبها المئوية .

الفطريات الانتهازية	عدد العزلات	عدد العينات التي ظهر فيها الفطر	النسبة المئوية للظهور
<i>Aspergillus niger</i>	9	8	16 %
<i>Aspergillus flavus</i>	7	5	10 %
<i>Penicillus notatum</i>	8	6	12 %
<i>Fusarium oxysporium</i>	3	3	6 %
<i>Rhizopus stolonifer</i>	7	5	10 %

تأثير المضادات الفطرية على نمو الفطريات المعزولة :

اختبرت حساسية الفطريات الانتهازية المعزولة بأستخدام طريقة الانتشار في الحفر اتجاه ثلاث انواع من المضادات الحياتية الفطرية وهي : Tevbinafine , Nystatin , Econazole وقد تم تحديد النتائج بقياس مناطق منع النمو Inhibition Zone وكانت اكبر مناطق منع النمو قد لوحظت للمضاد Tevbinafine تجاه الفطر *Aspergillus Flavus* وقد بلغت 11.9 ملم اما بالنسبة للمضاد Econazole فأن اكبر مناطق منع النمو لوحظت تجاه الفطر *Aspergillus niger* اذ بلغت 12.8 ملم بينما أبدت اغلب العزلات مقاومة تجاه المضاد الفطري Nystatin ما عدا الفطر *Aspergillus flavus* والفطر *Rhizopus stolonifer* (الجدول ٢) .

كما بينت النتائج ان اكبر مناطق منع النمو ظهرت عند استخدام Econazole (احد مركبات الازول) وهذا يتفق مع ما توصل اليه Abd – Al hussian (2001) وكذلك يتفق مع (1998) Al – Duboon في ان هذا العقار كان الاكفأ ضد عزلات الاعفان الخيطية .

الجدول (2)

مناطق منع النمو للفطريات الانتهازية نتيجة استخدام ثلاث من المضادات الفطرية
مقاسة بالمليمتر •

Nystatin	Econazole	Terbinafine	الانواع الفطرية
—	12.8 a	10.7 a	Aspergillus niger
8.8 a	9.3 b	11.9 a	Aspergillus flavus
—	—	10.8 a	Penicillus notatum
—	9.6 b	—	Fusarium oxysporium
5.9 b	—	8.7 b	Rhizopus stolonifer

- تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات •
- المعدلات التي تحمل نفس الاحرف لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% •

المصادر

- 1- الراوي ، خاشع محمود خلف الله ، عبد العزيز محمد (٢٠٠٠) تصميم وتحليل -1 التجارب الزراعية . الطبعة الثانية . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل
- 2- Abd –Al hussain , M.M.(2001) . A study opportunistic fungal correlated with otitis media in Qadisiya province .MSc thesis college of Education – University of A- Qadisiya .
- 3- Al- Duboon , A . H . (1998) . Antifungal susceptibility of Fungi causing Otomycsis in Basrah Medic . J . of Basr . University 16:87- 98 .
- 4- Barnett , H.L & Hunter B.B.(1972) . Illustrated genera of imperfect fungi . Burgess publ . Co.,Minnesota .3rd ed .
- 5- Domsch , KH.; Gams , W . & Anderson , T.H.(1980). Compendium of fungi . Academic prees ., London , New York , Toronto , Sydney , San Francisco , Vol . 1 .
- 6-Jawetz E. ; Melnich , J.L & Adelberg' s , E . A . (1998) . Medical Microbiology middle East edition . Libraire du Liban Apple ton & lange 45 : 584-610 .
- 7- Johnson , A.G; Ziegler , R.J; lukase – wacz , o. A& Hawley , L.B.(1996). (Microbiology & immunology . 3rd ed Lippincott Williams & Wilkins a wolters Kluwer company . U . S . A . 5:169 – 182 .
- 8- Mustafa , A.F.(1982) . Taxonomic studies on the fumgi of Kuwait . Aspergilla . J . uni . Kuwait (Sci) ; g : 245 – 260
- 9- Roberts , S.O.B & Mackenzie , D.W.R (1986) . Mycology In : Rook , A.J. Wilknsn , D.S. Ebiling , F.J.G , champion , R.H.& Burton , J . L . (eds) Text book of dermatology . 4 (ed) . London .