جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية / كلية التربية
قسم علوم الحياة

دراسة جزيئية لبعض عوامل الضراوة والحساسية الدوائية لعزلات محلية من فطر *Trichophyton rubrum*

رسالة مقدمة إلى

عمادة كلية التربية / جامعة القادسية

وهي من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الأحياء المجهرية

الطالب

علي محمود محمد المرشدي

إشراف

أ. د. ماجد كاظم عبود الشبلي

1439 هـ

2018 م

قرار لجنة المناقشة

نحنُ أعضاء لجنة المناقشة نشهد بأننا اطّلعنا على الرسالة الموسومة بـ " **دراسة جزيئية لبعض عوامل الضراوة والحساسية الدوائية لعزلات محلية من فطر *Trichophyton rubrum*** " وقد ناقشنا الطالب **علي محمود محمد المرشدي** في محتوياتها ، وفيما له علاقة بها بتاريخ (16 /9 / 2018) ووجدناه مقبول بدرجة (أمتياز) لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة / أحياء مجهرية .

التوقيع

رئيس اللجنة : محسن هاشم رسن

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة النهرين – كلية التقانات الأحيائية

التاريخ : ١ /١٠/2018

التوقيع

عضو اللجنة : علي عبد رحيم الناشئ

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة القادسية – كلية التربية

التاريخ : ١ /١٠/2018

التوقيع

عضو اللجنة : ابتسام ثامر جعاز

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد دكتور

العنوان : جامعة القادسية – كلية التربية

التاريخ : ١ /١٠/ 2018

التوقيع

عضو اللجنة – المشرف: ماجد كاظم الشبلي

المرتبة العلمية : أستاذ

العنوان : جامعة القادسية – كلية التربية

التاريخ : ١ /١٠/2018

مصادقة عمادة كلية التربية – جامعة القادسية

التوقيع

الاسم : خالد جواد العادلي

المرتبة العلمية : أستاذ دكتور

المنصب : عميد كلية التربية

التاريخ : ٣/١٠/ 2018

الخلاصـــــــــــــــــــة

الدراسة الحالية هدفت الى التحرّي عن عوامل الضراوة للفطر*Trichophyton rubrum* جزيئياً إذْ جمعت عينات سريرية للمدة من شهر أيلول 2017 الى كانون الثاني 2018 وبواقع 70 عينة من إحدى العيادات الطبية الخاصّة في مدينة المسيّب محافظة بابل إذْ شملت العينات الجلد ، الشعر، الأظفار للأعمار كافّة ولكلا الجنسين.

جمعت 70عينة من الاصابات الجلدية الفطرية الخيطية من 70 شخص مصاب كان هنالك 50 (71.42%)عينة أعطت نتيجة موجبة للفطريات الجلدية الخيطية ، وكان 25(35.71%) من هذه العينات أظهر تواجد الفطر *T. rubrum* 25 والتي شكّلت نصف الفطريات الجلدية الخيطية توزعت بين الجلد 10 عزلات والشعر 8 عزلات والأظفار7 عزلات.

فحصت العينات مختبرياً بواسطة الفحص المجهري المباشر للتحقق من حدوث الاصابة ، وتم معاينة شكل المستعمرات النامية والكشف عن الخصائص المجهرية وملاحظة أشكال الكونيدات الصغيرة والكبيرة وشكل الهايفات والسبورات تحت المجهر.

تضمّنت الدراسة في أحد جوانبها إجراء الاختبارات الفسلجية وكانت جميع العزلات سالبة لاختبار ثقب الشعرة وبالمقابل فكانت جميع العزلات المدروسة تستطيع النمو على وسط حبوب الرز المطبوخ وقادرة على أنتاج الصبغة على الوسط PDA ، في حين كانت العزلات المدروسة ضعيفة في انتاج الأبواغ الكلاميدية إذ بلغت نسبة العزلات المنتجة 10% ، أمّا قدرة العزلات على انتاج الانزيم المحلل لليوريا فقد كانت 30% منها متغايرة في انتاج الانزيم و70% منها غير منتجة له.

درست بعض عوامل الضراوة للفطر *T. rubrum* جينياً وهي الالتصاق ، الغزو ، إنتاج الانزيمات الحالة للبروتين ، تطور استجابة المضيف وكذلك تمَّ التحرّي عن وجود جينات الضراوة التي تمكن الفطر من اختراق أنسجة العائل وهي leucine aminopeptidase (*LAP*) و (1-7) subtilin family (*SUB*) ، إذْ لوحظ أنه لا توجد فروقات معنوية في نسب عزل الجينات من الفطر *T.rubrum* عند مستوى معنوية 5% حيث سجَّل الجين SUB_4 أعلى نسبة مئوية بمقدار 90% في حين سجَّل الجين SUB_6 أقل نسبة مئوية بمقدار 30%.

تمَّ اختبار تأثير بعض المضادات الحيوية في تثبيط نمو الفطر *T.rubrum* وهي الكلوتريمازول و الكيتوكونازول و الفلوكونازول و النستاتين إذْ سجَّل مضاد الكلوتريمازول أكبر قطر تثبيطي له وهو (37)ملم لكن ظهر عدم وجود تأثير تثبيطي لمضادات الكيتوكونازول و الفلوكونازول و النستاتين وكان أقل فرق معنوي (LSD) هو 6.54 .

كان للمستخلص المائي لبذور نبات *Moringa oleifera* تأثير فعّال في تثبيط نمو الفطر *T.rubrum* وكانت الفعالية تزداد مع زيادة التركيز وبلغت أعلى قيمة لها عند التركيز 100% وكانت في التراكيز (25 ، 50 ، 75)% أيضاً مؤثرة ، لكنها كانت غير مؤثرة في التركيز (1)% ، فقد ظهر أن أقصى قطر تثبيطي للتركيز 100% هو (45) ملم ، في حين سجَّلت التركيز (25 ، 50 ، 75)% أقصى أقطار وهي (4 ، 32 ، 37) ملم على التوالي وكان أقل فرق معنوي (LSD) هو 2.26 .

أظهرت الدراسة الحالية وجود تفوّق لجسيمات الفضة النانوية مقارنة مع المضادات الفطرية في تثبيط نمو الفطر الممرض *T. rubrum* ، وقد كان التركيز المثبط الأدنى عند التركيز MIC50 (mg/ml) هو 2±0.13(mg/ml) وهو أقل من الكريسوفولفين الذي بلغ 5±0.35(mg/ml) والاتراكونازول 12±0.13(mg/ml)

Summary

The current study aimed to molecular investigating the virulence factors of *T.rubrum* . The speciemns were collected for skin, nail and hair for the period from September 2017 to January 2018 .Seventy speciemns from a private clinic in the city of Musayyib in Babil province , speciemns included all ages and both genders.

The number of isolated and the percentage of dermatophytes to other dermatomycosis were different , Of the 70 studied speciemns, 50 were positive for dermatophytes , *Trichophyton rubrum* gave 25 positive speciemns, which formed half of the dermatophytes, Skin gave 10 isolates, hair gave 8 isolates and nails gave 7 isolates.

Specimens were examined by direct microscopic examination to verify the fungal infection and cultured on the Sabouraud dextrose agar(SDA) where the developing colonies were examined for white or granular white fungi , as well as microscopic characteristics such as round small conidia and large conidia with smooth walls and observation the shape of the spiral hyphae and spores under the microscope.

The study included a physiological diagnostic testing such as hair performation, which gave a negative test result, while in urea test results have been negative or variable between isolates while examining growth amid potatoes agar(PDA) results have been positive, while the chlamydospores production rarely in this fungus, gave a positive result when growing on the cooked rice grains media.

In addition to the study of some of the virulence factors of dermatophytes which adhesion , invasion, enzyme production analyst of protein, and development of a host response , the presence of virulence genes that enable the fungi to penetrate host tissues leucine aminopeptidase (*LAP*) and sublitin family (1-7) (*SUB*) was observed . There was no significant difference in gene isolates of *T.rubrum* at a significant level of 5%. .The *SUB*4 gene recorded the highest percentage of 90% while the *SUB*6 gene recorded the lowest percentage by 30%.

The effect some antibiotics in inhibiting the growth of *T.rubrum* such as anti-clotrimazole , ketoconazole , fluconazole and nystatin , where the anti-clotrimazole record the maximum diameter is 37 mm and pointed results to the lack of impact inhibition effect to antibiotics ketoconazole , fluconazole and nystatin , the least significant difference (LSD) was 6.54

The study also examined the effect of the water extract of *Moringa oleifera* seeds in inhibiting the growth of *T.rubrum* . The extract had an effective of 100%

concentration and in the concentrations (25, 50, 75%) and did not give any effect in concentration (1%). The maximum concentration was 100% is 45mm , while the concentration (25, 50, 75%) was the maximum diameter (4, 32, 37mm) respectively and the least significant difference (LSD) was 2.26.

Our current study has shown that nanoparticles are superior to antimicrobial agents. These particles can inhibit metabolic reactions and inhibit the building of some important molecules of life such as enzymes, hormones, fats, sugars, etc., and interfere with the building of DNA molecules compared to fungal antibiotics, The minimum inhibitory concentration at the concentration of MIC50 (mg / ml) was 2 ± 0.13, which was less than 5 ° C and 0.34 ± 0.34, and atraconazole 12 ± 0.13

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
And Scientific Research
Unniversity of Al-Qadisiyah
College of Education
Department of Biology

Molecular study of some virulence factors and antibiotics sensitivity of local isolates of *Trichophyton rubrum*

A Thesis

Submitted to the Deanship College of Education
in partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master
in Biology-Microbiology

By

Ali Mahmood Mohammed Al-Marshedy

Supervision

Asst. Prof. Dr. Majid Kadhim Aboud Alshibly

1439 **2018**