



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

عزل وتشخيص الفطريات من مرضى الأسهال ومقارنة تأثير مسحوق الرمان والبلوط عليها

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم – جامعة القادسية / قسم علوم حياه وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالب

منذر احمد علي الشريفي

بكالوريوس علوم الحياة / كليه العلوم / جامعه القادسيه / 2010

بإشراف

أ.م.د. ولاء ياس لهمود

2024 م

1446 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

المجادلة جزء من الآية 11

الإهداء

إلى سيد المرسلين الرسول الكريم صلى الله عليه وآله وسلم

إلى قائد الغر المحجلين أمير المؤمنين عليه السلام

إلى من تعلمنا منهم الزهد في الدنيا الأئمة الأطهار عليهم السلام

إلى منقذ البشرية.. إلى من سيملاها عدلا وقسطا بعد أن ملأت ظلما وجورا الإمام المهدي المنتظر حجة الله في الأرض عجل الله فرجه الشريف

أهدي عملي إلى عائلتي الذي قدمت لي كل أنواع الدعم والمساندة وبالأخص والدي العزيز

إلى أصدقائي الذين دعموني خلال مسيرتي الدراسية.....

إلى الوطن الذي نبحت عنه ونشتاق أن نراه يوما ما في مصاف الدول المتقدمة..... منذر

شكر وتقدير

الحمد لله حمدا كثيرا لا انقطاع له، الحمد لله الذي نستعين به على قضاء حوائجنا ولما أنعم على من فضل وألهمني من عزم وصبر وبعد ...

تعجز الكلمات عن تقديم شكري وامتناني الى استاذتي الفاضله الدكتور ه ولاء ياس لهمود لاقتراحها موضوع البحث وتقديمها التوجيهات السديدة طيلة مدة البحث ولرعايتها الكريمة لي طيلة مدة الرسالة وارشاداتها القيمة .

شكري وتقديري إلى رئاسة جامعة القادسية وعمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة لإتاحتهم الفرصة لإكمال الدراسة كما أقدم جزيل شكري إلى السيد رئيس وأعضاء لجنة المناقشة المحترمين لتفضلهم بقبول قراءة الرسالة ومناقشتي لمحتواها.

كما أتقدم بجزيل الشكر والامتنان إلى جميع زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا، وكل من ساعدني وقدم لي العون خلال مدة البحث.

منذر

إقرار المشرف

أشهد أنّ رساله الماجستير الموسومة بـ (عزل وتشخيص الفطريات من مرضى
الأسهال ومقارنة تأثير مسحوق الرمان والبلوط عليها) قد اعدّها الطالب (منذر
أحمد علي الشريف) بأشرافي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم
الحياة / احياء مجهرية.

التوقيع

الاسم: أ.م.د. ولاء ياس لهمود

التاريخ: / / 2024

إقرار رئيس قسم علوم الحياة

بناء على التوصيات المتوافرة أرشح هذه الأطروحة للمناقشة

التوقيع

الاسم: أ.د. ليث سريع مطر

التاريخ: / / 2024

الخلاصه

تضمنت هذه الدراسة جمع عينات البراز في حاويات معقمه من المرضى المصابين بالأسهال من مستشفى الهاشميه العام في محافظه بابل وبواقع 120 عينه وتم ذلك من شهر تشرين الاول 2023 لغايه شهر شباط من سنه 2024 . توزعت العينات كالتالي ، 30 عينه للاطفال بعمر اقل من عشر سنوات و 35 عينه للشباب اكبر من عمر عشر سنوات و 55 عينه لكبار سنوات .

اظهرت النتائج وجود العديد من الفطريات وبعدد عزلات ونسب تردد مختلفه اذ اظهر الفطر *Aspergillus flavus* بعدد 370 عزله ونسبه تردد 22.51 % بالنسبه لجميع الفطريات . وفطر *Candida tropicalis* بعدد 265 عزله ونسبه تردد 16.12 % والفطر *Geotricum candidum* بعدد 211 عزله ونسبه تردد 12.84 % والفطر *Aspergillus fumigatus* بعدد 168 عزله ونسبه تردد 10.22 % والفطر *Aspergillus holmii* بعدد 149 ونسبه تردد 9.06 % والفطر *Aspergillus versicolor* بعدد 111 عزله ونسبه تردد 6.75 % والفطر *Cladosporium wernikii* بعدد 53 عزله ونسبه تردد 3.22 % والفطر *Candida alpican* بعدد 48 عزله ونسبه تردد 2.92 % والفطر *Aspergillus sydii* بعدد 35 عزله ونسبه تردد 2.13 % والفطر *Rhizopus oryzae* بعدد 24 عزله ونسبه تردد 1.46 % والفطر *Aspergillus ochraceus* بعدد 26 عزله ونسبه تردد 1.58 % والفطر *Aspergillus niger* بعدد 183 عزله ونسبه تردد 11.13 % .

تم عزل وتشخيص ثلاثه انواع فطريه هي الاكثر ترددا ، وهي *Candida tropicalis* و *Aspergillus flavus* و *Geotrichum candidum*، من مرضى الاسهال مما يشير الى مساهمتها المحتمله في حالات الاسهال تم استخدام تقنيه تسلسل الحمض للتأكد النووي هوية الفطر *candida tropicalis* مستخدمين الجين ITS1 RNA وبجسم 500 pb وبرقم تسلسلي PP724388.1 والفطر *Aspergillus flavus* مستخدمين نفس الجين وبجسم 600 pb برقم تسلسلي PP724390.1 والفطر *Geotricum candidum* بأستخدام الجين نفسه وبجسم 400 pb وبرقم تسلسلي (PQ056822.1) مما يوفر رؤى حول تنوعها الجيني وإمكانية إحداثها للأمراض.

تضمنت هذه الدراسة اختبار الامراضيه للفطريات المشخصه جينيا حيث تم اختبار افرازها للانزيمات ، واطهرت النتائج ان انزيم البروتيز يفرز بنسبه كبيره (++++) في فطر *Geotricum*

candidum وانزيم الفوسفولايبيز يفرز بنسبه كبيره(++++) في الفطر *Candida atropicalis* وانزيم الالايبيز يفرز بنسبه كبيره(++++) في كلا الفطرين *Candida* , *Geotricun candidum* .
atropicalis

تم اختبار تركيزات مختلفة من الأدوية المضادة للفطريات، بما في ذلك Nystatine، Fluconazole ، Flagyl ، Tinidazol ، Probiotic bacteria ، لمعرفة فعاليتها ضد الفطريات المعزولة. وأشارت النتائج إلى أن تينيدازول أظهر النشاط المضاد للفطريات الأكثر فعالية، مما يشير إلى إمكاناته في علاج الالتهابات الفطرية.

بالنسبة للمساحيق الطبيعية، ثمار البلوط: أظهرت نشاطاً مضاداً للفطريات بشكل ملحوظ ضد جميع الأنواع الثلاثة من الفطريات، مع معدلات تثبيط تتراوح من 39.3% إلى 67.8%، قشر الرمان: أظهر نشاطاً مضاداً للفطريات بشكل ملحوظ، مع معدلات تثبيط تتراوح من 50% إلى 59.2%،

وجد ان جميع التراكيز المستخدمة للمضادات الفطرية Flagyl ، Nystatine ، Fluconazole Probiotic bacteria، Tinidazol والمساحيق الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) لها تأثير مثبط معنوي لنمو الفطريات المختبرة على الوسط الغذائي SDA وهذه الفطريات *Geotricum candidum* ، *Candida flavus* ، *Aspergillus atropicalis* . ووجد انه بزيادة تركيز المضاد الفطري او المنتجات الطبيعية يزداد نسبة تثبيط الفطريات المختبرة، النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات المختبرة بلغت 88.12%، 84.75%، 80.75% على التوالي لمضاد

Nystatine عند التركيز 3 غم / ملتر. ومضاد Fluconazole بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره عند التركيز 3 ملغم / ملتر هي 81.87% ، 25.78% ، 88.62% على التوالي. اما المضاد الفطري Flagyl قد بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره عند التركيز 3 ملغم / ملتر هي 72.5% ، 92% ، 87.62% على التوالي . والمضاد الفطري Tinidazol بلغت النسبه المئوية لتثبيط الفطريات عند التركيز 30 ملغم / ملتر هي 88.87% ، 64.12% ، 90.62% على التوالي. اما بالنسبه للبكتريا النافعه Probiotic bacteria قد بلغت النسبه المئوية لتثبيط الفطريات عند التركيز 3 ملغم /ملتر هي 36% ، 67.75% ، 83.87% على التوالي. حيث بلغت النسبه المئوية لتثبيط الفطريات المختبره *Geotricum candidum* ، *Aspergillus atropicalis* ، *Candida flavus* لكل من المستخلصات الطبيعيه (ثمار البلوط) وهي 77% ، 63% ، 82% على التوالي.

وقشور الرمان بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره هي 71.37 % ، 71.87 % ، 78.12 % على التوالي عند التركيز 3 ملغم / ملتر .

واضهرت النتائج وجود فروق معنويه في نسبه تثبيط معدل الوزن الجاف للفطريات المختبره *Geotricum candidum* ، *Aspergillus atropicalis* ، *Candida tropicali* عند تركيز 3 ملغم / ملتر هو المضاد الفطري Nystatine حيث بلغت نسبه التثبيط 91.66 % ، 91.5 % ، 92.5 % للفطريات المختبره على التوالي ومضاد Fluconazole بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره هي 85 % ، 81 % ، 81.1 % على التوالي التوالي ومضاد Flagyl بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره هي 83.17 % ، 79.3 % ، 78.6 % على التوالي ومضاد Tinidazol بلغت نسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره هي 79.68 % ، 76.20 % ، 80 % على التوالي و probiotic bacteria بلغت النسبته المئوية لتثبيط الفطريات المختبره هي 72.23 % ، 71.3 % ، 77.23 % على التوالي ، بالنسبة للمستخلصات الطبيعىة، ثمار البلوط: أظهرت نشاطاً مضاداً للفطريات بشكل ملحوظ ضد جميع الأنواع الثلاثة من الفطريات 60.5 % ، 46.1 % ، 66 % على التوالي وقشور الرمان 58.19 % ، 39.6 % ، 75.4 % على التوالي عند التركيز 3 ملغم / ملتر . نستنتج من خلال دراستنا ان المضادات الفطريه والمستخلصات الطبيعىه لقشور الرمان والبلوط لها فعاليه ضد العدوى الفطريه وخصوصا لدا الافراد الذين يعانون من ضعف في الجهاز المناعي .

المحتويات

المحتويات

ت	الموضوع	ص
	الخلاصة	أ-ج
	قائمة المحتويات	د
	قائمة الجداول	ز
	قائمة الاشكال	ط
	قائمة المختصرات	ك
	الفصل الأول: المقدمة	
	الفصل الثاني: استعراض المراجع	
1-2	الأسهال ومسبباته Diarrhea and its causes	3
2-2	فطريات الجهاز الهضمي Fungi of the Digestive System	4
1-2-2	فطر Geotrichum candidum	5
2-2-2	فطر Aspergillus flavus	6
3-2-2	فطر Candida tropicalis	8
3-2	الأهمية الوبائية لعزل الفطريات من مرضى الإسهال	9
4-2	استخدام المركبات الطبيعية في علاج الفطريات	10
1-4-2	قشور الرمان	10
2-4-2	ثمار البلوط	11
5-2	عوامل ضراوه الفطريات virulence factor of fungi	12
1-5-2	الأنزيمات المحللة للبروتين protease	12
2-5-2	الانزيمات المحللة للدهون lipases	14
3-5-2	انزيم الفوسفولايبيز phospholipases	14

المحتويات

الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		
16	المواد وطرائق العمل	3
16	الأجهزة والمواد المستخدمة Apparatus & Materials	1-3
16	طرائق العمل material & methods	2-3
20	الايوساط الزراعيه culture media	2-3
21	عزل الفطريات المرافقه للبراز Isolation Of Fungi Associated With Feces	3-3
21	تشخيص الفطريات المعزوله Diagnosis of Isolated fungi	4-3
22	التشخيص الجزيئي للفطريات المعزوله Molecular Diagnosis Of Isolated Fungi	5-3
22	Primers البادئات	1-5-3
22	كت الكشف PCR	2-5-3
24	استخراج الحمض النووي الفطري	3-5-3
24	تقدير مجموع الحمض النووي المستخرج	4-5-3
25	تحضير المزيج الرئيسي PCR	5-5-3
25	شروط التدوير الحراري PCR	6-5-3
26	تحليل منتج PCR	7-5-3
26	طريقه تسلسل الحامض النووي	8-5-3
27	احتبار امراضيه الفطريات في المختبر من خلال انتاج انزيم اللايباز والفوسفولايبيز والبروتيز	6-3
21	وسط اكار الحليب خالي الدسم Skimmed Milk Agar	1-6-3
21	وسط الببتون_ توين 80 pepton_ tween 80	2-6-3
22	وسط مح البيض الصلب Egg Yolk Agar Medium	3-6-3
27	تأثير تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه والبكتريا النافعه في النمو الشعاعي للفطريات	7-3
28	تأثير المساحيق الطبيعيه (ثمار البلوط وقشور الرمان) ذات التراكيز المختلفه على	8-3

المحتويات

	النمو الشعاعي للفطريات	
28	تأثير المضادات الفطرية و probiotic bacteria و المستخلصات الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات	9-3
29	التحليل احصائي	10-3
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة		
30	عزل وتشخيص الفطريات	1-4
36	استخلاص الحامض النووي والتشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة DNA extraction and molecular identification of isolated fungi	2-4
40	الكشف عن عوامل ضراره الفطريات (افراز الانزيمات) (detection of fungal virulence factore (enzyme secretion	3-4
42	تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في تثبيط النمو الشعاع الفطريات المعزولة	4-4
46	تأثير مساحيق (ثمار البلوط وقشور الرمان) في تثبيط النمو الشعاعي للفطريات	5-4
48	تأثير تراكيز مختلفه من المضادات الفطرية و Probiotic bacteria على الوزن الجاف للفطريات	6-4
53	تأثير تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات	7-4
الاستنتاجات والتوصيات		
56	الاستنتاجات	
57	التوصيات	
المصادر		
58-72	المصادر الأجنبية	
I-VI	الخلاصة باللغة الإنكليزية	

قائمة الجداول

ت	العنوان	ص
1-3	الاجهزه والمواد المستخدمه Apparatus & Materials	16
2-3	المواد الكيميائيه والحياتيه Chemical And Biological Material	17
3-3	الادوات	18
4-3	الايوساط الغذائيه Nutritional Media	18
5-3	بادئات PCR مع تسلسل النيوكليوتيدات وحجم المنتج.	19
6-3	PCR ككت الكشف عن pcr المستخدمه في هذه الدراسة مع شركاتها ودول المنشأ:	19
7-3	بروتوكول المزيج الرئيسي القياسي PCR:	22
8-3	لظروف التدوير الحراري لل PCR	24
1-4	الانواع الفطريه وعدد المستعمرات المعزوله من التاشخاص المصابين بالاسهال من مستشفى الهاشميه العام محافظه بابل	31
2-4	التشخيص الجزيئي للفطريات المعزوله	40
3-4	نتائج عوامل ضراوه الفطريات (تكوين الانزيمات)	42
4-4	تأثير تراكيز مختلفه للمضاد الفطري في تثبيط نمو الفطر <i>Geotricum candidum</i>	43
5-4	تأثير تراكيز مختلفه للمضاد الفطري في تثبيط نمو الفطر <i>Aspergellus flavus</i>	44
6-4	تأثير تراكيز مختلفه للمضاد الفطري في تثبيط نمو الفطر <i>Candida tropicalis</i>	45
7-4	تأثير تركيز 30 % للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر <i>Geotricum candidum</i>	46
8-4	تأثير تركيز 30 % للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر <i>Aspergellus flavus</i>	47
9-4	تأثير تركيز 30 % للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر <i>Candida tropicali</i>	47

المحتويات

49	تأثير تراكيز مختلفه للمضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>Geotricum candidum</i>	10-4
50	تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>Aspergellus flavus</i>	11-4
51	تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>candida atropicalis</i>	12-4
52	تأثير تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعيه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>Geotricum candidum</i>	13-4
53	تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعيه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>Aspergellus flavus</i>	14-4
53	تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعيه على معدل الوزن الجاف لفطر <i>candida atropicalis</i>	15-4
54	يمثل هذا الجدول تأثير المضادات الفطريه و البكتريا النافعه والمستخلصات الطبيعيه (ثمار البلوط وقشور الرمان) على النمو الشعاعي للفطريات <i>Candida</i> . tropicalis , Geotrichum candidum , Aspergellus flavus	16-4
55	(يمثل هذا الجدول تأثير المضادات الفطريه و البكتريا النافعه والمستخلصات الطبيعيه (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات <i>Candida</i> . tropicalis , Geotrichum candidum , Aspergellus flavus	17-4

المحتويات

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الفقرة
32	فطر <i>Aspergellus flavus</i>	1-4
32	فطر <i>Aspergillus niger</i>	2-4
33	الفطر <i>Aspergellus fumigatus</i>	3-4
33	الفطر <i>Aspergillus versicolor</i>	4-4
34	فطر <i>Aspergillus sydii</i>	5-4
34	فطر <i>Cladosporium ochraceus</i>	6-4
36	صورة الترحيل الكهربائي بهلام الاغاروز التي أظهرت تحليل منتج PCR لجين الريبوسوم (RNA ITS1) في عزلات أنواع الفطريات	7-4
37	تحليل محاذاة التسلسل المتعدد لجين الرنا الريبوسومي المبادئ الداخلي المنقول في عزلات الفطريات المحلية غير المعروفة والعزلات ذات الصلة بالفطريات NCBI-Genbank	8-4
38	تحليل شجرة النشوء والتطور	9-4

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Base pair
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institutes
DNA	Deoxy ribonucleic acid
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
Mμ	Milli micron
MR–VP	Methyl Red –Voges Prosquer
NCBI	National Community Biological Information
PCR	Polymerase Chain Reaction
SEM	Scanning Electron Microscop
TBE buffer	Tris–Borate EDTA buffer
TE buffer	Tris EDTA buffer
U. V	Ultra Violet
IBD	Inflammatory Bowel Disease
PUD	Peptic Ulcer Disease
NSAIDs	Nonsteroidal Anti–inflammatory Drugs
GBD	Guillain–Barré disease
IBD	Inflammatory Bowel Disease
GERD	Gastroesophageal Reflux Disease
PUD	Peptic Ulcer Disease
IBD	disaes Inflammatory Bowel
PoP	Pomegranate peels
IBS	irritable bowel syndrome

المحتويات

ROS	Reactive oxygen species
Rapd pcr	rapd _ Polymerase Chain Reaction
– ITS1 gene	(internal transcribed spacer one)
UPGMA,	Unweighted Pair Group Method with Averages
RT	Reverse Transcriptase

الفصل الأول / المقدمة
Introduction

المقدمة Introduction

الفطريات هي كائنات حية وتكون اما احاديه الخليه او متعدده. الفطريات كائنات دقيقه لاتحتوي على Chlorophyll أي لا تنتج غذاءها بنفسها بل تعتمد على التطفل والترمم؛ حيث تتكون بعض أنواعها من خلية واحدة، وبعضها الآخر متعدّد الخلايا وأحيانا تكون غزل فطري، وقد تحتوي جُدر خلاياها على مادة الكيتين أو مادة السليلوز، وتتكاثر جنسياً ولا جنسيا تنمو الفطريات بشكل أفضل في البيئات الرطبة. و أن 5.6 هو PH المثالي لنمو الفطريات، إلا أن العديد منها يمكن أن تتحمل مستويات PH بين 2 و 9 (Naranjo-Ortiz and Gabaldón 2019)

يُعتبر الأسهال من أحد الأمراض المنتشرة و يتسبب الأسهال نتيجة العدوى البكتيرية أو الفيروسية أو الفطرية (Lozano et al., 2023) تعتبر فطريات الأمعاء من الأسباب المهمة للأمراض الجهازية وخاصة الأمراض التي تتسبب في الإسهال. (Banerjee et al., 2013)،

يعد عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض الإسهال أمراً مهما لفهم آلية الإصابة وتطور المرض. إذ تساهم هذه العملية في توفير معلومات هامة عن نوع الفطريات المسببة للأمراض وتحديد التدابير المناسبة للسيطرة عليها. بالإضافة إلى ذلك، يساعد تشخيص الفطريات في تحديد العلاج الأكثر فعالية وتجنب استخدام المضادات الحيوية بشكل زائد، مما يحد من المقاومة الفطرية. لذلك، تعتبر عملية عزل وتشخيص الفطريات خطوة أساسية في ضمان تقديم الرعاية الصحية الفعالة للمرضى المصابين بمرض الأسهال الفطري (Lozano et al., 2023).

تعد المواد العلاجية أحد الاساليب المستخدمة في السيطرة على الفطريات التي تسبب الأسهال إذ يتم استخدام مجموعة متنوعة من المواد العلاجية للقضاء على هذه الفطريات، وتشمل ذلك المواد الكيميائية والأدوية المضادة للفطريات و يجب أن تكون هذه المواد فعالة في قتل الفطريات وقمع نموها بشكل فعال، وفي الوقت نفسه يجب أن تكون آمنة للاستخدام على البشر ومن المهم أيضاً تقييم فعالية المواد العلاجية باستخدام التحاليل المختبرية لضمان مدى تأثيرها على الفطريات المسببة لمرض الأسهال (Nabila & Putra, 2020).

و تشمل المواد الطبيعية المستخدمة في مكافحه الفطريات مثل الزيوت العطرية، مثل زيت النعناع وزيت اللافندر وزيت القرنفل. كما تُستخدم مستخلصات النباتات مثل مستخلص الثوم ومستخلص الزنجبيل في مكافحة الفطريات ، تعمل هذه المواد الطبيعية على قتل أو منع نمو الفطريات المسببة للأمراض عن طريق

آليات مختلفة، مثل تثبيط نمو الخلايا الفطرية، تعطيل الأيض الفطري، تثبيط الإنزيمات الفطرية الحيوية، وتدمير جدران الخلايا (Makhuvele *et al.*, 2020)

تعمل المواد الطبيعية على مكافحة الفطريات من خلال آليات متعددة ومتنوعة. تثبط بعض المواد الطبيعية نمو الخلايا الفطرية وتمنع انقسامها وتكاثرها، في حين تعمل آليات أخرى على تعطيل الأيض الفطري ومنع الخلايا الفطرية من توليد مواد حيوية أساسية لنموها وبقائها على قيد الحياة. بعض المواد الطبيعية أيضًا تستهدف وتثبط الإنزيمات الفطرية الحيوية المهمة لوظائف الفطريات، مما يضعف القدرة الحيوية للفطريات. وتقوم هذه الآليات العملية التي تتبعها المواد الطبيعية على تأثير الفطريات وتقليل تأثيرها على جسم المضيف البشري (Parveen *et al.*, 2014).

تعرف المضادات الفطرية على أنها مركبات كيميائية تستخدم للحد من نمو وتكاثر الفطريات أو للتخلص منها تمامًا. يمكن تقسيم المضادات الفطرية إلى عدة فئات بناءً على طريقة عملها وآلية تأثيرها مثل المضادات الفطرية المتخلبة للغشاء والتي تعمل عن طريق إعاقة نشاط الأنزيمات أو تخريب البنية الخلوية للفطريات، والمضادات الفطرية المثبطة للبناء الخلوي والتي تعمل عن طريق التداخل في عمليات بناء الجدران الخلوية للفطريات. تعد المضادات الفطرية أداة هامة في مجال السيطرة على الأمراض الفطرية (Wiederhold, 2021).

مباحث الدراسة The Study objectives

- 1-دراسة اهم الفطريات المسببة للأسهال .
- 2-تقييم فعالية المواد العلاجية الطبيعية في القضاء على الفطريات أو تقليل تأثيرها.
- 3-دراسة الفطريات وتأثير المواد العلاجية لمكافحة الإسهال الفطري وتحسين الرعاية الصحية المتنقلة للمرضى المصابين بمرض الأسهال وتشخيصها جزيئيا.
- 4-أختبار التأثير التثبيطي للمضادات الفطرية وثمار البلوط ومسحوق قشور الرمان على النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطريات المشخصه جزيئيا .
- 5-أختبار فعاليته كل من المضادات الفطرية والمواد العلاجية على النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطريات .

الفصل الثاني / استعراض المراجع
Literature Review

1-2 الأسهال ومسبباته Diarrhea and its causes

الإسهال Diarrhea يُعرّف بأنه التطور السريع لتفريغ الأمعاء من أغلب محتوياتها بصورة متكررة خلال اليوم الواحد والذي يكون ذات طابع سائل إلى حد ما، وهو مشتق من الكلمتين اليونانيتين "DIA" و"RHEIN" بمعنى التدفق السريع، هو النوع الأكثر انتشارًا من عدوى الجهاز الهضمي. ويمكن وصفه أيضًا بأنه زيادة في حركات الأمعاء. وقد اكتُشف أن أغلب حالات الإسهال تتسبب نتيجة إصابته الأمعاء الدقيقة small intestine والتي تعتبر أهم جزء في الأمعاء لأمتصاص المعادن المختلفة والبروتينات والفيتامينات والسوائل الأخرى (Gomaa,2020)

الميكروبيوم المعوي هو مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة الطبيعية (مثل البكتيريا والفيروسات والفطريات) التي تتعايش في الجهاز الهضمي للمضيف وقد ارتبط ظهور عدوى الإسهال diarrhea بسبب اختلال في ميكروبات الأمعاء، وخاصة تلك التي تتسبب نتيجة للتناول المفرط للمضادات الحيوية (Theriot *et al.*, 2014).

الميكروبات الطبيعية مثل (الفطريات، الفايروسات والبكتيريا) تمنع أغلب الحالات المرضية من خلال بعض الآليات مثل تثبيط مسببات الأمراض بصورة مباشرة، واستنزاف العناصر الغذائية المطلوبة لأغلب المسببات المرضية، وتدعيم الجهاز المناعي للشخص السليم (González-Rodríguez et al 2022).

توجد ثلاث متلازمات رئيسية بالأصابات المعوية وهي الإسهال المائي (غزو مجرى الدم من الأمعاء)، والإسهال الدموي (نوع من العدوى المعدية المعوية في الأمعاء الغليظة يتمثل في صغر حجم البراز مع المخاط والدم)، والحمى المعوية أو التهاب المعدة والأمعاء، والذي يظهر عندما تحدث عندما تكون الإصابة في الأمعاء الدقيقة. وكذلك تم تصنيف الإسهال وفقًا لعدده عوامل مثل شدة الإصابة severity of injury والفترة الزمنية الذي تعرض لها الشخص المصاب بالإضافة إلى خصائص الإسهال أن كان إسهال مائي أو إسهال دموي أو إسهال مائي دموي في نفس ذاته (Dennehy,2019).

تنتقل غالبية حالات الإسهال المعدي عبر التلوث الفموي بالبراز، والذي ينتشر أيضًا من شخص لآخر وتعتبر الأغذية والمياه الملوثة من الناقلات الرئيسية للإسهال المعدي و أحيانا لا يتطور كل مرض بعد الإصابة بالعدوى ولكن تتطور بعض الأمراض بعد استهلاك السموم التي تنتجها المسببات وقد تم

اكتشاف أن أعراض التسمم تظهر بعد 1 إلى 8 ساعات من تناول السم، أعراض العدوى المعوية عادة ما تظهر بشكل ملحوظ في وقت لاحق (24-72 ساعة). العديد من هذه الحالات تشفى من تلقاء نفسها، مما يعني أنها لا تحتاج إلى علاج؛ ولكن، في حالات أخرى وفي حالات محددة، يمكن أن تنتشر العدوى إلى أجزاء مختلفة من الجسم وتتطلب رعاية طبية لتجنب المشاكل (على سبيل المثال، تجرثم الدم). ترتبط العملية المسببة للإسهال بالعديد من الاصابات البكتيرية والفايروسية والطفيلية والفطرية (Roman, and Broadhurst,2017)

2-2 فطريات الجهاز الهضمي the Digestive System.s fungi

الفطريات الموجودة في الجهاز الهضمي تأتي بشكل رئيسي من التعرض البيئي أو من خلال تناول الطعام. الفطريات هي كائنات متغايرة التغذية وتحصل على الكربون والطاقة من المركبات العضوية، مما يميزها عن البكتيريا التي لديها مجموعة أكثر تنوعاً من الأنشطة الأيضية ويمكن أن يكون لها أيضاً تأثير مباشر أكثر على المضيف. إن استخدام أساليب جزيئية معينة وظروف زراعة معينة هو أحد الطرق التي تتفاعل بها وظائف الميكروبيوم (مجموعه من البكتيريا والفايروسات وحقيقيات النوى) مع المضيف والكائنات الحية الدقيقة. يمكن أن تؤثر البروبيوتيك والأدوية المضادة للفطريات على الميكوبيوم (Shankar, 2021).

إن الميكروبيوم الموجود في الجهاز الهضمي البشري عبارة عن مجتمع متنوع من البكتيريا والفيروسات وحقيقيات النوى التي تشكل نظاماً بيئياً معقداً. (Hillman and Nakatsu, 2017) تتكون الكائنات الحية الدقيقة في الأمعاء البشرية في المقام الأول من حقيقيات النوى، المعروفة باسم الفطريات أو المجتمع الفطري. تم ربط هذه المجموعة بمجموعة متنوعة من الأمراض، بما في ذلك التهاب الكبد وأمراض الأمعاء الالتهابية والفطار الجهازى (Gouba & Drancourt 2015) في الأشخاص الذين يتمتعون بجهاز هضمي سليم، تشير الدراسات على أنهم لديهم عدة أنواع من candida species تسمى في الخمائر المتعايشه commensal yeasts تكون لهذه الفطريات دور في تحفيز الجهاز المناعي immune system ضد مسببات المرضية (Pérez, 2021).

1-2-2 فطر *Geotrichum candidum*

Geotrichum candidum هو فطر ينتمي إلى جنس الفطريات *Geotrichum*. ويوجد عادة في مصادر بيئية مختلفة، مثل التربة والنباتات والغذاء. وقد تمت دراسة هذا الفطر على نطاق واسع نظرا لأهميته في مجالات مختلفة، بما في ذلك صناعة الأغذية والطب وعلوم البيئة. في صناعة المواد الغذائية، يُعرف *Geotrichum candidum* بدوره في إنضاج وتطوير نكهة بعض أنواع الجبن، مثل جبن الكممبير والجبن البري. علاوة على ذلك، تمت دراسة المبيضات *Geotrichum* لاستخدامها المحتمل في تطبيقات التكنولوجيا الحيوية، مثل إنتاج الإنزيمات والمركبات النشطة بيولوجيا. في المجال الطبي، ارتبط *Geotrichum candidum* بحالات عدوى مختلفة لدى المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة، بما في ذلك التهابات الجهاز التنفسي والتهابات الجهاز الهضمي. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد المبيضات *Geotrichum* كعامل مسبب لمرض فطار الأظافر، وهو عدوى فطرية في الأظافر (Kamilari, 2021).

classification outline of anisworth,s (1971)

Domain: Eukaryota

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Saccharomycetes

Order: Saccharomycetales

Family: Dipodascaceae

Sp- *Geotrichum*

G. candidum sp

وان العديد من البيئات مثل التربة والمياه والهواء والنباتات ومنتجات الألبان، مناسبة لتواجد *Geotrichum candidum* الذي يمكنه تحمل الحموضة أيضا. وهو جزء من ميكروبات الجلد والقصبه الهوائية والجهاز الهضمي لدى البشر (Šipošová et al.,2021).

يعتمد عدد من عمليات التكنولوجيا الحيوية، مثل صناعة النبيذ، والتخمير، وتخليق الإنزيمات، والأحماض العضوية، والكحوليات، والمضادات الحيوية، والأدوية، على *Geotrichum candidum*. (Kamilari et al., 2023).

تم إعطاء *G. candidum* للأسماك كمكمل غذائي بروبوتيك، مما أدى إلى تحسين معاييرها النمو والمناعة كما أنه ينتج العديد من الإنزيمات المهمة من الناحية التكنولوجية الحيوية، مثل إنزيمات السليولاز، وبيتا جلوكاناز، وزيلاناز، وليباز، وبروتياز، وأملاز ألفا، بواسطة سلالات من هذا النوع، كما تم العثور على سلالات لها القدرة على إجراء المعالجة الحيوية وإنشاء مواد كيميائية مضادة للبكتيريا (Velázquez-De 2021).

اثبت أن *G. candidum* يصيب البشر بين عامي 1842 و 2006 تم الإبلاغ عن أقل من 100 حالة ترتبط بالمرضى الذين يعانون من نقص المناعة وقلة العدلات، والمرضى الذين يتلقون العلاج الكيميائي السام للخلايا أو الأورام الدموية الخبيثة. (Román-Montes, 2024)

2-2-2 فطر *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus هو فطر خيطي ينتمي إلى جنس *Aspergillus*. يوجد عادة في التربة والنباتات المتحللة والمحاصيل مثل الذرة والبقول السوداني وجوز الأشجار. وقد تم تحديد هذه الفطريات على أنها خطر محتمل على الجهاز التنفسي للأفراد الذين يتعرضون لها باستمرار، حتى في الأفراد ذوي الكفاءة المناعية يسبب هذا النوع داء الرشاشيات الغازي، فطار الأذن، الورم الحبيبي في الدماغ، فطار الأظافر، التهاب الحويصلات الهوائية التحسسي، والتسمم الفطري (Egbuta et al., 2017).

ينتج هذا الفطر مركبًا سامًا ومسرطنًا يسمى الأفلاتوكسين وهو مادة سامة يمكن أن تلوث الأغذية ومحاصيل الأعلاف، مما يشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان والحيوان بما في ذلك تلف الكبد، وتنشيط المناعة، وزيادة خطر الإصابة بأنواع معينة من السرطان بالإضافة إلى المخاطر الصحية المرتبطة بالرشاشيات الصفراء (Kumar et al., 2021).

classification outline of anisworth,s (1971)

Domain: Eukaryota

Kingdom: Fungi

استعراض المراجع Literature Review

Division: Ascomycota

Class: Eurotiomycetes

Order: Eurotiales

Family: Aspergillaceae

Genus: Aspergillus

Species: A. flavus

Aspergillus flavus وجد انها لها القدره على تطوير مقاومتها للأدوية المضادة للفطريات مثل الأزولات، مما يؤثر سلبا على علاج الالتهابات التي تسببها هذه الفطريات. وقد تم ربط اكتساب مقاومة الأزول في *Aspergillus flavus* باستخدام مبيدات الفطريات في الزراعة. تحتوي مبيدات الفطريات هذه على مركبات الأزول، والتي قد تختار عن غير قصد سلالات مقاومة من فطر *Aspergillus flavus* في البيئة (Egbuta et al., 2017).

تسبب سلالات *A. flavus* المنتجة للأفلاتوكسين السرطان في حيوانات المختبر عن طريق إنتاج سموم مسرطنة تسبب سرطان الكبد . تؤثر الظروف مثل الرطوبة، ودرجة الحرارة، ودرجة الحموضة، والتهوية، والكائنات الحية الدقيقة المتنافسة على إنتاج الأفلاتوكسين (Kumar et al., 2021).

Aspergillus flavus تم اكتشافه من قبل لينك في عام 1809. يحدث داء الرشاشيات الغازي human invasive aspergillosis البشري في المقام الأول *A. fumigatus*، ويأتي في المرتبة الثانية *A. flavus* . وهو النوع الأساسي من الرشاشيات الذي يصيب الحشرات ويمكن أيضًا أن ينتج سمومًا فطرية قوية ويسبب التهابات في المحاصيل ذات الأهمية الاقتصادية مثل الفول السوداني والذرة. (Yelika and Denoya, , 2021).

وجدت دراسات عديدة ان *A. flavus* قد عزل خارج الرئة في الجهاز العصبي المركزي والجلد والكبد والمسالك البولية والجهاز الهضمي (Seyedmousavi et al., 2015).

تم العثور على فطر الرشاشيات من في قسم من خزعة الأمعاء اذ عمل على تغيير الغشاء المخاطي، وتلف الأنسجة، وغزو الأنسجة مع ارتشاح الأوعية الدموية الدقيقة، وتشخيص حاله داء الرشاشيات الغازية الأولية للأمعاء (Egbuta et al., 2006).

تعد الرئتان العضو الأكثر تأثرًا في أغلب الأحيان في *invasive aspergillosis* وتصيب الجهاز الهضمي بالدرجة الثانية، بشكل عام كأحد مكونات العدوى المنتشرة، مثل داء الرشاشيات المعدي المعوي. في هذه الدراسة، تم الإبلاغ عن حالة التهاب المعدة في *Invasive aspergillosis* وتسبب في نخر جدار المعدة وعلى الأغلب نمت هذه الجراثيم على تقرحات المعدة لشخص يعاني من الضعف المناعي (Dodington et al., 2022).

2-2-3 فطر *Candida tropicalis*

المبيضات الاستوائية *Candida tropicalis* هي نوع من الخميرة التي يتم عزلها عادة من مختلف العينات السريرية، بما في ذلك الجهاز الهضمي والجهاز التنفسي والجلد. وهي مسببات الأمراض الانتهازية التي يمكن أن تسبب العدوى، وخاصة في الأفراد الذين يعانون من ضعف في جهاز المناعة، مثل المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية. الإيدز والأشخاص الذين يخضعون للعلاج الكيميائي (Awoyeni et al., 2017).

أصبحت عدوى المبيضات الاستوائية شائعة على التسبب في المرض. ويعد التشخيص والعلاج المناسبين لعدوى المبيضات الاستوائية أمرًا بالغ الأهمية لمنع المضاعفات وتحسين نتائج المرضى. وقد أظهرت الدراسات أن المبيضات الاستوائية قد تظهر حساسية مختلفة للأدوية المضادة للفطريات. لذلك، من المهم إجراء اختبار الحساسية لتوجيه العلاج المضاد للفطريات المناسب لعدوى المبيضات الاستوائية (Dadar et al., 2018).

classification outline of anisworth,s (1971)

Domain: Eukaryota

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Saccharomycetes

Order: Saccharomycetales

Family: Saccharomycetaceae

Genus: Candida

Species: *C. tropicalis*

يعد *invasive candidiasis* أكثر شيوعًا عند الأشخاص الذين يعانون من أمراض الجهاز الهضمي والذين يعانون من سرطان الدم الحاد (منقوصي المناعة) (Pappas *et al.*, 2018). ان دخول عزلات *C. Tropicalis* عن طريق الفم أدى إلى زيادة القدرة المرضية للفطر في المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة وهي أكثر غزوًا للأمعاء البشرية من المبيضات البيضاء، خاصة في مرضى السرطان (Hemaid *et al.*, 2021).

2-3 الأهمية الوبائية لعزل الفطريات من مرضى الإسهال

إن عزل الفطريات من عينات البراز المسبب للإسهال له أهمية وبائية لأنه يسمح بتحديد وتوصيف أنواع فطرية محددة مرتبطة بمرض الإسهال. ويمكن أن تساهم هذه المعلومات في فهم لمسببات أمراض الإسهال وتوفير المعلومات لتدخلات الصحة العامة واستراتيجيات العلاج للتخفيف من انتشار وتأثير الإسهال المرتبط بالفطريات وفهم دور الفطريات في تطور أمراض الإسهال. (Lanata *et al.* 2013). وجد Troeger وآخرون 2018 انتشار وتوزيع أنواع فطرية معينة في عينات البراز الإسهالية قد يوفر معلومات لعوامل الخطر، وطرق انتقال العدوى، والعلاجات المحتملة للإسهال المرتبط بالفطريات وتحديد مسببات الأمراض الفطرية الجديدة أو غير المتوقعة، والتي يمكن أن يكون لها آثار على مراقبة الصحة العامة وتطوير الأساليب التشخيصية والعلاجية المستهدفة. من خلال عزل الفطريات من عينات البراز المسببة للإسهال وتوصيف أنواعها، من الممكن تقييم مدى انتشار مسببات الأمراض الفطرية وتوزيعها ودورها المحتمل في التسبب في الإسهال ويمكن لهذه المعلومات أن تفيد استراتيجيات وتدخلات الصحة العامة للوقاية من أمراض الإسهال المرتبطة بالفطريات وعلاجها، مما يؤدي في النهاية إلى تقليل معدلات الإصابة بالأمراض والوفيات المرتبطة بها.

كما تفيد في الحصول على معلومات وبائية مهمة حول تنوع وتواتر الخمائر المسببة للأمراض الانتهازية التي قد تسبب العدوى، خاصة لدى الأشخاص المعرضين للإصابة وضعاف المناعة (Nualmalang *et al.*, 2023).

تتطلب الحالات المصابة بالفطريات الشبيهة بالخميرة علاجًا سريعًا، كما يجب مراقبة العدوى المصاحبة بشكل مستمر (Park *et al.*, 2016).

2-4 المواد العلاجية الطبيعية

2-4-1 قشور الرمان

شجرة الرمان (*Punica granatum L.*) تعود لعائلة Punicaceae هي شجيرة محلية في غرب آسيا ومنطقة البحر الأبيض المتوسط في أوروبا ذات تاريخ طويل من التطبيقات الطبية التقليدية. لعدة قرون، (Jayaprakasha, 2017) .

قشر الرمان Pomegranate peels (PoP)، الذي يشكل حوالي 30-40% من مكونات الفاكهة، غني بالبولىفينول، والتي تشمل الفلافونويد، والعفص، والأحماض الفينولية، وخاصة الأنثوسيانين. ومن المعروف أن مادة البولىفينول لديها مجموعة متنوعة من الخصائص البيولوجية، بما في ذلك القدرة على مكافحة الميكروبات المسببة للأمراض بشكل فعال. لقد ثبت أن النشاط المضاد للميكروبات لقشور الرمان ضد كل من البكتيريا إيجابية الجرام وسالبة الجرام واسع النطاق بالإضافة إلى ذلك، فقد أظهرت فعاليتها ضد الأنواع المسببة للأمراض المقاومة للمضادات الحيوية، مثل المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين كما تتميز قشور الرمان بخصائص مضادة للفطريات بسبب محتواه العالي من مادة البولىفينول، وخاصة البونيكالاجين وحمض الإيلاجيك. تعمل بشكل جيد ضد مجموعة واسعة من الفطريات، بما في ذلك الأنواع الانتهازية والمسببة للأمراض (*Aspergillus flavus*). والذي يستخدم من البشر كدواء نباتي للتخلص منها (Singh et al., 2019).

بسبب قوة قبض الرمان، تستخدم قشوره في الطب التقليدي وهي علاج يستخدم على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم. إذ تم استخدامه لعلاج الدزنتري والإسهال، وكذلك التهاب الفم. وتم تحضيره على شكل مغلي مائي (غلي القشور في الماء لمدة 10-40 دقيقة) ويمكن استهلاكه أو استخدامه كغسل للفم أو كغسل أو حقنة شرجية، كما قام العديد من الباحثين بفحص الكيمياء النباتية للرمان، واكتشفوا أن هذه الفاكهة مصدر غني للمواد الكيميائية البولىفينولية. كما لاحظ العديد من الباحثين سابقاً، تحتوي قشور *Punica granatum L.* أيضاً على مجموعة واسعة من المواد الكيميائية النباتية، مثل الجالوتانينات، وحمض الجالاجيك، وحمض الإيلاجيك، والبونيكالين، والبونيكالاجين (Saeed et al., 2018) .

توصلت الدراسات السابقة أن مستخلصات قشر الرمان، خصائص مضادة للبكتيريا والفطريات إذ تستخدم كمضادات أكسدة طبيعية يمكن أن تحل محل مضادات الأكسدة الاصطناعية، بالإضافة إلى المواد الحافظة الغذائية الطبيعية والدراسات الدوائية (Orak et al., 2011). تم اختبار ثلاث مستخلصات من قشور الفاكهة (البرتقال والرمان والموز) للتأكد من قدرتها المضادة للميكروبات ضد أربع سلالات إيجابية الجرام وثلاث سلالات سلبية الجرام وسلالتين من الفطريات. أظهرت النتائج أن كلا من مستخلصي قشر الرمان كان لهما تأثير تثبيطي أعلى بكثير على جميع بكتيريا +G التي تم اختبارها. باستثناء *S. typhimurium*، أظهر المستخلص الميثانولي لقشر الرمان نشاطاً أكبر ضد بكتيريا +G و -G مقارنة بالمستخلص الإيثانولي. أظهرت مستخلصات الرمان والبرتقال فعالية ضد *A. flavus* و *A. niger* بنسبة تراوحت بين 65 إلى 100% أعلى من السيطرة الإيجابية. عند مقارنتها بالمستخلصات الميثانولية، أظهرت المستخلصات الإيثانولية لكل قشر تم تقييمه إمكانية كبيرة للمواد الكيميائية المضادة للأكسدة (Hanafy et al., 2021).

2-4-2 ثمار البلوط

البلوط الفارسي، *Quercus brantii*، موطنه الأصلي غرب آسيا، ويشمل إيران والعراق وسوريا وتركيا. يقال إن شجرة البلوط هي الأنواع الأكثر شيوعاً في جزر الهند الغربية ومنطقة زاغروس. تعد جبال زاغروس موطناً لغالبية أنواع البلوط في إيران، مما يجعل هذه المنطقة ذات أهمية كبيرة. تنتمي أشجار البلوط الإيرانية إلى عائلة الأشجار Fagaceae ويمكن أن يصل ارتفاعها إلى 20 متراً ولها تاج كروي كبير (Bahmani et al., 2015). بشكل عام، ناعمة وبيضاوية الشكل، والأوراق لها حدود مسننة مغطاة بفراء على شكل نجمة وفراء ذهبي ناعم على الظهر. توجد الثمرة في كوب مخروطي من المخمل الأبيض وهو ممدود وشبه إهليلجي شكل (2-5). يتم إدخال فاكهتها المعروفة باسم "الغدة" في كوب أكرون. يختلف محتوى الزيت والسكريات والنشا في أشجار البلوط، في حين أن محتواها من التانين والكيرسيتين والبننوزان ضئيل. يتكون البلوط الإيراني في الغالب من حامض التانيك التي لها خصائص قابضة ومضادة للبكتيريا (Bahmani et al., 2015). تم استخدام ثمار البلوط، في الغالب كعلف للحيوانات، و زاد الاهتمام بدمج ثمار البلوط في النظام الغذائي البشري بسبب محتواه العالي من المركبات الكيميائية النباتية، والقيمة الغذائية، والنشاط البيولوجي (مثل مضادات الأكسدة، والخصائص المضادة للسرطان، والخصائص الوقائية للقلب)، واستخدامه في علاج العديد من الأمراض (مثل امراض الجهاز الهضمي ومرض الزهايمر والسكري وتصلب الشرايين) (Vinha et al., 2016).

تعتبر شجرة البلوط، التي تنتمي إلى عائلة Fagaceae وجنس Quercus، أحد المصادر العشبية لحمض التانيك. ثمرة شجرة البلوط غنية بالمواد النشطة بيولوجيا التي لها صفات مضادة للأكسدة، مثل حامض التاميك، وحامض الغاليك، وحامض الإيلاجيك (Khatamifar *et al.*, 2022). وجد Cheraghi وآخرون (2019) أن فاكهة البلوط وقشرتها عوامل مضادة للبكتريا إذ استخدمت كغسول للفم .

تم استخدام ثمرة شجرة البلوط طبياً بعد تحميصها كنوع من القهوة التي احتوت على الدكستريين لعلاج الوهن والكساح وفقر الدم والإسهال والإنزيمات الداخلية وعسر الهضم وآلام المعدة والשל في مراحله الأولى و علاج للصغار الذين يعانون من الإسهال البسيط (Ghaffari *et al.*, 2023) .

2_5 عوامل ضراوه الفطريات virulence factor of fungi

مع ارتفاع عدد المرضى الذين يعانون من ضعف المناعة بسبب الإيدز والسرطان والأدوية الستيرويدية والعلاج الكيميائي، أصبحت مسببات الأمراض الفطرية البشرية مصدر قلق طبي كبير (Lionakis *et al.*, 2023). تحتفظ الفطريات المسببة للأمراض الجهازية بعدد من الخصائص التي تمكنها من الانتشار في البيئات غير الملائمة وتعرف بعوامل الضراوه ومن هذه العوامل المسببة للأمراض في الفطريات هي تكوين الكبسولة أو جدار الخلية، وازدواج الشكل، والتحمل الحراري، وتخليق الإنزيمات، والاستعمار، والقدرة على التحمل في البيئات القاسية مع مقاومه آليات الاستجابة المناعية للمضيف (Ryder and Talbot, 2015).

في الوسط الزراعي، تفرز الفطريات مجموعة متنوعة من الإنزيمات المحللة، بما في ذلك البروتياز، والفوسفوليپاز، واللايباز و تكون هذه الإنزيمات مهمة لعملية التمثيل الغذائي الفطري والتي يكون لها دور اساسي في الأمراض، مما يؤدي إلى إتلاف الخلايا المضيفة وتوفير المواد الغذائية اللازمة لنمو الفطريات (Mehta *et al.*, 2017).

2-5-1 الأنزيمات المحللة للبروتين Protease

تعد الإنزيمات المحللة أحد عوامل الفوعة الرئيسية التي تساهم في غزو الفطريات المسببة للأمراض، من بين مجموعة واسعة من العوامل الأخرى. مثل الهيدرولاز، الفوسفاتاز، والليباز، والبروتياز،

استعراض المراجع Literature Review

والهيموليزينات، والفوسفاتاز، واليوريز، وغيرها من الانزيمات الفعالة للفطريات، والبقاء على قيد الحياة، والنمو داخل الكائن الحي المضيف (Rutherford, 2014).

تنتج الكائنات الحية الدقيقة ومنها الفطريات العديد من الانزيمات التي تساهم في الامراض والايض الغذائي ومن هذه الأنزيمات ال *protease* (Chandrasekaran *et al.*, 2016).
لهذه الانزيمات القابلية على تحطيم الاصره الببتيديه وتحويل البروتين الى طاقة واحماض امينية وببتيدات (Mikhailova, 2011).

تقسم انزيمات البروتياز الى ثلاثة انواع بالاعتماد على درجة الاس البهيدروجيني المناسب لعملها وهي

1- حامضية Acidic

يتراوح ال PH من 3.5 – 5.8 ومنها , *pepsine* , *renine* وتدخل في الصناعات الغذائية المختلفة مثل صناعة الاجبان وتنتج من *Aspergillus species*.

2 - قاعدية Basic

يتراوح ال PH من 9 _ 11 وينتج هذا النوع من الانزيمات بشكل كبير من الفطرين *Aspergillus niger* , *Aspergillus flavus* وكما انه العديد من الفطريات لها القابلية لافراز هذا الانزيم .

3 - المتعادلة Nutrelized

ينتج هذا النوع من الانزيمات من الفطر *Aspergillus species* ويحتاج لضروف معينة للحفاظ على صفاته الفيزيائية والكيميائية هذه الضروف هي 7_8 PH ودرجه حراره 35 _ 45 م° وتواجد ايونات الكالسيوم والصوديوم (Ehrmann & Cluasen, 2004)

وجد عند تعريض الفطريات الى لأشعه الليزر يزيد من انتاج هذه الفطريات ل *protease* (yousif *et al.*, 2014) اذ تزداد المنطقه الشفافه حول المستعمره عند تعريضها لاشعه الليزر.
كما وجد اعلى انتاج لانزيم ال *protease* من فطر *metarhizium anispolia* بأستخدام وسط عصير التمر الذي يحتوي كميات عاليه من الكربون يضاف له ال *gelatin* كمصدر للنتروجين عند 5.5 pH ودرجه حراره 30 م° وحضن على حاضنه هزازة ولفتره 3 ايام بسرعه 100 دوره الدقيقه (Anon and Jasim, 2015)

2-5-2 الانزيمات المحللة للدهون lipases

تعمل هذه الانزيمات على تحليل الدهون بواسطة تحطيم اصره الاستر في مركب الكوليسترول الثلاثي وتكوين احماض دهنيه، وهي من انزيمات الاستريز، حيث تكون لهذه الانزيمات دور فعال في عمليات الايض للفطريات من حيث تكوين المستعمرات وتحرير الطاقة والنقل (Park and junk, 2013).

لاول مره تم استخلاص ال lipases من الفطر *Trichoderma harzianum*. ووجد ان فطريات ال *Candida species* تنتج انزيم ipases لغرض النمو وهو عامل ضراوه (Khedidja & Abderrahman, 2011). وكذلك اشار (2013) Park & Junk الى الدور المهم لأنزيمات lipases في الامراضيه.

ان عدد الجينات التي تشفر هذا الانزيم تختلف من فطر لآخر ففي خميرة *Candida alpican* وجد عشر انزيمات تشفر انزيم lipases ، بينما 14 جينا وجد يشفر انزيم ipases الفطر *Malassizia globolsa* (Deangelis et al., 2007).

ان الظروف المناسبه لتتقيه الفطريات تم تحديدها لغرض انتاج انزيم lipases اوساط غنيه بالكاربون والبيبتون والكلوكوز والنتروجين وكذلك ماده التوين تستخدم بصورة شائع كحامض دهني، وينتج فطر *Fuzarium solani* انزيم lipases عند درجه حراره 40 م° و PH 9_7 (Ulker et al., 2011).

2-5-3 انزيم الفوسفولايبيليز Phospholipases

هو أحد اهم انزيمات الضراوه في الفطريات ويفرز خارج الخليه ويساهم في تحليل اصره الاستر في المركبات الدهنيه ويكون على اربعة انواع A,B,C,D حيث ان النوع B من أكثر الانواع ضراوه وذلك لفعاليته في التحلل المائي وتحليل الدهون (Barman et al., 2018).

حيث ان وظيفه انزيم LIPASES التحول للغشاء البلازمي السريع للفطريات وكذلك يحافظ على جدار الخليه وخاصه عند اختلاف درجات الحراره (Siafakas et al., 2007).

ان تحرير الاحماض الدهنيه من مركبات الفوسفات الدهنيه يتم بواسطة انزيم Lipases وبعدها ينقل المتحرر من الاحماض الدهنيه الى مركب Lysophospholipid لتكوين الفوسفات الدهنيه (Theiss et al., 2006).

لانزيم lipases فعاليه في تحليل الخلايا واغشيتها على سطح الرئه. كذلك وجد هذا الانزيم في الاشخاص المصابين في Greptococcosis في السوائل الجسميه لهؤلاء المصابين (Rodrigus *et al.*, 2008).

الفصل الثالث / المواد وطرق العمل
Materials & methods

المواد وطرق العمل Materials & methods

المواد وطرائق العمل

3- 1 الاجهزه والمواد المستخدمه Apparatus & Materials

جدول (1-3) الاجهزه Apparatus

المنشأ	الشركة المصنعه	الاجهزه	ت
England	Griffin	المنبذه Centerfuge	1
Germany	Memmert	المؤصده Autoclave	4
Germany	Memmert	حاضنه Incubator	5
Iraq	Chiller	الثلاجه Refrigerator	6
England	Gallenkamp	مسخن حراري Hot Plate	7
Japan	Olympus	مجهر مركب Compound Microscope	8
Tawin	Muv	كابينه الزرع المجهري Lamin Flow Cabint	9
England	Molex	مطحنه كهربائيه Blender Electric Grinder	10
Germany	Gallenkamp	الفرن Oven	11
USA	BioRad	100 PCR Thermocycler جهاز تفاعل البوليميراز المتسلسل الحراري	1
USA	Vortex mixer	Talboys/ مازج	2
	Cell Disruptor Genie vortex	جهاز طرد مركزي عالي السرعة es/ Scientific Industri	3
Germany	hittich	جهاز طرد مركزي عالي السرعة High Speed Cold centrifuge	4
Germany	hittich	أجهزة الطرد المركزي الباردة عالية السرعة High Speed Cold centrifuge	5
Germany	hittich	ميزان حساس sensitive balans	6
USA	Polyscience	حمام مائي Water Bath	7
France	Gibson	ماصات دقيقه Micropipettes	8
Canada	BioBasic	انابيب Eppendorf tubes	9
Korea	Bioneer	Electrophoresis الترحيل الكهربائي	10
USA	BioRad	PowerPac HC Electrophoresis Power Supply مصدر طاقة الترحيل الكهربائي	11
Korea	Wised	جهاز اضاءه الاشعه فوق البنفسجيه U.V transilluminato	12
Japan	Nikon	كاميرا Camera	13

المواد وطرق العمل Materials & methods

USA	P-ABC	حامل أنبوب جهاز الطرد المركزي الصغير ثنائي اللوحة حامل أنبوب جهاز الطرد المركزي PCR	14
-----	-------	--	----

الجدول (2-3)

Chemical And Biological Material المواد الكيميائية والحياتية

المنشأ	الشركة المصنعه	المواد	ت
England	BDH	كلوريد الصوديوم NACL	1
England	BDH	كلوريد الكالسيوم CACL	2
England	BDH	كحول اتيلي Ethanol	3
England	BDH	التوين Tween80	4
England	BDH	كليسرول Glycerol	5
England	BDH	دكتروز Dectrose	6
France	Rgilait	الحليب المجفف Skimmed Millk	7
india	ajanta	مضاد Chloramphenicole	8
S.A.R	Syrbio	مكونات صبغه كرام Gram Stain	9
		صبغه البنفسج البلوري Crystal Violet	10
		محلول اليود Iodine Stabilized	11
		الكحول Al Cohol	12
		صبغه الفوكسين Fuchsin	13
Canada	Biobasic	اكار Agar	14
Canada	Biobasic	ببتون Pepton	15
Canada	Biobasic	حامض الهيدروليك Hcl	16
German y	Nerk	صبغه اللاكتوفينول الزرقاء Blue	17
Nerk	Nerk	صبغه المثلين الازرق Methylene Blue	18

المواد وطرق العمل Materials & methods

الجدول (3-3):

المواد الكيميائية والمحاليل المستخدمة بالدراسة الجزيئية مع الشركة وبلد المنشأ:

ت	المواد	الشركة المصنعه	المنشأ
1	الايثانول المطلق Absolute ethanol	Chem-lab	Belgium
2	DNA Marker ladder 2000-100bp 100-200 dna ماركر	iNtRON	Korea
3	Ethidium bromide بروميد الاثيديوم	biobasic	Canada
4	buffer محلول داريء	iNtRON	usa
5	Agarose	iNtRON	usa
6	الاكرا	iNtRON	usa

جدول (4-3)

الادوات materials

ت	الاداة	الشركة المصنعه	المنشأ
1	مرشحات دقيقه Milipore Filter	Difco	England
2	اوراق ترشيح Filter Paper	Grenier	Germany
3	ماصات دقيقه Micro Pipette	Oxford	Usa
4	اطباق بتري بلاستيكيه Desposible Petri Dish	Grenier	Germany
5	اطباق بتري زجاجيه Glass Pwtri Dish	Grenier	Germany
6	دوارق زجاجيه Volumetric Flasks	Jiassco	India
7	انابيب اختبار Test Tube	Pytex	England
8	شرائح زجاجيه Slides	Letis	Germany
9	غطاء سلايد Slide Cover	Hirshman	Germany
10	اسطوانات مدرجه Cylinders	Jiassco	India
11	دوارق مخروطيه Coical Flasks	Jiassco	India
12	كؤوس Beakers	Jiassco	India
13	عيدان خشبيه Woden Sticks	Superme	China
14	ناقل زرعي بلاستيكي Loop	Himedia	India
15	ثاقب فليني Cork Pover	Himedia	India

المواد وطرق العمل Materials & methods

جدول (3-5)

الايوساط الزراعيه Nutritional Media

اسم الوسط	الاستخدام	الشركه والدوله المصنعه
وسط السايدرويد اكار Dextrose Agar	عزل وحفظ الفطريات	Himedia (India)
وسط اكار البطاطا ديكتروز PDA (Potatos Dextrose Agar)	عزل وحفظ الفطريات	Himedia (India)
وسط مرق البطاطا ديكتروز (PDAPotatos Dextrose Agar)	قياس الوزن الجاف للكتله الحيويه للفطريات	حضر مختبريا
وسط اكار الحليب خالي الدسم (Milk Agar)	قابليه الفطريات لتحليل البروتينات	Oxid (England)
وسط الببتون-توين 80 Tween80	قابليه الفطريات لتحليل الدهون	Oxid (England)
وسط مح البيض الصلب Egg Yolk Agar Medium	قابليه الفطريات لانتاج انزيم الفوسفو لايبيز	Oxid (England)

جدول (3-6)

المضادات المستخدمه في الدراسه

الاسم بالانكليزي	الرمز	تركيز المضاد مايكروغرام /قرص	الشركه والدوله المصنعه
Chloramphenicol	C	10	Bioanalyse (Turkey)
Nystatine	N	30	Biolact (India)
Fluconazog	F.C	30	
Flagyle	FI	10	
Tinidazole	T. D	10	
Probitic Bacteria	P. B	10	

2-3 طرائق العمل material & methods

3-2-1 جمع العينات sample collection

تم جمع عينات الخروج في حاويات معقمة من المرضى المصابين بالأسهال من مستشفى الهاشمية العام في محافظه بابل وبواقع 120 عينة وتم ذلك من شهر تشرين الاول لغايه شهر شباط من حيث تم جمع العينات من المرضى المصابين بالاسهال من البراز من مستشفى الهاشمية .سنة 2024 العام في محافظه بابل وكانت العينات بواقع 30 عينة للاطفال بعمر اقل من عشر سنوات و 35 عينة للشباب اكبر من عمر عشر سنوات و 55 عينة لكبار سنوات

3-2-2 culture media الاوساط الزرعيه

1- وسط اكار الحليب خالي الدسم Skimmed Milk Agar

تم تحضير الوسط بأذابه 20 gm من agar في 900 ml من distal water في دورق، وحضرفي دورق ثاني 10 غم من الحليب المجفف خالي الدسم في 100مل ماء مقطر وبعدها يعقم المحلولان كل على حده بالمؤصده على درجه حراره 121 م ° على ضغط 15باوند/انج ٢ لمده 15 دقيقه وبعد التبريد لدرجه حراره 45 م °يمزج المحلولان معا ثم نضيف له المضاد الحيوي chloramphenicol 250ملغم /لتر)وبعدها يصب الوسط في الاطباق ونتركه ليتصلب وبعها يلحق الوسط 5 ملم من المستعمرات الفطريه النقيه ،وبعدها تحضن الاطباق على درجه حراره 28 م °لمده 72 ساعه .هذا الوسط يستخدم للكشف عن قابليه الفطريات لتحليل البروتينات وذلك عن طريق قابليتها لافراز انزيم proteases ،ان تكون هاله شفافه حول المستعمره دليل على افرازها لهذا الانزيم (الكرعاوي ،2019).

2- وسط الببتون_ توين Pepton_ tween 80

يستخدم هذا الوسط في الكشف عن قابليه الفطريات لتحليل الدهون عن طريق انتاج منطقه شفافه حول المستعمره او تكون ترسبات بيضاء حول المستعمره، حضر الوسط بأذابه 10 غم من peptone و 20 غم من agar و 1,0 غم من CACL2 المائي و 5 غم من NACL في لتر واحد من الماء المقطر ،وبعدها يوضع في المؤصده لغرض التعقيم ،ونضع 80 مل من ماده التوين في دورق اخر ويعقم بالمؤصده بمعزل عن المزيج الثاني ،وبعد التبريد الى درجه الحراره 45 م °،وبعدها يضاف لكل 100 مل من المزيج 1 مل من ال tween80 ثم نضيف المضاد الحيوي chloramphenicol (250ملغم/لتر)

المواد وطرق العمل Materials & methods

وبعدها تصب الاطباق وتترك لتبرد.تلقح الاطباق بالمزارع الفطرية النقيه بقطر 5 ملم وتحضن على درجه حراره 28م° ولمده 72 ساعه (Tako *et al.*,2012).

3- وسط مح البيض الصلب Egg Yolk Agar Medium

حضر الوسط بأضافه 1 مولاري من Nacl و 0,005 مولاري من Cacl₂ الى لتر من من الوسط الغذائي (Sabouroud Dextrose Agar) وبعدها يعقم بالمؤصده على درجه حرارة 121م° وضغط 15 باوند /انج ٢ لمده 15 دقيقه، ثم نتركه ليبرد الى درجه حرارة 45 م° ثم يضاف مح البيض المعقم بمقدار 8% وبعدها يضاف له المضاد الحيوي Chloramphenicol ومن ثم يصب في اطباق ويترك ليتصلب، هذا الوسط يستخدم لقياس فعاليه الفطريات في افراز انزيم Phospholipase (الزاملي، 2016).

3-3 عزل الفطريات المرافقه للبراز Isolation Of Fungi Associated

With Feces

ثم زرعت عينات البراز في اطباق بتري حاويه على الوسط Sapouroud Dextrose Agar (SDA) وتركت الاطباق في الحاضنه بدرجه حرارة 27 م° لفته اربعة ايام مع متابعه النمو للفطريات، وبعد تشخيصها تم حساب العدد الكلي لمستعمرات الانواع الفطرية وحساب النسبه المئويه لتردد الفطر من خلال المعادله الاتيه.

النسبه المئويه لتردد الفطر = عدد مستعمرات النوع الفطري / العدد الكلي للمستعمرات الفطرية * 100.

وبعدها تم تنقيه العزلات الفطرية على الوسط الغذائي Sabouroud Dextrose Agar (SDA)، حيث يتم حفظ العزلات النقيه بزراعتها على نفس الوسط الزرعي بصوره مائله في انابيب اختبار حجم 20 مل وحضنها على درجه حرارة 28 م° لمده 7 ايام، وبعدها تحفظ في الثلاجه بدرجه حرارة 4 م° لحين الاستخدام (يحيى، 1984).

3-4 تشخيص الفطريات المعزوله Diagnosis of Isolated fungi

بعد عمليه عزل الفطريات من للبراز للاشخاص المصابين في Diarrhea جرت عمليه تشخيص هذه الفطريات الى مستوى النوع بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمره Morphological (Features) ، مثل لون المستعمره وقطر المستعمره وشكلها وارتفاع المستعمره ،وبالاعتماد على

المواد وطرق العمل Materials & methods

الصفات المجهرية (Microscopic features) مثل لون وحجم وتركيب الحوامل البوغية وشكلها , على وفق الاسس التصنيفية المعتمده كما جاء في . وبعدها وضعت على الشريحة الزجاجيه جزء من المستعمره مع القليل من صبغه Lactophenol blue وفحصت تحت المجهر لمشاهده شكل الكونيدات والحافضات البوغيه , والخيوط الفطريه مقسمه او غير مقسمه (Sciortino,2017).وبعد التشخيص الجزيئي للفطريات المعزوله يتم اختيار ثلاثه انواع فطريه تكون هي الاكثر ترددا وامراضيه .

3-5 حفظ عزلات الفطريات storage of fungi

تم زراعه كل عزله في قناني خاصه سعه 20 مل ملئت بوسط SDA بشكل مائل ووضعت في الثلاجه بدرجه حراره 4 م° ولمده شهرين ثم اعاد زرعها على وسط SDA في طبق بتري واعيدت العمليه مره اخرى .

3-6 التشخيص الجزيئي للفطريات المعزوله Molecular Diagnosis Of

Isolated Fungi

3-6-1 البادئات Primers

تم تحضير بادئات PCR لتشخيص الفطريات بالاعتماد على جين منطقه الريبوسوم RNA (ITS1) (internal transcribed spacer one). (Fujita *et al.*, 2001) , تم تجهيز هذه البادئات من قبل شركة Macrogen الكورية حسب الجدول التالي:

الجدول (3-7):

بادئات PCR مع تسلسل النيوكليوتيدات وحجم المنتج.

Primer	Sequence (5'-3')		PCR product size
Universal ITS1 gene	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCG	500-900bp
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

الجدول (8-3)

كـت الكـشف عـن pcr المـستخدـمة فـي هـذه الـدراسـة مـع شـركـاتـها و دـول المـنشأ:

No.	Kit	Company	Country
1	كـت اسـتخـلاص الـحامـض الـنووي DNA	iNtRON	Korea
	CL buffer lysis buffer		
	BL buffer binding buffer		
	Proteinase K		
	WA buffer		
	WB buffer		
	Elution buffer		
	GD column		
	Collection tube 2ml		
2	GoTaq® Green PCR master Mix	Promega	USA
	Taq DNA polymerase		
	dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)		
	Tris-HCl pH 9.0, KCl, & MgCl ₂		
	Stabilizer and loading dye		

3-6-3 اسـتخـراج الـحمـض الـنووي الفـطري

تم اسـتخـلاص الـحمـض الـنووي الـجينومي الفـطري مـن عـزلات A tubingensis بـاستخدـام (G-Spin DNA Extract Kit مـع التـعديـل وذلـك حـسـب تـعليـمـات الشـركـة بالـخطوات التـالـية:

1-تـحـضـير العـيـنة:

أ- تم نـقل عـيـنات عـزلات الفـطريات 100 مـلـغم إلـى حـاويـه مـعـقمـه و مـجـانـسـتها بـالنـيـتروـجـين السـائل.

2-خطوات تـحـلل الخـلية:

أ- تمـت إضـافـة 200 مـيـكروـلتر مـن مـحـلول التـحـلل CL (CL lysis buffur) و 20 مـيـكروـلتر مـن بـروـتـينـاز K (proteinase K) و تم تـحـضـين المـزيج عـند 60 درجـة مئويـة لـمـدة 30 دقيـقة.

ب - تمـت إضـافـة 200 مـيـكروـلتر مـن المـخـزن المؤقت BL (BL buffer) إلـى كل أنـبـوب و خـلطـه بـواسـطـة الدوامـة لـمـدة 10 ثـوانٍ. ثم حـضـنت الأنـابـيب عـند 60 درجـة مئويـة لـمـدة 10 دقـائق مـع قـلب الأنابـيب كل 3 دقـائق خـلال فـترات الحـضـانة.

المواد وطرق العمل Materials & methods

3-خطوات ربط الحمض النووي:

تمت إضافة 200 ميكرو لتر من الإيثانول المطلق وخلطه على الفور بواسطة السنتريفوج ، ثم يترسب إذا تم كسره بواسطة الأنابيب.

ب- تم وضع عمود GD في أنبوب تجميع سعة 2 مل وتم نقل جميع المخاليط (بما في ذلك أي راسب) إلى عمود GD

ثم يتم طرده بسرعة 10000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة. تم التخلص من أنابيب التجميع سعة 2 مل التي تحتوي على التدفق ووضع عمود GD في أنبوب تجميع جديد سعة 2 مل.

4-خطوات الغسيل:

تمت إضافة 400 ميكرو لتر من المخزن المؤقت WA إلى عمود GD، ثم تم طرده عند 10000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة. تم التخلص من التدفق ووضع عمود GD مرة أخرى في أنبوب التجميع سعة 2 مل.

تمت إضافة المخزن المؤقت WB b-600µl إلى عمود GD. ثم يتم طرده بسرعة 10000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة. تم التخلص من التدفق ووضع عمود GD مرة أخرى في أنبوب التجميع سعة 2 مل. وتم طرد الأنابيب مرة أخرى لمدة دقيقتين عند 12000 دورة في الدقيقة لتجفيف مصفوفة العمود.

5-خطوات الشطف:

أ- تم نقل عمود GD المجفف إلى أنبوب طرد مركزي صغير نظيف سعة 1.5 مل وأضيف 100 ميكرو لتر من محلول الشطف المسخن مسبقاً إلى مركز مصفوفة العمود.

ب- تم ترك الأنابيب لمدة 3 دقائق على الأقل لضمان امتصاص المادة العازلة للشطف. ثم يتم الطرد المركزي عند 10000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة لتنقية الحمض النووي.

3-4-6 تقدير مجموع الحمض النووي المستخلص

تم الفحص الكلي RNA المستخلص باستخدام Nanodrop (مقياس الطيف الضوئي المرئي للأشعة فوق البنفسجية الحراري العلمي NanoDrop Lite. الولايات المتحدة الأمريكية) الذي قام بقياس تركيز RNA (microletr / vanogram) وتم فحص النقاوه لل (RNA) خلال الامتصاص (nanomtr 280/260) على الطريقة التالي:

المواد وطرق العمل Materials & methods

1. بعد فتح برنامج Nanodrop، اختر البرنامج المناسب (الحمض النووي، DNA).
2. تم أخذ مسحة جافة وتنظيف قواعد القياس عدة مرات. ثم ماصة بعناية 2 ميكرو لتر من الماء نوكلياز الحرة ووضعها على سطح الركائز قياس أقل لإفراغ النظام.
3. تم إنزال ذراع أخذ العينات Nanodrop وقياس عينة من الحمض النووي بحجم 1 ميكرو لتر.

3-6-5 تحضير المزيج الرئيسي PCR

تم تحضير تفاعلات المزيج الرئيسي PCR لجميع الجينات باستخدام (GoTaq®Green) PCR master kit) وتم إجراء هذا المزيج الرئيسي وفقاً لتعليمات الشركة كما هو موضح في الجدول التالي (3-9):

الجدول (3-9):

بروتوكول المزيج الرئيسي القياسي PCR:

PCR Master mix	Volume
قالب DNA 5-100ng	5 ميكرو لتر
الامامي primer (10pmol)	2 ميكرو لتر
العكسي primer (10pmol)	2 ميكرو لتر
GoTaq® الاخضر PCR الاساسي	12.5 ميكرو لتر
ماء PCR	3.5 ميكرو لتر
الحجم الكلي	25 ميكرو لتر

بعد ذلك، يتم نقل جميع أنابيب PCR إلى جهاز الطرد المركزي الدوامي Exispin بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 3 دقائق، ثم يتم وضعها في T100 PCR Thermocycler (BioRad-USA).

3-6-6 برنامج الدورات الحرارية

تم حساب بروتوكول شروط التدوير الحراري PCR لكل جين باستخدام تطبيق Optimase ProtocolWriter™ عبر الإنترنت ويتم ذلك باستخدام الجدول (3-10) أدناه لظروف التدوير الحراري PCR.

الجدول (3-10):

ظروف التدوير الحراري لل PCR.

التكرار	الوقت	درجة الحرارة.	PCR خطوات
1	دقيقه 5	95 درجة مئوية	Denaturation الاول
35 دوره	30 ثانيه	95 درجة مئوية	Denaturation
	30 ثانيه	55 درجة مئوية	Annealing
	1 دقيقه	72 درجة مئوية	extension
1	5 دقيقه	72 درجة مئوية	Final extension
-	التوقف	4 درجة مئوية	Hold

3-6-7 تحليل ناتج PCR

- تم تحليل منتجات PCR بطريقة الترحيل الكهربائي لهلام الاغاروز وذلك بالخطوات التالية:
- 1- تم تحضير 1.5% من هلام الاغاروز باستخدام 0.5 X TBE ويزوب في الميكروويف لمدة 5 دقائق، ويترك ليبرد إلى 50 °م
 - 2- وبعدها اضيف 3 ميكرو لتر من صبغة Promid Al- Athidium إلى محلول جل الاغاروز .
 - 3- تم سكب محلول جل الاكاروز في الصينية، بعد عمليه التثبيت للمشط في المكان المناسب وتركه ليصلب لفترة 15 دقيقة في temperature الغرفة، وبعدها يزال المشط بلطف من الصينية.
 - 4- وبعدها يتم التثبيت لعلبه الهلام في غرفة الترحيل الكهربائي وملئها بـ 0.5 X TBE عازلة.
 - وتم تحميل 5- 10 ميكرو لتر من منتج PCR في كل بئر مع إضافة 5 ميكرو لتر (سلم علامة الحمض النووي) في البئر الأول. وبعدها يتم تسليط تيار كهربائي بجهد 100 pholt و 80 m.amper لمدة 60 دقيقه .
 - 5- وبعدها يتم التصوير لمنتجات PCR باستعمال جهاز UV Transilluminator الاشعه فوق البنفسجية.

3-6-8 طريقة تسلسل الحمض النووي:

تم إجراء طريقة تسلسل الحمض النووي لدراسة أنواع الفطريات التي تعتمد على الفاصل الداخلي المنقول العالمي (ITS) لجين الحمض النووي الريبوزي (RNA) ذو الوحدة الفرعية الصغيرة. تم

المواد وطرق العمل Materials & methods

إرسال منتجات PCR إلى شركة Macrogen في كوريا في كيس ثلج بواسطة DHL لإجراء تسلسل الحمض النووي بواسطة نظام تسلسل الحمض النووي Applied Biosystems.

تم إجراء تحليل تسلسل الحمض النووي باستخدام الإصدار 6.0 من تحليل الوراثة التطورية الجزيئية. (Mega 6.0) وتحليل محاذاة التسلسل المتعدد لتحليل محاذاة ClustalW الجزئي القائم على الجينات ITS والمسافات التطورية باستخدام طريقة الاحتمالية القصوى للمركب بواسطة طريقة شجرة النشوء والتطور unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) تحليل هوية تسلسل التماثل باستخدام تحليل NCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information).

أخيرًا، تم تقديم عزلات أنواع الفطريات المحلية إلى قاعدة بيانات NCBI-Genbank للحصول على أرقام الانضمام إلى Genbank.

وبعدها عن طريق التشخيص الجزيئي للفطريات تم تشخيص ثلاثه انواع فطريه وهي الفطريات الأكثر ترددًا والأكثر أمراضه وهي *Candida Tropicalis*, *Aspergillus Flavus* And *Geotricum Candidum*.

7-3 تأثير تراكيز 30 % من المضادات الفطرية والبكتريا النافعه في النمو

الشعاعي للفطريات

تم تحضير تركيز 30 % من المضادات الفطرية وهذه المضادات الفطرية (antifungal) هي كل من مضاد *tinidazol*, *fluconazde*, *nystatine* بالإضافة الى بكتريا probiotic bacteria (*Lactobacillus plantarum*) تم الحصول على هذه البكتريا من الصيدليات الخارجيه . في الوسط الغذائي SDA لأختبار مدى تأثيرها على النمو الشعاعي للفطريات المختبره لغرض اختيار تركيز واحد منها في الاختبارات اللاحقه ،ثم صبت في اطباق وبعد تصلبها تم نقل قطعه من الفطريات النقيه بقطر 0,5 ملم الى المركز في كل طبق ولكل تركيز ولكل الفطريات المنتخبه للدراسه ولكل معامله ثلاثه مكررات وبعدها تحضن الاطباق لمدى 72 ساعه وعلى درجه حراره 28 م° وبعد وصول النمو في اطباق المقارنه الى حواف الطبق تم قياس معدل ثلاثه اطباق متعامده من النمو لكل معامله ،اما معامله اطباق المقارنه فهي حاويه على وسط sda بدون اي معامله ثم حسبت نسبه التثبيط لنمو الفطريات بالمعادله الاتيه

المواد وطرق العمل Materials & methods

نسبه التثبيط = معدل اقطار نمو الفطر في اطباق المقارنه - معدل نمو الفطر في اطباق المعامله / معدل اقطار الفطر في اطباق المقارنه * 100 (Dixit et al.,1976).

3- 8 تأثير المساحيق الطبيعیه (ثمار البلوط وقشور الرمان) ذات التراكيز المختلفه على النمو الشعاعي للفطريات

لتحديد فعالیه المساحيق الطبيعیه (ثمار البلوط وقشور الرمان) على النمو الشعاعي تم تحضير تركيزين مختلفين من المستخلصات الطبيعیه 20%، 30% ملغم /مل في الوسط الغذائي الغذائي SDA، اما معاملة المستخلصات الطبيعیه (ثمار البلوط، قشور الرمان) حضرت بتركيز مختلفه في وسط SDA ثم صبت في الاطباق ، اما معاملة اطباق المقارنه فقد تضمنت اطباق حاويه على الوسط الغذائي SDA من غير اضافته المستخلصات الطبيعیه ، وبعد تصلب الاوساط في الطبق ، تم نقل 5 ملم من المستعمره الفطريه النقيه بأستخدام الثاقب الفليني حيث وضعت في منتصف الطبق وحضنت الاطباق على درجه حراره 28 م° ولكل معاملة ثلاثه مكررات لكل فطر من الفطريات المختبره وعدها تم قياس معدل نمو كل فطر في المعاملات المختلفه باستخدام المسطره ،بعد وصول الغزل الفطري في اطباق المقارنه الى حافه الطبق وتم حساب النسبه المئويه للتثبيط بالمعادله الاتيه (Wanchaitanawong et al, ., 2005)

نسبه التثبيط = معدل اقطار الفطر في اطباق المقارنه _ معدل اطباق الفطر في اطباق المعامله / معدل اقطار الفطر في اطباق المقارنه * 100.

3- 9 تأثير المضادات الفطريه و probiotic bacteria والمستخلصات الطبيعیه (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات

تم تحضير 500 غم من درنات البطاطا المقطعه والمقشره الى جزيئات صغيه ومن ثم تغلى بالماء المقطر بحجم 1 لتر لمدته من 30-40 دقيقه في دورق مخروطي معقم وبعد ان تنتهي فتره الغليان يرشح الخليط عن طريق قطعه من القماش الشاش للحصول على المستخلص ،وبعدها اذابه 20 غم من سكر dextrose في 1 لتر من الماء المقطر ،وبعدها نضيف اليها راسح البطاطا ويوزع في دوارق زجاجيه بحجم ثابت وبعدها يغلق بسداد قطني ويعقم عن طريق المؤصده بدرجه حراره 121 م° وضغط 15 باوند/ انج ٢ لمدته 20 دقيقه وبعدها تترك الدوارق لتبرد ونضيف المضاد الحيوي chloramphenicol، دوارق المعامله تحتوي على المضادات الفطريه والمستخلصات الطبيعیه بتركيز

المواد وطرق العمل Materials & methods

مختلفه اما دوارق المقارنه تضمنت الوسط الغذائي المعقم من دون اي اضافه ،وتم لقت كل الدوارق بقرص قطره 7,5 ملم من الفطريات المختبره ولكل تركيز ثلاث مكررات وحضنت الدوارق في الحاضنه بدرجه حراره 28 م° لمدته اسبوعان ثم ترشيح الغزل الفطري لكل فطر على اوراق ترشيح معقمه ثم جففت على hot plate وبعدها تم قياس الوزن الجاف لكل فطر (عبد المنعم ،2007).

3- 10 التحليل احصائي

تم استخدام χ^2 Chi-square واختبارات فيشر الدقيقة (ثنائية الذيل) لبرنامج SPSS الإصدار (SPSS20 ، Inc. Chicago ، Illinois) لتحديد الأهمية الإحصائية للبيانات. كانت جميع قيم p المبلغ عنها ذات وجهين واعتبرت قيم p اما اقل او تساوي 5 % ذات الدلاله الاحصائيه Grijibovski ،(2016)،

الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

Results & discussion

4- النتائج والمناقشة Results & Discussion

4-1 عزل وتشخيص الفطريات

تم جمع 120 عينة من براز المرضى المصابين بالاسهال من مستشفى الهاشمي العام في محافظة بابل وكانت العينات بواقع 30 عينة للاطفال بعمر اقل من عشر سنوات و35 عينة للشباب و55 عينة لكبار السن. اظهرت النتائج في جدول (4-1) وجود الفطر *Candida tropicalis* بعدد 16 عزله في الاطفال و64 عزله في الشباب و185 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 16.12 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-1)، كما اظهرت النتائج وجود الفطر *Aspergellus flavus* بعدد 49 عزله في الاطفال و104 عزله في الشباب و217 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 22.51 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-2)، الفطر *Geotricum candidum* بعدد 10 عزله في الاطفال و60 عزله في الشباب و141 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 12.48 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-3)، كما اظهرت النتائج وجود الفطر *Aspergellus niger* بعدد 11 عزله في الاطفال و63 عزله في الشباب و109 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 11.13 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-4) واطهرت النتائج وجود الفطر *Aspergillus fumigates* بعدد 4 عزله في الاطفال و71 عزله في الشباب و93 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 10.22 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-5)، واطهرت النتائج وجود الفطر *Aspergillus holmii* بعدد 16 عزله في الاطفال و37 عزله في الشباب و96 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 9.06 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-6)، واطهرت النتائج وجود الفطر *Aspergillus versicolor* بعدد 5 عزله في الاطفال و32 عزله في الشباب و74 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 6.75 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-7)، واطهرت النتائج وجود الفطر *Cladosporium wernikii* بعدد 5 عزله في الاطفال و17 عزله في الشباب و31 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 3.22 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-8)، واطهرت النتائج وجود الفطر *Candida albican* بعدد 3 عزله في الاطفال و18 عزله في الشباب و27 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 2.9 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-9)، واطهرت النتائج وجود الفطر *Aspergillus sydii* بعدد 7 عزله في الاطفال و5 عزله في الشباب و23 عزله في كبار السن

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

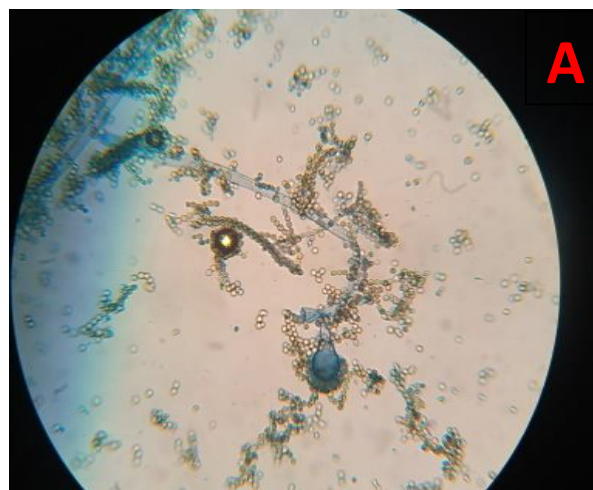
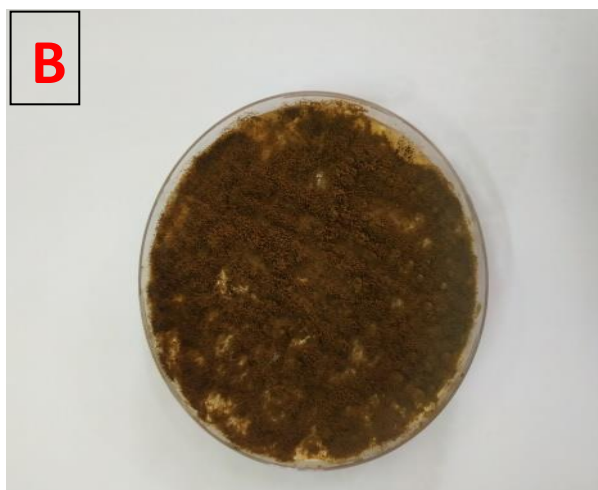
وبنسبه تردد 2.13 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-10)، واضهت النتائج وجود بالفطر *Aspergillus ochraceus* بعدد 4 عزله في الاطفال و8 عزله في الشباب و14 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 1.58 % بالنسبه لجميع الفطريات كما موضح الفطر في الشكل (4-12). كما ضهت مستعمرات للفطر *Rhizopus oryzae* بعدد 5 عزله في الاطفال و 6 عزله في الشباب و 13 عزله في كبار السن وبنسبه تردد 1.46 % كما موضح الفطر في الشكل (4-11).

جدول رقم (4-1):

الانواع الفطريه وعدد العزلات المعزوله من الاشخاص المصابين بالاسهال من مستشفى

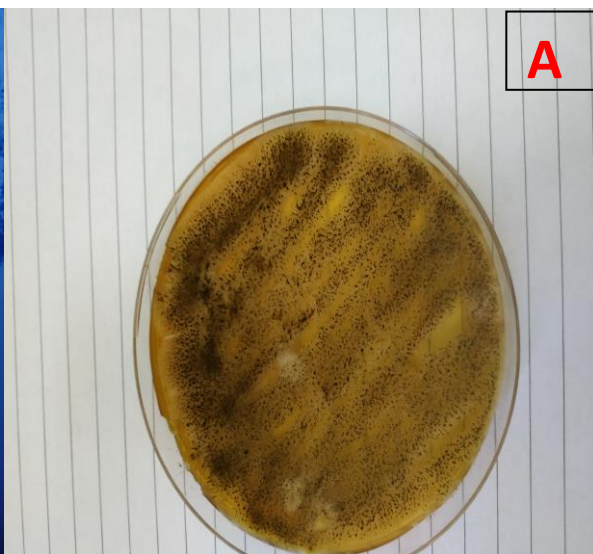
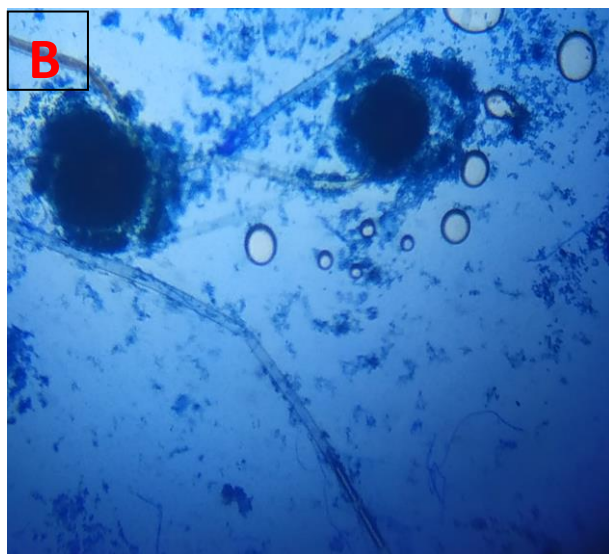
الهاشميه العام محافظه بابل

نسبه التردد	عدد العزلات الفطريه				اسم الفطر	ت
	المجموع	كبار السن	شباب	اطفال		
22.5%	370	217	104	49	<i>Aspergellus flavus</i>	1
16.12%	265	185	64	16	<i>Candida tropicalis</i>	2
12.84%	211	141	60	10	<i>Geotricum candidum</i>	3
11.13%	183	109	63	11	<i>Aspergillus niger</i>	4
10.22%	168	93	71	4	<i>Aspergellus fumigatus</i>	5
9.06%	149	96	37	16	<i>Aspergillus holmii</i>	6
6.75%	111	74	32	5	<i>Aspergillus versicolor</i>	7
3.22%	53	31	17	5	<i>Cladosporium wernikii</i>	8
2.92%	48	27	18	3	<i>Candida albican</i>	9
2.13%	35	23	5	7	<i>Aspergillus syodii</i>	10
1.46%	24	13	6	5	<i>Rhizopus oryzae</i>	11
1.58%	26	14	8	4	<i>Aspergillus ochraceus</i>	12
	1643	1023	485	135	المجموع	



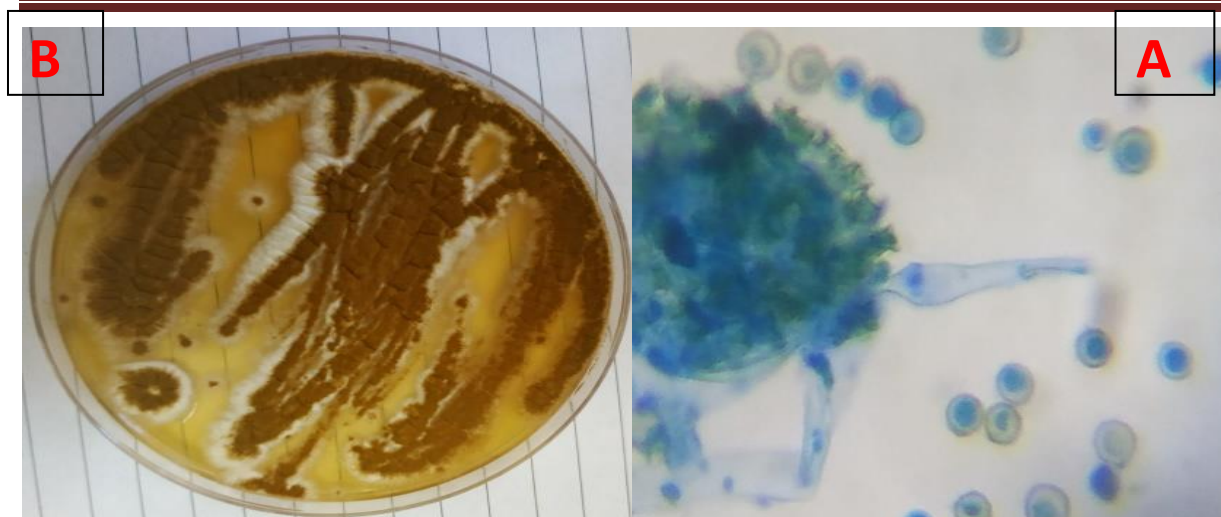
شكل (1-4) يمثل الشكل A فطر *Aspergillus flavus* تحت المجهر

يمثل الشكل B صورته فطر *Aspergillus flavus* على الوسط SDA



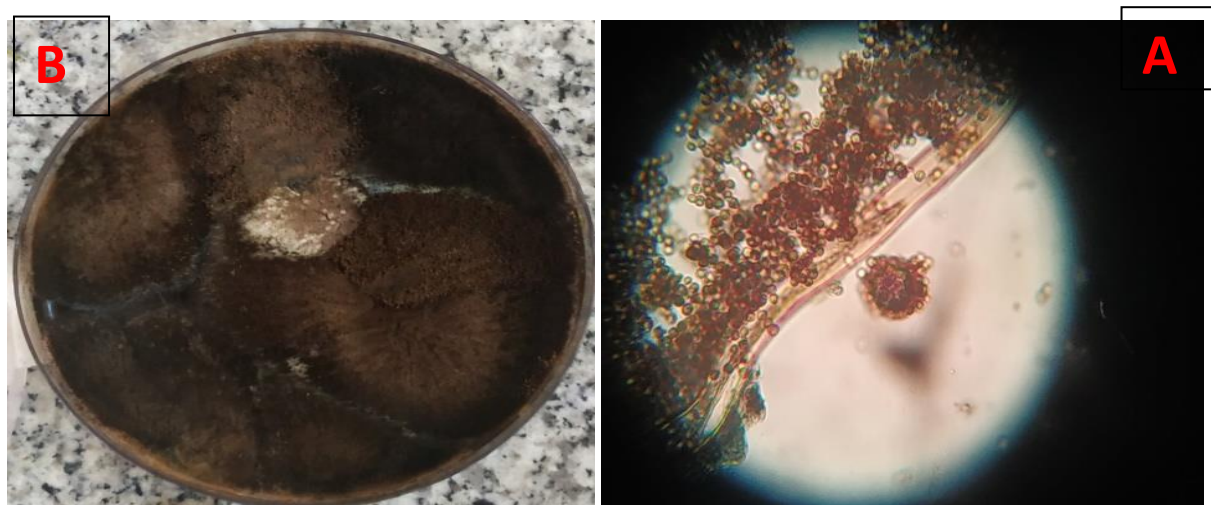
شكل (2-4) يمثل الشكل A فطر *Aspergillus niger* على وسط SDA

يمثل الشكل B فطر *Aspergillus niger* تحت المجهر



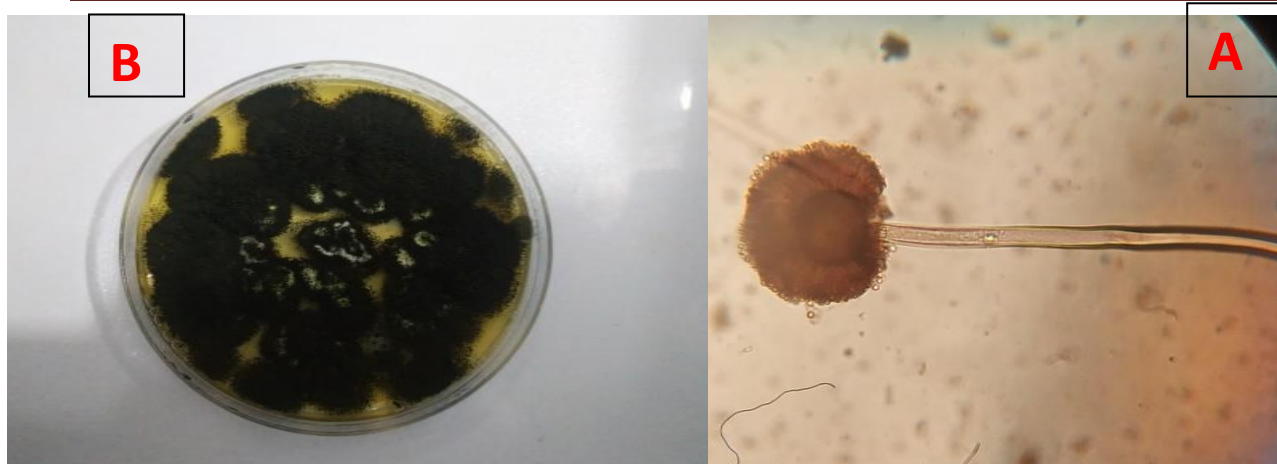
شكل (3-4) يمثل الشكل A الفطر *Aspergillus fumigatus* تحت المجهر

يمثل الشكل B الفطر *Aspergillus fumigatus* على الوسط SDA



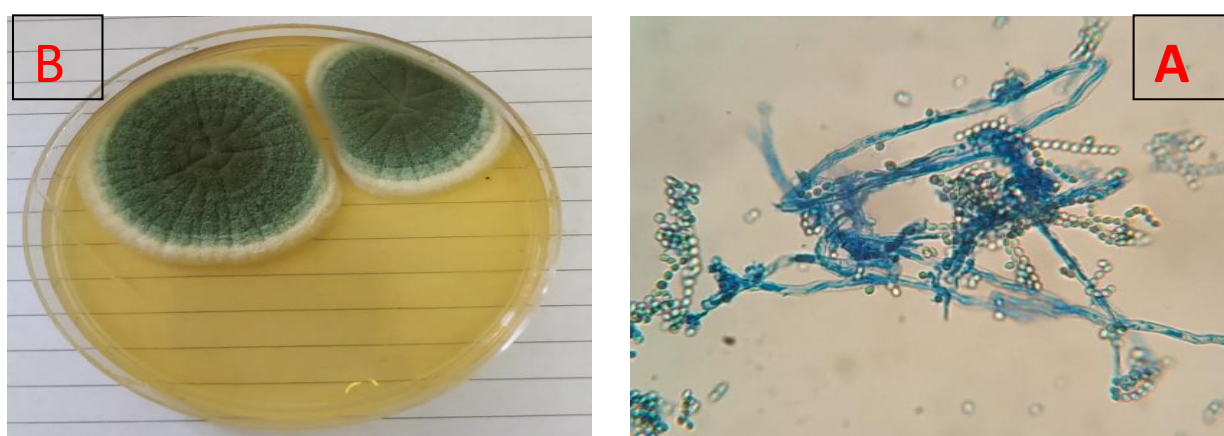
شكل (4-4) يمثل الشكل A الفطر *Aspergillus holmii* تحت المجهر

يمثل الشكل B فطر *Aspergillus holmii* على وسط SDA



شكل (4-5) يمثل الشكل A الفطر *Aspergillus sydowii* تحت المجهر

يمثل الشكل B الفطر *Aspergillus sydowii* على الوسط *SDA*



شكل (4-6) يمثل الشكل A الفطر *Aspergillus ochraceus* تحت المجهر

يمثل الشكل B الفطر *Aspergillus ochraceus* على الوسط *SDA*

Candida tropicalis هو نوع من الخميرة ينتمي إلى جنس المبيضات وهو موجود في بيئات مختلفة، بما في ذلك الجهاز الهضمي والجلد و لقد تم التعرف على المبيضات الاستوائية بشكل متزايد باعتبارها أحد مسببات الأمراض الهامة، وخاصة في الأفراد الذين يعانون من ضعف المناعة والمصابين بفيروس نقص المناعة البشرية / الإيدز و أظهرت الدراسات أن المبيضات الاستوائية يتم اكتشافها بشكل شائع بين مرضى فيروس نقص المناعة البشرية، وخاصة أولئك الذين يعانون من الإسهال المزمن (Awoyeni *et al.*, 2017). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الأبحاث أن المبيضات الاستوائية هي نوع ذو صلة سريريًا وقد يكون السبب الرئيسي الثاني أو الثالث من المبيضات، وخاصة في بلدان أمريكا

الفصل الرابع / النتائج والمناقشة Results & Discussion

اللاتينية وآسيا. علاوة على ذلك، تم عزل المبيضات الاستوائية من براز الأفراد المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية، سواء أولئك الذين يتلقون العلاج المضاد للفيروسات (Hallen-Adams *et al*, 2015).

Aspergillus flavus هي نوع من العفن الذي يوجد بشكل شائع في البيئة مثل التربة والنباتات المتحللة والمحاصيل ويوجد في الجهاز الهضمي للإنسان (Tai, B. *et al.*, 2020) *Geotrichum candidum* هو فطر خيطي يوجد عادة في التربة والمياه والمواد العضوية المختلفة. ومع ذلك، فإن وجوده في العينة قد يشير إلى زيادة أو فرط نمو الفطر و لتحديد سبب زيادة مبيضات *Geotrichum* في العينة، سيكون من المهم النظر في عوامل مختلفة مثل الظروف البيئية، وتوافر المغذيات، ومصادر التلوث المحتملة و يمكن أن تشمل مصادر التلوث المحتملة التربة أو المياه الملوثة، وظروف التخزين غير المناسبة، أو إدخال الفطريات من خلال المعدات أو المواد الملوثة. بالإضافة إلى ذلك، فإن التغيرات في التوازن الميكروبي داخل العينة أو الاضطرابات في النظام البيئي الطبيعي يمكن أن تساهم أيضًا في زيادة *Geotrichum candidum* (Göttlich *et al.* 2002)

الفطر المسبب لمرض geotrichosis هو *Geotrichum candidum* ينتشر المرض بشكل شائع في إصابة الرئة، وكذلك اصابه التهابات الشعب الهوائية والفم والمهبل والجلد والجهاز الهضمي (Etienne *et al.*, 2008)

جاءت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع Wildenbeest وجماعته (2010). الذين عزلوا الفطر *Rhizopus oryzae* من مريض مصاب بالتهاب الكلى المزمن. وهو من الفطريات الانتهازية . وتمكن Hamad وجماعته (2012) من عزل 27 نوعا من الفطريات من عينه براز واحد لشخص افريقي ومن هذه الانواع الفطرية *Rhizopus spp*, *Candida spp*, *Aspergillus spp*, *Cladosporium spp* .

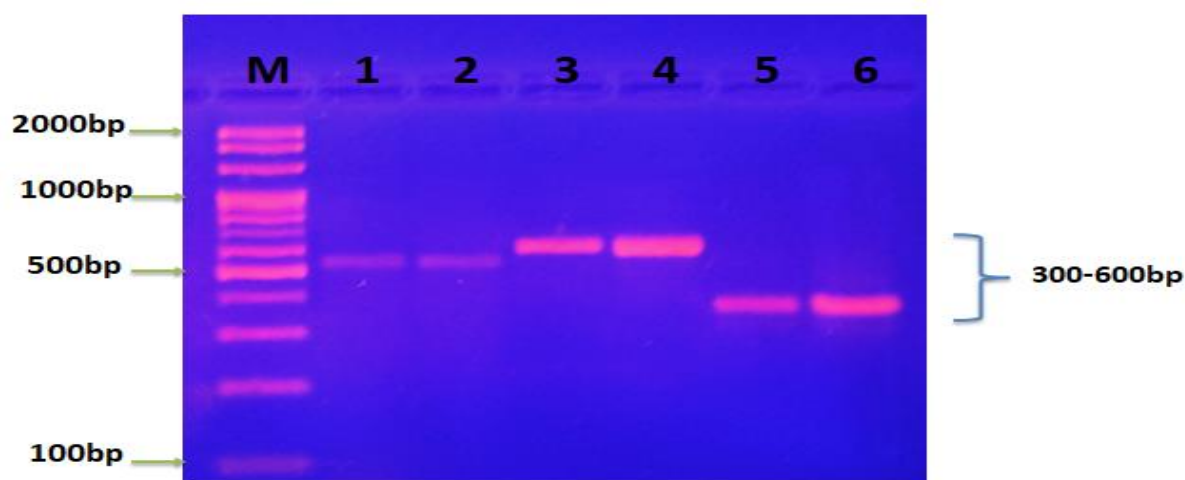
اتفقت نتائج هذه الدراسة مع Hallen-Adams & Suhr (2015) حيث تم التعرف على العديد من أنواع الفطريات في امعاء الاشخاص المصابين بالاسهال ومن هذه الفطريات (*Geotrichum species, Candida species*).

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع Al-Saadi & Musleh (2022) حيث تم عزل انواع عديدة تنتمي الى جنس *Candida* حيث تم جمع العينات من تجويف الفم من اطفال راقدين في مستشفى الاطفال ومستشفى الولادة والامراض النسائية في محافظه كركوك .

4-2 استخلاص الحمض النووي والتشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة

Extraction of nuclear acid and molecular identification of isolated fungi



الشكل (4-7) صورة الترحيل الكهربائي بهلام الاغاروز لنتائج ال PCR (100-2000 bp) لجين (RNA ITS1) في عزلات الفطريات الحفرة (1-2) *Candida tropicalis*. الحفرة (3-4) *Aspergillus flavus*. الحفرة (5-6) *geotricum candidum* .

تحليل محاذاة التسلسل المتعدد لجين الرنا الريبوسومي المبادئ الداخلي المنقول في عزلات الفطريات المحلية غير المعروفة والعزلات ذات الصلة بالفطريات NCBI-Genbank. تم إنشاء تحليل المحاذاة المتعددة باستخدام (أداة المحاذاة Online ClustalW). أظهر تحليل المحاذاة تشابه محاذاة النوكليوتيدات ك (*) والطفرات البديلة في جين RNA الريباسي المبادئ الداخلي بين العزلات.

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

يبين الشكل (4- 8) المحاذاة للقواعد النيتروجينية لجين RNA ITS1 لفطريات *Geotrichum candidum* , *Aspergillus flavus*، *Candida tropicalis* . مقارنة مع العزلات العالمية اذ ان علامة (*) تدل على التشابه العالي بتسلسل القواعد النيتروجينية ،

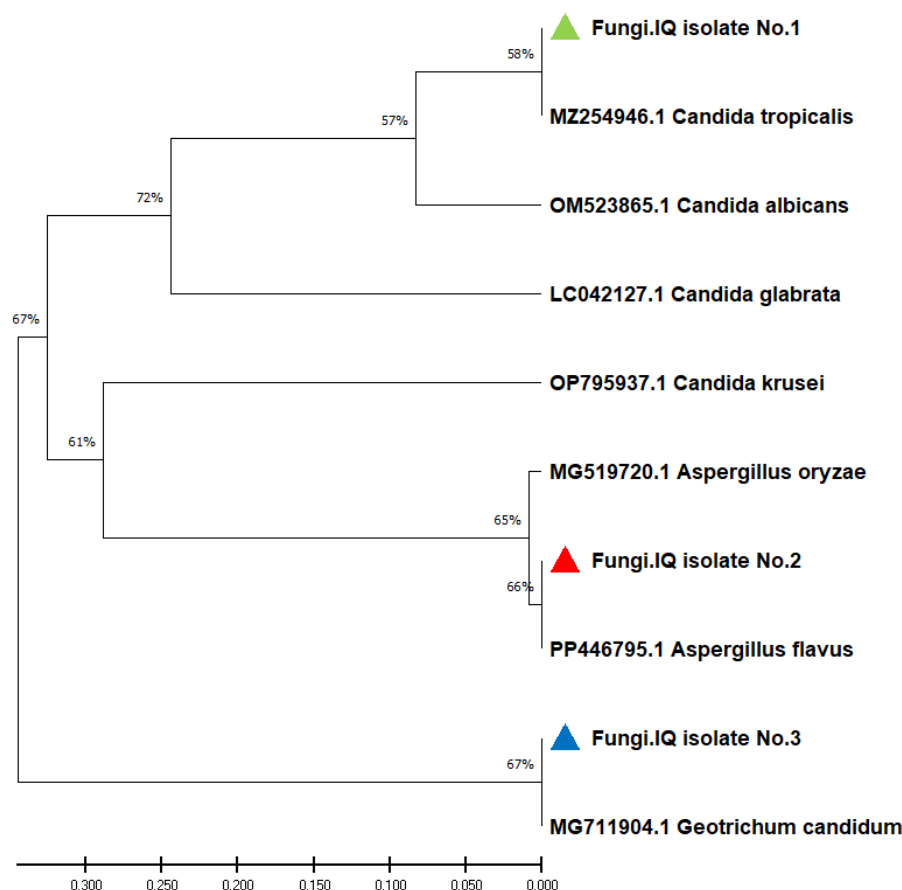
DNA Sequences	Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	Δ	* *
1. Fungi.IQ isolate No.1	A A A C T T T C A A C A A C G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T G A A G A	
2. Fungi.IQ isolate No.2	A A A C T T T C A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C C G G C A T C G A T G A A G A	
3. Fungi.IQ isolate No.3	A A A C T T T T A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C T C G T A T C G A T G A A G A	
4. LC042127.1 Candida glabrata	A A A C T T T C A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T G A A G A	
5. MG519720.1 Aspergillus oryzae	A A A C T T T C A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C C G G C A T C G A T G A A G A	
6. MG711904.1 Geotrichum candidum	A A A C T T T T A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C T C G T A T C G A T G A A G A	
7. MZ254946.1 Candida tropicalis	A A A C T T T C A A C A A C G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T G A A G A	
8. OM523865.1 Candida albicans	A A A C T T T C A A C A A C G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T G A A G A	
9. OP795937.1 Candida krusei	A A A C T T T C A A C A A C G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T G A A G A	
10. PP446795.1 Aspergillus flavus	A A A C T T T C A A C A A T G G A T C T C T T G G T T C C G C A T C G A T G A A G A	

DNA Sequences	Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	Δ	* *
1. Fungi.IQ isolate No.1	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A C G T A A T A T G A A T T G C A G A C G T G A	
2. Fungi.IQ isolate No.2	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A A C T A G T G T G A A T T G C A G A C G T G A	
3. Fungi.IQ isolate No.3	A A C G C A G C G A A A C G C G A T A T T T C T T G T G A A T T G C A G A A G T G A	
4. LC042127.1 Candida glabrata	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A C G T A A T G T G A A T T G C A G A C G T G A	
5. MG519720.1 Aspergillus oryzae	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A A C T A G T G T G A A T T G C A G A C G T G A	
6. MG711904.1 Geotrichum candidum	A A C G C A G C G A A A C G C G A T A T T T C T T G T G A A T T G C A G A A G T G A	
7. MZ254946.1 Candida tropicalis	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A C G T A A T A T G A A T T G C A G A C G T G A	
8. OM523865.1 Candida albicans	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A C G T A A T A T G A A T T G C A G A C G T G A	
9. OP795937.1 Candida krusei	A G C G C A G C G A A A T G C G A T A C C T A G T G T G A A T T G C A G C C G T G A	
10. PP446795.1 Aspergillus flavus	A A C G C A G C G A A A T G C G A T A A C T A G T G T G A A T T G C A G A C G T G A	

DNA Sequences	Translated Protein Sequences	
Species/Abbrv	Δ	* *
1. Fungi.IQ isolate No.1	T C A T C A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C T T T G G T A T T C C A A	
2. Fungi.IQ isolate No.2	T C A T C A G T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C T G G T A T T C C G G	
3. Fungi.IQ isolate No.3	T C A T C A T T T T T T G A A C G C A C A T T G C A C T T T G G G T A T C C C C C	
4. LC042127.1 Candida glabrata	T C A T C A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C T C T G G T A T T C C G G	
5. MG519720.1 Aspergillus oryzae	T C A T C A G T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C T G G T A T T C C G G	
6. MG711904.1 Geotrichum candidum	T C A T C A T T T T T T G A A C G C A C A T T G C A C T T T G G G T A T C C C C C	
7. MZ254946.1 Candida tropicalis	T C A T C A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C T T T G G T A T T C C A A	
8. OM523865.1 Candida albicans	T C A T C A A T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C T C T G G T A T T C C G G	
9. OP795937.1 Candida krusei	T C A T C A G T T C T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C T C G G C A T T C C G G	
10. PP446795.1 Aspergillus flavus	T C A T C A G T C T T T G A A C G C A C A T T G C G C C C C C T G G T A T T C C G G	

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

الشكل (4-9): الشجرة الوراثية لفطريات *Candida tropicalis* , *Geotrichum candidum* , *Aspergillus flavus*



يعد تحليل PCR لجين الحمض النووي الريباسي في عزلات أنواع المبيضات طريقة شائعة الاستخدام لتحديد وتوصيف هذه الكائنات الحية الدقيقة. إنها تسمح للباحثين باستهداف جينات محددة فريدة من نوعها لأنواع المبيضات وتضخيمها باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل. توفر هذه الطريقة معلومات قيمة حول التنوع الجيني والعلاقات التطورية بين أنواع المبيضات المختلفة. ومن ناحية أخرى، فإن الترحيل الكهربائي هو تقنية تستخدم لفصل وتصوير أجزاء الحمض النووي بناءً على حجمها وشحنتها. من خلال استخدام الترحيل الكهربائي مع تحليل PCR، يمكن للباحثين مواصلة تحليل وتوصيف أجزاء الحمض النووي المضخمة من عزلات أنواع المبيضات *Marinho et al., 2010*. الفطريات هي مجموعة مهمة من الكائنات الحية التي تلعب دورًا مهمًا في العمليات البيئية المختلفة. وتشارك في تدوير المغذيات، وتحلل المواد العضوية، والعلاقات التكافلية مع النباتات و من أجل فهم

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

تنوع ووظيفة الأنواع الفطرية، ما يكون التوصيف الجزيئي ضرورياً. يتضمن ذلك تحليل المادة الوراثية للأنواع الفطرية المعزولة، مثل DNA أو RNA، لتحديد تصنيفها وتحديد جينات أو سمات معينة قد تكون مهمة لأدوارها البيئية أو تطبيقاتها المحتملة. يمكن أن يوفر التوصيف الجزيئي أيضاً نظرة ثاقبة للعلاقات التطورية بين الأنواع الفطرية المختلفة ويساعد العلماء على فهم تكيفها مع البيئات المختلفة بشكل أفضل. يمكن أيضاً استخدام تقنيات التوصيف الجزيئي لاكتشاف وتحديد مسببات الأمراض الفطرية التي تسبب الأمراض في النباتات والحيوانات والبشر (Sarwar *et al.*, 2019) ان تطور تكنولوجيا الحمض النووي يمثل إجراء أساسي يوفر إضافة قوية لأساليب التصنيف التقليدية بتحديد أكثر دقة وكفاءة للأنواع الفطرية، لأنها تعتمد على الخصائص المورفولوجية التي يمكن أن تكون متغيرة أو من الصعب مراقبتها. (Teletchea, 2009)

يعد فهم التركيب الجيني للعزلات الفطرية أمراً بالغ الأهمية لمختلف الأبحاث والتطبيقات السريرية. من خلال تحليل التسلسل الجزيئي لجين الرنا الريباسي الداخلي في العزلات الفطرية، يمكن للباحثين الحصول على رؤى قيمة حول العلاقات التطورية والجينية ودور التنبؤات الجوية الدقيقة في مختلف الصناعات (Kusunose & Mahmood, 2016)

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

يبين الجدول (4 -2) التشابه للفطريات/المختبره مع عزلات عالمية مسجلة ضمن (NCIB) بنسب تقارب تراوحت بين (99.95 99.95 99.55)

local isolate	Accession number	Homology sequence identity (%)		
		NCBI Blast identity	NCBI accession number	Identity (%)
local fungi IQNo.1	PP724388.1	<i>Candida tropicalis</i>	MZ254946.1	99.55%
local fungi IQNo.2	PP724390.1	<i>Aspergillus flavus</i>	PP446795.1	99.30%
local fungi IQNo.3		<i>Geotrichum candidum</i>	MG711904.1	99.95%

اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه Wang وجماعته (2004) حيث تم جمع عينتين براز من شخصين مصابين بالتهاب معوي وبعد التشخيص الجزيئي تبينت الانواع الفطريه التاليه في كلا الشخصين *Candida spp* , *Aspergillus clavatus* .

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Gouba وجماعته (2013) حيث تم جمع عينه براز من امراه قوقازيه تبلغ من العمر 27 عاما حيث تم العثور على سبعة أنواع من الفطريات باستخدام تفاعل البلمره المتسلسل. من هذه الفطريات في الامعاء البشريه هي *Aspergillus spp* .

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Shaly وجماعته (2022) حيث قاموا بدراسه الاطفال المصابين بالالتهابات الفطريه المعويه والاسهال الذين يعانون من سوء تغذيه وبعد التشخيص الجزيئي وجد انهم اصابوا بالانواع الفطريه التايه *candidia spp* , *aspergillus spp* .

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Al-sgheer (2023) حيث تم التشخيص الجزيئي لفطر *Candida spp* من عينات مختلفه تم الحصول عليها من المستشفيات في محافظه كربلاء .

3-4 الكشف عن عوامل ضراره الفطريات (افراز الانزيمات)

Detection Of Fungal Virulence Factore (Enzyme Secretion)

كما موضح في الجدول (3-4) ان انزيم *protase* يفرز من كل الفطريات قيد الدراسه وكان الفطر *Geotricum candidum* يفرزه هذا الانزيم بنسب عاليه حيث يكون قطر الترسبات حول

الفصل الرابع / النتائج والمناقشة Results & Discussion

المستعمره الفطريه 29 ملم وقطر الترسبات المتكونه حول فطر *Aspergillus flavus* هي 18 ملم اما بالنسبه لفطر الفطر *Candida atropicalis* فان حجم الهاله المتكونه حول المستعمره صغيره قطرها 5 ملم. اما انزيم phospholipase يتم التحري عنه عن طريق تكوين هاله بيضاء اللون حول المستعمره الفطريه على وسط مح البيض وكان الفطر *Candida atropicalis* يفرزه بنسبه مرتفعه اذ يبلغ قطر الهاله المتكونه حول المستعمره 27 ملم وقطر الهاله المتكونه حول فطر *Geotricum candidum* 13 ملم اما فطر *Aspergillus flavus* يفرزه بنسبه قليله اذ تبلغ قطر الهاله 7 ملم. بسبب انتاج معقد الكالسيوم والاحماض الدهنيه من الدهون المفسفره المتكونه بفعل انزيم phospholipase تظهر ترسبات حول المستعمره (Altaee & Alzubaidy, 2020). بينت النتائج ان انزيم lipase يفرز من الفطريات المختبره بنسبه عاليه عن طريق تكوين هاله بيضاء حول المستعمره الفطريه المتكونه على وسط غذائي يحتوي ماده 80 tween حيث ان فطر *geotricum candidum* يفرزه بنسبه عاليه حيث بلغ معدل قطر الترسيب للفطر 24 ملم اما معدل قطر الترسيب للفطر *candida atropicalis* 25 ملم اما بالنسبه فطر *aspergillus flavus* اذ بلغ قطر الهاله المتكونه حول المستعمره 28 ملم.

للفطريات القابليه على اختراق الانسجه واحداث المرض للعائل بسبب امتلاك الفطريات على العديد من عوامل الضراوه التي تزيد من امراضيتها ومن هذه العوامل هي افراز الانزيمات مثل (Peres et al., 2010) ; protaes, phospholipase

جدول (3-4)

نتائج عوامل ضراوه الفطريات (تكوين الانزيمات)

اسم الفطر			عامل الضراوه (الانزيمات)
Candida tropicalis	Aspergillus flavus	Geotricum candidum	
++	+++	++++	Protase
++++	++	+++	Phospholipase
++++	++++	++++	Lipase

++++ عالي، +++ متوسط ++ ضعيف

قابليه الفطريات على تكوين انزيم phospholipase تزيد من امراضيتها لكونه يحلل الخلايا للعائل ويغير خواصها (الزاملي، 2016).

تتفق هذه النتائج مع Gnat وجماعته (2018) الذين قاموا باختبار إنتاج مجموعه من الانزيمات من الفطريات الجلدية فوجدوا ان أربع عزلات من الفطر *Epidermophyton floccosum* من أصل عشرة منها كانت منتجة لأنزيمات البروتينيز وثمانية منتجة لانزيم اللايبيز وانزيم الفوسفولايبز.

ان قابليه الفطريات على افراز الانزيمات (lipase , phospholipase , protease) التي تساعد في الالتصاق بالخلايا تعد من العوامل التي تزيد من ضراوه الفطريات في العائل المستعمره (Altaee & Alzubaidy, 2020).

تتفق هذه النتائج مع Younes وجماعته (2021) الذين اثبتوا عوامل ضراوه الفطريات للأنواع الفطريه *candida spp* , *aspergillus spp*.

4-4 تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في تثبيط النمو الشعاع الفطريات المعزولة

اوضحت النتائج ومن خلال التحليل الأحصائي تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في تثبيط نمو الفطر *Geotricum candidum* ان هنالك فروقات معنوية، فأن اعلى نسبة تثبيط للمضادات كانت للمضاد *Tinidazol* اذ بلغ قطر المستعمره 9.8 % ونسبه تثبيط 88.87%. اما بالنسبه للمضاد *Nystatine* اذ بلغ قطر المستعمره 9.5 ملم ونسبه تثبيط 88.12%. اما بالنسبه للمضاد *Fluconazole* اذ بلغ قطر المستعمره 14.5 ملم ونسبه تثبيط 81.87 %. والمضاد *Flagyl* بلغ قطر المستعمره 22

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

وبنسبه تثبيط 72.5% و Probiotic bacteria اذ بلغ قطر المستعمره 51.2 ملم وبنسبه تثبيط 36 % بعد مقارنتها بالسيطره اذ بلغ معدل قطر المستعمره 80 ملم وبنسبه تثبيط 0.0 % وحسب ماموضح في الجدول (4-5) وعند مستوى معنويه (0.05) .

جدول رقم (4-4)

تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في التثبيط لنمو ل *Geotricum candidum*

المضاد	التركيز %	حجم المستعمرة (ملم)	نسبة التثبيط %
<i>Nystatine</i>	30%	9.5	88.12
<i>Fluconazole</i>	30%	14.5	81.87
<i>Flagyl</i>	30%	22	72.5
<i>Tinidazol</i>	30%	8.9	88.87
<i>Probiotic bacteria</i>	30%	51.2	36
السيطرة	0.0	80	0.0
LSD (p≤0.05) قيمة			6.908

(p≤0.05)* الحروف المختلفة دلالة على وجود اختلاف معنوي

اما بالنسبه للفطر *Aspergellus flavus* فإن اعلى نسبة تثبيط للمضادات كانت للمضاد Nystatine اذ بلغ قطر المستعمره 12.2 ملم وبنسبه تثبيط 84.75% . اما بالنسبه للمضاد Tinidazol اذ بلغ قطر المستعمره 28.7 ملم وبنسبه تثبيط 64.12%. اما بالنسبه للمضاد Fluconazole اذ بلغ قطر المستعمره 17.4 ملم وبنسبه تثبيط 78.25% . والمضاد Flagyl بلغ قطر المستعمره 6.4 وبنسبه تثبيط 92% . و Probiotic bacteria اذ بلغ قطر المستعمره 25.8 وبنسبه تثبيط 67.75% , بعد مقارنتها بمجموعه السيطره اذ بلغ معدل قطر المستعمره 80 % وبنسبه تثبيط 0.0 وعند مستوى معنويه 5% . وكما مبين في الجدول (4-5) .

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

جدول رقم (4-5) تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في التثبيط لنمو ل

Aspergillus flavus

المضاد	التركيز %	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط %
<i>Nystatine</i>	%30	11.2	84.75
<i>Fluconazole</i>	%30	17.4	78.25
<i>Flagyl</i>	%30	6.4	92
<i>Tinidazol</i>	%30	28.7	64.12
<i>Probiotic bacteria</i>	%30	25.8	67.75
السيطرة	0.0	80	0.0
LSD ($p \leq 0.05$) قيمة			5.112

$p \leq 0.05$ - الحروف المختلفة دلالة وجود اختلاف معنوي

اما بالنسبة للفطر *Candida tropicali* فإن أعلى نسبة تثبيط للمضادات كانت للمضاد Tinidazol اذ بلغ قطر المستعمرة 7.5 ملم ونسبه تثبيط 90.62% . اما بالنسبة للمضاد Nystatine اذ بلغ قطر المستعمرة 15.4 ملم ونسبه تثبيط 80.75% . اما بالنسبة للمضاد Fluconazole اذ بلغ قطر المستعمرة 9.1 ملم ونسبه تثبيط 88.62% . والمضاد Flagyl بلغ قطر المستعمرة 9.9 ونسبه تثبيط 87.62% . و Probiotic bacteria اذ بلغ قطر المستعمرة 12.9 ونسبه تثبيط 83.87% . بعد مقارنتها بمجموعه السيطرة اذ بلغ معدل قطر المستعمرة 80 ملم ونسبه تثبيط 0.0 % وعند مستوى معنويه 5% . وكما موضح في الجدول (4-6) .

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

جدول رقم (4-6) تأثير تراكيز مختلفة للمضاد الفطري في تثبيط نمو الفطر

Candida tropicalis

المضاد	التركيز %	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط %
Nystatine	30%	15.4	80.75
Fluconazole	30%	9.1	88.62
Flagyl	30%	9.9	87.62
Tinidazol	30%	7.5	90.62
Probiotic bacteria	30%	12.9	83.87
السيطرة	0.0	80	0.0
LSD (p≤0.05) قيمة			9.335
			3.026

تُستخدم الأدوية المضادة للفطريات على نطاق واسع لعلاج الالتهابات الفطرية، بما في ذلك تلك التي تسببها أنواع المبيضات. يمكن أن تختلف فعالية هذه الأدوية المضادة للفطريات في تثبيط نمو المبيضات الاستوائية اعتمادًا على التركيز الذي يتم إعطاؤه به. لتحديد التركيز الأمثل لمضادات الفطريات لتثبيط نمو المبيضات الاستوائية، يمكن إجراء دراسة حيث يتم اختبار تركيزات مختلفة من مضادات الفطريات ضد ثقافات المبيضات الاستوائية (Rajkowska, 2019).

تطابق هذه النتائج مع ماتوصل اليه (Magnusson 2003) اذ اختبر النشاط المضاد

للفطريات لعدد من عزالت Lactobacillus وأظهرت تثبيط قوي ضد A. fumigatus.

. اثبت Kovács وجماعته (2011) فإن المضادات الفطرية يمنع بشكل فعال نمو العديد من الفطريات، بما في ذلك مسببات الأمراض البشرية المحتملة، بطريقة تعتمد على تركيز هذه المضادات الفطرية في الوسط الزراعي و عندما يتم زراعة الفطريات في وسط زرعى يحتوي على المضادات يحدث إنبات غير طبيعي ومتأخر للأبواغ ويتم تدمير أنابيب الإنبات تمامًا و ينخفض النمو.

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

وتتفق هذه النتائج مع (Gerbaldo) وجماعته (2012) إذ أعطت المضادات الفطرية تثبيط نمو جميع سلالات الفطر *Aspergillus spp* المختبرة.

وذكر (محمود واحمد 2017) إن البكتريا probiotic لها القابلية على تثبيط نمو فطريات المنتجة لسموم *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus flavus*.

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Fadel وجماعته (2022) حيث اثبت ان المضادات الفطرية البنزيميدازول ومشتقاتها لها تأثير مضاد للأنواع الفطرية *Candida spp*, *Aspergillus spp*.
4-5 تأثير المستخلصات الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) في تثبيط النمو

الشعاعي للفطريات

اظهرت نتائج استخدام مساحيق المستخلصات النباتية ان لها تأثيرا مثبطا على النمو الشعاعي للفطريات المختبرة وأوضحت نتائج التحليل الأحصائي ان ثمار البلوط سجل أعلى نسبة تثبيط (77%) ضد الفطر *Geotricum candidum* وبمعدل قطر المستعمره 18.4 مع فروقات معنوية مع ثمار البلوط وعينة السيطرة اما مسحوق قشور الرمان كان بنسبه تثبيط 71.37% وبمعدل قطر المستعمره 22.9 ملم كما مبين في الجدول (4-7).

جدول رقم (4-7)

تأثير تركيز 30 % للمستخلصات الطبيعية ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو

الفطر *Geotricum candidum*

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط %
ثمار البلوط	30 %	18.4	77
مسحوق الرمان	30 %	22.9	71.37
السيطرة	0.0	80	0.0
قيمة LSD ($p \leq 0.05$)		5.109	6.221

وضح جدول رقم (4-8) تأثير تركيز 30% للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* وكانت أعلى نسبة تثبيط لمسحوق الرمان (71.87 %) وبمعدل قطر

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

مستعمره 22.5 ملم . ونسبه تثبيط ثمار البلوط 63 % وبمعدل قطر مستعمره 29.6 ملم مع وجود فروقات معنوية بعد التحليل الأحصائي.

جدول رقم (4-8)

تأثير تركيز 30 % للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر

Aspergillus flavus

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط %
ثمار البلوط	30 %	29.6	63
مسحوق الرمان	30 %	22.5	71.87
السيطرة	0.0	80	0.0
قيمة LSD ($p \leq 0.05$)			
		8.103	6.294

وضح جدول رقم (4-9) تأثير تركيز 30% للمساحيق ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر *Candida tropicalis* وكانت أعلى نسبة تثبيط لثمار البلوط (82%) وبمعدل قطر مستعمره 14.4 ملم . ونسبه تثبيط قشور الرمان 78.12 % وبمعدل قطر مستعمره 17.5 ملم مع وجود فروقات معنوية بعد التحليل الأحصائي .

جدول رقم (4-9)

تأثير تركيز 30 % للمستخلصات الطبيعية ثمار البلوط وقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر

Candida tropicalis

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل قطر المستعمرة (مم)	نسبة التثبيط %
ثمار البلوط	30 %	14.4	82
مسحوق الرمان	30 %	17.5	78.12
السيطرة	0.00	80	0.0
قيمة LSD ($p \leq 0.05$)			
		3.861	5.912

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

تعد الاصابات الفطرية مشكلة منتشرة في جميع أنحاء العالم، حيث تؤثر على الكائنات الحية المختلفة بما في ذلك النباتات والحيوانات والبشر. ويمكن أن تؤدي هذه العدوى إلى خسائر اقتصادية كبيرة في الزراعة، كما تشكل خطراً على صحة الإنسان. بحثت الدراسات السابقة في إمكانات المنتجات الطبيعية كعلاجات بديلة للالتهابات الفطرية مثل زيت شجرة الشاي وزيت الأوريغانو وزيت اللافندر لإظهار نشاط مضاد للفطريات ضد مجموعة واسعة من الأنواع الفطرية، بما في ذلك المبيضات البيضاء، الرشاشيات النيابة، والفطريات الجلدية. (Feyaerts et al ., 2018).

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Karam (2020) الذي اثبت ان مستخلصات قشور الرمان لها دور تثبيطي عالي لنمو الفطريات .

تنتمي المنتجات الطبيعية إلى أكبر مجموعة من المركبات النشطة بيولوجياً، وهي مشتقة من النباتات أو الحيوانات أو الكائنات الحية الدقيقة. لديهم مجموعة واسعة من التأثيرات البيولوجية المضادة للسرطان، المضادة للالتهابات والمضادة للميكروبات والمضادة للبكتيريا والمضادة للفطريات، وليس لها آثار جانبية ولا آثار سمية، كما أنها تظهر فعالية عالية في المقاومة للخلايا الفطرية، بسبب قدرتها على التفاعل مع العديد من الأهداف البيولوجية. (Zhang et al.2020).

استخدم cai و اخرون (2021) مسحوق الرمان كبديل طبيعي للمبيدات الحشرية الكيميائية والسيطرة على نمو الفطريات .

تتفق هذه النتائج مع mitsagga و اخرون (2021) الذي وجد في دراسته ان قشور الرمان والبرتقال وثمار الزيتون لها تأثير مثبط قوي جدا ضد الفطريات *Aspergillus spp.*

4-6 تأثير تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه و Probiotic bacteria

على الوزن الجاف للفطريات

أكدت النتائج بالمضادات الفطرية (Fluconazole ، Flagyl ، Nystatine, Tinidazol ، Probiotic bacteria) لها تأثير مثبط في الوزن الجاف للفطريات المختبره ، اذ اظهرت المضادات الفطرية قدرتها التثبيطييه العاليه في نمو الفطريات المتمثله في معدلات انخفاض الوزن الجاف لهذه الفطريات بصورة معنويه بالقياس مع معاملات المقارنه عند مستوى احتمال (0.05). تبين من التحليل الاحصائي لنتائج تأثير المضادات الفطريه في الوزن الجاف للفطريات المختبره ان التراكيز العاليه للمضادات الفطريه اثرت بصورة عاليه على معدلات الوزن الجاف لجميع الفطريات المختبره. بالنسبه

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

للفطر *Geotricum candidum* فأن أعلى نسبة تثبيط للمضادات كانت للمضاد Nystatine إذ بلغ الوزن الجاف 1.60 غم ونسبه تثبيط 91.66%. أما بالنسبة للمضاد Tinidazol إذ بلغ الوزن الجاف 3.90 غم ونسبه تثبيط 79.68%. أما بالنسبة للمضاد Fluconazole إذ بلغ الوزن الجاف 2.87 غم ونسبه تثبيط 85%. والمضاد Flagyl بلغ الوزن الجاف 3.23 a ونسبه تثبيط 83.17%. و Probiotic bacteria إذ بلغ معدل الوزن الجاف 5.33 ونسبه تثبيط 72.23%. بعد مقارنتها بالسيطره إذ بلغ معدل الوزن الجاف 19.20 ونسبه تثبيط 0.0 a وحسب ماموضح في الجدول (4-5) وعند مستوى معنويه 0.05 . وكما مبين في الجدول (4-13).

جدول رقم (4_10)

تأثير تراكيز مختلفه للمضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر *Geotricum candidum*

المضاد	التركيز %	معدل الوزن الجاف/ غم المعدل ± الانحراف القياسي	نسبه التثبيط
Nystatine	% 30	0.0±1.60 a	% 91.66
Fluconazole	% 30	0.1±2.87 b	%85
Flagyl	% 30	0.2±3.23 c	%83.17
Tinidazole	% 30	0.0±3.90 c	% 79.86
Probiotic bacteria	% 30	0.2±5.33 d	%72.23
السيطره	% 30	0.0±19.20 e	% 0.0
قيمة LSD (p≤0.05)		0.128	

بالنسبه لفطر *Aspergillus flavus* فأن أعلى نسبة تثبيط للمضاد Nystatine إذ بلغ الوزن الجاف 1.70 غم ونسبه تثبيط 91.5% ، و Probiotic bacteria إذ بلغ الوزن الجاف 5.77 غم ونسبه تثبيط 71.3%. أما بالنسبة للمضاد Tinidazol إذ بلغ الوزن الجاف 4.80 غم ونسبه تثبيط 76.20%. أما بالنسبة للمضاد Fluconazole إذ بلغ الوزن الجاف 3.83 غم ونسبه تثبيط 81%. والمضاد flagyl إذ بلغ معدل الوزن الجاف 4.17 ونسبه تثبيط 79.3%. بعد مقارنتها بالسيطره إذ بلغ معدل الوزن الجاف 20.17 ونسبه تثبيط 0.0 وحسب ماموضح في الجدول (4-14) وعند مستوى معنويه 0.05 .

جدول رقم (4-11)

تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر *Aspergellus flavus*

المضاد	التركيز %	معدل الوزن الجاف / غم	نسبه التثبيط
		المعدل ± الانحراف القياسي	
nystatine	% 30	0.0±1.70 a	% 91.5
fluconazol	% 30	0.4±3.83 b	%81
flagyl	% 30	0.2±4.17 bc	% 79.3
tinidazol	% 30	0.8±4.80 c	% 76.20
Probiotic bacteria	% 30	0.7±5.77 d	% 71.3
السيطره	% 30	2.2±20.17 e	% 0.0
قيمة LSD (p≤0.05)		0.110	

بالنسبه لفطر *Candida atropicalis* فأن اعلى نسبه تثبيط للمضادات كانت للمضاد nystatine اذ بلغ الوزن الجاف 1.27 غم ونسبه تثبيط 92.5%. اما بالنسبه للمضاد Tinidazol اذ بلغ الوزن الجاف 3.4 غم ونسبه تثبيط 80%. اما بالنسبه للمضاد Fluconazole اذ بلغ الوزن الجاف 3.83 غم ونسبه تثبيط 11.8%. flagyl اذ بلغ معدل الوزن الجاف 3.63 ونسبه تثبيط 78.6%، و Probiotic bacteria اذ بلغ الوزن الجاف 3.87 غم ونسبه التثبيط 77.23 % ، بعد مقارنتها بالسيطره اذ بلغ معدل الوزن الجاف 17 غم ونسبه تثبيط 0.0 وعند مستوى معنويه 5%. وكما مبين في الجدول (4-15).

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

جدول رقم (4-12) تراكيز مختلفه من المضادات الفطريه على معدل الوزن الجاف لفطر

Candida atropicalis

المضاد	التركيز %	معدل الوزن الجاف/ غم	نسبه التثبيط
		المعدل±الانحراف القياسي	
nystatine	% 30	0.1±1.27 a	%92.5
fluconazol	% 30	0.2±3.20 b	% 81.1
Flagyl	% 30	0.2±3.63 b	% 78.6
tinidazol	% 30	0.4±3.40 b	% 80
Probiotic bacteria	% 30	0.1±3.87 b	% 77.23
السيطره	% 30	1.6±17.00 c	% 0.0
قيمة LSD (p≤0.05)		0.101	

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Kim (2005) الذي وجد ان البكتريا النافعه تثبط نمو الفطر

. *A. fumigatus*

كما تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Melkoumov وجماعته (2013) الذي وجدوا ان العقاران المضادان للفطريات اللذان يستخدمان بشكل متكرر لعلاج التهاب الفم والامعاء هما nystatin and fluconazole. ووجدوا ان المضاد بالفطري nystatin هو عقار مضاد للفطريات من مجموعة البولييين له تأثير جيد في مكافحة الفطريات بالأخص *Candida spp*.

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Jørgensen وجماعته (2017) الذي وجد قدرة البكتيريا الحيوية المضادة للفطريات وبالاخص *Candida species* الفموية والمعوية .

4-7 تأثير تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعيه (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات

أكدت النتائج ان المستخلصات الطبيعيه (ثمار البلوط وقشور الرمان) لها تأثير مثبط في الوزن الجاف للفطريات المختبره اذ اظهرت المستخلصات الطبيعيه قدرتها التثبيطيه العاليه في نمو الفطريات المتمثله في معدلات انخفاض الوزن الجاف لهذه الفطريات بصوره معنويه بالقياس مع معاملات المقارنه عند مستوى احتمال 0.05 . تبين من التحليل الاحصائي لنتائج تأثير المستخلصات الطبيعيه في الوزن

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

الجاف للفطريات المختبره ان التراكيز العاليه للمضادات الفطريه اثرت بصورة عاليه على معدلات الوزن الجاف لجميع الفطريات المختبره.

وجد سرحان (2001) الذي درس تأثير المستخلصات الطبيعیه على نمو الفطريات، حيث اعطت تثبيطاً واضحاً لمعدل النمو الجاف للفطريات.

وجد ان الفطر للفطر *Geotricum candidum* اعلى نسبة تثبيط مستخلص (ثمار البلوط وقشور الرمان) كانت لثمار البلوط اذ بلغ الوزن الجاف 9.57 غم ونسبه تثبيط 60.5%. اما بالنسبه لقشور الرمان اذ بلغ الوزن الجاف 10.13 غم ونسبه تثبيط 58.19%. بعد مقارنتها بالسيطره اذ بلغ معدل الوزن الجاف 24.23 ونسبه تثبيط 0.0 وعند مستوى معنويه 5% وكما مبين في الجدول (4-16).

جدول رقم (4-13) تأثير تراكيز مختلفه من المستخلصات الطبيعیه على معدل الوزن

الجاف لفطر *Geotricum candidum*

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل الوزن الجاف غم	نسبه التثبيط
		المعدل $\pm$ الانحراف القياسي	نسبه التثبيط
ثمار البلوط	30 %	0.4 $\pm$ 9.57 a	60.5 %
قشور الرمان	30 %	0.1 $\pm$ 10.13 a	58.19 %
السيطره	30 %	0.2 $\pm$ 24.23 b	0.0 %
قيمة (p $\leq$ 0.05) LSD		0.369	

* الحروف المختلفه دلالة على المعنوية (p $\leq$ 0.05)

بالنسبه لفطر *Aspergillus flavus* فأن اعلى نسبة تثبيط مستخلص (ثمار البلوط وقشور الرمان) كانت لثمار البلوط اذ بلغ الوزن الجاف 10.87 غم ونسبه تثبيط 96.1%. اما بالنسبه لقشور الرمان اذ بلغ الوزن الجاف 12.17 غم ونسبه تثبيط 39.6%. بعد مقارنتها بمجموعه السيطره اذ بلغ معدل الوزن الجاف 19.5 ونسبه تثبيط 0.0 وعند مستوى معنويه 5% وكما مبين في الجدول (4-17).

جدول رقم (4-14)

تراكيز مختلفة من المستخلصات الطبيعية على معدل الوزن الجاف لفطر

Aspergillus flavus

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل الوزن الجاف غم	نسبة التثبيط
		المعدل ± الانحراف القياسي	
ثمار البلوط	% 30	0.1±10.87 a	% 96.1
قشور الرمان	% 30	0.2±12.17 a	% 39.6
السيطرة	% 30	1.3±20.17 b	% 0.0
قيمة LSD (p≤0.05)		0.078	

بالنسبة لفطر *Candida atropicalis* فإن أعلى نسبة تثبيط مستخلص (ثمار البلوط وقشور الرمان) كانت لقشور الرمان إذ بلغ الوزن الجاف 4.17 غم ونسبة تثبيط 75.4%. أما بالنسبة لثمار البلوط إذ بلغ الوزن الجاف 5.77 غم ونسبة تثبيط 66%. بعد مقارنتها بمجموعه السيطرة إذ بلغ معدل الوزن الجاف 17 ونسبة تثبيط 0.0% وعند مستوى معنوية 5%. وكما مبين في الجدول (4-18).

جدول رقم (4-15) تراكيز مختلفة من المستخلصات الطبيعية على معدل الوزن الجاف لفطر

Candida tropicalis

المنتج الطبيعي	التركيز %	معدل الوزن الجاف غم	نسبة التثبيط
		المعدل ± الانحراف القياسي	
ثمار البلوط	% 30	0.6±5.77 b	% 66
قشور الرمان	% 30	0.3±4.17 a	% 75.4
السيطرة	% 30	1.8±17.00 c	% 0.0
قيمة LSD (p≤0.05)		0.135	

وجد سرحان (2001) الذي درس تأثير المستخلصات الطبيعية على نمو الفطريات، حيث أعطت تثبيطاً واضحاً لمعدل النمو الجاف للفطريات.

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Višnjevec وجماعته (2017) إذ اثبت ان مستخلصات الإيثانول من القشرة الخارجية والقشرة الوسطى لقشور الرمان لها قدره تثبيط عاليه للفطريات *Candida albicans*،، *Candida parapsilosis*، *Rhodotorula mucilaginosa*، والاصابات البكتيرية المعوية مثل (*Escherichia coli*).

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Lajnef وجماعته (2018) المستخلصات المائية من لحاء Melia azedarach L و Punica granatum L. (الرمان) لها تأثير فعال على الوزن الجاف للفطريات وتنشيط الفطريات.

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Sánchez-Hernández وجماعته (2022) الذي وجدوا ان استخدام لحاء وثمار شجرة البلوط Quercus spp بشكل متكرر كدواء لعلاج الإسهال والنفير والتهايات الجلد والحلق. ووجد ايضا ان مستخلصات الميثانول من Quercus spp. لها تأثير مضاد للبكتيريا والفطريات.

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Zghair & Hashim (2023) أظهر المستخلص الكحولي لقشر الرمان قدرة استثنائية وفعالة على تنشيط الفطريات في جميع العزلات عند مقارنتها بمضادات الفطريات الكيميائية.

جدول (4_16) يمثل هذا الجدول تأثير المضادات الفطرية و البكتريا النافعة والمستخلصات الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) على النمو الشعاعي للفطريات *Candida tropicalis* , *Geotrichum candidum* , *Aspergillus flavus*

ت	الفطريات	التركيز %	نسبة التنشيط %				
			Nystatine	fluconazol	flagyl	tinidazol	Probiotic bacteria
1	<i>Geotricum candidum</i>	%30	88.12	81.87	72.5	88.87	36
2	<i>Aspergillus flavus</i>	%30	84.75	78.25	92	64.12	67.75
3	<i>Candida Tropicalis</i>	%30	80.75	88.62	87.62	90.62	83.87

Results & Discussion الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

جدول (4_17) يمثل هذا الجدول تأثير المضادات الفطرية و البكتريا النافعة والمستخلصات الطبيعية (ثمار البلوط وقشور الرمان) على الوزن الجاف للفطريات *Candida tropicalis* , *Geotrichum candidum* , *Aspergillus flavus*

ت	الفطريات	التركيز %	نسبة التثبيط %					
			Nystatine	fluconazol	flagyl	tinidazol	Probiotic bacteria	ثمار البلوط قشور الرمان
1	<i>Geotricum Candidum</i>	%30	91.66	85	83.17	79.86	72.23	60.5
2	<i>Aspergillus flavus</i>	%30	91.5	81	79.3	76.20	71.3	96.1
3	<i>Candida tropicalis</i>	%30	92.5	81.1	78.6	80	77.23	66

الاستنتاجات والتوصيات

Recommendations&Conclusions

الاستنتاجات Conclusions

- 1- تم عزل اثنا عشر نوعا من الفطريات المرافقة للاسهال.
- 2- تم عزل 1643 عذلة فطريه من مرضى الاسهال موزعه بين الاطفال والشباب وكبار السن
- 3- اعلى نسبه اصابه للفطريات في كبار السن اذ بلغت عدد العزلات 1023 عزله .
- 4- اعلى تردد للفطريات المرفقة للاسهال هي *Candida tropicalis* , *Aspergillus flavus* و *Geotricum candidum* .
- 5- وجود تقارب جيني بين الفطريات المشخصه المحليه والعزلات العالميه .
- 6- احتواء الفطريات المعزوله على انزيمات محلله وهي البروتيز والايبيز والفوسفولايبيز .
- 7- مساحيق قشور الرمان وثمار البلوط حاويه على مركبات فعاله لها دور تثبيطي عالي لنمو الفطريات الممرضه.

التوصيات Recommendation

- 1- ضرورة اختبار التأثير التثبيطي للمضادات المستخدمة والبروبايتك بكتريا ومساحيق قشور الرمان وثمار البلوط على انبات الابواغ للفطريات المختبره.
- 2 -تقييم تأثير البكتريا النافعة والمضادات الفطرية ومسحوق قشور الرمان وثمار البلوط على النمو للبكتريا الممرضه والفايروسات .
- 3-الكشف عن عوامل الضراوه للفطريات المرافقة للاسهال جينيا .
- 4-توعية افراد المجتمع بضرورة استخدام المركبات الطبيعية والبكتريا النافعة لعلاج حالات الاسهال كبدائل عن المركبات الكيميائية ذات الاثار الجانبية .

المصادر

References

المصادر باللغة الانكليزية

- Altaee, R.Q. and Alzubaidy, R.Q.,** 2020. Isolation and diagnosis of *Candida albicans* Yeast from patients infected with oral candidiasis in Mosul city and study its activity in production of phospholipase and hemolysin. *Journal of Education and science* (ISSN 1812-125x), 29(2), pp.133-148.
- Annon, M.R. and Jasim, M.I.,** 2015. Determining the optimum culture's conditions for protease production from *Metarhizium anisopliae*. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, 20(4), pp.94-111.
- Awoyeni, A., Olaniran, O., Odetoyin, B., Hassan-Olajokun, R., Olopade, B., Afolayan, D., & Adekunle, O.** (2017). Isolation and evaluation of *Candida* species and their association with CD4+ T cells counts in HIV patients with diarrhoea. *African Health Sciences*, 17(2), 322-329.
- Bahmani, M., Forouzan, S.H., Fazeli-Moghadam, E., Rafieian-Kopaei, M., Adineh, A. and Saberianpour, S.H.,** 2015. Oak (*Quercus branti*): an overview. *J chem pharm res*, 7(1), pp.634-9.
- Banerjee, P., Kaur, R. and Uppal, B.,** 2013. Study of fungal isolates in patients with chronic diarrhea at a tertiary care hospital in north India. *Journal de mycologie médicale*, 23(1), pp.21-26.
- Barman, A., Gohain, D., Bora, U. and Tamuli, R.,** 2018. Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. *Microbiological Research*, 209, pp.55-69.
- Cai, M., Zhang, G., Li, C., Chen, X., Cui, H. and Lin, L.,** 2021. *Pleurotus eryngii* polysaccharide nanofiber containing pomegranate peel polyphenol/chitosan nanoparticles for control of *E. coli* O157: H7. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, pp.939-949.

- Chandrasekaran, M., Thangavelu, B., Chun, S.C. and Sathiyabama, M., 2016. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. *Journal of General Plant Pathology*, 82, pp.233-239.
- Cheraghi, M. and Babadi, F.**, 2019. Antibacterial Effects of Oak Fruit, Jaft, and Jaftex Herbal Mouthwash: A Review.
- Dadar, M., Tiwari, R., Karthik, K., Chakraborty, S., Shahali, Y. and Dhama, K.**, 2018. *Candida albicans*-Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control—An update. *Microbial pathogenesis*, 117, pp.128-138.
- DeAngelis, Y.M., Saunders, C.W., Johnstone, K.R., Reeder, N.L., Coleman, C.G., Kaczvinsky Jr, J.R., Gale, C., Walter, R., Mekel, M., Lacey, M.P. and Keough, T.W.**, 2007. Isolation and expression of a *Malassezia globosa* lipase gene, LIP1. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(9), pp.2138-2146.
- Dennehy, P.H.**, 2019. Infectious Gastroenteritis: diarrhea with fever. *Introduction to Clinical Infectious Diseases: A Problem-Based Approach*, pp.157-168.
- Dixit, S. N . & Tripathy , S. C. & Upadhyey , R. R .** 1976 The Dn, Suprapta. 2016. "A Review of Tropical Plants with Antifungal Activities against Fungal Pathogens" <https://doi.org/10.20944/preprints201610.0049.v1>
- Dodington, D.W., Nowak, K.M. and Chetty, R.**, 2022. Infections in the gastrointestinal tract that can mimic malignancy. *Diagnostic Histopathology*, 28(10), pp.435-448.
- Egbuta, M.A., Mwanza, M. and Babalola, O.O.**, 2017. Health risks associated with exposure to filamentous fungi. *International journal of environmental research and public health*, 14(7), p.719.
- Ehrmann, M. and Clausen, T.**, 2004. Proteolysis as a regulatory mechanism. *Annu. Rev. Genet.*, 38(1), pp.709-724.
- Etienne, A., Datry, A., Gaspar, N., Morel, V., Delabesse, E., Lmimouni, B., Vernant, J.P. and Dhédin, N.**, 2008. Successful treatment of disseminated

Geotrichum capitatum infection with a combination of caspofungin and voriconazole in an immunocompromised patient. *Mycoses*, 51(3), pp.270-272.

Fadel, M.A., Ali, D.S. and Mousa, H.K., 2022. Synthesis and Characterization of New benzimidazole-nitrone Derivatives and Study of Their Effect as Anti-fungal. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, 27(1), p.26.

Feyaerts, A.F., Mathé, L., Luyten, W., De Graeve, S., Van Dyck, K., Broekx, L. and Van Dijck, P., 2018. Essential oils and their components are a class of antifungals with potent vapour-phase-mediated anti-Candida activity. *Scientific reports*, 8(1), p.3958.

Fujita, S.I., Senda, Y., Nakaguchi, S. and Hashimoto, T., 2001. Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. *Journal of clinical microbiology*, 39(10), pp.3617-3622.

Gerbaldo, G.A., Barberis, C., Pascual, L., Dalcero, A. and Barberis, L., 2012. Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. *FEMS microbiology letters*, 332(1), pp.27-33.

Ghaffari, H.R., Poursamimi, J., Soofi, D. and Sheibak, A., 2023.

Cytoprotective Effects of Hydro-extracts of the Inner Bark of the Oak Tree Fruit (Jaft) on the Healing Process of Aspirin-Induced Gastric Ulcers in Rats.

International Journal of Basic Science in Medicine, 8(3), pp.115-121.

Gnat, S., Łagowski, D., Nowakiewicz, A. and Zięba, 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), pp.700-709.

Gomaa, E.Z., 2020. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113(12), pp.2019-2040.

González-Rodríguez, M.I., Nurminen, N., Kummola, L., Laitinen, O.H.,

Oikarinen, S., Parajuli, A., Salomaa, T., Mäkelä, I., Roslund, M.I.,

Sinkkonen, A. and Hyöty, H., 2022. Effect of inactivated nature-derived

microbial composition on mouse immune system. Immunity, Inflammation and Disease, 10(3), p.e579.

Göttlich, E., van der Lubbe, W., Lange, B., Fiedler, S., Melchert, I., Reifenrath, M., Flemming, H.C. and de Hoog, S., 2002. Fungal flora in groundwater-derived public drinking water. International journal of hygiene and environmental health, 205(4), pp.269-279.

Gouba, N., & Drancourt, M. (2015). Digestive tract mycobiota: a source of infection. Medecine et maladies infectieuses, 45(1-2), 9-16.

Gouba, N., Raoult, D. and Drancourt, M., 2013. Plant and fungal diversity in gut microbiota as revealed by molecular and culture investigations. PloS one, 8(3), p.e59474.

Grjibovski, A.M., Ivanov, S.V. and Gorbatova, M.A., 2016. Analysis of quantitative data in three or more independent groups using Statistica and SPSS software: parametric and non-parametric tests.

Hallen-Adams, H.E., Kachman, S.D., Kim, J., Legge, R.M. and Martínez, I., 2015. Fungi inhabiting the healthy human gastrointestinal tract: a diverse and dynamic community. Fungal Ecology, 15, pp.9-17.

Hallen-Adams, H.E., Kachman, S.D., Kim, J., Legge, R.M. and Martínez, I., 2015. Fungi inhabiting the healthy human gastrointestinal tract: a diverse and dynamic community. Fungal Ecology, 15, pp.9-17.

Hamad, I., Sokhna, C., Raoult, D. and Bittar, F., 2012. Molecular detection of eukaryotes in a single human stool sample from Senegal. PloS one, 7(7), p.e40888.

Hanafy, S.M., Abd El-Shafea, Y.M., Saleh, W.D. and Fathy, H.M., 2021. Chemical profiling, in vitro antimicrobial and antioxidant activities of pomegranate, orange and banana peel-extracts against pathogenic microorganisms. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19(1), p.80.

- Hemaid, A.S.S., Abdelghany, M.M.E. and Abdelghany, T.M.,** 2021. Isolation and identification of *Candida* spp. from immunocompromised patients. Bulletin of the National Research Centre, 45, pp.1-8.
- Hillman, E.T., Lu, H., Yao, T. and Nakatsu, C.H.,** 2017. Microbial ecology along the gastrointestinal tract. Microbes and environments, 32(4), pp.300-313.
- Jayaprakash, A.,** 2017. Punica granatum: A Review on Phytoche. Journal of Academia and Industrial Research, 5(9).
- Jørgensen, M.R., Kragelund, C., Jensen, P.Ø., Keller, M.K. and Twetman, Kamilari, E., Stanton, C., Reen, F. J., & Ross, R. P. (2023).** Uncovering the biotechnological importance of *Geotrichum candidum*. Foods, 12(6), 1124.
- Karam, I.F.A.,** 2020. Efficiency evaluation of alkaloids from pomegranatE (*Punica granatum*) peels towards some pathogenic fungi of human. Iraq J Mark Res Consum Prot, 12, pp.107-111.
- khalid AL-sgheer, S., Mohammed, B.T. and Hasan, A.T.A.,** 2023. Molecular Diagnosis for *Candida* spp. In Hospitalized Patients in the City of Karbala. Journal of Carcinogenesis, 22(2).
- Khatamifar, M., Fatemi, S.J., Torkzadeh-Mahani, M., Mohammadi, M. and Hassanshahian, M.,** 2022. Green and eco-friendly synthesis of silver nanoparticles by *Quercus infectoria* galls extract: thermal behavior, antibacterial, antioxidant and anticancer properties. Particulate Science and Technology, 40(3), pp.281-289.
- Khedidja, B. and Abderrahman, L.,** 2011. Selection of orlistat as a potential inhibitor for lipase from *Candida* species. Bioinformation, 7(3), p.125.
- Kim, J.D.,** 2005. Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi against *Aspergillus fumigatus*. Mycobiology, 33(4), pp.210-214.
- Kovács, L., Virágh, M., Takó, M., Papp, T., Vágvolgyi, C. and Galgóczy, L.,** 2011. Isolation and characterization of *Neosartorya fischeri* antifungal protein (NFAP). Peptides, 32(8), pp.1724-1731.

Kumar, A., Pathak, H., Bhadauria, S. and Sudan, J., 2021. Aflatoxin contamination in food crops: causes, detection, and management: a review. Food Production, Processing and Nutrition, 3, pp.1-9.

Kusunose, Y. and Mahmood, R., 2016. Imperfect forecasts and decision making in agriculture. Agricultural Systems, 146, pp.103-110.

Lajnef, L., Caceres, I., Trinsoutrot, P., Charrier-El Bouhtoury, F., Ayed, N. and Charrier, B., 2018. Effect of Punica granatum peel and Melia azedarach bark extracts on durability of European beech and maritime pine. European Journal of Wood and Wood Products, 76(6), pp.1725-1735.

Lanata, C.F., Fischer-Walker, C.L., Olascoaga, A.C., Torres, C.X., Aryee, M.J., Black, R.E. and Child Health Epidemiology Reference Group of the World Health Organization and UNICEF, 2013. Global causes of diarrheal disease mortality in children < 5 years of age: a systematic review. PloS one, 8(9), p.e72788.

Lionakis, M.S., Drummond, R.A. and Hohl, T.M., 2023. Immune responses to human fungal pathogens and therapeutic prospects. Nature Reviews Immunology, 23(7), pp.433-452.

Lozano, J., Louro, M., Almeida, C., Victório, A.C., Melo, P., Rodrigues, J.P., Oliveira, M., Paz-Silva, A. and Madeira de Carvalho, L., 2023. Isolation of saprophytic filamentous fungi from avian fecal samples and assessment of its predatory activity on coccidian oocysts. Scientific Reports, 13(1), p.8965.

Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J. and Schnürer, J., 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. FEMS microbiology letters, 219(1), pp.129-135.

Makhuvele, R., Naidu, K., Gbashi, S., Thipe, V.C., Adebo, O.A. and Njobeh, P.B., 2020.

The use of plant extracts and their phytochemicals for control of toxigenic fungi and mycotoxins. *Heliyon*, 6(10).

Marinho, S.A., Teixeira, A.B., Santos, O.S., Cazanova, R.F., Ferreira, C.A.S., Cherubini, K. and Oliveira, S.D.D., 2010. Identification of *Candida* spp. by phenotypic tests and PCR. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, pp.286-294.

Mehta, A., Bodh, U. and Gupta, R., 2017. Fungal lipases: a review. *Journal of Biotech Research*, 8, p.58.

Melkoumov, A., Goupil, M., Louhichi, F., Raymond, M., de Repentigny, L. and Leclair, G., 2013. Nystatin nanosizing enhances in vitro and in vivo antifungal activity against *Candida albicans*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 68(9), pp.2099-2105.

Mikhailova, R.V., 2011. Proteolytic enzymes of mycelial fungi. *Microbiol. And Biotechnol*, (3), pp.47-62.

Mitsagga, C., Petrotos, K. and Giavasis, I., 2021. Antimicrobial properties of lyophilized extracts of olive fruit, pomegranate and orange peel extracts against foodborne pathogenic and spoilage bacteria and fungi in vitro and in food matrices. *Molecules*, 26(22), p.7038.

Musleh, T.M.M. and Al-Saadi, H.A.M., 2022. Diagnosis of yeasts isolated from the oral cavity and groin area in children of Kirkuk city/Iraq. *Tikrit Journal of Pure Science*, 27(4), pp.7-16.

Nabila, V.K. and Putra, I.B., 2020. The effect of Aloe vera ethanol extract on the growth inhibition of *Candida albicans*. *Medicinski Glasnik*, 17(2), pp.485-489.

Naranjo-Ortiz, M.A. and Gabaldón, T., 2019. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, 94(6), pp.2101-2137.

- Nualmalang, R., Thanomsridetchai, N., Teethaisong, Y., Sukphopetch, P. and Tangwattanachuleeporn, M.,** 2023. Identification of pathogenic and opportunistic yeasts in pigeon excreta by MALDI-TOF mass spectrometry and their prevalence in Chon Buri province, Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4), p.3191.
- Orak, H.H., Demirci, A.Ş. and Gümü, T.,** 2011. Antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv.) peel.
- Pappas, P.G., Lionakis, M.S., Arendrup, M.C., Ostrosky-Zeichner, L. and Kullberg, B.J.,** 2018. Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), pp.1-20.
- Park, G.N., Kim, S.H., Kang, H.S., Lee, H.R., Jo, H.J., Jeoung, H.Y., An, D.J. and Chang, K.S.,** 2016. Isolation frequency and epidemiological characterization of yeast-like fungi and co-infected bacteria isolated from clinical patient. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 7(2), pp.7-18.
- Park, M., Do, E. and Jung, W.H.,** 2013. Lipolytic enzymes involved in the virulence of human pathogenic fungi. *Mycobiology*, 41(2), pp.67-72.
- Parveen, S., Wani, A.H., Ganie, A.A., Pala, S.A. and Mir, R.A.,** 2014. Antifungal activity of some plant extracts on some pathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(3), pp.279-284.
- Peres, N.T.D.A., Maranhão, F.C.A., Rossi, A. and Martinez-Rossi, N.M.,** 2010. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. *Anais brasileiros de dermatologia*, 85, pp.657-667.

- Pérez, J.C.**, 2021. Fungi of the human gut microbiota: Roles and significance. International Journal of Medical Microbiology, 311(3), p.151490.
- Rajkowska, K., Nowicka-Krawczyk, P. and Kunicka-Styczyńska, A.**, 2019. Effect of clove and thyme essential oils on Candida biofilm formation and the oil distribution in yeast cells. Molecules, 24(10), p.1954.
- Rodrigues, M.L., Nakayasu, E.S., Oliveira, D.L., Nimrichter, L., Nosanchuk, J.D., Almeida, I.C. and Casadevall, A.**, 2008. Extracellular vesicles produced by Cryptococcus neoformans contain protein components associated with virulence. Eukaryotic cell, 7(1), pp.58-67.
- Roman, C., Solh, T. and Broadhurst, M.**, 2017. Infectious diarrhea. Physician Assistant Clinics, 2(2), pp.229-245.
- Román-Montes, C.M., Sifuentes-Osornio, J. and Martínez-Gamboa, A.**, 2024. Cutaneous Infections by Geotrichum spp. Current Fungal Infection Reports, 18(1), pp.60-68.
- Rutherford, J.C.**, 2014. The emerging role of urease as a general microbial virulence factor. PLoS pathogens, 10(5), p.e1004062.
- Ryder, L.S. and Talbot, N.J.**, 2015. Regulation of appressorium development in pathogenic fungi. Current opinion in plant biology, 26, pp.8-13.
- S.**, 2017. Probiotic Lactobacillus reuteri has antifungal effects on oral Candida species in vitro. Journal of oral microbiology, 9(1), p.1274582.
- Saeed, M., Naveed, M., BiBi, J., Kamboh, A.A., Arain, M.A., Shah, Q.A., Alagawany, M., El-Hack, M.E., Abdel-Latif, M.A., Yatoo, M. and Tiwari, R.**, 2018. The promising pharmacological effects and therapeutic/medicinal applications of punica granatum L.(Pomegranate) as a functional food in humans and animals. Recent patents on inflammation & allergy drug discovery, 12(1), pp.24-38.
- Sánchez-Hernández, E., Balduque-Gil, J., Barriuso-Vargas, J.J., Casanova-Gascón, J., González-García, V., Cuchí-Oterino, J.A., Lorenzo-Vidal, B., Martín-Gil, J. and Martín-Ramos, P.**, 2022. Holm oak (Quercus ilex subsp.

ballota (Desf.) Samp.) bark aqueous ammonia extract for the control of invasive forest pathogens. International Journal of Molecular Sciences, 23(19), p.11882.

Sarwar, S., Firdous, Q. and Khalid, A.N., 2019. Importance of molecular and phylogenetic analyses for identification of basidiomycetes. In Recent advances in phylogenetics. IntechOpen.

Sciortino Jr, C.V., 2017. Atlas of clinically important fungi. John Wiley & Sons.

Seyedmousavi, S., Guillot, J., Arné, P., de Hoog, G.S., Mouton, J.W., Melchers, W.J. and Verweij, P.E., 2015. Aspergillus and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease. Medical mycology, 53(8), pp.765-797.

Shaly, N.J., Pervez, M.M., Huq, S., Ahmed, D., Ahsan, C.R., Sarmin, M., Afroze, F., Nuzhat, S., Chisti, M.J. and Ahmed, T., 2022. Invasive fungal infections in under-five diarrheal children: experience from an urban diarrheal disease hospital. Life, 12(1), p.94.

Shankar, J. (2021). Food habit associated mycobiota composition and their impact on human health. Frontiers in Nutrition, 8, 773577.

Siafakas, A.R., Sorrell, T.C., Wright, L.C., Wilson, C., Larsen, M., Boadle, R., Williamson, P.R. and Djordjevic, J.T., 2007. Cell wall-linked cryptococcal phospholipase B1 is a source of secreted enzyme and a determinant of cell wall integrity. Journal of Biological Chemistry, 282(52), pp.37508-37514.

Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A. and Singh, N., 2019. Antimicrobial potential of pomegranate peel: A review. International Journal of Food Science & Technology, 54(4), pp.959-965.

Šipošová, P., Koňuchová, M., Valík, Ľ., Trebichavská, M. and Medved'ová, A., 2021. Quantitative characterization of Geotrichum candidum growth in milk. Applied Sciences, 11(10), p.4619.

Tai, B., Chang, J., Liu, Y. and Xing, F., 2020. Recent progress of the effect of environmental factors on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production on foods. *Food Quality and Safety*, 4(1), pp.21-28.

Takó, M., Kotogán, A., Németh, B., Radulov, I., Nita, L.D., Tarau, D., Dicu, D., Tóth, B., Papp, T. and Vágvolgyi, C., 2012. Extracellular lipase production of zygomycetes fungi isolated from soil. *Review on Agriculture and Rural Development*, 1(1), pp.61-65.

Teletchea, F., 2009. Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 19, pp.265-293.

Theiss, S., Ishdorj, G., Brenot, A., Kretschmar, M., Lan, C.Y., Nichterlein, T., Hacker, J., Nigam, S., Agabian, N. and Köhler, G.A., 2006. Inactivation of the phospholipase B gene PLB5 in wild-type *Candida albicans* reduces cell-associated phospholipase A2 activity and attenuates virulence. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(6), pp.405-420.

Theriot, C.M., Koenigsknecht, M.J., Carlson Jr, P.E., Hatton, G.E., Nelson, A.M., Li, B., Huffnagle, G.B., Z. Li, J. and Young, V.B., 2014. Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to *Clostridium difficile* infection. *Nature communications*, 5(1), p.3114.

Troeger, C., Blacker, B. F., Khalil, I. A., Rao, P. C., Cao, S., Zimsen, S. R., ... & Reiner, R. C. (2018). Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(11), 1211-1228.

Ülker, S., Özel, A., Colak, A. and Karaoğlu, Ş.A., 2011. Isolation, production, and characterization of an extracellular lipase from *Trichoderma harzianum* isolated from soil. *Turkish Journal of Biology*, 35(5), pp.543-550.

- Velázquez-De Lucio, B.S., Hernández-Domínguez, E.M., Villa-Garcia, M., Diaz-Godinez, G., Mandujano-Gonzalez, V., Mendoza-Mendoza, B. and Álvarez-Cervantes, J.,** 2021. Exogenous enzymes as zootechnical additives in animal feed: a review. *Catalysts*, 11(7), p.851.
- Vinha, A.F., Barreira, J.C., Costa, A.S. and Oliveira, M.B.P.,** 2016. A new age for *Quercus* spp. fruits: review on nutritional and phytochemical composition and related biological activities of acorns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), pp.947-981.
- Višnjevec, A.M., Ota, A., Skrt, M., Butinar, B., Možina, S.S., Cimerman, N.G., Nečemer, M., Arbeiter, A.B., Hladnik, M., Krapac, M. and Ban, D.,** 2017. Genetic, biochemical, nutritional and antimicrobial characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L.) grown in Istria. *Food technology and biotechnology*, 55(2), p.151.
- Wanchaitanawong, P., Chaungwanit, P., Poovarodom, N. and Nitisinprasert, S.,** 2005. In vitro antifungal activity of Thai herb and spice extracts against food spoilage fungi. *Agriculture and Natural Resources*, 39(3), pp.400-405.
- Wang, L.H., He, Y., Gao, Y., Wu, J.E., Dong, Y.H., He, C., Wang, S.X., Weng, L.X., Xu, J.L., Tay, L. and Fang, R.X.,** 2004. A bacterial cell–cell communication signal with cross-kingdom structural analogues. *Molecular microbiology*, 51(3), pp.903-912.
- Wiederhold, N.P.,** 2021, November. Antifungal susceptibility testing: a primer for clinicians. In *Open Forum Infectious Diseases* (Vol. 8, No. 11, p. ofab444). US: Oxford University Press.
- Wildenbeest, J.G., Oomen, M.W., Brüggemann, R.J., de Boer, M., Bijleveld, Y., van den Berg, J.M., Kuijpers, T.W. and Pajkrt, D.,** 2010. *Rhizopus oryzae* skin infection treated with posaconazole in a boy with chronic granulomatous disease. *The Pediatric infectious disease journal*, 29(6), p.578.

Yelika, S.B., Tumati, A. and Denoya, P., 2021. Intestinal aspergillosis: systematic review on patterns of clinical presentation and management. Surgical infections, 22(3), pp.326-333.

Younes, N.T., Al-Kataan, M.A. and Al-Rejaboo, M.A., 2021. Detection of some virulence factors of fungi caused Otomycosis isolated from some hospitals and clinics in Mosul/Iraq. Al-Qadisiyah Journal of Pure Science, 26(4), pp.210-220.

Yousif, H.A., Habbaba, R.S. and Abdulhameed, D.S., 2014. The Effect of Low Power He-Ne Laser on Growth and Activity of Proteinase in Dermatophyte Trichophyton mentagrophytes. JOURNAL OF MADENAT ALELEM COLLEGE, 6(2).

Zghair, F.S. and Hashim, A.S., 2023, April. Isolation of Candida albicans causing diaper rash and its sensitivity to pomegranate peel extract. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2776, No. 1). AIP Publishing.

Zhang, L., Song, J., Kong, L., Yuan, T., Li, W., Zhang, W., Hou, B., Lu, Y. and Du, G., 2020. The strategies and techniques of drug discovery from natural products. Pharmacology & Therapeutics, 216, p.107686.

Summary

This study included collecting 120 stool samples in sterile containers from patients with diarrhea from Al-Hashimiyah General Hospital in Babylon Governorate from October to F

ebruary 2024. They were distributed as follows: 30 samples for children under the age of ten, 35 samples for young people over the age of ten, and 55 samples for the elderly.

The results showed the presence of many fungi with different colonies and frequency rates, as the fungus *Aspergellus flavus* showed 370 colonies and a frequency rate of 22.51% for all fungi. *Candida tropicalis* 265 colonies with a frequency of 16.12%, *Geotricum candidum* 211 colonies with a frequency of 12.84%, *Aspergellus fumigatus* 168 colonies with a frequency of 10.22%, *Aspergillus holmii* 149 colonies with a frequency of 9.06%, *Aspergillus versicolor* 111 colonies with a frequency of 6.75%, *Cladosporium wernikii* 53 colonies with a frequency of 3.22%, *Candida alpican* 48 colonies with a frequency of 2.92%, *Aspergillus sydii* 35 colonies with a frequency of 2.13%, and *Rhizopus oryzae* 24 colonies with a frequency of 46.1%. *Aspergillus ochraceus* fungus with 26 colonies and a frequency of 1.58% and *Aspergillus niger* fungus with 183 colonies and a frequency of 11.13%. Three of the most frequently encountered fungal species, *Candida tropicalis*, *Aspergillus flavus* and *Geotrichum candidum*, were isolated and identified from diarrhoeal patients, suggesting their potential involvement in intestinal dysbiosis. Genetic analysis using DNA sequencing techniques confirmed the identity of *Candida tropicalis* using the RNA ITS1 gene (500 pb) with the serial number PP724388.1, *Aspergillus flavus* using the same gene (600 pb) with

the serial number PP724390.1 and *Geotricun candidum* using the same gene (400 pb) with the serial number PQ056822.1), providing insights into their genetic diversity and pathogenic potential. This study included testing the pathogenicity of genetically identified fungi, where they were tested for the secretion of lipase, phospholipase and protease enzymes, and their secretion of enzymes and their pathogenicity were proven by the formation of a white halo around the colony. The results showed that the protease enzyme is secreted in a large proportion in the fungus *Geotricun candidum*, and the phospholipase enzyme is secreted in a large proportion in the fungus *Candida atropicalis*, and the lipase enzyme is secreted in a large proportion in both fungi. *Geotricun candidum*, *Candida atropicalis*

Different concentrations of antifungal drugs were tested, including Nystatine, Fluconazole, Flagyl, Tinidazol, and Probiotic bacteria, to determine their effectiveness against the isolated fungi. The results indicated that Tinidazole showed the most effective antifungal activity, indicating its potential in treating fungal infections. For natural extracts, oak fruits: showed significant antifungal activity against all three types of fungi, with inhibition rates ranging from 39.3% to 67.8%, pomegranate peel: showed significant antifungal activity, with inhibition rates ranging from 50% to 59.2%,

It was found that all concentrations used for antifungals Nystatine, Fluconazole Flagyl, Tinidazol, Probiotic bacteria and natural powders (oak fruits and pomegranate peels) have a significant inhibitory effect on the growth of the tested fungi on the SDA medium, and these fungi are *Geotricum candidum*, *Candida flavus*, *Aspergillus atropicalis*. It was found that with increasing the concentration of the antifungal or natural products, the

percentage of inhibition of the tested fungi increases. The percentage of inhibition of the radial growth of the tested fungi reached 12.88%, 84.75%, 75.80% respectively for Nystatine at a concentration of 3 g/L. The percentage of inhibition of the tested fungi for Fluconazole at a concentration of 3 g/L was 81.87%, 25.78%, 88.62% respectively. As for the antifungal Flagyl, the percentage of inhibition of the tested fungi at a concentration of 3 g/L was 72.5%, 92%, 87.62% respectively. The percentage of inhibition of the tested fungi for Tinidazole at a concentration of 30 g/L was 88.87%, 64.12%, 90.62% respectively. As for the beneficial bacteria Probiotic bacteria, the percentage of fungal inhibition at a concentration of 3 g/L was 36%, 67.75%, 83.87% respectively. The percentage of fungal inhibition tested *Geotricum candidum*, *Aspergillus atropicalis*, *Candida flavus* for each of the natural extracts (oak fruits) was 77%, 63%, 82% respectively. The percentage of fungal inhibition tested for pomegranate peels was 71.37%, 71.87%, 78.12% respectively at a concentration of 3 g/L. The results showed significant differences in the percentage of inhibition of the dry weight rate of the tested fungi *Geotricum candidum*, *Aspergillus atropicalis*, *Candida tropicali* at a concentration of 3 g/L, which is the antifungal Nystatine, where the inhibition percentage reached 66.91%, 91.5%, 92.5% for the tested fungi, respectively, and the antifungal Fluconazole reached a percentage of inhibition of the tested fungi of 85%, 81%, 1.81%, respectively, and the antifungal Flagyl reached a percentage of inhibition of the tested fungi of 83.17%, 79.3%, 6.78%, respectively, and the antifungal Tinidazol reached a percentage of inhibition of the tested fungi of 79.68%, 76.20%, 80%, respectively, and the probiotic bacteria reached a percentage of inhibition of the tested fungi of 72.23%, 71.3%, 77.23% respectively,

For the natural extracts, oak fruits: showed significant antifungal activity against all three types of fungi 60.5%, 46.1%, 66% respectively and pomegranate peels 58.19%, 39.6%, 75.4% respectively at the concentration of 3 g/L.

The study highlighted the importance of research into antifungal agents and natural powders for effective management of fungal infections, especially in individuals with weakened immune sy

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
Al-Qadisiyah University
College of Science
Department of biology



**Isolation and identification of fungi from diarrhea patients and
comparison of the effect of pomegranate and oak powder on
them**

submitted to College of Science – Al-Qadisiyah University / Department of
Biology as part of the requirements for obtaining a master's degree in Biology

By

Munther Ahmed Ali Al-Sharify

Bachelor of Biology / College of Science / Al-Qadisiyah University 2010

Assistant Professor

DR Walla Yaas Lahmud

1446A.H

2024A.D