



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ذي قار - كلية التربية للعلوم الصرفة

عزل وتشخيص الفطريات الجلدية من المرضى المصابين بداء السعفة
في محافظة ذي قار ودراسة تأثير بعض العوامل في نمو تلك الفطريات .

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ذي قار

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم

في علوم الحياة (الفطريات الطبية)

من قبل

سوزان خالد كاظم العسكري

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية

2007 - 2006

بإشراف

أ. د. محمد حسين مشهد

أ. د. ياس خضير عباس

تشرين الثاني ٢٠١٥ م

ذي الحجة 1436 هـ

Ministry of Higher Education and Scientific Research

Thi-Qar University , Education College for Pure Science



Isolation and identification of dermatophytes from patients with tinea in Thi – Qar Province and studying some factors effecting on their growth .

**A thesis submitted to the council of Education College for Pure Science
University of Thi - Qar in Partial fulfillment for the requirements of the
degree of Master in Biology (Medical Mycology)**

By

SUZAN KHALED KADHUM

B . Sc . Biology

٢٠٠٦ - 2007

Supervised by

Prof . Dr . Yass K . Abbass

Dr. Mohammed H . Mashhad

2015

1436

Abstract

A study of isolation and identification of dermatophytes in Thi – Qar Province was conducted . A total of 180 clinical samples (128 skin scraping samples , 24 hair samples and 28 nails samples) were collected from patients suffering Tinea and were consulting in Dermatology unit in AL- Hussein Teaching Hospital during 13 / 8 / 2014 to 1 / 1 / 2015 .

110 samples were positive for culture with a percentage of 61.1 % . Females infections were 74 cases (67.27 %) ,while male infections were 36 cases (32.73 %) .

The study showed that Tinea corporis was the most Tinea infections with a percentage of 57.27 % . Tinea capitis , Tinea pedis , Tinea unguium and Tinea barbae had a percentage of 17.27 % , 12.73 % , 9.09 % and 3.64 % respectively . The isolated fungal species causing Tinea were *Microsporum canis* , *Trichophyton tonsurans* , *T. verrucosum* , *M. gypseum* and *M. fulvum* with a percentage occurrence of 36.36 % , 27.27 % , 17.27 % , 12.73 % and 6.36 % respectively .

Tinea capitis , Tinea corporis , Tinea pedis and Tinea unguium were high in females , while in males , Tinea barbae was the highest . Infection with Tinea was affected with patients age , so patients under 10 years old had tinea capitis more than others ; Tinea corporis , Tinea pedis , and Tinea barbae had the highest infection percentage in ages between 31 – 40 years . Tinea unguium had the highest infection percentage in patients with ages between 21 – 30 years .

Zoophilic dermatophytes had the percentage of 53.6 % , Anthropophilic dermatophytes and Geophilic dermatophytes presented as 27.2 % and 19.2 % respectively .

The effects of some environmental factors such as culture media , temperature , pH and incubation period on *M. canis* , *M. gypseum* . *M. fulvum* was studied . The best culture media for these dermatophytes was Sabouraud's Dextrose Agar comparing with Potato Dextrose Agar and Corn Meal Dextrose Agar. The optimum growth temperature was 25 °C , while pH = 6 was the best for culturing dermatophytes on SDA and 25 °C . Polymerase Chain Reaction (PCR) with primer ITS1 – 2 FW – ITS1 – 2 RV was used to confirm the identification of *Microsporum* species .

The alcoholic extract of *Rosemarinus officinalis* contained phenols , alkaloids , resins , tannins and glycosides , saponins . The extract had the highest inhibition activity against the isolated fungi at the concentration of 200 mg / ml . The minimal inhibitory concentration (MIC) of the alcoholic extract of *Rosemarinus officinalis* was 25 mg / ml .

Griseofulvin was more active than Ketoconazole against dermatophytes .

قائمة المحتويات

الرقم	الموضوع	الصفحة
Chapter one الفصل الاول		
1	الفصل الاول : المقدمة Introduction	1-3
Chapter two الفصل الثاني		
2	الفصل الثاني : استعراض المراجع Literatures review	4
1.2	الأخماج الفطرية الجلدية (Cutaneous Mycoses)	4 - 6
2.2	تصنيف الفطريات الجلدية (Taxonomy of Dermatophytes)	6 - 7
3.2	تصنيف الفطريات الجلدية اعتماداً على البيئة	7
4.2	الأنماط السريرية لإصابة الجلد بالفطريات	8
1.4.2	سعفة الرأس Tinea capitis	8
2.4.2	سعفة الجسم Tinea corporis	8 - 9
3.4.2	سعفة الذقن Tinea barbae	9
4.4.2	سعفة المناغم (المغبن) Tinea cruris	10
5.4.2	سعفة القدم Tinea pedis	10-11
6.4.2	سعفة اليد Tinea manuum	11
7.4.2	سعفة الأظافر Tinea Unguium	11
5.2	تتخيص الفطريات الجلدية Identification of dermatophytes	12
6.2	تتخيص الفطريات الجلدية باستخدام تقنية (PCR) Polymerase Chain Reaction	12-13
7.2	الإصابات الفطرية الجلدية (Infections of Dermatophytosis)	13-14
8.2	علاج الإصابات الفطرية الجلدية	14
1.8.2	المعالجة باستخدام المضادات الفطرية	14 - 15

١٦	Ketoconazole	١.1.8.2
١٧-١٦	Griseofulvin	٢.1.8.2
١٨ - ١٧	المعالجة باستعمال المستخلصات النباتية	2.8.2
٢١ - ١٩	Active constituents of medical plants المكونات الفعالة في النباتات الطبية	9.2
٢١	نبات أكليل الجبل (Rosemarium)	١٠.2
٢٣ - ٢٢	التصنيف العلمي لنبات أكليل الجبل	11.2
Chapter three الفصل الثالث		
٢٤	Materials and Methods المواد وطرائق العمل	3
٢٤	الاجهزة والمواد	1.3
٢٥ - ٢٤	الاجهزة والادوات	1.1.3
٢٦ - ٢٥	Chemical substances المواد الكيميائية	2.1.3
٢٧	Culture media الاوساط الزرعية	3.1.3
٢٨	Antibiotic and antifungal agents المضادات الحيوية والمضادات الفطرية	4.1.3
٢٩	DNA المواد الكيميائية المستخدمة في استخلاص الـ	٥.1.3
٢٩	طرائق العمل	2.3
٢٩	Solutions and stains المحاليل والصبغات	1.2.3
٢٩	Potassium hydroxide (10% KOH) محلول هيدروكسيد البوتاسيوم solution	1.1.2.3
٢٩	Normal saline solution المحلول الملحي الفسلجي	2.1.2.3
٣٠	Lactophenol-methylene blue صبغة اللاكتوفينول ازرق المثلين	3.1.2.3
٣٠	Standard McFarland مقياس ماكفرلاند القياسي	٤.1.2.3
٣١	Culture media preparation تحضير الأوساط الزرعية	2.2.3
٣١	وسط أكار السابرويد دكستروز مع السايكلوهكسميد والكلورامفينيكول	1.2.2.3

٣١	Sabouraud's Dextrose Agar وسط أكار السابرويد دكستروز	2.2.2.3
٣٢ - ٣١	وسط أكار سابرويد دكستروز مع الكلورامفينيكول والسايكلوهكسامايد وخالصة الخميرة والثايمين	3.2.2.3
٣٢	Potato Dextrose Agar وسط اكار البطاطا والدكستروز	4.2.2.3
٣٢	Lactrimel Agar وسط اللاكتريميل أكار	5.2.2.3
٣٣ - ٣٢	Christensen's Urea Agar وسط أكار كرستنس يوريا	6.2.2.3
٣٣	Corn Meal Dextrose Agar وسط أكار الذرة والدكستروز	7.2.2.3
٣٣	Emmon's Sabourauds Dextrose Agar وسط السابرويد أكار المحور لإيمونس	8.2.2.3
٣٣	Rice Grains Medium وسط حبوب الرز	9.2.2.3
٣٤	Sabourauds Dextrose Broth وسط مرق السابرويد دكستروز	١٠.2.2.3
٣٤	Blood agar وسط أكار الدم	١١.2.2.3
٣٤	Sterilization التعقيم	3.2.3
٣٥	Collection of Specimens جمع العينات السريرية	٤.2.3
٣٥	Direct Microscopic Examination الفحص المجهرى المباشر	5.2.3
٣٦	Isolation and Identification of Dermatophytes عزل وتشخيص الفطريات الجلدية	6.2.3
٣٦	Culturing of Specimens الزرع على الاوساط الزرعية الفطرية	١.6.2.3
٣٧-٣٦	Examination and identification of dermatophytes isolates فحص العزلات الفطرية الجلدية وتشخيصها	2.6.2.3
٣٧	الاختبارات التشخيصية للفطريات الجلدية	7.2.3
٣٧	Urease test اختبار اليوريز	١.7.2.3
٣٧	<i>In vitro</i> perforating of hair اختبار اختراق الشعرة خارج الجسم الحي test	2.7.2.3
٣٧	Vitamins requirement احتياج الفيتامينات	3.7.2.3
٣٨	Blood agar وسط أكار الدم	4.7.2.3

٣٨	Rice Grains medium اختبار النمو على وسط أرز	5.7.2.3
٣٨	اختبار النمو بدرجة حرارة 37 م°	6.7.2.3
٣٨	Maintenance of isolates إدامة العزلات	8.2.3
٣٨	Occurrence percentage حساب النسبة المئوية للظهور	9.2.3
٣٩	تأثير بعض العوامل البيئية على نمو بعض الأنواع الفطرية المعزولة	10.2.3
٣٩	الوسط الغذائي	١.١٠.2.3
٣٩	درجة الحرارة	٢.10.2.3
٣٩	مدة الحضان	٣.10.2.3
٣٩	الأس الهيدروجيني	٤.10.2.3
٤٠	(Molecular study of الدراسة الجزيئية للفطريات الجلدية dermatophytes)	11.2.3
٤١-٤٠	استخلاص وتنقية الـ DNA من الفطرين <i>M. fulvum</i> و <i>M. gypseum</i>	1.11.2.3
٤٢-٤١	الترحيل الكهربائي للـ DNA Electrophoresis of DNA	2.11.2.3
٤٤-٤٢	اختبار تفاعل سلسلة انزيم البلمرة (PCR) Polymerase chain reaction	3.11.2.3
٤٤	عينات نبات أكليل الجبل	12.2.3
٤٤	جمع وتهيئة عينات النبات	1.12.2.3
٤٥	تحضير المستخلص الكحولي (الإيثانولي)	2.12.2.3
٤٥	حساب النسبة المئوية لأوزان المستخلصات النباتية	3.12.2.3
٤٥	الكشوفات الكيميائية لبعض المكونات الفعالة في المستخلص النباتي	١٣.2.3
٤٦-٤٥	الكشف عن القلويدات (Alkaloids Test)	١.13.2.3
٤٦	الكشف عن الفينولات (Phenols Test)	٢.13.2.3
٤٦	الكشف عن الراتنجات (Resins Test)	3.13.2.3
٤٦	الكشف عن العفصيات (Tannins Test)	٤.13.2.3
٤٧	الكشف عن الصابونينات (Saponins Test)	٥.13.2.3
٤٧	الكشف عن الكلايكوسيدات (Glycosides Test)	٦.13.2.3
٤٧	الكشف عن الفيوكيومارينات (Fuocoumarins Test)	٧.13.2.3

٤٧	تحديد الأس الهيدروجيني (pH determination)	14.2.3
٤٨-٤٧	اختبار فعالية المستخلص النباتي تجاه الفطريات الجلدية المعزولة	15.2.3
٤٩	تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) للمستخلص النباتي	16.2.3
٤٩	دراسة تأثير المضادين الفطريين Griseofulvin و Ketoconazole على الأنواع الفطرية المعزولة	١٧.2.3
٤٩	اختبار سمية المستخلص الكحولي	١٨.2.3
٥٠	الكشف عن الفينولات وبعض المركبات الكيميائية في أوراق نبات أكليل الجبل باستخدام جهاز كروماتوكرافي الغازي المزود بمطياف الكتلة	١٩.2.3
٥٠	التحليل الاحصائي	٢٠.2.3
Chapter four الفصل الرابع		
٥١	Results and Discussion النتائج والمناقشة	4
٥١	تشخيص العينات السريرية	1.4
٥٣-٥٢	الفحص المجهرى المباشر	2.4
٥٤-٥٣	النتائج الزرعية	3.4
5٥	وصف أنواع الفطريات الجلدية المعزولة خلال الدراسة	4.4
٥٥	<i>M. canis</i>	١.4.4
٥٧	<i>M. gypseum</i>	٢.٤.4
٥٨	<i>M. fulvum</i>	3.4.4
٦٠-٥٩	<i>T. tonsurans</i>	٤.4.4
٦١	<i>T. verrucosum</i>	5.4.4
٦٣	مصدر الإصابة الفطرية في الأشخاص المصابين بداء السعفة	5.4
٦٤	الإصابة بداء السعفة حسب أشهر الدراسة	5.6.4
٦٥	الأنماط السريرية لداء السعفة	٧.4

٦٩-٦٧	سفعة الجسم (Tinea corporis)	1.7.4
٧٢-٧٠	سفعة الرأس (Tinea capitis)	٢.7.4
٧٣	سفعة القدم (Tinea pedis)	٣.7.4
٧٥-٧٤	سفعة الأظافر (Tinea Unguium)	٤.7.4
٧٦	سفعة اللحية (Tinea barbae)	٥.7.4
٧٧	تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطريات <i>M. fulvum</i> و <i>M. canis</i> و <i>M. gypseum</i>	٨.4
٧٨-٧٧	الوسط الغذائي	١.8.4
٧٩-٧٨	درجة الحرارة	2.8.4
٨١-٨٠	الأس الهيدروجيني	٣.8.4
٨٢-٨١	مدة الحضان	٤.8.4
٨٣	التشخيص الجزيئي للفطرين <i>M. fulvum</i> و <i>M. gypseum</i> باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة (PCR)	9.4
٨٣	استخلاص الـ DNA	1.9.4
٨٣	تفاعل سلسلة البلمرة AP-PCR	2.9.4
٨٤	الخصائص الفيزيائية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل	10.4
٨٥-٨٤	الكشف عن المواد الفعالة في نبات أكليل الجبل	11.4
٩٣-٨٥	تأثير المستخلص الكحولي (95%) لأوراق نبات أكليل الجبل على الفطريات المعزولة	12.4
٩٣	التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل	13.4
٩٤	اختبار سمية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل	14.4
٩٥-٩٤	تأثير المضاد Ketoconazole و Griseofulvin على الفطريات الجلدية	15.4
١٠١	الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في أوراق نبات أكليل الجبل باستخدام جهاز كروماتوغرافي الغاز المزود بمطياف الكتلة	١٦.٤

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الجدول
٢٥-٢٤	الأجهزة المستعملة خلال الدراسة	(1)
٢٦-٢٥	المواد الكيميائية المستعملة خلال الدراسة	(2)
٢٧	الأوساط الزرعية المستعملة خلال الدراسة	(3)
٢٨	المضادات الحيوية والفطرية المستعملة خلال الدراسة	(4)
٢٨	المواد المستخدمة في التشخيص باستخدام PCR خلال الدراسة	(5)
٣٠	الحجوم المختلفة لكل من كلوريد الباريوم و حامض الكبريتيك	(6)
٤٣	مواد التضخيم المستخدمة في تقنية الـ PCR	(7)
٤٣	تتابع القواعد النروجينية في البادئات Primers المستخدمة في عملية التضخيم	(8)
٤٤	برنامج عملية التضخيم للـ PCR المستخدم	(9)
٤٤	النبات المستعمل في الدراسة	(10)
٥٢	العدد الكلي لعينات قشور الجلد والشعر والاطافر المفحوصة خلال الدراسة	(11)
54	الاختبارات التشخيصية لأنواع الفطريات الجلدية المعزولة	(12)
٦٦	توزيع الأنماط زرعياً نسبة إلى العمر والجنس	(13)
٦٧	تردد أنواع الفطريات الجلدية المعزولة نسبة إلى الأنماط السريرية المسببة لها	(14)
٦٨	توزيع الأنواع الفطرية المسببة لسعفة الجسم حسب الجنس والعمر	(15)
٧٢	توزيع الأنواع الفطرية المسببة لسعفة الرأس حسب الجنس والعمر	(16)
٧٤	توزيع الأنواع الفطرية المسببة لسعفة القدم حسب الجنس والعمر	(17)
٧٥	توزيع الأنواع الفطرية المسببة لسعفة الأظافر حسب الجنس والعمر	(18)
٧٦	توزيع الأنواع الفطرية المسببة لسعفة اللحية حسب الجنس والعمر	(19)
٧٨	تأثير الوسط الغذائي على الفطريات <i>M. gypseum</i> ، <i>M. canis</i> و	(20)

	<i>M. fulvum</i>	
٧٩	تأثير درجة الحرارة على الفطريات <i>M. canis</i> ، <i>M. gypseum</i> و <i>M. fulvum</i>	(21)
٨١	تأثير الأس الهيدروجيني على معدل نمو الفطريات <i>M. canis</i> ، <i>M. gypseum</i> و <i>M. fulvum</i>	(22)
٨٢	تأثير مدة الحضان على معدل نمو الفطريات <i>M. canis</i> ، <i>M. gypseum</i> ، و <i>M. fulvum</i>	(23)
٨٤	بعض الخصائص الفيزيائية والنسب المئوية لكمية المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل	(٢٤)
٨٥	التحاليل النوعية للمواد الفعالة للمستخلص الكحولي	(٢٥)
٨٦	الاختلاف في أقطار التثبيط عند التركيز ٢٠٠ ملغم / مل و ١٠٠ ملغم/مل	(٢٦)
٩٤	التركيز المثبط الأدنى MIC للمستخلص الكحولي بـ ملغم/مل	(٢٧)
٩٥	تأثير مضاد Griseofulvin و Ketoconazole على الفطريات الجلدية المعزولة	(٢٨)

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
٥٣	الإصابة الفطرية للشعر حسب موقع Arthroconidia في الفحص المجهرى المباشر	(1)
٥٣	النسب المئوية لأنواع الفطريات الجلدية Dermatophytes المعزولة	(2)
٥٥	النسب المئوية لمجاميع الفطريات الجلدية المسببة لداء السعفة Tinea	(3)
٦٤	النسب المئوية للإصابة بداء السعفة Tinea حسب أشهر الدراسة.	(4)
١٠٢	بعض المركبات الكيميائية التي تم تشخيصها في المستخلص الكحولي لأوراق	(٥)

قائمة اللوحات

الصفحة	العنوان	اللوحة
٥٦	مستعمرات الفطر <i>M. canis</i>	(1)
56	الكونيديات الكبيرة (macroconidia) للفطر <i>M. canis</i> (قوة تكبير X ٤٠)	(2)
56	الأختبارات التشخيصية للفطر <i>M. canis</i>	(3)
٥٧	مستعمرات الفطر <i>M. gypseum</i> والاختبارات التشخيصية	(4)
٥٨	كونيديات الفطر <i>M. gypseum</i>	(5)
٥٩	مستعمرات وكونيديات الفطر <i>M. fulvum</i>	(6)
٥٩	الاختبارات التشخيصية للفطر <i>M. fulvum</i>	(7)
٦٠	مستعمرات وكونيديات الفطر <i>T. tonsurans</i>	(8)
٦١	الاختبارات التشخيصية للفطر <i>T. tonsurans</i>	(9)
٦٢	مستعمرات الفطر <i>T. verrucosum</i>	(10)
٦٢	الخيوط الفطرية للفطر <i>T. verrucosum</i> النامي على وسط أكار السابرويد دكستروز	(11)
٨٣	نتائج الترحيل الكهربائي بمادة الأكاروز لمنتج (PCR)	(١٢)

٩١-٨٧	تأثير المستخلص الكحولي (95%) لأوراق نبات أكليل الجبل على الفطريات المعزولة	(13)
١٠٠-٩٦	تأثير المضادين Ketoconazole و Griseofulvin على الفطريات الجلدية المعزولة	(14)

قائمة الملاحق

العنوان	ملحق
معلومات العينات المرضية التي جمعت خلال فترة الدراسة	(١)
بعض المركبات الكيميائية التي توجد في المستخلص الكحولي لأوراق نبات أكليل الجبل	(٢)