Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

عزل وتشخيص بعض الفطريات الجلدية ودراسة تأثير أشعة ليزر نيديوم ياك على هذه الفطريات

أسامة فايق حمد[1] ، خليل أبراهيم بندر[2] ، عواطف صابر جاسم[3]

[1,2,3]قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة تكريت

[1]osamaalsabhany@gmail.com

[2]khalilibraheem189@yahoo.com

[3]awatif85@yahoo.com

تاريخ استلام البحث: 6 / 11 / 2014 تاريخ قبول البحث: 13 / 4 / 2015

الملخص

تضمنت هذه الدراسة مرحلتين، استهدفت المرحلة الاولى عزل وتشخيص الفطريات الجلدية من المرضى المراجعين لمستشفى تكريت التعليمي ومستشفى القادسية. فقد تم جمع 85 عينة من الذكور والأناث للفئات العمرية(4-52) سنة وتضمنت العينات قشطات جلدية، قصاصات الأظافر واجزاء من الشعر. واظهرت النتائج عزل 6 أنواع من الفطريات الجلدية 4 منها تعود لجنس *Trichophyton* و2 تعود *لجنس Microsporum* بالإضافة الى جنسي *Candida Albicans,Aspergillus niger* وكان عدد الذكور 48 والاناث37 وسجلت سعفة الجسم اعلى عدد من الاصابات بين المصابين. أما المرحلة الثانية فقد تضمنت تأثير ليزر نيديوم – ياك عند طول موجي 1.o6nm وبزمن تعريض 40ثانية على أربع انواع جلدية معزولة باستخدام جرعات مختلفة تتراوح بين(500-1000) ملي جول ومسافة 20 سم وملاحظة أهم التغيرات المظهرية والجزيئية على الفطريات المختارة وكان الفطر *T.mentagrophytes* هو الاكثر تأثراً على المستوى الجزيئي إذ نلاحظ اختفاء كامل للDNA عند كافة المستويات التشعيعية.

الكلمات الدالة: ليزر نيديوم– ياك، الفطريات الجلدية، RAPD.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

Isolated and identification some skin fungi and study effect of Laser Nd:YAG on this fungi

Osama F. Hamad[1] , Khallil I. Bander[2] , Awatif S. Jasem[3]

[1,2,3]Department of Biology / College of Science / Tikrit University

[1]osamaalsabhany@gmail.com

[2]khalilibraheem189@yahoo.com

[3]awatif85@yahoo.com

Received date : 6 / 11 / 2014 **Accepted date : 13 / 4 / 2015**

ABSTRACT

The study consist of two parts, the first part includes isolated and diagnosis of dermatophytes from the patients consulting of Tikrit teaching hospital and Qadesia hospital.85 samples were collected from males and females the samples is taken from patients with group between(4-52)years .the samples included skin scrapping, nail clipping and hair fragments. The results appearance six types of skin fungi four back to genus Trichophyton and two types of genus Microsporum. In addition C,albicans and A.niger.The number are 48 males and 37 females, tinea croporis recorded the highest infection.

The two part included effects laser Nd:Yag at wavelength 1066 and time exposing 40 sec on four types of skin fungi by using different doses that ranging(500-1000)mj at the distance 20 cm, and show the different appearances molecular. The T.mentagrophytes was the more influenced molecular show Disappearances all DNA at exposing levels .

Keywords: *Laser Nd:YAG, Dermatophytes, RAPD.*

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

1. المقدمة (Introduction)

تعتبر الفطريات الخيطية الجلدية Dermatophytes وهي مجموعة من الفطريات المترابطة القادرة على غزو الانسجة الحاوية على الكيراتين من الشعر والجلد والأظافر للإنسان والحيوان[1].إذ تشكل هذه الفطريات مستعمراتها في الأنسجة الكيراتينية ومن ثم يحدث الالتهاب كرد فعل للجسم على النواتج الثانوية للفطريات، وبشكل عام ينحصر تواجد هذه الفطريات على الطبقة المتقرنة من البشرة لعدم قدرتها على اختراق الانسجة الحية في جسم المضيف ذات المناعة السليمة تحدث الاصابة استجابة مناعية في جسم المضيف تتراوح من معتدلة إلى شديدة وفي حالات نادرة تغزو الأنسجة تحت الجلدية وتسبب الكيريون Kerion [2].

وتضم هذه المجموعة ثلاثة اجناس Trichophyton,Mictosporum,Epidermophyton[3] وتمثل الفطريات المسببة للأمراض تهديداً خطيرا لحياة ومناعة المرضى وهي مسؤولة عن مقتل ما يصل إالى5% من جميع الذين يموتون في المستشفيات في العالم المتقدم[4]. بالإضافة لذلك فإن هذه الفطريات هي أيضاً مسؤولة عن مجموعة واسعة من الألتهابات السطحية على سبيل المثال (السعفة) التي يمكن ان تؤثر على الافراد الاصحاء. ويعد الجنس Trichophyton من أهم الأجناس للفطريات الجلدية الخيطية واكثرها انتشاراً إذ أشار[5] إلى أنه بين حوالي عشرة انواع مرضية معزولة في أوربا تم ملاحظة T.rubrum,T.mentagrophytes . ونظراً للإصابات المختلفة الناتجة عن الفطريات الخيطية فقد حصل تطور هائل في مجال العقارات والادوية المضادة للفطريات إلا أن بعض هذه العقارات يكون لها تأثير جانبي خطير على مناعة المضيف فمثلا عقار Amphotericin B والمستخدم لعلاج الالتهابات الفطرية فهو له آثار جانبية، حيث ان البولين والازول يدخل في مسار تصنيع السكريات الفطرية[4] . وعقارات اخرى عديدة لها تأثيرات مختلفة مما حذا الباحثين إلى إيجاد سبل أُخرى للعلاج ومنها استخدام الاشعة المؤينة المتمثلة بالليزر بأنواعه ودخوله للمجال الطبي باستخدامات عديدة ومنها علاج الفطريات الجلدية. ومن الاصابات التي يستخدم الليزر في علاجها هي سعفة الاظفر اوOnychomycosis وهي اكثر شيوعا بين البالغين اكبر من60 سنة وان العلاج لهكذا اصابات باستخدام عقارات قد يسبب لهم اعراض جانبية لمن لديهم مشاكل في الكبد او القلب[6]. الليزر آمن وغير مكلف على المريض ويوفر عليه جرع العقارات التي تؤخذ باستمرار اذ ان تناول العقار خلال عدة اشهر تكون معدلات الشفاء قليلة وصعبة بغض النظر عن الاعراض الجانبية ومنهاTerbinafine,Intraconazole,Fluconazole التي تؤخذ عن طريق الفم ومن اعراضها

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

الصداع، مشاكل في الجهاز الهضمي وكذلك لمن يعانون مشاكل في الكبد[7]. اذ ان الليزر له اثر واضح وسرعة استجابة من قبل المريض ويعتبر كبديل امن للعلاج الكيميائي أو المضادات الفطرية الاخرى واستخدام ليزر نيديوم ياك اعطى نتائج جيدة في علاج الاصابات الفطرية السطحية مثل Onychomycosis عند طاقات وازمنة محددة حسب الاصابة [8].

2. المواد وطرق العمل (Materials and Methods)

1.عزل وتشخيص الفطريات Isolated and identification of fungi

جمعت85 عينة سريرية للمدة ما بين شهر أيلول 2013 الى شهر حزيران2014 من المرضى المراجعين للعيادة الاستشارية للأمراض الجلدية التابعة لمستشفى تكريت التعليمي ومستشفى القادسية وشملت الدراسة اخذ عينات للمرضى ما بين الفئة العمرية(4–55سنة)،وشملت الساكنين في الريف والمدينة إذ اجري الفحص والتشخيص الاولي للمراجعين بمساعدة الطبيب المختص بالأمراض الجلدية. زرعت القشور الجلدية وبقايا الاظافر والشعر المصاب على أطباق بتري تحتوي على وسط sabouraud dextrose agar cychlohexamide chloromphenichol ثم حضنت بدرجة 25م ولمدة (10 – 20) يوم وفحصت كل (3– 4) ايام حسب ما جاء به Khalifa et al [9] واذا لم يحصل نمو في الاطباق بعد 21 يوم من الحضن كانت النتيجة سالبة. مع التنقية المستمرة للعزلات النامية وتجديد المستعمرات واجريت الاختبارات والفحوص اللازمة لتشخيص الانواع التالية T.rubrum، T.mentagrophytes، T.equinum، T.terrestre، M. audouinii، M.gallinea .

2. تشعيع الفطريات Radiancy of fungi

تم تشعيع 4 انواع فطرية مختلفة للفطريات الجلدية و الانواع هي T.terrestre،M.gallinae ، T. T.rubrum،mentagrophytes. وقد تم استخدام جهاز Laser Nd:YAG بقدرات مختلفة 500–700 mj\cm²1000 وتردد 6Hz وخلال اوقات مختلفة30–40 ثانية، ومسافة 20cm.حيث تم وضع العينات تحت الجهاز وتعريضها للإشعاع.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

3. عزل المادة الوراثية Isolation of DNA

تم تنمية العزلات الفطرية على وسط السابرويد السائل (SDB) داخل دوارق زجاجية حجم (200) مل في حاضنة هزازة (Shaker incubator) وبعد مرور (14–20) يوم ظهر نمو الفطر بشكل حصيرة سميكة يتراوح وزنها (7–10)غم. بعدها تجري عملية عزل الـ DNA من الفطر باستخدام الطريقة التي ذكرها (Weigand *et al*)[10].

يتم أخذ النمو الفطري من على سطح الوسط و وضعها في طبق بتري حاوي على ورق ترشيح (Filter paper) ، بعدها يتم وزن (2–3)غم من النمو الفطري و وضعه في هاون خزفي معقم ثم يتم إضافة النتروجين السائل و السحق اليدوي بحركة سريعة إلى أن يتم الحصول على مسحوق ناعم .

يتم وضع المسحوق في أنابيب معقمة و إضافة (6) مل محلول الاستخلاص الذي تم وضعه في حمام مائي بدرجة (65)م° و حضنت الأنابيب في الحمام المائي الهزاز بالدرجة الحرارية نفسها لمدة (60–90) دقيقة.

ثم إخراج الأنابيب من الحمام المائي وتركها لكي تكتسب درجة حرارة الغرفة ثم يضاف لها (6)مل من محلول الكلوروفورم : ايزواميلي (1:24) لكل أنبوب مع التحريك المستمر لمدة (15) دقيقة.

بعد ذلك تم نقل الأنابيب إلى جهاز الطرد المركزي ونبذ المزيج بسرعة 4000 دورة/دقيقة ولمدة (15) دقيقة ثم رفعت الطبقة المائية العليا بواسطة ماصة دقيقة Micropipette إلى أنبوب أخر وأضيف لها نفس الحجم السابق من محلول الكلوروفورم ونبذ بالسرعة نفسها مرة ثانية.

رفعت الطبقة المائية العليا بواسطة الماصة الدقيقة و وضعت في أنابيب جديدة معقمة وتم إضافة (6)مل من كحول الـ Isopropanolالمبرد ومزجت جيدا بالتقليب إلى أن ظهرت كتلة بيضاء تمثل خيوط الـDNA ثم سحبت خيوط الـ (DNA) بواسطة قضيب زجاجي معقوف النهاية و وضعت في أنبوبة أخرى حاوية على (4) مل محلول الغسل وتركت لمدة (20) دقيقة .

ثم رفعت بواسطة القضيب الزجاجي إلى أنابيب معقمة حاوية على (300) مايكروليتر من محلول الإذابة وترك عدة ساعات مع التحريك بين فترة وأخرى إلى أن تم إذابة الـDNA تماما وبعد ذلك حفظت عينات الـDNA (Stock sample) في درجة حرارة (20–)م° لحين استخدامه .تم الحصول على كميات مناسبة من الـDNA المجيني من العزلات الفطرية تتراوح ما بين (300–500) مايكروغرام لكل (2–3)غم من الغزل الفطري من كل عينة وبنقاوة تتراوح ما بين (1.2–1.9)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

وقد تم تقدير كمية الDNA المستخلص ونقاوته بالاعتماد على الامتصاصية لطيف الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي (260 و 280) نانوميتر .تم ضبط تركيز الDNA المعزول من خلال تخفيف محلول الDNA (DNA (solution أو زيادة تركيزه وترحيله على هلام الـ Agaros بنسبة (1%) إلى أن تم التوصل إلى تركيز تراوح ما بين (25–50) نانوغرام/ مايكروليتر مقارنة مع DNA (λ) غير المهضوم الذي يكون وزنه الجزيئي بحدود (50) كيلو زوج قاعدي و بتركيز (25) نانوغرام/مايكروليتر.

4.عملية الترحيل وتفاعل electrophoresis RAPD

تم ترحيل DNA والكشف عنه وتقدير حجمه الجزيئي وتحضير هلام الأكاروز بتركيز 1% ،ويصب محلول الهلام في حوض خاص بجهاز الترحيل وتثبيت المشط الخاص به، وتم تحميل المادة الوراثية DNA مع محلول التحميل باستخدام ماصة دقيقة وتحميلها في الحفر الموجودة في الهلام وتشغيل جهاز الترحيل الكهربائي بفرق جهد3 فولت/سم واستغرقت العملية1.5–2 ساعة. ثم نقل الهلام الى حوض يحتوي على بروميد الاثيديوم5%مايكروغرام/مل ولمدة30–60 دقيقة. بعدها فحص بتعريضه للأشعة تحت البنفسجية لرؤية حزم DNA وتقدير حجمها. اما تفاعلات الPCR فقد تم تحضير الهلام بتركيز1.2% ومن ثم أجراء التفاعلات بالاستناد الى الطريقة الواردة في(Williams *et al*) [11]،إذ تم ضبط التركيز للعينات المستخلصة عند25نانوغرام/مايكروليتر لكل عينة.

وتم تحضير خليط التفاعل الرئيسي وذلك بمزج ماء مقطر16.5مايكروليتر، القواعد النتروجينية ثلاثية الفوسفاتDNTPs2 مايكروليتر، البادئ 1مايكروليتر،DNA template 1مايكروليتر وتم خلطها في أنبوبة ابندروف سعة1.5مايكروليتر. وتم نبذ المزيج في جهازMicrofuge لفترة3–5 ثانية مع الحفاظ على العينات باستخدام الثلج اثناء العمل، تم تقسيم خليط التفاعل الرئيسي Master reaction على أنابيب صغيرة Eppendorffe tube سعة (0.25) مل معقمة وبواقع (23) مايكروليتر لكل أنبوب ثم بعدها تم إضافة عينة الDNA لكل أنبوب بحيث يكون الحجم النهائي لكل أنبوب (20) مايكرولتر.

أدخلت أنابيب التفاعل إلى جهاز المبلمر الحراري Thermocycler لإجراء التفاعل التضاعفي و باستخدام البرنامج المناسب للتضاعف والذي تم تطبيقه على التفاعل وفق الأتي :

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

– دورة واحدة لمدة (4) دقائق على درجة حرارة (94)م° للمسخ الأولي لشريط الـ DNA ثم تليها (45) دورة تضاعف تتضمن كل دورة (30) ثانية بدرجة حرارة (94)م° لمسخ الشريط المزدوج و (45) ثانية بدرجة حرارة (36)م° لارتباط البادئ بالDNA القالب و (45) ثانية أخرى بدرجة حرارة (72)م° لاستطالة البادئ . ثم بعد ذلك دورة أخيرة ولمدة (7) دقائق على درجة حرارة (72)م° لاستكمال مرحلة الاستطالة .

– بعد انتهاء وقت التفاعل رفعت الأنابيب من جهاز المبلمر الحراري و تم سحب (5) مايكروليتر من الأنابيب وتم مزجها مع (2–3) مايكروليتر من محلول التحميل.

–تم تحميل المزيج في حفر هلام الـ Agaros المحضر مسبقا وبتركيز 1.5 % مع الدليل الحجمي DNA Ladder 1kb.

– بعدها يتم ترحيل العينات وذلك بتشغيل جهاز Electrophoresis لمدة (90 –120) دقيقة.

– يتم بعدها صبغ الهلام بغمره بصبغة Ethidium Bromide لمدة (30) دقيقة مع التحريك ثم تعريضه لمصدر للأشعة فوق البنفسجية وتصوير الهلام باستخدام جهاز التصوير الموصول بجهاز الحاسوب واخذت الصورة.

3. النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

بينت النتائج ان النسبة الأكبر من الفطريات المعزولة هو Trichophyton نوع T.rubrum بواقع15عزلة من العدد الكلي ويليه الفطر T.mentagrophytes بواقع8 عزلات من العدد الكلي، ويعود سبب شيوع T.rubrum الى كونها ذات ضراوة عالية لما تحتوي من انزيمات مختلفة منها phospholipaseA في وسط السايروبد السائل وكذلك انتاج السموم المحللة لدهون التي تشترك في تثبيط الأستجابة المناعية للمضيف ولهذا الفطر القدرة على اصابة مواقع عديدة من الجسم مثل سعفة الجسم، سعفة القدم، سعفة الرأس، سعفة الوجه، وسعفة الاظافر(12) اما فطر T.mentagrophytes فهو يسبب سعفة الرأس والأظفر. أما بالنسبة لجنس Microsporum فقد سجلت اصابات عديدة له في عموم العراق[13] وفي هذه الدراسة تم اختيار اربعة انواع فطرية هي T.rubrum,Tmentagrophytes,T.terrestre,M.gallinae لكونها الاكثر شيوعا في احداث السعفة الظفرية[12]. وحسب الشكل (1) الذي يبين انواع الفطريات المعزولة واعدادها. وكذلك الصور المجهرية(1)(2)(3)(4)(5)(6) التي تبين اهم الفطريات المعزولة.

اما الجزء الثاني من الدراسة والذي تمثل ملاحظة التغيرات المظهرية والجزيئية على الفطريات المختارة عند تعريضه لمصدر اشعاع متمثل بليزر نيديوم–ياك على وسط سابروبد دكستروز اكار بطاقات تتراوح(500–700–1000)ملي

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

جول. وحضنت بدرجة 28م ومراقبة النمو بشكل يومي وبعد فترة10-12يوم ومراقبة قطر المستعمرة وكانت قد نمت بشكل طبيعي مقارنة بالعينات التي تركت للسيطرة ولم يلاحظ اي تغير مظهري او اي تثبيط على المستعمرة. أما بالنسبة للتغيرات الجزيئية فقد لوحظت تغيرات كثيرة تمثلت بظهور واختفاء حزم DNA للفطريات المدروسة عند مستويات مختلفة من الطاقات. إذ أن الفطريات على المستوى المظهري لم يلاحظ اي تغير قد يكون بسبب كون قدرة الفطر على أحداث اصلاحات سريعة أو قد تكون فترة الأشعاع قليلة غير كافية لأحداث تغير مظهري. أما التغيرات الجزيئية فيمكن ملاحظتها عبر الشكل(2). إذ أن كل مجموعة تمثل نوع او جنس فطري مختلف فالمجموعة الأولى تمثل فطر*M.gallinae* أما المجموعة الثانية فتمثل *T.terrestre*،أما المجموعة الثالثة فتمثل الفطر*T.mentagrophytes*،والمجموعة الرابعة تمثل النوع الفطري *T.rubrum* . نلاحظ في الصورة تغايرات كثيرة حسب النوع الفطري وكذلك حسب طاقة الأشعاع، إذ أن طاقة الاشعاع لها تأثير واضح على الفطريات المشعة فالبعض منها قد احدث مسخ كامل للDNA في طاقة أشعاعية معينة. وبعضها أحدث طفرات بظهور واختفاء حزم معينة وباختلاف النوع الفطري أيضاً.

ففي المجموعة الاولى والتي تمثل *الفطر M.gallinae* فنلاحظ انه في الحقل رقم (1) والمتمثلة بالسيطرة الغير مشعة ظهور للحزمة عند الوزن الجزيئي(2000)دالتون، بالإضافة للحزمة الاصلية. أما في الحقل(2) والمتمثلة بعينة مشعة بطاقة(500)ملي جول نلاحظ اختفاء الDNA كامل وهذا قد يعود الى خطأ اثناء التشعيع اذ قد تكون الفترة الزمنية قد تجاوزت الفترة المحددة وهي 30 ثانية أما في الحقل(3) والمشعة بطاقة(700)ملي جول نلاحظ ظهور حزمة جديدة عند الوزن الجزيئي(1000)دالتون تقريباً وكذلك عند الوزن الجزيئي(2500)دالتون. اما العينة في الحقل(4) فنلاحظ أختفاء كامل للDNA بسبب الطاقة العالية البالغ قدرها(1000) ملي جول.

أما المجموعة الثانية والمتمثلة بفطر T.terrestre فعند الحقل(1) نلاحظ وجود الDNA وعدم وجود اي حزم واضحة، وكذلك في الحقل(2) والحقل(3)،ولكن عند الحقل(4) نلاحظ ظهور حزمة عند الوزن الجزيئي(2500-2750) دالتون. والمجموعة الثالثة والمتمثلة بفطر T.mentagrophytes فالحقل(1) يمثل عينة السيطرة وفي الحقول(2)(3)(4) الذي يمثل العينات المشعة نلاحظ أختفاء كامل للDNA بسبب عدم تحمله لأي طاقة وحصول عملية المسخ denaturation. أما الفطر T.rubrum ففي الحقل(1)نلاحظ وجود حزمتين احدها عند الوزن الجزيئي(1000) دالتون تقريباً، والأخرى عند الوزن(1750)دالتون. ففي الحقل(2) لا نلاحظ أي تغير وان عينة ال DNA في الحقل(3)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

نلاحظ أختفاء للحزم ذات الوزن الجزيئي(1000)، أما الحقل (4) والمشعة بطاقة(1000)ملي جول فنلاحظ ظهور حزمة(2500) دالتون تقريبا. من خلال هذه التغيرات نلاحظ أن للإشعاع المؤين والمتمثل بأشعة ليزر نيديوم–ياك تأثير واضح على الفطريات الجلدية بصورة عامة سواء كان التأثير على الخلايا الحية اذ تعمل طاقة الاشعاع القصيرة والتي تعمل على أحداث تغييرات حرارية بسبب الأمتصاصية الكبيرة من قبل جزيئات الماء الموجودة في الخلية الحية او الموجودة في جزيئة الDNA(القيسي،2005).وكذلك فأن تأثير الليزر للفطريات الجلدية يختلف حسب نوع الفطر وحسب قابليتها على امتلاك مواد وانزيمات تعمل على زيادة الامتصاصية فمثلا فطر T.rubrum يمتص الطول الموجي عند512nm بسبب امتلاكها صبغة Xanthomegin. وكذلك احتواء جميع فطريات Trichophyton على صبغة الميلانين والتي تعد احد عوامل الضراوة(14).

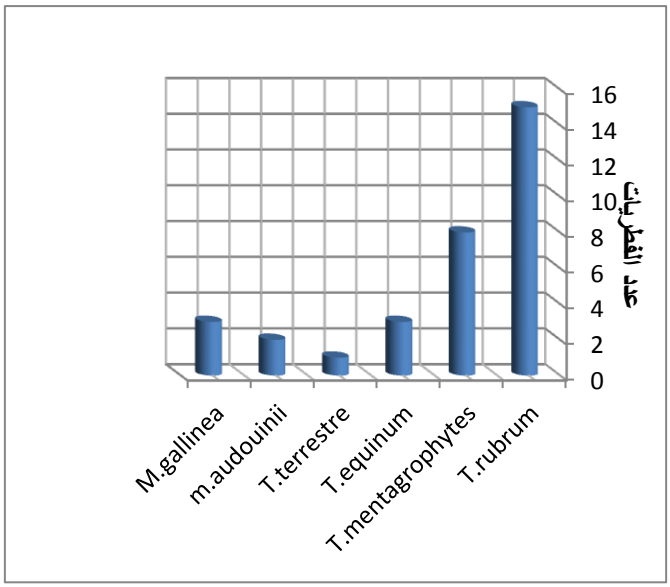
ونلاحظ ان الفطريات قد حصل تغير فيها حسب انواعها واجناسها ولكن نلاحظ أن الفطر T.meentagrophytes الاكثر تأثراً ومن اقل طاقة وقد حدث مسخ كامل للDNA. اما الفطر M.gallinae فقد حصل تغير عند الطاقة(700)،وعند الطاقة(1000) حدث مسخ كامل للDNA.

أما الفطر T.terrestre فإن التغير الذي حصل هو عند الطاقة(1000) .اما الفطر T.rubrum فأن التغيرات التي حصلت تغيرات عند التعرض للطاقة(700)و (1000) ملي جول.

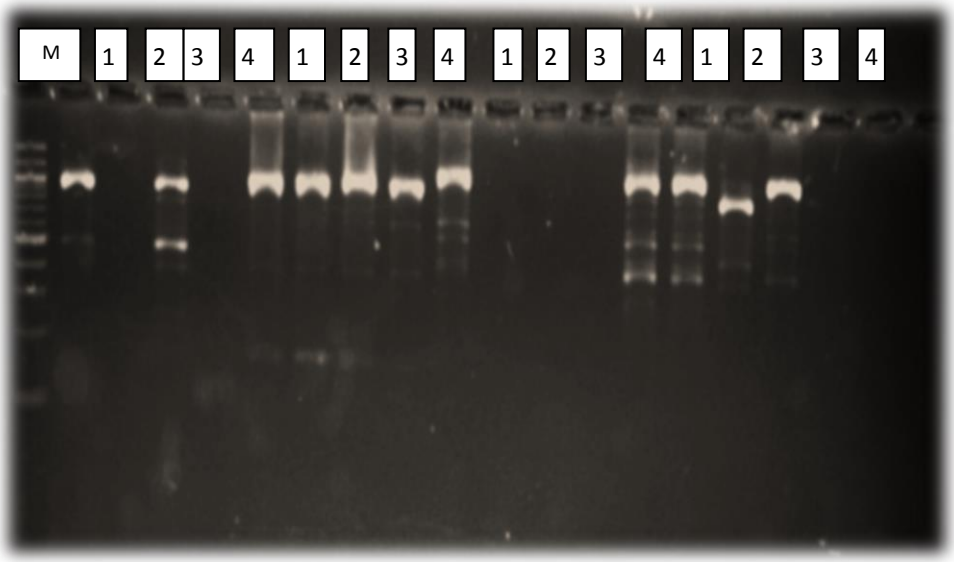
إن هذه التباين في مواقع إرتباط البادئ مع الDNA والبعد بين تلك المواقع قد نشأ بسبب الطفرات التي تمثلت بحالات حذف وأستبدال و أضافة مما يؤدي الى تغيير ترتيب القواعد المكملة لتتابع البادئ(11).

ومن خلال استخدام الليزر نيديوم–ياك في إحداث هذه التغيرات وبالتالي حدوث طفرات تؤثر على الفطر الجلدي والتي قد تؤثر على انزيمات معينة او صبغات معينة اي تؤثر على عوامل الضراوة Virulence factor او تعمل على تغيير في نفاذية الجدار وطبيعة المواد الموجودة هناك، لذلك يستخدم هذا النوع من الليزر من قبل أطباء المختصين في علاج الامراض الجلدية وخاصة اصابات Onychomycosis إذ يعطي للمريض بطاقات وازمنة مختلفة حسب شدة الاصابة وقد أحدث تأثير واضح على المصابين خلال فترات زمنية قصيرة[8].

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849



شكل (1): أعداد وانواع الفطريات الجلدية المعزولة.



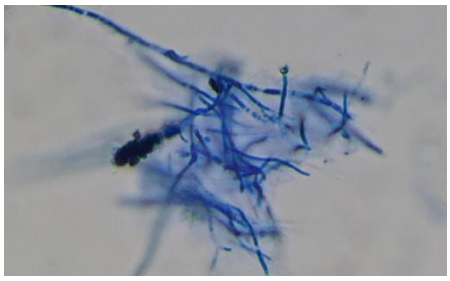
شكل (2): حزم الDNA للفطريات الجلدية المدروسة .

M– marker . (3) تمثل عينة فطرية مشعة بطاقة(700) ملي جول.

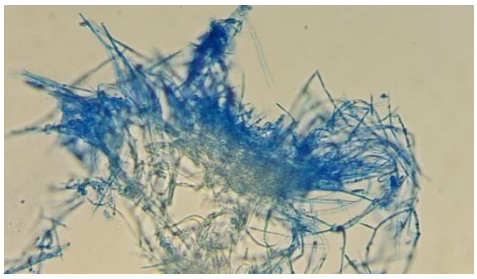
(1) control . (4) تمثل عينة فطرية مشعة بطاقة(1000) ملي جول.

(2) عينة فطرية مشعة بطاقة(500) ملي جول.

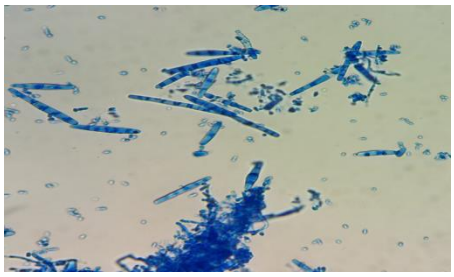
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849



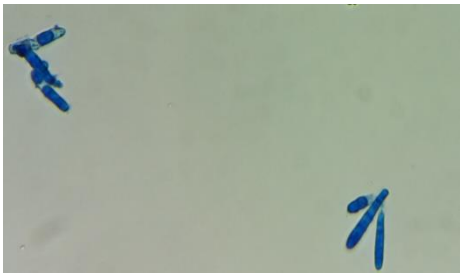
صورة مجهرية(1) للفطر T.rubrum (40 X)



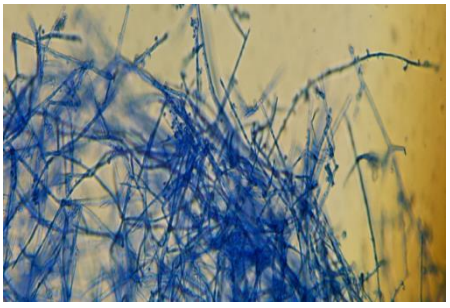
صورة مجهرية(2) للفطر T.mentagrophytes (40 X)



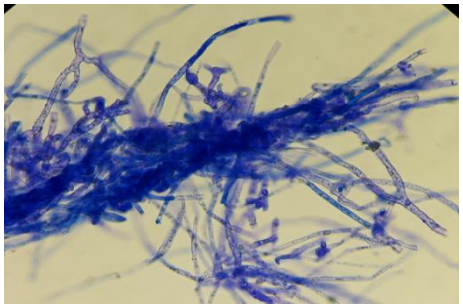
صورة مجهرية(3) للفطر M .gallinae (40 X)



صورة مجهرية(4) للكونيديات الكبيرة للفطر T.terrestre



صورة مجهرية(5) للفطر T.equinum (40X)



صورة مجهرية(6) للفطر M .audouinii (40X)

المصادر (References)

[1] T. Matsumoto. Fungal Disease in Dermatology In: ***principles and practice of clinical mycology.*** Kibber, C.C; Mackenzei, D.W.R. and Odd. F.C. ed. (1996) John wiley and son. Ltd. New

[2] J.A.A. Hunter; Savin, J.A. & Dahl, M.V.. ***Clinical Dermatology***. 3nd ed. (2002) Blakwell science.pp:214-221.

[3] D. H. Larone. ***Culture and identification of dermatophytes***. (1996)Clin. Mi-crobiol. Newsl., 18:33-38.

[4] K. Kevin medical mycology: ***cellular and molecular techiques***. (2007)John Wiley& sons,Ltd.Ireland

[5] M. Monod;, S. Capoccia; B. Lechenne;,C. Zaugg;, M Holdom.& C. ***Jousson Secreted proteses***.From pathogenic fungi . (2002) Int. J.Microbiol .292 :405-419.

[6] American academy physicans (2010).

[7] M.Harris David, A.Mc Dowell Brian,John Strisower Laser treatment for toenail fungus. (2007) aUniv. of Washington, Seattle WA, USA 98195; bPathoLase, Inc. 275 Airpark Blvd., Chico, CA95973; cNorthern California Orthopedic Centers, 6403 Coyle Avenue, Carmichael, CA, USA95608

[8] K. Jasmina,Z. Vižintin. *Novel Laser Therapy in Treatment of Onychomycosis*. Journal of the Laser and Health Academy.(2010) Vol. 2010, No.1; www.laserandhealth.com.

[9] M.S. Ellabib &,Z.M. Khalifa. ***Dermatophytes and other fungi associated with skin*** *Mycosis in Tripoli*.(2001) ,Libya .Ann. Saudi. Med., 21(3-4):193-195.

[10] F. Weigand; , M. Baum and S. Udupa. DNA molecular marker techniques,(1993). technical munual. No.20. ***international center for agricultural research in the dry area*** . alppo, Syria.

[11] C. E. Williams and, D. A. St-Clair.***Phenetic relationships and level of variability detected by restriction fragment length polymorphism and random amplified DNA analysis of cultivated and wild accessions of Lycopersican esculentum*** . (1993) Genome. 36: 619-630.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(209-221)
ISSN 1992 – 0849

[12] علي عبد الحسن ، الجنابي. ***وبائية الاصابة بفطريات السعفة***، جامعة كربلاء العلمية، المجلد السادس، العدد الاول(2008) .

[13] عدنان حميد عبيد، الحمداني. طلال حسين صالح. فاطمة عبدالحسين جبيل. ***عزل وتشخيص الفطريات الجلدية الممرضة للإنسان واختبار حساسيتها الدوائية لدى المرضى المراجعين للمستشفى التعليمي في محافظتي الديوانية والنجف الاشرف***. مجلة جامعة كربلاء العلمية، المجلد الثامن (2010) العدد الثاني:199-209.كربلاء ،العراق.

[14] V. Emr; W. Harry L; Shingleton Alexander W; Horn Thomas D ; Shafirstein Gal. ***The eefects of laser irradiation on Trichophyton rubrum growth***. (2008)Laser med Sci(23):349-353.

المؤلف

أســـامة فايق حمد: بكالوريوس علوم جامعة الأنبار/ كلية العلوم / قسم علوم حياة / سنة التخرج (2010) ، ماجستير علوم / جامعة تكريت / كلية العلوم / قسم علوم حياة / فرع النبات / سنة الحصول على شهادة الماجستير(2015) .