تأثير بعض المضادات الفطرية في نمو وتجرثم الفطر *Trichophyton* في الظروف المختبرية

مهند جواد كاظم الجبوري [١]
كلية العلوم–جامعة بابل

جواد كاظم عبود الجنابي [٢]
كلية العلوم–جامعة بابل

الخلاصة

نفذت سلسلة من التجارب المختبرية لبيان تأثير أربعة مضادات حياتية فطرية وهي Itraconazole (ITZ) و Clotrimazole (CTZ) و Fluconazole (FLZ) و Griseofulvin (GRF) في نمو وتجرثم ثلاثة أنواع من الفطريات الجلدية التابعة لجنس *Trichophyton* وهي *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* من خلال تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لهذه المضادات بطريقة التخفيف Agar dilution method.

أظهرت نتائج الدراسة أن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية وتجرثمها، يليه مضاد CTZ ثم مضاد FLZ ، في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية في تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة وتجرثمها، إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى للمضاد ITZ ٠.٥ مايكرو غرام/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمضاد CTZ ٢.٥ و ١.٢٥ و ٤.١٢ مايكرو غرام/مل وللمضاد FLZ ٤.١٢ مايكرو غرام/مل وللمضاد GRF ٢.٥ و ٨.٢٥ و ١٥.٧٥ مايكرو غرام/مل بالنسبة لـ *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. كما أظهرت النتائج إن المضادات الفطرية المختبرة تمتلك تأثيراً مثبطاً وقاتلاً تجاه الأنواع الفطرية المعزولة وبتراكيز مختلفة اعتماداً على نوع الفطر ونوع المضاد الفطري المستعمل.

Abstract

Laboratory experiments were achieved to investigate the effect of antifungal compounds (ITZ, CTZ, FLZ, FLZ) on the growth and sporulation of three species of *Trichophyton*, (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes* and *T. verrucosum*), in SDA through out the determination of the minimal inhibition concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) by agar dilution method.

The results showed that ITZ was the most active agents for the inhibition of growth and sporulation of these species followed by CTZ and FLZ, whereas GRF was the less active agents compared with other drugs, where the MIC of ITZ was ٠.٥ mg/ml, while MIC of CTZ was ٢.٥, ١.٢٥ and ٤.١٢ mg/ml, MIC of FLZ was ٤.١٢ mg/ml, and MIC of GRF was ٢.٥, ٨.٢٥ and ١٥.٧٥ mg/ml for *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* and *T. verrucosum*, respectively. The results also showed that all antifungal agents had fungistatic and fungicidal effect against isolated species with different concentrations depended on the species and the type of drug.

المقدمة Introduction

تضم الفطريات الجلدية ثلاثة أجناس هي *Trichophyton* و *Epidermophyton* و *Microsporum* (Larone, ١٩٩٦; Weitzman & Summerbell, ١٩٩٥). يعد الجنس *Trichophyton* أحد أهم أجناس الفطريات الجلدية الخيطية وأكثرها انتشاراً إذ أشار Monod وجماعته (٢٠٠٢) إلى انه من بين حوالي عشرة أنواع مرضية للإنسان (المعزولة في أوربا) تم ملاحظة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* بصورة شائعة، كما ذكر Nenoff and Haustein (١٩٩٧) إن الفطر *T. tonsurans* هو المسبب الرئيسي للسعفة الراسية في الولايات المتحدة الأمريكية وبعض الدول الأوربية، وأشار Ali (١٩٩٠) الذي ركز دراسته على السعفة الراسية في بغداد إلى إن الفطر *T. verrucosum* هو المسبب المرضي الثاني لهذه الإصابة إذ شكل نسبة ٢٦.١% من حالات الإصابة بالسعفة الراسية. تشكل إصابات *Trichophyton* المشكلة الرئيسية العامة للصحة (Fuller *et al*., ٢٠٠٣; Hay, ٢٠٠١).

استخدمت العديد من المضادات الحياتية الفطرية كالـ Imidazoles و Butenafine و Terbinafine سريرياً للعلاج السطحي للإصابات الفطرية (Watanabe, ١٩٩٩). كما تم استعمال Triazoles و Griseofulvin و Terbinafine كمضادات فطرية فموية للعلاج الجهازي للإصابات الفطرية الجلدية الشديدة (Lesher, ١٩٩٩). ورغم الأهمية العلاجية لهذه المضادات إلا إنها لا تخلو من التأثيرات الجانبية إضافة إلى المطاولة بالعلاج مما يجعلها اقل تأثيرا (Friedlander, ٢٠٠٠; Watanabe, ١٩٩٩).

تعتمد معالجة الإصابات الفطرية الجلدية Cutaneous infections على استخدام المضادات الفطرية السطحية Topical antifungal والمضادات الفطرية الجهازية Systemic antifungal، على الرغم من أن تطبيق العلاج بالمضادات الفطرية السطحية عادةً يكون كافياً لاستئصال الفطر الممرض ومعالجة الكثير من هذه الأمراض، إلا أنّ اغلب الإصابات الفطرية الجلدية الشديدة والمزمنة كالسعفة الراسية Tinea capitis والسعفة الظفرية Tinea unguium تتطلب استخدام العلاجات الجهازية Systemic treatments (Watanabe, ١٩٩٩).

تمتلك المضادات الحيوية الفطرية مثل Allylamines (Terbinafine) والمضادات الفموية Triazoles (Itraconazole) فعالية كبيرة لمعالجة الإصابات الفطرية الجلدية (Roberts, ١٩٩٧; Weitzman and Summerbell, ١٩٩٥; Gupta *et al.*, ١٩٩٨). إذ أكد Ghannoum وجماعته (٢٠٠٤) و Perea وجماعته (٢٠٠١) و Fernandez-Torres وجماعته (٢٠٠٠) و Norris وجماعته (١٩٩٩) أن الجنس *Trichophyton* هو المسبب الرئيسي للإصابات الفطرية الجلدية السطحية مثل السعفة القدمية Tinea pedis وإصابات الأظافر Onychomycosis. وأيضا مسؤول عن أكثر من ٧٠% من الإصابات الفطرية الجلدية (Weitzman and Summerbell, ١٩٩٥). كما إن الإصابات الناتجة عن هذا الجنس غالباً ما تكون مقترنة بالانتكاسات المتبوعة بانقطاع العلاج الفطري (Mukherjee *et al.*, ٢٠٠٣). ونظرا لأهمية جنس *Trichophyton* في مجال الإصابات الجلدية ولقلة الدراسات في بلدنا حول هذا الجنس خاصة قدرته على إنتاج الابواغ الكونيدية الكثيرة وتحديد المضادات الفطرية التي تمتلك تأثيرا فعالاً على نموه وتجرثمه وتحليل فعالية المضادات الفطرية مختبريا لتسهيل اختيار العلاج الفعال فقد تم إجراء هذه الدراسة.

المواد وطرق العمل

جمع العينات السريرية وعزل الفطريات:

تم جلب العينات من وحدة الإمراض الجلدية في مستشفى مرجان التعليمي في الحلة، إذ تم عزل فطر *T. rubrum* من شخص مصاب بسعفة الفخذ Tinea cruris وفطر *T. mentagrophytes* من طفلة مصابة بالسعفة الرأسية Tinea capitis بينما تم عزل فطر *T. verrucosum* من شخص مصاب بالسعفة الحلقية Tinea corporis في الذراع.

بعد الفحص المجهري المباشر للعينات تم زرع العينات على وسط سابرويد دكستروز أكار مع كلورامفينكول ٠.٠٥ غم لمنع نمو البكتيريا وكذلك تم إضافة هيدروكسيد الامونيوم تركيز ٣٠ % إلى الوسط الزرعي بدلا من السايكلوهكسامايد لمنع نمو الفطريات الملوثة إذ تم إضافة قطرة واحدة من هيدروكسيد الامونيوم تركيز ٣٠ % إلى

حافة الأطباق الزرعية م حُركت حركة رحوية أو دائرية وتركت لمدة ٢٠ دقيقة قبل زراعتها، حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٠ ± ٢ مْ لمدة ٧-١٤ يوماً (Larone *et al*., ١٩٩٩).

اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية:

١. **تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية:** تم تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MFC) Minimal Fungicidal Concentration لأربعة مضادات فطرية هي ITZ و CTZ و FLZ و GRF تجاه الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* وذلك باستخدام طريقة تخفيف الاكار Agar Dilution Method (McGinnis, ١٩٨٠; Okeke & Gugnani, ١٩٨٧) إذ اتبعت التحضيرات التالية:

A- اللقاح الفطري Fungal Inoculum:

حضر حسب طريقة (Jessup *et al*., ٢٠٠٠)، إذ بلغ تركيز اللقاح الفطري (٢ × ١٠^{٤} conidia/ml).

B- المضادات الفطرية: Antifungal Drugs

استخدمت المضادات الفطرية ITZ وCTZ وGRF و FLZ وحضر لكل منها محلول أساسي Stock Solution بتركيز ١٠.٠٠٠ مايكرو غرام/مل وحسب ما ورد في (McGinnis, ١٩٨٠). أذيب مع التحريك المستمر ٥٠ ملغم من مضاد FLZ في قنينة زجاجية معقمة ومحكمة الغلق حاوية على ٥ مل من الماء المقطر المعقم. أما بالنسبة للمضادات CTZ وGRF وITZ فقد تم تحضير ثلاث قناني زجاجية معقمة ووضع في كل منها ٥ مل من مادة ١٠٠% Dimethyl Sulfoxide وأضيف لكل قنينة ٥٠ ملغم من المضادات ITZ وCTZ وGRF كلٌ على حدة. وبذلك تم الحصول على المحلول الأصلي لكل مضاد من المضادات الفطرية الأربعة بتركيز ١٠.٠٠٠ مايكرو غرام/مل. تركت المحاليل بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة قبل استخدامها وأما المتبقي فقد حفظ في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مْ لحين استخدامه مرة ثانية.

C- تحضير وسط السيطرة:

حضر حسب ما ورد في (McGinnis, ١٩٨٠) وذلك بإضافة ٣ مل من وسط SDB إلى ثلاثة أنابيب اختبار سعة ٥٠ مل يحتوي كل أنبوب على ٢٧ مل من وسط ESDA المحفوظة في حمام مائي بدرجة ٥٠-٥٢ مْ ومزج الوسطين معا بصورة جيدة وبعدها صب في صحن زجاجي وترك ليتصلب. وبعد إجراء التحضيرات السابقة اتبعت الخطوات التالية لتحديد MIC و MFC (McGinnis, ١٩٨٠):

١) اخذ ٢ مل من المحلول الأصلي للمضاد الفطري وأضيف إلى ١٨ مل من وسط SDB وبذلك تم الحصول على تركيز ١٠٠٠ مايكرو غرام/مل ورمز له بالرقم ١.

٢) اخذ ٧ مل من المحلول رقم ١ وأضيف إلى ٧ مل من وسط SDB وبذلك تم الحصول على تركيز ٥٠٠ مايكرو غرام/مل ورمز له بالرقم ٢.

٣) اخذ ٧ مل من المحلول رقم ٢ وأضيف إلى ٧ مل من وسط SDB واستمر على هذا المنوال إلى حد التركيز ٠.٢٥ مايكرو غرام /مل وفي الوقت نفسه علمت كل أنبوبة برقم من ٣-١٣.

٤) اخذ من كل تخفيف ٣ مل وأضيف إلى ثلاثة أنابيب اختبار سعة ٥٠ مل يحتوي كل أنبوب على ٢٧ مل من وسط ESDA المحفوظة في حمام مائي بدرجة حرارة ٥٠-٥٢ مْ وخلط المزيج جيدا وبعدها صب في طبق زجاجي معقم.

٥) سحب ٠.٠٥ مل من اللقاح الفطري باستخدام الماصة الدقيقة ووضعت قطرة في منتصف الأطباق ونشرت بشكل متجانس وتركت الأطباق على حالها وبدون تحريك لكي نسمح للقاح بأن ينتشر في الوسط.

٦) حضنت الأطباق الملقحة في درجة حرارة ٣٠ مْ وعدلت حامضية الوسط إلى pH٦ لحين ظهور نمو يمثل مستعمرات الفطر في أطباق السيطرة. بعد ذلك سجل MIC كأقل تركيز للمضاد اللازم لتثبيط نمو المستعمرات وسجل MFC كأقل تركيز قاتل لا يظهر فيه نمو المستعمرات. إذ تم نقل قرص بقطر ١٠ ملم من مستعمرة الفطر غير النامي في وسط ESDA الحاوي على المضاد الفطري إلى وسط غذائي جديد خالٍ من أي مضاد وحضنت الأطباق لمدة ٤٨ ساعة بدرجة حرارة (٣٠ ± ٢)مْ لملاحظة النمو من عدمه. فعند حصول نمو قطري للمستعمرة الفطرية نثبت كون تركيز المضاد في وسط ESAD الذي اخذ منه قرص اللقاح هو مثبط للنمو MIC وعند عدم حصول النمو فهذا يعني إن تركيز المضاد قاتل للفطر MFC (الجنابي، ٢٠٠٤).

٢. **تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة:** بعد تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات الفطرية المختبرة تم حساب القدرة التثبيطية لهذه المضادات على النمو القطري للأنواع الفطرية المعزولة، إذ تم اخذ قرص بقطر ١٠ ملم من حافة المستعمرة الفطرية لكل نوع بعمر ٧-١٠ أيام ووضع في مركز طبق حاوٍ على وسط SDA مع المضاد الفطري، حضنت الإطباق لمدة ٧ أيام بدرجة حرارة ٣٠ مْ وبمعدل ثلاثة مكررات لكل نوع من الفطريات ولكل مضاد فطري، وفي نهاية مدة الحضن تم قياس قطرين متعامدين بالمسطرة المترية للمستعمرات الفطرية النامية ثم جرى حساب الزيادة في نمو المستعمرة بطرح قطر اللقاح المستعمل أصلا ١٠ ملم وتمت المقارنة مع الزيادة في قطر مستعمرة السيطرة التي تمثلت بوسط SDA الخالي من المضادات الفطرية للوصول إلى النسبة المئوية للتثبيط حسب طريقة (Nothan *et al.*, ١٩٧٨).

٣- تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة

تم حساب الابواغ الكونيدية المنتجة من قبل الأنواع الفطرية المعزولة المعاملة بالمضادات الفطرية باعتماد طريقة Haemocytometer counting chamber حسب طريقة (Lomer & Lomer, ١٩٩٧)، إذ أُخذ ١ غم من الأوساط الزرعية لكل نوع من الفطريات المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة ٧ أيام، ووضع في أنبوبة اختبار سعة ٥٠ مل ومزج مع ١٠ مل من الماء المقطر المعقم. تم إضافة قطرتين من سائل الصابون liquid soap لكل أنبوبة اختبار لتقليل الشد السطحي للابواغ الكونيدية ولتقليل تجمعها أو ترسبها، رج المحلول بقوة وترك لمدة ١٠ دقائق. أُخذ ١ مل من المحلول أعلاه ومزج مع ٩ مل من الماء المقطر المعقم ($١٠^{-١}$ = dilution)، نقلت قطرة واحدة من العالق إلى شريحة العد باستخدام قطارة معقمة مع مراعاة تعقيم القطارة بعد كل عملية. تم حساب أعداد الابواغ الكونيدية لخمسة مربعات قطرية كبيرة على شريحة العد. كررت هذه العملية لثلاث مرات وبواقع ثلاثة مكررات لكل نوع من الأنواع الفطرية المعزولة ولكل مضاد فطري. سجل معدل إنتاج الابواغ الكونيدية وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية مقارنة بمجموعة السيطرة وحسب المعادلة التالية.

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{أعداد الابواغ الكونيدية في السيطرة} - \text{أعداد الابواغ الكونيدية المعاملة}}{\text{أعداد الابواغ الكونيدية في السيطرة}}$$

التحليل الإحصائي

حُللت نتائج التجارب بواسطة اختبار تحليل التباين ANOVA والاستعانة بجداول النسب المثلثية عند مستوى احتمالية (٠.٠١) وتم استخدام اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D) لبيان معنوية النتائج. (الراوي وخلف الله، ٢٠٠٠)

النتائج

اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة

١- تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية

أظهرت نتائج هذه التجربة (الجدول ١) وجود تأثير معنوي (>٠.٠١) للمضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin، على الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* فقد تباينت معنوياً (>٠.٠١) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى اعتمادا على نوع الفطر والمضاد المستخدم. اذ بينت النتائج تفوقا معنويا (>٠.٠١) لمضاد ITZ و CTZ في قيمة التركيز المثبط الأدنى مقارنة بالمضاد FLZ و GFR، حيث سجل مضاد ITZ و CTZ اقل قيمة للتركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى والتي بلغت ٠.٥ و ١.٢٥ مايكرو غرام/مل على التوالي في حين كان معدل التركيز المثبط الأدنى ٤.١٢ و ٨.٨٣ مايكرو غرام/مل لمضاد FLZ و GRF على التوالي، كذلك تفوق معنوياً (>٠.٠١) مضاد FLZ مقارنة بمضاد GFR في قيمة التركيز المثبط الأدنى للأنواع الفطرية المعزولة. ولم تكن هناك اختلافات معنوية (>٠.٠١) بين مضاد ITZ و CTZ في قيمة التركيز المثبط الأدنى. كما بينت النتائج تفوقاً معنوياً (>٠.٠١) لمضاد ITZ مقارنة بالمضادات CTZ و FLZ و GFR في قيمة التركيز القاتل الأدنى، إذ بلغ معدل التركيز القاتل الأدنى ١.٢٥ مايكرو غرام/مل لمضاد ITZ في حين كانت معدلات التركيز القاتل الأدنى ٤.٩٥ و ٨.٢٥ و ١٧.٠٤ مايكرو غرام/مل للمضادات CTZ و FLZ و GRF على التوالي. وأظهرت نتائج التجربة تفوقاً معنوياً (>٠.٠١) للنوع *T. rurbum* و *T. mentagrophytes* مقارنة بالنوع *T. verrucosum* في قيمة التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى، إذ بلغ معدل MIC و MFC ٢.٠٤ و ٤.٤٣ مايكرو غرام/مل و ٣.٥٣ و ٦.٩٣ مايكرو غرام/ مل على التوالي بالنسبة لـ *T. rurbum* و *T. mentagrophytes* على التوالي، في حين كان معدل MIC و MFC ٦.١٢ و ١٢.٢٥ مايكرو غرام/مل على التوالي للفطر *T. verrucosum*.

الجدول (١) قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمضادات الفطرية المختبرة (مايكرو غرام/ مل) تجاه الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA وبدرجة حرارة ٣٠مْ ولمدة ٧ أيام.

المضادات الفطرية	التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى (مايكرو غرام/مل)								المعدل للفطريات	
	ITZ		CTZ		FLZ		GRF			
الأنواع الفطرية	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
T. rubrum	٠.٥	١.٢٥	٢.٥	٤.١٢	٤.١٢	٨.٢٥	٢.٥	٤.١٢	٢.٤	٤.٤٣
T. mentagrophytes	٠.٥	١.٢٥	١.٢٥	٢.٥	٤.١٢	٨.٢٥	٨.٢٥	١٥.٧٥	٣.٥٣	٦.٩٣
T. verrucosum	٠.٥	١.٢٥	٤.١٢	٨.٢٥	٤.١٢	٨.٢٥	١٥.٧	٣١.٢٥	٦.١٢	١٢.٢٥
المعدل للمضادات	٠.٥	١.٢٥	٢.٦٢	٤.٩٥	٤.١٢	٨.٢٥	٨.٨٣	١٧.٢٥		

L.S.D على مستوى ١% (MIC) للفطريات ٢.٣١ ، للمضادات ١.٧ ، للتداخل ٠.٥٢

L.S.D على مستوى ١% (MFC) للفطريات ٤.٥٢ ، للمضادات ٣.٤٩ ، للتداخل ٠.٥٨

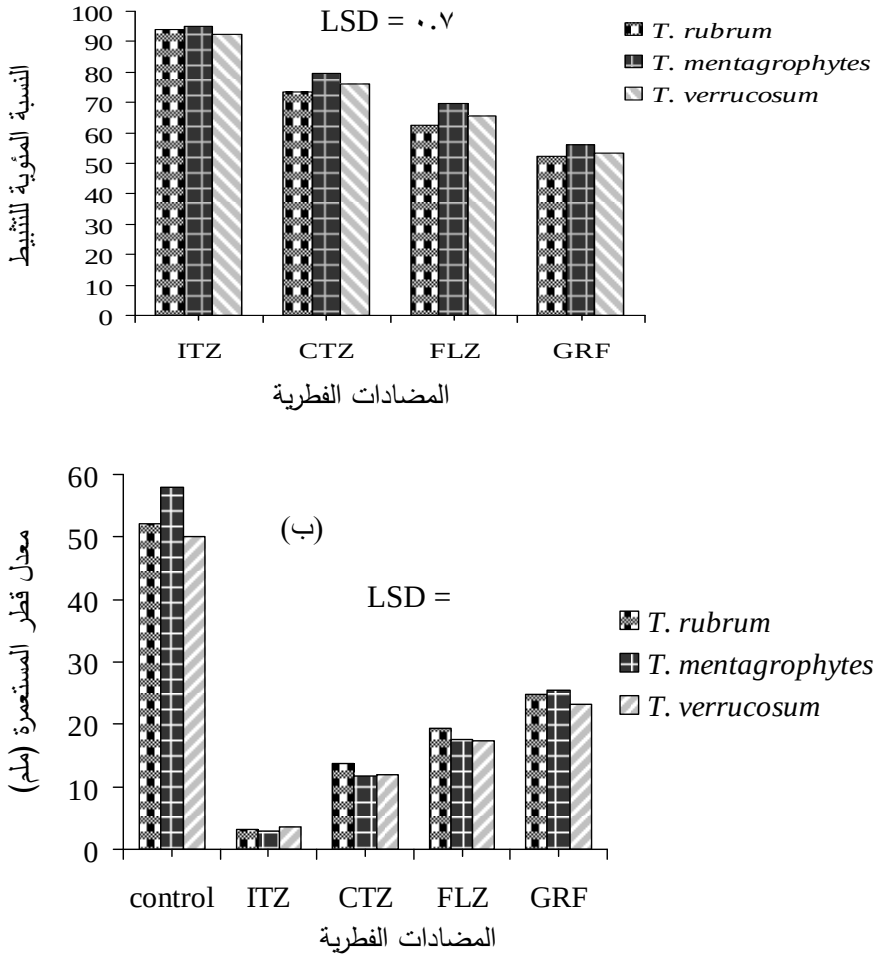
- توجد علاقة معنوية بين نوع الفطر والمضاد الفطري المستخدم

٢- تأثير المضادات الفطرية في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة

أوضحت نتائج هذه التجربة (الشكل ٢) وجود فروقات معنوية (<٠.٠١) في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة ٧ أيام، إذ وجد بان المضاد الفطري ITZ قد تفوق معنوياً (<٠.٠١) في نسبة تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة مقارنة بالمضادات الفطرية الثلاث الأخرى وكانت النسبة المئوية للتثبيط ٩٣% و ٩٥% و ٩٢.٥% لكل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. كذلك بينت النتائج وجود فروقات معنوية (<٠.٠١) في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد CTZ مقارنة بمضاد FLZ وGRF، إذ كانت النسبة المئوية للتثبيط لمضاد CTZ ٧٣.٥% و ٧٩.٦% و ٧٦.٢% في حين كانت النسبة المئوية للتثبيط لمضاد FLZ ٦٢.٦% و ٦٩.٨% و ٦٥.٤% ولمضاد GRF ٥٢.٤% و ٥٥.٩% و ٥٣.٥% بالنسبة للأنواع *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي. بالإضافة إلى ذلك فقد تفوق معنويا (<٠.٠١) مضاد FLZ مقارنة بمضاد GRF في النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة.

أظهرت نتائج التجربة ذاتها (الشكل ٢-ب) انخفاضاً معنوياً (<٠.٠١) في معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة ٧ أيام مقارنة بمجموعة السيطرة ولجميع المضادات الفطرية المختبرة كما لوحظ وجود فروقات معنوية (<٠.٠١) في معدلات أقطار مستعمرات هذه الأنواع المعزولة المعاملة بالمضادات الفطرية، إذ وجد بان معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية

المعاملة بمضاد GRF قد تفوقت معنويا (<٠.٠١) عن مثيلاتها بالنسبة للمضادات ITZ و CTZ و FLZ في حين وجد أن هناك انخفاضاً معنوياً (<٠.٠١) في معدلات أقطار مستعمرات هذه الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد ITZ عن مثيلاتها بالنسبة لمضاد FLZ و CTZ. من جهة أخرى تفوقت معنوياً (<٠.٠١) معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعاملة بمضاد FLZ عن مثيلاتها بالنسبة لمضاد CTZ. بلغت معدلات أقطار المستعمرات في نهاية مدة الحضن ٣.١ و ٢.٩ و ٣.٧ ملم بالنسبة لمضاد ITZ و ١٣.٧ و ١١.٨ و ١١.٩ ملم بالنسبة لمضاد CTZ و ١٩.٥ و ١٧.٥ و ١٧.٣ ملم بالنسبة لمضاد FLZ و ٢٤.٧ و ٢٥.٥ و ٢٣.٢ ملم بالنسبة لمضاد GRF وللأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.

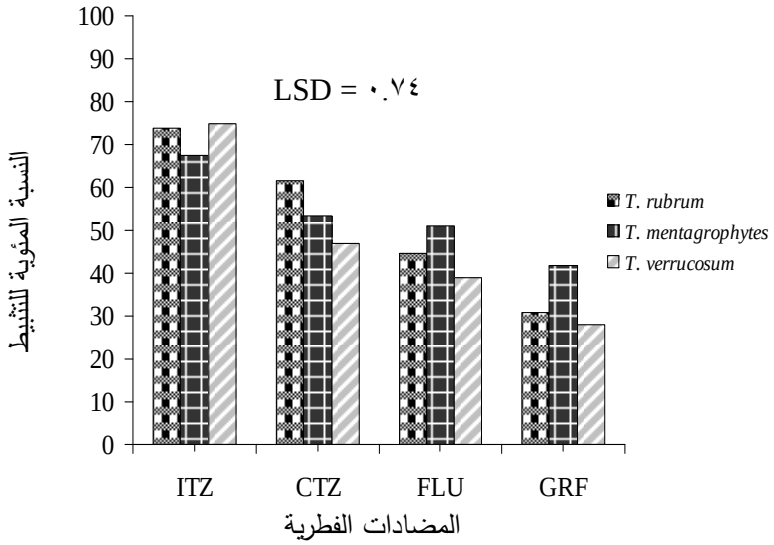


الشكل (٢-أ+ب): تأثير المضادات الفطرية في (أ) النسبة المئوية لتثبيط معدلات أقطار الأنواع الفطرية (ب) معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية. النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة حضن ٧ أيام.

٣- تأثير المضادات الفطرية المختبرة في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة

بينت نتائج هذه التجربة (الشكل ٢) وجود فروقات معنوية عند مستوى معنوية (<٠.٠١) في النسبة المئوية لتثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T.*

verrucosum النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة ٧ أيام ولجميع المضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin، إذ كانت أعلى نسبة تثبيط في إنتاج الابواغ الكونيدية لمضاد ITZ والتي تفوقت معنوياً (<٠.٠١) عن مثيلاتها بالنسبة للمضادات CTZ و FLZ و GRF وللأنواع الفطرية الثلاث في حين انخفضت معنوياً (<٠.٠١) نسبة التثبيط لمضاد GRF مقارنة بمثيلاتها للمضادات الفطرية CTZ و FLZ وأيضا للأنواع الفطرية الثلاثة، كما لوحظ وجود فروقات معنوية (<٠.٠١) في نسبة التثبيط لمضاد CTZ مقارنة بنسبة التثبيط لمضاد FLZ وللأنواع الفطرية الثلاثة. كانت النسبة المئوية للتثبيط هي (٧٣.٨% و ٦٧.٥% و ٧٥%) و (٦١.٥% و ٥٣.٤% و ٤٦.٦%) و(٤٤.٦% و ٥١.١% و ٣٩%) و(٣٠.٧% و ٤١.٨% و ٢٨%) بالنسبة للمضادات ITZ و CTZ و FLZ و GRF وللأنواع الفطرية *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* على التوالي.



الشكل (٣) تأثير المضادات الفطرية في النسبة المئوية لتثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة النامية على وسط SDA برقم هيدروجيني ٦ ودرجة حرارة ٣٠ مْ ولمدة حضن ٧ أيام.

المناقشة

١- اختبار حساسية الأنواع الفطرية المعزولة تجاه المضادات الفطرية المختبرة

يعّرف التركيز المثبط الأدنى MIC بأنه اقل تركيز للمضاد والذي يسبب تثبيط ٨٠% من النمو الفطري بينما يعّرف التركيز القاتل الأدنى بأنه اقل تركيز للمضاد والذي يسبب تثبيطاً كاملاً للنمو الفطري ١٠٠% أو لا يظهر عنده النمو حتى بعد نقل الفطر إلى وسط خالي من المضادات (Mukherjee *et al.*, ٢٠٠٣). أظهرت نتائج هذه التجربة (الجدول ١) إن المضادات الفطرية المختبرة Itraconazole و Clotrimazole و Fluconazole و Griseofulvin تمتلك تأثيراً مثبطاً وقاتلاً على الأنواع الفطرية المعزولة *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* و *T. verrucosum* وبتراكيز مختلفة اعتمادا على نوع الفطر المعامل وكذلك المضاد الفطري المستخدم. إن هذه النتائج جاءت متقاربة مع ما ذكره العديد من الباحثين، إذ أشار Favre وجماعته (٢٠٠٣) إلى أن

التركيز المثبط الأدنى لمضاد ITZ هو٠.٥ مايكرو غرام/مل في حين كان التركيز القاتل الأدنى لهذه المضاد ٤ مايكرو غرام/مل تجاه أنواع جنس *Trichophyton spp.* بينما كان التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لمضاد CTZ مختلف باختلاف أنواع جنس *Trichophyton* فالنسبة للفطر *T. mentagrophytes* و *T. rubrum* كان MIC ٠.٢٥ و ١ مايكرو غرام/مل على التوالي في حين كان MFC ٤ و ٨.٢٥ مايكرو غرام/مل على التوالي. أما بالنسبة لمضاد GRF فقد كان MIC و MFC ٨ و ٣٢ مايكرو غرام/مل على التوالي لجميع أنواع جنس *Trichophyton*، أما MIC و MFC لمضاد FLZ فهو ٤ و ٣٢ مايكرو غرام/مل. ذكر Barchiesi وجماعته (٢٠٠١) إن التركيز المثبط الأدنى لمضاد ITZ كان ١ مايكرو غرام/مل في حين كان التركيز القاتل الأدنى لهذا المضاد ٤-٢ مايكرو غرام/مل ضد أنوع جنس *Trichophyton* و *Microsporum* و *Epidermophyton*. وجد Tatsumi وجماعته (٢٠٠١) إن MIC لمضاد CTZ ٠.٢٥ مايكرو غرام/مل و MFC ٠.٥ مايكرو غرام/مل تجاه النوع *T. rubrum* و *T. mentagrophytes*.

أظهرت نتائج هذه الدراسة (الشكل ٢-أ-ب) إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في نسبة تثبيط معدلات أقطار مستعمرات الأنواع الفطرية المعزولة يليه مضاد CTZ و FLZ في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية ضد الأنواع الفطرية المعزولة. إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع نتائج Fernandez-Torres وجماعته (٢٠٠١) والذي أشار إلى إن مضاد ITZ كان الأكثر فعالية تجاه الفطر *T. rubrum* وكان متوسط التركيز المثبط الأدنى له ٠.٠٩ مايكرو غرام/مل يليه مضاد CTZ ومتوسط التركيز المثبط الأدنى له ٠.٠١ مايكرو غرام/مل في حين كان مضاد FLZ هو الأقل فعالية وبمتوسط تركيز مثبط أدنى ٢.٨ مايكرو غرام/مل. كما أشار كل من Santos & Hamdan (٢٠٠٥) إلى إن مضاد ITZ بتركيز مثبط أدنى ٠.١٢٥ مايكرو غرام/مل كان الأكثر فعالية ضد كل من *T. rubrum* و *T. mentagrophytes* مقارنة بمضاد FLZ بتركيز مثبط أدنى ٦٤ مايكرو غرام/مل.

ذكر الكناني (٢٠٠٥) و Al-Ameri (٢٠٠٥) إن مجموعة الازول ومن ضمنها مضادات ITZ و CTZ و FLZ تمتاز بفعاليتها ضد الفطريات الخيطية، بينما يمتلك مضاد GRF فعالية اقل ضد الفطريات الخيطية. ويعزى السبب إلى إن هذا المضاد يمتاز بتثبيطه للإنبات أكثر من تثبيطه للنمو الفطري (الربيعي، ٢٠٠١)، وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج الدراسة الحالية. قد تختلف نتائج اختبار حساسية الفطريات الجلدية للمضادات الحيوية باختلاف العوامل التي تؤثر على قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC مثل حجم اللقاح ومدة الحضن ودرجة الحرارة ومعايير نقطة التوقف endpoint (Mock وجماعته، ١٩٩٨) و Butty وجماعته، ١٩٩٥ و Granade & Artis, ١٩٨٠). علما أن الظروف المثلى لاختبار الحساسية قد حددت مختبريا للخمائر وبعض الفطريات الخيطية المهمة (Espinel-Ingroff *et al.*, ١٩٩٥; Fromtling *et al.*, ١٩٩٣). إذ أشار Perea وجماعته (٢٠٠١) إلى إن التغيير في العوامل المؤثرة على تقنية اختبار الحساسية للفطريات الجلدية مثل حجم اللقاح ونوع الوسط الغذائي ودرجة الحرارة ومدة الحضن قد توضح الاختلاف في نتائج اختبار الحساسية للمضادات الفطرية.

إن صعوبة إجراء تقنية اختبار حساسية الفطريات الجلدية تجاه المضادات الفطرية ناتجة عن الصفات المظهرية لهذه الفطريات وكذلك صعوبة إنتاج السبورات لبعض أنواعها خصوصا ذات المصدر البشري Anthropophilic والتي تكون أكثر تعقيدا بعد إعادة زراعتها لعدة مرات (Fernandez-Torres *et al.*, ٢٠٠٢). خاصة إن خلايا الفطريات تشبه خلايا اللبائن، كلتاهما حقيقية النواة،

وبالتالي فان العلاج المستعمل ضد الفطريات قد يملك التأثير نفسه على خلايا اللبائن (Wheat, ١٩٩٤). لذلك فان العلاج بالمضادات الفطرية يتطلب فحص الحساسية الدوائية للفطريات في المختبر والحصول على الجرعة المثالية للمريض (Fukayama, ١٩٩٩).

٢- تأثير المضادات الفطرية في نسبة إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة

إن فعالية مضادات Azoles و Imidazoles تمتاز بتثبيط تكوين معقد Ergosterol الذي يعد المكون الرئيسي للغشاء البلازمي للفطريات، إذ ينظم نفاذية وفعاليات إنزيمات هذا الغشاء وهي المكون الرئيسي للحويصلات الإفرازية ولهذا المعقد دور مهم في عملية تنفس المايتوكوندريا (Vanden Bossche *et al.*, ٢٠٠٣)، إذ تعمل مضادات Azoles على إنزيم هدف هو ١٤α-demehtylase sterol والذي يشفر له عن طريق الجين CYP٥١ ونتيجة التداخل مع هذا الجين يحدث انخفاض في معقد Ergosterol وتراكم ١٤- methylsterols وبالتالي يربك عمل الخلية الفطرية وربما يؤدي إلى موتها (Vanden Bossche *et al.*, ٢٠٠٤).

إن مضادات الازول (الشكل ٣) والمتمثلة بـ ITZ و CTZ و FLZ هي الأكثر فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية للأنواع الفطرية المعزولة وكان مضاد ITZ هو الأكثر فعالية مقارنة بمضاد CTZ و FLZ في حين كان مضاد GRF هو الأقل فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية. إن هذه النتيجة متوافقة مع ما ذكره Santos وجماعته (٢٠٠٦) من إن مضادات الازول CTZ و FLZ كانت أكثر فعالية في تثبيط إنتاج الابواغ الكونيدية المرشحة filtered conidia والابواغ الكونيدية غير المرشحة non-filtered conidia مقارنة بمضاد GRF. والسبب يعود إلى إن مضاد GRF يعمل على تثبيط إنبات الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia التي تمتاز بجدار سميك ومقاوم للمضادات الفطرية في حين تعمل مضادات الازول على تثبيط تخليق معقد Ergosterol في الغشاء البلازمي للخلية الفطرية (Fernandez-Torres *et al.*, ٢٠٠٣). كما أشار Vanden Bossche وجماعته (٢٠٠٤) إلى إن مضاد ITZ هو الأكثر فعالية في تثبيط تكوين معقد Ergosterol مقارنة بمضادات الازول الأخرى.

References

الجنابي، علي عبد الحسين صادق. (٢٠٠٤). معالجة الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات الجلدية بمراهم حاوية على بعض مركبات البيورين. أطروحة دكتوراه / كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد. (٢٠٠٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب للنشر. جامعة الموصل.

الربيعي، إنعام محمود نجم. (٢٠٠١). دراسة حول الفطريات المعزولة من القناة التنفسية لمرضى مركز التدرن والأمراض الصدرية في البصرة. رسالة ماجستير / كلية العلوم-جامعة البصرة.

الكناني، فاضل جبار فرحان. (٢٠٠١). حساسية الفطريات الجلدية والانتهازية لبعض المستخلصات النباتية الخام. رسالة ماجستير / كلية التربية-جامعة البصرة.

Al-Ameri, N. O. (٢٠٠٥). A study of taxonomy and epidemiology of pulmonary mycotic infections in Al-Qadisyia province. Ph. D. Thesis. Collage of Education - Al-Qadisiyia University.

Ali , T. M. (١٩٩٠). A study of tinea eajoitis in Baghdad (Iraq). Msc. Thesis. College of Medicine . University of Baghdad.

Barchiesi, F.; Arzeni, D.; Camiletti, V.; Simonetti, O.; Cellini, A.; Offi-dani, A. M. and Scalise, G. (٢٠٠١). In vitro activity of posaconazole against clinical isolates of dermatophytes. J. Clin. Microbiol., ٣٩: ٤٢٠٨–٤٢٠٩.

Butty, P.; Lebecq, J. C.; Mallie , M. and Bastide, J. M. (١٩٩٥). Evaluation of the susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a new technique. J. Med. Vet. Mycol., ٣٣:٤٠٣–٤٠٩.

Espinel-Ingroff, A.; Dawson, K.; Pfaller, M.; Anaissie, E.; Breslin, B.; Dixon, D.; Fothergill, A.; Paetznick, V.; Peter, J.; Rinaldi, M. and Walsh, T. (١٩٩٥). Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. Antimicrob. Agents Chemother., ٣٩:٣١٤–٣١٩.

Favre, B.; Hofbauer, B.; Kwang-Soo, H. and Ryder, N. S. (٢٠٠٣). Comparison of in vitro activities of ١٧ antifungal drugs against a panel of ٢٠ dermatophytes by using a microdilution assay. J. Clin. Microbiol., ٤١:٤٨١٧–٤٨١٩.

Fernandez-Torres, B.; Cabanes, F. J.; Carrillo-Munoz, A. J.; Esteban, A.; Inza, I.; Abarca, L. and Guarro, J. (٢٠٠٢). Collaborative study of optimal anti-fungal susceptibility testing conditions for dermatophytes. J. Clin. Microbiol., ٤٠:٣٩٩٩–٤٠٠٣.

Fernandez-Torres, B.; Carrilo, A. J.; Martýn, E.; Del Palacio, A.; Moore, M. K.; Valverde, A.; Serrano, M. and Guarro, J. (٢٠٠١). In vitro activities of ١٠ antifungal drugs against ٥٠٨ dermatophyte strains. Antimicrob. Agents Chemother., ٤٥:٢٥٢٤–٢٥٢٨.

Friedlander, S.F. (٢٠٠٠). The optimal therapy for tinea capitis. Pediatr Dermatol., ١٧: ٦–٣٢٥.

Fromtling, R.A.; Galgiani, J.N.; Pfaller, M.A.; Espinel-Ingroff, A.; Bartizal, K.F.; Bartlett, M. S.; Body, B. A.; Frey, C.; Hall, G.; Roberts, G. D.; Nolte, F. B.; Odds, F. C.; Rinaldi, M. G.; Sugar, A. M. and Villareal, K. (١٩٩٣). Multicenter evaluation of a macrobroth antifungal susceptibility test for yeasts. Antimicrob. Agents Chemother., ٣٧:٣٩–٤٥.

Fukayama, M. (١٩٩٩). Evaluation of antimycotics in the elderly. Nippon-Ishinkin-Gakkai-Zasshi., ٤٠(٣): ١٢٩–١٣٣.

Fuller, L.C.; Child, F.C.; Midgley, G. and M. Higgins, E. (٢٠٠٣). Scalp ringworm in south-east London and an analysis of a cohort of patients from a paediatric dermatology department. Br. J. Dermatol., ١٤٨:٩٨٥–٩٨٨.

Ghannoum, M. A.; Chaturvedi, V.; Espinel-Ingroff, A.; Pfaller, M. A.; Rinaldi, M. G.; Lee-Yang, W. and Warnock, D. W. (٢٠٠٤). Intra and interlaboratory study of a method for testing antifungal susceptibilities of dermatophytes. J. Clin. Microbiol., ٤٢:٢٩٧٧–٢٩٧٩.

Granade, T.C. and Artis, W.M. (١٩٨٠). Antimycotic susceptibility testing of dermatophytes in microcultures with a standardized fragmented mycelial inoculum. Antimicrob. Agents Chemother., ١٧:٧٢٥–٧٢٩.

Gupta, A.K.; Konnikov, N.; MacDonald, P.; Rich, P.; Rodger, N. W.; Edmonds, M. W.; McManus, R. and Summerbell, R. C. (١٩٩٨). Prevalence and epidemiology of toenail Onychomycosis in diabetic subjects: a multicentre survey. Br. J. Dermatol., ١٣٩:٦٦٥–٦٧١.

Hay, R.J. (٢٠٠١). The future of Onychomycosis therapy may involve a com-bination of approaches. Br. J. Dermatol., ١٤٥ (Suppl. ٦٠):٣–٨.

Jessup, C.J.; Warner, J. ; Isham, N.; Hasan, I. and Ghannoum, M. A. (٢٠٠٠) Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophtes: Establishing a Medium for Inducing Conidial Growth and Evaluation of Susceptibility of Clinical Isolates. J. Clin. Microbiol., ٣٨(١): ٣٤١–٣٤٤.

Larone, D. H.; Mitchell, E. and Walsh, T. J. (١٩٩٩). In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, ٧th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Larone, D.H. (١٩٩٦). Culture and identification of dermatophytes. Clin. Microbiol. News L., ١٨:٣٣–٣٨.

Lesher. J.L. (١٩٩٩). Oral therapy of common superficial fungal infections of the skin. Journal of the American Academy of Dermatology., ٤٠: S٣١–٤.

Leyden, J.J. and Kligman, A.M. (١٩٧٧). Interdigital athlete's foot: new concepts in pathogenesis. Postgrad Med., ٦١:١١٣–١١٦.

Lomer, C. J. and Lomer, C. H. (١٩٩٧). Insect pathology manual., pp. ٢٤١.

McGinnis, M.R. (١٩٨٠). Laboratory handbook of Medical Mycology. Academic press, New York Mock, M.; Monod, M.; Baudraz-Rosselet, F. and Panizzon, R. G. (١٩٩٨). Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested in vitro and in vivo. Dermatology., ١٩٧:٣٦١–٣٦٧.

Mock, M.; Monod, M.; Baudraz-Rosselet, F. and Panizzon, R. G. (١٩٩٨). Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested in vitro and in vivo. Dermatology., ١٩٧:٣٦١–٣٦٧.

Monod, M.; Jaccoud, S.; Zaugg, C.; Léchenne, B.; Baudraz, F. and Panizzon, R. (٢٠٠٢). Survey of dermatophyte infections in the Lausanne area (Switzerland). Dermatology., ٢٠٥: ٢٠١–٢٠٣.

Mukherjee, P. K.; Leidich, S. D.; Isham, N.; Leitner, I., Ryder, N.S. and Ghannoum, M. A. (٢٠٠٣). Clinical *Trichophyton rubrum* strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob. Agents Chemother., ٤٧:٨٢–٨٦.

Nenoff, P. and Haustein, U. K. (١٩٩٧). Tinea corporis due to *Trichophyton tonsurans* Malmsten report of a patient aus Zaire. Mycoses., ٤٠: ١٢٧–١٢٩.

Norris, H.A.; Elewski, B.E. and Ghannoum, M.A. (١٩٩٩). Optimal growth conditions for determination of the antifungal susceptibility of three species of dermatophytes with the use of a microdilution method. J. Am. Acad. Dermatol., ٤٠:S٩-S١٣.

Nothan, P.; Law, E. J. and Murph, D. F. (١٩٧٨). A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. J. Burns., ٤:١٧٧–١٨٧.

Okeke, C.N. and Gugnani, A.C. (١٩٨٧). In vitro sensitivity of environmental of pathogenic dermtiaceous fungi to azole compounds aphenylpropyl morpholine derivative. Mycopathalogia., ٩٩: ١٧٥–١٨١.

Perea, S.; Fothergill, A.W.; Sutton, D.A. and Rinaldi, M.G. (٢٠٠١). Comparison of in vitro activities of voriconazole and five established antifungal agents against different species of dermatophytes using a broth macrodilution method. J. Clin. Microbiol., ٣٩:٣٨٥–٣٨٨.

Roberts, D.T.J. (١٩٩٧). Oral terbinafine (Lamisil) in the treatment of fungal infections of the skin and nails. Dermatology., ١٩٤:٣٧–٣٩.

Santos, D. A. and Hamdan, J. S. (٢٠٠٥). Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. J. Clin. Microbiol., ٤٣: ١٩١٧–١٩٢٠.

Santos, D. A.; Barros, M. E. S. and Hamdan, J. S. (٢٠٠٦). Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. J. Clin. Microbiology., ٤٤: ٩٨–١٠١.

Tatsumi, Y.; Yokoo, M.; Arika, T. and Yamaguchi, H. (٢٠٠١). In vitro antifungal activity of KP–١٠٣, a novel triazole derivative, and it's therapeutic efficacy against experimental plantar tinea pedis and cutaneous candidiasis in guinea pigs. Antimicrobial Agents and Chemotherapy., ٤٥: ١٤٩٣–١٤٩٩.

Vanden Bossche, H.; Engelen, M. and Rochette, F. (٢٠٠٣). Antifungal agents of use in animal health—chemical, biochemical and pharmacological as-pects. J. Vet. Pharmacol. Ther., ٢٦:٥–٢٩.

Vanden Bosseche, H.; Ausma, J.; Bohets, H.; Vermuyten, K.; Willemsens, G.; Marichal, P.; Meerpoel, L.; Odds, F. and Borgers, M. (٢٠٠٤). The novel azole R١٢٦٦٣٨ is a selective inhibitor of ergosterol synthesis in *Candida albican*s, *Trichophyton* spp. and *Microsporum canis*. Antimicrobial agents and Chemotherapy., ٤٨: ٣٢٧٢–٣٢٧٨.

Watanabe, S. (١٩٩٩). Present state and future direction of topical antifungals. Japanese Journal of Medical Mycology., ٤٠: ٥–١٥١.

Weitzman, I. and Summerbell, R. C. (١٩٩٥). The dermatophytes. Clin. Microbiol. Rev., ٨(٢): ٢٤٠–٢٥.

Wheat, L. J. (١٩٩٤). Endemic Mycosis in AIDS. Infect. Dis. Clin. North. Amer.