nThe Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
Mosul University / College of
Environmental Science and Technology
Department of Environmental Science

The effect of propolis ethanolic extract on Candida species isolated from swimming pools water and clinical specimens resistant to the antifungal agents

A Thesis submitted by

Sara Ghassan Ibrahim AL-Chadirchy

M.S*C.* Thesis in

Environmental science

Supervised by

Professor
Dr. Mohammad I. Khalil

Lecturer
Dr. Saba K. AL-Taee

2023 A.D. **1445 A.H.**

Abstract

The effect of propolis ethanolic extract on *Candida* species isolated from swimming pools water and clinical specimen's resistant to the antifungal agents This study aimed to detect the effect of propolis ethanolic extract on *Candida* species that are isolated from swimming pool water and clinical specimens, whow is conceder to be resistant to the antifungal agents. Also, detecting the relationship between the resistance strains of *Candida* and the environment from which it was taken, the environmental factors contributing to the spreading of fungal diseases and its role in some of *Candida* virulence factors, and the existence of fungi in immunocompromised patients are also detected.

A total of 155 *Candida* isolates were taken from swimming pool water and fungal otitis externa during the period of November 2022 to April 2023. Traditional methods included phenotypic tests on a Petri dish, the examination of microscopic features, and the diagnosis of all fungi using biochemical methods that used colour analyzers, such as the medium of Agar chrome. These tests revealed that *C. pichia kudriavzevii* fungus predominated as the most common type of fungus in this study.

50 of the isolates species (15 from the swimming pools, 10 from diabetic patients, 20 from otomycosis, and 5 from swimmers) were incubated using the Disk-Diffusion method with common antifungals (Nystatin and Fluconazole), and the strain that showed resistance to the drug was selected. Further study was carried out using 50 *Candida* isolated just from diabetic patients.

A study of the typical profile of *Candida* growth was submitted using a spectrophotometer to observe the detailed growth kinetics in a broth medium and its relation with the pH level and temperature of the used liquid medium.

The study also included preparing Iraqi propolis extract from raw materials, adding the extract to resistance *Candida* strains and observing the growth inhibition kinetics in a liquid medium according to time. Also, the resistance

strain was incubated using a disk-diffusion method of the extract on a petri dish. The relationship between fungal infection and its resistance was taken into consideration during the study.

The results show the presence of resistance *Candida* strains in both water and ear swab samples. From 50 isolates, 36 were antifungal resistant, and from the remaining 14 isolates, 9 were sensitive to Nystatin, and 5 were sensitive to Fluconazole with different diameters.

Using a propolis extract as an agent against resistance strains of *Candida* species shows a good result of inhabitation to *Candida* by observing the change in growth kinetics in time on a spectrophotometer and also by using a disc-diffusion method. Still, the result of the liquid broth was more specifi*C.*

According to the percentage of the area in the HPLC test, the most significant component was Ferulic acid, which indicates the role of phenolic components in fungal inhabitation.

During this study, the relationship was observed between immunocompromised patients and fungal infection, as well as between swimmers and otomycosis.

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية علوم البيئة وتقناتها

قسم علوم البيئة

تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على انواع المبيضات المعزولة من مياه المسابح و العينات المرضية و المقاومة للمضادات الفطرية

رسالة تقدمت بها الطالبة

سارة غسان ابراهيم الجادرجي

الى

مجلس كلية علوم البيئة وتقناتها في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص علوم البيئة

باشراف

الاستاذ الدكتور

محمد ابراهيم خليل

المدرس الدكتور

صبا خير الدين الطائي

1445هـ **2023م**

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى تثبيط نمو سلالة المبيضات المقاومة التي تم عزلها من مياه حمامات السباحة وعلاقتها بالعدوى الفطرية للأذن باستخدام مواد طبيعية. كما تم الكشف عن العلاقة بين سلالات مقاومة المبيضات والبيئة التي أخذت منها ، والعوامل البيئية التي تساهم في انتشار الأمراض الفطرية ودورها في الإصابة بالمبيضات ، وبعض عوامل الضراوة المتمثلة بدرجة الحموضة ، ووجود الفطريات لدى مرضى نقص المناعة.

تم أخذ ما مجموعه 155 عزلة من الكانديدا من مياه حمامات السباحة والتهاب الأذن الخارجية الفطري خلال الفترة من تشرين الثاني 2022 إلى اذار 2023 ، وتضمنت الطرق التقليدية اختبارات النمط الظاهري على طبق بتري ، وفحص السمات المجهرية ، وتشخيص جميع الفطريات باستخدام الكائنات الحية. الأساليب التي تستخدم أجهزة تحليل الألوان ، مثل وسط . Chromagar . كشفت هذه الاختبارات أن فطر *C. Pichia kudriavzevii* هو النوع الأكثر شيوعًا من الفطريات في هذه الدراسة.

تم تحضين 50 نوع من العزلات (15 من حمامات السباحة ، 10 من مرضى السكري ، 20 من فطار الأذن ، و 5 من السباحين) باستخدام طريقة Disk-Diffusion مع مضادات الفطريات الشائعة (Nystatin و Fluconazole)، والسلالة التي أظهرت مقاومة ضد تم اختيارها لغرض الدراسة. تم اجراء ادراسة اخرى باستخدام 50 سلالة من المبيضات معزولة فقط من مرضى السكري.

تم تقديم دراسة للمظهر النموذجي لنمو المبيضات باستخدام مقياس الطيف الضوئي لملاحظة حركيات النمو المفصلة في وسط مرق وعلاقته بمستوى الأس الهيدروجيني ودرجة حرارة الوسط السائل المستخدم.

كما اشتملت الدراسة على تحضير مستخلص البروبوليس العراقي من المواد الخام ، وإضافة المستخلص لسلالات الكانديدا المقاومة المعزولة، ومراقبة حركية تثبيط النمو في وسط سائل مع الوقت. أيضًا ، تم تحضين سلالة المقاومة باستخدام طريقة نشر القرص للمستخلص على طبق بتري. تم أخذ العلاقة بين العدوى الفطرية والمقاومة في الاعتبار أثناء الدراسة.

أظهرت النتائج وجود سلالات مقاومة الكانديدا في عينات المياه ومسحة الأذن. من 50 عزلة ، 36 عزلة كانت مقاومة لمضادات الفطريات ، ومن الـ 14 عزلة المتبقية ، 9 كانت حساسة للنيستاتين ، و 5 كانت حساسة للفلوكونازول بأقطار مختلفة.

يُظهر استخدام مستخلص البروبوليس كعامل تآزري ضد سلالات المقاومة لأنواع المبيضات نتيجة جيدة لتثبيط نمو المبيضات من خلال ملاحظة التغيير في حركية النمو مع مرور الوقت على مقياس الطيف الضوئي وأيضًا باستخدام طريقة انتشار القرص. ومع ذلك ، كانت نتيجة المرق السائل أكثر تحديدًا.

وفقًا لنسبة المساحة في اختبار HPLC ، كان المكون الأكثر أهمية هو حمض الفيروليك ، والذي يشير إلى دور المكونات الفينولية في التثبيط الفطري.

خلال هذه الدراسة ، لوحظ وجود علاقة بين مرضى نقص المناعة والعدوى الاذن الفطرية ، وكذلك بين السباحين و التهاب فطر الأذن.