جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية علوم البيئة وتقاناتها
قسم علوم البيئة

العوامل البيئية المؤثرةعلى مستوى التعبيرالجيني لعدد من الجينات في تكوين الطورالخيطي لخميرة المبيضات *Candida albicans*

مروة حسين حمادي الجبوري

رسالة ماجستير

علوم البيئة

بإشراف

ألاستاذ الدكتور

محمد ابراهيم خليل الطائي

1445هـ 2023م

الخلاصة

شملت الدراسة الى جمع عينات سريرية لفطريات جنس الـ *Candida* لأعمار مختلفة ومن كلا الجنسين من المرضى المراجعين لمستشفيات مدينة الموصل وهي كل من مستشفى السلام التعليمي ومستشفى الخنساء التعليمي للفترة من10-8-2022 ولغاية5-11-2022 حيث تضمنت الدراسة جمع 100عينة منها 70 عينة من الجهاز التناسلي الانثوي ،30عينة من الفم وباستخدام مسحات معقمة . أظهرت النتائج عزل وتشخيص أربع عزلات من خمائر المبيضات مظهريا ومجهريا وبالأعتماد على الاختبارات التشخيصية والكيموحيويةوالجزيئية من مجموع 30عينة موجبة وهي *C.tropicalis* عينة واحدة (3%) ,*Nakaseomyces sp* 3عينة(10%) *pichia kudriavzevii* 12 عينة (40%)، *C.albicans* 14عينة(46%) حيث تم تأكيد التشخيص الجزيئي بتقنية الـ Polymerase Chain Reaction اعتماداً على منطقة ITS region لتشخيص العزلات الفطرية المسجلة في المركز العالمي للتقنيات الحيوية NCBI، سجلت أعلى إلاصابات في الجهاز التناسلي الأنثوي وبنسبة (34%) و سجلت الفئة العمرية 29-39 أكثر ألفئات إصابة بداء المبيضات بينما سجلت ألاصابات بمنطقة الفم نسبة (20%) وبينت نتائج دراسة تأثير بعض العوامل البيئية المؤثرةعلى النمو الخيطي لأنواع خمائر المبيضات وباستخدام درجات حرارة مختلفة(20، 25، 30، 35، 40)مْ أن أعلى درجة لتحفيز النمو الخيطي كانت عند درجة حرارة (40مْ) لعزلة *C.albicans*. وأظهر تاثير الاس الهيدروجيني والذي استخدمت فيه قيم 4.5، 5.0، 5.5، 6.0، 6.5 أعلى تحفيز للنمو الخيطي عند قيمة pH 6.5 لعزلة *C.albicans* . وبينت نتائج تاثير استخدام وسط مستخلص البطاطا المحضر مختبريا المضاف اليه السكريات المستخدمة السكروز والفركتوز والمانيتول أعلى تحفيز للنمو الخيطي في وسط أكار مستخلص البطاطا والسكروز لعزلة *C.albicans* .

تقاربت نتائج تشخيص الكشف المظهري مع نتائج التشخيص الجزيئي بتقنية الـ PCR وتم أجراء دراسة تفاعل بعض العوامل البيئية من درجة حرارة و pH وأوساط غذائية مختلفة منها وسط مستخلص البطاطا والسكروز السائل ووسط مستخلص البطاطا ودكستروز

السائل ووسط مصل الدم باستخدام تقنية Real- time Polymerase Chain Reaction اذ تم قياس تعبير كل من الجينين *HGC1,HWP1* المسؤولين عن تحفيز التحول الشكلي لبعض أجناس الـ *Candida* من الشكل أحادي الخلية الى الشكل الخيطي، وبينت النتائج ان مستوى التعبير الجيني لجين*HGC1* أعطى ارتفاعاًعندعزلة *C.albicans* حيث بلغ التعبيرالجيني 41.32 في وسط مستخلص البطاطا والسكروز السائل عند درجة حرارة 40مْ قيمة pH 6.5 وأعطى تعبيراً في وسط المصل عند درجة حرارة 37م ْ82. 33. بينما أظهر تعبير الجين *HWP1* لعزلة *C.albicans* في وسط مستخلص البطاطا والسكروز السائل21.81 في حين أظهر كلا الجينين تعبيراً منخفضاً عند وسط مستخلص البطاطا ودكستروز السائل في مختلف درجات الحرارة المستخدمةحيث بلغ التعبير لجين *HGC1* 1.63 عند عزلة *C.albicans* عند درجة حرارة40 مْ،pH6.5 في حين بلغ تعبير جين *HWP1*عند نفس درجة الحرارة وقيمةالـ pH0.91 اذ كانت أقل من عينة السيطرة عند درجة حرارة 37 مْ ، pH 5.5 التي قيمة التعبير عندها 1 عند عزلة *C.albicans* دلالة على ان درجة الحرارة لها تاثير على زيادة تعبير جينات النمو الخيطي بالاعتماد على طبيعة الوسط الغذائي ،أما عند عزلة *Nakaseomyces* sp بينت النتائج أن جين*HWP1* كان التعبير5.96 اعلى على وسط مستخلص البطا طا والسكروز السائل أماعندجين *HGC1* عند نفس درجة الحرارة وقيمة pH بلغ تعبيره 0.94حيث كان منخفضا في جميع درجات الحرارة المستخدمة دلالة على عدم وجود علاقة بين الجين والعزلة وبينت النتائج أن جين *HWP1* لم يحفز في وسط مصل الدم عند درجة حرارة 37مْ عزلة.sp *Nakaseomyces* أي لها تأثير مثبط على الجين على عكس عزلات *C.albicans*، *C.tropicalis* وقد اعتبرت هذه النتيجة علامة تحديد وراثية للتمييز بين أنواع المبيضات التي يحدث عندها التحول الشكلي .

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Mosul

College of Environmental Sciences and Technology

Department of Environmental Science

Environmental factors that affect the level of gene expression for number of genes in the formation of the filamentous phase of the *Candida* yeast *Candida albicans*

A Thesis submitted

By

Marwa Hussein Hummadi Al Jubouri

M. Sc. Thesis

Environmental Science

Supervised By

Prof.

Dr. Mohammad Ibrahim Khalil ALTaee

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

Abstract

The current study aimed to collecting clinical samples of *Candida Spp*. from patients with various ages and from both sexes, who visit the Mosul city hospitals (AlSalam teaching hospital and AlKhansaa teaching hospital for the period from 10/8/2022 until 5/11/2022. The study involved collecting (100) samples; 70 of which were taken from the female genital systems and 30 samples were taken from the mouth using sterilized swaps. The results showed that four albicans were identified and isolated morphologically and microscopically depending on the diagnostic and biochemical tests. Thirty (30) positive samples were identified including one sample of *C.tropicalis* (3%), three samples of *Nakaseomyces sp* (10%), twelve samples of *pichia kudriavzevil* (40%) and fourteen samples of *C. albicans* (46%). The diagnosis was confirmed based on the ITS region to identify the fungi isolates registered at the National Biotechnology Center (NCBI). The highest incidences were recorded in the genital system (34%). The age group (29-39) years old was the highest incidence of infection with candida sp., while the percentage of incidences in the mouth was (20%). Moreover, results of studying the effect of some environmental factors on the filamentous growth of some albicans yeasts types at the temperatures (20, 25, 30, 35 and 40) centigrade degrees. The highest level of stimulating the filamentous growth was at the temperature 40˚C for *C. albicans*. The effect of pH with values (4.5, 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5) was also clear and the highest stimulation was at the pH value of 6.5 for the *C. albicans*. Moreover, the results of the effect of using the potato extract to which sucrose, fructose and mannitol showed that the highest filamentous growth was in the extract of potato sucrose for *C. albicans* isolate.

The results of the morphological diagnosis test were close to the results of the molecular diagnosis using the PCR technique. The study of some environmental factors like the temperature and pH value in various saccharide media such as the potato extract and liquid sucrose, potato

dextrose extract and the blood serum medium using the Real-Time Polymerase Chain Reaction. The expression of the genes *HWPI* and *HGC1* which are responsible for the morphological transformation of *Candida spp.* Were measured. The results showed that the level of the gene expression of *HWPI* and *HGCI* gave a rise to the *C. albicans isolate,* as the *HGC1* gene gave the highest gene expression with a percentage of 41.32 in the medium of potato extract and liquid sucrose at 40° C and a pH value of 6.5. It gave a high expression in the blood serum at 37 ° C with a value of 33.82, whereas the *HGC1* expression of *C. albicans* isolate in the extract of potato and liquid sucrose gave a percentage of (21.8). From the other hand, the two genes demonstrated a low expression at the medium of liquid potato dextrose in the different temperature degrees used. The expression of HGC1 was 1.63 of the Candida albicans at 40 °C, pH 6.5, while the expression of HWP1 at the same temperature and pH values was 0.91 and it was lower than the control sample (that has an expression value of 1 for the candida albicans isolate) at 37°C and pH 5.5. This means that the temperature degree has an effect on the increase of the expression of the filamentous growth genes depending on the nature of the medium. As for the Nakaseomyces sp.,results showed that the gene HWP1 had a higher expression on the potato sucrose broth (5.69), the gene HGC1, at the same temperature and pH had a value of 0.94 and this value was low at all the temperature degrees and this refers that there is no relationship between the gene and the isolate. Additionally, the study showed that the *HWP1* gene didn't stimulate the growth in the blood serum for *Nakaseomyces*، isolate on the contrary of the isolate of *C.tropicalis*، *C.albicans* and this result was considered as a genetic specification sign used for the discrimination between the *Candida* species.