Effect of Dermatophytes On Polymorphonuclear Leukocytes (PMNs) Chemotaxis

A Thesis

Submitted In Partial Fulfillment Of Requirement For The Degree Of master Of Science In Microbiology

By

Gihan Mahmoud Ahmed Mohamed

B.Sc. of Microbiology and Chemistry

Department of Botany

Faculty of girls For Arts, Science and Education

Ain Shams University

٢٠٠٧

This thesis
Has not been previously submitted
For a degree
At this or any other university

Gihan Mahmoud Ahmed

Supervisors

Dr. Zeinab M. Hassan Kheiralla
Prof. Of Microbiology
Botany Department
Faculty of Girls for Arts, Science & Education
Ain Shams University.

Dr. Moustafa Abd El-Nasser Ali
Prof. Of Microbiology and Immunology
Faculty of Medicine
Al-Azhar University

(Late) Dr. Abd El-Razak Abd El-Rahman AbuSeada
Prof Of Microbiology
Faculty of Science
Director Of The Regional Center
For Mycology And Biotechnology
Al-Azhar University

Approval Sheet

Name: *Gihan Mahmoud Ahmed Mohamed.*

Title: *Effect of dermatophytes on polymorphonuclear leukocyte (PMNs) chemotaxis.*

Supervisors
Approved

١- *Prof.Abd El-Razak Abd El-Rahman Abu Seada*

.....

٢- *Prof. Zeinab M. Hassan Kheiralla*

.....

٣- *Prof. Moustafa Abd El-Nasser Ali*

.....

تاثير الفطريات الجلدية على الانجذاب الكيميائي لخلايا الدم البيضاء متعددة الانوية

رسالة مقدمة

للحصول على درجة الماجيستير في العلوم

(الميكروبيولوجي)

من

جيهان محمود احمد محمد

بكالوريوس علوم (ميكروبيولوجي)

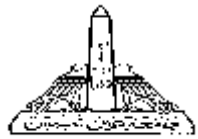
١٩٩٨

قسم النبات

كلية البنات للاداب والعلوم والتربية

جامعة عين شمس

٢٠٠٧



جامعة عين شمس

كلية البنات للآداب و العلوم و التربية
قسم النبات

شـكـر

أشكر السادة الأساتذة الذين قاموا بالإشراف و هم:

١ **أ.د./ زينب محمد حسن خير الله**
٢ **أ. د./ مصطفى عبد الناصر على**
٣ **(المرحوم) أ.د./ عبد الرزاق عبد الرحمن أبو سعدة**

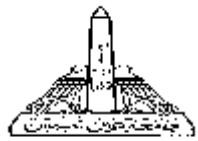
كما أود أن أشكر:

د./ احمد محمد خلف الله

مدرس البيئة النباتية قسم النبات كلية البنات للآداب و العلوم و التربية
لتعاونه معي في عمل الإحصاء الخاص بالبحث

و كذلك الهيئات الآتية :

١ كلية البنات للآداب و العلوم و التربية ، قسم النبات ، جامعة عين شمس.
٢ كلية الطب ، جامعة الأزهر قسم الميكروبيولوجي و المناعة.
٣ المركز الأقليمى للفطريات و التطبيقات الحيوية.



جامعة عين شمس

كلية البنات للآداب و العلوم و التربية

قسم النبات

اسم الطالبة	:	**جيهان محمود أحمد محمد .**
الدرجة العلمية	:	ماجستير في العلوم (الميكروبيولوجي)
القسم التابع له	:	قسم النبات
الكلية	:	كلية البنات للآداب و العلوم و التربية.
الجامعة	:	جامعة عين شمس.
سنة التخرج	:	١٩٩٨
سنة منح الماجستير	:	٢٠٠٧

رسالة ماجستير

اسم الطالبة : جيهان محمود أحمد محمد

بكالوريوس علوم (ميكروبيولوجي كيمياء)

عنوان الرسالة : تأثير الفطريات البلدية على الانجذاب الكيميائى لخلايا الدم البيضاء متعددة الانوية

الدرجة العلمية : ماجستير في العلوم (ميكروبيولوجي)

لجنة الإشراف

١ ا.د./ زينب محمد حسن خير الله

استاذ الميكروبيولوجي ، كلية البنات للاداب و العلوم و التربية ، جامعة عين شمس.

٢ ا.د./ مصطفى عبد الناصر على

استاذ الميكروبيولوجي و المناعة ، كلية الطب ، جامعة الازهر.

٣ (المرحوم) ا.د./ عبد الرازق عبد الرحمن ابو سعدة

استاذ الميكروبيولوجي كلية العلوم و رئيس المركز الاقليمي للفطريات و التطبيقات الحيوية جامعة الازهر.

الدراسات العليا

ختم الإجازة:

اجيزت الرسالة بتاريخ: / /٢٠٠٧

موافقة مجلس الكلية / /٢٠٠٧

موافقة مجلس الجامعة / /٢٠٠٧

لجنة التحكيم

١ ا.د. / محمد يسرى صلاح الدخاخنى

أستاذ و رئيس قسم الميكروبيولوجي و المناعة- كلية الطب بنين- جامعة الأزهر

٢ ا.د. / محمد السيد عثمان

أستاذ الميكروبيولوجي و عميد كلية العلوم- جامعة حلوان

٣ ا.د./ زينب محمد حسن خير الله **(مشرفا)**

أستاذ الميكروبيولوجي- كلية البنات للآداب و العلوم و التربية- جامعة عين شمس.

٤ ا.د./ مصطفى عبد الناصر على **(مشرفا)**

أستاذ الميكروبيولوجي و المناعة- كلية الطب- جامعة الأزهر.

Contents

	Page
List of Abbreviations	
Aim of the work	
Abstract	
Review of literature	
١- Historical aspect and classification of dermatophyte	١
٢ - Pathogenesis of infection	٣
-Adherence.	٣
-Penetration	٣
٣-Causative Organisms	٤
- *Microsporum species*	٥
- *Trichophyton Species*	٧
٤-Clinical forms of ringworm .infection.	٩
- *Tinea versicolor*	١٠
- Tinea capitis	١٢
- *Tinea pedis*	١٤
- *Tinea Cruris*	١٦
- *Tinea corporis*	١٨
Chemotaxis…	٢٠
- *Cells in chemotaxis*	٣٥
- Neutrophils (Polymorphonuclear leukocytes, PMNs)	٣٥
- Monocytes And Macrophages	٤٠
Part II - Antifungal Susceptibility	٤٤
Host Resistance To Dermatophytes	٤٧
Material AND Methods	
Material	٥٢

Clinical specimens ٥٢
Media used ٥٣
Buffers, Chemicals and Blood sampling ٥٤
Antifungal agents ٥٥
Methods
١-Collection of samples (Cutaneous Scale) ٥٦
٢- Direct Microscopic Examination ٥٦
٣- Isolation of the dermatophytes ٥٦
٤- Identification and speciation of isolated dermatophytes ٥٧
٥- Growing of the fungal isolates on broth medium ٥٨
٥,١ Lyophilization ٥٨
٥,٢ Preparation of different concentration of lyophilized mycelium ٦٠
٦. Immunological Techniques ٦١
٧. Chemotaxis Assays ٦٧
٨. Antifungal Susceptibility Test ٧٠
٩. Statistical analysis ٧٠
٣- Results
Part I –Isolation of dermatophytes ٧٢
Part II- Chemotaxis Assay ٨٩
Part III- Antifungal Susceptibility Tests of selected dermatophytes ١٠٢
٤- Appendix ١٠٤
٥- Discussion ١٠٦
٦-English Summary ١١٥
٧-Conclusion ١١٧
٨-Recommendation ١١٨
٩-References ١١٩
Arabic Summary ١٥٥

List of Tables

Page

Review of literature

Table(١) Classification of neutrophils ٣٩

Materials and methods

Table(٢) ٥٢
Distribution of the age and gender of patients included in the study group.

Results

Table(٣) ٧٢
Number and (%)of patients with dermatophytosis according to their anatomical distribution

Table (٤) ٧٣
Microscopic measurement of tested fungi

Table(٥) ٨١
Distribution of dermatophytes, other fungi and neg ative cultures in the patients group

Table (٦) ٨٢
Distribution of isolated dermatophytes in patients with dermatophytosis at different sites

Table (٧) ٨٣
Relationship between sex and duration of illness of the studied sample

Table (٨) ٨٤
Relationship between sex and clinical diagnosis of the studied sample

Table (٩) ٨٥
Relationship between sex and cultural diagnosis of the studied sample

Table (١٠) Relationship between age and duration of illness of the studied sample	٨٦
Table (١١) Relationship between age and clinical diagnosis of the studied sample	٨٧
Table(١٢) Relationship between age and cultural diagnosis of the studied sample	٨٨
Table(١٣) Migration distances recorded for neutrophils when tested against C_1– C_8 concentrations of *M. canis* using the under agarose technique	٨٩
Table(١٤) The measurement of the migration distances which recorded for monocytes when tested against C_1 – C_8 conc. of *M. canis* using the under agarose technique	٩٠
Table(١٥) LI of neutrophils, monocytes and LSD at ٥٪ towards *M.canis*	٩١
Table(١٦) The measurement of the migration distances which recorded for neutrophiles when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton rubrum* using the under agarose technique	٩٣
Table(١٧) The measurement of the migration distances which recorded for monocytes when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton rubrum* using the under agarose technique	٩٣
Table(١٨) LIs of neutrophils, monocytes and LSD at ٥٪ towards *T.rubrum*	٩٤

Table (١٩) ٩٦
The measurement of the migration distances which recorded for neutrophiles when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton verrocosum* using the under agarose technique
Table (٢٠) ٩٦
The measurement of the migration distances which recorded for monocytes when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton verrocosum* using the under agarose technique
Table (٢١) ٩٧
LIs of neutrophils, monocytes and LSD at ٥٪ towards *T.verrocosum*
Table (٢٢) ٩٩
The measurement of the migration distances which recorded for neutrophiles when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton mentagrophytes* using the under agarose technique٨
Table (٢٣) ٩٩
The measurement of the migration distances which recorded for monocytes when tested against C_1 – C_8 concentrations of *Trichophyton mentagrophytes* using the under agarose technique
Table(٢٤) ١٠٠
LIs of neutrophils, monocytes and LSD at ٥٪ towards *T.mentagrophytes*
Table (٢٥) ١٠٣
Antifungal susceptibility test of *M.canis* and *T.mentagrophytes*

Appendix

Table (٢٦,١،٢) ١٠٤،١٠٥
Demographic , clinical and laboratory diagnosis of patients with dermatophytosis

List of Figures

Page

Review of literature

Figure (١) ١١
Tinea versicolor

Figure (٢) ١٢
Tinea Capitis

Figure (٣) ١٤
Tinea pedis

Figure (٤) ١٦
Tinea cruris

Figure(٥) ١٨
Tinea corporis

Figure ٦ ٣٦
Leukocytes

Materials and methods

Figure(٧) ٥٩
The lyophilized mycelia of isolated dermatophyte fungi.

Figure(٨) ٦٢
Centrifuge tube showing blood layered on top of two density gradient media

Figure (٩) ٦٣
Centrifuge tube (A) and its schematic representation (B) showing the mononuclear and granulocyte layers on top of the upper and lower layers ; respectively with plasma on the uppermost and RBCs on the lowermost top