

عزل الخمائر من مياه أنهار مختلفة في محافظة البصرة وتشخيصها بتقنية جهاز فايتك

Vitek 2 compact system

د. سناء قاسم بدر و د. باسل عبد الزهرة عباس

الملخص العربي:

استهدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص الخمائر المنتشرة في مياه ورواسب خمسة وعشرين نهراً في محافظة البصرة بالعراق وذلك في الفترة من شهر نيسان 2014 إلى شهر شباط 2015. وقد استخدم لعزل الخمائر الوسط المزرعي المكون من البطاطس والكستور والأجار (PDA) بعد ترشيح عينات المياه أو تخفيف الرواسب. وأمكن الحصول على 300 عزلة نقية من الخمائر تم تشخيصها بتقنية حديثة باستخدام جهاز Vitek 2 Compact system بعد تحميل كروت التعريف بمعلق الخلايا الحية للخمائر. أسفرت النتائج عن عزل وتعريف 300 سلالة من الخمائر تم تصنيفها إلى 15 نوعاً تنتمي إلى 5 أجناس هي: *Candida*, *Cryptococcus*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Stephanoascus* وأظهرت النتائج أن نوع *Candida tropicalis* هو الأكثر تردداً بين الأنواع المعزولة وقد بلغت نسبة التردد 36.3% وأما نوع *Candida lipolytica* فكان الأقل تردداً إذ سجل نسبة تردد بلغت 0.7%. وفيما يخص المواقع الغنية بالخمائر كان موقع المعقل -1 هو الأكثر ثراءً إذ بلغ عدد المستعمرات 21 مستعمرة بينما سجل موقع المدينة أقل عدد من هذه الخمائر (6 مستعمرات فقط).

الكلمات المفتاحية: - الخمائر - أنهار البصرة - كانديدا . *Vitek -2, Candida*.

المقدمة

ويكون نموها جديداً يسمى البرعم. وينفصل هذا البرعم بعد

ذلك ويكون خلية جديدة مستقلة.

تفتقر فطريات الخميرة إلى الكلوروفيل (مادة اليخضور)، وهي المادة الخضراء التي يستخدمها النبات لتكوين غذائه. لذلك، فإن الخميرة تعتمد على مصادر خارجية للحصول على الغذاء. تتغذى الخميرة بالسكر الناتج من المصادر الطبيعية المختلفة مثل الفاكهة والحبوب والعصائر والمولاس وتنتج خلايا الخميرة مركبات كيميائية تسمى إنزيمات، أو مخمرات، لها القدرة على تحليل غذاء الخميرة. تنتج أنواع مختلفة من الخمائر أنواعاً مختلفة من الإنزيمات وبعض الإنزيمات تكسّر السكريات إلى كحول وغاز ثاني أكسيد الكربون أثناء عملية التخمر (Balasubramanian et al., 2004).

يعتبر جهاز VITEK 2

وCOMPACTSYSTEM والمدمجة- إنتاج شركات بيوفارما مثالياً للتشخيص الروتيني للميكروبات حيث يضمن التميز وحسن تدفق العمل وهو مزود بقاعدة البيانات الخاصة به والتي تمكن VITEK® 2 من تشخيص

الخميرة هي كائنات مجهرية حقيقية النواة من مملكة الفطريات، وفيها نحو 1500 صنفاً. ومعظمها يتكاثر لا جنسياً. يستعمل الإنسان الخميرة في الخبز وتصنيع المشروبات الكحولية. تتكون الخميرة المستخدمة تجارياً من تجمعات من كائنات الخميرة المجهرية أحادية الخلية. وعلى الرغم من وجود أكثر من 600 نوع من الخمائر إلا أن القليل منها فقط له استخدامات تجارية.

كان الإنسان حتى عام 1876م يصنع الخبز والجة والنيذ بدون أن يتفهم أو يعي الدور الذي تؤديه الخميرة في صناعة هذه المنتجات. وفي ذلك العام (1876م)، أفاد العالم الفرنسي لويس باستير أن الخميرة كائن حي وأنها تؤدي دوراً مهماً في صناعة البيرة.

تتكاثر الخميرة بسرعة وتنمو بدرجة جيدة خاصة في البيئة المحتوية على سكر. تتكاثر الخميرة بالانقسام (انقسام الخلية الواحدة إلى خليتين) أو بالتبرعم. وأثناء التبرعم ينتفخ جزء من جدار الخلية

الرواسب الطينية فقد زرعت بطريقة التخفيف حيث تم وزن 1جم من العينة ومن ثم وضعه في أنبوبة حاوية على ماء مقطر معقم 10 مل وبعد رج المحلول (التخفيف) جيدا تم أخذ 1مل ووضع في منتصف طبق زرعي معقم ومن ثم صب عليه مقدار من الوسط الزرعي PDA المبرد بدرجة 45م° وبعد تصلب الوسط الغذائي بالإطباق تم نقله الى الحاضنة عند درجة 30 م° .
فحص العينات وتشخيصها

فحصت الأطباق المذكورة أعلاه بعد 48 ساعة من التحضين لمشاهدة النمو الخميري , وأهملت الأطباق التي لا تحتوي على النمو الخميري بعد خمسة أيام (Brooks *et al.*, 2007). تم الفحص الأولي للأطباق باستخدام المجهر التشريحي ثم فحصت الخمائر المعزولة تحت المجهر الضوئي وذلك بتحضير شرائح زجاجية نظيفة وضعت عليها قطرة من صبغة اللاكتوفينول أزرق قطن , ونقل جزء من المستعمرة الخميرية النامية إلى الشريحة الزجاجية بواسطة الإبرة المعقمة Sterile needle , ثم وضع غطاء الشريحة . شخصت الخمائر المعزولة خلال الدراسة الحالية بالاعتماد على المراجع الآتية : (McGinnis, 1980; Ellis, 1994; de Hoog&Guarro, 1995; Sullivan & Coleman, 1998; Kurtzman & Fell, 1999) وقد تم عد المستعمرات الخميرية بواسطة جهاز عد المستعمرات , ومن ثم نقلت العزلات على وسط زرعي مائل في قناني معقمة وأيضا نقلت في وسط زرعي سائل في قناني معقمة وأخيرا نقلت على وسط زرعي صلب في قناني معقمة والكل تم حفظه بالثلاجة بعد إن نمت بالحاضنة لحين استخدامها لاستكمال التشخيص .

مجموعة كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة تتميز بالاتي :-

• سير العمل الأمثل لجميع المراحل، من القراءة لتسجيل النتائج

التتبع الكامل: يتم التقليل من مخاطر أخطاء النسختعتمد كفاءة نظام ضغط 2 VITEK® على التكنولوجيا المتقدمة لقياس الألوان حيث يقوم النظام بقراءة أحدث بطاقات اختبار الجيل VITEK والتي تحتوي على 64 بئرا لضمان الدقة - كل 15 دقيقة باستخدام ثلاث موجات مختلفة مع هذه التقنيةويمكن تحليل المزيد من البيانات، مما يزيد من دقة النتائج.

المواد وطرق العمل :-
جمع العينات وزرعها :

جمعت خلال الدراسة 125 عينة ماء و125 عينة رواسب طينية وذلك من 25 نهرا في مواقع مختلفة بمحافظة البصرة كما هو موضح بالجدول رقم (1) وكانت فترة الجمع من شهر نيسان 2014 لغاية شهر شباط 2015 بواقع خمس مكررات لكل نهر(ماء + رواسب طينية) , وكان الجمع فيما يخص عينات الماء بواسطة قناني زجاجية سعة 100 مل معقمة ويكون اخذ العينة على عمق 30 سم وأما عينات الرواسب الطينية فقد وضعت في أكياس نايلون معقمة وتم اخذ العينة من جرف النهر من سطح التربة مرة ومن عمق 30 سم مرة أخرى .

تم زرع العينات حسب نوع العينة حيث تزرع العينات المائية بطريقة الترشيح وذلك بترشيح 50 مل من ماء العينة بواسطة ورق الترشيح (Cellulose nitrate filter) ذو قطر (0.45µm) وبعد إتمام عملية الترشيح تم وضع أوراق الترشيح على إطباق زرعيه بلاستيكية حاوية على الوسط الزرعي PDA ثم حضنت الأطباق بالحاضنة عند درجة 30 م° .أما عينات

حساب نسبة التردد والظهور المكاني للخمائر المعزولة :

حسبت النسبة المئوية للتردد والظهور لأنواع الخميرية المعزولة من مواقع الدراسة العشوائية وحسب المعادلات التالية

وحسب ما ذكره (uhsin, 1985)*

عدد مستعمرات الجنس او النوع الفطري

$$100 \times \frac{\text{العدد الكلي لمستعمرات الاجناس او الانواع الفطرية}}{\text{العدد الكلي للمستعمرات للتردد}} = \text{النسبة المئوية للتردد}$$

العدد الكلي لمستعمرات الاجناس او الانواع الفطرية

عدد العينات التي ظهر بها الجنس او النوع الفطري

$$100 \times \frac{\text{العدد الكلي للعينات}}{\text{عدد العينات التي ظهر بها الجنس او النوع الفطري}} = \text{النسبة المئوية للظهور}$$

العدد الكلي للعينات

جدول (1) أرقام وأسماء المواقع التي جمعت منها عينات المياه والرواسب من أنهر محافظة البصرة

رقم الموقع	اسم الموقع (منطقة الجمع)	رقم الموقع	اسم الموقع (منطقة الجمع)
1	جامعة البصرة	14	الهوير
2	أحواض اسماك مركز علوم البحار	15	نهر العز
3	جسر الكي	16	الدير
4	الفيحاء	17	القرنة
5	السندباد	18	الصالحية
6	العشار	19	الزريجي
7	شط البصرة	20	السايلو
8	محطة حرير	21	كردلان
9	ابو الخصيب	22	العسافية
10	خور عبدالله	23	المعقل 1
11	خور الزبير	24	المعقل 2
12	الفاو	25	دائرة الموائى
13	المدينة	المجموع	25 موقعا (25 نهرا)

التشخيص بواسطة جهاز فايتك:

تم تحضير الأنابيب الخاصة بالجهاز ووضعها في قالب خاص بالجهاز يدعى Cassete ملئت هذه الأنابيب بمقدار 3 مل من المحلول الملحي الخاص بالجهاز ومن ثم وضع فيها جزء من المستعمرات الخميرية المراد تشخيصها على إن تكون بعمر 1-2 يوم وبعد نقل المستعمرات إلى داخل الأنابيب بواسطة الإبرة المعقمة تم رج الأنابيب جيدا بواسطة جهاز الهزاز

لينجانس العالق ومن ثم تم قياس كثافة العالق بواسطة قياس الكثافة أو العكرة على إن لا تتجاوز الحدود المقررة للجهاز وهي إن تكون الكثافة للخمائر بين - 1.80 و 2.20 وبعد ذلك تم وضع الكارتات بداخل الأنابيب ومن ثم تم إدخال بيانات الرقم التسلسلي للكارت بواسطة جهاز Bar Code المحمول تم توجيه أشعة ليزر نحو الرقم التسلسلي لكل كارت ويتم إدخاله في الحاسبة في قائمة

(*Cryptococcus*) و رودوتورييولا (*Rhodotorula*) بالإضافة إلى نوع واحد من ستيفانوأسكس (*Stephanoascus*) ونوع لم يتم تعريفه يتبع جنس كلوكيرا (*Kloeckera*)

2- عدد المستعمرات والظهور المكاني للخمائر المعزولة من الماء والرواسب :-

أظهرت النتائج بالجدولين (2, 3) أن جميع الأنهار بمحافظة البصرة تحتوي على أنواع مختلفة من الخمائر وأن العدد الكلي للمستعمرات يتراوح بين 6 مستعمرات في العينة (13) بموقع المدينة و 21 مستعمرة في العينة (23) بالمعقل-1. وقد كان النوع *Candidatropicalis* هو الأكثر عددا (112) مستعمرة بنسبة 37,3% من اجمالي عدد المستعمرات والأعلى ظهورا في جميع الأنهار موضع الدراسة بنسبة 100% من المواقع. كما حقق كل من *Candidaglabrata*, *Cryptococcus laurentii* نسبة ظهور عالية بلغت 96% و 84% على التوالي. أما كل من *Candida famata*, *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorulaglutinis*, *Candida krusei* فكانت متوسطة الظهور في أنهار محافظة البصرة (48%, 40%, و 32% و 28% على التوالي). أما نوع *Candida. lipolytica* فقد سجل اقل نسبة للظهور بين الأنواع المعزولة (8%) كما هو موضح بالجدول رقم (3).

المناقشة

تعتبر الخمائر كائنات حية مجهرية تنتمي للفطريات معظمها أحادية الخلية غير متحركة والتكاثر النموذجي لها هو التكاثر الخضري أو اللاجنسي بواسطة التبرعم. يعود سبب فصلها عن الفطريات الخيطية هو إن التعامل معها بالمختبر لأجل التشخيص يتم بطرق تشبه طرق تشخيص البكتريا وهي بحدود 90 اختبار

خاصة لكل قالب الذي يتضمن عشر عزلات فقط للاختبار وبعد ذلك تم كتابة رقم لكل عزلة وتم حفظ البيانات ومن ثم إدخال القالب في باب تعبئة الكارت يدعى *Filler* والتي تكون مفرغة من الهواء ثم يتم غلق الباب وضغط على زر أبدا حيث تستمر العملية 70 ثانية يتم خلالها سحب السوائل من الأنابيب إلى داخل الكارتات, وعند الإنتهاء يؤشر داخل الشاشة بكلمة *Complete* ومن ثم نقل القالب إلى الباب الثاني يدعى *Loader* وغلق الباب وبعد ثلاث دقائق ونصف تكمل العمليات داخل هذا الباب حيث يقوم الجهاز بقطع حراري للأنبوب الشعري المتصل بكل كارت تدعى العملية (*Sealing*), ومن ثم يقوم الجهاز برفع الكارتات لغرض العمل عليها داخل الجهاز تدعى العملية (*Loading*). ومن ثم يؤشر بكلمة *Remove* يطلب فتح الباب وإخراج القالب وبعد ذلك تحضن العينات داخل الجهاز إلى اليوم التالي حيث يتم إكمال النتائج وعرضها على شكل تقرير (*Funke, et.al., 1998*). وقد أجرى هذا الإختبار في مختبر البكتريولوجي بمستشفى الصدر التعليمي / محافظة ميسان .

النتائج

1- التشخيص باستخدام جهاز VITEK 2 COMPACT

تم تشخيص جميع العزلات التي تبلغ 300 عزلة بواسطة تقنية جهاز *Vitek 2 compact* وقد استخدم لغرض التشخيص بهذا الجهاز 15 كت خاصة لتشخيص الخمائر من نوع *YST vitek 2 KIT* (USA) وبينت النتائج أن هناك تنوعا حيويًا لأنواع مختلفة من الخمائر سواء الكيسية (*Ascomycetes*) أوالبازيدية (*Basidiomycetes*). وقد أمكن عزل 15 نوعا تنتمي إلى 5 أجناس من الخمائر كما هي موضحة بالجدولين (2, 3) منها 9 أنواع لجنس كانديدا (*Candida*) ونوعين لكل من كريتوكوكس

وقد أمكن عزلها من البحيرات الفقيرة في محتواها من الغذاء العضوي *Oligotrophic* في *Brandao et al., 2011* Patagonia, Argentina *Mesotrophic* (عزلت من البحيرات متوسطة الغذاء في الولايات المتحدة (Van Uden and Ahearn , 1963). وأيضا عزلت من البحيرات التي تستقبل أو تستلم فضلات مختلفة المصدر (Meyers *et al.*, 1970). وعزلت من البحيرات الترفيهية السياحية في البرازيل (Medeiros *et al.*, 2008). وفي كل الحالات التي ذكرت من العزل للخمائر تعود إلى الأجناس التالية *Candida, Rhodotorula, Cryptococcus* وكل هذه الأجناس هي مرضية وان كانت موجودة بالبحيرات الملوثة بواسطة فعاليات الإنسان والحيوان أو من البحيرات الغير ملوثة تعتبر كدليل بيولوجي على مستوى التلوث الذي يؤثر على كل نواحي الحياة من الكائنات المائية أو أيضا الإنسان والحيوان وحتى النبات وذلك لتعلق الكائنات الحية بالبيئة المائية (Hagler, 2006). أكدت دراسة Hagler وجماعته (1995) على تنوع الخمائر في النظام البيئي في البرازيل كما أوضحت دراسة Silva - Bedoya وجماعته (2014) مدى التنوع البيولوجي للخمائر في الرواسب الطينية والماء للبحيرات الاصطناعية في *Colombian* وهناك دراسات عديدة متفككة مع هذه الدراسة ومنها (Nagahama *et al.*, 2001; Urano *et al.*, 2001; Kandasamy *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2009).

وفيما يتعلق باستخدام تقنية جهاز *Vitek 2 compact system* في الدراسة الحالية فقد أكدت على مدى دقة وسرعة التشخيص بتلك التقنية التي تستخدم لتعريف العديد من الأحياء المجهرية منها الخمائر والبكتريا والفيروسات والطحالب الدقيقة

تعود لتشخيص الصفات المظهرية والفسلجية والكيموحيوية والتراكيب الجنسية واللاجسية للخمائر (Phaff *et al.*, 1978; Arx, 1980). وتتوزع الخمائر ما بين الفطريات البازيدية والكيسية والناقصة (Barnett *et al.*, 1990).

وقد أثبتت نتائج الدراسة الحالية انتشار الخمائر في معظم الأنهر والرواسب لتلك الأنهر من مواقع مختلفة في محافظة البصرة / العراق وأيضا من المياه البحرية لتلك المحافظة وهذا دليل على قابلية الخمائر على النمو والتعايش في مختلف البيئات وباختلاف العوامل البيئية من ملوحة أو درجة حرارة أو دالة حامضية وغيرها وهذا ما اتفق مع دراسات لبعض الباحثين التي أثبتت بان الخمائر من الكائنات المجهرية التي تفضل الدالة الحامضية بحدود 5.5 وأيضا قد وجدت في الدالة الحامضية 2 ولكن لا تفضل الدالة القاعدية وقد وجد أيضا أنها لها القدرة على إن تنمو في التركيز الملحي العالي لبعض البيئات (Phaff *et al.*, 1978). وتفضل النمو في درجة حرارة تقع بين (15-30 م°) سواء كان بالبيئة أو المختبر (Phaff and Starmer, 1987).

كما أن الخمائر لها القدرة على البقاء في كل مكان من النظام البيئي المائي والترية إذ أنها كائنات ذات قدرة على التحمل الملحي للبيئة المائية على مدى واسع من الملوحة وكذلك درجة الحرارة ونسبة الاوكسجين والدالة الحامضية (Boguslawska - Was and Dabrowski, 2001). لذلك فان الخمائر قد عزلت من البحيرات والرواسب البحرية (MacGillivray and Shiaris, 1993; Boguslawska - Was and Dabrowski, 2001).

إي أنها تتواجد في كل مستويات عمود الماء (Wurzbacher *et al.*, 2010).

المختبري للأحياء المجهرية وفي كل المختبرات الروتينية
وإما دراسة (Ligozziet al., 2002) التي أثبتت
تطور هذه التقنية بحيث يمكنها أيضا تشخيص المضاد
لكل كائن مجهري ممرض بواسطة كارت للتشخيص .

والطفيليات وقد اتفق ذلك مع دراسة (Mondelliet al.,
2012) التي أثبتت إن تقنية جهاز - Vitek
Biomerieux system (Durdam, USA) هي
تقنية سريعة ودقيقة يجب العمل بها في التشخيص

جدول (2): عدد المستعمرات لكل نوع من الخمائر المعزولة من أنهار محافظة البصرة (25 نهرا) ومجموع العدد الكلي للأنواع بكل نهر (*).

أنواع الخمائر	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Candida famata	1	---	1	1	---	---	---	1	---	1	1	---	---	---	1	---	1	1	---	1	1	---	1	---	---
Candida glabrata	3	2	3	4	3	3	3	5	3	4	3	7	---	2	1	5	3	3	1	1	4	1	8	6	4
Candida guilliermondii	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Candida kefyr	---	---	---	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---
Candida krusei	1	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Candida lipolytica	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---
Candida lusitanae	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	1
Candida parapsilosis	---	---	---	---	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---
Candida tropicalis	5	3	7	3	4	4	5	3	3	3	7	5	3	4	3	6	4	5	2	4	2	6	5	7	9
Cryptococcus laurentii	2	1	1	3	2	1	1	1	1	---	---	---	1	1	3	1	5	1	5	1	---	1	3	1	1
Cryptococcus albidus	---	2	1	---	1	1	---	---	1	---	---	---	1	---	---	---	1	---	---	---	3	---	---	2	1
Kloeckera sp.	---	---	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---
Rhodotorulaglutinis	1	1	---	1	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	1	---	---	---	1	---	---
Rhodotorula minuta	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Stephanosausciferrii	---	---	1	---	---	---	1	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---
(العدد الكلي للمستعمرات*)	15	12	16	13	13	11	12	14	9	8	11	12	6	9	9	14	14	11	10	7	10	9	21	17	17

جدول (3): إجمالي عدد المستعمرات لكل نوع من الخمائر المعزولة والنسبة المئوية لها (منسوية لـ 300 مستعمرة) وعدد مرات الظهور (في 25 نهرا) والنسبة المئوية لها.

النسبة المئوية للظهور (%)	عدد مرات الظهور في 25 نهرا	النسبة المئوية لعدد المستعمرات (%)	عدد المستعمرات	أنواع الخمائر
48	12	4.0	12	<i>Candida famata</i>
96	24	27.3	82	<i>Candida glabrata</i>
20	5	1.6	5	<i>Candida guilliermondii</i>
12	3	1.0	3	<i>Candida kefir</i>
28	7	2.3	7	<i>Candida krusei</i>
8	2	0.6	2	<i>Candida lipolytica</i>
12	3	1.0	3	<i>Candida lusitanae</i>
20	5	1.6	5	<i>Candida parapsilosis</i>
100	25	37.3	112	<i>Candida tropicalis</i>
84	21	12.3	37	<i>Cryptococcus laurentii</i>
40	10	4.6	14	<i>Cryptococcus albidus</i>
12	3	1.0	3	<i>Kloeckera sp.</i>
32	8	2.6	8	<i>Rhodotorulaglutinis</i>
8	2	0.6	2	<i>Rhodotorulaminuta</i>
20	5	1.6	5	<i>Stephanoascus ferrii</i>
----	----	100.0	300	العدد الكلي للمستعمرات

المصادر

Arx, J. A. von.(1980). A Mycologists view of yeasts .In : SKINNER , PASSMORE & DAVENPORT (eds.), Biology and Activities of yeasts . London, Academic Press .53-61p.

Balasubramanian M, Bi E, Glotzer M (2004). "Comparative analysis of cytokinesis in budding yeast, fission yeast and animal cells". CurrBiol 14 (18): R806–18. PMID 15380095.

Barnett, J.A.; Payne, R.W. and Yarrow, D. (1990).Yeasts : characteristics and identification . Cambridge Univ. Press . 1024p.

Boguslawska – Was E., and Dabrowski W.(2001). The seasonal variability of yeasts and yeast – like organisms in water and bottom sediment of the Szczecin Lagoon .int J. Hyg Environ. Heal. 203: 451-458.

Brandao, L.R.; Libkind, D.; Vaz, A.B.M.; Espirito Santo, L.C.; De Garcia, V.; Van Broock, M. and Rosa, C.A.(2011). Yeasts from an oligotrophic lake in Patagonia (Argentina) : diversity , distribution and synthesis of photoprotective compounds and extracellular enzymes . FEMS Microbiol. Ecol. 76: 1-13.

Brooks, G.F.; Carrol, K.C.; Butel, J.B. and Morse, S.A.(2007). Medical Microbiology 24th ed; 642-645p.

Chen, Y., Yanagida, F., and Yu- Chen, L.(2009). Isolation of marine yeasts from coastal waters of northwest Taiwan. Aquatic biology , Published online December 29. Vol. 8: 55-60.

Eills,D. H.1994. Clinical mycology : the human opportunistic mycosis Gillingham . Printerspty. Ltd. Australia. 166.

Funke, G.; Monnet, C.; De Bernardis, A. Von Graeventiz, and Freney, J.(1998). Evaluation

of the VITEK 2 system for rapid identification of medically relevant gram – negative rods . *J. Clin. Microbiol.* 36: 1948-1952.

Hagler, A.N., Mendonca –Hagler, L.C. and Morais, P.B.(1995). Yeasts as an example of microbial diversity in Brazilian Ecosystems . Vol. 1 :Estrutura , Funcionamento , e Manejo de Ecosistemas Brasileiros , Esteves , F.A.(editor), 1995. 225-244.

Hagler, A.N.(2006). Yeasts as indicators of environmental quality In: Gabor, P.; Rosa, C. (ed.). 2006. Biodiversity and Ecophysiology of yeasts . Springer , Berlin. 515-532.

Hoogde, G. S. and Guarro, J. 1995. Atlas of clinical fungi .centralbureauvoorshimmel – cultures and universitatroviravirgili. Spain 720.

Kandasamy, K., Alikuhhi, M.N., and Subramanian, M.(2012). Yeasts in marine and estuarine environments .*Journal of yeast and fungal research* Vol. 3(6), 74-82pp. ISSN 2141 2413©2012 Academic journal.

Kurtzman , C.P. and Fell, J.W.(1999). *The Yeasts A Taxonomic Study*. Fourth revised and England edition . ISBN: 0444 81312 8, 903P.

Ligozzi, M.; Bernini, C.; Bonora, G.M.; DeFatima, M.; Zuliani, J. and Roberta, F.(2002). Evaluation of the vitek 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medical relevant Gram – Positive Cocci. *American society for Microbiology . J. Clinical Micro.* 1681-1686.

MacGillivray, A.R. and Shiaris , M.P.(1993). Biotransformation of poly – cyclic aromatic hydrocarbons by yeasts isolated from coastal sediments . *Appl. Environ. Micro.* 59: 1613-1618.

McGinnis, M. R. 1980. *Laboratory handbook of medical mycology* . Academic Press , New York, 387-390.

Medeiros , A.O.; Kohler, L. M. ; Hamdan, J. S.; Missagia, B. S. ; Barbosa, F.A.R. and Rosa, C.A.(2008). Diversity and antifungal susceptibility of yeasts from tropical freshwater environments in Southeastern Brazil. *Water Res.* 42: 3921-3929.

Meyers, S.P.; Ahearn, D.G. and Cook , W.L.(1970). Mycological studies of lake Champlain .*Mycologia.* 62: 504-515p.

Mondelli, A.L.; Niero- Melo, L.; Bagagli, E.; Camargo, C.H.; Bruder- Nascimento, A.; Sugizaki, M.F.; Carniero, M.V. and Villas, B.P.(2012). *Candida spp. : manual identification (reference method) and automated identification (vitek system platform)*. *The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases* .ISSN 1678- 9199.VOL. 18.335-339.

Muhsin, T.M. (1985). *Studies of fungi associated with island salt marsh halophytes of delta marsh Canada*. Ph. D. Thesis, University of Manitoda ,Canada. 318p.

Nagahama, T., Hamamoto, Makiko., Nakase , T., Takami1, H., and Horikoshi1, K.(2001). *Distribution and identification of red yeasts in deep – sea environments around the northwest Pacific Ocean* . Kluwer Academic publishers . Printed in the Netherlands . Antoine van Leeuwenhoek , 80: 101-110.

Phaff, H.J. ; Miranda, A. M. and Miller, M.W.(1978a). *Pichiactophila*, a new species of yeast found in decaying tissues of cactus . *Int. J. Syst. Bacteriol.* , 28: 318-325.

Phaff, H.J. and Starmer, W.T.(1987). Yeasts associated with plants, insects and soils. In : ROSE, A. H., HARRISON, J.S. (eds.). The yeasts. 2 ed. New York. Academic Press, Vol. 1, 123-180p.

Silva – Bedoya, L.M.; Ramirez – Castrillon, M. and Osoiro- Cadavid, E.(2014). Yeasts diversity associated to sediments and water from two Colombian artificial lakes. Copyright 2014, Sociedade Brasileira de Microbiologia. www.sbmicrobiologia.org.br, Brazilian Journal of Microbiology 45,1, 135-142p. ISSN 1678-4405.

Sullivan, D. and Coleman, D. 1998. Candida dubliniensis : characteristics and identification. J. Clin. Microbiol. 36: 329- 334.

Urano, N.; Yamazaki, M. and Ueno, R.(2001). Distribution of halotolerant and / or fermentative yeasts in aquatic environments. Journal of Tokyo Univ. of Fisheries, Vol. 87, 23-29pp.

Van Uden N., Ahearn D. G. (1963): Occurrence and population densities of yeast species in fresh-water lake. Antonie van Leeuwenhoek 29: 308 – 312.

Wurzbacher, C.M.; Barlocher, F. and Grossart, H.P.(2010). Fungi in lake ecosystems. Aquat Microb. Ecol. 59: 125-149.

Isolation of yeasts from different rivers in Basrah city by Vitek 2 compact system

Dr.Sanaa Q. Badr and Dr. Basil A. Abaas

ABSTRACT :

The present study aimed to isolate and identified a yeasts from water and sediments of 25 rivers in Basrah Governorate, Iraq. The period of collection started from April 2014 to February 2015. Potato dextrose agar was used to isolate yeasts from filtered water and diluted sediments. It was possible to obtain 300 pure isolates of yeasts which were identified to species level by one of the advanced techniques using YST Vitek -2 Kit and Vitek-2 Compact System.

Results revealed the identification of 15 species belonging to 5 genera of yeasts, which were *Candida*, *Cryptococcus*, *Kloekera*, *Rhodotorula*, *Stephanoascus*. The results showed that *C. tropicalis* was the most frequent species being isolated from all of rivers at Basrah Governorate with a number of colonies representing 37.3% of total colonies. Other species such as *Candida glabrata* and *Cryptococcus laurentii* were also common (96% and 84% of sampling sites). On the other hand, *Candida lipolytica* was of very low frequency in Basrah Rivers (0.7%).

AL- Maaqal 1 was considered the richest place in yeasts where the total number of yeasts reached 21 colonies, whereas Al- Madinasite produced only 6 colonies of yeasts .

Keyes words: Basrah rivers, Yeasts, *Candida*, Vitek -2.