



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة



عزل وتشخيص بكتريا

Faecalibacterium prausnitzii

وعلاقتها بأمراض التهاب القولون المزمن

مرسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

الأحياء المجهرية

تقدمت بها الطالبة **أماني رشيد مصطفى**

بكالوريوس علوم الحياة

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2010 - 2011

بإشراف

أ. د. عدنان نعمة عبدالرضا أ. د. عادل حسن الحسيني

شباط 2017م

ذو القعدة 1438 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

1-1- المقدمة :

ان طبيعة العلاقات التعايشية والتكافلية بين الكائنات الحية تستحق الوقوف عندها والبحث عنها، إذ تتميز هذه العلاقات بأنها وقائية داخل الجسم الحي او تضادية او تعايشية، فبالإضافة الى الجهاز المناعي هناك مجاميع بكتيرية صديقة تستطيع ان تحدد نمو البكتيريا الممرضة في حالة غزوها للجسم. (Miyamoto- Shinohara وآخرون، 2009)

ان بكتيريا *Faecalibacterium prausnitzii* تستوطن القناة الهضمية وهي تشكل 5-20% من الأنواع البكتيرية في امعاء البالغين الأصحاء حيث ان دورها هو انتاج البيوتاريت butyrate اي الاحماض الدهنية خلال فعاليتها الايضية ، فيمكن ان تؤثر ايجابياً على الخلايا الظهارية لقناة الهضم والجهاز المناعي للمضيف، (Muhammad Tanweer ، وآخرون، 2013).

ان انخفاض اعداد *F.prausnitzii* يحتمل ان يكون السبب للإصابة بمرض كرون CD chrohn's وسرطان القولون والسمنة والربو على الرغم من أن هناك حاجة لمزيد من الدراسات لأثبات قاطع ، وقد اثبتت الدراسات ان *prausnitzii* هو النوع الوحيد الذي يحمل تأثيرات مضادة للألتهابات في القولون ، (Chen وآخرون ، 2012) .

تتواجد المستعمرات المايكروبية للقناة الهاضمة للانسان بعد الولادة مباشرة ومصدرها البيئية وتكتسب بشكل واضح من حقيقة ان حديثي الولادة يكتسبونها من احد اجزاء رحم الام فهي تشبه المايكروبات التي تحملها الام في حين يكون قسم منها مختلف عن تلك التي لدى الام (Domingue Bell وآخرون ، 2010) ، وخلال المرحلة الاولى من الحياة يبقى التكوين المايكروبي للأمعاء بسيطاً نسبياً ولكنه متغير وبدرجة كبيرة بل يمكن تسميته بالمتذبذب Wobbling (Sekirov وآخرون 2010)، وبعد الفطام تستقر هذه الميكروبات حتى فترة الشباب ويفترض ان هذا الاستعمار الاول يحدد تكوين الامعاء المايكروبي حتى عمر لاحق (Sekirov وآخرون 2010) (Palmer وآخرون 2007) وفي امعاء البالغين الاصحاء فإن الميكروبات المفيدة تتكاثر وتزيد اعدادها (Derrienm وآخرون 2004) وهي بالتالي عددياً متوفرة لعشرة اضعاف بسبب وفرة من الخلايا البشرية في الجسم (Gill وآخرون 2006). بالإضافة إلى ذلك فإن الدراسات الجينية الاخيرة قد كشفت ان ميكروبات القناة

الهضمية تتوافق (Corresponds) مع عدد محدود نسبياً من الكائنات الحية السائدة والتي تتضمن الخمريات مثل: Bacteroides , Actinobacteria Proteobacteria,

Verrucomicrobia , Fusobacteria

ان القناة الهضمية لدى الانسان مفتوحة النظام Open system والظروف السائدة في الامعاء متنوعة نتيجة توافر الماء والمغذيات والـ pH والاكسجين ومحتويات الصفراء المعرضة للتغيير على طول القناة الهضمية (Sekirov واخرون, 2011) (Parfrey, واخرون 2012) .

تبلغ وفرة الجراثيم في المعدة والامعاء الدقيقة والقولون حوالي 10^3 و 10^4 و 10^{13} خلية لكل غرام واحد على التوالي ، اما الفلورا السائدة في الامعاء فهي لا هوائية اختيارية وفي القولون لاهوائية اجبارية (Sekirov واخرون 2010) ففي تجويف القولون تكون ظروف الاكسدة والاختزال حادة حيث انخفاض كمية الاوكسجين في هذه البيئة اللاهوائية تماماً، وامكانية صلاحيتها لنمو بكتريا القولون (Hill, واخرون 1995) لا سيما ان التنظيم المكاني للبكتريا في القولون يتجه نحو الطبقات المخاطية التي تبطن الامعاء في الطبقة الظهارية منها والتي تعد مقرات دائمة لتلك المستعمرات حيث تصنف ميكروبات القولون على اساس الانتحاء المخاطي mucotrophes (Swidsinski واخرون 2005)

تتسم تفاعلات ميكروبات المضيف في الطبقات المخاطية بالتوازن، ان اختل هذا التوازن نتج عن ذلك امراض والتهابات تصيب القولون تسمى inflammatory bowel disease وفي الظروف تحت الطبيعة فأن امعاء الانسان تواجه تعرضاً لمستضدات ميكروبية محددة، اما الميكروبات تحت الدراسة فهي اخذت من ظهارة الامعاء الغليظة وتحديداً من البطانة المخاطية للقولون mucosal lining.

2-1 الهدف من الدراسة :

- 1- عزل وتشخيص البكتريا الصديقة والنافعة *Faecalibacterium prausnitzii* والكشف عن الوسط الاكثر ملائمة لنموها ودراسة تأثير اوساط زرعية مختلفة من الاس الهيدروجيني على عزل البكتريا وكذلك مديات مختلفة من درجات الحرارة على نموها
- 2- دراسة علاقة هذا النوع البكتيري بـ I B D Inflammatory bowel disease كمرض CD Chorns وقرحة القولون UC Ulcerativ Colitic وملاحظة نسب تواجدها في هذه الحالات اضافة الى ملاحظة انعدامها عملياً عند الاشخاص المصابين بسرطان الامعاء الغليظة .
- 3- تشخيصها وراثيا على مستوى الجنس والنوع .

Summary الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في محافظة ديالى / مدينة بعقوبة للمدة من 15/10/2015 الى 1/6/2016 . وتعد اول دراسة في العراق تضمنت عزل وتشخيص الفلورا البكتيرية *Faecalibacterium prausnitzii*، حيث عزلت من الاغشية المخاطية المبطنة للقولون عن طريق التنظير وتحليل البراز .

شملت الدراسة 100 عينة منها 50 عينة مأخوذة على شكل خزعة نسيجية Biopsy من القولون لأشخاص تراوحت اعمارهم من (18-80) سنة من المرضى المتوافدين الى مستشفى عام بعقوبة التعليمي شعبة الباطنية – قسم الناظور . و50 عينة مأخوذة من براز الاطفال تتراوح اعمارهم من (3 يوم الى 10 سنوات) من الراقدين والمتوافدين الى مستشفى البتول للأطفال والولادة في بعقوبة .

بعد زرع العينات على اوساط متخصصة Nutrient Broth agar Maconky agar , YCFA , Blood agar , Brain &Heart infusion agar وجد ان الوسط YCFA الافضل بين الاوساط المنتخبة لتنمية النوع البكتيري *Faecalibacterium prausnitzii*

هذه البكتيريا شكلت نسبة 97% كنتيجة فحص موجبة بالنسبة للأصحاء، و3% اعطت نتيجة فحص سالبة لعينات اخذت من مراجعي عيادة الناظور في المستشفى كانوا يعانون من الاصابة بسرطان القولون Colon cancer .

بلغت عينات الناظور 50 عينة منها لـ 29 مريض و 21 سليم ، وقد توزعت بين 17 شخص من الذكور و12 من الاناث من المرضى ، اما الاصحاء توزعت بين 16 ذكر و 5 اناث . وبلغت عينات البراز 50 عينة منها 42 مريضاً و 8 لأشخاص اصحاء توزعوا بين 15 ذكراً مريضاً و 27 انثى مريضة اما الاصحاء الثمانية فكانوا 3 ذكور و 5 اناث .

هذه البكتيريا موجبة لصبغة كرام ، عصوية نهاياتها غير حادة ، لا تكون ابواغاً ولا تتجمع بشكل دائم على هيئة مستعمرات وانما تكون متناثرة في اغلب الاحيان .

كانت هي السائدة عند الاشخاص الاصحاء وبنسبة عالية وقد عوملت بعض العزلات بمديات من الحامضية pH المختلفة ووجد انها تتحسس للبيئات الحامضية والقاعدية منها

Summary الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في محافظة ديالى / مدينة بعقوبة للمدة من 15/10/2015 الى 1/6/2016 . وتعد اول دراسة في العراق تضمنت عزل وتشخيص الفلورا البكتيرية *Faecalibacterium prausnitzii*، حيث عزلت من الاغشية المخاطية المبطنة للقولون عن طريق التنظير وتحليل البراز .

شملت الدراسة 100 عينة منها 50 عينة مأخوذة على شكل خزعة نسيجية Biopsy من القولون لأشخاص تراوحت اعمارهم من (18-80) سنة من المرضى المتوافدين الى مستشفى عام بعقوبة التعليمي شعبة الباطنية – قسم الناظور . و50 عينة مأخوذة من براز الاطفال تتراوح اعمارهم من (3 يوم الى 10 سنوات) من الراقدين والمتوافدين الى مستشفى البتول للأطفال والولادة في بعقوبة .

بعد زرع العينات على اوساط متخصصة Nutrient Broth agar Maconky agar , YCFA , Blood agar , Brain &Heart infusion agar وجد ان الوسط YCFA الافضل بين الاوساط المنتخبة لتنمية النوع البكتيري *Faecalibacterium prausnitzii*

هذه البكتيريا شكلت نسبة 97% كنتيجة فحص موجبة بالنسبة للأصحاء، و3% اعطت نتيجة فحص سالبة لعينات اخذت من مراجعي عيادة الناظور في المستشفى كانوا يعانون من الاصابة بسرطان القولون Colon cancer .

بلغت عينات الناظور 50 عينة منها لـ 29 مريض و 21 سليم ، وقد توزعت بين 17 شخص من الذكور و12 من الاناث من المرضى ، اما الاصحاء توزعت بين 16 ذكر و 5 اناث . وبلغت عينات البراز 50 عينة منها 42 مريضاً و 8 لأشخاص اصحاء توزعوا بين 15 ذكراً مريضاً و 27 انثى مريضة اما الاصحاء الثمانية فكانوا 3 ذكور و 5 اناث .

هذه البكتيريا موجبة لصبغة كرام ، عصوية نهاياتها غير حادة ، لا تكون ابواغاً ولا تتجمع بشكل دائم على هيئة مستعمرات وانما تكون متناثرة في اغلب الاحيان .

كانت هي السائدة عند الاشخاص الاصحاء وبنسبة عالية وقد عوملت بعض العزلات بمديات من الحامضية pH المختلفة ووجد انها تتحسس للبيئات الحامضية والقاعدية منها