دراسة نمط المقاومة وتأثير عوامل الخطورة في بعض الفلورا المعوية المعزولة من الإنسان

محسن أيوب عيسى العكيدي احمد طلال حكمت

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

تاريخ الاستلام 2013/03/03

تاريخ القبول 2013/05/08

ABSTRACT

This study was conducted to study the pattern of antibiotic resistance of beneficial and harmful intestinal bacterial flora *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. as beneficial bacteria and *Escherichia coli* and *Clostridium* spp. as harmful bacteria, as well as the study of the effect of three risk factors (age, sex, feeding on milk and dairy products constantly) to resist these bacterial isolates.

Results showed that the percentage of isolating *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. in young ages (15-30 years old) was (67)% (40)%, respectively, which was more than harmful bacteria and the ratios of beneficial bacteria were greater in young ages compared with ages (50-65 years old) and the resistant of beneficial bacteria to were more than the harmful bacteria in younger ages compared to older subjects, well as that rates of isolation of bacteria reached (54.2, 80)% in females than in males, while ratios of isolation of harmful bacteria reached (70, 62.5)% in males than in females, and that resistance of harmful and beneficial bacteria was the highest in females compared to males, with respect to feeding as a risk factor the ratios isolating bacteria from people who consumes milk and dairy products consistently reached (29, 80)% as in people who didn't (71, 20)%, while the ratios of isolating harmful bacteria was (58, 53)% in people who not feed on milk and derivatives consistently than in people who eat constantly and resist harmful bacteria and decreased in people who consume milk and dairy products constantly compared with persons who not feeding constantly .

الخلاصة

أجريت الدراسة لتحديد نمط المقاومة للمضادات الحيوية للفلورا المعوية النافعة والضارة المتمثلة ببكتريا *Bifidobacterium* spp. و *Lactobacillus* spp. كبكتريا نافعة وكل من بكتريا *Escherichia coli* و *Clostridium* spp. كبكتريا ضارة ، فضلاً عن دراسة تأثير ثلاث من عوامل الخطورة (العمر ، الجنس ، التغذية على الحليب ومشتقاته باستمرار) تجاه مقاومة هذه العزلات البكتيرية .

أظهرت النتائج أن نسبة عزل البكتريا النافعة *Bifidobacterium* spp. و *Lactobacillus* spp. في الأعمار الشبابية (15–30 سنة) بلغت (67)% و (40)% على التوالي والتي عزلت بنسبة اكبر من الشباب أكثر من الأعمار (50–65 سنة) وان مقاومة البكتريا النافعة للمضادات الحيوية كانت اكبر من البكتريا الضارة عند الشباب مقارنة بالأشخاص المسنين ، كذلك تبين إن نسب عزل البكتريا النافعة بلغت (54.2 ، 80)% في الإناث مما في الذكور فيما بلغت نسب عزل البكتريا الضارة (70 ، 62.5)% في الذكور مما في الإناث وان مقاومة البكتريا النافعة والضارة كانت اكبر في الإناث مقارنة بالذكور ، فيما يخص عامل التغذية فان نسب عزل البكتريا النافعة في الأشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار بلغت (29 ، 80)% وأما في الأشخاص الذين لايتناولونه باستمرار فقد بلغت النسب (71 ، 20)% بينما نسب عزل البكتريا الضارة بلغت (58 ، 53)% في الأشخاص الذين لايتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار مما في الأشخاص الذين يتناولونه باستمرار وان مقاومة البكتريا النافعة والضارة انخفضت عند الأشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار مقارنة بالأشخاص الذين لا يتناولونه باستمرار .

المقدمة

تعد الفلورا المعوية إحدى الأنظمة البيئية المعقدة الموجودة في الطبيعة وعددها يقدر في الإنسان بحوالي 10^{14} خلية بكتيرية/غرام بينما تقدر الأنواع البكتيرية الموجودة في هذه البيئة بأكثر من 500 نوع ومعظم الأنواع تكون لاهوائية إجبارية، وتتغير الفلورا المعوية تبعاً لعوامل مختلفة كنوع الغذاء المتناول والعمر والجنس والعقاقير الطبية وغيرها من العوامل، إن بعض الفلورا المعوية ضرورية للحياة كإنتاج بعض الفيتامينات وهضم المكونات الغذائية وبشكل خاص بعض الكربوهيدرات والحماية تجاه الكائنات الممرضة بينما البعض الآخر لها تأثيرات مضرة كتحفيز الالتهابات والإسهال وإنتاج التوكسينات وإنتاج المواد المسرطنة وإنتاج غاز H_2S [8].

تستعمل المضادات الحيوية لعلاج العديد من الأمراض التي يكون سببها الإصابة بالكائن الممرض ومع مرور الوقت اكتسب الكائن الممرض صفة المقاومة للمضاد الحيوي المستعمل ضدها فضلاً عن الدور الكبير للمضادات الحيوية في تغيير الفلورا المايكروبية وتعد

الفلورا المعوية من أكثر الفلورا المتأثرة لكون معظم المضادات الحيوية المستخدمة يتم تناولها عن طريق الفم وتسبب ايضاً اكساب بعض الفلورا المعوية لصفة المقاومة الذي يكون محمولاً إما على الكروموسوم أو البلازميد عندما يحصل انتقال لجينات المقاومة من بكتريا الفلورا المعوية إلى الكائن الممرض وبذلك سوف تكسبه صفة المقاومة لذلك المضاد لذلك عمد العديد من الأطباء إلى استخدام الطرق التقليدية القديمة كاستخدام الأحياء العلاجية والمستخلصات النباتية في علاج العديد من الحالات المرضية للحد من اكتساب وانتشار صفة المقاومة [20] [17] .

تهدف الدراسة الحالية إلى تحديد الدور المؤثر للعديد من عوامل الخطورة في اكتساب صفة المقاومة والحساسية لبعض الفلورا المعوية المعزولة من الإنسان تجاه العديد من المضادات الحيوية المستخدمة لما لها من تأثير على صحة الأشخاص .

المواد وطرائق العمل

المواد:

- **العينات :** جمعت (300) عينة من براز الأشخاص الأصحاء من شرائح اجتماعية مختلفة بعمر (15–65) سنة من مدينة الموصل ودونت المعلومات اللازمة للدراسة والخاصة بكل شخص بحسب الاستمارة الموضحة أدناه، وتم التركيز على ثلاث عوامل خطورة هي العمر حيث حددت الأعمار الشبابية (15–30) سنة وكبار السن (50–65) سنة بالإضافة إلى جنس الشخص وتناوله للحليب ومشتقاته في تغذيته .

استمارة الاستبيان للأشخاص

1. **الاسم الثلاثي :**
2. **الجنس :**
3. **العمر:**
4. **التغذية :**
   - **تناول الحليب ومشتقاته باستمرار :**
   - **عدم تناول الحليب ومشتقاته باستمرار :**

- **المضادات الحيوية :** استخدم (10) أنواع من اقراص المضادات الحيوية والمجهزة من شركة (BIOANLYSE LTD. TURKEY) والموضحة بالجدول (1) .

الجدول (1) أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وتراكيزها .

نوع المضاد الحيوي	رمز المضاد	التركيز بالمايكروغرام
Chloramphenicol	C	30
Amoxycillin	AMX	25
Streptomycin	S	10
Tetracyclin	TE	30
Erythromycin	E	15
Ampicillin	AM	10
Gentamycin	CN	10
Ciprofloxacin	CIP	5

طرائق العمل :

- **العزل والتشخيص :** تم التركيز على أربعة أنواع من الفلورا المعوية اثنان منها نافعة هي *Lactobacillus spp.* و *Bifidobacterium spp.* واثنان مرضية ضارة هي *E. coli* و *Clostridium spp.* حيث تم تحضير عدة تخافيف عشرية لعينات البراز قيد الدراسة ونشر (0.1) مليليتر من التخافيف على الأوساط الزرعية الانتخابية للفلورا المعوية وحضنت تبعاً لفترة التحضين وبدرجة حرارية مثلى للنمو وبحسب نوع البكتريا وكما موضح في الجدول (2) ، بعد انتهاء فترة التحضين شخصت البكتريا بالاعتماد على الصفات الزرعية والفحص المجهري والاختبارات الكيمو حيوية واستنادا إلى [10] ، تم حساب النسب المؤية لكل نوع بكتيري على حدا .

الجدول (2): نوع الوسط الزرعي الانتخابي المستخدم لعزل البكتريا المدروسة وفترة ودرجة حرارة التحضين

الوسط الزرعي	نوع البكتريا	فترة التحضين	درجة حرارة التحضين
De Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (HIMEDIA)	*Lactobacillus spp.*	(3-2) يوم	(37-30) ^{o}C
MRS agar مضاف إليه : (100) ملغم/لتر من Neomycin sulfate (15) ملغم/لتر من Nalidixic acid (3) غم/لتر من Lithium chloride	*Bifidobacterium spp.*	(48-24) ساعة	37 ^{o}C
Eosin methylene blue agar (Difco)	*E. coli*	(24) ساعة	37 ^{o}C
Egg yolk agar (Difco)	*Clostridium spp.*	(48-24) ساعة	37 ^{o}C

- **اختبار الحساسية للمضادات الحيوية :**

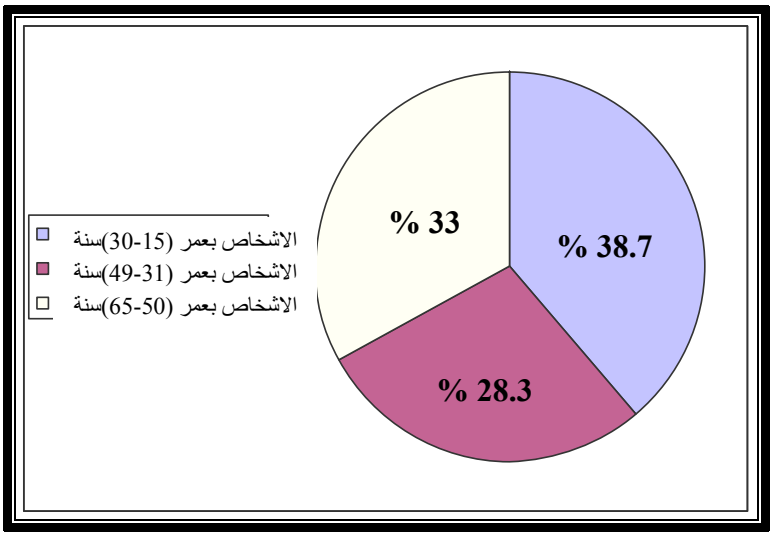
بالنسبة للبكتريا النافعة فقد نقل (3 – 5) مستعمرات لكل نوع بكتيري *Bifidobacterium* spp. و *Lactobacillus* spp. إلى أنابيب اختبار حاوية على (5) مل من مرق MRS broth وقورنت كثافة المعلق البكتيري بأنبوبة ماكفرلاند القياسية

(Macfarland Standerds No. 5) للحصول على تركيز (12×10^8) خلية / مل وثم نشر المعلق البكتيري على وسط MRS agar باستخدام ماسحة قطنية معقمة وترك الوسط لعدة دقائق لحصول التشرب وأما بالنسبة للبكتريا المرضية فقد عمل معلق لكل نوع بكتيري *E. coli* و *Clostridium* spp. في أنابيب اختبار حاوية على (5) مل من محلول الملح الفسيولوجي Normal Saline وتمت مقارنة كثافته بانبوبة ماكفرلاند القياسية (Macfarland Standerds No. 1) للحصول على تركيز (12×10^8) خلية / مل وباستخدام ماسحة قطنية نظيفة تم نشر المعلق البكتيري على وسط مولر – هنتون Muller – Hinton agar وترك الوسط لحصول التشرب، بعدها تم تثبيت أقراص المضادات الحيوية على الأوساط الصلبة المستخدمة وباستخدام ملقط معقم وعمل مكررين من كل وسط وحضنت حسب درجات الحرارة وفترة التحضين الموضحة في الجدول (2) ، بعد التحضين لوحظت المناطق الرائقة حول القرص وتم قياس قطر مناطق التثبيط وقورنت النتائج بالمراجع القياسية الخاصة بتأثير المضادات الحيوية المستخدمة وحسبت النسب المؤية للمقاومة ووزعت حسب عوامل الخطورة [4] [14] .

النتائج والمناقشة

عامل العمر :

بينت نتائج الاستبيان إن عدد ونسب الأشخاص بعمر (15–30) سنة بلغ 116 (38.7%) وبعمر (50 – 65) سنة بلغ (99) شخص بنسبة (33%) والموضحة في الشكل (1) :



الشكل (1) : نتائج الاستبيان بالنسبة المؤية بحسب عامل العمر .

وأوضحت النتائج عزل وتشخيص (16) عزلة للبكتيريا النافعة *Bifidobacterium* spp. و (10) عزلة من البكتيريا النافعة الاخرى *Lactobacillus* spp. و (25) عزلة من البكتيريا الضارة *E. coli* و (8) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp. في الأشخاص بعمر

(15–30) سنة ، وأما البكتريا المعزولة والمشخصة في المسنين بعمر (50–65) سنة فقد توزعت إلى (8) عزلة للبكتيريا النافعة *Bifidobacterium* spp. و (7) عزلة من البكتيريا *Lactobacillus* spp. و (10) عزلة من البكتيريا *E. coli* و (12) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp. وكما موضح في الجدول (3) ، أظهرت دراسة مقدمة من [8] إمكانية عزل هذه الاجناس من براز الإنسان لكونها متواجدة بصورة طبيعية في القناة المعوية له إذ تعد جزء من الفلورا المعوية .

الجدول (3) : نوع وعدد العزلات ونسبها المؤية استناداً الى عامل العمر .

نوع العزلة	الاشخاص بعمر (15–30) سنة		الاشخاص بعمر (50–65) سنة	
	العدد	النسبة المؤية	العدد	النسبة المؤية
Bifidobacterium spp.	16	67	8	33
Lactobacillus spp.	10	40	7	28
Escherichia coli	25	58	10	23
Clostridium spp.	8	25	12	37.5

أظهرت النتائج الموضحة بالجدول (4) ان مقاومة بعض بكتريا الفلورا المعوية تختلف باختلاف الأعمار وقد تم تناول مجموعتين من الأعمار متمثلة بمرحلة الشباب بعمر (15–30) سنة ومرحلة الشيخوخة بعمر (50–65) سنة ، ففي الشباب يلاحظ ان بكتريا *Bifidobacterium* spp. لا تظهر مقاومة تجاه المضادات الحيوية Gentamycin و Ciprofloxacin في حين انها اظهرت مقاومة مطلقة تجاه Streptomycin و Tetracyclin و Ampicillin ، في حين اظهرت البكتريا *Lactobacillus* spp. عدم تأثرها باثنين فقط من المضادات الحيوية وهما Amoxycillin و Streptomycin ، أما في حالة البكتريا الضارة المعوية *E. coli* و *Clostridium* spp. إذ بينت النتائج أن بكتريا *E. coli* تكون مقاومة بنسب (28%) و (4%) و (28%) و (52%) و (12%) تجاه المضادات Chloramphenicol و Streptomycin و Tetracyclin و Erythromycin و Ampicillin على التوالي واما نسب مقاومة بكتيريا *Clostridium* spp. تجاه المضادات Chloramphenicol و Amoxycillin و Tetracyclin و Erythromycin بلغت (12%) و (100%) و (75%) و (50%) على التوالي ، وأظهرت بكتيريا *Bifidobacterium* spp. المعزولة من المسنين مقاومة مطلقة تجاه Streptomycin و Tetracyclin و Ampicillin بينما اظهرت حساسية لبقية المضادات الحيوية ، اما بكتيريا

Lactobacillus spp. تتأثر فقط بالمضادين Streptomycin و Ampicillin فقط ، ففي حالة تأثر البكتريا الضارة في الأشخاص المسنين بينت النتائج إن نسب مقاومة البكتيريا *E. coli* بلغت (30%) و (90%) و (30%) تجاه Chloramphenicol و Gentamycin و Ciprofloxacin على التوالي فضلاً انها لاتتأثر ببقية المضادات باستثناء Amoxycillin التي تكون حساسة له ، في حين تتأثر البكتيريا *Clostridium* spp. بالمضادات Streptomycin و Gentamycin و Ciprofloxacin ، نستنتج من تلك النتائج إن البكتيريا النافعة *Bifidobacterium* spp. و *Lactobacillus* spp. تكون مقاومة للمضادات بشكل اكبر عند الشباب مقارنة بالأشخاص المسنين ففي المسنين تظهر البكتيريا النافعة تأثرها بصورة مطلقة بعشرة أنواع من المضادات الحيوية بينما في الشباب تتأثر بثمانية أنواع فقط ، بينما من ناحية البكتيريا الضارة الانتهازية *E. coli* و *Clostridium* spp. تكون مقاومة للمضادات الحيوية بشكل اكبر عند المسنين مقارنة بالشباب إذ نلاحظ تأثر البكتيريا بشكل مطلق بسبعة أنواع من المضادات الحيوية عند الشباب بينما في المسنين تتأثر بأربعة أنواع من المضادات .

الجدول (4) : نسب مقاومة بكتريا الفلورا المعوية المدروسة للانسان تجاه بعض المضادات الحيوية استناداً إلى عامل العمر .

ت	المضاد الحيوي	نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الأشخاص بعمر 15–30 سنة				نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الأشخاص بعمر 50–65 سنة			
		Bifidobacterium spp.	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***	***Bifidobacterium spp.***	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***
.1	Chloramphenicol	6	0	28	12	0	0	30	91
.2	Amoxycillin	12	100	0	100	0	0	0	100
.3	Streptomycin	100	100	4	0	100	100	100	0
.4	Tetracyclin	100	0	28	75	100	0	100	100
.5	Erythromycin	31	0	52	50	12	0	100	83
.6	Ampicillin	100	0	12	0	100	100	100	50
.7	Gentamycin	0	0	0	0	0	0	90	0
.8	Ciprofloxacin	0	0	0	0	0	0	30	0

ان سبب ذلك قد يعود الى طبيعة البيئة المعوية للشباب والمسنين اذ ان مع تقدم الانسان بالعمر يحصل تغير في القناة المعوية نتيجة قلة امتصاص الكالسيوم وايون الحديد وفيتامين B_{12} والمغذيات الدقيقة من قبل الامعاء مما يؤدي الى قلة حركة الامعاء وانخفاض كمية البراز المطروح والذي يسبب زيادة في اعداد الفلورا المعوية الضارة وانخفاض الفلورا النافعة وارتفاع

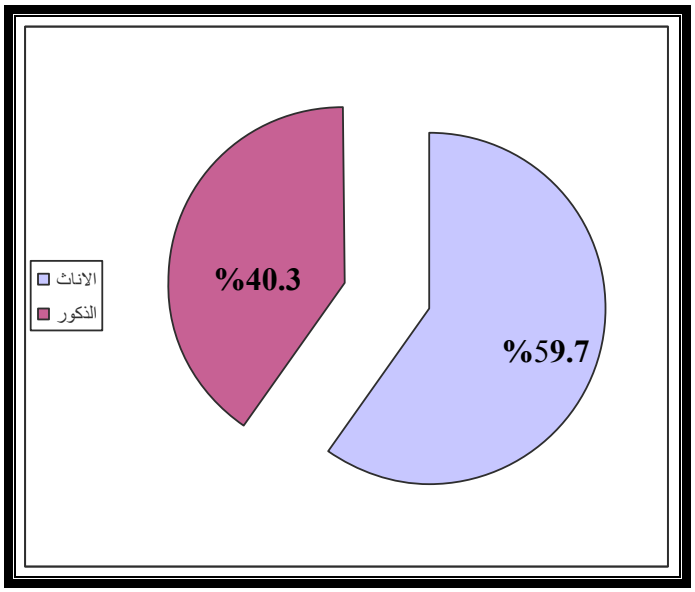
مستوى النواتج التخمرية وخصوصاً الضارة كالامونيا والفينولات والذي يؤثر على عدد ونوع الفلورا المعوية [22] ونتيجة لذلك يكثر حدوث الامراض والاضطرابات المعوية كالامساك والانتفاخ مما يستدعي تناول العقاقير الطبية بكثرة عند الاشخاص مع تقدم العمر والذي يسبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية [23] .

وكذا الحال فان لطبيعة المستقبلات الخاصة بالقناة المعوية للمضيف التي تلتصق بها البكتريا الاثر الكبير في تنوع الفلورا المعوية اذ تتغير تلك المستقبلات مع تقدم الانسان بالعمر اذ اوضحت دراسة مقدمة من [3] وعند اجراء الاختبار في داخل الجسم الحي (الأرانب) ان البكتريا Enteropathogenic *E. coli* لاتلتصق على البطانة المعوية للارانب الصغيرة بعمر (15) يوم بينما لوحظ التصاقها عند الارانب بعمر (21) يوم .

وبالاضافة الى ذلك فان هنالك عوامل اخرى تساهم في احداث التغير في الفلورا المعوية متمثلة بالعوامل الفسلجية كالحساسية والاجهاد والاجسام المضادة والهورمونات وطبيعة الغذاء المتناول من حيث محتواه من البروتينات والفيتامينات والدهون وايضاً محتواه من البكتريا النافعة كالمنتجات اللبنية والتي قد تسبب زيادة في نسبة الاكسدة والاختزال للعناصر الغذائية في القناة المعوية إذ أشارت دراسة مقدمة من [13] إن هذه النسبة تكون مرتفعة بعد الولادة وتنخفض تدريجياً مع تقدم الإنسان بالعمر نتيجة انخفاض عدد البكتريا النافعة وزيادة عدد البكتريا الضارة [12] .

عامل الجنس :

بينت نتائج الاستبيان إن عدد ونسب الاناث بلغ 179 (59.7%) بينما الذكور بلغ 121 (40.3%) وكما موضحة في الشكل (2) :



الشكل (2) : نتائج الاستبيان بالنسبة المؤية بحسب عامل الجنس .

أظهرت نتائج العزل والتشخيص (الجدول 5) في الإناث الى عزل وتشخيص (33) عزلة من البكتريا النافعة موزعة الى (13) عزلة للبكتيريا *Bifidobacterium* spp. و (20) عزلة من البكتيريا *Lactobacillus* spp. و (25) عزلة من البكتريا المرضية الضارة وموزعة الى (13) عزلة من البكتيريا *E. coli* و (12) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp. ، واما في الذكور تم عزل وتشخيص (16) عزلة من البكتريا النافعة موزعة الى (11) عزلة للبكتيريا *Bifidobacterium* spp. و (5) عزلة من البكتيريا *Lactobacillus* spp. و (50) عزلة من البكتريا الضارة وموزعة الى (30) عزلة من البكتيريا *E. coli* و (20) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp. ، تعد البكتريا المعزولة جزءاً من الفلورا البكتيرية المتواجدة في القناة المعوية للذكور والاناث وتختلف في العدد من شخص لآخر [11] .

الجدول (5) : نوع وعدد العزلات ونسبها المؤية استناداً الى عامل الجنس .

نوع العزلة	الإناث		الذكور	
	العدد	النسبة المؤية	العدد	النسبة المؤية
Bifidobacterium spp.	13	54.2	11	45.8
Lactobacillus spp.	20	80	5	20
Escherichia coli	13	30	30	70
Clostridium spp.	12	37.5	20	62.5

يوضح الجدول (6) إن لعامل الجنس الدور المهم في معرفة نسب مقاومة بعض بكتيريا الفلورا المعوية للإنسان تجاه المضادات الحيوية قيد الدراسة الحالية ففي حالة الإناث أشارت النتائج إلى أن البكتيريا النافعة المعوية *Bifidobacterium* spp. المعزولة من الاناث اظهرت حساسية مطلقة تجاه (3) من المضادات قيد الدراسة Amoxycillin و Gentamycin و Ciprofloxacin ومقاومة مطلقة تجاه Streptomycin و Tetracyclin و Ampicillin واما في حالة البكتيريا *Bifidobacterium* spp. المعزولة من الذكور اظهرت حساسية مطلقة تجاه (3) مضادات Erythromycin و Gentamycin و Ciprofloxacin ومقاومة مطلقة تجاه نفس المضادات للبكتيريا المعزولة من الاناث ، لكن في حالة البكتيريا النافعة الاخرى *Lactobacillus* spp. اظهرت في الاناث حساسية مطلقة تجاه نصف المضادات قيد الدراسة بينما اظهرت في الذكور حساسية مطلقة تجاه (5) انواع من المضادات قيد الدراسة . واما فيما يخص البكتيريا الضارة المعوية اوضحت النتائج (الجدول 6) ان البكتيريا *E. coli* اظهرت مقاومة بنسب مختلفة تراوحت مابين (23%) و (100%) في الاناث ولكن في الذكور اظهرت البكتيريا حساسية مطلقة تجاه مضادين قيد الدراسة Gentamycin و Ciprofloxacin وبلغ

مدى نسب المقاومة لبقية المضادات الحيوية مابين (3%) الى (100%) ، بينما اظهرت البكتيريا .*Clostridium* spp في الاناث حساسية مطلقة تجاه نصف المضادات قيد الدراسة الحالية Streptomycin و Erythromycin و Gentamycin و Ciprofloxacin واما في الذكور اظهرت البكتيريا .*Clostridium* spp حساسية مطلقة تجاه (3) مضادات حيوية Streptomycin و Gentamycin و Ciprofloxacin ، نستنتج من النتائج المدونة في الجدول (6) ان نسبة مقاومة البكتيريا النافعة .*Bifidobacterium* spp و *Lactobacillus* spp. تكون اكبر في الإناث مقارنة بالذكور اذ ان عدد المضادات التي تظهرالبكتيريا حساسيتها لها بشكل مطلق عند الذكور بلغت (8) بينما في الاناث بلغت (7) ، بينما في حالة البكتيريا المعوية الضارة *E. coli* و .*Clostridium* spp بينت النتائج ان نسبة مقاومة تلك البكتيريا للمضادات الحيوية تكون اكبر في الاناث مقارنة بالذكور حيث بلغت عدد المضادات المتحسسة لها البكتريا الضارة بشكل مطلق في الاناث (4) بينما في الذكور بلغت (5) مضادات، والسبب قد يعود الى طبيعة البيئة المعوية للذكور والاناث والدور التي تلعبه الهورمونات الجنسية في بقاء البكتريا في القناة المعوية والتضاد البكتيري وفضلاً عن ذلك فان الاناث تكون أكثر عرضة للإصابة بالأمراض مقارنة بالذكور وبالأخص الأمراض التناسلية مما يستدعي تناول أنواع عدة وكميات مختلفة من المضادات الحيوية لعلاج تلك الإصابات والتي سيؤثر سلباً عل البيئة المعوية للإنسان نتيجة إزالة أعداد هائلة من البكتيريا النافعة والتقليل من قدرة البكتريا المعوية للالتصاق بالمستقبلات الخاصة على سطح القناة المعوية ورفع نسبة اكتساب الفلورا المعوية لصفة المقاومة للمضادات الحيوية [18] [19] .

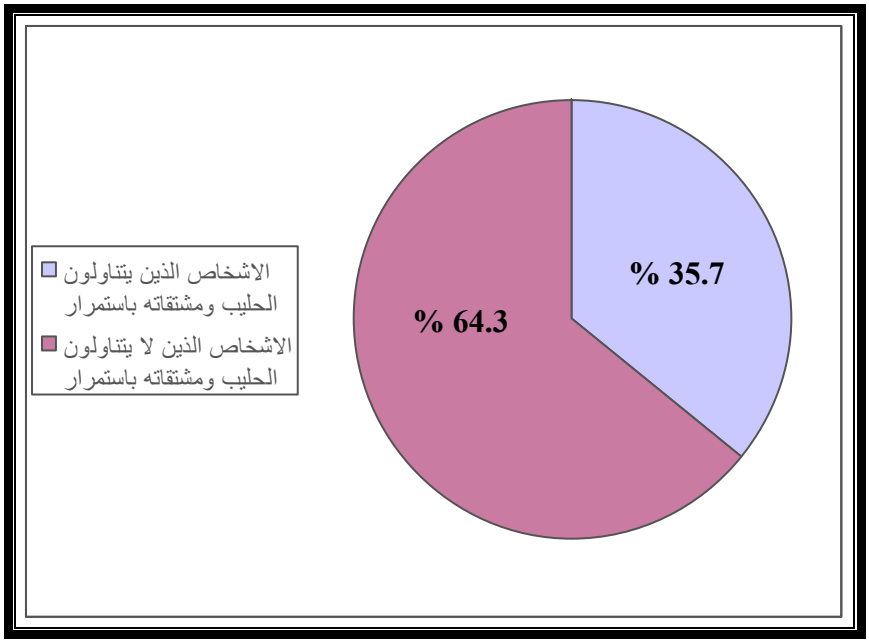
الجدول (6) : نسب مقاومة بعض بكتيريا الفلورا المعوية المدروسة للانسان تجاه بعض المضادات الحيوية استناداً الى عامل الجنس .

ت	المضاد الحيوي	نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الإناث				نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الذكور			
		Bifidobacterium spp.	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***	***Bifidobacterium spp.***	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***
.1	Chloramphenicol	7	0	30	83	9	0	20	10
.2	Amoxycillin	0	60	100	100	36	100	100	100
.3	Streptomycin	100	100	100	0	100	100	3	0
.4	Tetracyclin	100	0	38	91	100	0	66	95
.5	Erythromycin	92	0	76	0	0	0	70	70

20	23	0	100	16	69	75	100	Ampicillin	.6
0	0	0	0	0	100	0	0	Gentamycin	.7
0	0	20	0	0	23	25	0	Ciprofloxacin	.8

عامل التغذية :

بينت نتائج الاستبيان (الشكل 3) ان عدد ونسبة الاشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار بلغت 107 (35.7%) بينما بلغ العدد للذين لايتناولونه باستمرار (193) شخص بنسبة (64.3%) .



الشكل (3) نتائج الاستبيان بالنسبة المؤية بحسب التغذية .

اظهرت نتائج العزل والتشخيص (الجدول 7) للبكتريا المعزولة من الاشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار الى عزل وتشخيص (27) عزلة من البكتريا النافعة موزعة الى (7) عزلة للبكتيريا *Bifidobacterium* spp. و (20) عزلة من البكتيريا *Lactobacillus* spp. و (33) عزلة من البكتريا المرضية الضارة وموزعة الى (18) عزلة من البكتيريا *E. coli* و (15) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp. ، واما في الذكور تم عزل وتشخيص (22) عزلة من البكتريا النافعة موزعة الى (17) عزلة للبكتيريا *Bifidobacterium* spp. و (5) عزلة من البكتيريا *Lactobacillus* spp. و (42) عزلة من البكتريا الضارة وموزعة الى (25) عزلة من البكتيريا *E. coli* و (17) عزلة من بكتيريا *Clostridium* spp.

، ان البكتريا المعزولة في الدراسة الحالية تتواجد بشكل طبيعي في القناة المعوية للانسان ولذلك يمكن عزلها من عينات البراز [6] .

الجدول (7) : نوع وعدد العزلات ونسبها المؤية استناداً الى عامل التغذية .

نوع العزلة	الاشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار		الاشخاص الذين لا يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار	
	العدد	النسبة المؤية	العدد	النسبة المؤية
Bifidobacterium spp.	7	29	17	71
Lactobacillus spp.	20	80	5	20
Escherichia coli	18	42	25	58
Clostridium spp.	15	47	17	53

نتائج الجدول (8) أوضحت إن لتناول الحليب ومشتقاته كالألبان والاجبان الدور الكبير في تغيير بيئة القناة الهضمية للإنسان نتيجة لاحتوائها على البكتيريا النافعة والتي تسمى بالبكتيريا العلاجية Probiotics إذ بينت النتائج ان بكتيريا *Bifidobacterium* spp. المعزولة من براز الأشخاص الذين يتناولون باستمرار الحليب ومشتقاته تكون حساسة بشكل مطلق لاثنين من المضادات الحيوية Gentamycin و Ciprofloxacin ولكن نسب المقاومة تجاه بقية المضادات بلغت من (28%) الى (100%) بينما نفس البكتيريا النافعة في الاشخاص الذين لايتناولون الحليب ومشتقاته بصورة مستمرة اظهرت حساسية مطلقة تجاه (3) انواع من المضادات الحيوية Chloramphenicol و Gentamycin و Ciprofloxacin وبلغ مدى نسب المقاومة تجاه بقية المضادات مابين (5%) الى (100%) ، واما فيما يخص البكتيريا النافعة *Lactobacillus* spp. ففي الاشخاص الذين يتناولون باستمرار الحليب ومشتقاته اظهرت البكتيريا حساسية مطلقة تجاه (4) انواع من المضادات قيد الدراسة Chloramphenicol و Tetracyclin و Erythromycin و Gentamycin وبلغ مدى نسب المقاومة تجاه المضادات الحيوية الاربعة الاخرى مابين (25%) الى (100%) ، اما في حالة الاشخاص الذين لايتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار فان بكتيريا *Lactobacillus* spp. تكون حساسة بشكل مطلق بـ (6) انواع من المضادات Chloramphenicol و Amoxycillin و Tetracyclin و Erythromycin و Ampicillin و Gentamycin ، نستنتج من تلك النتائج ان حساسية بكتيريا الفلورا المعوية النافعة *Bifidobacterium* spp. و *Lactobacillus* spp. في الاشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته تكون اكبر مقارنة مع الاشخاص الذين لايتناولون تلك المادة الغذائية باستمرار ، نتيجة لذلك سيحدث تقوية لنظام الحماية ضد العديد من الاصابات وبالاخص الاصابات المعوية وبذلك سيقل تناول المضادات

الحيوية ، اما سبب زيادة مقاومة البكتيريا النافعة في الأشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته قد يعود الى حدوث انتقال لجينات المقاومة من بكتيريا متواجدة في القناة المعوية للانسان او نتيجة دخول بكتيريا نافعة مقاومة للمضادات الحيوية والتي تكون متواجدة في الحليب ومشتقاته ومنتجات غذائية اخرى كاللحوم اذ اظهرت دراسة مقدمة من [2] الى دور اللحوم في نقل البكتيريا المقاومة للمضادات للإنسان عند تناولها [9] [15] .

الجدول (8) : نسب مقاومة بعض بكتيريا الفلورا المعوية للانسان تجاه بعض المضادات الحيوية استناداً لعامل التغذية على الحليب ومشتقاته .

ت	المضاد الحيوي	نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الاشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته				نسب مقاومة بعض بكتريا الفلورا في الاشخاص الذين لا يتناولون الحليب ومشتقاته			
		Bifidobacterium spp.	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***	***Bifidobacterium spp.***	***Lactobacillus spp.***	***E. coli***	***Clostridium spp.***
.1	Chloramphenicol	28	0	44	20	0	0	8	52
.2	Amoxycillin	42	85	0	100	5	0	0	100
.3	Streptomycin	100	100	16	0	100	100	44	0
.4	Tetracyclin	100	0	0	100	100	0	100	88
.5	Erythromycin	71	0	61	40	35	0	80	47
.6	Ampicillin	100	75	0	0	100	0	64	35
.7	Gentamycin	0	0	27	0	0	0	32	0
.8	Ciprofloxacin	0	25	5	0	0	20	8	0

اذ بينت نتائج الجدول (8) ان البكتيريا الضارة *E. coli* والمعزولة من براز الأشخاص الذين يتناولون باستمرار الحليب ومشتقاته تكون حساسة بشكل مطلق تجاه (3) انواع من المضادات الحيوية Amoxycillin و Tetracyclin و Ampicillin وبلغ مدى نسب المقاومة تجاه بقية المضادات الحيوية مابين (5%) الى (61%) واما في حالة البكتيريا *E. coli* المعزولة من براز الاشخاص الذين لايتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار فانها تتأثر بشكل مطلق بمضاد حيوي فقط Amoxycillin وبلغ مدى نسب المقاومة تجاه بقية المضادات مابين (8%) إلى (100%) ، بينما البكتيريا .*Clostridium* spp والمعزولة من الأشخاص الذين يتناولون باستمرار الحليب ومشتقاته أظهرت حساسية مطلقة تجاه نصف المضادات قيد الدراسة بينما تلك المعزولة من الأشخاص الذين لايتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار أظهرت حساسية مطلقة تجاه

(3) أنواع من المضادات قيد الدراسة ، نستنتج من ذلك انخفاض مقاومة بكتيريا الفلورا المعوية الضارة *E. coli* و *Clostridium* spp. تجاه المضادات الحيوية قيد الدراسة في الأشخاص الذين يتناولون الحليب ومشتقاته باستمرار مقارنة بالأشخاص الذين لايتناولونها باستمرار والسبب قد يعود إلى الدور المثبط للبكتيريا النافعة التي تؤدي إلى الإزالة المستمرة للفلورا المعوية الضارة وبالأخص المتكيفة للعيش في القناة الهضمية والمقاومة للمضادات الحيوية [5] [16] .

إن الدور المثبط للبكتيريا النافعة يحدث نتيجة إفرازها للعديد من المواد كالأحماض العضوية والتيً تعمل على رفع درجة حموضة القناة المعوية إذ أوضحت دراسة مقدمة من [21] إن حموضة البيئة المعوية تعتمد على وجود البكتريا النافعة في القناة المعوية والتي قد تأتي من تناول الحليب ومشتقاته ولذلك لوحظ أن براز الأطفال حديثي الولادة والمعتمدين في تغذيتهم على حليب الأم يكون برازهم حامضي بدرجة (5 – 5.5) ولكن بعد الفطام وعند ترك تناول الحليب ومشتقاته يصبح برازهم قاعدي بدرجة (8.5) ، فضلاً عن ذلك فان هناك مواد أخرى تنتجها البكتريا النافعة كبيروكسيد الهيدروجين والبكتريوسينات والأحماض الدهنية وغيرها والتي لها دور كبير في الفعل القاتل والتثبيطي تجاه الفلورا الضارة المعوية [7] [1].

المصادر

1. Begley, M. ; Gahan, C.G.M. and Hill, C., FEMS, Microbiol. Rev., 29 : 625-651 (2005).
2. Borgen, K.; Simonsen, G.S. ; Sundsfjord, A. ; Wasteson, Y. ; Olsvik, Ø. and Kruse, H. J., Appl. Microbiol. 89 : 478-485 (2000).
3. Cheney, C.P. and Boedeker, E.C., Gastroenterology, 87, 821-826 (1984).
4. CLSI., Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility tests; Approved Standard - Eight NCCLS. Document M2-A8. Wayne, Pennsylvani, U.S.A. (2003).
5. Davidson, J. and Hirsch, D.C., Infect. Immun. 12, 134-136 (1975).
6. Ferguson, A., Gut;(Suppl1):S10-S12 (1994).
7. Freter, R., Brickner, H., Botney, M., Cleven, D., and Aranki, A., Infect. Immun. 39, 676-685 (1983).
8. Guarner, F. and Malagelada, J.R., Lancet., 361: 512–519 (2003).
9. Hart, A.L. ; Stagg, A.J.; Frame, M. ; Graffner, H. ; Glise, H. ; Falk, P. and Kamm, M.A., Aliment Pharmacol Ther., 16: 1383–1393 (2002).
10. Koneman, E.W. ; Allen, S.P. and Janda, W.C., Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 6th . Lippincott-Willams and Wilkins puplishers. Philadelphia, U.S.A. (2006).
11. Langhendries, J.P., Ital. J. Pediatr; 31: 360-369 (2005).
12. Macfarlane, G.T. and Cummings, J.H., Curr. Opin. Infect. Dis., 15: 1–6 (2002).
13. Meynell, G.G., Brit. J. Expt. Pathol. 44, 209-219 (1963).
14. Ocana, V. ; Silva, C. and Nader-Macias, M.E., Infect. Dis. Obstet., 1-6 (2006).
15. Ofek, I. ; Hasty, D.L. and Sharon, N., FEMS Immunol. and Medic. Microbiol., 38 : 181-191(2003).

16. Quigley, E.M.M. and Quera, R., Gastroenterol.,130: S78–S90 (2006).
17. Razzak, M.S.A. ; Al-Charrakh, A.H. and AL-Greitty, B.H., North Am. J. Med. Sci., 3. (4): 185-192 (2011).
18. Savage, D.C., Ann. Rev. Microbiol. 31, 107-133 (1977b).
19. Singh, V.V. and Toskes, Ph.P., Cur. Gastroenterol. Rep.**, 5:**365–372 (2003).
20. Sørum, H. and Sunde, M., Vet. Res. 32: 227–241(2001).
21. Tannock, G.W., Control of gastrointestinal pathogens by normal flora. In: Current perspectives in microbial ecology. (Eds.: Khug, M.J. and Reddy, C.A.). American Society for Microbiology, Washington, D.C., 374-382 (1984).
22. Woodmansey, E.J., J. Appl. Microbiol., 102: 1178–1186 (2007) .
23. Woodmansey, E.J. ; McMurdo, M.E. ; Macfarlane, G.T. and Macfarlane, S., Appl. Env. Microbiol 70: 6113–6122 (2004) .