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

عزل وتشخيص بكتيريا *Helicobacter pylori* من عينات سريرية ودراسة الفعالية التثبيطية لنبات البروكلي وجذور عرق السوس عليها

أحمد كمال أحمد بكر الطائي

رسالة ماجستير

في

العلوم البيئية

بإشراف

المدرس الدكتورة رواء محمود حموشي الأستاذ المساعد الدكتور فتحي عبدالله منديل

1446 هـ 2024 م

الخلاصة

هدفت الدراسة إلى عزل وتشخيص جرثومة المعدة *Helicobacter pylori* من الاشخاص المُصابين بالتهاب المعدة والامعاء gastroenteritis بواسطة اختبارات متعددة اضافة الى تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) ضمن مدينة الموصل من مجاميع المرضى المحالين إلى وحدة الناظور Endoscopy قسم الباطنية التابع لمستشفى ابن سينا التعليمي وخلال فترة من بداية تشرين الثاني2023 الى نهاية حزيران 2024 ولكلا الجنسين من الفئات العمرية (10–70) سنة.

تم جمع 50 خزعة نسيجية بواسطة الناظور (40) مريض و(10) سيطرة إضافة الى 5 مل من دم المصاب للحصول على المصل Serum لإجراء الاختبارات المطلوبة ، ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها لوحظ سيادة التهاب المعدة المزمن بنسبة 37.5% وجاءت قرحة الاثني عشر بنسبة 25% في حين أظهرت قرحة المعدة بنسبة 15% ومرض الارتجاع المرئي المعدة بنسبة 12.5% في حين أظهر سرطان المعدة أقل نسبة 10% وكانت نسبة الذكور المصابون بأمراض المعدة والامعاء 57.5% في حين كانت نسبة اصابة الإناث 42.5% وان الفئة العمرية بين (41–70) سنة أعطت أعلى نسبة للإصابة 50% في حين أعطت الفئة العمرية(10–20) سنة أقل مستوى للإصابة بنسبة 17.5% .

تم استخدام الوسط الانتقائي Columbia Blood Agar المحور لعزل البكتيريا وظهرت المستعمرات نقية شبه شفافة دائرية محدبة كريمية اللون ،أما الفحص المجهري باستخدام صبغة كرام كانت المستعمرات سالبة لصبغة كرام وذات أشكال متغايرة عديدة حلزونية أو شكل حرف S او عصوية منحنية .

في اختبار اليوريز السريع للخزع النسيجية بلغت 47.5% نتيجة إيجابية من بين 40 خزعة نسيجية لمجموعة المرضى في حين أعطت 52.5% نتيجة سالبة، أما نتيجة التحري عن الأجسام المضادة IgG الخاص بكتيريا *H.pylori* من عينات مصل الدم المأخوذة من مجموعة المرضى فقد اعطت نتيجة موجبة بنسبة 62.5% ونتيجة سالبة 37.5% وفي هذه الدراسة ايضاً تم التحري عن اختبار التنفس ل 20 مريضاً وكانت النتيجة 80% موجبة و20% سالبة ، كما تم التحري عن مستضد الجرثومة ل 50 عينة خروج حيث أظهرت نتائج الاختبار ان 56% اعطت تفاعلاً موجباً اي تحتوي على مستضد جرثومة *H.pylori* في حين أعطت 44% نتيجة سالبة وكانت نسبة الذكور في هذا الاختبار 57% اما الإناث 54% .

تم إجراء اختبار لعشرة أشخاص للكشف عن مستضد الجرثومة بتقنية DCR2000 بتناول المرضى لنقيع جذور عرق السوس لمده شهر وتم قياس المستضد قبل وبعد تناول عرق السوس تبين الى مستوى Antigen لجرثومة H.pylori أظهر انخفاضاً واضحاً.

باستخدام تفاعل البلمرة PCR وتضخيم الجين 16S rRNA شخصت عزلة واحدة وتم تسجيلها في بنك الجينات العالمي (NCBI) واظهرت نتائج الكشف عن التتابعات الجينية ان العزلة المحلية تابعة لبكتريا *H.pylori* .

شخصت ثمان مركبات فينولية بطريقة HPLC في المستخلصات البروكلي وعرق السوس وهم كل من (Quercetin , Caffeic acid, Rutin, ,Kaempferol, Luteolin, Ferulic acid,Apigenin, Gallic acid) ، سجل نبات البروكلي أعلى تركيز 0.4062 ملغم/ غم للمركب Gallic acid الفينولي عن زمن احتجاز بلغ 3.91 دقيقة في حين نبات عرق السوس سجل أعلى تركيز 0.3115 ملغم /غم للمركب Gallic acid الفينولي عن زمن احتجاز بلغ 3.91 دقيقة ، أقل تركيز للمركبات الفينولية كانت المركب Rutin حيث بلغت في المستخلص الايثانولي لنبات البروكلي 0.1472 ملغم /غم و 0.0869 ملغم/غم لمستخلص عرق السوس ، اظهر المستخلص الايثانولي لجذور عرق السوس فعالية تثبيطية جيدة حيث أعطى اعلى تثبيط عند التركيز 200 ملغم/مل وبقطر تثبيط 13ملم، يعتبر المضاد الحيوي Ciprofloxacin فعال جدًا ضد البكتيريا حيث أعطى أعلى تثبيط بقطر 20 ملم .

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education

University of Mosul

College of Environmental Sciences

Department of Environmental sciences

Isolation and identification of *Helicobacter pylori* bacteria from clinical samples and study of the inhibitory effect of broccoli plant and Licorice root on it

By

Ahmed Kamal Ahmed Bakr Al-Taie

M.Sc./Thesis

Environmental Sciences

Supervised by

The teacher	Assistant prof
Dr. Rawaa Mahmoud Hamoushi	**Dr. Fathi Abdullah Mandeel**

2024 A.D. **1446 A.H.**

Abstract

The study aimed to isolate and diagnose the stomach bacteria *Helicobacter pylori* from people with gastroenteritis by multiple tests in addition to the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique within the city of Mosul from groups of patients referred to the Endoscopy Unit of the Internal Medicine Department of Ibn Sina Teaching Hospital during the period from the beginning of November 2023 to the end of June 2024 for both sexes from the age groups (10-70) years.

Where 50 tissue biopsies were collected by endoscopy (40) patients and (10) controls in addition to 5 ml of the patient's blood to obtain serum to conduct the required tests, and through the results obtained, it was noted that chronic gastritis prevailed by 37.5%, and duodenal ulcer came by 25%, while gastric ulcer showed by 15% and gastric reflux disease by 12.5%, while gastric cancer showed the lowest percentage of 10%, and the percentage of males infected with stomach and intestinal diseases was 57.5%, while the percentage of females infected was 42.5%, and the age group between (41-70) years gave the highest percentage of infection 50%, while the age group (10-20) years gave the lowest level of infection by 17.5%.

The modified Columbia Blood Agar selective medium was used to isolate the bacteria and the colonies appeared pure, semi-transparent, circular, convex, and cream-colored. As for the microscopic examination using the Gram stain, the colonies were Gram-negative with many different shapes, spiral, S-shaped, or curved rods.

In the rapid urease test for tissue biopsies, 47.5% of 40 tissue biopsies from the patient group were positive, while 52.5% gave a negative result. As for the result of the investigation of IgG antibodies specific to *H.pylori* bacteria from blood serum samples taken from the patient group, it gave a positive result of 62.5% and a negative result of 37.5%. In this study, the breath test was also investigated for 20 patients, and the result was 80% positive and 20% negative. The antigen of the bacteria was also investigated for 50 excrement samples, where the test results showed that 56% gave a positive reaction, i.e. they contained the antigen of the *H.pylori* bacteria, while 44% gave a negative result. The percentage of males in this test was 57%, while females were 54%.

Abstract

A test was conducted on ten people to detect the antigen of the bacteria using the DCR2000 technique by having the patients consume licorice root infusion for a month and the antigen was measured before and after consuming licorice. It was found that the level of antigen for the *H.pylori* bacteria showed a clear decrease.

Using PCR and amplification of the 16 S rRNA gene, one isolate was identified and registered in the National Gene Bank (NCBI). The results of genetic sequence detection showed that the local isolate belongs to *H.pylori* bacteria.

8 phenolic compounds were identified by HPLC method from broccoli and licorice extracts, which are (Quercetin, Caffeic acid, Rutin, Kaempferol, Luteolin, Ferulic acid, Apigenin, Gallic acid). Broccoli recorded the highest concentration of 0.4062 mg/g for the phenolic compound Gallic acid at a retention time of 3.91, while licorice recorded the highest concentration of 0.3115 mg/g for the phenolic compound Gallic acid at a retention time of 3.91. The lowest concentration of phenolic compounds was Rutin, which reached 0.1472 in the ethanolic extract of broccoli and 0.0869 for the licorice extract. The ethanolic extract of licorice roots showed good inhibitory activity, as it gave the highest inhibition at a concentration of 200 mg/ml and an inhibition diameter of 13 mm. Ciprofloxacin is considered a very effective antibiotic against Bacteria where the highest inhibition was given at a diameter of 20 mm.