

مدرس مساعد احمد عبد المجيد الخالدي

(ماجستير)

Isolation of Main Fungi Associated with Respiratory Infections in Human and Bovine with Study The Effect of β -glucan and Fungal Antigen Against Pathogenesis of *Mucor spp* in Mice

عزل و تشخيص اهم الفطريات المصاحبة لأصابات الجهاز في الانسان والابقار
مع دراسة تأثير β -glucan التنفسي المزمنة

Mucor ومستضد الفطر ضد امراضية فطر ال- β -naculg

الخلاصة

ان هدف هذه الدراسة هو عزل وتشخيص اهم انواع الفطريات المصاحبة لامراض الجهاز التنفسي المزمنة وحساب نسب الاصابة الفطرية التنفسية من عينات القشع في الاشخاص المصابين ، ومن الخزعات الماخوذة من رئات الابقار التي تظهر عليها علامات الاصابة التنفسية .بالاضافة الى معرفة تأثير مستضدات الراشح الزراعي لفطر ال- *Mucor spp* على الامراضية و الاستجابة المناعية ضد فطر ال- *Mucor spp* الضاري في الفئران. كذلك دراسة تأثير مركب ال- β -glucan كمعزز مناعي في نفس الفئران .

لتحقيق الهدف الاول جمعت 60 عينة قشع من المرضى المصابين من مستشفى اليرموك التعليمي، وجمعت 50 عينة خزعات من رئات ابقار تظهر عليها علامات الاصابة التنفسية المزمنة من مجازر الكرخ في مدينة بغداد للفترة من كانون الثاني الى نيسان من عام 2012. نتائج العزل في الانسان اظهرت 34 من 60 وبنسبة (56.66%) عينة قشع كانت موجبة ، نسب العزل الاعلى ظهرت في شهر كانون الثاني بنسبة (66.66%) تليها شهر شباط 62.21% ثم نيسان 45.45% ثم اذار 42.85% ، وهذه الانواع تضمنت *albicans Candida* والتي كانت اعلى نسبة من العزل الفطري 12 من 34 35.29% ثم تلتها *tropicalis Candida* 5 من 34 14.7% و *niger Aspergillus* و *fumigatus Aspergillus* 3 من 34 8.82% لكل منهما ثم *flavus, Rhizopus Aspergillus, Mucor spp, Penicillium spp* and

cerevisiae Saccharomyces 2 من 34 5.88% لكل منهما، كذلك اقل نسبة عزل كانت لـ *alternate Alternaria* 1 من 34 2.94%.

بينما عينات الابقار اظهرت 26 من 50 موجبة العزل الفطري ، نسبة العزل الفطري الاعلى كانت في شهر شباط 58.82% ثم كانون الثاني 52.63% ثم شباط 44.44% وشهر نيسان الاقل نسبة عزل 40%، وهذه الانواع هي *Candida sp* الاعلى نسبة 38.46% و *albicans.Candida* 23.07% ثم *tropicalis.Candida* و *stellatoidea.Candida* 7.69% لكل منهما *fumigatus. Aspergillus* و *Rhizopus* *spp Mucor* ثم 11.53% و *spp Penicillium* 2 من 26 7.69% لكل منهما ثم النسبة الاقل لـ *aclada Botrytis* و *niger Aspergillus* و *herbarum Cladosporium* *spp Fusarium* 1 من 26 3.84%.

لتحقيق الهدف الثاني من البحث تم تحضير مستضد الراشح الزرعي لفطر الـ (*Mucor* CFMAgs) من الفطر الضاري المعزول اعلاه ، استعملت هذه المستضدات لتمنيع 70 من الفئران البالغة

سبعون فار قسمت عشوائيا الى خمسة مجاميع وكما يلي :

المجموعة الاولى: وتضم 20 فار منعت بمستضد الراشح الزرعي داخل الخلب، جرعتان بينهما اسبوعان وبجرعة 0.4 مل بتركيز 2.5 ملغم/مل بروتين مع تغذيتها بعليقة مخلوطة بمركب ال-β-glcان بتركيز 100 ملغم/كغم ولاربعة اسابيع.

المجموعة الثانية: وتضم 20 فار منعت بمستضد الراشح الزرعي داخل الخلب، جرعتان بينهما اسبوعان وبجرعة 0.4 مل بتركيز 2.5 ملغم/مل بروتين فقط.

المجموعة الثالثة : وتضم 10 فئران تغذت بعليقة مخلوطة بمركب ال-β-glcان بتركيز 100 ملغم/كغم ولاربعة اسابيع فقط.

المجموعة الرابعة: وتضم 10 فئران لم تمنع باي مستضد واعتبرت مجموعة سيطرة موجبة.

المجموعة الخامسة : وتضم 10 فئران حقنت بمحلول دارى الفوسفات الملحي المتعادل 7.2 واعتبرت كمجموعة سيطرة سالبة. وبد ذلك تم قياس الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية في اليوم 27-30 بعد اعطاء جرعة التمنيع الاولى.

بعد ذلك حقنت المجاميع الاولى والثانية والثالثة والرابعة بجرعة التحدي من فطر *Mucor spp* في الخلب وبمقدار 0.4 مل وبتركيز 10^7 خلية لكل مل ، وحقنت المجموعة الخامسة بمحلول دارى الفوسفات الملحي المتعادل 7.2 في الخلب بمقدار 0.5 مل. قتلت 5 فئران من كل مجموعة بعد 15 يوم و45 يوم من اعطاء جرعة التحدي. اظهرت النتائج بان معدل سمك الجلد ضد مستضد الفطر الراشح الزرعى الذائب والذائب المتكسريد بعد 24 ساعة بعد الحقن كانت في المجموعة الاولى 0.15 ± 2.50 و 0.07 ± 1.8 ملم على التوالي وفي المجموعة الثانية 0.03 ± 1.6 و 0.03 ± 1.0 ملم على التوالي وهذه القيم انخفضت عند 48 ساعة بعد الحقن حيث كانت 0.08 ± 1.8 و 0.05 ± 1.1 ملم على التوالي في المجموعة الاولى و 0.03 ± 1.0 و 0.03 ± 0.6 ملم على التوالي في المجموعة الثانية .

واظهرت نتائج فحص التلازن الدموي المنفعل (غير المباشر) في المجموعة الاولى مستوى عالي من الاجسام المضادة ضد مستضد الفطر ال ذائب المتكسر 12.80 ± 115 مقارنة بمستوى الاجسام المضادة في المجموعة الثانية 12.80 ± 76 . اما نتائج فحص ال-ELISA اظهرت معدل مستويات عالي من تراكيز الاجسام المضادة IgG في المجموعة الاولى 27.32 ± 215.5 وبفرق معنوي عن المجموعة الثانية 13.51 ± 161.7 بينما مجموعة السيطرة بقيت بمعدل طبيعي في كل مصول الفئران 6.43 ± 23.8 .

اظهرت النتائج ان مستوى الحماية في فئران المجموعة الاولى كانت 100% حيث منعت الهلاك، ونسبة حماية 90% في فئران المجموعة الثانية ، وحماية جزئية 70% في فئران المجموعة الثالثة، وكل الفئران المصابة و الغير ممنعة هلكت خلال 48-72 ساعة .

اظهرت نتائج الفحص النسيجي المرضي في مجموعة السيطرة الموجبة التهاب قيحي حاد في الاعضاء التي فحصت خلال 48-72 ساعة بعد الحقن مع تنخر وارتشاح الخلايا الالتهابية، كذلك الابواغ والخيوط الفطرية لوحظت في الكبد ، الكلية، الطحال، الرئة، كذلك افة مرضية متوسطة في اليوم ال 15 و45 بعد الاصابة (الخلايا وحيدة النواة وخلايا العدلات) شوهدت في اغلب الاعضاء المفحوصة للمجموعة الثالثة . بينت النتائج افة مرضية خفيفة في الاعضاء المفحوصة للمجموعات الممنعة الاولى والثانية.

نستنتج من الدراسة الحالية وجود نسبة عالية من العزل الفطري من الأشخاص والابقار الذين يعانون الاصابات التنفسية، وشكل العزل الفطري بالـ *Mucormycosis* ثالثا بعد *Candida spp* و *Aspergillus spp*. على التوالي . ان مستضد الراشح الزرع لـ *Mucor* مركب الـ β -glucan اعطى مناعة وقائية جيدة ضد الجرعة القاتلة لفطر الـ *Mucor*