وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسه مقارنه بكتريولوجية وسيرولوجية وجزيئية لتشخيص بكتريا *Salmonella typhi*

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى كجزء من متطلبات نيل

درجة الماجستير في علوم الحياة - الإحياء المجهرية

من قبل الطالبة

رقيه إياد عباس القيسي

بكالوريوس علوم الحياة 2013

بأشراف

أ.د. عباس عبود فرحان **أ.د.محمد شمخي جبر**

1438 هـ **2018 م**

1-المقدمة Introduction

الحمى التيفوئيدية (*S.typhi*) *Salmonella enterica* serovarTyphi واحدة من أكثر المسببات المرضية للالتهابات شيوعا في الإنسان وتسبب مرض التيفوئيد (Salmonellosis) الذي يشمل التهاب المعدة والأمعاء والتجرثم والتسمم الدموي والحمى المعوية.

تعتبر هذه البكتريا من الممرضات المهمة للإنسان بجميع الفئات العمرية ولكنها تكون أكثر خطورة عند الأطفال (Hanan, 2016). تنتمي بكتريا *Salmonella enterica* serovar Typhi إلى العائلة المعوية Enterobacteriaceae وقد سميت بذلك نسبة إلى الجراح البيطري سلمون (salmon) الذي عزل عصيات السالمونيلا كوليرا (*salmonella cholerae*) من الخنازير عام (1885) (Shen وآخرون ,2007). ويشار إلى أن الحمى التيفوئيدية (Typhoid fever) من أهم المشاكل التي تواجها المنظمات والمؤسسات الصحية في العالم لكونها من الأمراض المعدية الجهازية (Systemic infections)(Yoonوآخرون,2009).

يعد الغذاء والماء الملوثين والأشخاص المصابين المصدر الرئيسي للإصابة (Pegues وآخرون,2005). ومن المعلوم أن هذا المرض يتميز بتغير نسب الإصابة به مع تغير الظروف المناخية الموسمية فضلاً عن العوامل الأخرى المؤثرة على نسبة حدوث المرض وتشمل هذه العوامل العمر والسكن والحالة النفسية وعوامل بيئية أخرى (AL- Arajiو Ali,2012).

يصيب المرض الإنسان بجميع الأعمار مسبباً التهاب معدي معوي تظهر أعراضه بعد (12-72) ساعة من التعرض للمسبب المرضي بشكل آلام في البطن،حمى،إسهال، غثيان وتقيؤ وتعد بكتريا السالمونيلا من مسببات الإسهال المهمة في الأطفال الرضع لاسيما في الدول النامية، وقد تتطور الإصابة بالحمى التيفوئيدية لدى الأطفال مؤدية إلى حدوث التجرثم الدموي (Bacteremia)

كما تسبب أحياناً التهاب السحايا والوفاة (Khan وآخرون,2009 ; Anil وآخرون ,2009).

أبرز أعراض الإصابة ببكتريا السالمونيلا تايفي هو نقص في العدد الكلي لكريات الدم البيض وتعتبر الحمى التيفوئيدية من الإمراض المستوطنة في البلدان النامية وذلك لقلة الإجراءات الصحية أو مياه الشرب الملوثة بالمسبب المرضي مما يؤدي إلى سرعة انتشار المرض(Gal-Mor وآخرون,2014). وان حمى التيفوئيدية (*Salmonella enterica* serovar Typhi) هي عصيات سالبة الكرام غير مكونة للمحفظة متحركة وتستهلك السترات ولاتخمر سكر اللاكتوز والسكروز ولا تنتج الأندول ولا تميع الجلاتين ولا تحلل اليوريا وتنتج غاز H_2S.

تمتلك جراثيم السالمونيلا تايفي عدة مستضدات أهمها المستضدات الجسمي (O-AG) ذو الطبيعة السكرية والمستضد الجسمي (H-AG) ومستضد الضراوة (Vi-Ag) ذو الطبيعة البروتينية (Quinn وآخرون,2002).

تنتشر الحمى التيفوئيدية من الأمعاء إلى المجرى الدموي وبقية أجزاء الجسم وربما تسبب الموت إذا لم يتم العلاج بالسوائل المعوضة والمضادات الحيوية ويكون الأطفال حديثي الولادة أكثر عرضة للإصابة وكذلك المصابون بالتهاب المفاصل والإمراض المزمنة (Mcghie وآخرون,2009).

تعد الحمى التيفوئيدية (*Salmonella enterica* serovar Typhi) من أكثر المسببات المرضية مقاومة للمضادات الحياتية (Rabsch وآخرون,2001). وهذه الميزة تتسبب في زيادة نسبة الإصابة وزيادة نسبة الوفيات نتيجة الإصابة بأنواع مصلية مقاومة للمضادات الحياتية (Tsai وآخرون,2010).

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مستشفى بغداد /استشارية باطنية /مدينة الطب ، ومستشفى حماية الطفل /مدينة الطب ومستشفى الكرامة التعليمي ابتداء من شهر تشرين الثاني 2016 إلى شهر أيار 2017 وذلك لغرض التحري عن أفضل الطرق التشخيصية المختبرية المعتمدة للكشف عن بكتريا *Salmonella enteric* serover Typhi المسببة للحمى التيفوئيدية التي تضمنت الفحوصات السيرولوجية (Widal test) والاختبارات البكتريولوجية من خلال العزل والكشف والفحوصات الجزيئية بتقنية(commercial polymerase chain reaction) للكشف عن ألجين (***fliC*** **gene** إضافة إلى أنماط الحساسية للمضادات بالاعتماد على طريقة Kerby-Bauer خلال قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد الحياتي المستخدم وفقا لما جاء.(2015)CLSI.

تضمنت الدراسة جمع 120 عينة دم إذ شكلت نسبة الاصابة عند الذكور 59.16% (71) والإناث 40.83% (49) ، وتراوحت أعمارهم بين (1–60) سنة ، 24,16% من مرضى راقدين في المستشفى و75.83% مرضى غير راقدين في المستشفى .

شخصت العينات مبدئيا باستعمال فحص Widal test بوصفه طريقة تقليدية للتشخيص وكانت النسبة 75 موجبة و45 سالبة،حيث زرعت عينات الدم مباشرةً في قناني زرع الدم وبالطريقة التقليدية بزرع الدم في قناني تحوي على Brain heart infution broth (10ml) ، وزرعت النماذج المرضية على وسط أكار الماكونكيMacConky agar الصلب ووسط الدم Blood agar الصلب ووسط وسط SS agar الصلب الأساس على ووسط XLD ولوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات ،وأُجريت الفحوصات الجرثومية والكيموحيوية القياسية لتشخيص العزلات الجرثومية التي تضمنت فحص انزيمي الاوكسيديزو الكتاليز، تمَّ تحقيق و تأكيد التشخيص باستخدام فحص APi20E.

وأن الطرق السريعة للكشف عن هذه البكتريا هي طريقة أختبار ويدال (Widal test) وهي من الطرق الرخيصة وسهلة الاستعمال .(Willke وآخرون ,2001)

وأن التقنيات الأخرى التي يكون أساسها علم الإحياء الجزيئي (Molecular Biology) التي بضمنها PCR (Polymerase Chain Reaction) فقد أثبتت فعاليتها بكونها طريقة سريعة ونوعية وحساسة للكشف عن الأحياء المجهرية الحية (Microbiology) في النماذج السريرية المختلفة.(Zhou وPollard ,2010)

تمت دراسة الحمى التيفوئيدية في بلدنا بشكل كبير ولأغلب محافظات العراق وكذلك تم تناول المسبب المرضي من جوانب عديدة. اعتمدت الدراسة الحالية على دراسة مقارنة لطرق تشخيص المسبب المرضي (*Salmonella enteric* serovarTyphi) من خلال الزرع البكتيري والطرق السيرولوجية بالإضافة إلى الطرق الجزيئية (PCR)

ولذلك فقد تناولت الدراسة المحاور الاتية :

1. عزل وتشخيص السالمونيلا تايفي (*Salmonella typhi*).
2. تشخيص الإصابة باستخدام فحص الويدال (widal test).
3. تشخيص (*Salmonella typhi*) باستخدام تقنية PCR.
4. الكشف عن جين (fliC) لجرثومة (*Salmonella typhi*)
5. تقدير الحساسية والخصوصية (Sensitivity and specificity) للطرق التشخيصية المستخدمة.
6. التحري عن مقاومة هذه البكتريا لبعض مضادات الحياة