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

التحري عن بعض جينات السموم لبكتيريا *Escherichia coli* المسببة لإسهال الأطفال في منطقة بعقوبة

رسالة مقدَّمة إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة
من قبل الطالب :

إبراهيم محمَّد عيسى الدليمي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2015– 2016

بإشراف

أ.د. عباس عبود فرحان الدليمي **أ.د. هادي رحمن رشيد الطائي**

1440هـ **٢٠١٨ م**

1- المقدمة Introduction:

يعدُّ الإسهال الذي يصيب الأطفال من أهمِّ الأمراض الخطيرة والواسعة الانتشار في العالم ، لا سيما في الدول النامية (Christian واخرون ،2002) .يعرف الإسهال بأنهَّ زيادة في عدد مرات إفراز الأمعاء في اليوم الواحد، إذ يتحول البراز من شكله الطبيعي الى الشكل اللين (Benjamin وآخرون، 2007). و يعِّد عارضاً سريرياً لأنه يحدث خللاً في امتصاص الماء والأملاح مؤدياً الى حركة غير طبيعية للأمعاء تكون نتيجتها زيادة في عدد مرات التبرز الى ثلاث مرات أو أكثر في اليوم الواحد (WHO,2009) . كذلك يعدُّ الإسهال من الأسباب الرئيسية لموت الاطفال دون سن الخامسة من العمر ، وأشارت تقارير وزارة الصحة العراقية الى أنه يموت سنوياً حوالي 000 760 طفل دون سن ال(5) سنوات ، و سجَّلت وزارة الصحة في العراق أكثر من 212 حالة وفاة لأطفال مصابين بالإسهال وهم دون سن (5) سنوات (WHO،2013) . ، وهو يعدُّ ثالث مرض منتشر في آسيا والرابع في أفريقيا في أصابة الأطفال دون 5سنوات (Hershey وآخرون ،2011) ، توجد عدة مسببات للمرض منها البكتيرية والفطرية والفايروسية وتعدُّ المسببات البكتيرية وخاصة العصيات السالبة لصبغة كرام والعائدة للعائلة المعوية خاصة *E.coli* و*Shigella* من أهمَّ المسببات للأسهال في الأطفال (Sadeghabadi وآخرون،2014) .تكون الاصابة بالاسهال عند الأطفال الذين يعتمدون على الرضاعة الصناعية أكثر بكثير من الأطفال الذين يعتمدون الرضاعة الطبيعية، لما يوفرهُ حليب الأُم من حماية ضد المايكروبات (Tellez وآخرون 2004) . وتعدُّ بكتريا *E.coli المسبب الرئيسي* للأسهال ، إذ تمتلك القدرة على أنتاج الذيفان المعوي Enterotoxins بالنوعين الثابت للحرارة (Heat stable \ST) والحساس للحرارة (Heat laible\LT) اللذان يختلفان بالتركيب البروتيني . كما أنَّ لبعض سلالاتها القدرة على إنتاج ذيفان

ذي تـأثير سـام خلـوي (Cytotoxigenic) لذلك غالبا مـا يطلق عليها مصطلح (VTEC) (Shiga toxin –Producing *Ecoli* \ Verotoxin –Producing *E.coli* \ أو مصطلح STEC) (Christina وآخرون 2011 ; Qadri وآخرون، 2005) .

أهداف الدراسة

تهدف الدراسة إلى عزل بكتيريا *Escherichia coli* والتحري عن عوامل الضراوة لها، والكشف الجزيئي عن الجينات المنتجة للسموم ، و تحديد تسلسل القواعد النتروجينية لجين *STa* وقد اتبعت الخطوات التالية لإجراء البحث :

1. عزل بكتريا *Escherichia coli* من مرضى يعانون من الاصابة بالاسهال وتشخيصها باستخدام الطرق الكيموحيوية والجزيئية بالكشف عن جين 16S rRNA بواسطة تقنية تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة PCR .

2. الكشف عن مقاومة العزلات لبعض المضادات الحيوية ، وتحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) لبعض هذه المضادات.

3. دراسة عوامل الضراوة المختلفة التي تساعد بكتريا *E.coli* على إحداث الخمج .

4. الكشف عن جينات *stx1,stx2,sta,LT* المشفرة لأنتاج السموم باستخدام تقنية PCR .

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى الكشف عن الجينات المشفرة للسموم في بكتيريا *Escherichia coli* المسببة للإسهال لدى الأطفال الذين تراوحت أعمارهم أقل من شهر إلى (6) سنوات باستخدام تقنية تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة حيث اشتملت الدراسة على عزل بكتريا *E.coli* من عينات سريرية لأطفال مصابين بالإسهال ، وقد تمَّ الحصول على (30) عزلة من بكتريا *E. coli* من أطفال مصابين بالإسهال ومن كلا الجنسين في مستشفى البتول التعليمي وللمدة من 2017/10/1 لغاية 1 / 3 / 2018.

شُخِّصت البكتيريا بالاعتماد على الصفات الزرعية و المجهرية والفحوصات الكيموحيوية و التشخيص بجهاز الفايتك والتشخيص النهائي والدقيق للعزلات بواساطة 16S rRNA . بينت نتائج الدراسة أنَّ نسبة الإصابة بالإسهال كانت في الذكور هي 19 عزلة بنسبة (63 %) ، وفي الإناث 11 عزلة بنسبة (37%).

اختبرت حساسية جميع العزلات للمضادات الحيوية وفق طريقة Kerby Bauer، إذ أظهرت جميع العزلات مقاومة 100% لمضادي Ampicillin و Amoxicillin ، في حين كانت نسب المقاومة لمضادات Cefetraxon%80 ، Titracycllin%80 ، Piperacicllin%76.3 ، Ofloxacin%33 ، Gantamycin%33.3، Cefotaxim%36.7، Cefepim%70، ٢٦.٧% لمضادات Ceprofloxacin,Levofloxacin وكانت نسبة الحساسية ١٠٠% لمضادي Amikacin ، Impenem ، .

أظهرت عزلات بكتريا *E. coli* قابليتها على إنتاج عامل الضراوة الهيمولايسين، إذ كانت 17 عزلة منها (56.6%) منتجة لهذا العامل ، و إنتاج البكتيريوسين كانت 21 عزلة (70%) منتجة