وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

التوصيف الجزيئي لعزلات الاشريشيا القولونية متعددة المقاومة المعزولة من الأطفال العراقيين المصابين بالتهابات المجاري البولية

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من الطالبة

آيات مجيد زيدان الزهيري

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى 2008

بإشراف

أ. م. د علي جعفر سليم

1442هـ **2021 م**

1. المقدمة Introduction

تعد بكتريا الإشريشيا القولونية *Escherichia coli* سببا رئيسياُ لاصابات الجهاز البولي، وهي عبارة عن عصيات سالبة لصبغة كرام تصنف ضمن العائلة المعوية Enterobacteraceae لوجودها ضمن النبيت الطبيعي للأمعاء الغليظة (Jang واخرون , 2017). يمكن ان تسبب مجموعة واسعة من الامراض المعدية الحادة و المزمنة ، منها داخل الامعاء (كحالات الاسهال diarrhoea) اوخارج الامعاء مثل (التهاب المسالك البولية Urinary tract infection، تسمم الدم Septicemia ، ذات الرئة Pneumonia ، السحايا Meningitis) (Bolocan وأخرون , 2016).

تشكل نسبة الاصابة بالتهاب المجاري البولية بسبب الاشريشيا القولونية (90%) من مجموع الاصابات حول العالم حسب منظمة الصحة العالمية World Health Orgnization (Dhahi ,2020). تمتلك هذه البكتريا العديد من عوامل الضراوة virulence factors مما يجعلها خطراً على كبار السن والاطفال والاشخاص ضعيفي المناعة immune compromised patients اذ تعد السبب الرئيسي في التهابات المجاري البولية للرضع والاطفال ومن الضروري التركيز عليه في علم الامراض الاطفال الوبائية في البلدان النامية وغالبا ماتكون الاصابة في الجهاز البولي العلوي (Yun وأخرون , 2017; Loconsole وأخرون , 2020).

تعد بكتريا Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) من اكثر السلالات شيوعا في التهابات الجهاز البولي اذ تقدر نسبة الاصابات (50-90%) من مجموع الاصابات ، اذ تؤثر على حالة التعايش للبكتريا commensal status الطبيعية في الامعاء intestinal flora وبالاضافة للاستراتجيات وعوامل الضراوة المختلفة التي تمتلكها كونها مرتبطة باالمراضية الجهاز البولي يطلق عليها Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) (Shah وأخرون , 2019).

ان ظهور سلالات المقاومة المتعددة للمضادات Multidrug resistance (MDR) ضمن UPEC يؤدي الى زيادة خطر انتشار مقاومة المضادات ويجعلها مشكلة عالمية وتحدياُ للرعاية الصحية من خلال الحد من الخيارات المضادة للميكروبات التي يمكن استخدامها في علاج العدوى البكتيرية وانتشارها في البلدان النامية بسبب الاستخدام الخاطىء والعشوائي للمضادات في علاج UPEC مثل الامينوكلايكوسيدات aminoglycosides والفلوروكينولينات

fluoroquinolones وسيفالوسبورينات cephalosporins (Tabasi وأخرون , 2015; Homles, واخرون 2016; Marston , واخرون 2016; Kot وأخرون ,2019).

كما ان قابلية انتاجها للغشاء الحيوي Biofilm يزيد من مقاومة البكتريا للمضادات و يعتبر كآلية تساعد بكتريا *E. coli* على البقاء في ظروف غير ملائمة للنمو ، كما ان تكوين الغشاء الحيوي له دور مهم في حدوث المرض وسبب فشل العلاج ، لا سيما في بعض الإصابات المرتبطة بالأجهزة واستخدام القسطرة البولية Catheter مثل المرضى الذين يعانون من التهابات المسالك البولية على المدى الطويل (Poursina وأخرون, 2018).

من هنا جاءت الدراسة لتهدف الى

1- عزل وتشخيص الاشريشيا القولونية *E.coli* من أطفال عراقيين مصابين بالتهابات المجاري البولية Urinary tract infection الراقدين والمراجعين للمستشفيات العراقية وتحديد مقاومتها المتعددة مظهريا وجينيا .

2- إجراء اختبار فحص الحساسية Sensitivity test لمجاميع مختلفة من المضادات الحيوية وتحديد البكتريا ذات المقاومة المتعددة.

3- إجراء اختبار قابلية البكتريا *E.coli* على إنتاج الغشاء الحيوي biofilm .

4-الكشف الجيني عن جينات المقاومة (CITM و *tet*A و*tet*B و*sul*1 و *sul*2 و*sul*3) لدى البكتريا *E.coli* وتحليل تسلسل القواعد النتروجينة لهذه الجينات.

الخلاصة

تعد التهابات المجاري البولية من الامراض الشائعة، لكن في بعض الاحيان من الممكن ان تتعقد وتتطور الاصابة، ومن المحتمل ان تؤدي الى الوفاة . تعد بكتريا *Escherichia coli* السبب الاكثر شيوعا في اصابات المجاري البولية وبالاخص عند الرضع والاطفال. هدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بكتريا *E.coli* من الاطفال الراقدين في المستشفى دون سن 12 عام وتحديد المقاومة للمضادات بالاضافة الى الكشف الجيني عن بكتريا Uropathogenic *E.coli* وجينات المقاومة.

تم جمع 200 عينة ادرارللمدة من شهر تموز لغاية شهر كانون الاول 2020 من مستشفى الطفل المركزي في بغداد من الرضع والاطفال وزرعت على الاوساط الزرعية الاختيارية والتفريقية لغرض العزل الاولي لبكتريا *E.coli* ، واجريت الفحوصات والاختبارات الكيموحيوية وتم التشخيص التاكيدي بواسطة جهاز الفايتك، أجريت فحص الحساسية للمضادات ل25 مضاد حيوي بطريقة الاقراص والفايتك بالاضافة الى دراسة قابلية العزلات على انتاج الغشاء الحيوي بطريقة اطباق الكونغو الاحمر واطباق المعايرة بينما تم عزل الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين من البكتريا لغرض الكشف عن الجين التشخيصي *pap*E لبكتريا UPECوجينات المقاومة CITM و *tet*A و*tet*B و*sul*1 و*sul*2 و *sul*3 بواسطة جهاز تفاعل تسلسل البلمرة.

أظهرت النتائج ان نسبة (64%)62/40 من العزلات تعود لبكتريا *E.coli* (32 أناث و 8 ذكور)، وكانت العزلات ذات مقاومة متباينة للمضادات الحيوية ، اذ سجلت أعلى مقاومة لمضاد ampicillinوSulfamethoxazole و إقل نسبة مقاومة كانت لمضاد Tigecycline و اغلب عزلات بكتريا *E.coli* قيد الدراسة أبدت صفة تعدد المقاومة MDR حيث بلغت النسبة (77.5%) وعزلات UPEC بلغت (93%)، من ناحية اخرى اظهرت العزلات القابلية على تكوين الغشاء الحيوي بالطريقتين حيث بلغت النسبة بطريقة الكونغو الاحمر (57%) بينما نسبة (62.5%) كانت لها القابلية بطريقة اطباق المعايرة، بينما كانت عزلات UPEC المكونة للغشاء بطريقة الكونغو (55%) ونسبة (26.6%) بطريقة اطباق المعايرة.

وقد اظهرت نتائج الكشف عن جين التشخيصي *pap*E لبكتريا Uropathogenic *E.coli* ان نسبة (37.5%) كانت حاملة لهذا الجين بينما بلغت نسبة جينات المقاومة CITM و *tet*A و*tet*B و*sul*1 و *sul* 2 لبكتريا *E.coli* نسبة وجودها (5%) و(45%) و (12.5%)