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

خصائص المطثيات العسيرة الجرثومية والسمّية وعلاقتها بتناول المضادات الحيوية في مستشفى البتول التعليمي في مدينة بعقوبة

رسالة مقدمة الى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

رنا صلاح مهدي الزبيدي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ديالى 2009 - 2008

بإشراف

أ.د.
عباس عبود فرحان

أ.د.
عبد الرزاق شفيق حسن

1436هـ

2015 م

يَرْفَعِ اللهُ الّذِينَ آمَنوا مِنكُمْ وَالّذِينَ
أوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللهُ بِمَا
تَعْمَلُونَ خَبَيرٌ *

صَدَقَ اللهُ العظيم

سورة المجادلة (الآية 11)

الإهداء ...

لِوجهكَ اللهمَّ خالصاً .. أهدي عملي قاصدةً نيلَ رضوانكَ .. سائلةً إيّاك القبول الحسن . .

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين محمد (صلى الله عليه وسلم) . .

إلى قرة عيني وينبوع الحنان . . إلى من ساندتني وبدعائها سهل الله أمري . .

والدتي العزيزة

إلى من علمني العطاء بدون انتظار . . إلى مثلي الأعلى وسندي في الحياة . .

والدي العزيز

إلى ملامح الطفولة وبسمة الأيام . . إلى من أشد بهم أزري في الحياة . .

أخواتي مهاد وزينب

إلى الشموع المحترقة ومناهل العلم . . إلى المصابيح المضيئة في طرقات الجهل . .

أساتذتي الأفاضل

إلى رفاق الدرب وبناة المستقبل . . إلى محبي علوم الحياة . .

زميلاتي وزملائي الأعزاء

إلى وطني الجريح . . إلى أرواح الأبرياء من أبناءه .. و إلى كل قطرة دم سالت على أرض الوطن . .

وإلى كل من يبحث عن المعرفة في سطور هذه الوريقات .. أهدي ثمرة هذه الدراسة..

رنا ...

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين وأفضل الصلاة وأتم التسليم على خير خلقه ورسوله الأمين محمد بن عبد الله (صلى الله عليه وسلم) وعلى آله وصحبه ومن والاه ...

جدير بي وأنا أنهي كتابة رسالتي أن أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى أستاذيّ الفاضلين **((الدكتور عباس عبود فرحان الدليمي و الدكتور عبد الرزاق شفيق حسن الجميلي))** لاقتراحهما موضوع البحث ومتابعتهما المتواصلة وتوجيهاتهما السديدة لي طوال مدة البحث داعيةً الله عزّ وجلّ أن يوفقهما لما يحبه ويرضاه . كما أتقدم بشكري وتقديري الوافرين إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة من أساتذة وتدريسيين وكذلك مختبر الأحياء المجهرية وأخص بالذكر الأستاذ الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا لما قدموه لي من العون والمساعدة .

كما أتوجه بشكري وتقديري إلى إدارة ومنتسبي مستشفى البتول للولادة والأطفال ومستشفى بعقوبة العام وخاصة الوحدات المختبرية لما قدموه لي من العون والمساعدة .

شكري وعظيم امتناني لعائلتي لدعمهم وتشجيعهم المتواصل ولتحملهم العناء من أجل إكمال هذا البحث داعية الله سبحانه وتعالى أن يمدهم بالصحة والعافية جزآهم الله عني خير الجزاء .

ومن جانب العرفان والوفاء الأخوي لا يسعني إلا أن أقدم شكري لزملائي رفاق رحلة العلم طلبة الدراسات العليا وأخص بالذكر منهم لقاء محمد وشهد نزار ولارة محمود وعبد الستار عبد الجبار وسيف علي وادريس صالح، وكذلك الأخ مصطفى سعد عبد الرحمن داعية الله تعالى أن يمن عليهم بدوام النجاح والتوفيق .. وإلى كل من مدّ لي يد العون ولو بكلمة أشعلت في طريقي نور الأمل لإتمام هذه الرسالة .. ولمن لم يحضرني اسمه ، أو سها عنه قلمي ، فله مني جزيل الشكر ، وفق الله الجميع لما يحبه ويرضاه .

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مستشفى البتول للولادة والأطفال في مدينة بعقوبة مركز محافظة ديالى للفترة من 1-12-2013 ولغاية 30-1-2015 ، بهدف عزل جرثومة *Clostridium difficile* وتشخيصها والكشف عن ذيفاناتها في عينات براز الأطفال الذين يعانون من الإسهال المرتبط بتناول المضادات الحياتية Antibiotic associated diarrhea (AAD) والراقدين في المستشفى لأسباب مرضية لا تتعلق بالإسهال ولمدة تراوحت بين 1-5 يوم ، ومعرفة مدى انتشار هذه الجرثومة لدى مرضى المستشفيات ومعرفة توزيعها بحسب أجناس المرضى وأعمارهم آخذين بنظر الاعتبار أيضاً نوع الرضاعة وطبيعة السكن لهؤلاء المرضى .

شملت الدراسة مجموعتين من الأطفال من مختلف أقضية المحافظة ونواحيها وقراها ، تكونت المجموعة الأولى من 60 عينة من براز أطفال يعانون من الإسهال الناتج عن تناول المضادات الحياتية ، إناثاً وذكوراً تراوحت أعمارهم بين 15 يوماً – 4 سنوات ، وتكونت المجموعة الثانية من 20 عينة براز لأطفال أصحاء كمجموعة ضابطة ، تراوحت أعمارهم بين 50 يوماً – 4 سنوات ، ذكوراً وإناثاً أيضاً ، جمعت العينات في حاويات بلاستيكية نبيذة وتم إجراء الزرع الجرثومي لها وبعدها حفظت في درجة حرارة -20م لحين إجراء الاختبارات الأخرى عليها والتي تضمنت الكشف عن الذيفانات A و B والكشف عن أنزيم Glutamate dehydrogenase (GDH) .

بينت نتائج الدراسة إن نسبة العزل الجرثومي لجرثومة *C. difficile* من فئة الأطفال المرضى كانت 11.7% ، وبلغت 5% من فئة الأطفال من المجموعة الضابطة ، أما نتائج الكشف عن الذيفانات فقد أظهرت أن نسبة هذه الذيفانات في عينات براز المرضى كانت 23.3%، بلغت نسبة الذيفانين A وB معاً 64.3% ، وبلغت نسبة الذيفان A لوحده 35.7% من مجموع النتائج الموجبة الكلية للذيفانات ، في حين لم نحصل على أية نسبة للذيفان B لوحده ،

وأوضحت نتائج اختبار الكشف عن أنزيم GDH أن نسبته كانت 38.3% في فئة الأطفال المرضى، و15% في فئة الأطفال من المجموعة الضابطة .

يتضح من نتائج هذه الدراسة دور جرثومة *C. difficile* في إحداث حالات الإسهال بعد تناول المضادات الحياتية وخاصة مجموعة السيفالوسبورينات Cephalosporins ، إذ شكلت نسبة تناول مضادات هذه المجموعة من قبل المرضى 76.6% ، وكما يتضح من النتائج أيضاً بأن نسب الإصابة بالإسهال كانت لدى فئة الأطفال بأعمار أقل من سنة أكثر من نسبتها لدى الأطفال بعمر من سنة فما فوق ، إذ شكلت الفئة الأولى نسبة 88.3% من مجموع المرضى .

قائمة المحتويات

تسلسل الفقرة	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	III
	قائمة الجداول	IX
	قائمة المختصرات	XII
	الفصل الأول : المقدمة	
1-1	المقدمة	1
2-1	أهداف الدراسة	4
	الفصل الثاني : استعراض المراجع	
1-2	جرثومة *Clostridium difficile*	5
1-1-2	الوصف التاريخي Historical description	5
2-1-2	تصنيف الجرثومة Bacterial classification	5
2-2	الموطن Habitate	6
3-2	الصفات المجهرية والمزرعية Microscopical and Cultural characteristics	7
4-2	الخصائص الكيموحيوية Biochemical characteristics	8
5-2	انتقال الجرثومة Transmission of the bacterium	9
6-2	الإمراضية Pathogenicity	9
1-6-2	الإسهال المرتبط بجرثومة *C. difficile* *C. difficile* Associated Disease (CDAD)	10
2-6-2	التهاب القولون الغشائي الكاذب Pseudomembranous colitis (PMC)	11
7-2	الفسلجية الإمراضية Pathophysiology	12
8-2	عوامل الضراوة Virulence factors	14
1-8-2	عوامل الضراوة المرتبطة بالخلية Cell associated virulence factors	14
2-8-2	الذيفانات A و B A and B Toxins	15

9-2	تكوين الأبواغ Spore production	17
10-2	التشخيص Diagnosis	18
1-10-2	التشخيص السريري Clinical diagnosis	18
2-10-2	التشخيص المختبري Laboratory diagnosis	19
1-2-10-2	الزرع الجرثومي Bacterial culture	19
2-2-10-2	اختبار تلازن اللاتكس Latex agglutination test	20
3-2-10-2	التقنية المناعية الانزيمية Enzyme Immunoassay EIA	21
4-2-10-2	التقنية الانزيمية المرتبطة بالمقايسة المناعية Enzyme-Linked Immunosorbant Assay (ELISA)	21
5-2-10-2	تفاعل البلمرة التسلسلي Polymerase chain reaction PCR	22
11-2	المضادات الحياتية Antibiotics	23
1-11-2	تعريف المضادات الحياتية Antibiotics definition	23
2-11-2	مقاومة الأحياء المجهرية للمضادات الحياتية Antimicrobial resistance	24
3-11-2	سوء استخدام المضادات الحياتية Misuse of antibiotics	25
4-11-2	المضادات المرتبطة بحالات الإصابة بجرثومة *C. difficile*	26
12-2	الاستجابة المناعية Immune response	28
1-12-2	الاستجابة المناعية الطبيعية Innate immune responses	28
2-12-2	الاستجابة المناعية المكتسبة Adaptive immune Response	29
13-2	الوبائية Epidemiology	30
1-13-2	انتشار جرثومة *C. difficile* في العراق	32
	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل	
1-3	المواد Materials	34
1-1-3	الأجهزة المختبرية Appartus	34
2-1-3	المستلزمات المختبرية Appliances	34

3-1-3	الأوساط الزرعية Culture media	35
4-1-3	المواد الكيميائية والبيولوجية Biological and chemical materials	36
5-1-3	العدد التشخيصية المختبرية Laboratory Diagnostic Kits	36
7-1-3	مواد متفرقة Other materials	37
2-3	طرائق العمل	37
1-2-3	جمع العينات المرضية Samples collection	37
2-2-3	تحضير الأوساط الزرعية Culture media preparation	37
1-2-2-3	وسط آكار الدم كولومبيا Columbia blood agar	37
2-2-2-3	وسط أكار Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC)	37
3-2-2-3	وسط اختبار تميع الجيلاتين Gelatin liquefaction test	38
3-2-3	الكواشف والمحاليل Indicators and solutions	38
1-3-2-3	الكواشف Indicators	38
أ	صبغة كرام Gram's stain	38
ب	كاشف الكاتاليز Catalase reagent	39
2-3-2-3	المحاليل Solutions	39
أ	محلول الريسازورين Resazurin solution	39
ب	مستحلب صفار البيض Egg yolk emulsion	39
4-2-3	زرع العينات Samples culture	39
5-2-3	تشخيص العزلات الجرثومية Identification of bacterial isolates	40
1-5-2-3	التشخيص المظهري Morphological characterization	40
2-5-3	التشخيص المجهري Microscopical characterization	40
3-5-3	الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests	40
1-3-5-3	اختبار أنزيم الكاتاليز Catalase test	40
2-3-5-3	اختبار تميع الجيلاتين Gelatin liquification test	41
3-3-5-3	اختبار إنتاج أنزيم الليسيثينيز Licethinase production	41
6-2-3	الكشف المباشر عن أنزيم GDH في عينات البراز	42

	Direct diagnosis of GDH enzyme in stool samples	
1-6-2-3	مبدأ عمل الاختبار Test principle	41
2-6-2-3	طريقة عمل الاختبار Test procedure	43
أ	تحضير العينات Samples preparation	43
ب	إجراء الاختبار Test procedure	44
3-6-2-3	قراءة النتائج وتحليلها Reading and interpretation of results	44
7-2-3	الكشف المباشر عن ذيفانات A و B في عينات البراز Direct diagnosis of A and B toxins in stool samples	45
1-7-2-3	مبدأ عمل الاختبار Test principle	44
2-7-2-3	طريقة عمل الاختبار Test procedure	46
أ	تحضير العينات Samples preparation	46
ب	إجراء الاختبار Test procedure	46
3-7-2-3	قراءة النتائج وتحليلها Reading and interpretation the results	47
3-3	التحليل الإحصائي	47
	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	
1-4	عزل جرثومة *C. difficile* وتشخيصها	48
1-1-4	عزل الجرثومة Bacterial isolation	48
2-1-4	تشخيص الجرثومة Bacterial identification	49
1-2-1-4	الصفات المجهرية Microscopical characteristics	49
2-2-1-4	الصفات المزرعية Cultural characteristics	49
3-2-1-4	الصفات الكيموحيوية Biochemical characteristics	50
3-1-4	علاقة نسبة العزلات الجرثومية مع متغيرات الدراسة	50
1-3-1-4	علاقة نسبة العزلات الجرثومية مع الفئات العمرية للأطفال قيد الدراسة	50
2-3-1-4	علاقة نسبة العزلات الجرثومية مع أجناس الأطفال قيد الدراسة	52
3-3-1-4	علاقة نسبة العزلات الجرثومية مع نوع الرضاعة للأطفال	53

	قيد الدراسة	
3-3-1-4	علاقة نسبة العزلات الجرثومية مع مكان السكن للأطفال قيد الدراسة	54
2-4	الكشف عن الذيفانات A و B Detection of A and B toxins	56
1-2-4	علاقة نسبة الذيفانات A و B مع متغيرات الدراسة	58
1-1-2-4	علاقة نسبة الذيفانات مع الفئات العمرية للأطفال قيد الدراسة	58
2-1-2-4	علاقة نسبة الذيفانات مع أجناس الأطفال قيد الدراسة	59
3-1-2-4	علاقة نسبة الذيفانات مع نوع الرضاعة للأطفال قيد الدراسة	60
4-1-2-4	علاقة نسبة الذيفانات مع مكان السكن للأطفال قيد الدراسة	62
3-4	الكشف عن أنزيم Glutamate dehydrogenase GDH Detection of GDH enzyme	63
1-3-4	علاقة نسبة أنزيم GDH مع متغيرات الدراسة	65
1-1-3-4	علاقة نسبة أنزيم GDH مع الفئات العمرية للأطفال قيد الدراسة	65
2-1-3-4	علاقة نسبة أنزيم GDH مع أجناس الأطفال قيد الدراسة	65
3-1-3-4	علاقة نسبة أنزيم GDH مع نوع الرضاعة للأطفال قيد الدراسة	66
4-1-3-4	علاقة نسبة أنزيم GDH مع مكان السكن للأطفال قيد الدراسة	67
	الاستنتاجات والتوصيات	
	الاستنتاجات	73
	التوصيات	74
	الملاحق	
	ملحق رقم -1-	75
	المصادر	
	المصادر العربية	76
	المصادر الأجنبية	78
	الخلاصة باللغة الانكليزية	
	العنوان باللغة الانكليزية	

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1-3	الأجهزة المختبرية المستخدمة	34
2-3	المستلزمات المختبرية المستخدمة	35
3-3	الأوساط الزرعية المستخدمة	36
4-3	المواد الكيمياية والبيولوجية المستخدمة	36
5-3	العدد التشخيصية المختبرية المستخدمة	37
1-4	أعداد عينات البراز والنسب المئوية لعزلات جرثومة *C. difficile* المعزولة منها أثناء فترة الدراسة	48
2-4	أعداد ونسب عزلات جرثومة *C. difficile* لدى المرضى والمجموعة الضابطة	49
3-4	أعداد ونسب عزلات جرثومة *C. difficile* من المجموع الكلي للعزلات حسب الفئات العمرية للمرضى والمجموعة الضابطة	51
4-4	أعداد ونسب عزلات جرثومة *C. difficile* من المجموع الكلي للعزلات حسب أجناس الأطفال المرضى والمجموعة الضابطة	52
5-4	أعداد ونسب عزلات جرثومة *C. difficile* من المجموع الكلي للعزلات لدى المرضى والمجموعة الضابطة حسب نوع الرضاعة	53
6-4	أعداد ونسب عزلات جرثومة *C. difficile* من المجموع الكلي للعزلات لدى المرضى والمجموعة الضابطة حسب مكان السكن	55
7-4	أعداد ونسب العينات الموجبة والسالبة لنتائج الذيفانات من المجموع الكلي للعينات	56
8-4	الأعداد الموجبة للذيفانات A و B و A+B معاً ونسبتها من مجموع الحالات الموجبة	57
9-4	أعداد ونسب الذيفانات من مجموع الحالات الموجبة حسب الفئات العمرية للمرضى والمجموعة الضابطة	58
10-4	أعداد ونسب الذيفانات من مجموع الحالات الموجبة بين	60

	أجناس الأطفال المرضى والمجموعة الضابطة	
11-4	أعداد ونسب الذيفانات من مجموع الحالات الموجبة بحسب نوع الرضاعة للمرضى والمجموعة الضابطة	61
12-4	أعداد ونسب الذيفانات من مجموع الحالات الموجبة حسب مكان السكن للمرضى والمجموعة الضابطة	62
13-4	أعداد ونسب العينات الموجبة والسالبة لأنزيم GDH من المجموع الكلي للعينات	64
14-4	أعداد ونسب أنزيم GDH من مجموع الحالات الموجبة للمرضى والمجموعة الضابطة	64
15-4	أعداد ونسب أنزيم GDH من مجموع الحالات الموجبة بحسب الفئات العمرية للمرضى والمجموعة الضابطة	65
16-4	أعداد ونسب أنزيم GDH من مجموع الحالات الموجبة موزعة حسب أجناس المرضى والمجموعة الضابطة	66
17-4	أعداد ونسب أنزيم GDH من مجموع الحالات الموجبة بحسب نوع الرضاعة للمرضى والمجموعة الضابطة	67
18-4	أعداد ونسب أنزيم GDH من مجموع الحالات الموجبة اعتماداً على نوع السكن للمرضى والمجموعة الضابطة	68
19-4	مقارنة عامة للنتائج الإيجابية للذيفانات A و B وأنزيم GDH بين مجموعتي المرضى والمجموعة الضابطة	69
20-4	علاقة النتائج الإيجابية للذيفانات A و B مع النتائج الإيجابية للزرع الجرثومي	70
21-4	علاقة النتائج الإيجابية لأنزيم GDH مع النتائج الإيجابية للزرع الجرثومي	70
22-4	علاقة النتائج الإيجابية للذيفانات A و B وأنزيم GDH معاً مع النتائج الإيجابية للزرع الجرثومي	70
23-4	أنواع المضادات التي تناولها المرضى في هذه الدراسة ونسب هذه المضادات	71

قائمة المختصرات

Abbreviation	Key
AAD	Antibiotic – Associated Diarrhea
IL-1β	Beta Interleukin 1
β-lactamase	Beta Lactamase
CCEYL	Cefoxitin Cycloserine Egg Yolk Agar Lysozyme
Cwp66	Clostridial Wall Protein of 66 kDa
C. difficile	*Clostridium difficile*
CDAD	*Clostridium difficile* Associated Diarrhea
CDI	*Clostridium difficile* Infection
CDT	*Clostridium difficile* Transferase
CdtLoc	*Clostridium difficile* Transferase Locus
CCEY	Cycloserine-Cefoxitin Egg Yolk Agar
CCFA	Cycloserine-Cefoxitin-Fructose and Yolk Agar
DNA	Deoxy Ribo Nucleic Acid
DPA	Dipicolinic Acid
EIA	Enzyme Immunoassay
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbant Assy
ermB	Erythromycin resistance methylase
GDH	Glutamate Dehydrogenase
HMOs	Human Milk Oligosaccharides
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
INF-γ	Interferon γ

IL-12	Interleukin 12
IL-18	Interleukin 18
IL-8	Interleukin 8
MLS_B	Macrolides – Lincosamide – Streptogramin B
PaLoc	Pathogenicity Locus
PMC	Pseudomembranous Colitis
SASPs	Small Acid Soluble Proteins
TSC	Tryptose sulfite cycloserine
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α
WBC	White Blood Cells
WHO	World Health Organization

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة

1-1 : المقدمة : Introduction

يدل الإسهال عادة على حدوث اضطراب في الجهاز الهضمي ويعرف على أنه حالة من حالات التفريغ المعوي المتكرر للبراز المائي ثلاث مرات على الأقل خلال فترة 24 ساعة بحسب تعريف منظمة الصحة العالمية WHO (Thapar and Sanderson , 2004) . تسهم حالات تكرار الإسهال بوفاة ما يقارب 4.6 – 6 مليون طفل سنوياً في آسيا ، أفريقيا وأمريكا الجنوبية ، إذ أشارت التقديرات حول البلدان الفقيرة في هذه القارات إلى أن كل طفل يعاني ما يصل إلى 15 – 19 إصابة بالإسهال سنوياً (Ogbu *et al.*, 2007) . تعد إحدى حالات الإسهال المعروفة والمنتشرة على المستوى العالمي هي الإسهال الناتج عن تناول المضادات الحياتية ، وتعد جرثومة *Clostridium difficile* هي أحد العوامل المسببة للإسهال المرتبط بتناول المضادات الحياتية (Antibiotic-associated diarrhea AAD) والتهاب القولون الغشائي الكاذب Pseudomembranous colitis (PMC) (Be'langer *et al.*, 2003) . في دراسة أجريت على 482 مستشفى في دول أوروبية مختلفة أشير إلى أن خمسي المستشفيات فقط تتبع الطرائق المثالية لتشخيص الجرثومة والكشف عنها ، كما أن هناك 74 حالة من حالات الإصابة اليومية بالجرثومة أي ما يعادل 23 % منها لا يتم تشخيصها بالشكل الصحيح ، أي أن هذه 74 حالة اليومية قد أعطت نتائج سالبة في التشخيص الروتيني لها فيما أعطت نتائج موجبة عند تشخيصها اعتماداً على الطرائق الحديثة التي تستخدمها بعض المستشفيات الأوروبية الأخرى (Davies *et al.*, 2014) . بلغت نسبة عزل الجرثومة من مرضى المستشفيات 22.3 % في مدينة سول في كوريا الجنوبية وأن 23.7 % من السلالات المعزولة هي سلالات غير منتجة للذيفانات Non toxigenic

وأشارت الدراسة إلى هناك 71.6 إصابة لكل 100000 مريض في مستشفيات المدينة (Kim *et al*., 2013).

يمكن لهذه الجرثومة أن تنتقل عن طريق التماس المباشر بين المرضى والأشخاص الأصحاء أو من خلال السطوح والأدوات الملوثة (Kuntz , 2010) . تحدث الإصابة بهذه الجرثومة عند دخول الأبواغ إلى داخل القناة المعوية ، إذ تبدأ بتكوين خلاياها الخضرية القادرة على إنتاج الذيفانات الجرثومية المسببة للمرض (Edwards *et al*., 2013) . تكون هذه الذيفانات عبارة عن عديدات ببتيد Polypeptide كبيرة الحجم تمتلك تركيباً متماثلاً بنسبة 45 % ، تتحرر من الخلية الخضرية في أثناء أطوار متأخرة من النمو وربما تتحرر عند وصول الخلية إلى مرحلة التحلل ويعمل النوعان من الذيفانات كلاهما على تعطيل أو عرقلة عمل بعض البروتينات التي تدخل في تركيب خيوط الأكتين في السايتوبلازم Actin cytoskeleton ، إذ يعمل الذيفان A على تطويق الخلية المضيف وخلخلة الترابط والتنظيم داخل الخلوي Disruption of intercellular tight junction وتكون محصلة فعالية الذيفان A ذات تأثير سمي داخلي وإحداث الالتهاب ، أما الذيفان B فهو يفتقر للخصائص الذيفانية الداخلية ولكنه يمتلك فعالية سمية أعلى من الذيفان A بما يقارب 10 مرات ، يظهر عمل الذيفانات في النهاية على أنه عمل تآزري وتعاوني لإحداث الإمراضية (Champoux *et al*., 2004) . إن الزيادة في نسب الإصابة بهذه الجرثومة قد تكون مرتبطة بظهور سلالة جديدة منها تمتلك عوامل ضراوة شديدة أو مقاومة عالية أو كليهما (McDonald *et al*. , 2005) .

1- 2 : أهداف الدراسة : Aims of the study

1- عزل جرثومة *Clostridium difficile* من المرضى المصابين بالإسهال المرتبط بتناول المضادات الحياتية Antibiotic-associated diarrhea وذلك بتنميتها على الأوساط الزرعية الاختيارية وإجراء الفحوصات الكيموحيوية اللازمة عليها .

2- الكشف عن أنزيم Glutamate dehydrogenase GDH في عينات البراز باستخدام تقنية Enzyme Immuno-sorbant Assay (ELISA) .

3- الكشف عن ذيفانات *Clostridium difficile* A و B في عينات البراز باستخدام تقنية Enzyme Immuno-sorbant Assay (ELISA) .