جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى – كلية التربية للعلوم الصرفة

# دراسة بكتريولوجية ووراثية على بكتريا *Campylobacter* spp المعزولة محلياً

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

الاحياء المجهرية

من قبل الطالبة

نور منعم فاضل الشمري

بأشراف

أ. د. عدنان نعمة عبد الرضا

1438هـ 2017 م

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيمِ

﴿ وَإِنَّ لَكُمْ فِي الأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُّسْقِيكُم مِّمَّا فِي بُطُونِهِ مِن بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَّبَنًا خَالِصًا سَآئِغًا لِلشَّارِبِينَ ﴾

صدقَ اللهُ العَظِيمِ

(سورة النحل- الآية 65 - 66)

# إقرار المشرف

أشهد أن أعداد هذه الرسالة الموسومة (دراسة بكتريولوجية ووراثية على بكتريا *Campylobacter spp* المعزولة محلياً) التي قدمتها طالبة ماجستير ( نور منعم فاضل الشمري ) . قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الاحياء المجهرية .

التوقيع:

المشرف : أ.د.عدنان نعمة عبد الرضا

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2017 م

**توصية رئيس قسم علوم الحياة**

**بناء على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة**

التوقيع :

أ. م . د. عمار احمد سلطان

رئيس لجنة الدراسات العليا – رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ : / / 2017م

**بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيم**

## أقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة ب( دراسة بكتريولوجية ووراثية على بكتريا *Campylobacter* spp المعزولة محليا) التي قدمتها طالبة الماجستير ( نور منعم فاضل الشمري ) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

**التوقيع:**

**الاسم : أ.م.د. هادي رحمن رشيد**

**اللقب العلمي : أستاذ مساعد دكتور**

**التاريخ : / / 2017م**

**بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيم**

## أقرارالمقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة ب( دراسة بكتريولوجية ووراثية على بكتريا *Campylobacter spp* المعزولة محلياً ) التي قدمتها طالبة ماجستير ( نور منعم فاضل الشمري) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم : م.د. زينب محمد صالح

اللقب العلمي : مدرس دكتور

التاريخ : / / 2017م

## إقرار لجنة المناقشة على رسالة

نشهد ونؤيد بأننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة ووجدنا أنها جديرة بالقبول لنيل شهادة ماجستير علوم الحياة – الاحياء المجهرية .

لذا نوصي بقبول الرسالة

**رئيس لجنة المناقشة**

**التوقيع :**

**الاسم : أ.د. عباس عبود فرحان**

**اللقب العملي : أستاذ دكتور**

**التاريخ : / / 2017 م**

**عضو اللجنة**

**التوقيع :**

**الاسم : أ.د. حميد مجيد جاسم**

**اللقب العلمي : أستاذ دكتور**

**التاريخ : / / 2017 م**

**عضو اللجنة**

**التوقيع :**

**الاسم : أ. د. ناظم غزال نعمان**

**اللقب العلمي : أستاذ دكتور**

**التاريخ : / / 2017 م**

**عضو اللجنة ( المشرف )**

**التوقيع :**

**الاسم : أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا**

**اللقب العلمي : أستاذ دكتور**

**التاريخ : / / 2017 م**

## مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:
الاسم :أ.م د. غالب أدريس عطية
اللقب العلمي: أستاذ مساعد دكتور
التاريخ : / / 2017 م

**الاهداء ...**

- **الى سيد الخلق ... نبينا محمد ﷺ .**
- **الى شهداء العراق على طول الزمن ...**
- **الى من أحمل اسمه بكل فخر ... والدي العزيز .**
- **الى ينبوع الصبر والأمل .. التي تتحملني دائماً بين يديها دعاء متصل الى.. السماء .. والدتي الغالية .**
- **الى من تذوقت معهم أجمل اللحظات وعلموني علم الحياة .. أخواتي .**
- **الى من مهد الطريق أمامي للوصول الى العلم والمعرفة أساتذتي الأفاضل.**
- **الى كل من مد يد المساعدة لي ...**
- **أهدي ثمرة جهدي المتواضع .**

**نور منعم**

# شكر وتقدير

الهي لا يطيب النهار إلآ بطاعتك .. ولا يطيب الليل ألا بشكرك .. ولا تطيب اللحظات إلآ بذكرك .. ولا تطيب الآخرة إلآ بعفوك .. الله جل جلالك .. أشكرك وأحمدك حمداً كثيراً . وآخر دعونا ان الحمد لله رب العالمين والصلاة على أشرف المرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه أجمعين. لابد لي وانا اشرف على انهاء رسالتي أن اتقدم بأسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة لاصحاب المعروف ، فأني أتقدم بالشكر الجزيل لكل من ساهم في انجاح هذه الرسالة وأخص بالذكر استاذي ومشرفي الفاضل الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا على قبوله الاشراف ، ومتابعته لعملي منذ خطواته الاولىُ وعلى ما منحني اياه من نصح وإرشاد ساهم في اخراج هذا العمل بهذه الصورة . كما أتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة المتمثلة بالأستاذ المساعد (الدكتور غالب ادريس عطية ) ، ورئاسة قسم علوم الحياة ومنتسبيهِ، لما قدموه لي من العون والمساعدة طيلة فترة الدراسة . وأتقدم بخالص الشكر الى من قدم لي المساعدات، والتسهيلات ،والافكار، والمعلومات، وأخص بالذكر كلاً من ( الدكتور زياد السدرة ) و( ادريس صالح جليل ) . كذلك أتقدم بالشكر إلى كل من قدم لي العون والمساعدة زملائي طلبة الدراسات العليا وجميع المنتسبين في مختبر الأحياء المجهرية داعيةً من الله لهم بدوام النجاح والموفقية. واشكر جزيل الشكر منتسبي المختبرات في مستشفى البتول التعليمي للولادة والأطفال لتعاونهم معي خلال فترة جمع العينات وفقهم الله لكل خير . واقدم شكري وامتناني الى من غمروني بفيض محبتهم ، ودوام دعائهم فكانوا لي خير عونٍ وسندٍ لاكمال دراستي ..... عائلتي .

ألتمس عذراً ممن فاتني أنّ اشكرهم ..

وفق الله الجميع لما فيه خير الدنيا والآخرة ..

**نور**

# الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة في مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة ، إذ جمعت (123) عينة من مصادر متنوعة والتي شملت (30) عينة من الحليب الخام ،(30)عينة من الجبن الأبيض المحلي ،(30)عينة من القشطة المحلية " قيمر العرب " ، من الأسواق المحلية في قضاء بعقوبة للفترة من ( 1-11- 2015 ولغاية 28 -2- 2016) ، و(33) عينة من براز أطفال مصابين بالإسهال ( مائي – مخاطي – دموي ) تتراوح أعمارهم بين ( 3 اشهر – 5 سنوات ) من مستشفى البتول للولادة و الأطفال، إذ أظهرت النتائج أنّ (33) عينة ، وبنسبة ( 26.82%) نمواً سالباً للزرع البكتيري ، و(90) عينة بنسبة (73.17%) نمواً موجباً للزرع البكتيري . درست الخصائص المظهرية والصفات الكيموحيوية للعزلات البكتيرية ، وقد اشارت نتائج التشخيص الى أنّ (65) عزلة منها، وبنسبة (52.84%) من المجموع الكلي للعزلات كانت تعود لجنس بكتريا *Campylobacter* ، أذ وصلت نسبة البكتريا المعزولة من الحليب الخام (15)عينة ، وبنسبة (50%) ومن الجبن المحلي( 7) عينات وبنسبة (23.33%) بينما من القشطة المحلية( 8)عينات وبنسبة (26.66%). كانت نسبة البكتريا المعزولة من عينات البراز ذي القوام الدموي(3) عينة وبنسبة 9.90%)،أما من عينات القوام المخاطي (10) عينة وبنسبة (30.30%)، ومن عينات ذات القوام المائي (20)عينة وبنسبة (60.60%) . وقد تم تشخيص البكتريا من خلال الفحص المجهري الذي اظهر سالبيتها وايجابيتها لصبغة كرام، كانت نسبة البكتريا السالبة لصبغة كرام (90.90%) بينما كانت نسبة البكتريا الموجبة لصبغة كرام (9.90%) .

تم أجراء الفحوصات الكيموحيوية والفسيولوجية أذ كانت العزلات موجبة لفحص الاوكسيديز– الكاتاليز– اختبار اليوريز– تحلل الهيبوريت – إختبار النمو على درجات حرارة (37 م° و 42م° ) وكذلك تحملها للملوحة بتركيز( 1.5% و3.5%) وكانت العزلات حساسة للمضاد الحيوي Nalidixic acid ومقاومة للمضاد الحيوي Cephalothin .

تم استخلاص الدنا الكلي للعزلات البكتيرية لبكتريا *Campylobacter*(12) عزلة باستعمال عدة استخلاص (Mini DNA Bacteria Kit) المجهز من قبل شركة Bioneer أذ كانت نقاوة الدنا المستخلص تتراوح ما بين (2– 1.8 ) لجميع العينات المختارة . اجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ( Polymerase Chain Reaction)، من خلال استعمال عدة البوادئ المتخصصة التي تستهدف التسلسل النوعي لجين *Cadf* ذي الوزن الجزيئي 400 زوج قاعدي . ورحلت نواتج التضاعف على هلام الأكاروز بتركيز 1% ولوحظ ظهور حزمة واحدة في جميع المسارات في الهلام بالمستوى نفسه بالنسبة للجين. بينت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وباستعمال بادئ متخصص لهذا الجين أنّ من بين (12) عزلة كانت (7) عزلات تحتوي على هذا الجين وبنسبة (58,33%) وبنفس الوزن الجزيئي 400 زوج قاعدي ، في حين كانت العزلات المتبقية (5) لا تحتوي على هذا الجين وبنسبة (41.66%).

# المحتويات


| التسلسل | الموضوع | الصفحة |
|---|---|---|
| | المحتويات | IV |
| | المختصرات | X |
| | قائمة الأشكال | XI |
| | قائمة الصور | XI |
| | قائمة الجداول | XII |
| **الفصل الأول** | **الفصل الأول –المقدمة** | 1 |
| الفصل الثاني | **الفصل الثاني – استعراض المراجع** | 4 |
| 1-2 | نبذة تاريخية عن بكتريا *Campylobacter* | 4 |
| 2-2 | الصفات العامة لبكتريا *Campylobacter* | 5 |
| 3-2 | تصنيف بكتريا *Campylobacter* | 6 |
| 4-2 | أنواع بكتريا *Campylobacter* | 8 |
| 5-2 | الأنواع التي تصيب الإنسان | 8 |
| 1 | ***C.jejuni* subsp *jejuni*** | 8 |
| 2 | ***C.coli*** | 9 |
| 3 | **C.*jejuni* subsp. *Doylei* .** | 9 |
| 4 | ***C.lari*** | 10 |
| 5 | ***C.helveticus*** | 10 |
| 6 | ***C.upsaliensis*** | 11 |
| 7 | ***C*.jejuni** | 11 |
| 8 | ***C. hyointestinalis*** | 11 |
| 6-2 | **إمراضية *بكتريا Campylobacter*** | 12 |
| 7-2 | **مصادر الوبائية Source of Epidemiology** | 12 |
| 8-2 | **الاعراض السريرية والعلاج** | 13 |

| | | |
|---|---|---|
| 9-2 | **العلاقة بين الإسهال والاصابات عند الأطفال** | 14 |
| 10-2 | **عوامل الضراوة لبكتريا *Campylobacter*** | 15 |
| 1 | القدرة على الغزو والاجتياح Invasiveness | 15 |
| 2 | الحركة والالتصاق Motility and adherence | 16 |
| 3 | أنتاج السموم Toxins production | 17 |
| 4 | بلازميدات الضراوة Virulence plasmids | 19 |
| 5 | بروتين الغشاء الخارجيOuter Membrane Protein | 19 |
| 11-2 | **الحليب الخام ومنتجاته** | 20 |
| 1 | الحليب الخام | 20 |
| 2 | الجبن الابيض الطري المحلي والقشطة المحلية ( قيمر العرب ) | 21 |
| 12-2 | **مصادر التلوث المحتملة ومصادرها التي يمكن أن تصل إلى الحليب كمادة خام للتصنيع وبالتالي كمادة غذائية مصنعة يجعله ضار بالصحة** | 23 |
| 1 | الحيوان | 23 |
| 2 | البيئة والماء | 24 |
| 3 | الذباب والحشرات والمبيدات في الحليب | 24 |
| 4 | الأدوية البيطرية ومضادات الحيوية التي يعالج بها الحيوان | 25 |
| 5 | المواد الحافظة في الحليب الخام ومنتجاته | 26 |
| أ | الفورمالين | 26 |
| ب | مادة فوق اكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) السامة | 26 |
| **ت** | نترات الصوديوم او البوتاسيوم | 26 |
| 13 -2 | **النوعية الميكروبية للحليب الخام** | 27 |
| 14-2 | **المحتوى الوراثي لبكتريا *Campylobacter*** | 28 |
| 15-2 | **التحري عن الجين *cadf* في *البكتيريا Campylobacter jejuni* بتقنية PCR** | 28 |

| الفصل الثالث | الفصل الثالث - المواد وطرائق العمل | 30 |
|---|---|---|
| **3-1** | **المواد** | 30 |
| 3-1-1 | الأجهزة والمعدات | 30 |
| 3-1-2 | المواد الكيميائية والمحاليل | 32 |
| 3-1-4 | الأوساط الزرعية | 33 |
| 1 | **وسط الدم الاساس Blood Agar Base** | 33 |
| 2 | **آكار الماكونكي Mac Conky Agar** | 33 |
| 3 | **وسط سكيرو (كولمبيا الأساس) Skirrow Selective Supplement III** | 34 |
| 4 | **أكار الدم المسخن Choclate Agar** | 34 |
| 5 | **وسط بريستون Campylobacter Selective Supplement (Preson )** | 34 |
| 6 | **مرق البروسيلا Brucella Broth** | 35 |
| 7 | **وسط ثلاثي السكر- الحديد** Triple Sugar Iron | 35 |
| 8 | **وسط الحركة Motility Medium** | 35 |
| 9 | **وسط اختبار تحلل الهيبوريت Hippurate Hydrolysis Test Medium** | 35 |
| 10 | **وسط مولر – هينتون Muller Hinton Agar** | 35 |
| 11 | **وسط نقيع المخ-القلب Brian Heart Infusion agar** | 35 |
| 3-2 | **طرائق العمل** | 36 |
| 3-2-1 | المحاليل والصبغات والكواشف البكتريولوجية | 36 |
| 3-2-2 | المحاليل Solutions | 36 |
| 1 | محلول الملحي الفسيولوجي Physiological Saline Solution | 36 |
| 2 | محلول اليوريا Urea Solution | 37 |
| 3 | محلول هيبيوريت الصوديوم Sodium hippurate | 37 |
| 4 | محلول النهدرين Non- hydrin solution | 37 |
| 5 | محلول صبغة كرام Gram stain | 37 |
| 6 | محلول هيدروكسيد الصوديوم NAOH | 37 |
| 3-2-3 | **حفظ وادامة العزلات البكتيرية** | 38 |

| | | |
|---|---|---|
| 4-2-3 | **تحضير المحاليل الخزينة الخاصة بالإختبارات الوراثية** | 38 |
| 5-2-3 | **المحاليل المستعملة في عزل الدنا البكتيري DNA- Bacteria Solutions** | 39 |
| 6-2-3 | **الإنزيمات المستعملة** | 40 |
| 7-2-3 | **المحاليل المستعملة في الترحيل الكهربائي Electrophoresis solutions** | 40 |
| 8-2-3 | **المحاليل المستعملة في التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا PCR** | 41 |
| 9-2-3 | **الصبغاتStains** | 42 |
| 1 | **صبغة كرام Gram's Stain** | 42 |
| 10-2-3 | **الكواشف Reagents** | 42 |
| 1 | كاشف الكاتاليز Catalase Reagent | 42 |
| 2 | كاشف الاوكسيديز Oxidase Reagent | 42 |
| 5-3 | **طرائق التعقيم** | 42 |
| 2-3 | **طرائق العمل** | 43 |
| 11-2-3 | جمع العينات Collection of Samples | 43 |
| 12-2-3 | زرع العينات Samples Culture | 44 |
| 4-3 | **تشخيص البكتريا Diagnosis of Bacteria** | 46 |
| 5-3 | **الفحوصات الكيميائية الحيوية Biochemical Tests** | 46 |
| 1 | إختبار تحلل الهيبوريتHippurate hydrolysis test | 46 |
| 2 | إختبار تكوين غاز كبريتيد الهيدروجينH2S على وسط TSI | 47 |
| 3 | إختبار النمو في درجات الحرارة (37 – 42 م°) | 47 |
| 4 | إختبار تحمل الملوحة | 47 |
| 5 | إختبار الكاتاليز Catalase Test | 47 |
| 6 | إختبار الاوكسديز Oxidase Test | 47 |
| 7 | إختبار الحركة Motility Test | 48 |
| 8 | إختبار تحلل اليوريا Urease hydrolysis test . | 48 |
| 9 | إختبار الكشف عن النمو على وسط الماكونكي Growth on Macconkey. | 48 |
| 10 | إختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية Antibiotics | 48 |

| | | |
|---|---|---|
| | Susceptibility TEST. | |
| 6-3 | **أستخلاص الدنا البكتيري Bacterial DNA extraction**. | 49 |
| 7-3 | **الترحيل الكهربائي في الهلام Gel Electrophoresis**. | 50 |
| 8-3 | **قياس تركيز الدنا ونقاوته**. | 51 |
| 9-3 | **تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)** . | 51 |
| **الفصل الرابع** | **الفصل الرابع – النتائج والمناقشة** | 53 |
| 1-4 | **عزل وتشخيص بكتريا *Campylobacter*** من مصادر متنوعة . | 53 |
| 1-1-4 | **عدد العينات الموجبة والسالبة ونسبها في عينات الحليب الخام ومنتجاته** | 55 |
| 3-1-4 | **عزل وتشخيص** انواع بكتريا *Campylobacter* من الاسهال عند الاطفال | 55 |
| 2-4 | **الفحص الجرثومي** | 57 |
| 1-2-4 | **الوصف المزرعي والمجهري لبكتريا *Campylobacter*** | 57 |
| 2-2-4 | الوصف المزرعي للنمو على طبق الزرع الثانوي. | 58 |
| 3-4 | **الإختبارات التشخيصية لبكتريا ال*Campylobacter*.** | 58 |
| 4-4 | **التحري عن جين الضراوة *Cadf* باستخدام تقنية تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل P.C.R .** | 63 |
| **الفصل الخامس** | **الاستنتاجات** | 66 |
| **الفصل السادس** | **التوصيات** | 67 |
| | **المصادر** | 68 |

# Abbreviations المختصرات

| المختصر | المصطلح |
|---|---|
| AFLP | Amplified Fragment Length Polymorphism |
| Bp | Base pair |
| *C.jejuni* | *Campylobacter jejuni* |
| *Cadf* | *Campylobacter* adherence factor |
| CT | *Cholera* Toxin |
| CTLT | *Cholera* Toxin like Toxin |
| CDT | Cytolethal Distending Toxin |
| dH2O | Deionized water |
| dNTP | Deoxynucleotide triphosphate |
| DNA | Deoxynuclic acid |
| EDTA | Ethylene di-amine tetra acetic acid |
| GBS | Guillain- Barre Syndrom |
| LPS | Lipopolysaccharide |
| OMP | Outer Membrane Protein |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PFGE | Pulsed Field Gel Electrophoresis |
| RFLP | Restriction Fragment Length Polymorphism |
| sIgA | Secretory Immunoglobulin A |
| TSI | Triple Sugar Iron |
| TBE | Tris Borate EDTA |
| TE | Tris EDTA |
| Tris-OH | Tris-(hydroxymethyl) methylamine |

# قائمة الأشكال


| رقم الشكل | عنوان الشكل | الصفحة |
|---|---|---|
| 1-2 | يوضح آلية غزو واجتياح بكتريا *Campylobacter* | 17 |
| 2-2 | يوضح فعالية السم cytolethal distending toxin | 18 |


# قائمةالصور


| رقم الصورة | عنوان الصورة | الصفحة |
|---|---|---|
| 4-4 | الترحيل الكهربائي لناتج تفاعل البلمرة PCR للكشف عن الجين *cadF* على هلام الأكاروز بتركيز (1%) وفرق جهد 100فولت مدة قدرها 45 دقيقة | 65 |


# قائمة الجداول


| رقم الجدول | عنوان الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1-1-3 | الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة | 30 |
| 2-1-3 | المواد الكيميائية والمحاليل المستخدمة في الدراسة | 32 |
| 3-1-3 | العدة المختبرية Laboratory Kit | 33 |
| 5-1-3 | الانزيمات المستعملة | 35 |
| 6-1-3 | مواد متفرقة المستخدمة | 36 |
| 5-2-3 | مكونات عدة استخلاص الدنا البكتيريا | 39 |
| 8-2-3 | تتابعات وتراكيز البوادئ وحجم الناتج المتوقع لكل بادئ | 41 |
| 9-3 | تفاعل البلمرة المتسلسل P.C.R | 51 |
| 10-3 | البرنامج الحراري لتضخيم جين *Cadf* بتقنية P.C.R | 52 |

| | | |
|---|---|---|
| 1-4 | يوضح العينات الموجبة والسالبة النمو في الزرع البكتيري المعزولة من مصادر متنوعة | 53 |
| 1-1-4 | النسبة المئوية للعزلات البكتريا معزولة من عينات الحليب الخام ومنتجاته | 54 |
| 2-1-4 | اعداد ونسب عزلات بكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والمعزولة من حليب الخام ومنتجاته | 55 |
| 3-1-4 | النسب المئوية للعزلات مئوية للعزلات الموجبة لعينات البراز لبكتريا *Campylobacter* | 56 |
| 4-1-4 | النسب مئوية لانواع العزلات البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام | 56 |
| 3-4 | الاختبارات التشخيصية لانواع بكتريا *Campylobacter* | 62 |

# المقدمة

# Introduction

# الفصل الأول Chapter one

## المقدمة Introduction:

يعد الحليب الخام من الأغذية معقدة التركيب إذ يحتوي على كل ما يحتاجه جسم الإنسان من مكونات غذائية ضرورية لبنائه، وبنسبٍ متوازنة، يحتوي الحليب على البروتين (كازين – لاكتوالبيومين – لاكتوجلوبيولين )، وسكر الحليب (اللاكتوز ) ودهن الحليب فضلاً عن الفيتامينات ، والاملاح ،والمعادن النادرة وذلك بكميات متوازنة في صورة سائل سهل الهضم مقبول الطعم والرائحة ، يعد الحليب ومنتجاته وسطاً مناسباً لنمو ونشاط الأحياء الدقيقة ، وذلك نظراً لطبيعة تكوين الحليب في احتوائِه على نسبة عالية من الماء، وكذلك وجود سكر الحليب (اللاكتوز) القابل للتخمر ،ووجود البروتينات ،والاملاح ،والفيتامينات ،والدهون فضلاً عن الاس الهيدروجيني المائل للاعتدال ( PH6.6) لذلك فإنّ كل هذه العوامل تساعد ، وتجعل من الحليب وسطاً ملائماً لنمو، وتكاثر الأحياء الدقيقة ( **فضل ،2007**).

يعد الحليب مادة خام للكثير من المنتجات اللبنية ( كالحليب المبستر، والجبن، والزبدة..) إذ تعتمد نوعية هذه المنتجات بالدرجة الأولى على نوعية الحليب الخام المستخدم في تصنيعها (**Whitney , 2006** ) . الجبن الأبيض الطري يقصد به هو المنتج المصنع بواسطة تخثر بروتين الكازين وتحدث حالات التلوث في الجبن عن طريق التخزين والتصنيع غير الجيد، يتعرض الحليب لمجموعة من المخاطر الكيميائية، والبيولوجية التي تؤدي الى تلوثه في اثناء أنتاجه في معامل الألبان وفي المزرعة وفي اثناء المعالجة والتعبئة ، تعتبر الأدوية البيطرية والمبيدات من المكونات الكيميائية التي تصل الى الحيوان عن طريق النظام البيئي، ويمكن أنّ تنتقل الى الحليب بوصفها أثراً متبقياً ، يرتبط أنتاج الحليب بالعوامل البيئية التي تعتمد بشكل كبير على نشاطات الانسان ، ولما لهذه الملوثات من اضرار على الصحة، سواءً للأنسان أو لحيوان المزرعة ،لذا يجب على المنتجين وضع خطط وبرامج للسيطرة على الملوثات الكيميائية في الحليب ، ومنتجات الألبان ابتداءاً من المزرعة وصولًا الى المنتج النهائي (**التل واخرون ،2015** ) .

تعود بكتريا *Campylobacter* الى عائلة *Campylobactereaceae* الذي يضم أنواعاً عديدة ، قسم منها يكون ممرض ، والقسم الآخر يكون غير ممرض . وهي عبارة عن عصيات سالبة لصبغة غرام ، أشتق أسمها من كلمة اغريقية والتي تعني عصيات منحنية

انحناءاً حلزونياً ، وهي خلايا صغيرة جداً حيث يتراوح طولها حوالي(0,5 – 5) مايكروميتر ويتراوح عرضها حوالي ( 0,2 – 0,8) مايكروميتر . تظهر هذه الخلايا على شكل حرف (S) وذلك عندما ترتبط خليتان مع بعضهما مكونة سلسلة قصيرة تظهر هذه الخلايا في المستعمرات القديمة كروية أو دائرية الشكل .أو تكون بشكل يشبه جناح طائر النورس (Gull _ Winged). هي غير مكونة للأبواغ تكون حركة هذه البكتريا بواسطة سوط قطبي مفرد يقع في أحد قطبي الخلية البكتيرية ، أو قد تمتلك البكتريا سوطين على قطبي الخلية كل واحد يقع في احد قطبي الخلية البكتيرية . يتراوح طول السوط ( 2–3 ) مرات بقدر طول الخلية البكتيرية . كل الأنواع التابعة الى هذا الجنس تكون موجبة لفحص الاوكسيديز Oxidase أما فحص الكتاليز Catalase فبعضها يكون ايجابي لهذا الفحص والبعض الاخر يكون سلبي لهذا الفحص . هذه البكتريا تحتاج الى كميات قليلة من الأوكسجين ( Microearophilic)، وكميات كبيرة من ثاني اوكسيد الكاربون مقارنة بالبكتريا الهوائية لغرض بقائها .وتكون تغذيتها كيميائية عضوية ولا تخمر الكاربوهيدرات حيث تعتمد تغذيتها على عملية التنفس ولا تنتج حوامض او مواد متعادلة لأيضها ( **Law و Alcamo , 2004**) .

كما أنها تكون حساسة للمضاد الحيوي Nalidixic acid ، ومقاومة للمضاد Cephalothin تعد بعض الأنواع العائدة لجنس *Campylobacter* هي أحدى أهم المسببات الشائعة لإلتهاب الأمعاء الجرثومي . أذ تم تمييز النوع البكتيري *C. jejuni* الممرض والأكثر تكراراً من بين مسببات الإسهال عند الانسان وفي الاقطار النامية والمتطورة (**Saenz وآخرون , 2000**) يعد مرض الإسهال ومضاعفاته هو سبب كبير لوفاة الأطفال خصوصاً في الدول النامية ، إذ يعد السبب الثانوي ، والأكثر شيوعاً لوفاة الأطفال دون سن الخامسة من العمر في العالم ( **Forsberg وآخرون , 2007**) . وتعزى مسببات الإسهال الى وجود أنواع مختلفة من المسببات المرضية التي تختلف في الدول النامية ،والمتطورة فقد تكون هذه المسببات فايروسية أو بكتيرية ، أو طفيلية ،أو إصابات اخرى مختلطة بين هذه الأنواع (**Elliott , 2007**). أنّ جنس *Campylobacter* يضم انواعاً عديدة وهي ( *C.jejuni* و *C.coli* و *C. lari* و *C.fetus* و *C.hyointestinalis*) .تعد الأنواع من الممرضات التي يكون مصدرها الغذاء الملوث مسببة الإسهال ، كذلك تسبب إصابات أخرى خارج معوية وأمراض ثانوية (**Nachmkin , 2008**).

أهم أعراض الإصابة بهذه البكتريا هو الإسهال المائي Watery diarrhea ،أو الدموي Bloody diarrhea , مغص معوي والغثيان وفي الحالات الحادة تؤدي الى متلازمة

Guillain- Barre Syndrom ( GBS) وإلتهاب المفاصل Eptic Arthritis (**Hughes** و **Cornblath , 2005**). تتجه الدراسات المستقبلية نحو مقارنة نوعية الجين باستخدام طريقة ( RFLP- PCR ) و (ALFP ) بالطرائق المصلية القياسية والترحيل الكهربائي هي الطريقة المعتادة في المختبرات الصحة العامة(**Gillespie وHawkey , 2006**). قد أشارات العديد من الدراسات السابقة الى استخدام التضخيم للكشف عن هذه البكتريا على عينات البراز وذلك عن طريق استخدام جينات المستهدفة التي تتضمن (جين *ceuE* – جين *16S rRNA* - جين *gly A* - جين *23 S rRNA* و جين*cadF*) حيث تنتج هذا البكتريا الكثير من عوامل الضراوة مثل بروتينات الغشاء الخارجي والسموم الداخلية وغيرها من عوامل التي تعمل على زيادة أمراضية البكتريا ( **Ghosh Roumiوآخرون , 2014**) .

نظرا لاهمية بكتريا *Campylobacter* لذا فان هذه الدراسة تهدف الى :

**1**- عزل وتشخيص أنواع بكتريا *Campylobacter* المسببة للإسهال ( *C.jejuni* – *C. lari* – *C.coli* – *C. hyointestinalis* . ) من الحليب الخام ومنتجاته.

**2**- دراسة الصفات التشخيصية للبكتريا وتأثير بعض الصفات الفيزيائية مثل درجة الحرارة وتركيز كلوريد الصوديوم وغيرها من العوامل البيئية التي تؤثر على صفات البكتريا.

**3**- التحري عن جين الضراوة *cadF* المسبب للإسهال من بكتريا *Campylobacter jejuni* باستخدام تقنية PCR .