جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

التباين الجزيئي لعزلات *Escherichia coli* من مصادر محلية مختلفة وعلاقته بالمقاومة للمضادات الحيوية

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة _ جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة _ الأحياء المجهرية

من قبل الطالب

حسام أحمد دايح حسن النعيمي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2008-2007

بإشراف

أ.د. هادي رحمن رشيد الطائي

أ.م.د. منعم رضوان علي الخزرجي

1439 هـ

2018 م

1- المقدمة Introduction

تعد الإشريشيا القولونية (*E.coli*) *Escherichia coli* الأكثر إنتشاراً من بين مسببات الأمراض مع زيادات سنوية مستدامة (Laupland و Church، 2014). أشار العديد من الباحثين أن العراق يعاني من زيادات سنوية بارزة لإلتهابات المسالك البولية (UTIs) Urinary tract infections ، في عام 2013 شكلت الـ *E.coli* مايقرب من 61.3% من جميع تقارير عينات الأدرار (Abass وآخرون، 2014). أي بزيادة 27.5% عن عام 2012 (Salman وآخرون، 2013). وقد لوحظ عالمياً زيادة سنوية في حالات إلتهاب المسالك البولية UTI بسبب *E.coli* (Gagliotti وآخرون، 2011). في حين تعد الممرض الثاني في إصابات الجروح (Bessa وآخرون، 2013).

هناك العديد من مضادات الميكروبات التي تم اعتمادها و الموافقة عليها لعلاج عدوى الـ *E.coli* ، ولكن خلال القرن الماضي ، طورت البكتريا آليات مقاومة المضادات الحيوية (Conceição وآخرون، 2005).

يمكن أن تتولد جينات مقاومة لسلالات الـ *E.coli* المسببة للأمراض من خلال نقل الجينات الأفقية Horizontal genes للعناصر الوراثية المتنقلة Mobile genetic elements مثل الأنتكرونات Integrons التي ذكرت بأنها تؤوي جينات مقاومة House resistance genes. ومن المعروف أن العناصر الوراثية المتنقلة مثل البلازميدات Plasmids والترانسبوزونات Transposons تحمل أنتكرونات والتي يمكن أن تحتوي على جينات لإعادة التركيب Recombination في موقع محدد وقادرة على إلتقاط Capturing وتعبئة Mobilizing أشرطة الجينات Gene cassettes (Arutyunov و Frost، 2013). إن مقاومة المضادات المتعددة Multidrug resistance (MDR) هي مشكلة رئيسية في جميع أنحاء العالم وتشفر

عن طريق جينات المقاومة Resistance genes الموجودة على الأنتكرونات (Betteridge وآخرون، 2011).

إن التنوع الجيني لجينومات بكتريا الـ*E.coli* يساهم في حدوث الإمراضية Pathogenicity ، والفوعة Virulence والتكيف Adaptation (Dobrindt، 2005). وقد تم تطوير العديد من التقنيات الجزيئية لتقييم التنوع الجيني للبكتريا (Kaushlesh وآخرون، 2012).

استعملت أساليب البصمات بتقنية Fingerprinting PCR مثل (ERIC–PCR) Enterobacterial repetitive intergenic consensus و BOX–PCR على نطاق واسع لدراسة العلاقة الجينية بين الأنواع البكتيرية ، كما أن لديها القدرة على التمييز بين أجناس مختلفة من البكتيريا (Momtaz وآخرون، 2013).

ومن هنا جاءت دراستنا لتهدف إلى :-

1- تحديد التنوع الجيني لعزلات الـ *E.coli* الممرضة المعزولة محلياً من عينات سريرية مختلفة بطريقة الـ Phylogenltic typing

2- بحث الإختلاف الجيني بين الـ *E.coli* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة بطريقتي الـ ERIC–PCR و الـ BOX–PCR.

3- دراسة أثر الأنتكرونات في مقاومة المضادات الحيوية ، مع التركيز على تواجد الأصناف 1 و 2 و 3 للأنتكرونات وانتشارها.

الخلاصة

شملت الدراسة جمع 152 عينة بواقع 96 عينة من الإدرار Urine ، 15 عينة من الدم Blood ، 25 عينة من القشع Sputum ، 16 عينة من مسحات الجروح Swab wounds من دائرة مدينة الطب (مستشفيات _ بغداد التعليمي ، الأطفال ، الحروق ، المختبرات التعليمية) ومستشفى الكندي للمدة الواقعة بين 1 تشرين الأول الى 20 كانون الأول 2016 .

أظهرت نتائج الزرع البكتيري على وسط أكار الماكونكي ووسط أكار الأيوسين أزرق المثيلين والفحوصات الكيموحيوية والتشخيص التأكيدي باستعمال الـ API–20 E أن 42 عزلة تعود لبكتريا *E.coli* .

أوضحت نتائج فحص الحساسية اتجاه مضادات Imipenem ، Gentamicin ، Ciprofloxacin ، Tetracycline ، Kanamycin ، Augmenten ، Cefoxitin Cefotaxime ، Ceftazidime ، Cefepime ، Nalidixic acid ، Levofloxacin ، كانت (04.76 ، 35.71 ، 40.47 ، 52.38 ، 57.14 ، 59.52 ، 73.80 ، 73.80 ، 80.95 ، 83.33 ، 85.71 ، 88.09)% على التوالي ، كما أظهرت النتائج أن 22 (52.4%) عزلة كانت مقاومة لـ 9–12 مضاد حيوي بينما 12 (28.6%) عزلة أظهرت مقاومة من 5–8 مضاد حيوي فيما أبدت 8 (19.0%) عزلات مقاومة من 0–4 مضاد حيوي.

تضمنت الدراسة التنميط الجيني بأربعة أنظمة تصنيفية مختلفة لإيجاد العلاقة الوراثية بين 42 سلالة مرضية لبكتريا *E.coli* المعزولة من مرضى .