



الكشف والتشخيص الجزيئي لبكتريا القولون المرضية في بعض المستشفيات المحلية

اعداد

ناصر دخيل الله رشيد الجهني

بحث مقدم لنيل درجة الكتوراه في فلسفة العلوم

(قسم علوم الأحياء / الأحياء الدقيقة)

كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

جدة - المملكة العربية السعودية

١٤٤٠ هـ - ٢٠١٨ م

الكشف والتشخيص الجزيئي لبكتريا القولون المرضية في بعض المستشفيات المحلية

اعداد

ناصر دخيل الله رشيد الجهني

بحث مقدم لنيل درجة الكتوراه في فلسفة العلوم

(قسم علوم الأحياء / الأحياء الدقيقة)

اشراف

أ.د/ صالح عبد الله كابلي

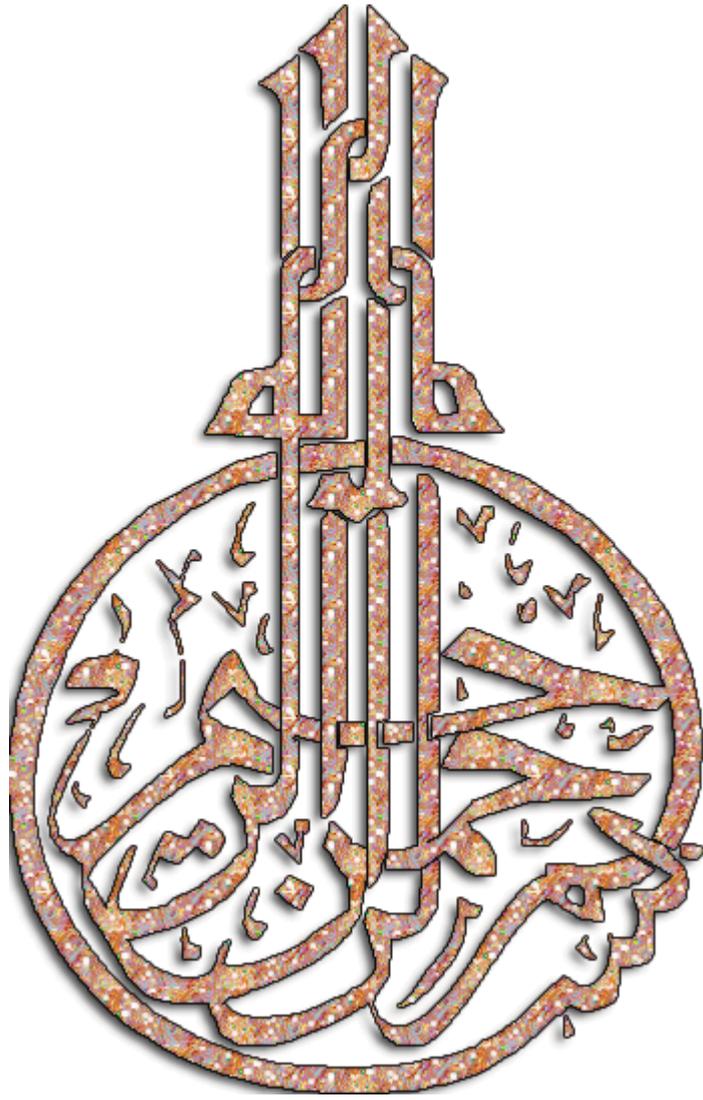
أ.د/ محمد مرسي محمد احمد

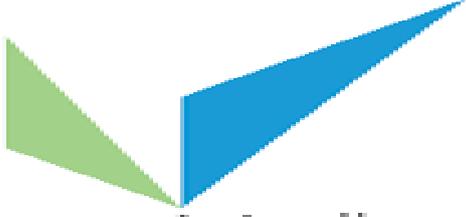
كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

جدة - المملكة العربية السعودية

١٤٤٠هـ - ٢٠١٨م





مدينة الملك عبدالعزيز
للعلوم والتقنية KACST

شكر وتقدير

شكر وتقدير لمدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية لدعمها المالي لهذا المشروع البحثي رقم
(1-17-01-009-0009) مما كان له الأثر البناء لتوفير المواد الكيميائية والمستلزمات

المخبرية اللازمة لإخراج هذه الدراسة بهذا المستوى

ناصر دخيل الله رشيد الجهني

الملخص العربي

بكتريا القولون ايشيريكييا كولاي هي بكتريا أساسية وطبيعية في القناة المعوية سواء في البشر أو الثدييات الأخرى، الا ان بعض السلالات الممرضة منها تسبب الكثير من الامراض والوفيات في جميع أنحاء العالم. سواء في الدول المتقدمة والنامية. فهي سببا رئيسيا في حدوث الامراض فعلى سبيل المثال فهي تسبب التهابات المسالك البولية والفشل الكلوي وبما أن البكتريا القولونية الضارة لا يمكن تمييزها، مع استخدام الطرق الميكروبيولوجية التقليدية، يمكن لتقنيات البيولوجيا الجزيئية ذات معدل أخذ العينات المرتفع أن تلعب دوراً هاماً في تشخيص ووقاية من عدوى بكتيريا القولون. وقد ثبت هذا النهج خلال تفشي EHEC O104 في صيف عام ٢٠١١ مع أكثر من ٤،٠٠٠ حالة مرضية. وحيث أنه من المعروف أن طرق الكشف التقليدية قد تكون كثيرة الخطوات، تستغرق وقتا طويلا للتشخيص ولا تتماشى مع الحالات الوبائية ذات الاعداد الكبيرة. فاستخدام الطرق الحديثة في التشخيص الفعال للبكتيريا المسببة للأمراض مثل تضخيم PCR للجين rRNA 16S والتسلسل؛ فهي تقدم إمكانية وتشخيص العديد من العينات بكل دقة وحساسية وبسرعة في التشخيص.

وتهدف هذه الدراسة الى عزل وتوصيف السلالات المختلفة من بكتريا القولون ايشيريكييا كولاي وكذلك عزل الجين الشيجا المسئول عن افراز السموم واحداث المرض. وذلك بهدف تحسين تطبيق التكنولوجيا الحديثة الجزيئية للكشف عن الكائنات الدقيقة مع قراءة المادة الوراثية لها ، بالإضافة أن من مميزات هذه التقنية هو سرعة التحليل للعينات الكثيرة مع زيادة الدقة والحساسية للتشخيص ، تم استخدام طريقتين للكشف وتحديد هوية *Escherichia coli* : O157: H7 الممرضة ، الطريقة الاولى وهي الطريقة التقليدية في علم الأحياء الدقيقة الطبية من حيث استنبات الميكروب على على وسائط بيئية غذائية، ثم عمل صبغة جرام للدراسة المورفولوجية للبكتريا وفحصها تحت الميكروسكوب الضوئي ، بالإضافة الى عمل الاختبارات الكيمائية الحيوية . الطريقة الثانية وهي طريقة البيولوجيا الجزيئية الحديثة مثل تفاعل البلمرة المتسلسل تضخيم الجين rRNA 16S بالإضافة الى اجراء اختبار PCR الجيني محددة للكشف عن سموم الشيجا (Stx) المنتجة من بكتريا القولون ايشيريكييا كولاي (*E. coli* O157:H7).



**"Detection and molecular diagnosis of pathogenic
Escherichia coli in some local hospitals"**

By

Nasser Dakeelallah Al-johani

**A Thesis Submitted of the Degree of Doctor of Philosophy in
Sciences (Biology – Microbiology)**

Department of Biological Sciences,

Microbiology Section

Faculty of Science, King Abdulaziz University, Jeddah,

1440 H - 2018 G

**"Detection and molecular diagnosis of pathogenic
Escherichia coli in some local hospitals"**

By

Nasser Dakeelallah Al-johani

**A Thesis Submitted of the Degree of Doctor of Philosophy in
Sciences (Biology – Microbiology)**

Supervisor by

Prof. Saleh A. Kabli

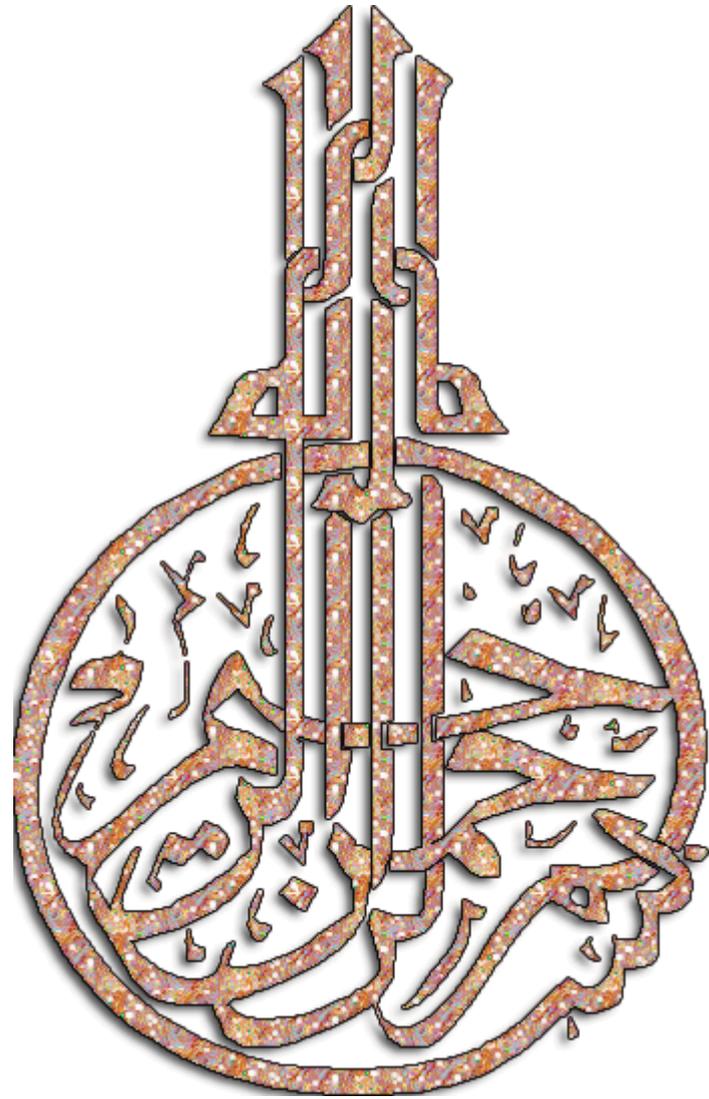
Prof. Mohamed Morsi M. Ahmed

Department of Biological Sciences,

Microbiology Section

Faculty of Science, King Abdulaziz University, Jeddah,

1440 H - 2018 G





I am grateful to King Abdulaziz City for Science and Technology (KACST) General Directorate of the research grants program for funding this study by the grant No #1-17-01-009-0009.

Nasser Dakeelallah Al-johani

Abstract

Strains of the bacterial species *E. coli* occur not only as members of the useful gut flora of humans and warm-blooded animals, but as pathogens as they cause urinary tract infections, sepsis, and meningitis, and can even lead to bloody diarrhea and kidney failure. Since harmful *E. coli* cannot be distinguished, with the use of conventional microbiological methods, molecular biology techniques with a high sampling rate can play a significant role in the diagnosis and prevention of *E. coli* infections. This approach was proven during the EHEC 0104 outbreak in summer 2011 with more than 4,000 severely ill patients. The methods such as PCR amplification of 16S rDNA gene and sequencing; for efficient diagnosis of pathogenic bacteria Methods such as the new generation of DNA sequencing combined with real-time PCR systems offer the potential and rapidly diagnosis many samples.