**رسائل الماجستير لسنة 2019**

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | **د. قيس قاسم غيمة** |
| اسم الباحث | **ريهام عداي سلمان** |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | **دراسة جينات أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف في بكتريا *Klebsiella* *pneumoniae* المعزولة من أصابات المجاري البولية** |
| السنة | 2018 |
| اللغة |  |
| الخلاصة |  جمعت 310 عينة سريرية وهي تتضمن عينات أدرار من مستشفيات مختلفة في بغداد خلال الفترة من بداية تشرين الثاني 2017 الى نهاية حزيران 2018، وزرعت جميع العينات على وسط انتقائي CHROagar Orientation وكذلك على وسط MacConkey agar ووسط Blood agar. وبعد نمو البكتريا شخصت العزلات باستخدام الاختبارات الكيموحيوية ونظام API 20E. حصل نمو فقط في 146 (%47.1) عينة، وكانت 77 عزلة منها هي بكتريا *Klebsiella pneumoniae* (24.8%)، ان معظم المرضى كانو من النساء 52/77 (67.5%)، بينما نسبة الرجال كانت 25/77 (32.5%) واعمارهم تتراوح مابين (2-72). لقد اظهرت العزلات المدروسة من بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة متعددة للمضادات الحيوية المستخدمة، حيث وجد ان كل عزلات بكتريا *K. pneumoniae* كانت مقاومة (%100) للامبسلين والسيفالكسين والسيفتازديم. ووجدت مقاومة عالية للبيبراسايكلين (%97.4)، والاموكسيسلين كلافيونك اسد (%97.4)، وايضا اظهرت مقاومة منخفظة للميروبنيم (%2.6) والاميبنيم (%5.2). جميع عزلات بكتريا *K. pneumoniae* (77) اختبرت انتاجيتها لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف باستخدام طريقة E-test strip وكانت النتيجة ان 66 (%85.7) من عزلات*K. pneumoniae* قادرة على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف و 11(%14.3) من عزلات *K. pneumoniae* غير قادرة على انتاج الانزيم (p<0.05). اما الجانب الجزيئي لهذه الدراسة فهو للكشف عن وجود موروثات انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف *bla*TEM, *bla*SHV) و *bla*CTX-M) ولتحديد انتشار كل موروث في العزلات السريرية لبكتريا *K. pneumoniae* ،اجري تفاعل سلسلة البلمرة لكل عينة حامض نووي (DNA) مستخلصة من العينات المعزولة، أذ تظمن 66 عزلة منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف للكشف عن موروثات انزيمات البيتالاكتاميزواسعة الطيف. حيث النتائج اظهرت ان موروث *bla*SHV موجود في جميع العزلات السريرية *K. pneumoniae* (66) %100 ويليه بنسبة %56 موروث *bla*TEM، واقل نسبة كانت %4.5 لموروث *bla*CTX-M. وان %3 (2=n) من العزلات احتوت على الموروثات الثلاثة (*bla*TEM ,*bla*SHV و *bla*CTX-M). اما الانماط الوراثية السائدة هي التي احتوت على الموروثين (*bla*SHV و *bla*TEM) وكانت بنسبة %56 من العزلات. اختيرت 20 من نواتج تفاعل سلسلة البلمرة لموروث *bla*SHV المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف التي اظهرت مقاومة لكل مضادات البيتالاكتاميز الحيوية، ماعدا الاميبنيم و الميروبينيم لاجراء تحليل التتابع النووي . اذ كان (19) من التسلسلات التي تم الحصول عليها متوافقة مع السلالات المرجعية في بنك الجينات واكدت التشخيص الصحيح لموروث *bla*SHV بواسطة تفاعل سلسلة البلمرة. تم تحليل هذة التسلسلات لايجاد التغاير في الموروثات وكشف الاختلاف في النيوكليوتيدات (الطفرات)، بالمقارنة مع مراجع تسلسل موروث SHV-1، كانت النتيجة وجود متغيرات في SHV-85 في بعض العزلات. حيث كان تغيير في الاحماض الامينية لنواتج موروث *bla*SHV, وكان اكثر الاحماض الامينية استبدالا هو الارجنين حيث استبدل باللايسين (A→L) في الموقع 70, 132 و 216. ويليه الحامض الاميني الليوسين حيث استبدل بالمثيونين (I→M) في الموقع 24 في العزلات (RK15,RK13,RK12 و RK16), وايضا هنالك تغيير في موقع 71 حيث وجد البرولين بدلا من الارجنين (A→P) في العزلات (RK13,RK10,RK9,RK8 و RK15)، تشير النتائج الى ان العزلة RK16 حدث فيها استبدالا خمس احماض امينية، ثلاث منهم كان استبدالا من الارجنين الى لايسين.اكدت النتائج ان معظم بدائل الاحماض الامينية التي تم تحديدها في مواقع جديدة غير مسجلة في الدراسات السابقة. |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | مارب نزيه رشيد |
| اسم الباحث | سهاد حسن فريح |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | التعبير الجيني لمضخة الدفق الخلوي *Mex*)) في بكتريا الزائفة الزنجارية المعزولة من مصادر طبية |
| السنة | 2019 |
| اللغة |  |
| الخلاصة | تعد بكتريا الزائفة الزنجارية واحدة من أهم مسببات عدوى المستشفيات. تركز الاهتمام على هذه البكتريا في مختلف أنحاء العالم بسبب ازدياد مقاومتها للمضادات الحياتية وخاصة مضادات الجنتاميسين. هدفت هذه الدراسه الى دراسة دور الجين *mexX* في المقاومه للجنتامايسين في هذه البكتريا .جمعت 95عينة سريرية تضمنت إصابات جروح وحروق وقشع وادرار والتهاب الاذن من مستشفيات الكاظمية واليرموك في بغداد للفتره مابين ايلول الى كانون الاول 2017. زرعت جميع العينات على الوسط الانتقائيagar cetrimideوكذلك بعض الأوساط التفريقية وبعد نمو البكتريا شخصت العزلات باستخدام الفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية وتم تأكيد التشخيص باستخدام النظامين API 20E و VITEK-2 إضافة إلى تشخيص جنس البكتريا على المستوى الجزيئي من خلال الكشف عن الجين *rps*l باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة.تم الحصول على 54 عزلة تعود إلى البكتريا الزائفة الزنجارية من مصادر سريرية مختلفة وبلغت نسبة العزل من القشع (27.78%)، الحروق ( 25.92%), التهابات الاذن (22.22%)، الجروح ( 12.97%), الادرار(%7.41) و(1.85%) لكل من عزلة ادوات المستشفى وعزلة سائل النخاع الشوكي.أختبرت حساسية جميع العزلات تجاه المضاد الحياتي الجنتاميسين خارج الجسم الحي وباستخدام طريقة انتشار القرص في الاكار. إذ أظهرت النتائج أن 40 عزلة (%74.07) كانت مقاومة للجنتاميسين بينما 8عزلات (% (14.81 كانت معتدلة المقاومه و6 عزلات (11.11%) اظهرت حساسيه للمضاد. أما الجانب الجزيئي لهذه الدراسة فقد أظهرت نتائج تفاعل سلسلة البلمرة أن الجين *rpsl* موجود في جميع العزلات السريرية (54) وبنسبة 100% مما يؤكد أن هذا الجين مهم في تشخيص نوع البكتريا *P.aeruginosa* وانه متأصل في هذا النوع . كما بينت النتائج أن جين مضخة الدفق *mexX* قد سجل نسبة انتشارعالية في العزلات المقاومة (100 %) مما يدل على مشاركة هذه الجينات في مقاومة مضادات الجنتاميسين.نتائج التعبير الجيني لجينات *mexX* التي أجريت باستخدام تقنية Real-time quantitative PCR أظهرت أن أعلى قيمة لتضاعف Fold التعبير الجيني لجين *mexX* كانت لعزلات الحروق وهي( 5.20 ) مقارنة بالعينات غير المعاملة بالمضاد بينما اقل قيمة للتعبير الجيني كانت لعزلة ادوات المستشفى(1.61%). أظهرت نتائج التعبير الجيني *rpsl*، التي استخدمت كمرجع للجينات، أن هذا الجين مناسب تماما بسبب الحد الأدنى من الاختلافات في التعبير عن هذا الجين سواء عند المعاملةمع الجنتاميسين أوبدونها استنجت هذه الدراسه بأن تحديد آليات المقاومة البكتيرية معقد للغاية. على الرغم من أن لجينات مضخة الدفق دوراً هاما في مقاومة المضادات الحيوية في الزائفة الزّنجاريّة . |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | واثق عباس الدراغي |
| اسم الباحث | سيف عادل رضا الطالبي |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | التحري عن العناصر القافزة والمسؤولة عن صفة المقاومة للمضادات الحيوية لبكتريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من مصادر مختلفة من المستشفيات  |
| السنة | 2019 |
| اللغة |  |
| الخلاصة | تعد بكتريا  *Acinetobacter baumannii*واحدة من أهم المسببات المرضية للعدوى المكتسبة من المستشفيات خاصة للمرضى الذين يعانون من ضعف المناعة والراقدين في وحدات العناية المركزة (ICUS) وبذلك تكون واحدة من الاسباب الرئيسية للوفيات والعدوى في المستشفيات.جمعت مائتان وست وسبعون (276) عينة سريرية (حروق , جروح) وبيئية (الأسرة، طاولات، أرضيات مغاسل ومعدات طبية) من مستشفيات في النجف الاشرف للفترة تشرين الثاني 2017 الى نيسان 2018 زرعت جميع العزلات باستخدام أوساط زرعيه مختلفة, تم تشخيص 36 عينة باستخدام الفحص العياني والمجهري والاختبارات البايوكيميائية بعدها تم تأكيد 20 عزلة *A.baumannii* بواسطة نظام APi 20E وال Vitek-2.تم فحص الحساسية لكل العزلات (36) من *Acinetobacter baumannii* نحو 16 مضاداً حيوياً باستخدام طريقة انتشار القرص فأظهرت جميع العزلات مقاومة متعددة لمعظم المضادات الحيوية ووجد ان عزلات *A.baumannii* مقاومة الى: Ceftazidime، Amoxillin، Carbencillin، Ertapime، cefepime، Meropenem، cefoxitin،Azetronam، Tobramycin و,Oxacillin Cefotaxime (100 ٪ ، 85٪ ، 90٪ ، 80٪ ، 75٪ ,90٪,90٪ ، 80٪ ،70٪ ,80٪ ,80٪) على التوالي.وكذلك أظهرت العزلات الأخرى مقاومة معتدلة المستوى للمضادات الحيوية مثل: Tetracycline (55٪) Ciprofloxacin (40٪). تشير الدراسة الحالية إلى أن  *A.baumannii*تمتلك مقاومة منخفضة المستىوى ضد Doxycycline Imipenem, )10٪ و 5 ٪) على التوالي ولا توجد اي مقاومة تجاه colistin.تم استخلاص DNA من 36 عزلة من العزلات السريرية والبيئية ثم أستخدم تفاعل البلمرة المتسلسل PCR)) للتحري عن جين *bla*OXA-51 أظهرت النتائج وجود هذا الجين التشخيصي في 20 عزلة وهذا يعزز تشخيص *A.baumannii* وباقي العزلات (16) وصفت على أساس أنها *Acinetobacter Spp*..في الدراسة الحالية تم التحري عن أربع من العناصر القافزة  *TEM-1beta-*lactames)،  *Tnp-R، Tnp-A26،Tnp-A*) في جميع العزلات (36) وقد وجد أن عزلات  *A.baumannii* خالية ولاتوجد نتيجة موجبة, بينما وجد العنصر القافز *Tnp-R في* 8 عزلات من *A.cinetobacter Spp*. وباقي العزلات خالية من الجين *Tnp-R* ومن الأنواع الثلاثة القافزة الأخرى. تم أرسال العزلات الثمانية لأجل دراسة التسلسل الجيني وقد وجد أن هذه العزلات تعود للنوع *A.Pittii*  أستنتج من الدراسة أن *A.baumanni*i مسوؤلة عن عدد من أصابات عدوى المستشفيات ومعظم هذه العزلات ذوات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية. |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | رشا عبد الحسين ماهود |
| اسم الباحث | فرح فاروق حسن الحيالي  |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | الكشف عن مستويات الهوموسستين وتعدد الأشكال في جين (*MTHFR*) في المرضى الذين يعانون من احتشاء العضلة القلبية في مستشفيات بغداد |
| السنة | 2019 |
| اللغة |  |
| الخلاصة |  يعرف احتشاء العضلة القلبية أو النوبة القلبية بأنه مرض سريري، ويعني انقطاع إمدادات الدم إلى جزء من القلب ويسبب موت خلايا القلب، ويحدث نتيجة انسداد بسبب وجود خثرة في موقع التمزق او جرح في الشريان التاجي المتصلب. شملت هذه الدراسة 100 شخص من الرجال فقط, وأخذت عينات الدم من 50 مريض مصاب باحتشاء العضلة القلبية لأول مرة, حيث تم إدخالهم إلى وحدة العناية القلبية في مستشفى ابن النفيس التعليمي ومستشفى اليرموك التعليمي ومستشفى ابن البيطار في مدينة بغداد, تم تشخيص المرضى المصابين اعتمادا على وجود أعراض وعلامات المرض من قبل المختصين, وجمعت العينات في الفترة الممتدة من نهاية شهر أكتوبر (2017) إلى بداية شهر يناير (2018), في المقابل تم جمع عينات من 50 شخص متطوع كلهم أصحاء على ما يبدو مقاربين لأعمار المرضى, وليس لديهم إصابة سابقة بإمراض القلب والأوعية الدموية او مرض السكري او ارتفاع ضغط الدم او الفشل الكلوي. أظهرت نتائج دراسة التوزيع الديموغرافي لأعمار مرضى النوبات القلبية التي تتراوح بين (20-69) سنة ، حيث تم تقسيمهم إلى أربع مجموعات ، ووجد أن أعلى نسبة من المرضى المصابين بالنوبات القلبية في المجموعة التي تزيد أعمارهم عن 50 سنة متمثلة بنسبة (64٪) من مجموع المرضى. بالنسبة لعوامل الخطورة المرتبطة بمرضى النوبات القلبية مقارنة مع مجموعة الأصحاء ، أظهرت نتائجهم أن التدخين كان عامل الخطورة الأعلى للمرضى أكثر من عوامل الخطورة الأخرى ، حيث وجد أن 66 ٪ من المرضى هم مدخنين ، 30 ٪ منهم مصابون بداء السكري ، 18 ٪ ممن لديهم ارتفاع ضغط الدم ، و 42 ٪ لديهم تاريخ عائلي لإمراض القلب والأوعية الدموية أو النوبات القلبية, و 44 ٪ من الذين لديهم نشاط بدني ضعيف, بزيادة معنوية بنسبة (p<0.01) عن مجموعة الأصحاء. وقد أظهرت نتائج الجزء البايوكيميائي زيادة معنوية (p<0.01) في مستوى تركيز الهموسيستين والتروبونين (I) في مصل الدم، وانخفاض معنوي (p<0.01) في مستوى فيتامين ب6 وفيتامين ب 12 لدى مرضى النوبات القلبية مقارنة بمجموعة الأصحاء، بينما أظهر مستوى الكولسترول اختلافًا غير معنوي مقارنةً بمجموعة الأصحاء. وعندما قورن بين المرضى المدخنين وغير المدخنين في متوسط ​​مستوى كل من الهوموسستين و فيتامين ب12 و فيتامين ب6 و التروبونين (I) والكولسترول اوجدت الدراسة فروقات غير معنوية. وعند ربط اعمار المرضى مع العوامل البايوكيميائية وجد ان الهوموسستين و التروبونين (I) وفيتامين ب12 كانت الفروقات غير معنوية بين الفئات العمرية ، في حين وجد زيادة معنوية للكولسترول (p<0.05) مع تقدم السن. ولوحظ وجود علاقة سلبية ومعنوية بين الهوموسستين و الفيتامينات (ب6 وب12) ، في حين وجد أن الهوموسستين له ارتباط إيجابي ومعنوي مع التروبونين ((I ، و العلاقة بين الهوموسستين ومستوى الكوليسترول غير معنوية. وفي جزء الدراسة الجزيئية للعينات تم استخلاص الحامض النووي الدنا من جميع العينات واستخدمت طريقة tetra-primer ARMS–PCR لكشف الطراز الوراثي لطفرتي جين *MTHFR* الأكثر شيوعا هي (C677T, A1298C) وتم العثور على الطفرة (C677T): للنمط الوراثي المتغاير CT بنسبة (32%) من المرضى المصابين بالنوبة القلبية والنمط الوراثي المتماثل TT بنسبة (4٪) من المرضى. في نتائج الطفرة (A1298C) وجد النمط الوراثي المتغاير AC بنسبة (14 ٪) في المرضى المصابين بالنوبة القلبية و النمط الوراثي CC المتماثل بنسبة (26 ٪) في المرضى. وتوصلت الدراسة إلى أن مستويات الهوموسستين وفيتامين ب6 وفيتامين ب12 والتروبونين ((I في مصل الدم مرتبطة بالإصابة بالنوبات القلبية، ووجدت الطفرتين A1298C, C677T)) لجين*MTHFR* لا علاقة لهما معنويا مع المرضى المصابين بالنوبات القلبية.  |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | أ سيف داود الأحمر ماجد صخي جابر  |
| اسم الباحث | الاء حســــيـن يونـــــــس |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | دراسة جزيئية ومناعية لبعض المسببات البكتيرية لمرض ذات السحايا في الأطفال |
| السنة | 2019 |
| اللغة |  |
| الخلاصة |  إن الدراسة الحالية هي محاولة للتحري عن بكتريا *Staphylococcus epidermidis ,*  *Streptococcus pneumoniae , Acinetobacter baumannii , Escherichia coli*  , *Enterobacter cloacae , Staphylococcus aureus* بواسطة الطرق التقليدية وتفاعل البوليمير المتسلسل متعدد البواديء بأستخدام بواديء خاصة بالنوع لهذه الانواع البكتيرية المعزولة من عينات السائل النخاعي الشوكي والتي تم جمعها من الاطفال المصابين بألتهاب ذات السحايا الدماغية Meningitis وذلك لأيجاد طريقة تشخيص اكثر حساسية ودقة وسرعة في تشخيص هذه البكتريا. وكذلك التحري عن دور Procalcitonin وil-1 β وIgG وIgM وIgA وC3 و C4 لدى الاطفال المصابين بهذا المرض. تم جمع 400 نموذج من السائل النخاعي الشوكي من الاطفال المشتبه بأصابتهم بألتهاب ذات السحايا الدماغية, للفترة من بداية تشرين الثاني 2017 ولغاية نهاية شباط 2018, من ثلاث مستشفيات في بغداد والتي شملت مستشفى حماية الاطفال التعليمي ومستشفى الطفل المركزي ومستشفى العلوية للأطفال . كما تم جمع 70 نموذج دم من الاطفال المشخص اصابتهم بألتهاب ذات السحايا الدماغية الناتخ عن احد الانواع البكترية *S. epidermidis ,*  *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* , اضافة لجمع 30 نموذج دم من اطفال اصحاء كمعامل سيطرة وذلك لغرض اجراء فحوصات مناعية عليها*.* من اصل 400 نموذج سائل نخاعي شوكي , تم عزل 110(27.5%) عينة بكتيرية تعود لأجناس بكتيرية مختلفة. وكانت اعلى نسبة من العزل تعود لـ *S. pneumoniae, S. epidermidis , A. baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* بواقع 79(71.81%) من اصل 110(100%) , في حين كانت نسبة باقي الاجناس البكتيرية الاخرى 31 (%28.18) من اصل 110(100%) . تم تشخيص البكتريا اعتمادا على الخصائص المظهرية لكل بكتريا على الاوساط الزرعية التي تضمنت وسط الأجارالطبيعي ووسط الماكونكي ووسط الاجار مع الدم ووسط الجوكليت اجار , بالاضافة الى صبغة غرام مع اجراء الاختبارات البايوكيميائية التقليدية (Conventional) والألية (Automated) مثل , VITEK2 systemوايضا اختبارات API20E و APIstaph و APIstrep. تم اجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية *S. epidermidis ,*  *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* بأستخدام طريقة Kirby-Bauer disk diffusion حيث أظهرت تلك العزلات أنماط مقاومة وحساسية مختلفة اتجاه أنواع مختلفة من المضادات الحيوية، تراوحت من نمط مقاومة عالي لأغلب المضادات الحيوية المستخدمة , إلى نمط مقاومة واطئ لقليل من المضادات المستخدمة. حيث كانت*S. epidermidis* حساسة للمضادات الحيوية (الامبيسلين- سالباكتام والتتراسايكلين والكلاريثروماسين والببراسيلين-تازوباكتام) , وكانت *S. pneumoniae* حساسة لكل من (التيكراسيلين- الكلاوفالك اسيد والميروبينيم) , و *A. baumannii* حساسة لكل من (الاميكاسين والكاليثرومايسين) , وكانت كل من  *E. coli وE. cloacae* حساسة للسيفترياكسون والاميكاسين على التوالي , وكانت*S. aureus* حساسةللميروبينيم والببراسيلين . كذلك تم اجراء اختبارات قياس السكر والبروتين والعد الخلوي لسائل النخاعي الشوكي للاطفال , ففي حالة الاطفال الذين كانت نتائج الزرع البكتيري لنماذج السائل النخاعي الشوكي موجبة فقد اظهرت النتائج انخفاض مستوى السكر الى اقل من 45mg/dl في اغلب الحالات وارتفاع مستوى البروتين الى اكثر من 75mg/dl وزيادة عدد كريات الدم البيضاء في اغلب الحالات . تم استخلاص DNA الجينومي من عزلا*ت S. epidermidis ,*  *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* بأستخدام عدة تنقية الحامض النووي الجينومي (Wizard genomic DNA purification kit) , وقد تم ترحيل عن DNA الجينومي المستخلص في 1%هلام الاجاروز, وتم تحديد تركيز ونقاوة DNAالجينومي المستخلص بأستخدام جهاز المطياف الضوئي. للتحري عن عزلات *S. epidermidis,*  *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* بالطرق الجزيئية , تم اخضاع DNA الجينومي المستخلص من هذه العزلات الى التضخيم للغرض الكشف عن جين *RpoB* بواسطة تفاعل البوليميريز المتسلسل احادي البوادئ بأستخدام البوادئ الخاصة بكل بكتريا منها ومن اصل 110 عزلة بكتيرية فقد تم تحديد: 20 (1818.%) عزلة تعود الى بكتريا *S. pneumoniae و18 (%16.63)* عزلة  *تعود لبكترياS. epidermidis و 15*  *(13.64%) عزلة تعود لبكتريا A. baumannii و 11*  *(%10)عزلة تعود لبكتريا E. coli*  و 8 (%7.27) عزلة تعود لبكتريا *E. cloacae و7 (%6.63)* عزلة تعود لبكتريا *S. aureus* بالطرق الجزيئية من خلال ملاحظة نواتج تفاعل البوليميريز المتسلسل احادي البوادئ الخاص بجين *RpoB* ذات الاوزان الجزيئية ~170 زوج قاعدي و ~ 10000 زوج قاعدي و ~395 زوج قاعدي و ~150 زوج قاعدي و ~1100 و~ 140 زوج قاعدي ,على التعاقب من خلال الترحيل الكهربائي في هلام الاجاروز .كذلك تم اخضاع DNA الجينومي المستخلص من *S. pneumoniae و E. coli* الى التضخيم بشكل اضافي للغرض الكشف عن جين *RpoB* بواسطة باستخدام طريقة تفاعل التضاعف التسلسلي المتعدد للحامـض النووي (Multiplex PCR) بأستخدام نفس البواديء الخاصة بالنوع لكلا البكتريا, ان البكتريا التي كانت موجبة في تفاعل البوليميريز المتسلسل احادي البواديء لكل من *S. pneumoniae* و *E.coli* قد اظهرت نتائج موجبة لتفاعل البوليميريز المتسلسل متعدد البوادئ من خلال ملاحظة نواتج هذا التفاعل الخاص بجين *RpoB* ذات الاوزان الجزيئية ~ 10000 زوج قاعدي و ~ 150 زوج قاعدي على التعاقب في الترحيل الهلامي لهلام الاجاروز والخاصة بكلا النوعين من البكتريا. كما تم اخضاع DNA الجينومي المستخلص من *A.baumanni و S. aureus* الى التضخيم بشكل اضافي للغرض الكشف عن جين *RpoB* بواسطة باستخدام طريقة تفاعل التضاعف التسلسلي المتعدد للحامـض النووي (Multiplex PCR) بأستخدام نفس البواديء الخاصة بالنوع لكلا البكتريا, ان البكتريا التي كانت موجبة في تفاعل البوليميريز المتسلسل احادي البواديء لكل من *A.baumanni و S. aureus* قد اظهرت نتائج موجبة لتفاعل البوليميريز المتسلسل متعدد البوادئ من خلال ملاحظة نواتج هذا التفاعل الخاص بجين *RpoB* ذات الاوزان الجزيئية ~ 395 زوج قاعدي و ~ 140 زوج قاعدي على التعاقب في الترحيل الهلامي لهلام الاجاروز والخاصة بكلا النوعين من البكتريا. كما تم اجراء اختبارات الاليزا لغرض تحديد تراكيزكل من Procalcitonin و IL-1 βفي عينات الدم لـ 70 من الاطفال المصابين بالتهاب ذات السحايا الدماغية البكتيري والذين كانت نتائج الزرع البكتيري لنماذج السائل النخاعي الشوكي لهم موجبة باحد الانواع البكتيرية *S. epidermidis ,* *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* اضافة الى 30 عينة سيطرة لاطفالاصحاء . في اختبار الاليزا للـ IL-1 β كانت تراكيز السيطرة 3.2 ± 0.4041 بيكوغرام/ مل , في حين كان تركيز IL-1 β في عينات السيرم للاطفال المصابين بالتهاب ذات السحايا الدماغي البكتيري الناتج عن الاصابة بأحد البكتريات *S.* *epidermidis*, *S. pneumonia*, *A. baumannii , E. coli , E. clocae , S. aureus* وكانت تراكيز IL-1 β هي : 208.3 ± 42.06 , 57.9 ± 15.6, 31.96 ± 7.254 , 109.8 ± 27.12 , 40.91 ± 9.082 , 326 ± 108.1 بيكوغرام/ مل على التوالي . وكانت نتائج قياس تركيز procalcitonin في فحص الاليزا كالتالي: تركيز procalcitonin للسيطرة 21.67 ± 4.91 بيكوغرام/ مل , بينما كان تركيز procalcitonin في سيرم الاطفال المصابين بالتهاب ذات السحايا البكتيري الناتج عن احد البكتريات S. *epidermidis* , *S. pneumonia*, *A. baumannii , E. coli , E. clocae , S. aureus هي :* 274.8 ± 153.6 , 246.7 ± 26.03 , 1878 ± 496 , 1193 ± 280.8 , 459.8 ± 90.24 , 731.3 ± 174.8 بيكوغرام/ مل على التوالي. بينت النتائج ارتفاع تراكيز Procalcitonin و il-1β في جميع عينات المرضى مقارنة مع السيطرة ووجود فروقات معنوية مما يثبت اهمية كل من Procalcitonin و IL-1 β كأدلة مناعية للكشف مبكرا عن مرض التهاب ذات السحايا البكتيري في الاطفال. كما تضمنت الدراسة الحالية قياس مستويات تراكيز كل من وIgG وIgM وIgA وC3 و C4 في عينات الدم الماخوذة من 45 طفل مصاب بمرض التهاب ذات السحايا الدماغية البكتيري من الذين كانت نتائج الزرع البكتيري لنماذج السائل النخاعي الشوكي لهم موجبة لأحد الانواع البكتيرية *S. epidermidis ,* *S. pneumoniae , A.baumannii , E. coli*  , *E. cloacae , S. aureus* اضافة الى 15 عينة سيطرة لاطفالاصحاء , واظهرت النتائج وجود فروقات معنوية وارتفاع نسبها تراكيز كل من وIgG وIgM وIgA وC3 و C4 لدى المرضى مقارنة مع السيطرة مما يشير الى دورها في الاستجابة المناعية ضد البكتريا المسببة للمرض. |

|  |
| --- |
| جـــــامـــعــة بـــــــغــداد |
| اسم الكلية | معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية |
| القسم | التقنيات الاحيائية |
| اسم المشرف | وئام احمد الوائلي  |
| اسم الباحث | سمر علي عناد |
| الايميل |  |
| الدرجة العلمية |  مدرس مساعد |  مدرس |  استاذ مساعد√ |  استاذ |
|  |  ماجستير√ |  دكتوراه |
| عنوان الرسالة | العلاقه بين اختلاف الطرز الوراثية في منطقة حفاز جين الانترولكين -10 مع سرطان ابيضاض الدم الحاد لبعض المرضى العراقيين  |
| السنة | 2019 |
| اللغة |  |
| الخلاصة |  إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد هو احد أنواع سرطان إبيضاض الدم الذي يؤثر على الخط اللمفاوي لخلايا الدم والذي يتميز بتطور أعداد كبيرة من الخلايا اللمفاوية غير الناضجة . ان سرطان إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد هو واحد من أكثر أنواع السرطانات شيوعا عند الأطفال. الأنترلوكين -10هو سايتوكين متعدد الوظائف يمتلك خصائص كابحة للمناعة (تعزيز السرطان) و محفزة للمناعة (تثبيط السرطان) . تم تحديد ثلاث من الطرز الوراثية (rs1800871 ، rs1800872 ، rs1800896) في منطقة المحفز لجين الأنترلوكين -10 باستخدام تفاعل الكوثرة اللحظي لكشف علاقتها مع تطور إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد و التغيير في التعبير الجيني للانترلوكين -10. شملت الدراسة على50 مريض عراقي مصاب بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد ،من بينهم 30 حالة أطفال تم إدخالهم إلى المستشفى التعليمي المركزي للأطفال و 20 حالة من البالغين الذين تم إدخالهم إلى مستشفى بغداد التعليمي وتم تشخيصهم سريرياً .تم تقسيم المرضى الى ثلاثة مجاميع ضمن الدراسة وشملت مجموعة ما قبل العلاج(12) , تحت العلاج(21) و مجموعة الأنتكاس (17) .كان من ضمن هذه الحالات 5 اشخاص مصابين بسرطان ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد الثانوي وتضمنت الدراسة على 30 شخص من الاصحاء كمجموعة سيطرة .تم استخلاص الحمض النووي الجيني من عينات الدم وتحليلها للكشف عن الطرز rs1800871 ، rs1800872 ، rs1800896 SNPs في حفاز جين الأنترلوكين -10 باستخدام بوادئ ومجسات معلمة ومتخصصة بواسطة تفاعل الكوثرة اللحظي. بالاضافة الى ذلك تم تقدير مستوى الأنترلوكين -10 في مصل الدم باستخدام مقايسة الامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA). إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد كان عالي احصائيا (60%) في فئة العمرية للاطفال(1-14) بين جميع المرضى(P<0.01) . وفقا للطرز الوراثية الثلاثة ، كان النمط الوراثي CC للطرز الوراثي rs1800871 T> C مرتفع بشكل عالي ومعنوي (P <0.01) بالمقارنة مع الأنماط الوراثية الأخرى , بينما في الطرز الوراثي rs1800872 A>C كان النمط الوراثي CC أعلى بشكل معنوي (52٪) عند المرضى المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد (p <0.01) بالمقارنة مع الأنماط الوراثية الأخرى. في حين أن الطرز rs1800896 A> G لم يكن مرتبطا مع سرطان إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد ولم يلاحظ اختلافا للأنماط الوراثية الثلاثة (AA,AG,GG) بين مجموعة مرضى إبيضاض الدم اللمفاوي الحاد و مجموعة السيطرة . كان مستوى الانترلوكين-10 في مصل الدم مرتفعا (353.21 ±54.55 ng/ml) لمجموعة ما قبل العلاج للمصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد مقارنة بمجموعتي ما تحت العلاج (115.47 ± 7.33 ng/ml ) و الانتكاس (230.23 ± 29.69 ng/ml). لا يوجد اختلافًا كبيرًا في مستوى الأنترلوكين-10 في مصل الدم بين الفئات العمرية (1-14) و(41-70) ولكنها أعلى بشكل معنوي (P<0.05) من الفئة العمرية (15-40 عاما) . وفقا للجنس ، لم يكن هناك اختلافا كبيرا في مستوى الأنترلوكين-10 بين الذكور والإناث. كان مستوى الأنترلوكين-10 للطرز الوراثي rs1800871 T> C أعلى بشكل معنوي في النمط الوراثي CC في كل من مجموعة ما قبل العلاج ومجموعة الانتكاس (ما عدا مجموعة تحت العلاج لم تظهر فرقا في مستوى الأنترلوكين -10 بين الانماط الوراثية الثلاثة) .في الطرزالوراثي rs1800872 A>C ،فان مستوى الانترلوكين-10 عالي بشكل معنوي في النمط الوراثي CC لكل من المجموعات الثلاث للأشخاص المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد. في حين ان الطرز الوراثي rs1800896 A>G ليس له تأثير على مستوى الأنترلوكين -10 ،لم يكن هناك اختلافا ظاهريا في مستوى الأنترلوكين-10 للطرز rs1800896 A>G في كل من الانماط الوراثية في كل مجموعة من المجموعات الثلاث للأشخاص المصابين بابيضاض الدم اللمفاوي الحاد. كان 9 من مرضى ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد يملكون الطرز الوراثية الثلاثة(rs1800871 rs1800896 , rs1800872) وكان مستوى الأنترلوكين-10 لديهم عالي (293.44 ± 38.72 ng /ml) بينما كان 33 من المرضى مع اثنين من الطرز الوراثية, وقد قسموا الى ثلاثة مجاميع حسب الطرز الوراثية المترابطة لدى المرضى ;30 مريض لديهم اثنان من الطرز الوراثية المؤثرة (rs1800871,rs1800872) يملكون أعلى مستوى في الأنترلوكين-10(231.05 ± 29.47 ng/ml) من بين المجاميع الاخرى للمرضى الذين يملكون اثنان من الطرز الوراثية , 2 من المرضى لديهم الطرز الوراثية (rs1800872,rs1800896) ومريض واحد مع (rs1800871,rs1800896) كان مستوى الأنترلوكين-10 لديهم متقارب (100.56 ± 0.43 ng/ml 0.00±100.92; ng/ml , على التوالي) لكنه أقل من مستوى الأنترلوكين-10في المرضى الذين يملكون الطرزين الوراثيين المؤثرين (rs1800871,rs1800872).وكان المرضى الذين لديهم طرز وراثي واحد هم 6 ,ثلاثة من ضمنهم يملكون الطرز الوراثي (rs1800871) مع مستوى الأنترلوكين-10(92.16 ± 6.68 ng/ml) و الثلاثة المتبقين لديهم الطرز الوراثي (rs1800872) مع مستوى الأنترلوكين-10لديهم (91.27 ± 9.51ng/ml). بينما كان اثنان من المرضى لا يمتلكون أي طرز وراثي مع أقل مستوى للأنترلوكين-10 لديهم (76.23 ± 0.78ng/ml) من بين كل مجاميع المرضى . |