**أطاريح الدكتوراه لسنة 2004**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **التقنيات الاحيائية** |
| **اسم المشرف** | **أ.د. حسين حسن خانقاه أ.د. عصام فاضل الجميلي** |
| **اسم الباحث** | **سعيد محمد عوض إسماعيل** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير** |  **دكتوراه**√ |
| **عنوان الاطروحة** | **إستخلاص و توصيف أنزيم اليوريز من بكتريا المتقلبات المعزولة من مرضى خمج المجاري البولية في اليمن** |
| **السنة** | **2004** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **1 ) تتضمن هذه الدراسة عزل و تشخيص 67 عزلة من بكتريا المتقلبات Proteus spp. من بين 598 عينة من عينات مرضى خمج المسالك البولية في مناطق مختلفة من اليمن. و قد أوضحت النتائج وجود 433 عينة موجبة للزرع البكتريولوجي.****2 ) أظهرت الفحوصات التشخيصية وجود 62 عزلة (% 92.54) من بكتريا Proteus mirabilis بينما كانت العزلات الـ 5 المتبقية (% 7.46) هي لبكتريا Proteus vulgaris** **3 ) أختبرت حساسية العزلات تجاه 18 مضادا حيويا و أظهرت النتائج أن الأميكاسين هو المضاد الأكثر فعالية ضد العزلات المحلية و بنسبة مقاومة بلغت % 3.22 بينما كان الكلورمفنيكول هو المضاد الأقل فعالية ضد هذه العزلات و بنسبة مقاومة بلغت % 83.87.****4 ) أظهرت نتائج إختبارات المقاومة للمضادات الحيوية أن جميع العزلات المحلية لبكتريا المتقلبات تتصف بمقاومتها المتعددة بإستثناء العزلة رقم 37.****5 ) قسمت العزلات قيد الدراسة إلى 4 مجاميع إعتمادا على مقاومتها للمضادات الحيوية. ضمت المجموعة الأولى 14 عزلة مقاومة لـ 1 – 4 مضادات بينما ضمت المجموعة الثانية 19 عزلة قاومت 5 – 8 مضادات, أما المجموعة الثالثة فقد ضمت 23 عزلة مقاومة لـ 9 – 12 مضادا حيويا و ضمت المجموعة الرابعة 6 عزلات قاومت 13 – 14 مضادا. و قد أشارت النتائج إلى أن المجموعة الثالثة كانت هي المجموعة السائدة.****6 ) أشارت التحاليل إلى أن نسق المقاومة السائد هو لعشرة مضادات حيوية هي: A-C-Cb-Co-E-L-R-S-T-Pc و قد كان هناك جين مقاومة لمضاد واحد يضاف إلى نسق المقاومة السائد.****7 ) أستخدمت طريقة الأنابيب الشعرية و طريقة اليود القياسية للتحري عن إنتاج العزلات لأنزيمات البيتالاكتاميز و قد تبين أن 29 من مجموع 62 عزلة و بنسبة % 46.77 لبكتريا المتقلبات Proteus mirabilis كانت منتجة للأنزيمات.****8 ) أستخدمت طريقة الأقراص المتاخمة للكشف عن أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف و أظهرت النتائج أن هناك 8 عزلات (% 27.59) كانت موجبة للفحص.****9 ) أظهرت النتائج أن جميع العزلات المحلية كانت منتجة لأنزيم اليوريز و قد أختيرت السلالة PMS 17 كأفضل عزلة منتجة لليوريز.****10 ) لوحظ أن إنتاج اليوريز من النوع الذي يحث عند إضافة اليوريا إلى الوسط و قد كان أعلى إنتاجية لليوريز في وجود 0.15 مللي مولاري يوريا.****11 ) أستخلص اليوريز من السلالة PMS 17 المحلية و تمت عملية تنقيته بإستخدام كروماتوغرافيا عمود المبادل الأيوني DEAE-Sepharose و عمود هلام Sephacryl S-200 و قد بلغ عدد مرات التنقية لليوريز 145 مرة و بحصيلة 24 % و فعالية نوعية 386 وحدة / مللي جرام بروتين.****12 ) عند القيام بالترحيل الكهربائي لليوريز على هلام الاكريل أمايد المتعدد و تحت ظروف غير ماسخة للبروتين حزمة واحدة للفعالية بعد التصبيغ بوساطة صبغة الكوماسي الزرقاء جي 250 .****13 ) تم تعيين الوزن الجزيئي لليوريز بطريقتين, الأولى بوساطة كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي على عمود Sephacryl S-200 و قد بلغ 251000 دالتون. و الطريقة الثانية بوساطة الترحيل الكهربائي على هلام الاكريل أمايد المتعدد و تحت ظروف ماسخة للبروتين بوجود SDS و قد بلغ 47860 دالتون. و هذا يشير إلى أن اليوريز يتكون من نوعان من الوحدات التركيبية.****14 ) أشارت الدراسة الحالية إلى أن نقطة التعادل الكهربائي pI لليوريز المنقى و المستخلص من العزلة رقم 17 هو5.33.** **15 ) بلغت السرعة العظمى Vmax لليوريز 5053.5 وحدة/مليلتر بينما بلغت قيمة ثابت ميكايلس Km 14 مللي مولاري يوريا بإستخدام دارئ فوسفات الصوديوم (20 مللي مولاري)- EDTA (1 مللي مولاري) - β -mercaptoethanol (1 مللي مولاري) برقم هيدروجيني 7.5 و عند 37 º م.****16 ) بلغت درجة الحرارة المثلى لليوريز 37 º م بينما لوحظ وجود قيمتين للرقم الهيدروجيني الذي يعطي أعلى سرعة تفاعل و هما 7.5 و 9.5. بينما إحتفظ اليوريز بفعاليته كاملة عند الرقم الهيدروجيني من 6 إلى 9.5 و عند درجة حرارة من 20º م إلى40º م.****17 ) أختبرت فعالية اليوريز المنقى في وجود 12 من المركبات المختلفة و قد لوحظ أنها جميعا مثبطات لليوريز و يعد الفلوروفاميد الأفضل تثبيطا لليوريز. و قد كان تثبيط هذه المركبات لليوريز من النوع التنافسي بإستثناء البارا-بنزوكينون غير التنافسي.****18 ) حضر لقاح بكتيري من السلالة PMS 17 لبكتريا Proteus mirabilis و أستخدم في إحداث خمج المسالك البولية في الأرانب غير الممنعة و الممنعة مسبقا باليوريز إضافة إلى الأرانب التي عولجت بإعطائها جرعة من الفلوروفاميد يوميا. بعد ذلك قتلت الحيوانات بشكل أسبوعي و تم دراسة التغيرات العيانية للكلى و المثانة, و محتوى البكتريا لكل من الكلية و الإدرار إضافة إلى ملاحظة تكون الحصى البولية و تركيبها الكيميائي و قد كانت النتائج كما يلي:****أ ) أستدامة الخمج البكتيري في كل من كلى و مثانة الأرانب غير الممنعة و الممنعة مسبقا باليوريز إذ كان الإدرار و مجنسات الكلية موجبة الزرع طوال فترة التجربة. بينما لم يلاحظ الخمج لدى الحيوانات المعالجة بالفلوروفاميد.****ب ) كان إدرار جميع الحيوانات المخمجة الممنعة و غير الممنعة قلويا طوال فترة الدراسة نتيجة لفعالية اليوريز الذي يعمل على حلمهة اليوريا فيتحرر الأمونيا الذي يرفع الرقم الهيدروجيني مما يؤدي إلى تكوين الحصوات البولية. بينما كان إدرار الحيوانات المعالجة بالفلوروفاميد حمضيا.****جـ) لوحظ تكون حصى المثانة في % 50 و حصى الكلية في % 40 من الحيوانات المخمجة غير الممنعة بينما لوحظ تكون حصى المثانة في % 40 و حصى الكلية في % 30 من الحيوانات الممنعة. بينما لم يلاحظ وجود للحصى البولية في الحيوانات المعالجة بالفلوروفاميد.****د ) شكلت حصى الستروفيت النسبة الأكبر من بقية أنواع الحصى متبوعا بحصى كربونات الأبتايت و الحصى الخليط.** |