متعدد تفاعل سلسلة البوليميراز (بي سي ار) لتشخيص البروسيلا الإنسان

إعداد الطالب

باسم بن يحيى محمد القشقري

إشراف

أ. د. خالد بن عمر أبو النجا

المستخلص

المقدمة: داء البروسيلا هو مرض حيواني منتشر عالميا و قابل للانتقال إلى البشر. بكتريا البروسيلا المسببه لهذا المرض هيا بكتريا كرويه عصويه تعطي نتيجة سالبه مع صبغه غرام، وهذه البكتريا تصيب البشر عن طريق الابتلاع لمنتجات الحليب الغير مبستره والجبن وكذلك اللحم الغير مطوه جيدا. تشخيصيا هناك أربعه أنواع من البروسيلا الممرضة للبشر : البروسيلا المالطية ،والمجهضة، و الخنزيريه، وأخيرا بروسيلا الكلاب .

واختبار متعدد تفاعل البلوميراز (البي سي آر) يعد كاختبار قوي للكشف عم أنواع البروسيلا كل على حدا، في هذه الدراسة تم الكشف باستخدام التسلسل الجيني عن اثنان من البروسيلا المنتشرة محليا ، حيث أن كلا هذين النوعين تسببتا بمعدل ٨٠٠٠ حاله مرض بالبروسيلا عالميا حسب ماذكر في منظمات الصحة العاليمه .

طريقه العمل: مجموع مائه وواحد عينه سيرم لأشخاص مصابين بأعراض الحمى الحادة (أ.ح.ح) تم جمعها من مدينتين مختلفة تتبع للمنطقة الغربية (شمال وغرب) من المملكة العربية السعودية . جميع العينات أجري عليا عملية استخلاص الحمض الوراثي (الدي إن أي) ، والكشف عن تواجد جنس البروسيلا باستخدام بادئات بي٤\ بي٥ ،العينات التي أظهرت نتيجة إيجابيه تم فحصها باستخدام التفاعل المتعدد لبروسيلا الإنسان.

النتائج: أظهرت نتائج عينات المنطقة الشمالية الغربية أن حوالي نسبه (٨١,٩%) من عينات (أ.ح.ح) أعطت نتيجة إيجابيه لاختبار جنس البروسيلابي٤\بي٥. وبعد ذلك تم عمل إختبار متعدد التفاعل البوليمراز للكشف عن كل نو على حدا وكانت النتائج بأن (١٠%) من العينات كانت مصابه ببروسيلا المالطية بينما (٨%) كانت مصابه ببروسيلا المجهضة ومعدل (٨٢%) منها أعطت نتيجة مزدوجة لكلا النوعين السابقين. بنما عينات المنطقة الغربية الوسطى لم تظهر أي نتيجة بإصابتها بمرض البروسيلا.

الاستنتاجات: توصي هذه الدراسة بضرورة استخدام مرحلتين تشخيص بتقنية (البي سي آر)في الكشف عن داء البروسيلا ،وكذلك توصي بضرورة توفر قاعدة بيانات للدراسات البيئية لإنشار هذا المرض في المملكة العربية السعودية مخصصه لمرضى (أ.ح.ح) أعراض الحمى الحاده لسهوله التعامل مع المرض مستقبلا.

Multiplex PCR for Diagnosis of Human Brucellosis

By
Basim Yahya AL-Gashgari

Supervised By

Prof. Khalid O. Abulnaja

ABSTRACT

Introduction: Brucellosis is a zoonotic disease transmittable to humans globally . *Brucella*, Gram negative cocco bacilli, infested humans through the consumption of unpasteurized milk, cheese, and meat. Diagnostically, there are four mutual pathogenic *Brucella* species for both human and animals: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, and *Brucella canis*. Multiplex PCR is powerful differentiative technique to monitor the presence of Brucellea. In this study, two sequences of local Brucellea are targeted for their pathogenic contributions brucellosis is endemic, with more than 8000 cases reported each year to public health authorities.

Methods: Total of 101 Acute Fibril Illness (AFI) serum samples were collected from two different cities in the Tabuk and Jeddah west regions of the Kingdom of Saudi Arabia. All samples were subjected to DNA extraction, and *Brucella* genus specific B4/B5 DNA amplification. Positive B4/B5 patients subjected to multiplex species-specific *Brucella* amplification.

Results: concerning north west's samples, (81.9%) of AFI samples were confirmed to be positive. Positive B4/B5 patients subjected to multiplex species-specific *Brucella* amplification, which detects that *B. abortus* amplification in (10%) and *B. melitensis* in (8%) of the samples, while (82%) of samples showed double product of both *B. abortus* and *B. melitensis*. while all samples subjected form Jeddah proved to be non *Brucella*.

Conclusions:. This study recommends two stages PCR diagnosis for human brucellosis. Moreover; epidemiological database must be established in the Kingdom of Saudi Arabia to investigate such AFI patients for further information.