



جامعة الموصل
كلية التربية للبنات

**التشخيص المجهرى والجزيئى لطفيلي البوغيات الخبيئة
Cryptosporidium spp لدى الاطفال الذين يعانون من
الاسهال**

هبة قاسم محمد خلف العبيدي

رسالة ماجستير علوم في علوم الحياة

بإشراف

الاستاذ الدكتورة
هيام عادل ابراهيم الطائي

الأستاذ المساعد الدكتور
فراس محمد بشير الخشاب

2023 م

1445 هـ

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تشخيص طفيلي البوغيات الخبيثة والتعرف على مدى انتشاره عند الاطفال الذين يعانون من الاسهال خاصة الاطفال دون الخمس سنوات، وذلك من خلال طرائق التشخيص المجهري باستخدام صبغتي الزيل نلسن المحورة MZN والكيمزا وكذلك طرق التطوير باستخدام محلول الشذر السكري فضلا عن استخدام تقنية التشخيص الجزيئي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، حيث انجز الجانب العملي في مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للبنات / قسم علوم الحياة للفترة مابين بداية شهر تموز 2022 ولغاية نهاية شهر اذار 2023 اذ تضمنت الدراسة الحالية فحص (114) عينة برارز من المراجعين والراقدين في مستشفى ابن الاثير في محافظة نينوى ممن تتراوح اعمارهم (1-5) سنة ولكلا الجنسين، وظهر الفحص المجهري المباشر للعينات بواسطة صبغتي الزيل نلسن المحورة وصبغة الكيمزا وجود اكياس بيض الطفيلي بنسبة 37.71% وبواقع 43 عينة موجبة بينما بلغت نسبة الاصابة 31.57% لـ 36 عينة مصابة عن طريق الفحص المجهري غير المباشر بواسطة التطوير بالمحلول الشذر السكري .

تأثرت نسبة الاصابة بالعوامل الوبائية اذ سجلت الذكور نسبة اصابة اعلى مقارنة مع الاناث اذ بلغت نسبة الاصابة 39.7% و 33.3% على التوالي ، كما سجلت نسبة الاصابة فرق بحسب نوع السكن اذ بلغت نسبة الاصابة في الريف 38.66% وفي المدينة بلغت نسبة 35.89% فضلا عن ذلك سجلت الدراسة الحالية نسب اصابة مختلفة بحسب اشهر السنة اذ كانت اعلى نسبة اصابة في شهر تشرين الثاني بنسبة 72.27% في حين كانت ادنى نسبة اصابة تركزت في شهر شباط بنسبة 7.14% وسجلت الدراسة اعلى نسب الاصابة عند الفئة العمرية 3سنة_4سنة بنسبة 45.83%.

ومن خلال متابعة نتائج الفحص الجزيئي للاصابة بطفيلي البوغيات الخبيثة و لتحديد اظهرت نسبة الفحص الجزيئي نسبة اصابة اعلى من نسبة الاصابة بواسطة الفحص بالمجهري اذ بلغت النسبة 58.13% بواقع 25 عينة موجبة من اصل 43.

تمت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR من خلال استخدام بوائى محددة لجين بروتين جدار كيبس البيض COWP و اشتمل الفحص الجزيئي تفاعل البلمرة المتسلسل (Conventi) PCR اذ كشفت النتائج عن وجود حزمة واحدة (Single bond) في هلام الاكاروز Agarose gel ذات وزن جزيئي 650 زوج من القواعد النتروجينية Base pairs في الـ DNA المستخلص من عينات الاشخاص المصابين بداء البوغيات الخبيثة .

ولغرض متابعة التسلسل الجيني للعزلة قيد الدراسة تم استخدام تقنية DNA Sequencing لتحليل تسلسل العينات والبالغة عددها 10 عينات من اصل 25 عينة موجبة تم ارسالها ومطابقة التسلسلات الخاصة بالجينات مع تسلسلات الجينات الموثقة في المركز الوطني لمعلومات التقنيات

الحياتية (NCBI) اذ اظهر عزلة جديدة هي *Cryptosporidium hominis* لأول مرة في مدينة الموصل و سجلت بالتسلسل LC757376.1 والتي تشابهت بنسبة 88% مع العزلة الامريكية والمصرية وسجلت العزلة بأسماء الباحثين .

Abstract

The current study aimed to diagnose the *Cryptosporidium parvum* and identify the extent of its spread in children who suffer from diarrhea, especially children under five years of age, through microscopic diagnostic methods using the modified Ziehl Nelson stains MZN and Kimsa, as well as flotation methods using sugar fragment solution, in addition to using molecular diagnostic technology. Using polymerase chain reaction (PCR), the practical aspect was completed in the graduate studies laboratory at the College of Education for Girls / Department of Biology Sciences for the period between the beginning of July 2022 and the end of March 2023, as the current study included examining (114) stool samples from patients and patients hospitalized in Ibn Al-Atheer Hospital. In Nineveh Governorate, among those aged (1-5) years and for both sexes, direct microscopic examination of samples using modified Ziehl-Nelsen stain and Kimsa stain showed the presence of parasite egg cysts at a rate of 37.71%, with 43 positive samples, while the infection rate reached 31.57% for 36 samples infected by Indirect microscopic examination by fluorescence with glycolytic solution.

The infection rate was affected by epidemiological factors, as males recorded a higher infection rate compared to females, as the infection rate reached 39.7% and 33.3%, respectively. The infection rate also recorded a difference according to the type of residence, as the infection rate in the countryside reached 38.66% and in the city it reached 35.89%, in addition to The current study recorded different infection rates according to the months of the year, as the highest infection rate was in the month of November at a rate of 72.27%, while the lowest infection rate was concentrated in the month of February at a rate of 7.14%. The study

recorded the highest infection rates in the age group 3 years - 4 years at a rate of 45.83%.

By following up on the results of the molecular examination for infection with the *Cryptosporidium* parasite and determining it, the rate of molecular examination showed a higher rate of infection than the rate of infection by microscopic examination, as the rate reached 58.13%, with 25 positive samples out of 43.

The polymerase chain reaction (PCR) technique was carried out by using specific primers for the Cell Oocyst Wall Protein (COWP) gene. The molecular examination included the polymerase chain reaction (Conventional PCR), as the results revealed the presence of a single band in the agarose gel with a molecular weight of 650 base pairs. Nitrogenous base pairs in DNA extracted from samples of people infected with cryptosporidiosis

For the purpose of following up the genetic sequence of the isolate under study, DNA sequencing technology was used to analyze the sequence of the 10 samples out of 25 positive samples that were sent, and the gene sequences were matched with the gene sequences documented at the National Center for Biotechnology Information (NCBI), as a new isolate was revealed, which is *Cryptosporidium hominis*. For the first time in the city of Mosul, it was recorded in the sequence LC757376.1, which was 88% similar to the American and Egyptian isolates, and the isolate was recorded in the names of the researchers

University of Mosul
College of Education for Girl



**Microscopic and molecular diagnosis of
Cryptosporidium spp in children suffering from
diarrhea**

Hibba Qaseem Mohammed

M.Sc.

In

Biology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Firas M. B.Al-Khashab

Professor

Hyam Adel Ibrahim

2023 A.D

1445 A.H