



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة بكتريولوجية و وراثية لبكتريا *Streptococcus pyogenes* المعزولة من
مرضى مصابين بالتهاب اللوزتين في مدينة المقدادية

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / الاحياء المجهرية

من قبل

زينب عامر حاتم التميمي

بكالوريوس علوم الحياة / جامعة ديالى

بإشراف

الاستاذ المساعد

هادي رحمن رشيد الطائي

الاستاذ الدكتور

عباس عبود فرحان الدليمي

2013 م

1434 هـ

1- المقدمة

يعد الحلق المتقرح sore throat والتهاب البلعوم واللوزتين Tonsillopharyngitis من اكثر الاسباب التي تدعو لزيارة الطبيب من اجل التشخيص السريري والمعالجة. ان بكتريا المسبقيات القيحية *Streptococcus pyogenes* في مقدمة هذه الممرضات ومن الاصابات البكتيرية الشائعة التي تؤدي الى التهاب البلعوم واللوزتين (Jawetz^b et al.,2004).

بكتريا *Streptococcus pyogenes* موجبة لصبغة كرام ، غير متحركة، غير مكونة للابواغ ،مخمرة للسكريات ، سالبة لفحص الكاتاليز Catalase negative ، لاهوائية اختيارية Facultative anaerobes وتنتج منطقة كبيرة من التحلل الكامل نوع بيتا beta hemolysis بسبب تحلل كريات الدم الحمراء على وسط اكار الدم لذلك تسمى Group A Streptococci. تستوطن بكتريا *Streptococcus pyogenes* البلعوم والجلد بصورة رئيسية مسببة بذلك امراض التهاب البلعوم واللوزتين Tonsillopharyngitis ومرض القوباء (Carapetis et al.,2005). لا يتوفر اي لقاح صناعي لمنع الاصابات بهذا النوع من البكتريا (Henningham et al.,2012).

تمتلك المسبقيات وبالأخص بكتريا *Streptococcus pyogenes* والمسبقيات التابعة للمجاميع المصلية B,C,G العديد من العوامل التي تسهم في امراضيتها وضرورتها كالمحفظة Capsule و بروتين M-protein M التي تساعد في مقاومة البكتريا لعملية البلعمة Phagocytosis وتعمل على تسهيل التصاق واستعمار البكتريا للجهاز التنفسي العلوي. فضلا عن ذلك فأن لهذه البكتريا القدرة على انتاج المواد والانزيمات الخارج خلوية Extra cellular enzymes، اذ تنتج ما يزيد عن 20 نوع من الافرازات الخارجية ومنها انزيم الستربتوكاينيز والهيالودورينيز التي تسهم في انتشار الخمج وغزو البكتريا للانسجة من خلال حلها للخثرة والانسجة الرابطة للعائل لذا تعد من عوامل الانتشار Spreading factors (Cunningham ,2000).

تمتاز هذه البكتريا بمقاومتها المتزايدة لمضادات البيتالاكتام عن طريق انتاجها انزيمات البيتالاكتاميز التي تعمل على تحطيم حلقة البيتالاكتام وجعلها جزيئات غير فعالة حيويًا ، مما يزيد من خطورة هذه الانزيمات حصول الطفرات في الجينات المسؤولة عن تشفيرها لتحويلها الى انزيمات واسعة الطيف مقاومة لمضادات البيتالاكتام ومنها الاجيال المتطورة للسيفالوسبورينات (Nass et al, 2003).

يشفر لمقاومة المضادات الحيوية عناصر وراثية خارج كروموسومية Extra chromosomal genetic elements وتمتاز بكون هذه العناصر دائرية الشكل وتسمى البلازميدات Plasmids التي تشفر لمقاومة المضادات الحيوية وبعض الصفات المظهرية كأنتاج الهيمولايسين البكتيري والبكتريوسين (Stevens and Kaplan , 2000).

وللاسباب المذكورة اعلاه ولقلة توافر دراسات حول هذا الموضوع في محافظة ديالى بصورة موسعة ولخطورة هذه البكتريا بأحداث مرض التهاب اللوزتين بين الفئات العمرية، ولا سيما صغار السن لذا جاءت هذه الدراسة تهدف الى :

- 1 عزل بكتريا *Streptococcus pyogenes* وتشخيصها ومعرفة نسب الاصابة بحسب الفئات العمرية وجنس المرضى .
- 2 دراسة حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية حديثة الاستخدام في العراق .
- 3 دراسة بعض عوامل الضراوة المهمة .
- 4 قياس تركيز سم الستربتولاييسن O .
- 5 دراسة النسق البلازميدي Plasmid profile.
- 6 دراسة عملية تحييد البلازميدات Curing of plasmids وباستخدام ثلاث مواد هي . Acridine orange , Ethidium bromide, Sodium dodecyl sulfat

تم عزل 15 عزلة من بكتريا *Streptococcus pyogenes* وتشخيصها من اصل 200 عينة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين في مستشفى المقادمية العام والمراكز الصحية المتوافرة في القضاء للمدة من 2012/9/15 الى 2013/1/15 .

شخصت العزلات بأستخدام الاختبارات الزرعية ، والمجهرية ، والكيموحياتية فضلا عن التأكد من عائدية العزلات الى بكتريا *S.pyogenes* بأستخدام نظام Api 20 Strep .

اظهرت هذه الدراسة ان نسبة عالية من الاصابة بالمرض كانت في الفئة العمرية من 1-10 سنة وفي الذكور اكثر مما في الاناث ، اذ كانت في الذكور 45 اصابة وفي الاناث 30 اصابة.

وجد ان نتائج اختبار Antistreptolysin O titer ASOT بأى عيارية هذه الاضداد قد ارتفع عند مرضى التهاب اللوزتين المخمجين ببكتريا *S.pyogenes* كافة.

بينت نتائج التحري عن عوامل الضراوة لبكتريا *S.pyogenes* ان جميع العزلات منتجة للهيموليسين ونسبة 100% وجميعها محاطة بالمحفظة ونسبة 100%، والعزلات جميعها غير قادرة على انتاج البكتريوسين. بينما اظهرت 14 عزلة ونسبة 93.3% القدرة على انتاج انزيم الدنييز و 13 عزلة ونسبة 86.6% قادرة على انتاج الغشاء الحيوي و 11 عزلة ونسبة 73.3% منتجة انزيم الستاتيين بروتينيز و 9 ونسبة 60% قادرة على انتاج انزيم الستريبتوكاينيز .

لوحظ ان 10 عزلات ونسبة 66.6% لها القدرة على انتاج انزيم البيتالاكتاميز . وأشارت النتائج ان 8 عزلات ونسبة 53.3% من بكتريا *S.pyogenes* كانت منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف وبأستخدام اقراص Impinem-EDTA. اظهرت النتائج ان 5 عزلة ونسبة 33.3% منتجة لانزيمات الميتالوبيبتالاكتاميز .

اوضحت الدراسة الحالية ان العزلات المحلية لبكتريا *S.pyogenes* جميعها تتصف بمقاومتها المتعددة للمضادات الحيوية Multiple antibiotic resistance وقسمت العزلات الى مجموعتين اعتمادا على مقاومتها للمضادات الحيوية اذ ضمت المجموعة الاولى 13 عزلة مقاومة من 4-7 مضادات بينما المجموعة الثانية ضمت 2 عزلة مقاومة 8-11 مضاد .