المقدمة

Introduction

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة جزيئيّة وتشخيصيّة مقارنة لعزلات المكورات العنقودية الذهبية من مصادر بيئّية و مرضية

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة –الاحياء المجهرية

من قبل الطالبة

انسجام يعقوب كاظم الأركي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى2015

بإشراف

أ . د . عباس عبود فرحان الدليمي أ . م . د. غالب أدريس عطية

1438 هـ 2017م

١ – المقدمة Introduction

تُعدّ التربة بيئة ملائمة لنمو أنواع عديدة من الكائنات الحية التي تقطن التربة وتكاثرها والتي تشمل خمس مجاميع رئيسة هي الجراثيم (bacteria) والفطريات (fungi)، الفايروسات (viruses)، الطحالب (Algae)، والابتدائيات (protozoa) (Prescott واخرون ، 2005) . يختلف محتوى التربة من المجاميع الجرثومية إذ تحتوي على الأجناس المؤكسدة للكبريت والمثبتة للنتروجين والجراثيم المرضية والجراثيم المنتجة للمركبات المضادة للمايكروبات وفي التربة تلعب الجراثيم دوراً في تحليل المركبات الكيميائية وفي دورات العناصر في الطبيعة وإعادتها إلى التربة مثل دورات الكاربون والنتروجين والفسفور والكبريت (Nester واخرون ، 2001) . ومن الأنواع الجرثومية في التربة تلك التي تمتلك القابلية لتحليل المركبات العضوية عندما تكون الرطوبة عالية كالأنواع *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillius subtilis*، والجراثيم المثبتة للنتروجين والتي تكون بنوعين أما النوع المثبت للنتروجين بصورة تكافلية مثل أفراد الجنس Rhizobium الذي يعيش على جذور النباتات البقولية والأنواع المثبتة للنتروجين بصورة لا تكافلية إذ تعيش بصورة حرة مثل الأجناس *Flavobacterium*, *Azospirillium*, *Herbaspirillum*, *Azotobacter*, *Gluconobacteria*, *Agrobacterium* (Rodgers ، 1987). فضلاً عن أنواع لها القابلية لإنتاج مواد محددة لنمو أنواع أخرى من الجراثيم مثل *Bacillus megaterium* إذ يعمل على كبح نمو الفطريات الممرضة للنبات مثل *Rhizoctonia* و *Pseudomonas fluorescene* الكابحة لنمو *Alternaria helianthi* الممرض لنبات زهرة عباد الشمس وأنواع جرثومية ضمن الجنس

Actinomycetes كأفراد الجنس *Streptomyces* المنتج للمضادات الحيوية (Prescott واخرون ، 2005).

كما اصبحت مياه الشرب المصدر الرئيسي لحالات الاصابة بالامراض المختلفة ، مثل التايفوئيد والكوليرا والتهاب الكبد الفيروسي وحالات الاسهال الشديد وخاصة لدى الاطفال ومعظم هذه العوامل المرضية تصل الى المياه عن طريق امعاء الانسان والحيوان وخاصة بكتريا القولون colifom والمسبحيات البرازية *Streptococcus faecalis* والبكتريا اللاهوائية *Clostridum perferingens* وهذه الانواع تعايشية طبيعية في الامعاء الغليضة للانسان والحيوان ومن المؤكد انها دلالة على التلوث الحديث للمياه (Meyers ، 1995) . كما ان وجود هذه الانواع من البكتريا وغيرها من العوامل المرضية في مياه الشرب يُعدّ ملوثا إضافة الى انتقال التلوث عن طريق المياه الجوفية إذ تسمح خزانات المياه القذرة بنفاذ محتوياتها الى التربة المجاورة ومن ثم الى المصادر الاولية للشرب (الشبيب ، 1990) . ولا بِعد وجود كل انواع البكتريا هو مكمن الخطورة وانما يتم التركيز على البكتريا المرضية وخاصة المعوية منها والتي تسبب العديد من الامراض مثل اصابات الجهاز الهضمي ،الدزنتري ،التهاب الكبد ،حمى التيفوئيد والكوليرا (Sharon واخرون ، 2009)

تعد بكتريا المكورات العنقودية Staphylococci من الممرضات المهمة والخطيرة وذلك بسبب قدرتها على احداث انواع مختلفة من الاصابات في انسجة واعضاء مختلفة من الجسم ، وإنّ امراضيتها لها علاقة بقدرتها على انتاج العديد من عوامل الضراوة Virulance Factor والمتمثلة في انتاج الذيفانات Toxins والانزيمات خارج خلوية Extracellular enzymes التي تساعد البكتيريا وتمنحها القدرة على التضاعف

والانتشار داخل انسجة المضيف ، إضافة الى مقاومتها العالية والمتعددة لمضادات البيتالاكتام والامينوكلايكوسايد وهذا بدوره يجعلها من الممرضات الرئيسة المسببة للاصابات بعدوى المستشفيات Nosocomial infection (Namvar واخرون ، 2014) .

تُعد بكتيريا المكورات العنقودية واسعة الانتشار في الطبيعة ، إذ توجد في الهواء والتربة وعلى جلد الانسان والاغشية المخاطية والقناة التنفسية وتوجد بشكل نبيت طبيعي في انف وبلعوم الانسان ،و تسبب هذه البكتريا اصابات خطيرة من حالات الاصابة الجلدية العميقة وقد تنفذ الى الدم وكافة اعضاء الجسم مسببة تسمم الدم والتهابات صمامات القلب وغيرها من الامراض (Matthew ،2012) .

إنَّ إمراضية هذه البكتريا وقدرتها على غزو نسيج المضيف وانتشارها فيه، يعود الى امتلاكها الكثير من عوامل الضراوة كالمحفظة التي تساعد في مقاومة البكتريا لعملية البلعمة ، إضافة الى امتلاكها جدار الخلية الذي يعمل على مقاومة الجهاز المناعي للمضيف (O'Riodan و Lee ،2004) .

كما تمتلك بعض السلالات طبقة مخاطية تساعد على عملية الالتصاق ، واستيطان الخلية البكتيرية مع خلايا المضيف ، بالاضافة الى قدرتها على انتاج العديد من الذيفانات والانزيمات خارج خلوية التي تساعد البكتيريا في احداث الاصابة . مثل الانزيم المخثر لبلازما الدم الذي يكون له القدرة على تثبيط عملية البلعمة ، فضلا عن قدرتها على انتاج انزيمات اخرى تمثل عوامل انتشار (Spreading Factors) مثل انزيم الستافيلوكاينيز ، والبروتينيز ، واللايبيز التي تسهم في غزو البكتيريا للانسجة ، وانتشار الخمج وتعمل

على انتاج ذيفانات محللة للدم نوع الفا وبيتا وكاما ودلتا ، الى جانب انتاجها ذيفانات معوية تؤدي الى التسمم الغذائي (Ryan و Ray، 2004) .

ان تلوث الجروح والحروق بالبكتريا يعد من المشكلات الصحية التي يتعرض لها المرضى الراقدين في المستشفى لما تسببه من اخماج تُعرف باخماج المستشفيات Nosocomial infection ومن اكثر المرضى الذي يصابون بهذا النوع من الاخماج هم مرضى العناية المركزة في جميع انحاء العالم ، ولا سيما البلدان الناميّة .

وعلى الرغم من التقدم الحاصل في مجال الرعاية الطبية لمرضى الجروح والحروق فقد كان للمضادات الحيويّة منذ اكتشافها الاثر الكبير في خفض معدلات هذه الاصابة ، وقد اعطت نتائج جيدة في علاجها والسيطرة عليها والحد من انتشارها بشكل وبائي ، ولكنْ سوء استعمال هذه المضادات بشكل غير منتظم وغير مدروس ومن دون اجراء فحص الحساسيّة للمضادات الحيويّة ، ادى الى ظهور العديد من السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيويّة .

إنّ التطور الكبير في علم الاحياء الجزيئي وتقنيّات الهندسة الوراثيّة ادى الى استخدام تقنيّات متطورة وسريعة في الكشف عن جينات الفوعة او المقاومة للمضادات الحيويّة والتحري عن العناصر الوراثيّة ذات العلاقة بالامراضية من دون اللجوء الى الطرائق التقليديّة في العزل والتشخيص واختبار الحساسية للمضادات الحيوية (Nassif و Sansonetti، 1986) .

وقد اجريت هذه الدراسة للاهداف الأتية :-

1- عزل وتشخيص البكتريا من عينات التربة والمياه

2- التحري عن بعض عوامل الضراوة للعنقوديات الذهبية البيئية والمرضية .

3- دراسة الحساسيّة الدوائية لعزلات العنقوديّات الذهبيّة البيئيّة والمرضيّة

4- تشخيص البكتريا المعزولة من مصادر بيئية مختلفة جزيئيا باستعمال بوادى متخصصة والكشف عن جينات الضراوة و المقاومة *nuc* و *femA* بواسطة تقنية تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل .