جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

دراسة جزيئية ومناعية للمسببات المايكروبية الأكثر شيوعآ للأصابات المهبلية

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم –جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

رقية سعد نايف التميمي

بكلوريوس علوم الحياة/ كلية العلوم –جامعة ديالى (٢٠٢٠)

باشراف

الاستاذ المساعد

د.عباس محي العماري

٥١٤٤٦ ٢٠٢٤ م

Chapter One

Introduction

1. Introduction

Vaginitis is an inflammatory vaginal disorder, it initiate at cavity of vagina, this problem occur when the pathogenic microbes are growthsuch as viruses, bacteria, parasite or fungi. Microbial vaginitis are caused by *Candida albicans* or *Trichomonas vaginalis*, or by opportunistic bacteria as *Lactobacillus spp.* or presence of mainly in (Aerobic vaginitis) aerobic enteric commensals or pathogens, including Group B *Streptococcus* (*S.agalactiae*), *Enterococcus faecalis, Escherichia coli*, and *Staph. aureus)* or (Gram positive Bacilli) (Kalia *et al*., 2020)**.***Candida albicans* is present in vaginal secretions if there is a balance between bacteria and *C. albicans*, but in unbalanced cases, *Candida* can overgrow, which is known as candidiasis or yeast infection (Rodríguez-Cerdeira *et al.*,2020).

Virulence can be defined as a measure of the degree of pathogenicity or severity of the disease caused by pathogens in the host. No pathogen can cause infection unless it is virulent. Virulence is associated with genes that are acquired or lost during the evolutionary growth stages of the organism. These factors are in the form of enzymes, cell structures, fungal toxins, and other factors that facilitate the occurrence of disease and the survival of the pathogen. The virulence factor is often a characteristic specific to the specific fungal genus or species (Siscar-Lewin *et al.,* 2022).

The resistance of *Staph. aureus* bacteria to antibiotics occur resulted from the productions of many genes and enzymes by these bacteria, which play an effective role in resistance to antibiotics. It was found that resistance to penicillin and cephalosporin results from its ability to produce the enzyme β-Lactamase, which breaks down the ring of the penicillin molecule, while the resistance of bacteria to methicillin was found to result from the bacteria possessing genes called the mecA gene,

which encodes an alternative to penicillin bound to the protein, thus becoming less affinity for binding to β-Lactamase (Deurenberg and Stobberingh, 2008). T helper type 17 (Th17) cells are a part of CD4+ T cell that had played vital roles in regulate immune status against microbial pathogen in vaginal tract (Masson *et al.*, 2015).

1.2 : Aim of Study

The aim of study was for detection the substitution mutations of the most microbial causes of vaginitis among women with recurrent abortion in comparison with non aborted women (married and unmarried) and to study the role of IL-17 in vaginitis as immunological marker. To achieve this aim, the steps were:

1. Isolation of microbial causes of vaginitis from women with recurrent abortion and non aborted women (married and unmarried).
2. Cultural and molecular identifications of isolated microbial vaginitis
3. Detection of the substitution mutations of some virulence genes of identified vaginal microbes using genes sequencing method
4. Assesment of IL-17 in the pathogenicity of vaginitis using ELISA method.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى عزل وتحديد البكتيريا والفطريات من النساء المصابات بالتهاب المهبل. بعد ذلك، حددت الدراسة حساسية المضادات الحيوية لعزل البكتيريا والمبيضات البيضاء لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية. علاوة على ذلك، أجرت الدراسة تحديدًا جزيئيًا للجينات *Hwp1* و *Als5* في *C. albicans*، وجين *mecA* في المكورات العنقودية، وجيني *FimH* و *CsgA* في الاشيريكيا القولونية. أخيرًا، تم قياس بعض المعايير المناعية للحركيات الخلوية البين الابيضاض(IL-17).

جمعت (١٠٠) مسحة مهبلية من النساء اللاتي يعانين من أعراض العدوى المهبلية في مستشفى البتول للنسائية والاطفال ومستشفى بلدروز العام , من كانون الثاني الى نيسان ٢٠٢٤. تم تقسيم العينات إلى مجموعتين: المجموعة الأولى (٥٠) امرأة متزوجة تعاني من اجهاضات متكررة ولديهن التهابات في المهبل والمجموعة الثانية (٥٠) امرأة غير معرضات للاجهاض (متزوجات وغير متزوجات). في النساء المتزوجات، زاد أعلى معدل للإصابة بالعدوى المهبلية في الفئات العمرية (٢١–٢٩) التي كانت ٢٠ (٤٠٪)، ولكن أقل معدل للإصابة كان في الفئات العمرية <٢٠ التي كانت ٥ (١٠٪). اما في المجموعة الثانية، اظهرت الفئات العمرية ٢١–٢٩ و٣٠– ٣٩ سنة زيادة في الإصابة بالعدوى المهبلية، حيث أظهرت ١٩ (٣٨٪) و١٨ (٣٦٪) على التوالي أعلى معدل للإصابة عند قيمة P <0.05.

توصلت الدراسة الحالية إلى أن ٧٢ (٧٢٪) من إجمالي العينات أظهرت نتائج إيجابية لنمو البكتيريا والفطريات. وحددت الدراسة ٢٨ (٣٨.٩٪) عزلة من الإشريكية القولونية، و٢٤ (٣٣.٣٪) عزلة من العنقوديات الذهبية، و٢٠ (٢٧.٨٪) عزلة من المبيضة البيضاء، وذلك بناءً على طريقتين تشخيصيتين: الفحص المجهري ونتائج الزراعة المختبرية على مختلف الاوساط الزرعية وأظهرت نتائج الدراسة أن المبيضات قادرة على تحلل الدم بنسبة ٨٥.٧٪.

تم إجراء اختبار مقاومة المضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار القرص المعدل وفقًا لإرشادات CLSI. تم استخدام ستة مضادات حيوية، بما في ذلك (كليندامايسين، ميترونيدازول، أزيثروميسين، أميكاسين، كلورامفينيكول ونورفلوكساسين)، على أطباق مولر هنتون. كانت الايشريكية القولونية والبكتيريا المكورات العنقودية أكثر مقاومة للمضادات الحيوية Clindamycin و Metronidazole، تليها

المضادات الحيوية Azithromycin والتي سجلت في النساء المصابات بالتهاب المهبل. كانت الايشريكية القولونية حساسة للمضادات الحيوية Clindamycin و Amikacin، في حين كانت مقاومة للميترونيدازول و Clindamycin لمجموع البكتيريا (١٥). وكذلك كانت مقاومة المكورات العنقودية الذهبية لـ (Clindamycin و Metronidazole و Azithromycin) لمجموع البكتيريا (١٠)، أكثر حساسية للمضادات الحيوية Clindamycin و Norfloxacin. علاوة على ذلك كانت ٣ عزلات لكانديدا البيضاء حساسة للنيستاتين والميكونوزال، في حين كانت مقاومة للفلوكونازول والفوريكونازول.

ووفقاً للدراسة الجزيئية، أظهرت نتائج PCR أن عزلات *C. albicans* حاوية لجينات Als5 وHwp1 وبنسبة لكلا الجينين (٦٩.٢٪). كانت جميع عزلات *E. coli* إيجابية لجينات CsgA و FimH. وبلغت نسبة MecA في عزلات المكورات العنقودية الذهبية بنسبة (٦٦.٧٪). أظهرت نتائج التسلسل الجيني أن جميع عزلات بكتيريا *C. albicans* لم يكن لديها أي طفرات بديلة لكلا الجينين. بالنسبة لبكتريا E. coli، فإن إحدى العزلات لديها طفرة إحلال لجين CsgA بينما جميع العزلات لديها طفرات إحلال لجين FimH. عزلتان من بكتريا Staph. aureus لديها طفرات بديلة لجين MecA.

وأشارت الدراسة إلى اختلافات معنوية في مستوى IL-17 ($P < 0.001$) بين العدوى المهبلية لدى النساء المتزوجات اللاتي أجرين الإجهاض عند مقارنتهم مع النساء غير المجهضات.