جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جـــــامـــعـــة ديـــــإلى
كـلـيـة الـتربـية للعلوم الصرفة
قـسـم عـــلـــوم الـحـــيـــاة

التحري المظهري و الجزيئي عن بعض عوامل الضراوة لبكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من مرضى التهاب الجلد التأتبي و دراسة حساسيتها للمضادات الحياتية

بحث مُقدَّم إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديإلى

كجزء من متطلبات نيل شهادة الدبلوم العالي في علوم الحياة

من قبل

كوثر محسن جبر

كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم – جامعة بغداد

بكالوريوس علوم الحياة (2001–2002)

بإشراف

أ. م. د زينب حسين مهدي

1445هـ 2023 م

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
Diyala University
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology

Morphological and Molecular Investigation of Some Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* Isolated from Atopic Dermatitis Patients and Study Its Sensitivity to Antibiotics

Report

Submitted to the Council of College of Education for Pure Sciences University of Diyala as in partial fulfillment for the requirements of the degree of Higher diploma of Science in biology

By

Kawther Mohsin Jebur

College of Education for Pure Sciences - Ibn Al-Haitham

Baghdad University

B.Sc.Biology (2001-2002)

Supervised by

Assist.Prof. Dr. Zainab Hussein Mahdi

2023 A.C 1445 A.H

1. المقدمة Introduction

تعد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من أَكثر أَنواع البكتريا خطورة في اصابات الجلد والأَنسجة الرخوة لأن لها القابلية على مقاومة أَغلب المضادات الحيوية بالاضافة إلى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة ، وغالباً ما تميل إلى الانتشار بين أَفراد الأُسرة الواحدة ، إذ إن بعض الأشخاص الأصحاء قد يكونون حاملين لبكتريا *S. aureus* (Swaney وآخرون ، 2023). وترتبط بكتريا *S. aureus* بمعدل الإمراضيات والوفيات Morbidity and Mortality (Ortwine وآخرون، 2018).

يُعد الجلد أَحد أهم الأَماكن التي تستطيع البكتريا من خلاله الوصول بصورة مباشرة إلى داخل الجسم، وبالتالي يمكن أَن يكون بيئة مثالية لبعض أنواع البكتريا ومنها *S. aureus* باعتبارها من أهم البكتريا المسببة للأمراض بما في ذلك إصابات الجلد والإصابات الجهازية وتساهم بشكل كبير في الالتهابات المكتسبة في المستشفى والمجتمع في جميع إنحاء العالم(Yassin ، 2022).

يعد التهاب الجلد التأتبي أحد الأمراض الجلدية الشائعة، ويتميز بتهيج الجلد والحكة الشديدة والجفاف والتشققات، ولكن بشكل عام فإن التهاب الجلد التأتبي يتميز بظهور بقع جافة على الجلد وحكة شديدة ، ويمكن أن يظهر التهاب الجلد التأتبي في أي جزء من الجسم، وخاصة في المناطق الحساسة مثل الوجه والرقبة واليدين والقدمين. وعندما يتم خدش هذه البقع، فإن ذلك يؤدي إلى تفاقم الحالة وظهور التشققات والجروح (George وآخرون ، 2019)

ويمكن أن يتفاقم مرض التهاب الجلد التأتبي بسبب العوامل الخارجية مثل التعرض للبرد أو الحرارة الشديدة أو المواد الكيميائية او عوامل اخرى ، ويمكن أن يزيد الإجهاد والقلق من

خطر تفاقم التهاب الجلد التأتبي ايضا. وعادة ما يتم علاج التهاب الجلد التأتبي باستخدام المرطبات والكريمات الخاصة بالتهاب الجلد التأتبي، وفي بعض الحالات الشديدة، يمكن استخدام الستيرويدات الموضعية أو العلاجات المناعية (Hu وآخرون ، 2021)

أن ظهور سلالات لبكتريا *S. aureus* مقاومة للمضادات الحيوية أصبح يشكل احد المشاكل الطبية الرئيسة لأسباب عديده منها انتشار هذه السلالات بالتالي يحدد الخيارات امام العلاج ، وقد اظهرت تجارب الاقتران البكتيري امكانية أنتقال جينات مقاومة من انواع بكتريا مختلفة إلى بكتريا *S. aureus* (Koh وآخرون ، 2022).

نظراً لإنتشار مرض التهاب الجلد التأتبي ، ولكون التشخيص السريع والصحيح يعد خطوة في طريق العلاج والشفاء عن طريق استخدام التقنيات الجزيئية الحديثة ومنها تقنية تفاعل البلمرة (PCR) Polymerase Chain Reaction الذي يساعد في التحري عن البكتريا ومنها *S. aureus* عن طريق الكشف عن الجينات المشفرة لعوامل الضراوة وتعزيز المعلومات الوبائية عند التحري عن البكتريا ، وقد اعتمدت عليها الكثير من الدراسات الحديثة (Wang وآخرون ، 2021 ; Yassin ، 2022).

نظراً لأهمية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وامراضيتها العالية ومقاومتها لبعض المضادات الحيويه من جهة و علاقتها النسبية بالمرضى المصابين بمرض التهاب الجلد التأتبي من جهة اخرى ، و قلة الدراسات في العراق عن علاقة بكتريا *S. aureus* بتفاقم مرض التهاب الجلد التأتبي ، جاءت هذه الدراسه لتهدف إلى حل مشكلة كبيرة من وجهة نظر الطب والصحة العامة من خلال الخطوات التالية :

1- عزل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* من المسحات المأخوذة من جلد المرضى المصابين بالتهاب الجلد التأتبي و زرعها و تنميتها على اوساط زرعية متنوعة.

2- تشخيص لبكتريا *S. aureus* بالتشخيص الزرعي Culture Diagnosis، التشخيص المجهري Microscopic Diagnosis ، الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests، والتشخيص باستخدام الفايتك VITEK2 compact system و الاختبارات المظهرية Morphological tests لبعض الانزيمات مثل انزيم انحلال الدم Hemolysin، انزيم تخثر البلازما Coagulase.

3- اجراء اختبار الحساسيه لبكتريا *S. aureus* لبعض المضادات الحيوية شائعه الاستخدام باستخدام الفايتك VITEK2 compact system.

4- دراسة علاقة بكتريا *S. aureus* بمرض التهاب الجلد التأتبي من نواحي متعددة مثل: عمر و جنس المصاب ، الشدة و المدة الزمنية للاصابة ، الحالة الوراثية للعائلة مع مرض التهاب الجلد التأتبي.

5- الكشف الجزيئي عن بعض عوامل الضراوة لبكتريا *S. aureus* و الجينات المشفرة لها : الذيفان القاتل لكريات الدم البيض Panton - Valentine - Leukocidin (PVL) و الجين المشفر له *pvl* ، انزيم انحلال الدم α-hemolysin و الجين المشفر له *hla* ، ذيفان تقشر الجلد Exfoliative toxin A و الجين المشفر له *eta* و الأنزيم المخثر للبلازما Coagulase و الجين المشفر له *coa*.

Abstract :

Staphylococcus aureus is considered an opportunistic pathogen due to its possession of many virulence factors and its multi-antibiotic resistance, as it is present mainly on the skin and mucous membranes. The current study aimed to isolate and diagnose *Staphylococcus aureus* bacteria from eczema and to study some factors of their virulence both phenotypically and genetically.

As 52 (82.54%) isolates of this bacteria were isolated from a total of (100) samples collected from the skin of patients with eczema of both sexes from Al-Kindi Teaching Hospital, Baghdad Teaching Hospital and some specialized dermatological clinics during the period from 21/2/2023 to 21/5/2023. The isolates were diagnosed using conventional diagnostic methods based on biochemical, culture and microscopic characteristics, and using the Vitek 2 device.

The results of the current study showed that the highest percentage of eczema infection was for females, which amounted to 30 (57.7%) isolates, compared to males, which amounted to 22 (42.3%) isolates, and that the incidence of chronic eczema amounted to 39 (75%) isolates, and was higher than acute eczema, which amounted to 13 (25%) isolates.

The results also showed that the highest infection was in children of the age group (one month - 10 years), as it reached 18 (34.6%) isolates, and the lowest infection was in the age group (50-41) years, which was 3 (5.8%) isolates, and that there is a relationship between the genetic family history of eczema disease and the possibility of infection , as among the studied isolates 34 (65.38%) had a positive genetic family history of the

disease, and the result of moderate eczema was higher than the severe and mild cases.

The results of the study showed that all 20 (100%) of *S. aureus* isolates were resistant to the following antibiotics (Clindamycin, Piperacillin/Tazobactam, Erythromycin). While the resistance to the rest of the antibiotics varied from different groups. The results of the phenotypic detection of some virulence factors showed the ability of the studied isolates to produce alpha-hemolaycin enzyme by 15 (75%) and coagulase enzyme by 17 (85%).

The results of the molecular study using the polymerase chain reaction technique showed that the studied isolates possessed some virulence genes, as the results were that the *S. aureus* isolates possessed the *eta* gene by 9 (45%), the *pvl* gene by 6 (30%), and the hla gene by 10 (50). %), *coa* gene by 13 (65%).