Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

دراسة جزيئية لأنزيمات السورتيز في بكتريا *Streptococcus pyogenes* المعزولة من مرضى إلتهاب اللوزتين في مدينة كركوك

زاكاو حميد سعيد الشواني[1] ، إبراهيم صالح احمد الجبوري[2]

[1]قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كركوك

[1]Zakao1978_30@yahoo.com

[2]كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كركوك

[2]gns19677@yahoo.com

تاريخ استلام البحث : 10 / 9 / 2014 تاريخ قبول البحث : 7 / 1 / 2015

الملخص

من مجموع (300) مسحة لوزتين تم الحصول عليها من مرضى تتراوح أعمارهم بين (2–60) سنة ومن كلا الجنسين يعانون من التهاب اللوزتين من المراجعين لعدد من مراكز الرعاية الصحية الأولية في مدينة كركوك للفترة من تشرين الثاني (2012) الى أيار (2013) ، تم عزل (16) عزلة فقط من بكتريا المكورات المسبحية القيحية ***Streptococcus pyogenes*** شخصت بواسطة الطرق البكتريولوجية القياسية وتقنية تفاعل البلمرة التسلسل (PCR) باستخدام الجين التشخيصي (***spy1258***) .

تم استخدام بادئات نوعية (Primers) في تقنية الـ (PCR) للتحري عن الجينات (***srtA***، ***srtB*** و***srtC***) المسؤولة عن التشفير لأنزيمات السورتيز (SrtA، SrtB و SrtC) على التوالي، وقد أظهرت النتائج امتلاك كافة العزلات للجين (***srtA***)وبنسبة (100%) في حين أظهرت (7) عزلات فقط احتوائها للجين (***srtB***) وبنسبة (43.75%)، بينما أظهرت (13) عزلة احتوائها للجين (***srtC***) وبنسبة (81.25%). إن تضخيم دنا البكتريا المسبحية القيحية أظهرت بان (7) عزلات تمتلك الجينات للأنواع الثلاثة من أنزيم السورتيز (SrtA، SrtB و SrtC).

الكلمات الدالة: إلتهاب اللوزتين ، المكورات المسبحية القيحية ، أنزيمات السورتيز .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

Molecular Study of Sortase Enzyme in Streptococcus pyogenes Isolated From Patients With Tonsillitis in Kirkuk City

Zakao H. Saeed Al-Shwany[1] , Ibraheem S. Ahmed Al-Jebori[2]

[1]University of Kirkuk / College of Science / Department of Biology

Zakao1978_30@yahoo.com

[2]University of Kirkuk / College of Education for Pure Sciences

Received date : 10 / 9 / 2014 **Accepted date : 7 / 1 / 2015**

ABSTRACT

From a total of (300) throat swabs collected from patients suffering from tonsillitis whom they attend to some of Primary Health Care Centers in Kirkuk City during the period from November (2012) to May (2013). Patients age were from (2-60) years .Only (16) isolates of Strep. pyogenes were obtained. These isolates detected by standard bacteriological methods and by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique by detecting the presence of the diagnostic gene (spy1258). Specific primers were used for the detection of the genes (srtA, srtB and srtC) which encode for sortase enzymes (SrtA, SrtB and SrtC) respectively. The results showed that all of the (16) isolates of Strep. pyogenes contain the gene (srtA) with a percentage of (100%), while only (7) isolates with a percentage of (43.75%) contain the gene (srtB), whereas (13) isolates with a percentage of (81.25%) contain the gene (srtC). Streptococcus pyogenes DNA amplification reveal that only (7) isolates has had all three enzymes.

Key words: *Tonsillitis , Streptococcus pyogenes , Sortase enzymes.*

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

1.المقدمة (Introduction)

يعد إلتهاب اللوزتين Tonsillitis من الأمراض الشائعة والتي تصيب الأشخاص من كلا الجنسين وفي مختلف الأعمار وخاصة في المراحل الأولى من العمر[1] ، ومن أهم الأنواع البكتيرية المسببة لهذا الإلتهاب هي بكتريا المكورات المسبحية القيحية *Streptococcus pyogenes* التي تكون مسؤولة عن حوالي (10-20%) من الحالات [2].

تسبب بكتريا *Strep. pyogenes* بالإضافة الى إلتهاب اللوزتين مدى واسع من الأمراض تتراوح من إصابات خفيفة ومعتدلة كالتهاب البلعوم Pharyngitis والحصف Impetigo الى إصابات خطرة مهددة للحياة كمتلازمة الصدمة السمية المسبحية Streptococcal Toxic Shock Syndrome (STSS) والحمى القرمزية Scarlet Fever (SF) كما أنها تسبب العديد من الأمراض كمضاعفات متأخرة لما بعد الإصابة مثل الحمى الرثوية Rheumatic Fever (RF) والتهاب كبيبات الكلى الحاد Acute Glomerulonephritis (AGN) [3].

تعود قابلية *Strep. pyogenes* على إحداث مدى واسع من الأمراض الى امتلاكها للعديد من عوامل الضراوة التي تكون بعضها جزءاً من البنية المستضدية للخلية البكتيرية مثل المحفظة Capsule والبروتينات السطحية Surface proteins للجدار الخلوي [4]، وهناك العديد من الأنزيمات التي تلعب دوراً مهماً في عملية ربط هذه البروتينات بسطح الخلية البكتيرية ومنها مجموعة أنزيمات السورتيز Sortase Enzymes والتي اصبحت دراستها ذات أهمية كبيرة بهدف إيجاد وتطوير عوامل جديدة وغير مسبوقة من المضادات البكتيرية [5].

أظهرت الأبحاث الوراثية أن هناك عائلة كبيرة ومتنوعة من أنزيمات السورتيز و التي صنفت الى أربعة مجاميع هي : (SrtA، SrtB، SrtC و SrtD) ونوع واحد من هذه الأنواع يقوم بربط معظم البروتينات السطحية بالجدار الخلوي في العديد من البكتريا الموجبة لصبغة كرام ويعتبر الأنزيم الأساسي House Keeping وغالبا مايكون الـ (SrtA) والأنواع الأخرى تعتبر مساعدة أو ثانوية ومكرسة لوظائف أكثر تخصصا [6] . استهدفت الدراسة الحالية ما يأتي:- عزل وتشخيص بكتريا *Strep. pyogenes* من مرضى إلتهاب اللوزتين في مدينة كركوك باستخدام الطرائق التشخيصية البكتريولوجية والمصلية، الكشف عن وجود الجين التشخيصي (*spy*1258) في عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* قيد الدراسة باستخدام تقنية الـ (PCR) و الكشف عن وجود الجينات المشفرة لأنزيمات السورتيز النوع A ، النوع B و النوع C في عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* قيد الدراسة باستخدام تقنية الـ (PCR).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

2.المواد وطرائق العمل (Experimental)

العينات

جمعت (300) مسحة لوزتين من الأشخاص المصابين بالتهاب اللوزتين والمراجعين لبعض مراكز الرعاية الصحية الأولية في مدينة كركوك في الفترة من تشرين الثاني (2012) الى أيار (2013)، ونقلت القطيلات Cotton Swaps ونقلت الى المختبر وبدون تأخير لغرض الاستنبات وإجراء تضخيم الدنا.

العزل والتشخيص

تم استخدام وسط اكار الدم والازايد Azide blood agar (CDH, India) كوسط انتقائي لتثبيط نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام والفطريات المتواجدة في الفم ، زرعت عليها المسحات المأخوذة من المرضى وحضنت في درجة حرارة (37 °) م لمدة(24–48) ساعة ومن ثم زرعت المستعمرات النامية على وسط اكار الدم blood Agar (LAB, England). وتم تشخيص البكتريا بالاعتماد على الطرائق التشخيصية المذكورة في [7] من خلال ملاحظة المنطقة الرائقة من التحلل الدموي التام التي تحيط بمستعمراتها على وسط اكار الدم، واصطباغ خلاياها بصبغة كرام، النتيجة السالبة لفحص الكاتليز، حساسيتها لقرص الباستراسين التفريقي (BBL, USA) ذو التركيز (0.04) وحدة، وتلا زنها مع المصل المضاد لمجموعة (A) ضمن مجاميع لانسفيلد باستخدام العدة التشخيصية الجاهزة Streptex Kit (Remel, England).

إستخلاص الدنا (DNA) الجينومي

تم استخلاص الدنا (DNA) الجينومي بكتريا *Strep. pyogenes* قيد الدراسة حسب ما جاء في تعليمات الشركة المصنعة لعدة استخلاص الدنا الجينومي (Promega, USA) . تم قياس تركيز ونقاوة عينات الدنا بواسطة جهاز قياس الكثافة الضوئية Nanodrop Spectrophotometer (ND–1000,USA) حيث إن أفضل نقاوة للدنا تكون مابين (1.6– 1.8)، وأفضل تركيز للدنا مابين (5–50) نانوغرام \مايكروليتر.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

عمليات تفاعل البلمرة المتسلسل

أجريت عمليات تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن الجين التشخيصي (*spy*1258) وكذلك الجينات المشفرة لأنزيمات السورتيز (*SrtA*، *SrtB* و *SrtC*) في كل عزلة من العزلات التي شخصت بأنها بكتريا *Strep. pyogenes* حسب الفحوصات البكتريولوجية والمصلية. كل (20) مايكروليتر من خليط تفاعل الـ (PCR) احتوت على (2) مايكروليتر من البادئ الأمامي و(2) مايكروليتر من البادئ الخلفي و (3) مايكروليتر من الـ (premix) المجهز من شركة (Bioneer, Korea) و (5) مايكروليتر من الـ(DNA) المستخلص و (8) مايكروليتر من الماء المقطر الخالي من الايونات. البادئات المستخدمة تم تجهيزها من قبل شركة (Bioneer, Korea) وكما هي موضحة في الجدول (1) . وتمت عمليات التضخيم بواسطة جهاز المبلمر الحراري الحلقي Thermal Cycler (Long Gene, China) وتمت برمجة الدورات الحرارية لكل جين وكما هو موضح في الجداول (2)، (3)، (4) و (5) .

جدول(1): البادئات المتخصصة المستخدمة في تفاعلات الـ (PCR)

اسم البادئ	تتابع البادئ	الهدف من الاستعمال	حجم التضخيم زوج قاعدة	المصدر
Spy1258F Spy1258R	AAAGACCGCCTTAACCACCT T GG CAA GGT AAA CTT CTA AAG CA	تشخيص بكتريا *Strep. pyogenes*	407	[8]
SrtAF SrtAR	CTTAGGATCCGTCTTGCAAGCACAAATGG ATGTTCTCGAGCTAGGTAGATACTTGGTTATAAGA	التحري عن جين *srtA*	500	[5]
SrtBF SrtBR	GGTGTGGCAAAAGGCTAAGG GCACACACTACTTCTGCCC	التحري عن جين *srtB*	500	[9]
SrtCF SrtCR	GCATTTAAAACAGCTCAACAACAGCC GCCTTTGTTGGTCTTGATTGG	التحري عن جين *srtC*	370	[9]

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

جدول(2): خطوات البرنامج المستخدم في تفاعل الـ (PCR) بالنسبة للجين (*spy*1258)

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
المسخ الأولي	(94°) م	(4) دقيقة	1
المسخ	(94°) م	(20) ثانية	30
الارتباط	(50°) م	(20) ثانية	
الاستطالة	(72°) م	(45) ثانية	
الاستطالة النهائية	(72°) م	(7) دقيقة	1

جدول(3): خطوات البرنامج المستخدم في تفاعل الـ (PCR) بالنسبة للجين (*srtA*)

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
المسخ الأولي	(94°) م	(3) دقيقة	1
المسخ	(94°) م	(2) دقيقة	28
الارتباط	(56°) م	(1) دقيقة	
الاستطالة	(72°) م	(1) دقيقة	
الاستطالة النهائية	(72°) م	(10) دقيقة	1

جدول(4): خطوات البرنامج المستخدم في تفاعل الـ (PCR) بالنسبة للجين (*srtB*)

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
المسخ الأولي	(94°) م	(5) دقيقة	1
المسخ	(94°) م	(1) دقيقة	30
الارتباط	(45°) م	(1) دقيقة	
الاستطالة	(72°) م	(1) دقيقة	
الاستطالة النهائية	(72°) م	(10) دقيقة	1

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

جدول(5): خطوات البرنامج المستخدم في تفاعل الـ (PCR) بالنسبة للجين (*srtC*)

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
المسخ الأولي	(95°) م	(2.5) دقيقة	1
المسخ	(94°) م	(30) ثانية	30
الارتباط	(51°) م	(30) ثانية	
الاستطالة	(72°) م	(30) ثانية	
الاستطالة النهائية	(72°) م	(7) دقيقة	1

وتم الكشف عن نواتج التضخيم بترحيل العينات كهربائيا على هلام الاكاروز بتركيز (1%) لمدة (50–60) دقيقة وبفرق جهد مقداره (70) فولت ، وتم تقدير الأحجام الجزيئية للحزم المتكونة عن نواتج التضخيم بالمقارنة مع الحزم ذات الأوزان الجزيئية المعلومة للدليل الحجمي (100bp DNA Ladder) والمجهز من شركة (Bioneer, Korea) بعد فحص الهلام تحت الأشعة فوق البنفسجية (U.V Light).

3.النتائج والمناقشة (Results & Discussion)

تم في الدراسة الحالية جمع (300) مسحة لوزتين من مرضى يعانون من التهاب اللوزتين من كلا الجنسين وتتراوح أعمارهم بين (2–60) قد توافدوا على عدد من مراكز الرعاية الصحية الأولية في مدينة كركوك للفترة من تشرين الثاني (2012) لغاية أيار (2013). تم الحصول على (32) عزلة بكتيرية عائدة للمكورات المسبحية المحللة للدم نوع بيتا Beta–hemolytic Streptococci(BHS) وبنسبة (10.66%) من المجموع الكلي للعينات وهي قريبة من النسبة التي حصلت عليها الباحثة [10]. في حين جاءت النسبة منخفضة مقارنة بعدد من الدراسات المحلية [11,12,13,14]، وكانت (16) عزلة منها تابعة للمكورات المسبحية القيحية (Group A Streptococci) *Strep. pyogenes* أي ما يشكل (50%) من مجموع عزلات الـ (BHS) وهذه النسبة جاءت متقاربة مع النسبة التي حصل عليها باحثون آخرون [13,15].

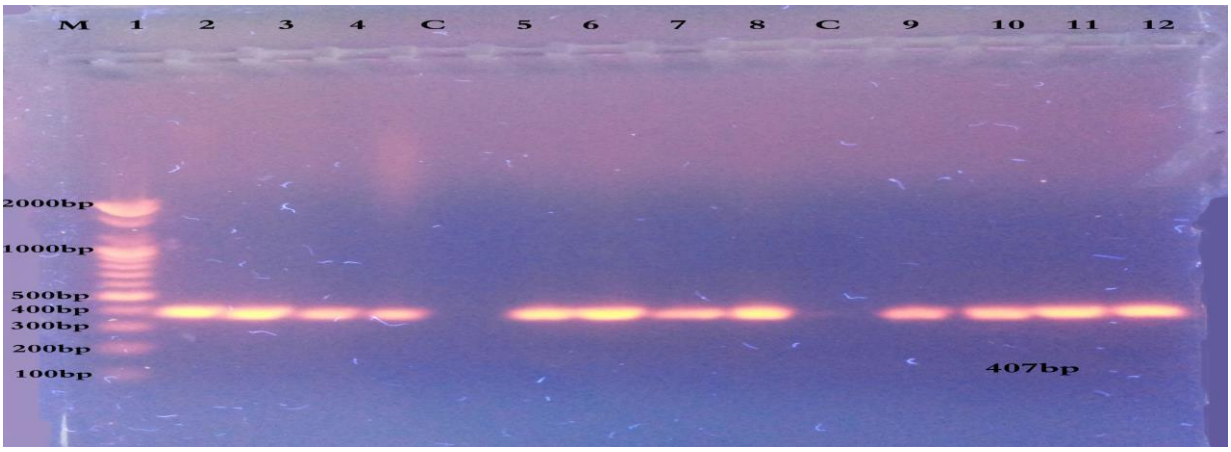
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

في حين جاءت مرتفعة مقارنة مع دراسات أخرى محلية وعالمية [12,14,16]، كما جاءت منخفضة بالمقارنة مع دراسات محلية أخرى [10,11,17].

وضمن المجموع الكلي للعينات شكلت عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* نسبة (5.33%) وهي نسبة منخفضة بالمقارنة مع دراسات عديدة محلية، عربية وعالمية [16,18,19,20,21,22,23]. يمكن أن يعزى اختلاف نسب العزل الى عدة أسباب منها: (1) اختلاف التقنيات المستخدمة في عزل البكتريا، (2) اختلاف أهداف الدراسة والفئات العمرية التي تعتمد عليها الدراسة، فالدراسات التي تجرى على فئة الأطفال تكون نسبة العزل فيها أكثر من غيرها، (3) التناول العشوائي للمضادات، مما ينتج عنها أحيانا نتيجة زرع سالبة خاطئة، (4) الموسم الذي يتم فيه جمع العينات يؤثر أيضا على نسبة عزل البكتريا إذ أن بعض المواسم تكون فيه نسبة الإصابة أكثر من غيرها نظرا للظروف المناخية وحالات الازدحام، (5) الحالة الاقتصادية والاجتماعية للمرضى قيد الدراسة .

تم في الدراسة الحالية تأكيد تشخيص عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* بواسطة تقنية الـ (PCR) وأظهرت النتائج الموضحة في الشكل(1) وجود الحزمة التشخيصية للجين (*spy*1258) ذو الوزن الجزيئي (407) زوج قاعدة في جميع العزلات التي أعطت نتيجة موجبة للتلازن مع المصل المضاد للمجموعة (A) ضمن مجاميع لانسفيلد بواسطة الفحص المصلي، أي أن تقنية الـ (PCR) كانت حساسة (100%) في تشخيص عزلات البكتريا قيد الدراسة وجاءت هذه النتيجة متطابقة مع نتائج دراسات أخرى في أجريت من قبل [8, 13] في حين كانت مختلفة مع دراسة أخرى قام بها [16] اذ حصل على نتيجة موجبة لوجود الجين (*spy*1258) في (21) عزلة من أصل (24) عزلة مشخصة بالطريقة المصلية أي أن الـ (PCR) كانت حساسة بنسبة (87.5%) بالنسبة لوجود هذا الجين .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849



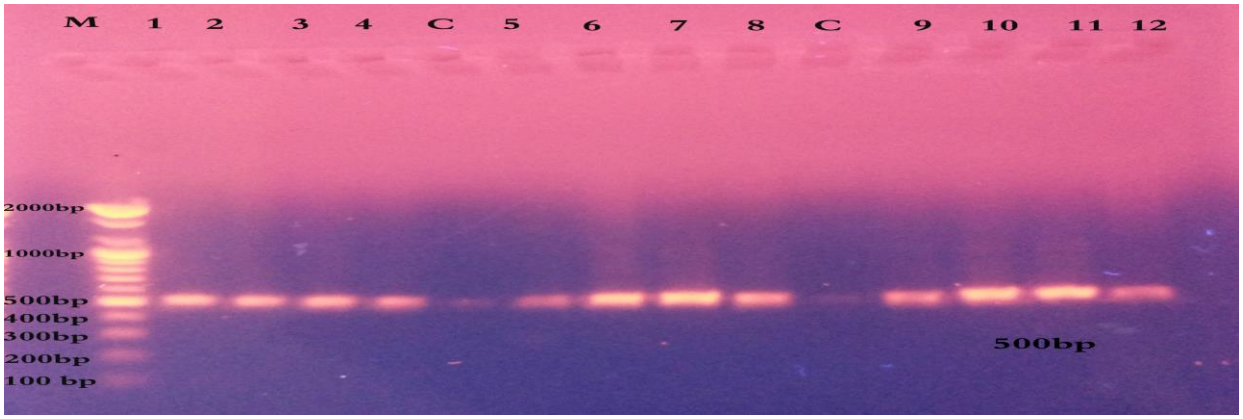
الشكل(1): الترحيل الكهربائي لنواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* باستخدام بادئات متخصصة للكشف عن الجين (*spy*1258) التشخيصي.

المسار M الدليل الحجمي (100 bp DNA Ladder)

المسار (1–12) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* حاوية على الجين (*spy*1258)

المسار (C) السيطرة السالبة Negative control

وفيما يتعلق بوجود الجينات المشفرة لأنزيمات السورتيز أظهرت نتائج عملية الـ (PCR) الموضحة في الشكل(2) امتلاك جميع عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* قيد الدراسة وبنسبة (100%) للجين (*srtA*) وجاءت هذه النتيجة مطابقة لنتائج دراسات أخرى محلية وعالمية [9,19,24] وهذا ما يؤكد بان (srtA) هو السورتيز الأساسي في بكتريا *Strep. pyogenes* ويقوم بربط العديد من البروتينات بسطح الخلية البكتيرية.

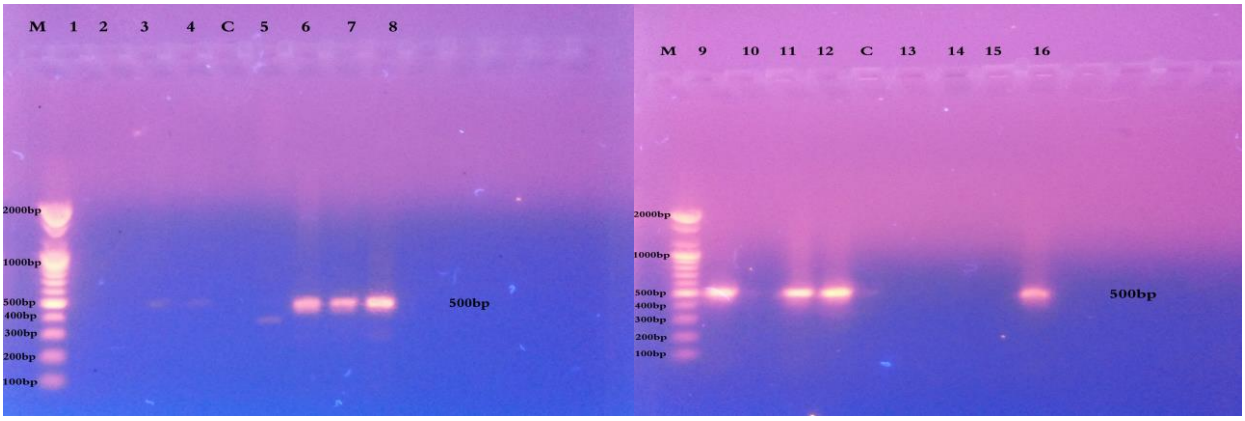


الشكل(2): الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل الـ (PCR) للكشف عن جين (*srtA*)

المسار (1–12) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* حاوية على الجين (*srtA*)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

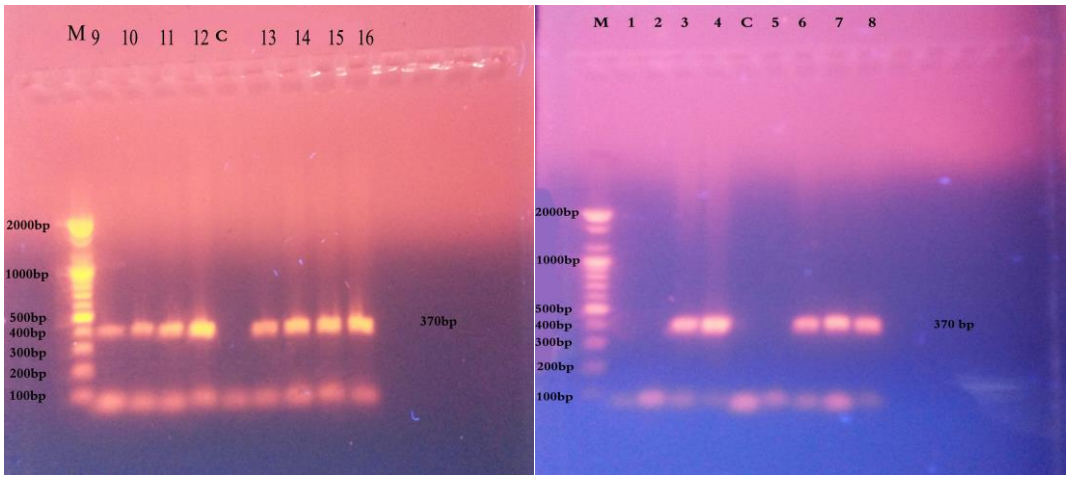
أما بالنسبة للجين (*srtB*) فقد أظهرت نتائج عملية الـ (PCR) الموضحة في الشكلين(3-أ) و(3-ب) امتلاك (7) عزلات فقط وبنسبة (43.75%) لهذا الجين وهي نتيجة مقاربة لما حصل عليه [24] ومختلفة مع النتائج التي تم الحصول عليها في دراسات أخرى [9, 19]، ويعتقد بان الجين (*srtB*) مهم في بعض سلالات بكتريا *Strep. pyogenes* التابعة لعدد محدود من الأنماط المصلية وربما هذه السلالات تشفر لبروتينات سطحية محددة مثل البروتين (T6) اذ وجد بأنه موجود فقط في السلالات الحاوية على هذا الجين [24]، كما وجد بان (T6) من المكونات الرئيسية لأهداب بكتريا *Strep. pyogenes* [25].



الشكل(3): الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل الـ (PCR) للكشف عن جين (*srtB*)
المسار (6,7,8 9,11,12,16) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* حاوية على الجين (*srtB*)
المسار (1,2,3,4,5,10,13,14,15) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* غير حاوية على الجين (*srtB*)

كما أظهرت النتائج امتلاك (13) عزلة وبنسبة (81.25%) من عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* قيد الدراسة للجين (*srtC*) المسؤول عن التشفير للأنزيم (SrtC) وهذا الأنزيم موجود بشكل واسع في البكتريا الموجبة لصبغة كرام ووظيفتها ربط الوحدات الأساسية المكونة للأهداب والتي هي مهمة في عملية التصاق البكتريا بأسطح خلايا المضيف ، وكذلك في تكوين الغشاء الحيوي Biofilm [26]، وعلى أية حال فان نتائج هذه الدراسة تشير الى أن الأنواع الثلاثة (A، B و C) لأنزيمات السورتيز يمكن أن يشفر لها في عزلة واحدة من بكتريا *Strep. pyogenes* .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849



الشكل(4): الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل الـ (PCR) للكشف عن جين (*srtC*)

المسار (3,4,6,7,8, 9,10,11,12,13,14,15,16) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* حاوية على الجين (*srtC*)

المسار (1,2,5) نواتج الـ (PCR) لدنا عزلات بكتريا *Strep. pyogenes* غير حاوية على الجين (*srtC*)

المصادر (References)

[1] B.A.Forbes, D.F.Sahm, and A.S.Weissfeld, ***Baily and Scott's Diagnostic Microbiology.*** 12th edit. Mosby, Elsevier, 2007, USA.

[2] R.V.Goering, H.M.Dockrell, D.Wakelin, M.Zuckerman, P.L.Chiodini, I.M. Roitt and C.Mims, Mims'Medical microbiology. 4th edit. ***Elsevier Health Sciences***, 2007, China.

[3] N.N.Lynskey, R.A.Lawrenson and S.Sriskandan, ***New understanding in Streptococcus pyogenes***, Current Opinion Infectious Diseases, 24, (2011), 3, pp.(196-202).

[4] A.L.Borek, K.Obszanska, W.Hryniewicz and L.Sitkiewicz, ***Detection of Streptococcus pyogenes Virulence factors by multiplex PCR.*** Virulence, 3, (2012), 6, pp.(529-533).

[5] P.R.Race, M.L.Bently, J.A.Melvin, A.Crow, R.K.Hughes, W.D.Smith, R.B.Sessions, M.A.Kehoe, D.G.McCafferty and M.J.Banfield, ***Crystal Structure of Streptococcus pyogenes Sortase*** A: ***Implications For Sortase Mechanism***. The Journal of Biological Chemistry, 284, (2009), 11, pp.(6924-6933).

[6] H.Joo Kang, F.Coulibaly, T.Proft and E.N. Baker, Crystal Structure of Spy 0129, *a* ***Streptococcus pyogenes Class B Sortase Involved in Pilus Assembly***. PLoS ONE, 6, (2011) e: 15969.

[7] M.W.Cunningham, ***Pathogenesis of Group A Streptococcal infections. Clinical Microbiology Reviews***, 13, (2000), 3, pp.(470-511) .

[8] D.Liu, S.Hollingshead, E.Swiatlo, M.L.Lawrence and F.W.Austin, ***Rapid identification of Streptococcus pyogenes with PCR primers from a putative transcriptional regulator gene***. Research in Microbiology, 156, (2005), 4, pp.(564-567).

[9] T.C.Barnett, A.R.Patel and J.R.Scott, ***A Novel Sortase, SrtC2, from Streptococcus pyogenes Anchors a Surface Protein Containing A QVPTGV Motif to the Cell Wall***. Journal of Bacteriology, 186, (2004), 17, pp.(5865-5875).

[10] ندى عربي حمدو العاني، رسالة ماجستير عن ***دراسة تأثير المستضد الخارق المنتج من بكتريا Streptococcus pyogenes المعزولة من الأطفال على بعض الخلايا المناعية***، جامعة بغداد، (2001)، بغداد، العراق.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

[11] I.M.Zahid, Ph.D.Study of Epidemilogical Study on β-Hemolytic Streptococci (BHS) Isolated Among Children of Baghdad. ***The Detection of Antibiotic Resistance Genes***. Baghdad University, (2007), Baghdad, Iraq.

[12] H.H.A.Al-Hababy, M.Sc. ***Study of Bacteriological and Immunological Study on Group -A- Streptococci Isolated From Patients in Babylon Province***. Babylon University, (2010), Babylon. Iraq.

[13] S.M.S.Al-Khalifawi, M.Sc. thesis. ***Microbiological Study on Group A Beta-Hemolytic Streptococci Isolated From Patients With Tonsillitis in Ramadi City***. Al-Anbar University, (2010), Anbar, Iraq.

[14] S.Al-Mudafter, R.Hassan, H.Saleem and I.Saleem, ***Purification and Characterization of Streptococcus pyogenes Super antigen (Spe-C)***, Baghdad Science Journal, 8, (2011), 4, pp.(956-961)

[15] I.Brook, P.Yocum and E.M.Friedman, ***Aerobic and anaerobic bacteria in tonsils of children with recurrent tonsillitis***, The Annals of otology, rhinology, and laryngology, 90, (1981), 3pt1, pp.(261-263).

[16] E.M.Dunne, J.L.Marshall, C.A.Baker, J.Manning, G.Gonis, M.H.Danchin, P.R.Smeesters, C.Satzke and A.C. Steer, ***Detection of group a streptococcal pharyngitis by quantitative PCR***. BioMed Central Infectious Diseases, 13, (2013), 312, pp.(1-7).

[17] إسراء عدنان إبراهيم البغدادي، رسالة ماجستير عن ***دراسة بكتريولوجية وراثية للمسبحيات المعزولة من اخماج الجهاز التنفسي العلوي***، جامعة بابل، (2006)، بابل، العراق.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

[18] R.Y.Yousif, S.A.Faza'a and R.Y.Yousif, ***Comparison of the Bacteriology of Tonsil Surface and Core in Bacterial Profile Isolated From Children With Chronic Tonsillitis***, Medical Journal of Babylon, 7 , (2010), 1-2, pp.(52-57).

[19] M.S.A.Razak and R.F. Al-Jebori, ***Molecular Study of Sortase Enzyme and Characterization of Some Virulence Factors in Streptococcus pyogenes***. Medical Journal of Babylon, 9, (2012), 1, pp.(74-83).

[20] عصام جاسم الخليفاوي، ***الجراثيم المسببة لالتهاب اللوزتين عند الأطفال ، دراسة مقاومتها للمضادات الحياتية وتأثير مستخلص نبات القرنفل في عزلات منتخبة***، مجلة بغداد للعلوم، 10، (2013)، 4، الصفحات (1135-1143).

[21] P.Yang, X.Peng, D.Zhang, S.Wu, Y.Liu, S.Cui, G.Lu, W.Duan, W.Shi, S.Liu, J.Li and Q.Wang, ***Group A Streptococcus Strains Circulating During Scarlet Fever Epidemic***, Beijing, China, 2011, Emerging Infection Diseases, 19, (2013), 6, pp.(909-915).

[22] D.S.Allos, R.H.A.Rahman and W.A.Al-Kharofa, ***Isolation and Identification of the Bacteria Causing Acute Tonsillitis***, Tikrit Medical Journal, 15, (2009), 1, pp.(100-103).

[23] M.M.S.Saleh, ***Streptococcal Throat Infection Among Yemeni Children***, Iraqi Journal of Science, 50, (2009). 1, pp.(126-135).

[24] T.C.Barnett and J.R.Scott, ***Differential Recognition of Surface Proteins in Streptococcus pyogenes by Two Sortase Gene Homlogs***. Journal of Bacteriology, 184,(2002), 8, pp.(2181-2191).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(227-241)
ISSN 1992 – 0849

[25] J.LeMieux, S.Woody and A.Camilli, ***Roles of the RlrA Pilus***. Journal of Bacteriology, 190, (2008), 17, pp.(6002-6013).

[26] C.Linke, P.G.Young, H.J.Kang, R.D.Bunder, M.J.Middleditch, T.T.Caradoc-Davies, T.Proft and E.N.Baker, ***Crystal structure of the minor pilin FctB reveals determinants of Group A streptococcal pilus anchoring***. Journal of Biological Chemistry, 285, (2010), 26, pp.(20381-20389).

المؤلف

زاكاو حميد سعيد صادق: بكالوريوس علوم الحياة-الأحياء المجهرية – كلية العلوم – جامعة الموصل- عام 2000 ، ماجستير علوم الحياة – الأحياء المجهرية- كلية العلوم- جامعة كركوك عام 2014 .