جامعة الموصل
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

العلاقة المظهرية والجينية للعنقوديات الذهبية المعزولة من اصابات مختلفة والتأثير التثبيطي للمضادات الحيوية والدقائق النانوية وفيتامين C عليها

ريام ثامر غازي حامد الحيالي

علوم الحياة / الاحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ الدكتورة اسراء غانم حازم السماك

1442هـ

2020 م

الخلاصة

جمعت 120 عينة من إصابات مرضية مختلفة :(جروح ، خراجات ، اخماج مجاري بولية وعينات دم) للمدة من ايلول 2019 الى كانون الاول 2019 من المرضى الراقدين في مستشفى السلام ومستشفى الخنساء والمراجعين لمختبر الصحة العامة في مدينة الموصل.

زرعت العينات على وسط اكار الملح والمانيتول Mannitol Salt Agar اظهرت 105 عينة نمواً على وسط اكار الملح والمانيتول. تم الحصول على 50 عزلة مخمرة لسكر المانيتول وبنسبة 47.6%. واستناداً الى الصفات المظهرية وانتاج انزيم التجلط شخصت الى 14 عزلة وبنسبة 13.3 % تابعة للنوع *Staphylococcus aureus* واكد التشخيص باستخدام نظام الفايتك. نسبة العزل الاعلى كانت من الجروح 57% ثم الخراجات 21% وعينات الدم 14% واخماج المجاري البولية 7% .

تم اختبار حساسية 14 عزلة بكتيرية لـ 16 مضادا حيويا، اظهرت العزلات تباينا من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية وأبدت أغلبها مقاومة عالية بنسبة 92.8% لكل من Oxacillin و Vancomycin وTetracycline التي شخصت بأنها عزلات Methicillin (MRSA) Resistant *Staphylococcus aureus* و Vancomycin Resistant (VRSA) *Staphylococcus aureus* على التوالي ، ومقاومة لـ Erythromycin وبنسبة 85.7 % ، ونسبة 100% مقاومة لكل من الـ Penicillin ، Cefoxitin ، Bacitracin ومقاومة للمضادات الحيوية Nitrofurantoin 64.2 % ، Chloramphenicol 71.4 % ، Gentamicin و Clindamycin 42.8 % ، Fusidic acid 50% ، Trimethoprim-sulphamethoxazole 57.1% وبنسبة 14.2% لكل من Ciprofloxacin ، Amikacin واظهرت جميع العزلات حساسية لمضاد الـ Levofloxacin .

حددت التراكيز الدنيا MIC لثلاثة مضادات اظهرت اغلب العزلات مقاومة لها وهم الـ Vancomycin وتراوحت مابين (2500–5000) مكغم/ سم^3 ومابين (1250–5000) مكغم/ سم^3 لكل من Erythromycin و Fusidic acid .

وحددت التراكيز المثبطة الدنيا للدقائق النانوية لأوكسيد الزنك النانوي ZnO ذي الاحجام (30,20 ,50–150) nm وثاني اوكسيد التيتانيوم TiO_2 ذو الاحجام (10 ، 50 ، 100) nm والتي تراوح بين (5000–10000) مكغم/ سم^3 للعزلات كافة.

حدد التركيز المثبط الادنى لفيتامين C لوحده وتراوحت بين (750–1500) مكغم/ سم^3.

اظهرت نتائج الدراسة تاثيرا تازريا للمضادات الحيوية Vancomycin ، Erythromycin و Fusidic acid مع الدقائق النانوية وبفعالية جيدة من خلال تثبيط النمو البكتيري للسلالات المقاومة للمضادات الحيوية اذ انخفضت قيمة الـMIC لمضاد الـ Vancomycin من (2500–5000) مكغم\سم^3 الى (39–78.125) مكغم/ سم^3 عند مزجه مع كل من الدقائق النانوية ZnO بحجم 20 nm وTiO_2 بحجم 10 nm . وفي الوقت نفسه انخفضت قيمة الـ MIC للدقائق النانوية ZnO 20 nm

و TiO_2 nm 10 من (10000–5000) مكغم/ سم^3 الى (156.25–78.125) مكغم/ سم^3 عند مزجها مع الـVancomycin إذ كان اكثر المضادات تأثرا وانخفضت الى (312.5–78.125) مكغم/ سم^3 عند مزجها مع كل من Erythromycin و Fusidic acid.

وأعطى فيتامين C تاثيرا تازريا مع كل من مضاد الـ Vancomycin ، Erythromycin و Fusidic acid وبفعالية جيدة من خلال انخفاض قيمة الـMIC . اذ انخفضت قيمة الـ MIC من (5000–1250) مكغم/ سم^3 الى (156.25–78.125) مكغم/ سم^3 لكل من الـ Vancomycin و Erythromycin وبين (156.25–39) مكغم/ سم^3 لمضاد Fusidic acid . وأنخفضت قيمة الـMIC لفيتامين C من (1500–750) مكغم/ سم^3 الى(46.875–11.718) مكغم/ سم^3 عند مزجه مع مضاد الـ Vancomycin.

كما انخفضت قيمة الـ MIC للدقائق النانوية المتازرة مع فيتامين C من (10000–5000) مكغم/ سم^3 الى (312.5–78.125) مكغم/ سم^3 لكل العزلات قيد الدراسة ، كما انخفضت قيمة الـMIC لفيتامين C من (1500–750) مكغم/ سم^3 الى(46.875–11.718) مكغم/ سم^3 عند مزجه مع كل من nm 20 ZnO و TiO_2 nm 10.

وانخفض قيمة الـ MIC للدقائق النانوية باحجامهم المختلفة والمضادات الحيوية عند اضافة فيتامين C تراوحت قيمة الـMIC للدقائق النانوية والمضادات الحيوية المتازرة بين (312.5–39) مكغم/ سم^3 و (78.125–9.76) مكغم/ سم^3 على التوالي .

عرضت 14 عزلة لاختبار تفاعلات السلسلة المبلمرة PCR باستخدام البادئات الخاصة للتحري عن جين *blaZ* المسؤول عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز وجين *mecA* المسؤول عن مقاومة المثيسيلين وقد اظهرت النتائج وجود تباين في المحتوى الجيني للعزلات البكتيرية إذ وجد الجين *blaZ* في 13 عزلة قيد الدراسة والتابعة لنوع *Staph. aureus* الـMRSA و VRSA وبحجم 173bp اما الجين *mecA* فوجد في 9 عزلات وبحجم 1150 bp.

شخصت 9 عزلات عن طريق مقارنة تتابعات جزء 16srDNA في المركز الوطني لمعلومات التقانات الحياتية National Center for Biotechnology Information (NCBI) وذلك باستخدام برنامج الـ Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) ، انها تابعة للنوع *Staph. aureus* توزعت في عنقودين A و B ضمن المخطط الشجري اذ ارتبطت 6 عزلات عند مستوى تشابه 95% ضمن العنقود A في حين تعنقدت 3 عزلات ضمن العنقود B وايضا عن مستوى تشابه 95% باستخدام برنامج Molecular Evolutionary Genetics analysis – Mega7 وطريقة Clustal W والمعدل غير الموزون Unweighted pair group method (UPGMA) with arithmetic mean.

Abstract

One hundred and Twenty (120) samples were collected from various pathogenic sources (wounds, abscesses, urinary tract infections and blood samples) for the period from September 2019 to December 2019 from patients admitted to Al-Salam Hospital and Al-Khansa Hospital and visitors to the Public Health Laboratory in the city of Mosul.

Samples were cultured on Mannitol Salt Agar medium, 105 samples showed growth on the medium of Mannitol Salt Agar. 50 isolates were fermented mannitol sugar, at a rate of 47.6% depending on the phenotypic characteristics and production of Coagulase, 14 isolates were identified, at a rate of 13.3%, belonging to *Staphylococcus aureus* the diagnosis were confirmed using VITEK system. The highest isolation rate from wounds was 57% , then abscesses 21% , blood samples 14% , and urinary tract infections 7%.

The sensitivity of the isolates was tested for 16 antibiotics, the isolates showed variation in their resistance to antibiotics. Most of the isolates showed high resistance at 92.8% to each of Oxacillin, Vancomycin and Tetracycline, which were diagnosed as MRSA and VRSA. Erythromycin resistance at 85.7% , 100% were resistance to Penicillin , Cefoxitin and Bacitracin and moderate antibiotic resistance to Nitrofurantoin at 64.2%, Chloramphenicol 71.4%, Gentamicin, Clindamycin 42.8%, Fusidic acid 50% and Trimethoprim sulphamethoxazole 57.1% and 14.2% for both Ciprofloxacin and Amikacin and all isolates were sensitive to Levofloxacin .

The minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined for three antibiotics, which most isolates showed resistance, the Vancomycin, ranged between (2500-5000) mcg/cm^3 and between (1250-5000) mg /cm^3 for both of Erythromycin and Fusidic acid.

University of Mosul

College of Science

Biology Department

Phentic and Phylogenetic Relatedness *Staphylococcus aureus* Isolated from Different Infections and The Inhibitory Effect of Antibiotics, Nanoparticles and Vitamin C on it

Reyam Thamer Ghazi Hamed

AL-Heyaly

M.Sc Thesis

Biology / Microbiology

Supervised By

Prof. Dr. Essra Ghanem Hazem

AL-Sammak

1442 A.H. **2020 A.D.**