

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul / College of Sciences
Department of Biology



Molecular Diagnosis of Human Papilloma Virus (HPV) Genotypes from Women with Genital Warts in Mosul City

Ghufran Mohammed Jasim Hasan Al Azzawi

M.Sc. / Thesis

Biology / Microbiology

Supervised by
Assistant Professor

Dr. Anmar Ahmed Dawood Sulaiman Al Taie

2024 A.D.

1446 A.H.

Summary

The current study aims to investigate the genotypic distribution and prevalence of Human Papillomavirus (HPV) from women with different genital warts in Mosul/Iraq . The HPV nucleic acid by Polymerase Chain Reaction (PCR), and the sequencing analysis of the amplified HPV L1 gene compared with that in the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

The study also aims to analyze the phylogenetic tree including the minimum spanning trees of the amplified HPV L1 gene to compare the present sequences with the similar genotypes in GenBank – NCBI using the Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) -11- software. The detection of the HPV antigen using the Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) is another objective of the study.

One hundred fifty samples were collected from women with genital warts infections and analyzed. The patients ranged from 19 to 58 years old and were classified into four age groups. The detection of HPV nucleic acid DNA was examined in all samples using the conventional PCR to amplify the HPV L1 gene using specific primers MY09/MY11 (450 bp) and GP+5/+6 (150 bp).The amplified HPV L1 sequences were sent to Macrogen (Macrogen Co., Seoul, Korea) for identification .

A total of 127 (84.6%) of virus genotypes were isolated and identified. The HPV-positive results across all age groups with the highest frequency (32% and 28.6%) were observed in the 19–28 and 29–38 age groups respectively

The isolated viruses have 89–100% sequence similarities with the nucleotide sequences recorded at the National Center for Biotechnology Information. The results showed that Women in Mosul/ Iraq who have genital warts were more likely to have different genotypes of HPV. Out of the 84.6% isolated samples, there was 92% of Low-Risk (LR-HPV) genotypes included 60.5% HPV11, 20.5% HPV6, and 11 % HPV10. The rest 8% with High-Risk (HR-HPV) genotypes including (4%) of each HPV (16 and 45). The were

The analysis of the phylogenetic trees reveals genetic relationships between our isolates and global isolates ranging from (10% -100%) bootstrap ratio. This indicates a phylogenetic relationship (divergent and convergent evolution). This refers to the diversity of virus genotypes that were common in Mosul/Iraq.

The immunological detection results by ELISA were not efficient in detecting the HPV antigen in sera or tissue samples, because of 127 PCR positive results, only 3% were positive in ELISA using tissue samples. However, there were no positive results in sera.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى دراسة توزيع وانتشار فيروس الورم الحليمي البشري لدى النساء المصابات بالثآليل التناسلية المختلفة في مدينة الموصل في العراق والتحري عن الحمض النووي للفيروس بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بالاضافة الى تحليل التسلسل للجين المضخم (HPV L1) ومقارنته بالجين الموجود في المركز الوطني لمعلومات التقنية الحيوية (NCBI). كما تهدف الدراسة ايضا الى تحليل الشجرة الوراثية التطورية لمقارنة التسلسلات الحالية مع أنماط جينية مماثلة في مصرف الجينات (NCBI) باستخدام برنامج تحليل الوراثة التطوري الجزيئي (MEGA 7) والتحري عن مستضد الفيروس باستخدام فحص المقايسة الامتصاصية المناعية للانزيم (ELISA).

تم جمع مائة وخمسين عينة تضمنت عينات نسيجية ومسحات لعنق الرحم وفرشات من عنق الرحم وعينات مصل الدم من مستشفى الزهراوي الاهلي و مستشفى الموصل العام ومستشفيات اخرى تابعة لمدينة الموصل للفترة من شهر اب لسنة ٢٠٢٣ الى شهر نيسان لسنة ٢٠٢٤. وقد تراوحت اعمار المرضى من ١٩-٥٨ سنة وتم تصنيفهم إلى أربع فئات عمرية حيث تم التحري عن وجود الحمض النووي لفيروس HPV في جميع العينات باستخدام بادئات الجينين MY09/MY11 450 bp و GP+5/+6 150 bp والتي اجريت في المختبر المركزي لجامعة الموصل في كلية العلوم. وتم بعد ذلك عزل وتشخيص مائة وسبع وعشرين نمط جيني للفيروس % ٨٤.6 وقد لوحظت اعلى النسب % ٣٢ و % ٢٨.6 في الفئات العمرية ٢٨-١٩ و ٢٩-٣٨ سنة .

تطابقت عينات الفيروس مع تسلسلات النيوكليوتيدات المسجلة في المركز القومي لمعلومات التقنية الحيوية بنسبة ٨٩-١٠٠٪. ومن الارجح ان يكون لدى النساء المصابات بالثآليل التناسلية في مدينة الموصل في العراق انماط جينية مختلفة لفيروس HPV. من % ٨٤,٦ كان ٨٪ للانماط الجينية عالية الخطورة حيث شملت ٤٪ لكل من النمط الجيني HPV 16 و HPV45 بينما النسبة العالية كانت ٩٢٪ للانماط الجينية واطئة الخطورة وشملت % ٦٠,٥ للنمط الجيني HPV11 , % ٢٠,٥ للنمط الجيني HPV6 و % ١١ للنمط الجيني HPV10 .

كشف تحليل الشجرة الوراثية التطورية عن وجود علاقة وراثية بين عزلات والعزلات العالمية تتراوح بين (١٠٪ - ١٠٠٪) نسبة وهذا يدل على وجود علاقات تطورية (تباعد و تقارب) وهذا يعني التنوع في الأنماط الجينية للفيروس شائعة في الموصل في العراق. ولم تكن نتائج فحص المقايسة الامتصاصية المناعية للانزيم (ELISA) للتحري عن مستضد الفيروس مجدية حيث اظهرت نتائج سلبية لعينات مصل الدم ونسبة ٣٪ لعينات النسيج لنفس المرضى اللذين اظهروا نتائج ايجابية بفحص تفاعل البلمرة المتسلسل.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التشخيص الجزيئي للأنماط الجينية لفايروس الورم الحليمي البشري عند النساء المصابات بالثآليل التناسلية في مدينة الموصل

غفران محمد جاسم حسن العزاوي

رسالة ماجستير
علوم حياة / أحياء مجهرية

بأشراف
الأستاذ المساعد
الدكتور انمار احمد داؤد سليمان الطائي