جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة بكتريولوجية وجزيئية لمجموعة جراثيم ESKAPE المعزولة من مصادر مرضية مختلفة

دنيا وليد خالد عبد العزيز المشلح

رسالة ماجستير
علوم الحياة / أحياء مجهريَّة

بإشراف
الأستاذ الدكتورة
باسمة أحمد عبد الله ألياس

١٤٤٠هـ ٢٠١٩م

الخلاصة

جُمعت 332 عينة مرضية مختلفة من مستشفيات (السلام التعليمي/الموصل, الزهراوي التعليمي (الجمهوري)/الموصل, الطوارئ/ دهوك, فين/ دهوك) اضافة لبعض المختبرات الأهلية لمرضى من كلا الجنسين, وشملت العينات (الإدرار والدم والجروح والحروق ومسحات عنق الرحم والتهاب الحنجرة والتهاب الأنف وسائل النخاع الشوكي والقشع) , للفترة الممتدة من أيلول 2015 وإلى كانون الأول 2015 ومن ثم من الفترة الممتدة من نيسان 2017 وإلى أيلول 2017.

قسمت العينات بحسب مصادر عزلها الى (180) عينة إدرار و (3) دم و(50) جروح و(20) حروق و(10) مسحة عنق الرحم و(7) التهاب الحنجرة و(9) التهاب الأنف و(13) سائل النخاع الشوكي و(40) قشع.

عزلت وشُخصّت 73 عزلة من الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام وبواقع 25 عزلة من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام و48 عزلة من الجراثيم السالبة لصبغة كرام , بينت نتائج الفحوصات الزرعية والمجهرية والكيموحيوية ونظام APIE-20 وجهاز الفايتك Vitek2system عائدية 8 سلالات للنوع *Enterococcus faecalis* بنسبة بلغت (10.96%) و17 سلالة للنوع *Staphylococcus aureus* بنسبة (23.28%) و13 سلالة للنوع *Klebsiella pneumoniae* بنسبة (17.81 %) و12 سلالة للنوع *Acinetobacter baumannii* بنسبة (16.44%) و11 سلالة للنوع *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة (15.07%) و12 سلالة للنوع *Enterobacter cloacae* بنسبة (16.44%) .

أُجري اختبار فحص الحساسية Sensitivity test لـ43 عزلة تجاه أنواع مختلفة من المضادات الحيوية باستعمال جهاز الفايتك. كانت أغلبها مقاومة لأصناف عديدة من هذه المضادات, وعلى أساس نتائج المقاومة والحساسية للمضادات الحيوية اختيرت بعض الأنواع الجرثومية والبالغ عددها 24 نوعاً لدراسة النسق الجيني لها إذ استخلص الدنا البلازميدي لها واستعمل المستخلص في تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) للتحري عن 3 جينات مشفرة لمقاومة المضادات الحيوية. أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز تباين الأنواع الجرثومية لكل نوع في احتوائها على هذه الجينات حيث ان سلالة واحدة للنوع *E.faecalis* كانت حاوية على جين *aac(3)-ll* فقط ولم تحتوِ السلالة الاخرى على أي جين , أمَّا جيني bla_{CMY-2} و*drf* لم يكونا متواجدين في أي سلالة من الأنواع الخمسة للنوع *Staph. aureus* في حين أنَّ جين *aac(3)-ll* كان موجوداً في جميع سلالاته, كذلك أظهرت نتائج التحليل أنَّ العزلات الأربعة لجرثومة *Kleb. pneumoniae* كانت خالية من جين bla_{CMY-2} في حين احتوت سلالة واحدة فقط على

جين *drf* كما احتوت ثلاثة سلالات من أصل أَربع على جين *aac(3)-ll* . كانت جميع الأَنواع الأربعة المنتخبة للنوع *A. baumannii* تحتوي على جين bla_{CMY-2} وثلاثة منها حاملة لجين *drf* واثنين من هذه العزلات كانت حاملة لجين *aac(3)-ll*. تبيّن أيضاً أنَّ أثنين من سلالات النوع *Pseudo. aeruginosa* من أصل خمسة كانت حاملة لجين bla_{SMY-2} وخلت جميع السلالات المنتخبة من جين *drf* في حين احتوت سلالتين فقط على جين *aac(3)-ll* , وجد بأن جميع سلالات النوع *E. cloacae* لم تكن حاوية على جين bla_{CMY-2} في حين أن سلالة واحدة فقط كانت حاوية على جين *drf* كما أوضحت النتائج أنَّ سلالتين من أصل أربعة سلالات تابعة لهذا النوع كانت حاوية على جين *aac(3)-ll* .

قورنت تتابعات القواعد النيتروجينية لـ16 جين من هذه الجينات ضمن المركز الوطني لمعلومات التقنات الحيوية (NCBI) The National Center for Biotechnology Information وباستخدام برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) إذ وجد بعض التغايرات التي ظهرت بشكل طفرات من نوع استبدال Transvertion أو انتقال Transition .

جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة بكتريولوجية وجزيئية لمجموعة جراثيم ESKAPE المعزولة من مصادر مرضية مختلفة

رسالة تقدمت بها الطالبة

دنيا وليد خالد عبد العزيز المشلح

إلى

مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات
درجة الماجستير
في
علوم الحياة / أحياء مجهريَّة

بإشراف

الأُستاذ الدكتورة
باسمة أحمد عبد الله ألياس

١٤٤٠هـ ٢٠١٩م

ABSTRACT

During the period from September 2015 to December 2015 and then from April 2017 to September 2017 a total of three hundred and twenty three different samples were collected from hospitals (Al-Salam Education Hospital / Mosul, Al-Zahrawi Education Hospital / Mosul, Emergency Hospital / Dukok, Vin Hospital / Duhok) addition to some national laboratories for patients of both sexes and included specimens (Urine, Blood, Wounds, Burns, High Vaginal Swab, Throat infection, Nose infection, C.S.F. and Sputum). The investigation and diagnosis of gram positive and negative bacteria were carried out using microbiological methods. The samples were divided according to the sources of isolation to 180 Urine, 3 Blood, 50 Wounds, 20 Burns, 10 High Vaginal Swab, 7 Throat, 9 Nose, 13 Cerebrospinal Fluid and 40 Sputum.

The results indicated that 73 isolates of gram positive and negative bacteria, where 25 isolates of gram positive bacteria and 48 of gram negative bacteria. Identification of isolates using microscopical, biochemical tests and ApiE-20 indicate 8 isolates of *Enterococcus faecalis* (10.96 %), 17 isolates of *Staphylococcus aureus* (23.28 %), 13 isolates of *Klebsiella pneumoniae* (17.81 %), 12 isolates of *Acinetobacter baumannii* (16.44 %), 11 isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (15.07 %) and 12 isolates of *Enterobacter cloacae* (16.44 %).

The sensitivity test was performed for 43 isolates against different types of antibiotics using Vitek2 System. Most isolates were resistant to several antimicrobial agents, on the basis of the results of resistance and sensitivity of antibiotics. Some of the 24 bacterial species were selected for the purpose of studying their genetic pattern. Plasmid DNA was

extracted for these selected species. This plasmid DNA extracted in the PCR technique was used to investigate 3 genes coded to resistance of antibiotics using a primer for genes (*aac(3)-ll, drf* and bla_{CMY-2}). The results of electrophoresis in the agaros gel showed the variation of bacterial strains of each species in containing these genes.

Only one strain of *E. faecalis* was a possess on the *aac(3)-ll,* while the second strain did not contain any gene. Gene bla_{CMY-2} and *drf* were not present in all isolates of Staph aureus, whereas the *aac(3)-ll* gene was present in all strains of this species. The result of the analysis showed that the four strains of *Kleb. pneumoniae* were free of the bla_{CMY-2} gene, while only one strain had a *drf* gene and three of the four strains contained *aac(3)-ll* gene. All four strains of the *A. baumannii* were genome bla_{CMY-2} and three of these strains were carrying *drf* gene. Two of these strains were carrying gene *aac(3)-ll.* Two of the five strains of *Pseud. aeruginosa* were found to be carrying bla_{CMY-2} gene and all the selected strains free from *drf* gene, while only two isolates contained *aac(3)-ll* gene. All the *E. cloacae* strains did not contain the *drf* gene as the results showed that two of the four strains contained *aac(3)-ll* gene.

Finally nucleotide sequencing of 16 genes were compared to the data of National Center for Biotechnology Information (NCBI) Using a program Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). From the data used it was found a mutations of the type of Transvertion and Transition in this genes.