جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التحري الجزيئي عن بعض عوامل الضراوة في أنواع البكتريا المعزولة من أخماج الجهاز التنفسي للأطفال في مدينة الموصل

سرى محمود عبد نجم التكريتي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بأشراف

المدرس

الدكتور حسن فيصل حسين كاهية

١٤٤٣ هـ **٢٠٢١ م**

الخلاصة:

تشكل أخماج الجهاز التنفسي Respitory System Infections ثلث وفيات الأطفال حول العالم و تنتج عن مجموعة متنوعة من الأنواع البكتيرية التي تهاجم المواقع التشريحية لتجويف البلعوم الأنفي و الرئتين فضلاً عن إنعدام النضج الكامل لجهاز المناعة للأطفال.

في هذه الدراسة تم جمع 90 عينة سريرية من أجهزة سحب السوائل ومسحات تجويف البلعوم الأنفي للأطفال المصابين بأخماج الجهاز التنفسي Respitory System Infections و الراقدين في مستشفيات مدينة الموصل بما في ذلك مستشفى ابن الاثير للأطفال و مستشفى الخنساء التعليمي و مستشفى ابن سينا التعليمي و الذين تتروح اعمارهم بين 5 أيام و6 سنوات للمدة بين شهر تشرين الثاني 2020 و حتى نهاية شهر شباط 2021.

شخصت العزلات البكتيرية بالطرق التقليدية (الخصائص الزرعية و الفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية) و تم تأكيد التشخيص بالتحري الجزيئي عن الجين التشخيصي *16S rRNA* فيها عبر التقنيات البيولوجية الجزيئية و إجريت عملية مقارنة للتسلسل الجيني مع تسلسل جينات العزلات القياسية المثبتة في قاعدة البيانات Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) و الموجودة في الموقع الألكتروني للمركز الوطني للمعلومات التكنولوجيا الحيوية National Center for Biotechnology Information website. (NCBI)

بينت نتائج التشخيص أن الأنواع البكتيرية المعزولة كانت بالاعداد و النسب التالية *Streptococcus pyogenes* 43(53.75%), *Klebsiella pneumoniae* 15 (18.75%), *Staphylococcus aureus* 12(15%), *Pseudomonas aeruginosa* 5(6.25%), *Streptococcus pluranimalium* 3(3.75%) and *Escherichia coli* 2(2.5%).

تم عزل وتشخيص بكتريا *S. pluranimalium* لأول مرة في العراق من الإصابات البشرية حيث تعتبر هذه البكتريا من المسببات المرضية للحيوانات الزراعية و الداجنة.

اختبرت مقاومة العزلات البكتيرية المشخصة للمضادات الحياتية بأستخدام 5 مضادات حيوية مختلفة لكل عزلة بكتيرية و بينت النتائج أن بكتريا *P. aeruginosa* كانت مقاومة للمضاد الحيوي Ceftazidime بنسبة (100%) و في بكتريا *E. coli* كانت نسبة المقاومة (100%) للمضادات الحيوية Ampicillin ، Amoxicillin-Clavulanate كذلك بلغت مقاومة بكتريا

K. pneumoniae (100%) للمضاد Ceftazidime ومقاومة بكتريا *S. pluranimalium* للمضادات Erythromycin،Azithromycin (100%) في حين كانت مقاومة *S. pyogenes* بنسبة (93%) للمضاد Chloramphenico و في بكتريا *S. aureus* كانت نسبة مقاومة Chloramphenico (92%).

في هذه الدراسة تم إجراء الكشف الجزيئي عن بعض الجينات المشفرة لعوامل الضراوة في العزلات البكتيرية وباستخدام طرق التحليل التتابعي للجينات إذ تم التحري عن وجود جين الضراوة *fimH* المشفر لبروتين الإلتصاق في بكتريا *E. coli* و جين الضراوة *hrtA* المشفر للبروتين الصدمة الحرارية Heat-shock protein في بكتريا *K. pneumoniae* و جين الضراوة *phzS* المشفر لإنتاج صبغة Pyocyanin في بكتريا *P. aeruginosa* وجين الضراوة *coa* في بكتريا *S. aureus* المشفر لإنزيم التجلط Coagulase enzyme و جين الضراوة *slo* المشفر لبروتين السامStreptolysin O في بكتريا *S. pyogenes*.

بينت نتائج التحليل التتابعي لجميع جينات الضراوة في العزلات المنتخبة تطابق بنسبة (100%) مع تسلسل جينات ضراوة للعزلات القياسية المثبتة في قاعدة البياناتBLAST.

Summary:

Respiratory tract infections cause one third mortalities of children around the world. These infections are caused by a variety of pathogens that invade the nasopharyngeal cavity and lungs of children. Moreover, the immune system of children is not developed yet. This study was conducted by collecting 90 clinical samples from respiratory fluids sucker and nasopharyngeal cavity of suffering from respiratory tract infections. The patients who visited Ibn Alatheer children hospital, Alkhansaa university hospital and Ibn-seena university hospital, where The aged 5 days to 6 years old duration of collecting samples ranged between November 2020 to February 2021.

All samples were processed for isolation and identification using conventional identification methods including culture characteristics, microscopic morphology and biochemical tests. The identification of isolates were then confirmed molecularly using *16S rRNA* based sequencing method using BLASTn tools available on National Center for Biotechnology Information website (NCBI). We managed to identify 6 pathogens as follows: *Streptococcus pyogenes* 43(53.75%), *Klebsiella pneumoniae* 15 (18.75%), *Staphylococcus aureus* 12(15%), *Pseudomonas aeruginosa* 5(6.25%), *Streptococcus pluranimalium* 3(3.75%) and *Escherichia coli* 2(2.5%).

Novel *S. pluranimalium* was isolated for first time in Iraq from human as it is widely known that *S. pluranimalium* is agricultural and domesticated animals pathogen.

Antibiotic susceptibility test was performed using 5 antibiotics for each bacterial isolate. The results revealed that *P. aeruginosa* was resistant to Ceftazidime (100%). Similarly, *E. coli* showed 100% resistance against ampicillin and amoxicillin-clavulanate. Furthermore, *K. pneumoniae* showed 100% resistance against Ceftazidime. Similarly, *S. pluranimalium* showed 100% resistance against Azithromycin. *S. pyogenes* showed 93% resistance against Chloramphenicol. *S. aureus* was found to be 92% resistant against Chloramphenicol.

Furthermore, molecular identification of some genes encoded for virulence factors in bacterial isolates in this study using gene sequencing method. Detection of *fimH* (encoded for attachment protein in *E. coli*),

hrtA (encoded for heat shock protein in *K. pneumoniae*), *phzS* (encoded for protein involved in pyocyanin synthesis in *P. aeruginosa*), coa (encoded for coagulase enzyme in *S. aureus*), and *slo* (encoded for streptolysin O in *S. pyogenes*). The sequencing results revealed a very close match of genes with subjected database with identity percentage 100%.

University of Mosul
College of Education for
Pure Science

Molecular detection of some virulence factors in bacterial species isolated from the respiratory tract infections in children in Mosul province

Sura Mahmood Abd Najim Al-Tikriti

M.Sc. Thesis

Biology

Supervised by

Lec.

Dr.Hasan Faisal Hussain Kahya

2021 A.D **1443 A.H**