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

تحليل التتابع الجينومي الكامل لبكتريا *Morganella morganii* المعزولة من التهابات المسالك البولية في مدينة الموصل

مؤمن محمد خضر أسمر الحياني

رسالة ماجستير

علوم الحياة/ أحياء مجهرية

بإشراف

المدرس

الدكتورة سحر سالم بطرس داؤد النقار

1445 هـ **2024 م**

الخلاصة

جمعت 170 عينة سريرية من المرضى الراقدين والوافدين إلى مستشفى الموصل العام ومستشفى الجمهوري التعليمي في مدينة الموصل من ايلول/ 2022 إلى كانون الثاني/ 2023. تضمَّنت العينات 70 عينة ادرار و 40 مسحة من الجروح و 60 مسحة الحروق. زرعت على وسط آكار الماكونكي ووسط آكار الدم، حضنت بـ 37°م مدة 24 ساعة.

شُخِّصت المستعمرات النامية بالاعتماد على الطرق التقليدية وباستخدام API 20E و Vitek -2 Compact System، إذ تم عزل 4 عزلات من بكتريا *Morganella morganii* من عينات الادرار البالغة 70 عينة فقط بنسبة 5.7%، فيما لم تعزل من عينات الجروح والحروق.

تم تأكيد تشخيص العزلات الأربعة بالطريقة الجزيئية بالاعتماد على تتابعات الجين 16S rRNA، اظهرت النتائج أن العزلات تابعة لنفس النوع *M. morganii*.

أظهرت العزلات مقاومة عالية للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، إذ كانت نسبة مقاومتها 100 % لكل من Ampicillin و Ceftriaxone و Cefotaxine و Cefixime. بينما بلغت المقاومة لكل من Gentamycin و Doxycycline 75%، فيما كانت 50% لكل من Meropenem و Imipenem و Levofloxacin، و25% للـ Ciprofloxacin.

اختيرت العزلة التي أعطت أعلى نسبة مقاومة 100% للمضادات الحيوية لإجراء اختبار قدرتها على تكوين الطبقة المخاطية باعتماد نموها على وسط آكار الكونغو.

تم إيداع جينوم هذه العزلة والتي سجلت في بنك السلالات العالمي بالاسم *Morganella morganii* strain MS-27iq، في بنك السلالات الامريكي والأوربي والياباني وسجل الجينوم بالرقم التسلسلي JAUPWOoooooooo. وعدت العزلة الاولى محليا التي تم تحليل جينومها. إذ أظهرت النتائج أن طول الجينوم الكلي بلغ 3,908,586,bp وعدد contigs بلغ 135، والنسبة المئوية لمحتوى الكوانين والسايتوسين 51.64%، كما أنه يحتوي على3695 جين مشفر للبروتين protein_coding genes ، و 44 جين كاذب pseudogenes ، فضلا عن 72 من جينات الحامض النووي الرايبوزي RNA genes.

اعتماداً على التحليل الجينومي تم الكشف عن وجود العديد من جينات المقاومة للمضادات الحيوية التي تشفر إلى ثلاث اليات مقاومة وهي تعطيل المضاد الحيوي وتحوير هدف المضاد، وانظمة الدفق. كما تم تحديد العديد من الجينات المشفرة لعوامل الضراوة منها ما يتعلق بتركيب البكتريا، كالأسواط والخمل ومتعدد السكريات الدهني؛ وانظمة الافراز، إذ تبين انها تمتلك ثلاثة انظمة افرازية وهي النوع الاول والثاني والثالث؛ فضلا عن امتلاكها النظام الثنائي العناصر، وحاملات الحديد. كما احتوى الجينوم على الجينات المشفرة لعوامل الضراوة المفرزة مثل انزيم اليوريز والهيمولايسين والانزيم المحلل للكلوبيولين المناعي نوع A(IgA). كما تم تسجيل احتواء العزلة الممرضة على الجين *hdc* المنتج للهستامين، وعدد من الجينات المشفرة لإنتاج البكتريوسينات وبعض السموم القاتلة للحشرات.

رسمت الشجرة التطورية لبكتريا *Morganella morganii* MS-27iq المعتمدة على الجينوم الكامل باستخدام برنامج FastME 2.0 program المدمج مع البرنامج Type strain genome server، إذ اظهرت تطابقا مع السلالة *Morganella morganii* NBRC3848 المسجلة في المركز الوطني لمعلومات التقانات الحيوية (NCBI) National Center for Biotechnology Information، وانهما يقعان في عنقود واحد.

رسمت الشجرة التطورية لبكتريا *Morganella morganii* MS-27iq المعتمدة على مدى تماثل تتابعات الجين 16S rRNA الخاصة بها مع التتابعات الموجودة في قاعدة بيانات NCBI باستخدام MEGA-11 software، إذ تبين ان البكتريا قيد الدراسة اظهرت تشابها مع كل من *Morganella morganii* ATCC 25830 و *Morganella morganii* DSM 14850 و *Morganella morganii* H1r بنسب مئوية قدرها 99.79% و 99.19% و 98.98% على التوالي.

ABSTRACT

In the present study (170) clinical samples were collected from inpatients and outpatients attending Mosul General Hospital and Al-Jumhoory Teaching Hospital during the period September 2022 – January 2023. These samples included (70) urine samples, (40) wound swabs and (60) burn swabs. All samples were inoculated on MacConkey and Blood agar and incubated for 24 h. at 37 °C.

Colonies were then identified using conventional methods, API 20E, and Vitek -2 Compact System. Four isolates of *Morganella morganii* were obtained from 70 urine samples (5.7%) , however it was not isolated from neither wound or burn samples.

Identification was confirmed using molecular methods implementing 16S rRNA gene sequencing. Results showed that all four isolates belong to the same species *M. morganii.*

All four isolates demonstrated antimicrobial resistance to the antibiotics used in the current study. It showed 100% resistance to each of Ampicillin, Ceftriaxone, Cefotaxine and Cefixime, 75% resistance to Gentamycin and Doxycycline, 50% resistance to Meropenem,Imipenem and Levofloxacin and finally 25% resistance to Ciprofloxacin .

The isolate which demonstrated 100% antibiotic resistance was chosen for biofilm production test on Congo agar.

The Bacterial genome was recorded and preserved in NCBI, ENA and ODBJ by the name *Morganella morganii* strain MS-27iq. The Genome was given an accessions number of JAUPWOooooooooo. It was also considered the first local genome analyzed strain. It was shown that the total gene length was 3,908,586 bp, the number of contigs is 135

and the percentage of guanin cytocin ratio is 51.64% . It also consists of 3695 protein coding genes , 44 pseuogenes and 72 RNA genes.

Genome analysis revealed the presence of many antibiotic resistant genes encoding three mechanisms: Antibiotic inactivation, modification of the antibiotics target site, and efflux system. Also many structural virulent factor encoding genes such as flagella , pilli, fimbria, and lipopolysaccharide . In addition , it was found that it has three secretory systems; type I,II, and III; two- component system, and iron carriers. The genome also possesses secretory virulent factors encoding genes like urease , hemolysin and immunoglobulin A(IgA) lytic enzyme. The pathogenic isolate also carries *hdc* gene which is responsible for histamine production in addition to many others bacteriocin and insecticide encoding genes.

The phylogenetic tree for *Morganella morganii* MS-27iq was illustrated depending on the whole genome using FastME 2.0 program combined with Type strain genome server. The strain demonstrated compatibility with *Morganella morganii* NBRC3848 registered in NCBI and that they belong to the same cluster.

The phylogenetic tree for *Morganella morganii* MS-27iq was also illustrated according to compatibility of 16S rRNA gene sequencing with the NCBI database using MEGA-11 software. The isolate used in the present study showed similiarity with *Morganella morganii* ATCC 25830 and *Morganella morganii* DSM 14850 and *Morganella morganii H1r* by 99.79%, 99.19% and 98.98% respectively.

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

Whole genomic sequence analysis of *Morganella morganii* isolated from urinary tract infections in Mosul city

Moamin Mohammad Khdir Asmar Al-Hayani

M.Sc. Thesis

Biology/ Microbiology

Supervised by

Lecturer

Dr. Sahar Salim Petrus Dawood Al-Nakkar

1445 A.H. **2024 A.D.**