جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التنميط الجزيئي لبكتريا المكورات العنقودية المعزولة من مصادر سريرية مختلفة باستخدام تقنية MLVA

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

زهراء علي فاضل الطائي

بكالوريوس علوم حياة / كلية العلوم / جامعة ديالى (2016)

بإشراف

أ.د هادي رحمن رشيد الطائي

1442 هـ **2021 م**

1.1 Introduction

Staphylococcus aureus is one of the most powerful bacterial pathogens on the world, with antibiotic-resistant strains such as Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Paterson, 2020). MRSA is significant community acquired pathogen and it is known to be associated with hospital acquired (HA-MRSA) infections, this bacteria is also known to cause invasive infections that lead to high mortality rates (Brown, 2015).

In the treatment of staphylococcal infections, antibiotics that target bacterial processes such as cell wall synthesis, protein synthesis, and DNA synthesis are used. However, medication failure due to antibiotic resistance is regarded as a significant issue that results in tremendous human and medical costs. Antibiotic resistance can be transmitted by mobile genetic elements due to a variety of processes such as enzymatic drug inactivation, altered drug targets, altered drug accessibility, and efflux increase of antimicrobial elements. (Vestergaard and Ingmer, 2019).

Staphylococcus aureus produces a number of virulence factors, which are classified as accessory gene products that are not needed for cell division or normal development. Cell surface-associated (adherence) factors and secreted (exotoxin) factors are two types of these factors (Costa *et al*., 2013).

Tracking pathogenic bacteria and multi-resistant strains needs DNA fingerprinting (Bhakta *et al*., 2018). Variable Number of Tandem Repeat Regions (VNTRs) are repeated DNA loci present in bacterial genes that can vary between strains and are used as an effective identification tool for pathogenic bacteria (Burgueño *et al*., 2020).

Special genetic creators are used to decide the molecular evolution of various isolates and their relationship to essential physiological properties (pathogenicity and evolutionary survival), and little knowledge regarding genetic heterogeneity in MRSA was available regionally, so this study one of the first studies in Iraq.

The aim of the study

The current study aimed to isolate and Identify the MDR *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical cases and molecular profiling using multiple locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). To achieve this aim, the following steps should be performed:

1. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from different clinical infections.
2. Detection the resistance isolates against antimicrobial agent from different families, including fluoroquinolones, beta lactam, aminoglycosides etc., as well as the study of the minimum inhibitory concentration MIC for some of these antibiotics. And classify it into (MDR / XDR / Pan Drug).
3. Detection broad-spectrum beta-lactamase, Metallo B-lactamase, and AMP^C enzymes.
4. Genetic typing of the of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) using Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) for the *sdr*C, *clf*A, *clf*B, *ssp*A, and *spa*.

الخلاصة

تعد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين من الانواع البكترية المسببة للأمراض الشائعة في كل من المستشفيات والمجتمع. تم استخدام عدة تقنيات لتنميط المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA). تتميز إحدى الطرق بقدرة تمييزية أكبر وقوية وفعالة من حيث التكلفة تسمى تقنية تحليل التكرارات الترادفية للأرقام المتغيرة (VNTRs) باستخدام العديد من الجينات التي تمتلك عددًا مختلفًا من التكرارات.

تم الحصول على 40 عزلة (21.3%) من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من (276) عينة سريرية من الاناث. تضمنت ادرار، مسحات مهبلية، وبأعمار مختلفة ، ومستشفيات محلية متنوعة، وقد أعطت (187) عينة نمو إيجابي بينما (89) عينة لم يظهر فيها نمو. تم جمع العينات خلال الفترة الزمنية من أكتوبر / 2020 الى يناير / 2021، من مجموعة المرضى الراقدين والمراجعين في المستشفيات الحكومية المحلية ضمن منطقة الدراسة.

التشخيص الاولي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية تم باستخدام الأوساط الزرعية اكار الدم واكار ملح المانيتول، واعتماداً على الاختبارات الكيموحيوية ونظام الفايتك. وقد تم التأكيد النهائي بأستخدام طريقة التشخيص الجزيئي بأستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل بوساطة جين 16S rRNA للكشف عن النوع. كانت نسبة ظهور الجين في العزلات 100%.

تم تحديد الحساسية للمضادات الميكروبية لعزلات *Staphylococcus aureus* بطريقة الانتشار القرصي تجاه 13 مضاد حيوي، وكانت نتائج مقاومة العزلات للمضادات الحيوية كما يأتي: (الاوكساسيلين 92.5%) ، (السيفتازيديم 95%) ، (المثيسيلين 100%) ، (السيفوتاكسيم 37.5%) ، (السيفوكستين 62.5%) ، (الاميبينيم 10%) ، (الفانكومايسين 75%) ، (الازثرومايسين 87.5%) ،