قال تعالى :

وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ ۖ وَسَتُرَدُّونَ إِلَىٰ عَالِمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُم بِمَا كُنتُمْ تَعْمَلُونَ

صدق الله العظيم
سورة التوبة الآية105

DEDICATION

To my parents, brothers, sisters, friends,

colleagues & teachers.

ACKNOWLEDGEMENT

First of all thanks to **ALMIGHTY ALLAH** that our work was brought to reality. Thanks to my supervisor **Prof. Humodi Ahmed Saeed** for his keen supervision. Thanks are extended to members of the Department of Microbiology, College of Medical Laboratory Science, Sudan University of Science and Technology for their technical help.

ABSTRACT

Food handlers with poor personal hygiene are the potential sources of infection. This study was essentially designed to detect methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) carrying *mec A* gene amongst food handlers working in cafeterias in Khartoum Province.

Specimens including nasal swabs and hand (left and right) swabs were collected from each food handler. The specimens were cultivated on Manitol Salt Agar, and incubated at 37ºC overnight. *S. aureus* were identified by their colonial morphology, Gram's stain and biochemical tests. MRSA was determined by both conventional technique using oxacillin disk diffusion method, and molecular technique using Polymerase Chain Reaction (PCR). The *mec* A gene was detected by PCR.

The result revealed that out of 165 specimens investigated, 48 *S. aureus* were recovered, 21(38%) from nasal swabs; 17 (31%) from right hand and 10 (18%) from left hand. Study on detection of MRSA amongst the isolates showed that only 4(8.3%) out of 48 *S. aureus* isolates were MRSA when tested by oxacillin disk diffusion method, while 21(43.7%) from the isolates had the *Mec*A gene detected by PCR based method.

It is concluded that the percentage of MRSA amongst food handlers was high when using PCR. Regular checking using PCR technique is highly recommended. Further studies are required to validate these results.

المستخلص

أمراض الجهاز الهضمي تسببها الكثير من الجراثيم سواء كانت فيروسات, أو طفيليات, أو بكتيريا, ولكن من ضمن هذه الجراثيم تعتبر البكتيريا العنقوديه الذهبيه هي أكثر مسببات أمراض الجهاز الهضمي التي تنتقل عن طريق الطعام, فهي البكتيريا الأكثر عزلا" من الأشياء التي لها علاقه مباشره بالطعام وتحضيره ومن الأشخاص الذين يشرفون على ذلك -وذلك وفقا لدراسات عديده أجريت في هذا الموضوع- فهؤلاء الأشخاص وهم يسمون بحاملي الطعام قد يكون لهم دور كبير في تلوث الطعام وبالتالي حدوث التسمم الغذائي خصوصا حاملي الطعام الذين لهم أسلوب نظافه شخصيه متدني, لذلك عملت هذه الدراسه لمعرفة مدى انتشار البكتيريا العنقوديه الذهبيه بين حاملي الطعام في كافيتيريات جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا لتركز علي الدور الذي يمكن أن يلعبه هؤلاء في تلوث الطعام وكمصدر للتسمم الغذائي خاصة الذي تسببه البكتيريا العنقوديه الذهبيه بالاضافه لتحديد جين *MecA* في هذه البكتيريا المعزوله.

في هذا البحث تم جمع مسحات من أيدي وأنوف حاملي الطعام والعمال الذين لهم اتصال مباشر بالطعام جميع العينات تم عزلها في أقار يحتوي على أملاح وسكر المانيتول وحفظت في درجة حراره 37درجه مئويه لمدة 24 ساعه, بعدها تم التعرف على البكتيريا المعزوله بواسطة شكل نموها على الأقار بالاضاف للأصباغ والاختبارات الكيموحيويه الخاصة بالبكتيريا العنقوديه الذهبيه, تم اجراء تفاعل البلمره التسلسلي لجميع العينات التي أعطت نتيجة موجبه للكشف عن امتلاكها لجين*MecA*

.أظهرت النتائج انه من مائه وخمس وستون عينه تم فحصها تم عزل ثماني وأربعون بكتيريا عنقوديه, وهي موزعه كالتالي: 21 بكتيريا عنقوديه ذهبيه من المسحات الأنفيه (38%), 17 بكتيريا عنقوديه ذهبيه من المسحات التي أخذت من اليد اليمنى(31%), و 10 بكتيريا عنقوديه ذهبيه من المسحات التي أخذت من اليد اليسرى لحاملي الطعام, وهي تمثل ما نسبته (18%) من جميع المسحات التي أخذت من اليد اليسرى لحاملي الطعام. . بعد عمل اختبارات الحساسيه لجميع المسحات الموجبه ضد الأوكساسيلين, أظهرت النتائج أن 4 (8.3%) من 48 بكتيريا عنقوديه ذهبيه تم عزلها

أظهرت مقاومتها للأوكساسيلين, بينما أظهرت 21(43.7%) حساسيتها له. أظهرت النتائج أيضا وجود الجين المسؤول عن مقاومة البكتيريا العنقوديه الذهبيه للميثيسيلين في 21 بكتيريا عنقوديه ذهبيه وذلك من أصل 48 بكتيريا عنقوديه ذهبيه تم عزلها من مختلف المسحات, وذلك وفقا لاختبارتفاعل البلمره المتسلسل الذي أجري, قورنت هذه النتائج بالنتائج المتحصل عليها بتفاعل البلمره التسلسلي فظهر لنا أن طريقة اختبار الحساسيه ضد الأوكساسيلين لها نسبة حساسيه=19% , ولها نسبة تخصصيه=81%.

ومن هذا نستخلص الآتي: نسبة انتشار البكتيريا العنقوديه الذهبيه المقاومه للميثيسيلين بين حاملي الطعام في كافتيريات جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا هي نسبه عاليه, وأن الطريقه التي تستخدم روتينيا للكشف عن البكتيريا العنقوديه الذهبيه المقاومه للميثيسيللين هي طريقه لها الكثير من السلبيات مقارنه بالطريقه التي تعتمد على تفاعل البلمره التسلسلي وبالتالي فهي غير موصى بها من قبل هذه الدراسه مع مراعاة عمل المزيد من الأبحاث حول هذا الموضوع.

TABLE OF CONTENTS

Topic	Page
الآية	i
Dedication	ii
Acknowledgement	iii
Abstract	iv
المستخلص	v
Table of Contents	vii
Lit of Tables	x
List of Figures	xi
CHAPTER ONE: INTRODUCTION AND OBJECTIVES	
1.1. Introduction	1
1.2. Rationale	2
1.3. Objectives	3
CHAPTER TWO: LITERATURE REVIEW	
2.1. Entrance	4
2.2. Food-Borne Illnesses	4
2.3. Food-Borne Infections	5
2.4. Food-Borne Diseases	6
2.5. Staphylocoocal Food Poisoning	8

2.6. *S. aureus* and food handlers carriers (Previous Study)	10
2.7. Food handlers as a source of infection	11
CHAPTER THREE: MATERIALS AND METHODS	
3.1. Study design and area	13
3.2. Study population	13
3.3. Inclusion criteria	13
3.4. exclusion criteria	13
3.5. Sample size and sampling procedures	13
3.6. Data collection procedures and sample collection	14
3.7. Ethical consideration	14
3.8. Collection of specimens	14
3.9. Culture of specimens	14
3.10. Identification of *S. aureus*	14
3.11. Gram stain	15
3.12. Biochemical test	15
3.12.1. Catalase test	15
3.12.2. DNase test	15
3.12.3. Coagulase test	16
3.13. Preservation of isolates	16
3.14. Detection of methicillin resistant *S. aureus*	16
3.14.1. Phenotypic method	16

3.14.2. Genotypic method for detection of *MecA* gene	17
3.14.2.1. DNA extraction	17
3.14.2.2. Polymerase chain reaction	17
3.14.2.2.1. Primer sequncies	17
3.14.2.2.2. Preparation of reaction mixture	18
3.14.2.2.3. PCR protocol used for amplification *mecA* gene	18
CHAPTER FOUR: RESULTS	
Results	19
CHAPTER FIVE: DISCUSSION	
5.1. Discussion	29
5.2. Conclusion	30
5.3. Recommendations	30
6. References	32
7. Appendices	38

LIST OF TABLES

Table	Page No
Table 1. Types and frequency of each specimen collected during this study	20
Table 2. Distribution of specimens according to sex	20
Table 3. Distribution of specimens according to age groups	21
Table 4. Food-handlers educational level frequencies	21
Table 5. Sociodemographic characteristics in relation to *S. aureus* detected in nostrils, right hands and left hands of food handlers	24
Table 6. Frequencies of suscbtibility testing	25
Table 7. *mecA* gene frequency	25
Table 8. Susceptibility of *S. aureus* isolates tested with oxacillin disk diffusion method in comparison with *mecA* PCR	26
Table 9. Sensitivity and specificity of phenotypic and genotypic methods used for the detection of MRSA strains.	27

LIST OF FIGURES

Figure	Page No
Figure 1. Percentage of nasal carrier of *S. aureus* among food handlers	22
Figure 2. Percentage of right hand carrier of *S. aureus* among food handlers	22
Figure 3. Percentage of left hand carrier of *S. aureus* among food handlers	23