



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

**عزل وتشخيص بعض أنواع البكتريا من عينات مرضية
مختلفة ودراسة تأثير بعض العوامل الفيزيائية
والكيمياوية كمطفرات على بكتريا Proteus**

شيماء محمد ظاهر مهدي الطائي

**رسالة ماجستير
علوم الحياة / أحياء مجهرية**

**بإشراف
الأستاذ المساعد
الدكتورة نجوى ابراهيم خليل البرهاوي**

المستخلص

تضمنت الدراسة جمع 200 عينة مرضية تعود لحالات مرضية مختلفة، من المرضى المراجعين للمستشفى الجمهوري ومستشفى ابن سينا التعليمي في مدينة الموصل خلال ستة أشهر ابتداءً من شهر تموز لغاية شهر كانون الأول من عام 2013، عزلت منها (150) عزلة بكتيرية وشخصت تشخيصاً أولياً اعتماداً على خصائص مستعمراتها المظهرية على الاوساط الغذائية واشكال خلاياها المصبوغة بصبغة كرام، ولتأكيد تشخيصها تم اجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها، وهي فحوصات IMViC والفحوصات الانزيمية الخاصة بعوامل الضراوة ومنها فحوصات Oxidase و Catalase و Urase و Gelatinase و Phenylalanine deaminase وفحص الكشف عن قابليتها على انتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S ، وقابليتها على الحركة وعلى تحليل الدم وانتاج الصبغات مثل صبغة البايوسيانين (من قبل بكتريا *Pseudomonas auroginosa*) وتخميرها لبعض السكريات منها الكلوكوز واللاكتوز والارابينوز والمانيتول للبكتريا السالبة لصبغة كرام، اما للبكتريا الموجبة لصبغة كرام (*Staphylococcus aureus*) فقد تم اجراء الفحوصات التالية عليها وهي الكشف عن أنزيم Hamolysis، Coagulase، Lipase، Lecithinase، النمو على وسط M.S Agar ووسط V.j. Agar، واغلب النتائج كانت مطابقة لنتائج المختبرات العالمية والتشخيصات المختبرية المتعلقة بكل نوع بكتيري.

تم الحصول على 3 عزلات من بكتريا *Proteus vulgaris* و 13 عزلة من بكتريا *Proteus mirabilis* وتم انتخاب عزلة واحدة من كل نوع في جميع التجارب اللاحقة في الدراسة.

وتبين أنها موزعة على الشكل الآتي: 16 عزلة (10.7%) تعود لبكتريا المتقلبات *Proteus*، و (45) عزلة (30%) لبكتريا *Escherichia coli* و 31 عزلة (20.7%) لبكتريا *Pseudomonas auroginosa* وأخيراً 58 عزلة من بكتريا *Staphylococcus aureus* (38.7%). اما اعداد العزلات البكتيرية من كل عينة مرضية، فقد تم عزل 3 و 1 و 10 و 2 عزلة من بكتريا *Proteus* وبنسب مئوية بلغت (18.8 و 6.3 و 62.5 و 12.5%) من عينات الاسهال والحروق والادرار والاذن، وعزلت 28 و 17 عزلة من بكتريا *Escherichia coli* بنسبة (51.1 و 37.8%) من عينات الاسهال والادرار فقط على التعاقب، من جهة اخرى عزلت 11 عزلة وبنسبة (35.5%) من بكتريا *Pseudomonas auroginosa* من عينة الحروق، اما من الادرار فعزلت 3 عزلات من هذه البكتريا بنسبة (9.7%) ومن الحجرية 17 عزلة بنسبة (54.8%) اما بكتريا *Staphylococcus aureus* فقد تم عزلها من جميع العينات وبأعداد

بلغت 30 و 23 و 5 (51.7 و 39.7 و 8.6)% من عينات الحروق والادرار والاذن على التعاقب وباستثناء عينات الحنجرة والاسهال.

تبين ان لكل من نوعي جنس *Proteus* تأثير متساوي في نسبة مقاومتها أو حساسيتها للمضادات الحيوية العشرة المستعملة في هذه الدراسة إذ كانتا حساستين لكل من المضادات الحيوية: Ciprofloxacin و Gentamycin و Trimethoprim و Vancomycin، Streptomycin، ومقاومتين لكل من Penicillin، Amoxicillin، Erythromycin، Tetracycline و Nalidixic acid أي بنسبة مئوية بلغت (50)% لكل نوع بكتيري.

وعند دراسة تأثير بعض العوامل الفيزيائية كدرجة الحرارة والاشعة فوق البنفسجية وبعض العوامل الكيميائية كـ Acridine orange و مادة Sodium dodecyl sulfate كمطفرة تجاه بكتريا *Proteus* تبين تأثيرها على نمو البكتريا وذلك حسب نوع العامل المطفر ونوع بكتريا *Proteus*.

بالنسبة لتأثير العوامل الفيزيائية فقد وُجِدَ أن هناك تأثيراً متبايناً لدرجات الحرارة بدلالة تحفيز نمو البكتريا عند درجة حرارة 28°م وتثبيطها عند درجتى حرارة 4°م و 43°م، بينما كان للطول الموجي 254 نانوميتر للاشعة فوق البنفسجية تأثير محفز للنمو إذ ازداد نموها بزيادة فترة التعرض للأشعة لمدة (30، 45، 60) ثانية وبنسب مئوية بلغت (67.7، 80.9، 83.6 و 58.2، 75.2، 77.9)% في كل من بكتريا *Proteus vulgaris* و *Proteus mirabilis* على التعاقب قياسا بعينة المقارنة.

أما بالنسبة لتأثير العوامل الكيميائية فقد وجد ان لتركيز المادة المستعملة أثراً كبيراً في حصول الطفرة في هذه البكتريا، إذ كان للتركيز الاعلى (100 ملغم/سم³) من مادة Acridine orange تأثير تثبيطي في نمو بكتريا *Proteus* على العكس من ذلك كان للتركيز الاعلى من مادة Sodium dodecyl sulfate (0.006%) تأثير تحفيزي في نمو هذه البكتريا قياسا بعينة المقارنة ولكلا النوعين.

كما حصل تغيير في تأثير المطفرات وبنوعها الفيزيائية والكيميائية على حساسية بكتريا المتقلبات للمضادات الحيوية المختلفة، فقد بلغت نسبة المقاومة لغاية (56، 64)% و (66، 54)% وبنسبة حساسية (36، 44)% و (34، 46)% وعند استعمال الحرارة والاشعة فوق بنفسجية Ultraviolet كمعامل فيزيائية مطفرة، في حين وصلت نسبة المقاومة لغاية (66، 54)% و (76، 60)% وبنسبة حساسية 34، 46% و 24 و 40% عند استعمال مادتي Acridine orange و Sodium dodecyl sulfate كمطفرات كيميائية، وفي كل من بكتريا *Proteus mirabilis* و *Proteus vulgaris* على التوالي. بشكل عام يتبين من هذه

النتائج ان تاتير العوامل الفيزيائية والكيميائية ادتا الى حصول طفرة في بكتيريا Proteus وبدلالة زيادة نسبة مقاومتها على حساب انخفاض نسبة حساسيتها للمضادات الحيوية قيد الدراسة وكانت اعلاها مقاومة في بكتيريا *P.mirabilis* وذلك عند استعمال اشعة الـ UV ومادة SDS وبنسبة زيادة بلغت حوالي (16 و 26)% على التعاقب قياسا بعينة المقارنة التي كانت (50)% ، وكانت هذه النتائج مطابقة لنتائج التحليل الاحصائي عند استعمال برنامج SPSS عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

Abstract

The Study has included a collection of 200 pathological swabs related to different pathological cases, from Al-Jamhori hospital and Ibn-Sina teaching hospital patients in Mosul city.

During six months time starting from July till December of 2013, 150 bacterial swabs were isolated and primary diagnosed depending on its appearance colonies properties on the nutritional environments and the shapes of their Gram stained cells. It became clear that they are classified on the following basis: 16 swabs (10.7%) related to proteus bacteria, 45 swabs (30%) of aeruginosa bacteria and lastly 58 swabs (38.7%) of *Staphylococcus aureus* bacteria. Speaking of the numbers of the bacterial swabs out of each pathological samples, 3, 1, 11, 2 swabs of Proteus bacteria were isolated by the percentages (18.8%, 6.3%, 62.5%, 12.5%) of the swabs of diarrhea, burns, urine and ear, 28 and 17 swabs of *Escherichia coli* Bacteria were also isolated by percentages (51.1% and 37.8%) out of diarrhea and urine samples only and respectively.

On the other hand, 11 swabs were isolated by the percentage of 35.5% of *P.aeruginosa* bacteria out of burns samples, in urine concern, 3 swabs of the bacteria were isolated out of urine samples by the percentage of 9.7% and 17 ones out of the throat by the percentage 54.8%, whereas the *Staphylococcus aureus* bacteria was isolated out of the whole swabs by the numbers 30,23 and 5, by the percentages (51.7%, 39.7%, and 8.6%) from the burns, urine and respectively except throat and diarrhea swabs. To ensure their diagnosis, chemical composition tests were made on them, they are IMViC tests and enzymatic examinations related to nutrients factors and among them oxidase, Catalase, Urase, Gelatinase and Phenylalanine deaminase, and the test to determine their ability to produce Hydrogen sulfide (H₂S) and their ability to move and

analyze blood and some stain production such as Mayosieneen (by *Pseudomonas auroginosa* bacteria) and its fermentation for some sugars, including Glucose, Lactose, Arabinose and Mannitol for the negative Gram stain bacteria.

Whereas the positive gram stained bacteria (*Staphylococcus aureus*) was tested with the following tests: Lecithinase, Lipase, Coagulase, Haemolysis, M.S Agar and V.j. Agar when most of the results were identical to the international and laboratory diagnoses results related to each bacterial type. 3 swabs of *Proteus vulgrais* bacteria and 13 of *Proteus mirabilis* were taken and one swab of each type was taken and used in the following experiments detailed in this message. It became clear that both types of the Proteus genus were having equal effect in their ratio of resisting or sensitivity for the ten antibiotics used in this study. Both were sensitive to each of the following antibiotics: Ciprofloxacin, Gentamycin, Trimethoprim, Vancomycin and Streptomycin, were also resistant for each of: Penicillin, Amoxicillin, Erythromycin, Nalidixic acid and Tetracycline, which means by the percentage of 50% for each bacterial type. When the chemical and physical factors are used as mutagenic factors for Proteus type of bacteria, their effect was varied on the growth of the bacteria depending on the type of the mutagenic factor and the type of the Proteus bacteria.

Regarding the physical factors influence, it has been found that there is a various effect by the evidence of catalyzing the bacteria's growth by the 28° degree temperature and inhibition by the temperature of 4° and 43° degree, while the wavelength of the ultraviolet rays 254 nanometer had a positive influence on the growth increase of the bacteria by the increase of the rays exposure period (30,45,60) seconds by the percentages (67.7%, 80.9%, 83.6%, 58.2%, 75.2%, 77.9%) respectively

in each of *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis* bacteria compared to the comparison swab.

In regard to the effect of the chemical factors, it has been found that the concentrate of the using item is of great effect in the occurrence of the mutagenicity in this bacteria. The highest concentration of Acridine orange (100 mlg/cm³) had an inhibition effect over the growth of *Proteus* bacteria, on the contrast the highest concentration of Sodium Dodecyl sulfate (0.006%) had a catalytic effect over the growth of the bacteria compared to the comparison swabs for the both types.

A change has also taken place on the mutagenics' effects in its both chemical and physical types and on the sensitivity of the Bactericidal bacteria for the various antibiotics. The resistance percentage has come to 56% , 64% , 66% and 54% with sensitivity percentage 44% , 36% , 34, and 46% by the use of the heat and the ultraviolet rays as a physical mutagenic factors while the resistance reached 66%, 54%, 76%, 60% with sensitivity percentage as 34%, 46%, 24%, 40% when both Acridine orange and Sodium dodecyl sulfate were used as chemical mutagenic. In each of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgarism* respectively. Generally, these results show that the both physical and chemical factors led to a mutagen in *Proteus* bacteria by the evidence of their resistance percentage increase while decrease of their sensitivity percentage for the antibiotics during study and the top was the resistance in the *P.mirabilis* bacteria when using the UV rays and the SDS substance with increase percentage reached 16% and 26% respectively compared to the comparison sample which was 50%, these results were identical to the results of the statical analysis while using the programs SPSS by the level of ($P \leq 0.05$).

**University of Mosul
College of Education
for Pure Science**



**Isolation and Identification of some
Bacterial Species from Different Clinical
Samples and Study the Effect of Some
Physical and Chemical Factors as
Mutations on Bacteria Proteus**

Shaimaa Mohammed Taher Mhedi Al-Taiy

**M.Sc Thesis
Biology / Microbiology**

**Supervised By
Assist. Prof.
Dr. Najwa Ibrahim Khaleel Al-Barhawy**

1440 A.H.

2019 A.D.