



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

الكشف الجزيئي عن بعض عوامل ضراوة *Citrobacter* spp.

المعزولة من إصابات الحروق والجروح ومحاولة تثبيطها

علي صلاح محمود يونس الحسيني

رسالة ماجستير

علوم الحياة/أحياء مجهرية

جامعة الموصل

كلية العلوم

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتورة غادة عبد الرزاق محمد ابراهيم

الخلاصة

شملت الدراسة جمع (112) عينة سريرية (من مسحات الجروح وحالات الحروق) من الرافدين في المركز التخصصي للحروق والجروح التجميلية في مدينة الموصل للفترة من أيلول 2022 الى نهاية يناير 2023، للأعمار التي تراوحت من (2 الى 55) سنة لكلا الجنسين، ولغرض عزل أنواع بكتيريا *Citrobacter spp* منها. أشارت النتائج إلى عزل (5) سلالات بكتيرية *Citrobacter spp*، ثلاث منها تنتمي إلى النوع *C. freundii* وعزلة واحدة لكل من *C. werkmanii* و *C. farmeri*. وقد شُخِّصت العزلات بأعتماد التشخيص الروتيني وتأكيده باستخدام جهاز Vitek-2، وتم تأكيد التشخيص باستخدام الطرائق الجزيئية بمقارنة تتابعات القواعد النيتروجينية باستخدام الجين *16SrRNA* في المركز الوطني لمعلومات التقانات الحياتية NCBI باستخدام برنامج BLAST.

تم اختبار حساسية انواع بكتيريا *Citrobacter* تجاه (11) من المضادات الحيوية وأظهرت النتائج أن جميعها كانت مقاومة بنسبة 100% لمضادات التتراسايكلينات Doxycycline، Tetracycline و Oxy tetracycline بينما كانت حساسة لـ Amikacin، Trimethoprim، Norfloxacin، Levofloxacin و Ciprofloxacin.

تم الكشف عن وجود البلازميدات في أنواعها وأظهرت النتائج احتواء اربع عزلات من *Citrobacter* على البلازميدات ماعدا العزلة التابعة للنوع *C. farmari* لم تحتوي على أي بلازميد. بعد ذلك تم اجراء تحييد هذه البلازميدات بالطريقة الفيزيائية (الحرارة العالية 45 م) و الطريقة الكيميائية (اليوريا بتركيز 100، 200، 400 مايكروغرام/سم³). وأخيرا استعملت مواد طبيعية لأول مرة وهي كل من مستخلصات البصل والثوم بثلاثة تراكيز لكل منها (1، 5، 10 %) لغرض اختبار قدرتها بوصفها عوامل محيدة للبلازميدات، أظهرت النتائج نجاح الطريقة الفيزيائية والكيميائية في التحييد، اما عند استعمال المحيدات الطبيعية لمستخلصي الثوم والبصل فقد أخفق البصل بكل التراكيز المستخدمة فيما نجح الثوم بالتحديد في التركيزين 5 و 10% فقط.

فضلا عن ذلك تم الكشف جزيئيا عن جينات مقاومة التتراسايكلينات من خلال استخدام البودئ المخصصة للجينات *tetA* و *tetB* و *tetC*، وأظهرت النتائج ظهور الحزم الخاصة بالجينين *tetA* و *tetB* فيما لم تظهر حزم تثبت وجود الجين الثالث.

وأخيرا تم التحري عن بعض الجينات المسؤولة عن ضراوة هذه البكتيريا وهي كل من: *cnfl* و *hlyf* و *iucd* و *sfas*، فأظهرت النتائج احتواء السلالات قيد الدراسة على الجين *hlyf*

Abstract

The study included the collection of (112) clinical samples (from wound swabs and burn cases) among patients admitted to the Specialized Center for Burns and Cosmetic Wounds in Mosul for the period from September 2022 until the end of January 2023, for ages ranging from (2 to 55) years for both sexes, and an attempt was made to isolate the types of *Citrobacter spp* bacteria from them.

The results indicated the isolation of (5) strains of *Citrobacter spp*, three of which belong to the type *C. freundii* and one for each *C. werkmanii* and *C. farmeri*. The isolates were diagnosed based on routine diagnosis and then confirmed using the Vitek-2 device, and using molecular methods by comparing nitrogen base sequences using the *16SrRNA* gene at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) using BLAST software.

Citrobacter spp. were tested for sensitivity to 12 antibiotics and the results showed that all were 100% resistant to the tetracyclines Doxycycline, Tetracycline and Oxy tetracycline while they were sensitive to Amikacin, Trimethoprim, Nalidixic acid, Norfloxacin, Levofloxacin and Ciprofloxacin. The presence of plasmids in their types was detected and the results showed that all *Citrobacter* isolates contained plasmids, after which curing of these plasmids was carried out by physical method (high temperature 45 °C) and chemical method (urea at concentrations of 100, 200, 400 µg/cm³).

Finally, natural materials were used for the first time, namely onions and garlic in three concentrations (1, 5, 10%) for the purpose of testing their ability as curing agents, the results showed the success of the physical and chemical method in curing, whereas using natural curing for garlic and onion extracts, onions failed with all the concentrations used, while garlic succeeded in curing in concentrations of 5 and 10% only.

In addition, tetracycline resistance genes were molecularly detected through the use of precursors assigned to the genes *tetA*, *tetB* and *tetC*, and the results



showed the appearance of bands for the *tetA* and *tetB* genes, while no bands proving the presence of the third gene appeared.

Finally, some genes responsible for the virulence of this bacterium were investigated, namely: *cnf1*, *sat*, *hlyf*, *iucd* and *sfas*, the results showed that the strains under study contain only the *hlyf* gene through the molecular size of 1117 base pairs inferred from standard bands, while the rest of the genes did not appear in them.

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



Molecular Detection of some virulence factors for *Citrobacter* spp. Isolated from burn and wounds infection and try inhibition it

A Thesis submitted by

Ali Salah Mahmoud Younis Al-Husseini

M.Sc. Thesis

Biology /Microbiology

Supervised by

Asst. Prof.

Dr. Ghada Abdul -Razzaq Mohammad Ibrahim

1444 A.H.

2024 A.D.