جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

التوصيف الجزيئي للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من إصابات العين في القطط الأليفة

نغم دريد نجم عبدالله

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الأحياء المجهرية البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

إحسان منير أحمد التتنجي

جمادي الأولى/ ١٤٤٦ هـ

تشرين الثاني/ ٢٠٢٤ م

الخلاصة

تتعرض القطط الأليفة إلى العديد من الإصابات والعوامل الممرضة ومنها إصابات العين الجرثومية التي من شأنها أن تلحق ضرراً بالغاً في القطط المصابة. ومن بين الإصابات الجرثومية المهمة تعتبر الإصابة بالمكورات العنقودية الذهبية من اهم الإصابات الجرثومية التي تصيب العين في القطط.وعليه فقد هدفت الدراسة إلى عزل المكورات العنقودية الذهبية من اصابات العين في القطط الأليفة في مدينة الموصل وتوصيفها باستخدام طرق العزل الجرثومي القياسية والتي شملت العزل على الاوساط الزرعية وفحص الحساسية للمضادات الحيوية بالإضافة الى الطرق الجزيئية والتي شملت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل وتقنية فحص التتابع الجيني للحامض النووي منقوص الاوكسيجين. إذ جمعت ١٠٠ مسحة عين من القطط التي ظهرت عليها علامات الاصابة كما جمعت البيانات الأخرى مثل النوع والجنس والعمر للوقوف على تأثير هذه المتغيرات في إصابات العين. أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة عزل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بلغت ١٠٠/41 (41%) من القطط التي فحصت، في حين كان عدد الحالات السالبة للعزل الجرثومي 59/١٠٠ وبنسبة (59%). واظهرت النتائج ايضا أن نسبة الجراثيم التي عزلت من ذكور القطط كانت أعلى وبلغت ٤١/23 (56.1%) في حين بلغت ٤٣/18 (٤٣,٩٪) في إناث القطط مع وجود فارق معنوي $P\leq0.05$ للذكور مقارنة مع الإناث. وأظهرت النتائج أن القطط ذات العمر≤ ٦ أشهر أكثر عرضة للإصابة بالتهابات العين الجرثومية وسجلت ٤١/٢٩ (٧٠,٧٪) من االقطط≤ ٦ أشهر التي سجلت ٤١/١٢ (٢٩,٣٪). وأظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية وتطور المقاومة بشكل ملحوظ ضد العديد من المضادات الحيوية مثل ampicillin and cefotaxime, amoxicillin, gentamycin, methicillin and amikacin. أما نتائج التشخيص الجزيئي باستخدام PCR فقد أظهرت أن الجراثيم المعزولة تعود إلى *Staphylococcus aureus* وبحجم ناتج ٢٧٩ bp للجين *nuc* والخاص بتشخيص المكورات العنقودية. كما تم الكشف عن نواتج التضخيم لجينات الضراوة ؛إذ كانت للجين *clfA* بحجم bp288، وكانت بحجم 203 bp للجين *clfB* و بحجم 674 bp للجين *coa*. كما تم الكشف عن جين *mecA* وبحجم 174 bp والمسؤول عن المقاومة للمضادات الحيوية نوع methicillin والمعروفة MRSA. كما تم تأكيد نتائج PCR الخاصة بنوع المكورات العنقودية الذهبية بتسجيل *nuc* gene للعزلات الخاصة في بنك الجينات GenBank تحت الأرقام GenBank Accession no. PP836109 و PP836110 و PP836111 و PP836112 وكذلك العزلات المقاومة methicillin التي تحمل الجين *mecA* بالارقام PQ181561 و PQ181562 و

PQ181563 و PQ181564. وحللت شجرة النشوء التطوري لمعرفة التباعد والتقارب بين العزلات للجينات المذكورة وقد بينت النتائج أن الجين *nuc* للعزلات الأربعة كانت مطابقة ١٠٠٪ لعزلات الإنسان من بلجيكا. كما أن تحليل نتائج الجين *mecA* اعطت تطابقاً ١٠٠٪ مع عزلات من الإنسان في كل من الصين وامريكا واليابان. إن هذا التطابق يدل على أن مصدر النشوء للعزلات من القطط هو من أصل بشري وأن القطط المرباة في المنازل تعد مضيفاً خازناً لهذه الجراثيم, يستنتج من هذه الدراسة أن الإصابات الجرثومية للعين في القطط تعد مهمة وتؤثر بشكل سلبي فيها كما أن القطط تلعب دور الخازن للمسببات الجرثومية وخصوصاً المكورات العنقودية التي تحمل صفة المقاومة للمضاد الحيوي المثيسيلين MRSA التي من شأنها أن تشكل خطراً كبيراً على الصحة العامة للإنسان.

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Eye Infections in Domestic Cats

Nagham Duraid Najim Abdullah

MSc/Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Ihsan Muneer Ahmed Al-Titinchi

2024 A.D **1446 A.H**

Abstract

Domestic cats are exposed to many infections and pathogens, including bacterial eye infections that can cause severe damage to infected cats. Among the important bacterial infections, *Staphylococcus aureus* is considered one of the most important bacterial infections that affect the eye in cats. Accordingly, this study aimed to isolate *Staphylococcus aureus* from eye infections in domestic cats in Mosul city and characterise it using standard bacteriological methods including bacterial isolation on culture media and antibiotic sensitivity test, additionally, molecular methods were also performed which included polymerase chain reaction and DNA sequencing. 100 eye swabs were collected from cats that showed signs of infection. Other data such as type, gender and age were also collected to determine the effect of these variables on eye infections. The study results showed that the isolation rate of *Staphylococcus aureus* was 41/100 (41%) of the cats examined, while the number of negative cases for bacterial isolation was 59/100 (59%). The results also showed that the percentage of bacteria isolated from male cats was higher and recorded 23/41 (56.1%), while it was recorded 18/43 (43.9%) in the female cats, with a significant difference $P \leq 0.05$ for males compared to females. The results showed that cats aged ≤6 months were more susceptible to bacterial eye infections and recorded 29/41 (70.7%) than cats aged ≥6 months, which recorded 12/41 (29.3%). The results of the antibiotic sensitivity test (AST) also showed a significant development of resistance against many antibiotics such as ampicillin and cefotaxime, amoxicillin, gentamycin, methicillin and amikacin. The results of the molecular diagnosis using PCR showed that the isolated bacteria belong to *Staphylococcus aureus,* with a product size of 279 bp for the *nuc* gene, which is specific for diagnosing staphylococci. The amplification products of the virulence genes were also detected, as

the *clfA* gene was 288 bp in size, the *clfB* gene was 203 bp in size, and the *coa* gene was 674 bp in size. The *mecA* gene, 147 bp in size was also detected, which is responsible for methicillin resistance, known as MRSA. The PCR results for *Staphylococcus aureus* were confirmed by deposition of the *nuc* gene for the respective isolates in the GenBank under accession no. PP836109, PP836110, PP836111, and PP836112, as well as the methicillin-resistant isolates carrying the *mecA* gene under accession numbers PQ181561, PQ181562, PQ181563, and PQ181564. The phylogenetic analysis was performed to determine the divergence and convergence between the isolates for the mentioned genes. The results showed that the *nuc* gene of the four isolates was 100% identical to the human isolates from Belgium. The analysis of the *mecA* gene results also gave 100% identicality with the human isolates from China, the United States and Japan. This idendity indicates that the source of origin of the isolates from cats is of human-type origin and that cats raised in homes are considered a reservoir host for these bacteria. It is concluded from this study that bacterial eye infections in cats are important and have a negative impact, and the cats play the role of a reservoir for bacterial pathogens, especially *S. aureus* that have the characteristic of methicillin-resistant MRSA, which can pose a major threat to human public health.