

**University of Mosul
College of Sciences**



**Effect of *Enterobacter cloacae* Lipopolysaccharide
on Number of Pathogenic Bacteria and Autophagy
Stimulation**

Rawaa Ahmed Khalaf Aswad

M.Sc. Thesis

Biology / Microbiology

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Hiyam Adel Ibrahim Al-Taii

Summary

One hundred six different specimens were collected to isolate and identify some gram-negative and gram-positive bacteria from AL-Salam Teaching and Al-Khansaa Teaching Hospitals in Mosul City during the period between August 15 to November 30, 2019. Lipopolysaccharide (LPS) was extracted from *Enterobacter cloacae* by using the Methanol-Chloroform Method. The extract was identified by using a number of biochemical tests, such as the Molisch test, to detect carbohydrate content, Folin reagent to determine protein concentration, lipid solubility in organic solvent, and Biodrop to determine nucleic acid concentration. The extraction method showed their activity with low concentration of protein and nucleic acids in the extract. The Fourier Transform Infrared (FTIR) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) techniques were used to perform the chemical analysis of Lipopolysaccharides. The lipopolysaccharide demonstrated its activity in inhibiting microbial growth in all tested isolates at concentrations of 1100, 1000 $\mu\text{g/ml}$, while it was demonstrated inhibition of *Proteus mirabilis* at all used concentrations. Lipopolysaccharide has been found potential for its using as an inhibitor, antimicrobial growth and anti-adhesive agent. The Acridine Orange stain and fluorescent microscopy have been used to detect the presence of autophagy. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been used also as a model for eukaryotic cells to throw some light on the effect of lipopolysaccharide on the stimulation of autophagy. The lipopolysaccharide extract of *Enterobacter cloacae* showed ability to stimulate autophagy in *Saccharomyces cerevisiae* at concentrations of 15, 20, 25 and 30 $\mu\text{g} \ \mu\text{l}$, in which the higher the concentration of lipopolysaccharide, the more autophagy stimulating.

الخلاصة

تم جمع 106 عينة مختلفة ، لعزل وتشخيص عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام من مستشفيات السلام والخنساء التعليميين في الموصل للفترة من 15 آب إلى 30 تشرين الثاني 2019. تم استخلاص عديد السكريات الدهني من *Enterobacter cloacae* باستخدام طريقة الميثانول-كلوروفورم. شخص المستخلص باستخدام عدد من الاختبارات الكيموحيوية ، مثل اختبار مولش ، للكشف عن محتوى الكربوهيدرات ، وكاشف الفولن من أجل تحديد تركيز البروتين ، وقابلية ذوبان الدهون في المذيبات العضوية ، وتقنية القطرة الحيوية Biodrop لتحديد تركيز الحمض النووي.

أظهرت طرق الاستخلاص فعاليتها بسبب وجود تركيز منخفض من البروتين والأحماض النووية في المستخلص. واستخدمت تقنيات فورييه للأشعة تحت الحمراء (FTIR) وتقنية الفصل الكروماتوغرافي السائلة عالية الأداء (HPLC) لغرض التحليل الكيميائي لعديد السكريات الدهني. أظهر عديد السكريات الدهني فعاليتها في تثبيط نمو الميكروبات في جميع عزلات الاختبار بتركيز 1100 ، 1000 ما يكوغرام / مل ، بينما أظهر عديد السكريات الدهني تثبيط *Proteus mirabilis* في جميع التراكيز المستخدمة. أظهر عديد السكريات الدهني إمكانية استخدامه كمثبط لنمو الميكروبات. تم استخدام صبغة البرتقال أكريدين وتقنية الفحص المجهرى الفلور وسيني للكشف عن وجود الالتهام الذاتي. تم استخدام الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* كنموذج للخلايا حقيقية النواة لدراسة تأثير عديدات السكريات الدهني على تحفيز الالتهام الذاتي. أظهر مستخلص عديد السكريات الدهني لـ *Enterobacter cloacae* قدرته على تحفيز الالتهام الذاتي في *Saccharomyces cerevisiae* بتركيز 15,20,25 و 30 ما يكوغرام / ما يكرولتر ، وكلما زاد تركيز عديد السكريات الدهني زاد تحفيز الالتهام الذاتي.



جامعة الموصل

كلية العلوم

تأثير متعدد السكريات الدهني لـ *Enterobacter cloacae* على عدد
من البكتريا المرضية وتحفيز الالتهام الذاتي

رواء احمد خلف اسود

رسالة ماجستير

علوم حياة / احياء مجهرية

بإشراف

الاستاذ المساعد الدكتورة هيام عادل ابراهيم الطائي