



جامعة الموصل

كلية العلوم

عزل وتشخيص بعض أنواع البكتريا المرافقة لحالات التهاب  
المسالك البولية ومقاومتها لبعض المضادات الحيوية  
والمستخلصات الطبيعية

رسالة تقدمت بها الطالبة

شيماء زيدون نافع محمد العقراوي

الى

مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات

درجة الماجستير في اختصاص

علوم الحياة / الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور وائل ياسين حسن الدباغ

2017 م

1439 هـ

## الخلاصة

اولت الدراسة الحالية اهتماما بمرض التهاب المسالك البولية UTI اذ تم جمع 250 عينة ادرار من المرضى المراجعين والراقدين من اقسام مستشفى كولان العام في قضاء عقرة / محافظة دهوك للمدة ما بين شهر تشرين الثاني 2015 لغاية شهر أيار 2016. واعتمد التشخيص المختبري على الفحوصات المظهرية والمجهريّة والزرع البكتريولوجي لنماذج الادرار. وبينت الدراسة الحالية أن العمر له تأثير غير معنوي على نسبة الاصابة بالتهاب المسالك البولية، وأن أكثر الفئات اصابة ب UTI كانت فئة البالغين يتبعهم فئة المراهقين، ثم جاءت فئة الشيخوخة، وبالنسبة للأطفال والرضع كانت النسب تقريبا متساوية، أما نسبة اصابة النساء فكانت أكثر من الذكور في كل الفئات العمرية، كما أظهرت النتائج زيادة احتمال الاصابة مع تقدم السن. وكما كانت النساء الحوامل هن اكثر عرضة للإصابة ب UTI. وكذلك زيادة التهاب المسالك البولية عند المرضى المصابين بالسكري وكانت الأكثر شيوعا عند الإناث وكذلك بالنسبة للمرضى المصابين بأمراض الكلى فقد كانت الإناث الأكثر اصابة ب UTI من الذكور.

ركزت الدراسة الحالية اهتمامها بعزل وتشخيص بكتريا *E. coli* وبكتريا *Staph. aureus* من عينات المرضى المصابين ب UTI، وقد تم تشخيص العزلات اعتمادا على الخصائص المظهرية والصفات الزرعية والكيموحيوية اذ ظهرت عزلات بكتريا *E. coli* بنسبة 61.6% وعزلات *Staph. aureus* بنسبة 23.2%. واجريت اختبارات تشخيصية لعزلات البكتريا والتي تعدّ اختبارات تأكيدية للتشخيص واختبارات الحساسية للمضادات الحيوية باستعمال Vitek 2 compact ونظام Microscan وأجريت بعدها تقنية PCR للكشف عن جين محدد من 16srRNA والتي ظهرت بوضوح خلال الترحيل الكهربائي بشكل حزم بحجم معين ومع ملاحظة تسلسل النيوكلووتيدات للبرايمرات جينات الهدف 16srRNA. وبعدها تم اجراء اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية وهي (SXT) Sulfomethzol (F) Nitrofurantionl, (CN) Gentamicin, (CIP) Ciprofloxacin, (AK) Amikasin (AX), (CL) Cephalexin, Trimethoprim(TMP). وكانت كل عزلات بكتريا *E. coli* مقاومة لمضاد Cephalexin (CL) بنسبة 100% وحساسة لمضاد Ciprofloxacin (CIP) بنسبة 100%, وأظهرت عزلات بكتريا *E. coli* اعلى قدرة تثبيطية عند المضاد Ciprofloxacin (CIP) بقطر تثبيط 23 ملم. أما عزلات بكتريا *Staph. aureus* فكانت حساسة بنسبة 100% للمضادين (AK) Amikasin و Trimethoprim (TMP) , ومقاومة لمضاد Amoxicillin (AX) بنسبة 100%, وأعطت

عزلات بكتريا *Staph. aureus* أعلى قدرة تثبيطية عند المضاد Ciprofloxacin (CIP) بقطر تثبيط 22 ملم.

وتضمنت الدراسة أيضا استخدام مستخلصات طبيعية شملت (قشور وعصير وبذور الرمان, الثوم, الزعتر, الكرفس, البقدونس, العسل, الزنجبيل, الكركم, الحلبة, حبة السوداء, زيت الحلبة, زيت حبة السوداء ) وكانت المستخلصات المائية لهذه ذات قدرة تثبيطية معنوية عند التركيزين 100% و 75% بتحليلها إحصائيا عند مستوى احتمالية 0.01%, وقد بينت نتائج التحليل الاحصائي أن مستخلص العسل المائي أعطى أعلى قدرة تثبيطية عند التركيز 75% لكلا نوعي البكتريا *Staph. aureus* و *E. coli* مقارنة ببقية المستخلصات. وعند مقارنة قطر التثبيط للمستخلصات المائية مع المضادات الحيوية كانت مستخلصات قشور الرمان والعسل والثوم والزنجبيل ذات نتائج تثبيطية عالية مقارنة بالمضادات الحيوية, وكانت بكتريا *Staph. aureus* أكثر تحسنا للمواد النباتية من بكتريا *E. coli*.

University of Mosul  
College of Science



**Isolation and Diagnosis Some of Bacteria  
Associated With Urinary Tract Infections and  
Their Resistance to Certain Antibiotics and  
natural Extracts**

M. Sc. Thesis Submitted By

**Shaimaa Zaidoun Nafie M. Al- Akrawi**

*To*

To Council of the College of Science University of Mosul In  
Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of  
Master's degree

*In*

**Biology/Microbiology**

Supervised By

**Assist. Dr. WAIL Yassin H. ALDABBAGH**

1439 A.H.

2017 A.D.

## ABSTRACT

The current study was devoted to UTI, where 250 samples from auditors and arrivals patients were collected from the departments of Gulan Hospital General in Aqra district / Duhok governorate between November 2015 and May 2016. The laboratory diagnosis was based on morphological and microscopic tests and bacteriological implantation of urine prototypes. The study showed that age has an impact not significant on the proportion of UTI, and that the most affected group of UTI was the adult category, followed by the category of adolescents and then came the age of aging and for children and infants were almost equal proportions and the proportion of women were more than males in all age groups, The results also showed an increased risk of infection with age. Just as pregnant women were more likely to develop UTI. As well as increased urinary tract infection in patients with diabetes it was most common in females as well as for patients with kidney disease the females were most affected by UTI of males.

Nowadays study has focused on isolating and diagnosing the *E. coli* and *Staph. aureus* bacteria from UTI patients, The isolates were diagnosed based on phenotypic characteristics and plant traits and chemical reaction, With *E. coli* isolates with 61.6% and *Staph. aureus* isolates with 23.2%. Diagnostic tests were carried out for bacterial isolates which have confirmed the diagnostic tests and microbial antibody Vitek 2 compact and Microscan and The PCR technique was then carried out to detect a specific gene of 16srRNA that was clearly demonstrated during the electrophoresis at a certain size and noting the sequence of nucleotides of the genes Target 16srRNA, Antibiotics were then tested Sulfomethzol (SXT), Nitrofurantionl (F), Gentamicin(CN), Ciprofloxacin (CIP), Amikasin (AK), Amoxicillin (AX), Cephalexin (CL),

Trimethoprim (TMP). All *E. coli* isolates were 100% anti-Cephalexin (CL) and 100% sensitive to Ciprofloxacin (CIP), *E. coli* isolates showed the highest inhibitory capacity of Ciprofloxacin (CIP) with a diameter of 23 mm. *Staph. aureus* isolates were 100% sensitive to Amikasin (AK) and Trimethoprim (TMP), Resistant to Amoxicillin (AX) 100%, and the isolates of *Staph. aureus* gave the highest inhibitory capacity of Ciprofloxacin (CIP) with a diameter of 22 mm.

The study also included the use of natural extracts (peel, juice, seeds of pomegranate, garlic, thyme, caravans, parsley, honey, ginger, turmeric, ring, black grain, These water extracts had a significant inhibitory capacity at 100% and 75% concentrations by statistical analysis at a probability level of 0.01%, The results of the statistical analysis have showed that the extract of water honey gave the highest inhibitory capacity at the concentration of 75% for both bacteria *E. coli* and *Staph. aureus* compared to the rest of the extracts. When comparing the inhibition diameter of the aquatic extracts with the antibiotics, the extracts of pomegranate, honey, garlic and ginger had high inhibitory results compared with antibiotics, *Staph. aureus* bacteria were more sensitive to plant material than *E. coli* bacteria.

## قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	الرقم
I-II	الخلاصة	
III-VII	قائمة المحتويات	
VII-IX	قائمة الصور	
IX	قائمة الأشكال	
X	قائمة الجداول	
XI	قائمة المختصرات	
3 -1	الفصل الأول	
3 -1	المقدمة	1-1
21 -4	الفصل الثاني: استعراض المراجع	
5 -4	العوامل المؤثرة في انتشار UTI	1-2
5	تصنيف التهابات المسالك البولية UTIs	2-2
5	التهابات المسالك البولية غير المعقدة	1-2-2
5	التهاب المثانة	1-1-2-2
5	التهاب الحويضة والكلية (التهاب الكلى)	2-1-2-2
5	التهابات المسالك البولية المعقدة	2-2-2
6	التهاب المثانة الخلالي (متلازمة المثانة المؤلمة)	1-2-2-2
6	الالتهابات المتكررة	2-2-2-2
6	السلس البولي	3-2-2-2
6	الإصابة البكتيرية للبول اللاعراضي	4-2-2-2
6	الإصابة البكتيرية للبول المزمن	5-2-2-2
6	التهاب المهبل البكتيري	6-2-2-2
7	الأسباب المساعدة لحدوث التهاب المسالك البولية	3-2
8	الأعراض المصاحبة لالتهاب المسالك البولية	4-2
9 -8	العلاقة بين أعداد الخلايا البكتيرية في البول و UTI	5-2
9	البكتريا الممرضة المصاحبة لالتهاب المسالك البولية	6-2
11 -10	خصائص بكتريا <i>Escherichia coli</i>	7-2
11	الأمراضية	1-7-2

الصفحة	الموضوع	الرقم
12 -11	الوبائية	2-7-2
13-12	خصائص بكتريا <i>Staphylococcus aureus</i>	8-2
14 -13	الأمراضية	1-8-2
15 -14	الوبائية	2-8-2
16 -15	الطرائق التشخيصية التأكيدية لبكتريا <i>Staph. aureus</i> و <i>E. coli</i>	9-2
17 -16	مقاومة المضادات الحيوية Antibiotic resistance	10-2
18 -17	طرائق مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية	11-2
21 -18	المستخلصات النباتية الطبية	12-2
40 -22	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل	
25	تحضير الاوساط الزرعية	1-3
25	وسط اكار دم الاساس	1-1-3
25	وسط اكار صفار البيض	2-1-3
25	وسط اليوريز	3-1-3
25	وسط الحركة	4-1-3
25	وسط سكر الحديد الثلاثي	5-1-3
25	تحضير الصبغات والكواشف والمحاليل	2-3
26	الصبغات	أولا
26	الكواشف	ثانيا
26	كاشف الكاتاليز	1-2-3
26	كاشف ألاوكسيديز	2-2-3
26	كاشف كوفاك	3-2-3
26	كاشف أحمر المثل	4-2-3
26	كاشف فوكس بروسكور	5-2-3
27	المحاليل	ثالثا
27	المحلول الملحي الفسلجي	6-2-3
27	محلول ثابت العكرة القياسي	7-2-3
27	المحاليل المستخدمة في استخلاص الحامض النووي والترحيل الكهربائي	رابعا

الصفحة	الموضوع	الرقم
27	محلول دارى TE (Tris-EDTA pH:8.0)	8-2-3
27	محلول دارى التحميل	9-2-3
28	محلول صبغة الاثديوم برومايد	10-2-3
28	محلول Tris- Borate- EDTA (TBE 10X)	11-2-3
28	محلول Tris- Borate- EDTA	12-2-3
28	تحضير المستخلصات الطبيعية	3-3
28	تحضير اقراص من المستخلصات الطبيعية	4-3
29	جمع عينات الادرار	5-3
29	فحص الادرار	6-3
29	الفحص العام ( الظاهري )	1-6-3
30	الفحص المجهرى	2-6-3
30	عزل البكتريا الممرضة	7-3
30	عزل بكتريا <i>E. coli</i>	1-7-3
30	عزل بكتريا <i>Staph. aureus</i>	2-7-3
30	تشخيص المستعمرات	8-3
30	الفحص المجهرى والمظهري	1-8-3
31	الاختبارات الكيموحيوية	2-8-3
31	اختبار سكر الحديد الثلاثي	1-2-8-3
31	اختبار الاوكسيديز	2-2-8-3
31	اختبار الكتاليز	3-2-8-3
31	اختبار اليوريز	4-2-8-3
31	اختبار التخثر	5-2-8-3
31	اختبار تحلل الدم	6-2-8-3
32	تخمير الكاربوهيدرات	7-2-8-3
32	اختبار تحلل الدهون	8-2-8-3
32	اختبار الحركة	9-2-8-3
32	IMVIC VP Tests	3-8-3
32	اختبار الاندول	1-3-8-3

الصفحة	الموضوع	الرقم
32	اختبار المثل الاحمر	2-3-8-3
32	اختبار فوكس - بروسكور	3-3-8-3
33	اختبار السترات	4-3-8-3
33	اختبار اختزال النترات	5-3-8-3
33	اختبار الجلوتينيز	6-3-8-3
33	الحفاظ على العزلات البكتيرية	9-3
33	حفظ العزلات لوقت قصير	1-9-3
34	حفظ العزلات لوقت طويل	2-9-3
34	تشخيص العزلات البكتريا بواسطة نظام VITEK 2	10-3
34	تحضير اللقاح	1-10-3
34	طريقة عمل جهاز VITEK 2	2-10-3
35	تشخيص واختبار حساسية المضادات لعزلات البكتريا بواسطة Microscan	11-3
35	تحضير المعلق البكتيري	1-11-3
36	تشخيص العزلات البكتريا بواسطة تقنية PCR	12-3
36	متطلبات انتاج الحمض النووي (DNA) بواسطة PCR	1-12-3
36	استخلاص DNA الجينومي من عزلات البكتريا	2-12-3
37	الكشف عن 16srRNA في جينات البكتيرية بواسطة PCR	3-12-3
37	برنامج الدورات الحرارية	4-12-3
39	الترحيل الكهربائي	5-12-3
39	اختبار الحساسية للمضادات الحيوية	13-3
39	تنشيط المزارع النقية للأحياء المجهرية وتحضير اللقاحات	1-13-3
40	اختبار الفعالية التضادية للمستخلصات النباتية المائية	14-3
40	التحليل الاحصائي	15-3
84-41	الفصل الرابع / النتائج و المناقشة	
41	نتائج جمع العينات من الاقسام المختلفة من المستشفى	1-4
46	فحص الادرار	2-4
46	الصفات المظهرية	1-2-4

الصفحة	الموضوع	الرقم
48	الصفات المجهرية	2-2-4
49	عزل البكتريا الممرضة المصاحبة لمرضى التهاب المسالك البولية	3-4
52	عزل بكتريا <i>E. coli</i>	1-3-4
52	تشخيص بكتريا <i>E. coli</i> بالاختبارات الكيموحيوية	1-1-3-4
55	عزل بكتريا <i>Staph. aureus</i>	2-3-4
55	تشخيص بكتريا <i>Staph. aureus</i> بالاختبارات الكيموحيوية	1-2-3-4
57	تشخيص عزلات البكتريا بنظام VITEK 2 ونظام Microscan و PCR	4-4
57	تشخيص بكتريا <i>E. coli</i>	1-4-4
58	تشخيص بكتريا <i>Staph. aureus</i>	2-4-4
58	حساسية البكتريا <i>E. coli</i> و <i>Staph. aureus</i> للمضادات الحيوية	5-4
65	نتائج المستخلصات الطبيعية ومقارنتها مع نتائج المضادات الحيوية	6-4
86-85	الفصل الخامس	
85	الاستنتاجات	
86	التوصيات	
104-87	المصادر	
87	المصادر العربية	
89	المصادر الاجنبية	

## قائمة الصور

رقم الصفحة	العنوان	رقم الصورة
35	جهاز VITEK 2	1-3
57	تشخيص <i>E. coli</i> بواسطة تقنية PCR	1-4
58	تشخيص <i>Staph. aureus</i> بواسطة تقنية PCR	2-4
63	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (SXT)	3-4
63	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (TMP)	4-4
63	بكتريا <i>Staph. aureus</i> تجاه (SXT)	5-4
63	بكتريا <i>Staph. aureus</i> تجاه (TMP)	6-4
63	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (CN)	7-4
63	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (AK)	8-4
64	بكتريا <i>Staph. aureus</i> تجاه (CN)	9-4
64	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (CIP)	10-4
64	بكتريا <i>Staph. aureus</i> تجاه (CIP)	11-4
64	بكتريا <i>E. coli</i> تجاه (F)	12-4
64	بكتريا <i>Staph. aureus</i> تجاه (F)	13-4
78	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص قشور الرمان	14-4
78	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص قشور الرمان	15-4
79	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص عصير الرمان	16-4
79	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص الثوم	17-4
79	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص الثوم	18-4
79	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص الزعتر	19-4
79	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص الكرفس	20-4
79	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص البقدونس	21-4
80	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص العسل	22-4
80	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص العسل	23-4
80	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص الزنجبيل	24-4
80	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص الزنجبيل	25-4

رقم الصفحة	العنوان	رقم الصورة
80	<i>E. coli</i> تجاه مستخلص الكركم	26-4
80	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص الكركم	27-4
81	<i>E. coli</i> تجاه زيت الحلبة	28-4
81	<i>Staph. aureus</i> تجاه مستخلص حبة السوداء	29-4

## قائمة الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
44	النسب المئوية لأعداد المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية حسب الفئات العمرية	1-4
49	النسب المئوية للصفات المجهرية لعينات الادرار	2-4
51	النسبة المئوية للبكتريا السالبة لصبغة كرام في عينات الادرار على وسط MAC	3-4
51	النسبة المئوية للبكتريا الموجبة لصبغة كرام في عينات الادرار على وسط MSA	4-4

## قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
22	المعدات والاجهزة المختبرية المستخدمة في الدراسة	1-3
23	المواد المستخدمة في الدراسة	2-3
24	المضادات المستخدمة في اختبارات الحساسية وتراكيزها	3-3
24	الأوساط الزرعية المستخدمة	4-3
37	تسلسل البرايمرات المستخدمة في تشخيص العزلات البكتيرية	5-3
37	مكونات خليط تفاعل PCR	6-3
38	برنامج الدورة الحرارية Temperature Cycling Program	7-3
38	برنامج الدورة الحرارية Temperature Cycling Program	8-3
42	اعداد والنسب المئوية للمرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية من الذكور والاناث والاطفال, المستخدمين وغير المستخدمين للأدوية من الاقسام الموجودة في المستشفى.	1-4
47	الأعداد العينية الادرار الطبيعي وغير الطبيعي ونسبها المئوية	2-4
50	اعداد ونسب نمو البكتريا على الاوساط الزرعية من عينات الادرار	3-4
54	الاختبارات الكيموحيوية لعزلات <i>E. coli</i>	4-4
56	الاختبارات الكيموحيوية لعزلات <i>Staph. aureus</i>	5-4
57	اختبارات الـ Vitek2 و Microscan و PCR لبكتريا <i>E. coli</i> و <i>Staph. aureus</i>	6-4
60	تأثير المضادات الحيوية القياسية على بكتريا <i>E. coli</i>	7-4
61	تأثير المضادات الحيوية القياسية على بكتريا <i>Staph. aureus</i>	8-4
81-82	تأثير المستخلصات الطبيعية لعزلتين (مقاومة، حساسة )	9-4
83	تراكيز MIC للمستخلصات المائية النباتية لعزلات البكتريا	10-4
83	التحليل الاحصائي لتأثير المستخلصات المائية النباتية على بكتريا <i>E. coli</i> و <i>Staph. aureus</i>	11-4
84	التحليل الاحصائي لتراكيز المستخلصات المائية للمواد النباتية على بكتريا <i>E. coli</i> و <i>Staph. aureus</i>	12-4

## قائمة المختصرات

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
L.S.D	Least Significant Difference
MAC	Macconkey Agar
MSA	Mannitol salt Agar
MIC	Minimum inhibitory concentration
PCR	Polymerase chain reaction
<i>Staph. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UTI	Urinary Tract Infection
UPEC	Uropathogenic <i>E.coli</i>
µg/ disc	مايكروغرام/ قرص
µl	مايكروليتر