



جامعة الموصل
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

انتقال صفة المقاومة وبعض عوامل الضراوة في بعض أنواع الجراثيم المعوية المعزولة من مصادر مختلفة

محمد أمير عبدالله الراشدي

رسالة ماجستير
علوم الحياة / الاحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور محسن أيوب عيسى العكدي

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في الفترة من أيلول 2012 إلى تشرين الثاني 2013 لدراسة انتشار وتوزيع صفة المقاومة لبعض المضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة وامتلاك عوامل الضراوة في عزلات البكتريا المعوية المعزولة من مصادر مختلفة وإمكانية انتقال هذه الصفات بين هذه البكتريا السالبة لصبغة كرام وبين البكتريا المعوية الموجبة لصبغة كرام وتوضيح هذا الانتقال على المستوى الجزيئي , إذ جمعت (120) عينة شملت المستشفيات ومياه المجاري والعينات السريرية واستخدمت السلالة القياسية لبكتريا *Salmonella typhimurium* بوصفها سلالة مستلمة (Recipient Strain) في هذه الدراسة.

عزلت وشخصت 15 عزلة من كل من بكتريا *Escherichia coli* وبكتريا السالمونيلا بواقع خمس عزلات لكل منها من بيئة المستشفيات وخمس عزلات من مياه المجاري وخمس عزلات من عينات سريرية واعتمدت الاختبارات الشكلية والزرعية والكيموحيوية الملائمة في عزل وتشخيص هذه العزلات.

أظهرت نتائج اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية تباينا واضحا في توزيع وانتشار صفة المقاومة تجاه هذه المضادات سواء في عزلات المصدر الواحد أو ضمن مصادر العزل المختلفة لكل من بكتريا *Escherichia coli* وبكتريا السالمونيلا , كما أن معظم العزلات أظهرت صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية وان صفة مقاومة المضادات Amoxicillin و Ampicillin و Erythromycin كانت الأكثر شيوعا بين العزلات المدروسة.

وفيما يتعلق بأملاح المعادن الثقيلة (كلوريد الزئبق, كلوريد النيكل, كلوريد الكوبلت, كلوريد الكاديوم, كبريتات النحاس) فقد أظهرت البكتريا المدروسة من مصادرها المختلفة مقاومة واضحة تجاه هذه المعادن, وان أعلى نسبة مقاومة لنوعي عزلات البكتريا *Escherichia coli* والسالمونيلا كانت تجاه كلوريد النيكل بمعدل 93.3% و 73.3% على التوالي . كما تباين توزيع وانتشار هذه الصفة باختلاف العزلة ومصدر العزل.

تبين من خلال النتائج الخاصة بالتحري عن امتلاك العزلات المدروسة لبعض عوامل الضراوة (الهيموليسين , البروتيز , اليوريز , الجيلاتينيز) إن إنتاج الهيموليسين كان شائعا في العديد من عزلات نوعي البكتريا كذلك البروتيز في بعض عزلات *Escherichia coli* وقد تباين توزيع عوامل الضراوة هذه باختلاف العزلات ومصدر العزل , بينما تبين عدم امتلاك العزلات المدروسة لبقية عوامل الضراوة .

أظهرت نتائج تجارب الاقتران إمكانية حصول الاقتران البكتيري بين العزلات المدروسة وبين سلالات السالمونيلا القياسية وعند استخدام بكتريا *Escherichia coli* كسلالة واهبة

حصل الاقتران بتردد مقداره $(10^{-4} \times 0.11)$, أما في حالة استخدام البكتريا الموجبة *Enterococcus faecalis* فقد حصل الاقتران بتردد $(10^{-4} \times 0.03)$ وان مجموعة من صفات المقاومة للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة وبعض عوامل الضراوة قد انتقلت إلى العزلات المقترنة الأمر الذي يشير إلى وقوع جينات هذه الصفات على مواقع بلازميدية انتقلت خلال انتقال البلازميدات إلى الخلية المقترنة.

وعندما درس تأثير درجات الحرارة المختلفة (40 , 45 , 50 , 55) م° على حصول عملية الاقتران تبين أن أفضل درجة حرارة لحصول هذه العملية هي 40 م° حيث ازداد معدل تردد الاقتران إلى $(10^{-4} \times 0.16)$ و $(10^{-4} \times 0.075)$ لكل من بكتريا *Escherichia coli* و *Enterococcus faecalis* على التوالي عند استخدامها كسلالات واهبة.

وللتأكد من حصول الاقتران وانتقال البلازميدات تم استخلاص البلازميدات من العزلات المدروسة وترحيلها كهربائياً , حيث تبين عدم امتلاك السلالة القياسية المستلمة أي بلازميد وامتلاك عزلة *Escherichia coli* الواهبة ثلاث بلازميدات انتقل منها اثنان الأول بحجم اكبر من (10000 bp) والثاني بحجم (4000 bp) إلى البكتريا المقترنة , كما بين امتلاك عزلة *Enterococcus faecalis* الواهبة على بلازميد واحد انتقل إلى الخلية المقترنة بحجم اكبر من (10000 bp) .

**University of Mosul
College of Science
Biology Department**



**Transfer Of Resistance And Some
Virulence Factors in Some enteric Bacteria
Isolated From Different Sources**

**Mohammed Ameer Abdullah
Al-Rashidy**

**M.Sc Thesis
Biology / Microbiology**

**Supervised By
Assist Prof.**

Dr. Muhsin Ayoub Essa Al-Oqaidy

1438 A.H.

2017 A.D.

Abstract

This study was conducted during the period from September 2012 to November 2013 in an attempt to investigate the spread and the distribution of the characteristic of resisting some antibiotics and heavy metals salts and the virulence factors of the enterobacter isolated from various sources and the possibility of the transfer of these characteristics between the gram negative type and the enterobacters with gram positive type in addition to clarifying this transfer on the molecular level. Therefore, (120) samples were collected which included the hospitals, wastewater and the pathogenic samples. The standard *Salmonella typhimurium* was used as the recipient cells in this study.

Fifteen bacterial isolates were isolated and diagnosed for the *Escherichia coli* and of salmonella as five isolates from the hospitals environment, five isolates from the wastewater and five isolates from pathogenic environment. The morphological , cultural and biochemical tests were depended for isolation and identification these isolates.

The results of the tests of sensitivity against the antibiotics showed a clear variation in the distribution and the spread of the resistance feature against these antibiotics whether in the isolates from one source or within different sources for both *Escherichia coli* and Salmonella. Moreover, most of the isolates showed multiple resistance feature against the

antibiotics and the feature of resisting the Amoxicillin, Ampicillin and Erythromycin antibiotics was the most common amongst the isolates studies.

In terms of the heavy metals salts, the bacteria in question which were taken from various sources showed a clear resistance against the metals salts (CuSO_4 , CoCl_2 , NiCl_2 , CdCl_2 and HgCl_2) and the highest percentage of the *Escherichia coli* and the Salmonella was against NiCl_2 which was (93.3%) and (73.3%) respectively. Also the distribution and the spread of this feature was variant based on the isolate and the source of the isolate.

From the results of investigating whether the isolates have the feature of some virulence factors (Haemolysin, Protase, Urease and Gelatinase) and that the production of Haemolysin was common amongst many isolates of the two types of bacteria and the same was for the Protase in the *Escherichia coli*. The distribution of the virulence factors varied according to the isolates and the sources of these isolates, while it was clear that the isolates in question do not have the rest of virulence factors.

The results of the conjugation experiments showed that the bacterial conjugation it is possible to take place between the isolates in question and the standard Salmonella strains. When using the *Escherichia coli* as a donor strain the conjugation took place with a frequency of (0.11×10^{-4}) , but when using the positive gram *Enterococcus faecalis*, the conjugation

occurred with a frequency of (0.03×10^{-4}) and that the group of resistance features against the antibiotics and heavy metals and some virulence factors transferred to the conjugative isolates and that indicates the occurrence of this characteristic genes on plasmid locations which transferred during the transfer of the plasmids to the conjugated cell.

When various temperature (40, 45, 50 and 55 centigrade) effect was studied on the conjugation occurrence, it was shown that the optimum temperature for the occurrence of this process was (40) centigrade as the frequency of the conjugation increased to be (0.16×10^{-4}) and (0.075×10^{-4}) for both *Escherichia coli* and salmonella respectively when using them as a donor strains.

To make sure of the occurrence of conjugation and the transfer of the plasmids, the plasmids were extracted from the isolates and relaying them electrically, as it was clear that the recipient standard strain does not have any plasmid and the *Escherichia coli* donor isolate has three plasmids, two of which transferred to the conjugated bacteria; the size of the first is bigger than (10000 bp) and the second is (4000 bp), and it was also shown that the donor *Enterococcus faecalis* isolate has one plasmid which transferred to the conjugated cell which is of a size bigger than (10000 bp).