Ministry of Higher Education and

Scientific Research

University of Mosul

College of Science

Department of Biology

Metagenomics and Whole Genome Sequencing of Some Oral Pathogens Isolated from Patients Saliva

Suhair Taha Dawood Shareef

M.Sc. / Thesis

Biology / Microbiology

Supervised By

Prof. Dr. Amera Mahmood Mohammed Alrawi

2025 A.D. **1447 A.H.**

Abstract

The current study highlighted the importance of using metagenomics as a precise tool to analyze differences in oral microbiome composition between healthy individuals and those suffering from oral diseases such as periodontitis, gingivitis, and dental caries. The analysis revealed noticeable differences in the diversity of bacterial communities between the two groups, with an observed increase in the abundance of certain bacterial species associated with disease conditions in patients compared to healthy individuals.

The current study was designed as the first local study to isolate and diagnose Ligilactobacillus salivarius, Neisseria mucosa and Streptococcus Oralis. As a pathogenic cause of oral diseases in patients visiting Al-Noor Specialized Dental Center and Al Salam Hospital. A total of 100 saliva samples were collected, all samples showed growth of different bacterial species except five samples (5%) that did not show any growth.

These three main bacterial species that effectively isolated using modified Brucella agar and comfiemed at the molecular level through 16S rRNA gene sequencing.The obtained 16S rRNA gene sequences for each bacterial isolate were then compared with those available in the NCBI data base and assigned the accession numbers: PQ796883.1, PQ796884,1 ,PQ796886.1, PQ796887.1, PQ796463.1, and PQ796462.1.

Both phenotypic and genotypic characteristics of these species were determined using sequence analysis and colony morphology, Grame staining, and biochemical assays.

Whole genome sequencing (WGS) was performed on *L.salivariusSuAm7* in order to investigate its genetic characteristics. Whole-genome analysis revealed the presence of antibiotic resistance genes mdeA and vanT. Additionally, no genes related to nitrogen metabolism, secondary metabolism, motility,

chemotaxis, photosynthesis, phages, plasmids, or nodule formation were detected in the bacterial genome analyzed.

Using sensitivity tests study was carried out on saliva samples collected from patients with oral disease in order to test the effects of natural compounds, such as camel milk, aqueous and alcoholic clove extract, on the growth of isolated oral bacteria, and also test if the physical treatments like light curing and X-ray radiation, which are frequently employed in dental offices, affected the growth of bacteria in the saliva of patients with oral illnesses.

The results demonstrated that each of alcohol Clove extract and Camel milk has good inhibition to the growth of bacteria more than the aqueous Clove extract which comparatively show minor inhibition.

The results demonstrated that the bacteria exhibited resistance to both physical treatments (X-ray and light curing).

الخلاصة

ركزت الدراسة الحالية على أهمية استخدام تقنيات الميتاجينومكس كأداة دقيقة لتحليل الفروقات في تركيب ميكروبيوم الفم بين الأفراد الأصحاء والمرضى المصابين بأمراض الفم مثل التهاب اللثة، والتهاب دواعم السن، وتسوس الأسنان. وقد كشفت التحليلات عن وجود اختلافات واضحة في تنوع المجتمعات البكتيرية بين المجموعتين، حيث لوحظت زيادة في وفرة بعض الأنواع البكتيرية المرتبطة بالحالات المرضية لدى المرضى مقارنة بالأفراد الأصحاء.

وصُممت هذه الدراسة كأول دراسة محلية تهدف إلى عزل وتشخيص Ligilactobacillus salivarius، و Neisseria mucosa، و Streptococcus oralisباعتبارها مسببات مرضية محتملة لأمراض الفم لدى المرضى المراجعين لمركزي النور التخصصي لطب الأسنان ومستشفى السلام. تم جمع ما مجموعه 100 عينة من اللعاب، وأظهرت جميع العينات نمو أنواع مختلفة من البكتيريا باستثناء خمس عينات (5%) لم تُظهر أي نمو بكتيري.

تم عزل الأنواع البكتيرية الثلاثة الرئيسية بشكل فعال باستخدام أجار بروسيلا المُعدل، وتم التأكيد على هويتها من خلال التحليل الجزيئي باستخدام تسلسل جين 16 .S rRNAوتمت مقارنة التسلسلات الجينية المُتحصل عليها مع تلك المتوفرة في قاعدة بياناتNCBI ، وحصلت على أرقام الانضمام التالية: PQ796462.1. ،PQ796463.1 ،PQ796887.1 ،PQ796886.1 ،PQ796884.1 ،PQ796883.1

وقد جرى تحديد الخصائص الظاهرية والجينية لهذه الأنواع البكتيرية من خلال تحليل التسلسل، ومورفولوجيا المستعمرات، وصبغة غرام، والاختبارات الكيميائية الحيوية.

كما تم إجراء تسلسل الجينوم الكامل (Whole Genome Sequencing) على السلالة L. salivarius SuAm7 لدراسة خصائصها الوراثية، وكشف التحليل الجينومي الكامل عن وجود جينات مقاومة للمضادات الحيوية مثل mdeA و .vanTولم تُكتشف أي جينات مرتبطة بعمليات أيض النيتروجين، الأيض الثانوي، الحركة، الانجذاب الكيميائي، التمثيل الضوئي، الفيروسات البكتيرية (الفاجات)، البلازميدات أو تكوين العُقَد في الجينوم البكتيري الذي تم تحليله.

كما أجريت دراسة لاختبار تأثير بعض المركبات الطبيعية مثل حليب الإبل، ومستخلص القرنفل المائي والكحولي على نمو البكتيريا المعزولة من عينات اللعاب المأخوذة من مرضى يعانون من أمراض فموية، بالإضافة إلى اختبار ما إذا كانت العلاجات الفيزيائية مثل المعالجة الضوئية والتعرض

.....± للأشعة السينية – والتي تُستخدم كثيراً في عيادات الأسنان – تؤثر على نمو البكتيريا الموجودة في لعاب هؤلاء المرضى.

أظهرت النتائج أن كلاً من مستخلص القرنفل الكحولي وحليب الإبل لهما تأثير مثبط جيد على نمو البكتيريا، مقارنةً بمستخلص القرنفل المائي الذي أظهر تأثيرًا مثبطًا ضعيفًا. كما أظهرت النتائج أن البكتيريا كانت مقاومة وغير متأثرة بالعلاجات الفيزيائية (الأشعة السينية والمعالجة الضوئية) عند الطول الموجي والجرعة الاشعاع بمقدار .... ولمدة .....

جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

الميتاجينوم وتسلسل الجينوم الكامل لبعض ممرضات الفم المعزولة من لعاب المرضى

سهير طه داؤد شريف

رسالة ماجستير

علوم الحياة / احياء مجهرية

إشراف

الاستاذ الدكتورة

أميرة محمود محمد الراوي

1447هـ

2025 م