جامعة الموصل
كلية العلوم

التحري عن قدرة البكتريا المعزولة من التهابات المرارة على أنتاج الجسيمات النانوية ودراسة قدرتها التثبيطية على بعض البكتريا الممرضة

محمد طارش مطر صالح الحديدي

رسالة ماجستير
علوم الحياة / احياء مجهرية

باشراف

الاستاذ المساعد
الدكتورة غادة عبد الرزاق محمد ابراهيم الطائي

1442هـ 2020م

الخلاصة

جمعت 100 عينة من حالات التهاب المرارة Cholecystitis بعد استئصالها Cholecystectomy من مستشفيات مدينة الموصل والتي تضمنت مستشفى السلام التعليمي ومستشفى الموصل العام والمستشفى الجمهوري والمستشفيات الاهلية مثل مستشفى الزهراوي الاهلي ومستشفى الربيع الاهلي للفترة من شهر تشرين الاول 2019 واستمرت لمدة شهر كامل لعزل الانواع البكتيرية المرضية، زرعت العينات على الوسط الزرعي الانتقائي MacConkey Agar ووسط أكار الدم الغني وتم اجراء الاختبارات الكيموحيوية الخاصة بالبكتريا، كما استخدم نظام API في تشخيص العزلات التي لم يتم تشخيصها بالاختبارات السابقة، وتم الاعتماد على التشخيص الجزيئي في تشخيص العزلات التي لم يتم الجزم في التعرف عليها من خلال الكشف عن وجود الجين 16SrRNA بالاعتماد على تقنية PCR واجراء عملية التحليل التتابعي للقواعد النتروجينية من خلال المركز الوطني للتقانات الحياتية NCBI.

كانت نتيجة العزل والتشخيص الحصول على 13 نوع بكتيري، احتلت *Citrobacter intermedius* المرتبة الأولى منها.

تم اجراء اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية من أجل تحديد أي من العزلات تكون Extensive drug resistant (XDR) او Multidrug resistant (MDR) واظهرت النتائج وجود عزلة بكتيرية واحدة فقط من عزلات *Citrobacter intermedius* كانت من نوع MDR التي كانت مقاومة للمضادات الحياتية Doxycyclin و Piperacillin و Cefotaxime فيما كانت تسع عزلات بكتيرية من *C. intermedius* من نوع XDR ، أمَّا بكتريا *Enterobacter aerogenes* المعزولة في دراستنا فقد اظهرت وجود ست عزلات من نوع XRD.

استخدمت خمس عزلات بكتيرية مرضية في تصنيع جسيمات الحديد والنحاس النانوية وهي *Enterobacter aerogenes* و Spp. *Shigella* و *Enterobacter hormaechei* و *Morganella morganii* و *Enterobacter cloacae* فبالنسبة لمعدن الحديد كان التركيز 5 ملي مولر اكثر التراكيز الذي تغير فيه لون الوسط ومن قبل اغلب الانواع البكتيرية .

أما بالنسبة لمعدن النحاس فقد اعطت الدالة الحامضية 7 والتركيز 5 ملي مولر افضل النتائج من حيث تغير لون المحلول لكل من بكتريا Spp. *Shigella* و *E. hormaechei* و *E. clocae* اما بكتريا *M. morganii* فقد اعطت افضل نتيجة عند دالة حامضية 5 و7 وتركيز 10 ملي مولر، واظهرت بكتريا *E. aerogenes* و *E. cloacae* تغير في لون المحلول عند دالة حامضية 9 وتركيز 10 ملي مولر.

تم التحري عن الفعالية الضد بكتيرية لجسيمات الحديد والنحاس النانوية المصنعة ضد ثلاثة انواع من البكتريا المرضية وهي *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و *E.erogenes* و *C. intermedius* حيث اعطت جيسمات الحديد النانوية المصنعة بوساطة راشح بكتريا اكثر فعالية تثبيطية ضد *K. pneumoniae* بقطر 9 ملم و *E.coli* بقطر 14ملم و *C.intermedius* بقطر 9 ملم.

أمَّا جسيمات النحاس النانوية المصنعة بوساطة راشح بكتريا *E.cloacae* كانت الاكثر كفاءة في التثبيط حيث لوحظ ان لديها فعالية ضد بكتيرية ل *K. pneumoniae* و *C. intermedius* بقطر 16ملم و *E.coli* بقطر 10ملم .

واستخدم الليزر الدايودي الاحمر ذي الطول الموجي 650 نانوميتر وبطاقة مقدارها 50 ملي واط/سم^2 وبفترة زمنية مقدارها (2–5) دقيقة وبمسافة مقدراها10سم مع الرج بين فترة واخرى للتحري عن مدى تأثر البكتريا بالليزر كنوع من أنواع العلاج حيث لوحظ تأثيراً واضحاً في قدرة حزمة الليزر على القتل من خلال ملاحظة تناقص في اعداد المستعمرات النامية بعد تعرضها لليزر.

Abstract

One hunderde samples of cholecystitis cases were collected from the hospitals of mousl city for the period of one month beginning from October 2019 To isolate the pathogenic bacterial species the samples were cultured on the selective culture medium MacConkey agar and blood agar rich medium ,then the biochemical tests for bacterial identification were conducted and API system was used in the diagnosis of isolates that had not been diagnosed by biochemical tests , molecular identification was adopted in isolated diagnosis to definitively identifiey by detecting the presence of the 16SrRNA gene using PCR technology and conducting the process of sequential analysis of nitrogenous bases the National center for biotechnology(NCBI .

As aresult of isolation and diagnosis ,bacterial species were obtained ,of which *Citrobacter intermedius* ranked first.

Antibiotic Susebtibility test was performed for bacterial isolates to determine which isolate is XDR (Extensive drug-resistant) or MDR (Multidrug –resistant) The results showed that one bacterial isolate from *Citrobacter itermedius* was MDR which resisted Doxycyclin ,Piperacillin and Cefotaxime , while nine bacterial isolates were XDR and six isolates were XDR type for *Enterobacter aerogenes.*

Five pathogenic bacterial isolates were used in synthesis of iron and Cupper nanoparticl, namely *Enterobacter aerogenes ,Shigella Spp,Enterobacter hormaechei , Morganela morganii, , and Enterobacter cloacae.* For iron , the concentration of 5mM was the most in which the color of medium changed by all bacteria species supernatant

For copper the pH 7 and the concentration of 5mM gave the best results in the terms of the color change of the solution for each of *Shigella Spp.*And *E.hormaechei* and *E.cloacae* bacteria .Whereas *M.morganii* showed the best result at pH 5 and 7 with 10mM concentration ,While *E.aerogenes* and

E.cloacae showed changing in solution s color in pH 9 and 10m M concentration .

Antibacterial activity was investigated for synthesis of iron and copper nanoparticles against three pathogenic bacterial species namely *C.intermedius*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* . Iron nanoparticles produced by *E.aeragenens* supernatant gave most inhibition activity zone against *K.pneumoniae* with Adiameter of 9 mm ,*E.coli* with a diameter of 14 mm and *Cintermedius* with a diameter of 9 mm

As for the copper nanoparticles synthesis by *E.cloacae,* it was observed that have higher activity against *K.pneumoniae* with a diameter of 16 mm *E.coli* with adiameter of 10mm and *C.intermedius* with a diameter of 16mm.

The red diode laser with awavelength of 650 nanometers and a power of 50 mW / cm^3 for a period of (2-5) minutes and 10 cm distance was used to investigate of effecting the laser on bacteria as a type of treatment , it was clear effect in the laser ability to kill by observing decreasing the number of colonies was observed after exposure to radiation.

University of Mosul
College of Science

Ability of bacteria isolated from cholecystitis to synthesize nanoparticles and its inhibitory activity on some pathogenic bacteria

Mohammad Tarish Mutar Al-Hadidy

M.Sc Thesis
in
Biology / Microbiology

Supervised By
Assistant Professor
Dr. Ghada Abdul-Razzaq Mohammad Al-Taee

1442 A.H. **2020 A.D.**