جامعة الموصل
كلية العلوم

التشخيص المظهري والجزيئي للبكتيريا الهوائية المسببة لخراجات العين وامكانية علاجها

عبير محمود فرج محمد السبعاوي

رسالة ماجستير
علوم الحياة / إحياء مجهرية

بإشراف
الدكتورة ايناس عبد المنعم الليلة

1444هـ **2022 م**

الخلاصة

جمعت 104 عينة من حالات البَردة Chalazion والخاضعين للعمليات الصغرى بعد تأكيد التشخيص من طبيب العيون خلال المدة من تشرين الاول 2021 ولغاية اذار 2022 من مستشفى السلام التعليمي و مستشفى الموصل العام في مدينة الموصل. شخصت العزلات اعتمادا على الاختبارات الكيموحيوية فضلاً الى اختبارات vitek-2, API20E اضافة لشخيص الجزيئي واعتماداً على موروث 16S rRNA.

عزلت البكتريا بنسبة (64.4%) بلغت نسبة الاناث(44.2%) اما في الذكور فقد بلغت (20.1%) وكانت اعلى نسبة للنوع *Staphylococcus aureus* في الاناث وبلغت (25%) بينما كانت اعلى نسبة في الذكور للنوع *Staphylococcus epidermidis* وبلغت (9.6%) كما عزلت الانواع *Staphylococcus epidermidis* , *Staphylococcus heamolyticus,Staphylococcus saprophyticus* , *Pseudomonas aerugenosa* وبنسبة (10.5%) (3.8%), (2.88 %), (2.88%) على التوالي في الاناث ,اما بالنسبة للذكور فقد فعزلت الانواع, *Staphylococcus aureus Staphylococcus heamolyticus,Staphylococcus* , *lentus* , وبنسب (8.6%), (0.9 %),(0.9%)على التوالي.

اظهرت كل انواع spp *Staphylococcus*. عدا *Staph. saprophyticus* مقاومتها الـ Cefoxitin وOxacillin مما يشير الى ان تلك الانواع تقاوم الميثيسيلين. بينت الدراسة ان جميع العزلات مقاومة Clindamycin باستثناء *Staphylococcus haemolyticus* وبينت الدراسة ايضاً ان جميع العزلات(*Staphylococcus aureus Staphylococcus heamolyticus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus lentus*) لديها حساسية تجاه كلا من المضادات التالية Vanvomycin, Teicoplanin, Tigecycline و Rifampicin, كما اظهرت الدراسة ان جميع عزلات *Pseudomonas aeruginosa* مقاومه للمضادات Ciftriaxone, Azithromycin, Clindamycin, Levofloxacin بنسبة (66.6%) وحساسة للمضادات Imipenem, Meropenem, Amikacin, وبنسبة (100%) ,بينما كانت حساسة للمضادين Cefotoxine, Ceftazidime و بنسبة (66.6%) .

اظهرت (31) عزلة قدرتها على تكوينه بنسبة (29.8%) من خلال تكوين مستعمرات لونها اسود الى احمر مائل الى السواد على الوسط اكار الكونغو حيث كانت نسبة *Staphylococcus aureus* (16.3%),*Staphylococcus epidermidis*(6.7%) , *Staphylococcus heamolyticus*(3.8%), *Staphylococcus saprophyticus*(1.9%), *Staphylococcus lentus*(0.9%) ,*Pseudomonas aeruginosa*(2.88%), واخفقت (37) عزلة بكتيرية بنسبة (35.5%) في تكوينها للغشاء الحيوي حيث ظهرت مستعمرات حمراء على وسط الكونغو. ,كما اظهرت

(9.67%) من العزلات التي اظهرت قدرتها على تكوين الطبقة الهلامية القدرة على تكوين غشاء حيوي قوي بطريقة الصفيحة المعيارية .

انتخبت تسع عزلات بكتيرية مكونة غشاء حيوياً *(2)Staphylococcus aureus* *(2)Staphylococcus epidermidis* ,(1)*Staphylococcus* *,heamolyticus,(2)Staphylococcus saprophyticus*,(1) *Staphylococcus lentus* لتحري عن وجود مورثات *agr D ,agr C , agr A* المشفرة للبروتينات الخاصة بتكوين الغشاء الحيوي وظاهرة الحس باكتمال النصاب (Quorum Sensing) اظهرت الحزم الخاصة بها في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بأحجام جزيئية قدرها(bp310) ,(bp279) و (bp307)على التوالي وفي جميع العزلات التي اظهرت نتائج موجبة لقدرتها على تكوين الاغشية الحيوية في وسط احمر الكنغو و واختبار الحفر باستعمال الصفيحة العيارية.

اظهرت الدراسة ان اعلى نسبة للإصابة كانت في الفئة العمرية (21–40) سنة في الاناث والذكور وبلغت (27.8%) و (19.23%) على التوالي, و لوحظ ان للبشرة الدهنية دورا مهما في زيادة الاصابة بالبَردة إذ كانت اعلى نسبة للإصابة في الاناث ذوات البشرة الدهنية (50.9%) بينما في الذكور (34.6%). اظهرت الدراسة ان نسبة اصابة الجفون العليا كانت اكثر من الجفون السفلى إذ كانت نسبة اصابة الجفن الايمن العلوي للإناث (18.26%) وفي الذكور (8.65) والجفن الايسر للاناث(18.2%) والذكور (11.5%),وان نسبة الاصابة في المرضى الذين عانوا من اصابة بفيروس كورونا كانت (6.73%) ,(3.84%) في الذكور والاناث على التولي.

اخيرا دُرس تأثير اربع مستخلصات نباتية مائية وزيتية لكل من اكليل الجبل,الثوم,قشور الليمون وبراعم القرنفل على السلالات البكتيرية المعزولة اذ اظهر مستخلص القرنفل الزيتي نتيجة موجبة لكل السلالات قيد الدراسة و عد النوع *Staph. saprophyticus* اكثر الانواع البكتيرية حساسة لمستخلص القرنفل الزيتي بطريقتي الانتشار بالحفر الأقراص وفي تركيز الادنى للمثبط(mg\ml0.165).

تم التحري عن المواد الفعالة في المستخلص المائي والزيتي للقرنفل باستعمال HPLC اذ اظهرت النتائج ان اعلى تركيز كان لمادةApigenin وبلغت (678,82ppm) لمستخلص القرنفل المائي اما للمستخلص الزيتي للقرنفل فكان اعلى تركيز Eugenol (ppm 1830.77), Gallic acid (ppm905.42)وDimethoxyphenol(ppm81.02).

Abstract

Between October 2021 and March 2022, 104 Specimens from patients with chalazion and those who underwent minor operations were obtained from Al-Salam Teaching Hospital and Mosul General Hospital in Mosul city after the ophthalmologist confirmed the diagnosis. The isolates were identified using a combination of biochemical, molecular, and 16S rRNA gene analyses, as well as the API20E and Vitek-2 assays.

Bacteria were found in 64.4% of the people, but only in 44.2% of the females and 20.1% of the males. *Staphylococcus aureus* had the highest percentage among females at 25%, while *S. epidermidis* had the highest percentage among males at 9.6%. *S. epidermidis*, *S. heamolyticus*, *S. saprophyticus*, and *Pseudomonas aeruginosa* were each found in in females: 10.5%, 3.8%, and 2.8%, respectively. *S. aureus, S. heamolyticus,* and *S. lentus* were found in 8.6%, 0.9%, and 0.9% of the males, respectively.

All Staphylococcus spp, with the exception of *S. saprophyticus*, were resistant to cefoxitin and oxacillin, indicating that they are also resistant to methicillin. The analysis revealed that all isolates are clindamycin-resistant with the exception of *S. haemolyticus*. All isolates of *S. aureus*, *S. heamolyticus, S. epidermidis, S. saprophyticus, and S. lentus* were responsive to vanvomycin, teicoplanin, tigecycline, and Rifampicin, according to the study. All *P. aeruginosa* isolates were resistant to ciftriaxone, azithromycin, clindamycin, and levofloxacin by (66.6%); sensitive to imipenem, meropenem, and amikacin by (100%); and sensitive to cefotoxine and ceftazidime by (66.6%).

31 isolates showed their ability to form it at a rate of (29.8%) through the formation of black to red-black colonies on the center of the Congo red agar, where the proportion of *S. aureus* (16.3%), *S. epidermidis* (6.7%), *S. heamolyticus* (3.8%), *S. saprophyticus* (1.9%), *S. lentus* (0.9%), *P. aeruginosa* (2.88%). As red colonies developed on central Congo red agar, 37 bacterial isolates (35.5%) failed to establish a biofilm. In addition, using the usual plate

method, 9.67% of the isolates demonstrated the potential to build a gelatinous layer and form a robust biofilm.

To investigate the presence of *agr A, agr C*, and *agr D* genes encoding proteins, nine membrane-forming bacterial isolates were chosen: (2) of *S. aureus*, (2) of *S. epidermidis*, (1) of *S. heamolyticus*, (2) of *S. saprophyticus*, and (1) of *S. lentus*. Their bands in the polymerase chain reaction (PCR) for biofilm development and Quorum Sensing had molecular sizes of (310 bp), (279 bp), and (307 bp, respectively. All isolates that showed positive results for their ability to form biofilms in Congo red agar and were tested for etching using a titer plate.

The current study revealed that the largest infection rate occurred between the ages of 21- 40 years, with rates of 27.8% for females and 19.23% for males. It was conducted that oily skin has a significant role in the increased prevalence of the chalazion, as the highest infection rate was found in females with oily skin (50.9%), compared to males (34.6%). The study revealed that the upper eyelids had a higher infection risk than the lower eyelids. The infection rate of the upper right eyelid was 18.26% in females and 8.65% in males, while the infection rate of the upper left eyelid was 18.2% in females and 11.5% in males. The infection rate among coronavirus-affected patients was (6.73%), and (3.84%) in males and females, respectively.

Finally, the isolated bacterial strains were exposed to four aqueous and oily plant extracts of rosemary, garlic, lemon peels, and clove pods. *S. saprophyticus*, the most susceptible bacterial species to clove oil extract via diffusion by discs and at the lowest inhibitor dose (0.165 mg/ml). The active compounds were studied in the aqueous and oily extracts of cloves using HPLC, and the results revealed that apigenin had the highest concentration (678.82ppm) in the aqueous extract of cloves. The highest concentrations of eugenol (ppm 1830.77), gallic acid (ppm905.42), and dimethoxyphenol (8.02ppm) were found in clove oily extract.

University of Mosul

College of Science

Phenetic and Molecular Diagnosis of Aerobic Pathogenic Bacteria of eye abscess and its Treatment

Abeer Mahmood Faraj Mohammed AL-Sabaawy

M.Sc. Thesis

In

Biology / Microbiology

Supervised By

Dr. Enas Abdul-muniem H. AL-Layla

1444 A.H. **2022 A.D.**