



جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

التصويف الجزيئي للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من إصابات العين في القطط الأليفة

نعم دريد نجم عبدالله

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الأحياء المجهرية البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

إحسان منير أحمد التنجي

التصنيف الجزيئي للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من إصابات العين في القطط الأليفة

رسالة تقدّمت بها

نغم دريد نجم عبد الله

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في اختصاص الطب البيطري / الأحياء المجهرية البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

إحسان منير أحمد التنجي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

) يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَ
الَّذِينَ أَوْتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا
تَعْمَلُونَ خَيْرٌ }

سورة المجادلة الآية 11

إقرار المشرف

أشهد بأنّ أعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري / الأحياء المجهرية.

التوقيع:
المشرف: أ.م.د. إحسان منير احمد
التاريخ: / 2024 م

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة بـ (التصويف الجزيئي للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من إصabات العين في القطط الأليفة) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: أ.د. احمد صالح يونس
التاريخ: / 2024 م

إقرار المقوم الاحصائي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة بـ (التصويف الجزيئي للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من إصabات العين في القطط الأليفة) تمت مراجعتها من الناحية الاحصائية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: م.د. عمر سالم ابراهيم
التاريخ: / 2024 م

إقرار رئيس فرع الأحياء المجهرية

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي، أرّشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:
الاسم: أ.د. صفوان يوسف البارودي
التاريخ: / 2024 م

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الأحياء المجهرية، أرّشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:
الاسم: أ. د. رعد عبد الغني السنجري
التاريخ: / 2024 م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشتنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ / 2024، وانه جدير لنيل شهادة الماجستير في اختصاص الأحياء المجهرية البيطرية.

عضو لجنة المناقشة

أ.م.د. صبا عبد الرحيم حسين
التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة

أ.م.د. عامر عبد الحق عبد الموجود
التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة (المشرف)
أ.م.د. إحسان منير أحمد
التاريخ: / 2024 م

رئيس لجنة المناقشة
أ. سمية ياسين عبد الله
التاريخ: / 2024 م

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته (.....) المنعقدة بتاريخ: / 2024 م، وقرر منحها شهادة الماجستير في اختصاص الأحياء المجهرية البيطرية بتقدير

عميد الكلية
الاسم: أ. د. ظافر محمد عزيز
التاريخ: / 2024 م

مقرر مجلس الكلية
الاسم: أ. د. رعد عبد الغني السنجري
التاريخ: / 2024 م

شكر وتقدير

أولاً وقبل كل شيء، الحمد لله الذي وفقني وأعطاني القوة والصبر لإتمام رسالتي أخيراً، بعد كل التحديات والصعوبات. أتقدم بجزيل شكري وتقديرني إلى مشرفي الأستاذ المساعد الدكتور إحسان منير أحمد على تحفيزه العالي وإسهاماته الفعالة في هذه الرسالة، وإرشاده لي في بحثي، لقد كان دعمه واقتراحاته الملهمة مفيدة للغاية لتطوير محتوى هذه الرسالة.

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية الطب البيطري ولرئاسة فرع الأحياء المجهرية وإلى جميع تدريسي الفرع لما أسدوه لي من مساعدة ونصح.

أخيراً، إلى من شجعني على المثابرة طوال عمري إلى من أحمل اسمه بكل فخر إلى بسمة الحياة إلى أهم شخص في حياتي (إلى والدي العزيز) إلى من بها أعلى وعليها ارتكز وإلى من كان دعائهما سر نجاحي و حنانها بسلم جراحي إلى سر الوجود (والدتي الحبيبة) و لا يسعني إلا أن أتقدم بالشكر و العرفان إلى (زوجي) ورفيق دربي و حياتي الذي أمنني بالقوة لإكمال مشواري الدراسي وإلى ينابيع الوفاء إلى من رافقوني في السراء والضراء وإلى ورود المحبة (أخي وأخواتي) وإلى من شاركتني هذه المسيرة (ابني) و إلى كل من بذل جهداً لمساعدتي في كل خطوات حياتي...

الباحثة

الخلاصة

تتعرض القطط الأليفة إلى العديد من الإصابات والعوامل الممرضة ومنها إصابات العين الجرثومية التي من شأنها أن تلحق ضرراً بالغاً في القطط المصابة. ومن بين الإصابات الجرثومية المهمة تعتبر الإصابة بالمكورات العنقودية الذهبية من أهم الإصابات الجرثومية التي تصيب العين في القطط. وعليه فقد هدفت الدراسة إلى عزل المكورات العنقودية الذهبية من إصابات العين في القطط الأليفة في مدينة الموصل وتوصيفها باستخدام طرق العزل الجرثومي القياسية والتي شملت العزل على الأوساط الزرعية وفحص الحساسية للمضادات الحيوية بالإضافة إلى الطرق الجزيئية والتي شملت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل وتقنية فحص التتابع الجيني للحامض النووي منقوص الاوكسجين. إذ جمعت 100 مسحة عين من القطط التي ظهرت عليها علامات الإصابة كما جمعت البيانات الأخرى مثل النوع والجنس والعمر للوقوف على تأثير هذه المتغيرات في إصابات العين. أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة عزل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بلغت 41/100 (41%) من القطط التي فحصت، في حين كان عدد الحالات السالبة للعزل الجرثومي 100/59 وبنسبة (59%). واظهرت النتائج أيضاً أن نسبة الجراثيم التي عزلت من ذكور القطط كانت أعلى وبلغت 41/23 (56.1%) في حين بلغت 18/43 (43.9%) في إناث القطط مع وجود فارق معنوي $P \leq 0.05$ للذكور مقارنة مع الإناث. وأظهرت النتائج أن القطط ذات العمر ≤ 6 أشهر أكثر عرضة للإصابة بالتهابات العين الجرثومية وسجلت 41/29 (70.7%) من القطط ≥ 6 أشهر التي سجلت 41/12 (29.3%). وأظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية وتطور المقاومة بشكل ملحوظ ضد العديد من المضادات الحيوية مثل ampicillin and cefotaxime, amoxicillin, gentamycin, methicillin and amikacin. أما نتائج التخدير الجزيئي باستخدام PCR فقد أظهرت أن الجراثيم المعزولة تعود إلى *Staphylococcus aureus* وبحجم ناتج 279 bp للجين *nuc* والخاص بتشخيص المكورات العنقودية. كما تم الكشف عن نواتج التضخيم لجينات الضراوة؛ إذ كانت لجين *clfA* بحجم 288 bp، وكانت بحجم 203 bp لجين *clfB* وبحجم 674 bp لجين *coa*. كما تم الكشف عن جين *mecA* وبحجم 174 bp والمسؤول عن المقاومة للمضادات الحيوية نوع methicillin والمعروفة MRSA. كما تم تأكيد نتائج PCR الخاصة بنوع المكورات العنقودية الذهبية بتسجيل *nuc gene* للعزلات الخاصة في بنك الجينات GenBank تحت الأرقام PP836112 و PP836110 و PP836109 GenBank Accession no.

و كذلك العزلات المقاومة methicillin التي تحمل الجين *mecA* بالارقام PQ181561 و PQ181562 و PQ181563 و PQ181564. و حللت شجرة النشوء التطوري لمعرفة التباعد والتقارب بين العزلات للجينات المذكورة وقد بينت النتائج أن الجين *nuc* للعزلات الأربع كانت مطابقة 100% لعزلات الإنسان من بلجيكا. كما أن تحليل نتائج الجين *mecA* اعطت تطابقاً 100% مع عزلات من الإنسان في كل من الصين و أمريكا واليابان. إن هذا التطابق يدل على أن مصدر النشوء للعزلات من القطط هو من أصل بشرى وأن القطط المرباة في المنازل تعد مضيفاً خازناً لهذه الجراثيم. يستنتج من هذه الدراسة أن الإصابات الجرثومية للعين في القطط تعد مهمة و تؤثر بشكل سلبي فيها كما أن القطط تلعب دور الخازن للمسيرات الجرثومية وخصوصاً المكورات العنقودية التي تحمل صفة المقاومة للمضاد الحيوي المثيسيلين MRSA التي من شأنها أن تشكل خطراً كبيراً على الصحة العامة للإنسان.

ثُبَّت المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
أ	الخلاصة
ج	ثُبَّت المحتويات
و	ثُبَّت الاشكال
س	ثُبَّت الجداول
ش	ثُبَّت المختصرات
2-1	الفصل الأول: المقدمة
1	1-1: المقدمة
2	2-1: اهداف البحث
24-3	الفصل الثاني: استعراض المراجع
3	3-2: إصابات العين الجرثومية في القبط الأليفة
4	4-2: المكورات العنقودية <i>Staphylococcus spp.</i>
5	4-3: المكورات العنقودية الذهبية <i>Staphylococcus aureus</i>
6	4-4: تصنیف المكورات العنقودية الذهبية
7	5-2: الخصائص المجهرية للمكورات العنقودية الذهبية
7	6-2: الخصائص الزرعية للمكورات العنقودية الذهبية
8	7-2: الإختبارات الكيموحيوية
9	8-2: أماكن وجود المكورات العنقودية الذهبية
10	9.2: انتقال المكورات العنقودية الذهبية بين الحيوانات والإنسان
12	10-2: إمراضية المكورات العنقودية الذهبية
13	11-2: عوامل الضراوة في المكورات العنقودية الذهبية
14	11-1-2: العوامل المرتبطة بالخلية Cell associated factors
14	11-1-1: حامض التيكويك Teichoic acid
14	11-1-2: محفظة متعددة السكريات Capsular polysaccharide
14	11-1-3: البروتين Protein A
15	11-1-4: عامل التكتل Clumping factor
15	11-1-5: الأغشية الحيوية Biofilm
15	11-2: العوامل خارج الخلية Extracellular factors

رقم الصفحة	الموضوع
15	1-2-11-2: انزيم التجلط Coagulase
16	2-2-11-2: انزيم الكتاليز Catalase
16	3-2-11-2: انزيم هيلورونيديز Hyaluronidase
16	4-2-11-2: انزيم البنسلينيز Penicillinase (beta-lactamases)
16	5-2-11-2: انزيم ستافيلوكاينيز Staphylokinase
17	6-2-11-2: الانزيم الحال للبروتين Protease
17	7-2-11-2: الانزيم الحال للدهون Lipase
18	8-2-11-2: الذيفانات الحالة للدم Hemolysins
18	9-2-11-2: ذيفان متلازمة الصدمة (TSST-1) Toxic Shock Syndrome Type 1 (TSST-1)
19	10-2-11-2: ذيفان التقشر Exfoliative (epidermolytic toxin)
19	11-2-11-2: الذيفان المعوي Enterotoxin
19	12-2: مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية
21	13-2: المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين
23	14-2: التشخيص المختبري للمكورات العنقودية الذهبية
23	1-14-2: الفحص المجهرى والزرع الجرثومي
24	2-14-2: التشخيص الجزيئي
36-25	الفصل الثالث: المواد وطرق العمل
25	1-3: المواد Materials
25	1-1-3: الأجهزة والمعدات المستخدمة Equipment and apparatus
26	2-1-3: الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية Cultural media and chemicals
27	3-1-3: العدد المختبرية التجارية Commercial laboratory kits
28	4-1-3: البادئات Primers
29	2-3: طرائق العمل Methods
29	1-2-3: جمع العينات Samples collection
29	2-2-3: تحضير المحاليل والأوساط الزرعية
29	1-2-2-3: اكارسکر المانبيول والملح (MSA) Mannitol salt agar (MSA)
30	2-2-2-3: اكار الدم Blood agar
30	3-2-2-3: اكار الكروموجين لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين HiChromeTM MeReSa Agar Base
30	4-2-2-3: اكار المولر هنتون Muller Hinton agar

رقم الصفحة	الموضوع
30	5-2-2-3: مرق نقيع الدماغ والقلب مع الكليسيروال
31	3-2-3: عزل وتمييز الجراثيم Isolation and identification of bacteria
31	1-3-2-3: عزل الجراثيم Bacterial isolation
31	2-3-2-3: الخصائص الزرعية Cultural characteristics
31	3-3-2-3: الخصائص الشكلية Morphological characteristics
31	4-3-2-3: الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests
32	5-3-2-3: حفظ العزلات الجرثومية Preservation of bacterial isolates
32	4-2-3: اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test
33	5-2-3: التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis
33	1-5-2-3: استخلاص الحامض النووي DNA extraction
34	2-5-2-3: قياس نقاؤة الحامض النووي المستخلص
34	3-5-2-3: خليط التفاعل الرئيسي Master mix preparation
35	4-5-2-3: برمجة جهاز المدوار الحراري Thermocycler
36	5-5-2-3: ترحيل نواتج التضخيم باستخدام هلام الاكاروز
36	6-5-2-3: قياس التتابع الجيني DNA sequencing
36	6-2-3: التحليل الإحصائي Statistical analysis
58-37	الفصل الرابع: النتائج
37	1-4: العزل الجرثومي Bacterisal isolation
42	2-4: فحص الحساسية للمضادات الحيوية Antibotic sensitivity test
43	3-4: التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis
63-59	الفصل الخامس: المناقشة
89-64	الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات
64	1-6: الاستنتاجات
65	2-6: التوصيات
66	المصادر
82	الملاحق
A	Abstract

ثـبـت الأـشـكـال

رقم الصفحة	اسم الشكل	رقم الشكل
12	انقال المكورات العنقودية الذهبية من الإنسان (بوصفه محوراً رئيساً) إلى باقي حيوانات المزرعة <i>livestock</i> وحيوانات الرفقة <i>companion animals</i>	1-2
37	نسبة عزل المكورات العنقودية الذهبية من إصابات العين الجرثومية	1-4
38	نسبة إصابة العين في القطط اعتماداً على الجنس	2-4
38	نسبة الإصابة اعتماداً على العمر	3-4
39	أنواع من القطط المحلية والمستوردة والمصابة بالتهابات العين الجرثومية	4-4
39	نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على وسط اكار الدم <i>blood agar</i>	5-4
40	نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على وسط اكار سكر <i>MSA</i> والملح <i>mannitol</i>	6-4
40	نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على اكار الكروموجين <i>HiChromeTM</i> لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسلين <i>MeReSa Agar Base</i>	7-4
41	اختبار الكتاليز <i>catalase test.</i>	8-4
41	اختبار الأوكسيديز <i>oxidase test.</i>	9-4
41	اختبار التجلط للبلازما بطريقة الشرحة <i>slide coagulase test</i>	10-4
43	اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية يظهر وجود عزلات مقاومة لمختلف أنواع المضادات الحيوية	11-4
44	ترحيل الحامض النووي المستخلص في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> وجود حزم واضحة من الحامض النووي <i>DNA</i> .	12-4
44	الترحيل في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> لكشف عن نواتج التضخيم للجين <i>nuc</i> بحجم <i>279 bp</i>	13-4
45	الترحيل في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> لكشف عن نواتج التضخيم للجين <i>clfA</i> بحجم <i>288 bp</i>	14-4
45	الترحيل في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> لكشف عن نواتج التضخيم للجين <i>clfB</i> بحجم <i>203 bp</i>	15-4
46	الترحيل في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> لكشف عن نواتج التضخيم للجين <i>coa</i> بحجم <i>674 bp</i>	16-4
46	الترحيل في هلامنة الأكاروز <i>Agarose gel electrophoresis</i> لكشف عن نواتج التضخيم للجين <i>mecA</i> بحجم <i>147 bp</i>	17-4
47	تسجـيل <i>S. aureus</i> لعزلـة <i>nuc gene</i> في بنـك الجـينـات بالـرـقـم <i>GenBank Accession no. PP836109</i>	18-4
48	تسجـيل <i>S. aureus</i> لعزلـة <i>nuc gene</i> في بنـك الجـينـات بالـرـقـم <i>Accession no. PP836110</i>	19-4
49	تسجـيل <i>S. aureus</i> لعزلـة <i>nuc gene</i> في بنـك الجـينـات بالـرـقـم <i>GenBank Accession no. PP836111</i>	20-4
50	تسجـيل <i>S. aureus</i> لعزلـة <i>nuc gene</i> في بنـك الجـينـات بالـرـقـم <i>GenBank Accession no. PP836112</i>	21-4

رقم الصفحة	اسم الشكل	رقم الشكل
52	شجرة التطور الوراثية للعزلات المحلية للمكورات العنقودية الذهبية للجين <i>nuc</i> والمسجلة مقارنة مع العزلات العالمية الأخرى في بنك الجينات	22-4
53	تسجيل GenBank لعزلة <i>S. aureus</i> <i>mecA</i> gene في بنك الجينات بالرقم Accession no. PQ181561	23-4
54	تسجيل GenBank لعزلة <i>S. aureus</i> <i>mecA</i> gene في بنك الجينات بالرقم Accession no. PQ181562	24-4
55	تسجيل GenBank لعزلة <i>S. aureus</i> <i>mecA</i> gene في بنك الجينات بالرقم Accession no. PQ181563	25-4
56	تسجيل GenBank لعزلة <i>S. aureus</i> <i>mecA</i> gene في بنك الجينات بالرقم Accession no. PQ181564	26-4
58	شجرة التطور الوراثية للعزلات المحلية للمكورات العنقودية الذهبية للجين <i>mecA</i> والمسجلة مقارنة مع العزلات العالمية الأخرى في بنك الجينات	27-4

ثبات الجداول

رقم الصفحة	اسم الجدول	رقم الجدول
8	1-2): أهم الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في التفريق بين الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية	1-2
25	الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة	1-3
26	الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية	2-3
27	العدد المختبرية التجارية	3-3
28	البيانات الخاصة بالجينات قيد الدراسة	4-3
35	مكونات خليط التفاعل الرئيسي الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل PCR	5-3
35	تفاصيل برنامج التضخيم PCR program	6-3
42	اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية للمكورات العنقودية المعزولة من اصابات العين في القطط	1-4
51	نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية للجين <i>mec</i> والمسجلة في بنك الجينات مع العزلات العالمية الأخرى	2-4
57	نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية للجين <i>mecA</i> والمسجلة في بنك الجينات مع العزلات العالمية الأخرى	3-4

ثُبُّت المختصرات

المختصرات	المصطلحات
CA-MRSA	Community-associated MRSA
CP	Capsular polysaccharide
ESBL	Extended spectrum β -Lactamases
FHV	Feline herpes virus
FPV	Feline panleukopenia virus
MDR	Multidrug resistance
MRSA	Methicillin resistance <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
PCR	Polymerase chain reaction
SSSS	Staphylococcal scalded-skin syndrome
TBE	Tris borate EDTA
TSST-1	Toxic Shock Syndrome Type 1
PBP	Penicillin binding protein

الفصل الأول
المقدمة

Introduction

الفصل الأول**المقدمة****Introduction****١-١: المقدمة:**

تعد القطط من الحيوانات الأليفة التي تحظى بقبول واسع لتربيتها في المنازل على مستوى العالم (Quimby *et al.*, 2021). فعلى الصعيد المحلي وخصوصاً في مدينة الموصل توسيع تربية القطط مؤخراً وذلك بسبب التجارة الرائدة للقطط المستوردة التي زادت من انتشارها وبأنواع مختلفة مما زاد من الكلف المادية لتربيتها ومن ضمنها الرعاية الصحية لهذه الحيوانات. وتعد إصابات العين من الإصابات الشائعة والمهمة التي تؤثر في القطط وتسبب مشاكل صحية بالغة الخطورة؛ إذ تعد الإصابات الفايروسيّة مثل الإصابة بفايروسات feline herpes virus (FHV) و feline panleukopenia virus (FPV) من أهم الإصابات الفايروسيّة التي تصيب القطط وتمهد لإصابات العين الجرثومية (Dishow *et al.*, 2024; Mills *et al.*, 2024). كما و تعد إصابة العين بالكلاميديا والمايكوبلازما Chlamydophila felis, Mycoplasma spp. من العوامل الممرضة التي تساعد أيضاً في إحداث إصابات العين و التي ثم تمهد الطريق للإصابات الجرثومية. فضلاً عما ذكر فإن وجود الجراثيم وبشكل طبيعي في الأغشية المخاطية للعين يعطي فرصة للإصابة في حالة إنخفاض مستوى المناعة لدى الحيوان (Mazdarani *et al.*, 2021)، إذ تصاب عادة العين بأكملها أو جزء منها مثل القرنية أو الملتحمة أو في بعض الأحيان الجفون بإصابات جرثومية تؤدي إلى تعقيدات بالغة الخطورة على صحة الحيوان. وتشير الدراسات الحديثة إلى انتشار إصابات العين الجرثومية على نحو كبير (Darden, 2019) في القطط المنزلية؛ إذ تساعد عوامل التغذية غير المتوازنة أو قلة الاهتمام والرعاية الصحية غير المنتظمة إلى حدوث العديد من الإصابات الجرثومية وخصوصاً الإصابة بجراثيم المكورات العنقودية إلى حدوث العديد من الإصابات الجرثومية وخصوصاً الإصابة بجراثيم المكورات العنقودية Corynebacterium spp. Staphylococcus spp. واللوتيات Radhy, Enterobacteriaceae spp. Pseudomonas spp. فضلاً عن جراثيم العائلة المعوية (Radhy, 2018; Hussein, 2023).

وفضلاً عما ذكر فإن الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية في الحيوانات وكذلك في الإنسان أدى إلى ظهور سلالات جرثومية ممرضة ومقاومة للعديد من المضادات الحيوية ؛ إذ تعد الحيوانات وكذلك منتجاتها خازناً لجراثيم المقاومة التي من الممكن أن تنتقل بسهولة إلى الإنسان .(Ahmed *et al.*, 2021; Suter *et al.*, 2018; Lin and Petersen-Jones, 2008;)

سابقاً أجريت القليل من الدراسات في مدينة الموصل حول عزل المسببات الجرثومية وتشخيصها من حالات التهاب العين، فقد أجرت الباحثة (Hussein, 2018) دراسة تشخيصية لمعرفة الأنواع الجرثومية التي تصيب العين في القطط ؛ إذ توصلت الباحثة إلى أن الأنواع المسببة لالتهاب العين هي الأنواع الآتية *Staphylococci* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp. *Proteus* spp., *Bacillus* spp. and *Escherichia coli*, *Actionbacillus* spp. and *Neisseria* spp. وتعد تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وتقنية تسلسل التتابع الجيني Gene sequencing من أهم التقنيات الحديثة التي تستخدم في التوصيف الجزيئي للعامل الممرض ؛ إذ أجرى العديد من الباحثين دراسات تشخيصية جزيئية لمعرفة وتصنيف العوامل المرضية المسببة لالتهابات العين (Darden, 2019; Hartmann 2010). ونظراً لأهمية الموضوع فقد صممت هذه الدراسة لعزل المكورات العنقودية الذهبية من اصابات العين في القطط الأليفة في مدينة الموصل وتصنيفها مظاهرياً وجزئياً.

1-2: اهداف البحث:

1. عزل جراثيم المكورات العنقودية من اصابات العين في القطط الأليفة وتصنيفها.
2. معرفة نمط مقاومة جراثيم المعزولة للمضادات الحيوية.
3. التوصيف الجزيئي للمكورات العنقودية باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وإجراء فحص التتابع الجيني Gene sequencing.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2-1: إصابات العين الجرثومية في القطط الأليفة

Bacterial eye infections in domestic cats

تعد القطط من أكثر الحيوانات الأليفة والمستأنسة لدى الإنسان التي تحظى العديد منها برعاية ومتابعة صحية، ومع ذلك فإن القطط تتأثر بالعديد من الأمراض والإصابات ومنها إصابات العين والتي تعد أكثر شيوعاً في القطط الأليفة (Hussein, 2018) إذ تكون عادة الإصابة في جزء محدد من العين، بينما في حالات أخرى تبدأ الإصابة في جزء واحد فقط من العين قبل الانتشار إلى المناطق المحيطة بها (Whitley, 2000). وتضم إصابات العين العديد من المسببات المرضية التي قد تكون جرثومية أو فايروسيّة أو فطرية أو طفيليّة والتي تكون مسؤولة عن إصابات العين والتركيب الموجودة داخلها والتي يمكن أن تتراوح شدة الإصابة فيها من الإصابات البسيطة ويمكن علاجها بسهولة إلى الإصابات الخطيرة التي تهدد بفقدان البصر Hamdan *et al.*, 2022; Espínolaz and Lilenbaum, 1996) فضلاً عن ذلك تلعب الإصابات الميكانيكية mechanical trauma دوراً مهماً في تهيئة الإصابة بالعديد من الجراثيم ؛ إذ يؤدي تمزق الأنسجة وخصوصاً حول العين إلى فقدان الحماية السطحية للجلد والأنسجة الرخوة وبالتالي إتاحة المجال للجراثيم في الدخول إلى أنسجة العين وإحداث الإصابة (Maslikov *et al.*, 2019). وتتضمن الجراثيم الأكثر شيوعاً والمسؤولة عن إصابات العين في القطط الأليفة أجنساً متعددة مثل *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Moraxella* spp., *Serratia* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Chlamydia* spp. (Suter *et al.*, 2018; Ollivier, 2003). ت تعرض جميع أنواع القطط لإصابات العين الجرثومية بغض النظر عن السلالة أو العمر أو الجنس ومع ذلك فقد أثبتت الدراسات تأثر بعض السلالات بالإصابات الجرثومية عن غيرها من السلالات الأخرى كما أن القطط ذات الأعمار الكبيرة أكثر عرضة للإصابة من القطط ذات الأعمار الصغيرة، وأن الذكور

عادة ما تكون أكثر إصابة من الإناث (Dishow *et al.*, 2024; Cengiz *et al.*, 2023; Elmenshawy *et al.*, 2021). وترتبط إصابات العين الجرثومية مع الأمراض التي تصيب القرنية أو الملتحمة أو الجفن، كما يمكن أن تكون الإصابة الجرثومية ناجمة عن إصابات الأنف والجيوب الأنفية وإصابات الجهاز التنفسى وذلك بانتقال الجراثيم الممرضة من الأنف إلى العين عن طريق قناة التصريف الأنفي الدمعي (Whitley, 2000) nasolacrimal duct.

2-2: المكورات العنقودية *Staphylococcus spp.*

إن أول من اكتشف هذه الجراثيم هو العالم الكسندر اوكتستون Sir Alexander Ogston 1882 ؛ إذ أطلق عليها تسمية *Staphylococci* و هي مشتقة من الكلمة الإغريقية staphyle التي تعني عنقود العنب bunch of grape و coccus تعني حبات الحنطة Gram positive (Ekkelenkamp *et al.*, 2010). و تعد هذه الجراثيم موجبة لصبغة كرام facultative anaerobic وهي جراثيم هوائية أو لاهوائية اختيارية المنتجة لانزيم catalase وغير منتجة لانزيم الأوكسidiز oxidase و غير متحركة وغير مكونة للابواح (Markey *et al.*, 2013). تكون المكورات العنقودية على شكل جراثيم كروية الشكل وذات قطر يبلغ 0.8 - 1 ميكرومتر وتكون مرتبة على شكل عناقيد العنب و هي عادة لا تمتلك محفظة تكون متجمعة في مجاميع غير منتظمة أو على شكل عناقيد العنب و هي عادة لا تمتلك محفظة (Li, 2018). ويضم جنس المكورات العنقودية 35 نوع Species و 21 تحت النوع Subspecies. و يقسم جنس المكورات العنقودية كيميائياً إلى مجموعتين اعتماداً على إنتاجها لانزيم التجلط coagulase المجموعة الأولى وهي المكورات العنقودية موجبة التجلط *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. aureus* الذهبية *S. aureus* من أكثر الأنواع إمراضية بين أنواع هذه المجموعة وتسبب إصابات في كل من الإنسان و الحيوانات، في حين تضم المجموعة الثانية المكورات العنقودية سالبة التجلط *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis* التي تضم *S. felis* (Melnick *et al.*, 2007). فضلاً عن ذلك فإن جراثيم المكورات العنقودية تتواجد بشكل طبيعي على الجلد والأغشية المخاطية للفناة الهضمية والتالسلية في الحيوانات، في حين أن البعض من أنواعها يسبب آفات قيحية في مختلف أجزاء الجسم في الإنسان و الحيوانات على

حد سواء مما يؤدي إلى حدوث مضاعفات معقدة في حال عدمأخذ التدابير العلاجية ثم نفوق الحيوان أو موت الإنسان (Soimala *et al.*, 2020; Morris *et al.*, 2017).

2-3: المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

المكورات العنقودية الذهبية هي مكورات موجبة لصبغة كرام تظهر على شكل مجاميع مثل عناقيد العنب وهي كما ذكر سابقاً غير مكونة للابواح وغير متحركة. وتكون هوائية اختيارية أو لا هوائية فضلاً عن أنها موجبة للكتاليز catalase و موجبة للإنزيم التجلط coagulase وتخزال النترات Nitrate reduction. تعني الكلمة aureus الذهبي gold لذاك سميت بالمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وذلك بسبب ظهور المستعمرات على الوسط المغذي الذي عادة ما يكون أصفر ذهبي (Melnick *et al.*, 2007). تعد المكورات العنقودية الذهبية عاملًا مرمضيًّا أساسياً لمدى واسع من الاصابات في الإنسان والحيوانات وتلعب دوراً بارزاً في التأثير على الصحة العامة public health، إذ تسبب التهاب نقي العظم osteomyelitis و إصابات الجروح wound infections و التهاب شغاف osteomyelitis القلب endocarditis و ذات الرئة pneumonia و التهاب السحايا meningitis و خراجات الدماغ brain abscesses و القوباء impetigo مسببة إصابات في كل من الإنسان والحيوان (Howden *et al.*, 2023). كان الاعتقاد السائد سابقاً ولسنوات عديدة أن المكورات العنقودية الذهبية تعد عاملًا مرمضيًّا أساسياً للإنسان فقط، في حين بينت الدراسات الحديثة أنها تنتشر في كثير من المضيفات الحيوانية وخصوصاً في حيوانات المزرعة التي تعد مصدر عدوى مهم للإنسان بالانتقال المباشر وغير المباشر (Bierowiec *et al.*, 2014; Köck *et al.*, 2014) وعلى الرغم من وجود المكورات العنقودية الذهبية على الجلد والأظافر والاغشية المخاطية فإنها تعد عاملًا مرمضيًّا انتهازيًّا التي تسبب العديد من الإصابات القيحية نتيجة ضعف مناعة المضيف (Adame-Gómez *et al.*, 2020; Haag *et al.*, 2019; Papadopoulos *et al.*, 2018). من جانب آخر تلعب المكورات العنقودية الذهبية دوراً مهماً في إحداث حالات التسمم food poisoning في الإنسان (Schelin *et al.*, 2011)؛ إذ تنتج المكورات العنقودية الذهبية السموم المعوية enterotoxin والمهمة في تطور المرض (Adame-Gómez *et al.*, 2020; Ibrahim, 2020). 2020 بالنسبة للقطط فقد أشارت الدراسات العالمية والمحلية على حد سواء إلى أهمية المكورات العنقودية الذهبية في إحداث التهابات العين الجرثومية كونها عامل ممرض أساسي؛ إذ سجلت الباحثة Hussein, 2018 إصابات القطط المحلية بنسبة (%) 25.53.

بالمكورات العنقودية مقارنة ببقية الجراثيم الأخرى مثل *Bacillus spp.* و *Pseudomonas spp.* و *E. coli* و *Corynebactreum spp.* كما بيّنت الدراسة أن المكورات العنقودية الذهبية كانت الأعلى بين أنواع المكورات العنقودية ؛ إذ بلغت (58.4%). وأشار الباحث (Radhy, 2023) في دراسة أجراها مؤخرًا أن المكورات العنقودية الذهبية هي الأعلى في نسبة العزل الجرثومي ؛ إذ بلغت (10%) مقارنة بباقي أنواع الجراثيم الأخرى والأمر المثير أيضًا هو تسجيل نسبة مرتفعة للإصابة بفايروس Feline Calci Virus (FCV) ، إذ تشير دراسات متعددة إلى الدور الكبير الذي تلعبه الفايروسبات في تثبيط المناعة لدى القطط مما يتبع الفرصة للجراثيم الانتمازية بالدخول إلى الأنسجة المختلفة وإحداث الإصابة (Mills *et al.*, 2024; Hamdan *et al.*, 2022; Weese *et al.*, 2015).

4-2: تصنيف المكورات العنقودية الذهبية

Classification of *Staphylococcus aureus*

صنفت المكورات العنقودية بالاعتماد على (Markey *et al.*, 2013) وعلى النحو

الآتي:

Domain: Bacteria

Kingdom: Eubacteria

Phylum: Bacillota (Firmicutes)

Class: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *S. aureus*

2-5: الخصائص المجهرية للمكورات العنقودية الذهبية

Microscopic characteristics of *Staphylococcus aureus*

تظهر المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* تحت المجهر الضوئي بقوة 100 \times عند صبغها بصبغة كرام Gram stain كروية الشكل وبقطر 1 ميكرومتر، وهي غير متحركة وغير مكونة للأباغ ويمكن ملاحظة المحفظة في النماذج المرضية أو في المزارع الحديثة لبعض العتر. تظهر المكورات العنقودية الذهبية في المسحات المحضرية من المستعمرات الندية بشكل مفرد أو ثنائي أو بشكل مجاميع على شكل عناقيد العنب، ومن الجدير بالذكر أن الأشكال السابقة تنتج عن طريق إنسان الخلايا الجرثومية بمستويات مختلفة أثناء التضاعف؛ إذ يكون محور الإنقسام طوليًّا وعرضياً ومائلًا ينتج عنه الشكل المتعارف عليه وهو عناقيد العنب، وهذا يختلف عن طبيعة الانقسام في المكورات السببية *Streptococcus spp.* التي يحدث فيها الانقسام بمحور طولي فقط ينتج عنه ترتيب الجراثيم على شكل سلاسل مختلفة الأطوال (Plata *et al.*, 2009; Ekkelenkamp *et al.*, 2010).

2-6: الخصائص الزرعية للمكورات العنقودية الذهبية

Cultural characteristics of *Staphylococcus aureus*

المكورات العنقودية الذهبية جراثيم هوائية أو لاهوائية اختيارية، وتتمو بدرجة الحرارة 37° م غير أنها تتمو بدرجات حرارة متباينة 43-10° م، كما أن الأس الهيدروجيني pH الأمثل لنموها بين 7.4-7.6. هذه الجراثيم لها القدرة على إنتاج التخمر التأكسدي لإنتاج الطاقة فضلاً عن قدرتها على تخمر سكر mannitol. تتمو المكورات العنقودية الذهبية في الأوساط الزرعية البسيطة simple media مثل الأكارات المغذي nutrient agar، إذ تظهر المستعمرات دائيرية صفراء ذهبية اللون ومحببة وبحجم 4-2 ملم ولذلك أطلق عليها بالمكورات العنقودية الذهبية (Li, 2018). كما أنها تتصف بقدرتها العالية على مقاومة الملح NaCl ولذلك فإنها تتمو بسهولة على وسط سكر المانitol و الملح (MSA) الذي يكون تركيز الملح NaCl فيه بين 7-10% مقارنة بالجراثيم الأخرى. يعد أكاراسكر المانitol والملح وسطاً إنتخابياً selective media ويستخدم لعزل المكورات العنقودية من العينات السريرية المختلفة، إذ يتم تثبيط نمو الأنواع الأخرى من الجراثيم بسبب التركيز المرتفع للملح. و بعد هذا الوسط من الأوساط التقريرية differential media أيضاً، وذلك لأن نمو المكورات العنقودية الذهبية ينبع عنه تخمر سكر المانitol الذي يؤدي في النهاية إلى تحويل الوسط إلى الحامضي الذي بدوره يغير لون الكاشف الفينول الأحمر phenol red إلى اللون الأصفر وبذلك يمكن تمييز مستعمراتها

بسهولة عن باقي أنواع المكورات العنقودية (Markey *et al.*, 2013). تتمو المكورات العنقودية الذهبية على اكار الدم المحضر من دم الضأن بنسبة 5 – 7% وتنتج عادة تحلاً دموياً كاملاً من نوع بيتا β -hemolysis وذلك لاحتواها على النيفانات الحالة للدم haemolysins وهي نيفانات double zone of haemolysis ، إذ يكون نطاق التحلل ثانئاً alpha, beta, delta, gamma وهو ناتج من نطاق ضيق من التحلل الدموي الكامل narrow zone of complete haemolysis ويعاط هذا التحلل بنطاق اوسع من التحلل الدموي الجزئي incomplete (partial) بسببه انتاج النيفان الفا alpha lysin وبسبب انتاج النيفان بيتا beta lysin. كما تمتلك المكورات العنقودية صفة مميزة على اكار الحليب حيث تكون المستعمرات النامية شبيهة بتلك التي تنمو على الأكار المغذي مع إنتاج خضاب داخلي endopigmentation يعطي لوناً مميزاً للمستعمرات النامية باختلاف العتر فاللون الذهبي ينتج من المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* واللون الأصفر ينتج من *S. citrus* وللون الأبيض ينتج من *S. albus* (Markey *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2005).

2-7: الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

تختلف المكورات العنقودية الذهبية عن باقي أنواع المكورات العنقودية في العديد من الاختبارات الكيموحيوية ويبين الجدول (1-2) بعض الأنواع المهمة من الناحية البيطرية والفرق بين بعض الاختبارات الكيموحيوية المهمة في تفريقيها.

الجدول (1-2): أهم الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في التفريقي بين الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية (Markey *et al.*, 2013)

Beta-galactosidase	DNase	Xylose	Trehalose	Mannose	Maltose	Mannitol	Urease	β -hemolysis	Coagulase	Species
-ve	+ve	-ve	+ve	+ve	A	A	Var	+ve	+ve (4 hr)	<i>S. aureus</i>
+ve	+ve	-ve	+ve	+ve	(A)	Var	+ve	+ve	+ve (2 hr)	<i>S. pseudointermedius</i>
-ve	+ve	-ve	+ve	+ve	-ve	-ve	Var	-ve	Var	<i>S. hyicus</i>
+ve	-ve	-ve	+ve	+ve	A	Var	+ve	-ve	-ve	<i>S. saprophyticus</i>
+ve	-ve	-ve	+ve	+ve	+ve	(A)	+ve	+ve	-ve	<i>S. felis</i>

A=acid production, (A)=delayed acid production, +ve= Positive, -ve=Negative, Var=variable

من جهة أخرى يعد اختبار الكشف عن إنزيم التجلط coagulase test من أهم الاختبارات التي تفرق الأنواع الممرضة عن تلك غير الممرضة حالياً ثبت أن الانواع الغير مجلطة هي الانواع الممرضة ؛ إذ تنتج معظم عتر المكورات العنقودية الذهبية إنزيم حر free coagulase و يتم الكشف عنه بطريقة الأنبوية Tube coagulase test ، وأنزيم مرتبط bound coagulase و يتم الكشف عنه باستخدام طريقة الشريحة slide coagulase test ، ويستخدم بلازما دم الإنسان أو الأرانب للكشف عن إنتاج إنزيم التجلط (Melnick *et al.*, 2007).

8-2: أماكن وجود المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus*

تعد المكورات العنقودية الذهبية من أكثر الجراثيم الانتهازية انتشاراً، إذ تستوطن على الجلد وكذلك الأغشية المخاطية لتجويف الأنف والقناة التنفسية العليا ؛ و تعد من الجراثيم غير الضارة للنبيت الطبيعي للجهاز الهضمي؛ لأن عبورها يعد انتقالياً transit transmission في الجهاز الهضمي (Baran *et al.*, 2022). ومع ذلك فإن العديد من الإصابات تحدث في داخل جسم الإنسان أو الحيوانات و يعد مصدرها داخلياً endogenous infection وذلك بسبب خلل في مناعة ودفارات الأنسجة المخاطية ؛ إذ تلعب الطفيليات الداخلية دوراً مهما في إحداث تلف ميكانيكي mechanical damage في الأنسجة ثم تعطي الفرصة المناسبة للمكورات العنقودية الذهبية للغزو invasion، كما أن التداخل الجراحي والعمليات التي تستهدف فتح التجويف البطني أو الصدرى أيضاً تسهم وبشكل كبير جداً في إحداث التلوث الجرثومي مما يساعد على تطور الإصابة إلى خراجات مزمنة Ibrahim, 2020; Haag *et al.*, 2019;) chronic abcesses (Bierowiec *et al.*, 2014). وقد اشارت العديد من الدراسات إلى عزل المكورات العنقودية الذهبية الموجودة على الجلد وبشكل طبيعي وخصوصاً مع القابلية الكبيرة التي تمتلكها هذه الجراثيم في تحمل الملوحة والظروف غير المناسبة وقدرتها على العيش في ظروف بيئية غير مناسبة، واعتبارها مصدرأً في حدوث المضاعفات الناتجة عن الخل في الوظيفة الدافعية للجلد والأغشية المخاطية (Cengiz *et al.*, 2023; Suepaul *et al.*, 2021; Darden *et al.*, 2019). فضلاً عما ذكر فإن وجود المكورات العنقودية الذهبية في مناطق الجسم المختلفة يلعب دوراً مهما في إحداث أو تكوين الغشاء الحيوي biofilm formation ؛ إذ وجد أن تكوين الغشاء الحيوي في التجويف الفموي أو المجرى البولي التناسلي نتيجة استخدام الأدوات الطبية مثل أجهزة الإعطاء للمغذيات أو استخدام القسطرة catheter ولمدة طويلة لها دور كبير في تطور الإصابة ومقاومة المضادات الحيوية المستخدمة؛ إذ تتشكل طبقات من الجراثيم مع بقايا الأنسجة التالفة لتشكل طبقة

متماسكة يصعب اختراقها من دفاعات الجسم أو المضادات الحيوية المستخدمة من أجل التخلص من الإصابة (Howden *et al.*, 2023; Abdullahi *et al.*, 2022).

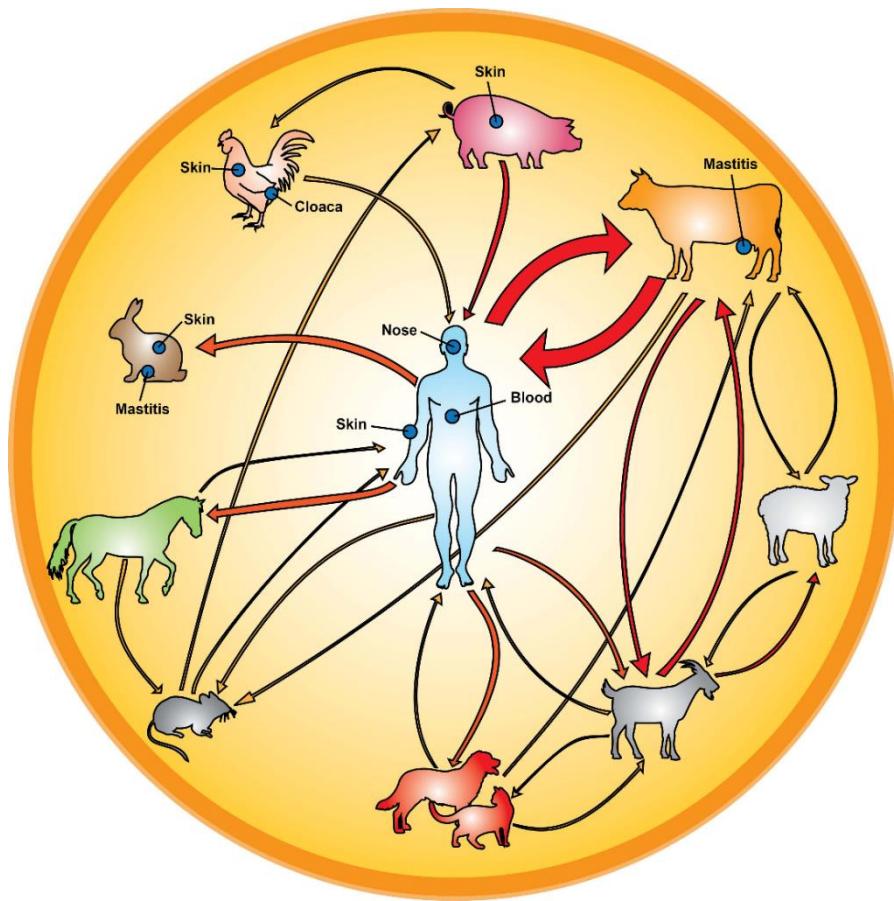
9-2: انتقال المكورات العنقودية الذهبية بين الحيوانات والإنسان

Transmission of *Staphylococcus aureus* between animals and humans

أشارت العديد من الدراسات إلى أن المكورات العنقودية الذهبية تنتقل بسهولة من الإنسان إلى الحيوانات وبالعكس وذلك من خلال تلوث الجروح والاصابات الجلدية التي تحدث من ملامسة الحيوانات المصابة بالإصابات الجلدية أو الحيوانات الحاملة لها (Haag *et al.*, 2019; Rahman *et al.*, 2018). كما يحدث الانتقال وخصوصاً بين الأطباء البيطريين والعاملين في المجازر و محلات بيع اللحوم وذلك نتيجة التعامل مع الأنسجة أو العظام من الحيوانات المصابة (Chambers, 2001). ومن الجدير بالذكر أن حيوانات المراقة وبضمنها القطط والكلاب تلعب دوراً مهماً في انتقال الإصابات من هذه الحيوانات إلى الإنسان وبالعكس؛ إذ بينت العديد من الدراسات الحديثة تفاقم مشكلة انتقال المكورات العنقودية بين القطط ومربيها (Bhat, 2021; Suepaul *et al.*, 2021)؛ إذ أشار الباحث (Bierowiec *et al.*, 2016) إلى أن معدل انتشار المكورات العنقودية الذهبية في القطط المنزلية بلغ 19.17%， في حين أن معدل انتشارها في مجموعة قطط الشوراع 8.3%， وأوضحت هذه الدراسة وجود صلة وثيقة بين الاتصال المباشر للإنسان مع إرتفاع خطر إصابة القطط بجراثيم المكورات العنقودية الذهبية. وفي دراسة أخرى أجراها (Thomson *et al.*, 2022) استهدفت عزل المكورات العنقودية من فتحات الأنف حيث أخذت 60 عينة من كل من القطط والكلاب وكذلك من الأطباء البيطريين والأشخاص العاملين في المستشفى البيطري الذين قدموا الخدمات العلاجية واللقاحات لهذه الحيوانات؛ وأوضحت هذه الدراسة أن نسبة 61.6% من الإنسان 56.6% من الكلاب و 46.6% من القطط، يحملون *Staphylococcus spp.* في التجويف الأنفي. وكان النوع المقاوم للميثيسيلين MRSA موجوداً في 48.7% من البشر، و 26.5% من الكلاب و 57.1% من القطط، الذين أخذت العينات منهم. وتوضح هذه النتائج وجود سلالات من المكورات العنقودية المقاومة للميثيسيلين في الأفراد الذين يعملون على اتصال بالحيوانات، وكذلك في الكلاب والقطط التي دخلت نفس المستشفى البيطري. لذلك تؤكد الدراسات الحديثة أهمية انتقال المكورات العنقودية الذهبية من الإنسان إلى الحيوانات.

كونها تعد مؤشراً سلبياً على وجود خازن لهذه الجراثيم التي من الممكن أن تنشر الجرثومة إلى مصائف أخرى ومنها إلى الإنسان مرة ثانية .

من جانب آخر تلعب النظافة sanitation والسلامة البيولوجية biosafety دوراً مهماً ومكملاً من خلال العناية بالقطط وتنظيف فضلاتها وخصوصاً الفرشة وبشكل دوري معأخذ الحيطه والحد من خطورة انتقال الإصابة بالمسربات المرضية ومنها المكورات العنقودية الذهبية؛ إذ يحمل الغبار الناتج من عملية التنظيف كميات كبيرة من المسربات المرضية مما قد يزيد من التعرض للمكورات العنقودية الذهبية والناتجة من براز هذه الحيوانات. كذلك عدم السماح للأطفال بتقبيل القطط والنوم معها مما يزيد فرص الانتقال ايضاً. لذلك يجب اتباع الطرق الصحية في التعامل مع القطط وضرورة غسل اليدين بالماء المطهرة المناسبة وذلك بعد التعامل معها أو بعد تنظيف الفرشة (Haag *et al.*, 2018; Rahman *et al.*, 2021; Hemeg, 2019). وقد اشار الباحث إلى أن الإنسان يلعب دوراً اساسياً في انتقال المكورات العنقودية الذهبية إلى حيوانات المزرعة livestock وحيوانات المرافقة companion animals، إذ يكون الانسان مضيئاً خازناً لتلك الجراثيم ويسمهم بشكل فعال في نقلها إلى تلك الحيوانات ثم انتقالها مباشرةً بين تلك الحيوانات مما يعطي فرصة أكبر لانتقال جينات المقاومة للمضادات الحيوية وإنتاج سلالات مقاومة للعديد من تلك المضادات الحيوية الشكل (1-2).



الشكل (1-2): انتقال المكورات العنقودية الذهبية من الإنسان (بوصفه محوراً رئيساً) إلى باقي حيوانات المزرعة livestock وحيوانات الرفقة companion animals، إذ يشير سمك الأسهم إلى الاحتمالية المرتفعة للانتقال بين الإنسان والحيوانات (Haag *et al.*, 2019).

2-10: إمراضية المكورات العنقودية الذهبية

Pathogenicity of *Staphylococcus aureus*

تمتلك المكورات العنقودية الذهبية القدرة على احداث المرض في العديد من المضائق وبضمنها الإنسان كونها عاملًا ممرضاً انتهازيًا opportunistic pathogen، كما تمتلك العديد من عوامل الضراوة التي تمكّنها من غزو مختلف أنواع الأنسجة وتسبب مدى واسعاً من الاصابات التي تشمل الإصابات البسيطة للجلد والأغشية المخاطية والإصابات الجلدية العميقه وانتهاءً بالإصابات التي تهدّد الحياة مثل التهاب نقي العظم osteomyelitis وتسنم الدم bacteremia، ذات الرئة pneumonia، التهاب السحايا (Pérez-Montarelo *et al.*, 2017). تعد المكورات العنقودية الذهبية جراثيم مكونة لقحيم ولها ارتباط وثيق مع تشكيل الخراجات abscesses و القحيم pus وتنتج آفات قيحية تظل عادةً موضعية في موقع الإصابة، كما يمكن أن تنتقل الإصابة الجلدية

إلى الأنسجة الرخوة والأنسجة العضلية والعظام في حالة عدم العلاج (Cheung *et al.*, 2021; Zainulabdeen and Dakl, 2021). إذ يتكون القبح من بقايا كريات الدم البيضاء الميتة والجراثيم الحية والميتة، وتكون محاطة مع خلايا بلعمية سليمة وخيوط الفيبرين وتشكل عادة محفظة ليفية حول الخراج في حال كون الإصابة مزمنة. فضلاً عن ذلك تنتج المكورات العنقودية الذهبية العديد من السموم والإنزيمات مثل الإنزيمات المحللة للبروتينات proteases والإنزيمات المحللة الدهون lipases التي يجعلها قادرة على غزو وتحطيم أنسجة المضيف وانتشار إلى موقع آخر (Gordon and Lowy; 2008). تبدأ الإصابة في عيون القطط بالتهاب الملتحمة conjunctivitis الذي يكون الأكثر شيوعاً، أو التهاب القرنية والملتحمة keratoconjunctivitis في حالة الإصابة الميكانيكية فعادة ما تصيب إحدى العينين فقط في بداية الأمر ثم تتطور الإصابة لتشمل كليتا العينين لاحقاً، أما في حالة الإصابة بالعوامل الممرضة systemic infection مثل الإصابات الجرثومية أو الفايروسية أو إصابات الكلاميديا فإن الإصابة عادة ما تكون من الداخل endogenous infection ثم تصيب كليتا العينين على حد سواء (Zainulabdeen and Dakl, 2021; Maslikov *et al.*, 2019; Richardson *et al.*, 2018). تعزز المكورات العنقودية الذهبية فوعتها بالإنزيمات والذيفانات التي تنتجهما وعلى سبيل المثال تسهل الإنزيمات الحالة للبروتين وكذلك الحالة للدهون من الغزو الجرثومي invasion في حين أن إنزيم التجلط coagulase يساعد على حماية المكورات العنقودية من خلال تكوين خثرة من بروتين الفيبرين fibrin تساعد على منع وصول الخلايا بلعمية إلى موقع الإصابة (Ahmad-Mansour *et al.*, 2021; Naber, 2009).

11-2: عوامل الضراوة في المكورات العنقودية الذهبية

Virulence factors of Staphylococcus aureus

تمتلك المكورات العنقودية الذهبية القدرة على إحداث اصابات بالمضيف بالالتصاق adhesion والغزو invasion والاستعمار colonization الذي يرتبط مباشرة بعوامل الفوحة. وتنقسم عوامل الضراوة التي تمتلكها المكورات العنقودية الذهبية إلى العوامل المرتبطة بالخلية مثل بروتينات جدار الخلية و بوليميرات جدار الخلية والمتكونة من حامض التيكوك Teichoic acid والببيتيوكلايكان capsular peptidoglycan والمحفظة متعددة السكريات polysaccharide, وبروتين A و عامل التكتل clumping factor. في حين تشمل العوامل خارج الخلية البروتينات السطحية، والأغشية الحيوية biofilm، والإنزيمات الخارجية

exfoliative toxins، والسموم الخارجية exotoxins، والسموم التقشيرية exoenzymes .(Zecconi and Scali, 2013; Bloemendaal *et al.*, 2010)

1-11-2: العوامل المرتبطة بالخلية Cell associated factors

1-11-2-1: حامض التيكويك Teichoic acid

تمتاز الجراثيم الموجبة لصبغة كرام بوجود جدار خلية سميك الذي يتكون من الارضية منظمة على شكل Peptidoglycan matrix مكونة من وحدات anionic polymers ، يمتلك حامض التيكوك دوراً مهماً في العديد من اليات الامراضية بما في ذلك المساهمة في التحلل التلقائي autolysis ومقاومة المضادات الحيوية، مثل دبتو مايسين (Fong *et al.*, 2018; Percy and Gründling, 2014) β -lactam dapto mycin والبيتا لاكتام 2014)

2-1-11-2: محفظة متعددة السكريات Capsular polysaccharide

تمتاز المكورات العنقودية الذهبية محفظة وهي مهمة لحماية هذه الجراثيم من الخلايا البلعمية phagocytic cells ، إذ تقوم المحفظة بمنع عملية البلعمة من قبل الخلايا البلعمية وكذلك خلايا العدالت neutrophils وبذلك تمنع تحطيم المكورات العنقودية واتاحة الفرصة لإظهار تأثيرها المرضي (van Kessel *et al.*, 2014; Nanra *et al.*, 2013; Ricklin *et al.*, 2010).

3-1-11-2: البروتين A Protein A

يحتوي جدار الخلية الجرثومية *S. aureus* على بروتين A، إذ إن أغلبية المكورات العنقودية تصنع هذا البروتين الذي يمتلك دوراً رئيساً في الخلية وله القدرة على الارتباط بمنطقة Fc لجزئية الكلوبولين المناعي (IgG) ويرتبط بروتين A مع البيتيوكلايكان للجدار الخلوي في الخلية ويمكن أن يطرح إلى الوسط الزرعي أثناء نمو الجراثيم ثم يحمي الجراثيم ويثبت طهي الخلايا opsonization والبلعمة ويعمل بمثابة مستضد فائق superantigen يقوم بخطوات تحفيز المناعة من دون المرور بخطوات تحضير المستضد التقليدية (Zainulabdeen and Dakl, 2021)

4-1-11-2: عامل التكتل Clumping factor

يوجد نوعان من عامل التكتل الاول وهو عامل التكتل (ClfA) A وهو بروتين مرتبط بجدار الخلية هو عامل ضراوة في العديد من الالتهابات ويسهل من عملية التصاق الجراثيم ببروتين بلازما الدم الفيبرينوجين (Ashraf *et al.*, 2017). أما عامل التكتل الثاني المرتبط بجدار الخلية (ClfB) فإنه يسهل استعمار المكورات العنقودية الذهبية للأنسجة الرخوة والجلد وخصوصاً في منطقة الأنف، وتوجد دراسات قليلة حول آلية الامراضية لهذا البروتين (Palma, 2020; Ní Eidhin *et al.*, 1998).

5-1-11-2: الأغشية الحيوية Biofilm

تعد الأغشية الحيوية من أهم العوامل التي تسهم في التسبب في الإصابة بالمكورات العنقودية الذهبية، ويزيد دور الأغشية الحيوية في عمليات القسطرة وخصوصاً بالنسبة للمجاري البولية؛ إذ إن المجاميع الجرثومية تكون محاطة بطبقات عضوية تمنع المضادات الحيوية من الوصول إلى الخلايا الجرثومية، و تعد الأغشية الحيوية مصدات تحمي الخلايا الجرثومية وتتوفر الحماية ضد الدفاعات المناعية و بالتالي حمايتها ضد دفاعات المضيق (Cheung *et al.*, 2021; Zainulabdeen and Dakl, 2021; González-Martín *et al.*, 2020).

2-11-2: العوامل خارج الخلية Extracellular factors

1-2-11-2: انزيم التجلط Coagulase

تقسم المكورات العنقودية من حيث قابليتها على إنتاج انزيم التجلط إلى قسمين الأول وهي المنتجة لانزيم التجلط Coagulase Positive Staphylococci وتحضر أنواع المهمة والتي تصيب القطط وهي المكورات العنقودية الذهبية و *S. Pseudintermedius*، في حين تكون *S. fелиs* غير منتجة لهذا الانزيم. يلعب انزيم التجلط دوراً مهماً في الإمراضية و مقاومة الخلايا البلعومية الذاتية و تقديم الخلايا. (Howden *et al.*, 2023; Zecconi and Scali, 2013). يكون هذا الانزيم بنوعين رئيسيين الأول وهو انزيم التجلط الحر free coagulase وهو يتميز بأنه حساس للحرارة، انزيم قابل للتصفية ويمتلك 8 أنواع مستضدية من H-A ، والمستضدات النوع A فقط هي التي تنتجهما العديد من سلالات المكورات العنقودية الذهبية . والنوع الثاني وهو انزيم التجلط المرتبط bound coagulase هذا النوع يوصف بأنه مستقر بالحرارة، ويوجد في جدار الخلية الجرثومية ولا يعتبر عامل ضراوة (Zecconi and Scali, 2013; Subhash, 2012).

2-11-2-2: انزيم الكتاليز Catalase

ان هذا الانزيم يسهل عملية إزالة السموم الخلوية ويعادل تأثيرات الفاتلة للخلايا من H_2O_2 . كما أظهرت الدراسات التي أجريت في المختبر قلة نشاط catalase في المكورات العنقودية الذهبية اللاهوائية فضلاً عن ذلك فهو ليس ضرورياً لنمو الجراثيم هوائياً، لذلك لم يظهر أي تأثير واضح في خصائص نمو هذه الجراثيم في المختبر (Mustafa, 2014). ويستخدم هذا الانزيم غالباً كاختبار فحص للتمييز بين المكورات العنقودية والمكورات الدقيقة *Micrococcus spp.* و *Micrococcus spp.* (Teo *et al.*, 2015).

2-11-3-2: انزيم هيلورونيديز Hyaluronidase

يسمي انزيم هيلورونيديز أيضاً بـ hyaluronate lyase أو عامل الانتشار وهو انزيم مشفر بواسطة الجين *hysA*. ويعمل هذا الإنزيم على قطع الأصارة glycosidic من β -1,4 hyaluronic acid وبذلك يزيد من نفاذية الأنسجة ويمكن الجراثيم من غزو الأنسجة. يمكن انزيم هيلورونيديز من تحطيم hyaluronic acid بسبب تأثيره في مادتين تسمى *hyaluronate* و *chondroitin* .(Ibrahim and Eldirdiri, 2019) و يقسمهما إلى سكريات متعددة.

2-11-4-2: انزيم البنسلينيز (Penicillinase)

تنتج المكورات العنقودية الذهبية انزيم البيتا لاكتاميز β -lactamase الذي يقاوم المضادات الحيوية benzyl-penicillin بسبب إنتاج beta-lactamases الذي يعمل على تحطم حلقة β -lactam؛ إذ تقوم انزيمات البيتا لاكتام بتحطيم المضادات الحيوية مثل Penicillin و methicillin. ويحمل الجين المسؤول عن إنتاج انزيم البيتا لاكتام على الكروموسومات أو البلازميدات وبذلك فإن صفة المقاومة يمكن أن تنتقل بين الجراثيم وخصوصاً من الجراثيم غير الممرضة إلى الجراثيم الممرضة .(Bitrus *et al.*, 2018)

2-11-5-2: انزيم ستافيلوكاينيز Staphylokinase

هذا الانزيم يُعرف أيضاً باسم البروتين المنشط plasminogen، إذ ينتج بواسطة العديد من عتر المكورات العنقودية الذهبية. يسهم ستافيلوكاينيز في تطور الإصابات بواسطة تعزيز الانتشار الجرثومي نتيجة لتنشيط تحل الألياف fibrinolytic وكذلك تنشيط تحل البروتينes proteolytic، فضلاً عن ذلك فإن هذا الإنزيم يوفر الحماية للجراثيم عن طريق ربط وتثبيط الببتيدات المضادة للميكروبات المختلفة (Peetermans *et al.*, 2014). فهو يشكل معقدات مع

كميات صغيرة من البلازمين الموجودة في بلازما المضيف؛ إذ يشكل البلازمين النشط ويقوم بكسر البروتينات الموجودة في أرضية الأغشية الحيوية biofilm matrix. ولذلك فإن استخدام staphylokinase لعلاج التخثر كان له أهمية كبيرة من خلال تأثيره في معالجة مضاعفات الأوعية الدموية (Nguyen and Vogel, 2016; Kwiecinski *et al.*, 2016).

6-2-11-2: الانزيم الحال للبروتين Protease

تنتج المكورات العنقودية الذهبية الانزيمات الحالة للبروتين التي تلعب دوراً حيوياً في قابلية الجراثيم على الاستعمار والغزو بتعطيل الآليات الدفاعية للجسم وتحطيم الأنسجة البنية لتمكن هذه الجراثيم من الدخول إلى أماكن عميقة تحت الجلد؛ إذ تنتج المكورات العنقودية الذهبية أنواعاً مختلفة من الانزيمات الحالة للبروتين مثل البروتينات السيستين cysteine proteases والبروتينات المعدنية metallo-proteinases وبروتينات serine proteases. وكان يعتقد سابقاً أن هذه البروتينات تساعده في اكتساب العناصر الغذائية، لكن الدراسات الأخيرة أظهرت أن هذه البروتينات تتفاعل مع كريات الدم البيضاء من نوع العدلات neutrophils وبروتينات الـ *البلازما* والـ *البيتيدات* المضادة للميكروبات لإضعاف مناعة المضيف كما أنها تحجب المسارات الكلاسيكية والبديلة لتنشيط المتمم ثم تستطيع أن تكمل مسارها الإمراضي (Singh *et al.*, 2019; Pietrocola; *et al.*, 2017).

6-2-11-2: الانزيم الحال للدهون Lipase

تمتلك المكورات العنقودية الذهبية نشاط تحلل الدهون بانتاج انزيم الـ *لابيبيز*؛ إذ يساعد هذا الانزيم وبالتعاون مع بقية الانزيمات التي تنتجه المكورات العنقودية الذهبية على تحطيم أنسجة المضيف أثناء العدوى ثم تسهيل عملية الغزو للأنسجة الرخوة وإنتاج الخراجات. فقد أثبتت الدراسات أن عتر المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من الخراجات العميقة تكون ذات فعالية أعلى لانزيم الـ *لابيبيز* من تلك العتر المعزولة من الخراجات السطحية. كذلك وجد أن انزيم الـ *لابيبيز* يلعب دوراً مهماً في تكوين الأغشية الحيوية ووجد أن إحداث طفرة في الجين المسؤول عن إنتاج انزيم الـ *لابيبيز* من شأنه حماية الفئران من الموت عند حقنها بالمكورات العنقودية الذهبية التي تم تطفييرها (Hu *et al.*, 2012).

2-11-2-8: الـ*diyanat* الحالة للدم Hemolysins

تنتج المكورات العنقودية العديد من الـ*diyanat* الحالة للدم haemolysins التي تتضمن الأنواع α و β و γ و δ . يعد الـ*diyanan* الحال للدم نوع بيتا β هو عامل الضراوة الأساسي الذي تفرزه جراثيم المكورات العنقودية الذهبية ويلعب دوراً رئيساً في إمراضية هذه الجراثيم؛ إذ تقوم هذه الـ*diyanat* بتحليل خلايا الدم الحمراء Red blood cells (RBC) عن طريق تمزيق غشاء خلية كرينة الدم الحمراء وتحرير مكوناتها وبضمها الهيموكلوبين مما يعطي فرصة أكبر للجراثيم للاستفادة من هذه المكونات في تعزيز نموها وانتشارها (Ibrahim, 2020). يؤدي الـ*diyanan* نوع α hemolysin إلى تحطيم غشاء الخلية المستهدفة ؛ إذ تشكل ثقباً ماماً يسبب تلف الغشاء في كريات الدم الحمراء لأنواع عديدة من الحيوانات. كما أنه يعد أيضاً عامل تخرّل للجلد skin . أما الـ*diyanan* الحال للدم نوع بيتا β hemolysin فهو الانزيم الأساسي sphingomylinase الذي يحل sphingomyelin في طبقة الدهون الفسفورية الخارجية لغشاء كريات الدم الحمراء. أما الـ*diyanan* الحال للدم نوع γ كما hemolysin فهو مادة سامة toxic مكونة من عنصرين قادر على حل العديد من كريات الدم الحمراء في الحيوانات وأيضاً فإنها سامة للكريات البيضاء، أما الـ*diyanan* الحال للدم نوع دلتا δ فهو عبارة عن بروتين يعمل منظفاً لغشاء الخلية مما يؤدي إلى تحلل الخلايا (Prevost *et al.*, 1995).

2-11-2-9: ديفان متلازمة الصدمة

Toxic Shock Syndrome Type1 (TSST-1)

تنتج المكورات العنقودية الذهبية ديفان الصدمة من العديد من العزلات ؛ إذ يسبب هذا الـ*diyanan* متلازمة الصدمة السمية، ويسمى هذا الـ*diyanan* بالمستضد الفائق superantigen الذي يعد سام لبطانة الأوعية الدموية، ويرتبط هذا الـ*diyanan* مع المستضد II-MHC المتواجد على سطح الخلية المقدمة للمستضد (الخلية البلعمية) إذ يؤدي هذا المعقد إلى استجابة الخلايا T-cell وتنشيطها، وتکاثرها على نحو كبير وإطلاق السايتوكينات cytokines وبالتالي حدوث متلازمة الصدمة السمية التي تمتاز بالحدوث السريع للحمى المرتفعة والطفح الجلدي والقيء والإسهال (Markey *et al.*, 2013).

10-2-11-2: ذيفان التقشر (epidermolytic toxin)

تسبب المكورات العنقودية متلازمة الجلد المتقشر staphylococcal scalded-skin syndrome (SSSS) التي تتميز بتدمیر ملحوظات الخلايا الديسموسومية desmosomal cell ما يؤدي إلى انفصال البشرة. و تنتج المكورات العنقودية السموم التقشرية الثلاثة المعروفة وهي ETD و ETB و ETA التي تكون محمولة جيناتها على الكروموسوم أو البلازميدات مما يسهل انتقالها إلى السلالات غير الممرضة (Cheung *et al.*, 2021). وعلى الرغم من توافر المضادات الحيوية، فإن متلازمة الجلد المتقشر تؤدي إلى معدل وفيات كبير وخاصة بين الأطفال حديثي الولادة الذين يعانون من مضاعفات ثانوية لفقدان البشرة وكذلك بين البالغين الذين يعانون من أمراض كامنة (Bitrus *et al.*, 2018; Freeman-Cook *et al.*, 2006)

11-2-11-2: الذيفان المعاوي Enterotoxin

تسبب الذيفانات المعاوية المنتجة من المكورات العنقودية الذهبية حالات التسمم الغذائي التي بدورها تهدد صحة الإنسان بشكل خطير. وتضم الذيفانات المعاوية 23 نوعاً مصلياً اعتماداً على وزنها الجزيئي واستجابتها المناعية إذ تشفّر هذه الذيفانات من قبل جينات الذيفانات المعاوية التي تحملها المكورات العنقودية الذهبية التي لديها القدرة على إحداث الحمى وفرط الحساسية. من جانب آخر تلعب النظافة الصحية وخصوصاً في المطاعم الخارجية دوراً مهماً في الاصابة بالتسمم بالذيفانات المعاوية و تقاوم هذه الذيفانات درجات الحرارة العالية ، كدرجة الغليان لمدة تصل إلى 30 دقيقة كما ويبقى الذيفان محافظاً على قدرته على إحداث المرض بدرجة 121 °م ولمدة 28 دقيقة. تسبب الذيفانات المعاوية القيء والإسهال لازالت آلية إحداث التسمم الغذائي غير مفهومة تماماً التي تتضمن إطلاق الهيستامين مما يؤدي إلى استجابة مناعية مفرطة تتضمن تنشيط الخلايا الالتهابية وإطلاق كميات هائلة من السيتوكينات (Hu *et al.*, 2018).

12-2: مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية

Staphylococcus aureus resistance to antibiotics

سجل أول حالات المقاومة للمضادات الحيوية في منتصف الأربعينيات من القرن الماضي عندما طورت سلالة من المكورات العنقودية الذهبية مقاومتها ضد البنسلين عن طريق إنتاج إنزيم التحلل المائي penicillinase (Bitrus *et al.*, 2018). ومنذ ذلك الحين بدأت أنواع مختلفة من المضادات الحيوية بالظهور وبمختلف مجاميها سواء كانت مضادات حيوية ذات الطيف الضيق

broad spectrum antibiotics أو مضادات حيوية ذات الطيف الواسع narrow spectrum antibiotics. واصبح الضغط الانتقائي selective pressure على الجراثيم عاملً اساسياً في تطور المقاومة للعديد من المضادات الحيوية (Gulzar and Zehra, 2018); إذ إن استخدام المضادات الحيوية عشوائياً ضد الجراثيم الممرضة أو غير الممرضة ولفترات طويلة أدى إلى اتجاه العديد منها إلى استحداث آليات لمقاومة تلك المضادات (Araújo *et al.*, 2024; Alkhafaje *et al.*, 2022; Hryniwicz and Garbacz, 2017) كما أن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية في الجانب البيطري وخصوصاً في الإضافات العلفية فاقم على نحو كبير من تطور المقاومة الجرثومية لتشمل العديد من المضادات الحيوية وأدى ذلك إلى ظهور تسميات متعددة لوصف المقاومة الجرثومية فعلى سبيل المثال فقد ظهرت المقاومة لنوع محدد من المضادات الحيوية مثل الميثيسلين methicillin للمكورات العنقودية الذهبية في نهاية ستينيات القرن الماضي وأصبحت تسمى العتر المقاومة له methicillin resistance vancomycin، كما ظهرت المقاومة للمضاد الحيوي *Staphylococcus aureus* (MRSA) في مطلع عام 2002 وأصبحت العتر المقاومة تسمى vancomycin resistance vancomycin resistance (VRSA) التي انتشرت واسعاً فيما بعد ليصبح التهديد يشمل كلاً من الإنسان والحيوانات (Das *et al.*, 2023; Cong *et al.*, 2020). كما اقترن تسمية الجراثيم المقاومة لأكثر من نوع من المضادات الحيوية بالمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية multidrug resistance (MDR) أو خروج نطاق المقاومة عن المجموعة أو الجيل المعروف للمضاد الحيوي مثل الجراثيم المنتجة لأنزيمات البيتا لاكتام واسعة الطيف extended spectrum β- lactamases (ESBL) ؛ إذ يعد ذلك سابقة خطيرة في تطور المقاومة الجرثومية (Mahmood *et al.*, 2020; Al-Shammary, 2020) عزلات المكورات العنقودية الذهبية التي تحمل صفة المقاومة من النوع ESBL في حليب الأبقار في مدينة بغداد، ؛ إذ يعد انتشار هذا النوع من المقاومة الجرثومية ذات أهمية كبيرة وخطر على الصحة العامة مما ينذر بزيادة المقاومة الجرثومية وعبرها بين أنواع الجراثيم المختلفة. فضلاً عما ذكر فإن المكورات العنقودية الذهبية تمتلك بقدرة متميزة على اكتساب مقاومة لمعظم فئات المضادات الحيوية الأخرى مثل macrolides, aminoglycosides, chloramphenicol, tetracycline (Lin and Petersen-Jones, 2008; Suter *et al.*, 2018) semisynthetic penicillins.

2-13: المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين

Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)

بدأت المقاومة للمضاد الحيوي الميسيلين methicillin بالانتشار منذ 1960 ؛ إذ اطلق على عتر المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين باسم MRSA ؛ ارتبطت المقاومة هذه بالعديد من الإصابات والعدوى داخل المستشفيات (Köck *et al.*, 2014; Batabyal *et al.*, 2012). وكان يعتقد في بادئ الأمر ولسنوات عديدة أن الإصابة بـ MRSA يقتصر على الإنسان فقط وأنها تنتقل بين الأشخاص الذين لديهم استعداد للإصابة مثل المرضى المسنين أو مرضى العمليات الجراحية ؛ إذ يحصل الانتقال عن طريق استخدام الأدوات الجراحية الملوثة وكذلك المرضى الرآقدين في المستشفيات بسبب الحروق وخصوصاً الحروق من الدرجة الأولى ومرضى الأمراض المزمنة مثل مرض القلب وداء السكري. ولذلك كانت MRSA إحدى أهم مسببات عدوى المستشفيات nosocomial infections. واطلق على إصابات MRSA المكتسبة في مراكز الرعاية الصحية أو المستشفيات للاشخاص الرآقدين لأكثر من 48 ساعة بالمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين المكتسبة من المستشفيات hospital acquired MRSA (Batabyal *et al.*, 2012) فضلاً عما ذكر فإن النوع الآخر من إصابات MRSA وهو الإصابة المرتبطة بالمجتمع واطلق عليها المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميسيلين المرتبطة بالمجتمع community-associated MRSA (CA-MRSA) (Oliveira *et al.*, 2021; Köck *et al.*, 2014).

وفيما يخص طبيعة المقاومة للميسيلين فإن هناك نوعين من المكورات العنقودية الذهبية النوع الأول وهو المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للميسيلين methicillin sensitive وال النوع الثاني وهو المكورات العنقودية الذهبية المقاومة *Staphylococcus aureus* (MSSA) للميسيلين MRSA. إن الاختلاف بين MSSA و MRSA يستند على قابلية الجرثومة على مقاومة المضاد الحيوي الميسيلين (Sheehan *et al.*, 2022)، إذ أن هذه بعض عتر المكورات العنقودية الذهبية حدثت فيها طفرات وراثية وأصبحت مقاومة للميسيلين التي تشفف بواسطة جين penicillin binding protein (PBP) *mecA* gene والذي ينتج البروتين المرتبط بالبنسلين (Bitrus *et al.*, 2018; Li, β-lactams 2018).

ومع توسيع الدراسات وخصوصاً في مجال الطب البيطري فقد سجلت إصابات عديدة في الحيوانات بسبب MRSA ثم أصبح انتقالها محتملاً و على نحو كبير بين الحيوانات وعدّ الإنسان المضييف الخازن الرئيسي الذي ينقل هذه الجراثيم إلى الحيوانات وإنه المسبب في تلوث المنتجات الغذائية مثل منتجات الألبان والأجبان واللحوم بأنواعها المختلفة (Rynhoud *et al.*, 2021; Haag *et al.*, 2019; Parisi *et al.*, 2016 Rich, 2005) إلى عزل جراثيم MRSA من عينات الأسماك والعمال وأوانيتها، مما يؤكّد عدم اتباع ممارسات سلامة الغذاء في محلات الأسماك بشكل صحيح (Taha *et al.*, 2024). وفي دراسة أخرى عزلت MRSA من محلات الجزارين واللحوم (Sheet *et al.*, 2023)، وحالات التهاب الضرع (Sheet, 2022)، وفروج اللحم (Sheet *et al.*, 2021) مما يشير بوضوح إلى أن هذه الجراثيم تمتاز بقابليتها على تحمل مختلف الظروف وأنها تصيب أو تتواجد في مدى واسع من المضائق.

وفيما يخص حيوانات المراقبة وخصوصاً القطط فقد أصبح أفتاؤها وتربيتها داخل المنازل ذو أهمية كبيرة لدى الكثير من الأشخاص وأصبح الاختلاط معها أو مع فضلاتها يشكل مصدر خطر كبير للإصابة بالعديد من المسببات الممرضة ومنها MRSA، وخصوصاً مع انتشار استيراد القطط التي تكون غير خاضعة للفحوصات البيطرية الشاملة. وعليه فقد أشارت العديد من الدراسات إلى عزل MRSA من القطط وكذلك من قبل مربيها أو الأشخاص الذين يتعاملون معها (Sing *et al.*, 2019; Bramble *et al.*, 2011; Loncaric *et al.*, 2008) فقد أشار الباحث (Bramble *et al.*, 2011; Loncaric *et al.*, 2008) إلى عزل MRSA من القطط الموجودة في منزل أحد الأشخاص وبنفس الوقت عزل MRSA من زوجته التي كانت تعاني من وجود خراج abscess كما أشارت الدراسة إلى عزل MRSA من جميع أفراد الأسرة ذاتها والذين لم يعانون من أي إصابات جرثومية. كما أشار الباحث (Van Duijkeren *et al.*, 2011) إلى أن 20/15 (75%) من الكلاب والقطط التي فحصت كانت موجبة MRSA في حين كانت النسبة في المربين 45/2 (4.4%)، مما يشير بوضوح إلى وجود علاقة وثيقة بين الإصابات بين المربين وحيوانات الرفق (Faires *et al.*, 2009; Weese *et al.*, 2006).

2-14: التشخيص المختبري للمكورات العنقودية الذهبية

Laboratory diagnosis of *Staphylococcus aureus*

يلعب التشخيص المختبري للمكورات العنقودية الذهبية دوراً في تحديد العلاج من خلال عزل العامل المسبب وتحديد نوع المضاد الحيوي المناسب للعلاج. ويتضمن التشخيص المختبري عموماً طرق الزرع الجرثومي bacterial culture methods وكما ذكر سابقاً باستخدام الأوساط الزرعية المختلفة أو طرق التشخيص الجزيئي molecular diagnosis methods التي تستخدم تقنيات الكشف عن الحامض النووي والجينات المتعلقة بالعامل الممرض (Markey et al., 2013)

2-14-1: التشخيص التقليدي Classical diagnosis

يساعد الفحص المجهرى المباشر للعينات المأخوذة من الحالات المرضية على فهم وتوجيه التشخيص للعوامل الممرضة المختلفة، إذ تعطى صبغة كرام للمسحات المأخوذة من الإصابات الجرثومية تشخيصاً أولياً عن نوع الجراثيم الموجودة ثم تحديد مسار العزل واختيار الوسط الزرعي المناسب لها. فالوصف المستعمري على الأوساط الزرعية وتحديد شكل وحجم المستعمرات النامية فضلاً عن وصف النمو على الأوساط الزرعية المغنية مثل الزرع على اكار الدم blood agar الذي يساعد على التعرف على نمط التحلل الدموي فضلاً عن إغناء الوسط بسبب احتواه على الدم. من جانب آخر فإن استخدام الأوساط الانتخابية مثل وسط سكر المانitol والملح mannitol فضلاً عن استخدام الأوساط الزرعية الملونة chromogen agar التي تعطي الفرصة للتعرف على نوع محدد أو عتر محددة من نفس نوع الجراثيم مثل التعرف على عتر MRSA خلال النمو وأعطاء المستعمرات لوناً محدداً يختلف عن باقي المستعمرات وذلك بسبب إنتاج الأخيرة لإنزيم محدد يساعد على تغيير لون chromohen ليعطي دلالة واضحة على نموها (Umar et al., 2023). وعليه فإن الفحص المجهرى الذي يعقبه الزرع على الأوساط الزرعية المناسبة يعطي نتائج أولية عن طبيعة الجراثيم المعزولة. فضلاً عن ذلك فإن التشخيص لا يكتمل إلا بعد استكمال الاختبارات الكيموحيوية التي تساعده على تشخيص أنواع الجراثيم المختلفة. فاختبار الكتاليز catalase والأوكسيديز oxidase واختبار التجلط coagulase تعد من الاختبارات الأساسية والتفريفية للمكورات العنقودية الذهبية. كما تتوافر الاختبارات الكيموحيوية المعتمدة على الأجهزة الخاصة بذلك مثل Analytical Profile Index (API) أو جهاز VITEK 2 system من شركة bioMérieux وعليه فإن إجراء الاختبارات وعلى نحو صحيح من شأنه أن يسهل التشخيص النهائي للجراثيم المعزولة (Markey et al., 2013).

14-2: التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis

مع تطور التقنيات الحديثة ظهر التشخيص الجزيئي molecular diagnosis كأداه مهمة وفعالة في تشخيص وتوصيف العديد من المسببات المرضية. وعليه فقد أحدثت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) قفزة نوعية في مجال التشخيصات ووصلت دراسات عديدة إلى طرح طرائق بديلة للتشخيص بالاعتماد على هذه التقنية وبأنواعها المختلفة مثل الأحادي multiplex PCR أو المتعدد monoplex PCR وغيرها (Thomson *et al.*, 2018; Hemeg, 2021; Rahman *et al.*, 2018)، إذ حدد الجين *nuc* في العديد من الدراسات لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية (Ahmed and Yousif, 2021; Hado and Assafi *et al.*, 2020). من جانب آخر، فقد أسهمت تقنيات PCR في التعرف على الجينات المسؤولة عن المقاومة، حيث تم تحديد الجين *mecA* في العديد من الدراسات للكشف عن MRSA في الإنسان ومختلف الحيوانات وبضمها القطط (Sayhood *et al.*, 2022; Assafi *et al.*, 2020; Soimala *et al.*, 2020). فضلاً عن الكشف عن جينات أخرى مسؤولة مباشرة عن المقاومة مثل الفانкомايسين (Cong *et al.*, 2020) vancomycin. كما أشارت دراسات أخرى إلى الكشف عن جينات الضراوة virulence factors من خلال استخدام تقنية PCR. فعلى سبيل المثال، الكشف عن الجين المسؤول عن التكتل clumping factor ويضم النوع *clfA* و *clfB* في العديد من الدراسات (Cheung *et al.*, 2021; Zainulabdeen and Dakl, 2021). كذلك تم كشف عن الجين *coa* والمسؤول عن إنتاج إنزيم التجلط (Haag *et al.*, 2019). من جانب آخر فقد أسهمت تقنية تحليل التتابع الجيني coagulase للحمض النووي DNA sequencing في تحليل الجينات ومعرفة الطفرات التي حصلت فيها فضلاً عن معرفة وبنية العزلات وتتبع منشئها بالمقارنة مع باقي العزلات المسجلة في بيانات بنك الجينات Genbank database وايجاد العلاقة بإنشاء شجرة النشوء التطوري phylogenetic tree analysis (Ahmed and Yousif, 2021; Hemeg, 2021).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

**Materials and
Methods**

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3: المواد Materials

1-1-3: الأجهزة والمعدات المستخدمة Equipment and apparatus

الجدول (1-3): الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	الجهاز	ت
Motic, Italy	مجهر ضوئي Microscope	.1
Wisd, Germany	جهاز الطرد المركزي Microcentrifuge	.2
Want, China	ميزان الكتروني Sensitive electric balance	.3
H ₂ O Labs, China	جهاز تقطير الماء Water distiller	.4
Sugold, China	اوتوكليف Autoclave	.5
Memmert, Germany	حاضنة Incubator	.6
Worner Lab, China	مسخن حراري دوار Hotplate stirrer	.7
Memmert, Germany	حمام مائي Water bath	.8
Samsung, Korea	فرن ميكروويف Microwave oven	.9
Thermo, USA	جهاز مزج العينات Vortex shaker	.10
Biochrom, UK	جهاز قياس نركيز ونفازة الحامض النووي Biodrop	.11
BioRad, USA	جهاز المدوار الحراري T100 Thermocycler	.12
BioRad, USA	جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis system	.13
BioRad, USA	جهاز تصوير هلامنة الاكاروز Gel Doc System	.14
Dragon, China	ماسقات دقيقة وب أحجام مختلفة Micropipettes	.15
Himedia, India	ناقلة جرثومية Bacteriological loop	.16

الشركة المصنعة والمنشأ	الجهاز	ت
Citotest, China	اطباق بترى النابذة Disposable Petri Dishes	.17
Citoglass, China	L-shape glass spreader ناشرة زجاجية	.18
Citotest, China	أنابيب إيندروف 1.5 ml Eppendorf tubes	.19
Citotest, China	أنابيب إيندروف 0.2 ml PCR tubes	.20
Citoglass, China	دورق زجاجي مخروطي Conical flask	.21
Citotest, China	حامل أنابيب متعدد الأحجام Racks	.22
Changzhou health, China	مسحات قطنية معقمة Sterilized Cotton Swabs	.23
Citotest, China	تبس لالماسات الدقيقة Tips	.24
Citoglass, China	شرائح زجاجية Slides	.25
Changzhou health, China	حقن طبية نبيذة Disposable syringes	.26

2-1-3: الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية Cultural media and chemicals**الجدول (2-3): الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية**

الشركة المصنعة والمنشأ	المادة	ت
Himedia, India	اكار سكر المانitol والملح Mannitol salt agar	.1
Neogen, UK	اكار الدم الاساس Blood agar base	.2
Neogen, UK	مرق نقيع القلب والدماغ Brain-Heart infusion Broth	.3
Himedia, India	اكار الكروموجين لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسلين HiChromeTM MeReSa Agar Base	.4
Himedia, India	اكار مولر هنتون Mueller Hinton Agar	.5
Scharlau, Spain	بيروكسيد الهايدروجين 3% Hydrogen peroxide 3%	.6
SRL, India	كافش اختبار الاوكسيديز Oxidase indicator	.7
Scharlau, Spain	كحول الايثanol (100%) Ethanol (100%)	.8
Scharlau, Spain	كحول اثيلي (70%) Ethanol (70%)	.9
Scharlau, Spain	كحول ايزوبروبانول (100%) Isopropanol (100%)	.10

الشركة المصنعة والمنشأ	المادة	ت
Scharlau, Spain	كحول ايزوبروبانول (100%) Isopropanol	.11
Scharlau, Spain	كليسيرول Glycerol	.12
Eurogentec, Belgium	اكاروز Agarose	.13
Addbio, Korea	محلول تي بي أي 10X Tris Borate EDTA (TBE)	.14
Addbio, Korea	صبغة الجل الأحمر GelRed stain	.15

3-1-3: العدد المختبرية التجارية**الجدول (3-3): العدد المختبرية التجارية**

الشركة المصنعة والمنشأ	المادة	ت
Atom Scientific, UK	صبغة كرام الظاهرة Gram stain	.1
Addbio, Korea	عدة استخلاص الحامض النووي DNA من الجراثيم AddPrep Bacterial Genomic DNA Extraction kit	.2
Addbio, Korea	محلول مزيج التفاعل الرئيسي 2X Master mix	.3
Addbio, Korea	ماء خاص بتفاعل البمرة المتسلسل PCR grade water	.4
Addbio, Korea	المؤشر DNA ladder (100 bp)	.5
Bioanalyse (Turkey)	Azithromycin (AZM 15 µg)	.6
	Amikacin (AK 10 µg)	.7
	Amoxicillin (AX 10 µg)	.8
	Ampicillin (AM 25 µg)	.9
	Ciprofloxacin (CIP 10 µg)	.10
	Clarithromycin (CLR 5 µg)	.11
	Cefotaxime (CTX 30 µg)	.12
	Doxycycline (DO 10 µg)	.13
	Gentamycin (CN 10 µg)	.14
	Tetracycline (TE 10 µg)	.15
	Tobramycin (TOB 10 µg)	.16
	Vancomycin (VA 30 µg)	.17
	Levofloxacin (LEV 5 µg)	.18
	methicillin (ME 10 µg)	.19

4-1-3: Primers**الجدول (4-3): البايدنات الخاصة بالجينات قيد الدراسة**

المصدر	الجين المستهد ف	حجم الناتج المتوقع bp	Tm م°	التسلسل Sequence 5' – 3'	اسم البايدن ع	ت
Rahman <i>et al.</i> , 2018	Nuc	279	60	GCGATTGATGGTGATACGGTT	Nuc-F	.1
				AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	Nuc-R	.2
	mecA	147	52	GTGAAGATATAACCAAGTGATT	mecA-F	.3
				ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT	mecA-R	.4
Tristan, <i>et al.</i> , 2003	clfA	288	60	ATTGGCGTGGCTTCAGTGCT	clfA-F	.5
				CGTTTCTTCCGTAGTTGCATTG	clfA-R	.6
	clfB	203	55	ACATCAGTAATAGTAGGGGCAAC	clfB-F	.7
				TTCGCACTGTTGTGTTGCAC	clfB-R	.8
Javid <i>et al.</i> , 2018	Coa	674	55	ATAGAGATGCTGGTACAGG	coa-F	.9
				GCTTCCGATTGTCGATGC	coa-R	.10

3-2: طرائق العمل Methods**3-2-1: جمع العينات Samples collection**

استحصلت الموافقة الخاصة بأخلاقيات البحث العلمي Ethical approval letter Institutional Animal Care and Use Committee في كلية الطب البيطري - جامعة الموصل وذلك قبل البدء بالعمل (كتاب الموافقة، ملحق 1). و بعدها جمعت 100 مسحة عين من القطط الأليفة الواردة إلى المستشفى التعليمي البيطري - كلية الطب البيطري - جامعة الموصل فضلاً عن الحالات الواردة إلى العيادات الخاصة في مدينة الموصل وللفترة من شهر تشرين الثاني 2023 ولغاية اذار 2024. و أعدت استبانة خاصة لجمع البيانات من الحالات المرضية (استماراة الاستبيان ، ملحق 1)؛ إذ سجلت البيانات الخاصة بكل حيوان والتي تضمنت النوع والอายุ والجنس ونوع الإصابة سواء كانت أحادية أو ثنائية وشدة الإصابة ، جمعت مسحات العين من القطط المصابة باستخدام مسحات قطنية معقمة ورقمت و كتبت المعلومات اللازمة على جميع الأنابيب والحاويات ونقلت بشكل مبرد باستخدام الحافظة المبردة cool box وبشكل مباشر إلى مختبر الأحياء المجهرية - فرع الأحياء المجهرية - كلية الطب البيطري من أجل إجراء فحوصات العزل والتشخيص.

3-2-2: تحضير المحاليل والأوساط الزرعية**Preparation of solutions and culture media****3-2-2-1: اكار سكر المانitol والملح (MSA)**

حضر اكار المانitol والملح على وفق التوصيات للشركة (Himedia, India) ؛ إذ وضع 111 غرام من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر وسخن حتى الغليان ثم وضع في جهاز المؤصلة للتعقيم بدرجة 121°C و ضغط 1 جو و لمد 15 دقيقة وبعدها صب في اطباق بتري وحفظ بالتبريد في الثلاجة. وعَدَ وسْطًا انتخابيًّا selective medium للعزل الأولي للمكورات العنقودية.

2-2-2-3: اكار الدم Blood agar

حضر اكار الدم وفق توصيات الشركة المجهزة (Neogen, UK) ؛ إذ وضع 39.5 غرام من الوسط blood agar base في 1 لتر من الماء المقطر ثم وضع في جهاز المؤصد للتعقيم بدرجة 121°م وضغط 1 جو و لمدة 15 دقيقة بعدها ترك الوسط ليبرد بدرجة حرارة 50°م، ثم أضيف إليه 5-7% من دم الصأن المنزوع منه الفبرين fibrin بطريقة معقمة، ثم سكب الوسط بهدوء في أطباق بتري وحفظ بالتبريد في الثلاجة لحين الاستخدام.

3-2-3: اكار الكروموجين لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المقاومة**HiChrome™ MeReSa Agar Base للمثيسلين**

حضر هذا الوسط على وفق توصيات الشركة المجهزة (Himedia, India) وذلك بوضع 41,65 غم من الوسط في 500 مل من الماء المقطر وسخن حتى الغليان ثم عقم باستخدام جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121°م وضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة، وبعدها ترك ليبرد إلى درجة 50°م وأضيف إليه المحلول الانتخابي MRSA Selective supplement (FD229) و سيفوكسيتين Cefoxitin (FD259) ومزجت المكونات جيداً ثم سكب في أطباق بتري وحفظت في التبريد. وعد وسطاً انتخابياً selective medium للعزل الأولي للمكورات العنقودية الذهبية Methecillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) المقاومة للمثيسلين.

4-2-2-3: اكار المولر هنتون Muller Hinton agar

حضر اكار المولر هنتون على وفق التوصيات للشركة (Himedia, India) ؛ إذ وضع 38 غرام من الوسط في 1 لتر من الماء المقطر وسخن ثم عقم بواسطة المؤصدة بدرجة 121°م وضغط 1 جو و لمدة 15 دقيقة ثم سكب في الأطباق بتري وحفظت الأطباق في التبريد بدرجة 4°م لحين الاستخدام. وعد وسطاً لإجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية.

5-2-2-3: مرق نقيع الدماغ والقلب مع الكليسيرول**Brain heart infusion broth with glycerol**

حضر مرق نقيع القلب والدماغ على وفق تعليمات الشركة (Neogen, UK) مع إضافة الكليسيرول بنسبة 20%， ثم عقم الوسط بجهاز المؤصدة بدرجة 121°م وضغط 1 جو و لمدة 15 دقيقة وبرد إلى درجة حرارة 56°م ثم وزع على أنابيب سعة 1.5 مل ووضع في التجميد بدرجة - 20°م. استعمل هذا الوسط لحفظ العزلات الجرثومية في التجميد وذلك لحفظها لحين استكمال باقي الفحوصات المختبرية.

3-2-3: عزل الجراثيم و تمييزها

bacteria

1-3-2-3: عزل الجراثيم

زرعت مسحات العين المأخوذة من القطط المصابة على أطباق اكار الدم واكارسکر المانيتول والملح المحضرة مسبقاً وباستخدام عروة الزرع الجرثومي القياسية standard inoculating loop و حضنت جميع الأطباق المزروعة بدرجة 37 °م ولمدة 24 ساعة. وبعد الحضانة فحصت جميع الأطباق للتحري عن المستعمرات النامية.

2-3-2-3: الخصائص الزرعية

حددت الصفات المظهرية للمستعمرات المعزولة بعد زراعتها وتنقيتها على الأوساط الزرعية التي شملت كلاً من اكارات الدم واكار سكر المانيتول والملح (Markey *et al.*, 2013). وشملت الصفات كلاً من الشكل والحجم والارتفاع والقوام واللون والحفافات للمستعمرات الجرثومية المعزولة (Brooks *et al.*, 2015). فضلاً عن تسجيل قابلية الجراثيم المعزولة على وسط اكار الدم على تحليل كريات الدم الحمراء، وبالنسبة للجراثيم النامية على اكار سكر المانيتول والملح فقد سجلت قابلية المستعمرات النامية على تخمير سكر المانيتول من عدمه.

3-3-2-3: الخصائص الشكلية

أكّدت الصفات الشكلية للجراثيم المعزولة باستخدام عدة صبغة كرام Gram stain الجاهزة وذلك بعمل مسحات من المستعمرات النامية وصبغها وفحصها باستخدام المجهر الضوئي (Brooks *et al.*, 2015).

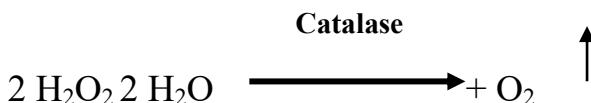
4-3-2-3: الاختبارات الكيموحيوية

استخدمت الاختبارات الكيموحيوية التالية لتمييز العزلات الجرثومية التي تم الحصول عليها من الأوساط الزرعية وذلك على وفق الطرائق المستخدمة مسبقاً (Brooks *et al.*, 2015).

أ- اختبار الكاتاليز Catalase Test

أخذت مستعمرة نامية ووضعت على سلайд نظيف وبعدها أضيفت قطرة من بيكروكسيد الهيدروجين H_2O_2 3% ومزجت جيداً وسجلت النتيجة ؛ إذ تكون النتيجة موجبة عندما يلاحظ تكون فقاعات

هوائية ؛ إذ إن إنزيم الكاتاليز يحطم بيروكسيد الهيدروجين وينتج الأوكسجين الحر الذي يتحرر على شكل فقاعات.



بـ اختبار الاوكسيديز Oxidase test

حضر الاختبار بوضع جزء من المستعمرة المطلوب فحصها على ورق الترشيح المغمورة بالصبغة الكاشفة Tetra methyl -p- phenylenediamine dihydrochloride % 1 فيتغير لونها إلى اللون البنفسجي الغامق في حال كون النتيجة موجبة أما عند عدم تغيير اللون ف تكون النتيجة سالبة.

تـ اختبار التجلط Coagulase test

طريقة الشريحة :

يمزج جزء من مستعمرة المكورات العنقودية في قطرة من محلول الملح الفسيولوجي على شريحة زجاجية نظيفة بحيث تحصل على معلق متجانس ثم نظيف إليه قطرة من بلازما الأرانب أو الإنسان وتكون نتيجة الاختبار موجباً إذا أدى المزج بواسطة الناقلة الحلقية فيما بعد إلى التلازن وتعطي مظهراً حبيبياً في دقيقتين، وبهذه الطريقة يتم الكشف عن خميرة التجلط المقيدة والتي تدعى بعامل التلازن.

5-3-2-3: حفظ العزلات الجرثومية Preservation of bacterial isolates

استخدم اكار المولر هنتون لحفظ العزلات لفترات لا تتجاوز 7 أيام، في حين استخدم الوسط المغني مع الكليسيرول لحفظ عزلات الجراثيم لمدة طويلة؛ وذلك لضمان المحافظة على فعاليتها الحيوية أثناء مدة الدراسة (LaBauve and Wargo, 2012). إذ أخذت عدة مستعمرات حديثة النمو ومزجت جيداً مع وسط نقيع القلب و الدماغ مع الكليسيرول ثم حفظت بدرجة حرارة -20°C.

3-2-4: اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية

Antibiotics sensitivity test

أجري اختبار الحساسية باستخدام 14 نوعاً من المضادات الحيوية الخاصة بمجاميع مختلفة من المضادات الحيوية التي تكون بشكل أقراص جاهزة ؛ إذ أجري اختبار الحساسية بطريقة انتشار القرص disk diffusion method على اكار المولر هنتون وذلك على وفق الطريقة المتبعة

(Wayne, 2017) ؛ إذ حضر المعلق الجرثومي وبتخفيض مساوي إلى 0.5 المحلول القياسي ماكفرلاند McFarland standards ؛ إذ مسح الطبق بالمعلق الجرثومي ثم ترك لفترة 1-2 دقيقة، وبعدها وضعت أقراص المضادات الحيوية بواسطة ملقط معقم مع ترك مسافة كافية بين الأقراص ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 ° م ولمدة 24 ساعة. بعدها قيس قطر نطاق التثبيط بواسطة مسطرة و سجلت النتائج.

3-2-5: التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis

1-5-2-3: استخلاص الحامض النووي DNA extraction

استخلاص الحامض النووي للجراثيم المعزولة باستخدام عدة استخلاصات الحامض النووي AddPrep Bacteria Genomic DNA Extraction.

1- نقلت 3-4 مستعمرات حديثة النمو لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية (التي تم تربيتها مسبقاً) على طبق مولر هنتون إلى أنبوبة إندورف Eppendorf tube حجم 1.5 مل يحتوي على 500 mg/ml lysozyme و 20 μl lysozyme buffer solution و 50 μl 1.5ml يتركيز وذلك من أجل تحليل جدار الخلايا الجرثومية. ثم مزجت جيداً بواسطة جهاز مزج العينات vortex ثم حضنت بدرجة حرارة 37 ° م ولمدة 60 دقيقة.

2- وضعت العينة بجهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية وبحركة 13000 دورة في الدقيقة و سُكب المحلول الطافئ.

3- أضيف 200 μl من محلول lysis solution و 20 μl من محلول K Proteinase على الأنبوة الحاوية على الراسب بالنسبة للجراثيم الموجبة لصبغة كرام. ثم مزجت المكونات بشكل جيداً وحُضن الأنبوب في درجة حرارة 56 ° م في الحمام المائي ولمدة 10 دقائق.

4- أضيف 200 μl من محلول الربط binding solution و 200 μl من الإيثانول المطلوق absolute ethanol و مزجت جيداً لمدة 15 ثانية، ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي Eppendorf microcenterfuge وبسرعة 13000 دورة في الدقيقة لمدة ثلاثة دقائق.

5- نقل 500 μl من الراسح إلى عمود الدوران مع أنبوبة التجميع بحجم 2 مل ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 rpm لمدة دقيقة واحدة.

6- أضيف 500 μl من محلول الغسيل الأول 1wa shing solution إلى spin column باستخدام أنبوب التجميع ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة وتم بعدها التخلص من السائل الراسح في أنبوبة التجميع.

- 7- أضيف 500 μl من محلول الغسيل shing solution 2wa إلى عمود الدوران spin column باستخراج أنبوب التجميع ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة دورة في الدقيقة 13000 ولمدة دقيقة واحدة وتم بعدها التخلص من السائل الراشح في أنبوبة التجميع.
- 8- جفف عمود الدوران عن طريق الطرد المركزي الإضافي بسرعة 13000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة وتم بعدها التخلص من إزالة الإيثانول المتبقى في عمود الدوران.
- 9- نقل عمود الدوران إلى أنبوب ابندورف جديد سعة 1.5 مل وأضيف 100 μl من محلول الشطف elution solution إلى عمود الدوران وترك لمدة دقيقة واحدة على الأقل ثم وضع الأنبوب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة في الدقيقة ولمدة دقيقة واحدة للحصول على الحامض النووي عن طريق الطرد المركزي.
- 10- و حفظ الحامض النووي المستخلص بدرجة حرارة 20 °C لاستخدامه في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR). (Rahimee and Azeemi., 2020)

2-5-2-3: قياس نقاوة الحامض النووي المستخلص

لمعرفة كل من التركيز والنقافة للـ DNA الذي تم استخلاصه، استخدم جهاز Biodrop لتحديد تلك القياسات بالإضافة 1 ميكرولتر من الـ DNA الذي استخلاص مسبقاً في المكان المخصص له في الجهاز بعد تصفيره باستخدام الماء الحالي من إنزيمات DNA و RNA وتمت القراء وتسجيل البيانات. فضلاً عن ذلك فقد تم قياس كفاءة الاستخلاص أيضاً بالترحيل في هلام الأكاروز Agarose gel electrophoresis وبتركيز 1.2% باستخدام الظروف القياسية المذكورة لاحقاً في ترحيل 5-2-3 الترhill الكهربائي لهلام الأكاروز؛ إذ مزج الـ DNA الذي استخلص مع صبغة خاصة loading dye بحجم 1 ميكرولتر، ثم وضع المزيج في الحفرة المخصصة مع إضافة المؤشر DNA ladder. مصدر

3-5-2-3: خليط التفاعل الرئيسي

حضر خليط التفاعل الرئيسي الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل PCR على وفق التعليمات الخاصة بالشركة؛ إذ تضمن الأحجام الخاصة بكل من المكونات وكما هو مذكور في الجدول (5-3). مع وضع البادي الخاص بكل جين من الجينات المراد الكشف عنها و المذكورة بالجدول (4-3) وبشكل منفصل لكل تفاعل؛ إذ مزجت المكونات جيداً و وزعت بحجم 23 ميكرولتر على الأنابيب بحجم 0.2 مل مخصصة بإجراء تفاعل البلمرة المتسلسل PCR tubes، بعد استكمال

توزيع الخليط الرئيسي تم إضافة قالب DNA المستخلص وبحجم 2 ميكرولتر من كل عينة ليكون الحجم النهائي في كل أنبوبة 25 ميكرولتر.

الجدول (5-3): مكونات خليط التفاعل الرئيسي الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل PCR

الحجم	المادة
12.5 ميكرولتر	محلول المزيج الرئيسي 2X Master Mix
1 ميكرولتر	البادئ الامامي Forward primer 10 pmol/ μ l
1 ميكرولتر	البادئ الراجي Reverse primer 10 pmol/ μ l
8.5 ميكرولتر	ماء مقطر خال من انزيمات PCR grade water
2 ميكرولتر	قالب الحامض النووي DNA template
25 ميكرولتر	الحجم النهائي

4-5-2-3: برمجة جهاز المدوار الحراري Thermocycler

استخدم البرنامج الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل وكما هو موضح في الجدول (6-3) وبعدها حفظت الأنابيب في الثلاجة لحين إجراء الترحيل الكهربائي.

الجدول (6-3): تفاصيل برنامج التضخيم PCR program

عدد الدورات	المدة المطلوبة	درجة الحرارة °م	الخطوة
1	10 دقائق	94	المسخ الاولى Primary denaturation
x 35	45 ثانية	94	المسخ Denaturation
	45 ثانية	*	ارتباط البادئ Annealing
	1 دقيقة	72	استطالة البادئات Extension
1	10 دقائق	72	الاستطالة النهائية Final extension
-	∞	4	التبريد Cooling

* = درجة حرارة الارتباط حسب نوع البادئ

3-5-2-3: ترحيل نواتج التضخيم باستخدام هلام الاكاروز

هيأت هلامة الاكاروز بإذابة 1.5 غم من الاكاروز عالي النقاوة ومزجه مع 100 مل من محلول داري (TBE) Tris-Borate EDTA buffer بقوه 1X ثم مزج المحلول و سخن في فرن المايكروويف لمدة 2 دقيقة حتى يغلي ثم وضع جانباً ليبرد واضيف اليه 4 مایکرولتر من الصبغة الخاصة الحمراء GelRed dye ومزجت جيداً وصب بعدها في قالب جهاز الترحيل الكهربائي وترك ليتصلب لمدة نصف ساعة. بعدها أجري الترحيل وذلك بتغطية هلامة الكاروز بال محلول الداري TBE ووضعت نواتج التضخيم التي حضرت مسبقاً في الخطوة السابقة. وأضيف الماركر DNA marker في الحفرة الأولى ليكون بمثابة المؤشر القياسي، ثم سلط ما مقداره 75 فولت و تيار يعادل 300 ملي امبير ولمدة ساعة واحدة لغرض استكمال الترحيل الكهربائي. تمت قراءة النتيجة بتصوير هلامة الاكاروز بعد الترحيل مباشرة باستخدام Gel imaging camera (Biorad-USA)

3-5-2-3: قياس التتابع الجيني DNA sequencing

أرسلت منتجات تفاعل البوليميراز المتسلسل للعينات الإيجابية إلى شركة ماكروجين في كوريا للتسلسل باستخدام طريقة تسلسل سانجر. وأرسل 20 ميكرولترا من منتج تفاعل البوليميراز المتسلسل للجين المستهدف مع البادي المقابل. تم الحصول على نتائج التسلسل كملفات نصية بتتنسيق FASTA . و حللت بيانات التسلسل باستخدام موقع أداة البحث عن المحاذنة المحلية الأساسية (BLAST) التابع لمركز NCBI للمقارنة مع تسلسلاات مماثلة أخرى في GenBank و قدمت عينات إلى GenBank للحصول على رقم الوصول .Accession No.

3-6-2-3: التحليل الإحصائي Statistical analysis

استخدم اختبار Chi-Square Test للتعرف على الفروقات معنوية عند مستوى معنوية- $P < 0.001$ وذلك باستخدام برنامج IBM\SPSS\Statistics\Version 22, USA .(Aldrich, 2019)

الفصل الرابع

النتائج

Results

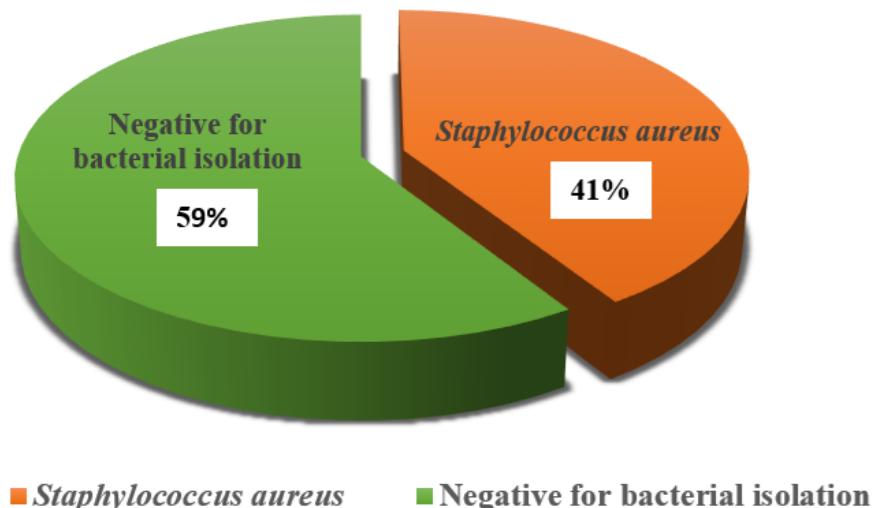
الفصل الرابع

النتائج

Results

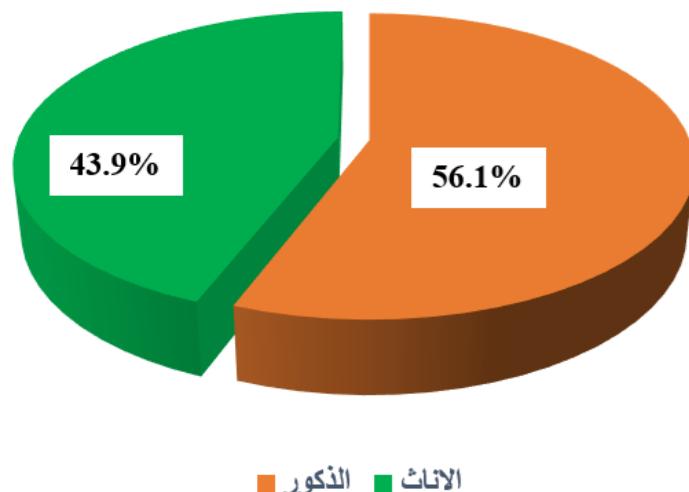
٤-١: العزل الجرثومي

أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة عزل المكورات العنقودية الذهبية بلغت (41%) 100/41 عزلة من القطط التي فحصت، في حين كان عدد الحالات السالبة للعزل الجرثومي 100/59 وبنسبة (59%) (الشكل ٤-١).



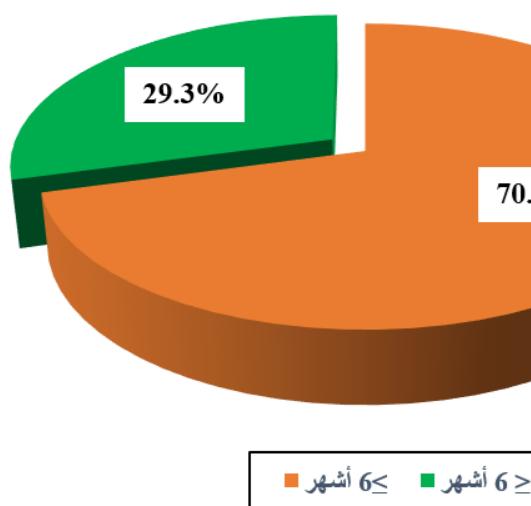
الشكل (٤-١): نسبة عزل المكورات العنقودية الذهبية من إصابات العين الجرثومية

وأظهرت النتائج أن نسبة الجراثيم التي عزلت من الذكور كانت أعلى وبلغت 41/23 (56.1%) في حين بلغت 43/18 (43.9%) في إناث القطط التي تم فحصها مع وجود فارق معنوي $P \leq 0.05$ لصالح الذكور مقارنة مع الإناث (الشكل 2-4).



الشكل (2-4): نسبة إصابة العين في القطط إنتماءاً على الجنس.

وأظهرت النتائج أن القطط ذات العمر ≤ 6 أشهر أكثر عرضة للإصابة بالتهابات العين الجرثومية وسجلت 41/29 (70.7%) من القطط ≥ 6 أشهر التي سجلت 41/12 (29.3%) (الشكل 3-4).



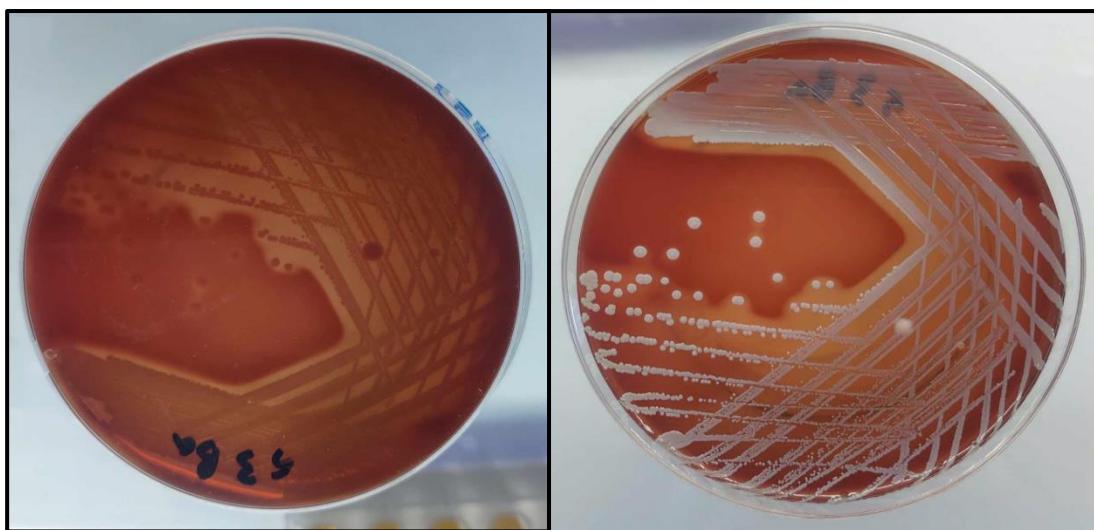
الشكل (4-3): نسبة الإصابة اعتماداً على العمر.

ويوضح الشكل (4-4) الحالات الواردة للعيادات البيطرية التي تعاني من إصابات العين سواء كانت القطط محلية أو مستوردة.

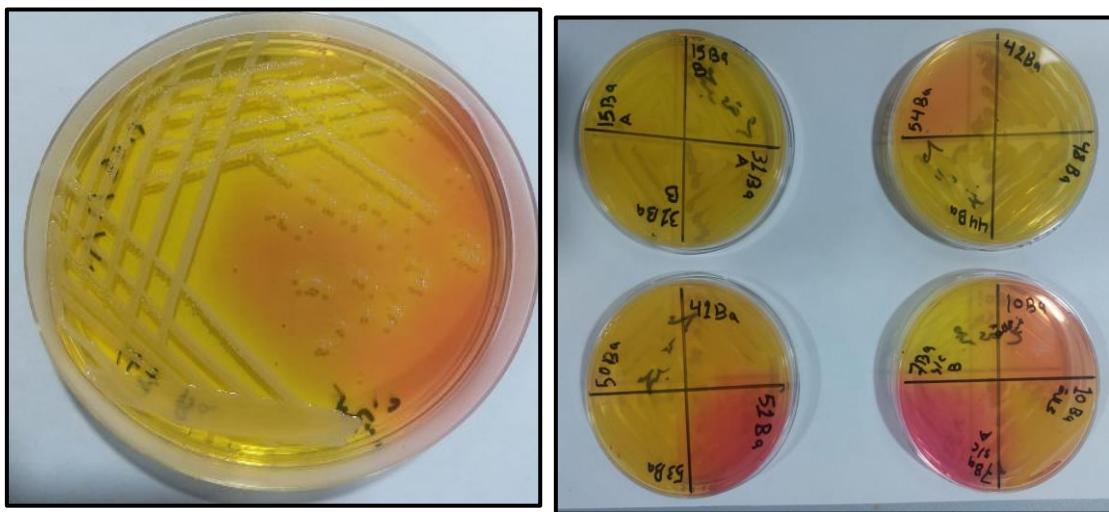


الشكل (4-4): أنواع من القطط المحلية والمستوردة والمصابة بالتهابات العين الجرثومية.

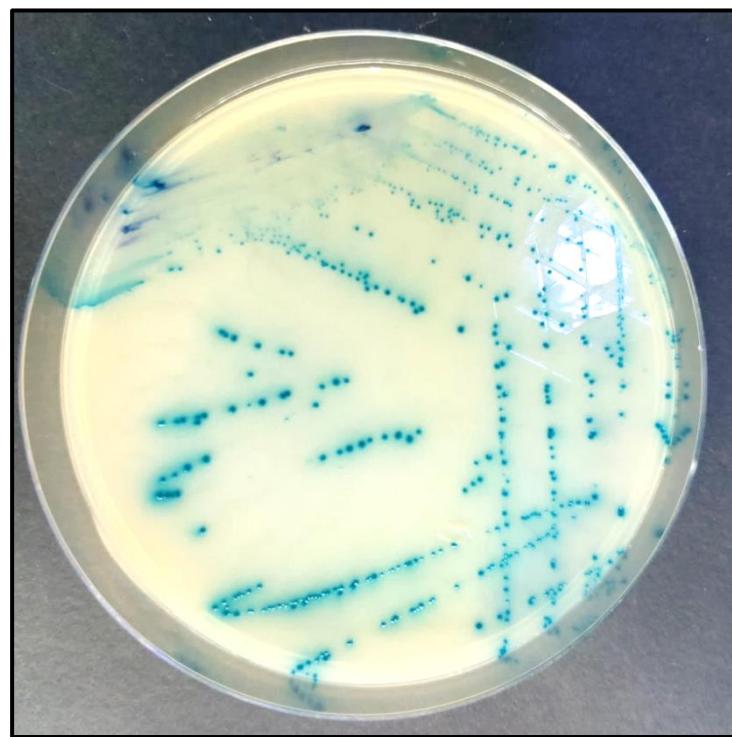
وأظهرت نتائج الزرع الجرثومي فضلاً عن إجراء الاختبارات الكيموحيوية عزل المكورات العنقودية الذهبية وكما هو موضح في الأشكال (4-5) إلى (4-10) على التوالي.



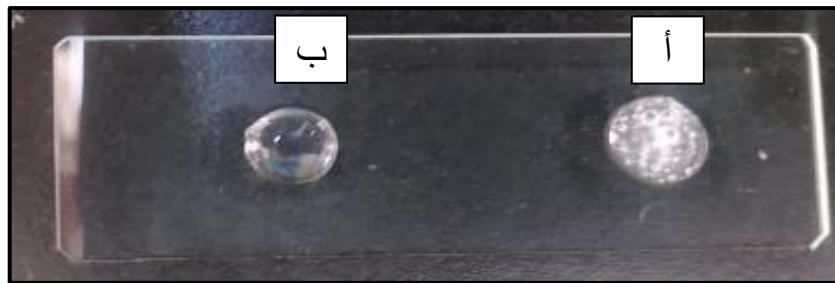
الشكل (4-5): نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على وسط اكار الدم blood agar المحضر من الصان.



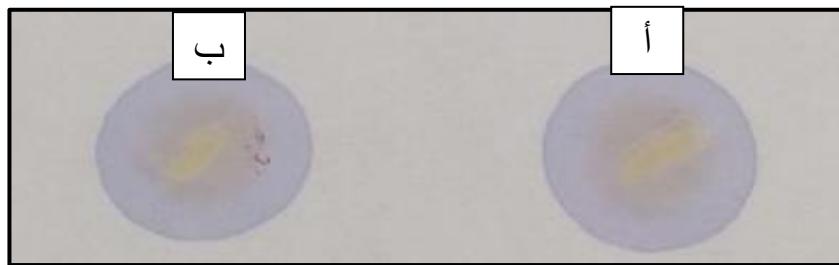
الشكل (4-6): نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على وسط اكار سكر المانitol والملح MSA.



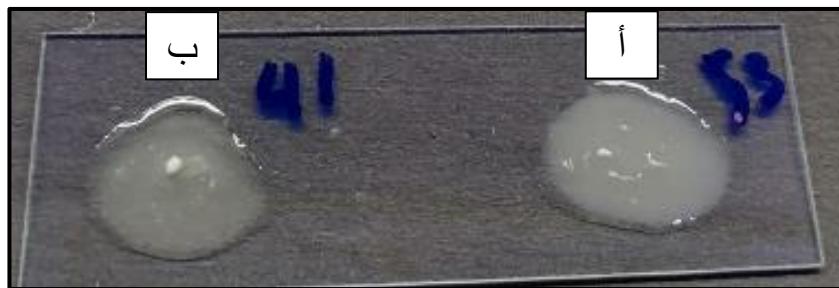
الشكل (4-7): نمو المستعمرات الجرثومية للمكورات العنقودية الذهبية على اكار الكروموجين HiChromeTM MeReSa Agar Base لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسلين



الشكل (4-8): اختبار الكتاليز catalase test. أ- يمثل قراءة موجبة، ب- يمثل نتيجة سالبة.



الشكل (4-9): اختبار الأوكسidiز oxidase test. أ و ب تمثلان نتيجة سالبة.



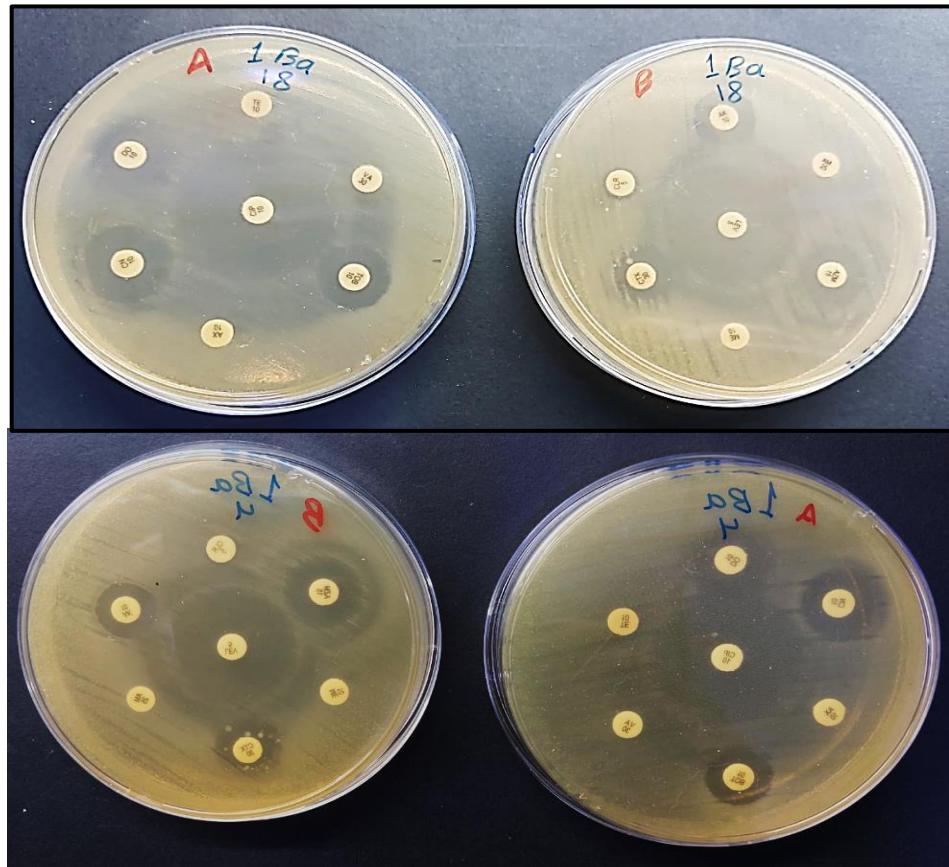
الشكل (4-10): اختبار التجلط للبلازما بطريقة الشريحة slide coagulase test. أ و ب تمثلان نتيجة موجبة.

4-2: فحص الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test

أظهرت نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية (AST) تطور المقاومة بشكل ملحوظ ضد العديد من المضادات الحيوية مثل Ampicillin, Cefotaxime, Amoxicillin, Gentamycin, Methicillin and Amikacin بالجدول (1-4) و الشكل (11-4).

الجدول (1-4): اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية للمكورات العنقودية المعزولة من إصابات العين في القطط

نسبة المقاومة %	عدد العزلات المقاومة n=41	اسم المضاد الحيوي	ت
82.9	34	Ampicillin (AM 25 µg)	.1
78.1	32	Cefotaxime (CTX 30 µg)	.2
53.7	22	Amoxicillin (AX 10 µg)	.3
48.8	20	Gentamycin (CN10 µg)	.4
46.3	19	Methicillin (ME 10 µg)	.5
46.3	19	Amikacin (AK 10 µg)	.6
41.5	17	Azithromycin (AZ15 µg)	.7
41.5	17	Clarithromycin (CLR 5 µg)	.8
36.6	15	Tetracycline(TE10 µg)	.9
34.2	14	Tobramycin (TOB 10 µg)	.10
29.3	12	Doxycycline (DO10 µg)	.11
24.4	10	Vancomycine (va30 µg)	.12
7.3	3	Levofloxacin (LEV 5 µg)	.13
0.0	0.0	Ciprofloxacin (CIP10 µg)	.14

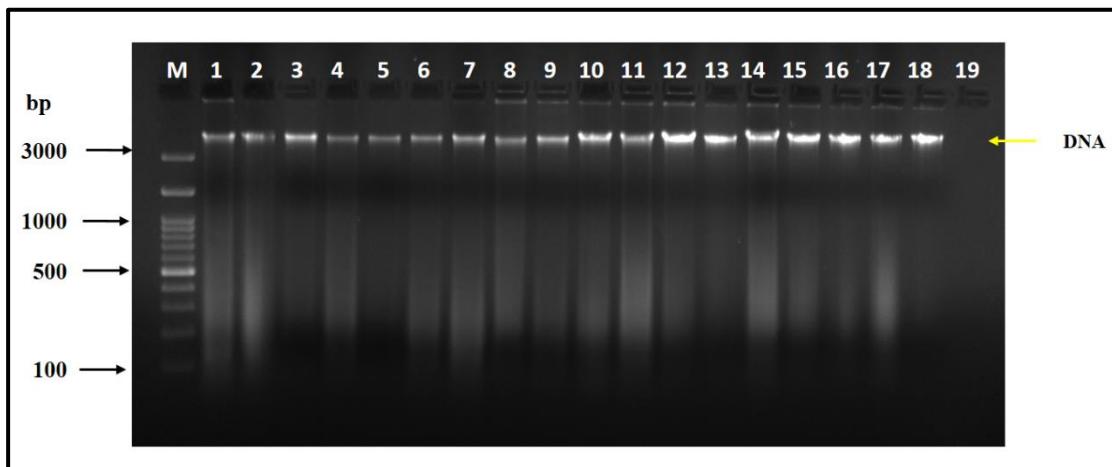


الشكل (11-4): اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية للمكورات العنقودية يظهر وجود عزلات مقاومة لمختلف أنواع المضادات الحيوية.

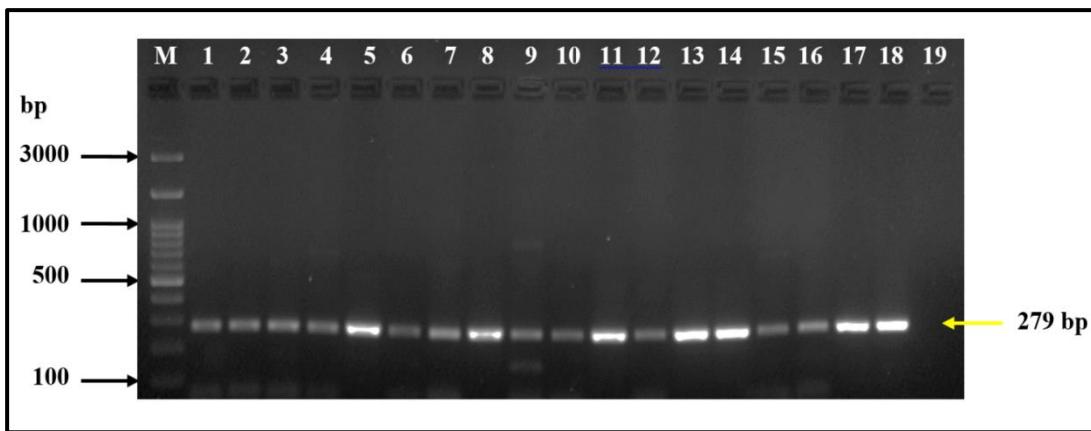
3-4 : التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis

اظهرت نتائج الترhill للحمض النووي DNA في هلامة الأكاروز ان عملية الاستخلاص لجميع العزلات كانت بشكل كفؤ وان الحزم النقية للحمض النووي تدل على نقاوته كما في الشكل (12-4). كما تم استخدام جهاز (Biodrop, UK) لقياس تأكيد النتائج حيث تراوحت التراكيز بين 1.7-1.8 ng/ μ l والنقاوة بين 400-600 ng/ μ l. اظهرت نتائج الفحص الجزيئي باستخدام PCR أن الجراثيم المعزولة تعود للمكورات العنقودية الذهبية وبحجم ناتج 279 bp للجين *nuc* والخاص بتشخيص المكورات العنقودية الذهبية الشكل (13-4). كما واظهرت النتائج للكشف عن عوامل الضراوة للمكورات العنقودية الذهبية وجود عوامل الضراوة للجين *cifA* بحجم 288 bp، والجين *cifB* بحجم 203 bp والمسبب لانعكاس عامل التكتل *clumping factor* كما في الشكل (14-4).

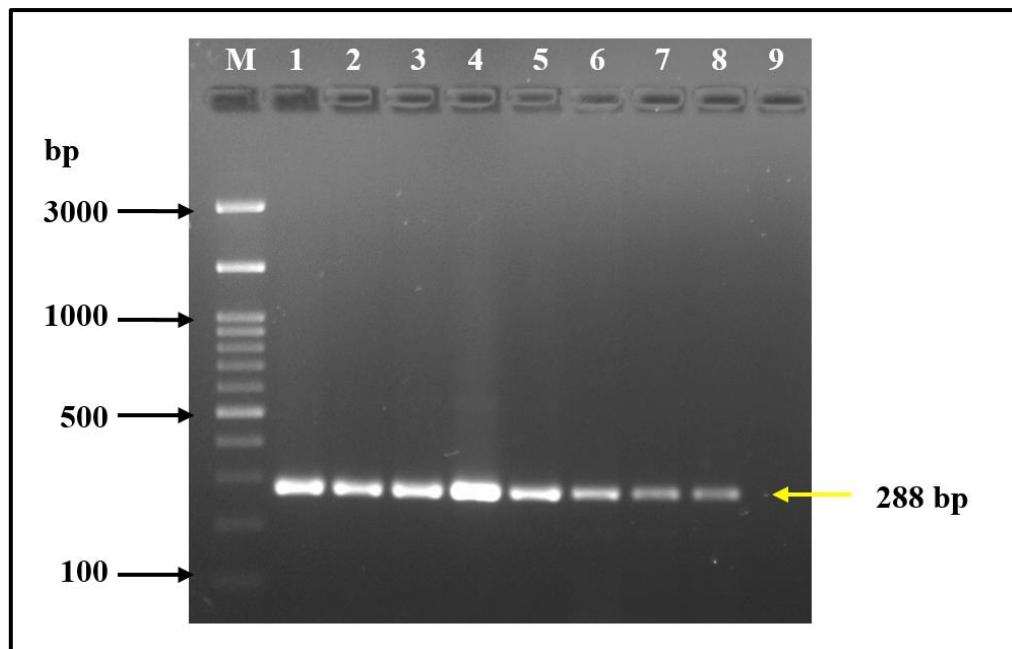
و الشكل (4-15). والجين *coa* بحجم 674 bp والمُسؤول عن إنتاج إنزيم التجلط coagulase في المكورات العنقودية الذهبية كما في الشكل (4-16). ولتأكيد صفة المقاومة للمثيسيلين فقد تم الكشف عن الجين *mecA* المسؤول عن المقاومة لهذا المضاد الحيوي وبحجم 147 bp في جراثيم MRSA الشكل (4-17).



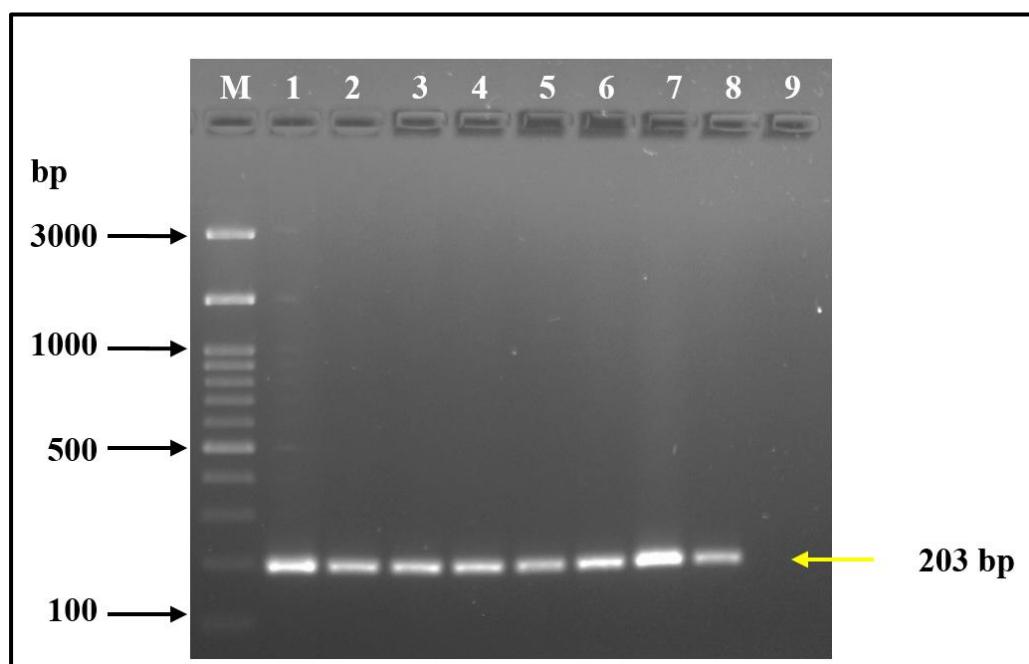
الشكل (4-12): ترحيل الحامض النووي المستخلص في هلامه الأكاروز Agarose gel ووجود حزم واضحة من الحامض النووي .DNA electrophoresis



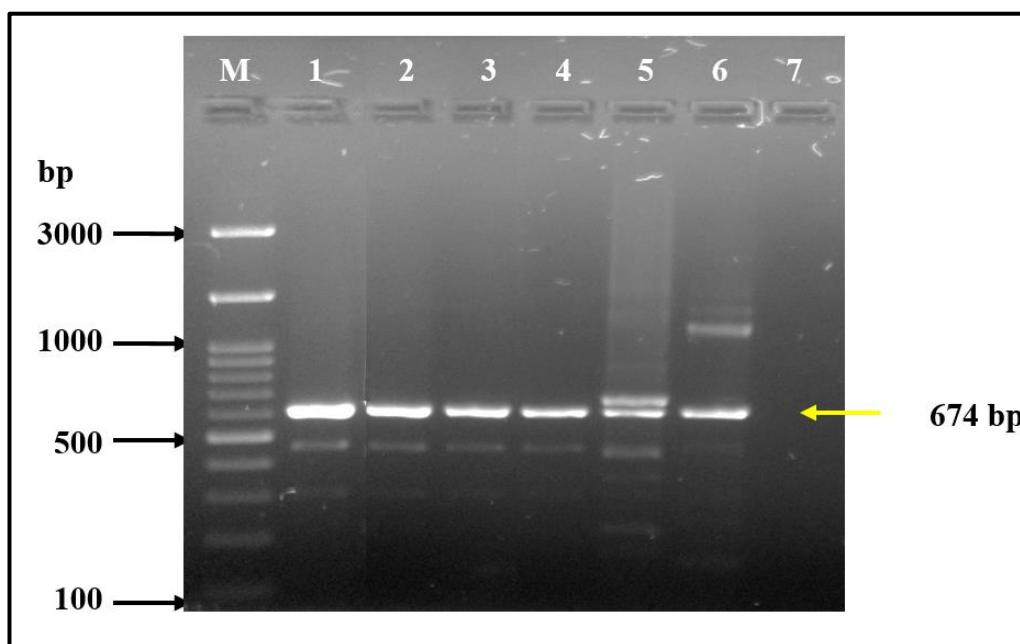
الشكل (4-13): الترحيل في هلامه الأكاروز Agarose gel electrophoresis للكشف عن نواتج التضخيم للجين *nuc* بحجم 279 bp . المسار lane M يمثل المؤشر DNA *S. aureus* 100 bp حجم المسارات 1-18 تمثل العينات موجبة، المسار 19 يمثل السيطرة السالبة.



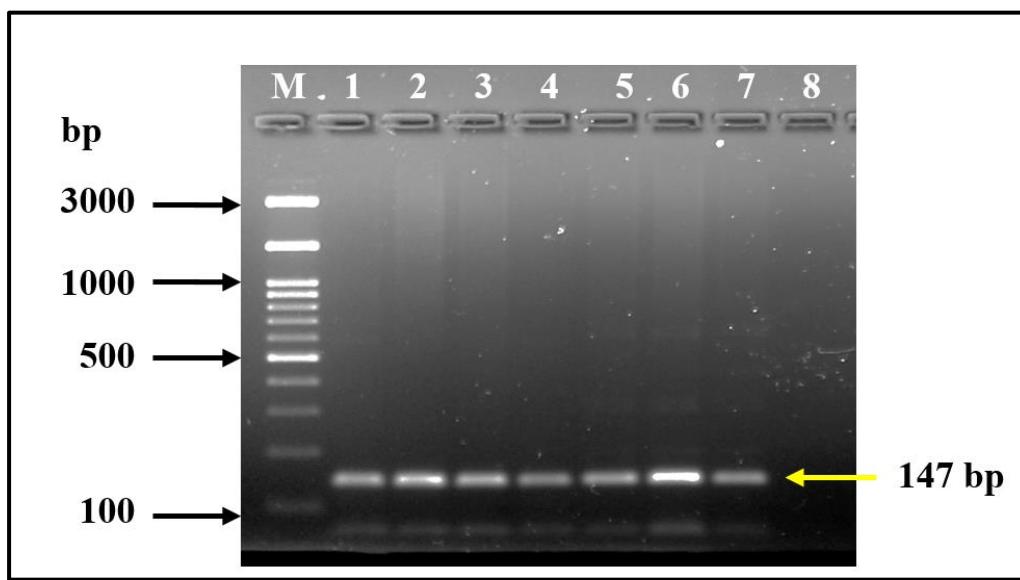
الشكل (14-4): الترهل في هلامة الأكاروز Agarose gel electrophoresis للكشف عن نواتج التضخيم للجين *clfA* بحجم 288 bp . المسار M يمثل المؤشر DNA *S. aureus* lane 8 تمثل العينات موجبة، المسار 9 يمثل السيطرة السالبة.



الشكل (15-4): الترهل في هلامة الأكاروز Agarose gel electrophoresis للكشف عن نواتج التضخيم للجين *clfB* بحجم 203 bp . المسار M يمثل المؤشر DNA *S. aureus* lane 8 تمثل العينات موجبة، المسار 9 يمثل السيطرة السالبة.



الشكل (16-4): التريل في هلامه الأكاروز Agarose gel electrophoresis للكشف عن نواتج التضخيم للجين *coa* بحجم 674 bp . المسار M يمثل المؤشر DNA . المسار 1-6 تمثل العينات موجبة، المسار 7 يمثل السيطرة السالبة.



الشكل (17-4): التريل في هلامه الأكاروز Agarose gel electrophoresis للكشف عن نواتج التضخيم للجين *mecA* بحجم 147 bp . المسار M يمثل المؤشر DNA . المسار 1-7 تمثل العينات موجبة، المسار 8 يمثل السيطرة السالبة.

وتم تسجيل عدد 4 عزلات للمكورات العنقودية الذهبية في بنك الجينات GenBank التابع لـ NCBI وذلك باستخدام الجين *nuc* حيث أودعت بالرقم التالية Accession No. حيث أودعت بالرقم التالية PP836112, PP836111, PP836110, PP836109-4 و (25-4) و (24-4) و (23-4) و (22).

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank Send to:

Staphylococcus aureus strain NA-1SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds

GenBank: PP836109.1

FASTA Graphics PopSet

Go to: [View](#)

LOCUS	PP836109	246 bp	DNA	linear	BCT 02-JUN-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NA-1SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds.				
ACCESSION	PP836109				
VERSION	PP836109.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawi,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of <i>Staphylococcus aureus</i> from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawi,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Direct Submission				

الشكل (18-4): تسجيل (18-4) عزلة *S. aureus* في بنك الجينات بالرقم Accession no. PP836109

Nucleotide Advanced

GenBank

Staphylococcus aureus strain NA-6SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds

GenBank: PP836110.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

[Go to: ▾](#)

LOCUS	PP836110	246 bp	DNA	linear	BCT 02-JUN-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NA-6SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds.				
ACCESSION	PP836110				
VERSION	PP836110.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of <i>Staphylococcus aureus</i> from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				

الشكل (19-4): تسجيل GenBank لعزلة *S. aureus* لعازلة *nuc* gene في بنك الجينات بالرقم Accession no. PP836110

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank Send to:

Staphylococcus aureus strain NA-7SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds

GenBank: PP836111.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

Go to: [View](#)

LOCUS	PP836111	246 bp	DNA	linear	BCT 02-JUN-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NA-7SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds.				
ACCESSION	PP836111				
VERSION	PP836111.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawi,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of <i>Staphylococcus aureus</i> from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajmawi,N.D. and Ahmed,I.M.				
TTTLE	Direct Submission				

الشكل (20-4): تسجيل nuc gene لعزلة *S. aureus* في بنك الجينات بالرقم .Accession no. PP836111

Staphylococcus aureus strain NA-12SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds

GenBank: PP836112.1

[FASTA](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

[Go to:](#)

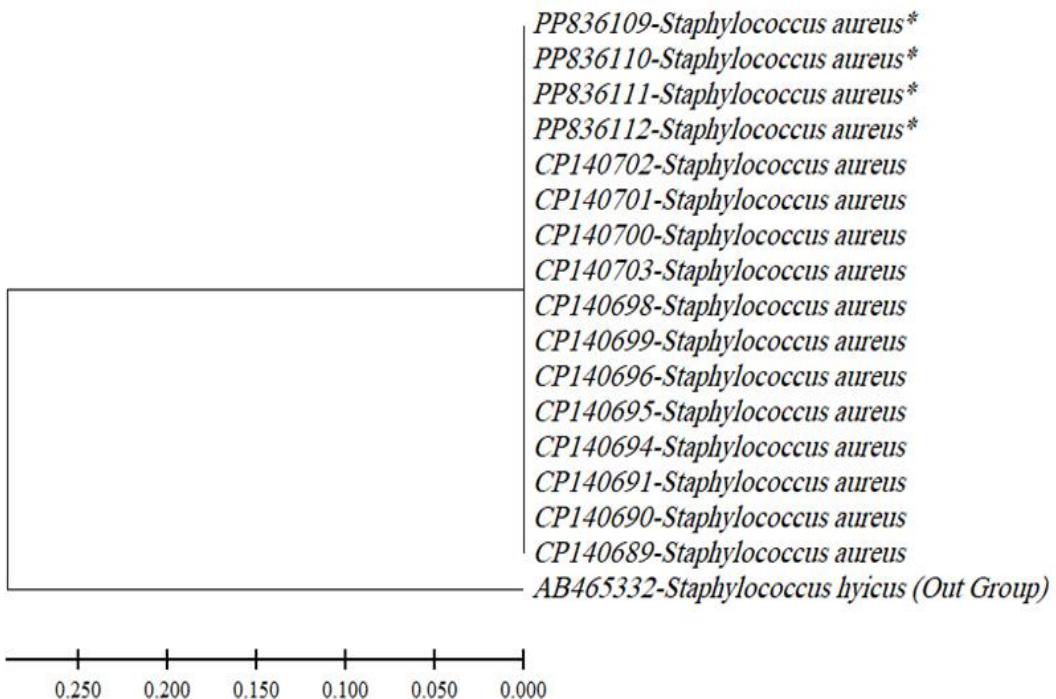
LOCUS	PP836112	246 bp	DNA	linear	BCT 02-JUN-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NA-12SA-24 thermonuclease family protein (nuc) gene, partial cds.				
ACCESSION	PP836112				
VERSION	PP836112.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajname,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of Staphylococcus aureus from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 246)				
AUTHORS	Alnajname,N.D. and Ahmed,I.M.				

الشكل (21-4) : تسجيل (nuc gene) لعزلة *S. aureus* في بنك الجينات بالرقم .Accession no. PP836112

كما وتم ايجاد نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية المسجلة في بنك الجينات مع باقي العزلات العالمية واظهرت نسبة تطابق 100% للجين nuc والمسجلة في بنك الجينات مع بعض العزلات من بلجيكا وكما مبين بالجدول (2-4) واظهرت شجرة التطور الوراثي phylogenetic analysis tree ان العزلات كانت متشابهة فيما يخص كونها من المكورات العنقودية الذهبية الشكل (22-4).

الجدول (4-2): نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية للجين *nuc* والمسجلة في بنك الجينات مع العزلات العالمية الأخرى

Accession Number	Identified Organism	Query Cover %	Identic Number %	GenBank Accession Number	Country Identification
PP836109 PP836110 PP836111 PP836112	<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	CP140701	Belgium
		100	100	CP140702	Belgium
		100	100	CP140700	Belgium
		100	100	CP140703	Belgium
		100	100	CP140698	Belgium
		100	100	CP14 0699	Belgium
		100	100	CP140696	Belgium
		100	100	CP140695	Belgium
		100	100	CP140694	Belgium
		100	100	CP140691	Belgium



الشكل (22-4): شجرة التطور الوراثية للعزلات المحلية للمكورات العنقودية الذهبية للجين *nuc* والمسجلة مقارنة مع العزلات العالمية الأخرى في بنك الجينات.

وتم تسجيل عدد اربع عزلات العنقودية الذهبية التي تحمل صفة المقاومة للمثيسيلين MRSA في بنك الجينات NCBI التابع لـ GenBank وذلك باستخدام الجين *mecA* حيث أودعت بالارقام التالية, PQ181561, PQ181562, PQ181563, و PQ181564. وحسب ما هو موضح في الاشكال (23-4) و (24-4) و (25-4) و (26-4).

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank Send to:

Staphylococcus aureus strain NI-7MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds

GenBank: PQ181561.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS	PQ181561	103 bp	DNA	linear	BCT 05-OCT-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NI-7MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds.				
ACCESSION	PQ181561				
VERSION	PQ181561.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of Staphylococcus aureus from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Direct Submission				

الشكل (23-4): تسجيل GenBank لعزلة *S. aureus* في بنك الجينات بالرقم Accession no. PQ181561

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide Nucleotide Advanced

GenBank ▾ Send to: ▾

Staphylococcus aureus strain NI-9MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds

GenBank: PQ181562.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS	PQ181562	103 bp	DNA	linear	BCT 05-OCT-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NI-9MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds.				
ACCESSION	PQ181562				
VERSION	PQ181562.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	Staphylococcus aureus Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of Staphylococcus aureus from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Direct Submission				

الشكل (24-4): تسجيل GenBank في بنك الجينات بالرقم .Accession no. PQ181562 لعزلة *S. aureus* في *mecA* الجين.

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide Nucleotide
Advanced

GenBank Send to:

Staphylococcus aureus strain NI-13MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds

GenBank: PQ181563.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

```

LOCUS      PQ181563          103 bp    DNA     linear   BCT 05-OCT-2024
DEFINITION Staphylococcus aureus strain NI-13MC24 penicillin-binding protein
           2A (mecA) gene, partial cds.
ACCESSION  PQ181563
VERSION   PQ181563.1
KEYWORDS  .
SOURCE    Staphylococcus aureus
ORGANISM  Staphylococcus aureus
           Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae;
           Staphylococcus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 103)
AUTHORS  Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.
TITLE    Isolation and molecular diagnosis of Staphylococcus aureus from eye
           infections in domestic cats in Mosul city
JOURNAL  Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 103)
AUTHORS  Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.

```

الشكل (25-4): تسجيل gene *mecA* في بنك الجينات بالرقم GenBank لعزلة *S. aureus* .Accession no. PQ181563

Staphylococcus aureus strain NI-18MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds

GenBank: PQ181564.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to: □](#)

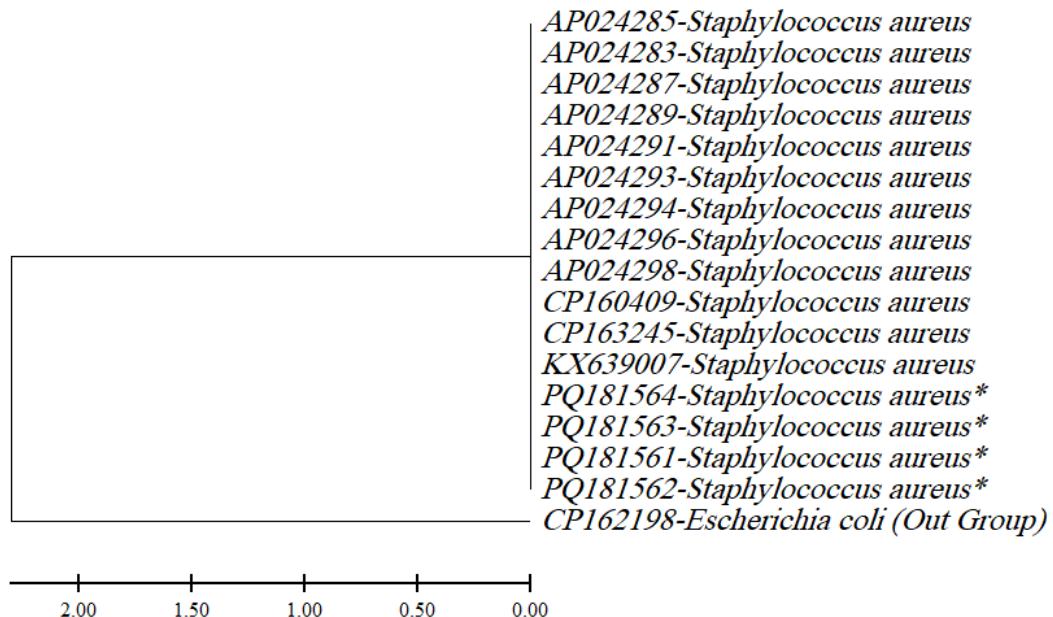
LOCUS	PQ181564	103 bp	DNA	linear	BCT 05-OCT-2024
DEFINITION	Staphylococcus aureus strain NI-18MC24 penicillin-binding protein 2A (mecA) gene, partial cds.				
ACCESSION	PQ181564				
VERSION	PQ181564.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Staphylococcus aureus				
ORGANISM	<u>Staphylococcus aureus</u> Bacteria; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Isolation and molecular diagnosis of Staphylococcus aureus from eye infections in domestic cats in Mosul city				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 103)				
AUTHORS	Alnajmawe,N.D. and Ahmed,I.M.				
TITLE	Direct Submission				

الشكل (26-4): تسجيل GenBank لعزلة *S. aureus* meca gene في بنك الجينات بالرقم .Accession no. PQ181564

كما وتم ايجاد نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية MRSA والمسجلة في بنك الجينات مع باقي العزلات العالمية حيث اظهرت نسبة تطابق 100% للجين mec والمسجلة في بنك مع بعض العزلات من الصين China وامريكا USA واليابان Japan كما هو موضح في الجدول (3-4). كما واظهرت شجرة التطور الوراثي phylogenetic analysis tree ان العزلات كانت متشابهة فيما يخص كونها من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين .(31-4) الشكل (31-4) MRSA

الجدول (4-3): نسبة التطابق لعزلات المكورات العنقودية الذهبية للجين *mecA* والمسجلة في بنك الجينات مع العزلات العالمية الأخرى

Accession Number	Identified Organism	Query Cover %	Identic Number %	Genbank Accession Number	Country Identification
PQ181561 PQ181562 PQ181563 PQ181564	<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	KX639007	China
		99	100	CP163245	USA
		99	100	CP160409	USA
		99	100	AP024298	Japan
		99	100	AP024296	Japan
		99	100	AP024294	Japan
		99	100	AP024293	Japan
		99	100	AP024291	Japan
		99	100	AP024289	Japan
		99	100	AP024287	Japan
		99	100	AP024285	Japan
		99	100	AP024283	Japan



الشكل (27-4): شجرة التطور الوراثية للعزلات المحلية للمكورات العنقودية الذهبية للجين *mecA* والمسجلة مقارنة مع العزلات العالمية الأخرى في بنك الجينات

**الفصل الخامس
المناقشة**

Discussion

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

تعد إصابات العين الجرثومية الناتجة عن المكورات العنقودية الذهبية في القطط ذات أهمية كبيرة بالنسبة لصحة هذه الحيوانات وكذلك بالنسبة للإنسان كونها تعد من الأمراض المشتركة التي يمكن أن تنتقل إليه بطريقة مباشرة أو غير مباشرة. وعليه فقد سلطت هذه الدراسة الضوء على إصابات عزل وتصنيف المكورات العنقودية الذهبية من إصابات العين في القطط الأليفة في مدينة الموصل، إذ أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة عزل المكورات العنقودية الذهبية بلغت 100/41 (%41). وفي دراسات مشابهة سجلت الباحثة (Hussein, 2018) في دراسة لإصابات العين الجرثومية في القطط في مدينة الموصل نسبة عزل جرثومي أعلى 60/47 (%) ؛ إذ شكلت المكورات العنقودية فيها نسبة 47/12 (%25.5) في حين كانت باقي النسب (%)78.3 ؛ إذ شكلت المكورات العنقودية الذهبية هي الأعلى وسجلت 12/7 (%58.4) عزلة. كما أجرى الباحث (Radhy, 2023) دراسة مؤخراً تشمل بعض مسببات إصابة العين في القطط في مدينة بغداد ؛ إذ تمكن من عزل المكورات العنقودية الذهبية وكانت الأعلى بين المسببات الجرثومية وبلغت 10/4 (%40)، كما تمكن أيضاً من عزل مسببات أخرى مثل *Escherichia coli* و *Bacillus spp.* و *Pseudomonas aeruginosa* و *coliform* ولكن بنسب أقل. وفي دراسة أخرى أجراها الباحث (Kiełbowicz *et al.*, 2015) شملت عينات مأخوذة من ملتحمة العين لقطط سليمة وقطط مصابة بالتهاب الملتحمة conjunctivitis ووجد أن نسبة المكورات العنقودية الذهبية كانت مرتفعة جداً في القطط المصابة وبلغت 36/24 (%66.7) في حين كانت نسبة العزل من القطط السليمة 36/17 (%47.2)، مما يدل بوضوح على أن المكورات العنقودية الذهبية تستوطن الأغشية المخاطية للعين ثم تزداد إمكانية قابليتها على إحداث الإصابة أو انتقالها إلى الإنسان الملمس للقطط المصابة بشكل مباشر أو غير مباشر. وفي هذه الدراسة كان الزرع على الأوساط الانتخابية مثل وسط سكر المانيتول والملح MSA الدور الكبير في تشخيص عزلات المكورات العنقودية الذهبية وكذلك تأكيد وجود MRSA من خلال الزرع على وسط الكروموجين الخاص بها (Cengiz *et al.*, 2023; Markey *et al.*, 2013).

وأثبتت دراسات متعددة دور العوامل المرضية مثل الإصابات الفايروسيّة والإصابة بالمايكوبلازمـا *Mycoplasma spp.* والمسبّبات الأخرى كالجروح الناجمة عن الصراع بين القطط في حدوث إصابات العين وتطورها على نحو كبير لتشمل أجزاء واسعة من العين مما قد يؤدي إلى تضررها بشكل جزئي أو فقدان وظيفتها بشكل كامل ؛ إذ تلعب الإصابة الفايروسيّة دوراً أساسياً في تثبيط المناعة وتقليل عدد كريات الدم البيضاء المسؤولة على نحو مباشر عن حماية الجسم فضلاً عن تحطيم الأنسجة الرخوة soft tissues، ؛ إذ تعد الإصابة بفايروسات feline herpes virus (FHV) و feline panleukopenia virus (FPV) من أهم الإصابات الفايروسيّة التي تصيب القطط وتمهد لإصابات العين الجرثوميّة (Weese *et al.*, 2015; Zenad and Radhy, 2023). كما تعد إصابة العين بالكلاميديـا *Chlamydophila felis* (Mazdarani *et al.*, 2021; Hartmann *et al.*, 2010; Espínolaz and Lilenbaum, 1996) والمايكوبلازمـا *Mycoplasma spp.* . من العوامل الممهدـة للإصابات الجرثومـية (Radhy, 2023; Dishow *et al.*, 2023) جانب آخر تلعب الرعاية الصحـية ونوع الأغذـية المقدـمة للقطـط دورـاً مهـماً في تسهـيل حدـوث إصابـات العـين فـالـأـغـذـيةـ الـمـلـوـثـةـ وـوـضـعـ القـطـطـ فـيـ أـقـافـاصـ تـرـبـيـةـ ضـيـقةـ معـ إـهـمـالـ اـسـتـبـدـالـ الفـرـشـةـ كلـهاـ تـعـدـ عـوـامـلـ خـطـورـةـ risk factors تـزـيدـ مـنـ اـحـتمـالـيـةـ إـصـابـةـ العـينـ بـالـمـلـوـثـاتـ الـجـرـثـومـيـةـ المختلفة (Febler *et al.*, 2022; Ruiz-Ripa *et al.*, 2021; Morris *et al.*, 2006).

كما وأظهرت النتائج أن نسبة الجراثيم التي عزلت من الذكور كانت أعلى وبلغت 41/23 (%) 56.1 في حين بلغت 18/43 (43.9%) في إناث القطط التي تم فحصها، وأن القطط ذات العمر ≤ 6 أشهر أكثر عرضة للإصابة بالتهابات العين الجرثوميّة وسجلت 41/29 (70.7%) من القطط ≥ 6 أشهر التي سجلت 41/12 (29.3%). إن سلوك القطط والอายـمـ يـعـدـ منـ العـوـامـلـ التيـ تـزـيدـ مـنـ خـطـورـةـ الإـصـابـةـ بـالـتـهـابـاتـ العـينـ الـجـرـثـومـيـةـ،ـ ؛ـ إذـ إنـ وـضـعـ أـكـثـرـ مـنـ ذـكـرـقـطـ فـيـ مـكـانـ ضـيقـ يـزـيدـ مـنـ فـرـصـةـ التـنـافـسـ بـيـنـهـاـ وـكـذـلـكـ فـأـنـ الـأـعـمـارـ الـكـبـيرـةـ تـكـوـنـ لـدـيـهـاـ اـسـتـقـلـالـيـةـ أـكـثـرـ مـنـ القـطـطـ الصـغـيرـةـ وـبـذـلـكـ تـكـوـنـ مـعـرـضـةـ لـلـتـصـادـمـ مـعـ باـقـيـ القـطـطـ ماـ يـزـيدـ مـنـ فـرـصـةـ الإـصـابـةـ بـالـعـينـ وـنـطـورـهـاـ إـلـىـ التـهـابـاتـ جـرـثـومـيـةـ،ـ تـأـتـيـ هـذـهـ النـتـائـجـ عـلـىـ خـلـافـ مـاـ وـجـدـهـ (Radhy, 2023) ؛ـ إذـ سـجـلـ الـإـصـابـاتـ فـيـ الإنـاثـ 40/11 (27.5%) اـعـلـىـ مـنـ الذـكـورـ 6/40 (15%).ـ وـ القـطـطـ بـعـمرـ أـكـبـرـ مـنـ 4ـ سـنـوـاتـ 6/40 (15%)ـ أـقـلـ نـسـبـةـ إـصـابـةـ مـنـ القـطـطـ بـعـمرـ أـقـلـ مـنـ سـنـةـ 11/40 (27.5%).ـ فـيـ حـيـنـ لـمـ يـسـجـلـ (Cengiz *et al.*, 2023)ـ أيـ فـرـقـ مـعـنـوـيـ بـيـنـ الـعـمـرـ وـالـإـصـابـةـ بـأـنـوـاعـ الـجـرـاثـيمـ المـخـلـفـةـ أـثـنـاءـ درـاستـهـ لـمـسـبـبـاتـ إـصـابـةـ العـينـ الـجـرـثـومـيـةـ.

أما نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية والخاص بعزلات المكورات العنقودية الذهبية فقد أظهرت تطوراً واضحاً للمقاومة ضد العديد من المضادات الحيوية مثل ampicillin, cefotaxime, amoxicillin, gentamycin, methicillin and amikacin ؛ إذ بدأ واضحاً أن إنتاج إنزيم البيتا لاكتام كان أساساً لنتطور المقاومة للعديد من المضادات الحيوية المشتقة من المضاد الحيوي البنسلين وأن المجموعة الفعالة وهي حلقة البيتا لاكتام أصبحت هدفاً لهذه الانزيمات. كما وأن المقاومة للمضاد الحيوي Cefotaxime التي شكلت نسبة مرتفعة 41/32 (%) تضيف خاصية إنتاج إنزيمات البيتا لاكتام واسعة الطيف مما يجعل هذه الجراثيم لها القدرة على مقاومة مختلف أنواع المضادات الحيوية و يجعلها تصنف ضمن الجراثيم متعددة المقاومة للمضادات الحيوية MDR. فقد سجلت عدة دراسات محلية وعالمية خطر تطور المقاومة للمضادات الحيوية وبشكل ملحوظ، فقد أشارت الباحثة (Hussein, 2018) في دراستها إلى أن الجراثيم المعزولة أظهرت تنوعاً كبيراً في حساسيتها للمضادات الحيوية gentamycin, chloramphenicol, enrofloxacin, ciprofloxacin, ampicillin, colistin and co-trimoxazol. مما يشكل عائقاً كبيراً في المقدرة على اختيار المضاد الحيوي المناسب. كما خلصت دراستها على أن استخدام المضاد الحيوي الجهازي systemic antibiotic local antibiotics فقط ، وقد أشار الباحث (Araújo *et al.*, 2024) إلى أن أكثر من 50% من عزلات المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من مختلف الإصابات الجهازية والموضعية وبضمنها إصابات العين كانت مقاومة للبنسلين. كذلك أشار الباحث (Das *et al.*, 2023) إلى أن المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من القطط السليمة ظاهرياً في بنغلادش كانت مقاومة تماماً للعزلات ذات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية MDR مما يدل بوضوح على أن القطط السليمة ظاهرياً تعتبر مصدر اصابة يمكنها نشر الإصابة بهذه الجراثيم إلى باقي الحيوانات التي في محيطها وكذلك الإنسان، وبالتالي فإن زيادة مقاومة المضادات الحيوية ستهدى على نحو كبير من الخيارات المتاحة لعلاج الحالات المرضية الأكثر تعقيداً (Soimala *et al.*, 2020; Ruiz-*et al.*, 2021; Ripa *et al.*, 2021; Rynhoud *et al.*, 2021; Thomson *et al.*, 2022).

وفضلاً عن ذلك، فإن صفة المقاومة التي تمتلكها المكورات العنقودية الذهبية ضد المكورات العنقودية الذهبية تعد ذات أهمية كبيرة في جانب الصحة العامة وأن إنتقال هذه الجراثيم من الحيوانات إلى الإنسان يشكل مصدر تهديد حقيقي له ، و تعد هذه الدراسة الأولى من نوعها للكشف عن

MRSA في إصابات العين في القطط على المستوى المحيطي، فقد أظهرت الدراسة أن 41/19 (%) من العزلات كانت مقاومة methicillin بمعنى أن هذه الجراثيم تصنف على أنها MRSA، وقد أشارت العديد من الدراسات إلى عزل جراثيم MRSA من القطط السليمة والمريضة على حد سواء. فقد أشار الباحث (Maslikov *et al.*, 2019) إلى عزل MRSA من حالات التهاب القرنية والملتحمة القيحى بنسبة 10.21%؛ إذ أوضحت الدراسة العلاقة الوثيقة بين عزلات القطط والعزلات التي تم الحصول عليها من المربين الذين كانوا على صلة قريبة جداً مع قططهم. ومن الجدير بالذكر أنأغلب الدراسات تشير إلى أن عزلات MRSA في القطط هي ذات منشأ بشري human origin، وعليه فإن انتقالها من الإنسان إلى القطط يجعل منها مضيفاً خارناً يمكنها أن تنقل هذه الجراثيم تحت ظروف معينة إلى الإنسان مرة أخرى (Cengiz *et al.*, 2023; Bramble *et al.*, 2011). كما ذكر الباحث (Das *et al.*, 2023) وجود من MRSA ضمن عزلات المكورات العنقودية الذهبية من القطط الأليفة وبنسبة 7.74% ومن أيدي مربيها بنسبة 9.5%. مما يشير إلى مدى خطورتها على الصحة العامة في إطار مفهوم الصحة الواحدة one health التي أكدت عليها جميع المراجع الطبية والبيطرية على حد سواء (Udainiya *et al.*, 2024; Magouras *et al.*, 2020; Becker *et al.*, 2014).

وفيما يخص التشخيص الجزيئي فقد استهدفت الدراسة تشخيص الجينات المسؤولة عن تأكيد العزل الجرثومي للمكورات العنقودية، إذ أظهرت نتائج الفحص الجزيئي باستخدام PCR أن الجراثيم المعزولة تعود *Staphylococcus aureus* وبحجم ناتج 279 bp للجين *nuc* والخاص بتشخيص المكورات العنقودية الذهبية، وهذا يتماشى مع الدراسات الحديثة التي أشارت إلى استخدام تقنية PCR في تشخيص المسببات المرضية ومنها الإصابات الجرثومية؛ إذ توفر هذه التقنية الدقة في التشخيص والسرعة في الكشف عن المسبب المرضي وبذلك تختصر الوقت اللازم لتشخيصه، إذ أشارت عدة دراسات إلى أن الكشف عن الجين *nuc* يعد أساسياً في تشخيص المكورات العنقودية الذهبية (Cengiz *et al.*, 2023; Das *et al.*, 2023; Soimala *et al.*, 2020). كما تم أيضاً الكشف عن الجينات المسؤولة عن الضراوة التي شملت *cifA* و *cifB* و *coa* وبحجم 288 bp و 203 bp و 674 bp، على التوالي؛ إذ كانت أغلب العزلات تحمل عوامل الضراوة الخاصة بعامل التكتل coagulase فضلاً عن إنتاج إنزيم التجلط culmping factor. إن نتائج التشخيص الجزيئي لعوامل الضراوة تأتي بالتوافق مع الفحوصات الكيموحيوية التي إجريت على العزلات مسبقاً وهذا مؤشر خطير يدل على قابلية هذه العزلات وقدرتها على إحداث المرض خصوصاً عند تهيئة الظروف المناسبة لها، فقد أشارت دراسات عددة إلى دور عوامل

الفوارة هذه في إحداث المرض وسجل دور عامل التكتل *clfA* على أنه يسهل من التصاق الجراثيم الغازية ببروتين الدم الفيبرينوجين في حين لاتتوافر دراسات كافية حول دور *clfB* في الإمراضية، أما الكشف عن انزيم التجلط *coa* في عزلات المكورات العنقودية الذهبية فيشير بوضوح إلى القابلية التي تمتلكها هذه الجراثيم في مواجهة دفاعات الجسم بتكوين حاجز بروتيني ناتج من تحول الفيبرينوجين إلى فيبرين الذي يسهم في منع وصول كريات الدم البيضاء إلى موقع الإصابة مما يسهل من دور الجراثيم على الاستعمار والتكاثر (Cheung *et al.*, 2021; Zainulabdeen *et al.*, 2021; Dakl, 2021; Ashraf *et al.*, 2017; Ní Eidhin *et al.*, 1998).

فضلاً عن جينات الفوارة فقد كشف عن الجين *meca* والمُسؤول عن المقاومة للمضاد الحيوي *methicillin* للجين *meca* وبحجم 147 bp. وبعد وجود صفة المقاومة لهذا المضاد الحيوي مهماً للصحة العامة خصوصاً مع الزيادة الكبيرة لانتشار العدوى في الإنسان في الكثير من المرافق الصحية والمستشفيات والناتجة عن الإصابة بجراثيم *MRSA* (González- *et al.*, 2023) (Vázquez *et al.*, 2024; Junaidi *et al.*, 2023; Sohail *et al.*, 2023). وأشارت عدة دراسات محلية أجريت مؤخرًا إلى أن الحيوانات ومنتجاتها الألبان تعد مصدراً مهماً لانتقال *MRSA* (Alkhafaje *et al.*, 2022; Sheet, 2022) وفروج اللحم والأسماك (Taha *et al.*, 2024; Sheet *et al.*, 2023; Hadou and Assafi, 2021; Assafi *et al.*, 2020) وأشارت العديد من الدراسات العالمية إلى خطورة هذه الحيوانات في نقل *MRSA* وسجلت نسب مرتفعة بين تلك الحيوانات ومربيها (Hemeg, 2021; Becker *et al.*, 2014; Bramble *et al.*, 2011; Faires *et al.*, 2009) المكورات العنقودية الذهبية تسجيل *nuc gene* للعزلات الخاصة في بنك الجينات *GenBank* تحت الأرقام PP836109 و PP836110 و PP836111 و PP836112 وكذلك العزلات المقاومة *methicillin* التي تحمل الجين *meca* بالأرقام PQ181562 و PQ181563 و PQ181564 و PQ181561. وحللت شجرة النشوء التطوري *phylogenetic analysis* لمعرفة التباعد والتقارب بين العزلات للجينات المذكورة وقد بينت النتائج أن الجين *nuc* للعزلات الأربع كانت مطابقة 100% لعزلات الإنسان من بلجيكا. وأن تحليل نتائج الجين *meca* أعطت تطابقاً 100% مع عزلات من الإنسان في كل من الصين وأمريكا واليابان ، إن هذا التطابق يدل على أن مصدر النشوء للعزلات من القطط هو من أصل بشري *human type*.

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

**Conclusions and
Recommendations**

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

1- الاستنتاجات Conclusions

- 1- إن إصابات العين الجرثومية في القطط تعد مهمة؛ لأنها تؤثر مباشرة في صحة القطط. حيث أظهرت الدراسة أن *Staphylococcus aureus* هي أكثر الجراثيم المسئولة لالتهابات العين في القطط.
- 2- وجود صفة المقاومة في الكثير من عزلات المكورات ولاسيما للمضادات الحيوية Ampicillin Cefotaxime, Gentamycin, Amoxicillin, methicillin and .Amikacin
- 3- كشف عن جينات الضراوة *clfA* و *clfB* و *coa* فضلاً عن الجين *mecA* المسؤول عن المقاومة methicillin ولأول مرة في عزلات المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات التهابات العين في القطط.
- 4- إن العزلات التي أودعت في بنك الجينات كانت مطابقة لعزلات الإنسان مما يعني أن إمكانية انتقالها من القطط إلى الإنسان قد يشكل عامل خطورة على الصحة العامة.

6-2: التوصيات Recommendations

- 1-أخذ الاحتياطات اللازمة وخصوصاً عند التعامل مع القطط المنزلية المصابة بالتهابات العين مثل عزل القطط المصابة وتعقيم الأيدي بعد ملامستها.
- 2-نشر التوعية لمرببي القطط بمخاطر الاصابات الجرثومية للعين في القطط المنزلية لما له من دور سلبي في انتقال العدوى للإنسان واحتمالية انتشار صفة المقاومة بين الجراثيم وظهور سلالات جديدة مقاومة لما هو متوافر من المضادات الحيوية.
- 3-الحد من استعمال المضادات الحيوية وبشكل مفرط في علاج إصابات العين الجرثومية في القطط ولاسيما التي أظهرت مقاومة مرتفعة وضرورة إجراء فحص الحساسية للعزلات الجرثومية قبل إعطاء العلاج من أجل اختيار المضاد الحيوي المناسب.
- 4-إجراء المزيد من الدراسات حول الجراثيم الأخرى والمسببة لالتهابات العين في القطط.

المصادر

References

المصادر

References

- Abdullahi, I. N., Zarazaga, M., Campaña-Burguet, A., Eguizábal, P., Lozano, C., and Torres, C. (2022). Nasal *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* carriage in healthy dogs and cats: a systematic review of their antibiotic resistance, virulence and genetic lineages of zoonotic relevance. *Journal of Applied Microbiology*, 133(6), 3368-3390.
- Adame-Gómez, R., Castro-Alarcón, N., Vences-Velázquez, A., Toribio-Jiménez, J., Pérez-Valdespino, A., Leyva-Vázquez, M.-A., and Ramírez-Peralta, A. (2020). Genetic diversity and virulence factors of *S. aureus* isolated from food, humans, and animals. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 1048097.
- Ahmad-Mansour, N., Loubet, P., Pouget, C., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., Lavigne, J.-P., and Molle, V. (2021). *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. *Toxins*, 13(10): 677.
- Ahmed, I. M., Aldabbagh, S. Y., and Jwher, D. M. (2021). Molecular characterization of extended spectrum cephalosporin resistant *Escherichia coli* isolated from dogs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(3): 473-478.
- Ahmed, Z. A., and Yousif, A. A. (2021). Molecular and phylogenetic analysis of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical mastitis in lactating ewes. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 35(Supplement I-III): 121-126.
- Aldrich, J.O. (2019). Using IBM SPSS statistics. 3rd ed. United Stated of America, SAGE Publication, Inc.
- Alkhafaje, W. K., Olama, Z. A., and Ali, S. M. (2022). Molecular characterization and microbial resistance of different bacterial isolates in some dairy products. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 36(2): 333-339.
- Al-Naseri, J. S. A., and Al-Shammary, A. H. A. (2020). Deciphered entity of extended spectrum beta lactamase resistant *Staphylococcus*

- aureus* (ES β L) from cows mastitis raw milk ecosystem in Baghdad Iraq. *Plant Archives*, 20(2): 1-20.
- Araújo, D., Oliveira, R., Silva, B., Castro, J., Ramos, C., Matos, F., . . . Silva, S. (2024). Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus* spp. isolated from clinical specimens of companion animals in Northern Portugal, 2021-2023. *The Veterinary Journal*. 106153.
- Ashraf, S., Cheng, J., and Zhao, X. (2017). Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* interacts with AnnexinA2 on mammary epithelial cells. *Scientific Reports*. 7(1): 40608.
- Assafi, M. S., Hado, H. A., and Abdulrahman, I. S. (2020). Detection of methicillin-resistant and *Staphylococcus aureus* in broiler and broilers farm workers in Duhok, Iraq by using conventional and PCR techniques. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 34(1): 15-22.
- Baran, A., Oz, C., Cengiz, S., and Adiguzel, M. C. J. P. V. B. (2022). Genomic characterization, antimicrobial resistance profiles, enterotoxin, and biofilm production of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and animal products origins in Eastern Turkey. 42, e06991.
- Batabyal, B., Kundu, G. K., and Biswas, S. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review. *International research journal of biological sciences*, 1(7): 65-71.
- Becker, K., Ballhausen, B., Köck, R., and Kriegeskorte, A. (2014). Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: the “mec alphabet” with specific consideration of mecC, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(7): 794-804.
- Bhat, A. H. (2021). Bacterial zoonoses transmitted by household pets and as reservoirs of antimicrobial resistant bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 155, 104891.
- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K., and Rypyła, K. (2014). Cats and dogs as a reservoir for *Staphylococcus aureus*. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczałnej*, 68, 992-997.

- Bierowiec, K., Płoneczka-Janeczko, K., and Rypuła, K. (2016). Is the colonisation of *Staphylococcus aureus* in pets associated with their close contact with owners? *PLoS One*, 11(5), e0156052.
- Bitrus, A., Peter, O., Abbas, M., Goni, M., and Reviews. (2018). *Staphylococcus aureus*: A review of antimicrobial resistance mechanisms. *Journal of Veterinary Sciences: Research*, 4(2): 43-54.
- Bloemendaal, A. L., Brouwer, E. C., and Fluit, A. C. (2010). Methicillin resistance transfer from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a patient during antibiotic therapy. *PloS One*, 5(7), e11841.
- Bramble, M., Morris, D., Tolomeo, P., and Lautenbach, E. (2011). Potential role of pet animals in household transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a narrative review. *Vector-Borne.Zoonotic Diseases*, 11(6): 617-620.
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S. and Mietzner, T. (2015). *Jawetz, Melnick, Adelberg Medical Microbiology*: Placebo doo.
- Cengiz, S., Okur, S., Oz, C., Turgut, F., Gumurcinler, B., Sevuk, N. S., . . . Adiguzel, M. C. (2023). Prevalence and clonal diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats with eye discharge. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 70(2), 134-141.
- Chambers, H. F. (2001). The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerging Infectious Diseases*, 7(2): 178.
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., and Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1): 547-569.
- Cong, Y., Yang, S., and Rao, X. (2020). Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. *Journal of advanced research*, 21:169-176.
- Darden, J. E., Scott, E. M., Arnold, C., Scallan, E. M., Simon, B. T., and Suchodolski, J. (2019). Evaluation of the bacterial ocular surface microbiome in clinically normal cats before and after treatment with topical erythromycin. *PLoS One*, 14(10): e0223859.

- Das, S., Kabir, A., Chouhan, C. S., Shahid, M. A. H., Habib, T., Kobir, M. A., . . . Nazir, K. N. H. (2023). Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from apparently healthy pet cats of Bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary Animal Research*, 10(3): 545.
- Dishow, M. H., Alsarhan, Q. T., and Al-Naqshabendy, A. A. (2023). Prevalence of feline panleukopenia virus in cats in Duhok Province, Iraq. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 54(5):917-926.
- Dishow, M. H., Alsarhan, Q. T., and Al-Naqshabendy, A. A. (2024). Molecular diagnosis, risk factors and phylogenetic analysis of feline panleukopenia virus in cats in Duhok Province, Iraq. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 55(7):1921-1931.
- Ekkelenkamp, M. B., Rooijakers, S. H., and Bonten, M. J. (2010). Staphylococci and micrococci. In *Infectious Diseases* (pp. 1632-1644): Elsevier.
- Elmenshawy, Y. M., Ali, K. M., and Samir, A. (2021). Current Evidence of Coryneform Bacteria on the Ocular Surface of Immunocompromised Cats. *Journal of Applied Veterinary Sciences*
- Espínolaz, M., and Lilienbaum, W. (1996). Prevalence of bacteria in the conjunctival sac and on the eyelid margin of clinically normal cats. *Journal of Small Animal Practice*, 37(8): 364-366.
- Faires, M. C., Tater, K. C., and Weese, J. S. (2009). An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(5): 540-543.
- Febler, A. T., Scholtzek, A. D., Schug, A. R., Kohn, B., Weingart, C., Schink, A.-K., . . . Schwarz, S. J. A. (2022). Antimicrobial and biocide resistance among feline and canine *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from diagnostic submissions. *Antibiotics*, 11(2): 127.
- Fong, R., Kajihara, K., Chen, M., Hotzel, I., Mariathasan, S., Hazenbos, W. L., and Lupardus, P. J. (2018). *Structural investigation of human*

- S. aureus*-targeting antibodies that bind wall teichoic acid. Paper presented at the MAbs. 10(7):979–991.
- Freeman-Cook, L., Freeman-Cook, K. D., Freeman, K. D., and Alcamo, I. E. (2006). *Staphylococcus aureus* infections: Infobase publishing.
- González-Martín, M., Corbera, J. A., Suárez-Bonnet, A., and Tejedor-Junco, M. T. (2020). Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Quarterly*, 40(1): 118-131.
- González-Vázquez, R., Córdova-Espinoza, M. G., Escamilla-Gutiérrez, A., Herrera-Cuevas, M. d. R., González-Vázquez, R., Esquivel-Campos, A. L., . . . Mendoza-Pérez, F. (2024). Detection of mecA Genes in Hospital-Acquired MRSA and SOSA Strains Associated with Biofilm Formation. *Pathogens*, 13(3): 212.
- Gordon, R. J., and Lowy, F. D. (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical infectious diseases*, 46(Supplement_5): S350-S359.
- Gulzar, M., and Zehra, A. (2018). *Staphylococcus aureus*: A brief review. *International Journal of Veterinary Science*, 4(1):020-022.
- Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., and Penadés, J. R. J. M. s. (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals. 7(3): 10.1128/microbiolspec. gpp1123-0060-2019
- Hado, H. A., and Assafi, M. S. (2021). Molecular fingerprinting of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and poultry in Duhok, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(1): 99-103.
- Hamdan, A. K., and Al-Baroodi, S. Y. (2022). Molecular investigation of feline calicivirus in cats in Mosul city, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(3): 731-735.
- Hartmann, A. D., Hawley, J., Werckenthin, C., Lappin, M. R., Hartmann, K., and Surgery. (2010). Detection of bacterial and viral organisms from the conjunctiva of cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease. *Journal of Feline Medicine*, 12(10): 775-782.

- Hemeg, H. A. (2021). Determination of phylogenetic relationships among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* recovered from infected humans and companion animals. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4): 2098-2101.
- Howden, B. P., Giulieri, S. G., Wong Fok Lung, T., Baines, S. L., Sharkey, L. K., Lee, J. Y., . . . Stinear, T. P. (2023). *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*, 21(6):380-395.
- Hryniwicz, M. M., and Garbacz, K. (2017). Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA)—a more common problem than expected? *Journal of medical microbiology*, 66(10) :1367-1373.
- Hu, C., Xiong, N., Zhang, Y., Rayner, S., and Chen, S. (2012). Functional characterization of lipase in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. *Biochemical biophysical research communications*, 419(4) :617-620.
- Hu, D. L., Wang, L., Fang, R., Okamura, M., and Ono, H. K. (2018). *Staphylococcus aureus* enterotoxins. In *Staphylococcus aureus* (pp. 39-55). Academic Press.
- Hussein, S. A. (2018). Bacterial eye infection of cats. *Multi-Knowledge Electronic Comprehensive Journal for Education and Science Publications* (11): 611-622.
- Ibrahim, H. M., and Eldirdiri, A. M. (2019). Studies on Hyaluronidase Extracted from *Staphylococcus aureus* Isolated in Khartoum/Sudan. *Journal of Applied Sciences*, 19(3): 252-256.
- Ibrahim, O. O. (2020). *Staphylococcus aureus* a gram-positive coccid bacterium causing microbial infections, and toxins symptoms including food poisoning. *Microbiology spectrum*, 16, 61-76.
- Junaidi, N. S. S. A., Shakrin, N. N. S. M., Desa, M. N. M., and Yunus, W. M. Z. W. (2023). Dissemination Pattern of Hospital-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Community-Acquired MRSA Isolates from Malaysian Hospitals: A Review from a Molecular Perspective. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 30(2): 26.

- Kiełbowicz, Z., Płoneczka-Janeczko, K., Bania, J., Bierowiec, K., and Kiełbowicz, M. (2015). Characteristics of the bacterial flora in the conjunctival sac of cats from Poland. *Journal of Small Animal Practice*, 56(3): 203-206.
- Köck, R., Ballhausen, B., Bischoff, M., Cuny, C., Eckmanns, T., Fetsch, A., . Schwarz, S. (2014). The impact of zoonotic MRSA colonization and infection in Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 127(9-10): 384-398.
- Kwiecinski, J., Peetermans, M., Liesenborghs, L., Na, M., Björnsdottir, H., Zhu, X., ... Jin, T. (2016). Staphylokinase control of *Staphylococcus aureus* biofilm formation and detachment through host plasminogen activation. *Journal of Infectious Diseases*, 213(1): 139–148.
- Li, Z. (2018). A review of *Staphylococcus aureus* and the emergence of drug-resistant problem. *Advances in Microbiology*, 8(1): 65-76.
- Lin, C. T., and Petersen-Jones, S. (2008). Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from cats with ulcerative keratitis in Taiwan. *Journal of Small Animal Practice*, 49(2): 80-83.
- Liu, G. Y., Essex, A., Buchanan, J. T., Datta, V., Hoffman, H. M., Bastian, J. F., . . . Nizet, V. (2005). *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(2): 209-215.
- Loncaric, I., Tichy, A., Handler, S., Szostak, M. P., Tickert, M., Diab-Elschahawi, M., . . . Künzel, F. (2019). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* sp.(MRS) in different companion animals and determination of risk factors for colonization with MRS. *Antibiotics*, 8(2): 36.
- Magouras, I., Brookes, V. J., Jori, F., Martin, A., Pfeiffer, D. U., and Dürr, S. (2020). Emerging zoonotic diseases: Should we rethink the animal–human interface? *Frontiers in Veterinary Science*, 7: 582743.
- Mahmood, F. R., and Ahmed, I. M. (2021). Multi-drug resistance profile of extended spectrum β-Lactamases producing *Escherichia coli*

- isolated from sheep in Mosul city. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* 35(Supplement II,): 37-40.
- Mahmood, F. R., and Ahmed, I. M. (2022). Phenotypic characterization and antibiogram of extended spectrum β -lactamase (ESBL)/AmpC-producing *Escherichia coli* isolated from sheep. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(2): 303-307.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., and Maguire, D. (2013). Clinical Veterinary Microbiology E-Book: Clinical Veterinary Microbiology E-Book: Elsevier Health Sciences.
- Maslikov, S., Bely, D., Samoiliuk, V., Vakulik, V., and Spitsyna, T. (2019). Pathogenetic role of *Staphylococcus aureus* in purulent keratoconjunctivitis in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(4): 507-512.
- Mazdarani, S., Gharamaleki, M. N., and Khakhpour, M. (2021). Evaluation of oral microbial flora and conjunctiva of cats who are suffering upper respiratory system symptoms in Tabriz. *Express Medical Letters*, 2021, 1-10.
- Melnick, J., Brooks, G., Carroll, K. C., and Butel, J. S. (2007). Medical microbiology: The McGraw-Hill Companies.
- Mills, E. P., Liu, C. C., Mironovich, M. A., Taylor, C. M., Luo, M., Emelogu, U., . . . Camacho-Luna, P. (2024). Relationship between the bacterial ocular surface microbiota and outcomes for cats with feline herpesvirus type 1 ocular surface disease. *Veterinary Ophthalmology*, 27(4): 318-329.
- Morris, D. O., Rook, K. A., Shofer, F. S., and Rankin, S. C. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Veterinary Dermatology*, 17(5): 332-337.
- Morris, D. O., Loeffler, A., Davis, M. F., Guardabassi, L., and Weese, J. S. (2017). Recommendations for approaches to meticillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures. *Clinical Consensus*

- Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 28(3): 304-e369.
- Mustafa, H. S. I. (2014). *Staphylococcus aureus* can produce catalase enzyme when adding to human WBCs as a source of H₂O₂ productions in human plasma or serum in the laboratory. *Open Journal of Medical Microbiology*, 4(04): 249.
- Naber, C. K. (2009). *Staphylococcus aureus* bacteremia: epidemiology, pathophysiology, and management strategies. *Clinical infectious diseases*, 48(Supplement-4): S231-S237.
- Nanra, J. S., Buitrago, S. M., Crawford, S., Ng, J., Fink, P. S., Hawkins, J., Cooper, D. (2013). Capsular polysaccharides are an important immune evasion mechanism for *Staphylococcus aureus*. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 9(3): 480-487.
- Nguyen, L. T., and Vogel, H. J. (2016). Staphylokinase has distinct modes of interaction with antimicrobial peptides, modulating its plasminogen-activation properties. *Scientific Reports*, 6(July): 1–13.
- Ní Eidhin, D., Perkins, S., Francois, P., Vaudaux, P., Höök, M., and Foster, T. J. J. M. m. (1998). Clumping factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus*. *30(2)*: 245-257.
- Oliveira, E. M., Carvalho, A. R., Ferreira, A. M., Moura, L. K., Valle, A. R., Freitas, D. R., and Moura, M. E. (2021). Colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among healthcare students: an integrative review. *Sao Paulo Medical Journal*, 139(6), 607-614.
- Ollivier, F. J. (2003). Bacterial corneal diseases in dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18(3): 193-198.
- Palma, M. (2020). Fibrinogen-binding proteins from *Staphylococcus aureus*: Inst för laboratoriemedicin/Dept of Laboratory Medicine.
- Papadopoulos, P., Papadopoulos, T., Angelidis, A. S., Boukouvala, E., Zdragas, A., Papa, A., . . . Sergelidis, D. (2018). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and of methicillin-resistant *S. aureus*

- (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. *Food Microbiology*, 69: 43-50.
- Parisi, A., Caruso, M., Normanno, G., Latorre, L., Sottili, R., Miccolupo, A., . . . Santagada, G. (2016). Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bulk tank milk from southern Italy. *Food Microbiology*, 58: 36-42.
- Peetermans, M., Vanassche, T., Liesenborghs, L., Claes, J., Velde, G. Vande, Kwiecinski, J., ... Verhamme, P. (2014). Plasminogen activation by staphylokinase enhances local spreading of *S. aureus* in skin infections. *BMC Microbiology*, 14(1): 1–12.
- Percy, M. G., and Gründling, A. (2014). Lipoteichoic acid synthesis and function in grampositive bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 68: 81–100.
- Pérez-Montarelo, D., Viedma, E., Murcia, M., Muñoz-Gallego, I., Larrosa, N., Brañas, P., . . . Chaves, F. (2017). Pathogenic characteristics of *Staphylococcus aureus* endovascular infection isolates from different clonal complexes. *Frontiers in Microbiology*, 8 :917.
- Pietrocola, G., Nobile, G., Rindi, S., and Speziale, P. (2017). *Staphylococcus aureus* Manipulates Innate Immunity through Own and Host-Expressed Proteases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(May): 1–15.
- Plata, K., Rosato, A., and Węgrzyn, G. (2009). *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica*, 56(4) :597-612.
- Prevost, G., Cribier, B., Couppie, P., Petiau, P., Supersac, G., Finck-Barbançon, V., . . . Piemont, Y. (1995). Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infection Immunity*, 63(10): 4121-4129.
- Quimby, J., Gowland, S., Carney, H. C., DePorter, T., Plummer, P., and Westrop, J. (2021). 2021 AAHA/AAFP feline life stage guidelines. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 23(3): 211-233.

- Radhy, A. (2023). Detection of Some Causes of Feline Eye Infections in Baghdad City. *Archives of Razi Institute*, 78(1) :25-29.
- Rahimee, I. and Azeemi, M.Z.(2020). Polymerase chain reaction. International Journal of Research in Biology and Pharmacy. 6(1):1-8
- Rahman, M., Amin, K., Rahman, S., Khair, A., Rahman, M., Hossain, A., and Alam, M. (2018). Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among clinical isolates from humans and animals by culture methods and multiplex PCR. *BMC veterinary research*, 14:1-6.
- Rich, M. (2005). Staphylococci in animals: prevalence, identification and antimicrobial susceptibility, with an emphasis on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *British Journal of Biomedical Science*, 62(2): 98-105.
- Richardson, E. J., Bacigalupe, R., Harrison, E. M., Weinert, L. A., Lycett, S., Vrieling, M., . . . Fitzgerald, J. R. (2018). Gene exchange drives the ecological success of a multi-host bacterial pathogen. *Nature Ecology and Evolution*, 2(9): 1468-1478.
- Ricklin, D., Hajishengallis, G., Yang, K., and Lambris, J. D. (2010). Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature Immunology*, 11(9): 785.
- Ruiz-Ripa, L., Simón, C., Ceballos, S., Ortega, C., Zarazaga, M., Torres, C., and Gómez-Sanz, E. (2021). *S. pseudintermedius* and *S. aureus* lineages with transmission ability circulate as causative agents of infections in pets for years. *BMC Veterinary Research*, 17: 1-10.
- Rynhoud, H., Meler, E., Gibson, J. S., Price, R., Maguire, T., Farry, T., . . . Magalhães, R. J. S. (2021). Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus* species carriage in companion animals in the Greater Brisbane Area, Australia. *Research in Veterinary Science*, 136: 138-142.
- Sayhood, M. H., Mohammed, A. L., Abdulhameed, M. F., and Jori, M. M. (2022). Classical and molecular identification of *Staphylococcus aureus* isolated from infestation cattle wounds with myiasis in

- Basrah governorate, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(3): 641-646.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., and Barker, G. C. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6): 580-592.
- Sheehan, A. A. A., Khudor, M. H., and Isihak, F. A. (2022). Some immunological responses in rats injected with prepared bacterin toxoid of local methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(2): 401-406.
- Sheet, O. H. (2022). Molecular detection of *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dairy mastitis in Nineveh governorate, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(4): 939-943.
- Sheet, O. H., Hussein, S. A., and Al-Chalaby, A. Y. (2021). Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from broiler carcasses in Mosul city. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 35(3): 489-493.
- Sheet, O. H., Al-Mahmood, O. A., Othamn, S. M., Al-Sanjary, R. A., Alsabawi, A. H., and Abdulhak, A. A. (2023). Detection of positive *mecA* *Staphylococcus aureus* isolated from meat and butchers' shops by using PCR technique in Mosul city *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(4), 865-870.
- Sing, A., Tuschak, C., and Hörmansdorfer, S. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a family and its pet cat. *New England Journal of Medicine*, 358(11): 1200-1201.
- Singh, V., and Phukan, U. J. (2019). Interaction of host and *Staphylococcus aureus* protease-system regulates virulence and pathogenicity. *Medical Microbiology and Immunology*, 208: 585-607.
- Sohail, M., Muzzammil, M., Ahmad, M., Rehman, S., Garout, M., Khojah, T. M., . . . Alibrahim, H. I. (2023). Molecular characterization of community-and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates during COVID-19 pandemic. *Antibiotics*, 12(1), 157.

- Soimala, T., Lübke-Becker, A., Hanke, D., Eichhorn, I., Feßler, A. T., Schwarz, S., and Eule, J. C. (2020). Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from ocular surfaces of dogs and cats suffering from ophthalmological diseases. *Veterinary Microbiology*, 244, 108687.
- Subhash, C. P. (2012). Microbiology and Immunology Textbook of 2nd Edition. ELSEVIER.
- McAdow, M., Missiakas, D. M., and Schneewind, O. (2012). *Staphylococcus aureus* secretes coagulase and von Willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections. *Journal of Innate Immunity*, 4(2), 141–148.
- Suepaul, S., Georges, K., Unakal, C., Boyen, F., Sookhoo, J., Ashraph, K., . . . Butaye, P. J. P. O. (2021). Determination of the frequency, species distribution and antimicrobial resistance of staphylococci isolated from dogs and their owners in Trinidad. *PLoS One*, 16(7): e0254048.
- Suter, A., Voelter, K., Hartnack, S., Spiess, B. M., and Pot, S. A. (2018). Septic keratitis in dogs, cats, and horses in Switzerland: associated bacteria and antibiotic susceptibility. *Veterinary Ophthalmology*, 21(1): 66-75.
- Taha, A. H., Al-Mahmood, O. A., Sheet, O. H., Hamed, A. A., Al-Sanjary, R. A., and Abdulmawjood, A. A. (2024). Molecular detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from local fish in Mosul city *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 38(2):437-441.
- Teo, J. W., Kum, S., Jureen, R., and Lin, R. T. (2015). Molecular characterization of a catalase-negative *Staphylococcus aureus* blood culture isolate. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(11), :3699-3701.
- Thomson, P., García, P., Miles, J., Isla, D., Yáñez, C., Santibáñez, R., . . . Cuadra, F. (2022). Isolation and identification of *Staphylococcus* species obtained from healthy companion animals and humans. *Veterinary Sciences*, 9(2) cats 79.
- Udainiya, S., Tiwari, A., Mishra, A., and Dubey, A. (2024). One Health approach of infectious diseases of dogs and cats. In *Introduction to*

- Diseases, Diagnosis, and Management of Dogs and Cats (pp. 587-595). Academic Press.
- Umar, A., Garba, I., and Ganau, A. (2023). Evaluation of cefoxitin disc diffusion and chromogenic agar in the detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *South Asian Journal of Research in Microbiology*, 15(1), 20-26.
- Van Duijkeren, E., Kamphuis, M., Van der Mije, I., Laarhoven, L., Duim, B., Wagenaar, J., and Houwers, D. (2011). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4): 338-343.
- van Kessel, K. P. M., Bestebroer, J., and van Strijp, J. A. G. (2014). Neutrophil-mediated phagocytosis of *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Immunology*, 5, 467.
- Wayne, P. A. (2017). CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *CLSI Document Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): Wayne, PA, USA*.
- Weese, J. S., Dick, H., Willey, B. M., McGeer, A., Kreiswirth, B. N., Innis, B., and Low, D. E. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary Microbiology*, 115(1-3): 148-155.
- Weese, S. J., Nichols, J., Jalali, M., and Litster, A. (2015). The oral and conjunctival microbiotas in cats with and without feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Research*, 46, 1-11.
- Whitley, R. D. (2000). Canine and feline primary ocular bacterial infections. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 30(5), 1151-1167.
- Zainulabdeen, S. M., and Dakl, A. A. A. (2021). Pathogenicity and virulence factors in *Staphylococcus aureus*. *MJPS*, 8(52113), 2.

- Zecconi, A., and Scali, F. (2013). *Staphylococcus aureus* virulence factors in evasion from innate immune defenses in human and animal diseases. *Immunology Letters*, 150(1-2): 12-22.
- Zenad, M. M., and Radhy, A. M. (2020). Clinical, serological and antigenic study of feline panleukopenia virus in cats in Baghdad, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(2): 435-439.

الملحق**Appendices****الملحق 1 : كتاب الموافقة الخاصة بأخلاقيات البحث العلمي**

**University of Mosul
College of Veterinary Medicine
Institutional Animal Care and Use Committee**



Date: 4/12/2023

Ref: UM.VET.2024.016

Project title: Isolation and molecular diagnosis of bacterial eye infections in domestic cats

Researchers: Ihsan Muneer Ahmed and Nagham Duraid Najm

Number of approved animals: 100

Research area: Private clinic/ Department of Microbiology / College of Veterinary Medicine /Mosul University

Duration: 4/12/2023 — 8/4/2024

Assistant. Prof. Dr. Ahmed Salah Naser

Chairman,

Institutional Animal Care and Use Committee

University of Mosul. College of Veterinary Medicine

Vet.med.mosul@uomosul.edu.iq



الملحق 2 : إستمارة إستبيان عن القطط الأليفة



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري
فرع الاحياء المجهرية

إستمارة إستبيان عن القطط الأليفة

رقم الحالة:

اسم العيادة:

التاريخ:

1- النوع : مستورد محلي

2- الجنس: انثى ذكر

3- الفئة العمرية : 6 أشهر ≥ ≤ 6 أشهر

4- وقت الإصابة: متكررة حديثة

5- نوع إصابة العين: أحادية ثانية

6- شدة الإصابة: شديدة خفيفة

الملحق 3 : نتائج المحاذة المتعدد للتابع الجيني لـ *nuc* للمكورات العنقودية الذهبية للعزلات المحلية للمكورات العنقودية الذهبية، PP836109, PP836110، مع باقي العزلات المسجلة في بنك الجينات PP836111, PP836112 .GenBank

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

CP140694-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140691-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140689-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140690-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140695-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
PP836109-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
PP836110-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
PP836111-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
PP836112-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140702-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140701-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140700-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140703-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140698-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140699-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
CP140696-Staphylococcus GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAA
*****
```

```

CP140694-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140691-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140689-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140690-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140695-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
PP836109-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
PP836110-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
PP836111-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
PP836112-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140702-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140701-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140700-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140703-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140698-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140699-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
CP140696-Staphylococcus GCATCCTAAAAAAGGTGTAGAGAAATGGTCTGAAGCAAGTCATT
*****
```

```

CP140694-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140691-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140689-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140690-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140695-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
PP836109-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
PP836110-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
PP836111-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
PP836112-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140702-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140701-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140700-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140703-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140698-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140699-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
CP140696-Staphylococcus CGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAGTCGAGTTGACAAA
*****
```

CP140694-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140691-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140689-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140690-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140695-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 PP836109-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 PP836110-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 PP836111-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 PP836112-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140702-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140701-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140700-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140703-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140698-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140699-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA
 CP140696-Staphylococcus GGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTTAGCGTATATTATGCTGA

CP140694-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140691-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140689-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140690-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140695-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 PP836109-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 PP836110-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 PP836111-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 PP836112-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140702-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140701-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140700-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140703-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140698-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140699-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA
 CP140696-Staphylococcus TGGAAAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA

>PP836109-Staphylococcus aureus*

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
 GAGAAATATGGCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
 TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
 AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA

>PP836110-Staphylococcus aureus*

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
 GAGAAATATGGCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
 TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
 AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA

>PP836111-Staphylococcus aureus*

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
 GAGAAATATGGCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
 TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
 AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTTGGCTAAA

>PP836112-Staphylococcus aureus*

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140702-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140701-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140700-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140703-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140698-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140699-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATAACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTGCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140696-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140695-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140694-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140691-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140690-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

>CP140689-Staphylococcus aureus

GGTCAACCAATGACATTAGACTATTGGTTGATACACCTGAAACAAAGCATCCTAAAAAAGGTGTA
GAGAAATATGGTCCTGAAGCAAGTCATTACGAAAAAAATGGTAGAAAATGCAAAGAAAATTGAAG
TCGAGTTGACAAAGGTCAAAGAACTGATAAATATGGACGTGGCTAGCGTATATTATGCTGATGGAA
AAATGGTAAACGAAGCTTAGTCGTCAAGGCTGGCTAAA

الملاحق 4 : نتائج المحاذة المتعدد للتتابع الجيني للعزلات المحلية للجين *mecA* للمكورات العنقودية الذهبية PQ181564, PQ181563, PQ181562، GenBank مع باقي العزلات المسجلة في بنك الجينات PQ181561.

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```
PQ181561-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
PQ181562-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
PQ181563-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
PQ181564-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
KX639007-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
CP163245-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
CP160409-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024298-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024296-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024294-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024293-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024283-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024287-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024285-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024291-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
AP024289-Staphylococcus CAAACAAAAATTAGATAATGAAATATTAGCTGATTCAAGGTTACGGA
*****
```

```
PQ181561-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
PQ181562-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
PQ181563-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
PQ181564-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
KX639007-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
CP163245-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
CP160409-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024298-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024296-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024294-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024293-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024283-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024287-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024285-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024291-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
AP024289-Staphylococcus CAAGGTGAAATACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCATCTATAGCGC
*****
```

```
PQ181561-Staphylococcus ATG
PQ181562-Staphylococcus ATG
PQ181563-Staphylococcus ATG
PQ181564-Staphylococcus ATG
KX639007-Staphylococcus AT-
CP163245-Staphylococcus AT-
CP160409-Staphylococcus AT-
AP024298-Staphylococcus AT-
AP024296-Staphylococcus AT-
AP024294-Staphylococcus AT-
AP024293-Staphylococcus AT-
AP024283-Staphylococcus AT-
AP024287-Staphylococcus AT-
AP024285-Staphylococcus AT-
AP024291-Staphylococcus AT-
AP024289-Staphylococcus AT-
**
```

>PQ181561-Staphylococcus aureus*

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCATG

>PQ181562-Staphylococcus aureus*

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCATG

>PQ181563-Staphylococcus aureus*

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCATG

>PQ181564-Staphylococcus aureus*

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCATG

>KX639007-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>CP163245-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>CP160409-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024298-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024296-Staphylococcus aureus

aureusCAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGT
GAAA TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024294-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024293-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024291-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024289-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024287-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024285-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

>AP024283-Staphylococcus aureus

CAAACAAAATTAGATAATGAAATATTATTAGCTGATTCAAGGTACGGACAAGGTGAAA
TACTGATTAACCCAGTACAGATCCTTCAATCTATAGCGCAT

Abstract

Domestic cats are exposed to many infections and pathogens, including bacterial eye infections that can cause severe damage to infected cats. Among the important bacterial infections, *Staphylococcus aureus* is considered one of the most important bacterial infections that affect the eye in cats. Accordingly, this study aimed to isolate *Staphylococcus aureus* from eye infections in domestic cats in Mosul city and characterise it using standard bacteriological methods including bacterial isolation on culture media and antibiotic sensitivity test, additionally, molecular methods were also performed which included polymerase chain reaction and DNA sequencing. 100 eye swabs were collected from cats that showed signs of infection. Other data such as type, gender and age were also collected to determine the effect of these variables on eye infections. The study results showed that the isolation rate of *Staphylococcus aureus* was 41/100 (41%) of the cats examined, while the number of negative cases for bacterial isolation was 59/100 (59%). The results also showed that the percentage of bacteria isolated from male cats was higher and recorded 23/41 (56.1%), while it was recorded 18/43 (43.9%) in the female cats, with a significant difference $P \leq 0.05$ for males compared to females. The results showed that cats aged ≤ 6 months were more susceptible to bacterial eye infections and recorded 29/41 (70.7%) than cats aged ≥ 6 months, which recorded 12/41 (29.3%). The results of the antibiotic sensitivity test (AST) also showed a significant development of resistance against many antibiotics such as ampicillin and cefotaxime, amoxicillin, gentamycin, methicillin and amikacin. The results of the molecular diagnosis using PCR showed that the isolated bacteria belong to *Staphylococcus aureus*, with a product size of 279 bp for the *nuc* gene, which is specific for diagnosing staphylococci. The amplification products of the virulence genes were also detected, as

the *clfA* gene was 288 bp in size, the *clfB* gene was 203 bp in size, and the *coa* gene was 674 bp in size. The *mecA* gene, 147 bp in size was also detected, which is responsible for methicillin resistance, known as MRSA. The PCR results for *Staphylococcus aureus* were confirmed by deposition of the *nuc* gene for the respective isolates in the GenBank under accession no. PP836109, PP836110, PP836111, and PP836112, as well as the methicillin-resistant isolates carrying the *mecA* gene under accession numbers PQ181561, PQ181562, PQ181563, and PQ181564. The phylogenetic analysis was performed to determine the divergence and convergence between the isolates for the mentioned genes. The results showed that the *nuc* gene of the four isolates was 100% identical to the human isolates from Belgium. The analysis of the *mecA* gene results also gave 100% identicity with the human isolates from China, the United States and Japan. This idendity indicates that the source of origin of the isolates from cats is of human-type origin and that cats raised in homes are considered a reservoir host for these bacteria. It is concluded from this study that bacterial eye infections in cats are important and have a negative impact, and the cats play the role of a reservoir for bacterial pathogens, especially *S. aureus* that have the characteristic of methicillin-resistant MRSA, which can pose a major threat to human public health.

Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Eye Infections in Domestic Cats

A Thesis Submitted
By
Nagham Duraid Najim Abdullah

To
The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In
Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised by
Assistant Professor
Dr. Ihsan Muneer Ahmed Al-Titinchi

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Eye Infections in Domestic Cats

Nagham Duraid Najim Abdullah

MSc/Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised by
Assistant Professor
Dr. Ihsan Muneer Ahmed Al-Titinchi