

## توصيف البلازميد وتحول جينات المقاومة في بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب الجاموس المصاب بالتهاب الضرع والتجار

## ملخص الرسالة أو الأطروحة

## الخلاصة

كانت أهداف هذه الدراسة للكشف عن عوامل الضراوة، موقع المقاومة لحمض الناليديكسيك من خلال التحول وعلاج البلازميد للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب الجاموس المصاب بالتهاب الضرع تحت السريري والتجار

تم جمع ٢٧٠ عينة خلال الفترة من أكتوبر ٢٠١٤ إلى مارس ٢٠١٥، ١٨٠ عينة من حليب الجاموس المصاب بالتهاب الضرع تحت السريري و ٩٠ مسحة من أيدي التجار من مختلف المناطق في مدينة البصرة. تم فحص جميع العينات لوجود بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بواسطة زرعا على الوسط الملحي المانيتول (MSA). تم الحصول على ٢٧٠/١٠٠ (٪٣٧) من العزلات المخمرة لوسط المانيتول : ١٨٠/٤٠ (٪٢٢.٢) من عينات الحليب و ٩٠/٦٠ (٪٦٦.٧) من التجار. تم فحص جميع عزلات المكورات العنقودية الذهبية المشتبه بها مجهريا وكيميائيا، حيث ١٠٠/١٥ (٪١٥) من العزلات المشتبه بها كانت ٤٠/٥ (٪٢.٥) من الحليب و ٦٠/١٠ (٪٦.٧) من التجار تم تشخيصها كمكورات عنقودية ذهبية.

تم الحصول على ١٠٠/٣٧ (٪٣٧) العزلات المخمرة لوسط المانيتول ، ٤٠/١٧ (٪٤٢.٥) من عينات الحليب و ٦٠/٢٠ (٪٣٣.٣) من التجار وأكثت من خلال الكشف ٥٢٣ الريباصي الجين المحدد للبكتريا المكورة العنقودية الذهبية. عوامل الضراوة التي كانت تتضمن الجين المسؤول عن التجلط nuc جين، و clfa جين كشف في ٦ المكورات العنقودية الذهبية المعزولة، ١٧/٥ (٪٢٩.٤) من الحليب و ٢٠/١ (٪٥) من التجار.

تم اختبار مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية تجاه ١٩ نوع من المضادات الحيوية بطريقة انتشار القرص ل كيربي باور وكانت جميع العزلات مقاومة على الاقل لخمس من المضادات الحيوية التي تشمل حمض الناليديكسيك التي تعرضت لها.

أجري التحول بواسطة نقل البلازميد المعزول من المكورات العنقودية الذهبية الى بكتريا الاشيريشيا القولونية المختصة للكشف عن موقع مقاومة حمض الناليديكسيك. وكانت مقاومة بكتريا الاشيريشيا القولونية المختصة إلى حامض ناليديكسيك مؤشر على نجاح تجربة التحول.

تم انجاز علاج البلازميد من خلال إعداد عدة تراكيز لحمض الناليديكسيك ١٠٠ ميكروغرام / مل / مل، ١٥٠ ميكروغرام / مل، ٢٠٠ ميكروغرام / مل، ٢٥٠ ميكروغرام / مل و ٣٠٠ ميكروغرام / مل حيث وجد ان بكتريا الاشيريشيا القولونية المتحولة لها القابلية على النمو في وسط LB المدعوم بتراكيز ١٠٠ ميكروغرام / مل، ١٥٠ ميكروغرام / مل، ٢٠٠ ميكروغرام / مل، ٢٥٠ ميكروغرام حامض الناليديكسيك / مل إلا أنها فشلت في النمو بالتراكيز ٣٠٠ ميكروغرام / مل.

College: College of Veterinary

Name of Student: Douaa Abdul Razzaq Khaleel

Dep.: Microbiology

Name of Supervisor: Assist. Prof. Dr. Bassam Y. Khudaier and Assist. Prof. Dr. Rasha M. Othman

Certificate: master

Specialization: Microbiology

Title of Thesis

Plasmid Profile and Transformation of Antibiotic Resistance Genes in *S. aureus* Isolated from Buffaloes Mastitis and Dealers

## Abstract of Thesis

## Summary

The aims of this study were to detect virulence factors, resistant site of nalidixic acid through transformation and plasmid curing for *Staphylococcus aureus* isolated from buffaloes milk with subclinical mastitis and dealers.

During a period from October 2014 to March 2015, a total of 270 samples were collected 180 buffaloes milk with subclinical mastitis and 90 hands swab of dealers from different regions in Basra city. All samples were screened for the presence of *S. aureus* by culturing on mannitol salt agar (MSA).

A total of 100/270 (37%) of fermented MSA isolates were obtained : 40/180 (22.2%) from milk samples and 60/90 (66.7%) from dealers. All suspected *S. aureus* isolates were tested microscopically and biochemically, where 15/100 (15%) of suspected isolates 5/40 (12.5) from milk and 10/60 (16.7) from dealers were diagnosed as *S. aureus*.

A total of 37/100 (37%) fermented MSA isolates, 17/40 (42.5%) from milk samples and 20/60 (33.3%) from dealers were confirmed by detection 23S rRNA gene a specific for *S. aureus*. Virulence factors genes included *coa* gene, *nuc* gene, and *clfa* gene were detected in 6 *S. aureus* isolates, 5/17 (29.4%) from milk and 1/20 (5%) from dealers.

Six pathogenic *S. aureus* isolates were tested for their antibiotic resistance against 19 antibiotics by the Kirby-Bauer diffusion test. All the isolates were found to be resistant to at least 5 antibiotic that included nalidixic acid to which they were subjected.

Transformation was carried out by transferring the plasmid isolated from *S. aureus* into competent *Escherichia coli* HB 101 for detection resistant site of nalidixic acid. Resistance transformed *E. coli* to nalidixic acid was an indicator for successful experimental transformation

Plasmid curing was accomplished by preparing several concentrations for nalidixic acid 100µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, 250 µg/ml and 300 µg/ml and cultured transformed *E. coli* on Luria-Bertani agar supported with each these concentration where found transformed *E. coli* was able to grow on LB agar supported with 100µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, 250 µg/ml nalidixic acid but it was failed to grow on 300 µg/ml concentration