استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية: الطب البيطري

اسم الطالب: رنيم عبد الكريم لفته

القسم: الاحياء المجهرية والطفيليات

اسم المشرف:د. بسام ياسين خضير

التخصص: الاحياء المجهرية

الشهادة: الماجستير

عنوان الرسالة أو الأطروحة

(التشخيص الجزيئي لجينات الميتالو بيتا لاكتاميز

bla *IMP*, bla *VIM*, bla *SPM* من بكتريا الاشريشيا القولونية والكلبسيلا المرضيه المعزولة من الحيوانات والمرضى في محافظة البصرة

ملخص الرسالة او الاطروحة

الخلاصـــة

هدفت هذه الدراسة الى تحديد تواجد انزيمات البيتا لاكتاميز في جرثومة الأشريشيا القولونية النمط المصلي O157:H7 و بكتريا الكلبسيلا المعزولة من عينات جمعت من براز الجاموس و براز الاطفال

خلال فترة خمسة اشهر (اب٢٠١٥ - ديسمبر ٢٠١٥) تم جمع ٢٥٠عينة ،١٢٥ عينة من براز الاطفال الذين يعانون من الاسهال و١٢٥ عينة من براز الجاموس جمعت من مناطق مختلفة (كرمة علي ، الزبير ، الكرنه ، ابو الخصيب).فحصت جميع العينات عن وجود الاشرشيا القولونية و الاشرشيا القولونية النمط المصلي O157:H7 و الكلبسيلا بوساطة زرعها على وسط الماكونكي اكار و الايوسين مثيلين الازرق و السوربيتول ماكونكي اكار.

تم الحصول على ١٠٤ عزلة (٥٩.٤%) من الاشرشيا القولونية المشكوك بها : ٤٢ عزلة من براز الجاموس و٦٢ عزله من عينات براز الاطفال اما بالنسبه للكلبسيلا فتم الحصول على ٧١ عزله ٣٨ من براز الاطفال و ٣٣ من براز الجاموس . جميع العزلات المشكوك بها اخضعت لفحوصات الكيمياء الحيويه.

زرعت جميع عينات الاشريشيا القولونيه على وسط السوربيتول مكونكي أكارالمزود بالسفكسيم والبوتاسيوم تيلورايت لتحديد المستعمرات غير المخمرة لسكر السوربيتول . وجد ان ٤من اصل ٤٢ عزلة من براز الجاموس بنسبة ٩.٥% و٦ عزلة من براز الاطفال من اصل ٦٢عزلة بنسبة ٩.٦ % غير مخمرة للسوربيتول.

تم اختبارمقاومة العزلات اتجاه ١٠ نوع من المضادات الحيوية بطريقة انتشار القرص لـ كيربي- بور وكانت جميع العزلات مقاومة على الأقل لسبعة من المضادات الحيوية أي أنها أظهرت نمط المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية .

عرضت عزلات الاشرشيا القولونية النمط المصلي O157:H7المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز لمزيد من الدراسة باستخدام زوجين من البادئات لاختبار تفاعل السلسلة المتبلمرة لكل من مورثات *Tem* و*Shv*.النتائج اظهرت إن 66.6% من عزلات الاي كولاي المعزوله من براز الاطفال تحتوي على الجين *Tem* و(50%) من العزلات المأخوذه من براز الجاموس تحتوي على هذا الجين ،*اما بالنسبه لعزلات الكلبسيلا المأخوذه من الانسان ف ٨٣.٣%* تحتوي على جين Tem و ٧٦% من العزلات المأخوذه من براز الجاموس تحتوي على الجين Tem ، اما للجين شف فلم يظهر في اي من العزلات المذكوره.

اختيرت عشرون عزله بكيترية لاجراء اختبار السلسله المتبلمرة لمعرفه بعض الخصائص الجزينه لتحديد التتابع النووي لجين ال *Tem* حيث اعطت نتائج متطابقه مع دراسات اخرى باستخدام موقع NCBI مركز التقانات الحيويه العالمي بنسبة ٩٨%، ٩٩%، ٩٨% في الاشريشيا القولونيه و ٩٩%، ٩٩%، ٩٩% بالنسبه للكلبسيلا.

College: College of Veterinary

Name of Student: Raneem abdulkareem lafta

Dep.: Microbiology & Parasitology

Name of Supervisor: Dr. Bassam y. khudaier

Certificatte: master

Specialization: Microbiology

Tital of Thesis

(Molecular characterization of Metallo *β-lactamases* bla *IMP* , bla *VIM* and bla *SPM* in *Escherichia coli* O157:H7 and *Klebsiella pneumoniae* from Animals and Patients in Basra City.

Abstract of Thesis

Summary

The goal of this study was to define the occurrence of *Tem* and *Shv* beta-lactamases genes(extended-spectrum β-lactamases) in *Escherichia coli* O157:H7 and *Klebsiella pneumoniae* that isolated from buffalo feces and children.

During a period of five months (August 2015 to December 2015), a total of 250 samples were collected 125 from hospitalized children suffering from diarrhea, and 125 from buffalo feces, samples collected from different regions in basra city (Abo alkaseeb , alqurna, karmat ali , alzobeer). All specimens were screened for the presence of *E. coli* O157H7 and *Klebsiella pneumonia* by cultured on MAC, EMB and SMAC.

A total of 104 (59.4%) of suspected *E. coli* isolates were obtained : 42 from buffalo feces and 62 from children stool, while in *Klebsiella* optained 71 isolates 38 from children and 33 from buffalo, All suspected isolates were tested biochemically.

***E. coli* isolates were screened on SMAC to detect NSFEC. 4 out of 42 from buffalo feces 9.5% and 6 out of 62 from children stool 9.6% were NSFEC.**

All isolates were tested for their antibiotic resistance against 10 antibiotics by the Kirby-Bauer disk diffusion test. All the isolates were found to be resistant to at least 7 antibiotics to which they were subjected. Therefore, all these four isolates were considered to be multidrug resistant.

The *E. coli* O157:H7 β-lactamase-producing isolates were further examined by PCR technique using two pairs of primers to amplify both *Tem* and *Shv* genes. The results revealed that all (66.6%) of the bacteria that isolate from children were positive for *Tem* gene, (50%) from the bacteria that isolate from buffalo were positive for *Tem* gene, while in *Klebsiella* isolate that isolated from children 83.3% were positive to *Tem* gene and 76% of the same bacteria that isolated from buffalo were positive to *Tem* gene, and there is no positive result yielded for *Shv* gene.

Twenty randomly selected PCR products of tem gene of the isolated bacteria were evaluated by Clustalw multiple sequence alignment.

The homology of *tem* gene was done with 3 other exission number that selected with the percentage of homology 98%, 98%, 99% in *E. coli* and in percentage of homology 99%, 99%, 99% in *Klebsiella*.