

الكشف بتفاعل البلمرة المتسلسلة عن جينات المستضدات الفائقة في العزلات الجرثومية للحليب

ملخص الرسالة أو الأطروحة

الخلاصة

في مناطق مختلفة من محافظة البصرة شمل التشخيص الجرثومي التقليدي عزل وتنشخيص البكتريا بواسطة عينه لكل من النساء والابقار والجاموس متواجده 100 عينة حليب طبيعي من ناحية الصفات الفيزيائية تظمنت 300 استعمل التحليل الجرثومي التقليدي والمناعي والبيولوجي الجزيئي لفحص وبلغت نسبة العزل في (82/300) بلغت 27.3% (*Staphylococcus aureus*) الزرع على الأوساط الزرعيه أكار الدم واكار الملح والمانيتول للكشف عن خصائص تحليل الدم وتخثير المانيتول بواسطة العزلات الجرثومية . كشفت نتائج التشخيص الجرثومي نسبة عزل كليه لجرثومة على التوالي. (15/100) 15% and (30/100) 30% (37/100) 37% حليب كل من الإبقار والنساء والجاموس

التأكيد المناعي لعوامل الضراوه المتكونه من عامل التكتل وبروتين A والمستضدات السطحية و القدرة على تكوين الغشاء الحيوي (biofilm) في 82 عزله من جرثومة *S. aureus* . تم بواسطة تقييس صفحية المعيار الماكروي microtiter plate assays وتقنية تلازن اللاكس Staphaurex™ Plus latex agglutination technique . كشفت نتائج تقنيّة تلازن اللاكس عن وجود التفاعلات الإيجابية و السلبية في (81.7%) 67 عزلة من جرثومة *S. aureus* على التوالي. ظهرت اعلى نسبة للتفاعل الإيجابي (36.3% , 30/36) في عزلات حليب الإبقار ثلثها عزلات حليب النساء (80.6%;25/31) وعزلات حليب الجاموس (80%;12/15). وظهرت نتائج تقييس صفحية المعيار الماكروي ان (36.6%) 30 عزله من مجموع 82 عزله لجرثومة *S. aureus* . كانت غير مكونة للغشاء الحيوي وان (63.4%) 52 عزلة كانت مكونة للغشاء كانت اعلى نسبة لتكوين الغشاء الحيوي (83.3%) في عزلات حليب النساء ثلثها عزلات حليب الجاموس (80%) وعزلات حليب الإبقار (40.5%).

S. aureus تم التأكد من وجود جرثومة *Nuc* و *mecA* المعتمد على جينات PCR بواسطة

على (30%) 9 و (35.1%) 13 و (60%) 9 الخاصه بجنس الجرثومه ومقاومتها للمثليين في *Nuc* و *mecA* النساء وجد كل من (30%) 9 للإبقار و (35.1%) 13 للجاموس و لحليب *S. aureus* عزلة من جرثومة 82. بينت نتائج هذا الاختبار ان من مجموع MRSA المقاومه للمثليين على التوالي وان اعلى *sec* و *sea* و *seb* كانت حامله لجينات MRSA من جراثيم (2/31) 6.5% و (15/31) 48.4% و (10/31) 32.3% (*sec*) و *sea* و *seb* *S. aureus* المعتمد على جينات المستضدات الفائقة لجرثومة PCR. اظهرت نتائج ال (37.8%) 37.8% على التوالي وينسبه كليه بلغت في عزلات حليب (*sec*) للجنس (1.1% و 7.7% على التوالي). لوحظت اعلى نسبة (% 22.2% و 33.3%) عزلات حليب الجاموس والنساء (في عزلات حليب الإبقار يليه *sea* للجنس (38.5%) تردد

الإبقار و الجاموس على التوالي ولم يشخص في عزلات حليب النساء.

Staphylococcus المفحوصه مع المعلومات المسجله التي تخص جراثيم *S. aureus* لعزلات جرثومة *nuc* عند مقارنة نتائج الجين 100% اظهرت نتائج التتابع الجيني وتحليل بلاست المقارن نسبة تشابه بلغت [Staphylococcus aureus isolate 22_LA_562 genome assembly, chromosome: I](#) و [Staphylococcus aureus strain 08-02300, complete genome](#)

College: Colleg of Veterinar

Name of Student: Amina Shaker Mahdi

Dep.: Microbiology

Name of

Supervisor: Fawziah A. Abdullah

Certificate: master

Specialization: Microbiology

Title of Thesis

PCR Detection of Superantigens Gens In Bacterial Milk Isolates

Abstract of Thesis

Summary

A total of 300 physically normal milk samples of women, cattle and buffaloes (100 for each) belonging to different localities in Basrah province. conventional bacteriological, immunological and molecular analysis were used on all milk samples.

The conventional bacteriological identification included Isolation and identification of bacteria by cultivation on blood agar and manitol salt agar to test haemolysin properties and fermentation of manitol by bacterial isolates. The results of bacteriological identification revealed that overall *Staphylococcus aureus* isolation percentage was 27.3% (82/300). The isolation percentage of cows, women and buffaloes milk were, 37% (37/100), 30% (30/100) and 15% (15/100) respectively.

Immunologic confirmation of *S. aureus* virulence factors was performed by detection of biofilm by microtiter plate assays and Staphaurex™ Plus latex agglutination technique to test 82 staphylococci isolates for biofilm formation and possessing of clumping factor, protein A and/or surface antigens. The results of latex test revealed that 67 (81.7%) of staphylococci isolates gave positive reactions. Negative latex reactions were obtained with 15 (18.3%) isolates. Cows milk samples isolates showed higher percentage of positive reactions (83.3% , 30/36) followed by Women (80.6%;25/31) and Buffaloes (80%;12/15) isolates. The biofilm detection results by microtiter plate assay revealed that out of 82 milk isolates, 30 (36.6%) did not form biofilm, whereas 52 (63.4%) were biofilm former. Higher percentage for biofilm formation was observed in women (83.3%) followed by buffaloes (80%) and cows (40.5%).

Genotypic confirmation of superantigenic *S. aureus* performed by *Nuc* and *mecA* genes based PCR identification analysis. The results of *Nuc* and *mecA* genes based PCR identification revealed that out of the 82 *S. aureus* isolates of buffaloes, cow and women, 9 (60%), 13 (35.1%) and 9 (30%), respectively harbored the staphylococcus species and Methicillin resistance genes with 37.8% over all percentage. The results of superantigenes genes based PCR detection, showed that *sea*, *seb*, *sec* superantigenic genes harbored by 32.3% (10/31), 48.4% (15/31) and 6.5% (2/31), MRSA isolates respectively. The high percentage (55.5%) of *seb* gene was observed in milk isolates of buffaloes and women (5/9 isolates for each) compared to cow milk isolates (38.7%; 5/13). The *sea* gene was more frequent in cow milk isolates (38.5%) followed by buffaloes (33.3%) and women (22.2%) milk isolates. The *sec* gene appeared in cows and buffaloes (7.7 and 11.1% respectively) and it was not identified in women milk isolates. Depending on gene sequencing and the results of BLAST comparative analysis, the *nuc* gene sequences of tested *S. aureus* isolates showed 100% sequence identity with published data of [Staphylococcus aureus strain 08-02300, complete genome](#) and [Staphylococcus aureus isolate 22_LA_562 genome assembly, chromosome: I](#)

