استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية: الطب البيطري **اسم الطالب: هبة الرحمن رياض ركاد**

القسم: الاحياء المجهريه **اسم المشرف:أ. د.فوزيه على عبد الله**

التخصص: بكتريا **الشهادة: الماجستير**

عنوان الرسالة أو الأطروحة

تشخيص جينات بكتريوسين بكتريا حامض اللاكتك المعزوله من حليب النساء و الابقار والماعز

ملخص الرسالة او الاطروحه

الخلاصـــة

اظهرت نتائج الاختبارات البكتريلوجيه التشخيصيه التقليديه ان نسبه عاليه من البكتريا المعزوله الموجبه لصبغه كرام قد لوحظ في حليب النساء (٧٥%) مع ٣٥.٤% اجمالي النسبه ونسبه عاليه من البكتريا المعزوله السالبه لاختبار الكاتليز قد لوحظت في حليب الابقار الخام (٦٠%) مع ٣٥.٧% اجمالي النسبه. اما بكتريا حامض اللاكتك (LAB) المعزوله التي تتصف بأنها موجبه لصبغه كرام وسالبه لاختبار الكاتليز قد ظهرت بنسبه ٥٢% من البكتريا المعزوله من حليب الاغنام الخام مع ٣٤.٧% اجمالي النسبه.

واظهرت الاختبارات البكتريلوجيه التشخيصيه التقليديه نتائج مرتفعه من العزلات البكتريه المأخوذه من حليب الابقار التي تتراوح اعمارها بين(٩-٣٠) سنه، حيث ان عزلات بكتريا حامض اللاكتك الموجبه لصبغه كرام والسالبه لاختبار الكاتليز تظهر بنسبه ٥٨.٥%، اي ان هنالك فرق احصائي معنوي (P <٠.٠٥) لعمر الابقار على توزيع عزلات البكتريا للحليب الخام، كذلك عدد الولادات له تأثير احصائي معنوي مرتفع (P<٠.٠٥) على عزلات بكتريا حليب الابقار الخام، ظهرت نسبه عاليه(٥٢%) من عزلات بكتريا حامض اللاكتك في الابقار التي تكون عدد الولادات بها ٦-<١٢ ≤ بالمقابل الفرق بين المجموعتين العمريه لعزلات حليب الماعز احصائياً لم يكن ذو مدلول احصائي (P>٠.٠٥) مع نسب متغايره من العزلات الموجبه لصبغه كرام والسالبه لأختبار الكاتليز، لكن هنالك فرق احصائي عالي (P<٠.٠١) قد ظهر بين المجموعتين الخاصه بعدد الولادات بعزلات حليب الاغنام الخام حيث ظهرت عزلات بكتريا حامض اللاكتك بنسبه عاليه(٤٣.٦%) في الماعز بالمجموعه الاولى (٣-١) الخاصه بعدد الولادات.

وبينت نتائج هذه الدراسه ان عزلات البكتريا الملأخوذه من حليب النساء لها فرق احصائي معنوي عالي (P<٠.٠١) لكلاً من مجاميع الولادات والمجاميع العمريه حيث عزلات بكتريا النساء قد اظهرت مايلي: نسبه عاليه(٥٩.١%) من عزلات بكتريا حامض اللاكتك الموجبه لصبغه كرام والسالبه لأختبار الكاتليز قد ظهرت بحليب النساء التي تكون بالمجموعه العمريه الثانيه (٤٥-<٣٠≥)، و ظهرت نسبه عاليه (٥٠.٦%) من عزلات بكتريا حامض اللاكتك بحليب النساء التي تكون عدد الولادات بها ٤-<١.

تم عزل الحامض النووي DNA ومن ثم اجراء عمليه تضخيم PCR لجين 16s rRNA واظهرت النتائج انه ٥٥.٣% نتيجه PCR موجبه بحليب النساء الخام و بنسبه (٣٧.١%) من مجموع الدراسه. بالاعتماد على مصدر الحليب الخام، احصائياً الفرق في نتائج تحليل 16s rDNA based PCR analysis ليس له فرق احصائي معنوي (P>٠.٠٥).

وكذلك الفرق بين المجموعتين العمريه للنساء والابقار احصائياً لايوجد لها فرق احصائي معنوي (P>٠.٠٥) لكن يكون لعدد الولادات تأثير فرق احصائي معنوي (P>٠.٠١). بالمقابل الفرق بين المجموعتين العمريه لعزلات حليب الاغنام الخام يعتبر له فرق احصائي معنوي (P<٠.٠٥) وليس هنالك فرق احصائي معنوي (P>٠.٠٥) ظاهر بين المجموعتين الخاصه بعدد الولادات في الماعز.

شملت الدراسه بعد ذلك على استخدام الجينات المشفره للبكتريوسين بالاعتماد على النتائج الموجبه الخاصه بPCR لجين 16s r RNA الخاص ببكتريا حامض اللاكتك اظهرت نسبه عاليه (٦٢.٩%) للجين المشفر لEnt B ونسبه عاليه للجين المشفر ل Nis (٣٤.٦%) والجين المشفر ل Ent A(١٥.٤%) من عزلات بكتريا حامض اللاكتك في حليب النساء، بينما الجينات المشفره لEnt B ظهرت بنسبه عاليه(٨٠.٩%) بعزلات حليب الماعز، يتبعها عزلات حليب الابقار بنسبه(٦٠.٩%). هنالك فرق احصائي عالي(P<٠.٠٠٠١) ظهرت بين الجينات المشفره الى Ent B،Nis و Ent A بالاعتماد ع النتائج الموجبه لPCR.

تم تقدير قابليه النتاجbiofilm بواسطه طريقتان هما:Microtiter plate assay و Congo red agar. اظهرت نتائج هذه الاختبارات بأن الفروقات بين نتائج هاتين الطريقتين لايعتبر له تأثير احصائي هام (P>٠.٠٥)، على الرغم من ذلك فأن طريقه Microtiter plate assay تعتبر افضل من Congo red agar، حيث من مجموع ٧٠ عزله منLAB حددت طريقه Microtiter plate assay ٧٠% منتجه لـbiofilm.

College: Colleg of Veterinar **Name of Student: Hibbat Al Rahman Riyadh**

Dep.Microbilology

Name of Supervisor: Prof .Dr. Fawziah A. Abdullah

Certificatte: Master **Specialization: Bacteriology**

Tital of Thesis

Identification of Bacteriocinogenic Lactic Acid Bacteria Isolated from Women, Goats and Cows Milk

Abstract of Thesis

Summary

The Conventional bacteriologoical analysis aresults revealed that high ratio of Gram positive bacterial isolates was observed in women milk(75%),with 35.4% an overall ratio and cows raw milk bacterial isolatesashowed high ratio of catalase negative reactivity(60%) with 35.7% an overall ratio..The LAB isolates which is characterized by both Gram positive ,and catalase negative reactions was observed in 52 % of goats raw milk bacterialaisolates with 34.7% an overall ratio.

Higher results of conventional bacteriologicalaanalysis were observed in raw milk bacterial isolates of cows at firstaage group(**≥3 - < 9** year) , particularly Gram positive catalaseanegative LAB isolates which appeared in aaratio of **58.5**%.There was a significant effect (p< 0.05) for the cows age on the raw milk bacterial isolates ,distribution .The number of parturition affect significantly (p< 0.05)**,** on the raw milk bacterial isolates distribution and high ratio(**52%)**of aLAB isolates was observed in cows with ≥6-<12 number of parturition..Incontrast the differences between the twoaage groups of goats raw milk isolates statistically was not considered asignificant (P>0.05)with variable ratio of Gram positive or catalase negative isolates.but high significant adifferences (p< 0.01) was observed between the two parturition groupsaof goats raw milk isolates and LAB isolates appeared in high ratio **(43.6**%) of goatsaat first group(**1 - < 3**) ofaparturition.

Concerning the womenamilk bacterial isolates, high significant differences (p<0.01) between the twoaage and parturition groups of tested women milk bacterial isolates was observed.aHigher ratio**(59.1**%) of Gram positive catalase negative LAB isolates were observedain raw milk bacterial isolates of women atasecond age group(**≥30 - <45**) , High ratio(**50.6%)** of LAB isolates was observed also in women witha1 - < 4number ofaparturition.

The results of DNA isolation and subsequent PCRaanalysis of 16S rRNA genes revealed that 55.3% of positive PCR results was observeddin women milk with an overall ratio(**37.1**%,). According to rawamilk source, statistically the difference in the16S rDNA based PCR aanalysis results was not considered significant(P>0.05). Theedifference between the two age groups of women and cow stastically was nottconsidered significant (P>0.05) but the effect offparturition was considered stastically highly significant(P>0.01)**.** Inncontrast, the differences between the two age groups of goats raw milk isolates wassconsidered statistically significant (P<0.05)and no significantddifferences (p> 0.05) was observed between the two parturition groupssof goats

Subsequent bacteriocin encoding genessbased PCR analysis of 16S rRNA genes positive LAB resulted innhigher ratio(**62.9%**) for Ent B encoding genes anddhigher ratio of Nis(34.6%) and Ent A(15.4%) encoding genes based PCR positive results was observed inn women milk LAB while Ent B encoding geness appered in higher ratio(**80.9%**) of goats milk LAB, followed by cowssmilk LAB at aratio **60.9%**.Extremely high significantddifference(P<0.0001) was observed among the Nis, Ent A and Ent B encoding genessbased PCR positive results. , only one LAB isolate presentingg NIS, Ent A and Ent B genes simultaneously and this isolate represent a ratio of 3.9% innwomen milk. Isolated presence wassnot found in Ent A gene.

Assessment of biofilm-forming ability was performed by two methods, Congo reddagar and Microtiter plate assay.The results of these tests revealedd that, the difference between the results of two methods was considered to be statistically not significant(P>0.05).However, the Microtiter plate assay method was considered to be superior to Congo red agar. From the total of 70 LAB isolates, Microtiter plate assay method detected 70% as biofilm producers.