استمارة مستخلصات رسائل و إطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية : الطب البيطري **اسم الطالب : بان محمدصالح سعيد**

الفرع: الاحياء المجهريه والطفيليات **اسم المشرف: ا.د. باسل عبدالزهرة عباس / ا.د. شاكر عبدالسالم نعمه الجدعان**

التخصص: الاحياء المجهريه **الشهادة: الدكتوراه**

عنوان الرسالة او الاطروحة :

الكشف الجزيئي لبعض عوامل الضراوة في عصيات *B. cereus* وتقييم مركبات جديدة كعوامل ضد بكتيريه

ملخص الرسالة أو الاطروحة :

تم جمع (200) عينة من القيمر ولحوم الأبقار الطازجة والمجمدة والبرجر والأرز المطبوخ والأرز غير المطبوخ من الأسواق المحلية المختلفة ، وتم جمع (50) عينة من براز مرضى الإسهال من مستشفيات مدينة البصرة. تم زرع جميع العينات وتنميتها على الوسط الانتقائي (MYP) مانيتول متعدد المكسين B المحتوي على صفار البيض لعزل الجرثومة *Bacillus cereus* .تم عزل البكتريا بنسبة 36.36٪ في القيمر و 26.47٪ في لحم البقر و 50٪ في لحم البقر المجمد و 36.36٪ في البرغر و 18.18٪ في الأرز المطبوخ و 51.51٪ في الأرز غير المطبوخ و 20٪ في البراز (الإسهال) .وقد تم تشخيص جرثومة *B. cereus* عن طريق تسلسل الجين *16S rRNA*. سجلت في بنك الجينات ثلاثة عشر عزلة جديدة . وحددت الشجرة الوراثيه لمعرفة الاختلافات بين العزلات. استخدم اختبار مقاومة التتراسيكلين لتحديد عزلات جرثومة *Bacillus cereus* التي تقاوم التتراسيكلين وبلغت نسبه المقاومة 63.63٪. حدد التركيز المثبط الادنى (MIC) لمقاومة التتراسيكلين , حيث لوحظ غياب المقاومة في > 32 مايكروغرام / مل في جميع العزلات. وتم الكشف عن جينات مقاومة التتراسيكلين في العزلات عن طريق سلسلة تفاعلات البلمرة (PCR) والتي كشفت نتائجها عن وجود هذه الجينات في العزلات . وبلغت نسب تواجد الجينات *tetD* و *tetK* و *tetL* و *tetM* و tetO و tetA بنسب11.62% ,100٪ ، 34.88٪ ، 58.13٪ ، 20.93٪ ، 48.83 ٪ و 2.32 ٪ على التوالي. في حين لم يتم الكشف عن الجين *tetW* .بواسطة سلسله تفاعلات البلمرة (PCR) تم الكشف عن وجود السموم المعوية لجرثومة *B. cereus* بما في ذلك الجينات المسببه للاسهال بما في ذلك الجينات *entFM* و *cytK* و *hblA* و *hblC* و *hblD* و *nheA* و *nheB* و *nheC* و *bceT* وجين السمية المسبب للتقئ.كما تم الكشف عن وجود جينات ضراوة اخرى مثل الجينات *sph* و *pi-plc* وكانت نسبه تواجد كل منهما 100 ٪ لكل جين .تم الكشف الاولي عن العزلات المنتجة للبكتريوسين وكانت نسبتها % 41.26 حيث تم اختبارها ضد اربع انواع من العزلات البكتيريه وهي *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. bacteriocin. ثم الكشف عن وجود الجين (*cerA*) في 7.69 ٪ من العزلات التي أنتجت وتم ترسيب البكتريوسين عن طريق الترسيب بكبريتات الأمونيوم (60٪) وتم تنقية البكتريوسين عن طريق الديلزة. أظهر النشاط الضد جرثومي للبكتريوسين ضد الأنواع الأربعة من البكتيريا تأثيرًا على بكتريا *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus*. بالإضافة إلى ذلك ، تم تقدير تركيز ودراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية للبكتريوسين.تم تخليق مشتقات الثايوديازول ، حيث تم تصنيع المركب الثاني والثالث لاول مرة. وظهر ان جميع المركبات لها أنشطة بيولوجية في 100 ملغم / مل ، 150 ملغم / مل ، 200 ملغم / مل و 250 ملغم / مل ضد أربعة أنواع من الجراثيم.كان MIC للمركب A هو 2 ملغم / مل بالنسبة لجرثومة *B. cereus*، و 5 ملغم / مل لكل من *Staph. aureus* و *Salmonella* spp. ،وكان 4 ملغم / مل بالنسبه لجرثومة *E. coli* . وكان MIC للمركب B هو 15 ملغم/ مل لكل من *Bacillus cereus* و *E. coli* و 30 ملغم / مل لكل من *Staph. aureus* و *Salmonella* spp. . في حين كان MIC للمركب C 2 ملغم / مل لكل من *B. cereus* و *Staph. aureus* وكان 3 ملغم / مل لكل من *E. coli* و *Salmonella* spp. .حددت السمية الخلوية على كريات الدم الحمرللمركب A عند 5 ملغم / مل ، وتبدأ سميه المركب B عند 60 ملغم / مل ، وتبدأ سميه المركب C بمعدل 25 ملغم / مل. تم تحديد الجرعة نصف القاتلة للمركبات الكيميائية (LD_{50}) وكانت للمركب A هي 0.01994 غم / كلغم من وزن الجسم ، وللمركب B هي 0.28278 غم / كلغم من وزن الجسم وللمركب C هي 1.4 غم / كلغم من وزن الجسم.وتم عزل الابواغ من جرثومة *Bacillus cereus* ودراسة النشاط الحراري للسبورات كما تم تحطيم هذه السبورات في 90-100 درجة مئويه.

College: **Veterinary Medicine** **Name of Student:** **Ban Mohammed Saleh Saeed**

Dept.: **Microbiology and parasitology** **Name of Supervisor:** **Prof. Dr. Basil A. Abbas / Prof. Dr. Shaker A. N. Al-Jadaan**

Specialization: **Microbiology** **Certificate:** **PhD**

Title of Thesis

Molecular Detection of Some Virulence Factors in *Bacillus cereus* Isolates and Evaluation of Novel Compounds as Antibacterial Agents

Abstracts of Thesis

Two hundred samples of cream, beef, frozen beef, burger, cooked rice, uncooked rice were collected from different local markets, in addition to (50) samples of diarrheal stool were collected from the hospitals at Basrah city. The samples were cultured on a selective media Mannitol egg – yolk agar (MYP), supplemented with polymyxin B sulphate, to isolate *B. cereus*. The bacterium was isolated in a percentage of 36.36 % in cream, 26.47 % in beef, 50 % in frozen beef, 36.36% in burger, 18.18% in cooked rice, 51.51% in uncooked rice and 20% in diarrheal stool. IdentificatiAon of the bacterium was done by sequencing of the gene *16S rRNA*. Thirteen isolates were newly registered to GeneBank. The phylogenic tree was done to see the differences between the isolates.The tetracycline resistance testing was used to determine the *Bacillus cereus* isolates that resist to tetracycline 63.63%. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of tetracycline resistance was absence the resistance in > 32 µg/ml in all of the isolates. Detection the tetracycline resistance genes in the isolates by polymerase chain reaction (PCR) which revealed the presence of these genes in the isolates. The occurrence of each of these genes *tetD*, *tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO* and *tetA*were 11.62%, 100%, 34.88%, 58.13%, 20.93%, 48.83% and 2.32%, respectively. While *tetW* was not detected. Screening of isolates by polymerase chain reaction (PCR) revealed the presence of enterotoxins for *B. cereus* including the diarrheal toxin genes *entFM*, *cytK*, *hblA*, *hblC*, *hblD*, *nheA*, *nheB*, *nheC* , *bceT* and the emetic toxin gene.Screening the virulence genes such as *sph* and *pi-plc* genes. The occurrence of these genes were 100% for each one.Screening the bacteriocinogenic isolates in 41.26% against four types of bacteria such as *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., then detection the presence of cericidine (*cerA* gene) in 7.69% of the isolates that produced bacteriocin. Precipitation of bacterion by ammonium sulphat (60%) and purification by dialysis. Antimicrobial activity of bacteriocin against the four types of bacteria showed the effect on *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. In addition, estimation the concentration and study the physical and chemical properties of bacteriocin.Synthesis of thiadiazoles derivatives, the second and third compound were novel. All of the compounds have biological activities at 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml and 250 mg/ml against four types of bacteria.The MIC of compound A was 2 mg/ml for *Bacillus cereus*, 5 mg/ml for both of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp., 4 mg/ml for *E. coli*. The MIC for compound B was 15 mg/ml for both of *Bacillus cereus* and *E. coli* and 30 mg/ml for both of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. and the MIC for compound C was 2 mg/ml for both of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* and 3 mg/ml for both of *E. coli* and *Salmonella* spp..Determination of blood cytotoxicity of compound A begins at 5 mg/ml, and for compound B begin at 60 mg/ml and for compound C begin at 25 mg/ml.Determination of chemical compounds median lethal dose (LD_{50}) was found for compound A is 0.01994 gm/kg bw, for compound B is 0.28278 gm/kg bw and for compound C is 1.4 gm/kg bw.Isolation of *Bacillus cereus* spores and study the thermal activity of the spores revealed the destroying of the spores at 90-100 °C.