جامعة الموصل/ كلية التربية للبنات

قسم علوم الحياة

التأثير المظهري والجزيئي للمعززات الحيوية في نمو بكتريا *Salmonella* Enteritidis وبعض عوامل ضراوتها

ريا طلال محمود عزيز كداوي

رسالة ماجستير

علوم في علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ المساعد

د. رسمية عمر سلطان الجبوري

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢م

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم دور المعززات الحيوية في تثبيط عوامل ضراوة بكتريا *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S.*Enteritidis) على المستويين المظهري والجزيئي.

جمعت 25 عينة خروج من الأطفال بعمر أقل من خمس سنوات المصابين بالإسهال الحاد المراجعين لمستشفى الزهراوي الأهلي في مدينة الموصل للمدة من 2021/7/1 لغاية 2021/9/1.

تم الحصول على عزلة واحدة للنوع *S.*Enteritidis من العينات بنسبة عزل 4 % وشخصت العزلة اعتماداً على الخواص المزرعية والمظهرية فضلاً عن الخواص الكيموحيوية التي تم قياسها بجهاز Vitek 2.

أظهر فحص الحساسية للعزلة المحلية قيد الدراسة أنها حسّاسة للمضادات Ciprofloxacin، Levofloxacin، Ceftriaxone و Azithromycin ومقاومة للمضادات Trimethoprim-Sulfamethoxazol، Amoxicillin–Clavulanic acid و Ampicillin.

تم الحصول على أربعة معززات حيوية من مصادر مختلفة شملت ثلاثة أنواع بكتيرية ، ونوع واحد من الخمائر ، وتضمنت الأنواع *Lactobacillus acidophilus* ، *Pediococcus pentosaceus*، *Bifidobacterium bifidum* و *Saccharomyces boulardii*.

أُختبر التأثير التثبيطي للرواشح الخام للمعززات الحيوية الاربع المذكورة آنفاًعلى نمو بكتريا *S.*Enteritidis بطريقة الانتشار في الحفر، وأظهرت النتائج أنّ الرواشح الأربع جميعها كانت مثّبطة لنمو النوع *S.*Enteritidis وبأقطار تثبيط متباينة، إلا أنّ راشح المعزز الحيوي *P.pentosaceus* كان الاكثر تأثيراً بقطر تثبيط بلغ 17 ملم.

دُرس تأثير رواشح المعززات الحيوية على ثلاثة عوامل ضراوة لبكتريا*S.*Enteritidis وهي الغشاء الحيوي ، الالتصاق بالخلايا الظهارية وحركة العج ، وأظهرت النتائج أنَّ راشحي النوعين *L.acidophilus* و *P.pentosaceus* كانا الأكثر كفاءة في تثبيط عوامل الضراوة المدروسة ؛ إذ ثبّطا تكوين الغشاء الحيوي بنسبة 91.6 %، وثبّطا الالتصاق بالخلايا الظهارية البولية بنسبة 85.7% و71.4 % على التوالي، فضلاً عن تثبيط حركة العج بنسبة بلغت 35%.

أدت معاملة العزلة المحلية *S.*Enteritidis برواشح المعززين الحيويين *L.acidophilus* و *P.pentosaceus* بالتركيز تحت المثبط الأدنى الى انخفاض التعبير الجيني للجين *spvR* الى0.14 و0.44 على التوالي ، وكذلك التعبير الجيني للجين *invA* انخفض الى 0.26 و 0.46 على التوالي وذلك بقياسها بتقنية التضخيم الكمي الآني Real Time-quantitative Polymerase Chain Reaction(Real Time-qPCR).

Summary

The curent study aimed to evaluate the inhibitory role of probiotics on *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S.*Enteritidis) virulence factors in morphological and molecular levels.

Twenty five stool specimens were collected from children under five years suffering from acute diarrhea hospitalized in Al-Zahrawi Hospital,Mosul city from 1/7/2021 till 1/9/2021.

One isolate of *S.*Enteritidis was obtained from these specimens with incidence rate of 4% , it was identified according to cultural and morphological as well as biochemical characteristics measured by Vitek 2 compact system.

Antibiotic sensitivity test revealed that the local isolate was sensitive to Ciprofloxacin, Levofloxacin, Ceftriaxone and Azithromycin but was resistant to Trimethoprim-Sulfamethoxazol, Amoxicillin – Clavulanic acid and Ampicillin.

Four probiotics included three bacterial species and one yeast species obtained from different sources were used in this study included *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Saccharomyces boulardii*.

The inhibitory effect of the four probiotics cell-free culture supernatants on *S.*Enteritidis growth using well diffusion method was measured, the results showed that the four cell-free culture supernatants had inhibitory effect on *S.*Enteritidis growth with different inhibition zones although *P.pentosaceus* cell-free culture supernatant had the highest inhibitory zone reached 17 mm.

The effect of probiotics cell-free culture supernatants on three virulence factors of *S.*Enteritidis namely biofim , adhesion to epithelial

cells and swarming motility were studied , the results indicated that *L.acidophilus* and *P.pentosaceus* cell-free culture supernatants were more effective in reducing virulence factors as biofilm was reduced by the rate of 91.6 %, adhesion on urinary epithelial cells was reduced by the rate 85.7% and 71.4 % respectively, swarming motility also reduced by the rate 35%.

Treatment of local isolate *S*.Enteritidis with sub-MIC cell-free culture supernatant of the probiotics *L.acidophilus* and *P.pentosaceus* led to down regulation of the gene *spvR* to 0.14 and 0.44 respectively and gene expression of the gene *invA* also down regulation to 0.26 and 0.46 respectively which was tested by Real Time-quantitative Polymerase Chain Reaction(Real Time-qPCR).

University of Mosul

College of Education for Girls

Biology Department

Phenotypic and Molecular Effect of Probiotics on the Growth of *Salmonella* Enteritidis and some of its Virulence Factors

Raya Talal Mahmood Aziz Gaddawi

M.Sc. thesis

Biology

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Rasmia Omar Sultan Al-Jobory

1444 A.H **2022 A.D**