

الكلية : الزراعة
القسم : علوم الأغذية
التخصص : علوم الأغذية
عنوان الرسالة :
عذرأ عودة حسين الجبوري
أسم الطالب :
أسم المشرف : أ.م.د. خديجة صادق جعفر الحسيني
الشهادة : ماجستير
أ.م.د. منال بادي صالح التميمي

عزل وتشخيص بكتيريا *Vibrio spp* من بعض الاسماك المتداولة في الاسواق المحلية لمدينتي البصرة والناصرية ودراسة بعض خواصها

ملخص الرسالة:

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بكتيريا الضمات *Vibrio spp* من الاسماك الطازجة والمجمدة وهي الصبور *Tenualosa ilisha* والكارب الفضي *Hypophthalmichthys molitrix* والبنّي *Barbus sharpeyi* والشانك *Spondylisoma cantharus*، إذ جمعت 210 سمكة من اسواق محافظة البصرة (سوق البصرة الكبير والشار والتنومة وخمسة ميل) بينما جمعت 150 سمكة من الكارب الفضي والبنّي والشانك من اسواق محافظة الناصرية (السوق الكبير وسوق هرج)، استمرت عملية جمع العينات للفترة من 6/2 ولغاية 2013/11/30. جُلبت الأسماك إلى المختبر وأخذت العينات منها وزرعت مباشرة على الأوساط الزرعية (الأكار المغذي، أكار الدم، أكار الماكونكي، الوسط الانتقائي (ثيوسلفات - سترات - السكروز الصفراوية الصلب TCBS) ثم حُضنت الأطباق هوائياً في درجة حرارة 37 لمدة 18-24 ساعة. وتم تشخيص 30 عزله من بكتيريا الضمات وشُخص الجنس بالاعتماد على شكل المستعمرات والخلايا تحت المجهر وفحص أنزيم الكاتاليز وأنزيم الأوكسيداز وفحص الحركة بعدها شُخصت الأنواع بالاعتماد على الفحوصات الكيموحيوية. واستعمل نظام API20E التاكديدي، إذ تم تشخيص نوعين من بكتيريا *Vibrio* هي *Vibrio cholera*, *Vibrio fluvialis*. تم اجراء اختبارات مثل اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، وجد أن كافة عزلات ضمات الكوليرا *Vibrio cholera* امتلكت مقاومة بنسبة 100% لمضاد Aztreonem، إلا ان بعضها امتلك مقاومة بسيطة وينسبة 45% لمضاد Amoxicillin-clavulanic acid و Nalidixic acid، كذلك فان جميع عزلات بكتيريا *Vibrio fluvialis* ابدت مقاومة لمضاد Aztreonem و Amoxicillin-clavulanic acid و Nalidixic acid وينسبة 100% و 75% و 25% على التوالي، في حين كانت جميع العزلات من ضمات الكوليرا *Vibrio cholera* و *Vibrio fluvialis* حساسة للمضادات Trimethoprim\Tetracycline, Ciprofloxacin Chloramphenicol, Ampicillin, Amikacin Sulphamethoxazole وينسبة 100%. امتازت عزلات *Vibrio cholera* و *Vibrio fluvialis* بنسبة تحمل للموضوعة تصل الى 100% عند ارقام هيدروجينية 5.0 و 5.5 و 6.0 و 6.5 و 7.0 و 7.5 و 8.0، بينما لوحظ ان نسبة تحمل الحموضة لبكتيريا *Vibrio cholera* بلغت 60% عند رقم هيدروجيني 4.5، في حين ان بكتيريا *Vibrio fluvialis* كانت اكثر تحملاً وينسبة تصل الى 20% و 50% عند رقم هيدروجيني 4.0 و 4.5 على التوالي. وبينت الدراسة ان قابلية ضمات الكوليرا *Vibrio cholera* على مقاومة الملح بلغت 60% و 100% عند تركيز ملحي 6% و 7% على التوالي، بينما لم تستطع العزلات النمو عند تركيز ملحي 8% و 9%. وكانت عزلات *Vibrio fluvialis* مقاومة للملحة وعند كافة التراكيز ولكن بنسب مختلفة بلغت 100% عند تركيز 6% و 7% و 40% عند تركيز 8%، بينما عند تركيز ملحي 9% كانت هناك عزلة واحدة مقاومة وينسبة 20% وهي من ضمن العزلات المأخوذة من اسماك البني المجمدة المأخوذة من سوق البصرة الكبير. استطاعت كافة عزلات البكتيريا من مختلف المصادر النمو بدرجة حرارة 25 م و 37 م وكذلك بدرجة حرارة الغرفة والتي كانت 15 م° وقت اجراء التجربة، إلا ان بعض عزلات بكتيريا الضمات استطاعت النمو بكثافة قليلة جداً على درجة حرارة 5 م ولم تستطع أي من هذه العزلات النمو في درجة حرارة 20 م-. اوضحت النتائج باستخدام تقنية (PCR) Real time لاجل الكشف عن الجينات المسؤولة عن انزيم hemolysin في *Vibrio spp*. ان (27) عزلة من *Vibrio cholera* و (3) عزلات من *Vibrio fluvialis* تمتلك الانزيم المحلل لكريات الدم الحمراء والذي يُعد من التوكسينات التي تمتلكها انواع *Vibrio spp*. ولها دور في حدوث الامراض.

College: Agriculture Dept: food Science Name of student HALA YHYA EESA AL-ROBEAY

Name of supervisor: Asst. Prof. Khadeeja S. J. Al- hossany.

Asst. Prof. Al-Tememy

Manal P.S

Certificate : MSc

Specialization : food Science

Isolation and diagnosis the *Vibrio spp* bacteria from some fish Handling in local market of Basrah and Nasiriyah and study some properties

Abstract of Thesis

This study included isolating and identifying *Vibrios* bacteria that taken from multi-kinds of fresh and frozen fish, such as Suoboor *Tenualosa ilisha*, Silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*, Beni *Barbus sharpey* and Shanak *Spondylisoma cantharus*, we collected 210 fish from Basrah market (Big market in Basrah, Al-Ashar, Al- Tanoma and Khmsa meel) while we collected 150 fish from Silver carp, Beni and Shanak from Nasiriyah market (Big market and Harj market) this collecting process of samples taken a period from 2-June to 30- November \2013.

These fish bring to laboratory and the samples taken from it and planted directly on agricultural medians. (nutrient agar, blood agar, MacConkey agar and selective media (Thiosulphate Citrate Bile salt Sucrose Agar TCBS) then the dishes were incubated aerobically at temperature 37°C for 18 – 24 hours. After the period of incubation, we were identifying 30 positive samples from *Vibrios* and this genus relied to the shape of cultures and cell under microscope and by Catalase test, Oxidase test and motion test after that identifying the types relied to biochemical tests and using certain API20E system, that indenting two kinds from *Vibrios* bacteria *Vibrio cholera* and *Vibrio fluvialis*. these bacteria were isolated from fresh fish more than frozen fish. Some tests was did such as sensitivity of antibiotics test, that all *Vibrios cholera* bacteria have resistant on 100% opposite Aztreonem, but some of its have simple resistant about 45% opposite Amoxicillin-clavulanic Acid and Nalidixic Acid bacteria, also *Vibrio fluvialis* bacteria have resistant opposite Aztreonem, Amoxicillin-clavulanic Acid and Nalidixic Acid on 100%, 75% and 25% respectively, while all isolation of *Vibrio cholera* and *Vibrio fluvialis* have sensitive of Amikacin, Ampicillin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Tetracycline, Trimethoprim / Sulpha-methoxazole on 100%. *Vibrio cholera* and *Vibrio fluvialis* bacteria to be distinguished by percentage of durability of acidity to reach to 100% at pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 and 8.0, while we observed that the percentage of durability of acidity for *Vibrio cholera* bacteria reach to 60% at pH 4.5, but the *Vibrio fluvialis* bacteria was more resistant to acidity on 20% and 50% at pH 4.0 and 4.5 respectively. The study showed to the ability of *Vibrio cholera* bacteria to resistant for salinity was reach to percentages 60% and 100% at concentrations 6% and 7% respectively, but it didn't grow on concentrations 8% and 9%. For the *Vibrio fluvialis* bacteria was resistant in salinity in all concentrations but with different percentage reach to 100% at concentrations 6%, 7% and 40% at concentration 8%, but at concentration 9% there is only one sample had resistant on 20% it was from frozen sample of Beni fish which taken from Big market in Basrah. All isolation from different sources could growth in 25 and 37 °C and in room temperature 15 °C through worked in this experiment, but some isolation of *Vibrios* bacteria could growth with little density in 5 °C, while it couldn't growth in -20 °C. Results clarified When we used PCR technology (Real Time) for discovering about the responsible genetic from hemolysin enzyme in *Vibrio spp.*, that 27 samples from *Vibrio cholera* bacteria and 3 samples from *Vibrio fluvialis* bacteria have this Enzyme who analyzed red blood cell (RBC) which considered from Toxins that belong to multi *Vibrio spp.* that assist to sick.