مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 19 العدد 3 سنة 2014
إيمان حمزة \أحلام كاظم ISSN 1997 - 4290

*الفعالية ضد الميكروبية للبكتريوسين المنتج من قبل بكتريا *Lactobacillus salivarius* تجاه الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام

إيمان حمزه محمد أحلام كاظم نعيم

جامعه الكوفه / كلية التربيه للبنات / قسم علوم الحياة

الخلاصة:

جمعت 155 عينة من مصادر سريرية مختلفة شملت 20عينات مسحات مهبلية ، 8 عينه مسحات اللعاب ، 6عينـة حليب من أمهات مرضعات للفترة من تشرين الاول-2012 لغاية آذار-2013. بينت نتائج العزل والتشخيص المختبري والاختبارات البايوكيمياوية عائدية 34عزلة لبكتريا *Lactobacillus salivarius* وكانت أعلى نسبة عزل للبكتريا (33.3%) من عينات المهبل. أظهرت جميع عزلات بكتيريا *Lactobacillus salivarius* فعالية ضد ميكروبية تجاه بعض الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام وقد تراوحت اقطار مناطق التثبيط بين (2-8)سم، كما أوضحت النتائج قابلية 4عزلات منتقاة على انتاج البكتريوسين. بينت النتائج ان قيم Rf للبكتريوسين المنتج من قبل عزلات بكتيريا *Lactobacillus salivarius* تراوحت بين (3.2-4.5) لراسب البكتيريوسين وبين (4.3-6) لراشح البكتريوسين ، وكان راشح البكتريوسين اكثر فاعلية في التثبيط مقارنة مع راسب البكتريوسين.

<u>المقدمة :</u>

تعد بكتيريا الـ *Lactobacillus* من الاحياء المجهرية المكونة للنبيت الطبيعي Normal flora للانسان اذ تتواجد في عدة اماكن من الجسم مثلا الفم والقناة الهضمية والقناه التناسليه وتلعب دوراً مهماً في المحافظة على التوازن البكتيري الطبيعي لهذه الاجزاء ، كما توجد في القناة الهضمية للعديد من الحيوانات ، فضلا عن انتشارها في الفواكه والخضر المتخمرة أذ تساهم في تحليل الكائنات الميتة (Liungh and Wadstorm, 2009). يعتبر جنس *Lactobacillus* من الاجناس البكتيرية الموجبة لصبغة غرام ، غير متحركة ،لاهوائية وغير مكونة للسبورات ولها القدرة على تخمير العديد من السكريات وأنتاج حامض اللاكتيك (Coeuret *et al* .,2003).

تعد بكتيريا *L.salivarius* احد اهم أنواع جنس الـ *Lactobacillus* وتعتبر من المعززات الحيويه المهمة لانها تمتلك العديد من العوامل مثل:

i. لها تأثير مهم في الحماية من الممرضات الغازية عن طريق الالتصاق او التنافس على المغذيات او تثبيط نموها والذي ينتج عن افراز البكتريوسينات وهي بروتينات قاتله للبكتيريا لها نشاط ضد ميكروبي Antimicrobial (Sherman *etal* .,2005).
ii. تحسين عمل حاجز الامعاء بواسطة تقليل نفاذية الطبقةالمخاطية (O’Tool and Cooney , 2008)
iii. تمتلك المعززات الحيوية نشاطات منظمة لمناعه المضيف immune regulatory activities إذ أشار Sierra وجماعته (2010) أن استهلاك *L.salivarius* المعزولة من الحليب تحسن مناعة المضيف بواسطة أنتاج (Interleukin-10 (IL-10 ورفع مستوى الاجسام المضادة بالاضافه الى زيادة عدد الخلايا القاتله الطبيعيه (NK) .

*بحث مستل من رسالة ماجستير

وهدف البحث الى تحديد قابلية البكتيريا على أنتاج البكتريوسين واستخلاصة ودراسة تأثيره على الاحياء المجهرية الممرضه.

المواد وطرائق العمل:

- عزل وتشخيص العزلات البكتيرية

جمعت 155عينه سريريه شملت (60) عينة من المهبل ،(80) عينة اللعاب و(15) عينة الحليب زرعت العينات على الوسط الزرعي الانتقائي Man Rogasa Sharpe .حضنت الاطباق بدرجه حرارة 37°م وتحت ظروف لاهوائية شخصت عزلات بكتريا *L.salivarius* وفقا للاختبارات البايوكيميائية والزرعية (MacFaddin, 2000).

- تحديد الفعالية ضد الميكروبيه لعزلات بكتيريا *L.salivarius*

درست الفعالية ضد الميكروبيه لعزلات تجاه بعض العزلات البكتيرية السالبة لصبغه غرام بأتباع طريقة التخطيط المتقاطع الموصوفه من قبل (Salih , 2003).تم تحديد منطقه التثبيط الظاهرة على جانبي خط نمو البكتيريا *L.salivarius* لتحديد فعالية البكتيريا اتجاه العزلات البكتيرية الداله.

- أستخلاص وتنقية البكتريوسين isolution and purification of bacteriocin

أتبعت طريقه Cotter وجماعته (2005) المحورة في ترسيب البكتريوسين المنتج من قبل *L.salivarius* وكما يلي:-

لقحت الدوراق الحاويه على 100 مليلتر من الوسط الزرعي (Brain Heart Infusion) السائل بمستعمرات فتيه (24ساعة) لـ 4عزلات من يكتريا *L.salivarius* تم انتقاءها اعتمادا على كفاءة النمو وفعاليتها تجاه الانواع البكتيرية السالبة لصبغه غرام. حضنت الدوارق بدرجة 37° م لمدة 72 ساعة تحت ظروف لاهوائيه ، نبذ المزروع البكتيري بسرعه 4000 دورة /دقيقة ولمده 15 دقيقة ثم نقل الراشح الى دورق نظيف وأعيد ترسيبه مرة أخرى بأضافه 60 مليلتر من الاسيتون لكل 100 مليلتر من الراشح وحفظ بدرجة حرارة 4°م. أهمل الراشح وترك الراسب ليجف ثم غسل بكحول اثيلي (70%) أعيد ترسيب البكتريوسين بـ (100) مايكروليتر من Tris-HCL (20µM) وذو آس هيدروجيني 7.2. ثم نقل المزيج الى أكياس الديلزة مغموره في محلول PBS (pH=8) بدرجة حرارة 4°م لمده 24 ساعة على ان يستبدل محلول(PBS (phosphate buffer saline كل 6ساعات. نقل المزيج الى أنابيب ابندروف وطرد مركزيا بسرعه 15000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة. نقل الراشح الى أنابيب ابندروف جديد وترك الراسب يجف.

- تشخيص جزئي للبكتريوسين بـTLC

Partial Characterization of Bacteriocin by TLC

أستخدمت تقنيه كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقه TLC في الكشف عن البكتريوسين المستخلص وذلك بمزج كميه قليله من الراسب مع 25 مايكروليتر من محلول صفيحة كروماتوغرافيا الطبقه الرقيقه TLC الذي يتكون من يتكون من (ماء مقطرD.W وحامض الخليك الثلجي وكحول ethanol المطلق بنسبة 100:60:20) كما مزج 10مايكروليتر من الراشح مع 15مايكروليتر من المذيب وضع المزيج في المكان المعلم لوضع العينات ونقلت رقائق الـ (TLC) الى جار الترحيل. ملئ الجار بالمذيب لمسافة قريبة من مكان وضع العينات على الرقائق ثم أغلق وتم ملاحظه الترحيل على فترات زمنيه. تم تظهير حزم البكتريوسين بعد انتهاء عمليه الترحيل باستخدام مادة النتهيدرين او باستخدام مصدر الاشعه فوق البنفسجيه UV-tranilluminator.تم قياس المسافه التي قطعها المذيب والمسافه التي قطعتها الحزم واحتساب Rf (Rotention Factor) على انها نسبه المسافه المقطوعه من قبل الماده الى المسافه المقطوعه من قبل المذيب ،صورت رقائق الـ TLC باستخدام كاميرا Sony (Verbitski *etal.*, 2008).

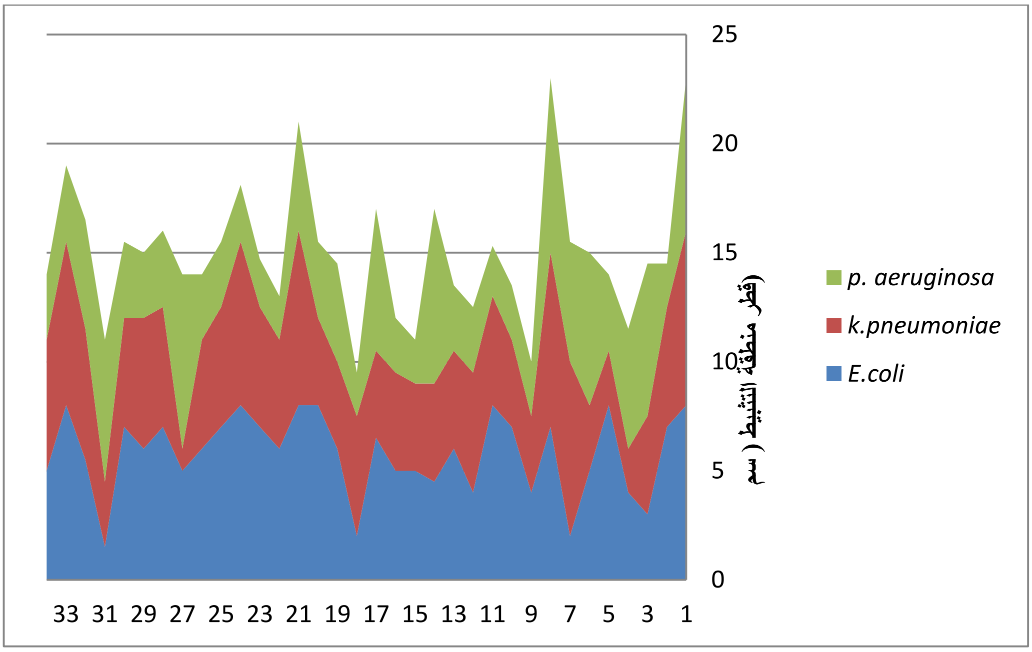
النتائج والمناقشة :

بينت نتائج العزل والتشخيص والاختبارات البايوكيميائية عائدية 34 عزلة بكتيرية لبكتيريا *L.salivarius* وفقا لنتائج التشخيص المجهري والاختبارات البايوكمياويه. بينت النتائج ان أعلى نسبة عزل بكتيريا الـ *L.salivarius* كانت من عينات المهبل وبنسبة (33.3%) تليها عينات اللعاب والحليب وبنسبة (10%) و (40%) على التوالي (جدول 1).

جدول (1): النسب المئوية لعزلات *Lactobacillus salivarius* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة.

مصادر العينات	عدد العينات	عدد العزلات *L. salivarius* (%)
المهبل	60	20 (33.3)
الحليب	15	6 (40)
اللعاب	80	8 (10)
المجموع الكلي	155	34 (21.935%)

تم الكشف عن الفعالية ضد الميكروبية لبكتيريا *L.salivarius* بأستخدام طريقه التخطيط المتقاطع تجاه بكتيريا الـ *E. coli* ، *K. pneumoniae* و *P. aeruginosa* حددت فعالية البكتريوسين من خلال قياس قطر منطقة التثبيط (شكل1).

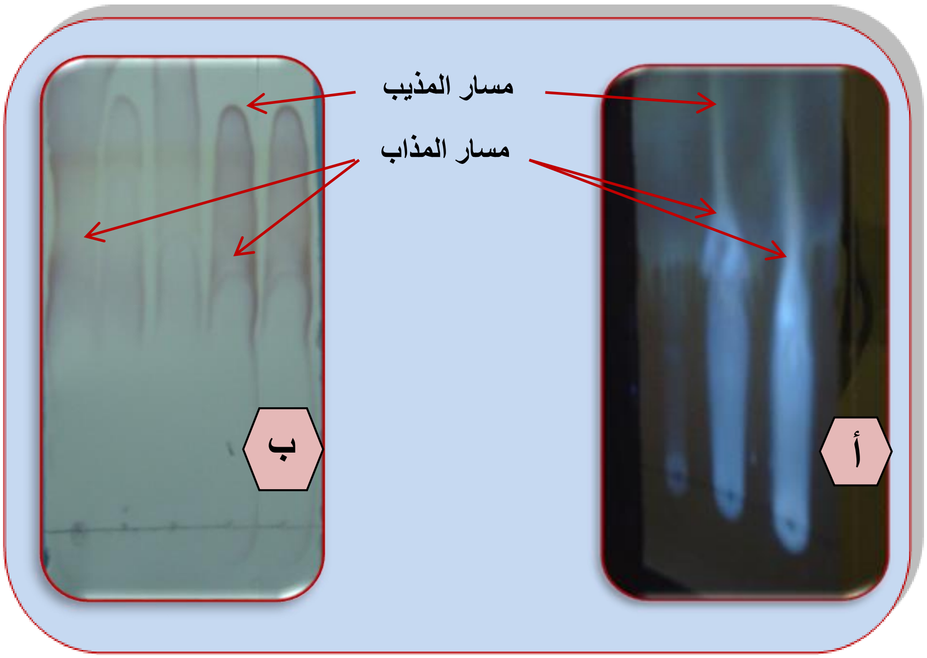


شكل (1): الفعالية ضد الميكروبية لعزلات بكتيريا *Lactobacillus salivarius* .

اجري تشخيص جزئي Partial identification للبكتريوسين المنتج من قبل بكتيريا *L.salivarius* بأستخدام تقنيه كروموتوغرافيا الطبقه الرقيقه (TLC) اذ تم انتقاء 4 عزلات من بكتيريا *L.salivarius* اعتمادا على نمو العزلات وفعاليتها ضد الميكروبية تجاة الانواع البكتيرية قيد الدراسة. تم احتساب قيمه(Rotation factor) Rf للعزلات المختبرة وفقا للمعادله التاليه :-

$$Rf = \frac{\text{المسافه المقطوعه من قبل الذاب}}{\text{المسافه المقطوعه من قبل المذيب}}$$

يبين الجدول (2) (الشكل 2) قيم Rf المحسوبه للبكتريوسين المنقى جزئيا فقد كانت المسافه المقطوعه من قبل المذيب هي (7.5 سم) وقد تراوحت قيم Rf لراسب البكتريوسين (0.45-0.6) في حين تراوحت قيم Rf لراشح البكتريوسين بين (0.69-0.8) . تم اختبار فعالية البكتريوسين المنقى جزئيا تجاه الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام وهي *E. coli*، *K. pneumonia* و *P. aeruginosa* وقورنت كفاءة الفعالية ضد ميكروبية مع فعالية بكتيريا *L.salivarius* المنتجة له. بينت النتائج تفاوتا ملحوظا في فعالية البكتريوسين اذ ان راشح البكتريوسين كان اكثر فعالية تجاه الانواع البكتيرية مقارنة مع راسب البكتريوسين، كما ان فعالية راشح البكتريوسين كانت مقاربة الى فعالية بكتيريا *L.salivarius* تجاه الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام جدول (3).



شكل (2): تشخيص جزئي للبكتريوسين المنتج من قبل *Lactobacillus salivarius* بتقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)

أ- تظهير موقع المركب باستخدام وحدة الاشعة فوق البنفسجية.

ب- تظهير موقع المركب باستخدام صبغة النهيدرين.

ت-

جدول (2): قيم Rf للبكتريوسين المستخلص من بكتيريا *Lactobacillus Salivarius*

رقم العينة	المسافة المقطوعة من قبل البكتريوسين (راسب)	عامل الـ RF	المسافة المقطوعة من قبل البكتريوسين (الطافي)	عامل الـ RF
17	4.3	0.57	5	0.66
21	4.5	0.6	5.2	0.69
27	4.3	0.57	6	0.8
29	3.4	0.45	5.2	0.69

جاءت نتائج التشخيص الجزيئي للبكتريوسين المنتج من قبل *L.salivarius* بتقنيه TLC متوافقة مع عدد من الدراسات التي أشارت الى ان قيمة Rf في عزلات بكتيريا *Lactobacillus* المنتجة للبكتريوسين تراوحت بين (0.54 -0.11) (Saranya and Hemashenpgam , 2013; Vodnar *etal* ., 2010).

جدول (3):الفعالية ضد الميكروبية للبكتريوسين المنقى جزئيا من عزلات بكتيريا *Lactobacillus salivarius*.

رقم العزله	الماده	قطر منطقه التثبيط (سم)		
		E. coli	*P. aeruginosa*	*K. pneumonia*
17	نمو بكتيري	1.2سم	1.3سم	1.2سم
	راسب المستخلص	1 سم	0.8 سم	1 سم
	راشح المستخلص	0.9 سم	0.5 سم	0.6 سم
27	نمو بكتيري	/	0.9سم	/
	راسب المستخلص	/	1.5 سم	/
	راشح المستخلص	/	0.6 سم	/
29	نمو بكتيري	1.4 سم	1.2 سم	1 سم
	راسب المستخلص	1 سم	0.9 سم	1سم
	راشح المستخلص	0.5 سم	0.6 سم	0.2 سم
30	نمو بكتيري	0.9 سم	1.2 سم	/
	راسب المستخلص	0.1 سم	1 سم	/
	راشح المستخلص	0.6 سم	1.2 سم	/

تعد بكتيريا *L.salivarius* من النبيت الطبيعي لمناطق مختلفه في جسم الانسان (Ryan *etal*.,2008).اذ تمكن Yin وجماعته (2007) من عزل 32عزلـه *L.salivarius* من مصادر مختلفه في جسم الانسان ، بينما استطاع Jara وجماعتـه (2011) مـن عزل 48 عزل *L.salivarius* من عينات الحليب لنساء مرضعات. لم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع عبد علي (2005) التي أشارت الى عزل (30) عزلـه من *Lactobacillus* من اللعاب وكانت نسبة بكتيريا *L.salivarius* (20%) من عينات اللعاب في حين لم تحصل على اي عزلـه من عينات المهبل.

أوضحت النتائج ان عـزلات الــ *L. salivarius* المعزولـة مـن المهبـل كانـت اكثـر فعاليـة تجـاه البكتيريا المرضية مقارنة مع عزلات *L. salivarius* المعزولة من الحليب واللعاب.جاءت نتائج اختبار الفعالية الضـد ميكروبيـة لبكتيريـا *L. salivarius* متوافقـة مـع العديـد مـن الدراسـات التـي بينـت ان المـواد المنتجـة مـن قبـل بكتيريـا *L.salivarius* ولاسيما البكتريوسينات لهـا القابليـة علـى تثبـيط نمـو العديـد مـن الاحياء المجهرية المرضيه مثل *E. coli*، *P. aeruginosa*، *E. faecalis* و *K .pneumoniae* (Saranya and Hemashengam, 2013 ; Todorov and Dicks , 2007)، فقد أشـار Esteban وجماعته (2009) ان بكتيريا *L.salivarius* المعزولة من المهبل لها القابلية على افراز نوع من البكتريوسين له القابلية على تثبيط نمو عدد من الانواع البكتيرية وان هذه السلالات من البكتيريا تستعمل كبديل عن المضـادات الحيوية في علاج حالات اخماج المجاري البولية والتناسلية ، في حين بين Strahinic (2007) ان البكتريوسين المنتج من قبل بكتيريا *L.salivarius* المعزولـة مـن الفم لـه طيـف واسـع مـن النشاط ضـد العديـد مـن الانـواع البكتيرية السالبة والموجبة لصبغة غرام.

أوضـح Cheng وجماعتـه (2007) ان بكتيريـا *L.salivarius* لهـا القدرة علـى تثبيط نمو بكتيريـا *E. coli* المسببه لاسهال المسافرين اذ بلغ قطر منطقه التثبيط (>23mm). بينت دراسات أخرى ان إنتاج البكتريوسين والمـواد الشبيهة بالبكتريوسين من قبـل بعض سـلالات *L.salivarius* المعزولـة من أوراق الاعشـاب ، مهبـل الانسـان ومـن الحيوانـات لهـا فعاليـة قاتلـة bacteriocidal effect ضـد العديـد مـن الانـواع البكتيريـة (Juarez Tomas *etal*., 2002 ; Robredo and Torras., 2000 ; Arihara *etal*., 1996).

من ناحيه أخرى بينت بعض الدراسات ان بكتيريا *L.salivarius* تمتلك نشاطا ضد ميكروبياً تجاه العديد من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام ويعزى ذلك اما الى إنتاجها عدة انواع من المضادات الحيوية ذات التـأثير

القاتل للاحياء المجهرية الأخرى (العجيلي ،2003)، أو قد يعود السبب الى إنتاج غاز CO_2 أثناء عملية التخمير والذي يعمل على توفير ظروف لاهوائيه مما يعيق نمو الاحياء الهوائية الاجبارية (Khalid *etal* .,1999)، كما بين الـ Zoubaidy (2008) ان بكتيريا الـ *L.salivarius* تمتلك القدرة على إنتاج مركبات عديدة مثل الاستيل الديهايد وثنائي الاستيل التي تمتلك قدرة تثبيطيه ضد عدد من الاحياء المجهرية. أشارت بعض الدراسات ان الفعل التثبيطي لبكتيريا *L.salivarius* تجاه العديد من الاحياء المجهرية ممكن ان يعزى الى الفعل التآزري للبكتريوسين المنتج من قبل البكتيريا ولحامض اللاكتيك، او قد يعزى الى حامض اللاكتيك المنتج والرقم الهيدروجيني المنخفض واللذان يعملان على زيادة نفاذية الغشاء الخارجي خصوصا في البكتيريا السالبة لصبغة غرام مما يجعلها ضعيفه وتتأثر بالبكتريوسين المنتج (Milos and Michele , 2012 ; Alakomi *etal* ., 2000).

البكتريوسينات هي ببتيدات او معقدات ببتيديه (30-60 حامض اميني) تفرز من قبل بعض انواع الخلايا البكتيرية كمواد خارج خلويه، وتكون ذات تأثيرات مثبطة لنمو البكتيريا Bacteriostatic او قاتلة للبكتيريا Bactericidal (Arihara *etal*., 1996) تعزى الفعالية العالية للبكتريوسين ضد الانواع البكتيرية الى مقدرته على تكوين فتحات في طبقات الفوسفات المزدوجه bilayer phosphate الموجودة ضمن الغشاء السايتوبلازمي مما يؤدي اعاقة القوه المحركه للبروتونات (Saranya and Hemashenpagam., 2013).

أكدت العديد من الدراسات ان البكتريوسين المنتج من قبل بكتيريا *L.salivarius* والذي يشبه Salivracine P يمتلك القابلية على تثبيط الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام (Bisson *etal*., 2012 ; Flynn *et al*., 2002 ; Jack *etal*.,1995).ان التفاوت في فعالية البكتريوسين المستخلص والمنقى بشكل جزئي مقارنة مع المفرز من قبل الخلايا الحية ممكن ان يعزى الى كفاءة المادة المستخلصة فقد بين Lamendella وجماعته (2011) ان البكتريوسين المنتج من قبل بكتيريا *Lactobacillus* داخل الجسم الحي يكون ذو نشاط كبير تجاة البكتيريا السالبة لصبغة غرام اذ ان الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام خارج الجسم الحي تكون غير حساسة للبكتريوسين المنتج من قبل الانواع الموجبة لصبغة غرام.

المصادر:

1. عبد علي ، زهراء محمد .(2005). دراسة بعض الجوانب الوراثية لبكتيريا الـ *Lactobacillus* المعزولة من مصادر مختلفة.رسالة ماجستير.كلية العلوم- جامعة بابل.
2. العجيلي ، اسامة عبد الكاظم مهدي. (2003). تأثير راشح مستنبتات بكتريا حامض اللاكتيك على بعض انواع البكتريا المعوية. رسالة ماجستير. كلية العلوم- الجامعة المستنصرية.

1. Alakomi, H.L.; Skytt, E.; Saarela, M.; Mattila-Sandholm, T.; Latva-Kala, K. and Helander, I.M.(2000). Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. Appl. Env. Microbail .66: 2001–2005.
2. Al-Zoubaidy ,L. A. (2008). Characterization and selection of *Lactobacillus* species to eradicate pathogenic bacteria causing urinary tract infection. Appl. Env. Microbiol.71(3) :1-13.
3. Arihara, K.; Ogihara, S.; Mukai, T.; Otoh, M. and Kondo,Y.(1996) .Salivacin 140, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* subsp. *salicinius* T140 active against pathogenic bacteria. Lett. Appl. Micr.22: 420–424.
4. Bisson, E.; Sturme, H.M.; Jeffery, I.B.; Neville, B.A.; Forde, B.M.; Claesson, M.J.; Harris, H.; Gardiner, G.E.;Casey, P.G.; Lawlor, P.G. and Ross, R.P.(2012). Effect of *Lactobacillus salivarius* Bacteriocin Abp118 on the Mouse and Pig Intestinal Microbiota.PLOS.ONE.7 (2):31113.
5. Cheng, C.T.; Pei, P.L. and You, M.H.(2007). Antimicrobial susceptibility Three *Lactobacillus* strains from healthy infant stool inhibit enterotoxigenic Escherichia coli grown in vitro. Anaerobe .14 :61–67.

6. Coeuret,V.; Dubernet, S.and Bernardeau, M. (2003). Isolation, characterization and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait.* 83: 269-306.
7. Cotter, P. D.; Hill, C. and Ross, R. P.(2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. Nat. Rev. Microbiol. 3(10):777–788.
8. Esteban V. P.; Elvira M.H.; Nader-Macıas, M.E. and Sesma, F. (2009) .Characterization of salivaricin CRL 1328, a two-peptide bacteriocin produced by *Lactobacillus salivarius* CRL 1328 isolated from the human vagina .Res. Micr.160:401-408.
9. Flynn, S.; van Sinderen, D.; Thornton, G.M.; Holo, H.; Nes, I.F. and Collins, J.K.(2002).Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118,a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium *Lactobacillus salivarius* subsp . *salivarius* UCC118.J. Microbiol.148:973-984.
10. Jack, R.W.; Tagg, J.R. and Ray, B. (1995). Bacteriocins of gram-positive bacteria. Microbiol. Rev . 59 :171-200.
11. Jara, S.; Magaly S.; Rodrigo V.; Jaime C. and Erica C.(2011). The inhibitory activity of *Lactobacillus* spp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin. Anaerobe. 17:474-477.
12. Juarez Tomas, M.S.; Bru, E.; Wiese, B.; de Ruiz Holgado, A.A.P. and Nader-Macias, M.E.(2002). Infl uence of pH, temperature and culture media on the growth and bacteriocin production by vaginal *Lactobacillus salivarius* CRL1328. J. Appl. Microbiol.93:714-724.
13. Khalid, F.; Siddiqi, R. and Mojgani, N.(1999). Detection and aduced by aclinical isolate of Lactobacilli .Karachi 75270, Paskistan.
14. Lamendella, R.; Domingo, J.W.; Ghosh, S.; Martinson, J. and Oerther, D.B. (2011).Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine gut. BMC. Microbail.11: 103.
15. Liungh, A. and Wadstorm, T.(2009). *Lactobacillus* Molecular Biology :From Genomics to Probiotics.Caister Academic Press.U.S.A.pp:578-603.
16. MacFaddin, J.E. (2000). Individual biochemical tests for identification of medical bacteria.3th ed. Lippincott Williams Wilkins. London.
17. Milos B. and Michèle D.(2012). Antimicrobial Agents . Inter. J. 4:127–134.
    a. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj .38:109-113.
18. O’Toole, P.W. and Cooney, J.C .(2008). Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. Inter.discip. Perspect. Infect. Dis. 2008:ID175285.P.8.
19. Robredo, B. and Torres, C.(2000). Bacteriovin production by *Lactobacillus salivarius* of animal origin. J. Clin.Microbiol.38: 3908-3909.
20. Ryan, K.A.; Daly, P.; Li, Y. and Hooton, C. (2008). Strain-specific inhibition of Helicobacter pylori by *Lactobacillus salivarius* and other *lactobacilli*. J.Anti. Chemotherapy . 61: 831-834 .
21. Salih, S.M. (2003). Serological study, Pathogenicity trial for preparing vaccine from *Helicobacter pylori* locally isolated. Ph.D. thesis, University of Tikrit. Medical Microbiology. Iraq.
22. Saranya, S. and Hemashenpgam, N.(2013).purification and characterization of bacteriocin production by different *Lactobacillus* species isolated from fermented food.Int.J.Micr. .5(1):341-348.
23. Sherman, P.M.; Johnson-Henry, K.C.; Yeung, H.P. ; Ngo, P.S. and Goulet, J. (2005). Probiotics reduce enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7- and

enteropathogenic E. coli O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. Infect Immun 73(8): 5183–5188.

24. Sierra, S.; Lara-Villoslada, F.; Sempere, L.;Olivares, M.; Boza, J. and Xaus, J. (2010).Intestinal and immunological effects of daily oral administration of Lactobacillussalivarius CECT5713 to healthy adults. Anaerobe 16(3): 195–200.
25. Strahinic, I; Busarcevic, M; Pavlica, D; Milasin, J; Golic, N. and Topisirovic, L.(2007). Molecular and biochemical characterizations of human oral *lactobacilli* as putative probiotic candidates. Oral Microbiol. Immunol. 22: 111–117.
26. Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2007). Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolate from boza. Brazil. J. Microbail.38:166-172.
27. Verbitski, S.M.; Gourdin, G.T.;Ikenouye, L.M.; McChesney, J.D.; Hildreth, J. (2008).Detection of Actaea racemosa adulteration by thin-layer chromatography and combined thin-layer chromatography -bioluminescence. J.AOAC Inter. Mar.-Apr. 91(2):268-275.
28. Vodnar, D.C., Paucean, A.; Dulf, F.V.; Socaciu, C.**(** 2010). HPLC Characterization of lactic acid formation and FTIR fingerprint of probiotic bacteria during fermentation processes.
29. Yin, L.; Carlos, C.; Fang F.; Emma R.; Kieran, A.; Ryan, K.F.; van Pijkeren, J.P. and van Sinderen, D.(2007). Distribution of Megaplasmids in *Lactobacillus salivarius* and Other *Lactobacilli*. J. B.189(17):6128-6139.

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 19 العدد 3 سنة 2014
ISSN 1997 - 4290 إيمان حمزة \أحلام كاظم

*Hits against microbial bacteroicin the product by bacteria *Lactobacillus salivarius* toward the negative bacterial species to dye gram

Eman Hamza Mohamed, Asst. Prof. Dr.Ahlam K.N. AL-Yasseen

University of Kufa / College of Education for Girls / Department of Life Sciences

Summary

collected 155 samples from various clinical sources included 20 samples of vaginal swabs, 8 saliva swabs, 6 sample milk of lactating mothers for the period of October -2012 until March -2013. The results of the isolation and laboratory diagnosis and biochemical tests the ownership of 34 isolated bacteria *Lactobacillus salivarius* and the highest percentage isolate bacterial (33.3)% of the samples of the vagina. All isolates showed bacteria *Lactobacillus salivarius* effectiveness of the microbial against toward some negative bacterial species to dye grams diameters ranged between inhibition zones (8-2) cm, as results showed portability 4 isolates selected to produce bacteriocin. The results showed that the Rf bacteriocin values produced by the bacterium *Lactobacillus salivarius* isolates ranged from (5.4 to 2.3) for deposit bacteriocin and between (6-4.3) for leaky bacteriocin, The Leaky bacteriocin was more effective in the inhibition compared with deposit bacteriocin.

The Research is apart of on MSC. Thesis in the case of the First researcher