



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών
Επιστημών και Διαχείρισης
Περιβάλλοντος

Μεταπτυχιακή διατριβή

Μοριακή Ανίχνευση *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus* σε νωπό αγελαδινό γάλα

Φύλιος Αυγουστή

Λεμεσός, Μάϊος 2020

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή

Μοριακή Ανίχνευση *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus* σε νοπό αγελαδινό γάλα

του

Φύλιου Αυγουστή

Λεμεσός, Μάϊος 2020

Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

Μοριακή Ανίχνευση *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*,
Staphylococcus aureus σε νωπό αγελαδινό γάλα

Παρουσιάστηκε από

Φύλιο Αυγουστή

Επιβλέπων καθηγητής: Όνομα και ιδιότητα

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Όνομα και ιδιότητα

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Όνομα και ιδιότητα

Υπογραφή _____

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Ιούνιος 2020

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Φύλιος Αυγουστή, 2020

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών,
Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου
δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του
Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα καθηγητή μου Κύριο Μπότσαρη Γιώργο, για την συνεχή επίβλεψη και καθοδήγηση του κατά την διάρκεια των πειραμάτων καθώς και κατά την διάρκεια συγγραφής της παρούσας διατριβής. Επιπρόσθετα, τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το μέρος μου αναθέτοντας μου την παρούσα μελέτη και ένα τόσο ιδιαίτερο θέμα που αφορά ολόκληρη την Κύπρο. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους διδακτορικούς φοιτητές Μαρκαντώνη Νικόλα και Μιχαήλ Χριστόδουλο, όπου με τις πολλές και χρήσιμες γνώσεις τους στην μικροβιολογία, στην απομόνωση του DNA και στην χρήση εξελιγμένων μηχανημάτων, βοήθησαν στο μέγιστο την εκπλήρωση των πειραμάτων. Επίσης, ευχαριστώ, το Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου και όλο το ακαδημαϊκό προσωπικό για τις πολύτιμες γνώσεις τις οποίες αποκόμισα κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Εν τέλει, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τα κοντινά μου πρόσωπα και τους φίλους μου, όπου με την συμπαράσταση τους και την μεγάλη υπομονή που έδειξαν προς το πρόσωπο μου, με βοήθησαν στην ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αναφέρεται στην μοριακή ανίχνευση τριών παθογόνων μικροοργανισμών, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, καθώς και στην απομόνωση DNA από νωπό αγελαδινό γάλα. Τα δείγματα πάρθηκαν από 51 κτηνοτροφικές εκτροφές από όλη την Κύπρο με την βοήθεια των Κτηνιατρικών Υπηρεσιών. Για την απομόνωση του DNA χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι. Οι πρώτες δύο ήταν γρήγορες και φτηνές μέθοδοι που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο. Η τρίτη μέθοδος αφορά ένα εργαστηριακό kit της εταιρείας QIAGEN το οποίο χρησιμοποιείται ανά το παγκόσμιο. Μετέπειτα ακολουθεί σύγκριση των τριών μεθόδων μεταξύ τους. Ο δεύτερος σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μοριακή ανίχνευση τριών παθογόνων μικροοργανισμών, ούτως ώστε, να μελετήσουμε τον επιπολασμό τους. Η μοριακή ανίχνευση χρησιμοποιεί το απομονωμένο DNA από τον πρώτο σκοπό. Από τα αποτελέσματα παρατηρούμε πως το Hp3 Mastitis Kit είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος από τις τρεις που έχουν διενεργηθεί στο πείραμα. Από τα αποτελέσματα της PCR παρατηρούμε πως παρ' όλο που ορισμένα δείγματα συσχετίζονται μεταξύ τους, το Hp3 Mastitis Kit είναι πιο ευαίσθητη και εξειδικευμένη μέθοδος αφού χρειάζεται πιο λίγους κύκλους για να παρουσιάσει ένδειξη στο μηχάνημα της Real Time PCR, καθώς και παρουσιάζονται περισσότερα δείγματα θετικά στα παθογόνα από τις υπόλοιπες δυο.

Λέξεις κλειδιά: Μοριακή Ανίχνευση, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, νωπό αγελαδινό, QIAGEN bactotype Mastitis HP3 PCR Kit Handbook .

ABSTRACT

The present dissertation refers to the molecular detection of three pathogenic microorganisms, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, as well as the isolation of DNA from raw cow milk. The samples were taken from 51 livestock farms from all over Cyprus with the help of the Veterinary Services. Three methods were used to isolate the DNA. The first two were quick and inexpensive methods prepared in the laboratory. The third method involves a laboratory kit from QIAGEN, which is used worldwide. This is followed by a comparison of the three methods. The second purpose of this dissertation is the molecular detection of three pathogenic microorganisms, so that we can study their prevalence. Molecular detection uses isolated DNA for the first purpose. From the results we observe that the Hp3 Mastitis Kit is the most reliable method of the three that have been performed in the experiment. From the PCR results we notice that although some samples are related, the Hp3 Mastitis Kit is a more sensitive and specialized method as it requires fewer cycles to display the Real Time PCR machine, and more samples are positive in pathogens from the other two.

Keywords: Molecular Detection, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus*, raw cow milk, QIAGEN bactotype Mastitis HP3 PCR Kit Handbook.