IRAQI Academic Scientific Journals
العراقية المجلات الأكاديمية العلمية
مجلة كلية الكوت الجامعة
ISSN (E) : 2616 - 7808 II ISSN (P) : 2414 - 7419
www.kutcollegejournal.alkutcollege.edu.iq
k.u.c.j.sci@alkutcollege.edu.iq
عدد خاص لبحوث المؤتمر العلمي الدولي الخامس للإبداع والابتكار للمدة من 13 - 14 كانون الأول 2023

دراسة مقارنة لتأثير بعض المستخلصات النباتية الكحولية والمضادات الحيوية على بكتريا *staphylococcus aureus* المعزولة من المواد الغذائية

ا.م.د. حسن رحيم خضر [1] ، م د. عباس علي منشد [2] ، عائشة عماد سوادي [3] ، حسين علي كاظم [4]

انتساب الباحثين
[1، 3، 4] جامعة المثنى، كلية التربية للعلوم الصرفة، العراق، المثنى، 66001
[2] وزارة التربية، المديرية العامة لتربية المثنى، العراق، المثنى،66001

[1]hasan.raheem@mu.edu.iq
[2]Abbas0780755@gmail.com
[3] Shmss3877@gmail.com
[4]hussenalowan24@gmail.com

[1] المؤلف المراسل

معلومات البحث
تاريخ النشر: حزيران 2024

المستخلص
استهدفت التجربة دراسة درجة تلوث عينات المأكولات والوجبات السريعة المحلية في محافظة المثنى بأعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية حيث جمعت بصورة عشوائية من أسواق المدينة حوالي 41 عينة حيث منها المطبوخة كالأكلات الشعبية ومنها المصنعة مع بعض الفواكه والخضار والالبان تم عزلها وتشخيصها في مختبر الاحياء المجهرية في كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة المثنى ، تم تأكيد تواجد بكتريا *S.aureus* باستخدام الاوساط الزرعية الانتخابية واجراء الفحوصات المجهرية ، كما اجري العد البكتيري لبعض العينات المستخدمة لمعرفة العدد الميكروبي فيها ، واجري لها ايضا اختبار حساسية المضادات الحياتية لمعرفة مقاومتها للمضادات المستخدمة في المؤسسات الصحية حاليا . و تم معاملتها ببعض المستخلصات النباتية لمعرفة مقاومتها ، حيث بينت النتائج ان بكتريا *S . aureus* ان الاعداد المكروبية كانت اكثرا عددا في عينة الدجاج المطبوخ حيث كانت (141* 10^6 لكل مل/غرام)، واقل عدد ميكروبي كانت في عينة المأكولات السريعة (الساندويش) حيث كانت(228 *10^4 لكل مل/غرام) وقد بينت نتائج الدراسة في بكتريا *S.aureus* عند اجراء اختبار الحساسية للمضادات الحياتية للبكتريا الاكثر شيوعا وأظهرت نتائج الدراسة ان العزلات البكتيرية كانت اكثر تحسس للمضاد Ciprofloxacin واقل تحسسا للمضاد Azithromcyin واجريت ايضا على العزلات اختبار حساسية للمستخلصات النباتية فلوحظ ان العزلات كانت اكثر تحسس للمستخلص قشور الرمان ذات التركيز (10% و 20%) وبينما كانت اكثر مقاومة للمستخلص لبان الذكر ذات التراكيز (10% و20% و30%) بينما كانت مستخلص الجفت ذات التراكيز (20% و30 %) مقاومة لكل العزلات، واجريت هذه الدراسة لغرض البحث عن ايجاد بدائل للمضادات الحياتية طبيعية وامنة لمعالجة التسمم الغذائي بالمكورات العنقودية لمنع تطوير مقاومة البكتريا للمضادات .

الكلمات المفتاحية: اختبار الحساسية، المستخلصات النباتية، المكورات العنقودية، التسمم الغذائي، مقاومة المضادات

A Comparative Study Of The Effect Of Some Alcoholic Plant Extracts and Antibiotics on Staphylococcus Aureus Isolated from Foodstuffs

Asst. Prof. Hasan Raheem Khudhur[1] , Dr. Abbas Ali Manshd [2] , Aisha Emad Sawadi [3] , Hussein Ali Kazem[4]

Affiliations of Authors
[1, 3, 4] Al-Muthanna University, College of Education for Pure Sciences, Iraq, Al-Muthanna, 66001
2 Ministry of Education, Directorate of Education, Al-Muthanna, Iraq, 66001

[1]hasan.raheem@mu.edu.iq
[2]Abbas0780755@gmail.com
[3] Shmss3877@gmail.com
[4]hussenalowan24@gmail.com

[1] Corresponding Author

Paper Info.
Published: June 2024

Abstract
The experiment aimed to study the degree of contamination of local food and fast food samples in Al-Muthanna Governorate with the numbers of *Staphylococcus aureus* germs, where about 41 samples were collected randomly from the city's markets, where some of them were cooked as popular dishes, and some of them were processed with some fruits, vegetables and dairy. They were isolated and diagnosed in the microbiology laboratory in the College of Education. For pure sciences at Al-Muthanna University, the presence of *S. aureus* bacteria was confirmed using selective culture media and microscopic examinations. Bacterial counts were also conducted for some of the samples used to find out the microbial number in them, and an antibiotic sensitivity test was also conducted to find out their resistance to the antibiotics currently used in health institutions. And it was treated with some plant extracts to find out its resistance, as the results showed that the bacteria *S. aureus* that the microbial numbers were more numerous in the sample of cooked chicken, where it was (141 * 10^6per ml / g), and the lowest number The lowest number of microbes was in the fast food sample (sandwich), where it was (228 * 10^4 per ml / g). The results of the study showed in *S. aureus* bacteria when conducting a sensitivity test for antibiotics for the most common bacteria. The results of the study showed that the bacterial isolates They were more sensitive to Ciprofloxacin and less sensitive to(Azithromcyin). A sensitivity test for plant extracts was also conducted on the isolates. It was noted that the isolates were more sensitive to the extract of

pomegranate peels with a concentration of (10% and 20%). While it was more resistant to male frankincense extract with concentrations (10%, 20%, and 30%), while the peat extract with concentrations (20% and 30%) was resistant to all isolates. To prevent the development of bacterial resistance to antibiotics.

Keywords: Allergy testing, Plant Extracts, Staphylococci, Food Poisoning, Antibiotic Resistance

المقدمة

تعد المكورات العنقودية *staphylococcus spp* هي جراثيم موجبة لصبغة كرام تتميز بشكلها الكروي المنتظم يتراوح قطرها (um 1.5-0.5) موجبة لصبغة كرام (gram positive) تنقسم خلاياها لأكثر من مستوى لتعطي اشكالا ثنائية او رباعية او قد تكون على هيئة تجمعات عنقودية غير منتظمة ومن هنا جاءت تسمية المكورات العنقودية وهي غير متحركة وغير مكونة للسبورات وغير مكونة للكبسولة عدا بعض الانواع وهي نشطة ايضيا ولها القدرة على النمو على اوساط زرعيه متنوعة مستغلة الكربوهيدرات والاحماض الامينية كمصدر للكاربون والطاقة وعند مدى حراري واسع يتراوح بين (10-40) درجة مئوية ورقم هيدروجيني بين (4.8-9.4) وتنمو على اوساط تحتوي (NaCL 10%) [1] .

المكورات العنقودية جراثيم واسعة الانتشار في الطبيعة اذ توجد عموما على الجلد والاغشية المخاطية حيث ان كثافة المكورات العنقودية تصل الى (10^3 - 10^6 cell/cm^2) في المناطق الرطبة كالفتحات الانفية وكذلك تنخفض في المناطق الجافة كالجلد لتصل الى (10^1 - 10^3 cell / cm^2) وعزلت الجراثيم من المنتجات الحيوانية كاللحوم والحليب والاجبان ومصادر اخرى كالتربة والرمال ومياه البحار ، هذه البكتريا مقاومة لمختلف الظروف البيئية حيث بإمكانها تحمل الحرارة والجفاف والتجفيف حيث تنمو جيدا في الضغط الازموزي العالي والرطوبة القليلة وهذا يفسر نموها في الافرازات الانفية في العديد من الاصحاء [2].

تتسبب هذه البكتريا في اصابات خطيرة مثل حالات العدوى الجلدية العميقة وقد تنفذ الى الدم ، وسائر اعضاء الجسم، مسببة حدوث تسمم الدم ، التهابات رئوية ، التهابات صمامات القلب ، التهاب العظام وغيرها ، قد تؤدي الى الوفاة احيانا عند الاشخاص ذوي المناعة الضعيفة او المصابين بداء السكري او السرطان [3] .

إن تلوث المكورات العنقودية الذهبية للأبقار الحلوب والحليب الخام هو تفشي الأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية المرتبطة بمنتجات الألبان الملوثة ، مما يدل على أهمية المكورات العنقودية الذهبية على الصحة العامة [4] .تعتبر حيوانات الألبان هي المصدر الأكثر احتمالاً لتلوث الحليب الخام بالمكورات العنقودية الذهبية. لا يزال تلوث قطعان الألبان والحليب الخام بواسطة *S. aureus* يمثل مشكلة مهمة في إنتاج منتجات الألبان الغذائية ، تتجلى أهمية المكورات العنقودية الذهبية في الصحة العامة من خلال كثرة تفشي الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية الناتجة عن منتجات الألبان الملوثة ، من المحتمل أن تكون حيوانات الألبان هي المصدر الرئيسي لتلوث الحليب الخام بالمكورات العنقودية الذهبية [5].

تعد اللحوم الحمراء والبيضاء بصورة عامة من الاغذية المهمة والضرورية للمستهلك ، اذ تعد من المصادر البروتينية الرئيسية فضلا عن كونها غنية بالدهون والاملاح ، كما تعد من اهم وافضل الاوساط لنمو الاحياء المجهرية المختلفة المسببة بذلك اضرار صحية وذلك لسرعة تلفها ولكونها بيئة مناسبة لنمو انواع مختلفة من البكتريا الضارة والتي هي السبب في التسمم الغذائي [6].

تم توثيق وجود مسببات الأمراض في الخضروات المصنعة بشكل ضئيل وقدرتها على البقاء والنمو بشكل جيد ، المكورات العنقودية الذهبية(بما في ذلك المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين ، MRSA) هي واحدة من أكثر مسببات الأمراض شيوعًا في الغذاء وتعتبر مسؤولة عن أكثر أنواع التسمم شيوعًا في اللحوم والسلطات والحليب ومنتجات الألبان [7].

مجموعة متنوعة من الأطعمة يمكن أن تكون وسيلة للتسمم بكتريا المكورة العنقودية الذهبية ، إلى جانب التعرض للتلوث (البشري عادة) واستخدام المواد الخام والمكونات الملوثة (عادة ولكن ليس حصريًا من أصل حيواني) ، لذلك ، يعتبر أن بكتيريا *S. aureus* لديها قدرة ملحوظة على التكاثر في الأطعمة المختلفة ، في ظل الظروف المواتية ، يمكن أن يؤدي معدل النمو إلى تركيز كافٍ من السموم المعوية لإحداث فاشيات شديدة من التهاب المعدة والأمعاء، تعمل اللحوم ومنتجات الألبان وبعض الخضروات والأطعمة المطبوخة كوسيلة نمو ممتازة لدعم تكاثرها. من

المهم الإشارة إلى أنه ليست كل الأطعمة هي ركيزة مواتية لتطور الكائنات الحية الدقيقة ؛ في الواقع ، بعضها مثبط ، أنماط تطوير بكتيريا *S. aureus* في بعض الأطعمة مواتية (اللحوم النيئة ، الدجاج المطبوخ ، الجبن الطازج ، الحليب الخام) ، غير مواتية (الخضار النيئة ، اللحم المفروم)، ومثبط (الألبان الناضجة) [8].

اظهرت المكورات العنقودية مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الاصابات الناتجة عن هذه البكتريا وان المحاولات التي قام بها العديد من الباحثين لتحوير المضادات الحيوية او لإنتاج انواع جديدة منها لاقت نجاحا محدودا حيث ان جميع انواع المكورات العنقودية ابدت مقاومة عالية للمضادات الحيوية Penicillin , Tetracycline ,Erythromycin) [9].

وتعود اسباب مشاركة المكورات العنقودية في العديد من الاخماج الى امتلاكها عددا من عوامل الضراوة التي تمكنها من اختراق حواجز الجسم الطبيعية وقوى الدفاع المناعية والانتشار الى انسجة الجسم الأخرى المتمثلة بعوامل الالتصاق مثل بروتينات سطحية خلوية وتقوم المكورات العنقودية بإنتاج مجموعة من البروتينات الخارجية كالسم القاتل لخلايا الدم البيض والسم القاتل لخلايا الدم البيض [10].

المكورات العنقودية الذهبية هي واحدة من مسببات الأمراض الرئيسية المنقولة بالغذاء في المنتجات الطازجة والجاهزة للأكل والمعروفة بأنها تسبب التهابات مختلفة في جميع أنحاء العالم ، هناك العديد من الأمراض المنقولة بالغذاء المرتبطة بـ *Staphylococcus spp* ، حيث الباعة والمتجولين الذين يعانون من آفات المكورات العنقودية في الجلد ، وخاصة في منطقة البلعوم الأنفي واليدين ، أو الناقلين ، تم العثور على معظم تلوث لحم الدجاج بسبب *S. aureus* بسبب التلوث المتبادل ، وعدم كفاية المعالجة الحرارية للمواد الغذائية والتخزين غير السليم مما أدى إلى تفشي التسمم الغذائي [11].

تهدف هذه الدراسة الى كشف انتشار المكورات العنقودية في المواد الغذائية وتقدير الحمل الميكروبي في الاغذية بالإضافة الى تحديد مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية وقياس مدى تأثير المستخلصات النباتية على البكتيريا.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات:

تم جمع انواع مختلفة من المواد الغذائية من اماكن مختلفة من الاسواق المحلية في مدينة السماوة شملت العينات محلية الصنع كل من الاجبان ، الفواكه ، الخضروات ،الالبان وأعتمد جمعها من الباعة المتجولين كما شملت العينات الغذائية على عينات اللحوم البيضاء (الدجاج) في الاسواق المحلية وتم جمع كافة العينات الغذائية في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة .

العزل والتشخيص:

اخذت العينات من مواد غذائية وتم تنشيطها في وسط المرق المغذي Nutrient broth لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ، حيث اخذ 0.5 غرام او 0.5 مل من العينة مع 4.5 من Nutrient broth, بعدها زرعت العينات على الوسط ا لاكار المغذي بطريقة التخطيط المباشر و حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة لدراسة الصفات المزرعية والمجهرية بعدها اجريت عملية التنقية للمستعمرات على وسط . Mannitol Salt Agar بعدها تم إجراء عددا من الفحوصات التشخيصية لجميع العزلات إعتمادا على طريقة [12] لتشخيص المكورات العنقودية .

الصفات المزرعية:

شخصت العينات أوليا بملاحظة الصفات المزرعية للمستعمرات النامية من ناحية شكل المستعمرة، حجمها ، ارتفاعها ، حافاتها ، لونها وتأثيرها في الوسط مثل تحلل الدم وتخمرالمانتول ، وتم تنقيتها وذلك بإعادة زرعها على وسط الاكار المغذي (Nutrient agar) ثم حضنت بدرجة حرارة (37)م ولمدة (24)ساعة [13].

الفحص المجهري:

أجري الفحص المجهري لمعرفة استجابة العزلة البكتيرية لصبغة كرام (Gram stain) حيث تم أخذ جزء من مستعمرة نامية على وسط الاكار المغذي Nutrient agar) (بواسطة ناقل ثم عمل منها مسحة بكتيرية على شريحة زجاجية نظيفة وثم صبغها بصبغة كرام ثم تم فحصها بالمجهر الضوئي بإستعمال العدسة الزيتية وتم ملاحظة شكل ولون الخلايا البكتيرية [13]

العد البكتيري:

تم العد بطريقة الاطباق القياسية وهي من اكثر الطرق شيوعا لتقدير الاعداد البكتيرية.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

هو عبارة عن اختبار يتم استخدامه لمعرفة تاثير بعض انواع المضادات الحيوية على نوع معين من البكتريا وتعتبر طريقة

Kirby Bauerما يعرف ب Disc diffusion method اكثر الطرق شيوعا لمعرفة تاثير المضاد على البكتريا وذلك لسهولة عملها وسهولة اجرائها .اعتمدت طريقة Kirby Bauer لاجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية(Ampicillin , Azithromcyin ,Tetracycline ,Ciprofloxacin (Gentamicin , Amoxicilln/clavulanic acid , Clavulanic acid ,Chloramphenicol [14].

حساسية المستخلصات النباتية:

تحضير المستخلص النباتي الكحولي

تم تحضير المستخلص الكحولي لقشور الرمان وقشور البلوط(الجفت)على طريقة[15] حيث تم جمع قشور رمان قشور البلوط(الجفت) وتم غسلها من الشوائب وتم تجفيفه وطحن باودر وتم اخذ 25 gومن مسحوق قشور الرمان واضيف اليه 100 ml من كحول الايثانول بتركيز 70% في دورق زجاجي سعته 250 ml ومن ثم ترك الخليط في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37م(100 دورة /دقيقة) لاعطاء مجال اكبر لاستخلاص المادة الفعالة من العينة بعد ذلك رشح المحلول بواسطة عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من الجزيئات الغير الذائبة وبعد ذلك وضع الراشح في انابيب وكل انبوبة تحتوي 5 مل من الراشح ونقلت الانابيب الى جهاز الطرد المركزي بسرعة (5000 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق) لترسيب الاجزاء النبات العالقة والحصول على محلول رائق وبعدها تم الصب في طبق بتري ومن ثم ترك بالحاضنة لمدة 48ساعة لكي يتبخر الكحول ثم قشط المستخلص الكحولي من الاطباق ويتم خزنه في مكان بمعزل عن الرطوبة والضوء لحين الاستعمال[15] .

اما المستخلص الكحولي للبان الذكر تم تحضيرة حسب الطريقة الاتيه حيث تم جمع لبان الذكر وغسلها من الشوائب وتجفيفها وطحن باودر وتم اخذ 100 g ونذوبها في كحول 150 ml بتركيز 70% لمدة 24 hيرشح المحلول بورق الترشيح والراشح يوضع في الحاضنه لمدة 3 ايام بدرجة حرارة 40 لحين الجفاف تجمع المادة وتوضع في وعاء محكم وتخزن بالتبريد [16].

تحضير تراكيز المستخلصات لكل من قشور رمان ولبان الذكر وقشور البلوط (الجفت)

تم تحضر التراكيز المستحدمة من المستخلصات النباتية باذابة كمية معينه من المستحلصات المحضرة سابق في كميات معينه من المحلول الملحي المتعادل .[15] وحسب التالي:

1. حضر التركيز الاول 10% وبمقدار 100 مغلم/مل وذلك باضافة 100 مغلم من المستخلصات (قشور الرمان – لبان الذكر – قشور البلوط) في 1 مل من نورمال سلاين
2. حضر التركيز الثاني 20% وبمقدار 200 مغلم/مل وذلك باضافة 200 مغلم من المستخلصات (قشور رمان – لبان الذكر – قشور البلوط) في 1 مل من نورمال سلاين
3. حضر تراالتركيز الثالث 30% وبمقدار 300 مغلم/مل وذلك باضافة 300 مغلم من المستخلصات (قشور الزمان -لبان الذكر-قشور البلوط) في 1 مل من نورمال سلاين.

اختبار حساسية المستخلصات النباتية

1. وضعت اقراص من ورق الترشيح بشكل اقراص داخل كل تركيز من التراكيز المحضره سابقا ولمده 10 الى 15 دقيقه لضمان تشبع الاقراص بالماده الفعاله بعدها تم تجفيف لاقراص للاستعمال.
2. .طبقت طريقة Kirby Bauer للاقراص الحاملة للمستخلصات وكما في عمل المضادات الحياتية وبعدها تم قياس مناطق التثبيط[17].

النتائج والمناقشة

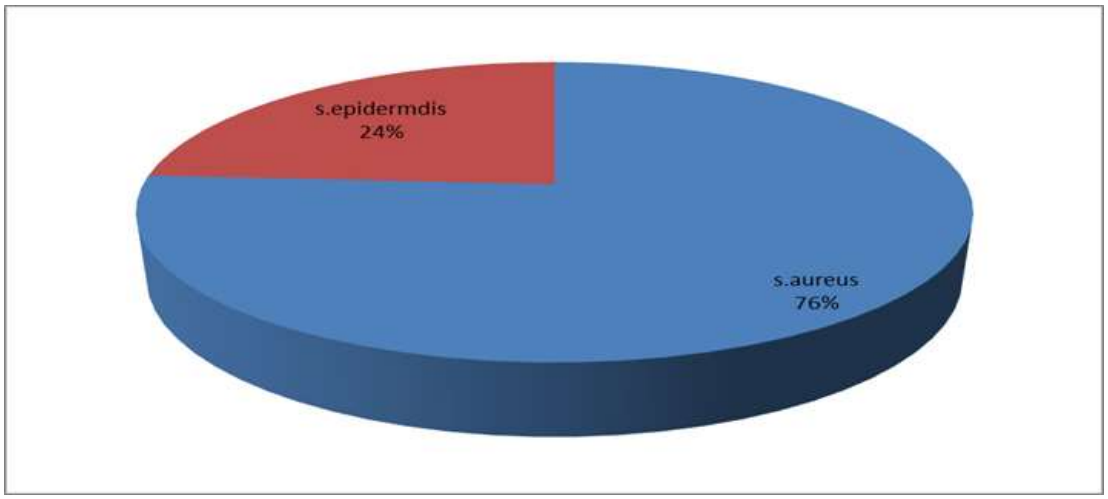
العزل والتشخيص:

اظهرت النتائج ان عدد العينات التي اعطت نتيجة موجبة للزرع المختبري (21) عينة شكلت حوالي نسبة (54.89 %) في حين كان عدد العينات التي اعطت نتيجة سالبة للزرع المختبري (20) شكلت حوالي نسبة (45.11 %) .

وهذه النتائج اتفقت مع ما جاء به الباحث [18] في دراسته والذي يبين ان عدد عزلات المكورات العنقودية التي تم الحصول عليها من العينات الغذائية (7) عزلات تشكل نسبة (45.45%) من العزلات البكتيرية الموجبة لصبغة كرام البالغة (13) عزلة . كما اشار الباحث [19] الى ان نسبة المكورات العنقودية التي تم الحصول عليها من عينات الغذائية (54.55%) من اصل (20) ، كذلك اشار الباحث [20] ان عدد المكورات العنقودية الموجبة لصبغة كرام التي تم الحصول عليها من اصل (100) عينة هي (47) وهذا ما يقارب نوعا ما نتائج دراستنا كما موضح في الشكل (1).

الشكل(1) النسبة المئوية للعينات الغذائية التي اعطت نموا على الوسط الزرعي

ان اختلاف النسب المئوية التي تم الحصول عليها توافق او تختلف مع دراسات سابقة اخرى ويعود التوافق والاختلاف الى جملة من الاسباب يقع في مقدمتها اختلاف الطرق والوسائل التي تم اخذ العينات بها ، اضافة الى كيفية التعامل مع العينات الغذائية من قبل الباعة كظروف الخزن التي تستخدم من قبلهم [21] كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان 16 عينة من اصل 21 اظهرت نتيجة موجبة على انها مكورات عنقودية ذهبية *S.aureus* و 5 عينات *S.epidermdis* كما في الشكل (2).



الشكل (2) النسبة المئوية للمكورات العنقودية في العينات الغذائية

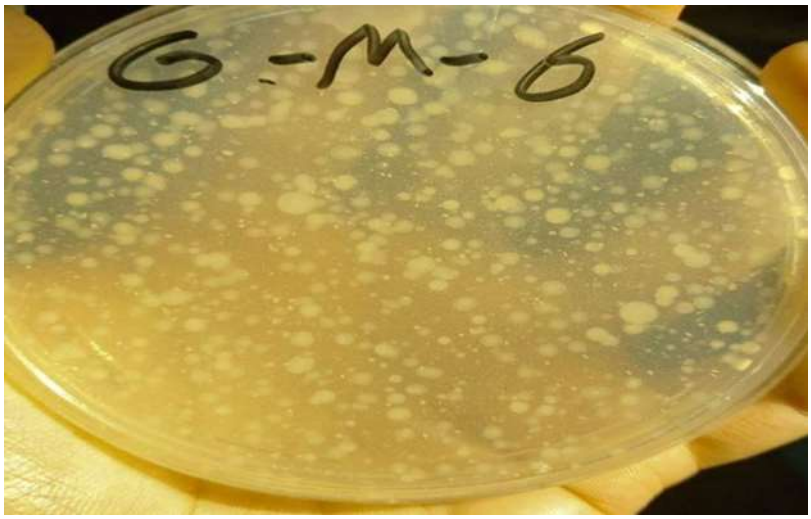
العد البكتيري

بينت نتائج الدراسة بعد اجراء العد البكتيري في عينات (حليب الماعز ، المأكولات السريعة ، الدجاج) ، حيث اظهرت نتائج العد البكتيري بعد زراعة البكتيريا على وسط Nutrient agar , ووضعت العينات في الحاضنة لمدة 24 ساعة بعدها تم العد البكتيري للمستعمرات النامية ، وكانت النتائج كما موضح في الجدول (1) والشكل (3).

الجدول (1) نتائج العد البكتيري للعينات المستخدمة

تسلسل	مقدار التخفيف	عدد المستعمرات في الطبق	عدد الخلايا الكلي لكل واحد مل
1	0.0001	270	$27 * 10^5$ خلية/مل
2	0.00001	228	$228 * 10^5$ خلية/مل

3	0.000001	141	141 * 10^6 خلية/مل



الشكل (3) يوضح العد البكتيري s.aureus على وسط Nutrient agar

هناك دراسة سابقة اجريت في سنة (2011) حيث عزل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية s.aureus من اللحوم المجمدة وقام بعدها بطريقة عد الاطباق (طريقة غير مباشرة) فلاحظ الباحث ان واحد من سبع عينات من الجمبري يحتوي على العد الجرثومي(10^3 Cfu/g) . بينما لاحظ ان اثنان من كل خمس عينات من الحبار يحتوي على العد الجرثومي (200 Cfu/g)[22].

كما قدم مجموعة من الباحثين سنة (2011) دراسة تطبيقية للتسمم الغذائي التجريبي بالذيفانات المعوية والعد الكلي للمكورات العنقودية الذهبية في محافظة ديالى حيث عزلوا بكتريا المكورات العنقودية من الجبن حيث اكدت دراسة الباحثين ان (إن لفصول السنة تأثير على العد الجرثومي الكلي TBC للجبن الطري ولجراثيم المكورات العنقودية الذهبية) [23].

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

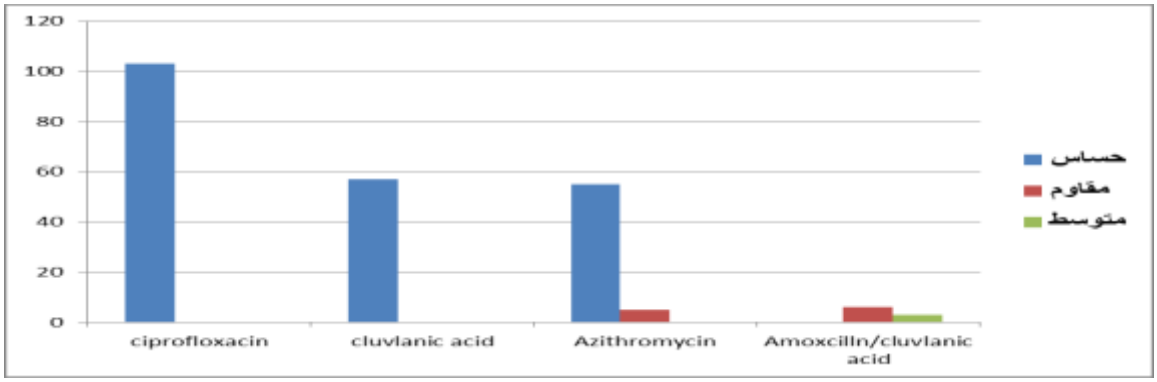
نتائج الدراسة الحالية وضحت اختلاف ايجابية البكتريا للمضادات الحياتية حيث ظهرت البكتريا مقاومة للمضادين (Azithromcyin , Amoxicilln/clavulanic acid) بينما اظهرت حساسية للمضادات الحياتية (Ciprofloxacin , Azithromcyin , Clavulanic acid) وعملنا هذه المضادات الحياتية مقارنة مع McFrender Standard بتركيز (⟦10⟧^5) كما هو مبين في الجدول (2).

الجدول (2) يبين نتائج المضادات الحياتية

التسلسل	العينة	المضاد الحيوي	قطر منطقة التثبيط	مقاومة البكتريا للمضاد
.1	حليب	CIP (Ciprofloxacin)	28mm	حساس
.2	المأكولات	CIP (Ciprofloxacin)	24mm	حساس
.3	المأكولات	CIP (Ciprofloxacin)	26mm	حساس
.4	حليب الماعز	CIP (Ciprofloxacin)	25mm	حساس
.5	حليب جاموس	CN (Clavulanic acid)	16mm	حساس
.6	المأكولات	CN (Clavulanic acid)	14mm	حساس
.7	المأكولات	CN (Clavulanic acid)	12mm	حساس
.8	حليب ماعز	CN (Clavulanic acid)	15mm	حساس
.9	حليب جاموس	AMZ (Azithromcyin)	15mm	حساس
.10	المأكولات	AMZ (Azithromcyin)	13mm	حساس

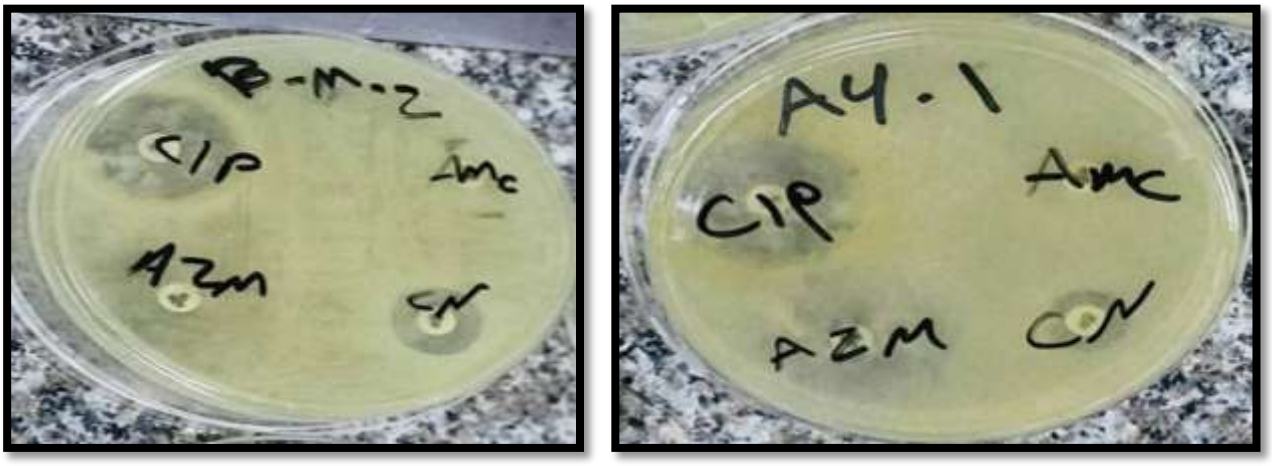
.11	المأكولات	AMZ (Azithromcyin)	27mm	حساس
.12	حليب ماعز	AMZ (Azithromcyin)	لم يعمل	مقاوم
.13	حليب جاموس	AMC	لم يعمل	مقاوم
.14	المأكولات	AMC	لم يعمل	مقاوم
.15	المأكولات	AMC	6mm	متوسط
.16	حليب ماعز	AMC	لم يعمل	مقاوم

اخذت (16) عينة من (حليب الماعز ، حليب الجاموس ، المأكولات السريعة 1، المأكولات السريعة 2) حيث اجري اختبار الحساسية لكل من المضادين (Ciprofloxacin , acid Clavulanic) فوجد ان كلا المضادين حساس ضد البكتريا في كل العينات ، بينما كانت نتائج الاختبار للمضاد (Azithromcyin) حيث كانت النتائج ان هذا المضاد حساس ماعدا عينة حليب الماعز كانت مقاومة ، بينما ظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضاد (Amoxicilln /acid clavulanic) مقاومة في كل العينات ماعدا عينة المأكولات السريعة 2 كانت نسبة الحساسية متوسطة ، كما موضح في الشكل (4) و (5).



الشكل (4) مخطط يوضح اختبار المضادات الحيوية لبكتريا *S.aureus*

تتزايد المقاومة بين سلالات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* في كثير من انحاء العالم وقد يعود ذلك الى الاستخدام الواسع للمضادات الحيوية في الوقاية والعلاج من الامراض وكذلك بسبب استعمال العشوائي لها اضافة لامتلاك البكتريا واكتسابها لعوامل وراثية تحمل صفة المقاومة للمضادات الحيوية وكذلك لشدة وتنوع الامراضية التي تسببها هذه البكتريا [24].



الشكل (5) يوضح اختبار المضادات الحيوية لبكتريا *S. aureus*

وفي هذه الدراسة تم اختبار حساسية العزلات المنتخبة لـ(4) مضاد حيوي باستخدام طريقة الانتشار القياسي للمضادات الحيوية ، حيث ابدت بكتريا المكورات العنقودية *S.aureus* قيد الدراسة مقاومة لبعض المضادات الحيوية ويوضح الشكل (4) ارتفاع النسبة المئوية للبكتريا الحساسة للمضاد (ciprofloxacin) حيث بلغت بما يقارب (99%) وان هذا مقارب لما ذكره [25] حيث اختبر حساسية عزلات *S.aureus* بتركيز 5 ملغم/مل وبأربع مناسئ (عراقي ، تركي ، هندي ، اماراتي) وقد اظهرت العزلات نسبة مقاومة 10% للمنشأين (عراقي ، هندي) ونسبة حساسية 100% للمنشأين (تركي ، الاماراتي) ، إن ظهور التباين في نسب المقاومة للمناسئ المختلفة لنفس المضاد ممكن ان يرجع الى خلل في طرق النقل والخزن او قد يرجع الى الاختلاف في طريقة التصنيع لهذه المضادات من الشركة المصنعة .

كما ان اعلى حساسية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية تم الحصول عليها لمضاد Azithromycin حيث كانت النسبة (57%) من عزلات المكورات العنقودية الذهبية حساسة لهذا المضاد وهو ما ذكره [26]حيث ان هذا المضاد هو من مضادات Macrolide والذي يظهر تأثير ما بعد المضاد (effect antibiotic Post) حيث يمنع اعادة نمو البكتريا بعد فترة قصيرة من التعرض لهذا المضاد [27] . واظهرت نتائج الحساسية للمضادات الحيوية عزل معظم سلالات المكورات العنقودية الذهبية في هذا العمل كانت مقاومة لعمل المضاد الحيوي Azithromcyin بنسبة مقاومة عالية في اغلب العينات وهذه النتيجة مماثلة لـ[28]

كما ان حساسية المضاد Acid Clavulinic لهذه العزلات كانت عالية الحساسية لكل العزلات وهذه النتيجة مقاربة ل [29] فكانت نسبة الحساسية هذه العزلات (66.88%) وهذه نتيجة مقاربة لدراستنا .

ووجد ان المضاد Amoxicillin مقاوم لمعظم العزلات البكتيرية وهذه النتيجة مقاربة لبحث [30] بلغت النسبة (75%) وهذا يشير الى ان نسبة كبيرة من مقاومة هذه الجرثومة للبنسيلينات يكون من خلال انتاجها لأنزيمات البيتا – لاكتاميز ، تعد مثبطات البيتا-لاكتاميز مشابهات تركيبية لمضادات البيتا-لاكتام مما يمكنها من الارتباط بأنزيمات البيتا-لاكتاميز بصورة عكسية أو غير عكسية حاميةً بذلك المضاد من التعطيل الأنزيمي .

اختبار حساسية المستخلصات النباتية

تم زرع العينات على وسط Nutrient agar وتجهيزها وبعدها اخذت العينات من وسط Nutrient agar وتمت مقارنتها مع McFrender Standard بتركيز(10^5) واجري اختبار حساسية المستخلصات جدول (3) باستخدام ثلاث انواع من المستخلصات (مستخلص لبان الذكر ، مستخلص قشور الرمان ، مستخلص قشور البلوط) على عينات (حليب الماعز ، المأكولات السريعة 1 ، حليب الجاموس) لاحظ في الشكل (6) المستخلصات النباتية.

الشكل (6) يوضح تجهيز المستخلصات النباتية

الجدول (3) يبين نتائج اختبار حساسية المستخلصات النباتية

التسلسل	العينة	المستخلص	التركيز (غم /مل)	قطر منطقة التثبيط
1	حليب الماعز	لبان الذكر L3	3 غم/100 مل	لا يعمل

2	المأكولات السريعة 1	لبان الذكرL1	1 غم/100 مل	لا يعمل
3	حليب جاموس	لبان الذكرL2	2 غم/100مل	لايعمل
4	حليب جاموس	لبان الذكرL3	3 غم/ 100مل	لا يعمل
5	حليب الجاموس	قشور البلوط G3	3 غم /100 مل	19mm
6	حليب ماعز	قشور البلوط G2	2 غم/100 مل	23mm
7	المأكولات السريعة 1	قشور البلوط G2	2 غم/100مل	9mm
8	حليب ماعز	لبان الذكر L2	2 غم/100مل	لا يعمل
9	المأكولات السريعة 1	قشور الرمان R1	1غم/100مل	13mm
10	حليب جاموس	قشور الرمان	1 غم/100 مل	15mm
11	حليب ماعز	الجفت	3غم/100مل	24mm
12	المأكولات السريعة 1	قشور الرمان	2غم/100مل	16mm
13	حليب الماعز	قشور الرمان R2	2 غم/100مل	19mm
14	المأكولات السريعة 1	لبان الذكر	3غم/100مل	7mm
15	حليب جاموس	قشور البلوط	2غم/100مل	16mm
16	المأكولات السريعة 1	قشور البلوط G3	3غم/100مل	23mm

ملاحظة:L1 / مستخلص لبان الذكر بتركيز 10 _ L2 , %مستخلص لبان الذكر بتركيز 20 _ L3 , %مستخلص لبان الذكر بتركيز 30 % , R1مستخلص قشور الرمان بتركيز 10% R2 , مستخلص قشور الرمان بتركيز 20% G2 مستخلص قشور البلوط بتركيز 20% ، G3 مستخلص قشور البلوط بتركيز 30%

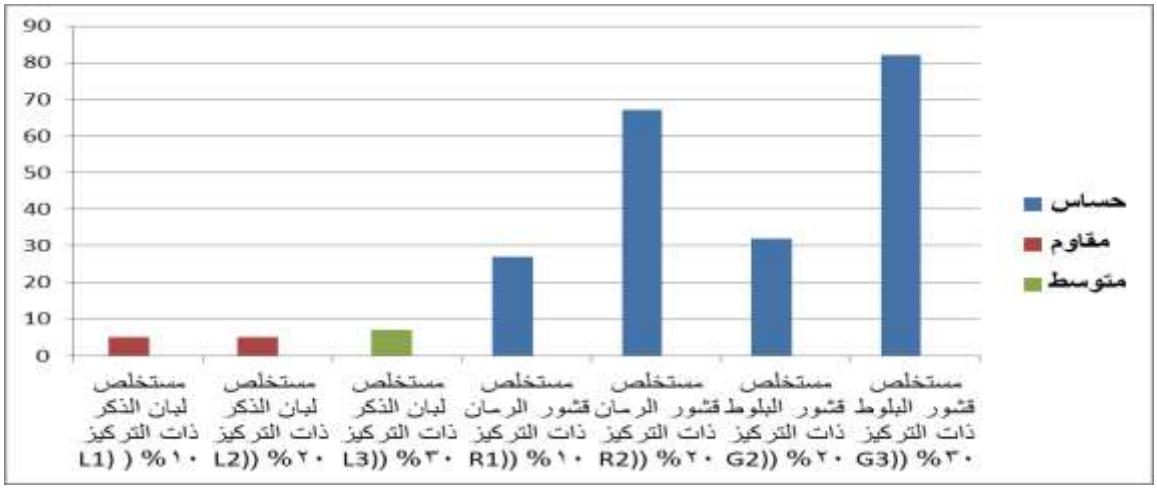
ظهرت نتائج مقاومة العزلات البكتيرية للمستخلصات النباتية فوجد ان بكتريا المكورات العنقودية الذهبية مقاومة مستخلص لبان الذكر ذات التراكيز (30% ، 20% ، 10%) في كل العينات المستخدمة في البحث ولوحظ هذه النتيجة كانت مماثلة لنتيجة البحث المقدم من قبل [31] اشار الباحث خلال دراسته ان لبان الذكر يحوي على مواد قد تكون ذات فعالية للبكتيريا ومن هذه المواد boswellic acid .

بينما قام باحث سنة (2021) بدراسة تأثير مستخلص قشور الرمان على بكتريا *S.aureus* لاحظ الباحث ان المركبات النشطة بايلوجيا من مستخلص قشور الرمان (الفينولات ، الفلافونويد ، الانثوسيانين) لها نشاط مضاد لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية واكد [32] ان الفينولات كانت اهم المركبات المضادة للبكتريا ومن بينها تم تحديد حمض الغاليك بعتباره المركب الاكثر نشاطا لتثبيط البكتريا التي تم اختيارها . وقد يكون دور الفينولات في تثبيط نمو الميكروبات في العينات من خلال ارتباط البروتين أو تثبيط الأنزيم وهذه الدراسة مقاربة لنتائج دراستنا [33].

النتائج تم تأكيدها في دراسات مماثلة بخصوص فطائر اللحم المعاملة بمستخلص قشور الرمان [34] كما أشار [35] أن الغمس في الفينول المستخلصة من نبات الشاي (الفينول الكلي 2.0)٪ المصحوب بالتجميد يؤخر تلف الكارب الفضي. وكذلك تثبيط نمو الميكروبات في شرائح لحم الجاموس المغموسة في زيت القرنفل الذي يحتوي على الفينولات ومشتقاتهاكانت [36] هذه النتائج مماثلة لنتائج الدراسة الحالية شكل (7).

الشكل (7) يوضح اختبار المستخلصات النباتية لبكتريا *S.aureus*

اخذت (16) عينة من (حليب الماعز، حليب الجاموس ، المأكولات السريعة 1) فلوحظ عند قراءة نتائج الحساسية للمستخلصات النباتية للبان الذكر ذات التراكيز (10% و 20%) فلاحظ ان كلاهما مقاوم بينما كانت نتائج المستخلص لبان الذكر ذات التركيز (30%) مقاوم لكل العينات ماعدا عينة المأكولات السريعة 1 فكانت متوسطة الحساسية ، بينما كانت نتائج مستخلص قشور الرمان ذات التراكيز (10% و20%) فلاحظ كلاهما حساس في كل عينات ، بينما كانت نتائج الاختبار لمستخلص الجفت ذات التراكيز (20% و30%) فلاحظ كلاهما حساس في كل العينات وكما وضح في الشكل (8) .



الشكل (8) مخطط يوضح اختبار المستخلصات النباتية لبكتريا *S.aureus*

المصادر

[1] Taylor, T. and C. Unakal, Staphylococcus Aureus. StatPearls. Publishing: Treasure Island, FL, USA, 2017.

[2] Prust, N., P.C. van Breugel, and S. Lemeer, Widespread Arginine Phosphorylation in Staphylococcus aureus. Molecular & Cellular Proteomics, 2022.(5)21 .

[3] Raineri, E.J., D. Altulea, and J.M. van Dijl, Staphylococcal trafficking and infection—from 'nose to gut'and back. FEMS Microbiology Reviews, 2022. **46**(1): p. fuab041.

[4] Wang, W., et al., Prevalence and characterization of Staphylococcus aureus cultured from raw milk taken from dairy cows with mastitis in Beijing, China. Frontiers in microbiology, 2018. **9**: p. 1123.

[5] Bharathy, S., et al., Prevalence of Staphylococcus aureus in raw milk: Can it be a potential public health threat. International Journal of Advanced Research, 2015. **3**(2): p. 801-806.

[6] Li, P., et al., Formation of red myoglobin derivatives and inhibition of spoilage bacteria in raw meat batters by lactic acid bacteria and Staphylococcus xylosus. LWT-Food Science and Technology, 2 :68 .016p. 251-257.

[7] Degaga, B., et al., Microbial quality and safety of raw vegetables of fiche town, Oromia, Ethiopia. Journal of environmental and public health, 2022. **2022**.

[8] Jiménez, E., et al., Staphylococcus epidermidis: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. BMC microbiology, 2008. **8**(1): p. 1-11.

[9] Guo, Y., et al., Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in Staphylococcus aureus. Frontiers in cellular and infection microbiology, 2020. **10**: p. 107.

characterization of some zoonotic bacteria in bovine milk, milking equipments and humans in dairy farms, Sharkia, Egypt. International Food Research Journal, 2014. **21**.(5)

[19] de Bergara, R.S., Zergatik gustatzen zaigu azukrea؟

[20] Ei-Jakee, J., et al., Rapid method for detection of Staphylococcus aureus enterotoxins in food. Global Veterinaria, 2013. **11**(3): p. 335-341.

[21] Kumar, K.K., et al., Structural basis for hemoglobin capture by Staphylococcus aureus cell-surface protein, IsdH. Journal of Biological Chemistry, 2011. **286**(44): p. 38439-38447.

[22] Eshwara, V.K., et al., Staphylococcus aureus bacteremia in an Indian tertiary care hospital: observational study on clinical epidemiology, resistance characteristics, and carriage of the Panton–Valentine leukocidin gene. International Journal of Infectious Diseases, 2013. **17**(11): p. e1051-e1055.

[23] صالح، ا.م.، م.م. إسماعيل، and ر. سميرعبدالكريم، دراسة تطبيقية للتسمم الغذائي التجريبي بالذيفانات المعوية والعد الكلي للمكورات العنقودية الذهبية الملوثة للجبن المحلي وتأثير استخدام أملاح استحلاب. For Diyala Journal Pure Science, 2011. **7**.(3).

[24] Diekema, D.J., et al., Antimicrobial resistance trends and outbreak frequency in United States hospitals. Clinical infectious diseases, 2004. **38**(1): p. 78-85.

[25]ليلى عاصي خزعل & نجدت بيجت ميدي) (2015) . (دراسة كفاءة بعض المضادات الحيوية ذات المناشئ المختلفة المعزولة على بكتريا s.aureus من مصادر سريرية مختلفة). اطروحة من جامعة كركوك كلية العلوم

[26] Wertheim, H.F., et al., The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections.

[10] Cheung, G.Y., J.S. Bae, and M. Otto, Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. Virulence, 2021. **12**(1): p. 547-569.

[11] Moraveji, Z., et al., Characterization of hemolysins of Staphylococcus strains isolated from human and bovine, southern Iran. Iranian journal of veterinary research, 2014. **15**(4): p. 326.

[12] Singh Arora, D., G. Jeet Kaur, and H. Kaur, Antibacterial activity of tea and coffee: their extracts and preparations. International Journal of Food Properties, 2009. **12**(2): p. 286-294.

[13] Eisaa, Z., Isolation and Identification of Staphylococcus Aureus from Al-Kut Hospital in Kut City. Wasit Journal of Pure sciences, 2022: p. 28-34.

[14] Weinstein, M.P. and J.S. Lewis, The clinical and laboratory standards institute subcommittee on antimicrobial susceptibility testing: background, organization, functions, and processes. Journal of clinical microbiology, 2020. **58**(3): p. 10.1128/jcm. 01864-19.

[15] Harborne, J., Methods of plant analysis, in Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 1984, Springer. p. 1-36.

[16] Hasson, S.O., et al., Evaluation of antibacterial and wound-healing activities of alcoholic extract of Boswellia carterii, in vitro and in vivo study. Journal of Cosmetic Dermatology, 2022. **21**(11): p. 6199-62.08

[17] Hudzicki, J., Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American society for microbiology, 2009. **15**: p. 55-63.

[18] El-Gedawy, A., H. Ahmed, and M. Awadallah, Occurrence and molecular

The Lancet infectious diseases, 2005. **5**(12): p. 751-762.

[27] Jawezt, E., et al., Medical microbiology, 26th editon. 2013, McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

[28] Abo-Shama, U.H., et al., Synergistic and antagonistic effects of metal nanoparticles in combination with antibiotics against some reference strains of pathogenic microorganisms. Infection and drug resistance, 2020: p. 351-362.

[29] الحسو، ز.، et al.، دراسة حساسية جرثومة Staphylococcus aureus للمضادات الحيوية. مجلة التربية والعلم، 2007. 19(1): 154-144 .p.

[30] Woroszyło, M., et al., The effect of rotating magnetic field on susceptibility profile of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains exposed to activity of different groups of antibiotics. International Journal of Molecular Sciences, 2021. **22**(21): p. 11551.

[31] Borotová, P., et al., Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Insect Properties of Boswellia carterii Essential Oil for Food Preservation Improvement. Horticulturae, 2023. **9**(3): p. 333.

[32] Baydar ،N.G., et al., Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (Vitis vinifera L.) seed extracts. International journal of food science & technology, 2006. **41**(7): p. 799-804.

[33] الحميد، ر.ا.، et al.، دراسة تأثير المعاملة بمستخلص قشر الرمان على الحمل الجرثومي لعينات لحم الحملان العواس المغلفة عند حفظها بالتجميد. Journal of Agricultural, Environmental & Veterinary Sciences, 2021. **5**(4).

[34] Pop, C., et al., Comparative Antibacterial Activity of Different Plant Extracts in Relation to their Bioactive Molecules, as Determined by LC-MS Analysis. Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies, 2013. **70**.(1)

[35] Chiang, Y.-C., et al., PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in Staphylococcus aureus isolates from food-poisoning cases in Taiwan. International journal of food microbiology, 2008. **121**(1): p. 66-73.

[36] de Oliveira, C.E.V., et al., Inhibition of Staphylococcus aureus in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. International Journal of Food Microbiology, 2010. **137**(2-3): p. 312-316.