

الكشف عن بكتيريا *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضادات الحياتية في الحليب الخام للماشية ودراسة تأثير مستخلص بكتيريا حامض اللاكتيك عليها

جمال عبد الرحمن ابراهيم، انتصار خالد ابراهيم

كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الانبار، العراق

الخلاصة

Article info.

تقدير البحث:

2014/12/24

قبول البحث:

2015/5/18

هدفت هذه الدراسة للكشف عن بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضادات الحيوية في الحليب الخام للماشية (ابقار، اغنام، ماعز) وتضمنت الدراسة عزل وتشخيص هذه البكتيريا ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية مع دراسة الفعالية التثبيطية لرواشح بكتيريا حامض اللاكتيك عليها، اذ تم جمع 470 عينة من حليب الماشية بواقع 150 عينة حليب ابقار، 200 عينة حليب اغنام و 120 عينة حليب ماعز من أرياف وأسواق مدینتي الرمادي والفالوجة لمدة من تشرين الاول 2012 ولغاية ايار 2013. أظهرت النتائج وجود 147 عزلة بكتيرية تعود للمكورات العنقودية *Staphylococcus* فقط 52 عزلة تعود لبكتيريا *S. aureus* بينما 42 من عينات الحليب الخام المأخوذة من الأسواق و 10 عزلات من عينات الحليب المأخوذة من الماشية داخل حظائرها. وأظهرت نتائج فحص الحساسية لـ 52 عزلة *S. aureus* تجاه 15 مضاد حيوي بأن 52 عزلة (100%) مقاومة لمضادات *Oxacillin* و 42 عزلة مقاومة للمضادات *Ceftazidim* فيما تباينت هذه العزلات في مقاومتها لبقية المضادات. كما بينت النتائج بأن 35 عزلة مقاومة للمضادات *Oxacillin*، *Ceftazidim* و *Penicillin*، وأظهرت 35 عزلة مقاومة لمضادي *Ampicillin* و *Penicillin* فضلاً عن المضادين *Oxacillin* و *Ceftazidim* و *Penicillin* و *Cefotaxime* وبقية العزلات في مقاومتها. وبينت نتائج فحص الفعالية التثبيطية لرواشح الاعتيادية والمركزة لعزلات بكتيريا حامض اللاكتيك، عزلتين تعود ل النوع *Lactobacillus acidophilus* وعزلة تعود لـ *L. gasseri* وجود فعالية تثبيطية ضد نمو عزلات بكتيريا *S. aureus* المقاومة للمضادات بطريقة الحفر وازدادت الفعالية التثبيطية عند تركيز هذه الرواشح لمرتين. أظهر التحليل الاحصائي أن الفعالية التثبيطية للعزلة *L. acidophilus* أكبر من العزلة *L. gasseri* وبفارق معنوي، كما بينت روашح العزلتين *L. acidophilus*، (1، 2) فروقاً معنوية في فعاليتهما التثبيطية تجاه عزلات بكتيريا *S. aureus*.
الكلمات المفتاحية: بكتيريا *Staphylococcus aureus*، الحليب الخام، بكتيريا حامض اللاكتيك.

ABSTRACT

The aim of this study is to detect *Staphylococcus aureus* bacteria that is resistant to antibiotics in cattle milk (cows, sheep, goats). The study included isolating and diagnosing this bacteria and studying its sensitivity towards antibiotics, and studying the inhibitory effectiveness of lactic acid bacteria filtrates upon the *Staph. aureus* growth, 470 samples of cattle milk were collected as follows ; 150 cows milk samples, 200 sheep milk samples and 120 goats milk samples from Al-Fallujah and Al-Ramadi rurals and markets since June to may 2013. The results showed that there are 147 isolates belong to *Staphylococcus*, only 52 isolates was *S. aureus*. Isolates from supermarkets raw milk and 10 from castles in barns. Sensitivity of 52 isolates of *S. aureus* was tested towards 15 antibiotics, the results showed that there are 52 isolates (100%) are resisted to Oxacillin, Ceftazidim, while these isolates varied in its resistance to the rest of antibiotics and results showed that 42/52 (80.77%) are resistant to Oxacillin, Ceftazidim and Penicillin, 35 (67.30%) isolates are resistant to Penicillin and Ampicillin as well as Oxacillin and Ceftazidim.

Concerning the results of testing the inhibitory effectiveness of three filtrates isolates from lactic acid bacteria, two isolates belong to *Lactobacillus acidophilus*, while the third isolates belongs to *Lactobacillus gasseri*. The results showed that there is an inhibitory effectiveness against *S. aureus* isolates resistant to antibiotics by well diffusion, the inhibitory activity of these filtrates increased when doubling two times. The statistical analysis showed that inhibitory activity of *L. acidophilus* isolate bigger than *L. gasseri* isolate with an incorporeal differences, and the filtrates of the two isolates of *L. acidophilus* (1, 2) varied incorporeally in its inhibitory activity toward *S. aureus* isolates.

الأخيرة لتحسين صحة الحيوان والإنسان [4]. تعد بكتيريا حامض اللاكتيك من أهم مستحضرات المعززات الحيوية وذلك لما تمتلكه من صفات وخصائص في إظهار تأثيراتها المفيدة داخل القناة الهضمية ضد الجراثيم المرضية، وقابليتها للالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للقناة الهضمية [5] وزيادة فعالية الانزيمات المسئولة عن امتصاص المواد الغذائية والمعادن الضرورية [6].

المواد وطرق العمل

تم جمع 470 عينة حليب خام ماخوذة من الماشية (الأبقار، الأغنام، والماعز) وعلى شكل مجموعتين الأولى 250 عينة تم شراءها من الباعة من الأسواق والثانية 220 عينة حليب خام تم حلتها من الماشية داخل حظائرها بعد غسل الصدر ومسحه بالكحول مع استخدام الكفوف أثناء الحليب بطريقة معقمة توزعت بمجموعها بين 150 عينة من حليب الأبقار و200 عينة من حليب الأغنام و120 عينة من حليب الماعز من مناطق مختلفة من مدينة الفلوجة والرمادي التي شملتها

المقدمة

يعد الحليب ومنتجاته وسطا ملائما لنمو الكثير من الأحياء المجهرية نظرا للمحتوى المائي المرتفع والرقم الهيدروجيني المتعادل او القريب من ذلك علاوة على كونه غنيا بالمغذيات التي تحتاجها الأحياء المجهرية [1].

غالبا ما تكون البكتيريا العنقودية لاسيميا *S. aureus* ملوثا للحليب الخام ومسببة لحالات التهاب الضرع في الابقار والاغنام والماعز ويعتبر ضرع حيوانات الحليب مخزنا لـ *S. aureus* [2]، ومما زاد من خطورة المكورات العنقودية الذهبية ظهور بعض السلالات المقاومة لأكثر من 20 مضاد حياتيا فضلا عن قابليتها لانتاج الكثير من عوامل الضراوة والسموم [3].

إن المعززات الحيوية (Probiotics) هي الجراثيم التي توجد بصورة معايشة وبشكل واسع في الإنسان والحيوان كنبات طبيعي (Normal flora) وتعد إحدى عوامل العلاج биологический (Biotherapeutic) التي استعملت في الآونة

مليتر من لقاح مزارع عزلات بكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للمضادات الحيوية، باستخدام الناشر الزجاجي المعقم ، وأستعمل ثاقب الفلين لعمل حفر قطر الواحدة 5 ملليمتر على سطح الوسط، ثم ملئت كل حفرة بـ(50) مايكروليلتر من راشن المزرعة السائلة لعزلات بكتيريا حامض اللاكتيك، حضنت بعدها الأطباق بحرارة (37) م° لمدة (24-18) ساعة، بعدها تم قياس مناطق التثبيط حول الحفر وقورت مع معاملة السيطرة الحاوية على وسط MRS السائل دون لقاح بكتيري [9]. تم اجراء التحليل الإحصائي وفق نظام ANOVA للمتغيرات المشمولة في هذه الدراسة واختبار مربع كاي (Chi-square) للمقارنة بين المتغيرات التي تحتوي على تكرارات.

جدول 1: المضادات الحيوانية المستعملة في الدراسة

التركيز بالميكرورام MG	الرمز	اسم المضاد	ت
10	Amp	Ampicillin	1
30	Ak	Amikacin	2
20/10	Amc	Amoxicillin + Glavanic acid	3
30	CAZ	Ceftazidime	4
30	CTX	Cefotaxime	5
30	C	Chloramphenicol	6
2	CD	Clindamycin	7
1	CX	Cloxacillin	8
25	COT	Co-trimoxazole	9
30	CEP	Cephalothin	10
15	E	Erythromycin	11
10	GEN	Gentamycin	12
1	OX	Oxacillin	13
10	P	Penicillin	14
10	TOB	Tobramycin	15

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (2) نتائج الزرع المختبرى لـ 220 عينة من الحليب الخام المأخوذة مباشرة من الماشية داخل حظائرها نمواً موجباً لأنواع من المستعمرات البكتيرية في 70 (31.8%) عينة منها فقط على وسطي العزل الاولى نقيع القلب والدماغ (BHI) من خلال وجود العكورة ووسط اكار الدم الأساس إذ

الدراسة للفترة من 2012-10-15 ولغاية 2013-5-15. وتم نقل العينات باستعمال حاويات بلاستيكية جاهزة ومعقمة سعة 100 مل الى المختبر لإجراء الفحوصات عليها. تم زرع العينات على اوساط العزل الاولى المتماثلة بوسط مرق نقيع القلب والدماغ (BHI) والاكار المغذي والتي حضنت هوائياً عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة. تم دراسة المواصفات المزرعية لهذه المستعمرات. كما تم نقل ملئ عروة التلقيح (loop) من وسط BHI الموجب للزرع الى وسط اكار المانيتول الملحي وذلك لغرض الحصول على مستعمرات لمكورات عنقودية قادرة على النمو في تركيز 15% ملح الطعام وقدرة على تحمير سكر المانيتول والتي تعد مبدئياً مكورات عنقودية ذهبية مع الاخذ بنظر الاعتبار مواصفاتها المزرعية على هذا الوسط، فضلاً عن الفحوصات الكيموحياتية وفحص نظام أبي الخاص بالمكورات العنقودية.

اختبرت حساسية عزلات *S. aureus* تجاه 15 نوع من المضادات الحيوية (الجدول 1) باتباع طريقة Bauer و Kirby [7] وتم قراءة النتائج كما جاء في [8]. وحضر راشن المزارع السائلة بتنمية عزلات بكتيريا حامض اللاكتيك *L. acidophilus* و *L. gasseri* المشخصة مسبقاً (في الجامعة المستنصرية) في أنابيب اختبار حاوية على 10 مل من وسط MRS السائل ذو أس هيدروجيني 6 وبنسبة لقاح (%) ؛ ثم حضنت الأنابيب لا هوائيا عند حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة، وبعد الحضن عرضت أنابيب الاختبار إلى الطرد المركزي (6000 دورة/ دقيقة) ولمدة 10 دقائق للحصول على سوائل الخلايا الحرة للمزروع، ثم رشحت هذه السوائل من خلال مرشحات Millipore بقطر (0.22) مايكروميترا وكما جاء في [9]. وتم جمع الرواشح في قناني معقمة وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام وفي تجربة ثانية تم اجراء تركيز للرواشح باستخدام جهاز التجفيف (Freeze- [10]. واستخدمت طريقة الانتشار في الحفر (dryer) التي وصفها [11] للكشف عن الفعالية التثبيطية لراشح بكتيريا حامض اللاكتيك أعلاه، إذ زرعت الأطباق الحاوية على وسط الاغار المغذي ببشر (0.1)

الماشية لحين استهلاك الحليب والذي لا يقل عن 5 ساعات في الغالب كل ذلك من شأنه ان يساعد في تزايد اعداد الاحياء المجهرية ومنها البكتيريا سيمما وان الحليب يعد وسطاً ملائماً لنمو وانقسام الاحياء المجهرية لاحتواه على العناصر الغذائية الضرورية لنموها [1] ، وهذا ما اظهرته نتائج الزرع المختبرى الموجب لكل عينات حليب الماشية من الاسواق، وهذا ما أكدته [12] في دراستها على الحليب الخام في المنطقة الوسطى حيث وجدت عدم وجود أماكن مخصصة لعملية الحليب وعدم استعمال أيّاً من المعمقات سواء للضرع أو للمعدات ولابادي الحلابين وقد يعزى الى اصابة الحيوان بالتهاب الضرع المتسبب عن بكتيريا *S. aureus* سيمما وان اغلب اصحاب الماشية لا يتواصلون مع العيادات البيطرية اذ تم ملاحظة بعض الابقار مصابة به، فقد سجلت في النرويج مثلاً حالات التهاب الضرع في الاغنام والابقار نتيجة الاصابة ببكتيريا *S. aureus* بنسبة 68% [13] في الولايات المتحدة الامريكية سجلت نسبة الاصابة بالتهاب الضرع في الانعام 35%， بريطانيا 50-13%， وفي المانيا 14% [14]، أما في الابقار فقد سجلت الاصابة بالتهاب الضرع في فرنسا بنسبة 20%， وفي امريكا 27%， وفي فلندا 10.9% وفي السويد 11.1% وفي الدنمارك 21% [15].

جدول 4: اعداد عزلات المكورات العنقودية والمكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* في عينات حليب الماشية من الحظائر والأسواق .

نوع المجموع	عدد عزلات المكورات العنقودية الذهبية		عدد عزلات المكورات العنقودية		نوع الحيوان
	الابقار	الاغنام	الماعز	الاسواق	
13	11	2	37	7	الابقار
22	17	5	51	9	الاغنام
17	14	3	36	7	الماعز
52	42	10	124	23	المجموع

وبيّنت النتائج في الجدول رقم (4) وجود 52 عزلة بكتيرية تعود لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* من اصل 147 عزلة لبكتيريا المكورات العنقودية عزلت من 320 عينة موجبة للزرع البكتيري من عينات الحليب الخام المأخوذة من الحظائر والأسواق كان من بينها 10 عزلات *S. aureus* من حليب الماشية في الحظائر و 42 عزلة *S. aureus* اصلها من حليب الماشية في الاسواق، توزعت

توزعت عينات الحليب الموجبة للزرع بين 22، 30، 18 عينة حليب من الابقار، الاغنام والماعز على التوالي.

جدول 2: نتائج الزرع المختبرى لعينات حليب الماشية (من الحظائر)

نوع الماشية	الحليب	النوع الموجبة للزرع	العينات	النسبة المئوية								
ابقار			48	31,42	22	70						
اغنام			60	33,33	30	90						
ماعز			42	30	18	60						
المجموع			150	31,81	70	220						

فيما اظهرت نتائج الزرع المختبرى لعينات الحليب الخام المأخوذة من الاسواق وبالبالغة 250 عينة وجود النمو البكتيرى لعدة أنواع من المستعمرات البكتيرية في جميع العينات قيد الدراسة وبنسبة نمو 100% جدول (3). دلت هذه النتائج على حدوث التلوث في جميع انواع الحليب الخام المأخوذ من الأسواق قيد الدراسة.

جدول 3: نتائج الزرع المختبرى لعينات حليب الماشية من الأسواق

نوع الماشية	العدد الكلي للعينات	النوع الموجبة للزرع	العينات	النسبة المئوية								
ابقار	80	80	0	100	80	100	0	100	80	100	0	100
اغنام	110	110	0	100	110	100	0	100	110	100	0	100
ماعز	60	60	0	100	60	100	0	100	60	100	0	100
المجموع	250	250	0	100	250	100	0	100	250	100	0	100

يمكن ان يعزى الانخفاض في النسبة المئوية (31,81%) لنتيجة الزرع المختبرى الموجب في عينات حليب الحظائر الى اسباب عده لعل ابرزها طريقة الحليب والتي تمت بارتداء الشخص القائم بالطلب الكفوف المعقمة مع غسل الضرع بالماء ثم مسحه بالکحول وجمع الحليب مباشرةً في حاويات بلاستيكية نبيذة ومعقمة ثم ايصالها الى المختبر لاجراء الفحوصات المطلوبة، فيما كان يتم الحليب باليد والتي غالباً ما تكون ملوثة نتيجة قيام الحلات باعمال عده منها تنظيف الحظائر دون غسل ايديهن ثم جمع الحليب في اواني المنيوم يتم غسلها يومياً بماء الحنفية ثم تجميع الحليب ولاكثر من حيوان في حاويات اكبر سعة 25-50 لتر وبيعها الى معامل الالبان والاهالي، فضلاً عن الوقت المستغرق من ساعة حلب

(2)، فقد اظهرت كل العزلات مقاومتها للمضادين Oxacillin و Ceftazidim ولمضاد ثالث. وبشكل عام أظهرت 47 عزلة (90.38%) من بكتيريا *S. aureus* مقاومة لاربع مضادات حيادية، بينما 42 عزلة (80.77%) مقاومة للمضادات الحيوانية هي: Ceftazidim و Oxacillin والمضاد Penicillin و 35 عزلة (67.30%) مقاومة للمضادين Penicillin و Ampicillin فضلاً عن المضادين Penicillin و Ceftazidim و Oxacillin و Ceftazidim و Oxacillin و Penicillin و Ampicillin و Penicillin بنسبة (90.4%) وأن هذه البكتيريا لها القدرة على توليد مقاومة داخلية من خلال خفض الالفة لبروتينات الجدار المرتبطة بالبنسيلين Protein (PBPs) binding التي تكون أكثر شيوعاً في البكتيريا الموجبة لصبغة كرام مع تحمل التأثير الفاتل لهذه المضادات [19]

عزلات *S. aureus* لعينات حليب الحظائر بين 2 عزلة لحليب الأبقار و 5 عزلات لحليب الأغنام و 3 عزلات لحليب الماعز. فيما توزعت عزلات *S. aureus* لحليب الماشية من الأسواق بين 11 عزلة من حليب الأبقار و 17 عزلة من حليب الأغنام و 14 عزلة من حليب الماعز. وبذلك سجلت عينات حليب الأغنام أعلى نسبة ثلث (44%) ببكتيريا *S. aureus* مقارنة مع حليب الأبقار والماعز، وتعد هذه النسبة منخفضة قياساً مع ما توصل إليه [16] في دراستهم لحليب الأغنام والتي بلغت (54%). كما أظهرت نتائج دراستنا أن نسبة عزل *S. aureus* من حليب الماعز كانت (32%) وهي قريبة لما توصل إليه [17] حيث كانت نسبة العزل في دراسته (37%).

وأظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوانية (جدول رقم 5) لعزلات *S. aureus* المعزولة من الحليب الخام للماشية من الأسواق ومن الحظائر والبالغة 52 عزلة مقاومتها لثلاث وأكثر من المضادات الحيوانية قيد الدراسة (الملحق -

جدول 5: أعداد عزلات *S. aureus* المعزولة من الحليب الخام والمقاومة لأكثر من مضادين حيويين

عدد المضادات	ثلاثة مضادات	أربعة مضادات	خمسة مضادات	ستة مضادات	سبعة مضادات	ثمانية مضادات	تسعة مضادات	عشرة مضادات
عدد العزلات	52	47	35	25	24	11	4	2
النسبة المئوية	%100	%90.38	%67.30	48.07	%46.15	%21.15	%7.69	%3.84

المعزولة من حليب الماشية مقاومة لمضادي Cefotaxime و Tobramycin ، وبعد المضاد Cefotaxime من السيفالوسورينات للجيل الثالث الذي يتميز بتأثيره الدوائي الفعال في معالجة الاخماق الناتجة عن الاصابة ببكتيريا *S. aureus* فضلاً عن امتلاك هذا الجيل تأثيراً علاجياً طويلاً الامد قد يمتد إلى ما بعد ايقاف العلاج اذ تعمل بكتيريا *S. aureus* على مقاومة هذه المضادات بنفس الآليات المستعملة في مقاومة البنسيلينات من انتاج انزيمات البيتا لاكتاميز المختلفة والبروتينات الرابطة للبنسيلين [21] كما أن الاختلاف في ظروف الاختبارات ونوع التقنيات المستعملة في الدراسة وعوامل الضراوة لهذه البكتيريا قد يولد اختلافاً في مستويات المقاومة [22].

وقد تباينت عزلات *S. aureus* في مقاومتها لبقية المضادات، حيث اظهرت 11 عزلة مقاومة للمضادات ، Penicillin ، Clindamycin ، Cloxacillin ، Ampicillin ، Co-trimazol ، Erythromycin ، Ceftazidim و Oxacillin.

فيما انخفض عدد عزلات *S. aureus* المقاومة لمضادي Cephalothin و Co. trimazol اذ بلغت اعدادها 9 عزلات (13.46%) على التوالي، ويقوم المضاد Co-trimazol بتشييط احدى الخماير المهمة لعملية تكوين حامض الفوليك الموجود في الخلية البكتيرية [20] واظهرت عزلة واحدة (1.92%) مقاومة لمضاد *S. aureus* فيما لم تبدي أي عزلة من عزلات Amikacin

كما يبين الجدول (7) تزايد الفعل التثبيطي لهذه الرواشح بعد تركيزها لمرة واحدة حيث تراوحت اقطار مناطق التثبيط من 16 ملم الى 22 ملم لاسيما للعزلة LAB₁ شكل (2).

جدول 7: اقطار مناطق التثبيط للرواشح المركزة لبكتيريا حامض اللاكتيك *S. aureus* تجاه عزلات

تجاه عزلات <i>S. aureus</i>			أقطار منطقة التثبيط حول الحفر بالممل
عدد عزلات <i>S. aureus</i> المثبتة برواشح بكتيريا اللاكتيك			
LAB ₃	LAB ₂	LAB ₁	
32	2	1	16-14
20	50	36	19-17
—	—	15	22-20
52	52	52	المجموع

ان تباين استجابة عزلات *S. aureus* تجاه روашح بكتيريا حامض اللاكتيك المنتجة للبكتريوسينات قد يعود الى انتاج هذه العزلات للبكتريوسين وكما اشار الى ذلك [23] ، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما وجده [24] من فعالية عصيات حامض اللاكتيك المحبة للحموضة تجاه عشرة اجناس بكتيرية من بينها بكتيريا *S. aureus* العائدة لجنس المكورات العنقودية.



شكل (2) الفعالية التثبيطية للرواشح المركزة لبكتيريا حامض اللاكتيك تجاه عزلات بكتيريا *S. aureus*

1: *Lactobacillus acidophilus*

2: *Lactobacillus acidophilus*

3: *Lactobacillus gasseri*

C: Control

واظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فروق معنوية (عند $P < 0.05$) بين فعالية التثبيط لرواشح بكتيريا حامض اللاكتيك غير المركزة والمركزة في تثبيتها لنمو مستعمرات بكتيريا *S. aureus*.

وبين الجدول (6) الفعل التثبيطي لرواشح بكتيريا حامض اللاكتيك (*Lactobacillus*) ضد نمو مستعمرات بكتيريا *S. aureus* المقاومة للمضادات الحيوانية والمعزولة من الحليب الخام للماشية حيث اظهرت الرواشح البكتيرية غير المركزة فعلاً تثبيطياً واضحاً من خلال اقطار مناطق منع النمو حول الحفر المملوءة بهذه الرواشح (الشكل 1) اذ تراوحت هذه الاقطار من 11 ملم - 16 ملم كما يبين الجدول إن للراشح غير المركز للعزلة (LAB1) *L. acidophilus* (LAB1) لبكتيريا حامض اللاكتيك التثبيط الاقوى على نمو عزلات بكتيريا *S. aureus* مقارنة بالعزلتين (LAB2) و *L. gasseri* (LAB3) حيث كانت اقطار مناطق التثبيط لها من 12 ملم - 16 ملم.

جدول 6: اقطار مناطق التثبيط للرواشح الاعتيادية بكتيريا حامض اللاكتيك *S. aureus* تجاه عزلات

تجاه عزلات <i>S. aureus</i>			أقطار مناطق التثبيط حول الحفر بالممل نوع
عدد عزلات <i>S. aureus</i> المثبتة برواشح بكتيريا اللاكتيك نوع			
LAB3	LAB2	LAB1	
16	13	1	12-11
20	17	29	14-13
2	3	15	16-15
38	33	45	المجموع



شكل (1) الفعالية التثبيطية للرواشح الاعتيادية لبكتيريا حامض اللاكتيك *S. aureus* تجاه عزلات بكتيريا *S. aureus*

1: *Lactobacillus acidophilus*

2: *Lactobacillus acidophilus*

3: *Lactobacillus gasseri*

C: Control

- [6] Ibnou – Zekri , N., Blum, S., Schiffrian, E. J. and Weid, T. "Divergent patterns of colonization and Immune response elicited from two intestinal *Lactobacillus* strains that display similar properties *invitro*". Infect and Immun., 2003. 71(1) : 428 – 436.
- [7] Atlas, R.M., Parks, L.C. and Brown, A.E. "Laboratory Manual of Experimental Microbiology". 1sted.Mosby.USA. 1995.
- [8] National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS. "Performance standards for antimicrobial susceptibility laboratory standards". Wayne, Pa. 2002.
- [9] Martinez – Gonzalez, B., Eriotou, E., Michopoulos, S., Kolantzopoulos, G., Tsakalidou, E. and Mentis, A. "In Vitro and In Vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain shirota". Appl. Environ. Microbiol., 2004. 70(1) :518 – 526.
- [10] Lievin, V., Peiffer, I., Hudault, S., Rochat, F. and Servin, A.L., "*Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity". GUT. 2000. 47(5): 646-652.
- [11] Gupta,U.,Radramma, Rati, E.R. and Joseph, R. "Nutritional quality of lactic acid fermented bitter gourd and fenugreek leaves". IJFSN, 1998. 49(2): 101-108.
- [12] السعدي، أمل حميد جاسم. تقويم نوعية الحليب الخام في المنطقة الوسطى من العراق، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. 1988.
- [13] Mork, T., Waage, S., Tollersrud, T., Mosdol, G. and Sviland, S. "Bacteria causing clinical mastitis in ewes in Norway". Nor. Vet. Tid. 1998. Sskr. 819-826.
- المعزولة من الحليب الخام للماشية، اظهر التحليل الاحصائي ان الفعالية التثبيطية للعزلة *L. acidophilus* اكبر من العزلة *L. gasseri* وبفارق معنوية، كما تبينت رواش العزلتين *L. acidophilus* (1, 2) معنويًا في فاعليتهما التثبيطية تجاه عزلات بكتيريا *S. aureus*، فيما لم تظهر فروقاً معنوية بين الفعالية التثبيطية للعزلة *L. acidophilus* (2). وتنقق نتائج الدراسة الحالية مع ما وجده [25] مع اختلاف في اقطار التثبيط. وقد يعود التأثير التثبيطي لبكتيريا حامض اللاكتيك الى الحامضية العالية بسبب فعالية التخمر وانتاجها لمركبات أيضية متعددة مثل حامض اللاكتيك و H_2O_2 والبكتيريوسینات [26].

المصادر

- [1] Garbutt, J. "Essentials of food microbiology". A member of the Hodder Headline Group. London. 1997.
- [2] Oliveira, A. M. and Ramos, M.C. "PCR ripotyping of *Staphylococcus aureus*". Braz. J. Med. Biol. Res. 2002. 35:175-180.
- [3] Aries-de-sousa, M., de-Lencastre, H., Santos, S.I., Kikuchi, K., Totsuka, K. and Tomasz, A. "Similarity of antibiotic resistance patterns and molecular typing properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated widely spread in hospitals in New York City and a hospital in Tokyo, Japan". Microb. Drug. Resist. 2000. 6:253-258.
- [4] Wynn, S.G. "Probiotics in veterinary practice. J. of American veteriny medical association". 2009. 234(5): 606-613.
- [5] Ouwehand, A.C., Salminen, S., Tölkö, S., Roberts, P., Ovaska, J. and Salminen, E. "Resected human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acid bacteria". Clin. Diag. Lab. Immunol. 2002. 9(1): 184-186.

- diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". J. Antimicrob. Chemother. 2005. 56(6): 1000-1018.
- [23] Franz, C.M., Woroboy, R.W., quadri, L.E., Schillinger, U., Holzapfel, W.H., Vederas, J.C. and Stiles M.E. "Atypical genetic locus associated with constitutive production of enterocin B by *Enterococcus faecium* BFE 900". Appl. Environ. Microbiol., 1999. 65(5):2170-2178.
- [24] Hassoon, A.F. "Isolation characterization and mass production of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic for therapeutic use". Ph.D. the college of medicine, Tikrit University. 2005.
- [25] محمد، محمد مجبس، استخدام العصبيات المحبة للحموضة *Lactobacillus acidophilus* كمعزز حيوي للوقاية من الخمج بجرثومة *Salmonella typhimurium* في الارانب. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة القادسية. 2008.
- [26] Servin, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS microbial. Rev. 2004. 28:405-440.
- [14] Nelson, P. W. and Stephen, N.C. "Winning the fight against mastitis Westfalia Surge", Inc. USA. 2003. p.p. 1-33.
- [15] Quinn, P. J., Carter, M.E., Markey ,B. and Carter, G.R. "Clinical veterinary microbiology". USA: mosby, an imprint of Elsevier limited. 2004.
- [16] Mork, T., Tollersrud, T., Kvitte, B., Jorgenson, H.J. and Waage, S., "Comparison of *Staphylococcus aureus* genotypes recovered from cases of bovine, Ovine and Caprine mastitis". J. of clinical Microbiol. (2005). 43(8):3979-3984.
- [17] حسن، وهاب امين، "التهاب الضرع في الابقار: المشكلة المستمرة في حقول ابقار الحليب في العراق، التشخيص والسيطرة". المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 2001، الجلد 14، العدد 1، ص 118-109.
- [18] Al-Yasseen, A. K. N. "Bacteriological and genetic study to evaluated the relationship between hospital effluent and distribution of multiple antibiotic resistant bacteria". PhD. Thesis. College of Science. Babylon University. 2004.
- [19] Ryan, K. J. and Ray, C. G. "Sherris Medical Microbiology". 4thed. McGraw-Hill-New York. 2004.
- [20] Laurence, D. R., Bennett, P.N. and Brown, M. J. "Antimicrobial drugs in clinical pharmacology". 9th ed. Churchill Livingstone, London.201. 1998.
- [21] Fuda, C., Suvorov, M., Vakulenko, S. B., and Mobashery, S. "Penicillin binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". J. Biol. 2004. Chem. 279: 40802-40806.
- [22] Brown, D. F. J., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J. M., and Wren, W. D. "Behalf of the joint working party of the britisguidelines for the laboratory