P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2009 ,(3), (3) :13-19

(*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة**

Open Access

مقارنة التاثير التثبيطي لبكتريا حامض اللبنيك ورواشحها مع بعض لمضادات الحيوية ضد جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

حسن علي عبد الرضا * حلا محمد مجيد**

*جامعة بغداد – كلية الطب البيطري
**جامعة تكريت - كلية الطب البيطري

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦
تاريخ النشر: ١٤/ ٦ / ٢٠١٢

DOI: 10.37652/juaps.2009.15637

الكلمات المفتاحية:

التاثير التثبيطي،
بكتريا حامض اللبنيك
ورواشحها،مضادات الحيوية،
المكورات العنقودية الذهبية.

الخلاصة:

نفذت هذه الدراسة لغرض مقارنة التاثير التثبيطي لبكتريا حامض اللبنيك ورواشحها المركزة مرة واحدة اومرتين ونصف وغير المركزة مع بعض المضادات الحياتية المستخدمة كعلاجات ضد نمو جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات التهاب الضرع الحاد وتحت السريري في الابقار. تم الحصول على ثلاث عزلات لبكتريا حامض اللبنيك هي *Lactobacillus casei*(v1) وال *Lactobacillus casei*(v2) وال *Lactobacillus fermentatum* من مختبر الاحياء المجهرية /كلية الطب البيطري / جامعة بغداد والتي عزلت من مهبل بعض الحيوانات الحقلية. جمعت ٦٠٢ عينة حليب من ٣٥٨ بقرة مصابة بالتهاب الضرع الحاد وتحت السريري من موقعين هما محطة ابقار النصر / الصويرة وقرية زوبع في ابي غريب، زرعت نماذج الحليب تلك على وسطي اكار الدم والمانيتول الملحي الصلب وتم تاكيد التشخيص باعتماد سلسلة من الاختبارات الكيموحيوية.اظهرت نتائج هذه الاختبارات التشخيصية وجود ١٧٣ عزلة شخصت بأنها المكورات العنقودية الذهبية *staphylococcus aureus*.اظهرت نتائج فحص حساسية هذه العزلات تجاه عدد من مضادات الحيوية انها كانت مقاومة ١٠٠% للامبيسلين واللنكومايسين والفانكومايسين في حين كانت مقاومة بنسبة ٩٤.٨% و ٤٧.٤% لمضادي البنسلين _ج والكلورومفنكول على التوالي بينماكانت هذه العزلات حساسة بنسبة ١٠٠% للسبروفلوكساسين وبنسبة ٩٠.٧٥%، ٧٦.٨٨% و ٧١.١% للكنامايسين والجنتامايسين والتتراسايكلين على التوالي، تباينت عزلات بكتريا حامض اللبنيك الثلاث في فعاليتها التثبيطية حيال جرثومة المكورات العنقودية الذهبية اذ اظهرت العزلة *L. casei* (v1) فعالية تثبيطية واضحة تجاه جرثومة المكورات العنقودية الذهبية الحساسة لمضادات السابروفلوكساسين والكنامايسين وبمعدل قطر تثبيطي ١٣ملم في حين زاد قطر التثبيط الى ١٨ ملم لنفس العزلة *L. casei* (v1) حيال عزلات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة لمضادات الحيوية باستثناء السابروفلوكساسين.اعطت بكتريا *L. casei* (v2) قطراً تثبيطياً قدره ١٩ ملم ضد عزلات المكورات العنقودية الحساسة لمضادات الحيوية و ٢٠ ملم للعزلات المقاومة لهذه المضادات.اما عزلة *L. fermentatum* فقد تباينت في قدرتها التثبيطية بين التثبيط الواضح ١٥ ملم حيال عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة لمضادات الحيوية وزيادة القدرة التثبيطية الى ١٧ ملم ضد العزلات المقاومة للمضادات الحياتية.ادى استخدام راشح بكتريا حامض اللبنيك الى إعطاء قدرة تثبيطية جيدة تراوحت بين ١٨-٢٠ ملم ضد عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضادات و ١٩-٢٢ ملم ضد العزلات المقاومة للمضادات.ادت عملية تركيز راشح بكتريا حامض اللبنيك مرتين ونصف باستخدام جهاز التجفيد الى زيادة اقطار التثبيط الى ٢٣-٢٤-٢٣ ملم عند استخدام العزلة *L. casei* (v1) والعزلة *L. casei* (v2) والعزلة *L. fermentatum* على التوالي مقارنة باقطار التثبيط التي بلغت ١٩-٢٢-٢٠ ملم قبل التركيز.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة** Open Access
2009 ,(3), (3) :13-19

المقدمة:

أن جرثومة المكورات العنقودية الذهبية هي واحدة من اكثر الجراثيم انتشارا" في الطبيعة بسبب امتلاكها لصفات فريدة من نوعها تمكنها من البقاء حية حتى في الظروف الصعبة فهي قادرة على العيش في الاجزاء الرطبة من الجسم كالانف والبلعوم والابط والامعاء والمجاري البولية والايدي بدون ظهور أية اعراض مرضية (١) تفرز هذه الجرثومة العديد من الانزيمات والذيفانات التي تزيد من شدة امراضيتها فضلا" عن كونها تسبب العديد من حالات التسمم الغذائي من خلال افرازها لخمسة انواع من الذيفانات المعوية هي (A, B, C, D, E) ومما يزيد من خطورة هذه الجرثومة مقاومتها للعديد من مضادات الحيوية لامتلاكها بلازميد يحمل عامل المقاومة الذي يشفر لانتاج أنزيم البنسلنيز Peniciltinase القابل للانتقال من عترة لاخرى (٢). تسبب هذه الجرثومة العديد من الامراض بدأ" بتسمم الدم (septicemia) وخراجات الدماغ (brain abscesses) وخماج الجروح بعد العمليات الجراحية (٣) كما انها تسبب التهاب الضرع السريري وتحت السريري في الابقار والاغنام والخنازير وغيرها العديد من الامراض في الحيوانات المختلفة (٤).

ومن اجل البحث عن وسائل علاجية بديلة عن المضادات فقد شهدت السنوات الاخيرة توجها" نحو استعمال بكتريا حامض اللاكتيك (اللبنيك) المعزولة من مصادر بشرية وحيوانية كمعززات حيوية اذ تمتاز هذه البكتريا بانها غير مرضية وغير منتجة للسموم فضلا" عن انتاجها للعديد من الانزيمات والفيتامينات ولها القدرة عن الالتصاق بالاغشية المخاطية للامعاء وافرازها العديد من المواد الايضية المثبطة للاحياء المجهرية المرضية.

من هناك فقد استهدفت الدراسة الحالية مقارنة الفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللبنيك المعزولة من مهبل بعض الحيوانات وراشحها المركز مع بعض المضادات الحياتية المستخدمة كعلاجات تجاه بعض عزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات الالتهاب الضرع في الابقار.

المواد وطرائق العمل:

-جمع العينات:

تم جمع ٦٠٢ عينة حليب من ٦٠٢ ربع (مصاب وسليم) من ٣٥٨ بقرة مصابة بالتهاب الضرع موزعة على قرية زوبع في ابو غريب ومحطة أبقار النصر في الصويرة وعلى مدار ثلاثة اشهر متواصلة وقد اتبعت طرق جمع العينات الواردة في (٥) لهذا الغرض اذ تم جمع ١٠ مليلتر من الحليب في انابيب اختبار معقمة معدة لهذا الغرض.

اختبار كاليفورنيا:

استخدم اختبار كاليفورنيا المقترح من قبل(٦) لتحديد الاصابة بالتهاب الضرع اذ تم مزج حجمين متساويين من الحليب والمحلول الحاوي على Alkyl Aryl sulphonate وكاشف البروكومريزول البنفسجي وملاحظة تكون الهلام (٥).

العزل الجرثومي:

زرعت عينات الحليب مباشرة" على أكار الدم الصلب حضنت بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة لدراسة شكل وقوام المستعمرات وقدرتها على حل الدم، ثم عملت لطخة من هذه المستعمرة وصبغت بصبغة كرام اعيد زرع المستعمرات المشكوك بكونها تحمل صفات المكورات العنقودية الذهبية على وسط المانيتول الملحي الصلب وحضنت على ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة لملاحظة طبيعة نموها.

-الاختبارات الكيموحيوية:

اجريت سلسلة من الاختبارات الكيموحيوية وفق الطرق المعتمدة على المستعمرات المشكوك كونها مكورات عنقودية ذهبية والتي تضمنت اختبار الكاتليز، انتاج انزيم التجلط coagulase، انتاج انزيم الفوسفتير القاعدي، انتاج DNAase اختبار الاكسدة والتخمر في وسط هيو ولايفس، اختبار اليوريز والاندول واحمر المثيل وفوكس بروسكاور وانتاج الجيلاتينيز وتخمر السكريات وفحص الحركة وفحص الايواغ (١٠،٩،٨،٧).

اختبار الحساسية لمضادات الحيوية

اجري هذا الاختبار حسب طريقة (١١) باستخدام وسط مولرهنتون الصلب لاختبار حساسية مقاومة جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة والمشخصة من حالات التهاب الضرع تجاه عشرة مضادات هي Ampicillin, Vancomycin, Tetracycline, Cloramphencol, Kanamycin, Penicillin G, Gentamycin, sulfatrimethoprime, Ciprofloxacin, Lincomycin.

* Corresponding author at: Continuous Baghdad University - College of Veterinary Medicine, Iraq;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5859-6212 .Mobil:777777
E-mail address: *scianb@yahoo.com*

تقدير الفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللبنيك في الوسط الصلب

زرعت بكتريا حامض اللبنيك بطريقة التخطيط المتعامد على وسط MRS الصلب وحضنت بظروف لاهوائية بدرجة حرارة ٣٧ °م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة وبعد التحضن عملت اقراص (بواسطة ثاقب فلين بقطر ٥ملم) من هذا الوسط ووضعت على سطح الاكار المغذي المنشور عليه بالناشر ٠.١ملم من مزروع جرثومة المكورات العنقودية الذهبية الحساسة والمقاومة للمضادات ثم حضنت الاطباق على ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة بعدها تم قياس قطر منطقة التثبيط حول الاقراص (١٢).

اختبرت ثلاثة عزلات من بكتريا حامض اللبنيك التي اتصفت بفعالية تثبيطية عالية وقدرت فعاليتها التثبيطية بالطريقة نفسها ضد عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة والمقاومة للمضادات.

تقدير الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا حامض اللبنيك

حضر راشح مزرعة سائلة لبكتريا حامض اللبنيك وذلك بتنمية عزلات هذه البكتريا المنتخبة في انابيب اختبار حاوية على وسط MRS السائل ذي الهيدروجين ٦ وبنسبة لقاح ٢% حضنت الانابيب بدرجة ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة تحت ظروف لاهوائية (١٣) ثم نبذت على سرعة ٦٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ١٠ دقائق للحصول على سائل الخلايا الحرة للزرع بعدها رشح السائل من خلال مرشحات Millipore بقطر ٠.٢٢ مايكرومتر (١٢) استخدمت طريقة الانتشار في الحفر التي وضعها (١٥) للكشف عن الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا حامض اللبنيك وذلك بزرع اطباق بتري حاوية على وسط الاكار المغذي بمقداره ٠.١ مليلتر من لقاح عزلات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة والحساسة للمضادات وعمل حفر قطرها ٥ ملم باستخدام ثاقب فلين ملئت بـ٥٠ مايكروليتر من راشح المزرعة السائلة لبكتريا حامض اللالكتيك، بعدها حضنت الاطباق بدرجة ٣٧ °م لمدة ١٨-٢٤ ساعة ثم قيست أقطار التثبيط حول الحفر (١٢).

تقدير الفعالية التثبيطية للراشح المركز (مرتان ونصف) لبكتريا حامض اللبنيك :ركزت رواشح بكتريا حامض اللبنيك غير المركزة لمرتان ونصف في جهاز التجفيد (Freeze-dryer) (١٦) ثم قورنت اقطار التثبيط للرواشح المركزة ضد عزلات المكورات العنقودية مع تلك غير المركزة.

النتائج

العزل الجرثومي :اظهرت نتائج دراسة الصفات الاستباتية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية اصابة ٤٨٩ ربع من اصل ٣٢٩ بقرة مصابة وقد بلغ عدد العزلات الكلية ٦٧١ عزلة في حين تم الحصول على ١٧٣ عزلة جرثومية كانت تحمل صفات المكورات العنقودية الذهبية اذ كانت مستعمرات هذه البكتريا كروية، رصاصية اللون قطرها ٠.٨-١ ملم ناعمة قليلة التحدب لماعة زبدية القوام منتجة للتحليل الدموي نوع بيتا وموجبة لصبغة كرام، مرتبة بشكل عناقيد العنب غير متحركة وغيرمكونة للابواغ نمت على وسط المانيتول الملحي الصلب على شكل مستعمرات صغيرة ودائرية ملساء صفراء اللون ذهبية

التشخيص :اظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية انها سالبة لاختبار الاوكسيديز وقادرة على اكسدة وتخمير سكر الكلوكوز بنسبة ١٠٠% لدى نموها هوائيا" ولاهوائيا" مكونة حوامض عضوية تحول لون كاشف بروموتايمول الازرق من الاخضر الى الاصفر، سالبة لاختبار الاندول في حين كانت موجبة لانتاج الكاتليز وفحص اختزال النترات بينما كانت جميع هذه العزلات مخمرة لسكريات (الكلوكوز، فركتوز، لاكتوز، مالتوز، سكرز، مانيول، الزيهالوز، كالاكتوز والمانوز) وغير مخمرة للنرايلوز والارابينوز في حين كانت ٢٥ عزلة سالبة لفحص الفوكس بروسكاروز وبنسبة ١٤.٤٥% (جدول ١و٢).

جدول (١) نتائج اختبار تخمر السكريات لعزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

كلوكوز	سكروز	مالتو	فركتوز	تريهالوز	لاكتوز	مانتول	مانوز	كالاكتوز	رايبنوز	زايلوز	ارابينوز
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

جدول (٢) نتائج الفحوصات الكيموحيوية لعزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

صبغة كرام	تكوين المحفظة	تكوين الابواغ	الحركة	كاتليز	اوكسيديز	اندول	O-F glycose	احتزال النترات	MR-VP	يوريز	DNAase	فوسفاتيز	جيلاتيز
+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+

-اختبار الحساسية للمضادات الحياتية:

اظهرت نتائج اختبار حساسية ١٧٣ عزلة من جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات التهاب الضرع الحاد وتحت السريري تجاه عشرة من مضادات الحيوية ان جميع هذه العزلات كانت حساسة لمضاد السيروفلوكساسين وبنسبة ١٠٠% وحساسة لمضادات الكنامايسين والجنتامايسين والسلفاترايمثوبرم والتتراسايكلين بنسبة ٩٠.٧٥%، ٧٦.٨٨%، ٧٢.٢٦%، ٧١.١٩% على التوالي في حين كانت هذه العزلات مقاومة بشكل مطلق لكل من الامبسلين والنكومايسين والفانكومايسين وبنسبة ١٠٠%، البنسلين – ج بنسبة ٩٤.٨٠% والكلورافينكول بنسبة ٤٧.٤٠% (جدول٣).

–الفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللبنيك:

تباين التأثير التثبيطي لعزلات بكتريا حامض اللبنيك تجاه عزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية اذ تراوح التأثير التثبيطي مابين ١٣–٢٠ ملم كما اختلف كل عزلة لبكتريا حامض اللبنيك تجاه العزلات المختلفة لجرثومة المكورات العنقودية ففي الوقت الذي اعطت العزلة Lactobacillus casei (v1) فعلا" تثبيطيا" واضحا" تجاه عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة لمضادات الحيوية السابروفلوكساسين، كنامايسن، جنتامايسن، سلفاترايمثرم، الكلورافينكول والبنسلين – ج بقطر تثبيطي قدره ١٣ ملم فقد بلغ القطرالتثبيطي الذي اعطته نفس العزلة (v1) ضد جرثومة المكورات العنقودية المقاومة لجميع المضادات المستخدمة في الدراسة باستثناء السبروفلوكساسين وبقطر تثبيطي قدره ١٨ ملم وتباينت العزلات Lactobacillus (v2) casei و Lactobacillus fermentatum في تأثيرها التثبيطي تجاه جرثومة المكورات العنقودية الذهبية وكما هو واضح في جدول(٤).

جدول (٣) حساسية عزلات المكورات العنقودية الذهبية تجاه عشرة من مضادات الحيوية

انواع الجراثيم	عدد الارباع المصابة	%	موقع الارباع المصابة			
			ايسر خلفي	ايمن خلفي	ايسر امامي	ايمن امامي
S.aureus+ A.pyogenes	٣١	٣٦.٠٥	٥	١٦	٣	٧
B.subtilis + S.aureus	9	١٠.٤٧	٣	٥	-	١
A.pyogenes + M.varians	٧	٨.١٤	٣	١	١	٢
M.varians + S.aureus	٧	٨.١٤	١	٥	-	١
A.pyogenes+ B.subtilis +M.varians	٥	٥.٨١	٤	-	-	١
A.pyogenes + S.epidermidis	٤	٤.٦٥	١	٢	-	١
B.subtilis + M.varians	٤	٤.٦٥	٥	١	١	-
B.subtilis + A.pyogenes	٤	٤.٦٥	٢	٢	-	-
A.pyogenes ♀♀ + B.subtilis+ S.epidermidis	٤	٤.٦٥	٣	-	-	١
M.varians + S.epidermidis	٣	٣.٤٩	٢	١	-	-
A.pyogenes + B.subtilis	٣	٣.٤٩	١	٢	-	-
S.anreus + B.subtilis + M.variaus	٢	٢.٣٣	٢	-	-	-
S.aureus + Apyogenes + Sepidermidis	١	١.١٦	-	١	-	-
M.varians + A.pyogenes + S.epidermidis	١	١.١٦	-	١	-	-
B.subtilis + S.epidermid is	١	١.١٦	١	-	-	-
المجموع	٨٦	١٠٠	٣٠	٣٧	٥	١٤

جدول (٤) الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا حامض اللبنيك تجاه جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

المكورات العنقودية الذهبية	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
	La.casei(v1)	Lab.casei(v2)	La.fermentum
المكورات العنقودية الذهبية الحساسة لمضادات (السبروفلوكساسين، كنامايسن،جنتاماسين، سلفاترايمترم، تتراسايكلين، بنسلين – ج وكلورورفينكول	١٣	١٩	١٥
جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المقاومة لمضادات (كناماسين، جنتاماسين، سلفاتراغيرم، تتراسايكلين، كلورورفينكول، بنسلين-ج، فانكومايسين و لنكومايسين	١٨	٢٠	١٧

– الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا حامض اللبنيك غير المركز والمركز مرتين ونصف

اظهر راشح العزلات الثلاث لبكتريا حامض اللبنيك الفعالية التثبيطية الملحوظة ضد عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضادات الحياتية المذكورة سابقا" اذ تراوحت اقطار مناطق التثبيط حول الحفر المملوءه براشح هذه المزارع مابين ١٨–٢٠ ملم ضد عزلات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة لجميع المضادات الحياتية باستثناء مضادات السابروفلوكساسين وبقطر تثبيطي مابين ١٩–٢٢ ملم.

ادى تركيز راشح العزلات الثلاث لبكتريا حامض اللبنيك لمرتين ونصف الى ارتفاع الفعالية التثبيطية بشكل ملحوظ اذ ارتفعت اقطار

التثبيط من ١٨، ٢٠، ١٩ملم الى ٢٠، ٢١،٢٣، ملم كرواشح على التوالي وكما واضح في جدول (٥).

جدول رقم (٥) الفعالية التثبيطية لرواشح عزلات بكتريا حامض اللاكتيك المركزة وغير المركزة تجاح جرثومة المكورات العنقودية الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية

المكورات العنقودية	قطر منطقة التثبيط (ملم) للرواشح غير المركزة			قطر منطقة التثبيط (ملم) للرواشح المركزة		
	L.casei(v1)	*L.casei(v2)*	*L.fermentatum*	*L.casei(v1)*	*L.casei(v2)*	*L.fermentatum*
١- جرثومة المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمضادات الحيوية (سايبروفلوكساسين – كنامايسين – جنتامايسين – سلفاترايمثوبريم – تتراسايكلين – بنسلين جي وكلور امفينيكول).	١٨	٢٠	١٩	٢٠	٢٣	٢١
٢- جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضادات الحيوية (كنامايسين – جنتامايسين – سلفاترايمثوبريم تتراسايكلين – كلورامفينيكول – بنسلين جي – امبسلين – فانكومايسين – لنكومايسين).	١٩	٢٢	٢٠	٢٣	٢٤	٢٣

المناقشة

–العزل والتشخيص

بينت النتائج قدرة جرثومة المكورات العنقودية الذهبية النمو على وسط اكارالدم الصلب مع وجود التحليل الدموي اذ لوحظ ان معظم العزلات والتي بلغ عددها ١٧٣ عزلة قد انتجت تحلل دموي نوع بيتا وان هذه النتائج تتفق مع ما جاء به (١٧) من ان معظم عزلات المكورات العنقودية الذهبية ذات الاصل الحيواني تسبب حل الدم من نوع بيتا كما استطاعت كافة العزلات البكترية من النمو على وسط المانتيول الملحي الصلب الحاوي على ٧.٥% كلوريد الصوديوم مع سكر المانيتول أذ ان انتاج الحامض وتغير pH الوسط ادى الى تغير لون الكاشف phenol red من الاحمر الى الاصفر.

–الفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللبنيك

اظهرت النتائج القدرة التثبيطية الواضحة لعزلات بكتريا حامض اللبنيك تجاه جرثومة المكورات العنقودية الذهبية وقد يعزى سبب ذلك لانتاج بكتريا حامض اللبنيك حوامض عضوية ولاعضوية مثل حامض اللاكتيك والخليك وان التأثير التثبيطي لهذين الحامضين يعود الى شكلهما غير المتفكك (Undissocation) من خلال قدرتهما على اختراق واعاقة نقل المواد الغذائية اضافة الى كونهما حوامض عضوية ضعيفة وجزئية التفكك في المحاليل المائية وامتلاكهما خاصية الذوبان في الدهن مما يجعلهما سريعة الانتشار وبصورة حرة خلال الغشاء البلازمي الى السايتوبلازم (١٨) اضافة الى دور بكتريا حامض اللبنيك في خفض الاس الهيدروجيني وجهد الاكسدة والاختزال والتنافس على المغذيات اضافة الى انتاج المضادات والبكتريوسينات (١٩،٢٠).

–الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا حامض اللبنيك المركز وغير المركز

بنيت النتائج التأثير التثبيطي الواضح لرواشح بكتريا حامض اللبنيك الثلاث L.fermentatum و L.casei (v2) و L.casei (v1) تجاه عزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية وقد يعزى سبب التثبيط الى انتاج المواد المثبطة من قبل تلك العزلات عند تنميتها على وسط MRS السائل فضلا" عما يحتويه هذا الوسط من مواد ملائمة لانتاج تلك المواد المثبطة ولطبيعته السائلة التي تسهل على خلايا بكتريا حامض اللبنيك الحصول على العناصر الغذائية السهلة الاستهلاك (٢١).

من جانب اخر فان تركيز هذا الراشح مرتين ونصف ادى الى حصول زيادة ملحوظة في الفعالية التثبيطية لتلك الرواشح تجاه عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية وقد يعزى ذلك الى حصول زيادة في تركيز المواد المثبطة للرواشح كالاحماض العضوية مثل حامض الخليك واللاكتيك اللذين يعملان على خفض درجو الحموضة pH والذي يؤدي بدوره الى تثبيط الفعالية الايضية للبكتريا المرضية فضلا" عن الدور الحيوي للبكتريوسينات وبيروكسيد الهيدروجين (٢٢،٢٣).

الاستنتاجات

١- تشكل جرثومة المكورات العنقودية الذهبيةاحد اهم مسببات حدوث التهاب الضرع الحاد وتحت السريري المنتشر في ابو غريب والصويرة

٢- جميع عزلات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية كانت مقاومة بشكل مطلق لمضادات الامبسلين والفانكومايسين والنكومايسين بينما

كان السبروفلوكساسين المضاد الاكثر فعالية في تثبيط نمو هذه الجرثومة.

٣- تمتلك عصيات بكتريا حامض اللبنيك وراشحها المركز وغير المركز قدرة تثبطية واسعة تجاه جرثومة المكورات العنقودية وهذا يفتح الباب لاستخدامها كمعززات حيوية لعلاج التهاب الضرع في الابقار.

المصادر

1- Al Ani, H.; Many, E.M.; Virginia, H.M.and Richard Y.Y.(1992).Recurrent Staphylococcus aureus bacteremia.J.Clin. Microbio.,30 : 670-674.

2- Bennet R.W.(1978).Staphylococcal enterotoxins.In : Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual 5th Ed. chapter (XII).

3- Devesiewiez, R.L.(1998). Staphylococcal infection in Harisin`s.In. principles of International.Med. Edited by Fauci, A.S.; Martiu,J.B.;Braunwald, E.; Kasper, D.L.; Issel Bacher, K.I. and Hauser, S.I.

4- Quinn.P.J.; Markey, B.K.; Carter, M.E.; donnellye W.J. and Leonand, F.C.(2006). Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. by International Ltd. padstow – Cornwall.

5- Coless E.H.(1986).Veterinary clinical pathology. 4th Ed. Canda.W.B. saunders company Ltd Philadelphia, London, Toronto.PP: 349-367.

6- Schalm, O.W. and Noorlander.D.o.(1957).Experiments and observations leading to development of the C.M.T.J. Anm.vet.Med.130(5) :199.

7- Macfaddin,J.F.(2000). Biochemical test for identification medical bacteria.3ed William and Wilkins.USA.

8- Cowan, S.T. and Steels.K.J.(1979) Manual for the ldentification of Medical Bacteriu 2 th Ed cambridge university. press, London.

9- Cruick shank, R.; Duguid,J.P.; Marmion, B.P. and swain, R.H.A.(1975). medical Microbiolagy 12th Ed. Churchill.Livingstone 2:420-427.

10- Baron, E.J.; Peterson, I.R. and Finegold, S.(1999).Diagnostic Microbiology. 10th Ed.Bailey and scott`s.The C.V.Mosby company.

11- Kirby, W.;M.;Bauer, A.W.; Sherris, J.C. and Turk M.(1966).Antibiotics susceptibity testing by standardized single disc method. Am.J.Clin, pathol 0.45 :493-496.

12- Martinez.Gonzalez, B.; Erioton, E.; zopoules. G; Tsalcalidon, E.and Mentis.A. (2004). In vitro and invivo inhibtion Helicobacter pylori by lactobacillus casei strain shirota App, Environ. Microbiol. 790)19 :518-526.

13- Lewus.G.S.(1997). Uterine health and disorders. J. Diary Sci.80:984-994.

14- Piard, J.C.; Delmore, F.; Giraffa. G.; commissarie, J. and Desmazeaud, M.(1990). Evidence for bacteriocin produed by lactococcus lactis. CNRZ 481.J. Neth. milk.Dairy. 44:143-157.

15- Gupta, U.; Radramma.; Rati, E.R.and Joseph. R.(1998).Nutrional quality of lactic acid fermented bitter and fenugreek leaves. International Journal of Food science and Nutrition. 49(2): 101-108.

16- Lievin, v.; peiffer, I.;Hudanlt, S.; Rochal, F. and Servin, A.L. (2000). Bifdobacterium strains from residential human gastronintestinal microflora antimicrobial activity Gut, 47(4) : 646-652.

17- Freeman, B.A.(1985) : Barrow Textbook of Microbiology 22th Ed. Igaku shoin/ phladelphia, Londaon. Toronto. Mexico city, Rio dejaneiro stdey, Tolcyo.

18- Mishra, C. and Lambet. J.C.(1996). production of antimicrobial substance by prpbiotics. Asia pacific. J. Clin. Nutr. 51 : 20-24

١٩-الدليمي، جيهان عبد الستار سلمان (٢٠٠٥) استخدم بكتريا حامض اللاكتيك المعزولة من الانسان والمصادر الغذائية في تثبيط نمو بعض البكتريا المسببة للاسهال اطروحة دكتوراه / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية.

20-Boestroo, M.H.; wit. J. C.; Kuster. S.J.M. and Rombouts, F.M.(1993). Inhbition of the growth of yeasts in fermented Salads. Inter. J. Food. Miceobiology. 17:311-320.

١٩-القصاب، عبد الجبار عمر الخفاجي، زهرة محمود (١٩٩٢) تأثير الظروف المختلفة على الفعالية التثبيطية للعصيات اللبنية المعوية تجاه البكتريا المعوية المسببة للاسهال، مجلة العلوم الزراعية العراقية. المجلد (٢٣) العدد (١) ص ٢٣-٤٠.

20- Kourkoutas, Y.: Bosnea, L: Taboulcos : Lambron and Kancuaki, M.(2006). probiotic cheese production using lactobacillus casei cell immobilized on fruit pieces.J. Dairy sci., 89:1439- 1451.

21- Mojgami, N. and Ashtiani, M.B.(2006) In vitro inhibition of mastitis pathogens by Bacteriocin RN 86 produced by an indigenous Lacto bacillus casei isolate. Online Journal of veterinary research volum. 10(1) : 61-67.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2009 ,(3), (3) :13-19

COMPARISONS OF THE INHIBITORY EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA AND ITS FILTRATE WITH SOME ANTIBIOTICS AGAINST *Staphylococcus aureus*

HASSAN. A. ABDUL. RATHA HALA. M. MAJEED

E.mail: *scianb@yahoo.com*

ABSTRACT :

This study was conducted to compare the inhibitory effect of lactic acid bacteria and its filtrate which were concentrated two times and half non-concentrated filtrate with some antibiotics which used usually as therapeutic against *Staphylococcus aureus* growth. Three lactic acid bacteria isolates were obtained for this goal from microbiology dept. laboratory, Vet. College - Baghdad university and these three isolates were *lactobacillus casei* (v1), *L. casei* (v2) and *L. fermentatum*.Sixty hundred and two milk samples were collected from 358 cows infected with acute and sub clinical mastitis distributed between Zob'aa village in Abu-Ghraib and Al-Naser station of cows in Al-sewera city. Samples were cultured on blood base agar and Manittol salt agar, biochemical tests were performed to ensuring the results of diagnosis Diagnostic study depending upon morphological, cultural and biochemical tests yielded the isolation of 173 *staphylococcus aureus* isolate.The susceptibility tests showed that *S. aureus* isolates varied on their sensitivity towards antibiotics, all these isolates were found to be resistante by the percentage 100% to Ampicillin,Lincomycine and vancomycin and 94,8%, 47,4% to pencillin-G and chloromphenicol respectively while these isolates were found to be susceptible 100%, 90,75%, 76,88%, 72,26% and 71,1% to ciprofloxacin, Kanamycin, Gentamycin, Sulfatri metheprime and tetracycline respectively. The three Isolates of lactic acid bacteria varied on their inhibitory effect against *S. aureus* Isolates *L. casei* (v1) showed their inhibitory effect against *S. aureus* isolates which were sensitive to ciprofloxacin, kanamycin, Gantamycin, Sulfa tri metheprime, Tetracycline, Penicillin-G, Chloramphenicol with inhabitation zone of 13mm while the zone increase to 18mm with the same isolates *L. casei* (v1) against *S. aureus* which resist to antibiotics except Ciprofloxacin. *L. casei* (v2) gave inhibitory zone of 19mm against *S. aureus* isolates sensitive to antibiotics and 20mm for *S. aureus* isolates resist to antibiotics isolates of *L. fermentum* differed in their inhibitory effect between observed effect 15mm against *S. aureus* which were sensitive antibiotics to more effect against the same isolates 17mm which were resist to antibiotics. Filtration of lactic acid bacteria isolates growth showed good inhibitory effect range between 18-20mm against *S. aureus* which were sensitive to antibiotics and 19-22mm against the same isolates which were resist to antibiotics.Concentration filtrate of lactic acid bacteria showed an increase of the inhibitory zone (23,24,23) mm for *L. casei*(v1), *L. casei*(v2), and *L. fermentum* respectively after concentrated in compare with (19,22,20)mm before concentrated.