الكفاءة التثبيطية للمستخلص الفلافونويدي لبذور نبات الخردل الأسود *Brassica nigra* في نمو بعض البكتريا والفطريات المعزولة من لحوم الأبقار المحلية والمستوردة

همس حسين هاشم — كلية الطب البيطري/جامعة القادسية
عدنان حمد الحمداني — كلية الطب / جامعة القادسية
إحسان فليح الجوهري — كلية الطب البيطري/جامعة القادسية

الخلاصة

تناولت هذه الدراسة الكشف عن أعداد و أنواع الجراثيم المرافقة لذبائح الأبقار المحلية والمستوردة والحالة الصحية للمجازر ومحلات بيع اللحم في مدينة الديوانية , واحتمالية وجود الجراثيم المرضية المرتبطة بتفشي حالات التسمم الغذائي والتهاب المعدة والأمعاء في الإنسان , مثل المكورات العنقودية , الايشيريشيا القولونية وفطريات أخرى مثل البنيسيليوم والاسبيرجيليس وغيرها , في مائة وستين عينة من ذبائح الأبقار (80 عينة لحم محلي و 80 عينة لحم مستورد).أظهرت نتائج الدراسة ومن معدل العدد الكلي للبكتريا الهوائية والفطريات المعزولة من ذبائح الأبقار وعند تحليل هذه النتائج إحصائيا تحت مستوى احتمالية $P<0.05$ وجود فروق معنوية قليلة بين اللحم المحلي واللحم المستورد من حيث التلوث البكتيري لصالح اللحم المحلي , وزيادة التلوث الفطري في اللحم المستورد عنه في اللحم المحلي . تم عزل وتشخيص عدة أنواع بكتيرية من اللحم المحلي والمستورد إذ كانت الأكثر شيوعا هي *Staphylococcus aureus* *بنسبة* (46.30 % في اللحم المحلي و37.88 % في اللحم المستورد) , *Escherichia coli* بنسبة (41.94 % في اللحم المحلي و 43.17% في اللحم المستورد) , *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة (9.73% في اللحم المحلي و 12.77% في اللحم المستورد) و *Proteus spp.* بنسبة (2.01% في اللحم المحلي و 3.96% في اللحم المستورد) اما أهم الملوثات الفطرية الأكثر شيوعا فقد كانت *Penicillium notatum* بنسبة (62.83% في اللحم المحلي و 73.77% في اللحم المستورد) , *Aspergillus niger* بنسبة(24.77% في اللحم المحلي و 11.47% في اللحم المستورد) , *Alternaria alternata* بنسبة (7.07% في اللحم المحلي و 9.83% في اللحم المستورد), *Aspergillus candidas* بنسبة (4.42% في اللحم المحلي فقط) , *Aspergillus fumigatus* بنسبة (0.88% في اللحم المحلي و 3.27% في اللحم المستورد) وAspergillus spp. بنسبة (1.63% في اللحم المستورد فقط). اظهر المستخلص الفلافونويدي لبذور نبات الخردل الأسود *Brassica nigra* فعالية تثبيطية في نمو البكتريا (*Staphylococcus aureus , Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*) والفطريات (*Penicillum notatum, Aspergillus niger . Alternaria alternata*) في جميع التراكيز المستخدمة (100,75,50,25) ملغم/مل ما عدا بكتريا *E.coli* فقد أظهرت استجابة للمستخلص عند التراكيز(75, 100) ملغم/مل فقط , وقد أظهرت النتائج وجود تباين في تاثير المستخلص حسب الأنواع الجرثومية المستخدمة في الدراسة, كما بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى للبكتريا المختبرة (30) ملغم/مل لكل من *S. aureus & Ps. aeruginosa* و (40) ملغم/مل لبكتريا *E.coli* اما قيمة التركيز القاتل الأدنى فقد كانت (70) ملغم/مل ولكافة العزلات البكتيرية المختبرة , اما بالنسبة للفطريات فقد بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى (0.25) ملغم/مل وقيمة التركيز القاتل الأدنى فقد كانت (5) ملغم/مل ولكافة العزلات الفطرية المختبرة .

المقدمة

تحتل النباتات الطبية Medical Plants في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي وهي المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية النباتية او مصدرا للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء وتثبيط نمو الأحياء المجهرية (1). من العوامل التي قادت إلى العودة للاهتمام بالنبات كدواء هو التوصل إلى أن كفاءة خلاصات النباتات الطبية في تأثيرها الوظيفي أكثر من المواد المحضرة مختبريا, إذ وجد أكثر من 327 نوعاً من النباتات في العراق تمتلك فعالية مضادة للميكروبات (2) .كما اختبرت بعض المستخلصات على تثبيط بعض الفطريات المسببة للاخماج في الإنسان. حيث كانت وما تزال النباتات والأعشاب الطبية عاملا مهما يدخل في الصناعة الدوائية, لاسيما بعد أن طورت الجراثيم مقاومتها للمضادات الحياتية كالمقاومة للبنسلين, فقد ازداد الاهتمام بالنباتات الطبية بوصفها مضادات للأحياء المجهرية,. ويعود الخردل الأسود الى العائلة الصليبية Brassicaceas, وهي عائلة كبيرة وقسم من نباتاتها حولي أو ذو حولين أو معمر, وتحتوي على 300 جنس و أكثر من 2000 نوع موزعة في معظم مناطق العالم, ويوجد في العراق أكثر من 80 جنسا (3). والخردل (Mustard) هو نبات عشبي يصل ارتفاعه إلى حوالي متر وهو غزير التفرع وخاصة الأغصان الموجودة في قمة النبات, أوراقه بسيطة متبادلة وهي مفصصة الأزهار صفراء اللون توجد على هيئة عناقيد, أما الثمار فهي اسطوانية وقرنية الشكل حيث توجد على هيئة قرون رفيعة ذات لون اصفر بني, تحتوي بذورا كروية الشكل صغيرة الحجم, والجزء المستخدم من الخردل هو البذور وكذلك الأوراق (4). تحتوي بذور الخردل الأسود على مواد هلامية (Mucilages) في الطبقة الخارجية للبذرة, أما الجنين فيحتوي على 27% زيت ثابت, 29% بروتين, 4% جليكوسيدات السنجرين وأنزيمات الميروسين (Myrosin) وكميات صغيرة من ميرونات البوتاسيوم وهي مدرة للبول وهاضمة وتنشط التمثيل الغذائي بالجسم. الجليوسيدات عبارة عن جليوسيد السنجرين (Sinigrin) الذي يتواجد بنسبة

4% وهذا الجليوسيد يتحلل مائيا, وينتج عن هذا التحلل سكر الجلوكوز وكبريتات البوتاسيوم الحمضية, هذا بالإضافة إلى مادة أليل ايزوثيانات (Allyliso thiocyanate), وهي مادة زيتية طيارة تعزى إليها الرائحة والمذاق المميزين.بالإضافة إلى المكونات السابقة, فهناك أيضا زيوت طيارة نفاذة تتراوح نسبتها من 1-1.3 % في البذور, وتحتوي هذه النسبة على 92% على الأقل من مادة أليل ايزوثيوثيانات (3)). ان وجود الكلوكوسينوليت في زيت الخردل (mustard oil) هو الذي يعطي الرائحة المتطايرة الحريفة بعد التحلل الأنزيمي وهذا يحصل أيضا عند تمزق أنسجة نباتات العائلة الصليبية الغضة, حيث إن أنزيم Thioglucosidase المعروف باسم myrosinase يحلل thioglucosides ويحرر isothiocyanate , والتخليق الحيوي لهيئة الكلوكوسينوليت غير معروفة بشكل تفصيلي (5). لذلك فقد تم التحري والبحث عن النباتات التي لها فعالية مثبطة ومضادة للجراثيم في العديد من الدراسات (6) , ولعدم وجود دراسات محلية سابقة حول استخدام نبات الخردل الأسود كبديل للمضادات الحيوية , فقد قمنا بهذه الدراسة التي تهدف الى إثبات فعالية هذا النبات , حيث ان هذا النبات متوفر في البيئة العراقية ورخيص الثمن ومأمون الاستعمال وعديم الأضرار الجانبية . ومن هذا المنطلق جاءت فكرة هذه الدراسة والتي هدفت إلى التحري عن وجود البكتريا الهوائية والفطريات الملوثة للحوم الأبقار المحلية والمستوردة واختبار تاثير عدة تراكيز من مستخلص نبات الخردل الأسود الفلافونويدي في نموها في المختبر.

المواد وطرائق العمل

أولا: الجانب الميكروبي

1. جمع العينات

جمعت عينات اللحوم البقرية المحلية من مجزرة و محلات بيع اللحوم في مدينة الديوانية, كما تم جمع عينات من اللحوم المستوردة المجمدة من الأسواق المحلية للمدينة, حيث تم انتخاب عينات عشوائية من لحوم البقر المختومة بيطريا, ووضعت في قناني بلاستيكية نظيفة ومعقمة وتم جمع 80 عينة لحم محلي و80 عينة لحم مستورد, وقد نقلت العينات إلى المختبر مباشرة في نفس اليوم بعد أن دونت عليها المعلومات المطلوبة.

2. العزل والتشخيص

تم تحضير عينات اللحم للفحص المختبري (اللحم المحلي واللحم المستورد) لغرض العزل الجرثومي . تم وزن 20 غم من كل عينة لحم وتم إضافة 180 مل من الماء المقطر لكل منها في خلاط كهربائي معقم , ثم مزجت العينتان (كلا على حدة) لمدة خمسة دقائق , كما عملت سلسلة تخافيف (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6}), بعد ذلك تم اخذ 0.1 مل من كل تخفيف ووضع كل تخفيف في طبق بتري وبواقع ثلاث مكررات لكل تخفيف (7). بعد إتمام عملية تحضير العينات وإجراء التخافيف المطلوبة وتوزيعها في أطباق, تم سكب كمية من الوسط الغذائي الاكار المعقم والمبرد بين (42-45) مْ, وحرك الطبق ليتجانس النموذج مع الوسط, ثم ترك ليتصلب حسب طريقة (8). حضنت الأطباق المزروعة بدرجة حرارة (37) مْ لمدة 24-48 ساعة (البكتريا), ودرجة حرارة (25) مْ لمدة تتراوح بين 5-7 يوم (الفطريات).شخصت البكتريا المرضية النامية على الأوساط الزرعية وذلك بالاعتماد على بعض الصفات الزرعية المختبرية (الشكل, اللون, الحجم, التصبغ) والاختبارات الكيموحيوية (9) (10) (11).شخصت الفطريات النامية على الأوساط الزرعية بالاعتماد على الصفات المظهرية والمجهرية, وكذلك اعتمادا على الخصائص الكيموحيوية (12). زرعت الفطريات على وسط السابرويد دكستروز ووسط البطاطا دكستروز لملاحظة الصفات المظهرية للمستعمرات مثل الشكل, اللون, قطر المستعمرة, وارتفاعها, ونوع البوغ وطريقة تكوين الابواغ. بعد ملاحظة النمو في الأطباق الزرعية, تم اخذ جزء من النمو الفطري وتثبيته على شريحة زجاجية وتصبيغه بصبغة اللاكتوفينول الزرقاء, لملاحظة أشكال وحجم وترتيب الكونيديا.

3. فحص الحساسية الدوائية للعزلات

اختبار الحساسية الدوائية للمضادات البكتيرية

استعملت (3) أنواع من البكتيريا وهي *Pseudomonus aeruginosa*, *E. coli* و *Staphylococcus aureus* (اعتمادا على نسبة تكرارها ولجميع العينات) لإجراء اختبار الحساسية الدوائية تجاه المضادات البكتيرية Cefotaxime, Chloramphenicol, Gentamicin, Nalidixic acid وTrimethoprim.واجري هذا الاختبار بطريقة الانتشار بالأقراص (Discs diffusion method) بحسب طريقة (13) كما يلي:

1- نقل (2-4) من المستعمرات النقية إلى أنابيب اختبار يحتوي كل منها على 5 مل من وسط الاكار المغذي السائل وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة .

2- خفف النمو الحاصل عند الضرورة وباستعمال المحلول الملحي الفسلجي إلى أن تكون العكورة الحاصلة مجانسة إلى عكورة أنبوبة ماكفرلاند (الذي يحتوي على عدد تقريبي للخلايا البكتيرية والذي يقدر بين (1.5×10^8) خلية/مل.

3- أدخلت المسحة القطنية المعقمة في الأنابيب الحاوية على النمو البكتيري وأزيلت الزيادة بواسطة الضغط على جدران أنبوبة الاختبار الداخلية, ثم نشرت المسحة على وسط المولر هنتون الصلب وباتجاهات مختلفة لضمان نشر البكتريا المراد اختبار حساسيتها بالتساوي .

4- وضعت 6 أقراص من المضادات الحيوية على سطح الوسط الزرعي الذي لقح بالمزروع البكتيري في الفقرة المذكورة أنفاً (3) باستخدام ملقط معقم ضغط على الأقراص بعناية لتثبيتها, حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة.

5- قرأت النتيجة في اليوم التالي وحددت البكتريا الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية بقياس منطقة

تثبيط النمو حول كل قرص والتي قدرت بالمليمتر وقورنت مع الجداول القياسية . وتم حساب نسبة البكتريا المقاومة من المعادلة التالية (14) :

$$\text{نسبة البكتريا المقاومة} = \frac{\text{عدد البكتريا المقاومة}}{\text{عدد العزلات الكلية المختبرة}} \times 100$$

اختبار الحساسية الدوائية للمضادات الفطرية

استعملت (3) أنواع من الفطريات الخيطية وهي *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* و *P. notatum* (وذلك اعتمادا على نسب تكرارها ولجميع العينات) لإجراء اختبار الحساسية الدوائية تجاه المضادات الفطرية Nystatin, Ketoconazole و Griseofulvin كما ورد في (15) وكالاتي:

1 – تحضير العالق الفطري : حضر العالق الفطري بأخذ النمو الفطري من وسط مستعمرة بعمر 5 أيام بواسطة ناقل حلقي (loop) ووضع في أنابيب اختبار حاوية على 5 مل من المحلول الملحي الفسلجي المعقم, وتم رجها بشكل جيد باستخدام جهاز (Vortex).

2- المضادات الفطرية : حضر المحلول الأصلي لكل من المضادات الفطرية المذكورة سابقا بوضع 50 ملغم من كل من المضاد الفطري وأضيف إليها 5 مل من مادة Dimethyl sulphoxide (DMSO) بتركيز 100% في قنينة زجاجية محكمة , ورجّ المحلول بقوة, حيث يمثل المحلول المتكون المحلول الأصلي بتركيز (10ملغم/مل), ثم ترك المحلول بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة قبل استخدامه, بعد ذلك تم تحضير محلول مخفف من المضادات الفطرية قيد الدراسة بتركيز (1 ملغم/مل) من المحلول الأصلي لكل مضاد وذلك بإضافة 9 مل من مادة (DMSO) إلى 1 مل من المحلول الأصلي, أما الباقي فقد حفظ في درجة حرارة (-20)م° لحين الاستعمال.

3- تحضير طبق السيطرة : حضر بإضافة 3 مل من Sabouraud Dextrose Broth (SDB) إلى قنينتين, كل واحدة منها تحتوي على 27 مل من ESDA المحفوظ في حمام مائي بدرجة حرارة 50 - 52 م°, رجت المواد بقوة وصب كل 30 مل في طبق بتري وتركت لتتصلب .

4- وضع 0.2 مل من اللقاح الفطري ونشر على سطح الوسط الزرعي المحضر باستعمال القضيب الزجاجي بشكل حرف L .

5- تركت الأطباق الملقحة بوضع مستوي لمدة ساعة , بعدها تم عمل حفر بقطر 6 ملليمتر في الوسط الصلب المزروع بواسطة الثاقب الفليني , بواقع حفرة واحدة لكل مضاد , بعد ذلك تم غلق قعر الحفر بإضافة 0.05 ملليمتر من وسط السابرويد ديكستروز الصلب المعقم والذائب" قبل تصلبه " لغرض منع تسرب المضاد , وتركت الأطباق لحين التأكد من غلق الحفر , ثم أضيف مقدار 0.1 مل من كل عقار من المضادات الفطرية الى كل حفرة , كما زرعت بقية الأنواع الموجودة على أطباق السيطرة من وسط SDA, وحضنت الأطباق الملقحة بالفطريات تحت درجة حرارة 28 م°. وتم تثبيت النتائج بعد 2 –5 يوم من خلال قياس مناطق تثبيط النمو باستخدام المسطرة (16) .

ثانيا : المستخلص النباتي

جمع عينات النباتات :

تم الحصول على النبات الطبي المستخدم في الدراسة (بذور نبات الخردل الأسود) من الأسواق المحلية لمدينة الديوانية , وتم تنظيفها وغربلتها من الشوائب والأتربة , وتم طحنها باستخدام المطحنة الكهربائية للحصول على المسحوق النباتي ثم حفظت لحين الاستخدام .

تحضير المستخلص الفلافونويدي :

حضر المستخلص الفلافونويدي من بذور نبات الخردل الأسود حسب طريقة (17). إذ أضيف (50) غم من المسحوق النباتي إلى (500) مل من الايثانول تركيز (80%), ترك بعدها الخليط على القلاب الممغنط (magnetic stirrer) لمدة 24 ساعة. ورشح الخليط باستخدام أوراق الترشيح (WhatmanNo.1), وأضيف إلى الراشح (50) مل من خلات الرصاص Lead acetate تركيز (1%) , وترك لمدة (15) دقيقة. ثم رشح المزيج وعومل الراسب مع (50) مل أسيتون و(60) مل من حامض الهيدروكلوريك HCl, بعدها رشح وجفف الراشح بدرجة حرارة الغرفة وجمع المستخلص الجاف وحفظ في قناني معقمة. تم تحضير عدة تراكيز لهذا المستخلص (100,75,50,25) ملغم/مل , عقمت المستخلصات بتمريرها عبر مرشحات غشائية Membrane filters ذات قطر 0.2 مايكروميتر نوع Whatman .

ثالثا: اختبار الكفاءة التثبيطية للمستخلص الفلافونويدي للخردل الأسود في النمو الجرثومي :

طريقة انتشار بالحفر Agar Well Diffusion Method :

اتبعت طريقة الانتشار في الاكار بواسطة الحفر Wells في اختبار حساسية العزلات البكتيرية والفطرية للمستخلص وتتضمن الطريقة عمل 4 حفر بأبعاد متساوية في وسط الاكار الصلب (أكار المولر هنتون للبكتريا و أكار البطاطا دكستروز او السابرويد دكستروز للفطريات) وبقطر(6) ملم بواسطة ثاقب فليني Cork borer لاحتواء محاليل المستخلصات بمقدار 0.1 مل/حفرة بعد نشر 0.1 مل من العالق البكتيري والعالق الفطري على الأوساط , تركت الأطباق داخل الثلاجة لمدة (30) دقيقة لغرض انتشار محاليل المستخلصات في الوسط الزرعي (18), ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24ساعة (بالنسبة للبكتريا) , ودرجة حرارة 28 م° لمدة 24- 48 ساعة (الفطريات) , قرأت النتائج على أساس قياس منطقة التثبيط Inhibition Zone بواسطة المسطرة (19).

رابعا: تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمستخلص النباتي

أ- تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC (للبكتريا المختبرة) :

حضرت سلسلة من التخافيف المتدرجة من المستخلص النباتي قيد الدراسة وذلك باستخدام المرق المغذي وتراوحت تراكيزها من (,70 ,80 ,90 ,100 10 ,20 ,30 ,40 ,50 ,60) (ملغم /مل), ولقحت الأنابيب بمقدار 0.1 مل من العالق البكتيري الذي بعمر 24 ساعة, ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37م°ولمدة 48 ساعة, ثم أخرجت الأنابيب من الحاضنة واستبعدت الأنابيب العكرة والتي تعني إن نمو الجراثيم مستمر فيها, أما الأنابيب غير العكرة فقد تم قراءة تثبيط أو قتل الميكروبات فيها وذلك عن طريق إعادة زرعها على الاكار المغذي وملاحظة وجود النمو من عدم وجوده (20) .

ب- تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MFC (في الفطريات):

حدد التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى للمستخلص النباتي قيد الدراسة تجاه الأنواع الفطرية على وفق ما ورد في (21) وكالآتي :
حضرت تخافيف متدرجة من المستخلص النباتي قيد الدراسة بالاستعانة بأنابيب اختبار حاوية على مرق السابرويد دكستروز SDB تراوحت قيمتها من (0.5 ,75,50,25,12.5,10,5,2.5,1.25, 100), ثم لقحت الأنابيب بمقدار 0.1 مل من اللقاح الفطري ثم حضنت الأنابيب الحاوية على الفطريات بدرجة حرارة 28-30 مْ. وتم تحضير وسط زرعي ملقح بالعالق الفطري ممثلاً وسط السيطرة (1) ووسط زرعي مع المستخلص النباتي ممثلا السيطرة (2), وتعاد التجربة في حالة عدم ظهور عكورة في السيطرة (1) أو عند ظهور عكورة في السيطرة (2) . وقد حددت قيم التركيز المثبط الأدنى بأنها اقل تركيز من المستخلص النباتي الذي يمنع ظهور عكورة في الوسط الزرعي واضحة للعين المجردة. فيما حددت قيم التركيز القاتل الأدنى (MFC) بنقل 0.1 مل من جميع الأنابيب المختبرة التي لم تظهر فيها عكورة إلى أطباق حاوية على أكار السابرويد دكستروز وحضنت الأطباق الحاوية على الفطريات بدرجة 28-30 مْ وحددت قيمة التركيز القاتل الادنى بأنه اقل تركيز من المستخلص النباتي يقلل عدد المستعمرات بمقدار 99.9% من المزروع الأصلي .

التحليل الإحصائي

أخضعت النتائج للتحليل الإحصائي باستخدام مربع كاي Chi- square (22).

النتائج والمناقشة

الجراثيم المعزولة:

حيث انه و اعتمادا على الصفات المظهرية والفحوصات الكيموحيوية, تم عزل وتشخيص أربع أجناس بكتيرية مختلفة من عينات اللحم المحلي,وكما يتضح من الجدول (1) ظهور فروق معنوية بين أفراد عينة اللحم المحلي حيث ان أعلى نسبة هي للبكتريا *Staphylococcus aureus* , إذ شكلت نسبة 46.3 %, تلتها بكتريا *E.coli* بنسبة41.94 %, وبكتريا *Ps. aeruginosa* بنسبة 9.73 % , وأخيرا بكتريا *Proteus spp* عزلت بنسبة 2.01 % .أما بالنسبة لعينات اللحم المستورد فقد تم تشخيص خمسة أجناس بكتيرية وهي *E.coli* و *Staph.aureus* و*Ps.aeruginosa* و *Proteus spp.* و *Strep.pyogense* . وكما يتضح من الجدول (1) ظهور فروق معنوية بين أفراد عينة اللحم المستورد حيث كانت أعلى نسبة هي لبكتريا *E.coli* إذ شكلت نسبة 43.17%, تلتها بكتريا *Staph.aureus* بنسبة 37.88 %,وبعدها بكتريا *Ps.aeruginosa* بنسبة 12.77% وبكتريا *Proteus spp.* بنسبة3.96 % , في حين شكلت بكتريا *Streptococcus pyogense* اقل نسبة إذ بلغت 2.20%. وعند تحليل النتائج إحصائيا لوحظ ان هنالك فروق معنوية تحت مستوى احتمالية $P<0.05$ بين عينات اللحم المحلي والمستورد حيث كانت نسبة تلوث اللحم المحلي أعلى بقليل من اللحم المستورد.

جدول (1): الأعداد الكلية للعزلات البكتيرية ونسب ترددها و المعزولة من عينات اللحم البقري (اللحم المحلي والمستورد) المشمولة بالدراسة

العزلات البكتيرية	مصدر العينات				قيمة مربع كاي لعزلات كلا العينتين
	لحم بقري محلي		لحم بقري مستورد		
	العدد	%	العدد	%	
S. aureus	138***	46.30	86	37.88	12.07143
E. coli	125*	41.94	98	43.17	3.269088
Ps. aeruginosa	29	9.73	29	12.77	0
Proteus pp.	6	2.01	9	3.96	0.6
Strep.pyogense	0	0	5*	2.20	5
المجموع	298	100	227	100	

* وجود فروق معنوية بين عزلات كلا العينتين

قيمة مربع كاي للمحلي = 54.23* قيمة مربع كاي للمستورد = 48.56

وكانت *S. aureus ,E. coli , P. aeruginosa* من أكثر المسببات البكتيرية شيوعا في تلوث لحوم البقر المحلية والمستوردة حيث يعتبر اللحم وسطا مغذيا غنيا لنمو الميكروبات (23) , ان سبب شيوع بكتريا *S. aureus* قد يعود إلى امتلاكها العديد من آليات المقاومة كامتلاكها المستضدات السطحية وتنتج بعض الأنزيمات او مواد خارج خلوية ,وبعضها يكون ذيفانات داخلية مقاومة للحرارة تكون مصدراً شديد الخطورة (24) , حيث عند طبخ اللحوم فان الحرارة سوف تقتل البكتريا دون تحطيم هذه الذيفانات , و إن العديد منها يحمل بواسطة البلازميدات . وكذلك تمتاز بقدرتها على النمو في ظروف بيئية متغايرة من درجة حرارة واس هيدروجيني (25). اما بالنسبة لبكتريا *E.coli* فهي من البكتريا الواسعة الانتشار في البيئة , ويكون تلوث الماء والغذاء المصدر الأساسي لانتشارها , ووجودها في اللحوم دلالة على التلوث المباشر او الغير مباشر بالبراز((26) ;(28) ,(27) . اما سبب وجود *Ps.aeruginosa* فيعود إلى توفر المغذيات الملائمة لنموها في اللحم والى امتلاكها الصبغات التي لها دور مهم في منح هذه البكتريا قوة المنافسة مع باقي الأجناس البكتيرية في المكان الذي تستوطنه , إذ تقوم هذه الصبغات بنشاط مماثل لفعل المضادات الحياتية مما يؤدي إلى تثبيط تلك الأجناس الأخرى الموجودة معها وتتاح لهل فرصة السيادة ;(29) (30) . ومن خلال هذه النتائج تبين ان النسبة السائدة كانت لجرثومتي *S.aureus & E.coli* حيث ان هذه الجراثيم هي فلورا طبيعية موجودة عند الإنسان والحيوان , ولكن وجودها في الغذاء هو دلالة على التعامل غير الصحي خلال التجهيز (31) .اما بالنسبة للعزل الفطري فقد أظهرت النتائج إن نسبة العزل بالفطريات % 100 للحم المحلي واللحم المستورد. ويوضح الجدول (2) ان أعلى نسبة تردد في اللحوم المحلية هي للفطر *Pencillium notatum* إذ كانت 62.83% يليه فطر *Aspergillus niger* إذ بلغت نسبة تردده 24.77% ويليه فطر *Alternaria alternata* بنسبة تردد 7.07% ,فطر *Asper . candidas* بنسبة تردد 4.42% وأخيرا فطر *A. fumigatus* بنسبة تردد 0.88% . أما بالنسبة للحوم المستوردة فقد كانت الفطريات المعزولة مشابهة للفطريات المعزولة من اللحوم المحلية مع اختلاف بسيط في نسب التردد حيث كانت نسبة تردد الفطر *P.notatum* هي 73.77% ,يليه فطر *As.niger* بنسبة تردد 11.47% , و فطر *Alter.alternata* بنسبة 9.83 % ,وفطر *Asper.fumigatus* بنسبة تردد 3.27% , واخيرا فطر *Aspergillus spp.* بنسبة 1.63% , في حين لم يتم عزل *A. candidas* من عينات اللحم المستورد. وعند تحليل النتائج إحصائيا اتضح وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمالية $P<0.05$ بين عينات اللحم المحلي والمستورد حيث كان اللحم المحلي أعلى نسبة تلوث فطري مما في اللحم المستورد.

جدول (2): الأعداد الكلية للعزلات الفطرية ونسب ترددها المعزولة من عينات اللحم البقري (اللحم المحلي والمستورد) المشمولة بالدراسة

العزلات الفطرية	مصدر العينات				قيمة مربع كاي لعزلات كلا العينتين
	اللحم البقري المحلي		اللحم البقري المستورد		
	العدد	%	العدد	%	
P. notatum	71*	62.83	45	73.77	5.827586
A. niger	28***	24.77	7	11.47	12.6
Al. alternata	8	7.07	6	9.83	0.285714
A.fumigatus	1	0.88	2	3.27	0.33333
A.candidas	5*	4.42	0	0	5
Aspergillus spp.	0	0	1	1.63	0.999999
المجموع	113*	100	61	100	

* وجود فرق معنوي

قيمة مربع كاي للمحلي = 41.86*

قيمة مربع كاي للمستورد = 32.71

بينت نتائج دراستنا ان جنس *Penicillium* هو الأكثر تواجدا بعدد مستعمراته العالية , وقد يفسر ذلك الانتشار الواسع لهذا الفطر كونه السائد غالبا في الهواء وينمو مترمما على النباتات الميتة ويطلق ابواغاً كونيدية كثيفة العدد تنتقل بواسطة الهواء , وهذا بدوره ينطبق كذلك على وجود الأجناس الاخرى من الفطريات التي احتلت الصدارة بالنسبة للفطريات التي تم عزلها من اللحوم البقرية والتي تمثلت بـ *Aspergillus* , *Alternaria* , حيث يعود سبب شيوع فطر *Aspergillus spp.* إلى كونه من الفطريات التي تمتاز بإنتاجها كميات كبيرة من الابواغ او الكونيدات الصغيرة الحجم والتي تبقى معلقة في البيئة المتواجدة فيها لفترات طويلة , فضلا عن امتلاكها للأنزيمات المتعددة المحللة للمواد البروتينية والسليلوزية , إضافة إلى الظروف المناسبة للنمو والتكاثر من رطوبة ودرجة حرارة والمتوفرة في اللحم , وكذلك لوحظ وجود تلوث ناتج من وجود فطر *Al. alternata* وهي من الفطريات الناقصة , ولعل ذلك يعود إلى قدرتها على الظهور في مختلف الأوساط سواء كانت صناعية او طبيعية والتي تتميز بقابليتها على النمو وإنتاج الوحدات التكاثرية بأعداد كبيرة وان لكونيداتها القدرة على الانتشار الى مسافات بعيدة , كذلك تقاوم بعض أنواعها الظروف البيئية من خلال احتوائها على صبغة الميلانين الغامقة التي تساعدها في الوقاية من الظروف البيئية القاسية (32).حيث بينت هذه الدراسة وجود العديد من الأجناس والأنواع الفطرية الشائعة والتي تتواجد في اللحوم . حيث يزداد نمو الفطريات زيادة ملحوظة بزيادة المادة العضوية نتيجة استخدامها كمصدر للطاقة (33), وان مصدرها قد يكون من جراء تلوث هذه اللحوم من البيئة والظروف المحيطة . وهذا يتفق مع ما توصل إليه (34) الذي أشار الى تلوث الهواء في مدينة الديوانية بهذه الفطريات , على اعتبار ان الهواء من أهم مصادر تلوث اللحوم .

نتائج اختبارات الحساسية الدوائية :

كانت جميع عزلات بكتريا الاختبار حساسة للمضادات Gentamicin و Chloramphenicol بصورة كبيرة ,وهذا يتفق مع ما أشار إليه (35) وكذلك لما ذكره (36) وجاء مخالفا لما سجله (37) بنسبة مقاومة 100% لجميع العزلات لهذه المضادات . أما المضاد Nalidixic acid فقد أظهرت جميع بكتريا الاختبار حساسية له ما عدا ال *Staph.aureus* التي أبدت مقاومة له بنسبة 100% وهذا يتفق مع ما أشار إليه (36) حول فعالية هذا المضاد ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام أكثر منه للبكتريا الموجبة لصبغة غرام , جدول (3).

جدول (3) : أقطار تثبيط النمو (مقاسة بالملم) ونسبة العزلات الحساسة للمضادات الحيوية :

نوع البكتريا وعدد عزلاتها المختبرة	Chloramphenicol		Gentamicin		NA		Cefotaxime		Trimethoprim	
	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئويةللعزلات الحساسة
S. aureus(20)	25	60	16	45	28	0	17	20	24	50
E. coli(20)	25	65	19	70	20	75	13	35	25	45
P.aeruginosa (20)	20	25	15	50	10	15	0	0	0	0
النسبة المئوية للتثبيط	23.33		16.66		19.33		10		16.33	

ومن خلال الجدول (4) نلاحظ أن العزلات *P.notatum* و *Asper.niger* أبدت حساسية تجاه المضاد الفطري Ketoconazole وبنسبة 70% و 90% على التوالي . كما أبدت الفطريات المعزولة مقاومة للمضاد الفطري Nystatin بنسبة 100% باستثناء عزلة *Asper.niger* كانت نسبة الحساسية تجاه هذا المضاد هي 60% . لقد لوحظ إن اكبر مناطق منع النمو ظهرت في الحفر الحاوية على المضاد Ketoconazole , في حين لم يظهر أي تأثير تثبيطي للمضاد Griseofulvin التي ابدت جميع الفطريات المعزولة مقاومة له وبنسبة % 100. حيث أن مجموعة الازول تمتاز بفعاليتها ضد الفطريات الخيطية من خلال التأثير على أنزيمات Cytochrome P 450 الداخلة في تصنيع Ergosterol المهمة في بناء الغشاء البلازمي للخلية الفطرية (38) فمضاد Ketoconazole الذي يستخدم في علاج الإصابات المتسببة عن الخمائر يعد مثبطا قويا لتخليق الاركوستيرول في *Candida albicans* ويتداخل مع الأنزيم Cytochrome P 450 الضروري في سلسلة التفاعلات التنفسية المسؤولة عن توليد الطاقة والتي تدخل في بناء ال Ergosterol في الفطريات (39).بينما تمتلك المضادات Griseofulvin و Nystatin فعالية اقل ضد الفطريات الخيطية وتتفق أيضا مع (40) الذي ذكر بان هذه المضادات اقل فعالية ضد الفطريات الخيطية ويعزى السبب إلى تثبيطها للإنبات أكثر من تثبيطها للنمو الفطري .

جدول (4) : أقطار تثبيط نمو الفطريات مقاسة بالملم ونسبة العزلات الفطرية الحساسة للمضادات الفطرية :

الأنواع الفطرية	عدد العزلات المختبرة	عدد العزلات الحساسة	Ketoconazole		Nystatin		Griseofulvin	
			معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة	معدل قطر تثبيط النمو	النسبة المئوية للعزلات الحساسة
P.notatum	20		10	70	0	0	0	0
Asper.niger	20		17	90	12	60	0	0
Alter.alternata	20		0	0	0	0	0	0
النسبة المئوية للتثبيط			9		4		0	0

تركيز المضادات 1 ملغم / مل

الكفاءة التثبيطية للمستخلص الفلافونويدي للخردل الأسود في النمو الجرثومي :

لقد تبين من خلال دراسة التأثير المثبط للمستخلص الفلافونويدي لبذور نبات الخردل الأسود بان التركيز 25 ملغم/مل كان فعالا في تثبيط نمو الجراثيم حيث يلاحظ من الجدول (5) ان مستخلص الخردل الأسود الفلافونويدي يمتلك قدرة تثبيطية عالية في نمو جراثيم الاختبار , حيث يلاحظ ان التركيز 25 ملغم/مل كن فعالا ضد جراثيم الاختبار مع وجود تفاوت في أقطار التثبيط حيث كلما ازداد التركيز ازدادت أقطار التثبيط. ويشير هذا التفاوت الى اختلاف المواد الفعالة في المستخلص حيث ان تركيز المواد الفعالة تزداد مع زيادة تراكيزها حيث لوحظ بان التركيز 100 ملغم/مل كان أكثر فعالية من غيره في تثبيط النمو الجرثومي كذلك اختلاف سلالات الجراثيم , حيث ان بعض الجراثيم أبدت حساسية للتراكيز العالية فقط وهذا يعود الى سمك الجدار الخلوي خاصة البكتريا بالنظر لاحتوائه على بعض الدهون الفوسفاتية و LPS (Lipo poly Saccharide) مثل *E. coli* , *Ps. aeruginosa*)(14).

جدول(5) تاثير المستخلص الفلافونويدي لبذور الخردل الاسود على نمو البكتريا والفطريات المختبرة في الاوساط الزرعية :

التركيز ملغم/مل	معدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم					
	نوع البكتريا			نوع الفطر		
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Penicillium notatum*	*Aspergillus niger*	*Alternaria alternata*
25	10	0	9	13	11	12
50	12	0	9	16	13	15
75	13	8	11	19	16	17
100	14	9	12	23	20	21

تحديد قيمة MIC والتركيز القاتل الأدنى للبكتريا والفطريات :

يتضح من خلال الجدول (6) ان اقل قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الفلافونويدي لبذور نبات الخردل الأسود والتي بلغت 30ملغم/مل لكل من *S.aureus* و *Ps.aeruginosa* و 40 ملغم/مل في بكتريا *E.coli* , اما بالنسبة للفطريات فقد بلغت 0.25 ملغم/مل لكل الفطريات المعزولة خلال هذه الدراسة. اما التركيز القاتل الأدنى فقد تساوت القيم المسجلة وهي 70 ملغم /مل لجميع العزلات البكتيرية و 5 ملغم/مل لجميع العزلات الفطرية, ويعزى ذلك الى ان المركبات الفلافونويدية هي مركبات اروماتية حاوية على مجاميع هيدروكسيل حرة ومتعددة وان القدرة التثبيطية لهذه المركبات تزداد بزيادة هذه المجاميع وذلك من خلال تكوين أواصر هيدروجينية بين مجاميع الهيدروكسيل (الحرة والمتعددة) للمركب ومجاميع الكبريت للبروتينات مما يؤدي الى تغيير طبيعة البروتينات الخلوية مسببة ترسيبها وفقدان وظيفتها(41).

جدول(**6**) قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للمستخلص الفلافونويدي للخردل الاسود تجاه البكتريا والفطريات المختبرة :

البكتريا المختبرة	التركيز ملغم/مل	
	MIC	MBC
Staphylococcus aureus	30	70
Escherichia coli	40	70
Pseudomonas aeruginosa	30	70
الفطريات المختبرة	MIC	MFC
Penicillium notatum	0.25	5
Aspergillus niger	0.25	5
Alternaria alternata	0.25	5

تبين من خلال هذه الدراسة ان انخفاض القيم الخاصة بـ (MIC و MFC) في الفطريات للمستخلص النباتي يشير الى مدى الفعالية العالية للمستخلص النباتي ضد الفطريات . وهذا ما أكده (42) , إذ أشار الى ان انخفاض قيم (MIC و MFC) يؤكد الفعالية العالية للمستخلصات تجاه الجراثيم . وتجدر الإشارة هنا الى ان التفاوت في مدى تأثر الجراثيم بالمستخلصات النباتية المستخدمة قد يعود الى طبيعة الجراثيم من حيث التركيب وسمك الأغشية الخلوية والمحتوى من الدهون والبروتينات وعلاقة ذلك بالية عمل المركبات الفعالة لتلك المستخلصات , إذ ان تاثير المستخلصات على هذه الجراثيم قد يكون نتيجة لإحداث تشوهات في أغشيتها وتراكيبها الداخلية .

المصادر

1. السعلوس , عارف تيسير عارف (1995) . دراسة الصفات الكيميائية والدوائية لنبات الزعتر . رسالة ماجستيرفي علم الأدوية والسموم / كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

2. Al-Shamma, A. and Mitscher, L.A. (1979). Comprehensive survey of indigenous Iraqi plants for potential economic Value. 1. screening results of 327 species for alkaloids and antimicrobial agents. Lioydia. 42(6) : 633- 642.

3. Chakaravarty, H. L. (1976). Plant wealth of Iraq. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform . Baghdad-Iraq. 1 pp 78–79.

4. الدجوي , علي (1996) . موسوعة النباتات الطبية والعطرية , الكتاب الأول– المكتبة الزراعية .

5. Halkier, B.A. (1999). Glucosinolates In:Iran, R.E.D. Naturally occurring Glycosides: chemistry, Distribution and Biological properties,pp 193–223.

6. Desta, B. (1993). Ethiopian traditional herbal drugs.part II : Antimicrobial activity of 63 medicinal plant. J. Ethnopharmacol., 39 :12 -139.

7. Clarence, S. Y.; Obinna, C. N. ; Shalom, N. C. (2009). Assessment of bacteriological quality of ready to eat food (Meat pie) in Benin City metropolis, Nigeria. African Journal of Microbiology Research Vol.3(6)pp.390-395.

8. الزيدي , حامد مجيد و عبد الكريم , الهام سعيد و إبراهيم , ضمياء محمود.(1987). علم الأحياء المجهرية العملي . دار الكتب للطباعة والنشر .جامعة بغداد , وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

9. Cowan, S.T.(1985).Cowan and steel's manual for the identification of medical bacteria Cambridge university press Cambridge.

10. Olutiola , P.O. ; famurela, O.; Sontag, H.E. (1991). An introduction to general Microbiology, a practical Approach Heideberger Verlagsanstalt and Druckerei GmbH Heldeberg Gmbh,Germany.

11. Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994). Diagnostic Microbiology . 9th ed. C. V. Mosby company. U.S.A.

12. Hoog, G. S. & Guarro, J. (1995). Atlas of clinical fungi universital ropiran. prees. London & Spain.

13. Brooks, G. F. ; Butel, J. S. and Morse, S. A.(1998). Jawetz, . Melnick & Adelbergs Medical Microbiology.21th ed. Appleton & Lange, Asimon & schusterco ; California. Pp: 246-248.

14. Collee, J. G. ; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simony, A. S. (1996). Practical Medical Microbiology. 14th ed. Chunchill Livingstone. London.

15. McGinnis , M. R.(1980). Laboratory hand book of medical mycology.New york. Academic press. pp-661.

16. Nothan, P. ; Law, E. J. & Murph, D.F. (1978). Alaboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds . *J.Burns*., 4 : 177 - 187.

17. Al-Assadi, I.J. (2001). Study of hypoglycemic and antihyperglycemic action of *Oleaeupaea* in animals and human. Ph.D. Thesis, coll. Sci. Bas. Univ.Iraq.

18. Hernandez, M.; Lopez, R. A.; Dorias, R. M. & Arias, A.(1994). Antimicrobial activity of *Visnea mocanera* leaf . extracts. J. Ethnopharamacology ., 41 : 102—109 .

19. Saxena, G.; Farmer, S. ; Hancoc, R. & Towers, G. (1995). Antimicrobial compounds from *Alnus rubra* . Int. J. of pharmacognosy , 33-36.

20. التميمي,رائد عادل حنون.(2001). تأثير مستخلصات بقلة الملك *Fumaris parviflora* والشوك *Prosopis farcta* على بعض مسببات الأمراض الجلدية من البكتريا والفطريات . رسالة ماجستير/ كلية العلوم–الجامعة المستنصرية.

21. Baron , E.J. and Finegold, S.M. (1990):Baily and Scotts diagnostic microbiology. (8th ed). C.V. Mosby, U.S.A.

22. الراوي, خاشع محمود وخلف الله , عبد العزيز محمد.(2000) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية , دار الكتب للنشر. جامعة الموصل.

23. Phillips, M. (2003). Analysis of Microbial Hazards related to time /temperaturecontrol of foods for safety comprehensive Review in foodScience and food safety 2:33-35.
24. Prescott, M. ; Harley, P. ; Klan, D.A. (2005).Mictobiology. 6th ed.Mc-Graw Hill NewYork Publishers U.S.A P.910.
25. Jarvis, W. R. (1996). Selected aspects of the Socieconomic. Impact of nosocomial infection . Morbidity, Mortility, cost .and prevention , Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 17 (8) : 522 – 557.
26. Edema, M. O.; Omemu, A.M.; Fapetu, O.M.(2001).Microbiology and Physicochemical analysis of different sources of drinking water in Abeokuta Nigeria. Nig. J. Microbiol. 15 (1): 57-61.
27. Okonko, I. O. ; Adejoye, O. D. ; Ogunnusi, T. A. ; Fajobi, E.A. ; Shittu, O. B. (2008 a) .Microbiological and physicochemical analysis of different water samples used for domestic purposes in Abeokuta and Ojota, Lagos State, Nigeria. Afr. J. Biotechnol. 7(3):617-621.
28. Okonko, I.O.; Ogunjobi, A. A.; Adejoye, O.D.; Ogunnusi ,T.A.;Olasogba, M.C. (2008 b). Comparative studies and Microbial risk assessment of different water samples used for processing frozen sea food in Ijoraolopa, Lagos state Nigeria. Afr. J. biotechnol. 7(16):2902-2907.
29. (29): Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A.(2001). *Pseudomonas*, *Acinetobacters* and Un common gram –negative bacteria . In: Jawetz, Melnick & Adelbergs Medical Microbiology.22nd ed. Lang Medical Books/ Mc Graw- Hill . Medical Puplishing Division . 10:178- 182.
30. Greenwood, O. ; Slack, R. and Penther, J. (1997). Medical Microbiology. 15th ed. Churchill - Livingstone, London.
31. Adamolekun, W.E. & Adamolekun, B. (1992). Bacteria associated with food processing. Nig. Med. Pract.24:43-45.
32. Domsch, K. H.; Gams, W. and Enderson, T. (1980). Compenedium of soil fungi . 1, pp. 859. Academic press , London .
33. سعدون , عبد الأمير سمير .(2008) . دراسة تواجد الفطريات في نماذج مختلفة من الترب في محافظة القادسية.مجلة القادسية للعلوم الصرفة . المجلد 13 العدد 2 .
34. سـرحان , عبـد الرضـا طـه.(2002) . حصـر الفطريـات الملوثـة لهواء مدينـة الديوانيـة – وسط العراق . مجلة القادسية للعلوم الصرفة / المجلد 7 العدد 1 .
35. Manninen, R. ; Huvinen, P. and Nissinen, A. (1997).Increasing antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumonia .Hamophillus influenzae* and *M oraxeua catarrahalis* in finland. Jantimicrob. chemother. 40(3):387- 392.
36. Laurence, D. R. ; Bannett , P. N. and Brown , M. J. (1997). Clinical pharmacology (8th ed.), Churchill living stone , London .
37. الزبيدي , احمد عادل (2003). دراسة تأثير مستخلصات نبات سرطان الثيل *Euphorbia prostrate L.* في نموأنواع البكتريا المرضية. رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة الكوفة .
38. Rex, J. H. ; Pfller, M. A.; Walsh, T. J. ; Gosey, L. L. and Odds,F. C. (2001). Focus antifungal susceptibility testing : Pructical aspects and current challenges. Clin. Microbial. Reviews., 14(4):643-658.
39. Collin,B. ; Clancy, C. J. and Nguyen, M. H.(1999). Antifungal resistance in non-albicans *Candida* species . Drug Resist. Update., 2: 9-14.
40. الغالبي , حيدر حبيب حطيحط . (2006). التأثيرات الخلطية لبعض المضادات الفطرية ومستخلصات نباتي الثوم والأس تجاه بعض الفطريات الانتهازية الرئوية . رسالة ماجستير / كلية التربية – جامعة القادسية.
41. Feeny, P. (1998). Inhibitory effect of Oak Leaf tannins on the hydrolysis of protein by trypsine. J. Phytochemistry , 8: 2119 – 2126.
42. Fabry, W. ; Okemo, P. O. & Ansorg, R. (1998). Antibacterial activity of East African Medicinal plant Ethnopharmacol., 60(1) : 79-87.

The inhibitory efficiency of flavonoid extract of black mustard seeds (*Brassica nigra*) in growth of some bacteria and fungi isolated from local and Imported beef carcasses

H. H. Hashem
Coll.of Vet. Med./ Univ of AL-Qadisiya

A. H. AHamadani
Coll of Med./ Univ of AL-Qadisiya

I. F. Al–Jawhary
Coll of Med./ Univ of AL-Qadisiya

Abstract

This study was conducted to detect the microbial numbers and species that associated the local and imported beef carcasses and the sanitary conditions for the slaughterhouses and the butcher's shops in Al-Diwaniya city, and the possibility of illness germs existence that are connected with the food poisoning and gastroenteritis cases in human, like *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* and other fungi like *Penicillium notatum, Aspergillus spp.* and others, in one hundred and sixty samples of beef carcasses (80 samples of local meat and 80 samples of imported meat) . The results showed that the total count of aerobic bacteria and Fungi for the beef carcasses when results statistically analysis under possibility level ($P<0.05$) show indicated of low significant differences between the local and imported meat , the local meat was more contamination than the imported meat , while the fungal contamination in imported meat was more than the local meat . Isolation and Identification of bacterial species from the local and imported meat and from the swabs which taken during this study , were *Staphylococcus aureus (*46.30 % in the local meat & 37.88 % in the imported meat) , *Escherichia coli (*41.94 % in the local meat & 43.17 % in the Imported meat) , *Pseudomonas aeruginosa* (9.73 % in the local meat & 12.77 % in the Imported meat) and *Proteus spp.* (2.01% in the local meat & 3.96% in Imported meat) , while the most common fungi were *Penicillium notatum* (62.83% in the local meat & 73.77% in the Imported meat) , *Aspergillus niger* (24.77% in the local meat & 11.47% in the Imported meat) , *Alternaria alternata* (7.07% in the local meat & 9.83% in the Imported meat) ,*Aspergillus candidas* (4.42% in the local meat) , *Aspergillus fumigatus* (0.88% in the local meat & 3.27% in the Imported meat) and *Aspergillus spp.* (1.63% in the Imported meat).The Flavonoid extract of Black Mustard seeds (*Brassica nigra*) show inhibition activity in growth of the following bacteria (*Staphylococcus aureus , Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Penicillum notatum , Aspergillus niger , Alternaria alternata*) and in all concentrations that uses (25,50,75,100) mg/ml , while *Escherichia coli* showed susceptibility in the concentration (75,100) mg/ ml and the results showed differential in the extract activity according to Microbial kinds that uses in this study that belong to species of bacteria and fungi and its structure. The Minimum Inhibition Concentration (MIC) of extract have been determined and in bacteria was (30) mg/ ml for each *S. aureus* and *Ps. aeruginosa* and (40) mg/ml for *E. coli* .and the Minimum bactericidal Concentration was (70)mg/ml for all bacteria which examined , while in fungi the minimum Inhibition concentration was (0.25) mg/ ml and the Minimum fungicidal Concentration was (5) mg/ml for all examined fungi