وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

عنوان البحث

تأثير درجة الحرارة على حساسية البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من مستشفى الديوانيه التعليمي لتراكيز مختلفة من محلول العسل

بحث مقدم من قبل الطالبة

صبا حميد زيدان

الى كلية العلوم - قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

بأشراف

م . ديار خليف فليفل

٢٠١٨ م

١٤٣٩هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

{ وأوحى ربك الى النحل ان اتخذي من الجبال بيوتا" ومن الشجر ومما يعرشون * ثم كلي من كل الثمرات فاسلكي سبل ربك ذللا يخرج من بطونها شراب مختلف الوانه فيه شفاء للناس إن في ذلك لأية لقوم يتفكرون }

صدق الله العلي العظيم

(سورة النحل :٦٩ – ٦٨)

إهداء

الى ..... من ننتظر ظهوره وندعو له بتعجيل الفرج أمام اخر الزمان وأمامي المهدي المنتظر (ع)

الى..... كل من سال دمه من اجل الوطن ... شهداء العراق

الى..... كل من سهرت عينيه تلبيه لنداء المرجعية .... الحشد الشعبي

الى..... من أحبني ورعاني .....ابي العزيز

الى..... من غمرتني بالحنان .....امي الغالية

الى ..... مثلي الاعلى .....أختي الكبرى الغالية

الى..... من اكن لهم كل العطف و الحنان .....أخوتي وأخواتي

شكر وتقدير

بعد ان تم أكمال بحثي هذا أتقدم بفائق الشكر والتقدير

الى استاذي ديار خليف فليفل .

الذي اشرف على بحثي وقدم لي المشورة ويسر لي كافة المعوقات التي واجهتها أثناء قيامي بأعداد البحث . كما اتقدم بالشكر والامتنان لطالب الماجستير غالب حسين عبيد والى كادر مختبر Bacteriology في مستشفى الديوانية التعليمي

فلهم مني وافر الاحترام

Effect of Temperature on susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the Diwaniyah Teaching Hospital for different concentration of honey solution

The study samples were collected from different clinical cases 15 sample from Diwaniyah Teaching Hospital from the beginning of November 2017 until the month of February 2018. where the results showed phenotype , biochemical and microscopic test that Pseudomonas aeruginosa and percentage (33.3%) were used to determine the inhibitory effect of honey solution on Pseudomonas aeruginosa (25%, 35%, 50%, 75%, 100%) and at different temperatures (25 ° C, 37 ° C) gave the concentration 100% higher at 25 ° C, (30 mm). At 37 ° C, the diameter of the inhibition was 24 mm. The 25% concentration had the least effect on inhibiting the growth of the bacteria. At 37 ° C (6 mm), the temperature (25 °) was the diameter of the inhibition (9 mm). As for the temperature (4 °) The honey solution has little effect on inhibiting bacterial growth.

During the results, it was found that honey solution with high concentrations and average temperatures of 25 ° more inhibited the growth of Pseudomonas aeruginosa bacteria of the remaining concentrations

الخلاصه

جمعت عينات الدراسة من حالات سريريه مختلفة بواقع ١٥ عينه من مستشفى الديوانيه التعليمي لمده من بداية تشرين الثاني ٢٠١٧ ولغاية شهر أشباط ٢٠١٨ ، حيث اظهرت نتائج الاختبارات المظهريه والكيموحيوية والمجهريه عائديه ٥ عزلات لبكتريا *P. aeruginosa* وبنسبة ٣٣,٣ % وكان الهدف من الدراسة بيان التأثير التثبيطي للعسل على نمو بكتيري *P. aeruginosa* وذلك باستخدام مختلف التراكيز

(٢٥% ، 35% ٥٠% ، ٧٥% ، ١٠٠%) وبدرجات حرارة مختلفة (٤° ، ٢٥° , ٣٧°) حيث اعطى التركيز ١٠٠ % اعلى نتيجة عند درجه حرارة (٢٥°) وبقطر تثبيطي (٣٠ مليمتر) اما عند درجه حرارة (٣٧°) فكان قطر التثبيط (٢٤ مليمتر) . اما التركيز ٢٥% فقد كان اقل تأثير على تثبيط نمو البكتريا فكان في درجه حرارة (٣٧°) قطر التثبيط (٦ مليمتر) وأما درجه حرارة (° ٢٥)فكان قطر التثبيط (٩ مليمتر) .وأما بالنسبة لدرجه الحرارة(٤°) فلم يكن لمحلول العسل اي تأثير يذكر على تثبيط النمو البكتيري .

وخلال النتائج تبين ان العسل بالتراكيز العالية وبدرجات حرارة متوسطه ٢٥° اكثر تثبيط لنمو بكتريا *P. aeruginosa* من التراكيز المتبقيه

المقدمة Introduction

تعتبر بكتريا الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*) (Holt et al.,1994) ضمن تصنيف عائله (Pseudomonodaceae) وهي بكتريا سالبه لصبغه كرام وتعتبر أيضا من الملوثات الشائعة في بيئة المستشفيات والمرضى الذين يعانون من نقص المناعة (immune compromised) هم اكثر عرضه لأصابه بهذا النوع من البكتريا (Wirth et al.,2009) يمكن لهذه البكتريا أن تنمو في بيئات متنوعة منها الاجهزة والأدوات الطبية وأرضيه الردهات في المستشفيات (Green wood et al .,2007) من خصائص هذه البكتريا كونها هوائيه اجبارية (Collee et al., 1996) تتواجد في الطبيعة كالتربة والبيئات الاخرى وليس لها القدره على تكوين السبورات وتتحرك بواسطة الاسواط وتظهر مستعمراتها على الوسط الزرعي بشكل دائري مع لون اخضر متفلور (Lau al et., 2004) مع انبعاث رائحة لطيفه ووجود ß - heamolysis وتكون موجبه لاختبارOxidase , catalase) (Green wood et al .,2007) وتسبب العديد من الامراض لإنسان منها عدوى المسالك البولية (Balcht et al .,1994) وكذلك التهابات الرئوية لذلك تعتبر من الامراض الانتهازية وان لهذا البكتريا القدره على مقاومه العديد من المضادات الحيوية منها بيتالاكتام (Krisztina et al .,2011) . وان لهذه البكتريا القدره على النمو في درجات الحرارة العالية تصل الـ ٤٢° ودرجه الحرارة المثاليه لها هي ٣٧° (collee , J . G & simmons A,.1996) وتعتبر قابليه هذه البكتريا على النمو في درجه ٤٢° صفه تشخصيه لهذا النوع (King ,A. & Phillips , I .1985) وتكون بكتريا الـ Pseudomonas aerugnos عده اشكال عند نموها على nutrient agar خلال نموها ٢٤ ساعة بدرجه ٣٧° . وأما العسل فهو ماده غذائية ضرورية بسبب احتوائها على السكريات والمعادن والفيتامينات المتنوعة (White ., 1993)التي يتم تخليقها من رحيق الزهور الذي تقوم بجمعه عاملات النحل (الصديق علي خثيم وعبد الفتاح الشحروري . كتاب نحل العسل ص ٤١) حيث يعتبر العسل مفيد لجسم الانسان فهو يعطي الطاقة للجسم وهناك عدة انواع من العسل هو عسل الحمضيات وعسل الزقوم وعسل القمح و عسل السدر وعسل التفاح .ويستخدم كعلاج للعديد من الامراض للإنسان مثل النزيف الدموي وإمراض الكلى والحالب والمثانة وكذلك يمنع امراض الفم مثل تسوس الاسنان وتقرحات اللثة . وان للعسل فعالية قويه تجاه الميكروبات بسبب احتواءه على انزيمات مثل invertase و (white,J.W., 1975) glucoseoxidaseويتم تنشيط هذا الانزيمات بتخفيف العسل (الجبوري و رسميه عمر سلطان .٢٠٠٠) (قصري ومدني . ١٩٩٥) وهناك تقارير تؤكد ان للعسل تأثير وفعالية كبيره تجاه البكتريا السالبه لصبغه كرام وكذالك الموجبه وذلك لان العسل يحتوي مثبطات هي الاحماض الفينوليه و كذلك احتواءها على H_2O_2 وكذلك تعود للفعالية الازموزيه التي يمتلكها العسل(Lee,J.,2009) (Bogdanov,s. and Martin ,p., 2002) . وقد قام العالمان (Joseph ,Reinbery) (Reinbery,S. and Joseph,G.M.,2008) بأجراء دراسات بينت ان العسل مضاد لأشكال الـ Biofilm اذان هناك انواع من البكتريا تكون Biofilm هي *Pseudomonas aerugnos* و *staph . aureus* والتي تسبب (sinusitis) حيث ان هذه البكتريا القدره على مقاومه المضاد بالاختراق لذلك عند استخدام العسل يقوم بقتل البكتريا المسببه لهذا الالتهاب بفعالية اكبر مقارنه بالمضادات المستخدمه لذلك يعتبر العسل الطبيعي بديل جيد للمضادات المصنعه من قبل شركات . كذلك تقوم بكتريا الـ *Pseudomonas aeruginosa* بتكوين الغشاء الحيوي والذي يعتبر تجمع لبكتريا المغلفه بغلاف Alginate والذي يكون من عديد السكريد حيث يقوم بمساعده البكتريا على البقاء ملتصقة على

السطوح ويحميها من تغيرات عوامل البيئة كالمعالجة الفيزيائيه والمضاد الحيوي وبذلك يكون كمقاومه تبنها البكتريا ضد هذه العوامل (Cornelis.,2008) .

الهدف من البحث

معرفه الفعالية التثبيطية للتراكيز المختلفة من محلول العسل وبدرجات حرارة مختلفة على نمو بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

٢: استعراض المراجع **Literatures review**

١ـ ٢: نبذه تاريخيه عن البكتريا الزوائف الزنجارية **Genus:- *Pseudomonas aeruoginosa***

تم عزل البكتريا *P. aeruginosa* من الجروح لأول مره في مزارع نقيه وقد بدت بالون ازرق مخضر بواسطة العالم Gessard والذي قام بالعديد من الدراسات منذ ١٨٨٢ حيث اطلق عليها تسميه (*Bacillus pyocinas*) وكذلك تمكن من دراستها بمده تصل الى نصف قرن وقد استطاع خلالها اعطاء معلومات كافيه عن هذه البكتريا كذلك تمكن من تميز ان هذا البكتريا تنتج نوعان مختلفان من الصبغه الاولى Polyamine والثانية Fluorescin . اما في عام ١٨٨٦ فقد تمكن العالم Flugge من تشخيص نوعان من البكتريا الزائفه وكلاهما ينتجان صبغه Fluorscin . وبعدها تمكن العالم Crubur في سنه ١٨٨٧ من عزل البكتريا من القيح الاذن (Doggett.,1979) وقد اطلق عليها تسميه *p. pyocineas* بواسطة العالم and Myrvik Weiser . مؤخرا اطلق عليها اسم الزائفة الزنجارية والتي يكون اسمها العلمي *P.aeruginosa* (Holt et al., 1994) .

٢ ـ٢ : تصنيف البكتريا

صنفت البكتريا *P.aeruginosa* الى جنس pseudomonas من عائلة pseudomonadaceae التابعه لرتبه pseudomonadales من صنف Gamma proteobacteria والعائد لشعبة proteobacteria

٢ ـ٣ : الصفات العامة **General characteristics**

٢ ـ٣ـ١ : الصفات المجهريه **microscopic characteristics**

تتصف بكتريا *P.aeruginosa* بكونها سالبه لصبغه كرام خلاياها عصويه الشكل ذات سلاسل مفرده او ثنائيه ، هوائيه اجبارية وكذلك تتميز بامتلاكها سوط قصبي مما يجعلها متحركة دائما(Collee et al., 1996) .

الصفات الزرعية **Cultural characteristics**

ظهرت بكتريا *P.aeruginosa* بمستعمرات شاحبة اللون على MacConkey agar بسبب عدم قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز(Baron and Finegold ,.1990) حيث تمتاز الغالبيه العظمى من اجناس البكتريا البكتريا *P.aeruginosa* بإنتاج صبغه الفلورسين والتي تعرف بصبغه البايوفين الخضراء المصفرة التي

تكون لها القابليه على الذوبان بالكلوروفورم والماء (Lau et al .,2004) كما ان بعض هذه السلالات والتي تعود الى هذه البكتريا تنتج صبغات البابروميلانين البنيه او السوداء او صبغه البايروبين الحمراء (Jawetz et al., 2010) .

٢ـ ٤ : امراضيه البكتريا *P.aeruginosa*

ان بكتريا *P.aeruginosa* تسبب اصابات موضعيه بعد اصابات الحروق والعمليات الجراحيه وثم بعد ذلك تنتشر هذه الاصابه لتسبب septicemia حيث ان الدراسات قد اشارت الى ان Microorganism تكون انتهازيه في مناطق الحروق في الجسم والتي لأتزال مفتوحة بسبب تحطم حواجز الجلد حيث يتحول الحرق الى منطقه غنيه و ملائمة لنضاعف واستعمار الجراثيم ((Fournior and Philpott .,2005)

وهنالك عوامل عده تزيد من فرص الاصابة بالاخماج منها العلاج ومناعة المريض ونوع الحروق والمدة التي يستغرقها الشخص المصاب بالحروق في غرف العناية . ان بكتريا تسبب انواع مختلفة من الاخماج في العديد من انسجه الجسم (De Miguel Martinez et al., 2005) مثل الاخماج UTI وتزداد هذه الحالات في المرضى الذين يعانون من التهابات مزمنة للبروستات ان تكون لديهم حساسية عاليه للاصابه بهذه الاخماج (Gourlay and Gibran .,2005) . وهناك انواع اخرى من الاخماج تسببها البكتريا منها اخماج العين والعظام والجلد والجروح والتي تحدث بعد اجراء العمليات وان اكثر الاشخاص عرضه لهذه الاخماج هم الذين لديهم نقص في مناعة الجسم (Forbes et al., 1998) .

٢: المواد وطرق العمل

٢ـ١: المواد Material

٢ـ١ـ١ : الادوات و الاجهزة المختبريه Equipment & Apparatus'

التسلسل	اسم الجهاز	
١	شرائح زجاجُة	Slides
٢	ميزان حساس	Sensitive electric balance
٣	ناقل زرعي	Loop
٤	كابُينة تعقيمٌ	Hood
٥	موصده	Autoclave
٦	ثلاجة	Refrigerator
٧	مجهر ضوئي	Light microscope
٨	حاضنة	Incubator
٩	اطباق بتري بلاستيكيه	dishes Petri
١٠	ماصه دقيقه	Automatic micropipettes

٢ـ١ـ٢ : المواد الكيميائيه Materials chemical

التسلسل Sequence	اسم الماده the Material name	
١	بلورات البنفسجية	violet Crystal
٢	اسيتون	Aceton
٣	يود	Iodine
٤	سفرانين	Safranin
٥	بيرو كسيد الهيدروجين	Hydrogen peroxide (H2O2)
٦		Tetramethyl-P-phenylene diamine dihydrochlorid
٧	كاشف كوفاكس	

٢ـ ١ـ ٣ : الأوساط الزرعيه الجاهزة Ready media

تم استخدام ٥ انواع من الاوساط الزرعيه في البحث حيث تم استخدام وسط King A لتنميه بكتريا بوصفه وسطا انتخابًيا للبكترًيا السالبة لصبغة كرام وكذلك تفريقيا واستخدام وسط أكار المغذي nutrient agar بوصفه منمي عام للبكتريا وكذلك تم استخدام MacConkey agar . واستعمل وسط Mueller hinton agar يستخدم لاختبار حساسية المضادات .وكذلك استخدم وسط استهلاك السترات Simons citrate agar المستخدم لاختبار استهلاك السترات

٣ ـ ٢ : طرق العمل Methods

٣ـ٢ـ١: تحضير الاوساط الغذائية الزرعية

حضرت الاوساط الزرعية التي تم ذكرها اعلاه بحسب تعليمات الشركه المصنعه والتي تتضمن وسط King A , nutrient agar , Mueller hinton agar ، MacConkey agar Simons citrate agar ولأجل تعقيم هذه الاوساط وضعت في الموصده Autoclave بضغط ١ باوند / انج ودرجه حرارة ١٢١° لمده ١٥ دقيقه ثم تم صبها في الاطباق البلاستك وتركها حتى تتصلب ليتم العمل عليها بعد ذلك . اما محلول السكر لأنه يتعرض للتلف في درجات الحرارة العالية .

٣ـ٢ـ٢: جمع العينات Samples collection

خلال الدراسات التي اجريت في هذا البحث تم جمع ١٥ عينه من مستشفى الديوانيه التعليمي من اماكن متنوعة في المستشفى من (الردهات ، الادوات و الأجهزة الطبية) وكذلك تم جمعها من مرضى المصابين بالحروق و UTI و القشع الذي يخرج من الجهاز التنفسي بواسطة Swab (مسحات قطنية معقمه) مع وسط King A وبعد ذلك تم نقل العينات التي تم جمعها بظرف النقل الملائمة الى مختبرات الكلية لاتخاذ الاجراءات اللازمة من زراعه وتشخيص .

٣ـ٢ـ٣: طرق العزل Isolation method

حيث تم عزل البكتريا من خلال تلقيح الاوساط الغذائية كل من MacConkey nutrient agar King A , agar , بطريقه التخطيط (streaking) ثم توضع في الحاضنه بدرجه حرارة ٣٧° لمده ٢٤ ساعة .

٣-٢-٤ : طريقه التشخيص Identification method

بعد انتهاء مده الحضن والتي يكون اقصاها ٢٤ ـ ٤٢ ساعة ظهرت مستعمرات بلون اخضر متفلور في بعض العينات التي تم جمعها مع انبعاث رائحة خاصة (winn et at ., 2006) وتم اجراء عده فحوص منها اخذ مستعمرات من الاطباق ووضعها على شريحة slid وتصبيغها بصبغه كرام ووضعها تحت المجهر Light microscope للفحص و ولأجل التأكد اجريت الفحوص Biochemical test منها اختبار catalase , Oxidase وكانت النتيجة موجبه لكلا الاختبارين positive بالاضافه لبقية فحوص IMViC تم اجرائها (Collee et al . ,١٩٩٦) .

٣-٢-٥ : فحص Oxidase

ويحضر بوضع ١ غرام من Tetramethyl-P-phenylene diamine dihydrochloride في ٩٠ مل من Distal water ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل ويستعمل هذا الاختبار لمعرفه قدره البكتريا على تكوين انزيم Oxidase (MacFaddin., 2000)

٣-٢- ٦: فحص Catalase

يحضر هذا الاختبار بتركيز ٣% من H_2O_2 ويستعمل لمعرفه قابليه العزلات على تكوين انزيم catalase (MacFaddin., 2000)

٣-٢-٧ : فحص كبريتيد الهيدروجين Production of sulfite hydrogen

تم اجراء الاختبار بتلقيح الوسط كلكلر بالبكتريا تم يحضن الطبق لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ فإذا ظهر راسب اسود يدل على ان النتيجة موجبه لهذا الاختبار (Macfaddin., 2000) .

٣-٢-٨ : اختبار استهلاك السترات Citrate utllization test

تم الاختبار بإجراء تلقيح لوسط السترات المائل بالبكتريا التي يراد فحصها وحضن الطبق بمده تتراوح ٢٣ ـ٤٢ ساعة وبدرجه حرارة ٣٧ فإذا تحول الوسط من لون الاخضر الى اللون الازرق وظهور نمو يدل على النتيجة موجبه (Macfaddin., 2000) .

٣-٢-٩ : اختبار الاندول Indol test

يتم تلقيح الانابيب التي تكون حاويه على الوسط بالبكتريا وحضنه لمده ٢٤ـ ١٨ساعة بدرجه حراره ٣٧ مع اضافه قطرات من كاشف كوفاكس مع الرج فعند تكون حلقه حمراء اعلى الانبوب تعني النتيجة موجبه (Macfaddin., 2000) .

٣ ـ ٢ ـ ٧ : طرق العمل

حيث تم اجراء الاختبار وذلك بتلقيح وسط Mueller hinton agar بـ pure colony التي تم تنقيتها على وسط nutrient agar من عينات تم جمعها من المرضى المصابين بكتريا *P. aeruginosa* حيث استخدمت طريقه الانتشار بالأقراص لمعرفه حساسية البكتريا للعسل الطبيعي حيث تم عمل حفر بواسطة الثاقب الفليني على وسط Mueller hinton agar الملقح بالمستعمرات النقية وذلك بعمل ٥ حفر في الوسط مع عمل حفره control حيث وضع في كل حفره تركيز مختلف من العسل حيث تم تحضير التركيز الاول بإذابة ٢٥ غرام من العسل في ٧٥ مل ماء مقطر لنحصل على تركيز ٢٥% اما التراكيز الباقية تم تحضيرها بنفس الطريقه

والتي هي(35% ٥٠% ، ٧٥% ، ١٠٠%) حيث تم عمل ثلاث اطباق متشابه ليتم حضنها بدرجه حرارة مختلفة ثم حضن الطبق الاول بدرجه حرارة ٣٧° والطبق الثاني ٢٥° والطبق الثالث ٤° لمعرفه تأثير كل من التراكيز العسل ودرجه الحرارة .

٣ ـ ٢ـ ٨ : تركيز المثبط الادنى (MIC)

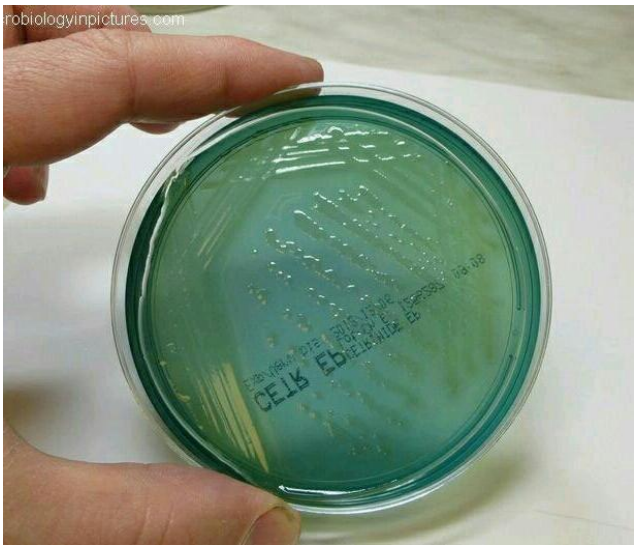
معرفه MIC للعسل على بكتريا *P. aeruginosa* وذلك بعمل سلسله تخافيف مختلفة للعسل الطبيعي وذلك بوزن ١g / ٩ ml من العسل وتم تحضير التخافيف التاليه (١:١, ١:٢, ١:٣ ١:٤, ١:٥, ١:٦ ,١:٧) من العسل الطبيعي .

٤: النتائج

العزل والتشخيص Isolation and Identification

تم عزل بكتريا *P. aeruginosa* بنسبه ٣٣,٣% (٥ عزلات من اصل ١٥ عزله) وشخصت جميع العزلات اعتمادا" على الصفات المظهريه للمستعمرات النامية إذ ظهرت على وسط اكار الماكونكي شاحبة عديمة اللون لعد قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز الموجود بالوسط الزرعي ولها رائحة شبيه بالعنب المتخمر كما في الشكل رقم (١) بينما ظهرت مستعمراتها بلون اخضر متفلور على وسط Nutrient agar كما في الشكل رقم (٢).

الشكل رقم(١)



الشكل رقم (٢)

اظهرت نتائج الفحص المجهري الخلايا البكتريا المعزولة عصويه الشكل متحركة مفرده او ثنائيه الترتيب سالبه لصبغه كرام كما في الشكل رقم (٣) .

الشكل رقم (٣)

بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية نتائج موجبه لاختبار الاوكسديز Oxidase من خلال تكوين اللون البنفسجي عند اضافه المستعمرات الى ورق الترشيح المشبعه بالكاشف الاوكسديز . وموجبه لاختبار catalase من خلال تكوين فقاعات هوائيه عند اضافة H_2O_2 للمستعمرات البكتريا الموضوعه على الشريحة الزجاجيه وذلك لقدره البكتريا على انتاج انزيم الاوكسيديز والكتاليز اما بالنسبة لمجموعه اختبارات IMViC والتي شملت (الاندول ، كبريتيد الهيدروجين، واستهلاك السترات) ، وكانت النتيجة موجبه في اختبار استهلاك السترات ، اتصفت جميع العزلات بعدم قدرتها على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S وأنها غير مخمره للسكروز واللاكتوز .

تأثير التراكيز المختلفة من محلول العسل على نمو بكتريا *P. aeruginosa* بدرجات حرارة مختلفة.

تم استخدام تراكيز مختلفة (٢٥% ،٣٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠%) من محلول العسل ثم تم اختبار فعاليتها على نمو بكتريا *P. aeruginosa* حيث بينت النتائج ان محلول العسل بتركيز ٢٥% وبدرجه حرارة ٣٧° اقل تثبطا لنمو بكتريا *P. aeruginosa* وبقطر تثبيطي (٦ مليمتر) فيما يكون درجه حرارة ٢٥° اكثر تثبيط وكان قطر التثبيط (٩ مليمتر) .في حين لم يظهر نمو بكتري اصلا" بدرجه حرارة ٤° .
من جهة اخرى اظهرت النتائج ان محلول العسل بتركيز ٣٥% وبدرجه حرارة ٣٧° اقل تثبيط من تركيز ٢٥% وبقطر تثبيطي (٧ مليمتر) اما درجه حرارة ٢٥° فكان قطر التثبيط اكبر من درجه حرارة ٣٧° وبقطر تثبيطي (١٢ مليمتر) في حين تركيز ٥٠% يكون اعلى تثبيط من كلا التركيزيين السابقين في درجه حرارة ٣٧° وبقطر

تثبيطي (١١ مليمتر) اما درجه حرارة ٢٥° كان قطر التثبيط (١٥ مليمتر) .كذلك اظهر تركيز ٧٥% منطقه تثبيط تزيد عن مناطق التثبيط السابقه في كلا درجات الحرارة ٣٧° و٢٥° حيث كان قطر التثبيط (١٦ مليمتر) في درجه حرارة ٣٧° و (٢٢ مليمتر) في درجه حرارة ٢٥ . اما تركيز ١٠٠% فقد لوحظ انه اعطى اعلى تأثير تثبيطي مقارنه ببقية التراكيز الاخرى حيث كان قطر التثبيط (٢٥ مليمتر) بدرجه حرارة ٣٧° وقطر تثبيطي (٣٠ مليمتر) بدرجه حرارة ٢٥° كما موضح في الجدول رقم (١)

جدول رقم (١) يوضح تأثير التراكيز المختلفة محلول العسل على *p. aeruginosa* بدرجات حرارة مختلفة

التركيز المستخدمه	منطقه التثبيط		
	٣٧°	٢٥°	٤°
%٢٥	٦ مليمتر	٩ مليمتر	ـــ
%٣٥	٧ مليمتر	١٢ مليمتر	ـــ
%٥٠	١١ مليمتر	١٥ مليمتر	ـــ
%٧٥	١٦ مليمتر	٢٢ مليمتر	ـــ
%١٠٠	٢٤ مليمتر	٣٠ مليمتر	ـــ

٥: المناقشة

ان لاحتواء العسل على انزيم (Oxidase ، catalase ، phosphatase) التي هي انزيمات اكسده واختزال اثر كبير في القضاء على الجراثيم بالإضافة لوجود انزيم اللايبيز الذي يعمل على تحليل الدهون في جدران الجراثيم كما اشار الى ذلك ابو النجا سنه ١٩٧٤ وقد تم دراسة تأثير العسل الطبيعي على بكتريا *P. aeruginosa* وهي بكتريا سالبه لصبغه كرام . في العمل حيث تم استخدام طريقتين طريقه الاولى(MIC) والطريقة الثانيه الانتشار حيث في الطريقه الاولى تم استخدام ٧ تخافيف وعند درجات حرارة (٣٧°، ٢٥°، ٤°) فقد كانت النتيجة عدم ظهور اي تأثير تثبيطي على هذه البكتريا وهذا يدل على ان البكتريا قد اظهرت مقاومه للتخافيف الاعتيادية . والطريقة الثانيه التي يشار اليها بالجدول رقم (١) لتوضيح التأثير التثبيطي للعسل الطبيعي على بكتريا *P. aeruginosa*. في هذا الجدول تم استخدام ٥ تراكيز وعند درجات حرارة مختلفة فقد لوحظ ان التركيز ١٠٠% قد اعطى اعلى تأثير تثبيطي قطر (٣٠ مليمتر) مقارنه بالتراكيز الاخرى عند درجه حرارة (٢٥°) وذلك لان

البكتريا *P.* aeruginosa في درجه حرارة ٢٥° ضعيفة النمو لان هذه الدرجه غير ملائمة لنمو البكتريا وان الدرجه المثاليه لنمو البكتريا ٣٧° اما التركيز ٢٥% فقد اعطى اقل تأثير تثبيطي وبقطر(٩ مليمتر) عند درجه حرارة (٢٥°)وقطر التثبيط (٦ مليمتر) وقد لوحظ عند استخدام جميع التراكيز وعند درجه حرارة (٤°) لم يؤثر على بكتريا p. aeruginosa وذلك لان درجه حرارة ٤° غير ملائمة لنمو اغلب البكتريا حيث تكون البكتريا بهذه الدرجه اقل فعاليه حيوية وتكون خاملة فسلجيا" اما بالنسبة لبقية التراكيز المستخدمه في التجربة فقد اعطت اقطار تثبيطية متفاوتة حسب درجه الحرارة .

الاستنتاجات

١ـ للعسل تأثير تثبيطي على نمو بكتريا *p. aeruginosa* .
٢ـ التراكيز المرتفعه من محلول العسل اكثر تثبيط من التراكيز الواطئه .
٣ـ محلول العسل في درجة حرارة ٢٥° اكثر تثبيط من درجه حرارة٣٧° .
٤ـ لم يكن هناك اي تأثير تثبيطي للعسل بدرجه حرارة ٤° .

التوصيات

١ـ امكانيه استخدام العسل كبديل جيد ضد الاحياء المجهريه بدلا من المضادات الحياتيه .
٢ـ ينصح باستخدام العسل الطبيعي بدل من العسل التجاري لأنه اكثر تأثير على البكتريا

٦ : المصادر

المصادر العربية

- الصديق علي خثيم وعبد الفتاح الشحروري . كتاب نحل العسل ص٤١ .
- الجبوري، رسمية عمر سلطان، ٢١١١ ،التحري عن انزيمات بيتا – الكتاميز لعدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المعزو لة سريريا وتأثير بعض المركبات الكيمياوية المحضرة على هذه الجراثيم، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل .
- قصري، مدني، ١٩٩٥ ،المضادات الحيوية ونمو السالالت البكتيرية المقاومة، مجلة الدواء العربي، ١١ :٣٢-١١١.

المصادر الانكليزية

- Balcht , Aldona , Smith , Raymond ., 1994

  Pseudomonas aeruginosa: Infections and Treatment. Informa Health .Care. pp. 83–84.

- Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1990).Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology .(8th ed.) Mosby . USA .

- Bogdanov , s. and Martin, p., Hony Authenticity: a Review, swiss Bee Research centre , PP. 1-20 . (2002) .

- Collee, J. G.; Marmion, B. P.; Fraser, A. G. & Simmons, A. 1996. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone.
- Collee, J.G., Marmion, B.P, Fraser, A.G. and Simmons, A.(1996). Mackie & McCarthy–Practical Medical Microbiology. 4th ed., Longman Singapore Publishers (Pte) Lt. Singapore pp 361 – 381.
- Cornelis , P. (2008) . Pseudomonas : Genomics and Molecular Biology . 1st ed. Caister Academic Press.
- DeMiguel Martinez, I.;Del Rosario Quintana, C.; Bolanos, Rivero, M. and Ramos Macias, A. (2005). Aetiology and therapeutic considerations in chronic otitis media. Analysis of a 5 years period. Acta. Otorrinolaringol. Esp. 56 (10): 459 – 462.
- Doggett, R.G. (1979). Pseudomonas aeruginosa Clinical manifestation of infection and current therapy Academic press , New York .
- Forbes, B. A.; Saham, D. F. and Weissfeld, A. S. (1998). Infections of urinary tract. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 10th ed. Mosby Inc., St. Louis, P: 350. USA.
- Fournior, B. and Philpott, D. (2005). Recognition of Staphylococcus aureus by the in Nate immune system . Clinical Microbiol., Reviews . 18(3):521-540
- Gourlay , D.M. and Gibran , N.S. (2005) . Treatment and prevention of infections in patients with burn- injury. Current Treatment Options in infections diseases , 4:411-426 .
- Greenwood, D.; Finch, R.; Davey, P. and Wilcox, M. (2007). Antimicrobial chemotherapy. Oxford University Press, New York.
- Holt, J.G.; KJrieg, N.R.; Sheath, P.H.; Stalely, J.T. and Williams, S.S.T. (1994). Bergy's Manual of Determinative Bacteriology . (9th ed.) Williams and Wilkins U.S.A.

- Jawetz, E., Melnik, J.L. ; Adelberg , E.A.; Brook, G.F.; Butel, J.S. and Morse , S.A. (2010). Medical Microbiology 26th. ed. Appleten and Lang New York. Connctical. PP.45-60 .
- King, A. & Phillips, I. 1985. Pseudomonas and related bacteria in isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance. Academic press. PP. 1- 12
- Kiratisin, P.; Apisarnthanarak, A. ; Laesripa, C. and Saifon, P. (2008). MolecularCharacterization and Epidemiology of Extended-Spectrum- ß - Lactamase- Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumonia .
- Lau, G.W.; Hassett, D.J.; Ran, H. and Kong, F. (2004). The role of pyocyanin in Pseudomonas aeruginosa infection. Trends in Molecular Medicine, 10(12):599-606 .
- Lee, J., The Effect of Wasabi, Honey, and Vinegar on the Area of Zone of Inhibition on Staphylococcus aureus Colonies, Woodbridge High School (2009) .
- MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.
- MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.
- Reinberg , S. and Joseph , G.M., A Honey of a sinusitis treatment Health day News , University of Ottawa(2008) .
- White ,J.W. Composition of honey. In Honey: a Comprehensive Survey, edited by E. Crane. London: Heinemann(1975)
- Winn, W.C.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Koneman, E.W.; Procop, G.W.; Schreckenberger, P.C. and Woods, G.L. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology . 6th ed. Lippncott Williams and Wilkins . USA .
- Wirth FW, Picoli SU, Cantarelli VV, Gonçalves AL, Brust FR, Santos LM, Barreto MF (2009). Metallo-β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in two hospitals from Southern Brazil. Braz. J. Infect. Dis., 13: 170-172 .