



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية - كلية العلوم

قسم علوم الحياة

الفعالية التثبيطية للبكتريوسين المنتجة من

*Lactobacillus lactus*

تجاه العزلات البكتريا المرضية المسببة لنسب الاغذية

مبحث مقدم إلى مجلس قسم علوم الحياة / كلية العلوم

وهو من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الحياة

اعداد الطالبة

منى علي صايل

بإشراف

م.م. هند حمزة عبد الحسين

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ

أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ

خَيْرٍ

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة الآية (١١)

## " الأهداء "

إلى من جرع الكأس فارغاً ليسقيني قطرة حب  
إلى من كَلَّت أنامله ليقدّم لنا لحظة سعادة  
إلى من حصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم  
إلى القلب الكبير (والدي العزيز)

إلى من أرضعتني الحب والحنان  
إلى رمز الحب ويلسم الشفاء  
إلى القلب الناصع بالبياض (والدتي الحبيبة)

إلى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة إلى رياحين حياتي (إخوتي)  
إلى الروح التي سكنت روحي (زوجي الغالي)

الآن تفتح الأشرعة وترفع المرساة لتتطلق السفينة في عرض بحر واسع مظلم هو بحر الحياة  
وفي هذه الظلمة لا يضيء إلا قنديل الذكريات ذكريات الأخوة البعيدة إلى الذين أحببتهم  
وأحبوني (صديقاتي)

# " الشكر والتقدير "

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله والشكر لرب العالمين المتفضل علينا بالهدايا والعناية والتمكين والصلاة والسلام على خاتم الانبياء والمرسلين رسولنا محمد " صلى الله عليه وسلم وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين.

أما بعد...

اتقدم وأنا انهي مشروع البحث لنيل درجة البكالوريوس بالشكر الجزيل والامتنان الكبير إلى مشرفتي الاستاذة (م.م. هند حمزة عبد الحسين) لما ابدت لي من توجيهات واعمال لانجاز هذا المشروع.

كما واتقدم بوافر الشكر والتقدير لكل من قدم لنا معلومة وعلمنا حرفاً من بداية دخولي كلية العلوم وحتى تخرجي منها وهم الأساتذة الذين طلو علينا من المرحلة الاولى وحتى المرحلة الاخيرة.

سائله المولى عز وجل ان يمن على الجميع بالصحة والموفقية.

تضمنت الدراسة معرفة تأثير *Lactobacillus lactus* المعزولة من عينات جبن الحليب البقري الخام والذي يباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية على بكتريا *Salmonella sp* المسببة لتلف الاغذية .

جمعت ما مجموعه (١٠) عينة من جبن الحليب البقري الخام ، وتم عزل (٨) عزلات من *Lactobacillus lactus* بظروف لاهوائية .

تم الكشف عن النشاط البكتيري ل *Lactobacillus lactus* المعزولة ضد بعض البكتريا الشائعة المسببة *Salmonella sp.* باستخدام اختبار الانتشار بالأقراص وقد اظهرت هذه الاختبارات التأثير التثبيطي الجيد لعزلات بكتيريا *Lactobacillus lactus* ضد البكتيريا المرضية محل البحث .

كلمات البحث الدالة / التأثير التثبيطي ، ، *Lactobacillus lactus* ، البكتيريا المسببة لتلف الاغذية

## المقدمة Introduction:

سلامة الغذاء هي محل تركيز أساسي في علم أحياء الغذاء، فالبكتيريا والسموم المسببة للمرض والتي تنتجها الأحياء هي كلها ملوثات محتملة للغذاء. غير أنه من الممكن استغلال الأحياء الدقيقة ومنتجاتها أيضاً لمحاربة هذه الميكروبات المسببة للأمراض. يمكن لبكتيريا البروبايوتكس وتشمل تلك التي تنتج البكتيريوسينات (Bacteriocins) أن تمنع الممرضات وتقضي عليها، كذلك فمن الممكن إضافة البكتيريوسينات المنقية أو (المكررة) مثل النيسين nisin مباشرةً إلى منتجات الغذاء.

إن التحضير الكامل للغذاء والذي يشمل الطهي الصحيح من معظم البكتيريا والفيروسات؛ بينما قد لا تكون السموم التي تنتجها الملوثات قابلة للتغيير بالحرارة (heat-labile) وبعضها قد لا يمكن الحد منه بواسطة الطهي، تستخدم تقنيات عديدة قديماً التي تستخدم الأحياء الدقيقة وإنزيماتها لتحسين الغذاء الإنساني، لحفظ الغذاء من الملوثات البكتيرية المسببة لتلف الأغذية منها التخمير حيث تعتبر إحدى الطرق التي يمكن للأحياء الدقيقة حفظ الغذاء بواسطتها كما في تخمير الخبز والجبن واللبن الرائب حيث تستخدم بكتيريا حامض اللبنيك *S.cerevisiae* (Ljungh et al.,2009) أكثر نوع تمت دراسته بشكلٍ وافٍ في عالم الميكروبات لسنوات عدة.

### بكتيريا السالمونيلا *Salmonella*:

تتنتمي هذه البكتيريا إلى عائلة Enterobacteraceae ، وقد سميت كذلك نسبة إلى سلمون Salmon الذي عزل عصيات سالمونيلا كوليرا الخنازير عام ١٨٨٥، وهي عبارة عن عصيات صغيرة الحجم ، سالبة الغرام ، متحركة بواسطة أهداب محيطية هوائية أو ولاهوائية اختبارياً، يمكنها تخمير الجلوكوز مع إنتاج الغاز والحمض ، إلا أنها لا تستطيع ان تخمير السكروز واللاكتوز ، وهي قادرة على إنتاج غاز الكبريت H<sub>2</sub>S (Shen et al., 2007).

البروبيوتك: هي كائنات حية تحوي فوائد صحية عندما يتم استهلاكها بخلاف تأثيراتها الغذائية الكامنة. هناك أدلة كثيرة على دور البروبايوتكس في الإصابات المعوية والقولون العصبي ومرض التهاب امعاء ( Mayo et al., 2010).

تستخدم الأنواع البكتيرية اللبنية لإنتاج اللبن الذائب والجبن ومخلل الملفوف والمخللات والبيرة والنبيذ وشراب التفاح والشوكولاته وغيرها من الأغذية المخمرة إضافة إلى العلف الحيواني. حيث وجه الاهتمام في

السنوات الأخيرة إلى استخدام العصيات اللبنية ككائنات بروبايوتكس واحتمالية منعها للأمراض المعدية و المعوية وامراض القولون والجهاز الهضمي(Ljungh *et al.*, 2009).

تعتبر الممرضات المنقولة بالأغذية اسباباً رئيسية للمرض والوفاة في النامية حيث تتسبب في قتل ما يقارب ١,٨ مليون شخص سنوياً. في حين تعتبر هذه الاسباب مسؤولة عن ملايين حالات أمراض الجهاز الهضمي في البلدان المتطورة في كل عام فتسبب في خسارة بلايين الدولارات على الرعاية الصحية والإنتاجية المهددة. من المرجح أن تظهر ممرضات جديدة تنتقل بالأغذية مدفوعة بعوامل مثل تطور الممرضات والتغير في ممارسات الزراعة وصناعة الغذاء والتغيرات التي تطرأ على حالة الإنسان العائل ( Fratamico *et al.*, 2005).

من الأحياء المجهرية المسببة لتلف الأغذية الفيروسات المعوية والأوليات الطفيلية المعوية والسموم الفطرية والبكتيريا مثل: المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* التي تعتبر سبب شائع للأمراض المنقولة بالغذاء والتي تسببها البكتيريا وتشمل الأعراض: القيء والاسهال والتي تحصل بعد ابتلاع الطعام الملوث بالمكورات بوقت قصير (Stewart , 2008).

**الليستيريا *Listeria spp.*** : هي ممرض بكتيري منقول بالأغذية موجبة الجرام وهي العامل المسبب لداء الليستيريات عن طريق استهلاك الاطعمة الملوثة وتتضمن الاجبان الطرية والحليب الخام والاطعمة الجاهزة للأكل(Caister Academic Press).

**السالمونيلا *Salmonella spp.*** تستمر أنماط السالمونيلا المصلية في تشكيل تهديد بارز لسلامة الطعام عبر العالم، لأنها عادة ما تصيب حيوانات الإنسان بالعدوى التي تنتقل عبر استهلاك منتجات الطعام غير المطهوه جيداً والمشتقة من الماشية والطيور المحلية.

حيث شهد النصف الثاني من القرن العشرين ظهور أنماط سالمونيلا مصلية أصبحت ملازمة لمصادر الغذاء الجديدة (مثال: بيض الدجاج) وظهر انماط السالمونيلا المصلية المقاومة للمضادات الحيوية ( Caister Academic Press).

## الهدف من الدراسة:

وتهدف الدراسة الحالية إلى:

1. معرفة تأثير البكتريوسينات المنتجة طبيعياً من *Lactobacillus lactis* على البكتيريا المسببة لتلوث الأغذية.
2. إمكانية استخدام بكتيريا *Lactobacillus* الحيوية أو منتجاتها الطبيعية في عملية حفظ الأغذية للقضاء على البكتيريا المسببة لتلف الأغذية مثل بكتيريا *Salmonella spp.*

## استعراض المراجع:

تناولت العديد من البحوث في الوقت الحاضر التأثير النافع probiotic action للسلاسل البكتيرية النافعة مثل *Lactobacillus* والتي أصبحت مهمة لكي تسهل عملية تلبية حاجة السوق لمنتج صحي Functional product مقارنة بالمنتجات الموجودة حالياً في الأسواق (Boestroo et al., 1993).

ان البكتيريا *Lactobacillus lactis* هي بكتيريا ايجابية لصبغة كرام، تكون بشكل عصيات توجد بشكل طبيعي في الجهاز الهضمي من الثدييات في البشر، يتم استخدام *Lactobacillus lactis* لمنع اضطرابات الجهاز الهضمي كما هو الحال مع العديد من أعضاء جنس *Lactobacillus* يتم استخدام *Lactobacillus lactis* تجارياً في صناعة الزبادي والجبن ومنتجات الألبان المخمرة (<https://nootriment.com>).

إن لبكتيريا *Lactobacillus* امكانية تنشيط طيف واسع من البكتيريا المرضية مثل *Shigella dysenteriae, Esherchia coli, Salmonella typhi*، كما أشار Kajander وآخرون (2005) إلى مقدرة بكتيريا *Lactobacillus* في تنشيط أنواع عديدة من الأحياء المجهرية المرضية أو الأحياء المسببة لتلف الأغذية وسبب هذا التأثير يرجع الى انتاج بكتيريا *Lactobacillus* العديد من المواد الأيضية المثبطة لنمو البكتيريا المرضية مثل حامض اللبنيك والخليك وبيروكسيد الهيدروجين والبكتيريوسينات Bacteriocins .

تتميز جنس *Lactobacillus* بأنها سليمة غير ممرضة، غير مسرطنة لذلك تكون آمنة تجاه الإنسان لكونها تحفز الجهاز المناعي وتقلل نسبة الإصابة بسرطان والاورام السرطانية، كما لها القدرة على الالتصاق



بالخلايا والسطوح كما لها التأثير التثبيطي في تجاه البكتيريا الممرضة وذلك لقدرتها على انتاج العديد من المواد المثبطة مثل حامض اللاكتيك، والبكتيريوسينات وبيروكسيد الهيدروجين ( Collee *et al.*, 1996; MacFaddin, 2000).

البكتيريوسين Bacteriocins: تنتج من الكائنات الرقيقة ايجابية الغرام وسلبية الغرام مع ذلك فإن البكتيريوسين المنتجة من *Lactobacillus lactis* وهي ايجابية الغرام هي المفضلة التي تعزى اساسا الى خصائصها الحافظة خاصة في صناعة الاغذية وهذا التفضيل يعود جزئيا الى طيف التثبيط الأوسع مقارنة بالاجسام الدقيقة سلبية الغرام، لهذا تعتبر البكتيريوسين بصفة عامة مواد آمنة والتي يمكن استخدامها كمضادات غذائية أو مواد حافظة طبيعية، كما لها القدرة على منع النمو مسببات الأمراض مثل *L.monocytogenes* (E. Bartkiene, 2016).

إن المعززات الحيوية Prebiotic التي تتمثل بالأحياء المجهرية أو مشتقاتها والتي تؤدي إلى تأثيرات مفيدة في صحة الإنسان عند تناولها في المواد الغذائية الصناعية والطبيعية (Reid, 2008) وذلك من خلال تحسين وتعديل التوازن الميكروبي المعوي والحث على زيادة نموه أو زيادة الفعالية الايضية لواحدة أو أكثر من البكتيريا المفيدة الموجودة طبيعيا في القولون (Liong, 2011).

وتعد البروبيوتك Prebiotic هي مكملات تغذية ميكروبية حية يؤثر بشكل مفيد على الحيوانات المضيفة من خلال تحسين التوازن الميكروبي المعوي (Fuller, 1989).

تستخدم الكائنات الدقيقة الحية لتعزيز الأحياء الميكروبية في القناة الهضمية السفلى. الحد الأدنى الفعالة للجرعة غير معروفة بدقة، ولكن الأرقام التي تزيد عن  $10^9$  CFU/per يوميا هي عادة موصى به.

أما مصطلح Prebiotic كان لأول مرة صاغ عام ١٩٩٥ لوصف المكونات الغذائية.

حيث يطلق على Prebiotic بالمحفزات الحيوية التي هي عبارة عن مواد كربوهيدراتية غير قابلة للهضم تزيد من نمو وفعالية المعززات الحيوية ولاسيما البكتيريا ولها فعل منظم للمحتوى الميكروبي المعوي في القناة الهضمية وتعد مصدر للطاقة التي يمكن أن يؤيض من قبل الفلورا المعوية الطبيعية (Hamdan *et al.*, 1973).

وتشمل الـ Probiotic المكونات الغذائية غير القابلة للهضم ذلك يؤثر بشكل مفيد على المضيف من خلال تحفيز النمو و / أو نشاط واحد أو عدد محدود من البكتيريا في القولون التي يمكن أن تحسن صحة المضيف (Gibson *et al.*, 1995).

لذا فإن البريبايوتكس تعمل كـ كربوهيدرات من نوع الالياف الغذائية في أنها تدخل القولون في شكل سليم ويتم تخميرها بواسطة النباتات الامعاء الكبيرة .

بينت دراسة العاني (العاني، ٢٠٠٠) الفعل التضادي للبنية المهبلية مع الجراثيم المسببة للإصابات المهبلية حيث تم عزل ٣٢ عزلة من العصيات اللببية وكانت تأثيراتها بدرجات متفاوتة في بكتيريا الاختبار ، حيث كان اعلى قطر تثبيط باتجاه البكتيريا الموجبة لصبغة كرام في حين التأثير أقل في البكتيريا السالبة لصبغة كرام.

كما اثبت الباحثان Aenhammer و Reuten (Aenhammer, 2000; Reuter, 2001) التأثير التثبيطي لـ *Lactobacillus sp.* ضد بعض العزلات البكتيرية مثل *Helicobacter pylori* و *Clostridium*.

كما أكدت دراسة القصاب (القصاب، ١٩٩٢)الفعالية التثبيطية لعصيات حامض اللبنيك المعزولة من براز الاطفال الرضع ضد البكتيريا المرضية المسببة الاسهال بدرجات مختلفة حيث اظهرت النتائج تفوق العصيات اللببية المعوية على البكتيريا المسببة للإسهال.

واوضحت دراسة (حميد، ٢٠٠٥) التأثير التثبيطي لبكتيريا *Lactobacillus sp.* العلاجية باستعمال النواتج الايضية لها ضد نمو بعض العزلات المرضية المعزولة من حيوانات مصابة.

كما بينت الباحثتان (Mami and Jamela, 2008) الفعالية التثبيطية الجيدة لأنواع بكتيريا *Lactobacillus Para lantarum, lactobacillus paracasei* ومنها الأنواع *Lactobacillus Para lantarum, lactobacillus paracasei* والمعزولة من حليب الاغنام ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من مصادر بشرية.

واظهرت دراسة (Reza and Mahdiyah, 2012) الفعالية التثبيطية العالية لبكتيريا *Lactobacillus sp.* المعزولة من الخضراوات الطازجة ضد مجموعة من البكتيريا المرضية مثل *E.coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Salmonella typhimurium*.

ومن ناحية أخرى لوحظ ان العديد من الانواع البكتيرية المرضية تعمل على اتلاف المواد الغذائية وبالتالي تسبب العديد من المشاكل الصحية الخطيرة لصحة الانسان مثل بكتيريا *Salmonella* التي هي عبارة عن بكتيريا لاهوائية اختيارية Facultative anaerobic سالبة لصبغة كرام ، عصوية الشكل Rod shape لا تكون سبورات (Ashton, 1990).

معظم أنواع السالمونيلا متحركة بواسطة اسواط ثلاثية طويلة ماعدا الانماط المصلية *S. gallinarum* & *S. pullorum* (Gast, 1997). السالمونيلا يمكن لها ان تقاوم التجميد وهذا يحصل من خلال بقائها فعالة في الاطعمة المجمدة لفترات طويلة (ICMSF, 1996) وتعد جرثومة السالمونيلا من البكتيريا التي تعيش داخل خلايا جسم المضيف intracellular pathogens (Coburn et al., 2007) السالمونيلا تنمو جيداً على Selenite–broth, MacConkey agar, Letrathionate broth, bismuth sulfite agar من الاوساط الزرعية كما انها تنمو بالاس الحامضي يتراوح بين (٩ - ٤).

## المواد وطرائق العمل :Material and Methods

\* المواد والأدوات:

١. المواد:

المواد	الاسم العلمي
١. اطباق بتري	Pitre dish
٢. تيوبات	tubes
٣. الوسط الزرعي	MRS agar
٤. الوسط الزرعي	MRS broth
٥. الوسط الزرعي	Nutrient agar, broth
٦. محلول الملح الفسلجي	Normal saline
٧. الوسط الزرعي	Xylose lysine deoxycholate agar
٨. الماء المقطر	Distal water
٩. الصبغة كرام	Gram stain

٢. الأدوات:

١. Loop

٢. Hood

٣. ميزان حساس

٤. Vortex

٥. الحاضنة Autoclave

\* جمع العينات

تم جمع ١٠ عينات من جبن الحليب البقري خلال شهري ١٠ و ١١ والتي تباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية حيث تم جمع ١٠٠ غم من جبن الحليب البقري في كل مرة وتم نقلها الى مختبرات كلية العلوم /جامعة القادسية بشكل معقم ومبرد.

\* نقوم بتحضير الوسط MRS agar حسب الشركة المصنعة .

\* عزل بكتيريا الـ *Lactobacillus* من عينات جبن الحليب البقري ، تتلخص عملية العزل بإجراء تخافيف لعينات الجبن بواسطة محلول الملح الفسلجي normal saline ويخلط مع الوسط MRS agar (Biolife) بدرجة حرارة (٤٥ - ٥٠) م° ويصب في الاطباق ويحضن بدرجة حرارة ٣٧م° داخل عدة النمو اللاهوائي لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة .

يتم اخذ مقدار ناقل بكتيري واحد one loop full من عينات الجبن وحقنت في ١٠ مل من وسط MRS (Biolife) broth وتحضن بدرجة حرارة ٣٧م° ، وبعد مرور ٧٢ ساعة من الحضن وعندما تصبح العصيات الايجابية لصبغة كرام هي السائدة يتم اجراء صبغة غرام gram stain للعينات.

بعدها يؤخذ حجم من MSR broth ويخطط على وسط MSR agar ويحضن بدرجة ٣٧م° في ظروف لاهوائية وعند ظهور المستعمرات بشكل نقي على الوسط MRS agar سوف يؤخذ Loop الى وسط المرق المغذي MRS broth لغرض العزل ومن ثم صبغ العزلات النقية بواسطة الصبغة كرام وتفحص تحت المجهر والتي شخصت على انها عصيات موجبة لصبغة كرام وتم اجراء احد الفحوصات البايوكيميائية عليها وهو فحص Catalase فحص تخمر السكريات (Holt and Kreig, 1986).

#### طريقة حفظ عزلات بكتيريا *Lactobacillus sp.* :

تم تنمية العزلة في وسط MRS بلقاح inoculum مقداره ٥% ويحضن بدرجة حرارة ٣٧م° لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة ثم الحفظ في درجة حرارة الثلاجة والتشيط كل شهر مرة (Hunger and Peiterson, 1992).

اما بكتيريا السالمونيلا فقد تم الحصول عليها من اغذية تالفة بها وقد اعيدت زراعتها على وسط (Xylose lysine deoxy chocolate) ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧م° لمدة ١٨ ساعة هوائياً وبعدها حفظت في الثلاجة بدرجة ٤م°.

## التأثير التثبيطي لـ *Lactobacillus sp.* في البكتيريا المرضية المسببة لتلف الاغذية ( *Salmonella typhi* )

في هذه الدراسة استعملت طريقة الانتشار بالأقراص disk assay method والموضوعة من قبل القصاب (1988) لقيت انابيب اختبار تحتوي على ١٠ مل من MRS broth بالمزرعة البكتيرية، ثم بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٧٢ ساعة وبعدها تم فصل خلايا البكتيريا عن وسط النمو باستعمال جهاز الطرد المركزي للحصول على راسح البكتيريا. غمست اوراق الترشيح الدائرية بقطر ٦ ملم في الجزء الرائق (وسط نمو البكتيريا) ووضعت اوراق الترشيح المحملة برواشح البكتيريا على اطباق مزروعة بالبكتيريا المرضية المسببة لتلف الجبن بعدها تم قياس الهالة الشفافة المتكونة حول الاقراص بعد الحضانة لمدة ١٨ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧م.

اما بالنسبة لمعاملات السيطرة في التجارب التي اجريت فقد استعملت اقراص من وسط MRS الصلب الخالي من النمو و وضع على سطوح الاطباق المبذورة في البكتيريا على قيد الدراسة، بالإضافة الى ترك مجموعة من الاطباق المزروعة بالجراثيم قيد الدراسة دون اي اضافات أعيدت التجربة بمرتين وبمكررين لكل عزلة

### تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) Minimal inhibitory concentration

تم تحديده حسب ما قام به ( Baron & Finegold ) ( ١٩٩٠ ) حيث حضرنا اربع تخافيف لرواشح *Lactobacillus Lactus* في (٥) مل من MRS broth لقيت الانابيب بمقدار ( ١٠٠ مايكروليتر ) من العالق البكتيري الذي بعمر ١٨ - ٢٤ ساعة ثم حضنت الانابيب لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧م مع استمرار Shaking الانابيب بين الحين والآخر ثم قرأت النتائج بمقارنتها مع السيطرة رقم (١) والسيطرة رقم (٢) وحددت قيمة الـ MIC بأنها اقل تركيز من المادة المضادة التي تمنح عكورة واضحة للعين المجردة في الوسط الزراعي .

## تحديد التركيز القاتل الأدنى (MBC) Minimal Bactrio cidal concentration

### -(MBC) لـ *Lactobacillus Lactus* :

بأخذ ٣٠ مايكروليتر من MRS broth للأنايبب التي لا تحتوي على نمو بكتيري واضح ويعاد زراعتها على MRS agar وتحضن لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧م° وحدد التركيز القاتل الأدنى على اساس اقل تركيز من المادة تمنع نمو البكتيريا وحدد بوجود نمو وعدم وجود نمو .

### النتائج والمناقشة Rusult and Discussion:

تم الحصول على ١٠ عزلات من العصيات اللبنية من عينات جبن الحليب البقري الخام والتي تباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية وتم اجراء الفحوصات المظهرية والمجهرية والفيولوجية بعد تنمية وزراعة العينات على الوسط المخصص لتنمية العصيات اللبنية MRS (Rogosa and Sharp Medium) فظهرت المستعمرات الصغيرة بيضاء الى شفافة شكلها عصوي، محدبة ، ناعمة براقه غير منتظمة وموجبة لصبغة كرام لاهوائية اختيارية غير مكونة للاسبورات سالبة لفحص الكاتاليز Catalase وهي صفة مميزة لهذه المجموعة من الاحياء حيث ينقصها تراكيب خاصة للارتباط بالحديد مثل Prothyrin وبذلك تكون مجبرة على العيش بطريقة التخمر (Holt et al., 1994)

جدول رقم (١) الاقطار التثبيطية لعزلات الدراسية لبكتيريا *Lactobacillus lactus* في نمو البكتيريا المسببة لتلف الاغذية.

عزلات البكتيريا الممرضة	اقطار منطقة التثبيط (mm)
<i>Salmonella</i>	3 ±19
Control (1)	-ve
Control (2)	-ve

\*سيطرة رقم (١) اقراص من وسط MRS خالي من النمو سيطرة رقم (٢) نمو البكتيريا الممرضة على وسط MRS .

جدول رقم (٢) يبين التأثير التضادي MBC ، MIC لبكتيريا حامض اللبنيك على البكتيريا الممرضة.

يتضح من الجدول رقم (١) التأثير التثبيطي لـ *Lactobacillus lactus* على العزلات البكتيرية

المسببة لتلف الاغذية *Salmonella sp.* حيث كان اعلى قطر للتثبيط 19mm .

كما اوضحت النتائج ان *Lactobacillus lactus* كان لها تأثير التثبيط وقاتل على جميع العزلات .

حيث كانت قيمة MIC هي  $10^4$  cfu/ ml

يتضح من الدراسة اعلاه القدرة التثبيطية والقاتلة الواضحة لراتنج بكتيريا حامض اللبنيك تجاه البكتيريا

المسببة لتلف الاغذية وقد يرجع السبب لإنتاج بكتيريا حامض اللبنيك وحوامض عضوية ولا عضوية مثل

حامض اللاكتيك والخليك وان التأثير التثبيطي لهذين الحامضين يعود الى شكلها غير المتفكك

(undisscition) من خلال قدرتها على اختراق واعاقة نقل المواد الغذائية اضافة الى كونها حوامض عضوية

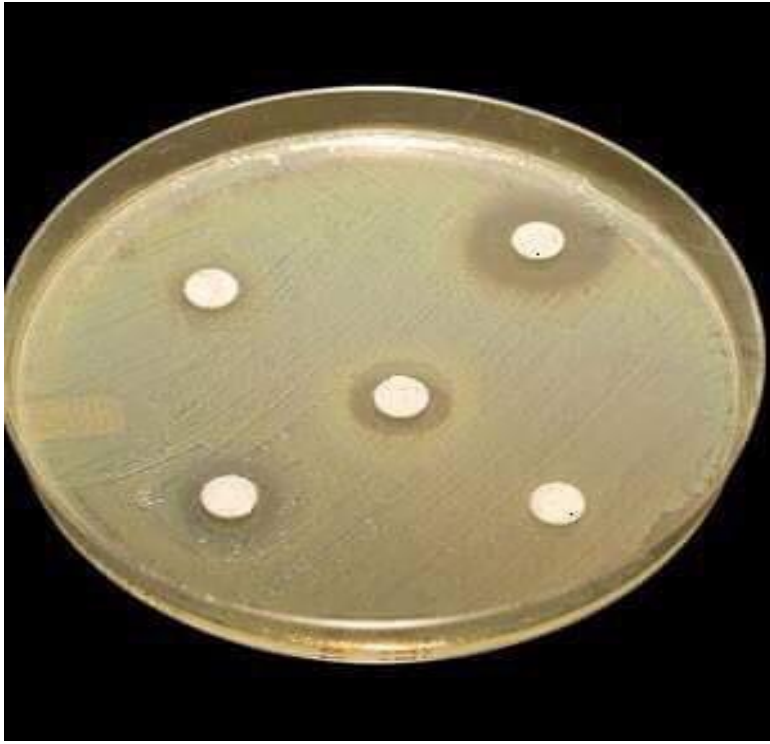
ضعيفة وجزئية التفكك في المحاليل المائية وامتلاكها خاصية الذوبان في الدهون مما يجعلها سريعة الانتشار

وبصورة حرة خلال الغشاء البلازمي الى الساييتوبلازم (Mishra & Lambet, 1996) كما ان لبكتيريا حامض

اللبنيك دور في خفض كل من الالاس الهيدروجيني وجهد الاكسدة والاختزال وانتاج المضادات البكتيريوسينات

( Kour et al.,2006، الدليمي، ٢٠٠٥) وكما هو في الصورة التالية لتجنب تلف الاغذية. كما هو موضح

في الصورة ادناه.



#### الاستنتاجات :

تمتلك عصيات بكتيريا *Lactobacillus lactus* وراشحتها قدرة تثبيطية واسعة تجاه البكتيريا المعوية

المرضية المسببة لتلف الاغذية وهذا يفتح الباب لاستخدامها كمفردات حيوية.

#### المصادر والمراجع:

المصادر باللغة العربية:



١. الدليمي، جيهان عبد الستار (٢٠٠٥): استخدام بكتيريا حامض اللاكتك المعزولة من الانسان والمصادر الغذائية في تثبيط نمو بعض البكتيريا المسببة للإسهال. أطروحة دكتوراه /كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية.
٢. القصاب، عبد الجبار عمر وجه (١٩٨٨): التأثير المضاد لـ *Lactobacillus sp.* العسوية على بعض البكتيريا المرضية ، رسالة ماجستير.
٣. القصاب، عبد الجبار عمر وجه (١٩٩٢): عزل العصيات اللبنية المعوية من الاطفال الرضع وتأثيرها على بكتيريا المرضية المسببة للإسهال. مجلة العلوم الزراعية العراقية. ٢٣: ١.
٤. العاني، لمياء يعقوب (٢٠٠٠): تضاد العصيات اللبنية المهبلية مع الجراثيم المسببة للاصابات المهبلية . المؤتمر العلمي السابع لبحوث التعليم التقني.
٥. حميد، علي حسين (٢٠٠٥): استعمال النواتج الايضية لبكتيريا حامض اللاكتك العلاجية لتثبيط نمو عزلات مرضية معزولة من حيوانات مصابة ، المجلة الطبية البيطرية العراقية ، المجلد ٢٩ ، العدد ٢.

#### المصادر باللغة الاجنبية:

6. Aenhammer, T. R. (2000): Probiotic bacteria : today and tomorrow. J.Nature., 130: 415-416.
7. Ashton, W. L. G.(1990). Enterobacteriaceae. In: F. T. W. Jordon, ed. Bailliere Tindall, Philadelphia. Pp: 11-41.
8. Boestroo , M. H.; Wit, J. C; Kusters, B.J.and Robouts, F.n. (1993). Inhibition of Growth of yeasts in fermented salad. j. food Microbiology. 17: 311-320.
9. Baron, E. J. and Finegold, S. M (1990): Baily and Scotts diagnostic microbiology (8<sup>th</sup> ed). C.T. Mosby, U.S.A.
10. Collee, J. G.; Faser, A.G.; Marmion, B.P.Simmons A. (1996). Mackie and McCartney practical Medical Microbiology. 14<sup>th</sup> ed., Churchill Livingstone. USA.

11. Coburn, B. G., Grassl, A.8. Finlay, B. B. (2007). Salmonella, the host disease: A brief review. Immunol . Cell Biol., 85: 112 –118.
12. Desmidt, M.; Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1997). Pathogenesis of *Salmonella* enteritidis phage type for after experimental infection of young chickens . Vet. Microbiol. 56: 99–109.
13. E. Bartkiene, V. Bartkevics , V. Starkute , D. Zadeike and G. Juodeikiene, Front, Plant Sci., (2016), 7, 951 – 954.
14. Fuller R. : Probiotics in man and animals . J APPI Bacteriol (1989); 66:365 –78.
15. Fuller R. : Probiotics 2: Applications and Practical aspects. London: Chapman & Hall, (1997).
16. Fratamico PM and Bayles Do (editor).(2005) . Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-00-4.
17. Gibson G. R. , Roberfroid M B. Dietary Modulation of the human colonic Microbiota: introducing the concept of Prebiotics . J Nutr. (1995); 125: 1401–12.
18. Giannella R A. (1996). Salmonella. in : Barron S medical microbiology (Barron S *et al.*, eds.) (4<sup>th</sup> ed). Univ of texas medical Branch. (Via NCBI Books belf) ISBN 0-9631172-1-1.
19. [https://nootriment.com/Lactobacillus – lactis](https://nootriment.com/Lactobacillus-lactis).
20. Hamdan , I. y. and Mikolojck. E.M. (1973): Growth viability and Antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 56: 638.

21. Holt, J. C. and Kerig, N.R. (1986): Bergy's, annual of systematic bacteriology vol: 2 Williams and Wilkins. London.
22. Hunger, w. and Peiterson , N. (1992). New technical Aspects of the preparation of starter culture. Bullentin of DF. 277: 17 -21.
23. Holt. J. C. ; Krieg , N. R. ; Sneath, P.H. A; Staley, J. T. and Williams. S. T. (1994): Bergy; S manual of determinative bacteriology 9<sup>th</sup> ed. Willams and Wilkins Baltimore., Oryland. U.S.A.
24. Kajander, K.; Hatakka, K.; Poussa, T. and Korpela, R. (2005): Valios probiotics mixture for irritable bowl syndrome. Valio food & functions 1: 16-25. Kour Kouts, Y.; bosnea -, I. ; T aboulcos , I . and Kancuaki, M. (2006): Probiotics cheese production.
26. *Listeria monocytogenes*. Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-00-4.
27. Liong , M.T. (2011) : Probiotics , Biology , Genetics and health Aspects. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
28. Ljungh A., Wadstrom T (editors) (2009). *Lactobacillus* Molecular Biology: From Genomics to Probiotics . Caister Academic Press.
29. MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of Medical Bacteria . 3<sup>rd</sup> . Lippincott William and Willins . U.S.A.
30. Mami, A. and Jamela, M (2008): antimicrobial activity of *lactobacillus* species isolated from Algerian raw goats milk against *Staphylococcus aureus*. World J. of dairy and food science, 3 (2): 39 – 49.
31. Mishra, C. and Lambet, J. C. (1996) : Production of antimicrobial substances by probiotics. Asia. Pacific. J. clin. Nutr. 51: 20 -24.

32. Mayo, B; van Sinderen, D (editor) (2010) . Bifidobacteria: Genomics and Molecular Aspects.
33. Reza , K. and Mahdiyah, M. (2012) : antimicrobial activity of Lactobacillus strains isolated from fresh vegetables, middle–east journal of scientific research. 11(9): 1216 –1219.
34. Reid , G. (2008). Probiotics and Prebiotics – progress and challenges. J. Int . Dairy . 18 : 969 – 975.
35. Reuter, G. (2001): Probiotics – Possibilities and Limitations of their applications for men and animals , Berl. Munch. Toerarztl, Wochenschr., 114: 410–419.
36. *Salmonella spp.* Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Caister Academic Press. ISBN 978–1–904455–00–4.
37. Stewart GC (2008). “*Staphylococcus aureus*” . Foodbornr Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Horizon Scientific Press. ISBN 978–1–898486–52–7.
38. Smith and Fratamico (2005). “Diarrhea–inducing Escherichia coli”. Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Caister Academic Press.