مقارنة التأثير المضاد لبكتريا *Lactobacillus* والمضادات الحيوية تجاه بعض البكتريا الممرضة

مبارك السعد[1] عبد الكريم حلاق[2]

في هذه الدراسة تم مقارنة تأثير المعلق البكتيري والراشح البكتيري لبكتريا *Lactobacillus Plantarum* و *Lactobacillus acidophilus* مع مجموعة من المضادات الحيوية تجاه بعض البكتريا الممرضة (الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، السلمونيلة)، وذلك بعد عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* حيث تم أخذ 50 عينة من أمعاء دجاج اللحم بعمر 25 و بعمر 40 خلال شهر كانون الأول من عام 2025، ثم زرعت في أوساط زرعية خاصة ب Lactobacillus (MRS BROTH, MRS AGAR) بعدها تم عمل مجموعة من الاختبارات الكيمياحيوية للتأكد من جنسها ، بعدها نمطت على جهاز PCR للتأكد من نوعها. ثم تم تحضير المعلق البكتيري و الراشح البكتيري من بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* وذلك لاستخدامها ضد البكتريا الممرضة ومقارنتها مع الصادات الحيوية.

أظهرت نتائج هذه الدراسة عزل 16 عزلات تنتمي الى جنس Lactobacillus وذلك حسب المواصفات الشكلية واللونية (عصيات موجبة الغرام) و الصفات المزرعية (مستعمرات كريمية اللون) بالإضافة الى الاختبارات الكيميا حيوية (سلبية الكتالاز)، ثم صنفت على جهاز PCR وتبين انها عزولات *L. Plantarum* (9) و *L. acidophilus* (2) واهملت (5) ،

أظهرت نتائج اختبار التحسس الدوائي للبكتريا الممرضة مقاومة تامة تجاه اغلب الصادات الحيوية المستخدمة (6 من 10)، بينما أظهرت البكتريا المرضية حساسية تامة تجاه السيبروفلوكساسين، و حساسية تجاه الفوسفومايسين ما عدا بكتريا الاشريكية القولونية فقد أظهرت مقاومة ضد هذا الصاد الحيوي، أما بالنسبة للصادات الحيوية الأخرى فقد كانت النتائج متفاوتة.

وبالنسبة لفعالية المعلق البكتيري و الراشح البكتيري ل *L. Plantarum* و *L. acidophilus* فقد أظهرت فعالية ضدد جميع البكتيريا الممرضة المستخدم، حيث كانت فعالية الراشح البكتيري اكبر من المعلق البكتيري حيث بلغت أقطار مناطق التثبيط بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة (2,4,2) ملم (3,4,2) ملم على التوالي بينما كانت أقطار مناطق التثبيط بالنسبة للراشح البكتيري ل *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد كل من بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة (8,15,9) ملم، (7,14,8) ملم على التوالي.

الملخص

الكلمات المفتاحية: L. Plantarum ، *L. acidophilus*، معلق بكتيري ، راشح بكتيري.

---

1) طالب دراسات عليا (دكتوراة) – اختصاص الصحة العامة والطب الوقائي – قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

2) أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

Comparison of the antibacterial effect of *Lactobacillus* and antibiotics against some pathogenic bacteria

Mubarak Alsaad[1] **Abdulkarim Hallak**[2]

ABSTRACT

In this study, the effect of the bacterial suspension and bacterial filtrate of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus acidophilus was compared with a group of antibiotics against some pathogenic bacteria (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, and Salmonella spp.). Following the isolation of L. plantarum and L. acidophilus, 50 samples were collected from the intestines of broiler chickens at 25 and 40 days of age during December 2025. These samples were cultured on specific media for Lactobacillus (MRS broth and MRS agar). Subsequently, a series of biochemical tests were performed to confirm the genus, after which they were analyzed using PCR to confirm the species. The bacterial suspension and bacterial filtrate were then prepared from L. plantarum and L. acidophilus to be used against the pathogenic bacteria and compared with antibiotics.

The results of this study showed the isolation of 16 isolates belonging to the genus Lactobacillus, based on morphological and staining characteristics (Gram-positive bacilli), cultural characteristics (creamy colonies), in addition to biochemical tests (catalase-negative). They were then identified by PCR, revealing 9 isolates as L. plantarum and 2 as L. acidophilus, while 5 isolates were disregarded.

The results of the antibiotic susceptibility test for the pathogenic bacteria showed complete resistance to most of the antibiotics used (6 out of 10). Meanwhile, the pathogenic bacteria exhibited complete sensitivity to ciprofloxacin and sensitivity to fosfomycin, except for E. coli, which showed resistance to this antibiotic. Regarding the other antibiotics, the results were variable.

Concerning the efficacy of the bacterial suspension and bacterial filtrate of L. plantarum and L. acidophilus, both showed activity against all the pathogenic bacteria used. The bacterial filtrate demonstrated greater efficacy than the bacterial suspension. The diameters of the inhibition zones for the bacterial suspension against E. coli, S. aureus, and Salmonella were (2, 4, 2) mm and (2, 4, 3) mm, respectively. In contrast, the diameters of the inhibition zones for the bacterial filtrate of L. plantarum and L. acidophilus against E. coli, S. aureus, and Salmonella were (9, 15, 8) mm and (8, 14, 7) mm, respectively.

Key words: L. Plantarum, L. acidophilus, bacterial suspension, bacterial filtrate.

1) **Postgraduate Student (PhD) – Specialization in Public Health and Preventive Medicine – Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.**
2) **As.prof in Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.**

1. لمـــقدمـة Introduction:

منذ أوائل الخمسينيات من القرن الماضي، تم استخدام المضادات الحيوية كمحفزات النمو على نطاق واسع لتعزيز أداء النمو والحماية من الأمراض في صناعة الدواجن. ولكن بسبب الاستخدام المكثف لمحفزات النمو بالمضادات الحيوية، تم الكشف عن العديد من العواقب الوخيمة، بما في ذلك تطور مسببات الأمراض المقاومة للأدوية، وبقايا المضادات الحيوية في منتجات الدواجن ، واختلال توازن البكتيريا المعوية ؛ وبالتالي، تم حظر استخدامه كإضافات للأعلاف في أوروبا (منذ عام 2006)، والولايات المتحدة (منذ عام 2014)، والصين (منذ عام 2020) (Dong *et al*., 2016; Xu *et al*., 2021). يلعب المجتمع الميكروبي المتنوع والمعقد دورًا أساسيًا في هضم الطعام وامتصاص العناصر الغذائية، واستبعاد مسببات الأمراض، وتطور الجهاز المناعي ، ويعزز الصحة العامة للمضيف (Wang *et al*., 2017; Shang *et al*., 2018) ومع ذلك، قد يؤدي اختلال توازن ميكروبات الأمعاء بسبب المضادات الحيوية إلى حالة مرضية تؤثر على صحة الحيوانات. لذلك، لتحسين ميكروبات الأمعاء، وتعظيم أداء النمو، وتحسين صحة الدواجن، اقتُرحت بدائل آمنة وفعّالة مثل البروبيوتيك ، والبريبايوتيك ، والسينبيوتيك ، والفايتوبيوتيك، والإنزيمات الخارجية، والأحماض العضوية، والببتيدات المضادة للميكروبات ، وغيرها (Huyghebaert *et al*., 2011; Yadav and Jha, 2019).

وتعد المعززات الحيوية وسيلة من وسائل الدفاع عن صحة الانسان، وتعزيز مناعة جسم الإنسان، إذ تمتلك هذه الأحياء تأثيراً صحياً في جسم المضيف (Sato *et al*., 2020)، ولاسيما عند استهلاكها بالأساليب العلمية الصحيحة، إذ تعمل على كبح الإصابات المرضية للجهاز الهضمي، لأنها تمتلك خصائص المضادة للأحياء المجهرية المرضية، فضلاً عن دورها في تحسين استقلاب اللاكتوز وخفض الكولسترول الكلي في الدم، وتقليل نسبة الإصابة بالسرطان (Dos Reis *et al*., 2017, Markowiak and Śliżewska, 2017)

إن المعززات الحيوية المستوطنة في الجهاز الهضمي للإنسان تتأثر بشدة بعمل المضادات الحيوية عند تناوله بسبب الإصابة ببعض الأمراض التي سببها الأنواع البكتيرية المرضية مثل Salmonella و Escherichia coli و Clostridium perfringens التي تستوطن القناة الهضمية وأنواع أخرى من البكتريا السالبة لصبغة غرام، وأن هذه الأنواع من البكتريا تفرز سموماً داخلية في القناة الهضمية المتواجدة في الجهاز الهضمي، ولذلك من المهم إعادة توازنها في الجهاز الهضمي للحد من الإصابة وتطور الأمراض عن طريق تناول الأغذية الحاوية على المعززات الحيوية ووصولها الى القناة الهضمية بالعدد الكافي الذي يعود بالفوائد الصحية (Nag, 2011)، حيث يمكن للأحماض العضوية (حمض اللبن)، وبيروكسيد الهيدروجين، والبكتيريوسينات، من بين مركبات الاستقلاب الأخرى التي تنتجها هذه البكتيريا، أن تساعد في وقف نمو البكتيريا المسببة للأمراض (Arief *et al*., 2014; Arief *et al*., 2015).

من المزايا المهمة للبكتريوسينات انه يمكن ان يكون لها نشاط ضد البكتريا المسببة للأمراض والبكتريا الانتهازية بما في ذلك الأنواع المقاومة للأدوية المتعددة دون التمييز بين السلالات الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية

وثبت ان العديد من البكتريوسينات تعمل بالتآزر مع المضادات الحيوية التقليدية وتقليل الاعراض الجانبية غير مرغوب فيها وانتشار السلالات المقاومة (Hernández –González, 2021). وبذلك تعتبر البكتريوسينات بدائل جديدة للمضادات الحيوية والعلاجات المبتكرة في الطب البشري وكذلك العلوم البيطرية (Bedard *et al.*, 2018; Juturu and Barman, 2018).

هدف الدراسة

- عزل بكتريا Lactobacillus من أمعاء دجاج اللحم
- مقارنة التأثير المضاد البكتيري لكل من بكتريا والراشح البكتيري مقابل المضاد الحيوي ضد بعض البكتريا الممرضة .

2) المواد وطرائق العمل Materials and Methods :

الأجهزة والأدوات المستخدمة : حاضنة، المؤصدة، ميزان حساس، ماسحات قطنية، أنابيب زجاجية، أطباق بيتري، أقراص تحسس دوئية، جرة مكنتوش

وتم تحضير كل من المنابت الجرثومية المستخدمة وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة (HiMidea).

أجريت هذه الدراسة في كلية الطب البيطري – جامعة حماه في شهر كانون الثاني لعام 2025 حيث تم جمع 50 مسحة من أمعاء دجاج اللحم بأعمار مختلفة ونقلت العينات الى المختبر بواسطة صندوق فليني عازل يحتوي جريش من الثلج وأجري الزرع الجرثومي في نفس اليوم.

تم زراعة العينات في MRS broth بعدها حضنت العينات في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة في وسط لا هوائي، ثم تم زراعة MRS agar من MRS broth و حضنت في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة في وسط لا هوائي، بعدها تم عمل سلسلة من الاختبارات الكيمياحيوية (الكاتلاز، الأوكسيداز، تخمر السكريات، النمو في درجات حرارة مختلفة) (الوينداوي، 2020) للتأكد من أنها بكتيريا العصيات اللبنية، ثم اجري تنميط لهذه البكتريا على جهاز PCR وذلك لتحديد جنسها كما هو واضح بالجدول رقم (1)

الجدول رقم (1): البادئات قليلة النوكليوتيد المستخدمة في الكشف عن بكتيريا *Lactobacillus* (Kim *et al*., 2020) (Anwar *et al*., 2013)

		Primer sequence 5'-3'	Product size (bp)
Lactobacillus spp	**F**	**GGA ATC TTC CAC AAT GGA CG**	**216**
	R	**CGC TTT ACG CCC AAT AAA TCC GG**	
L. plantarum	**F**	**GCT GGC AAT GCC ATC GTG CT**	**147**
	R	**TCT CAA CGG TTG CTG TAT CG**	
L. acidophilus	**F**	**CCT TTC TAA GGA AGC GAA GGA T**	**129**
	R	**ACG CTT GGT ATT CCA AAT CGC**	

أما كل من البكتريا (السلمونيلة، المكورات العنقودية الذهبية، الاشريكية القولونية) فقد تم الحصول عليها من بنك العترات في كلية الطب البيطري وتم تنشيطها وتأكيدها عن طريق المنابت الخاصة لكل نوع بإضافة الى الاختبارات الكيمياحيوية.

- **دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:**

دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* تجاه بعض البكتريا الممرضة:

تم استخدام طريقة الانتشار بالأقراص التي وصفها (القصاب، 1988) للكشف عن الفعالية التثبيطية لبكتريا Lactobacillus،

1- تلقح انابيب اختبار تحتوي على 10 مل من MRS broth بالمزرعة البكتيرية وكانت نسبة اللقاح هي 1%.
2- تحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة (72) ساعة لحين وصول البكتيريا لطور النمو الثابت اللوغاريتمي .
3- يعدل تركيز المعلق البكتيري الى 10^8 تقريبا (0.5 ماكفرلاند).
4- تغمس أوراق الترشيح دائرية ومن نوع Whatman no: 3 بالمعلق البكتيري.
5- وضع اوراق الترشيح المحملة بالمعلق البكتري على اطباق مزروعة بالبكتريا المرضية .
6- قياس الهالة الشفافة (هالة الكبح) المتكونة حول الاقراص بعد الحضن لمدة 18-24 ساعة وبدرجة حرارة 37م°

– تم زراعة كل من *E.coli* و*Salmonella* و *Staph.aureus* على وسط الاغار مولر هينتون ، وذلك بنشر 0.1 مل من البكتريا أعلاه بوساطة ماسحة قطنية، وتركت لمدة (5–10) دقيقة لكي تجف، بعدها وضعت أقراص أوراق الترشيح المحملة من بكتريا المزرعة السائلة لعزلات بكتريا العصيات اللبنية بعدها حضنت الاطباق بدرجة 37 مئوية ولمدة (24) ساعة، وتم قياس مناطق التثبيط وقورنت مع معاملة السيطرة الخالي من الراشح البكتيري ، واعتبرت منطقة التثبيط 1 ملم هي النتيجة الموجبة (Martinez–Gonzalez *et al.*, 2004; Rajaram *et al.*,2010). مع وضع أقراص تحسس دوائية (أموكسيسلين، دوكسي سايكلين، اريثرومايسين، كولستين، سبيرامايسين، فوسفومايسين، سيفالكسين، تريموثبريم، تتراسكلين، سيبروفلوكساسين) أيضا على الطبق نفسه.

واستعملت معاملات سيطرة في التجارب باستعمال اقراص من وسط MRS الصلب الخالي من النمو ووضع على سطوح الاطباق المزروعة بالبكتريا قيد الدراسة بالإضافة الى ترك مجموعة من الاطباق المزروعة بالبكتريا قيد الدراسة دون اي اضافات، اعيدت التجارب مرتين وبمكررين لكل عزلة ، إذ تم زراعة كل من الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة، وبعدها تركت حتى تجفافها ثم وضعت أقراص ورق الترشيح المغمسة ببكتريا Lactobacillus وحضنت الاطباق بدرجة 37 مئوية ولمدة 24 ساعة، وتعتبر منطقة التثبيط 1 ملم هي نتيجة موجبة (Rajaram *et al.*, 2010).

دراسة التأثير التثبيطي لراشح بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* تجاه بعض البكتريا المرضية:

تم استخدام طريقة Well diffusion الموصوفة من قبل Gupta وآخرون (1998) و ذلك باتباع الفقرة السابقة إلا أنه وضع 100 مايكروليتر من الراشح البكتيري (باستخدام جهاز الطرد المركزي وبسرعة 6000 دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة لغرض الحصول على سائل الخلايا الحرة، بعدها تم ترشيح السائل لغرض تعقيمه باستخدام أوراق ترشيح وبقطر 0.22 مايكروليتر، ولغرض تبيط H_2O_2 اضيف الكتالاز بتركيز 1 ملغ/مل بعدها تم حفظ الراشح لمدة ساعتين وبدرجة حرارة 37 مئوية لحين استعماله) وتعتبر منطقة التثبيط 1 mm نتيجة موجبة، مع وضع أقراص تحسس دوائية (أموكسيسلين، دوكسي سايكلين، اريثرومايسين، كولستين، سبيرامايسين، فوسفومايسين، سيفالكسين، سلفا تريموثبريم، تتراسكلين، سيبروفلوكساسين) أيضا على الطبق نفسه.

1– فصل خلايا البكتيريا عن وسط النمو باستعمال جهاز الطرد المركزي للحصول على راشح البكتريا .
2– غمس اوراق الترشيح دائرية من نوع Whatman no: 3 في الجزء الرائق (وسط نمو البكتريا)
3– وضع اوراق الترشيح المحملة برواشح البكتريا على اطباق مزروعة بالبكتريا المرضية.
4– قياس الهالة الشفافة المتكونة حول الاقراص بعد الحضن لمدة 18 –24 ساعة وبدرجة حرارة 37م°.

1) الإشريكية القولونية *E.coli.*

استخدم وسط آغار EMB وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وحسبت المستعمرات ذات اللون الأخضر واللمعة المعدنية على أنها بكتريا الأشريكية القولونية (Cheesbrough,1985).

2) بكتريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

استخدم وسط بيرد باركر وتم الزرع بطريقة الفرش وذلك بأخذ1 ml وفرشت بواسطة قضيب زجاجي على شكل حرف L معقم وحُضنت الاطباق بحرارة 37م لمدة 48 ساعة ساعة وتعد المستعمرات السوداء اللامعة الدائرية الشكل مع سطح أبيض دقيق ومحاطة بهالة شفافة فاتحة على أنها عنقودية ذهبية (ISO 6888-1:2021).

3) بكتريا السلمونيلة *Salmonella*

استعمل طريقة (Garbutt, 1997) للكشف عن بكتريا السلمونيلة. وكما يأتي :

1) حضنت العينات في ماء الببتون بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة.
2) نقل 1 مل من المستنبت الى انبوب اختبار يحتوي 10 مل من وسط التنشيط الانتقائي Tetrathionate Broth وحضن بدرجة حرارة 43م ولمدة 24 ساعة .
3) نقل من المستنبت مقدار عروة وتزرع على وسط S.S.Agar و وسط الخضرة اللامعة ويحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة.

4) الاختبارات الكيمياحيوية

تم إجراء الأختبارات التالية للتأكد من النتائج :

اختبار الأندول، اختبار أحمر المثيل، اختبار فوكس بروسكاور، اختبار السترات، اختبار اليورياز، اختبار كليجلر (الويندواوي وزوين، 2020).

التحليل الاحصائي:

استعمل البرنامج مايكروسوفت ايكسل (2010) في التحليل الإحصائي لدراسة المتوسطات ولحساب النسب المئوية والإنحراف المعياري.

3) <u>النتائج:</u>

يظهر الجدول رقم (1) نتائج العزل البكتيري التي أجريت على مسحات من أمعاء دجاج اللحم.

1) عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* :

أظهرت النتائج وجود 16 عزلات من أصل 50 عينة من أمعاء دجاج اللحم تنتمي الى جنس العصيات اللبنية وذلك حسب المواصفات الشكلية واللونية (عصيات إيجابية الغرام) والصفات المزرعية (مستعمرات كريمية اللون على منبت MRS agar) والاختبارات الكيمياحيوية (سالبة للكتالاز)، وعند تنميط هذا العزلات على جهاز PCR تبين أنها تنتمي الى *L. Plantarum = 9* و *L. acidophilus = 2* وأهملت 5 عينات المتبقية.

.الجدول رقم (2): عدد وانواع العزلات

Lactobacillus spp	16
L. acidophilus	2
L. plantarum	9
Neglected isolates	5

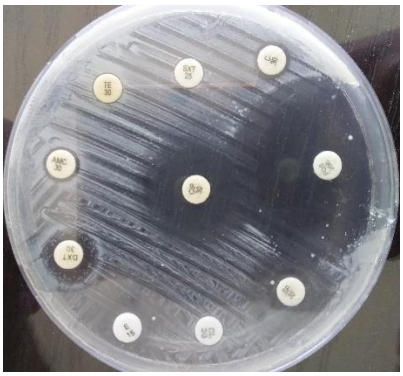
2) الحساسية الدوائية للبكتريا الممرضة

تبين الصور رقم (1) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا الاشريكية القولونية والصورة رقم (2) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية والصورة رقم (3) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا السلمونيلة، وبينت النتائج مقاومة أنواع البكتريا الثلاث لأغلب المضادات الحيوية (أموكسيسلين، اريثرومايسين، كولستين، سيفالكسين، سلفا تريموثبريم، تتراسكلين)، بينما أظهرت البكتريا المرضية حساسية تجاه السيبروفلوكساسين، و حساسية تجاه الفوسفومايسين ما عدا بكتريا الاشريكية القولونية فقد أظهرت مقاومة ضد هذا الصاد الحيوي،

أما بالنسبة الصاد الحيوي السبيرامايسين فقد أظهرت بكتريا الاشريكية القولونية مقاومة تجاهه و بكتريا المكورات العنقودية الذهبية حساسية تجاهه و بكتيريا السلمونيلة متوسطة الحساسية تجاهه، بينما كانت كل من بكتريا الاشريكية القولونية وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية متوسطة الحساسية للدوكسي سايكلين أما بكتريا السلمونيلة أظهرت حساسية ضد الصاد الحيوي المذكور، واظهرت كل من بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية مقاومة و بكتريا السلمونيلة حساسية متوسطة تجاه التريموثبريم.

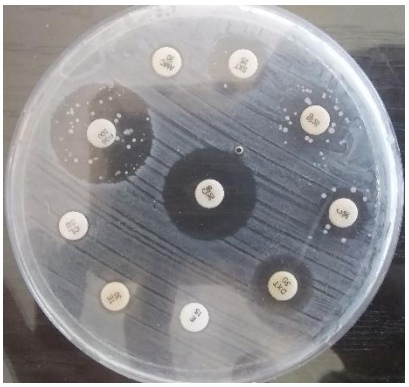
الصورة رقم (1)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا الاشريكية القولونية



الصورة رقم (2)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية



الصورة رقم (3)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا السلمونيلة

3) دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:

بينت النتائج فعالية بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد البكتريا الممرضة المستعملة في الدراسة فقد أظهرت حساسية بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ورواشحها المدروسة كما هو موضح في الصورة رقم (4)

اذ أظهرت بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* من المعلق البكتيري والرواشح ايضا فغالية ضد البكتريا الممرضة، حيث أبدت الرواشح البكتيرية فعالية اقوى من المعلق البكتري الجدول رقم (3)، فقد تراوحت أقطار مناطق التثبيط لبكتريا *L. acidophilus* 9 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 15 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 4 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 8 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بانسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا السلمونيلة.

فقد تراوحت أقطار مناطق التثبيط لبكتريا *L. Plantarum* 8 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 14 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 4 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 7 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 3 ملم بانسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا السلمونيلة.

الجدول رقم (3): متوسط أقطار (ملم) مناطق التثبيط لعزلات بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد البكتريا الممرضة

البكتريا		الاشريكية القولونية	المكورات العنقودية الذهبية	السلمونيلة
L. acidophilus	المعلق البكتيري	2	4	2
	الراشح البكتيري	9	15	8
L. Plantarum	المعلق البكتيري	2	4	3
	الراشح البكتيري	8	14	7

المناقشة:

1- عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* :

وهذه النتائج تتوافق مع Dumitru وآخرون (2020) حيث تم عزل وتحديد وتوصيف سلالات من بكتيريا االعصيات اللبنية من الجهاز الهضمي لدجاج التسمين. شملت هذه السلالات خمسة أنواع: Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus salivarius and Lactobacillus plantarum. و توافقت مع Sorescu وآخرون (2021) فقد تم عزل ثلاث وعشرين سلالة من البكتيريا (L. acidophilus)، و(L. brevis)، و(L. plantarum)، و(L. fermentum)، و(L. salivarius) من أمعاء دجاج التسمين.

عند فقس البيضة، تتكون الميكروبات المعوية في أعور الدواجن بشكل رئيسي من بكتيريا المكورات المعوية، والبكتيريا القولونية، والمطثيات (Coates & Fuller, 1977)، ومع التقدم في العمر وابتداءً من اليوم الرابع من العمر، تصبح بكتيريا العصيات اللبنية مكونًا هامًا من الميكروبات المعوية (Zhu *et al.*, 2002). وفي اليوم السابع من العمر، تطغى بكتيريا العصيات اللبنية على الميكروبات المخاطية في اللفائفي، تليها بكتيريا Lachnospiraceae والمكورات المعوية (Cressman *et al.*, 2010). وبعد اليوم الرابع عشر من العمر، تتطور في أعور وأمعاء دجاج التسمين مجتمعات بكتيرية متنوعة (Pedroso & Lee, 2015)، ولكن من اليوم الحادي والعشرين إلى اليوم الثاني والأربعين من العمر، تصبح بكتيريا العصيات اللبنية الكائن الحي الأكثر وفرة في الأمعاء الدقيقة،وقد تم الكشف عن العديد من أنواع العصيات اللبنية في أمعاء الدواجن، ويثير هذا التنوع مسألة اختيار السلالة الأنسب لتطوير إضافات علفية بكتيرية في تغذية الدواجن.

2- الحساسية الدوائية للبكتريا الممرضة

إن من أهم الأسباب التي تؤدي الى ظهور المقاومة ضد المضادات الحيوية هو الاستخدام العشوائي للأدوية والتشخيص الخاطئ.

تُعدّ مقاومة المضادات الحيوية من أخطر التهديدات التي تواجه الصحة العامة. ويمكن الحدّ من تطور هذه المقاومة باستخدام المضادات الحيوية ضيقة الطيف التي تستهدف أنواعًا محددة من البكتيريا، ما يعني القضاء على عدد أقل من البكتيريا غير الضارة، وبالتالي حماية البكتيريا الضارة الأخرى من ضغط الانتقاء. مع ذلك، فقد طُرحت العديد من المضادات الحيوية ضيقة الطيف منذ عقود، ولذا فهي تفتقر إلى الوثائق التنظيمية المتوافقة مع المعايير الحالية (Årdal *et al.*, 2024).

وهنا تكمن أهمية المعززات الحيوية والتي لها القدرة على إنتاج ببتيدات قصيرة السلسلة لها خصائص مضادة للميكروبات مثل (البكتيريوسينات) وإنتاج الأحماض العضوية أيضاً والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة، وهنالك العديد من آليات المعززات الحيوية الأخرى التي لها القدرة على الحد من استعمار الأحياء الممرضة في أجهزة الجسم المختلفة (Di Cerbo *et al.*, 2015)

3- دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:

تعتبر القناة الهضمية أكبر جهاز مناعي للجسم، وذلك بسبب احتوائها على عوامل متعددة تؤهلها لذلك مثلاً احتواءها على النبيت المعوي الذي له الدور الفعال في مقاومة مسببات الامراض (Blaut and Clavel, 2007)، مثل بكتريا حامض اللبن إذ تمتلك مواصفات متعددة تؤهلها أن تقوم بتثبيط الأحياء المجهرية المتواجدة في القناة الهضمية ومعالجة الاضطرابات في الجهاز الهضمي، إذ أن معظم الأمراض التي تصيب الجهاز الهضمي والمنقولة خلال الأغذية تعتبر السبب الرئيس لوفاة معظم الأشخاص في كل أنحاء العالم (Thirabunyanon, 2011).

إن من بين أهم فوائد المعززات الحيوية سواء كانت سلالة مفردة أو مجموعة من السلالات هي تحسين مناعة الجسم عامة والجهاز الهضمي خاصة، ولا سيما تحسين قوة الجدار المخاطي للأمعاء والعمل على تحقيق توازن النظام البيئي للنبيت المعوي في الجسم، لقدرتها على الالتصاق بجدار الطبقة المخاطية للأمعاء، والذي يؤدي الى منع استيطان ونمو الأحياء المرضية في الأمعاء وكذلك عن طريق منافستها على المواد الغذائية (Pandey *et al.*, 2015).

تعود القدرة التثبيطية لهذه البكتريا الى انتاجها مادة البكتريوسين Bacteriocin وهي مجموعة غير متجانسة من المواد النشطة بايولوجيا التي تنتجها البكتريا والتي تشمل الببتيدات والبروتينات والتي تظهر نشاطا مضادا للميكروبات والببتيدات البكتيرية يتم تصنيعها وافرازها عن طريق الرايبوسوم من قبل مجموعة متنوعة من البكتريا بغرض قتل البكتريا الأخرى وبالتالي إزالة المنافسة الميكروبية في بدائيات النوى (Yi *et al.*, 2022).

إن تأثير البكتريوسينات في الخلايا يشابه آليات عمل المضادات الحيوية، فقد تؤثر في الجدار الخلوي من خلال تحطيم، أو تكوين ثقوب في الجدار الخلوي، أو قد تؤثر في الغشاء السايتوبلازمي أو تثبط عمل الأنزيمات المتواجدة فيه، ومنها ما يثبط تخليق البروتين إذ تتداخل مع الفعاليات الأيضية للمادة الوراثية، وتثبط تضاعف المادة الوراثية داخل الخلية المستهدفة (O'Shea *et al.*، 2012).

4- الإستنتاجات Conclusion:

- تم عزل 16 عزلة من *Lactobacillus* من أمعاء دجاج اللحم، شخصت 9 منها *L. plantarum* وعزلتان *L. acidophilus*.
- البكتيريا الممرضة أظهرت مقاومة عالية لـ 6 من 10 مضادات حيوية، مما يعكس مشكلة الاستخدام العشوائي.
- الراشح البكتيري تفوق على المعلق البكتيري في التثبيط (أقطار 7 – 15 ملم مقابل 2 – 4 ملم)، مما يشير إلى إفراز مواد فعالة خارج الخلايا.
- أظهرت العزلات فعالية تثبيطية ضد جميع البكتيريا الممرضة، مع اختلاف بسيط بين النوعين.

التوصيات Recommendations:

- التوجه نحو استخدام *Lactobacillus* ورواشحها كبديل طبيعي للمضادات الحيوية في الدواجن.

- إجراء دراسات لتنقية البكتيريوسينات وتحديد تركيبها وآلية عملها.
- تطبيق عملي بإضافتها للأعلاف أو الماء وتقييم تأثيرها على الإنتاجية والصحة.
- وضع برامج وطنية لمراقبة استخدام المضادات الحيوية والحد من الاستخدام العشوائي.
- توسيع العزل من مصادر مختلفة للحصول على سلالات أكثر فعالية.
- تجارب على الطيور الحية لتقييم الفعالية في الظروف الطبيعية.
- نشر التوعية حول مخاطر المقاومة البكتيرية وأهمية البروبيوتيك كاستراتيجية وقائية.

- **المراجع العربية**

1. القصاب ، عبد الجبار عمر وجه (1988) : التأثير المضاد لlactobacillus sp.
العصوية على بعض البكتريا المرضية ، رسالة ماجستير .

2. **الويناوي، عباس حميد شكور.، زوين، لمى عبدالهادي، (2020)**. الاختبارات الكيمياحيوية التشخيصية للبكتريا دار الكتب والوثائق، بغداد .

5- <u>المراجع الأجنبية:</u>

1- . **Yi, Y.; Li, P.; Zhao, F.; Zhang, T.; Shan, Y.; Wang, X.; Liu, B.; Chen, Y.; Zhao, X.; Lü, X.(2022).** Current status and potentiality of class II bacteriocins from lactic acid bacteria: Structure, mode of action and applications in the food industry. Trends Food Sci. Technol., 120: 387–401
2- **Anwar, A, Abdulla., Mohammed, A, Jebor., Thikra, A, Abed., and Maha, J, Noshee. (2013).** Isolation and Identification by PCR and Analysis for Probiotic Properties of Lactobacillus spp from Dairy Products. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. Vol.3, No.12
3- **Arief, I. I., Jenie, B. S. L., Astawan, M., Fujiyama, K., & Witarto, A. B. (2015)**. Identification and probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from Indonesian local beef.
4- **Arief, I. I., Wulandari, Z., Aditia, E. L., & Baihaqi, M. (2014).** Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic Lactobacillus plantarum IIA-2C12 as starter culture. *Procedia Environmental Sciences*, *20*, 352-356.
5- **Bédard, F.; Hammami, R.; Zirah, S.; Rebuffat, S.; Fliss, I.; Biron, E.(2018).** Synthesis, antimicrobial activity and conformational analysis of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1 and analogs thereof. Sci. Rep., 8: 9029.
6- **Blaut, M and Clavel ,T.:**(2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. J Nutr ;**137**: S751-755 .
7- **Cheesbrough, M., (1985).** Medical Laboratory Manual for Tropical Countries. 1st ed. English Language Book Society, London. p 400–480.

8- **Coates, M. E., & Fuller, R. (1977).** *The gnotobiotic animal in the study of gut microbiology* (Vol. 153, pp. 311-346). London: Academic Press.

9- **Cressman, M. D., Yu, Z., Nelson, M. C., Moeller, S. J., Lilburn, M. S., & Zerby, H. N. (2010).** Interrelations between the microbiotas in the litter and in the intestines of commercial broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, *76*(19), 6572-6582.

10- **Di Cerbo, A., Palmieri, B., Aponte, M., Morales-Medina, J. C., & Iannitti, T. (2015).** Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. Journal of clinical pathology, jclinpath-2015.

11- **Dong, Z. L., Wang, Y. W., Song, D., Hou, Y. J., Wang, W. W., Qi, W. T., ... & Li, A. K. (2016)**. The effects of dietary supplementation of pre-microencapsulated Enterococcus fecalis and the extract of Camellia oleifera seed on growth performance, intestinal morphology, and intestinal mucosal immune functions in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *212*, 42-51.

12- **Dos Reis, S. A., da Conceicao, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., & Peluzio, M. D. C. G. (2017).** Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*, *37*, 1-19.

13- **Dumitru, M., Ciurescu, G., & Sorescu, I. (2020).** In vitro evaluation of some probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from chickens' gut. *SCIENTIFIC PAPERS ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGIES*, *53*(1), 44-44.

14- **Garbutt, J., (1997).**Essentials of food microbiology. Arnold, member of the hodder headline group. London, UK. pp:128-236 .

15- **Gupta, U.; Rudramma; Rati, E.R. and Joseph, R.:** (1998) .Nutrition quality of lactic fermented bitter gourd and fenugreek leaves. Int. J. Food Sci. Nutr., **49**(2): 101-108 .

16- **Hernández González, O. (2021).** Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, *37*(3).

17- **Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011).** An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, *187*(2), 182-188.

18- **ISO - International Organization for Standardization. (2021).** Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of coagulse – positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) – part 1: Method using Baird-Parker agar medium. Iso 6888-1:2021.

19- **Juturu, V.; Wu, J.C.(2018).** Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. Biotechnol. Adv. 36, 2187–2200.

20- **Kim, E., Yang, S. M., Lim, B., Park, S. H., Rackerby, B., & Kim, H. Y. (2020).** Design of PCR assays to specifically detect and identify 37 Lactobacillus species in a single 96 well plate. *BMC microbiology*, *20*(1), 96.

21- **Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017).** Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, *9*(9), 1021.

22- **Martinez – Gonzalez , B. ; Eriotou , E.; Michopoules , S.; Kolantzopoulos , G. ; Tsakalidou , E. and Mentis , A. :** (2004) . *In Vitro* and *In Vivo* inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain shirota . Appl . Environ . Microbiol ., **70**(1) :518 – 526.

23-**Nag, A. (2011).** Development of a microencapsulation technique for probiotic bacteria Lactobacillus casei 431 using a protein-polysaccharide complex: a thesis presented in partial fulfillment of the requirements of the degree of Masters of Technology in Food Technology at Massey University, Palmerston North, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University).

24-**O'Shea, E. F., Cotter, P. D., Stanton, C., Ross, R. P., & Hill, C. (2012).** Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid.

25-**Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015).** Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. Journal of food science and technology, 52(12), 7577-7587.

26-**Pedroso, A. A., & Lee, M. D. (2015)**. The composition and role of the microbiota in chickens. In *Intestinal health* (pp. 21-50). Wageningen Academic.

27-**Rajaram ,G.;Manivasagan, P.;Thilagavathi ,B . and Saravanakumar , A.:**(2010). Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus lactis* isolated from marine environnement .Adv.J.food Sci Technol, **2**(2):138-144 .

28-**Sato، H.H., Bicas, J.L., Cedran, M.F., Rodrigues, F.J. (2020).** Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review، Food Research International، Volume 137، ،2020 ،109682 ISSN 0963-996

29-**Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., & Kim, W. K. (2018)**. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Frontiers in veterinary science*, *5*, 254.

30-**Sorescu, I., Dumitru, M., & Ciurescu, G. (2021).** Lactobacillus spp. strains isolation, identification, preservation and quantitative determinations from gut content of 45-day-old chickens broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *23*(01), eRBCA-2020.

31-**Thirabunyanon ,M.:** (2011): Biotherapy for and protection against gastrointestinal pathogenic infections via action of probiotic bacteria . *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 2011, ***5***(01): 108-128 .

32-**Wang, Y., Sun, J., Zhong, H., Li, N., Xu, H., Zhu, Q., & Liu, Y. (2017).** Effect of probiotics on the meat flavour and gut microbiota of chicken. *Scientific Reports*, *7*(1), 6400.

33-**Xu, Y., Yu, Y., Shen, Y., Li, Q., Lan, J., Wu, Y., ... & Yang, C. (2021).** Effects of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis on growth performance, immunity, short chain fatty acid production, antioxidant capacity, and cecal microflora in broilers. *Poultry science*, *100*(9), 101358.

34-**Yadav, S., & Jha, R. (2019).** Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. *Journal of animal science and biotechnology*, *10*, 1-11.

35-**Zhu, X. Y., Zhong, T., Pandya, Y., & Joerger, R. D. (2002).** 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, *68*(1), 124-137.