التأثير التضادي للأرتيميا (*Artemia*) ضد بعض الأنواع البكتيرية المسببة للإصابات المعوية

هند محمد خلف الله منى عبدالسلام لويفة ربيعه محمد اشعيوي صالحة جمعة إبراهيم عائشة محمد شهلول

كلية العلوم الهندسية والتقنية-براك، جامعة سبها، ليبيا

*للمراسلة hin.abdulrrazaiq@sebhau.edu.ly

الملخص

الارتيميا (*Artemia*) أحد الأنواع البحرية التي تستخدم في مناطق محدودة من العالم، ونظرًا للاستخدام الشائع لها في الجنوب الليبي كغذاء وعلاج للأمراض المعوية دون الاعتماد على أساس علمي، وفي نفس الوقت تزايد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية أجريت هذه الدراسة بهدف: دراسة مدى تأثير المنقوع والمستخلص المائي والعضوي كمضاد بكتيري على بعض الأنواع البكتيرية المسببة للأمراض المعوية واختبار التأثير التآزري مع المضادات الحيوية، تم جمع عينات الدود وتحضير منقوع، ومستخلص مائي (ساخن وبارد)، ومستخلص عضوي، جميعها بتراكيز2، و5، و10، و20، و40%، بينت النتائج أن لمنقوع الدود (بارد وساخن) تأثير تثبيطي ضد *S. aureus ATCC 6538P* والساخن بتركيزات 10، و20، و40% ضد *E.coli ATCC10536*، وأن للمستخلص المائي (ساخن وبارد) تأثير بتركيز 20 و40% ضد *E.coli ATCC10536* و*S.aureus* على التوالي، والمستخلص العضوي ضد *E.coli ATCC10536*، أشارت النتائج إلى زيادة حساسية الأنواع البكتيرية ماعدا *E.coli* (العزلة السريرية) للمضاد Neomycim المشبع بالمستخلص البارد بالتراكيز المدروسة وإضافة لذلك، زادت حساسية *S. typhimurium ATCC 14028* و*E.coli ATCC10536* و *S. aureus ATCC 6538P* للمضاد Streptomycin المشبع بالمستخلص الساخن، وحساسية *S. typhimurium ATCC 14028* و*E.coli ATCC10536* للمضاد Kanamycin وحساسية و*E.coli ATCC10536* و*S. aureus ATCC 6538P* للمضاد Amikacin، أما العضوي زاد من حساسية *E.coli* للمضاد Kanamycin المشبع بجميع التراكيز و *E.coli* السريرية و*S. aureus ATCC 6538P* للمضاد Neomycim. أظهر المضاد Neomycim أفضل تأثير تآزري ضد جميع الأنواع بجميع التراكيز للمستخلص المائي (بارد وساخن) والعضوي.

الكلمات المفتاحية: الأرتيميا، الإصابات المعوية، المضادات الحيوية، البكتيريا، العلاجات البحرية، Antibiotic, intestinal disease

Abstact:.

Artemia is one of the marin species, and it is used in limited parts of the world. Due to its common use in the southern Libya as food and drug for intestinal diseases without scientific evidences, and at the same time there is an increasing bacterial resistance to antibiotics, this study was conducted to investigate the effect of soaked, aqueous and organic extract (according to conventional doses of *Artemia)* on some enteric pathogenic bacteria. Samples of Adood (*Artemia*) were collected, and the extracts were prepared by soaking, aqueous (hot and cold) extract and ethanol extract at concentrations of 2, 5, 10, 20, 40%. The results showed that soaked (cold and hot) inhibited *S. aureus ATCC 6538P*, and hot with 10, 20, 40% inhibited *E.coli ATCC10536*. Aqueous extract 20% inhibited *E.coli*, and 40% inhibited *S. aureus ATCC 6538P*. The organic extract inhibited *E.coli ATCC10536* only. Saturated antibiotics with cold aqueous extract indicated an increase in the sensitivity of bacterial species, except clinical *E.coli* for saturated Neomycim at all the concentrations. In addition, it increased the sensitivity of *S. typhimurium ATCC 14028*, *E.coli ATCC10536* and *S. aureus ATCC 6538P* for saturated Streptomycin with hot. *S. typhimurium ATCC 14028* and *E.coli ATCC10536* for Kanamycin and *E.coli ATCC10536* and *S. aureus ATCC 6538P* for Amikacin. While organic extract increased the sensitivity of *E.coli* to the saturated Kanamycin with all the concentrations and the clinical *E.coli* and *S. aureus ATCC 6538P* for

Neomycim. The best synergistic effects against all species with all the concentrations of aqueous extract (cold and hot) and organic was noted with Neomycim.

المقدمة

البيئة البحرية تعتبر مخازن واسعة تضم تنوعًا حيوانيًا هائل وهي مصدر لا يحصى للمنتجات الطبيعية، فبعض الكائنات القاطنة فيها منتجاتها الايضية الثانوية ومشتقاتها، التي تكونها نتيجة التنافس مع غيرها من الكائنات على المكان، ذات تراكيب كيميائية لها نشاط حيوي، فقد تم وصف أكثر من 17000 منتج من النواتج الأيضية البحرية المهمة بيولوجيا [1][2][3]، وهي تلعب دورًا ذي أهمية متزايدة في البحث الكيميائي الحيوي biochemical وتطوير العلاجات باستخدامها كدواء بشكل مباشر أو كتراكيب لتصنيع العديد من المنتجات الطبية، ونتيجة لفعلها المضاد للميكروبات أصبحت مصدرًا جيدًا للمضادات الميكروبية والحد من انتشار الممرِضات المقاومة للمضادات الحيوية[4]، ومن ضمن الكائنات البحرية الأرتيميا *Artemia* التي كان الاستخدام الأول لها في الزراعة البحرية بسبب امكانية هضمها بسهولة ولمحتواها الغذائي العالي [5][6][7]، كما تستخدم في المجالات الطبية [8]. *Artemia* لديها قيمة غذائية عالية وكافية لاحتياجات العديد من الكائنات، وهي تتميز في غذائها بتناولها أي مادة تدخل فمها، فالمركبات الغذائية الأساسية متوفرة في جميع الأطوار التي تمر بها كالبروتينات والأحماض الامينية والكربوهيدرات والدهون والأحماض الدهنية الحرة التي منها زيت السمك fish oil وزيت الحبار squid oil، كما أنها غنية بالفيتامينات [5][9][10].

تستخدم *Artemia* ككائن هدف للكشف عن المركبات الفعالة حيويًا في المستخلصات الطبية النباتية، وتستخدم أيضًا في اختبارات تحديد سمية هذه المواد [11]، كما أن محتواها من الأحماض الدهنية الحرة يجعلها دفاعات كيمائية ضد الميكروبات الممرضة، فقد بينت العديد من الدراسات بأن مستخلصات الكتلة الحيوية لها ذات تأثيرات مضادة ضد العديد من الأنواع البكتيرية الممرضة وبعض الفطريات الموجودة بشكل شائع في الفم والمهبل والأمعاء والأسطح المخاطية والتي تسبب في إحداث مشاكل بسبب تأثر الفلورا الطبيعية بالمضادات الحيوية والأدوية المثبطة للبكتيريا [12][13]. تستخدم *Artemia* في إنتاج بعض المنتجات الصيدلانية؛ لعلاج بعض الأمراض مثل المراض الروماتيزمية various rheumatic وأمراض الغدد الصماء endocerine diseases، وتستخدم المياه المالحة والطين المحتوي على بعض الهرمونات (human estrogen- like, human progesterone- like) المفرزة من *Artemia* والمستخرج من بعض البحيرات في طب النساء [14].

توجد *Artemia* في ليبيا في عدة مناطق منها أبو كماش بالمنطقة الغربية وسبخة الكويم غرب البريقة، كما توجد في المنطقة الشرقية في ثلاثة مواقع هي: سبخة التميمي الشرقية وسبخة التميمي الغربية وسبخة راس التين الشرقية، وفي الجنوب الليبي في بحيرة قبرعون [15][16].

أهمية الدراسة:

إن استخدام المضادات الحيوية وما ينتج عنه من تزايد في ظهور السلالات المقاومة لها تعتبر معضلة صحية يعاني منها دول العالم، وأن التوجه للبحث عن سبل بديلة هو التحدي الأكبر لمعالجة الأمراض البكتيرية، ونظرًا للاستخدام التقليدي للأرتيميا في منطقة الدراسة بشكل منتج يطلق عليه اسم الدود كعلاج للإصابات المعوية مع عدم وجود دراسات بحثيه مسبقة عنها، فإنه من المهم جدًا دراسة التأثيرات الناتجة عنها ضد الميكروبات حسب أسس علمية.

الهدف من الدراسة:

1. دراسة مدى تأثير الجرعات المستخدمة شعبيًا من الدود على بعض الأنواع البكتيرية المسببة للأمراض المعوية.
2. دراسة مدى تأثير المنقوع والمستخلصات المائية والعضوية على العزلات المدروسة وتحديد أقل تركيز مثبط.
3. اختبار التأثير التآزري للدود مع المضادات الحيوية لتثبيط نمو البكتيريا الممرضة.

منطقة الدراسة:

بحيرة قبرعون، وهي من البحيرات الصحراوية في ليبيا تقع وسط الكثبان الرملية شرق منطقة أوباري الواقعة في الجنوب الليبي، وهذه البحيرة ذات إنتاجية غذائية عالية، وأبرز ما تنتجه هو الدود المصنع عن طريق تجميع *Artemia* من البحيرة ومعاملتها بطرق خاصة، ويستخدم الدود مع بعض الأطعمة، ويعتبر الدود من العقاقير العلاجية لدى أهل الصحراء، وأبرز استخداماته تكمن في أنه يستخدم لعلاج الأمراض المعوية.

مواد وطرق العمل

استخدمت عينات الدود الطري للأرتيميا المستخرجة من بحيرة قبرعون.

تحضير المنقوع والمستخلصات:

حُضر المنقوع حسب الاستعمال الشائع للدود في الجنوب الليبي، وهو عن طريق نقعه في الماء البارد (منقوع بارد)، أو طبخه (استخدم في هذه الدراسة بشكل منقوع ساخن)، وفي الوقت نفسه استخدمت الطرق العلمية المتعارف عليها لتحضير المستخلص المائي البارد والساخن والمستخلص الكحولي [17]، تم تحضير التراكيز متضمنه الكميات المستخدمة شعبيًا، وهي ألّا تزيد عن ملئ ملعقة الطعام صغيرة الحجم، أي ما يساوي 10 جرام في 100مل، فكانت التراكيز بمقدار 2، 5، 10، 20، 40%.

العزلات البكتيرية:

تم استخدام عزلة سريرية لبكتيريا *E. coli* من معمل الأحياء الدقيقة بقسم المختبرات الطبية، جامعة سبها، وبكتيريا مرجعية اشتملت على الأنواع التالية:

- *E.coli* ATCC® 10536 from NCTC
- *Salmonella typhimurirum* ATCC ® 14028 from NCTC
- *Staphylococcus aureus* ATCC ® 6538P from NCTC

تم تنشيط البكتيريا بزراعتها في المرق المغذي Nutrient broth، ثم الزراعة الثانوية على الاجار المغذي.

اختبار الفعالية التضادية للدود (طريقة الأقراص المشبعة):

تم تحضير المعلق البكتيري المقارب للمحلول القياسي McFarland تركيز 0.5، وحقن على الوسط الزرعي Muller Hinton Agar، ثم وضعت أقراص أوراق الترشيح Whatman No.1 بقطر 5 ملم المشبعة بمقدار 20 µl بالمستخلصات كل حسب نوعه وتركيزه، وشبعت ورقة ترشيح بماء مقطر معقم واستخدمت كضابط، وفي نفس الوقت تمت زراعة طبق آخر ووضعت عليه أقراص المضادات الحيوية الجاهزة (الجدول1)، تم تكرار كل معاملة مرتين، وحضنت الأطباق في الحضانة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 35-37°م، تمت قراءة النتائج بقياس قطر المنطقة الخالية من النمو حول القرص المشبع بالمستخلص أو المضاد الحيوي بالملمتر [18].

الجدول 1: أنواع المضادات الحيوية

اسم المضاد	الرمز	التركيز(ميكروجرام/مل)
Amikacin	AK	30
Kanamycin	K	30
Neomycim	NE	30
Streptomycin	S	10
Erythromycin	E	15
Amoxicillin	AMC	30
Ceftazidim	CAZ	30
Vancomycin	VA	5

اختبار التأثير التآزري للدود مع المضاد الحيوي:

زرعت البكتيريا على الوسط الزرعي باستخدام الماسح القطني بنفس الطريقة السابقة، وبعد تشبيع أقراص المضادات الحيوية الجاهزة بالمستخلصات بمقدار 20 ميكرولتر من المستخلصات باستخدام الماصات نصف الأوتوماتيكية، تم وضعها على سطح الطبق المحتوي على وسط Muller Hinton Agar، وحضنت لمدة 18-24 ساعة عند درجة حرارة 37°م، وبعد التحضين تم قياس قطر عدم النمو حول الأقراص وقورنت بنتيجة المضادات غير المشبعة.

التحليل الإحصائي:

استخدم برنامج Excel وبرنامج Minitab (T- test) في تحليل النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة.

النتائج:

تأثير منقوع الدود:

أظهرت معاملة الأنواع البكتيرية المدروسة بمنقوع الدود الساخن تأثيرًا تثبيطيًا ضد بكتيريا *E.coli ATCC10536* مع التراكيز 10 و20 و40% وكان أقل تركيز تأثيرًا عليها هو 10%، وأظهر المنقوع تأثيرًا تثبيطيًا بكلي نوعيه (الساخن والبارد) ضد بكتيريا *S. aureus ATCC 6538P* بجميع تراكيزه المدروسة وكان أقل التراكيز تأثيرًا عليها هو 2%، أما بقية الأنواع البكتيرية فلم يكن للمنقوع أي تأثير تثبيطي عليها وبمختلف تراكيزه (الجدول 2).

جدول (2) يوضح تأثير منقوع الدود على العزلات البكتيرية

التراكيز (%)	*S .thypimurium ATCC 14028*		*E.coli ATCC10536*		*E .coli clinical*		*S. aureus ATCC 6538P*	
	اقطار التثبيط (ملم)							
	ساخن	بارد	ساخن	بارد	ساخن	بارد	ساخن	بارد
2	0	0	0	0	0	0	5	8
5	0	0	0	0	0	0	9	10
10	0	0	13	0	0	0	15	12
20	0	0	10	0	0	0	10	10
40	0	0	8	0	0	0	7	8

تأثير المستخلص المائي للدود:

المستخلص المائي الساخن والبارد كان له تأثير تثبيطي ضد بكتيريا *E .coli ATCC10536* وبكتيريا *S. aureus ATCC 6538P*، فقد أثر الساخن بتركيز20% على *E. coli ATCC10536*، و40% ضد *S. aureus ATCC 6538P*، أما المستخلص المائي البارد، فكانت له فعالية تثبيطية ضد بكتيريا *E .col ATCC10536* بتركيز 20%، والتركيز 40% ضد *E.coli ATCC10536* و*S. aureus ATCC 6538P* ، وكان أقل تركيز له تأثيرًا على *E .coli ATCC10536* هو 20%، وعلى *S. aureus ATCC 6538P* هو 40% (الجدول 3).

جدول(3) يوضح تأثير المستخلص المائي للدود على العزلات البكتيرية

التراكيز (%)	*S.thphimurium ATCC 14028*		*E.coli ATCC10536*		*E.coli*$_{clinical}$		*S. aureus ATCC 6538P*	
	اقطار التثبيط (ملم)							
	ساخن	بارد	ساخن	بارد	ساخن	بارد	ساخن	بارد
2	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	8	9	0	0	0	0
40	0	0	0	7	0	0	10	8

تأثير المستخلص الكحولي للدود:

أبدى المستخلص العضوي فعالية تثبيطية ضد بكتيريا *E.coli ATCC10536* بجميع التراكيز ماعدا التركيز 40% بتأثير معنوي (P< 0.05) (الجدول 4).

الجدول (4) يوضح تأثير المستخلص العضوي على العزلات البكتيرية

التراكيز (%)	*S.thphimurium ATCC 14028*	*E.coli*$_{clinical}$	**E.coli ATCC10536*	*S. aureus ATCC 6538P*
	اقطار التثبيط (ملم)			
2	0	0	5	0
5	0	0	12	0
10	0	0	10	0
20	0	0	10	0
40	0	0	0	0

***= P<0.05**

حساسية الأنواع البكتيرية للمضادات المشبعة بالمستخلص المائي:

أظهرت بكتيريا *S. typhimurium ATCC 14028* زيادة في حساسيتها للمضادات K، N المشبعة بالمستخلص البارد والساخن مع كل التراكيز والمضاد AK المشبع بالبارد بتركيز 5%، ومع المضاد S المشبع بالمستخلص الساخن بكل التراكيز بفروق معنوية ($P<0.05$)، وزادت حساسية بكتيريا *E.coli ATCC10536* للمضادات K، N المشبعة بالمستخلص البارد بجميع التراكيز، وللمضادات AK, N, E, K, S المشبعة بالمستخلص الساخن بجميع التراكيز وأظهر المضاد S تأثيرًا بفروق معنوية مقارنة بالبارد، أما بكتيريا *E .coli* السريرية بكتيريا *E .coli* السريرية زادت حساسية للمضاد N المشبع بالمستخلص البارد بالتراكيز 10 و40%. وللمضاد N المشبع بالمستخلص الساخن بجميع التراكيز بفروق معنوية ($P<0.05$) مقارنة مع البارد، وزادت حساسية بكتيريا *S .aureus ATCC 6538P* للمضاد Ak, N المشبعة بالمستخلص البارد بجميع التراكيز، كما زادت حساسيتها للمضادات Ak,N,S,VA, E المشبعة بالمستخلص الساخن بجميع التراكيز، وأظهرت المضادات Ak K,S,AMC, E فروقًا معنوية بين تأثير البارد والساخن، كما أبدى المستخلص البارد والساخن بشكل عام تأثيرات تضادية وتعادلية مع بعض المضادات (الجدول 5).

(الجدول 5) يوضح حساسية البكتيريا للمضادات المشبعة بالمستخلص المائي

نوع البكتيريا	نوع المضاد			AK	K	N	S	CAZ	AMC	VA	E
				أقطار التثبيط (ملم)							
S. typhimurium ATCC 14028	المضاد			16.5	17.5	16.5	11.5	15	15	0	0
	المستخلص+ المضاد	%2	بارد	15	20	20	10	10	12.5	0	0
			ساخن	17.5	18	17.5	18.5*	10	15	0	0
		%5	بارد	20	20	20	10	10	15	0	0
			ساخن	15.5	20	20	*14	10	16	0	0
		10 %	بارد	15	20	20	10	10	15	0	0
			ساخن	20	20	19	*18	10	13.5	0	0
		20 %	بارد	15	20	20	10	10	10	0	0
			ساخن	17.5	18.5	19	*18	10	10	0	0
		40 %	بارد	15	20	20	10	10	10	0	0
			ساخن	18	18.5	20	*18	10	15	0	0
E.coli ATCC10536	المضاد			17.5	17.5	16	15	15	16	0	0

10	0	15	14	10	22	20	15	بارد	%2	المستخلص+ المضاد	*E.coli*clinical
10	0	9	15	*20	20	20	20	ساخن			
10	0	15	14.5	15	20	20	20	بارد	%5		
10	0	10	15	*17	20	20	20	ساخن			
10	0	15	14.5	12.5	20	20	15	بارد	10 %		
10	0	10	15	*20	20	20	20	ساخن			
10	0	15	10	15	20	15	20	بارد	20 %		
10	0	10	15	17.5 *	20	20	20	ساخن			
10	0	15	10	18	25	17.5	18	بارد	40 %		
10	0	10	15	*20	20	20	20	ساخن			
0	0	0	15	0	16.5	17.5	17.5	المضاد			
0	0	0	10	0	15	17	15	بارد	%2	المستخلص+ المضاد	
0	0	0	10	0	19	17.5	16	ساخن			
0	0	0	10	0	16	15	15	بارد	%5		
0	0	0	10	0	20	20	15	ساخن			
0	0	0	0	0	20	15	15	بارد	10 %		
0	0	0	10	0	20	20	15	ساخن			
0	0	0	10	0	15	15	15	بارد	20 %		
0	0	0	10	17.5	20	20	17.5	ساخن			
0	0	0	10	0	16	15	15	بارد	40 %		
0	0	0	10	0	20	20	15	ساخن			
27.5	12.5	21.5	0	17.5	18.5	30	19	المضاد			***S. aureus ATCC 6538P***
30	10	15	0	15	20	25	20	بارد	%2		

		ساخن	30	30	29	22.5	0	20	20	30
	5%	بارد	20	22.5	20	15	0	15	10	20
		ساخن	30	30	38	25	10	24	20	30
المستخلص+ المضاد	10%	بارد	20	22	20	15	0	15	10	20
		ساخن	24	20	24	20	0	25	20	30
	20%	بارد	20	20	20	17	0	15	10	10
		ساخن	30	30	24	20	0	25	20	30
	40%	بارد	20	20	20	13	0	15	10	20
		ساخن	20	30	20	25	0	20	20	30

Amikacin=AK, Kanamycin=K, Neomycin=NE, Streptomycin=S, Erythromycin=E, Amoxicillin=AMC, Cefatazidim=CAZ, Vancomycin=VA, *=P<0.0

حساسية البكتيريا للمضادات المشبعة بالمستخلص الكحولي:

زادت حساسية بكتيريا S. typhimurium ATCC 14028 للمضاد N المشبع بالمستخلص الكحولي بجميع التراكيز ماعدا تركيز 40، وللمضاد AMC المشبع تركيز 2 و5 و 40%، وللمضاد S المشبع بتركيز 10 و40%، وزادت حساسية بكتيريا *E.coli ATCC10536*

للمضاد K المشبع بالمستخلص الكحولي بجميع التراكيز، وللمضاد N المشبع تركيز 2 و20 و40%، كما زادت حساسيتها للمضاد AM المشبع بتركيز 2 و10 و20% زادت حساسية بكتيريا E.coli السريرية للمضادين K,N المشبعين بالمستخلص الكحولي، وبكتيريا S .aureus ATCC 6538P زادت حساسية للمضاد N المشبع بالمستخلص الكحولي بجميع التراكيز، وللمضاد AK بتركيز 2 و5%، مقارنة بالمضادات غير المشبعة (الجدول 6).

(جدول 6) يوضح تأثير المضادات المشبعة بالمستخلص الكحولي على البكتيريا المدروسة

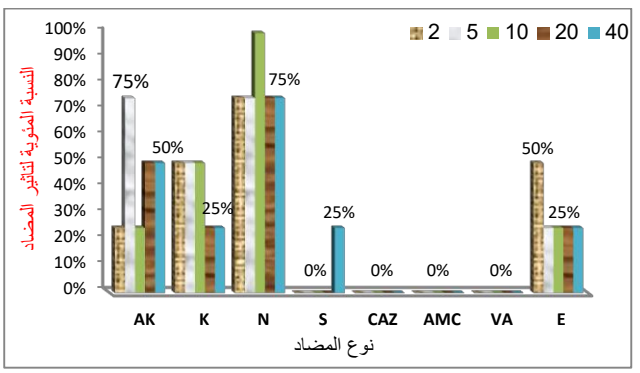
نوع البكتيريا	نوع المضاد		AK	K	N	S	CAZ	AMC	VA	E
			أقطار التثبيط (ملم)							
S. typhmurium ATCC14028	المضاد		16.5	17.5	16.5	11.5	15	15	0	0
	المستخلص+المضاد	%2	15	19	20	9.5	15	17	0	0
		%5	15	19	20	9.5	15	17	0	0
		%10	19.5	20	17.5	15.5	10	10	9.5	0
		%20	15	17.5	18	10	10	15	0	0
		%40	16.5	15	15	13.5	10	17.5	0	0
E.coli ATCC10536	المضاد		17.5	17.5	16	15	15	16	0	0
	المستخلص+المضاد	%2	17.5.	18.5	17.5	15	14	17.5	0	0
		%5	17.5	18.5	16.5.	15	14	17.5	0	0
		%10	17.5	20	15	15	13	17.5	0	0
		%20	17.5	20	16.5	15	13	17.5	0	0
		%40	17.5	20	16.5	15	30	17.5	0	0
E.coli clinical	المضاد		17.5	17.5	16.5	0	15	0	0	0
	المستخلص+المضاد	%2	15	19.5	18	0	10	0	0	0
		%5	17	19.5	17	8	10	0	0	0
		%10	15	17.5	19	0	10	0	0	0
		%20	15	20	17.5	0	10	0	0	0
		%40	15	17.5	18.5	0	10	0	0	0
S. aureus ATCC 6538P	المضاد		19	30	18.5	17.5	0	21.5	12.5	27.5
	المستخلص+المضاد	%2	20	25	21	13	0	16	9	0
		%5	20	24	22	15	0	15	9.5	0
		%10	15.3	20	17.6	15	0	15	9	0
		%20	17	20	20	15	0	15	10	0
		%40	18.5	18.5	19.5	15	0	15	10	0

Amikacin=AK, Kanamycin=K, Neomycin=NE, Streptomycin=S, Erythromycin=E, Amoxicillin=AMC, Cefatazidim=CAZ, Vancomycin=VA

التأثير التآزري للمستخلص المائي للدود مع المضادات الحيوية:

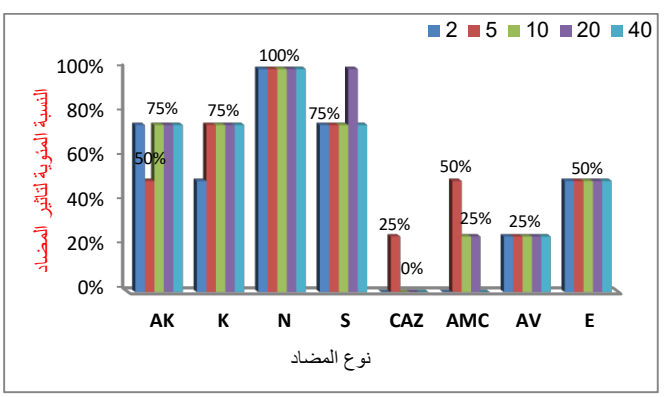
المستخلص المائي البارد المستخدم بالتراكيز 2، 5، و10% أظهر تأثيرًا تآزريًا مع المضاد AK ضد جميع الأنواع البكتيرية المدرسة (100%)، وتأثيرًا بنسبة 50% مع التراكيز 20،40%، وأظهر مع المضاد K تأثيرًا بنسبة 50% مع

التراكيز 2 و5 و10%، وبنسبة 25% مع التراكيز 20 و40%، كما أبدى مع المضاد N تأثيرًا بنسبة 100% مع التركيز 10%، وبنسبة 75% مع بقية التراكيز، وأظهر مع المضاد S تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التركيز 40%، هذا ولم يظهر أي تأثير تآزري مع بقية التراكيز، أظهر المستخلص مع المضاد E تأثيرًا تآزريًا بنسبة 50% مع التركيز 2%، كما أظهر تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التراكيز 5 و10 و20 و40%، ولم يظهر المستخلص مع المضادات CAZ وAMC وVA أي تأثير تآزري مع جميع الأنواع البكتيرية المدروسة باستخدام كل التراكيز (الشكل1).



الشكل 1: نسبة تأثير المضادات المشبعة بالمستخلص المائي البارد على الأنواع البكتيرية

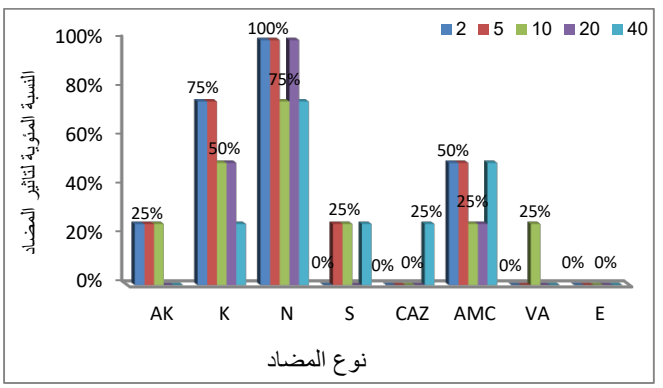
المستخلص الساخن مع المضاد N أظهر تأثيرًا تآزريًا بنسبة 100%، كما أظهر مع المضاد S تأثيرًا تآزريًا ضد الأنواع البكتيرية بنسبة 100% مع التركيز 20%، وبنسبة 75% مع بقية التراكيز، هذا وقد أبدى تأثيرًا بنسبة 25% مع المضاد CAZ مع التركيز 5%، ولم يظهر أي تأثير تآزري مع بقية التراكيز، أيضًا أظهر مع المضاد AMC تأثيرًا تآزريًا بنسبة 50% مع التركيز 5%، كما أظهر تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التراكيز 10 و20%، ولم يظهر أي تأثير تآزري مع التراكيز 2 و40%، ومع المضاد VA أظهر تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع جميع التراكيز، وأظهر المستخلص الساخن مع المضاد E تأثيرًا تآزريًا بنسبة 50% مع جميع التراكيز(الشكل 2).



الشكل 2: نسبة تأثير المضادات المشبعة بالمستخلص المائي الساخن على الأنواع البكتيرية

أظهر المستخلص العضوي مع المضاد Ak تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التراكيز 2 و5 و10%، وأظهر مع المضاد K تأثيرًا تآزريًا بنسبة 75% وذلك مع التركيز 2 و5%، كما أظهر تأثيرًا بنسبة 50% مع التراكيز 10 و20%، وبنسبة 25% مع

تركيز 40%، أيضًا أبدى تأثيرًا تآزريًا بنسبة 100% مع المضاد *N* وذلك مع التراكيز 2 و5 و20%، كما أظهر تأثيرًا بنسبة 75% مع التراكيز 10 و40%، كما أظهر مع المضاد *S* تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% عند تركيز 5 و10 و40%، ولم يظهر مع المضاد *S* أي تأثير مع التراكيز 2 و20%، أظهر المستخلص العضوي مع المضاد CAZ تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التركيز 40%، ولم يظهر أي تأثير مع بقية التراكيز، هذا وأظهر المستخلص العضوي مع المضاد AMC تأثيرًا تآزريًا بنسبة 50% مع التراكيز 2 و 5 و40%، كما أظهر تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التراكيز 10 و20%، أظهر المستخلص العضوي مع المضاد VA أيضًا تأثيرًا تآزريًا بنسبة 25% مع التركيز 10%، ولم يظهر المستخلص العضوي مع المضاد *E* أي تأثير تآزري مع جميع التراكيز (الشكل 3).



الشكل 3: نسبة تأثير المضادات المشبعة بالمستخلص العضوي على الأنواع البكتيرية

المناقشة:

للدود محتوى حيوي فعال فقد أشارت النتائج المسجلة إلى إن المنقوع والمستخلصات تمتلك نشاطًا مضادًا لبعض الأنواع البكتيرية، وهي بذلك تشابه ما توصل إليه بعض الدراسات وهو أن *Artemia* لها تأثير مثبط على بعض الأنواع البكتيرية [12] وكان المنقوع الساخن ذي تأثير أكبر من تأثير البارد علي البكتيريا المدروسة، فقد أثر على نوعين من البكتريا أحدهما سالب (*E.coli ATCC10536*) والآخر موجب (*S. aureus ATCC 6538P*)، أما البارد فقد اقتصر تأثيره على نوع بكتيري واحد (*S. aureus ATCC 6538P*) مما يشير إلى أن هناك مواد ذات فعالة يبرز تأثيرها بالحرارة، أما المستخلص العضوي فأبدى تأثيره المضاد للبكتريا المدروسة، وقد يعزى التأثير المثبط إلى وجود الأحماض الدهنية الحرة في *Artemia* [19] [20] والتي تعتبر من أهم مكوناتها، فهي تتوسط الدفاعات الكيميائية الموجهة ضد الميكروبات، ومن يعزز عملها هو وجود - OH لمجموعة الكربوكسيل التي لديها أهمية في النشاط المضاد للبكتيري [13]، وتأثير الأحماض الدهنية الحرة يعتمد أيضًا على نوعها مشبعة أو غير مشبعة وعلى طول السلسلة، فهناك العديد من الدراسات بينت أن لنوع الأحماض تأثيرًا على فعاليتها، والملاحظ من خلال بعض الدراسات أن الأحماض الدهنية غير المشبعة أكثر تأثيرًا مضادًا للميكروبات من المشبعة؛ حيث إن الفعالية الثبيطية تزيد مع زيادة عدد الروابط الثنائية في الجزء[12]، كما أن الأحماض الدهنية تؤثر على التعبير عن عوامل الفوعة المرضية المهمة لإحداث الإصابة، وقد يكون بسبب منع إشارات اتصال الخلايا ببعضها cell-to-cell signalling وتمنع الالتصاق الأولى للبكتيريا مما يعيق تكوين الفيلم الحيوي biofilm [13]، كما أظهر المستخلص العضوي تأثيره على نوع بكتيري (*E.coli ATCC10536*) وكان سالبًا لجرام ولم يظهر أي تأثير على البكتيريا الموجبة، وهذه النتيجة تتوافق مع بعض الدراسات التي توصلت إلى أن البكتيريا الموجبة أكثر مقاومة لمستخلص *Artemia* العضوي [21]. ولا تتوافق مع بعض الدراسات التي توصلت إلى أن المستخلص العضوي لديه تأثير على البكتيريا الموجبة [22]

أما بالنسبة للتراكيز المستخدمة فقد زاد تأثيرها بزيادة التراكيز حتى التركيز 10% والذي كان أفضل التراكيز المستخدمة في تثبيط البكتيريا المتأثرة بالدود، وقد تضاءل تأثير المنقوع والمستخلصات مع التركيزين 20 و40 % وقد يعزى ذلك إلى إن مادة الدود ذات لزوجة تزداد بزيادة التركيز، وهى من شكل مشكلة أثناء العمل في الحصول على مرشح من المستخلص المائي؛ حيث استغرق الحصول على رشاحة من المستخلص لهذه التراكيز وقتًا أطول كما كانت الكمية المتحصل عليها أقل من الرشاحة المتحصل عليه من التراكيز الأقل من 20%، فهذه اللزوجة تعيق انتشار المنقوع والمستخلص على سطح الأجار.

S.typhimurium هي أحد الأنواع المصلية لبكتيريا *S.enterica* وهي من مسببات المشاكل الصحية عن طريق تلوث الأغذية خاصة منتجات اللحوم، و من المسببات الشائعه لإحداث التسمم الغذائي للبشر، وتعتبر ثالث مصدر مصلى Serovera كمسبب للتسمم الغذائي، وتمتلك هذه البكتيريا العديد من العوامل السمية والمقدرة على الهروب من دفاعات العائل، كما أن مقدرتها على مقاومة المضادات الحيوية زادت أثناء العقد الماضي مما خلق مشكلة في علاج هذه الإصابات [23] [24]، فقد تبين من خلال بعض الدراسات مقاومتها لبعض المضادات منها amikacin، amoxicillin، وفي عزلات تمت دراستها من سنة 1989 حتى 2004 أظهرت *S.typhimurium* مقاومتها للمضاد ampicillin، وعزلات تمت دراستها من سنة 2004 حتى 2014 أظهرت Salmonella مقاومة ضد ampicillin، وAmoxicillin، وفي عزلات من اللحم وبعض الأغذية الأخرى أظهرت بعض عزلات Salmonella مقاومة للمضاد Streptomycin [23] [25] [26] [27] وفي هذه الدراسة أبدى استخدام المستخلص المائي (بارد وساخن) زيادة في حساسيتها للمضادات N، وK، وزاد الساخن حساسيتها للمضاد S، ذلك يعتبر من المؤشرات الإيجابية ضد هذه البكتيريا خاصة وأن هناك العديد من الأنواع المقاومة تصيب البشر، كما أن لديها عددًا واسعًا من العوائل الحيوانية، وتعتبر البيئة والغذاء أيضًا من مصادر هذه البكتيريا، وفي الوقت نفسه فإن المعلومات قليلة عن كيفية انتشار مقاومة المضادات بينها [24].

أما بكتيريا *E.coli ATCC10536* أظهرت زيادة في حساسيتها للمضادات بشكل أكبر من العزلة السريرية ذلك لأن البكتيريا المعزولة من العينات السريرية عرضة لامتلاك عوامل ضراوة تساعدها على مقاومة المضادات الميكروبية، فهذه البكتيريا من مسببات الإصابات المعوية [28] وتم تسجيل وجود بعض الأنواع المقاومة لبعض المضادات منها Streptomycin، وAmoxicillin، وErythromycin [29] [30][31]، كما بينت بعض الدراسات الاستقصائية بأن المقاومة في *E.coli* تعتبر من أعلى المقاومات للعوامل المضادة للميكروبات، ففي القرنين السابقين لوحظ زيادة كبيرة في ظهور وانتشار البكتيريا متعددة المقاومة للأدوية وزيادة مقاومة المركبات الحديثة مثل fluoroquinolones وcephalosporins [مقاومة *E.coli*] ومن النتائج المسجلة في هذه الدراسة تبين أن *E.coli* المدروسة بنوعيها زادت حساسيتها للمضاد N المشبع بالمستخلص المائي (البارد والساخن)، كما أن المستخلص الساخن بتركيز 20 % مع المضاد S زاد من قطر عدم النمو(من صفر إلى 17.5 ملم) مما يشير إلى أن هناك عوامل ضمن مكونات المستخلص المائي تعزز من عمل المضاد، كما أظهر المستخلص المائي تأثيرًا في حساسية بكتيريا *S. aureus ATCC 6538Pe* لبعض المضادات (الجدول 5)، فهذه البكتيريا من الأنواع الشائع عزلها من البشر ومن مسببات الوبائية والوفائية في العالم [32] [33]، وهي قادرة على التكييف واستعمار أجزاء مختلفة من الجسم، وتسبب في إحداث التسمم الغذائي، كما أنها قادرة على إنتاج سموم مقاومة للحرارة، وتمتلك آليات متنوعه لمقاومة المضادات منها امتلاكها جينات مقاومة مثل mecA التي تمكنها من مقاومة methicillin وجين van A الذي

يمكنها من مقاومة Vancomycin، وتمتلك جينات محمولة على البلازميدات مثل مقاومة وErythromycin ومضادات Beta-lactams، كما يمكنها مقاومة Vancomycin عن طريق زيادة سمك جدارها الخلوي [32] [33] [34].

حساسية البكتيريا للمضادات المشبعة بالمستخلص العضوي كانت أقل مقارنة مع المستخلص المائي، وتأثيره على البكتيريا الموجبة أقل من تأثيره على السالبة وهذا يتفق مع النتائج الأولية المسجلة في هذه الدراسة عن تأثير المستخلص العضوي لوحده، وتتفق مع النتائج المسجلة في بعض الدراسات الأخرى [21].

التأثير التآزري لمستخلصات الدود المائية مع المضادات ظهر بشكل واضح مع المضاد N مما يشير إلى أن هناك آلية غيرت من مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي وذلك إما عن طريق إيقاف مضخة التفريغ Effux pump التي تستخدمها البكتيريا للتقليل من تركيز المضاد داخلها أو عن طريق تغير الأنزيمات المضادة للمضاد [33] [35] [36]، وكان للمستخلص المائي الساخن التأثير الأفضل ويليه العضوي.

الخاتمة والتوصيات:

من خلال النتائج تبين أن للدود تأثيرًا تثبيطيًا على بعض الأنواع البكتيرية وكذلك تأثير تآزري، كما تبين من خلال البيانات المسجلة أن له تأثيرًا بتراكيز منخفضة، ومع ذلك يجب إجراء دراسات أكثر توسعًا لمعرفة المزيد عن التأثير المضاد للأرتيميا ضد الأنواع البكتيرية الممرضة، ومدى صلاحيتها كغذاء بشري.

قائمة المراجع

1. Konuklugil, B. and Gözcelïloglu, B.(2015). Antimicrobial activity of marine samples collected from the different of coastsTurkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 12(3), 337-344.
2. Devi, P., Wahidulla,S., Kamat,T., and Souza, D. (2011). Screening marine organisms for antimicrobial activity against clinical pathogens. *Indian Journal of Geo- Marine Sciences*. 40(3): 338-346.
3. Manivasagan, P., Venkatesana, J., Sivakumarc,K., and Kima, S. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*. 169 (2014): 262– 278.
4. Debbab, A., Aly, A., Lin, W., and Proksch, P. (2010). Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microbial Biotechnology*. 3(5): 544–563.
5. Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana, M. and Zairin, M.(2017). The nutritional value of Artemia sp. enriched with the probiotic Pseudoalteromonas piscicida and the prebiotic mannan-oligosaccharide. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - International Journal of the Bioflux Society*. 10(1): 8-17

6. Mana, P. N., Vahabzadeh, H., Seidgar, M.,Hafezieh, M., and Pourali, H. R. (2014). Proximate composition and fatty acids profiles of Artemia cysts,and nauplii from different geographical regions of Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 13(3): 761 -775.
7. Akbary P., Hosseini S. A. and Imanpoor M. R. (2011). Enrichment of Artemia nauplii with essential fatty acids and vitamin C: effect on rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) larvae performance. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*.10(4):557-569.
8. Pronob Das, Sagar C., Mandal, S. K., Bhagabati, M. S., Akhtar4 and S. K. and Singh. (2012). important live food organisms and their role in aquaculture. P. 69–86. in: Sukham, M. (ed). Narendra Publishing House.
9. Herawati, V., Hutabarat, J. and Radjasa, O. (2014). Nutritional content of Artemia sp. fed with chaetoceros calcitrans and skeletonema costatum. *Hayati Journal of Biosciences*. 21(4): 166-172.
10. Le, C. H. (2014). The effect of enrichment on the fatty acid composition of artemia salina. retrieved on 7.13.2019, from:
www.unuftp.is/static/fellows/document/chau14prf.pdf
11. Arcanjo, D.D., Albuquerque, A.C., Melo-Neto, B. Santana, L., Medeiros, M.G. and Citó, A.M.(201). Bioactivity evaluation against *Artemia salina* leach of medicinal plants used in Brazilian northeastern folk medicine .*Brazilian Journal of Biology*. 72(3):505-509
12. Ozusaglam, M. A., Cakmak. Y. S. and Kaya, M.(2013). The Biotechnological potential of *Artemia salina* fatty acids. *Jouralof Pure and Applied Microbiology*. 7(3):1567-1575.
13. Andrew, P. and Valerie, J. (2009). Antibacterial free fatty acids: active, michanisms of action and biotechnological potetional. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85(6): 1629-1642.
14. Dumitrascu, M. (2011). Artemia salina. Balneo-Research Journal. 2(4):119- 122.
15. مصـــطفى، ســـليمان مصـــطفى، الامام، فاطمة عبدالوهاب، فرج، امل محمد. (2014). دورة حياة الأرتيميا وعلاقتها بالإنتاجية بحيرة قبرعون – جنوب ليبيا. مجلة جامعة سبها (العلوم التطبيقية) المجلد الثالث عشر العدد الأول.
16. Stappen, G.V. (2019). Introduction, biology and ecology of Artemia. retrieved on 28- 6-2019 from:
http://www.fao.org/3/W3732E/w3732e0m.htm#b24,1,2%Biology%20and%20ecology%20of%20Artemia.

17. Khan, U. A., Rahman, H., Niaz, Z, Qasim, M., Khan, J., Tayyaba, And Rehman, B.(2013). Antibacterial activity of some medical plants against selected human pathogenic bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology* .3 (4): 272–274.
18. Harley, J. and Prescott, L . (2002). Laboratory exercises in microbilogy. ed 5th . McGraw-Hill Companies.p257-260.
19. Tizol-Correa, R., Carreón-Palau, L., Arredondo-Vega, B., Murugan,G., Torrentera, L., Teresita, D. Maldonado-Montiel, N. and Maeda-Martínez, A. (2006). Fatty acid composition of artemia (branchiopoda: anostraca) cysts from tropical salterns of southern Mexico and Cuba. *Journal of Crustacean Biology*, 26(4):503-509..
20. Hafezieh M., Kamarudin , M. S.,Saad, C. R., Abd Sattar, M. K., Agh N., Valinassab T., Sharifian M. and Hosseinpour H. (2010). Effects of enriched *Artemia urmiana* with hufa on growth, survival, and fatty acids composition of the Persian sturgeon larvae (acipenser persicus). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(1): 61-72.
21. Benkendorff, K., Davis, A.R., Rogers, C.N., Bremner, J.B. (2005). Free fatty acids and sterols in the benthic spawn of aquatic molluscs, and theirassociated antimicrobial properties. *The Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 316(1): 29–44.
22. Chandrasekaran, M. Senthilkumar, A. and. Venkatesalu,V. (2011). Antibacterial and antifungal efficacy of fatty acid methyl esters from the leaves of sesuvium portulacastrum l. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 15(7):775-780.
23. Akoachere, J. K.Tanih, N. F., Ndip, L. M. and Ndip, R (2009). Phenotypic Characterization of *Salmonella Typhimurium* Isolates from Food-animals and Abattoir Drains in Buea, Cameroon. *Journal of Health, Population, and Nutrition*. 27 (5):612-618.
24. DiMarzio, M., Shariat, N., Kariyawasam, S., Barrangou, R. and Dudley, E. (2013). Antibiotic Resistance in S*almonella enterica* serovar typhimurium associates with CRISPR sequence type. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 57(9): 4282–4289.
25. Naxhije Hila N., Devolli, A., Puto, K., Mali, S., Brahimaj, Z., Peqini, E., and Dervishi, A. (2011). The dinamics of antimicrobial resistance of *Salmonella typhimurium* isolates. *Journal of International Medical Association "Bulgaria"*. 17 (1): 111-115.

26. Yoon,K., Song,., Shin, M.,Hyun-Cheol Lim, Yoon, Y., Jeon, D., Ha,H., Yang, S and Kim, J. (2017). Antibiotic resistance patterns and serotypes of *Salmonella spp*. isolated at jeollanam-do in Korea. Osong Public Health and Research Perspectives .8(3): 211–219.
27. Maka, L., and Sciezska, H. (2015). Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella spp*. isolated from food other than meat in Poland. *The Annals of Agricultural and Environmental Medicine Journal*. 22(3): 403-408.
28. Malema,M. S., Abia, K. L., Tandlich, R., Zuma, B., Kahinda, J. M. and Ubomba-Jaswa, E. (2018). Antibiotic-Resistant Pathogenic *Escherichia Coli* Isolated from Rooftop Rainwater-Harvesting Tanks in the Eastern Cape, South Africa. *International journal of environmental research and public health* . 15(5): 892.
29. **Rasheed, M., Thajuddin,N., Ahamed,P., Teklemariam, Z. and Jamil, K.(2014). Antimicrobial drug resitance in strains of E*scherichia coli* Isolated from Food sources. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 56(4): 341–346**
30. Kibret, M. and Abera, B. (2011). Antimicrobial susceptibility patterns of *E. coli* from clinical sources in northeast Ethiopia. African Health Sciences. 11(Suppl 1): S40–S45.
31. Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. and McDermott, F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. Emerging Infectious Diseases. 18(5):741-749.
32. Bitrus,A. A., Peter, O. M., Abbas, M. and Goni, M. D. (2018). *Staphylococcus aureus*: a review of antimicrobial resistance mechanisms. Veterinary Sciences: Research and Reviews. 4(2):43-54.
33. Foster, T. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects . FEMS Microbiology Reviews. 41(3): 430-449.
34. Massawe, H. F., Mdegela, R. H. and Kurwijila, L. R. (2019). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from milk produced by smallholder dairy farmers in Mbeya Region, Tanzania. International Journal of One Health. 5:31-37.
35. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2018). How Antibiotic Resistance Happens. retrieved on 7.5.2019 from:

https://www.cdc.gov/drugresistance/about/how-resistance-happens.html#collapse_92455c9e26f0b3713.

36. Munita, J.M. and Arias, C.A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. retrieved on 7.11.2020 from: https://www.researchgate.net/profile/Jose_M_Munita/publication/303659766_Mechanisms_of_Antibiotic_Resistance/links/574bbfac08ae5c51e29eaf56/Mechanisms-of-Antibiotic-Resistance.pdf