ISSN: 1991-8941

الفعالية الحيوية لبكتريا *Streptomyces* المحللة للسليلوز المعزولة من ترب محافظة الانبار

عز الدين عطية البيار هدى مصلح محمود ميادة عبد الله شيحان ثائر عبد القادر صالح
جامعة الانبار -كلية العلوم

تاريخ الاستلام: 2008/3/15 تاريخ القبول: 2008/9/20

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للحصول على عزلات مختلفة من بكتريا Actinomycetes من مناطق مختلفة من محافظة الانبار ودراسة إمكانيتها في إنتاج المضادات الحيوية .واعتمادا على الشكل المظهري والاختبارات الزرعية والكيمو حيوية تم تشخيص أربعة عزلات من Streptomyces واختبرت قابليتها في تثبيط أنواع من البكتريا(*Streptococcus* , *Staphylococcus* ,*E coli* , *proteus*)وحساسيتها للمضادات الحيوية الأخرى .أظهرت الدراسة بان Streptomyces ذات حساسية عالية لحامض نالدزك ولها القدرة العالية على تثبيط نمو *Staphylococcus* بصورة اكبر من البكتريا السالبة لصبغة كرام.

كلمات مفتاحية: فعالية حيوية ، *Streptomyces* ، محللة للسليلوز ، الانبار

المقدمة

يحتل موضوع إنتاج المضادات الحيوية مكانة متميزة في الدراسات البحثية الحديثة كونه يمثل احد خطوط التقنية الحيوية , و أن ظهور إحياء مجهريه مرضية مقاومة للمضادات الحيوية بصورة مستمرة يتطلب الأستمرار بالبحث عن مضادات حيوية بديلة تؤثر في البكتريا المرضية , و تعد التربة اكبر خزان للأحياء المجهرية المنتجة للعديد من المواد ذات الأهمية الصناعية و الطبية , و يتأثر وجود بكتريا *Streptomyces* و هو جنس ينتمي إلى البكتريا الخيطية Actenomycetes في التربة بالمواد العضوية المتوفرة حيث تعتمد على تحلل المواد العضوية بواسطة البكتريا و الفطريات لكي تكون جاهزة لأن تأخذ من قبل إلى Streptomyces [1] . كما يتأثر نموها بالأس الهيدروجيني (pH) إذ أن انخفاضه إلى دون الخمسة يؤدي إلى توقف الفعاليات الحيوية كما أنها تكثر في الطبقة السطحية للتربة و تقل كلما ازداد العمق [2]. و أن الأس الهيدروجيني (pH) الملائم لهذه البكتريا هي (6,5 إلى 8) [3] . وتعد المضادات الحيوية من المركبات الأيضية الثانوية و التي يبدأ تكوينها و إنتاجها خلال طور الثبات (Stationary phase) و تنتج في الطبيعة استجابة للظروف التنافسية و من أهم فوائدها هو تثبيط أو قتل الأحياء المجهرية

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الأخرى , و ينفرد الجنس *Streptomyces* بإنتاج عدد كبير من المضادات الحيوية و من أهم هذه المضادات هي مجموعة Tetracycline و قد ركزت الدراسات على تنمية هذه البكتريا على أوساط زرعية بسيطة و غير مكلفة و خاضعة إلى عمليات تقييس صارمة [4] . أن أنتاج المضادات الحيوية يعتمد بالدرجة الأساس على توفر المواد الغذائية التي يمكن أن يستخدمها الكائن المنتج في الوسط و بخاصة مصادر الكاربون و النيتروجين ومستويات الفوسفات [5] .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات : تم جمع العينات من مناطق مختلفة من محافظة الانبار شملت مدن الرمادي والفلوجة والحبانية وأخذت العينات بعمق 10-15 سم بعد قشط 1سم من سطح التربة وبعد نقل العينات إلى المختبر أجريت لها التخافيف العشرية وزرعت التخافيف الثلاثة الأولى على وسط Gauza agar للحصول على عدد كبير من العزلات التابعة لبكتريا *Actinomycetes* ووضعت في الحاضنة على درجة 28م° للحصول على عزلات ناجحة وحاوية على السلاسل السبورية وتم التشخيص المظهري للهايفات الهوائية من حيث النمو واللون والصبغات الذائبة في الوسط . وحضرت مسحات من هذه العزلات وصبغت بصبغة كرام لتحديد تفاعلها مع الصبغة ومعرفة أشكال الخلايا والسلاسل السبورية .

اختبار الفعالية الحيوية

لاختبار الفعالية الحيوية لبكتريا Streptomyces زرعت على وسط Gauza agar وحضنت بدرجة 28م° لمدة 3-4 أيام ثم أخذت عينة من البكتريا بواسطة ثاقبة الفلين بقطر 5ملم ونقلت على وسط N-A الذي زرعت عليها بكتريا الاختبار لقياس قطر التثبيط باستخدام المسطرة ضد بكتريا الاختبار (6).

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

تم زرع بكتريا Streptomyces على وسط Muller Hinton agar ومن ثم وضعت أقراص المضادات الحيوية على هذه الأوساط بواقع خمسة أقراص في الطبق الواحد وحضنت على 28م° لمدة 24 ساعة وقيس قطر التثبيط باستخدام المسطرة .

اختبار الحركة

حضرت أنابيب حاوية على وسط أكار شبه صلب معقم بإضافة 8غم أكار لكل لتر من وسط المرق المغذي السائل ولقحت بطريقة الطعن ومن ثم حضنت على 28م° لمدة 24 ساعة لملاحظة تكوين منطقة ضبابية حول منطقة الطعن كدليل على ايجابية الاختبار .

الاختبارات الكيموحيوية

تم إجراء الاختبارات الكيموحيوية الآتية لاستخدامها في تشخيص البكتريا

1- اختبار إنتاج أنزيم Oxidase
2- اختبار إنتاج أنزيم Catalase
3- اختبار إنتاج أنزيم Urase
4- اختبار إنتاج أنزيم Gelatinase .

النتائج والمناقشة

تم اختبار أربعة عزلات لدراسة المواصفات المظهرية و الميكروسكوبية والاختبارات الكيموحيوية لها والتي من خلالها تم تشخيص البكتريا على أنها تحمل صفات جنس *Streptomyces* وكما موضح في الجدول (1) . وقد وجد ان هذه العزلات موجبة لصبغة كرام ولها القدرة على انتاج الابواغ وقد تفاوتت أشكال السلاسل السبورية المتكونة وكذلك عدد السبورات في السلسلة الواحدة وذلك باستخدام تقنية الزرع على الشريحة Slide culture مما

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

يدل على انها تنتمي إلى الجنس *Streptomyces* وقد تبين من خلال الاختبارات الحيوية للعزلات ايجابية اختبار إنتاج الإنزيمات Catalase و Urase و Gelatinase في حين ظهرت سلبية انتاج الإنزيم Oxidase . ومن خلال هذه الفحوصات المجهرية والكيموحيوية أتضح ان العزلات المستخدمة قيد الدراسة تحمل صفات الجنس*Streptomyces* وهو من اكثر الأجناس إنتاجا للمضادات الحيوية Antibiotics وهذا يوضح انتشار هذه البكتريا بشكل واسع في هذه الترب ويعتمد هذا الانتشار على نوع الاسمدة العضوية المتوفرة والأعلاف المستخدمة في تغذية الحيوانات وهي المصادر الرئيسية لانتشار وتواجد هذه البكتريا والسبب الرئيسي في تباينها من مكان لاخر .

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

تم من خلال الدراسة اختبار حساسية الـ *Streptomyces* للمضادات الحيوية وذلك باستخدام وسط Muller Hinton agar الذي يمتلك مجموعة من المواصفات التي تؤهله لهذا الاستخدام [7] والجدول (2) يبين قطر التثبيط في العزلات الاربعة المنتخبة لهذا الاختبار .

ويتضح ان أعلى حساسية للبكتريا تجاه المضادات الحياتية كانت تجاه المضاد الحيوي Naldizic acid ويعود السبب في ذلك إلى تأثيره على الأحماض النووية مما يؤدي الى عدم تكونها بالشكل الصحيح . اما بخصوص اختلاف تاثير المضاد الحيوي الواحد على العزلات البكتيرية المختلفة فقد يعود الى حدوث الطفرات المقاومة للمضاد الحيوي والتي يمكن ان تحدث وتؤدي الى إنتاج سلالات مقاومة او اقل تأثرا بالمضاد الحيوي كما ان هذه البكتريا أصلا تكون مقاومة للمضادات التي تقوم بإنتاجها [8] .

كما أظهرت النتائج ان هذه العزلات كانت متباينة من حيث فعاليتها ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام فقد كانت فعاليتها ضد البكتريا الموجبة أعلى من فعاليتها ضد البكتريا السالبة وهذه الفعالية تعد من الطرق المهمة في تشخيص هذه البكتريا اعتماداً على القياس الكمي لفعالية المضادات الحيوية التي تقوم بإنتاجها [5] كما موضح في الجدول (3) .

المصادر

1- Shah V,Ohlsson (2001) A Canadian Task Force on Preventive HealthCare. Prevention of Early-onset Group B Streptococcal Infection in the Newborn: Systematic review and recommendations.CTFPHC Technical Report 01-6.London.

2- De Cueto M; Sanchez M-J; Sampedro A; Miranda J-A; Herruzo A-J; Rosa-Fraile M(1998)Timing of intrapartum ampicillin and prevention of vertical transmission of group B streptococcus. Obstet Gynecol 1998;91:112–4.

3- Schaal , P.K. and Pulverer , G. (1981). Actinomycetes . Gustar Fischer verlag , scttgart , NY.

4- Bibb , M. ;Schottel , J.L. and cohen , S.N. (1980). DNA cloning system for interspecies gene transfer in antibiotic – producing streptomyces . Naure, 284:10 .

5- Chater ,K.F. (1992). Genetic regulation of secondary metabolic pathways in streptomyces . In: secondary metabolic : Their function and evolution , ciba found .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

symp. Vol. 171. chanwich , D.J. and Whelan , J.(eds.) .p. 144.162. chichester , John Wiley and sons .

6- M. Mingoia, M. Vecchi, I. Cochetti, E. Tili, L. A. Vitali, A. Manzin, P. E. Varaldo, and M. P. Montanari (2007)Composite Structure of Streptococcus pneumoniae Containing the Erythromycin Efflux Resistance Gene mef(I) and the Chloramphenicol Resistance Gene catQ. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 3983-398

7- Jenkins , R.D.;Stevens , S.1 (1985) . False Susceptibility of Enterococci to aminogly cosides with blood enriched Mueller hinton agar for disk susceprib testing . J, clin. Microbial , 22:369-374 .

8- العاني ، فـــاروق يـــاس .(1989) . علـــم البكتريا . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .

جدول (1) يبين نتائج التوصيف المظهرية للعزلات المنتخبة لبكتريا *Streptomyces* النامية على الوسط Gauza agar

رقم العزلة	نمو المايسيليا الارضية (GSM)	لون المايسيليا الارضية (CSM)	نمو المايسيليا الهوائية (GAM)	لون المايسيليا الهوائية (CAM)	لون الصبغات المنتجة	صبغة كرام	اختبار الحركة	لون وشكل السبورات
1	+++	برتقالي	+++	ابيض	-	+	+	حلزوني رصاصي
2	+++	ابيض	+++	كريمي	-	+	+	حلزوني ابيض
3	++	كريمي	+++	وردي	حمراء	+	+	مستقيمة رصاصي
4	+++	بني	+++	احمر	حمراء	+	+	حلزوني رصاصي

+ موجبة للاختبار ++ نمو جيد +++ نمو جيد جدا - لا توجد صبغات

جدول (2) حساسية بكتريا *Streptomyces* للمضادات الحيوية المختلفة على وسط Muller Hinton agar لمدة 24 ساعة بدرجة 28م°.

رقم العزلة	قطر التثبيط مقاس بـــ (ملم)							
	OB5	P10	S10	CN10	NA30	RF30	Am30	TE30
1	10	R	R	R	30	26	R	R
2	28	R	11	15	30	28	R	28
3	R	R	R	14	35	26	R	30
4	R	R	R	R	R	25	R	36

R : مقاومة للمضاد

جدول (3) الفعالية التثبيطية للعزلات ضد بكتريا الاختبار على وسط NA بدرجة 28 م ولمدة 24 ساعة .

رقم العزلة	قطر منطقة التثبيط ضد بكتريا الاختبار (ملم)			
	Staphylococcus	*Streptococcus*	*E. coli*	*Proteus*
1	17	13	14	11
2	18	15	11	10
3	15	14	13	9
4	19	16	10	12

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

The Biological Activity of Cellulose Decomposition Streptomyces Isolated from Soil

Ezedin A. Albayar Huda M. Mahmood Mayada A. Sheehan Thaer A. Saleh

E.mail:scicol@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to obtaining different isolated of Actinomycetes from various region of Alanbar government and study its ability to produce antibiotics. According to morphological, cultural and biochemical tests , four isolated of Streptomyces were isolated and test for its ability to inhibit other bacteria (protus , E coli Staphylococcus , Streptococcus) and its sensitivity to different antibaiotics.Study showed that Streptomyces were highly sensitive to Naldizic acid and have the ability to inhibit the growth of Staphylococcus more than gram negative bacteria.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com