مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثالث والعشرون - المجلد الأول - علوم الحياة - آذار 2024 م
doi.org/10.52866/esj.2023.01.23.10

الكشف عن إنتاج الأغشية الحيوية بواسطة بكتريا *E.coli O157:H7* المعزولة من عبوات المواد الغذائية

حارث باسم ابراهيم* ، أ. م . د خالد محمود حمادي * ، أ. م . د امال عزيز كريم**
*الجامعة العراقية/ كلية التربية _قسم علوم الحياة
** الجامعة التقنية الوسطى /كلية التقنيات الصحية والطبية
moc.liamg@misab49ah

مستخلص

E.coliO157:H7 هي بكتيريا معوية يمكن أن تسبب التسمم الغذائي. توجد هذه البكتيريا بشكل طبيعي في أمعاء الحيوانات المجترة، مثل الأبقار والأغنام والماعز. تنتقل هذه البكتيريا إلى البشر بسبب تناول الأغذية الملوثة، أو المياه الملوثة. جمعت (300) عينة من منتجات مختلفة من منتجات الحليب واللحم المحلي والمستورد من مناطق متعددة من محافظة بغداداً تم تشخيص العزلات البكتيرية حسب الخصائص المورفولوجية والبكتيرية والاختبارات الكيموحيوية. تم الكشف عن الاغشية الحيوية بواسطة لوحة المعايرة الدقيقة. وأظهرت النتائج نسبة تلوث منتجات الحليب كانت اقل تلوث من منتجات اللحم حيث كانت قيم النسب ٪26.67 و ٪73.33 لمنتجات الحليب و لمنتجات اللحم على التوالي. ان العينات التي شخصت بانها بكتيريا *E.coliO157:H7* كونت غشاء حيوي بثلاث مستويات لكل من منتجات الحليب واللحم منها . العزلات ذات الانتاج القوي كانت نسبتها ٪17.65 و٪76.92 لمنتجات الحليب واللحم على التوالي اما العزلات ذات الانتاج المتوسط كانت نسبتها لمنتجات الحليب واللحم ٪64.61 و٪15.38 على التوالي وكانت العزلات ذات الانتاج الضعيف نسبتها لمنتجات الحليب واللحم ٪17.65 و٪7.69 على التوالي أبشكل عام، وجدت هذه الدراسة أن منتجات اللحوم كانت أكثر عرضة للتلوث ببكتريا الإشريكية القولونية *O157:H7* مقارنة بمنتجات الألبان. كما كانت البكتريا المعزولة من منتجات اللحوم أكثر عرضة لإنتاج الغشاء الحيوي.

الكلمات المفتاحية : الإشريكية القولونية O157:H7، عبوات الأغذية، الأغشية الحيوية. منتجات الألبان ومنتجات اللحوم.

Detection of biofilm production by *Escherchia coli* O157:H7 isolated from packages food

Harith. B. Ibrahim* Khalid. M. Hammadi* Amal.A. Karim**
*Iraqia University /College of Education._ Dept. of Biology
**Middle Technical University / College of Health and Medical Technologies
ha94basim@gmail.com

Abstract:

E. coli O157:H7 is an intestinal bacterium that can cause food poisoning. This bacterium is naturally found in the intestines of ruminant animals, such as cows, sheep, and goats. It transmitted to humans through the consumption of contaminated food, or contaminated water .Three hundred samples of different dairy and meat products, both local and imported, were collected from multiple areas of Baghdad Governorate. The bacterial isolates were diagnosed according to morphological, microscopically characteristics and biochemical tests. Biofilm detected by micro titer plate method. The results showed the contamination rate of milk products had a lower rate than meat products, with values of 26.67% 73.33% respectively. Biofilm formed in three levels for both dairy and meat products. The isolates with strong biofilm had a rate of 17.65% and 76.92% for milk and meat products, respectively. Moderate biofilm had a rate of 64.61% and 15.38% for milk and meat products, respectively finally weak biofilm had a rate of 17.65% and 7.69% for milk and meat products, respectively. In general, this study found that meat products were more likely to be contaminated with *E. coli O157:H7* than dairy products. Meat products were also more likely to produce a biofilm.

Key word :*E.coli o157:H7* , packages food ,Biofilm. milk products , meat products.

المقدمة:

تحتوي *Enterobactriaceae* على عدد كبير ومتباين من المجموعات البكتيرية حيث تتواجد غالبية أفرادها في أمعاء الإنسان والحيوان بشكل طبيعي (Rus-,.2022 dianto et al). ومن هذه الانواع هي **بكتيريا** Esch-erichia coli اول من قام بوصف هذه البكتيريا هو العالم Theoder Echerich في سنة 1885م في المانيا واطلق عليها اسم Bacterium coli واطلق عليها في ما بعد اسم البكتيريا القولونية اذ تم تشخيصها عن طريق براز أطفال كانت صحتهم جيدة ولهذا عدت في ذلك الوقت بانها غير مرضية Nonpathogenic صنفت بعدها في جنس *Escherichia* (Ebomah and Okoh, 2020) . ان بكتريا *E.coli* O157:H7 هي سلالة من سلالات بكتيريا *E.coli* تنتقل عن طريق الغذاء وتكون مسؤولة عن مجموعة متنوعة من العدوى، من الاسهال الخفيف الى حالات التهاب القولون النزفي(HUS) (Hemolytic Uremic Syndrome)، وتعزى إمراضيه E.coli O157:H7 كونها تنتج نوعين من السموم وهما سموم الشيغا Shiga Toxin (Stx) وسموم الفيرو Vero toxin (VT) واكثر الاصابات البشرية من Stx1 و Stx2 واللذان يشفران عن طريق جينات Stx1,Stx2 على التوالي (Gelalcha *et al* ., 2022). الأغشية الحيوية عبارة عن تجمعات ميكروبية متراكمة مرتبطة تتكون على الاسطح (Khatoon *et al*., 2018). تلعب دور مهم في حماية البكتيريا من المؤثرات الخارجية والمحافظة على النمو السريع (de la Fuente-Núñez *et al*., 2013) . ان وجودها في البكتيريا يجعلها أكثر تحملاً ومقاومة للعلاج بالمضادات الحيوية، حوالي 10 إلى 10000 مرة أكثر من نظائرها التي لا تحتوي عليه، (Muhammad *et al*., 2020; Flemming *et al*., 2021; Martin *et al*., 2021; Srinivasan et al., 2021). تسبب الاغشية الحيوية عدد من الامراض مثل التليف الكيسي والتهاب الاسنان والتهاب الشغاف المعدي والجروح المزمنة. تؤدي الأغشية الحيوية المتكونة في الجروح المزمنة إلى استجابات التهابية مطولة ضد الميكروبات المعدية وتأخر التئام الجروح (Donlan, 2001; Stewart and Bjarnsholt, 2020).

تشكل الأغشية الحيوية الموجودة في الأغذية الصناعية خطرًا كبيرًا في تفشي الأمراض المنقولة عن طريق الأغذية بين المستهلكين أو العمال ، مما يعرض صحة الفرد والتنمية الاقتصادية للخطر(Galié et al., 2018).

مراحل تكوين الغشاء الحيوي

Stages of biofilm formation

1. الارتباط العكسي على الاسطح Re- Attachment versible هي مرحلة وصول الخلايا وارتباطها.
2. الارتباط غير العكسي Irreversible Attachment على الاسطح مرحلة ركود الخلايا وتضاعف استطالتها،
3. طور افراز المادة خارج الخلية external matrix، تبدء الخلية البكتيرية بإنتاج السكريات المتعددة خارج جسمها لتسهل عملية تجمع وارتباط الخلايا على اسطح الالتصاق،
4. مرحلة الحُصُول على الغشاء الحيوي للتركيب ثلاثي الاسطح three-dimensional structure .

وفي هذه الخطوة يشمل تكون مستعمرات بكتيرية مغلفة في العديد من المواد كالمغذيات والماء والنواتج الأيضية. (Corzo- Ariyama *et al*.,2019) .

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods:

جمع العينات Collection of samples:

جمعت (300) عينة من منتجات مختلفة من منتجات

الحليب واللحم ومن مناطق متعددة من محافظة بغداد، حيث كان عدد المنتجات من الحليب واللحم لمجموعة من منطقة ابو غريب (57) ومن منطقة باب المعظم (48) ومن منطقة حي العدل (36) ومن منطقة الشعلة (72) ومن منطقة الحرية (45) ومنطقة البياع (42) للفترة من 21/ 2/ 2023 ولغاية 25/ 4/ 2023، وجمعت العينات في قناني بلاستيكية معقمة ونقلت فوراً لمختبرات كلية التقنيات الصحية والطبية / بغداد لزرعها ومن ثم العزل والتشخيص بالطرق التقليدية. بعد جمع العينات المذكورة في الفقرة السابقة اخذت مسحة من كل عينة من العلب البلاستيكية المعقمة التي تم جمع العينات فيها واضيفت الى الوسط الغذائي Brain Heart infusion Broth بمعدل 5 مليلتر ومزج الخليط ووضع في الحاضنة (لمدة24 ساعة وبدرجة 37م) لتنشيط العينات .

العزل البكتيري

اخذت كميه مناسبة بواسطة Bacteria inocula-tion loop من التخافيف المحضرة من الوسط الزرعي السائل الخاص بـ Brain Heart infusion Broth لكي يتم زرعها على الوسط Sorbitol MacConkey Agar المحضر مسبقا حسب تعليمات شركة Himedia إذ حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة للكشف عن وجود بكتريا *E.coli O157:H7* بواسطة الوسط الزرعي SMAC فالمستعمرات عديمة اللون المائلة الى البني الشفافة والمتميزة بعدم قدرتها على تخمير سكر السوربيتول (Scoters *et al.*, 2000). وبعدها تم زراعتها على وسط CHROM agar E.coliO157:H7 بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37مْ ثم لوحظ النمو وتميز البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز وللسوربيتول والتحري عن *E.coliO157:H7*.

الاختبارات المظهرية التشخيصية الكميوحيوية

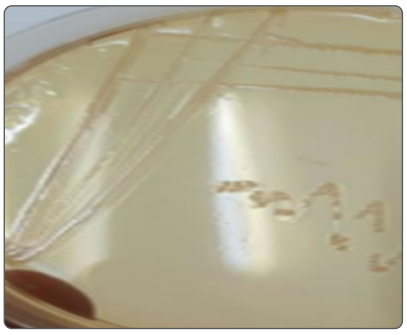
تم تشخيص المستعمرات النامية والمعزولة على الوسط الانتقائي (SMAC) اعتمادا على صفاتها المظهرية والتي تشمل شكل المستعمرة ولونها وحجمها وحافتها(Scoters *et al.*, 2000). درست الصفات المظهرية للمستعمرات البكتيرية المعزولة وتنقيتها وتنميتها على أوساط زرعية مختلفة وشملت الدراسة اللون والشكل والحجم للمستعمرات و قدرتها او عدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز، وإنتاج الـ H_2S والرائحة، وتحليل وسط Blood agar . وتم اجراء الاختبارات اختبار فحص الاندول Indol test وفحص المثيل الأحمر Methyl red test واختبار Vogase-Pros-kauer test واختبار استهلاك السترات Citrate utili-zation test وتم استخدام محاليل الكشف عن قابلية البكتيريا على تكوين الغشاء الحيوي وهما محلول صبغة البنفسج البلوري 1٪ solution violate Crystal استعمل هذا المحلول في الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي للعزلات البكتيرية قيد الدراسة (Christensen *et al.*,1985) .و محلول دارئ الفوسفات الملحي Phos-phate Buffer Saline (PBS) استعمل هذا المحلول في تجربة الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي من قبل العزلات قيد الدراسة

النتائج والمناقشة

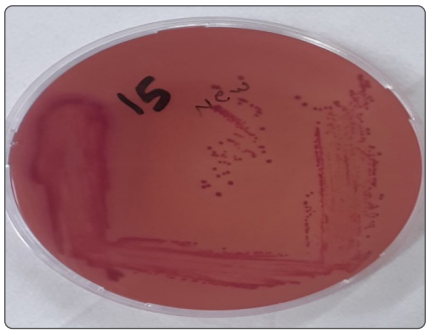
عزل و تشخيص بكتريا *E.coli O157: H7*

– **التشخيص المظهري** : جمعت خلال هذه الدراسة عينات من منتجات اللحم والحليب من عدة مناطق من محافظة بغداد واستخدمت أوساط تشخيصية خاصة لعزل سلالة *E. coli* (O157:H7) وتميزها عن السلالات الأخرى لهذه لبكتريا *E.coli* حيث تم زرع عزلات على وسط السوربيتول ماكونكي اكار (SMAC) ادناه، وظهرت مستعمرات البكتريا *E.coli*

(O157:H7) صغيرة بلون اصفر باهت لعدم قدرتها على تخمير واستهلاك السوربيتول وكذلك زرعت على وسط مضاد Cefixime Tolerate, Sorbitol MacCo-nkey Agar (CT-SMAC) وكانت نتيجة التشخيص نمو 30عزلة *E.coli* (O157:H7) بسبب مقاومتها لهذا المضاد في حين أعطت بقية العزلات نتيجة سالبة حيث استخدم الباحثون هذه الاوساط الخاصة التي كان الغرض منها تشخيص بكتريا *E. coli H7:O157* والتي لا تخمر السوربيتول للبكتريا المعزولة من لحوم الأبقار (Ahmed *et al.*, 2011& Dhaher *et al.*, 2010). وكانت النتيجة موضحة بالشكل (1).



أ. وسط SMAC



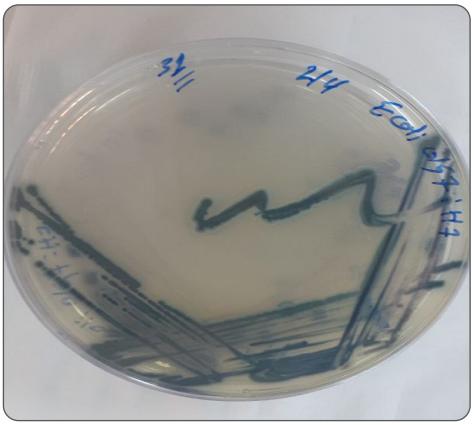
ب. وسط CT-SMAC

الشكل(1) يبين نمو بكتيريا E.coli O157 **على أوساط انتقائية**

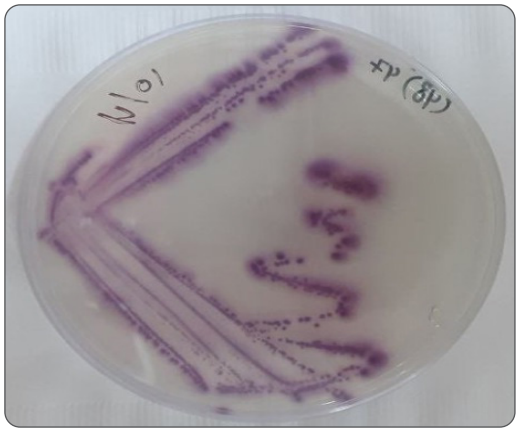
أ. نمو بكتريا *O157 E.coli* **على وسط** SMAC ، **ب. نمو البكتريا** *O157 E.coli* **على وسط** CT-SMAC

أكار الكروماجين Chromagar نمت علية بكتيريا *E.coli* على شكل مستعمرات بلون ازرق كثيف In-tense blue على عكس سلالة O157 التي تنمو بلون بنفسجي(ارجواني) كما في الشكلين(5-4)(أ، ب) ادناه، وضحت النتائج التي اشار اليها الباحث (Bhat-tacharyya *et al.*,2015) ان عزلات بكتريا القولون التي كانت من امراضية للاصابات البولية كانت فقط (0.10٪) كما اشار الى ان البكتيريا كانت متغايرة في انتاج انزيم الهيمولايسين hemolysin لذا فإنها كانت ضعيفة الضراوة، ويحتوي الوسط على البيتون peptone والبايروفيت pyruvate والسوربيتول Sorbitol الذي يسمح بنمو مستعمرات بكتريا *E.coli* وسلالتها بسرعة في الوسط، يتم انتقائية البكتيريا على هذا الوسط بدقة لأنه حاوي على مادة تيركتول Tergitol التي تعمل على تثبيط نمو البكتيريا Gram-positive bacteria وبعض البكتيريا Gram-Negative bacteria دون ان توثر على نمو بكتيريا E.coli وسلالاتها. كما يتم تعزيز الانتقائية بأضافة مضادين سيفزولودين Cefsulodin هو سيفزولودين الصوديوم. الزمرة الدوائية مضاد حيوي من الجيل الثالث للسيفالوسبورينات. والفانكومايسين فانكوميسين (Vancomycin) هو مضاد حيوي يستعمل لمكافحة العدوى النّاتجة عن البكتيريا إيجابية الغرام، اللذان يعملان ضد بكتيريا الزوائف Pseudomonas spp. والموجبة لصبغة كرام مثل المكورات المعوية *En-terococci*. يرجع التمايز بين المستعمرات البكتيرية النامية اعتمادا على خليط الكروموجينك Chromogen-ic mixture الذي يتكون من المادة الاساس 6-chloro-3-indoxyl-β-D-galacto-pyranoside و 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronide حيث يتم انشطار cleaved المركب الاول بوساطة انزيم ينتج من

قبل البكتيريا المعوية يسمى β-D-galactosidase فيعطي اللون البنفسجي (الارجواني) لسلالة O157 اما المركب الثاني فيتم انشطاره بفعل انزيم β -D- glucuronidase الذي تنتجه بكتيريا *E.coli* فتظهر مستعمراتها باللون الازرق الفاتح والعديد من السلالات البكتيرية العائدة لبكتيريا *E.coli* تمتلك الانزيمين لذا تظهر مستعمراتها باللون الازرق الغامق. واتفقت ايضا الدراسة التي عملها الباحث (Sharmin *et al.*, 2010) ان بكتريا القولون O157 اظهرت مستعمرات باللون البنفسجي على وسط اكار الكروماجين و مستعمرات بيضاء حادة الاطراف على وسط اكار الدم حيث ان (78 ٪) منها اظهرت مستعمرات وردية على وسط اكار المكونكي.



شكل (2) –أ) نمو عزلات البكتريا E.coli

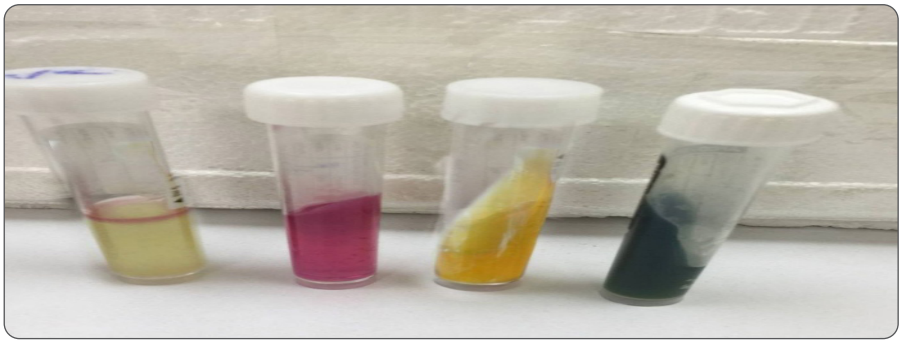


ب) نمو عزلات سلاله O157 E.coli

ان نتائج اختبارات الـ IMVIC كانت موجبة لكل من اختبار الاندول indole test نتيجة لظهور حلقة حمراء على سطح الوسط في طبقة الكحول الايزوميلي isoamyl alcohol نتيجة لتحلل الحامض الاميني التربتوفان Triptophan بوساطة انزيم tryptophanase، ويعد هذا الكشف مهما في التفريق بين بكتريا *E.coli* و افراد العائلة المعوية الأخرى وأظهرت العزلات البكتيرية نتيجة موجبة لاختبار أحمر المثيل Methyl red test وذلك لكون بكتيريا *E.coli* لها القدرة على استهلاك وتخمير سكر الكلوكوز Glucose والبيبتون Peptone وتكوين الحوامض وتغيير الأس الهيدروجيني للوسط. فيصبح اقل من (4.4) مما أدى الى تحول لون الوسط الى اللون الأحمر بعد إضافة كاشف أحمر المثيل Methyl red indicator.

أما إختبار فوكس بروسكاور Voges-Proskauer test، وإختبار أستهلاك السترات Citrate utiliza-tion، فقد أعطت العزلات البكتيرية نتائج سالبة لهذين الأختبارين. مما يدل على إن بكتيريا E.coli ليست لها القابلية على تحويل سكر الكلوكوز Glucose الى أستيل مثيل كربونيل الاسيتون Acetylmethylcarbind Acet-oin، فلا يتحول لون الوسط من الأصفر الى الأحمر بعد أضافة الكاشفين (VP1) Alpha naphthol و .(VP1) Potssaum hydroxide (KOH) كانت عزلات بكتيريا E.coli سالبة لأختبار الأوكسيديز Oxidase test، إذ لم يتحول لون المستعمرات البكتيرية الى اللون الأرجواني – البنفسجي بعد إضافة الكاشف، ويعود ذلك إلى أن بكتيريا E.coli لا تمتلك أنزيم cytochrome oxidase المستقبل للهيدروجين، وسالبة لأختبار أنتاج اليوريز Urease test وذلك لعدم تحول لون وسط اليوريا الى اللون الوردي، الأمر الذي يثبت ويؤكد عدم أمتلاك البكتيريا لأنزيم اليوريز .Urease بما أن العزلات البكتيرية قد أعطت نتيجة سالبة لأختبار أستهلاك

السترات، فهذا يدل على أن عزلات E.coli ليست لها القابلية على إستعمال البكتيريا للسترات كمصدر وحيد للكربون وذلك لعدم إنتاجها أنزيم Citrate Perme-ase وعدم تغيير قيمة الأس الهيدروجيني pH للوسط وبالتالي لا يتحول لون الكاشف بروموثايمول الأزرق bromothymol blue من الأخضر (في pH أقل من 6.9) إلى اللون الأزرق (عند pH مقدار 7.6) شكل (3).



الشكل(3) يبين نتائج اختبارات الـ IMVIC لبكتريا *E.coli*

هذه النتائج كانت متطابقة ومتوافقة مع العديد من البحوث والدراسات ومنها دراسة (Tille, 2017) وغيره.

وبعد اجراء الفحوصات المظهرية والمجهرية الكميوحيوية لهذه العينات البالغ عددها (300) عينة ، كانت نتائج الفحوصات لها الحصول على (30) عزلة من بكتريا *E.coliO157:H7* وبنسبة (10٪) من مجموع العينات الكلي كما في الجدول(1):

جدول (1) عدد العينات التي جمعت من مناطق مختلفة في مدينة بغداد

عدد العينات الأيجابية الحاوية على عزلات بكتريا (٪)*E.coliO157:H7*		عدد العينات السلبية (٪)		المجموع (٪)	
العدد	النسبة (٪)	العدد	النسبة (٪)	العدد	النسبة (٪)
30	10	270	90	300	(100)

وكانت نسبة الإصابة ببكتريا *E.coliO157:H7* أعلى بمنتجات اللحم عن منتجات الحليب التي جمعت وكالتالي (22) (73.33٪) و (8) (26.67٪) على التوالي، كما في الجدول(2) .

جدول (2): نسبة عزل بكتريا *E.coliO157:H7*

نوع العينة	عددها	النسبة
منتجات الحليب	8	٪26.67
منتجات اللحم	22	٪73.33
المجموع	30	٪100

حيث ذكرت المصادر ان الإصابة بالبكتريا المختلفة التي تلوث اللحوم ومنتجاتها هي بكتريا *E.coli* وهذا النوع من البكتريا المعوية حيث انها تنمو بصورة طبيعية في أمعاء الإنسان والحيوانات الثدية الأخرى ومنها الأبقار (Wilshaw *et al.*,2000) و إن الأغذية ذات المنشأ البقري كاللحوم المفرومة ومنتجاتها من أهم مسببات العدوى ببكتريا *E.coli* المصلية (Doyle *et al.*, 1997). وفي الجدول (3) ادناه الذي يمثل نسبة التلوث بالنسبة للعينات (اللحوم، والحليب) التي جمعت من مناطق مختلفة من مدينة بغداد :

جدول (3) نسب تلوث المنتجات في مناطق الجمع في مدينة بغداد

منطقة الجمع	نوع المنتج	عدد العينات	عدد العزلات	النسبة المئوية
ابي غريب	منتجات حليب	36	1	2.8٪
	منتجات لحم	21	3	14.3٪
باب المعظم	منتجات حليب	30	1	3.3٪
	منتجات لحم	18	4	22.2٪
حي العدل	منتجات حليب	16	1	6.3٪
	منتجات لحم	20	5	25.0٪
الشعلة	منتجات حليب	14	2	14.3٪
	منتجات لحم	58	9	15.2٪
الحرية	منتجات حليب	30	2	6.7٪
	منتجات لحم	15	1	6.7٪
بياع	منتجات حليب	24	1	4.2٪
	منتجات لحم	18	0	0٪
Total o specimens		300	30	10.0٪

وكانت اعلى نسب التلوث بالمحتوى البكتيري لبكتريا القولون من العينات التي جمعت في منطقة حي العدل وكانت (25٪) بالنسبة للحوم واقلها من منطقة البياع وكانت (0٪) للحوم وكانت اعلاها نسبة للتلوث هي في منطقة الشعلة حيث كانت (14.3٪) للحليب واقلها نسبة في منطقة ابي غريب حيث كانت (2.8٪) للحليب مع ملاحظة ان العينات جمعت بشكل عشوائي من أسواق مناطق مدينة بغداد. قد يكون سبب ذلك إلى الحفاظ على النظافة في اماكن الجزارة لتلك المناطق المختلفة أثناء عملية الذبح وتلوث الذبيحة مع الفضلات والاحشاء الملوثة حيث تنتقل البكتريا من اللحم الملوث إلى أجهزة تقطيع اللحم وبالتالي يتلوث اللحم مثلما ذكر (Shaw *et al.*,1993) وكذلك بالنسبة للحليب حيث الخزن غير الجيد مع اختلاف ظروف الخزن من حرارة ورطوبة وغيرها من الظروف التي تؤدي الى تلوث الحليب ببكتريا القولون.

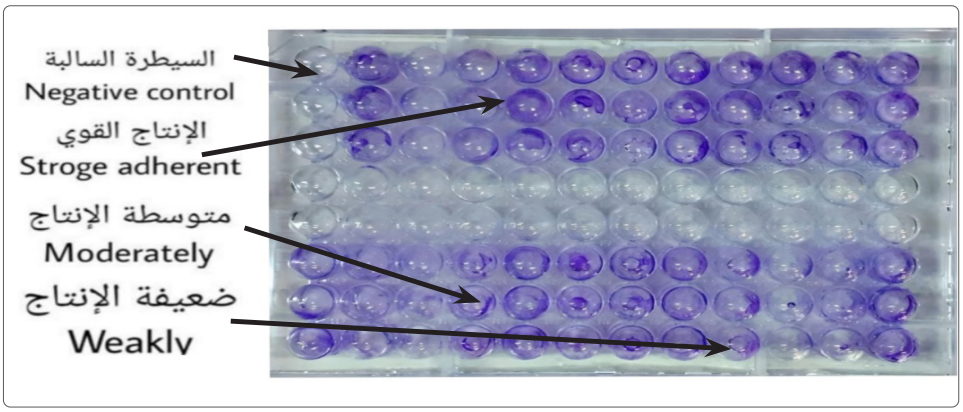
واتفقت الدراسات مع هذه النتائج ان سبب بقاء اللحوم في محلات البيع لفترات طويلة متفاوتة و بصورة غير جيدة للتلوث وهذا يتفق مع ما ذكره (Mo- 2008 hammed *et al* ..) وفي الشكل(4) ادناه يوضح النسبة المئوية لتلوث المنتجات في مناطق جمع العينات في مناطق مختلفة من مدينة بغداد.

شكل (4) يوضح النسبة المئوية لتلوث المنتجات في مناطق جمع مدينة بغداد

في هذه الدراسة، تم زرع العينات المأخوذة من المنتجات التي تم جمعها على الاوساط الزرعية الانتقائية والخاصة لعزل بكتيريا *E.coliO157:H7* بعد ان تم إجراء تنشيط لها على الوسط الغذائي منقوع القلب السائل حيث يعتبر هذا الوسط وسط اغنائي لزراعة وتكثير البكتريا (*E. coli*) وغيرها من البكتريا بعد عزلها من العينات التي جمعت (اللحوم والحليب) وذلك تحضيرا لتشخيصها في ما بعد.

تكوين الغشاء الحيوي Formation of biofilm :

في الدراسة الحالية، تم استعمال صفيحة المعايرة الدقيقة Microtiter plate وذلك لتقييم قابلية عزلات E.coli على تكوين الأغشية الحيوية، إذْ تم قياس مدى قابلية البكتريا على تكوين الأغشية الحيوية رقيقة السُمك بأستعمال صبغة البلورات البنفسجية Crystal Violet كما في شكل (5).



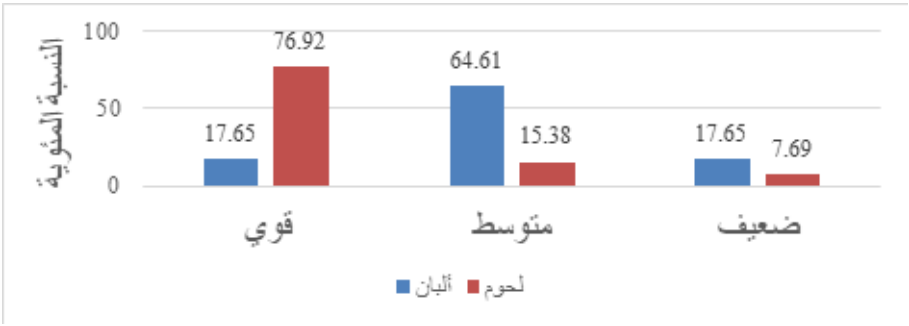
شكل (5) انتاج الغشاء الحيوي biofilm بطريقة الصفيحة العيارية ذات 96 حفرة

بعد قراءة الكثافة البصرية (OD) لكل حُفرة من حُفر الصفيحة عند الطول الموجي (630) نانوميتر. تم إختيار كل العزلات البالغ عددها (30) عزلة، وقد أختيرت جميعها وذلك لاختبار مدى قابلية هذه العزلات على تكوين الغشاء الحيوي، وقد أظهرت قابلية عالية Strong على تكوين الأغشية الحيوية من منتجات الحليب وبنسبة بلغت (17.65٪) من مجموع 17عزله ظهرت 3 عزلات قابلية عالية Strong على تكوين الأغشية التي تمت دراستها، اما من منتجات اللحم فقد كانت النسبة (76.92٪) من اصل 13

عزله ظهرت 10 عزلات لها قابلية عالية Strong على تكوين الأغشية التي تمت دراستها. كما أظهرت (11) عزلة لها قابلية متوسطة Moderate على تكوين الأغشية الحيوية من منتجات الحليب وبنسبة بلغت (64.61٪) من اصل 17 عزلة اما بالنسبة لمنتجات اللحم فقد اظهرت عزلتان لهما قابلية متوسطة Moder-ate على تكوين الأغشية الحيوية وبنسبة (15.38٪) من اصل 13 عزلة. بينما كانت 3 عزلات من منتجات الحليب لها قابلية ضعيفة Weak على تكوين الأغشية الحيوية وبنسبه (17.65٪) من اصل 17 عزلة . أما من منتجات اللحم فقد وجدت عزلة واحدة وبنسبة (7.69٪) من اصل 13 عزلة . وكانت النسبة المئوية لمنتجات الحليب هي (56.67٪) اما منتجات اللحم فقد كانت (43.33٪). جدول (4) وشكل (8-4) يبين عدد عزلات *E.coliO157:H7* والنسب المئوية لقابليتها على تكوين الأغشية الحيوية.

جدول (4) يبين عدد عزلات *E.coliO157:H7* والنسب المئوية لقابليتها على تكوين الأغشية الحيوية

قابلية العزلات البكتيرية على تكوين الأغشية الحيوية	عدد العزلات منتجات الحليب	النسبة المئوية ٪	عدد العزلات منتجات اللحم	النسبة المئوية ٪
قوية Strong	3	17.65	10	76.92
متوسطة Moderate	11	64.61	2	15.38
ضعيفة Weak	3	17.65	1	7.69
المجموع الكلي Total	17	56.67	13	43.33



الشكل(6) يوضح النسب المئوية من منتجات اللحوم والحليب لقابليتها على تكوين الأغشية الحيوية

كانت هذه النسب مقاربة ومشابهة لما وجده الباحث (Gawad *et al.*,2018) الذي ذكر بان نسبة بكتريا القولون المنتجة للاغشية الحيوية هي (70٪) من العدد الكلي، بينما كانت النسبة الموجبة لبكتريا القولون المنتجة للغشاء الحيوي اعلى من نتائج البحث الحالي وبشكل قليل كمافي بحث (Suresh *et al.*,2016) الذي كانت نسبته (92٪). تكون بكتريا *E.coli* قادرةعلى انتاج الغشاء الحيوي الذي يعتبر احد العوامل المرضية للبكتريا والتي تعطيها البكتريا التي تقاوم لمعظم المضادات الحيوية (Soto ,2013). وعندما تكون الظروف المحيطة قد تتغير من بكتريا غير منتجة للغشاء الحيوي الى بكتريا منتجة للغشاء الحيوي ،اذ تقوم البكتريا بتغييرات نتيجة هذه الظروف البيئية الجديدة وتكون هذه في التعبير عن المكونات السطحية مثل المستلم الذي يكون على سطح ال الشعيرات pilli ، وهنالك مكونات ضراوة ممرضة اخرى والتي تمتلكها البكتريا، فتكون لبكتريا القولون فرصة اكبر للبقاء في البيئة غير المثالية (Soto 2014).

الاستنتاجات :

بينت نتائج الدراسة الحالية أنّ نسبة التلوث ببكتيريا *E.coliO157:H7* هي 10٪ من منتجات الحليب واللحم في محافظة بغداد، حيث تم العثور على البكتيريا في منتجات من جميع المناطق المدروسة. ان نسبة التلوث بالبكتيريا في منتجات اللحم أعلى من منتجات الحليب والتي كانت قيم هذه النسب هي (14.3٪) في منتجات اللحم و (2.8٪) في منتجات الحليب . كونت البكتيريا ثلاث مستويات من الاغشية الحيوية وكانت قوية الانتاج ومتوسطة وضعيفة.

المصادر:

1. Rusdianto, R., Nuha, U., Wahyuni, D., Supeno, S., & Amaliyah, T. (2022). Identification of bacterial diversity in the feces of children with diarrhea. Edubiotik: Jurnal Pendidikan, Biologi dan Terapan, 7(01), 43-50..
2. Ebomah, K. E. & Okoh, A. I. (2020). An African perspective on the prevalence, fate and effects of carbapenem resistance genes in hospital effluents and wastewater treatment plant (WWTP) final effluents: A critical review. Heliyon, 6, e03899
3. Gelalcha, Benti D., et al. "Regulation mechanisms of virulence genes in enterohemorrhagic Escherichia coli. (2022) " Foodborne Pathogens and Disease 19.9: 598-612.
4. Khatoon, Z., Mctiernan, C. D., Suuronen, E. J., Mah, T. F., and Alarcon, E. I. (2018). Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. Heliyon 4:e01067.
5. De la Fuente-Núñez, César, et al. (2013). "Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies." Current opinion in microbiology 16.5: 580-589.
6. Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X., et al. (2020). Beyond risk: bacterial biofilms and their regulating approaches. Front. Microbiol. 11:928.
7. Flemming, H. C., Baveye, P., Neu, T. R., Stoodley, P., Szewzyk, U., Wingender, J., et al. (2021). Who put the film in biofilm? The migration of a term from wastewater engineering to medicine and beyond. NPJ Biofilms Microbiomes 7:10.
8. Martin, I., Waters, V., and Grasemann, H. (2021). Approaches to targeting bacterial biofilms in cystic fibrosis airways. Int. J. Mol. Sci. 22:2155
9. Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., and Xiangmin, L. (2021). Bacterial biofilm inhibition: a focused review on recent therapeutic strategies for combating the biofilm mediated infections. Front. Microbiol. 12:676458
10. Donlan,R.M.(2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Clin. Infect. Dis. 33,

Fundamentalsand Frontiers, ed. M.P. Doyle, L.R. Beuchat,and T.J. Montville, pp. 171–191. ASM Press,

16. Shaw, W. G. A.; Smith, H. R.; Roberts, O. Well, J. T.; Cheasty, T. and Rowe, B. (1993). Examination of beef for the presence of verocytoxin producing *Escherichia coli* particularly of thoseserotype O157. J. App. Bacteriol. 75: 420-426
17. Mohammed, Z. A. (2008). Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157: H7 from locally minced meat and imported minced and chicken meat: Zuhair. A. Mohammed, Fadia Abd AL-MuhsinAL-Khyat. The Iraqi Journal of Veterinary Medicine, 32(1), 100-113
18. Ahmed, S. T., Jasim, A. N., & Ali, A. M. (2011). Isolation and characterization *E. coli* O157: H7 from meat &cheese and detection of Stx1, Stx2, hlyA, eaeA by using multiplex PCR. Journal of Biotechnology Research Center, 5(2), 15-24.
19. Ali, R. M., Mohammed, D. H. A., Dhaher, F. H., & Jamil, M. M. (2010). Prevalence of *E. coli* O157: H7 in beef meat products and dairy products sold in Baghdad local markets. iraq journal of market research and consumer protection, 2(4).
20. Bhattacharyya, S.; Sarfraz, A.; Ansari, M. A. A. and Jaiswal, N. (2015). Characterization and antibiogram of Uropathogenic *Escherichia coli* from a tertiary care hospital in Eastern India. 1387–1392
11. Corzo-Ariyama, H. A., García-Heredia, A., Heredia, N., García, S., León, J., Jaykus, L., & Solís-Soto, L. (2019). Phylogroups, pathotypes, biofilm formation and antimicrobial resistance of Escherichia coli isolates in farms and packing facilities of tomato, jalapeño pepper and cantaloupe from Northern Mexico. International journal of food microbiology, 290, 96-104.
12. Scoters.S.; Aldridg, M. and Capps, K. (2000). Validation of a method for the detection of E.coli O157:H7. in foods. Food Control 11:85-95. Stewart, P. S., and Bjarnsholt, T. (2020). Risk factors for chronic biofilm-related infection associated with implanted medical devices. Clin. Microbiol. Infect. 26, 1034–1038.
13. Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., and Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. Front. Microbiol. 9:898
14. Wilshaw, G.A., Cheasty, T., Smith, H.R.(2000). *Escherichia coli*. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (Eds.), The Microbiological Safety andQuality ofFood II. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, pp. 1136-1177.
15. Doyle, M.P., Zhao, T., Meng, J., and Zhao, S.(1997). *Escherichia coli* O157:H7. In : Food Microbiology:

dia. Int J Curr Microbiol App Sci. 4(2): 701-705.

21. Sharmin, S.; Alamgir, F. Begum, F. and Jaigirdar, K. H. (2010). Use of Chromogenic Agar Media for Identification of Uropathogen. Bangladesh J Med. Microbiol. 4 (1): 18-23.
22. Gawad W E, Helmy O M , Tawakkol W M and Hashem A M (2018) Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation and Phylogenetic Grouping of Uropathogenic *Escherichia Coli* Isolates In Egypt: The Role Of Efflux Pump-Mediated Resistance. Jundishapur J Microbiol. 11(2), 1-7.
23. Soto, S. M. (2013). Role of Efflux Pumps in the Antibiotic Resistance of Bacteria Embedded in a Biofilm. Virulence. 4(3): 223-229.
24. Suresh, M.; Nithya, N.; Jayasree, P. and Kumar, M. P. (2016). Detection and Prevalence of Efflux Pump-Mediated Drug Resistance in Clinical Isolates of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria from North Kerala,India. Asian J Pharm Clin Res. 19(3): 324-327.