SEBHA UNIVERSITY JOURNAL VOL.03 NO. 1 2024
DOI: 10.51984/SUCP.V3I1.3490

مجلة جامعة سبها
Sebha University Journal

Journal homepage: https://sebhau.edu.ly/journal/index.php/CAS

عزل بكتيريا من أنواع مختلفة من الحليب الخام واختبار حساسيتها للمضادات الحيوية في مدينة سبها

*نادية اقليوان [1] و عبد القادر السنوسي الزين[2] و أحمد دبوب [3]

[1]قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا
[2]قسم الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا
[3]قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة سرت، ليبيا

الملخص

تعتني هذه الدراسة بعزل البكتيريا من أنواع مختلفة في الحليب الخام واختبار حساسيتها للمضادات الحيوية في مدينة سبها. يعكس الهدف الأساسي للبحث استنتاجاته المحتملة بناءً على عينات الحليب الخام، مع التركيز على مسببات التلوث المحتملة وتقييم جودة الحليب، خاصةً فيما يتعلق بتواجد بكتيريا Listeria monocytogenes. تهدف الدراسة إلى فهم أفضل للمخاطر المحتملة التي قد تؤثر على صناعة الحليب ومنتجاته، وتوفير أسس علمية لتطوير استراتيجيات فعالة لمراقبة الحليب والوقاية من التلوث وضمان سلامة المنتجات الغذائية. تناولت هذه الدراسة الكشف عن عينات من الحليب الخام في مناطق مختلفة من مدينة سبها خلال فترة محددة، بهدف تحديد البكتيريا الموجودة وتقييم حساسيتها للمضادات الحيوية. وُجد أن هناك تلوثًا محتملاً في الحليب بنسب عالية لبعض البكتيريا مثل Escherichia coli و Listeria monocytogenes، مما يستدعي اتخاذ إجراءات صحية للسيطرة. تم جمع 25 عينة من الحليب الخام من متاجر مختلفة داخل نطاق مدينة سبها، وشملت المحلات في المنشية، القرضة، والجديد. تم توزيع العينات كالتالي: 8عينات من حليب الأبل، و10 عينات من حليب البقر، و7عينات من حليب الماعز. وبعد استخدام التشخيص الميكروبي تم الحصول على بكتيريا Salmonella spp, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella spp, Pseudomonas spp, Enterobacter spp وتم اجراء اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية تبين ان جميع الانواع البكتيرية كانت مقاومة للمضادات الحيوية بنسبة 85.% وكانت قيمة p تقارب (\(7.42 \times 10^{-16}\)،وهذا يؤكد وجود فروق معنوية بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية. كشفت الدراسة عن مستويات مرتفعة من مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، مما يبرز الحاجة إلى استراتيجيات مراقبة محددة وتطوير سياسات لمكافحة هذه المشكلة. بشكل عام، تقدم هذه الدراسة إضاءة مفيدة حول تلوث الحليب ومقاومة المضادات الحيوية، وتؤكد على أهمية النظافة والسيطرة في صناعة الحليب لضمان سلامة المنتجات الغذائية وتطوير السياسات الصحية المناسبة.

الكلمات المفتاحية:

تلوث الحليب
مقاومة المضادات الحيوية
بكتيريا الحليب
سلامة الأغذية
إجراءات السيطرة الصحية

Isolation of bacteria from various types of raw milk and assessing their antibiotic sensitivity in the city of Sabha.

*Nadia Mbark Mohammeda Ahamouda[1], Abdelgader Alsanousi Gassem Elzen[2], Ahmed Alsagheer Daboob Mohamed[3]

[1]Department of Botany, Faculty of Science, University of Sabha
[2] Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Sabha
[3] Department of Science, Faculty of Science, University of Sirte

Keywords:

Milk contamination
Antibiotic resistance
Milk bacteria

ABSTRACT

This study focuses on the analysis and isolation of bacteria from various types of raw milk and testing their sensitivity to antibiotics in the city of Sabha. The primary objective of the research reflects its potential conclusions based on raw milk samples, with a specific focus on potential sources of

*Corresponding author.
E-mail addresses: nadiaglwan@gmail.com, (A. A. G. Elzen)abd.ahmad@sebhau.edu.ly, (A. A. D. Mohamed)Adaboob@yahoo.com
Article History : Received 30 January 2024 - Received in revised form 13 May 2024 - Accepted 25 May 2024

Food safety
Sanitary control measures

contamination and the evaluation of milk quality, particularly concerning the presence of Listeria monocytogenes bacteria. The study aims to better understand the potential risks that may impact the dairy industry and its products, and to provide scientific foundations for the development of effective strategies for monitoring, prevention of contamination, and ensuring the safety of food products.The study analyzed samples of raw milk from different areas of Sabha over a specified period, with the aim of identifying present bacteria and assessing their sensitivity to antibiotics. It was found that there is a potential contamination in milk with high levels of certain bacteria such as Escherichia coli and Listeria monocytogenes, necessitating health measures to control it. Furthermore. were collected 25 samples of raw milk from different stores within the city of Sabha, including stores in Al-Manshiya, Al-Qarada, and Al-Jadid. The samples were distributed as follows: 7 samples of camel milk, 10 samples of cow milk, and 8 samples of goat milk. After using microbial diagnosis, bacteria were obtained: Salmonella spp, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella spp, Pseudomonas spp, Enterobacter spp A test was conducted for the sensitivity of bacteria to antibiotics. It was found that all bacterial species were 85% resistant to antibiotics. The p value was approximately (\(7.42 \times 10^{-16}\).) and this confirms the presence of significant differences between the rates of resistance to antibiotics. The study revealed high levels of bacterial resistance to antibiotics, highlighting the need for specific monitoring strategies and the development of policies to combat this issue. Overall, this study provides valuable insights into milk contamination and antibiotic resistance, emphasizing the importance of cleanliness and control in the dairy industry to ensure the safety of food products and the development of appropriate health policies.

المقدمة

الحليب ومشتقاته يُعتبران من المكونات الغذائية الأساسية لكل من البالغين والأطفال نظرًا لقيمتهما الغذائية العالية. يُمثل الحليب مصدرًا رئيسيًا للكالسيوم والفوسفور في جسم الإنسان ويحتوي على كافة الأحماض الأمينية الضرورية[1]. لقد أظهرت بعض الدراسات أن هنالك علاقة وثيقة بين إستهلاك الحليب والحالة الصحية للناس من حيث الكفاءة وأصل الذكاء والحد من مخاطر الإصابة بالأمراض المعدية، وتنظيم الأنشطة الأيضية، وخفض ضغط الدم، وزيادة الدهون المفيدة في الجسم والوقاية من سرطان القولون وهشاشة العظام [2]. [3].

يُعد الحليب بيئة مثالية لنمو وتكاثر العديد من الكائنات الحية الدقيقة بسبب احتوائه على البروتينات، الدهون، السكريات، الفيتامينات، والمعادن. هذه الخصائص الغذائية تجعل الحليب قادرًا على دعم الحياة الجرثومية، التي قد تتكاثر تحت ظروف مواتية وتسبب تغيرات في تركيبه الكيميائي، والتلوث البكتيري للحليب قد يحدث من مصادر متعددة بما في ذلك الضرع، الهواء، معدات الحلب، التغذية، التربة، البراز، العشب، وأثناء عمليات النقل والتداول[4].

قد يتلوث الحليب في مراحل مختلفة من الإنتاج، قد يكون في حقول الألبان أو المصانع أو حتى منازل المستهلكين بغض النظر عن نوع الحيوان[5].

من بين البكتيريا المسببة للأمراض المرتبطة باستهلاك الحليب نجد : *Salmonella spp, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella spp, Pseudomonas spp,Enterobacter spp* وغيرها, وهذه الكائنات قد تتواجد في مراحل مختلفة من إنتاج الحليب [6][7].

ان سلالات البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية تسبب في إصابة البشر بالمرض الشديد لفترات أطول، وفشل العلاج يحدث نتيجة لذلك. ومما يستدعي الحاجة للأدوية باهظة الثمن والتي تكون في معظم الحالات أكثر تكلفة [8]

الدراسة الحالية تهدف إلى معرفة حساسية البكتيريا للمضادات مثل *Staphylococcus spp, Listeria Monocytogenes, Klebsiella spp,* و *Pseudomonas spp.* نظرًا لأهمية الحليب كمكون غذائي وارتباطه بأمان الغذاء.

هذه الدراسة تسعى لسد الفجوة البحثية في مجال مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا المعزولة من الحليب، مما يُمكن أن يُسهم في تحسين السيطرة على العدوى الناتجة عن هذه البكتيريا وتعزيز أمان الغذاء.

مثل هذه الدراسات سوف تساهم في زيادة المعرفة وتثقيف المجتمع حول الأهمية المعرفية لأنواع الكائنات المجهرية التي يمكن أن تلوث وتفسد الحليب الخام، والخطورة الناجمة عن شرب حليب ملوث بالميكروبات الممرضة للإنسان

المواد وطرق العمل

1 منطقة الدراسة:

تم جمع 25 عينة من الحليب الخام من متاجر مختلفة داخل نطاق مدينة سبها، بما في ذلك المحال التجارية في المنشية، القرضة، والجديد. تم توزيع العينات على النحو التالي: 8 عينات من حليب الأبل، و10 عينات من حليب البقر، و7 عينات من حليب الماعز. استخدمت قوارير بحجم 500 مل، تم تعقيمها بدقة. دون تعريض العينات لعملية التعقيم، ولم يتم إنتاجها من قبل شركات معتمدة. بعد جمع العينات، تم نقلها على الفور إلى معامل قسم علم النبات بكلية العلوم للتحليل.

2. الأوساط الزراعية

الأوساط المستخدمة في الدراسة: MacConkey agar, Mannitol salt agar, Oxford agar, Mueller Hinton agar, Tryptocase soy broth (TSB)
تم تحضير الوسط الزرعي وفقاً لتوجهات الشركة المصنعة المدونة على العبوات المخصصة لكل نوع من الاوساط.[9]

3. عزل وزرع العينات

عزل وزرع العينات بإتباع الخطوات التالية:

أولا: تحضير العينات:

تم نقل 50مل من كل عينة من عينات الحليب إلى دوارق تحتوي على 250مل من وسط(Tryptocase soy broth (TSB ، وضعت الدوارق في الحضانة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة.

تم خفض تركيز العينات في أنابيب زجاجية تحتوي كل أنبوبة على 9مل من الماء المقطر المعقم، بعد ذلك نُقل 1مل من العينة الأصلية إلى الأنبوبة الأولى وخلطها جيدًا، ثُم نُقل 1 مل من الأنبوبة الأولى إلى الأنبوبة الثانية وهكذا حتى الأنبوبة السادسة للحصول على 6 تخفيفات، بعد ذلك, تم أخذ 1مل من

التخفيف الرابع والخامس والسادس وزرعها على الأوساط التالية: Oxford agar، Mannitol salt agar، MacConkey agar بطريقة التخطيط، بعدها تم وضع الأطباق في الحضانة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، وتم التحقق من نقاوتها في صورة مستعمرات نقية.

ثانيا: الإختبارات البيوكيمائية المستخدمة في تعريف العزلات البكتيرية:

تم أُجراء أختبارات مظهرية، ومزرعية، وبيوكيميائية عليها لتحديد خصائصها، بما في ذلك صبغة الجرام، للتعرف على مهيئُها للصبغة التفريقية، "الغرامية للبكتيريا" (سالبة أو موجبة), وتم تعريف العزلات البكتيرية بواسطة API 20 E (Analytical profile index)، حيث يوفر API معايير جيدة للإختبارات البيو كيميائية المستخدمة لتحديد هوية البكتيريا.[10]

اجري اختبار API 20 E. للعزلات البكتيرية لدراسة صفاتها وخصائصها البيو كيميائية تم تنفيذ هذه العملية وفقًا للإجراءات المعتمدة والموصى بها في المختبر العلمي. [11] [12]

4 حفظ العينات في الجليسرول

زرعت العينات في أنابيب Eppendorf تحتوي على 1000ul من وسط Nutrient broth لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية، بعد ذلك تم إضافة جليسرول معقم بتركيز 45% بقدر 500ul إلى الأنابيب السابقة ورجت جيدا بالرجاج Vortex وحفظت في المجمد -20 درجة مئوية إلى حين الإستخدام. [13]

اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية:

أُجري إختبار فحص الحساسية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة للمضادات الحيوية التالية: -

(Vancomycin, Ampicillin, Augmentin, Colistin, Cloxacillin, Ceftazidime, Cefalothin, Ciprofloxacin, Amoxicillin, Ofloxacin Cephalexin)

حيث أُتبعث إرشادات CLSI في طريقة العمل، حيث حضر وسط Mueller Hinton agar وحضرت المعلقات البكتيرية كما ذكر سابقا، زرعت البكتيريا على سطح الأطباق بطريقة الإنتشار بواسطة ماسح قطني وتركت 10 دقائق لثبات لبكتيريا على سطح الأطباق، وزعت أقراص المضادات الحيوية على سطح الأطباق ووضعت في الحضانة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، تم قراءة الحساسية إعتماداً على قطر حلقة التثبيط الموصي بها من قبل الشركة المجهزة، وتم قياس النتائج بالمليمتر لمناطق التثبيط المتكونة. [14]

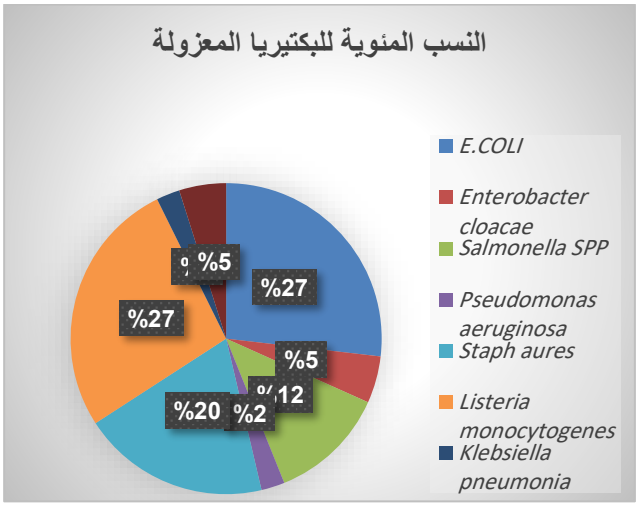
التحليل الاحصائي

تم تحليل التباين بإستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS اختبار كروسكال واليس واختبار مربع كاي وتحليل التباين (Two-way ANOVA) لمعرفة فيما إذا كانت الفروق معنوية وذات دلالة إحصائية.

النتائج والمناقشة

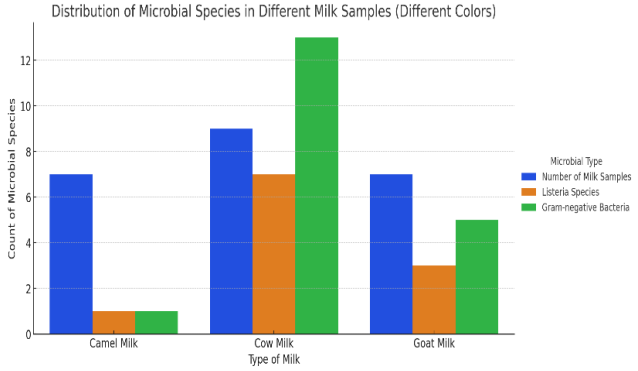
تكشف هذه الدراسة عن نتائج مهمة بشأن توزيع وحساسية البكتيريا للمضادات الحيوية في عينات مختلفة من الحليب الخام. حيث تم الكشف عن الأنواع البكتيرية المعزولة من عينات الحليب من البقر، الإبل، والماعز ومستويات مقاومتها للعلاجات الدوائية.

تكشف هذه الدراسة عن نتائج مهمة بشأن توزيع وحساسية البكتيريا للمضادات الحيوية في عينات مختلفة من الحليب الخام. حيث تم الكشف عن الأنواع البكتيرية المعزولة من عينات الحليب من البقر، الإبل، والماعز ومستويات مقاومتها للعلاجات الدوائية.



شكل 1 نتائج توزيع الانواع البكتيرية المعزولة

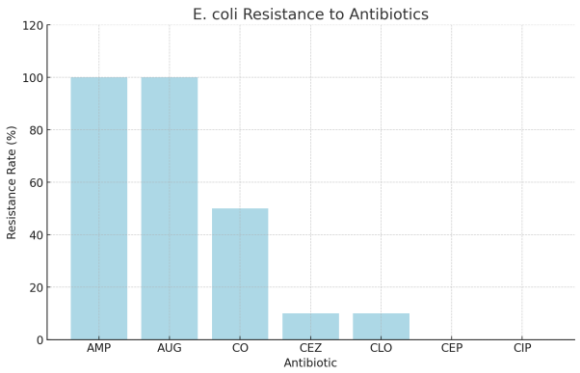
تعكس النتائج الموضحة في الشكل (1) توزيع البكتيريا المعزولة من عينات الحليب الخام. تشير النسب العالية لبكتيريا *Listeria monocytogenes* and E.coli، والتي تصل إلى 27% لكل منهما، إلى وجود تلوث محتمل يجب معالجته لضمان سلامة الحليب. أقل نسبة كانت لبكتيريا *Klebsiella pneumonia* و*Pseudomonas aeruginosa*، وهو ما يعكس إمكانية تحكم أفضل في هذا النوع من البكتيريا. هذه النتائج تتفق مع دراسة سابقة [15] حيث كانت أعلى الأنواع المعزولة تنتمي لبكتيريا Listeria بنسبة (27%)، مع الأخذ في الاعتبار مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية والتحديات التي تفرضها في السيطرة على الأمراض المنقولة بالأغذية.



شكل 2 توزيع الأنواع البكتيرية في عينات الحليب

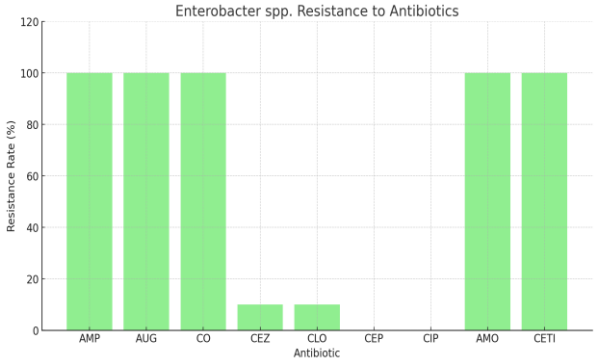
عند دراسة توزيع الأنواع البكتيرية المعزولة من عينات الحليب الخام، تبيّن من خلال الشكل (2) وجود تباين في تواجد أنواع *Listeria* والبكتيريا السالبة للجرام بين عينات حليب الإبل، وحليب البقر، وحليب الماعز. على الرغم من وجود اختلافات واضحة في العدد المطلق للأنواع الميكروبية بين العينات، وفقًا للبيانات المعروضة، يُلاحظ أن حليب البقر يُظهر أعلى مستويات الإصابة ببكتيريا *Listeria*، حيث تم تحديد سبع حالات من أصل عشر عينات، تليها حليب الماعز بثلاث حالات من أصل سبع عينات. ومن ناحية أخرى، تم تسجيل أعلى مستويات الإصابة بالبكتيريا السالبة للجرام في حليب البقر أيضًا، بمجموع أربعة عشر حالة من عشر عينات. هذا يشير إلى أن حليب البقر قد يكون أكثر عرضة للتلوث بالأنواع الميكروبية مقارنةً بأنواع الحليب الأخرى. في المقابل، يُظهر حليب الإبل أدنى مستويات التلوث لكلا النوعين الميكروبيين، بواحدة من *Listeria* واثنان من البكتيريا السالبة للجرام من ثمانية عينات، مما يعكس مستويات تلوث أقل. وهذه النتائج المتحصل عليها

تتفق مع دراسة [16]. تُعد هذه الرؤى مهمة لفهم ديناميكيات التلوث الميكروبي وتسلط الضوء على الحاجة إلى استراتيجيات مراقبة محددة تتناسب مع نوع الحليب. على الرغم أن قيمة \(p = 0.914\) تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين توزيع هذه الأنواع في مختلف أنواع الحليب. هذا يعني أن تواجد أو انتشار الأنواع البكتيرية المعزولة لا يتأثر بشكل كبير بنوع الحليب. توفر هذه المعلومات رؤية قيمة فيما يتعلق بسلامة الحليب الخام والإجراءات الواجب تطبيقها لضمان تقليل مخاطر التلوث بالبكتيريا الضارة. وتؤكد النتائج على أهمية اتباع إرشادات النظافة الصارمة والتحكم في العمليات لكل أنواع الحليب لمنع تكاثر هذه الميكروبات.



شكل(3) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *E. coli* للمضادات الحيوية

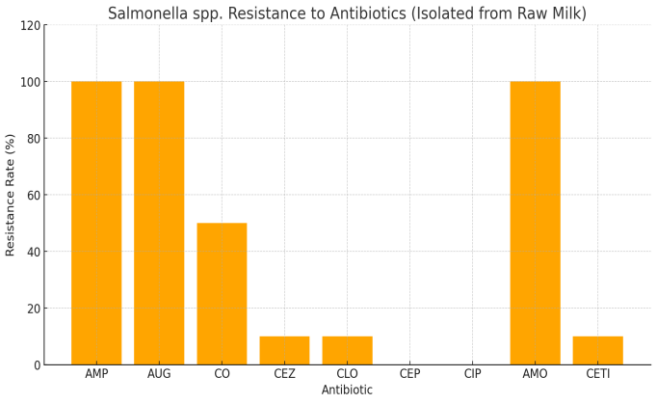
في الدراسة الحالية، تم دراسة حساسية بكتيريا *E. coli* لعدة أنواع من المضادات الحيوية، وتشير النتائج المستخلصة إلى وجود تباين كبير في مستويات المقاومة بين المضادات الحيوية المختلفة. كما هو موضح في الرسم البياني (3)، فإن المضادين الحيويين AMP و AUG قد سجلا أعلى نسب مقاومة بنسبة 100%، مما يعني أن جميع عينات بكتيريا *E. coli* المختبرة أظهرت مقاومة كاملة لهذين المضادين الحيويين. في المقابل، لوحظت أدنى نسب مقاومة في المضادين الحيويين CEP وCIP، حيث لم تظهر البكتيريا أي مقاومة لهذه المضادات، مما يشير إلى فعاليتهما في التعامل مع عدوى *E. coli*. من جهة أخرى، سجلت المضادات الحيوية CO وCEZ وCLO نسب مقاومة متوسطة إلى منخفضة، تتراوح بين 50% و10%، مما يدل على أن هذه المضادات الحيوية قد تكون فعالة في بعض الحالات ولكن بفعالية أقل مقارنةً بـ CEP وCIP. ولفهم الفروقات المعنوية بين نسب المقاومة بدقة، قيمة \(p\) تقارب \(6.56 \times 10^{13}\). هذه النتائج تؤكد على التباين الكبير في مقاومة بكتيريا *E. coli* للمضادات الحيوية المدروسة، مما يسلط الضوء على أهمية اختيار المضادات الحيوية بعناية في علاج العدوى بهذه البكتيريا، وتتفق هذه النتائج مع عدة دراسات [18، 17] والتي تشير أيضًا إلى أهمية التعرف على أسباب انتشار هذه المقاومة.



شكل (4) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Enterobacter spp* للمضادات الحيوية

كشفت النتائج المرصودة عن درجات مرتفعة من المقاومة لدى بكتيريا *Enterobacter spp.* تجاه معظم المضادات الحيوية التي تم اختبارها، حيث أظهرت نسبة مقاومة 100% للمضادات الحيوية AMP ، AUG، CO، AMO، و CETI. هذه النتائج تشير إلى وجود مستوى عالٍ من التحدي في مكافحة العدوى الناتجة عن هذه السلالة باستخدام المضادات الحيوية التقليدية. من ناحية أخرى، لوحظت مقاومة منخفضة أو معدومة للمضادات الحيوية CEP و CIP بنسبة 0%، مما يشير إلى إمكانية استخدامها كخيارات علاجية فعالة ضد عدوى *Enterobacter spp.*

إضافة إلى ذلك، قيمة p تقارب \(7.42 \times 10^{-16}\) ، تؤكد وجود فروقات معنوية بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة. هذه النتائج تعزز الحاجة إلى اتباع نهج دقيق ومستنير في اختيار المضادات الحيوية لعلاج العدوى ببكتيريا *Enterobacter spp.* ، مع التأكيد على أهمية البحث عن خيارات علاجية بديلة وتطوير استراتيجيات مكافحة مقاومة المضادات الحيوية حيث تتفق هذه النتائج مع دراسة [19]



شكل (5) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Salmonella spp* للمضادات الحيوية

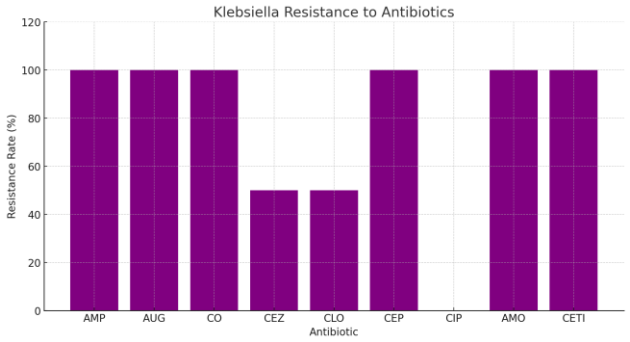
تكشف الدراسة الحالية عن وجود مستويات مرتفعة بشكل ملحوظ من مقاومة المضادات الحيوية في بكتيريا *Salmonella spp.* المعزولة من الحليب الخام، مع نسب مقاومة تصل إلى 100% للمضادات الحيوية مثل AMP ، AUG، و AMO. هذه النتائج تشير إلى تحدي كبير في مواجهة العدوى الناجمة عن هذه السلالات باستخدام هذه المضادات، وتؤكد على ضرورة إعادة تقييم استراتيجيات العلاج الحالية.

من ناحية أخرى، أظهرت المضادات الحيوية CEP و CIP فعالية محتملة بنسبة مقاومة 0%، مما يوحي بإمكانية استخدامها كخيارات علاجية أكثر فاعلية ضد عدوى *Salmonella spp.* وهذا يدعم الحاجة إلى استكشاف وتطوير خيارات علاجية جديدة تتماشى مع هذه النتائج.

علاوة على ذلك، أكدت النتائج قيمة إحصائية تقدر بـ 89 وقيمة p تبلغ \(7.42 \times 10^{-16}\)، وجود فروقات معنوية بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة. هذه النتائج تعزز الحاجة إلى تطوير استراتيجيات مستهدفة ومحسنة لاختيار المضادات الحيوية في علاج العدوى ببكتيريا *Salmonella spp.*

عند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة[20-21]، يمكن ملاحظة تزايد مقاومة المضادات الحيوية بمرور الوقت، مما يشير إلى تفاقم المشكلة ويؤكد على أهمية البحث المستمر وتطوير طرق جديدة لمكافحة مقاومة المضادات

الحيوية. على سبيل المثال، بينت الدراسة [21] أن نسب المقاومة أقل مقارنةً بنتائج الدراسة الحالية، مما يشير إلى تطور مقاومة المضادات الحيوية على مر الزمن. لذلك، تعتبر النتائج الحالية مؤشرًا هامًا للحاجة الماسة إلى تدخلات جديدة وفعالة في مجال مكافحة مقاومة المضادات الحيوية."

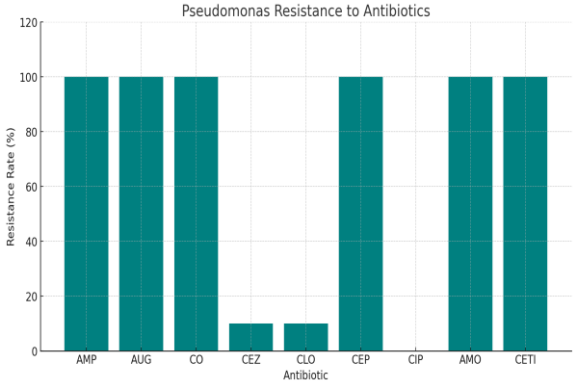


شكل (6) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Klebsiella spp* للمضادات الحيوية

"تكشف الدراسة الحالية عن مستويات مقاومة مرتفعة في بكتيريا *Klebsiella*للمضادات الحيوية المختلفة، حيث سُجلت نسبة مقاومة تصل إلى 100% للمضادات الحيويةAMP ، AUG، CO، CEP، AMO، و CETI. هذه النتائج تشير إلى صعوبة كبيرة في السيطرة على العدوى الناتجة عن هذه السلالة باستخدام العديد من المضادات الحيوية التقليدية. من جانب آخر، لوحظت فعالية نسبية للمضادات الحيوية CEZ و CLOبنسبة مقاومة تبلغ 50%، في حين أظهر المضاد الحيوي CIP عدم وجود مقاومة، مما يوحي بإمكانية استخدامه كخيار فعال ضد عدوى*Klebsiella*.

إضافة إلى ذلك، أكدت النتائج وجود فروقات معنوية بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة. هذه النتائج تدعم الحاجة إلى تبني نهج متكامل ومحدد في اختيار المضادات الحيوية لمواجهة عدوى*Klebsiella* ، مشددة على أهمية الاستمرار في البحث عن خيارات علاجية جديدة وفعالة ضد السلالات المقاومة.

عند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة[22]، يمكن ملاحظة تباين في آليات المقاومة للمضادات الحيوية بين بكتيريا *Klebsiella* المعزولة من الحليب الملوث والعاملين في مجال الرعاية الصحية. على سبيل المثال، دراسة أجريت [23]وجدت أن بكتيريا *Klebsiella* المعزولة من الحليب الملوث تظهر مقاومة عالية للمضادات الحيوية بسبب استخدام المضادات الحيوية بشكل مفرط في مزارع الألبان، بينما ترتبط مقاومة البكتيريا المعزولة من العاملين في مجال الرعاية الصحية بالتعرض المستمر لمجموعة متنوعة من المضادات الحيوية. هذه المقارنة تؤكد على الحاجة إلى فهم أعمق لآليات المقاومة وتطوير استراتيجيات محددة للوقاية والعلاج في كل من البيئات الزراعية والطبية."

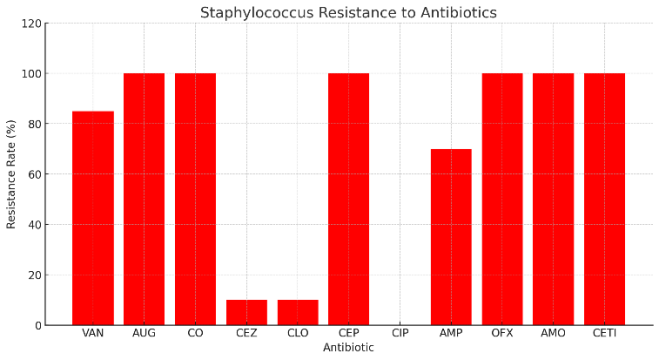


شكل (7) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Pseudomonas spp* للمضادات الحيوية

"تكشف نتائج هذه الدراسة عن مستويات عالية من المقاومة في بكتيريا *Pseudomonas*ضد مجموعة واسعة من المضادات الحيوية التي تم اختبارها، حيث وصلت نسب المقاومة إلى 100% للمضاداتAMP ، AUG، CO، CEP، AMO، و CETI.هذا يسلط الضوء على التحديات الجسيمة التي تواجه العلاجات الحالية للعدوى الناجمة عن هذه البكتيريا، نظرًا لمقاومتها الواسعة النطاق للعديد من المضادات الحيوية الرئيسية. بالمقابل، تُظهر البيانات أن المضاد الحيوي CIP قد يمثل خيارًا علاجيًا واعدًا، نظرًا لعدم ظهور مقاومة له من قبل البكتيريا.

إلى جانب ذلك، توضح النتائج وجود اختلافات معنوية كبيرة بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية المتنوعة. هذا التفاوت يبرز الأهمية القصوى لتطوير نهج مستهدفة ومبتكرة لعلاج العدوى الناتجة عن بكتيريا *Pseudomonas*، بما في ذلك الاستمرار في استكشاف مضادات حيوية جديدة وتحسين أساليب تشخيص العدوى لضمان استخدام فعال للمضادات الحيوية المتوفرة.

عند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة، يُلاحظ تزايد القلق بشأن خطورة بكتيريا *Pseudomonas* وآليات مقاومتها المتطورة. على سبيل المثال، أجريت دراسة [23]أشارت إلى أن بكتيريا *Pseudomonas* تطور مقاومة من خلال آليات متعددة، بما في ذلك تغييرات في جدار الخلية وإنتاج إنزيمات تحلل المضادات الحيوية. هذا يؤكد على الحاجة الملحة للتركيز على فهم آليات المقاومة بشكل أعمق وتطوير استراتيجيات مبتكرة لمكافحة العدوى الناتجة عن هذه البكتيريا الخطيرة.



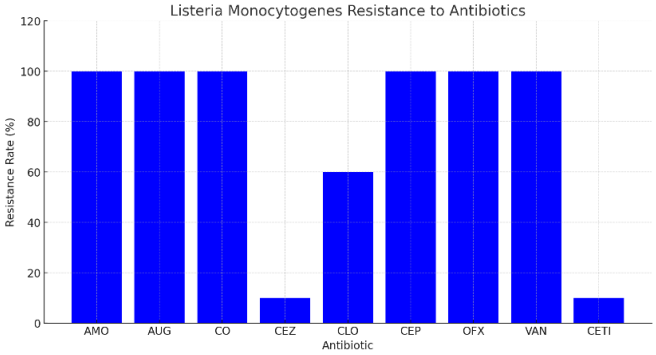
شكل (8) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Staphylococcus aures* للمضادات الحيوية

"تُظهر نتائج الدراسة مستويات عالية من المقاومة في بكتيريا *Staphylococcus*ضد مجموعة واسعة من المضادات الحيوية، حيث تصل نسب المقاومة إلى 100% للمضاداتAUG ، CO، CEP، OFX، AMO، و CETI.تُعد هذه النتائج مهمة في فهم مقاومة المضادات الحيوية في هذه البكتيريا. بالمقابل، يُظهر المضاد الحيوي CIP فعالية بنسبة مقاومة 0%، مما يجعله خيارًا علاجيًا محتملاً.

عند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة[24]، نجد أن بكتيريا *Staphylococcus*تُظهر خصائص مقاومة مختلفة، خاصةً في مقاومتها للمضادات الحيوية VAN بنسبة 85% و AMPبنسبة 70%. هذا يُبرز الحاجة إلى فهم أعمق لآليات المقاومة وتطوير استراتيجيات محددة للتغلب على هذه التحديات.

إضافةً إلى ذلك، تُشير النتائج إلى وجود فروق معنوية بين نسب المقاومة

للمضادات الحيوية المختلفة. هذه النتائج تُؤكد على ضرورة اعتماد نهج محسن ومستهدف في اختيار المضادات الحيوية لعلاج العدوى ببكتيريا *Staphylococcus*، مع التركيز على تطوير مضادات حيوية جديدة تتمتع بفعالية أكبر ضد هذه البكتيريا.



شكل (9) يوضح نتائج حساسية بكتيريا *Listeria onocytogenes*للمضادات الحيوية

بعد الكشف عن مقاومة بكتيريا *Listeria monocytogenes* للمضادات الحيوية، يُظهر الرسم البياني مستويات عالية من المقاومة للمضادات AMO, AUG, CO, CEP, OFX,وVANبنسبة مقاومة تصل إلى 100%. تُشير هذه النتائج إلى صعوبة استخدام هذه المضادات في علاج العدوى الناجمة عن هذه البكتيريا. من جانب آخر، أظهرت المضادات CEZ و CETI فعالية نسبية بنسب مقاومة منخفضة تبلغ 10%، بينما بلغت نسبة المقاومة للمضاد CLO حوالي 60.%

تُؤكد النتائج وجود فروق معنوية بين نسب المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة.

هذه النتائج تُبرز التباين في مقاومة *Listeria monocytogenes* للمضادات الحيوية وتُشير إلى الحاجة لتطوير استراتيجيات علاجية متجددة.

عند مقارنة هذه النتائج بدراسات سابقة[25]، نجد أن *Listeria monocytogenes* تُظهر مقاومة استثنائية لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية. أشارت دراسة سابقة[26] إلى تواجد هذه البكتيريا في الحليب ومنتجات الألبان، مما يُعقد مكافحتها نظرًا لمقاومتها المرتفعة للمضادات الحيوية. وقد وُجد أن مقاومتها تنتج عن عوامل مختلفة، بما في ذلك الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية في الزراعة والطب البيطري. هذه المعطيات تُؤكد على الحاجة الماسة لتوجيه البحث العلمي نحو استكشاف خيارات علاجية بديلة وفعالة، قادرة على مواجهة مقاومة المضادات الحيوية المتزايدة في بكتيريا *Listeria monocytogenes*

الخلاصة

تسلط هذه الدراسة الضوء على التحديات المرتبطة بحساسية البكتيريا للمضادات الحيوية، مع التركيز على بكتيريا Listeria *monocytogenes*. حيث اظهرت النتائج وجود نسب مرتفعة من هذه البكتيريا في الحليب، مما يشير إلى تلوث محتمل يستوجب تدخلات لضمان سلامة الحليب. بالإضافة إلى ذلك، تبين النتائج وجود اختلافات في مستويات التلوث بين أنواع الحليب المختلفة، مما يوحي بأن نوع الحليب لا يلعب دورًا رئيسيًا في انتشار هذه البكتيريا.

تظهر الدراسة أيضًا مستويات متفاوتة من مقاومة المضادات الحيوية بين البكتيريا المختبرة، مع تسجيل مقاومة عالية لبعض المضادات مثل AMP و AUGبنسبة 100%، مما يشير إلى عدم فعاليتها في مواجهة بعض البكتيريا مثل .E. coli بينما أظهرت بعض المضادات مثل CEP و CIP عدم وجود مقاومة، مما يجعلها خيارات علاجية واعدة ضد العدوى ببكتيريا مثل *Salmonella spp.*و*Enterobacter* spp.

تؤكد النتائج على أهمية اختيار المضادات الحيوية بعناية فائقة لمكافحة العدوى، مع الإشارة إلى ضرورة تطوير استراتيجيات مستهدفة ومبتكرة لمكافحة مقاومة المضادات الحيوية. هذه الدراسة تقدم مساهمة هامة في مجال البحث عن سلامة الأغذية ومكافحة مقاومة المضادات الحيوية، مشددةً على أهمية إجراءات السيطرة الصحية في إنتاج ومعالجة الحليب. وتسلط الضوء على الحاجة إلى البحث المستمر والتطوير لاستراتيجيات جديدة قادرة على مواجهة التحديات المرتبطة بالتلوث الميكروبي ومقاومة المضادات الحيوية في بكتيريا الحليب الخام.

قائمة المراجع

[1]- Pereira, P.C., (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. Nutrition,. **30**(6): p. 619-627.

[2]- Miciñski, J., et al., (2013) Health-promoting properties of selected milk components. Journal of Elementology. **18**.(1)

[3]- Hjartaker A, Lagiou A, Slimani N, (2002). Consumption of dairy products in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort: data from 35,955 24- hour dietary recalls in 10 European countries. Public Health Nut 5: 1259-1271.

[4]- Quigley, L., et al. (2013) The complex microbiota of raw milk. FEMS microbiology reviews. **37**(5): p. 664-698.

[5]- Marin, D.E. and Taranu, I, (2015). O chratoxin A and its effects on immunity. Toxin Rev, 1-10

[6]- Artursson, K., et al., (2018).Foodborne pathogens in unpasteurized milk in Sweden. International Journal of Food Microbiology,. **284**: p. 120-127.

[7]- Berhe, G., et al,.(2020). Milk-borne bacterial health hazards in milk produced for commercial purpose in Tigray, northern Ethiopia. BMC Public Health,. **20**: p. 1-8

[8]- WHO (World Health Organization). (2007). Basic Laboratory procedures in clinical bacteriology. 2 ed. Geneva. Switzerland.

[9]- Pinto, M., et al.,(2001). Comparison of Oxford Agar, PALCAM and Listeria monocytogenes Blood Agar for the recovery of L. monocytogenes from foods and environmental samples. Food Control. **12**(8): p. 511-514.

[10]- Okinda, N., E. Mulwa, and G. Revathi,(2014). A five year review of API20E bacteria identification system's performance at a teaching hospital. East African Medical Journal. **91**(3): p. 73-76.

[11]- Brown A, Smith H, (2014). Bensons Microbiological Applications, Laboratory Manual in general microbiology, Short Version: McGraw- Hill Education.

[12]- Nero LA, De Mattos M, De Aguiar Ferreira Barros M, Ortolani MBT, Beloti V, De Melo Franco B, (2008). Listeria monocytogenes and Salmonella spp. In raw milk produced in Brazil: Occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. Zoonosis and public health. 2008; 55(6) :299-305.

[13]- WHO (World Health Organization). (2003). Basic Laboratory procedures in clinical bacteriology. Geneva. Switzerland.

[14]- Tholen, D.,(2006)CLSI evaluation protocols. Medical Laboratory Observer . **38**(8): p. 38-41.

[15]- Sharma, D., Sharma, P. K., Saharan, B., & Malik, A, (2012). Isolation, identification and antibiotic susceptibility profiling of antimicrobial resistant Listeria monocytogenes from dairy milk. Int J Microb Resour Techno, 1(1), 1-4.

[16]- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D., & Kihal, M, (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21(5), 579-588.

[17]- Tyasningsih, W ,.et al.,(2022). Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus and Escherichia coli isolated from raw milk in East Java, Indonesia. Veterinary World,. **15**(8): p. 2021.

[18]- Garbaj, A.M., et al.,(2016). Enterohemorrhagic Escherichia coli O157 in milk and dairy products from Libya: Isolation and molecular identification by partial sequencing of 16S rDNA. Veterinary world,. **9**(11): p. 1184.

[19]- Makovec, J.A. and P.L. Ruegg, (2003).Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994–2001). Journal of the American Veterinary Medical Association,. **222**(11): p. 1582-1589.

[20]- Hleba, L., et al.,(2011). Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae genera and Salmonella spp., Salmonella enterica ser. typhimurium and enteritidis isolated from milk, cheese and other dairy products from conventional farm in Slovakia. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences,. **1**(1): p. 1-20.

[21]- Tajbakhsh, F., et al.,(2012). Occurrence and antibiotic resistance of Salmonella spp Isolated from raw cow's milk from Shahahrekord, Iran. International Journal of Microbiological Research,. **3**(3): p. 242-245.

[22]- Nobrega, D.B., et al.,(2021). Molecular characterization of antimicrobial resistance in Klebsiella pneumoniae isolated from Brazilian dairy herds. Journal of dairy science,. **104**(6): p. 7210-7224.

[23]- Osman, K.M., et al., Phenotypic, (2014).antimicrobial susceptibility profile and virulence factors of Klebsiella pneumoniae isolated from buffalo and cow mastitic milk. Pathogens and global health,. **108**(4): p. 191-199.

[24]- EL-KHABAZ, K., et al., (2011).Studying the occurrence of clumping factor gene in staph aureus isolated from cases of subclinical mastitis and the effect of such pathogen on milk composition .Assiut Veterinary Medical Journal,. **57**(129): p. 1-17.

[25]- Rahimi, E., M. Ameri, and H. Momtaz,(2010.). Prevalence and antimicrobial resistance of Listeria species isolated from milk and dairy products in Iran. Food Control, **21**(11): p. 1448-1452.

[26]- Kevenk, T.O. and G. Terzi Gulel,(2016). Prevalence, antimicrobial resistance and serotype distribution of Listeria monocytogenes isolated from raw milk and dairy products. Journal of Food Safety. **36**(1): p. 11-18.