جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

دراسة العوامل المثلى في تكوين وتثبيط الاغشية الحيوية لبكتريا *Staphylococcus aureus*

آمنة طه حسين السالم

رسالة ماجستير
علوم الأغذية

اشراف
الدكتور طارق زيد إبراهيم
مدرس

1444 هـ
2022 م

الخلاصة

تركزت هذه الدراسة حول تأثير العوامل المثلى في تكوين وتثبيط الأغشية الحيوية لبكتريا *Staphylococcus aureus* تم الحصول على عزلتين منها واجري اختبار التشخيص باستخدام شرائح (API20staph) واظهرت نتيجة الاختبار بأن العزلات تابعة لبكتريا *St. aureus* كما تبين من نتائج التحري المظهري، تكوين الأغشية الحيوية بطريقة صفيحة (Tissue Culture Plate) إذ ان للعزلتين القابلية على تكوين الأغشية الحيوية واعطى اختبار المجهر الضوئي بأستخدام صبغة كرام التفريقية إذ اعطى نتائج واضحة عن الشكل والتركيب للغشاء الحيوي .

واظهر اختبار تأثير درجة الحرارة في لوغاريتم عدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية ان المدى الحراري الامثل لتكوين الأغشية الحيوية كان 25–37م° لمدة حضن 24 ساعة، إذ بلغ معدل نمو الاغشية الحيوية عند 25 م° في العزلتين الأولى والثانية 8.6989 و 8.6020 خلية/ مل ،على التوالي ، وبعد مرور 48 ساعة من الحضن للعزلتين الأولى والثانية، كان معدل نمو الاغشية الحيوية 8.8750 و 8.7781 خلية/مل ،على التوالي، وكان أقل نمو للأغشية الحيوية عند درجة حرارة 8م° بعد مدة حضن 48 ساعة .

وأظهر اختبار الأس الهيدروجيني الأمثل تأثيراً واضحاً في تكوين الأغشية الحيوية إذ بلغ لوغاريتم عدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية عند الاس الهيدروجيني 6 في العزلتين الأولى والثانية 7.30102 و7.47712 خلية /مل ،على التوالي، وعند الاس الهيدروجيني 7 بلغ لوغاريتم عدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية في العزلتين الاولى والثانية 8.39794 و 8.47712 خلية/مل ،على التوالي ، ولوحظ تثبيط تكوين الاغشية الحيوية عند الأس الهيدروجيني 3 إذ بلغ لوغاريتم عدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية في العزلتين 5.17609 خلية /مل .

واعطى اختبار مرق الصويا والتربتكيس المحور بأضافة السكريات ان سكر الكالكتوز عند التركيز 1.5% وكون اعلى معدل نمو للأغشية الحيوية وتلاه الفركتوز ثم الكلوكوز والسكروز إذ إن الأخير أعطى اقل نمو للأغشية الحيوية، أما اقل نمو للأغشية الحيوية فكان عند تركيز 0.5% في جميع السكريات المستخدمة ،على التوالي .

واظهرت البكتريا المقاومة العالية في تكوين الأغشية الحيوية في اختبار تأثير كلوريد الصوديوم فقد استمر التكوين حتى عند التركيز 8% من كلوريد الصوديوم ،أما عند التركيز 3% من كلوريد الصوديوم

فقد أعطت أعلى نمو، في حين لوحظ انخفاض انتاج الأغشية الحيوية عند تركيز 0.5% من كلوريد الصوديوم .

واظهر اختبار تأثير الاحماض العضوية للتركيز المثبط الأدنى في أحماض اللاكتيك والخليك والكوجيك عند تركيز 0.625 % للعزلتين وحامض الستريك وعند تركيز 0.312% للعزلتين، أما التركيز القاتل الأدنى فكان متشابها في حامض اللاكتيك والخليك عند تركيز 1.25 % وفي حامض الكوجيك كان بتركيز 2.5% وفي حامض الستريك كان بتركيز 0.312% في العزلتين وتم اجراء تداخل بين الحوامض ،إذ تبين ان استخدام كل حامض على حدى أفضل من استخدامها مدمجة كون نقطة التثبيط في جميع الحوامض أعلى مما لو كانت مدمجة إلا عند دمج حامض اللاكتيك مع حامض الخليك فاعطى نتيجة تثبيط عالية للاغشية الحيوية .

وانتجت البكتريا الأغشية الحيوية على الأسطح المختلفة وان أفضل الأسطح استخداما في معامل تصنيع وتجهيز الأغذية هي الأسطح المصنعة من الحديد غير القابل للصدأ(Stainless steel) .

Summary

The study focused on the effect of optimal factors and conditions on the formation and inhibition of biofilms of *Staphylococcus aureus*. Two isolates were obtained from them and a diagnostic test was conducted using (API20staph) slides. The test result showed that the isolates belong to St. aureus, as it was shown from the results of the phenotypic investigation, the formation of biofilms by the Tissue Culture Plate, as the two isolates have the ability to form biofilms, and the light microscopy test was given using the Gram Stain Kit, which gave clear results about the shape and structure of the biofilm

The test of the effect of temperature on the logarithm of the number of living cells of biofilms showed that the optimum thermal range for the formation of biofilms was 25-37 ºC for a period of 24 hours incubation, as the growth rate of biofilms at 25 ºC in the first and second isolates was 8.6989 and 8.6020 cells/ml, respectively. And after 48 hours of incubation for the first and second isolates, the growth rate of biofilms was 8.8750 and 8.7781 cells/ml, respectively, and the lowest growth of biofilms was at a temperature of 8°C after 48 hours of incubation.

The optimum pH test showed a clear effect on the formation of biofilms, as the logarithm of the number of live cells of biofilms at pH 6 in the first and second isolates was 7.30102 and 7.47712 cells/ml, respectively, and at pH 7, the logarithm of the number of living cells of biofilms in The first and second isolates were 8.39794 and 8.47712 cells/ml, respectively. It was noted that biofilm formation was inhibited at pH 3, as the logarithm of the number of live cells of biofilms in the two isolates reached 5.17609 cells/ml. The test of Trybticase Soya Broth by adding sugars showed that galactose sugar at a concentration of 1.5% had the highest growth rate for biofilms, followed by fructose, then glucose and sucrose, as the latter gave the least growth of biofilms, while the inhibition of biofilms was at a concentration of 0.5% in all sugars used in succession.

Summary

The test of soy broth and Trybticase with the addition of sugars gave the sugar galactose at a concentration of 1.5% and had the highest growth rate for biofilms, followed by fructose, then glucose and sucrose, as the latter gave the least growth of biofilms, while the lowest growth of biofilms was at a concentration of 0.5% in all sugars used. Straight .

The bacteria showed high resistance in the formation of biofilms in the test of the effect of sodium chloride, the formation continued even at a concentration of 8% of NaCl, while at a concentration of 3% of NaCl it gave the highest growth, while it was observed that the production of biofilms decreased at a concentration of 0.5% of NaCl. Sodium chloride .

The test of the effect of organic acids showed the minimum inhibitory concentration in lactic, acetic and kojic acids at a concentration of 0.625% for the two isolates and citric acid and at a concentration of 0.312% for the two isolates. It was at a concentration of 0.312% in the two isolates and an interaction was conducted between the acids, as it was found that using each acid separately is better than using them combined, since the point of inhibition in all the acids is higher than if they were combined except when lactic acid is combined with acetic acid, which gave a high inhibition result for the biofilms

The bacteria produced biofilms on different surfaces, and the best surfaces used in food processing and manufacturing plants are stainless steel surfaces.

University of Al Mosul
College of Agriculture and Forestry

Study of optimal factors in the formation and inhibition of biofilms of *Staphylococcus aureus*

Amina Taha Hussein Al-Salim

M.Sc. Thesis

Food Science

Supervised

by

Dr. Tariq Zaid Ibrahim

Lecturer

2022A.D **1444 A.H**