SEBHA UNIVERSITY - LIBYA

كلية العلوم- قسم علم النبات

رسالة مقدمة استكمالا لمتطلبات الاجازة العالية (الماجستير)

في علم النبات بعنوان:

دراسة تأثير العسل الطبيعي ومستخلص صمغ النحل ضد بعض الميكروبات الممرضة للإنسان

Antimicrobial effect of natural Libyan honey & propolis extract against some human pathogens'

إعداد الطالبة /

خديجة عبدلله محمد آدم

إشــراف /

د. يونس أبوبكر علي الخيالي

العام الجامعي

2018-2017

دولة ليبيا

SEBHA UNIVERSITY - LIBYA

جامعة سبها / كلية العلوم

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الإجازة العالية (الماجستير)

(في علم النبات)

اسم الطالب : **.خديجة عبدالله محمد ادم**

بتاريخ: 10 / 11 / 2018 م

قسم علم النبات (كلية العلوم – جامعة سبها)

أعضاء لجنة الإشراف **التوقيع**

1.	. يونس أبوبكر علي الخيالي	مشرف	

مدير مكتب الدراسات العليا بكلية العلوم

دولة ليبيا

SEBHA UNIVERSITY - LIBYA

جامعة سبها / كلية العلوم

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الإجازة العالية (الماجستير)

(في علم النبات)

اسم الطالب : **.خديجةعبدالله محمد ادم .**

بتاريخ: ..10 / 11. / 2018 م

قسم علم النبات (كلية العلوم – جامعة سبها)

أعضاء لجنة المناقشة **التوقيع**

.1	يونس ابوبكر علي الخيالي	مشرفا ومقررا	
.2	احمد صغير الذبوب	ممتحنا خارجيا	
.3	عبدالهادي البصير	ممتحنا داخليا	

مدير مكتب الدراسات العليا بكلية العلوم

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ مَثَلُ الْجَنَّةِ الَّتِي وُعِدَ الْمُتَّقُونَ فِيهَا أَنْهَارٌ مِّن مَّاء غَيْرِ آسِنٍ وَأَنْهَارٌ مِن لَّبَنٍ
لَّمْ يَتَغَيَّرْ طَعْمُهُ وَأَنْهَارٌ مِّنْ خَمْرٍ لَّذَّةٍ لِّلشَّارِبِينَ وَأَنْهَارٌ مِّنْ عَسَلٍ مُّصَفًّى ﴾.

سورة محمد آية 15 .

الشكر والتقدير

الحمد الله رب العالمين والصلاة والسلام على اشرف الانبياء والمرسلين نبينا محمد وعلى آله وصحبه اجمعين اما بعد :

الشكر لله اولاً واخيرًا ، فله الحمد كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه ، له الحمد والشكر على نعمه التي لا تعد ولا تحصى، اللهم لك الحمد على اتمام رسالتي هذه ، والحمد الله الذي وهبني علما وعلمني مالم اكن اعلم .

يسرني ويشرفني ان اتقدم من اعماق قلبي بوافر الحب والشكر والتقدير والعرفان والوفاء لأعضاء هيئة التدريس بقسم النبات بكلية العلوم جامعة سبها

وكل الشكر والتقدير لمشرف هذه الرسالة الدكتور/ يونس ابوبكر الخيالي، اشكر لك ما قدمته لي من معلومات قيمة وجهد متواصل وتوجيه سديد .

الى كل من علمني حرفً، اصبح سنا برقه يضيئ طريقي ،ومن اضاء بعلمه عقل غيره او هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه ، فاظهر بسماحته تواضع العلماء وبرحابته سماحة العارفين

اقدم شكري لكل من الدكتور صالح محمد والشكر موصول للدكتور أبوبكر إبراهيم والدكتور عبدالقادر الزين لدعمهم المتواصل لي في مسيرتي العلمية ، تاهت امام عطائكم عباراتي وتناثرت على طول المدى كلماتي ، وتساقطت الحروف امام جميع المفردات التي تحمل معاني الشكر والثناء لكم ، الشكر موصول لكل من الاستاذة الفاضلة مسعودة خليفة والاستاذة ابتسام حمادي فلكم مني جزيل الشكر والعرفان .

واخيراً يعجز قلمي عن ذكر كل من يستحق الشكر والثناء فلكل من ساهم قدر المستطاع بكتاب او معلومة او جهد او دعاء فلهم مني خالص الشكر وعظيم الامتنان، وادعو الله تعالى القدير ان يجزيهم خير الجزاء انه سميع مجيب .

الباحثة

الإهداء

الى المعلم الامي الذي تجلت اولى كلمات رسالته باقرا

الحبيب محمد صلى الله عليه وسلم

اهداء مغلف بالوفاء والمحبة ،الى سندى وقوتي ،الي من علمني ان الاعمال الكبيرة لا تتم الا بالصبر والعزيمة والاصرار، الي من شق طريقي الي هدفي

(ابي وامي) البسهما الله ثوب الصحة والعافية ومتعني ببرهما ،،،اهدي لهما ثمرة من ثمار غرساها.

الى من كانوا يضيئون لي الطريق ويساندوني في لحظات ضعفي ويتنازلون عن حقوقهم الذين كان لوجودهم في حياتي ولكلماتهم الأثر الطيب لإرضائي ، احبكم حبا لو مر على ارض قاحلة لتفجرت منها ينابيع المحبة

(اخواني واخواتي)

الي رفيقة دربي واختي التي لم تلدها امي، الي من شاركتني اللحظات السعيدة ولذة الانجاز ووقفت معي في الصعاب، وكانت نورا لي في لحظات الظلمة (امنة خالد احسين)

اهديك ما جاد به قلمي

الي من كان وفائهم وعطائهم الجانب الجميل في حياتي ،وكانت صحبتهم مليئة بالمحبة والاخاء اهدي لكم رسالتي هذه لعلها ترد القليل من عطائكم السخي

زميلاتي

الملخــص

تهدف الدراسة الحالية لتقيم النشاط المضاد للعسل والعكبر الليبي ضد عدد من الميكروبات الممرضة وهي كالتالي: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Bacillus Cereus , and Salmonella choleraesuis, Proteus vulgaris*

بالإضافة الي فطر *Candida albicans* وذلك باستخدام طريقة الانتشار في وسط الآجار (well diffusion method)

وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها امتلاك كل من العسل و العكبر فعالية مضادة للميكروبات قيد الدراسة ، هذا الفعل المضاد يختلف باختلاف العينة والميكروب والتركيز، حيث كان افضلها عسل السدر بمتوسط قطر منطقة تثبيط (29.38 مم) يليه عسل الحنون (24 مم) وبينما كان الاقل تأثير هو عسل الشبرو بمتوسط (5.1مم)،اما بالنسبة لمستخلصات العكبر فقد كانت مستخلصات عكبر المنطقة الغربية افضل خاصة المستخلص الخام بالكلورفورم الذي كان له تأثير قاتل ومبيد للميكروبات يليه مسخلص العكبر بالأسيتون (32.42مم) في حين الاقل تأثير مستخلص عكبر المنطقة الشرقية بالأسيتون بمتوسط (10.45مم) ، وبالمقارنة بين فعالية هذه المواد والمضادات الحيوية التجارية شائعة الاستخدام تبين أن تأثير كل من العسل ومستخلصات العكبر فاق تأثيرها المضادات الحيوية التجارية المستخدمة في الدراسة .

فهرس المحتويات

الفصل الاول 13

1. المقــــــــــــــدمة INTRODUCTION 1
. 1.2.عسل النحل 2
2.2. . العكبر 4

2. الدراســات الســــــــــابقة LITERATURE REVIEW 6

3. الهــدف من الدراســة 8

الفصـــــــل الثـــاني 24

المـــــــــــواد والطرق 24
1.2-جمع العينات SAMPLE COLLECTIONS 9
2 .2. عينات العسل المستخدمة في الدراسة 10
1.3.2.اختبار التأكد من عدم تلوث العسل 11
2.3.2. قياس الاس الهيدروجيني PH: 11
3.3.2.التخمر 11
4.3.2.التبلور 11
5.3.2.اللزوجة: 12
6.3.2. تحديد لون العسل 12
2 .4. تحضير مستخلصات العكبر : 12
1.4.2.المستخلص المائي 12
2.4.2.الاستخلاص باستخدام المذيبات : 12
2 .5. العزلات الميكروبية: 13
6.2. اختبارات التعريف 13
2 .7 .فحص حساسية الميكروبات قيد الدراسة للمضادات الحيوية التجارية: 15
2 .8. تحديد أقل تركيز مثبط MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION 15
2 .9 .التحليل الاحصائي : 15

الفصـل الثالـــث 16

النتـــــائـــج 16
1.3- تعريف العزلات الميكروبية 17
2.3- الاختبارات المكروبيولوجية والخواص الفيزيائية لعينات العسل 20
2.3- حساسية الميكروبات للمضادات الحيوية التجارية 21
3.3- تقييم التأثير المضاد للعسل ضد الميكروبات المختبرة 22
4.3- تقييم التأثير المضاد لمستخلصات العكبر ضد الميكروبات المختبرة : 43
الفصـــــــل الرابع.. 59
المناقشة.. 59
الخلاصـــــــة 64
التوصيات 66
الملاحـــــــق 67
ملحق 1 68
ملحق 2.. 69
ملحق 3.. 78
المراجـــع 97

فهرس الجداول

جدول (1) يوضح اصناف العسل المستخدم في الدراسة...10

جدول (2) يوضح أماكن جمع العزلات الميكروبية 13

جدول (3) الصفات المظهرية للبكتيريا المستخدمة في الدراسة.................................17

جدول (4) نتائج الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا المختبرة..18

جدول (5) الصفات التشخيصية لخميرة المبيضات *C. albicans* ....18.

جدول (6) الخواص الفيزيائية لعينات العسل قيد الدراسة...20

جدول (7) اختلاف قطر مناطق التثبيط للبكتيريا المختبرة باختلاف المضاد الحيوي 21

جدول (8) متوسط أقطار مناطق التثبيط ب مم لتركيز المختلفة لعينات العسل..........................23

جدول رقم (9) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم................45

جدول رقم (10) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالاسيتون...................46

جدول رقم (11) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالميثانول..................48

جدول رقم (12) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالإيثانول..................48

جدول رقم (13) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم............51

جدول رقم (14) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالإيثانول.................52

جدول رقم (15) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالأسيتون.................54

جدول رقم (16) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالميثانول................55

جدول رقم (17) يوضح أفضل التركيز للعسل ومستخلصات العكبر**..................................57**

فهرس الاشكـــــــال

شكل (1) خريطة ليبيا (مناطق جمع العينات)..9

شكل(2) فطر *Candida. albicans* 19

شكل(3) اختبار السكر الثلاثي و الأوكسيديز 19

شكل (4) نتائج اختبار API E20 19

شكل (5). حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية 22

شكل (6) يوضح قطر منطقة التثبيط لعسل السدر لتركيز 100%....................................25

شكل(7) منطقة التثبط لعسل السدر على بكتريا *E. coli* بتركيز 75% 25

شكل (8) تأثير مثبط لعسل الأثل *B .Cereus* عند التركيز 100% 26

شكل رقم (9) متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل الخام.................................... 26

شكل رقم (10) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل السدر 27

شكل رقم (11) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الاثل 28

شكل رقم (12) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل حبة البركه....................29

شكل رقم (13) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الحنون 30

شكل رقم (14) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الخروب........................31

شكل رقم (15) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الخلط...........................32

شكل رقم (16) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الربيع 33

شكل رقم (17) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الزعتر..........................34

شكل رقم (18) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشبرو..........................35

شكل رقم (19) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشمع(سلوق) 36

شكل رقم (20) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشمع(البيضاء)...............37

شكل رقم (21) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشوك............................38

شكل رقم (22) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الكافور (طرابلس) 39

شكل رقم (23) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الكافور (الجبل الاخضر).....40
شكل رقم (24) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل المن............................ 41
شكل رقم (25) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الميلا..............................42
شكل (26) تأثير مستخلص العكبرالغرب بالكلوروفورم عند التركيز 100% 44
شكل رقم (27) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم..................44
شكل رقم (28) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالأسيتون........................45
شكل (29) تأثير مستخلص عكبر الغرب بالأسيتون عند التركيز 100%..............................46
شكل رقم (30) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالميثانول........................47
شكل رقم (31) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالإيثانول........................49
شكل رقم (32) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم.................50
شكل رقم (33) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالإيثانول....................... 51
شكل رقم (34) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالأسيتون.......................53
شكل (35). يبين تأثير التراكيز المختلفة مستخلص عكبر الشرق بالميثانول...........................55
شكل رقم (36) متوسط أقطار مناطق التثبيط لأفضل التراكيز لكل من العسل والمستخلصات العكبر...56
شكل(37) تأثير عسل الشبرو عند التركيز100% 58

الفصل الاول

المـقدمـــــة والدراســـات السابقـــة

1. المقـــــــــــــدمة Introduction

تعد المقاومة العلاجية للميكروبات من المشاكل الكبيرة والهامة التي تواجه مجتمعاتنا، اذ ان الاستعمال الواسع العشوائي وغير المنتظم للمضادات الحيوية يؤدي الي تطور وانتشار صفة المقاومة ، وهي مشكلة قائمة مند فترة طويلة وذلك بسبب عدم اكتشاف مضادات جديدة على مدى السنوات القليلة الماضية ، وتكلفة انتاجها الباهظة وآثارها الجانبية زاد من الأخطار التي تهدد الصحة العامة، فهي تحد من فعالية العلاج، لذا يبقى المرضى ناقلين للعدوى لمدة أطول، الأمر الذي يزيد مخاطر انتشار الكائنات المجهرية المقاومة إلى أشخاص آخرين (World Health Organization, 2016) ؛ (Tenover, 2006) ومما أدى الي اهتمام الباحتين بالمواد الطبيعية التي كانت تستخدم سابقا كعلاج ، بالإضافة الي ازدياد عدد الأبحاث التي تثبت فاعلية هذه المواد، ومقدرتها الشفائية للسيطرة علي مقاومة الميكروبات ، والحصول علي علاج طبيعي ومقوي للمناعة (Kwakman and Zaat, 2012) و يمكن أن يكون التكامل بين الطب التقليدي مثل العلاج باستخدام الاعشاب ومنتجات النحل، والطب الحديث هو الخيار الأفضل لعلاج المرضى (Bogdanov, 2014؛Eteraf *et al*,2013)

جزء من هذا الدراسة تم تقديمه كورقات علمية في المؤتمر العلمي الأول لطلبة الدراسات العليا - جامعة سبها- كلية العلوم الهندسية و التقنية، الذي عُقد في مدينة براك الشاطئ في الثامن عشر من شهر ابريل 2017 م، وفي المؤتمر الدولي الاول للعلوم والتكنولوجيا الذي عقد في مدينة سبها في الثاني عشر من شهر فبرير 2018 ، ملخصات هذا البحوث مرفقة في الملحق رقم (1).

يعود تاريخ العلاج بالنحل و منتجاته الي القرن التاسع عشر، وقد تمت معرفة القليل من المعلومات عن تربية النحل وطريقة جمع العسل من المستعمرات البرية ،وتعتبر الحفريات واللوحات الصخرية اكبر دليل علي ذلك ،وفي مرحلة ما قام الانسان قديما بتربية النحل للاستفادة منه، وذلك باستخدام الخلايا المصنوعة من جذوع الأشجار المجوفة، والحاويات الخشبية، والأواني الفخارية، وسلال القش المنسوجة ، ولا يقتصر إنتاج النحل على العسل فقط على الرغم من إنهُ المنتج الأهم و الأكثر شهرة فهناك الغذاء الملكي Royal jelly وحبوب اللقاح pollen grain وشمع النحل Bee waxو صمغ النحل proplis وسم النحل Bee venom وكل هذه المواد عظيمة الفائدة للإنسان غذائياً وعلاجياً ويعد كل من العسل و العكبر من أقدم المواد الطبيعية التي استخدمها إنسان العصر القديم كغذاء ودواء (Kwakman *et al.*, 2011)؛ Zainol*et al*, 2013)، وهذا ما اشارت اليه المخطوطات و البرديات القديمة التي تعود للحضارات السابقة كالمصرية والسومرية والإغريقية واليونانية والكتب القديمة للصينيين والهنود، حيث اوضحت النقوش المرسومة علي جدران المعابد الفرعونية انهم استخدموا العسل و العكبر في التحنيط للحافظ علي أنسجة المومياء، وفي الصحة والجمال ولعلاج تقرحات الفم وكوسيلة لتسريع التئام الجروح (Mandal and Mandal, 2011) (Weston, 2000)

وقد اكتسب العلاج بمنتجات النحل اهتمامًا كشكل من أشكال الطب الشعبي الوقائي؛لعلاج العديد من الأمراض وتعزيز الصحة العامة (Brodschneider and Crailsheim, 2010)؛ (Gómez- Caravaca *et al.*, 2006) فالتداوي بالنحل و منتجاته علم جديد يسمى Apitherapia، كما اصبح العلاج بمنتجاته أحد ركائز الطب البديل ((Eva Crane, 2004).

. 1.2.عسل النحل

هو سائل حلو كثيف القوام، ذو لزوجة عالية، يختلف في صفاته الطبيعية (اللون ،الرائحة ،النكهة ،الكثافة ،الدرجة ، الرطوبة وقابليته للتبلور)، وفي تركيبه الكيميائي باختلاف كل من الزهور المستمد منها الرحيق وحبوب اللقاح، ونوع الشغالة التي جمعت كل ذلك، ووقت الجمع فهو الغذاء الطبيعي لنحل العسل وماهو إلا رحيق الأزهار، بعد أن تقوم الشغالات من جنس Apis بتجهيزه وهضمه ،ليتحول إلى عسل ناضج يخزن بالأقراص الشمعية، ويتم تحويل الرحيق إلى عسل ،بواسطة عدة انزيمات منها: أنزيم الأنفرتاز الذي يحول السكريات الثنائية إلى أحادية ، وأنزيم الأميلاز الذي يحول

المواد النشوية إلى مواد أبسط تعقيداً ، وفي الوقت ذاته تنخفض نسبة الرطوبة بالعسل بتبخيرنسبة كبيرة من الماء الموجود فيه لمنع حصول التخمر؛ (Jeffrey and Echazarreta, 1996)

اما المواصفة القياسية العالمية,**Codex Alimentarius Commission** **(1987)** فقد عرفت العسل بانه مادة طبيعة حلوة ،ينتجها نحل العسل من رحيق ازهار النباتات او من إفرازات بعض الحشرات التي تعيش على اجزاء النباتات الحية ،والتي يقوم النحل بجمعها وتحولها ومزجها مع مواد خاصة ،يفرزها النحل نفسه ويخزنها في اقراص شمعية ثم يتركها حتى تنضج، ويدخل في تركيب العسل ما يزيد عن سبعين مادة مختلفة، اهمها السكر ويشتمل على 15 نوع منه .، كما يحوي ما يزيد على 9 انواع من الانزيمات، واثنى عشر نوعاً من الاحماض العضوية التي تنتقل إلى العسل من غدد النحلة وما يزيد على عشرين نوعاً مختلفاً من الاملاح المعدنية، ومن سبعة إلى خمسة عشر نوعاً مختلفاً من الاحماض الامنية وستة انواع على الاقل من الفيتامينات بالإضافة إلى الماء

.(Codex Alimentarius, 2001)

ويتنوع عسل النحل حسب مصدر الرحيق ؛ من أزهار أو إفرازات النباتات المختلفة ،ويختلف تبعا لذلك لون العسل ورائحته وطعمه وقابليته للتبلور والكثافة والقلوية وحتى بعض مكوناته ولو بنسب قليلة ،وهناك عوامل أخري أيضا تؤثر على صفات العسل مثل نوع التربة ،والعوامل الجوية لذا من النادر الحصول علي عينتين من العسل متشابهتين في كل الصفات والتركيب ،وحتى لو كانت من مصدر نباتي واحد ،إلا أن الاختلاف يقل في هذه الحالة (Crane, 1990).

كما ان نوعية الرحيق وطبيعة المصدر النباتي الذي جمع منه ،والظروف البيئية المحيطة ،وطبيعة التربة التي تنمو عليها النباتات التي جمع منها الرحيق ، يحدد بشكل كبير نوعية العسل المنتج وطبيعة المواد الموجودة فيه. فالمصادر الغذائية لنحلة العسل مصادر متنوعة حسب طبيعة وفرتها في البيئة التي تعيش فيها النحلة وهذه المصادر تتضمن الرحيق وحبوب اللقاح والتي تقوم عاملات تدعى pollen foragers بجمعها وخزنها في العيون السداسية الشمعية ، ويستطيع النحل تدارك أي نقص في حبوب اللقاح من خلال زيادة آلية جمع حبوب اللقاح.، من المصادر الاخرى المهمة للنحل والتي يحصل على الرحيق من خلالها مثل الندوة العسلية honeydew فهي سائل حلو المذاق تفرزه حشرات متشابهة الاجنحة Homoptera منها المن ،وكذلك عصارة بعض الفواكه الناضجة مثل العنب

والمشمش والتمر وهذه المواد غنية بالسكروز ،لذا فاغلب سكريات الرحيق هي السكروز والجلوكوز والفركتوز.(Michener, 2000) .

وترجع اهمية العسل في علاج الامراض لعدة أسباب منها قدرته العالية على تثبيط نمو البكتريا بسبب احتواءه على مادة تسمى Inhibine و هي مادة بيروكسيد الهيدروجين(Hydrogen Peroxide) بالإضافة الي الأحماض الفينوليه التي لها تأثير مثبط لنمو الجراثيم والتأثير الأسموزي للعسل ، الناتج عن المكونات السكرية التي تسبب تكسر الجدران الخلوية للبكتيريا والحموضة العالية وقلة احتواءه على الماء الذي يؤدي إلى زيادة تركيز السكريات والأحماض الأمنية والعضوية وبالتالي زيادة حموضة العسل.، كما ان اللزوجة العالية تمنع البكتريا من اختراق الانسجة وتكوين مستعمرات علي سطوح الجروح بالإضافة لاحتوائه على أنزيمات الأكسدة والاختزال (Kwakman *et al.*, 2010)، كما ان احتواء العسل على نسبة مرتفعة من عنصر البوتاسيوم يسحب من الجراثيم رطوبتها المائية الضرورية لحياتها نظرا لشراهته لامتصاص الماء فتموت الميكروبات بسبب جفافها ، كما يحتوي علىو حامض الفورميك الذي يعتبر من أفضل المواد المضادة للعفونة ،و المصدر النباتي للعسل والذي يعطيه تلك الإمكانية العالية في تثبيط نمو البكتريا والميكروبات لأخرى، بسبب احتوائه علي حبوب اللقاح لنباتات مختلفة . وهذه العوامل جميعها لها دور في هذا التثبيط الميكروبات باختلاف انواعها

.(Bogdanov, 2014؛Brown *et al.*, 2014)

2.2. العكبر

هو احد منتجات النحل ذات الأصل النباتي التي يجمعها النحل من قلف الاشجار والاوراق وبراعم بعض الأشجار كالنخيل والصنوبريات وغيرها، وتمزج هذه المواد مع انوع مختلفة من الانزيمات الفعالة التي تفرز من الغدد الموجودة في رأس وصدر النحلة ، ويستخدمها النحل ضد أي انحلال في الخلية و غلق الفتحات والتشققات في الخلية، ولتغطية الحشرات الميتة داخل الخلية ،كما تقي هذه المواد الخلية من الابتلال بالماء وتحفظها من مهاجمة الحشرات، و لمنع تلوث الخلية بالبكتيريا والفطريات. يعتمد تركيب العكبر على النباتات المحلية و الخصائص الجغرافية و المناخية للموقع، وهي ما يفسر التنوع الكبير لتركيبه ، وذلك لا يمنع أن تكوينه الأساسي يحتوي على الكثير من المواد المتواجدة بصفة ثابتة ومستقرة نسبيا مهما تنوع المصدر، وذلك راجع للنحل الذي يضيف بعض الافرازات اللعابية و الشمع للمادة الصمغية الخام (Castaldo and Capasso, 2002) ومن المعروف انه يمتلك أنشطة مضادة للميكروبات ومضادة للأكسدة، و القرحة ومكافحة الأورام ، وهذه الاسباب هي

التي دفعت الباحثين للإهتمام به في السنوات الأخيرة باعتباره مادة مفيدة ومن الممكن استخدمه في الطب ، فهو واحد من المضادات الحيوية الطبيعية الأكثر فعالية التي تتميز بطيف واسع جدا من التأثير(Lotfy, 2006؛Harrison *et al*., 2015)، كما يمكن استخدامه في العلاج دون الخوف من إحداث أي مقاومة للمضادات الحيوية أو استهلاك للغطاء النباتي (Buriol *et al*., 2009) .

اما بالنسبة لتركيبه الكيميائي فهو يتكون بشكل عام من المادة الصمغية بنسبة 50% والرحيق النباتي 30% وزيوت عطرية اساسية بنسبة 10%وحبوب الطلع 5% اضافة الي 5%من مواد منها الاحماض العضوية والزيوت الطيارة والفيتامينات والكثير من الفلافونيدات والتي تعتبر مسؤولة عن مجمل خواص العكبر (Mohammadzadeh *et al*., 2007) .

2. الدراسات السابقة Literature Review

لقد حظي عسل النحل باهتمام العديد من الشعوب و الحضارات القديمة، باعتباره مفيد لصحة العامة (Eva Crane, 2004)، وهو هبة الله للإنسان ففيه شفاء للناس وهذا يتجلى في قوله تعالى في سورة النحل الآية 69 { فيه شفاء للناس ان في ذلك لآية لقوم يتفكرون}.

أظهرت العديد من الدارسات امتلاكه تأثير مضاد للميكروبات الممرضة للإنسان حيث اثبت Bogdanov عام (1984) ان العسل مفيد لعلاج الجروح فهو يمنع الميكروبات من النمو ، وذكر هذا الباحث في ذلك الوقت ان العسل ربما سيحل يوماً محل المضادات الحيوية وبينت دراسة لاحقة ان له القدرة علي مكافحة الكائنات الحية الدقيقة؛ بما في ذلك البكتيريا الموجبة والسالبة الجرام والبكتيريا الهوائية واللاهوائية، وبعض الانواع من الفطريات *Aspergillus, Penicillium*، وكذلك بعض الانواع من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية مثل *Pseudomonas, Acinetobacter, staphylococcus aureus* (Boorn *et al.*, 2010؛Zbuchea, 2014) كما قام Okhiria واخرون (2009) بدراسة تأثير تراكيز مختلفة من العسل على الأغشية الحيويه للبكتريا لمدة 24 ساعة، ولاحظ ان التدرج في التركيز أدى إلى انخفاض تكوين الأغشية الحيويه ، وبالتالي القضاء عليها وبشكل نهائي وبمساعدة المضادات الحيوية التي كانت تقاومها هذه الأغشية في السابق ، كما أن استخدام العسل يساعد في الحفاظ على مخزون المضادات الحيويه من خلال تأثيره على نمو البكتريا وتشكيل الغشاء الحيوي في إصابات الجروح (Alandejani *et al.*, 2009) , وفي نيجيريا اجريت دراسة سُجل فيها فعالية العسل النجيري ضد نمو عدد من الممرضات المعزولة من الغذاء (Mulu, *et al* 2005)(Andargachew *et al*, 2004) . وأظهرت دراسة اخرى قام بها Nishio, *et al* (2016) أن العسل الطبيعي يمتلك نشاط مضادات للبكتيريا موجبة وسالبة الجرام، وان البكتيريا موجبة الجرام اكثر حساسية من السالبة، بما في ذلك السلالات المقاومة للأدوية، وهذا ما يعزز من الاهتمام المتزايد لاستخدام العسل كعلاج للأمراض في ظل تنامي ظاهرة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية(Mercês *et al.*, 2013).

اما بالنسبة للعكبر فهو مادة طبية ذات مصدر نباتي، وفي الآونة الاخيرة استقطب اهتمام العديد من الباحثين، واستخدم في مجال علاج الامراض وصناعة مستحضرات التجميل، ،حيث أوضحت دراسة قام بها Kivalkina عام 1940 ان العكبر يمتلك نشاط مضاد لبكتيريا , *Streptococcus aureus* *Salmonella choleraeduis* بالإضافة لأنواع اخري من الميكروبات؛ وهذا النشاط المضاد للميكروبات تم درسته ايضا من قبل الباحث Lindenfelser عام 1967 ،حيث قام بجمع العكبر من

اماكن مختلفة من الولايات المتحدة الامريكية وفي مواسم مختلفة وأختبر تأثيره ضد 39 نوع من البكتيريا و الفطريات فكان له تأثير قوي ضد 20 نوع من البكتيريا والفطريات المدروسة (Hegazi & Abd El Hady, 2001)(Stepanović *et al.*, 2003).

كما أن مستخلص العكبر يعمل علي تثبيط نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* التي تلوث الجروح والحروق ، حيث يعمل المستخلص الكحولي للعكبر بالتعاضد مع نوعين من المضادات الحيوية (Cloxacillin,Streptomycin) لتثبيط بكتريا *Staphylococcus aureus* وأجناس أخري من البكتريا والفطريات، وللتركيب الكيميائي للعكبر دور مهم في النشاط المضاد للعديد من الميكروبات خاصة *Escherichia coli* , *Candida albicans* ، *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Enterococcus faecalis ,and Bacillus subtilis* (Buriol *et al.*, 2009)(Kujumgiev *et al.*, 1999)

كما تبين ان محاليله التي تحتوي على نسبة من الفلافانويدات تزيد عن (1 %) فقط كانت قادرة على محاربة الميكروبات لذلك فهي ترتبط بالنشاط البيولوجي له (Darwish *et al.*, 2010)، وترجع فاعلية العكبر لما يحتويه على مركبات عدة مضادة للأكسدة antioxidant و السرطان anticancer ومضادة للفطريات antifungal ومضادة للبكتريا antibacterial، وخصائصه المضادة ترتبط بالتركيب الكيميائي له الذي يختلف باختلاف الموسم والنباتات التي جمع منها، فالنسب المرتفعة للفلافونيدات والفينولات والاحماض العضوية تعمل علي الإضرار بالعمليات الايضية وهيكل الخلية من خلال منع انقسام الخلايا و تحطيم جدرانها وتغير السيتوبلازم الخاص بها ، وبهذا فهو يشترك مع كثير من المضادات الحيوية في الميكانيكية التي تعمل بها ومن هنا كان الهدف هو ايجاد بدائل طبيعية لتلك المضادات واثبات الفعل التآزري للعكبر والعسل مع بعض المضادات الحيوية في تثبيط الأحياء المجهرية (Kalogeropoulos *et al.*, 2009).

3. الهــدف من الدراســة

أولا: تقييم التأثير المضاد لعسل وعكبر النحل على بعض الميكروبات الممرضة للإنسان .

ثانيا: المقارنة بين فاعلية العسل الطبيعي والتجاري والعكبر من حيث التأثير في القضاء على الميكروبات المختبرة.

ثالثا :دراسة بعض الخواص الفيزيائية الطبيعية لعينات العسل

رابعا :اختبار حساسية الميكروبات قيد الدراسة للمضادات الحيوية التجارية الشائعة الاستعمال.

الفصـــــــل الثـــاني

المـــــــــواد والطرق

1.2-جمع العينات Sample collections

تم جمع عينات العسل من عدة مناحل في ليبيا (من المنطقة الشرقية الجبل الأخضر والغربية طرابلس والجنوبية سمنو) ،وصُنفت بمساعدة النحالين بالطرق التقليدية وذلك حسب نوع النباتات التي جمع منها الرحيق (تنوع الغطاء النباتي) والمراعي المستخدمة لتربية النحل، وحفظت في قناني زجاجية سعة لتر واحد وأغلقت بإحكام وحفظت بدرجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء لحين استخدامها،كما تم جمع كافة المعلومات المتعلقة بالعينات والتي تشمل وقت الجمع ونوع العسل. أما بالنسبة لعينة العسل المستورد من المملكة العربية السعودية (الشفاء) وعسل الزهور الصناعي فقد تم الحصول عليها من الأسواق التجارية وتم تسجيل تاريخ الإنتاج .

اما بالنسبة لعينات العكبر فقد تم الحصول عليها عند انتهاء موسم حصاد العسل وهي عينتان من العكبر الخام من منحلة بالمنطقة الغربية (طرابلس) وكذلك عينة من منحلة بالمنطقة الشرقية (البيضاء) ومن تم حفظت في اوعية محكمة الغلق ووضعت في التجميد عند درجة حرارة -20 م° لحين استخدامها.

شكل (1) خريطة ليبيا (مناطق جمع العينات)

2. 2. عينات العسل المستخدمة في الدراسة

استخدم في هذه الدراسة ستة عشر صنفً من العسل الطبيعي الليبي واثنان من العسل التجاري وهي كما هو موضح بالجدول رقم (1)

جدول(1) يوضح اصناف العسل المستخدم في الدراسة

brand	location	honey type \floral source	Local name	Production period
Sample .1	Tripoli	Thymus capitatus	Elzaater	25 March
Sample .2	Tripoli	Nigella sativa	Habat al Baraka	25 March
Sample .3	Benghazi	Eucalyptus	Elkafoor	22April
Sample .4	Green Mountain	Arbutus pavari	Elhaoon	22April
Sample .5	Tripoli	Multi flora	Elrabee	25 March
Sample .6	suluq	*Alhagi graecorum* Boiss	Elshook	22April
Sample .7	Samno	Tamarix aphylla	Elatheal	27 March
Sample .8	Tripoli	Ceratania siliqua	Elkharob	25 March
Sample .9	Suluq	Multiflora	Elkaleat	22April
Sample .10	Suluq	Multiflora	Elshamei	22April
Sample .11	Elbeida	Multiflora	Elshamei	18 May
Sample .12	Elbeida	Multiflora	Elsheebro	18 May
Sample .13	Green Mountain	Multiflora	Elman	8 May
Sample .14	Green Mountain	Eucalyptus	Elkafoor	8 May
Sample .15	Green Mountain	Ziziphus lotus	Elseder	8 May
Sample .16	Elbeida	Thymus serpyllum	Elmeala	18 May
Sample .17	Saudi Arabia	Multiflora	Alshefa	20 February
Sample .18	Benghazi	Artificial	Alzohor	20 February

2.3. تحليل عينات العسل ودراسة بعض الخواص :

من اجل التأكد من جودة العسل وعدم تعرضه لأي معالجة سواء كانت بالتسخين او اضافة أي مادة أخرى له، حيث تمت ومقارنته بالمواصفات الدولية المعتمدة للعسل وبعض النتائج المتحصل عليها في بعض دول العالم اجريت له الاختبارات الأتية لذلك الغرض وهي:

1.3.2.اختبار التأكد من عدم تلوث العسل

لتأكد من إن العسل معقم وخال من التلوث الميكروبي، تم تحضير محاليل من عينات العسل باستخدام الماء المقطر المعقم بمزج (10 جرام) من العسل مع(10 ملي) من الماء وأخذ منها بالماسحة القطنية كمية وزُرعت في اطباق بتري حاوية على أوساط Nutrient .agar ، MacConkey's agar ، Mannitol salt agar ،وحُضنت على درجة 37م لمدة 48 ساعة، للتأكد من عدم تلوث العسل بالبكتيريا وعلى وسط Sabouraud Dextrose agar عند درجة 37م° لمدة ثلاثة اسابيع للتأكد من عدم وجود الفطريات (Subrahmanyam, Hemmady and Pawar, 2001).

2.3.2. قياس الاس الهيدروجيني PH:

قدرت الحموضة في عينات العسل باستخدام جهاز PH meter، حيث تم مزج (10 جرام) من عينات العسل كل على حده مع (75 مللي) من الماء المقطر المعقم في دورق سعته (250 مللي) ومزج الخليط جيدا حتي تمام ذوبان العسل في الماء تم غمس الجهاز في الدوارق وسجلت نتيجة كل عينة (Ahmida *et al.*, 2013).

3.3.2.التخمر

تركت عينات الأعسال في القناني الزجاجية التي جمع فيها لمدة سنة كاملة تحت ظروف المختبر، وأُعتمد قياس الصفة بناء على تكون طبقة خفيفة بيضاء اللون على سطح العسل داخل عبوة الحفظ مما يدل على حدوث التخمر وفي حال عدم تكونها يعني ان العسل جيد ولم يتخمر (Boussaid *et al.*, 2013).

4.3.2.التبلور

تركت العينات نفسها لمدة سنة كاملة تحت ظروف المختبر، وسجلت ملاحظات نسبة تبلور عينات العسل تبلور جزئ ،كلي وغير متبلور وذلك وفق ما قام به (Boussaid *et al.*, 2013) .

5.3.2.اللزوجة:

تم قياس اللزوجة وفق ما جاء به (Ouchemoukh, Louaileche and Schweitzer, 2007) بإسقاط كرة من الرصاص وزنها (21.14) جرام في دورق زجاجي مدرج سعته (300 مل) مملوء بالعسل ،قطر فوهته (3.5 سم) وارتفاعه (30 سم) ، وتم حساب الوقت اللازم لوصول الكرة من سطح العسل الي قاع الدورق عند درجة حرارة 28° م ، واحتساب الوقت يحدد لزوجة كل نوع من أنواع العسل .

6.3.2. تحديد لون العسل

تم تحديد لون عينات العسل عن طريق قياس الكثافة الضوئية بدون تخفيف العسل حيث وضعت عينات العسل الخام في الانابيب الخاصة، وقيست الكثافة الضوئية لكل نوع على حدى باستخدام جهاز (Spectrophotometer) , وذلك على طول موجي(420) نانومتر، وتم تسجيل القراءة المتحصل عليها لكل عينية لمقارنتها بالموصفات الموصي بها (ElSohaimy *et al*, 2015).

2. 4. تحضير مستخلصات العكبر :

1.4.2.المستخلص المائي

تم وزن150 جرام من مسحوق العكبر واضيف اليه (500 ملي) من الماء المقطر المعقم ، وحرك المزيج على جهاز المحرك المغناطسي الحراري ليختلط العكبر مع الماء جيدا لمدة نصف ساعة ومن تم وضع المزيج في قناني معتمة اللون ومحكمة الغلق وحفظت على درجة حرارة الغرفة لمدة 48 ساعة مع الرج من 2 الي 3 مرات لفترة من 5- 10 دقائق . (Mohammadzadeh *et al.*, 2007)

2.4.2.الاستخلاص باستخدام المذيبات :

أُذيب (150 جرام) من مسحوق العكبر في (500 ملي) من مذيب(الإيثانول والميثانول والاسيتون والكلوروفورم) بتركيز 95% كل منها على حده، ووضعت في قناني معتمة محكمة الغلق ، وضع المزيج في الرجاج لمدة 30 دقيقة وحفظ في درجة حرارة الغرفة لمدة 7 ايام مع الرج بواقع 2-3 مرات يوميا لمدة 30 دقيقة لإتمام إذابة العكبر ومنعه من الالتصاق بجدران الدورق ،وثم رُشح المزيج باستخدام ورق الترشيح (Whatman paper No. 1) للحصول على المستخلص خالي من الراسب ، تم تبخير الراشح باستخدام الحمام المائي حيث وضع الإيثانول على درجة حرارة 65° م لمدة 20 دقيقة والميثانول على درجة 50° م لمدة 35 دقيقة والاسيتون 35 °م لمدة 30 والكلوروفورم 55° م

وكانت مدة التبخير 45 دقيقة، ومن تم وضع المحلول في جهاز الطرد المركزي بسرعة 278- 288 لفة/ دقيقة ،لمدة 30 دقيقة مع ايقاف الجهاز بشكل متعاقب 3 مرات ، و تم الحصول على مستخلصات رائقه ذات الوان من البني المائل الي الاسود والذهبي المحمر، ثم حفظت المستخلصات في قناني نظيفة و معتمة في الثلاجة عند درجة حرارة 5° م لحين استعمالها (Mohammadzadeh *et al.*, 2007) .

2. 5. العزلات الميكروبية:

تم الحصول على العزلات الميكروبية وهي كالتالي:

جدول (2) يوضح أماكن جمع العزلات الميكروبية

المكان	العزلة
معامل قسم علم الحيوان بجامعة سبها	*Staphylococcus aureus* *Salmonella cholerasuis*
مركز سبها الطبي	*Escherichia coli, Bacillus ceres*
و المختبر المركزي	*Proteus vulgaris ,Pseudomonas aeruginosa & Candida albicans*

6.2. اختبارات التعريف

ولغرض التأكد من الميكروبات قبل استعمالها في الدراسة أجريت لهذه العزلات بعض الاختبارات المورفولوجية و البيوكيميائية وهي كالتالي:

بناء على خصائص المستعمرات البكترية Colonies Characteristics ووصفها على الأوساط الانتقائية الشائعة selective medium، والفحص المجهري Microscopic Examination باستخدام صبغة جرام وصبغة للاكتوفينول لفطر الكانديدا،اما بالنسبة للاختبارات الكيموحيوية Biochemical test، تم اجراء اختبار الاوكسيديز، الكتاليز، اليورياز، اختبار تخمر السكريات، اختبار انزيم التجلط والاندول، انتاج كبرتيد الهيدروجين (Corry, 1994) ، بالإضافة الى استخدام شريط API 20E للبكتيريا السالبة الجرام Gram (-) (Maina *et al.*, 2014) .

اما فطر الكانديدا اجريت له اختبار تكوين أنبوب الإنبات الجرثومي واختبار القدرة على تكوين الأبواغ الكلاميدية ، اختبار تمثيل وتخمر السكريات، واجريت هذه الاختبارات المستخدمة لتعريف الميكروبات كما هو لموضح بالملحق رقم (3) ،(Nyirjesy, 2008؛ (Hall, 2013). .

6.2.تقييم التأثير المضاد لعينات العسل ومستخلصات العكبر قيد الدراسة :

استخدمت طريقة الانتشار في الاجار (Well diffusion method) بعد تحفيز المعلق الميكروبي تحت ظروف التعقيم بملء عبوة ابرة التلقيح(loop full) من كل نوع ميكروبي و مزجها في انبوبـــة اختبار بها 5 مل ماء مقطر ومعقم ؛ورجت بـــجهاز لرج(Vortex) إلى ان تكونت عكارة في الانبوبة، قيست هذه العكارة بالأنبوبة بمؤشر ماك فورلاند McFarland القياس المعياري، واجرى اختبار الحساسية باستخدام وسط مولر هنتون الصلب (Mueller-Hinton agar) بالنسبة للبكتيريا ووسط (Sabouraud Dextrose agar) لفطر الكانديدا، حيث تم تحضير حسب مواصفات الشركة المصنعة Oxoid وصبت الأوساط في أطباق بلاستكية معقمة Petr duchies ولقحت بالمعلق الميكروبي باستخدام ماسحه قطنية معقمة (تحتوي تقريباً على 10^5 خلية بكتيرية/مل) ، وتُركت لمدة 5 دقائق على درجة حرارة الغرفة لكي يحصل التشرب، وباستخدام الثاقب الفليني (Cork 4 mm borer)، عُملت 4حفر في كل طبق ومن ثم عبئت الحفر بــ 100µg من المادة المعدة للاختبار(العسل، مستخلص العكبر)، و وضع الماء المقطر المعقم في إحدى الحفر المعلمة لاستخدامها كعينة معيارية أو شاهد (control) و للمقارنة ، بعد ذلك وضعت الاطباق على درجة حرارة الغرفة لمدة من 10-30 دقيقة، ثم حُضنت في درجة حرارة 37° م لمدة من 18 - 24 ساعة.

بعد انتهاء مدة التحضين تم قياس أقطار مناطق التثبيط حول الحفر (Diameters of inhibition zone) باستخدام المسطرة بالمليمتر، بأخذ قياس كل منطقة تثبيط ومن ثم طرح قطر الحفرة من النتائج المتحصل عليه لأقطار مناطق التثبيط ، بعد ذلك تم أخذ المتوسط لثلاث تكرارات .

.(Silici & Kutluca, 2005 ؛ Ivančajić *et al*, 2010)

2. 7 .فحص حساسية الميكروبات قيد الدراسة للمضادات الحيوية التجارية:

استخدمت طريقة (Disc diffusion method)، حيث تم وضع أقراص المضادات الحيوية المبينة في الجدول رقم (1) على سطح الاجار بعد تلقيحه بالميكروبات، ثم حضنت الأطباق لمدة 24 - 48 ساعة على درجة حرارة 37° م وتم قياس أقطار مناطق التثبيط بعد انتهاء فترة التحضين وفق.ماجاء به كل من Poole, 2014 ؛ Oldfield&Feng, 2014.

2. 8. تحديد أقل تركيز مثبط Minimum inhibitory concentration

و لتحديد التركيز المثبط الاقل للعسل و خلاصات العكبر، حضرت تخفيفات تصاعدية للعينات باستخدام الماء المقطر المعقم وكانت كالتالي (v/v) (25، 50 و 75%) والعسل الخام الغير مخفف 100% (v/v) اما بالنسبة لمستخلصات العكبر فقد كانت التخفيفات كالتالي (25,15,5، 50 و 75، 100%) وفق لطريقةClinical& Laboratory Standards, 2015.

2. 9 .التحليل الاحصائي :

تناولت هذه الدراسة المقارنة بين تأثير 16 صنف من العسل الليبي وذلك عند تراكيز مختلفة وتمت عملية المقارنة علي مرحلتين ، فقد تم في المرحلة الأولي المقارنة بين تراكيز العسل الواحد وقياس أثر التركيز علي الميكروبات وتحديد أفضل تركيز لكل نوع من أنواع العسل وفي المرحلة الثانية تمت بين انواع العسل المختبرة للمقارنة من بينها وتحديد أفضل نوع من العسل والذي له أفضل تأثير علي أنواع الميكروبات قيد الدراسة وذلك باستخدام تحليل التباين الأحادي (One way ANOVA) والمقارنات المتعددة بطريقة أقل فرق معنوي محفوظ (Least Significant Difference) عند مستوى معنوية P <0.05 ،وأُعتبرت ذات دلالة إحصائية باستخدام برنامج SPSS 22 كما اوضح المرجع (Flynn, 2011).

الفصـــل الثالـــــث

النتـــــــائـــــج

1.3- تعريف العزلات الميكروبية

بينت نتائج الاختبارات المورفولوجية و البيوكيميائية للعزلات الميكروبية ، تطابق النتائج مع صفات الميكروبات المختبرة في هذه الدراسة وكذلك نتائج التعريف البكتيري بعد تشفير البيانات المتحصل عليها من اختبار API 20E و الرجوع لكتيب التعرف؛ لتأكيد هوية البكتريا المختبرة، كما هو موضح بالجداول (4 2.3) والأشكال (2.3.4) .

جدول(3) الصفات المظهرية للبكتيريا المستخدمة في الدراسة

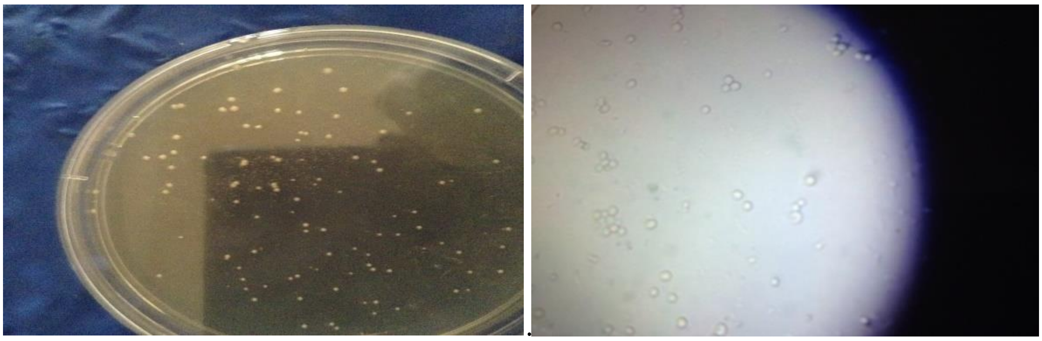
البكتريا	الصفات المظهرية	صبغة غرام
Escherichia.coli	صغيرة الي متوسطة الحجم محدبة منتظمة ومستعمرات بلون اخضر براق معدني على وسط EMB ،لون المستعمرات وردية على وسط MacConkey هوائية	سالبة الغرام
Bacillus cereus	مسننة الحواف على Nutrient Agra عصويات منفردة او بشكل سلاسل قصيرة هوائية مكونة للأبواغ	موجبة الغرام
Proteus vulgaris	عصيات مستعمرتها مخاطية شفافة اللون على الماكونكي	سالبة الغرام
Pseudomonas aeruginosa	مستعمرات شفافه قليلة التحدب ، غير منتظمه تفوح منها رائحه كريهة متطاوله الخلايا تتجمع بشكل سلاسل ، هوائيه غير مكونه للابواغ تنتج صبغة خضراء مائلة للازرق في وسط Nutrient Agarعصوية الشكل	سالبة الغرام
Staphylococcus aureus,	كروية الشكل عنقودية مستعمراتها متوسطة الي كبيرة الحجم صفراء لماعه ملساء وذهبية على الاجار الصلب و وردية اللون ملساء على وسط MacConkey ومخمره للمانيتول ومحلله للدم	موجبة الغرام
Salmonella choleraesuis	مستعمرات صغيرة الحجم شفافة اللون على MacConkey وتأخذ اللون الشفاف لوسط Salmonella shigella مع وجود لون اسود في المركز عصوية الشكل	سالبة الغرام

جدول (4) نتائج الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا المختبرة

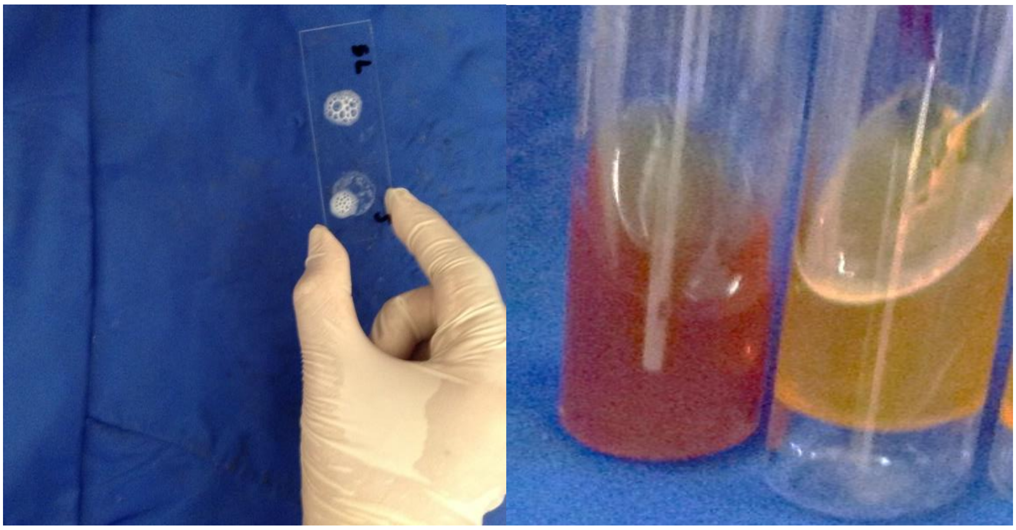
Microbe	Biochemical tests							
	الاوكسديز	الكاتليز	اليوريز	السكر الثلاثي	انزيم التجلط	انتاج كبرتيد الهيدروجين	الاندول	تخمر سكر للاكتوز
Escherichia .coli	–	+	–	+	*	–	+	+
Bacillus cereus	–	+	–	+	*	–	–	+
Proteus vulgaris	+	+	+	+	*	+	+	–
Pseudomonas aeruginosa	+	+	–	+	*	–	–	–
Staphylococcus aureus,	–	+	+	–	+	–	–	+
Salmonella choleraesuis	-	+	–	+	*	+	–	–

جدول (5) الصفات التشخيصية لخميرة المبيضات *C. albicans*

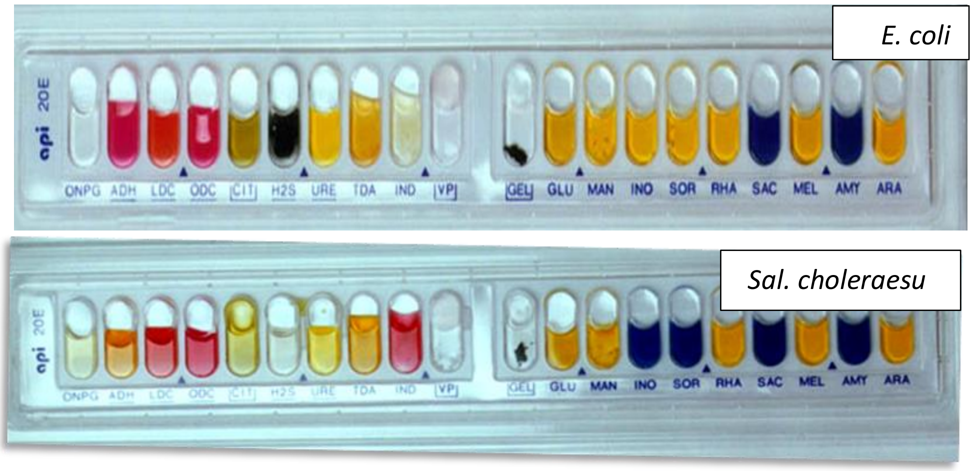
الصفة التشخيصية	نتيجة الفحص
فحص المجهري	خلايا بيضوية الى كروية مكونة لأنبوب الانبات والابواغ الاكلاميدية
النمو في درجة حرارة 37	+
اختبار اليوريز	-
السكر	تخمير السكريات
الجلكوز	+
السكروز	+
اللاكتوز	-



شكل(2) فطر *Candida albicans*



شكل(3) اختبار السكر الثلاثي و الأوكسيديز



شكل (4) نتائج اختبار API E20

2.3- الاختبارات المكروبيولوجية والخواص الفيزيائية لعينات العسل

اوضحت النتائج عدم تلوث العينات بالميكروبات وكذلك عدم حدوث تخمر,وكما بينت ان كل من الكثافة واللزوجة والتبلور والأس الهيدروجيني جاءت ضمن الموصفات العالمية القياسية الموصى بها، والجدول رقم (5) يوضح بعض الخواص لعينات العسل قيد الدراسة

جدول (6) الخواص الفيزيائية لعينات العسل قيد الدراسة

Honey type	ph valaue	Color (O.D)	Density g\ml	Viscosity G\cm.s	crystallization	Fermentation	Color appearance	
Elzaater	4.43	1.45	1.28	18.7	*	-		L
Habat Baraka	4.44	1.6	1.26	18.5	*	-	D	
Elkafoor a	4.32	2.06	1.17	20.5	*	-		L
Elhaoon	4.14	1.88	1.55	25.8	+	-	D	
Elrabee	3.64	1.366	1.5	26.3	-	-		L
Elshook	4.57	1.692	1.35	17.9	*	-		L
Elatheal	4.9	1.266	1.67	28.8	_	-	D	
Elkharob	4.55	2.393	1.35	18.5	_	-	D	
Elkaleat	4.4	1.102	1.46	19.57	*	-		L
Elshamei a	4.33	0.640	1.6	27.6	+	-		L
Elshamei b	4.45	1.1	1.59	26.8	_	-		L
Elsheebro	4.61	2.51	1.37	22.2	*	-	D	
Elman	4.68	1.98	1.48	24.3	_	-		L
Elkafoor b	4.57	2.02	1.3	19.5	*	-	D	
Elseder	4.65	1.622	1.29.	21.9	*	-		L
Elmeala	4.49	1.874	1.53	24.9	*	-		L
Alshefa	5.06	1.962	1.28	17.7	*	-	D	
Alzohor	3.72	1.72	1.2	16.6	*	-		L

Not crystallized = *، Crystallized complete = +، partial crystallization = _

L=Light ,D=dark

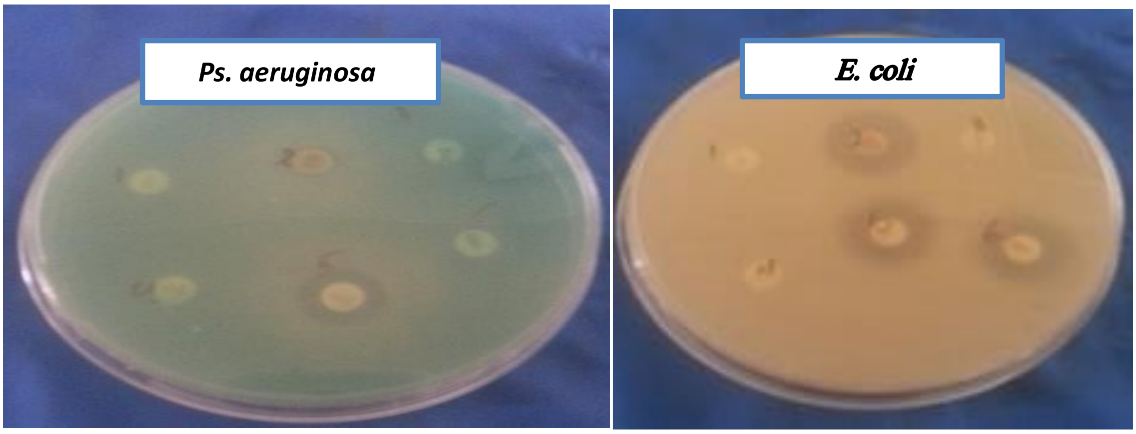
2.3- حساسية الميكروبات للمضادات الحيوية التجارية

اظهرت النتائج أن سلالات بكتيريا *E. coli , B .cereus* كانت الأكثر حساسية للمضادين الحيويين Chloramphenicol و Gentamicin، بينما اظهرت البكتيريا *Sal choleraesuis , Ps. aeruginosa* والمكورات العنقودية الذهبية ، *Staph. aureus* مقاومة للمضادات المستخدمة . كما تبين أن المضادين الحيويين Gentamicin و Tetracycline هما الأكثر فاعلية على البكتيريا يليها المضاد الحيوي Chloramphenicol، في حين كان المضادين الحيويين Vancomycin و Penicillin لهما تأثير ضعيف على البكتيريا المختبرة اما بالنسبة فطر *C. albicans* فقد أظهر مقاومة للمضاد الفطري (Miconazole 50mg) واختلف متوسط قطر منطقة التثبيط من مضاد إلى آخر و من بكتيريا إلى أخرى كما هو موضح بالشكل (5) والجدول رقم (6) ، وقد بينت الدراسة ان تأثير كل من العسل ومستخلصات العكبر فاق في كثير من الاحيان تأثير المضادات الحيوية التجارية.

جدول (7) اختلاف قطر مناطق التثبيط للبكتيريا المختبرة باختلاف المضاد الحيوي التجاري

المضاد الحيوي	قطر منطقة التثبيط (مم) للبكتيريا المختبرة					
	E. coli	*B.* .cereus	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*	*Pr. vulgaris*
Vancomycin 5mg	*NE	10	8	NE	NE	12
Amoxicillin 30mg	NE	13	7	NE	6	NE
Gentamicin 10mg	13	24	18	12	13	17
Penicillin 10mg	NE	10	NE	NF	12	NE
Tetracycline 30mg	15	18	20	7	20	15
Chloramphenicol 30mg	17	20	10	NE	16	18

NE= NO effect*



شكل (5). حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية

3.3- تقييم التأثير المضاد للعسل ضد الميكروبات المختبرة

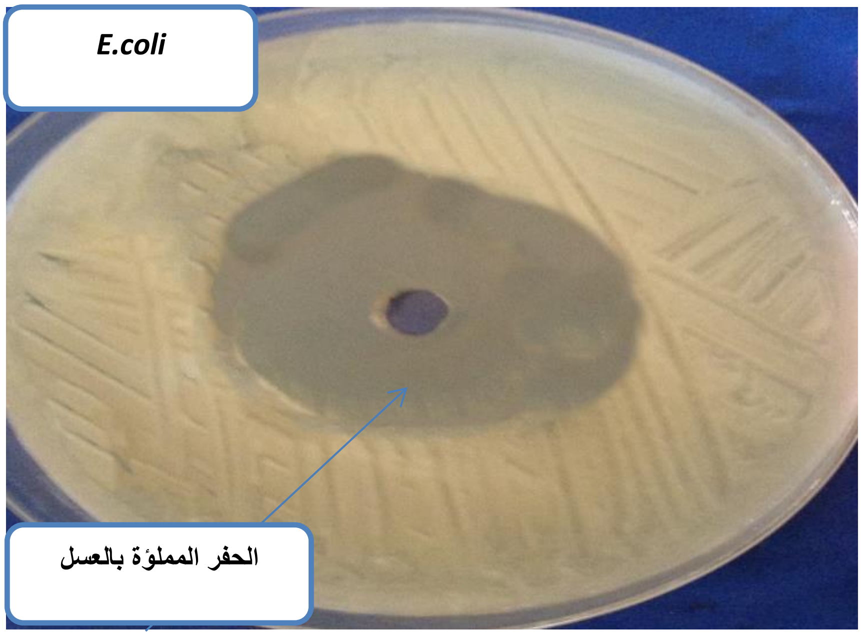
بينت النتائج الدراسة امتلاك عينات العسل الطبيعي الليبي المستخدم في هذه الدراسة نشاط مضاد لنمو الميكروبات الممرضة للإنسان و الذي استند على متوسط أقطار مناطق التثبيط حيث اختلف هذا التأثير من كونه مبيد وقاتل للميكروبات في المناطق القريبة من الحفر المملوءة بالعسل شكل رقم (6) ،وتأثير مثبط وغير قاتل في المناطق البعيدة نسبيا، أي انه في الحالة الأولى، لم يظهر أي نمو؛ لأن الميكروبات لم تنمو حتي بعد الزراعة من منطقة التثبيط وهذا يدل على ان التأثير قاتل ، بينما في الحالة الثانية تم ملاحظة ظهور مستعمرات بكتيرية بعد فترة وكذلك بعد الزراعة من المنطقة؛ لأن الميكروبات ليست ميتة وهو دليل بانه موقف للنمو. وتبعا لذلك اختلفت النتائج لاختلاف التأثير من عينة عسل لأخر ومن ميكروب لأخر ،كما ان لعامل التركيز دور مهم في النشاط المثبط فقد اظهر مقاومة ونمو كثيف يزداد كلما قل تركيز العسل وهذا يدل دلالة واضحة ان العسل عند التراكيز العالية له تأثير عالي في ايقاف النمو البكتيري في حين تقل قدرته على تثبيط نمو البكتريا عند التراكيز المنخفضة كما هو موضح بالجدول رقم (7) وبالأشكال (7,8) .

كما بينت النتائج ان عسل السدر هو الافضل، يليه الحنون ثُم الكافور(الجبل الاخضر) والشمع (البيضاء) كما هو مبين بالشكل(9) الذي يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل الخام(الغير مخفف)، وعند مقارنة التأثير المضاد للعسل الطبيعي مع أنوع العسل التجاري لم تظهر عينات العسل التجاري قيد الدراسة وهي عسل الزهور والشفاء السعودي أي تأثير يذكر على الميكروبات المختبرة.

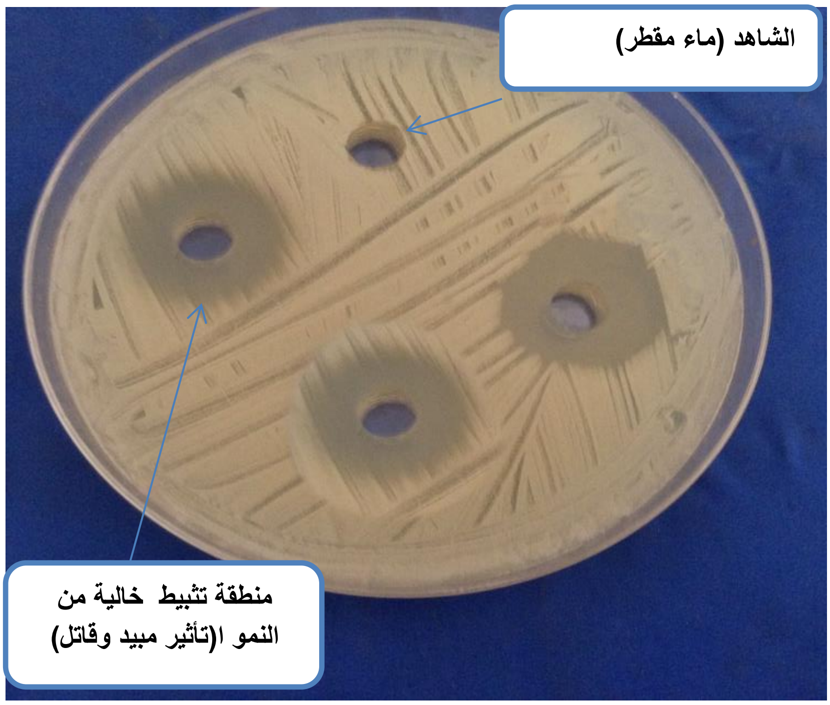
جدول رقم(8) متوسط أقطار مناطق التثبيط لعينات العسل قيد الدراسة

متوسط أقطار مناطق التثبيط							نوع العسل	
C. albicans	***Sal. Cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***	التركيز	
0	0	0	0	0	0	0	25%	السدر
15	10	13	10	0	14	11	50%	
20	15	13	17	15	15	17	75%	
29	29	28	20	30	33	35	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الاثل
0	0	0	0	0	0	0	50%	
0	13	0	0	14	0	10	75%	
0	20	22	16	29	25	20	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	حبة البركه
0	0	0	0	0	0	0	50%	
0	0	10	10	10	0	10	75%	
0	12	18	29	16	15	12	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الحنون
0	0	11	0	0	0	0	50%	
0	11	12	11	0	0	0	75%	
15	17	21	18	12	16	21	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الخروب
0	0	0	0	0	0	9	50%	
0	0	9	0	12	0	10	75%	
11	14	12	14	19	12	20	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الخلط
10	0	0	0	0	0	0	50%	
14	0	10	0	0	0	7	75%	
18	0	18	12	15	13	19	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الربيع
0	0	9	0	0	0	0	50%	
11	10	12	0	0	11	0	75%	
15	16	14	13	11	20	14	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الزعتر
0	0	0	0	0	0	0	50%	
14	10	11	0	13	0	11	75%	
25	15	19	13	20	13	20	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الشبرو
0	0	0	0	0	0	0	50%	
0	0	0	0	0	0	0	75%	
0	13	0	9	10	11	0	100%	

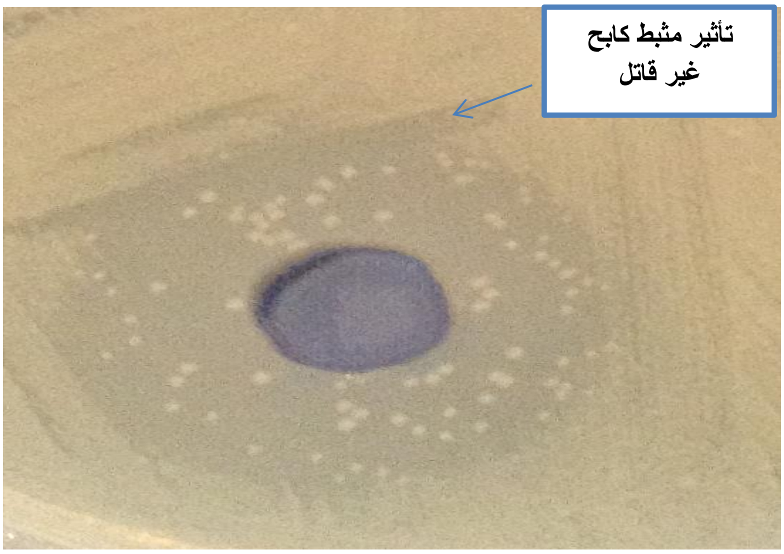
0	0	0	0	0	0	0	25%	الشمع(سلوق)
0	0	0	0	0	0	0	50%	
13	11	11	0	0	0	0	75%	
17	16	17	13	27	20	19	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الشمع (البيضاء)
0	0	0	0	0	0	0	50%	
10	0	0	0	10	0	0	75%	
19	22	29	22	18	15	14	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الشوك
14	0	0	0	0	0	0	50%	
20	11	11	12	14	0	11	75%	
27	18	16	17	21	18	17	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الكافور (طرابلس)
0	0	0	0	0	0	0	50%	
0	0	0	11	15	0	0	75%	
0	15	12	20	19	11	12	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الكافور (الجبل الاخضر)
0	0	0	0	0	0	0	50%	
0	0	10	0	18	0	0	75%	
11	15	18	17	28	39	20	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	المن
0	0	0	0	0	0	0	50%	
15	0	9	11	0	10	0	75%	
22	12	15	15	14	20	15	100%	
0	0	0	0	0	0	0	25%	الميلا
11	0	0	0	9	0	0	50%	
14	0	11	10	12	20	12	75%	
34	11	15	20	19	15	15	100%	



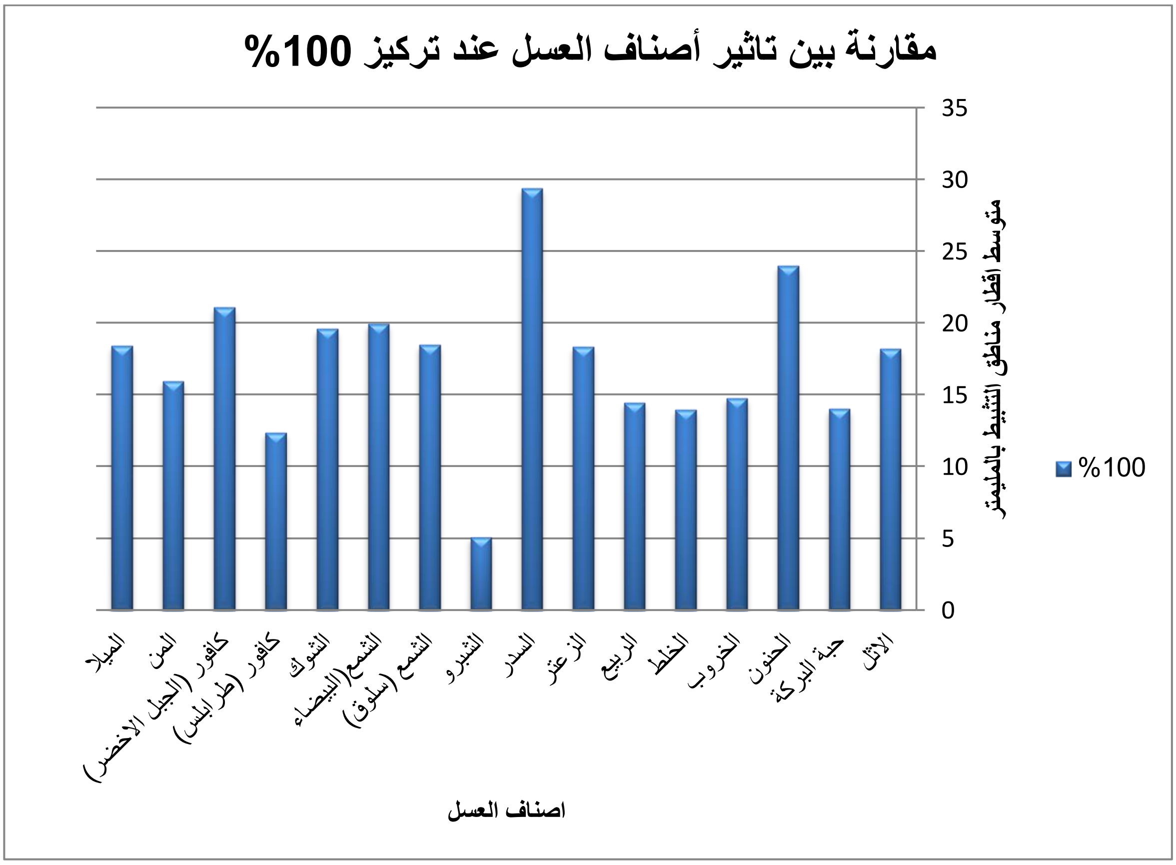
شكل (6) يوضح قطر منطقة التثبيط لعسل السدر لتركيز 100%



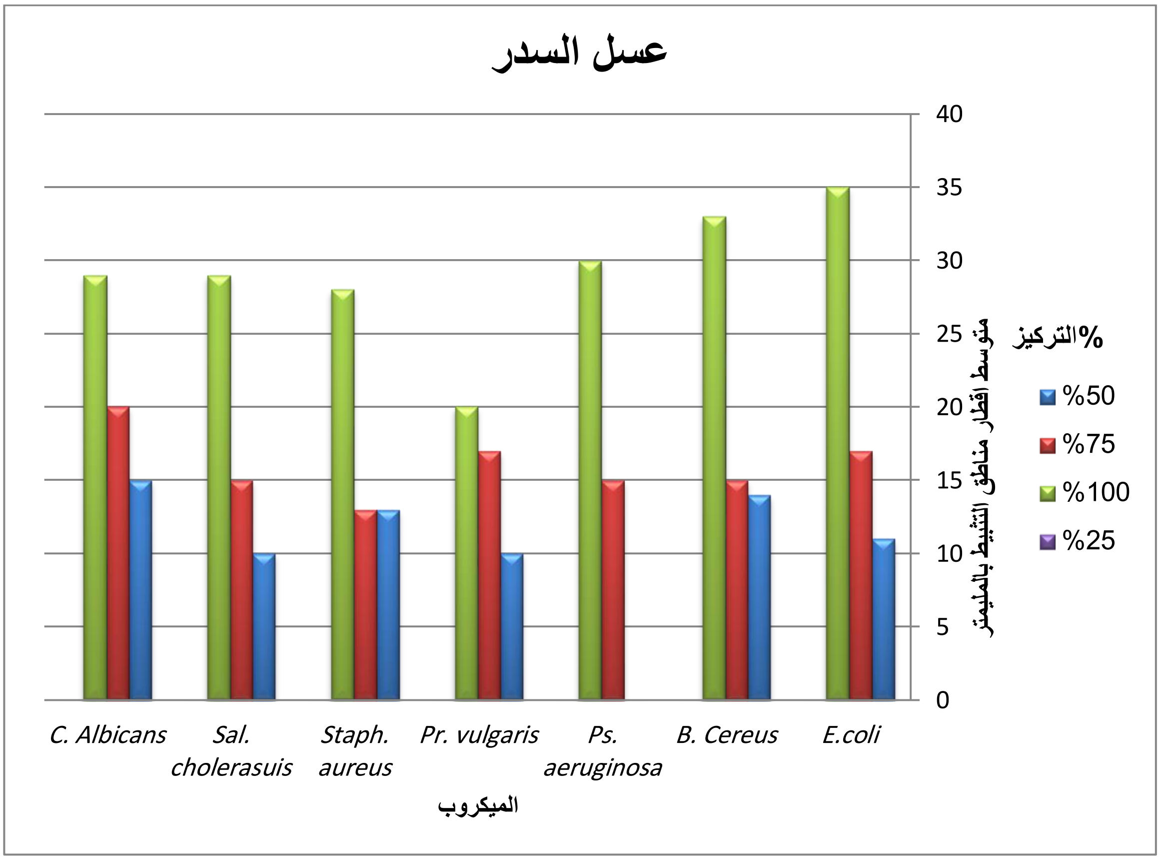
شكل(7) منطقة التثبط لعسل السدر على بكتريا *E. coli* بتركيز 75% ....



شكل (8) تأثير مثبط لعسل الأثل *B .cereus* عند التركيز 100%

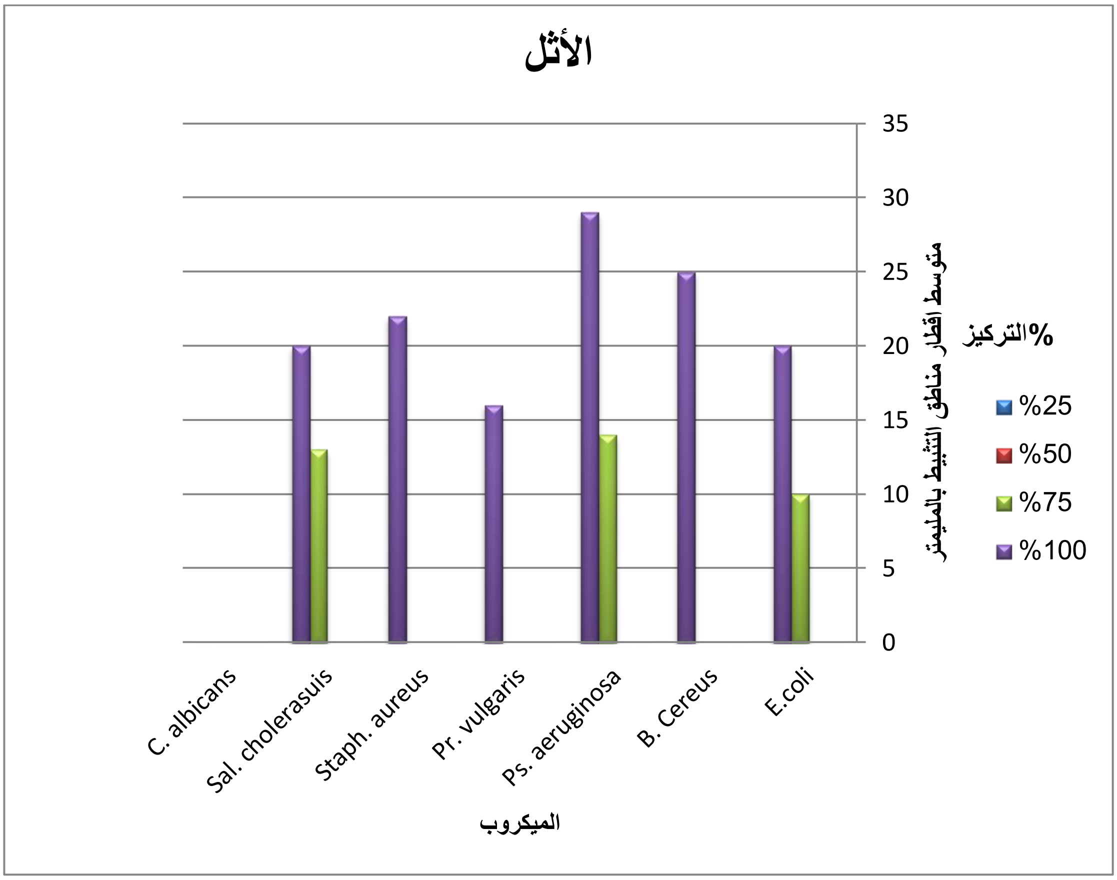


شكل رقم (9) متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل الخام



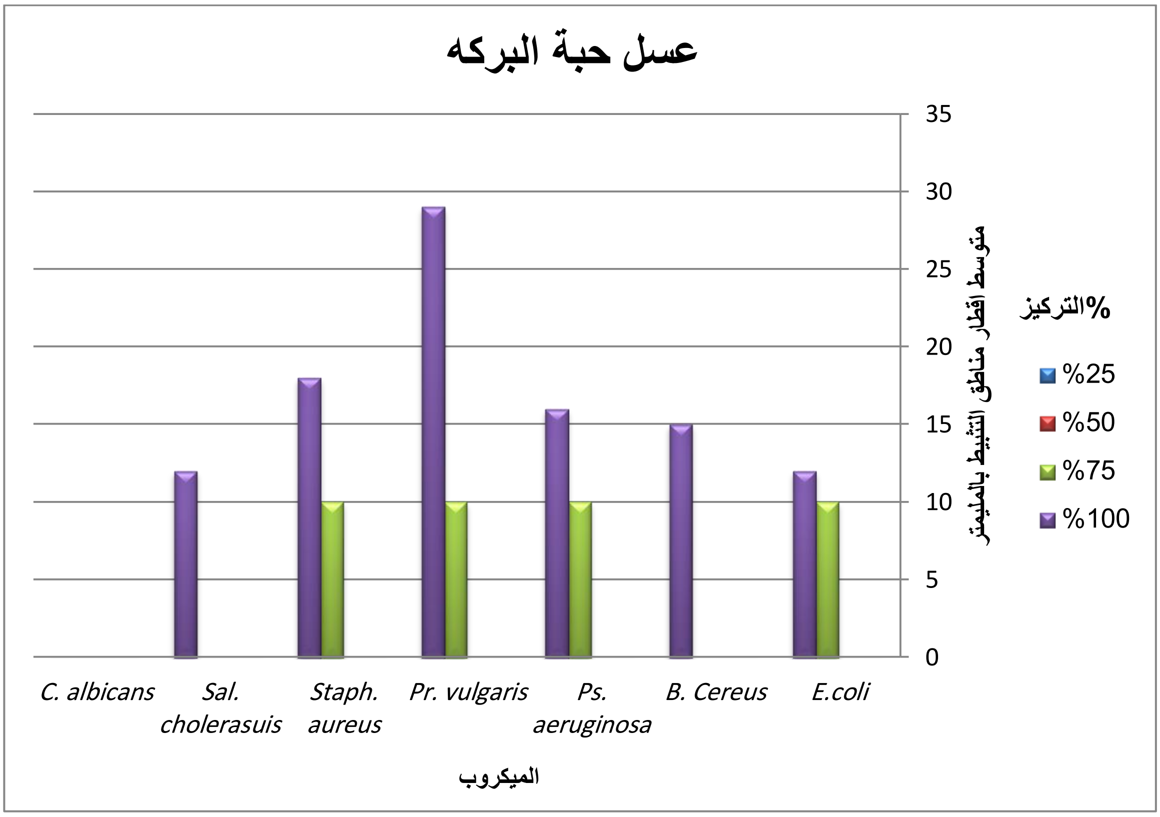
شكل رقم (10) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل السدر

توضح نتائج المتوسط الحسابي لأقطار مناطق التثبيط المبينة في الجدول رقم (7) تفوق عينة عسل السدر، حيث أظهر أعلى منطقـــــة تثبيط على بكتيريا *E. coli* بلغت (35±1.15 مم) عند تركيز 100ملجم /مل بدون تخفيف والمبينة بالشكل رقم (10)، تليها *B. cereus* بقطر (1.1± 33,57 30±0, مم) على بكتريا *Ps. aeruginosa* على التوالي ،بينما بلغ قطر التثبيط لفطر *C. albicans* (0.1±29.7مم)، وكما بينت النتائج ان عسل السدر على خلاف الاصناف الأخرى كان له تأثير حتي عند تركيزي 50 و 75 % على كافة الميكروبات باستثناء بكتيريا *Ps. aeruginosa* فلم تظهر منطقة تثبيط عند التراكيز 50% أو أقل، بينما التركيز 25% لم يكن له اي تأثير على جميع اصناف العسل قيد الدراسة. اما من الناحية الاحصائية عند تحديد اقل فروق معنوية LSD=0.00 فقد تبين أن هناك فروق معنوية بين الميكروبات قيد الدراسة وبين التراكيز العسل عند مستوى معنوية α =0.05 حيث بلغت القيمة الاحتمالية (0.00) وهي قيمة أقل من مستوي المعنوية المحدد في الدراسة



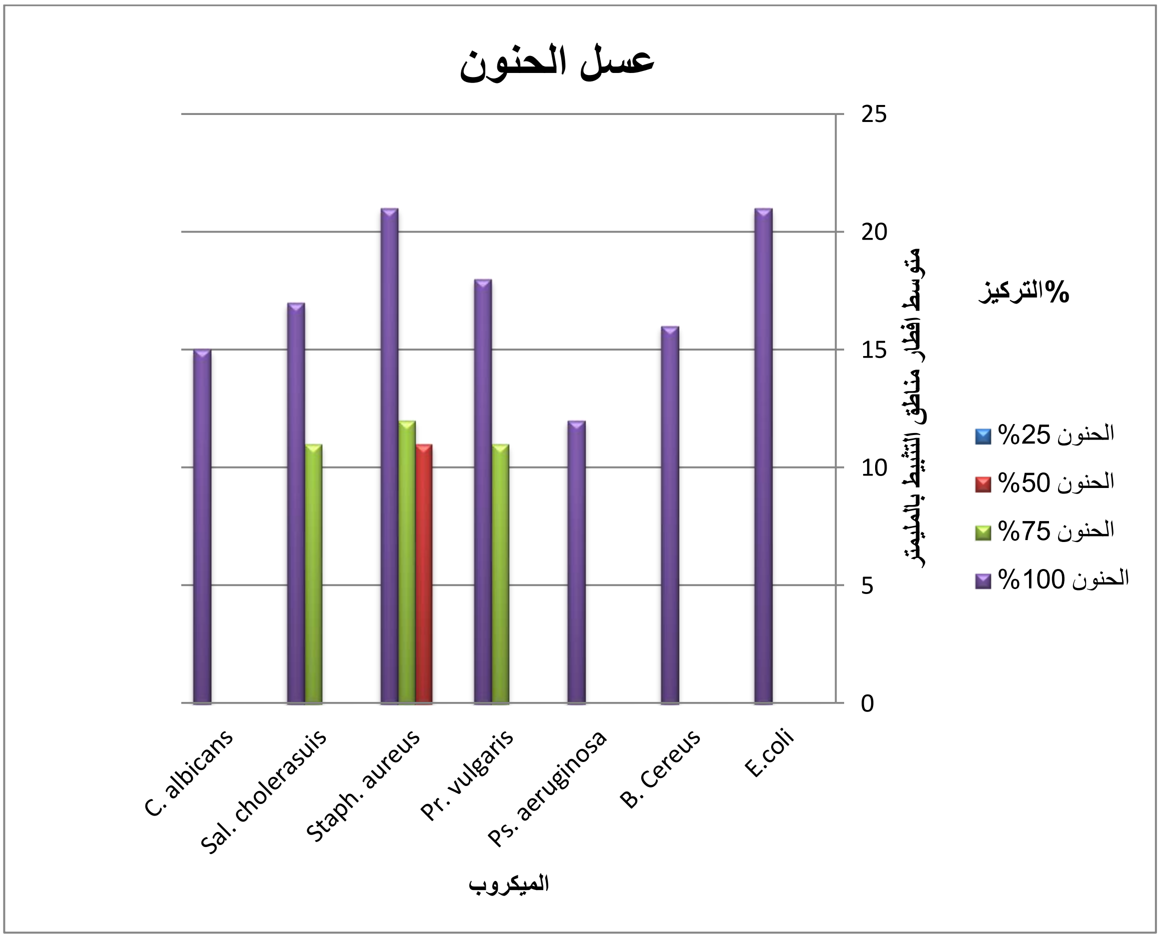
شكل رقم (11) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الاثل

وأظهرت نتائج عسل الاثل كما هو موضح بالشكل رقم (11) أعلى قطر مناطق تثبيط بلغ(*2.6*± *29* مم)على بكتيريا *Ps. aeruginosa* و يليها *B. cereus* بمتوسط قطر(*3.6* ± 25 مم 1.5±22. مم) ضد بكتيريا *Staph. aureus* و *E. coli* (0.5 ± 20 مم)عند تركيز 100% على التوالي، في حين لم يظهر أي تأثير على فطر *C. albicans*، كذلك لم يظهر التركيز 75% أي تأثير مضاد الا ضد بكتيريا *Ps. aeruginosa* بمنطقة تثبيط(0.1±14ملم) *E. coli* (10±1.15 مم.) كما تبين احصائيا وجود فروق معنوية بين الميكروبات قيد الدراسة عند مستوى معنوية 0.05= α حيث بلغت القيمة الاحتمالية (0.00) وهي قيمة أقل من مستوي المعنوية المحدد للدراسة .



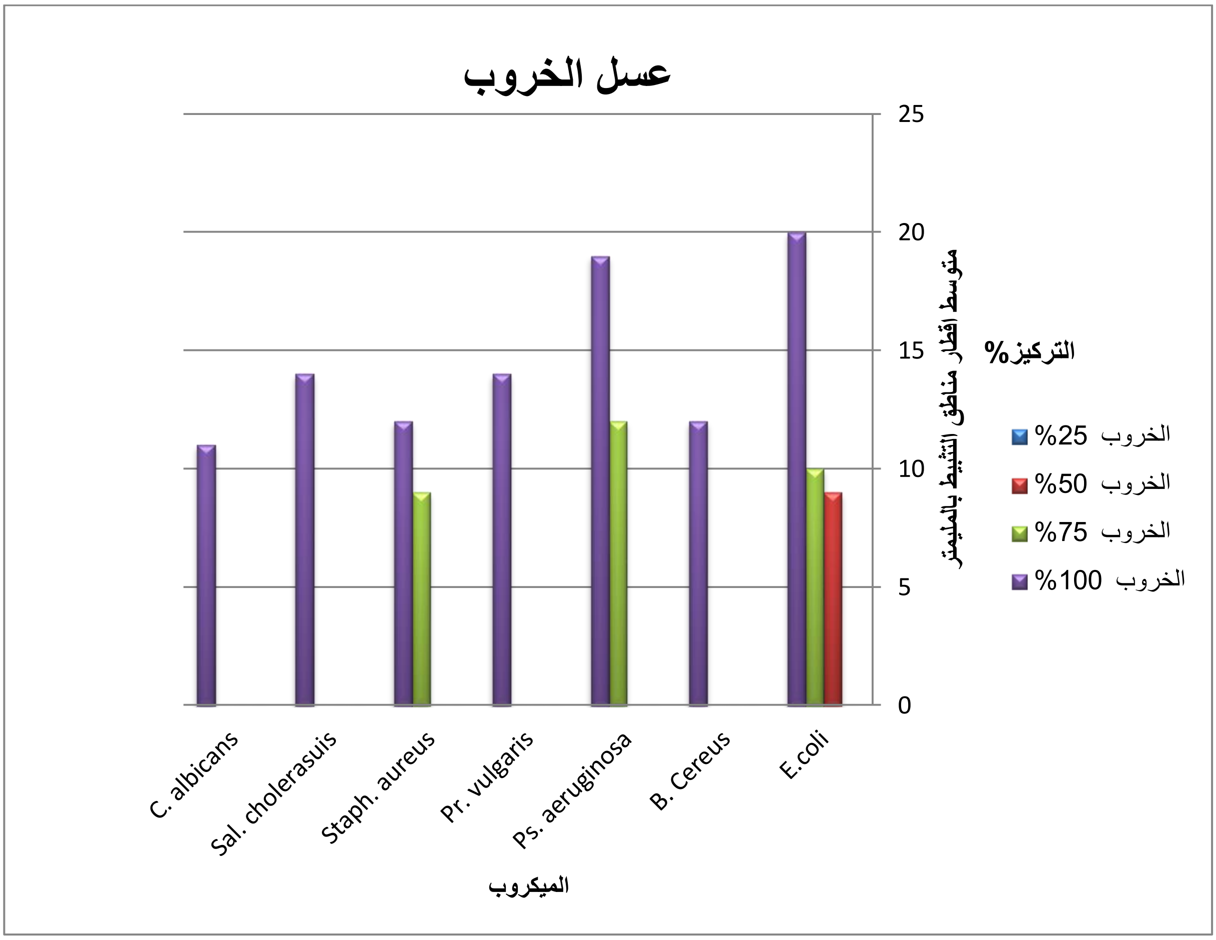
شكل رقم (12) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل حبة البركه

اما عسل حبة البركة فقد أظهرت النتائج ان افضل تركيزمثبط هو 100% ملم/جم حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (1 ± 29 مم)على *Pr. vulgaris* وبمتوسط بلغ(0.5±18، 1± 16,1.5 ± 15مم)ضد كل من بكتيريا *Staph aureus*، *Ps. aeruginos*، *B. cereus* على التوالي وبلغ اقل قطر عند بكتيريا ***E.coli*** *Sal. Cholerasuis* بمتوسط (2.6± 13. مم) في حين لم يظهر اي تأثير على فطر *C. albicans* و اختلفت نتائج تأثير التركيز75% من ميكروب لآخر كما هو موضح بالشكل رقم (12) كما لم تظهر التراكيز 25% 50 % أي تأثير ضد الميكروبات المدروسة ،وقد تبين وجود فروق معنوية بين الميكروبات المختبرة عند مستوى معنوي 0.05= α.



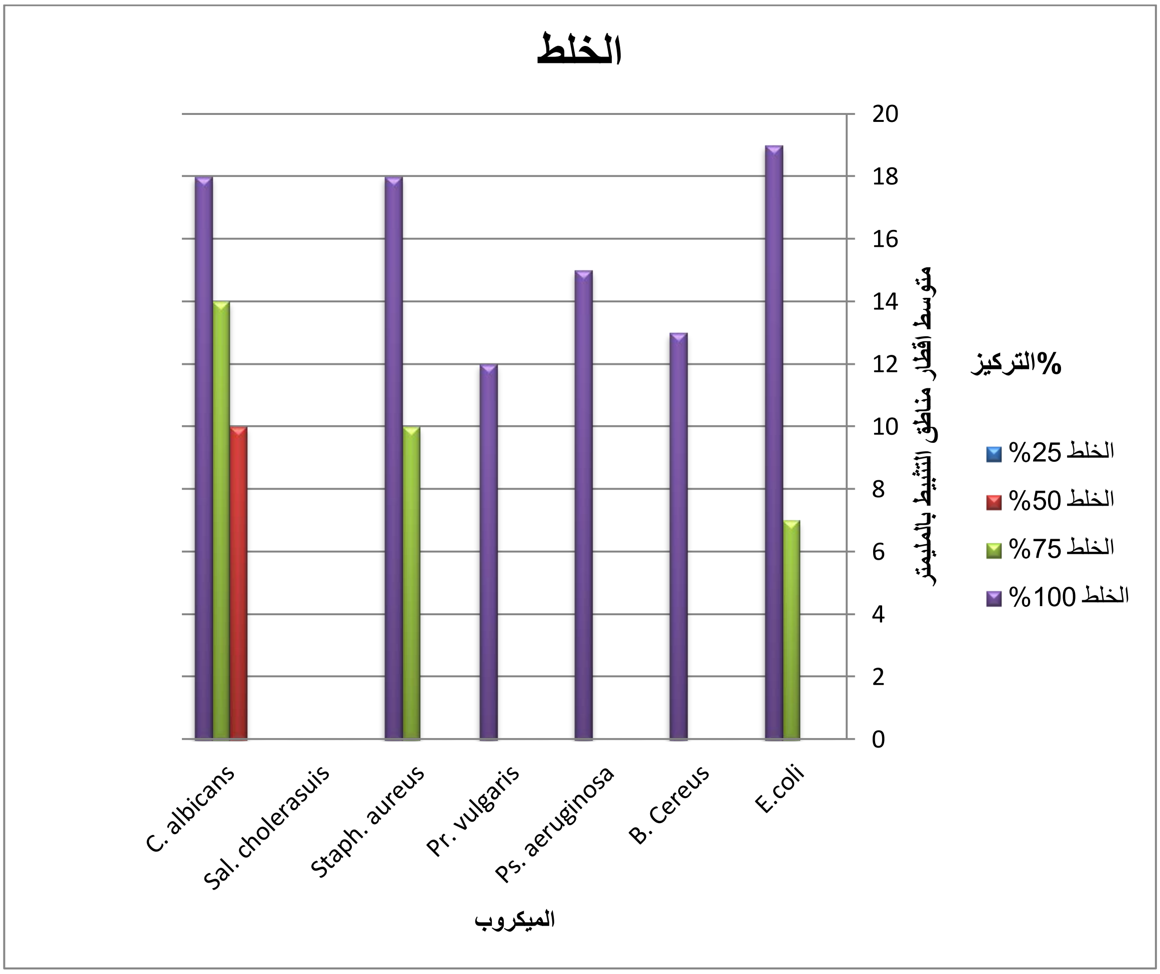
شكل رقم (13) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الحنون

أظهرت النتائج ان كل من بكتيريا *Staph aureus* و*E.coli* حساسية عالية اتجاه عسل الحنون عند تركيز100% بمتوسط قطر منطقة تثبيط (1± 21، 2 ±21 مم)على التوالي تليها *Ps. aeruginos*، *B. cereus*، *Sal. Cholerasuis*, *Pr. vulgaris*. و فطر *C. albicans* وكان متوسط قطر منطقة التثبيط من(13الى18 مم) في حين اقتصر تأثير التركيز 75% على كل من بكتريا *Pr. vulgaris* ، *Sal. Cholerasuis*، *Staph aureus* ولم يؤثر التركيز 50% الا ضد بكتيريا *Staph aureus* بمتوسط بلغ (0.5±11 مم) كما هو موضح بالجدول رقم (13) و الشكل رقم 10 وقد تبين وجود فروق معنوية بين الميكروبات المختبرة عند مستوى معنوي $\alpha = 0.05$.



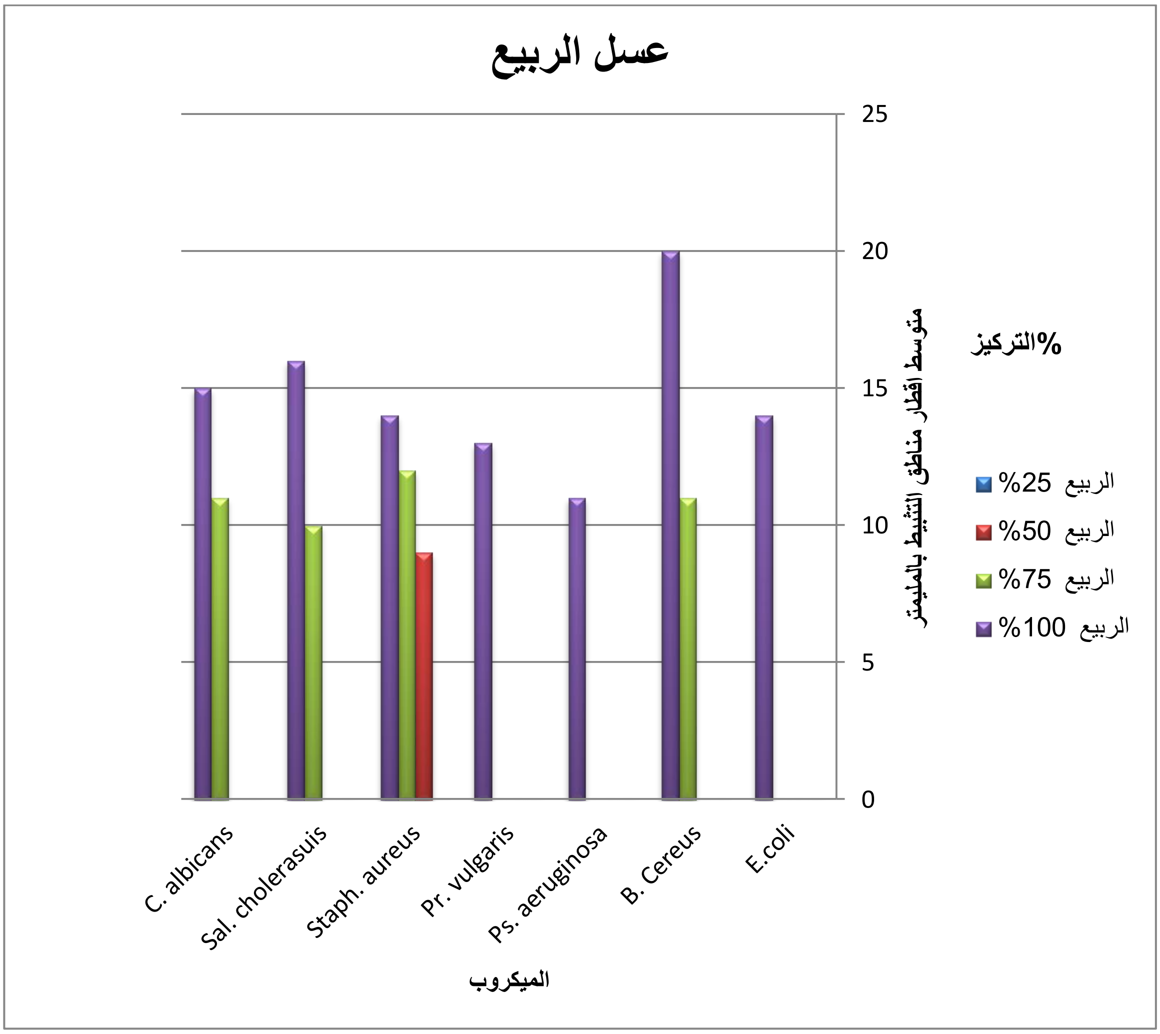
شكل رقم (14) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الخروب

اما نتائج عينة عسل الخروب فقد كان افضل تأثير له ضد بكتريا *Ps. aeruginos , E.coli* بمتوسط بلغ (20±3، 19±1مم) على التوالي في حين كان اقل تأثير له على فطر *C. albicans* بقطر (11±3.6 مم) عند تركيز100% كما اظهر التركيز 75% تأثير مثبط على بكتيريا *Staph aureus*، *E.coli* *Ps aeruginos* بمتوسط قطر تروح من (9- 12مم) كما هو موضح بالجدول رقم (7) والشكل رقم (14)وقد تين وجود فروق معنوية بين الميكروبات المختبرة تختلف باختلاف التركيز عند مستوى معنوية α =0.05.



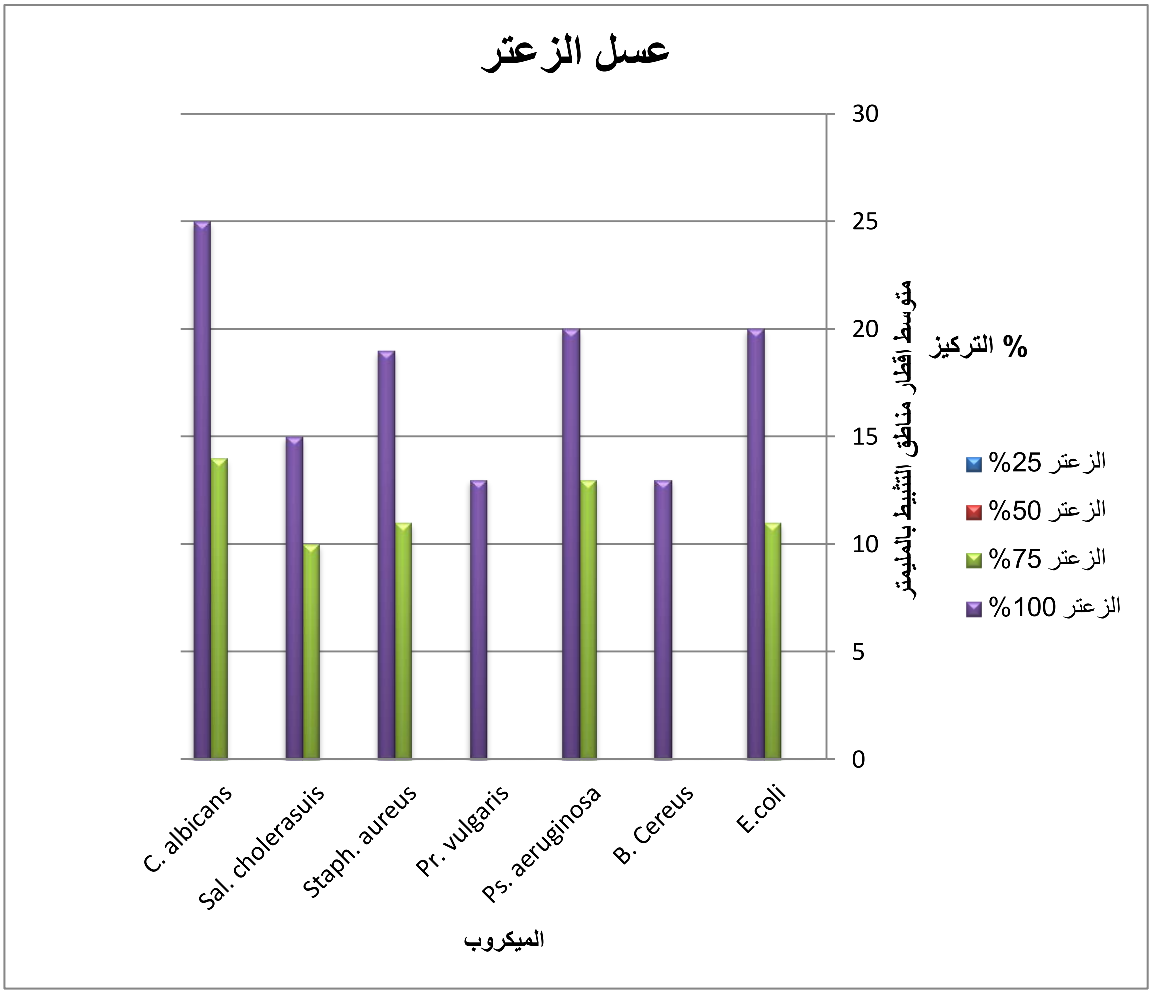
شكل رقم (15) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الخلط

اما بالنسبة لعسل الخلط فقد اظهرت النتائج حساسية عالية لكل من بكتيريا *E.coli* و فطر *C. albicans* حساسية عالية اتجاه العسل عند التركيز 100% و75% بمتوسط قطر منطقة تثبيط تروح من (10 الي 18 مم) واقتصر تاثيرالتركيز50 % على فطر *C. albicans* فقط ولم يظهر التركيز 25% أي تأثير ضد كافة الميكروبات كما هو موضح بالشكل رقم (15) وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة LSD=0.00.



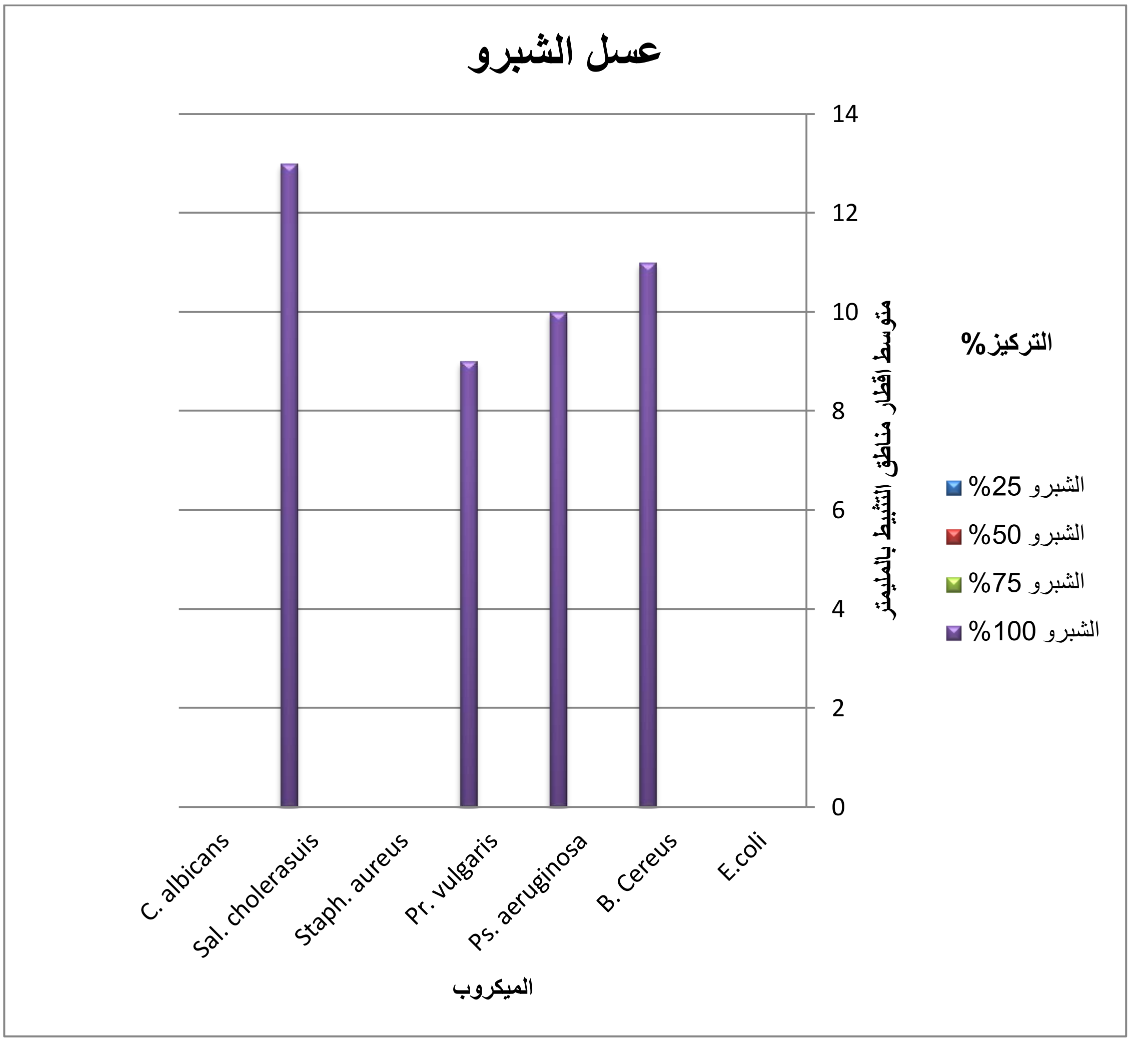
شكل رقم (16) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الربيع

بينت نتائج عسل الربيع وجود تأثير مثبط للعسل عند التركيز 100% حيث بلغ اعلى متوسط قطر له (3± 20مم)ضد بكتيريا *B. cereus* في حين اختلف تأثير التركيز 75% باختلاف الميكروب بينما اقتصر التأثير المثبط التركيز50% ضد بكتيريا *Staph aureus* بمتوسط قطر(0.57 ±9 مم) كما هو مبين بالشكل رقم (16) واحصائيا تبين وجود فروق معنوية بين هذه التراكيز عند مستوى معنوية $\alpha=0.05$.



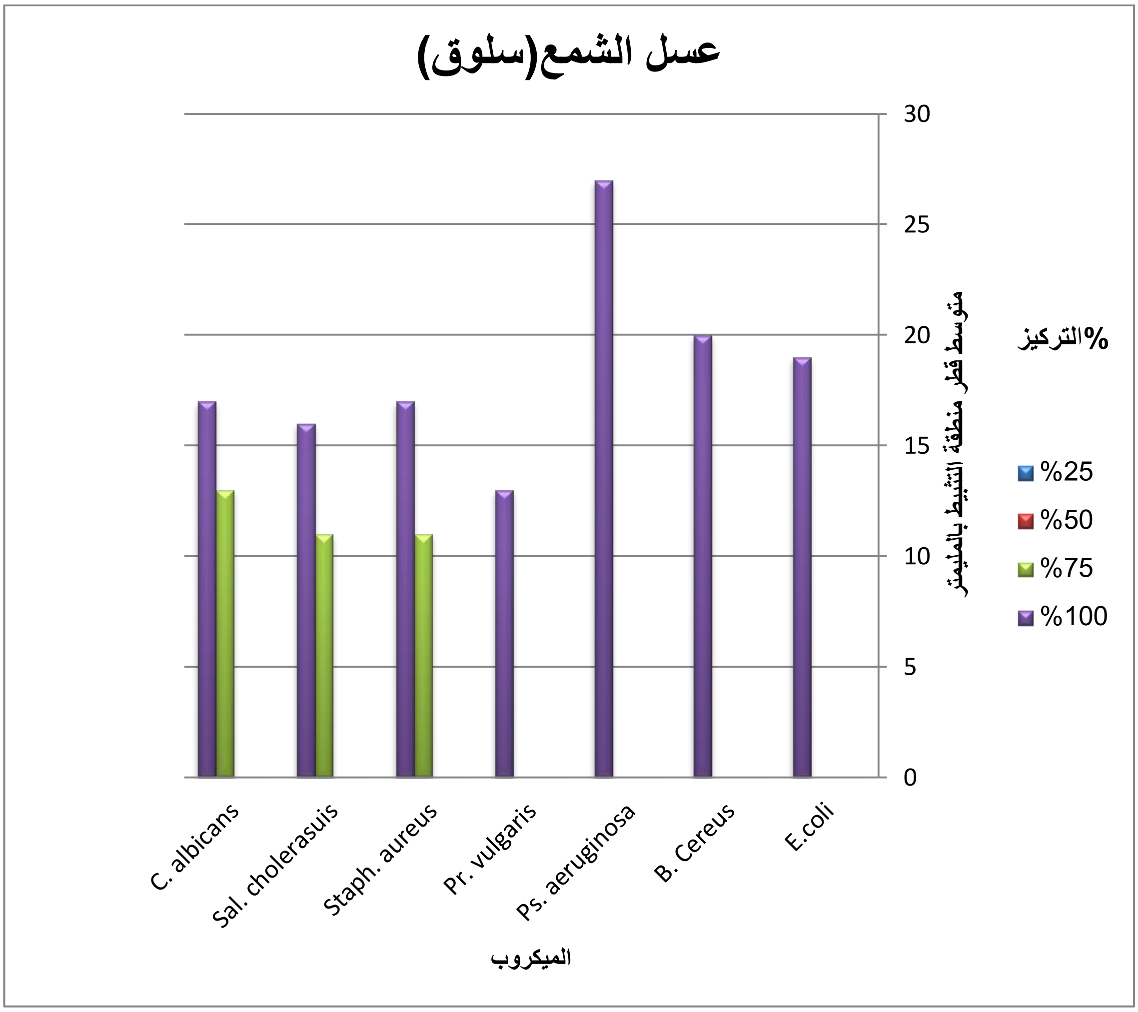
شكل رقم (17) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الزعتر

اما عسل الزعتر فقد أظهرت النتائج ان أكبر قطر تثبيط كان ضد فطر *C albicans* (25±4.1 مم) كما بلغ متوسط القطر ضد كل من بكتيريا *Ps. aeruginosa* و بكتيريا *E.coli* عند التركيز 100% (1±20 20±1.15 مم) و اختلاف تأثير التركيز 75 % باختلاف نوع الميكروب حيث بلغ أكبر قطر منطقة تثبيط ضد فطر *C. albicans* بمتوسط (1±14مم) بينما التركيزين 25% و 50% لم يكن لهما أي تأثير،كما هو مبين بالشكل رقم (17) كذلك تبين وجود فروق معنوية داله احصائيا عند مستوى معنوي α=0.05 بين التراكيز المستخدمة.



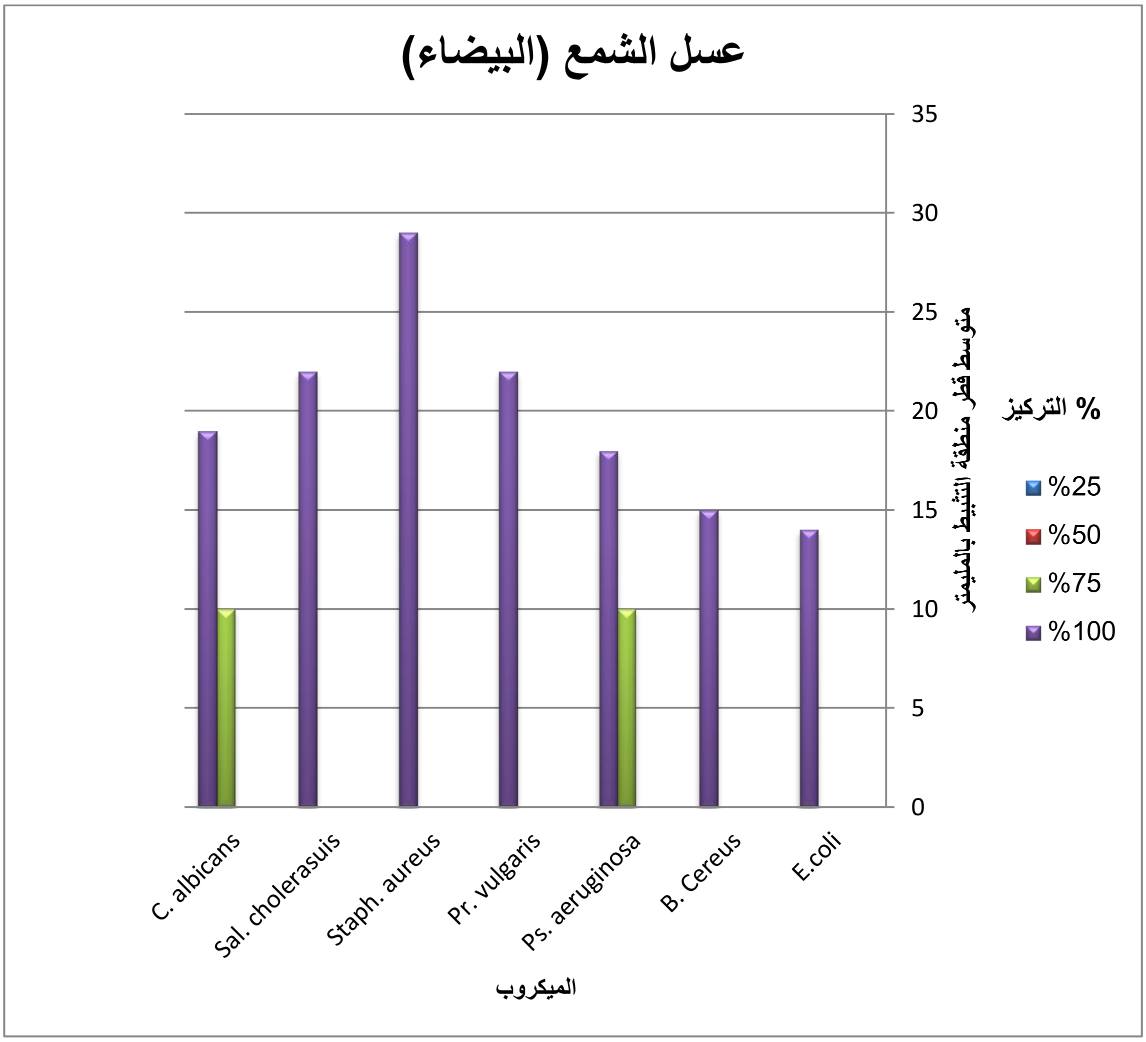
شكل رقم (18) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشبرو

.يبين الشكل رقم (18) والجدول رقم (7) ان التأثير المثبط لعسل الشبرو الخام كان عند التركيز100% ضد بكتيريا *B. cereus* *Ps. aeruginosa*، *Pr.vulgaris*، *Sal. cholerasuis*. حيث تروح متوسط أقطار مناطق التثبيط من(9 الي 13مم).



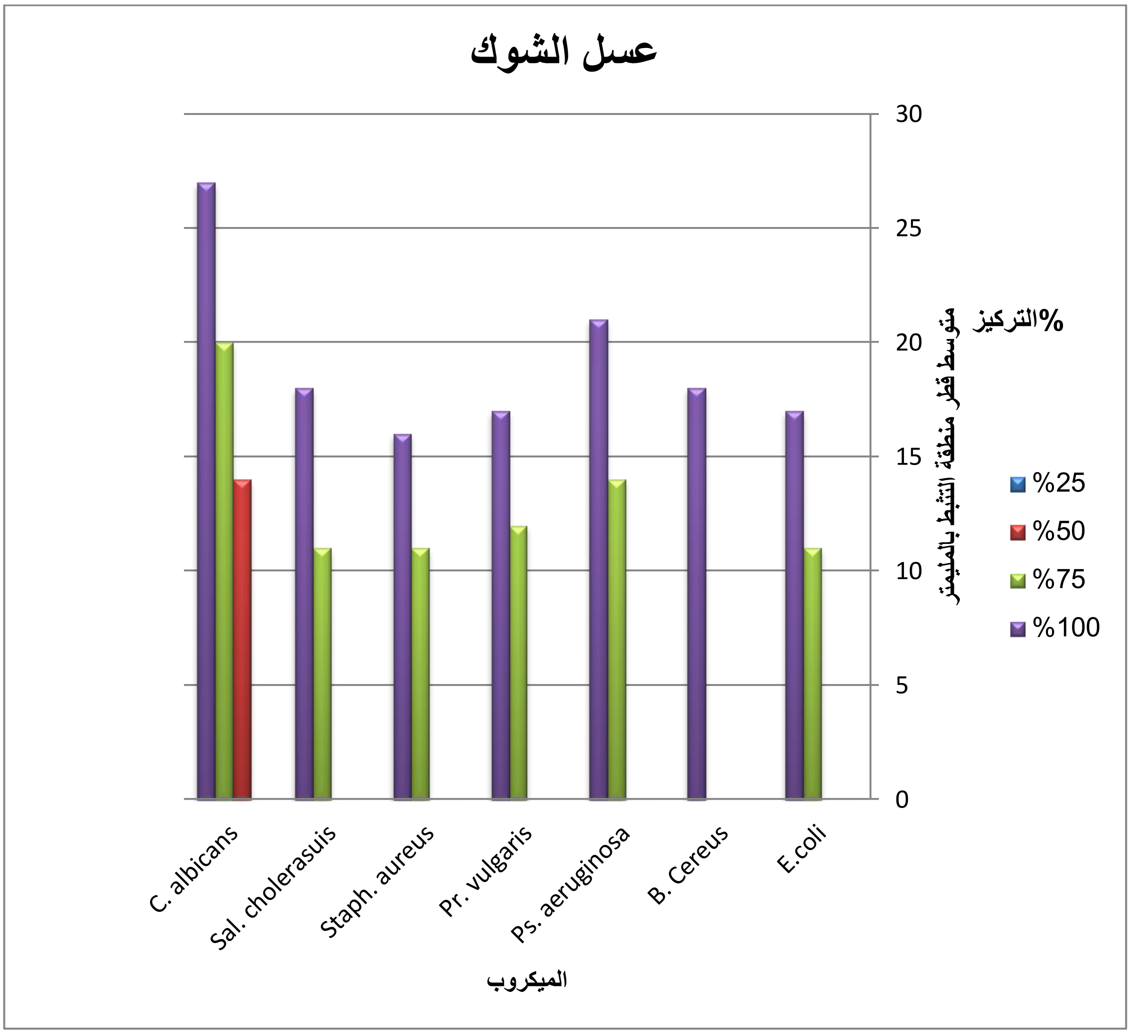
شكل رقم (19) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشمع(سلوق)

أظهرت النتائج اختلاف التأثير المثبط لعسل الشمع (سلوق) باختلاف الميكروب حيث كان افضل تأثير له عند التركيز 100% بمتوسط(2±27 مم)ضد بكتيريا *Ps. aeruginosa* وقد كان اقل قطر له ضد بكتيريا *Ps. aeruginosa* بمتوسط (2±13 مم) كما تروح التأثير التركيز 75% (من11 الي 13 مم) ضد كل من *Sal. cholerasuis*, *Staph aureus*،*C. albicans*على التوالي كما هو موضح بالشكل رقم (19) ،ولم تظهر التراكيز50%،25% أي تاثير مثبط ضد الميكروبات المختبرة وقد تبين وجود فروق معنوية عند مستوى 0.05= α بفرق معنوي LSD=0.00.بين التراكيز المستخدمة .



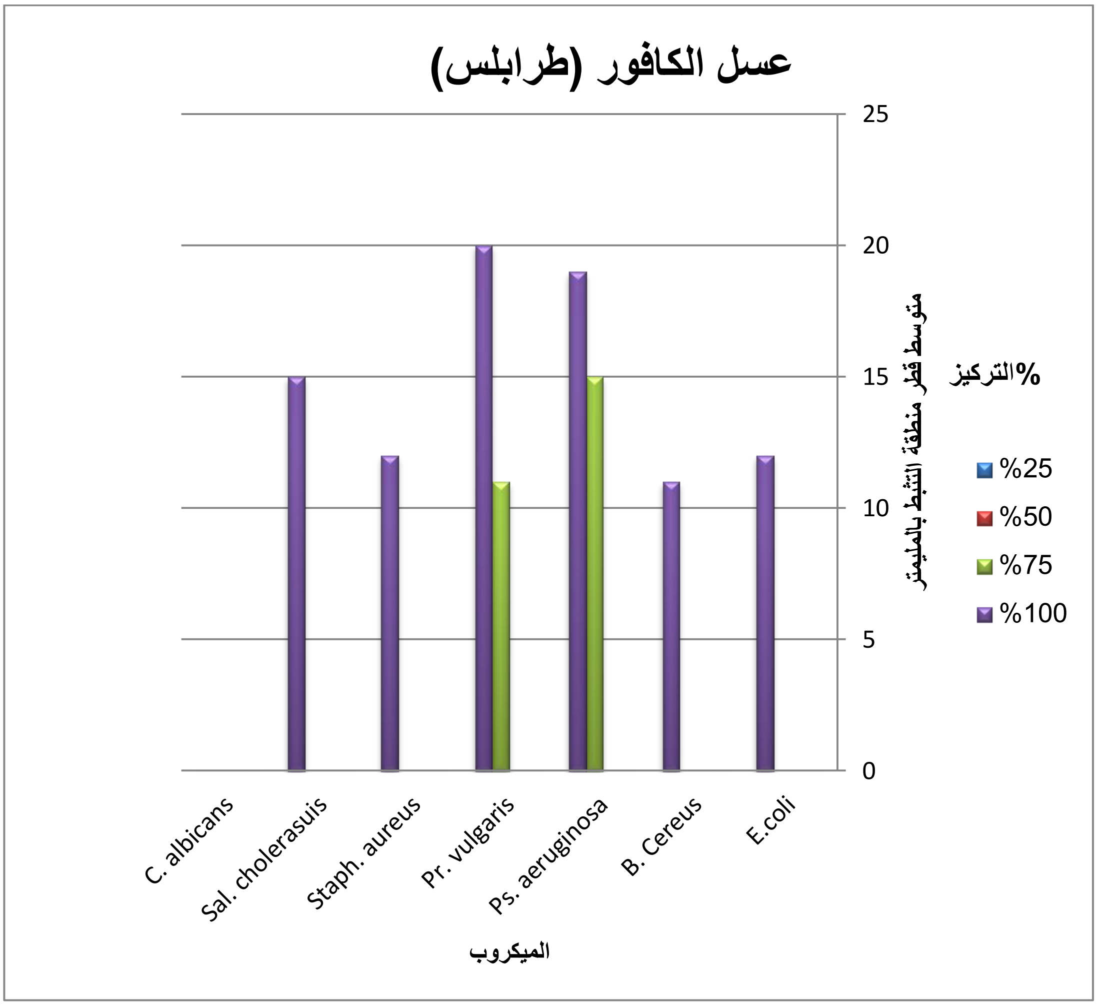
شكل رقم (20) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشمع(البيضاء)

يبين الشكل رقم (20) ان عسل الشمع (البيضاء) كان له افضل تأثير مثبط ضد بكتيريا *Staph aureus* بمتوسط (2±29 مم) وكان اقل قطر له(1 ± 13مم) ضد *بكتيريا E.coli* ، كما اقتصر تأثير التركيز 75% ضد كل من *Ps. aeruginosa* وفطر *C. albicans*،حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (1± 10، 0.5 ± 10مم)على التوالي ،ايضا قد تبين وجود فروق معنوية داله احصائيا عند مستوى معنوي α=0.05 بين التراكيز المستخدمة .



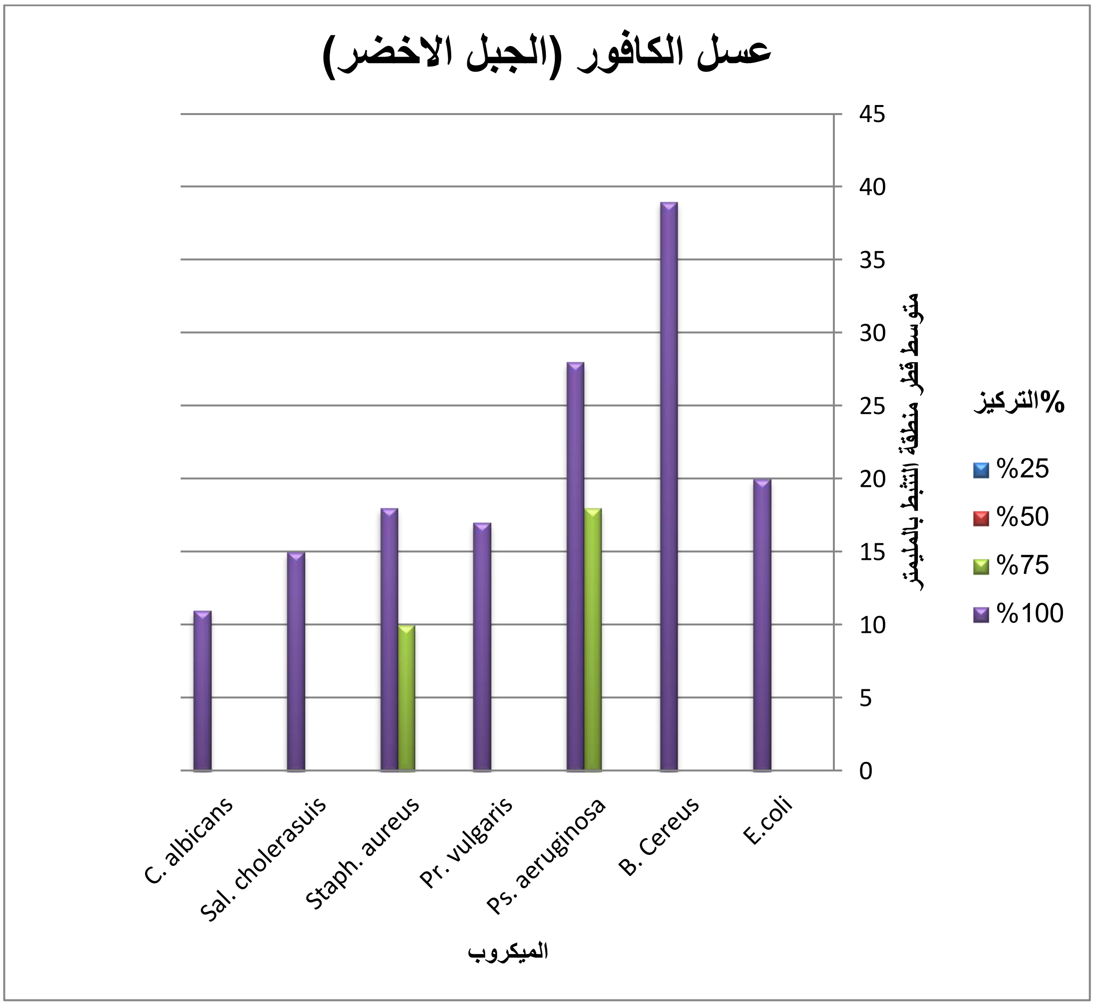
شكل رقم (21) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الشوك

أظهرت النتائج ان أقطار مناطق التثبيط لعسل الشوك الخام تراوحت من 16 الي27 مم ضد الميكروبات المختبرة وكان اكثرها حساسية فطر *C. albicans* يليه بكتيريا *Ps. Aeruginosa* ، كما هو مبين بالشكل رقم (21) في حين أظهر اقل قطر منطقة تثبيط (1.5 ± 16مم) عند بكتيريا *Staph aureus* مما أدى الي وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي $\alpha=0.05$.



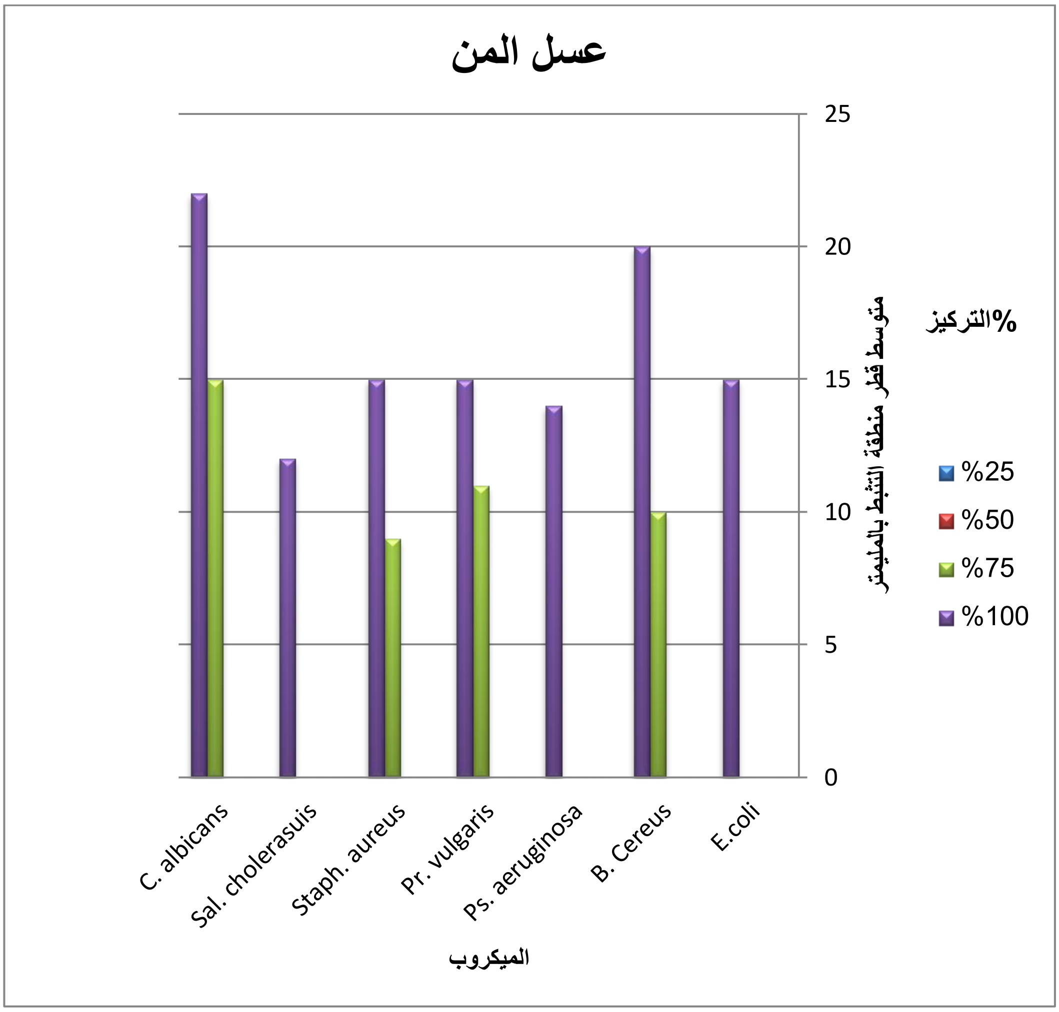
شكل رقم (22) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل عسل الكافور (طرابلس)

يبين الشكل رقم (22) وجود تباين في التأثير المثبط لعسل الكافور (طرابلس) كما تظهر النتائج فاعلية العسل الخام والغير مخفف ضد البكتيريا المختبرة وكان اكثرها حساسية *Pr. vulgaris* بمتوسط قطر(3.6± 20 مم) فيما لم يكن له أي تأثير ضد فطر *C. albicans* ؛ واقتصر تأثير التركيز 75% على بكتيريا *Ps. aeruginosa*،*Pr. vulgaris* بمتوسط قطر(15±0.5، 11±0.1 مم)على التوالي مما دل على وجود فرق معنوي عند مستوى معنوي $\alpha=0.05$



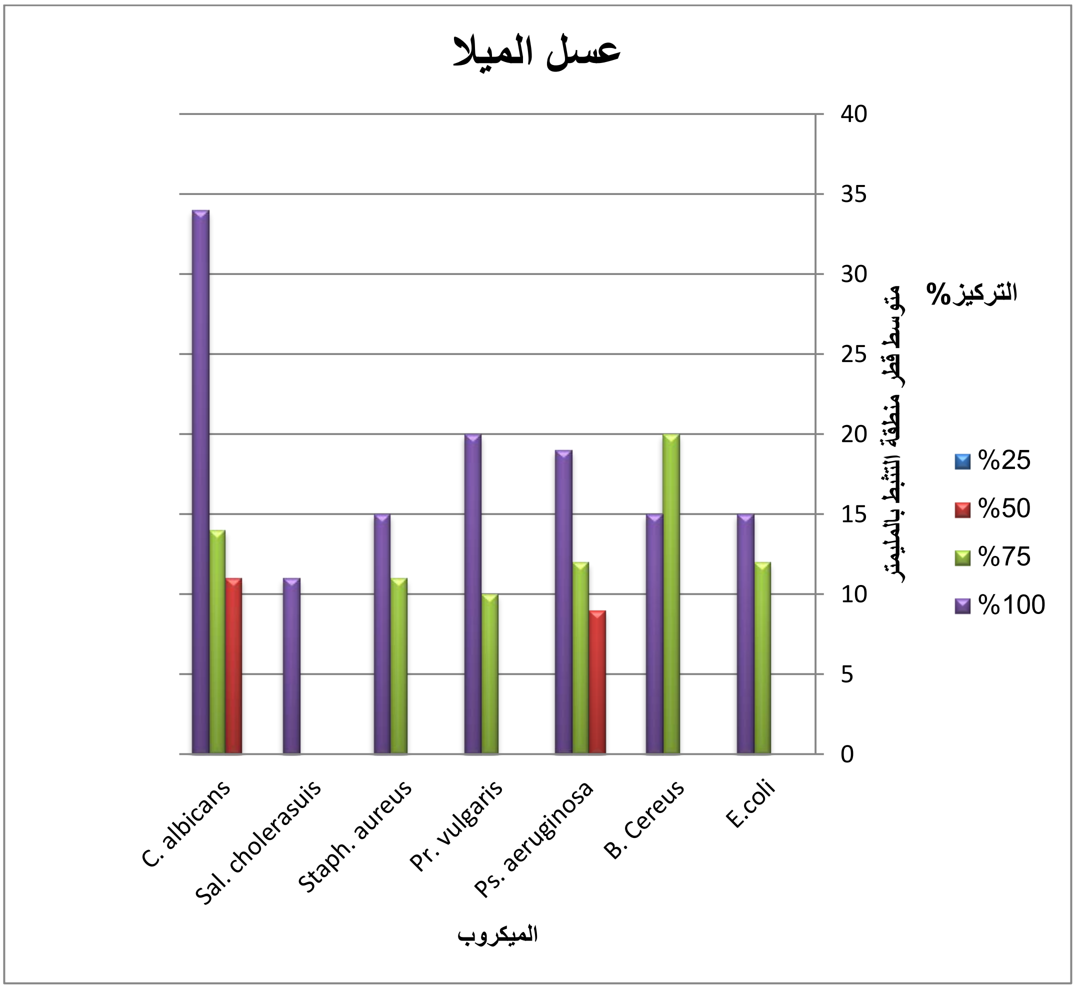
شكل رقم (23) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل عسل الكافور (الجبل الاخضر)

اما بالنسبة لنتائج عينة عسل الكافور(الجبل الاخضر) عند التركيز100% فقد تبين ان لهذه العينة طيف واسع من التثبيط حيث بلغ اعلى قطر منطقة تثبيط (39 ±1.5مم) ضد بكتيريا *B. cereus* واقل قطر ضد فطر *C. albicans* (11 ± 0مم) كما في الشكل رقم(23) أما عن نتائج التحليل الاحصائي فتبين أن هناك فروق معنوية بين الميكروبات وبين التراكيز عند مستوى معنوية α =0.05 وذلك بفروق معنوية LSD=0.00.



شكل رقم (24) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل عسل المن

أما وفيما يخص نتائج عسل المن فقد أظهرت أن له تأثير مثبط ضد كل الميكروبات المختبرة حيث بلغ اقصى اثر مثبط له ضد فطر *C. albicans* بمتوسط (1.7 ± 22 مم) عند تركيز 100% يليه بكتيريا *B. cereus* بمتوسط قطر(3.6 ± 20 مم) وكما يوضح الشكل رقم (24) ان تأثير التركيز 75% ضد بكتيريا *B cereus*، .*Staph aureus* *Pr. vulgaris* و فطر *C. albicans* حيث تروح متوسط القطر من9 الي 15 مم على التوالي، كما تباين تأثير التراكيز 75% و100% ضد الميكروبات المختبرة وذلك فروق معنوي LSD=0.00. عند مستوى معنوية 0.05= α.



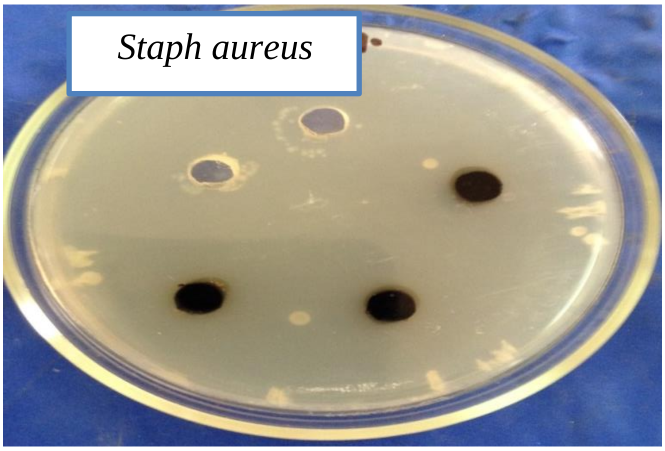
شكل رقم (25) متوسط أقطار مناطق التثبيط لتراكيز المختلفة لعسل الميلا

اما نتائج تأثير التراكيز المختلفة لعينة عسل الميلا ،وكما هو موضح في الجدول (7) والشكل رقم (25) فقد اثبت ان النمو البكتيري في الوسط الغذائي الصلب كان ضعيف عند التراكيز 100% -75% ، اما التركيز 50% فقد كان له تأثير مثبط على بكتريا *Ps. aeruginosa* (1± *9* مم) وفطر *C. albicans* حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (1±11مم) ،اما التركيز25% فقد اظهرت جميع هذه الميكروبات المختبرة مقاومة ونمو كثيف ،كما اوضحت نتائج التحليل الاحصائي أن هناك فروق معنوية عند مستوى α =0.05 وذلك بفروق معنوية LSD=0.00.

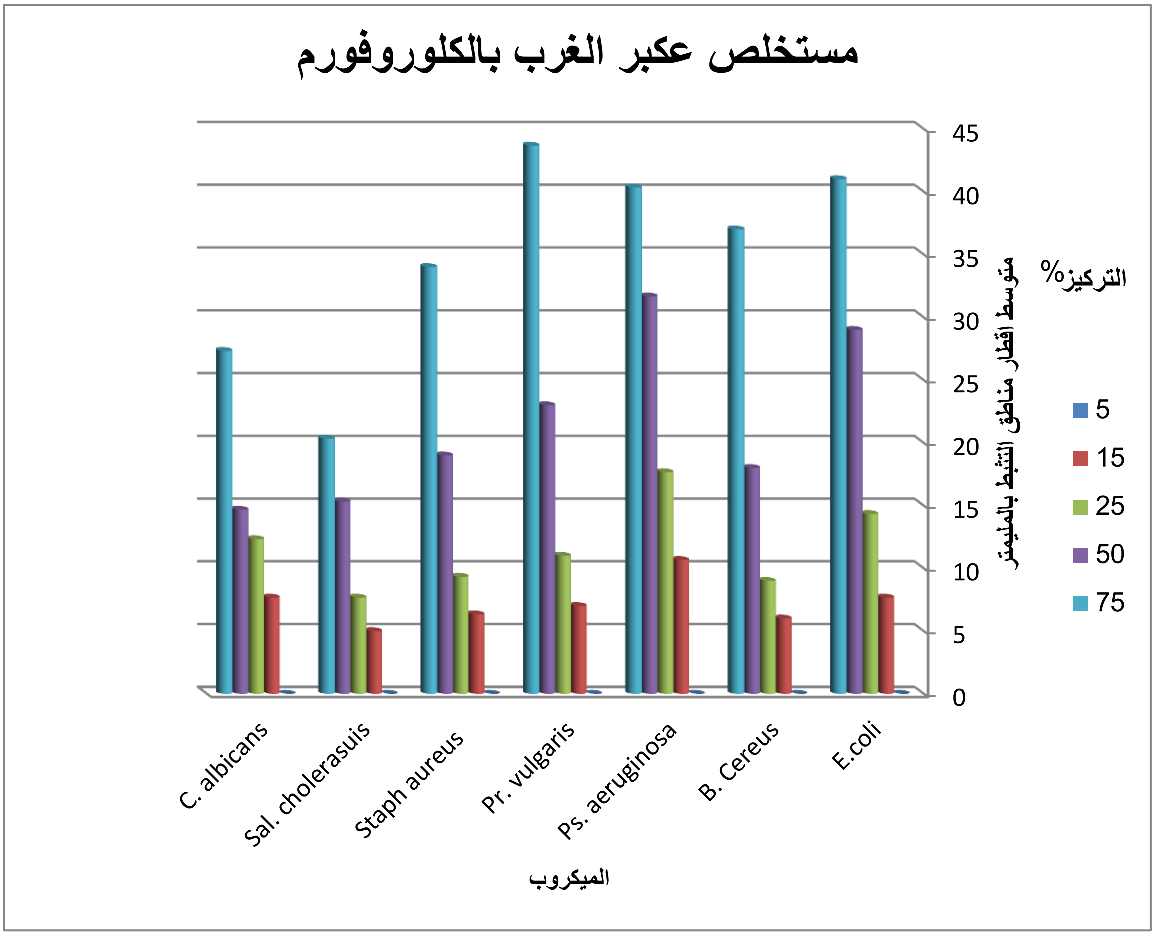
4.3- تقييم التأثير المضاد لمستخلصات العكبر ضد الميكروبات المختبرة :

أظهرت مستخلصات العكبر نشاط مضاد للميكروبات المختبرة وكانت فعاله جدا في الحد من نموها و تكاثرها على الاطباق الزراعية باستثناء المستخلص المائي الذي لم يظهر اي تأثير يذكر ، كما لوحظ ان هناك تباين واضح لعامل التركيز والمذيب المستعمل في التأثير على نمو تلك الميكروبات حتيث بلغ اقصى تأثير عند التركيز (100%) ملغم / مل من المستخلص ، و ان لزيادة التركيز اثر في زيادة التأثير التثبيطي، حيث كان افضلها مستخلص العكبر الخام بالكلوروفورم فقد كان له تأثير قاتل ومبيد لعدم وجود نمو ميكروبي علي الطبق بعد التحضين يليه مستخلص عكبر الغرب بالأسيتون بمتوسط منطقة تثبيط (5±32.42 مم) ومستخلص الميثانول بمتوسط (5±30.94 مم) والإيثانول (5± 23.328) وان اقل تأثير كان عند التراكيز (5 -15 %) ملغم / مل وهذا ما توضحه الجداول (12,13,14) ، كما بينت النتائج ان النمو الميكروبي في الوسط الغذائي الصلب كان معدوماً عند التراكيز 50% - 100 % من المستخلص، في حين كان النمو ضعيفاً في التركيز 25%، اما النمو البكتيري عند التراكيز 5% -15% فقد اظهر مقاومة ونمو كثيف يزداد كلما قل تركيز المستخلص، وهذا يدل دلالة واضحة ان العكبر عند التراكيز العالية له تأثير عالي في منع النمو في حين تقل قدرته على تثبيط النمو الميكروبي عند التراكيز المنخفضة.

كما أوضحت نتائج التأثير المضاد لمستخلص عكبر الغرب باستخدام مذيب الكلوروفورم المبينة في الشكل (26) والجدول (8) أن بكتيريا *Pr. vulgaris* كانت الاكثر حساسية للمستخلص بمتوسط قطر(43.67±0.58 مم) وأن هذا التأثير زاد بزيادة تركيز المستخلص،بينما بكتيريا *Sal. cholerasuis* كانت الاقل حساسية للمستخلص حيث بلغ قطر منطقة التثبيط (20.33±0.58 مم) عند التركيز 75%، وقد تبين أن وجود فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$.



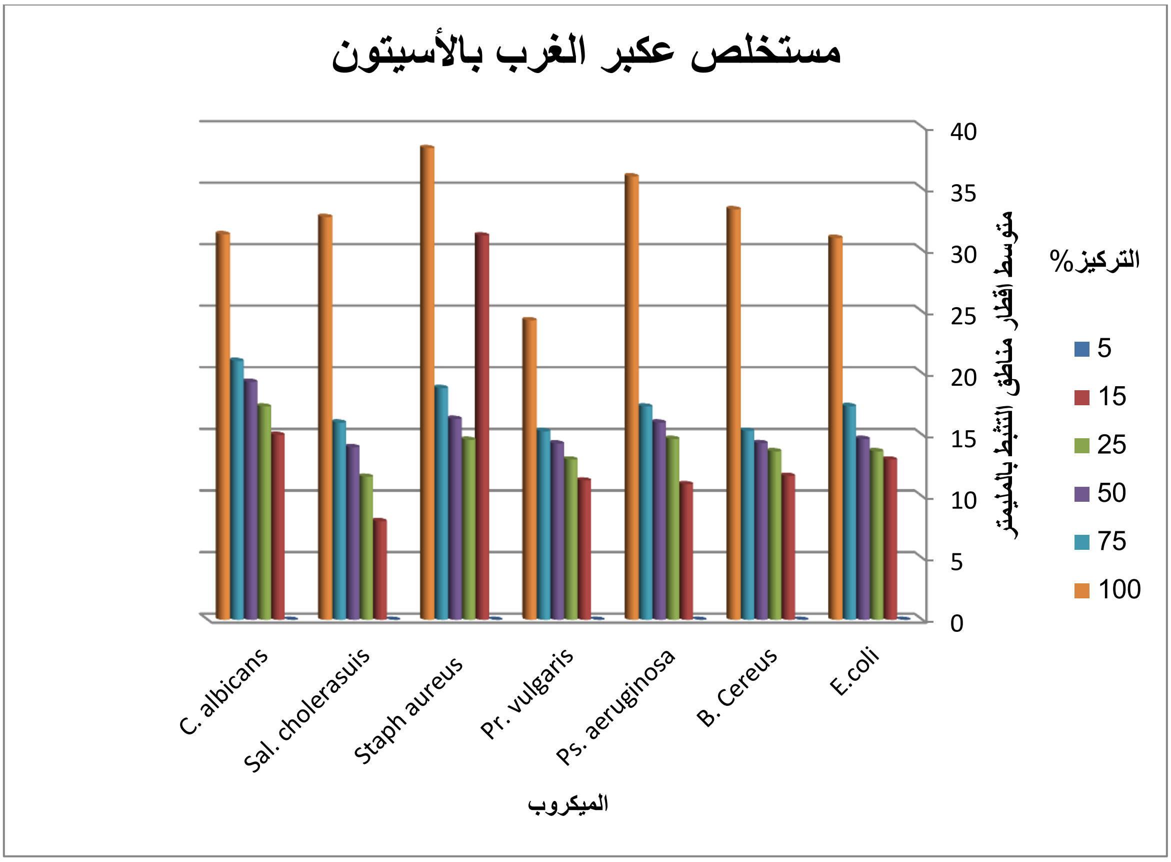
شكل (26) تأثير مستخلص عكبرالغرب بالكلوروفورم عند التركيز 100%



شكل رقم (27) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم

جدول رقم (9) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم

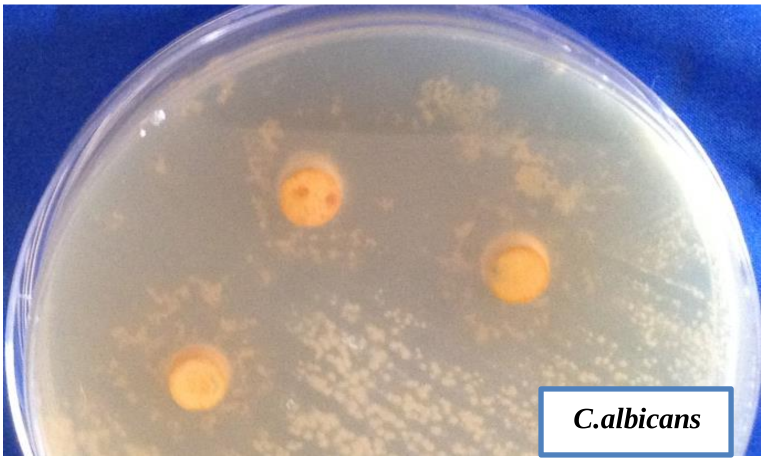
التراكيز%	E.coli	B. cereus	Ps. aeruginosa	Pr. vulgaris	Staph aureus	Sal. cholerasuis	C. albicans
	تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر االغرب باللكلوروفورم						
	متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة						
5	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
15	7.67±0	6±0	10.67±1.53	7±1	6.33±0.58	5±0	7.67±1.15
25	14.33±1.15	9±1	17.67±1.53	11±1	9.33±0.58	7.67±0.58	12.33±0.58
50	29±1	18±01	31.67±1.53	23±1	19±01	15.33±0.58	14.67±0.58
75	41±3.21	37±2.08	40.33±0.58	43.67±0.58	34±1	20.33±0.58	27.33±2.08
LSD	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



شكل رقم (28) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالأسيتون

اما بالنسبة لنتائج التأثير المضاد لمستخلص عكبر الغرب باستخدام مذيب الاستون فقد اعطى اعلي قطر منطقة تثبيط ضد بكتيريا *Staph. aureus* بمتوسط (38.33±2.89 مم) يليها كل من *E.coli*

B. cereus ،and *Ps. aeruginosa* (31 الي 36 مم) عند التركيز 100% وفطر *C. albicans* (1.53± 31.33 مم) في حين اختلفت تأثير باقي التراكيز باختلاف الميكروب كما هو موضح بالجدول رقم (10) والشكل رقم (28) مما ادي الي وجود فروق معنوية بين الميكروبات المختبرة والتراكيز المستخدمة عند مستوى معنوية α =0.05.باستثناء التركيز 5% الذي لم يظهر أي تأثير .



شكل (29) تأثير مستخلص عكبر الغرب بالأسيتون عند التركيز 100%

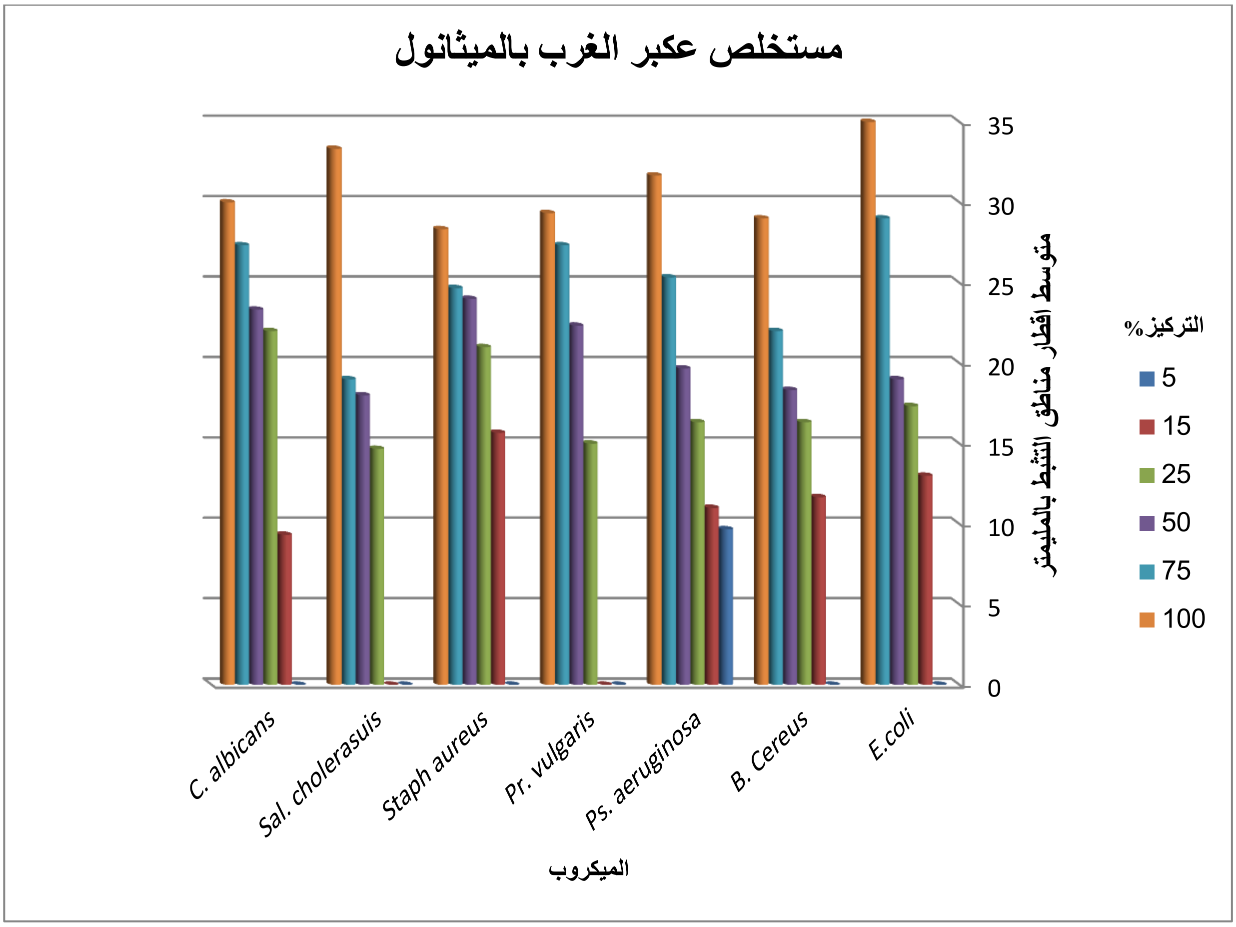
.

جدول رقم (10) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالاسيتون

تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالاسيتون							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) على الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	*Sal. cholerasuis*	*Staph aureus*	*Pr. vulgaris*	*Ps. aeruginosa*	*B. cereus*	*E.coli*	
0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	**5**
15±1	8±1.73	12.33±0.58	11.33±0.58	11±1	11.67±0.59	13±1	**15**
17.33±0.58	11.67±0.58	14.67±0.58	13±0	14.67±0.58	13.67±0.58	13.67.±1.15	**25**
19.33±0.58	14±1.73	16.33±0.58	14.33±0.58	16±1	14.33±0.58	14.67±0.58	**50**
21±1	16±1	18.67±1.15	15.33±0.58	17.33±1.15	15.33±0.58	17.33±1.15	**75**
31.33±1.53	32.67±2.52	38.33±2.89	24.33±4.04	36±3.61	33.33±2.89	31±3.61	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

المتوسط ± الانحراف المعيار

يوضح الجدول رقم(11) والشكل (27) امتلاك مستخلص عكبر الغرب بالميثانول نشاط مثبط ضد الميكروبات المختبرة كما تبين وجود تناسب طردي بين التركيز والتأثير المثبط حيث كان متوسط قطر منطقة التثبيط (35±2.52 مم) ضد بكتيريا *E.coli* بينما بلغ اقل تأثير مثبط له ضد بكتيريا *Staph aureus* (28.33±0.58 مم) لتركيز 100% ، في حين لم يظهر التركيز 5% أي تأثير ضد الميكروبات المختبرة وهذه الفروق كانت فروق معنوية مهمة بين التركيز والميكروبات عند مستوى معنوي 0.05= α.



شكل رقم (30) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص مستخلص عكبر الغرب بالميثانول

جدول رقم (11) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالميثانول

تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالميثانول							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	*Sal. cholerasuis*	*Staph aureus*	*Pr. vulgaris*	*Ps. aeruginosa*	*B. cereus*	*E.coli*	
0±0	0±0	0±0	0±0	9.67±0.58	0±0	0±0	**5**
9.33±0.58	0±0	15.67±0.58	0±0	11±1	11.67±1.53	13±1	**15**
22±2.65	14.67±1.53	21±1	15±1	16.33±1.53	16.33±0.58	17.33±1.53	**25**
23.33±1.53	18±1	24±1	22.33±2.52	19.67±0.58	18.33±0.58	19±1	**50**
27.33±2.08	19±1	24.67±1.53	27.33±2.08	25.33±3.51	22±2	29±1	**75**
30±1	33.33±2.08	28.33±0.58	29.33.±1.15	31.67±2.89	29±1	35±2.52	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

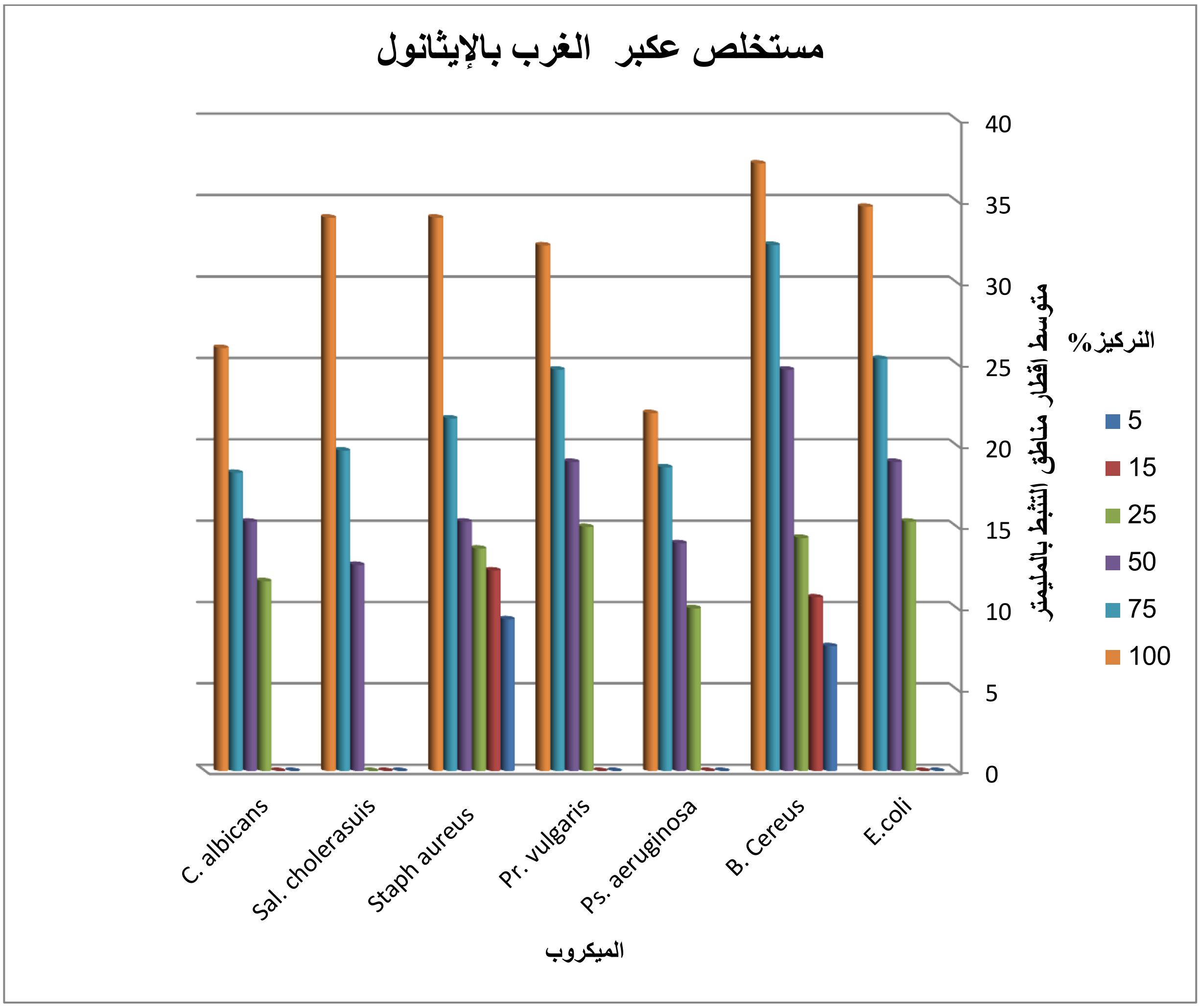
المتوسط ± الانحراف المعيار

جدول رقم (12) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالإيثانول

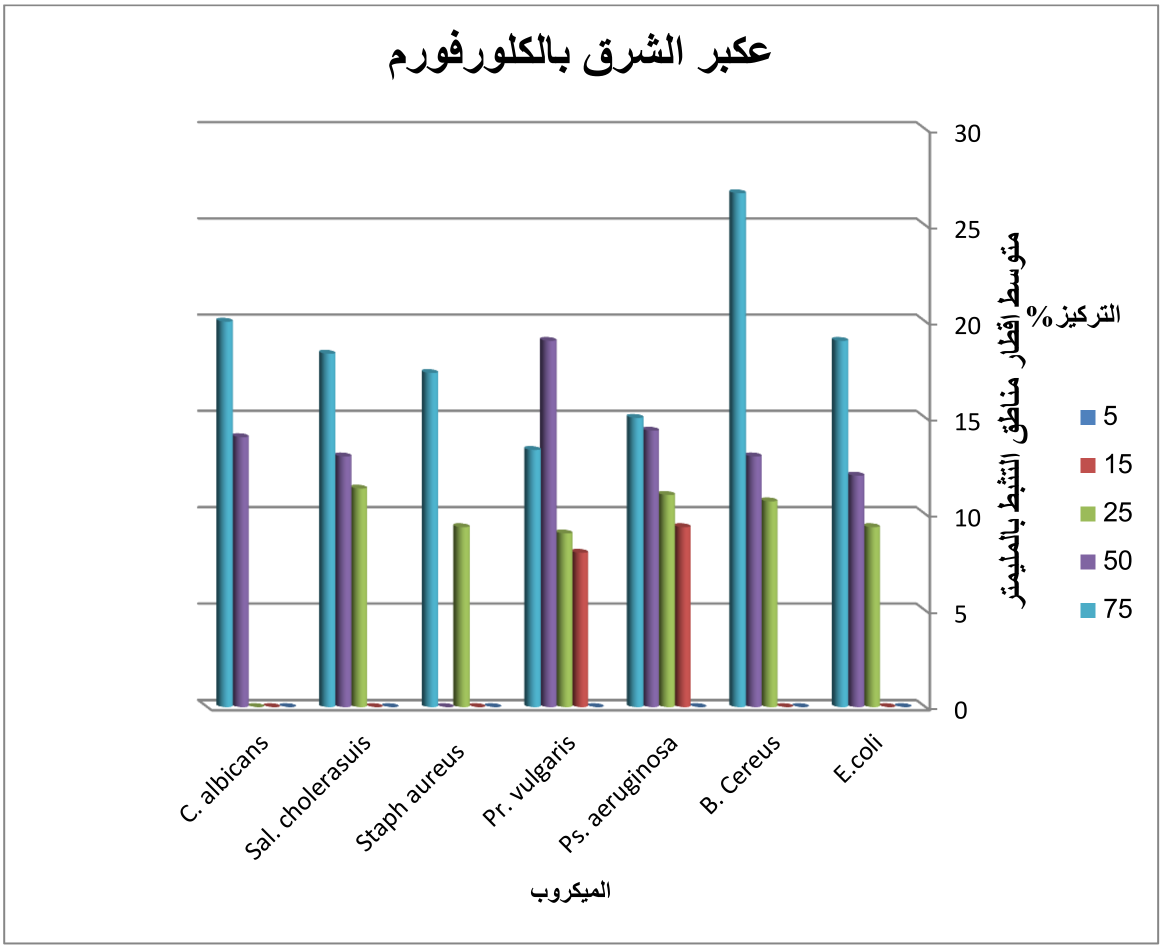
تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الغرب بالإيثانول							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	*Sal. cholerasuis*	*Staph aureus*	*Pr. vulgaris*	*Ps. aeruginosa*	*B. cereus*	*E.coli*	
0±0	0±0	9.33±0.58	0±0	0±0	7.67±0.58	0±0	**5**
0±0	0±0	12.33±0±0.58	0±0	0±0	10.67±0.58	0±0	**15**
11.67±0.58	0±0	13.67±0.58	15±1	10±1	14.33±1.15	15.33±0.58	**25**
15.33±0.58	12.67±0.58	15.33±0.58	19±1	14±1	24.67±0.58	19±1	**50**
18.33±0.58	19.7±1.52	21.67±1.53	24.67±0.58	18.67±1.53	32.33±2.52	25.33±0.58	**75**
26±1	34±1	34±1	32.33±2.52	22±1	37.33±2.08	34.67±4.16	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

المتوسط ± الانحراف المعيار

يوضح الجدول رقم(12) والشكل (28) تباين النشاط التثبيطي لمستخلص عكبر الغرب باستخدام مذيب الإيثانول باختلاف الميكروب والتركيز المستخدم ، حيث كان تأثيره الأعلى ضد بكتيريا *B. cereus* *بقطر(2.08± 37.33 مم)* في حين كانت بكتيريا *Ps. aeruginosa* الاقل حساسية بمتوسط قطر (1±22 مم)عند التركيز 100% وتبين احصائيا وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي $\alpha = 0.05$ بين الميكروبات المختبرة .



شكل رقم (31) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص مستخلص عكبر الغرب بالإيثانول

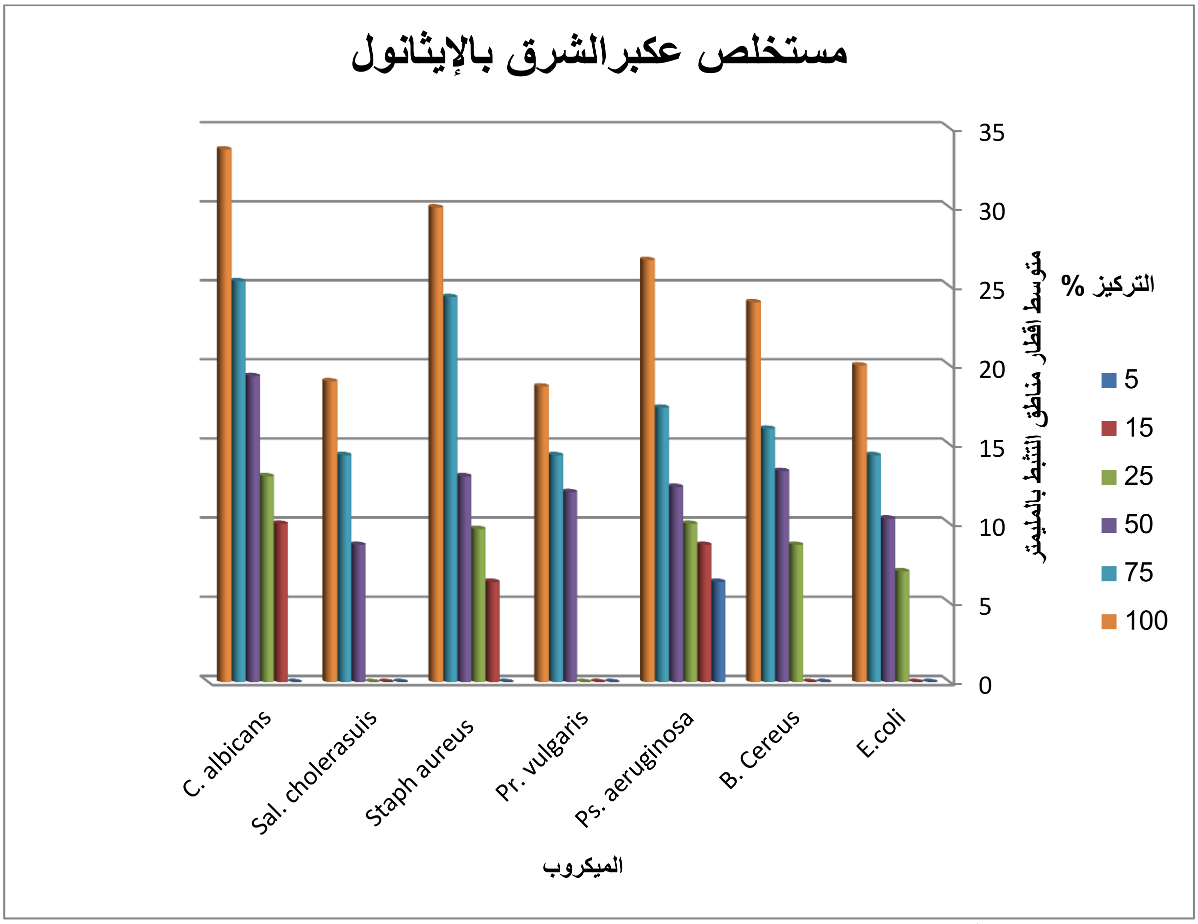


شكل رقم (32) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص مستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم

اما نتائج مستخلصات عكبر المنطقة الشرقية فقد أظهر مستخلص مذيب الكلوروفورم أفضل فاعلية تثبيطيه ضد جميع الميكروبات المختبرة حيت تفوق المستخلص الخام لتركيز 100%، في حين تراوحت أقطار مناطق التثبيط من 26.67 الي 15 مم لتركيز 75% يليه التركيز 50% بمتوسطات تراوحت من13 -19 مم ،كما اختلف تأثير التركيز 25%،15 % ضد الميكروبات المختبرة ولم يظهر التركيز 5% أي تأثير مثبط ،و نتائج التحليل الاحصائي بينت أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين تراكيز المستخلص عند مستوى معنوية 0.05= α وذلك بفروق معنوية LSD=0.00. المبينة في الجدول (13) والشكل (32).

جدول رقم (13) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم

تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) على الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***	
0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	**5**
0±0	0±0	0±0	8±1	9.33±0.58	0±0	0±0	**15**
0±0	11.33±1.15	9.33±0.58	9±0.58	11±1	10.67±0.58	9.33±0.58	**25**
14±1	13±1.73	13. 67±1.53	19±1	14.33±1.15	13±1.73	12±1	**50**
20±0	18.33±0.58	17.33±2.52	13.33±1.53	15±0	26.67±5.78	19±1.15	**75**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

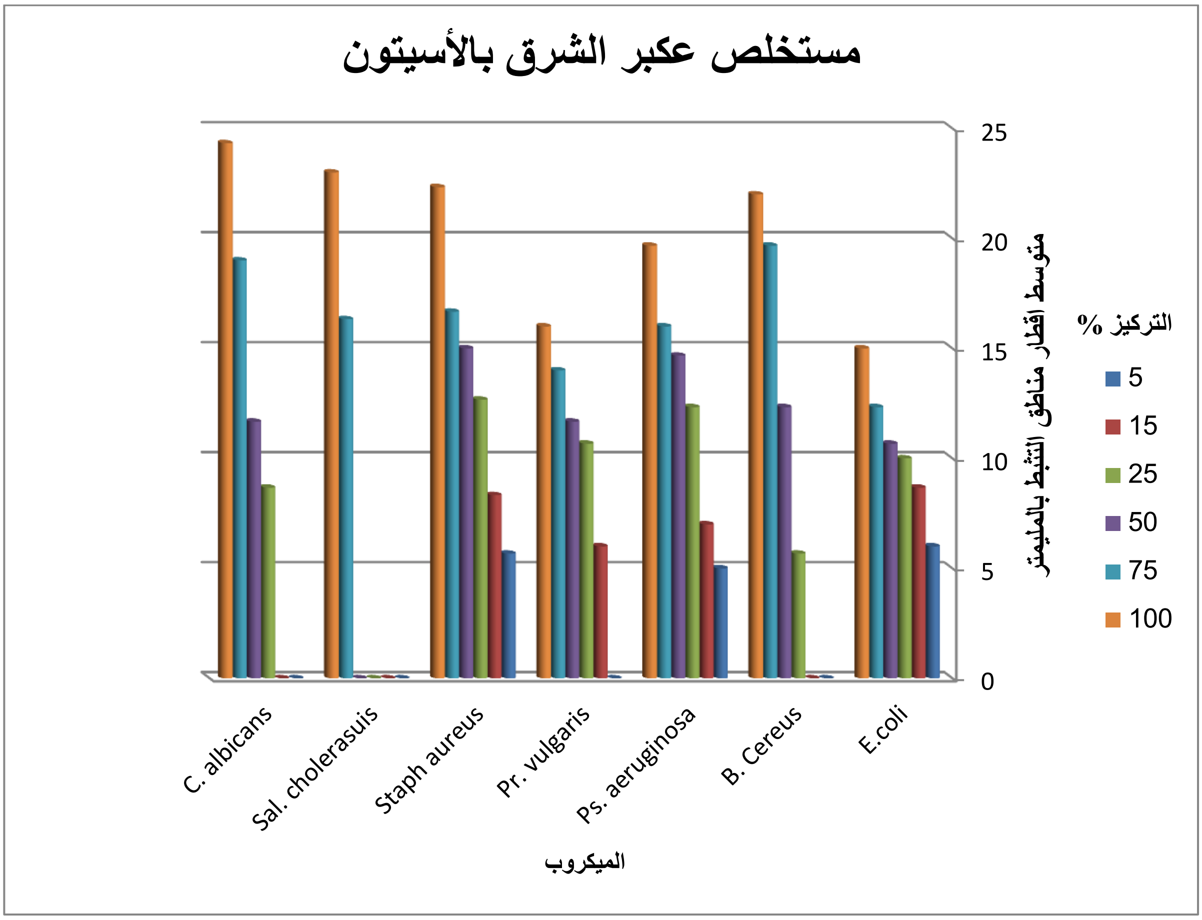


شكل رقم (33) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص مستخلص عكبر الشرق بالإيثانول

جدول رقم (14) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالإيثانول

تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالإيثانول							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة							التراكيز %
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***	
0±0	0±0	0±0	0±0	6.33±0.58	0±0	0±0	**5**
10±1	0±0	6.33±0.58	0±0	8.67±0.58	0±0	0±0	**15**
13±1	0±0	9.67±1.15	0±0	10±1	8.67±0.58	7±0	**25**
19.33±0.58	8.67±0.58	13±1	12±1	12.33±0.58	±0.58 13.33	10.33±0.58	**50**
25.33±0.58	14.33±2.08	24.33±0.58	14.33±0.58	17.33±1.53	16±1	14.33±1.15	**75**
33.67±1.15	19±1	30±1	18.67.±1.15	26.67±1.53	24±0.58	20±1	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

اما فيما يخص نتائج مستخلص عكبر الشرق بالإيثانول فقد اظهر فطر *C. albicans* حساسية عند التركيز 100% بمتوسط قطر (33.67±1.15 مم)،في حين كان الاقل حساسية هي بكتيريا *Pr. vulgaris* بمتوسط (18.67.±1.15 مم) كما هو موضح بالجدول (14) والشكل(33)، كما اختلف تأثير التركيز من ميكروب لآخر ولم يؤثر التركيز 5% ضد الميكروبات المختبرة باستثناء بكتيريا *Ps. aeruginosa* بمتوسط قطر (6.33±0.58 مم) اما احصائيا فقد دلت النتائج على وجود فروق معنوية عند مستوي معنوية 0.05= α.



شكل رقم (34) يبين تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص مستخلص عكبر الشرق بالأسيتون

أظهرت نتائج مستخلص عكبر الشرق بالاسيتون اختلاف التأثير المثبط للمستخلص تبعا للتركيز المستخدم والميكروب المختبرحيث كان افضل تراكيز مثبط هو 100% بمتوسط قطر(24.33±1.15 مم) ضد فطر *C. albicans*، كما هو مبين بالجدول (15) والشكل(34)، أما نتائج التحليل الاحصائي فبينت أن هناك فروق معنوية بين الميكروبات وبين التراكيز عند مستوى معنوية 0.05= α وذلك بفروق معنوية LSD=0.00.

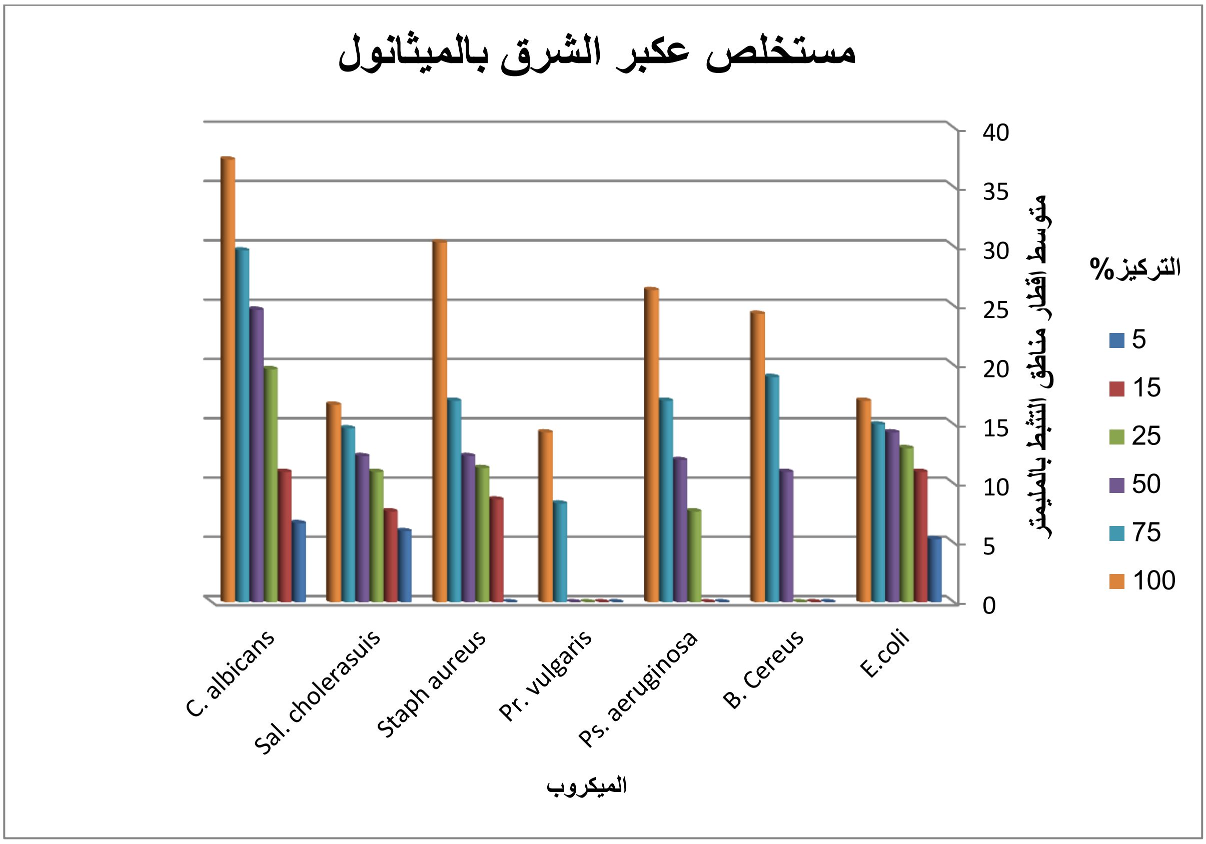
جدول رقم (15) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالأسيتون

تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالاسيتون							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***	
0±0	0±0	5.67±1.15	0±0	5±0	0±0	6±0	**5**
0±0	0±0	8.33±0.58	6±0	7±1	0±0	8.67±0.58	**15**
8.67±0.58	0±0	12.67±1.53	10.67±0.58	12.33±0.58	5.67±0.58	10±0	**25**
11.67±0.58	0±0	15±1	11.67±1.53	14.67±0.58	12.33±0.58	10.67±0.58	**50**
19±1.73	16.33±1.15	16.67±1.53	14±1	16±0	6719.±0.58	12.33±0.58	**75**
24.33±1.15	23±3	22.33±2.52	16±1	19.67±0.58	22±1	15±1	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**

يبين الجدول (16) والشكل (35) تباين نتائج التاثير المثبط لمستخلص الشرق بالميثانول وفق التركيز والميكروب المختبر حيث أظهر فطر *C. albicans* حساسية عالية عند التركيز 100% بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغ (37.33±2.08 مم) بينما كانت بكتيريا *Pr. vulgaris* الاقل حساسية ضد التركيز 100% بمتوسط قطر (14.33.±0.58مم) ، وبينت النتائج وجود فروق معنوية بين الميكروبات والتراكيز المستخدمة في الدراسة عند مستوى معنوية 0.05= α وذلك بفروق معنوية LSD=0.00.

جدول رقم (16) يوضح تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالميثانول

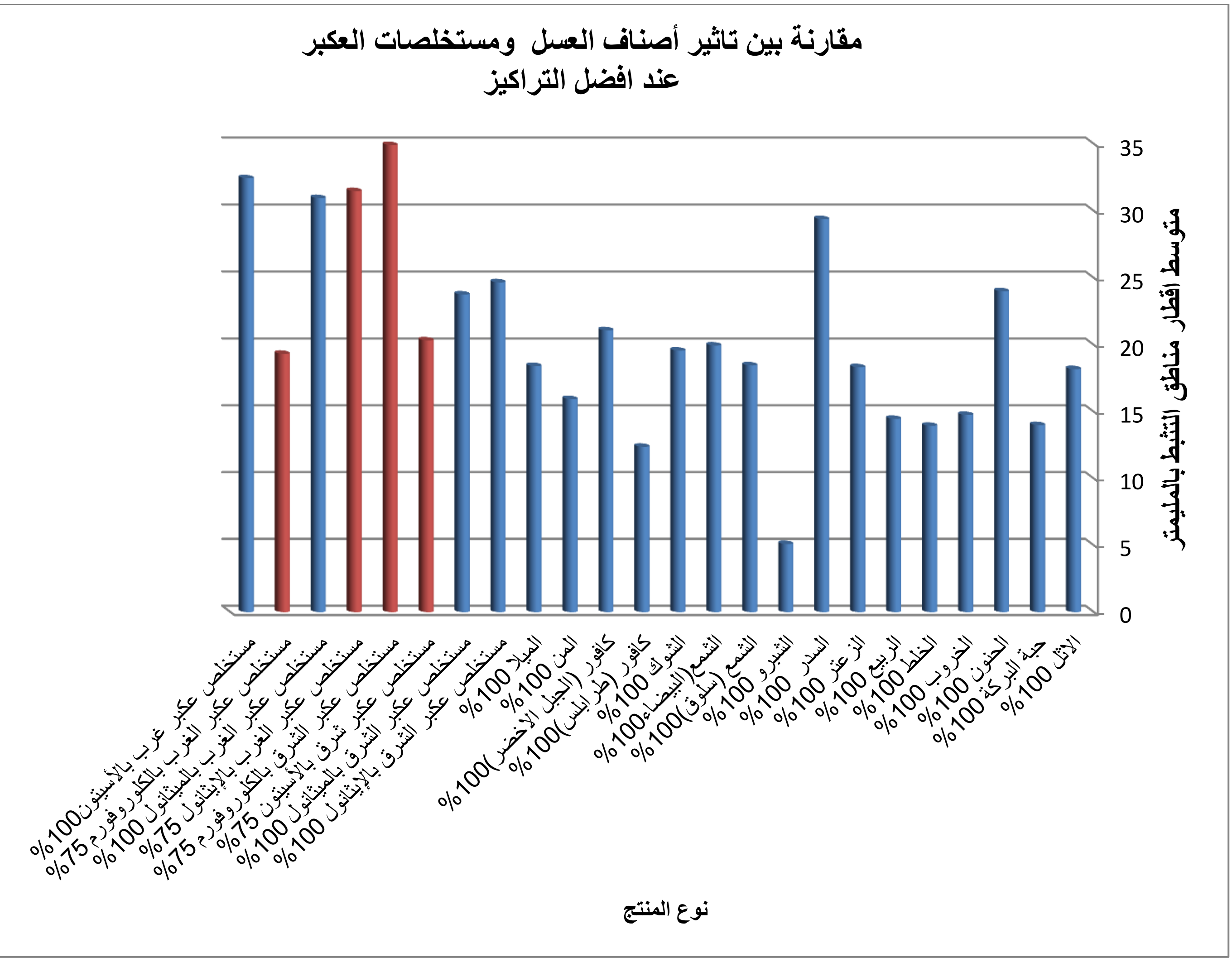
تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص عكبر الشرق بالميثانول							
متوسط أقطار مناطق التثبيط (بمم) الميكروب المختبرة							التراكيز%
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***	
8.67±0.58	6±0	0±0	0±0	0±0	0±0	5.33±0.58	**5**
11±1	7.67±0.58	8.67±0.58	0±0	0±0	0±0	11±0	**15**
19.67±0.58	11±0	11.33±0.58	0±0	7.67±0.58	0±0	13±0	**25**
24.67±0.58	12.33±0.58	12.33±0.58	0±0	12±1	11±1	14.33±0.58	**50**
29. 67±0.58	14.67±0.58	17±1	8.33±0.58	17±1	19±1	15±1	**75**
37.33±2.08	16.67±0.58	30.33±0.58	14.33.±0.58	26.33±0.58	24.33±1.15	17±1	**100**
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	**LSD**



شكل (35). يبين تأثير التراكيز المختلفة مستخلص عكبر الشرق بالميثانول

5.3-المقارنة بين تأثير العسل والعكبر

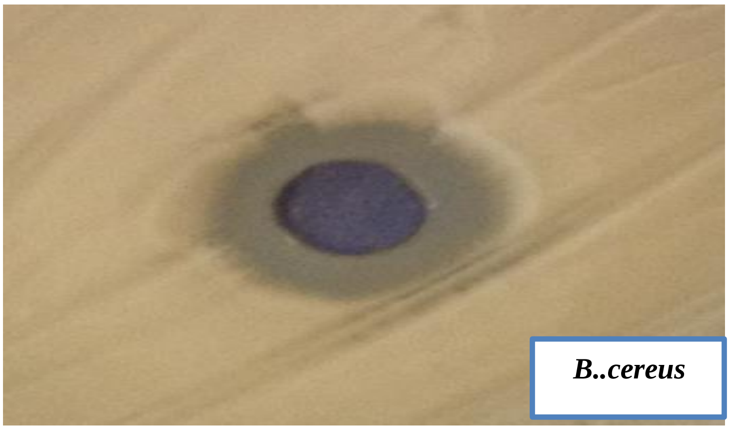
يبين الجدول رقم (17) .والشكل رقم (37) . افضل التراكيز لكل من العسل ومستخلصات العكبر بناء على متوسط قطر منطقة التثبيط ، حيث كان افضلها مستخلص عكبر الشرق الخام بالكلوروفورم وبمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغ (34) مم ثم مستخلص عكبر الغرب بالأسيتون بمتوسط قطر منطقة التثبيط (32)مم عند تركيز (100%) بينما كان عسل الشبرو هو الأقل تأثير بمتوسط قطر منطقة التثبيط (5) مم عند تركيز (100%) .كما هو موضح بالشكل رقم (36) .



شكل رقم (36) متوسط أقطار مناطق التثبيط لأفضل التراكيز لكل من العسل والمستخلصات العكبر

جدول رقم (17) يوضح افضل التركيز للعسل ومستخلصات العكبر

العسل و المستخلصات	التركيز	المتوسط
الأثل	%100	18.1905
حبة البركة	%100	14.7619
الحنون	%100	24.0000
الخروب	%100	14.7619
الخلط	%100	13.9524
الربيع	%100	14.4762
الزعتر	%100	18.3333
السدر	%100	29.3810
الشبرو	%100	5.1000
الشمع (سلوق)	%100	18.4762
الشمع (البيضاء)	%100	19.9524
الشوك	%100	19.5714
كافور (طرابلس)	%100	12.3810
كافور (الجبل الاخضر)	%100	21.0952
المن	%100	15.9524
الميلا	%100	18.4286
مستخلص عكبر الشرق بالإيثانول	%100	24.6667
مستخلص عكبر الشرق بالميثانول	%100	23.7619
مستخلص عكبر شرق بالأسيتون	%75	20.3333
مستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم	%75	34.9048
مستخلص عكبر الغرب بالإيثانول	%75	31.4762
مستخلص عكبر الغرب بالميثانول	%100	30.9524
مستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم	%75	19.3333
مستخلص عكبر غرب بالأسيتون	%100	32.4286



شكل(37) تأثير عسل الشبرو عند التركيز100%

الفصـــــــــل الرابع

المناقشة

..إن. النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة للاختبارات المكروبيولوجية لعينات العسل للكشف عن التلوث الميكروبي والتي بينت عدم تلوث العينات وتخمرها وهذا دليل على ان رطوبة عينات العسل كانت في المستوى الطبيعي والمناسب، حيث تراوحت نسبتها ما بين 17 -11.59 %، وهي عامل مهم في طول فترة صلاحية العسل أثناء التخزين، حيث يمكن ان تؤدي زيادة الرطوبة والمحتوى المائي الى نمو الخمائر في العسل، وبالتالي انتاج الكحول الإيثلي وثاني أكسيد الكربون وهي متوافقة مع نتائج (Khalil et al., 2001) ،اما بالنسبة للتبلور فيعتبر من دلائل جودة العسل، وتختلف نسبة وسرعة التبلور من نوع لأخر، اعتمادا على نضج العسل ونوع الرحيق وايضا على نسبة سكر الجلكوز إلى الفركتوز والغرويات والرطوبة وسكر الجلكوز هو الذي يتبلور فقط وهذا ما يفسر وجود طبقة سائلة واخرى متبلوره في العسل، حيث إن سكر الجلوكوز يكون بحالة ذوبان في درجات الحرارة المعتدلة والمرتفعة، ولكن ما أن تنخفض درجة الحرارة حتى ينفصل الجلوكوز من المحلول على شكل بلورات محببة حيث يصبح المحلول فوق درجة التشبع بالجلوكوز(Almeida et al., 2013) اما كثافة العسل في المتوسط فتبلغ 1.4 غ/ مللتر عند درجة حرارة 20° م، وتتغير بتغير نسبة الرطوبة الموجود فيه، و بخصوص لون العسل فيتراوح من الأصفر الفاتح إلى البني الداكن، إذ يتأثر لون العسل بمحتواه من حبوب اللقاح والمركبات الفينوليه والمعادن، و الأصباغ من مشتقات بعض المواد كالكلورفيل، والازنزوفيل، والكاروتين و كذلك درجة حرارة الجو؛ فكلما قلت اصبح لون العسل فاتحا غامقا عند تعرضه لدرجة حرارة مرتفعة او عند تخزينه لمدة طويلة وهي متوافقة مع نتائج (Moniruzzaman et al., 2017) ،بينما اللزوجة فهي تختلف تبعا لعدة عوامل منها: درجة الحرارة ونسبة الرطوبة والتركيب الكيمائي للعسل مثل نسبة الفركتوز إلى الجلوكوز، ونسبة الدكسترين والبروتين والغرويات، إذ انها تزداد كلما ارتفعت درجة الحرارة و عند زيادة نسبة الدكسترين و البروتينات والغرويات و وقلت نسبة الرطوبة فيه وتقل كلما زاد تركيزه، وزادت نسبة الفركتوز إلى الجلوكوز اما حموضة العسل فقد جاءت ضمن المعدل الطبيعي لحموضة العسل التي تتراوح من (3.4 -4.9) والتي تختلف باختلاف المصدر النباتي للعسل وتركيبته هذه الأحماض مثل حمض الماليك والسكسنيك ويعد حمض الغلوكونيك أهم الأحماض العضوية الموجودة في العسل، وتنتج من النشاط الأنزيمي لأنزيم جلوكوز أوكسيداز على سكر الجلكوز، حيث يتكون بالإضافة لحمض الغلوكونيك و الماء الأوكسجيني، ومع أن للعسل تأثير حمضي لكنه يعتبر مبدئيا ذو طعم قلوي إذ أن حموضة الطعام تتوقف على النوع السائد من المواد المعدنية ،ويرجع اختلاف قيم الأس الهيدروجيني (pH) لجميع العينات إلى الاختلاف في أنواع العسل والاختلاف في تغذية النحل من حيث نوع النبات السائد في المنطقة التي يرعي عليها النحل وكذلك اختلاف التركيب الكيميائي للعسل من حيث نسبة المعادن و الأحماض الموجود في العسل ونتائج هذه الدراسة جاءت مطابق لما ذكره Ahmida واخرون (2013) عند دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية لبعض انواع العسل الليبي وهي تتفق ايضا مع ما ذكره Khalil واخرون (2011) (Brudzynski& Kim, 2011) .

اظهرت الدراسة أن العسل الليبي الطبيعي يتميز بفعل مضاد للميكروبات والنتائج المبينة في الجدول رقم (7) لمتوسطات أقطار مناطق التثبيط والجداول (1.2.3) في الملحق لتحليل التباين الاحادي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل عند التراكيز المختلفة تأكد وجود

فروق معنوية دالة إحصائيا بين متوسطات أقطار مناطق التثبيط لأنواع العسل حيث بلغت القيمة الاحتمالية (0.00) وهي قيمة أقل من مستوي المعنوية المحدد للدراسة (0.05 =α) مما يؤكد وجود فروق معنوية.، كما بينت ان افضل الأعسال هو عسل السدر الذي كان له تأثير مبيد وقاتل لكافة الميكروبات قيد المختبرة حيث كان اكثرها حساسية للعسل هي بكتيريا *E. coli Ps. aeruginosa,* *Staph. aureus* بينما يمكن اعتبار *B. cereus* وفطر *C. albicans* حساسة بشكل معتدل. وهي تتفق ايضا مع ما جاء به (Kimoto *et al*, 2008) ، اما تأثير التراكيز المختلفة لعينات العسل فقد بينت الدراسة ان النمو الميكروبي في الوسط الغذائي الصلب كان معدوماً في بعض الانواع عند التركيزين 75 و 100 % من العسل، في حين كان النمو ضعيفاً في التركيز50 % باستثناء عسل السدر فقد اظهر قدرة فائقة للتثبيط فقد كان له تأثير قاتل حتى عند هذا التركيز، اما عند التركيز 25% فقد اظهرت الميكروبات المختبرة مقاومة ونمو كثيف يزداد كلما قل تركيز عينات العسل وهي تتفق مع ما جاء به (Ceyhan & Ugur, 2001) وهذا يدل ان العسل عند التراكيز العالية له تأثير قوي في منع النمو الميكروبي، في حين تقل قدرته على تثبيط النمو في التراكيز المنخفضة وهذا يرجع الى ان التراكيز العالية للسكريات تؤدي الى حدوث عملية البلزمة ، والسبب الاخر المهم والذي أكدته عدة دارسات هو وجود مواد مضادة للبكتريا والفطريات في العسل الطبيعي تساعد على تثبيط نمو الميكروبات (Elbanna *et al.*, 2014)، كما ان تكوين العسل له دور مهم في كبح النمو الميكروبي؛ لأنه اساساً محلول سكري وماء مع مكونات اخرى ولكن بنسب قليلة كالأحماض الامنية والاحماض العضوية وبعض الدهون والمعادن (Zamora *et al.*, 2013).

اما سبب نمو الميكروبات في التراكيز المنخفضة من العسل يرجع بالدرجة الاساسية الى فقدان العسل للحموضة العالية وقلة تركيز السكريات فيه مما يفقد العسل مكوناته الطبيعية وهذا يؤدي الى نمو البكتريا بشكل يكاد يكون طبيعيا في التراكيز القلية من العسل

(Bogdanov, 1997؛ Ng *et al* ،2014)

كما تطابقت نتائج التحليل الاحصائي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل عند التراكيز المختلفة والتأثير المثبط للعسل الطبيعي متطابقة مع نتائج اخرى اجريت بهذا الخصوص (Whtie. *et al*, 1963 ؛Khalil *et al.*, 2014) وترجع مقدرة العسل على تثبيط الميكروبات للحموضة العالية والتي تنتج بفعل الانزيمات التي تفرزها عاملات النحل على الرحيق عند تحويله الى عسل ناضج مثل انزيم Glucosoxidase ،اضافة الى فعل انزيمات اخرى اثناء عملية التنضيج

ونتيجة لتفعيل أوكسيديز الجلوكوز مما يؤدي إلى إنتاج الماء الأوكسجيني. (Bang. *et al*, 2003 ؛ Brudzynski, 2006) كما ان المصدر النباتي للعسل واحتوائه على حبوب اللقاح لنباتات مختلفة يعطيه الامكانية العالية للتثبيط وكما أن وجود بعض العوامل المضادة و المطهرة للجراثيم مثل hydrogen peroxide, antioxidants, lysozyme, polyphenols, phenolic acids, flavonoids, methylglyoxal, and bee peptide و وجود أنزيمات الأكسدة والاختزال في العسل مثل أنزيم البروكسيديز والكاتليز والفوسفاتيز وتأثيرها القاتل للبكتيريا، بالإضافة الى أنزيم اللايبيز المحلل للدهون وهذه العوامل جميعها لها دور في هذا التثبيط (Allen. *et al*, 1991؛ Liu *et al.*, 2014) اما نتائج عدم وجود تأثير مضاد لعسل الشفاء السعودي فقد جاءت مخالفة لما ذكره (Al-Nahari *et al.*, 2015) وقد ترجع عدم فاعلية هذا العسل إلى عدة أسباب منها الغش التجاري بالتالي عدم احتواءه على المواد الفعالة وسوء الحفظ وطول مدة التخزين (Yousuf *et al.*, 2016).

اما بالنسبة للنشاط المضاد لمستخلصات العكبر والتي اظهرت فاعلية في القضاء على الميكروبات والحد من نموها كما هو موضح بالجداول (4,5,6,7) لمتوسط أقطار مناطق التثبيط للمستخلصات العكبر والتي تبين وجود فروق معنوية تختلف بأختلاف الميكروب والمذيب المستخدم حيث بلغت القيمة الاحتمالية (0.00) وهي قيمة أقل من مستوي المعنوية المحدد للدراسة (α =0.05) وتفوق مستخلص العكبر بالكلوروفورم من حيث التأثير القاتل والمبيد للميكروبات المختبرة عند التركيز100% وهي مطابقة لما توصل اليه (Ivancajic *et al*, 2010)،وكذلك الجداول (8,9,10,11) لمتوسطات أقطار مناطق التثبيط لمستخلصات عكبر الشرق بينت وجود فروق معنوية بين المذيب المستخدم و الميكروبات المختبرة والتراكيز المستخدمة عند مستوي معنوي(α =0.05) وذلك بفروق معنوية LSD=0.00.،كذلك نتائج الجدوال (12,13,14) في الملحق لتحليل التباين الاحادي للمقارنة بين متوسطات أقطار مناطق التثبيط لمستخلصات العكبر عند التراكيز المختلفة تبين وجود تباين واضح لعامل التركيز، وذلك يرجع الى وجود مواد مضادة تساعد في تثبيط نمو الميكروبات، وكلما زاد تركيز المستخلص زاد تركيز هذه المواد المضادة والفعالة في القضاء على الميكروبات وهذا ايضا ما يفسر كفاءة المذيبات في الاستخلاص وعدم وجود تأثير للمستخلص المائي وذلك بسبب عدم قدرة الماء على استخلاص هذه المواد المثبطة وهي تتفق مع ما جاء به (Katircio & Mercan, 2006) بان لمستخلصات العكبر نشاط مضاد للبكتيريا الموجبة والسالبة الجرام وهذا ما ذكره ايضا (Nedji *et al*, 2014) كما اشار اليه (Sanpa *et al.*, 2017).ويبدو مما تقدم ان زيادة

فعالية المستخلص قد يعود ايضا الى تأثير المستخلص على عمل الخلية الميكروبية بسبب منع عملية الانقسام الخلوي والتكاثر وتثبيط تصنيع البروتين داخل الخلية وحدوث اختلال في نفاذية الاغشية السيتوبلازمية وتثبيط الفاعلية الانزيمية وحركة الجراثيم ، وان هذه الالية مشابه للآلية التي تعمل بها المضادات الحيوية ، فالعكبر هو احد العلاجات الطبيعية لامتلاكه جزيئات نشطة مثل الفلافونويد، والأحماض الفينولية، والاسترات الدوائية التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة جرام (Sorkun *et al*, 2001؛Castaldo & Capasso, 2002 .)، كما أظهرت العديد من الدرسات أن له نشاط مضاد للجراثيم، والفطريات، ومضاد للفيروسات يختلف وفقً للتركيب الكيميائي والذي يتأثر بالموقع الجغرافي الذي جمع منه وتنوع الغطاء النباتي وموسم الجمع (Kartal *et al*., 2003؛Sforcin& Bankova, 2011 .) وعلى حد علمنا أن هذه الدراسة هي الأولى التي تم فيها الربط بين النشاط المضاد للميكروبات مع العكبر الليبي .

اما يخص مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية التجارية اظهرت النتائج أن سلالات بكتيريا *E. coli* , *B cereus* كانت الأكثر حساسية للمضادين الحيويين Chloramphenicol و Gentamicin، بينما *Sal choleraesuis* , *Ps. aeruginosa* والمكورات العنقودية الذهبية *Staph. aureus* ، وفطر *C. albicans* فقد اظهرت مقاومة للمضادات المستخدمة وذلك يتفق مع ما توصل اليه (Nishio *et al*., 2016), ،وقد يرجع سبب هذه المقاومة لكثرة الاستعمال العشوائي وغير المنتظم للمضادات الحيوية ،إذ أشارت المصادر أن استعمال جرع تحت علاجٌية يؤدي الـــى نشـــوء طفـــرات تلقائية(Poole, 2014)، كما أن الاستخدام الواسع وتكرار استخدام نفس المضاد الحيوي لمدة طوّيلة من الزمن لمعالجة بعض الامراض أقد يؤدي الى شٌيوع ظاهرة المقاومة لتلك المضادات من قبل الاحٌياء المجهرية وظهور سلالات ذات مقاومة عالية لها (WHO, 2014) .

الخلاصـــــــــة

اكتسب العلاج بمنتجات النحل الاهتمام كشكل من أشكال الطب الشعبي الوقائي ،لعلاج العديد من الأمراض وتعزيز الصحة العامة (Brodschneider & Crailsheim, 2010؛ Gómez *et al.* 2006) فالتداوي بالنحل و منتجاته علم جديد يسمى Apitherapia كما اصبح العلاج بمنتجاته أحد ركائز الطب البديل (Crane, 2004؛ Haydak, 1970). حيث يعود تاريخ العلاج بالنحل و منتجاته الي القرن التاسع عشر،هذا و تعد المقاومة العلاجية للميكروبات من المشاكل الكبيرة والهامة التي تواجه مجتمعاتنا اذ ان الاستعمال الواسع العشوائي وغير المنتظم احيانا للمضادات الحيوية ادى الي تطور وانتشار صفة المقاومة ,وهي مشكلة قائمه مند فترة طويلة وذلك بسبب انخفاض اكتشاف مضادات جديدة على مدى السنوات القليلة الماضية ومن هنا كان الهدف هو ايجاد بدائل طبيعية لتلك المضادات واثبات النشاط المضاد للعسل والعكبر في تثبيط الأحياء المجهرية (Kalogeropoulos *et al.*, 2009).تم في هذه الدراسة دراسة القدرة التثبيطية لستة عشر صنف من العسل الطبيعي الليبي والتي تم جمعها عدة مناحل في ليبيا من المنطقة الشرقية (الجبل الأخضر) والغربية (طرابلس) والجنوبية (سمنو) وصُنفت بمساعدة النحالين بالطرق التقليدية بالإضافة لعينتان من العسل التجاري هي الزهور الليبي والشفاء السعودي اما بالنسبة للعكبر الخام فقد تم الحصول عليه من منحلة بالمنطقة الغربية (طرابلس) وكذلك عينة من منحلة بالمنطقة الشرقية (البيضاء) استخلص العكبر باستخدام أربع مذيبات (الإيثانول ،الميثانول ، الاستون ، الكلوروفورم)

ولتأكد من جودة الاعسال المستخدمة في الدراسة اجريت لها عدة تحليل مكروبيولوجية ولدراسة النشاط المضاد لكل من العسل ومستخلصات العكبر الطبيعي الليبي ضد عدد من الميكروبات الممرضة وهي كالتالي:

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Proteus vulgaris* *Salmonella choleraesuis*, بالإضافة الي فطر *Candida albicans* حيث استخدام طريقة الانتشار في وسط الآجار (well diffusion method)، ولتحديد افضل تركيز مثبط حضرت تخفيفات تصاعدية للعينات باستخدام الماء المقطر المعقم وكانت كالتالي (25، 50 و 75%) (v/v) والعسل الخام الغير مخفف 100% (v/v) اما بالنسبة لمستخلصات العكبر فقد كانت التخفيفات كالتالي (25,15,5، 50 و 75، 100%).

بينت هذه الدراسة ان العسل والعكبر الطبيعي الليبي تنطبق عليه الموصفات العالمية الموصى بها ، وان النتائج المتحصل عليها تأكد على امتلاك العسل و مستخلصات العكبر فعالية مضادة للميكروبات قيد الدراسة ، *كما* تبين أن هذا التأثير يختلف باختلاف المنتج سوء العسل او مستخلص العكبر والميكروب حيث كان افضل الاعسال هو عسل السدر الخام بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغ (1.15± .35 مم) وفيما يخص المستخلصات كان افضلها مستخلص العكبر باستخدام مذيب الكلوروفورم عند التركيز 100% ،وان الزيادة في تركيز المستخلص يرفقها زيادة في تثبيط النمو الميكروبي، فالتراكيز 75%-100% كانت الأفضل لتأثيرها قاتل والمبيد ، بينما عند التركيز 50% فقد لوحظ نمو ضعيف وكان هناك نمو كثيفاً عند التراكيز التي تراوحت بين 5 %-25%. كما بينت النتائج ان اكثر الميكروبات حساسية للعسل هي بكتيريا *Staph. aureus* ,*Ps. aeruginosa* *E. coli* بينما يمكن اعتبار *B. cereus* وفطر *C. albicans* .حساسة بشكل معتدل، هذا وأجريت مقارنة بين فعالية هذه المنتجات والمضادات الحيوية التجارية شائعة الاستخدام. حيث كانت معظم الميكروبات المختبرة مقاومة للمضادات الحيوية التجارية المستخدمة في الدراسة و في حين كانت حساسة وبشكل كبير لكل من العسل ومستخلصات العكبر .

التوصيات

- اجراء المزيد من التجارب علي منتجات النحل واكتشاف فوائدها في علاج الامراض والحث على استخدامها .
- القيام بالمزيد من الأبحاث لتحديد المواد الفعالة من مكونات العسل والعكبر و استخدامها في الأدوية الصيدلانية والعلاجات الطبيعية .
- التركيز على استخدام العسل أكثر من المضادات الحيوية لعدم وجود تأثيرات جانبية له ولقلة تكلفته مقارنة بالمضادات الحيوية التجارية .
- إجراء تجارب باستخدام العسل والعكبر على أنواع مختلفة من الميكروبات والبحث في الطرق الامثل للاستفادة منها .

الملاحـــــــــق

ملحق 1

مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly
المؤتمر العلمي الأول لطلبة الدراسات العليا جامعة سبها كلية العلوم الهندسة والتقنية (براك – الشاطئ) 2017/4/18

دراسة تأثير بعض أصناف العسل الطبيعي على نمو بعض الانواع من الميكروبات الممرضة للإنسان

خديجة عبدلله محمد ابوعنيزه د. :يونس أبوبكر الخيالي

قسم: علم .النبات (شعبة الأحياء الدقيقة) كلية العلوم جامعة سبها

*للمراسلة khadijabdll87@gmail.com

الملخــــــــــــص

الهدف من هذا العمل هو تقييم تأثير العسل الطبيعي الليبي ومقارنته بعينة من العسل المستورد، من حيث التأثير المضاد على نمو خمسة أنواع من الميكروبات المسببة للأمراض وهي :

(*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli,*

Candida albicans & Bacillus Cereus , وذلك باستخدام طريقة الانتشار في الاجار (well diffusion method)،

والنتائج المتحصل عليها اظهرت ان تأثير المضاد للعسل الطبيعي كان يختلف من نوع لأخر ومن سلالة ميكروبية إلى أخرى، حيت كان لبعضها تأثير قاتل مبيد والبعض الأخر تأثير مثبط وكابح لنمو الميكروبات التي تم اختبارها.

كلمات البحث: العسل الطبيعي الليبي، تأثيره المضاد، نمو الميكروبات.

ICST2018-BI-14

Effect of Propolis bees on some pathogenic microbes of humans

Khadija Abdulla Abu Annizah and Younes Abu Bakr Al – Khayali*

Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Sebha

*Crosspnding author: khadijabdll87@gmail.com

Abstract

Propolis is one of the natural products collected by bees from different plants, which was used by the old man to treat many diseases, and the current study investigated the activity against a sample of Libyan Propolis against a number of pathogenic microbes are as follows:

(*Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Bacillus Cereus, and Salmonella choleraesuis, Proteus vulgaris And, Candida albicans)*

The results showed that the extract of the propolis had the antimicrobial effect under study. The results showed that the effect varied according to the extract and the microbe. The increase in the concentration of the extract was accompanied by an increase in inhibiting microbial growth. The concentrations of 75% -100% were better for their killer and the pesticide. 50%, there was weak growth and there was heavy growth at concentrations ranging between 5% -25%, And a comparison was made between the effectiveness of these extracts and antibiotics commonly used

Keywords: Extract, killer effect, Inhibition, pathogenic microbes, Propolis bees.).

ملحق 2

-1 الاوساط الزراعية   Culture Media

استخدمت الاوساط الزراعية التالية والتي تم الحصول عليها من كلية العلوم جامعة سبها:

الشركة المجهزة	اسم الوسط
Oxoid	Nutrient agar
Oxoid	MaCconkey agar
Oxoid	Manniton salt agar
Oxoid	Saboroud Dextrose Agar
Oxoid	Salmonella Shigella agar
Oxoid	Mueller- Hinton Agar
Oxoid	Blood agar medium
Oxoid	Triple Sugar iron agar

Culture media

1-Nutrient agar .

Formula grams per liter

Peptic digest of animal tissue 5.00g

Beef extract 1.50g

Yeast extract 1.50g

Sodium chloride	5.00g
Agar	15.00g

2- Sabouraud Media

Peptone	10 g
Glucose or dextrose or maltose	20 g
Agar	20 g
D. water	1000 ml

3-Mannitol salt agar

Formula grams per liter

Peptic digest of animal tissue	5.00g
Pancreatic digest of casein	5.00g
Beef extract	1.00g
Sodium chloride	75.0g
D-mannitol	10.0g
Phenol red	0.025g
Agar	15.0g

4-MacConkey agar

Formula grams per liter

Lactose	10.0g

Peptone	20.0g
Bile salt	5.0g
Sodium chloride	5.0g
Neutral red	0.03g
Agar	15.0g

5- Blood agar

Formula grams per liter

Peptone mixture	16.0g
D-Glucose	0.5g
Yeast extract	2.0g
Sodium chloride	7.0g
Agar	12.0g

6-Corn Meal Agar

* Corn Meal	20g
Peptone	20g
Dextrose(if desired)	20 g
Agar	15_20g

7-Mueller-Hinton agar

beef extract	2.0g
casein hydrolysate	17.5g
starch	1.5g
Agar	17.0g

8- Salmonella Shigella agar

Ingredients Gms / Litre

Beef Extract	5.00g
Enzymatic Digest of Casein	2.50
Enzymatic Digest of Animal Tissue	2.50 g
Lactose	10.00g
Bile Salts	8.50g
Sodium Citrate	8.50g
Sodium Thiosulfate	8.50g
Ferric Citrate	1.00
Brilliant Green	0.00033 g
Neutral Red	0.025g
Agar	13.5g
Distilled Water	1000 ml

تحضير الاوساط الزراعية

حضرت الاوساط الزراعية وفق الشركة المصنعة لها وعقمت بالموصده (Autoclave) بدرجة حرارة 121م° وضغط 15 باوند\انج لمدة 15 دقيقة بعدها تركت لتبرد بدرجة حرارة 50-45 م° واستخدمت الاوساط لتنمية البكتيريا وتشخيصها :

1.1 الوسط المغذي الصلب Nutrient agar .

استخدم الوسط لغرض العزل الاولي ودراسة الخواص الزراعية والمظهرية للبكتيريا المعزولة

2.1 وسط الماكونكي MacConky agar

استخدم الوسط لعزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام وللكشف عن قابلية البكتيريا على تخمير سكر اللاكتوز

3.1 وسط اجار اليوريا Urea agar medium

حضر الوسط بإضافة 10 مليلتر من محلول اليوريا المحضر بتركيز 40% والمعقم بالترشيح الي 100مليلتر من الوسط الاساسي والمعقم والمبرد الي 50م° وبعد مجانسة الوسط وزع في انابيب اختبار نظيفة ومعقمة وترك ليتصلب بشكل مائل ، واستخدم هذا الوسط لتحري عن قابلية البكتيريا على انتاج انزيم اليوريز

4.1 وسط اجار الدم - Blood agar medium

حضر بإضافة 5% من دم الانسان الي الوسط الاساسBlood agar base المعقم بالموصده والمبرد الي 50م°،واستخدم الوسط لعزل البكتيريا والتحري عن قابليتها على تحلل الدم

5.1 وسط المانيتول المملح Mannitol salt agar

حضر الوسط حسب ارشادات الشركة المصنعة له وهي Oxoid والذي استخدم لتشخيص بكتريا *Staphylococcus aureus*

6.1 وسط السالمونيلا شغيلا اجار : *Salmonella Shigella agar* medium

استخدم لتشخيص بكتيريا *Salmonella* حيث تأخذ لون شفاف مع وجود لون اسود في المركز نتيجة تحلل مواد موجودة في الوسط ينتج عنها غاز H2O

1. 7. وسط مولر هنتون الصلبMueller- Hinton Agar medium

استخدم لتنمية البكتيريا وحفظها، لاختبار التضاد و الذي حضر بحسب ارشادات الشركة المنتجة بإذابة 38 جرام في لتر من الماء المقطر، وعقم في الموصده على درجة حرارة 121°م لمدة 15دقيقة .

8.1 . وسط السابرود ديكستروز الصلبSaboroud Dextrose Agar medium

تم استخدامه لتنمية فطر *Candida albicans*.

2- تحضير الاوساط الغذائية التركيبية:

1.2 .وسط طحين الذرة Cornmeal agar medium

حُضر بإذابة 20 غم من طحين الذرة مع 20 غم ببتون و20 غم دكستروز و 15 غم آكار في 500 مل من الماء مُقطر مع التسخين على اللهب لكي تتجانس المكونات بعدها رُشحت بواسطة ورق ترشيح وأُكمل الحجم الى 1000 مل.(Hall, 2007).

2.2. .وسط البطاطا دكستروز الصلب Potato Dextrose Agar (PDA) medium

حُضر هذا ألوسط بإذابة 20 غم دكستروز مع 20 غم آكار مع 200 غم بطاطا في 1000 مل من الماء ألمقطّر(Delost, 2014).

3- تحضيّر محلول ثابت العكارة القياسي (محلول ماكفرلاند)

حضر المحلول بمزج 0.5 مل من محلول 1.175 من 9.5 %كلورّد البارّيوم المائي مع 9.5 مل من 1% حامض الكبريتيك (1994، Baron & Fingold) .

4- اختبارات تعريف الميكروبات:

1.4 تكوين انبوب الانبات Formation of germ tube

تم إجراء التجربة بأخذ حجم 2 مليلتر من بياض البيض ووضعه في أنابيب اختبار معقمة ثـم لقحت الأنابيب بجزء من مستعمرة نامية على وسط السابرويد دكستروز وحضنت بدرجة حرارة 30 م لمدة (3 - 2) ساعة . ثم أخذت قطرة ووضعت 2 على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي لملاحظة تكوين أنبوب الإنبات

2.4 فحص تكوين السبورات الكلاميدية Chlamydospores formation assay

حضر طبق بتري زجاجي حاو شريحة زجاجية وورقة ترشيح وقضيب زجاجي بشكل حرف V تم تعقيم الطبق الزجاجي ومحتوياته بحرارة 180م بالفرن الحراري لمدة نصف ساعة تم صب قطرات من وسط أكار مسحوق الذرة على الشريحة الزجاجية المعقمة وتركت لتجف تم تخطيط جزء من مستعمرة نامية بعمر 4 ايام على وسط سابرويد دكستروز على الشريحة بعد جفافه، ثم أضيفت عدة قطرات من الماء المقطر المعقم على ورقة الترشيح للحفاظ على الرطوبة ومنع جفاف النموذج .

حضنت الأطباق بحرارة 37م لمدة من 4-6 ايام بعدها ثم أضيفت قطرة من صبغة اللاكتوفينول الى الشريحة وغطيت بغطاء الشريحة وفحصت تحت المجهر لملاحظة السبورات الكلاميدية

3.4 القابلية في تخمير السكريات Sugar Fermentation

حضر بإضافة 2مل من وسط تخمر السكريات الى انابيب اختبار حاوية على انبوب درهم Durham tube بوضع مقلوب واضيفت لها 2 مليلتر محلول السكر الخزين للسكريات(سكروز، كلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز) واضيفت قطرات من Phenol red احمر الفينول الى حين تغير لون الوسط الى الاحمر ثم لقحت الانابيب بعالق الخميرة وحضنت بحرارة 30 م° وتمت متابعة النتائج كل يوم ولمدة 10 ايام وملاحظة تغير اللون الاحمر الى الاصفر وتكون الغاز في انابيب درهم

4.4 صبغة جرام Gram stain

استخدمت لتفريق بين العازلات الموجبة وسالبة لصبغة جرام، وذلك بالفحص المجهري حيث اعطت العازلات الموجبة لصبغة جرام اللون البنفسجي وللون الاحمر للبكتيريا السالبة الجرام.

5.4 اختبار التجلط Coaglase test

حضر بإضافة 0.5 من بلازما الدم في انبوبة بلاستكية تحتوي على مادة EDAT وحفظ في الثلاجة تم اخذ مستعمرة من بكتريا *Staphylococcus aureus* ووضعت في الانبوب وتم ملاحظة تكون تجلط

6.4 اختبار الكتاليز Catalase test

اجرى الاختبار بوضع قطرة من فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 على شريحة وتم حقن جزء من النمو البكتيري ومشاهدة ظهور الفقاعات عند إنتاج إنزيم الكتاليز..

7.4 اختبار الاوكسيديز Oxidase test

وضعت قطرة من الكاشف على ورقة ترشيح ووضع جزء من المستعمرة البكتيرية على ورقة الترشيح المحتوية على الكاشف ،بعد دقائق في حالة تغير اللون للأزرق البنفسجي Blue-purple تكون النتيجة موجبة لاختبارOxidase،في حالة عدم تغير تكون النتيجة سالبة للاختبار .

(Mora *et al.*, 1986؛ Corry, 1994 Hall, 2013؛ Nyirjesy, 2008)

8.4 .مجموعة الاختبارات الكيميائية الحيوية التفريقيه API 20E:

جرى انتقاء منظومة الـ API 20E الخاصة (Enterobacteriaceae)) التي تختبر 23 صفة كيميائية حيوية تفريقيه و الطريقة المعتمدة على الخصائص الكيميائية الحيوية Biochemical Tests

وهي مجموعة اختبارات كيميائية تفريقيه؛ استخدم لها عتيدة API 20E لشركة بيوميريو الفرنسية؛ وجرى تنفيذ خطوات العمل وقراءة النتائج بحسب تعليمات الصانع: تستحلب مستعمرات نقية طازجة عمرها 18-24 ساعة في محلول جاهز (NaCl, 0.85%) ؛ ثم توزع كمية متساوية على آبار شريط الاختبارات التي تحوي كل منها الكواشف اللازمة لاختبار كل صفة كيميائية على حدة؛ ثم يحضن الشريط بدرجة حرارة 37°م. وفي اليوم التالي تضاف الكواشف اللازمة لإظهار نتائج بعض التفاعلات؛ للكشف عن نوع البكتيريا بالمقارنة ويرجع إلى الفهرس في معرفة النتيجة حسب الرقم الخاص (Dortet, *et al* 2012)

ملحق 3

جدول رقم (1) متوسط أقطار مناطق التثبيط ب مم لتركيز المختلفة لعينات العسل والميكروبات المختلفة

العسل	متوسط أقطار مناطق التثبيط ب مم				
	التركيز				
	%25	%50	%75	%100	المتوسط
الأثل	0.000	0.000	4.9524	18.1905	5.7857
حبة البركة	0.000	0.000	5.9524	14.7619	5.1786
الحنون	0.000	1.6190	4.8571	24.0000	7.6190
الخروب	0.000	1.2381	4.6190	14.7619	5.1548
الخلط	0.000	1.5714	4.2857	13.9524	4.9524
الربيع	0.000	1.3333	6.1429	14.4762	5.4881
الزعتر	0.000	0.000	6.7143	18.3333	6.2619
السدر	0.000	10.2381	15.7143	29.3810	13.8333
الشبرو	0.000	0.000	1.4762	5.1000	1.6024
الشمع (سلوق)	0.000	0.000	4.8571	18.4762	5.8333
الشمع (البيضاء)	0.000	0.000	2.9048	19.9524	5.7143
الشوك	0.000	1.9524	11.5238	19.5714	8.2619
الكافور(طرابلس)	0.000	0.000	3.3810	12.3810	3.9405
الكافور(الجبل الاخضر)	0.000	0.000	4.1905	21.0952	6.3214
المن	0.000	0.000	6.0000	15.9524	5.4881
الميلا	0.000	3.0000	10.3333	18.4286	7.9405

جدول رقم (2) تحليل التباين الأحادي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل عند التراكيز المختلفة

العسل	مصدر الاختلاف	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	قيمة ف	مستوي المعنوية	القيمة الاحتمالية
الأثل	بين المجموعات	4651.952	3	1550.651	56.900	0.05	0.000
	داخل المجموعات	2180.190	80	27.252			
	المجموع الكلي	6832.143	83				
حبة البركة	بين المجموعات	3067.560	3	1022.520	41.933	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1950.762	80	24.385			
	المجموع الكلي	5018.321	83				

الحنون	بين المجموعات	7770.286	3	2590.095	11.526	0.05	0.000
	داخل المجموعات	17977.524	80	224.719			
	المجموع الكلي	25747.810	83				
الخروب	بين المجموعات	2824.417	3	941.472	70.883	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1062.571	80	13.282			
	المجموع الكلي	3886.988	83				
الخلط	بين المجموعات	2465.429	3	821.810	39.218	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1676.381	80	20.955			
	المجموع الكلي	4141.810	83				
الربيع	بين المجموعات	2700.512	3	900.171	71.126	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1012.476	80	12.656			
	المجموع الكلي	3712.988	83				
الزعتر	بين المجموعات	4711.286	3	1570.429	109.921	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1142.952	80	14.287			
	المجموع الكلي	5854.238	83				
السدر	بين المجموعات	9440.619	3	3146.873	279.397	0.05	0.000
	داخل المجموعات	901.048	80	11.263			
	المجموع الكلي	10341.667	83				
الشبرو	بين المجموعات	352.841	3	117.614	9.895	0.05	0.000
	داخل المجموعات	939.038	79	11.887			
	المجموع الكلي	1291.880	82				
الشمع (سلوق)	بين المجموعات	4805.857	3	1601.952	121.844	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1051.810	80	13.148			
	المجموع الكلي	5857.667	83				
الشمع (البيضاء)	بين المجموعات	5794.381	3	1931.460	163.551	0.05	0.000
	داخل المجموعات	944.762	80	11.810			
	المجموع الكلي	6739.143	83				
الشوك	بين المجموعات	5178.905	3	1726.302	95.684	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1443.333	80	18.042			
	المجموع الكلي	6622.238	83				
الكافور (طرابلس)	بين المجموعات	2154.798	3	718.266	40.185	0.05	0.000
	داخل المجموعات	1429.905	80	17.874			
	المجموع الكلي	3584.702	83				
الكافور (الجبل الاخضر)	بين المجموعات	6357.274	3	2119.091	68.000	0.05	0.000
	داخل المجموعات	2493.048	80	31.163			

				83	8850.321	المجموع الكلي	
0.000	0.05	99.276	1190.012	3	3570.036	بين المجموعات	**المن**
			11.987	80	958.952	داخل المجموعات	
				83	4528.988	المجموع الكلي	
0.000	0.05	59.392	1422.298	3	4266.893	بين المجموعات	**الميلا**
			23.948	80	1915.810	داخل المجموعات	
				83	6182.702	المجموع الكلي	

جدول رقم (3) تحليل التباين الأحادي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط لأصناف العسل عند التراكيز المختلفة

ANOVA

honey			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
كافور طرابلس	***E.coli***	*Between Groups*	*900.000*	*3*	*300.000*	*300.000*	*.000*
		Within Groups	*8.000*	*8*	*1.000*		
		Total	*908.000*	*11*			
	B. cereus	*Between Groups*	*3136.000*	*3*	*1045.333*	*964.923*	*.000*
		Within Groups	*8.667*	*8*	*1.083*		
		Total	*3144.667*	*11*			
	Pr. vulgaris	*Between Groups*	*729.000*	*3*	*243.000*	*74.769*	*.000*
		Within Groups	*26.000*	*8*	*3.250*		
		Total	*755.000*	*11*			

	Ps. aeruginosa	Between Groups	1778.250	3	592.750	474.200	.000
		Within Groups	10.000	8	1.250		
		Total	1788.250	11			
	Staph aureus	Between Groups	690.250	3	230.083	690.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	692.917	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	529.000	3	176.333	2116.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	529.667	11			
	C. albicans	Between Groups	272.250	3	90.750	363.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	274.250	11			
السدر	***E.coli***	Between Groups	905.583	3	301.861	724.467	.000
		Within Groups	3.333	8	.417		
		Total	908.917	11			
	B. cereus	Between Groups	400.000	3	133.333	1600.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	400.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	957.583	3	319.194	766.067	.000
		Within Groups	3.333	8	.417		
		Total	960.917	11			
	Staph aureus	Between Groups	771.000	3	257.000	514.000	.000
		Within Groups	4.000	8	.500		
		Total	775.000	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	514.000	3	171.333	514.000	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	516.667	11			
	C. albicans	Between Groups	1384.250	3	461.417	106.481	.000
		Within Groups	34.667	8	4.333		
		Total	1418.917	11			
حبة البركة	***E.coli***	Between Groups	410.250	3	136.750	78.143	.000
		Within Groups	14.000	8	1.750		
		Total	424.250	11			
	B. cereus	Between Groups	484.000	3	161.333	276.571	.000

		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	488.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	1684.250	3	561.417	1684.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	1686.917	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	576.000	3	192.000	329.143	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	580.667	11			
	Staph aureus	Between Groups	320.333	3	106.778	640.667	.000
		Within Groups	1.333	8	.167		
		Total	321.667	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	324.000	3	108.000	432.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	326.000	11			
	C. albicans	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			
الشبرو	***E.coli***	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			
	B. cereus	Between Groups	272.250	3	90.750	363.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	274.250	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	210.250	3	70.083	841.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	210.917	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	240.250	3	80.083	961.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	240.917	11			
	Staph aureus	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	400.000	3	133.333	228.571	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	404.667	11			
	C. albicans	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			

الخروب	***E.coli***	Between Groups	668.667	3	222.889	65.236	.000
		Within Groups	27.333	8	3.417		
		Total	696.000	11			
	B. cereus	Between Groups	324.000	3	108.000	432.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	326.000	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	717.667	3	239.222	168.863	.000
		Within Groups	11.333	8	1.417		
		Total	729.000	11			
	Staph aureus	Between Groups	448.250	3	149.417	448.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	450.917	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	C. albicans	Between Groups	289.000	3	96.333	1156.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	289.667	11			
الزعتر	***E.coli***	Between Groups	905.583	3	301.861	724.467	.000
		Within Groups	3.333	8	.417		
		Total	908.917	11			
	B. cereus	Between Groups	400.000	3	133.333	1600.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	400.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	957.583	3	319.194	766.067	.000
		Within Groups	3.333	8	.417		
		Total	960.917	11			
	Staph aureus	Between Groups	771.000	3	257.000	514.000	.000
		Within Groups	4.000	8	.500		
		Total	775.000	11			
	Sal.	Between Groups	514.000	3	171.333	514.000	.000

	Cholerasuis	Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	516.667	11			
	C. albicans	Between Groups	1384.250	3	461.417	106.481	.000
		Within Groups	34.667	8	4.333		
		Total	1418.917	11			
الشوك	***E.coli***	Between Groups	690.250	3	230.083	690.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	692.917	11			
	B. cereus	Between Groups	784.000	3	261.333	3136.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	784.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	760.333	3	253.444	152.067	.000
		Within Groups	13.333	8	1.667		
		Total	773.667	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	992.250	3	330.750	661.500	.000
		Within Groups	4.000	8	.500		
		Total	996.250	11			
	Staph aureus	Between Groups	587.333	3	195.778	293.667	.000
		Within Groups	5.333	8	.667		
		Total	592.667	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	729.000	3	243.000	486.000	.000
		Within Groups	4.000	8	.500		
		Total	733.000	11			
	C. albicans	Between Groups	1220.667	3	406.889	232.508	.000
		Within Groups	14.000	8	1.750		
		Total	1234.667	11			
الربيعي	***E.coli***	Between Groups	400.000	3	133.333	123.077	.000
		Within Groups	8.667	8	1.083		
		Total	408.667	11			
	B. cereus	Between Groups	794.250	3	264.750	102.484	.000
		Within Groups	20.667	8	2.583		
		Total	814.917	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	342.250	3	114.083	342.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	344.917	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	256.000	3	85.333	1024.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		

		Total	256.667	11			
	Staph aureus	Between Groups	345.000	3	115.000	197.143	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	349.667	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	573.667	3	191.222	1147.333	.000
		Within Groups	1.333	8	.167		
		Total	575.000	11			
	C. albicans	Between Groups	531.583	3	177.194	1063.167	.000
		Within Groups	1.333	8	.167		
		Total	532.917	11			
المن	***E.coli***	Between Groups	462.250	3	154.083	462.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	464.917	11			
	B. cereus	Between Groups	758.000	3	252.667	75.800	.000
		Within Groups	26.667	8	3.333		
		Total	784.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	447.583	3	149.194	55.948	.000
		Within Groups	21.333	8	2.667		
		Total	468.917	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	Staph aureus	Between Groups	481.583	3	160.528	240.792	.000
		Within Groups	5.333	8	.667		
		Total	486.917	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	324.000	3	108.000	432.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	326.000	11			
	C. albicans	Between Groups	1158.000	3	386.000	356.308	.000
		Within Groups	8.667	8	1.083		
		Total	1166.667	11			
الاثل	***E.coli***	Between Groups	787.000	3	262.333	787.000	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	789.667	11			
	B. cereus	Between Groups	992.250	3	330.750	101.769	.000
		Within Groups	26.000	8	3.250		
		Total	1018.250	11			

	Pr. vulgaris	Between Groups	576.000	3	192.000	768.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	578.000	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	1617.000	3	539.000	308.000	.000
		Within Groups	14.000	8	1.750		
		Total	1631.000	11			
	Staph aureus	Between Groups	930.250	3	310.083	531.571	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	934.917	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	1037.667	3	345.889	180.464	.000
		Within Groups	15.333	8	1.917		
		Total	1053.000	11			
	C. albicans	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			
الخلط	***E.coli***	Between Groups	726.000	3	242.000	414.857	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	730.667	11			
	B. cereus	Between Groups	484.000	3	161.333	276.571	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	488.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	380.250	3	126.750	507.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	382.250	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	462.250	3	154.083	142.231	.000
		Within Groups	8.667	8	1.083		
		Total	470.917	11			
	Staph aureus	Between Groups	700.667	3	233.556	1401.333	.000
		Within Groups	1.333	8	.167		
		Total	702.000	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	.000	3	.000	.	.
		Within Groups	.000	8	.000		
		Total	.000	11			
	C. albicans	Between Groups	529.667	3	176.556	124.627	.000
		Within Groups	11.333	8	1.417		
		Total	541.000	11			
الميلا	***E.coli***	Between Groups	533.583	3	177.861	1067.167	.000

		Within Groups	1.333	8	.167		
		Total	534.917	11			
	B. cereus	Between Groups	594.000	3	198.000	20.842	.000
		Within Groups	76.000	8	9.500		
		Total	670.000	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	836.000	3	278.667	209.000	.000
		Within Groups	10.667	8	1.333		
		Total	846.667	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	536.333	3	178.778	195.030	.000
		Within Groups	7.333	8	.917		
		Total	543.667	11			
	Staph aureus	Between Groups	587.333	3	195.778	138.196	.000
		Within Groups	11.333	8	1.417		
		Total	598.667	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	289.000	3	96.333	1156.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	289.667	11			
	C. albicans	Between Groups	1674.000	3	558.000	248.000	.000
		Within Groups	18.000	8	2.250		
		Total	1692.000	11			
الحنون	***E.coli***	Between Groups	1156.000	3	385.333	355.692	.000
		Within Groups	8.667	8	1.083		
		Total	1164.667	11			
	B. cereus	Between Groups	702.250	3	234.083	65.326	.000
		Within Groups	28.667	8	3.583		
		Total	730.917	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	662.250	3	220.750	165.563	.000
		Within Groups	10.667	8	1.333		
		Total	672.917	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	324.000	3	108.000	432.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	326.000	11			
	Staph aureus	Between Groups	690.667	3	230.222	70.838	.000
		Within Groups	26.000	8	3.250		
		Total	716.667	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	627.000	3	209.000	627.000	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	629.667	11			

	C. albicans	Between Groups	506.250	3	168.750	675.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	508.250	11			
كافور الجبل الاخضر	***E.coli***	Between Groups	272.250	2	136.125	612.563	.000
		Within Groups	2.000	9	.222		
		Total	274.250	11			
	B. cereus	Between Groups	256.000	2	128.000	246.857	.000
		Within Groups	4.667	9	.519		
		Total	260.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	855.333	2	427.667	721.687	.000
		Within Groups	5.333	9	.593		
		Total	860.667	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	810.667	2	405.333	390.857	.000
		Within Groups	9.333	9	1.037		
		Total	820.000	11			
	Staph aureus	Between Groups	324.000	2	162.000	729.000	.000
		Within Groups	2.000	9	.222		
		Total	326.000	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	441.000	2	220.500	992.250	.000
		Within Groups	2.000	9	.222		
		Total	443.000	11			
	C. albicans	Between Groups	.000	2	.000	.	.
		Within Groups	.000	9	.000		
		Total	.000	11			
الشمع سلوق	***E.coli***	Between Groups	812.250	3	270.750	1083.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	814.250	11			
	B. cereus	Between Groups	1640.250	3	546.750	546.750	.000
		Within Groups	8.000	8	1.000		
		Total	1648.250	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	400.000	3	133.333	228.571	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	404.667	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	1640.250	3	546.750	546.750	.000
		Within Groups	8.000	8	1.000		
		Total	1648.250	11			
	Staph aureus	Between Groups	650.250	3	216.750	260.100	.000
		Within Groups	6.667	8	.833		

		Total	656.917	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	548.250	3	182.750	313.286	.000
		Within Groups	4.667	8	.583		
		Total	552.917	11			
	C. albicans	Between Groups	699.333	3	233.111	139.867	.000
		Within Groups	13.333	8	1.667		
		Total	712.667	11			
الشمع البيضاء	***E.coli***	Between Groups	441.000	3	147.000	588.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	443.000	11			
	B. cereus	Between Groups	529.000	3	176.333	2116.000	.000
		Within Groups	.667	8	.083		
		Total	529.667	11			
	Pr. vulgaris	Between Groups	1089.000	3	363.000	161.333	.000
		Within Groups	18.000	8	2.250		
		Total	1107.000	11			
	Ps. aeruginosa	Between Groups	690.250	3	230.083	690.250	.000
		Within Groups	2.667	8	.333		
		Total	692.917	11			
	Staph aureus	Between Groups	1892.250	3	630.750	2523.000	.000
		Within Groups	2.000	8	.250		
		Total	1894.250	11			
	Sal. Cholerasuis	Between Groups	1122.250	3	374.083	236.263	.000
		Within Groups	12.667	8	1.583		
		Total	1134.917	11			
	C. albicans	Between Groups	752.250	3	250.750	501.500	.000
		Within Groups	4.000	8	.500		
		Total	756.250	11			
		Within Groups	12.667	10	1.267		
		Total	1225.600	14			

جدول رقم (4) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الغرب بالأسيتون

عكبر الغرب بالأسيتون							نوع المستخلص	
أنواع الميكروب							المقاييس الإحصائية	التركيز %
C. albicans	*Sal. cholerasuis*	*Staph aureus*	*Pr. vulgaris*	*Ps. aeruginosa*	*B. cereus*	*E.coli*		
0	0	0	0	0	0	0	المتوسط	**5**
15	8	12.33	11.33	11	11.67	13		**15**
17.33	11.67	14.67	13	14.67	13.67	13.67		**25**
19.33	14	16.33	14.33	16	14.33	14.67		**50**
21	16	18.67	15.33	17.33	15.33	17.33		**75**
31.33	32.67	38.33	24.33	36	33.33	31		**100**
0	0	0	0	0	0	0	الانحراف المعياري	**5**
1	1.73	0.58	0.58	1	0.59	1		**15**
0.58	0.58	0.58	0	0.58	0.58	1.15		**25**
0.58	1.73	0.58	0.58	1	0.58	0.58		**50**

1	1	1.15	0.58	1.15	0.58	1.15		**75**
1.53	2.52	2.89	4.04	3.61	2.89	3.61		**100**
-	-	-	-	-	-	-	**معامل الاختلاف**	**5**
6.67	21.63	4.70	4.35	9.09	5.91	7.69		**15**
3.35	4.97	3.95	0	3.95	4.24	8.41		**25**
3.00	24.22	3.55	4.05	6.25	4.05	3.95		**50**
4.76	6.25	6.16	3.78	6.64	3.78	6.64		**75**
4.88	7.71	7.54	16.61	10.03	8.67	11.65		**100**

جدول رقم (5) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الغرب بالإيثانول

مستخلص عكبر الغرب بالإيثانول							**نوع المستخلص**	
أنواع الميكروب							**المقاييس الإحصائية**	**التركيز %**
C. albicans	*Sal. Cholerasuis*	*Staph aureus*	*Pr. vulgaris*	*Ps. aeruginosa*	*B. cereus*	*E.coli*		
0	0	9.33	0	0	7.67	0	**المتوسط**	**5**
0	0	12.33	0	0	10.67	0		**15**
11.67	0	13.67	15	10	14.33	15.33		**25**
15.33	12.67	15.33	19	14	24.67	19		**50**
18.33	19.7	21.67	24.67	18.67	32.33	25.33		**75**
26	34	34	32.3	22	37.33	34.67		**100**
0	0	0.58	0	0	0.58	0	**الانحراف المعياري**	**5**
0	0	0.58	0	0	0.58	0		**15**
0.58	0	0.58	1	1	1.15	0.58		**25**
0.58	0.58	0.58	1	1	0.58	1		**50**
0.58	1.52	1.53	0.58	1.53	2.52	0.58		**75**
1	1	1	2.52	1	2.08	4.16		**100**
-	-	6.22	-	-	7.56	-	**معامل الاختلاف**	**5**
-	-	4.70	-	-	0.05	-		**15**
4.97	-	4.24	6.67	10	8.03	3.78		**25**
3.78	4.58	7.01	5.26	0.07	2.35	5.26		**50**
3.16	7.72	7.06	2.35	0.08	7.79	2.29		**75**
3.85	2.94	2.94	7.80	4.5	5.57	12.00		**100**

جدول رقم (6) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الغرب بالميثانول

مستخلص عكبر الغرب بالميثانول							**نوع المستخلص**	
أنواع الميكروب							**المقاييس الإحصائية**	**% التركيز**
C. albicans	***Sal. Cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
0	0	0	0	9.67	0	0	**المتوسط**	**5**
9.33	0	15.67	0	11	11.67	13		**15**
22	14.67	21	15	16.33	16.33	17.33		**25**
23.33	18	24	22.33	19.67	18.33	19		**50**
27.33	19	24.67	27.33	25.33	22	29		**75**
30	33.33	28.33	29.33	31.67	29	35		**100**
0	0	0	0	0.58	0	0	**الانحراف المعياري**	**5**
0.58	0	0.58	0	1	1.53	1		**15**
2.65	1.53	1	1	1.53	0.58	1.53		**25**
1.53	1	1	2.52	0.58	0.58	1		**50**
2.08	1	1.53	2.08	3.51	2	1		**75**

1	2.08	0.58	1.15	2.89	1	2.52		**100**
-	-	-	-	5.60	-	-	**معامل الاختلاف**	**5**
6.22	-	3.70	-	9.09	13.11	7.69		**15**
12.04	10.43	4.76	4.42	3.37	3.55	8.83		**25**
6.56	5.56	4.16	11.29	2.95	3.16	5.26		**50**
7.61	5.26	6.20	7.61	13.86	9.09	3.45		**75**
3.33	6.24	2.05	3.92	9.13	3.45	7.2		**100**

جدول رقم (7) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الغرب **بالكلوروفورم**

مستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم								**نوع المستخلص**
أنواع الميكروب							**المقاييس الإحصائية**	**التركيز %**
C. albicans	***S. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
0	0	0	0	0	0	0	**المتوسط**	**5**
7.67	5	6.33	7	10.67	6	7.67		**15**
12.33	7.67	9.33	11	17.67	9	14.33		**25**
14.67	15.33	19	23	31.67	18	29		**50**
27.33	20.33	34	43.67	40.33	37	41		**75**
0	0	0	0	0	0	0	**الانحراف المعياري**	**5**
1.15	0	0.58	1	1.53	0	1.53		**15**
0.58	0.58	0.58	1	1.53	1	1.15		**25**
0.58	0.58	1	1	1.53	1	1		**50**
2.08	0.58	1	0.58	0.58	2.08	3.21		**75**
-	-	-	-	-	-	-	**معامل الاختلاف**	**5**
14.99	0	9.16	14.29	14.34	0	19.95		**15**
4.70	7.56	6.22	9.09	8.66	11.11	8.03		**25**
3.95	3.78	5.26	4.35	4.83	5.56	3.45		**50**
7.61	2.85	2.94	1.33	1.44	5.62	7.83		**75**

جدول رقم (8) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الشرق **بالأسيتون**

مستخلص عكبر الشرق بالأسيتون								**نوع المستخلص**
أنواع الميكروب							**المقاييس الإحصائية**	**التركيز %**
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
0	0	5.67	0	5	0	6	**المتوسط**	**5**
0	0	8.33	6	7	0	8.67		**15**
8.67	0	12.67	10.67	12.33	5.67	10		**25**
11.67	0	15	11.67	14.67	12.33	10.67		**50**
19	16.33	16.67	14	16	19.67	12.33		**75**
24.33	23	22.33	16	19.67	22	15		**100**
0	0	1.15	0	0	0	0	**الانحراف المعياري**	**5**
0	0	0.58	0	1	0	0.58		**15**
0.58	0	1.53	0.58	0.58	0.58	0		**25**
0.58	0	1	1.53	0.58	0.58	0.58		**50**
1.73	1.15	1.53	1	0	0.58	0.58		**75**

1.15	3	2.52	1	0.58	1	1		**100**
-	-	20.28	-	00.	-	0	**معامل الاختلاف**	**5**
-	-	6.96	0	14.29	-	6.69		**15**
6.69	-	12.08	5.44	4.70	10.23	00.		**25**
4.97	-	6.67	13.11	3.95	4.70	5.44		**50**
9.11	7.04	9.18	7.14	00.	2.95	4.70		**75**
4.73	13.04	11.29	6.25	2.95	4.55	6.67		**100**

جدول رقم (9) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الشرق **بالميثانول**

مستخلص عكبر الشرق بالميثانول							**نوع المستخلص**	
أنواع الميكروب							**المقاييس الإحصائية**	**التركيز %**
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
6.67	6	0	0	0	0	5.33	**المتوسط**	**5**
11	7.67	8.67	0	0	0	11		**15**
19.67	11	11.33	0	7.67	0	13		**25**
24.67	12.33	12.33	0	12	11	14.33		**50**
29.67	14.67	17	8.33	17	19	15		**75**
37.33	16.67	30.33	14.33	26.33	24.33	17		**100**
0.58	0	0	0	0	0	0.58	**الانحراف المعياري**	**5**
1	0.58	0.58	0	0	0	0		**15**
0.58	0	0.58	0	0.58	0	0		**25**
0.58	0.58	0.58	0	1	1	0.58		**50**
0.58	0.58	1	0.58	1	1	1		**75**
2.08	0.58	0.58	0.58	0.58	1.15	1		**100**
6.69	0	0	0	0	0	10.89	**معامل الاختلاف**	**5**
9.09	7.56	6.56	0	0	0	0		**15**
2.95	0	0	0	7.56	0	0		**25**
2.35	4.70	4.70	0	8.33	9.09	4.05		**50**
1.95	3.95	3.95	9.96	5.88	5.26	6.67		**75**
5.57	3.48	3.48	4.05	2.20	4.73	5.88		**100**

جدول رقم (10) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الشرق بالإيثانول

مستخلص عكبر الشرق بالإيثانول							نوع المستخلص	
أنواع الميكروب							المقاييس الإحصائية	التركيز %
C. albicans	***S. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
0	0	0	0	6.33	0	0	المتوسط	**5**
10	0	6.33	0	8.67	0	0		**15**
13	0	9.67	0	10	8.67	7		**25**
19.33	8.67	13	12	12.33	13.33	10.33		**50**
25.33	14.33	24.33	14.33	17.33	16	14.33		**75**
33.67	19	30	18.67	26.67	24	20		**100**
0	0	0	0	0.58	0	0	الانحراف المعياري	**5**
1	0	0.58	0	0.58	0	0		**15**
1	0	1.15	0	1	0.58	0		**25**
0.58	0.58	1	1	0.58	0.58	0.58		**50**
0.58	2.08	0.58	0.58	1.53	1	1.15		**75**
1.15	1	1	1.15	1.53	0.58	1		**100**
-	-	-	-	9.16	-	-	معامل الاختلاف	**5**
10.00	-	9.16	-	6.69	-	-		**15**
7.69	-	11.89	-	10.00	6.69	0		**25**
3.00	6.69	7.69	8.33	4.70	4.35	5.61		**50**
2.29	14.52	2.38	4.05	8.83	6.25	8.03		**75**
3.42	5.26	3.33	6.16	5.74	2.42	5		**100**

جدول رقم (11) يوضح متوسط أقطار مناطق التثبيط لمستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم

عكبر الشرق بالكلوروفورم							نوع المستخلص	
أنواع الميكروب							المقاييس الإحصائية	التركيز %
C. albicans	***Sal. cholerasuis***	***Staph aureus***	***Pr. vulgaris***	***Ps. aeruginosa***	***B. cereus***	***E.coli***		
0	0	0	0	0	0	0	المتوسط	**5**
0	0	0	8	9.33	0	0		**15**
0	11.33	9.33	9	11	10.67	9.33		**25**
14	13	13. 67	19	14.33	13	12		**50**
20	18.33	17.33	13.33	15	26.67	19		**75**
0	0	0	0	0	0	0	الانحراف المعياري	**5**
0	0	0	1	0	0	0		**15**
0	1.15	0.58	0.58	1	0.58	0.58		**25**
1	1.73	1.53	1	1	1.73	1		**50**
0	0.58	2.52	1.53	1.53	5.78	1.15		**75**
-	-	-	-	-	-	-	معامل الاختلاف	**5**
-	-	-	12.5	6.22	-	-		**15**
-	10.15	6.22	6.44	9.1	5.44	6.22		**25**
7.14	13.31	11.19	5.26	8.03	13.31	8.33		**50**
0	3.16	14.54	11.48	0	21.67	6.05		**75**

جدول رقم (12) تحليل التباين الأحادي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط المستخلصات عند التراكيز المختلفة

المستخلص	مصدر الاختلاف	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	قيمة ف	مستوي المعنوية	القيمة الاحتمالية
مستخلص عكبر الشرق بالايثانول	بين المجموعات	8662.254	5	1732.451	93.574	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	2221.714	120	18.514			
	المجموع الكلي	10883.968	125				
مستخلص عكبر الشرق بالميثانول	بين المجموعات	6322.444	5	1264.489	32.792	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	4627.333	120	38.561			
	المجموع الكلي	10949.778	125				
مستخلص عكبر الشرق بالاسيتون	بين المجموعات	5009.310	5	1001.862	70.228	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	1711.905	120	14.266			
	المجموع الكلي	6721.214	125				
مستخلص عكبر الشرق بلكلورفورم	بين المجموعات	15459.524	4	3864.881	159.230	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	2427.238	100	24.272			
	المجموع الكلي	17886.762	104				
مستخلص عكبر الغرب بالايثانول	بين المجموعات	13587.881	5	2717.576	116.495	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	2799.333	120	23.328			
	المجموع الكلي	16387.214	125				
مستخلص عكبر الغرب بالميثانول	بين المجموعات	12269.500	5	2453.900	172.261	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	1709.429	120	14.245			
	المجموع الكلي	13978.929	125				
مستخلص عكبر الغرب بالكلورفورم	بين المجموعات	5227.657	4	1306.914	134.062	**0.05**	0.000
	داخل المجموعات	974.857	100	9.749			
	المجموع الكلي	6202.514	104				

جدول رقم (13) متوسط أقطار مناطق التثبيط ب مم لتركيزات المستخلصات

المستخلص	متوسط أقطار مناطق التثبيط ب مم						
	التركيز						
	%5	%15	%25	%50	%75	%100	المتوسط
مستخلص عكبر الشرق بالإيثانول	0.9048	3.5714	6.9048	12.7143	18.0000	24.6667	11.1270
مستخلص عكبر الشرق بالميثانول	2.8571	5.4762	8.9524	12.3810	17.2381	23.7619	11.7778
مستخلص عكبر شرق بالأسيتون	2.3810	8.5714	10.8571	16.2857	20.3333	14.266	10.4524
مستخلص عكبر الشرق بالكلوروفورم	0.000	7.1905	11.6190	21.5238	34.9048	*	*
مستخلص عكبر الغرب بالإيثانول	2.4286	3.2857	11.4286	17.1429	31.4762	23.328	14.7857
مستخلص عكبر الغرب بالميثانول	1.3810	8.6667	17.5238	20.6667	24.9524	30.9524	17.3571
مستخلص عكبر الغرب بالكلوروفورم	0.000	2.4762	8.7143	13.3333	19.3333	*	*
مستخلص عكبر الغرب بالأسيتون	0.000	11.7619	14.0952	15.1905	17.2857	32.4286	15.1905

*تأثير قاتل

جدول رقم (14) تحليل التباين الأحادي للمقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط لأنواع العسل والمستخلصات

مصدر الاختلاف	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	قيمة ف	مستوى المعنوية	القيمة الاحتمالية
بين المجموعات	25062.093	23	1089.656	33.669	0.05	0.000
داخل المجموعات	15534.571	480	32.364			
المجموع الكلي	40596.665	503				

المراجـــــع

Ahmida, M. H. S., Elwerfali, S., Agha, A., Elagori, M. and Ahmida, N. H. S.. (2013) .'Physicochemical, Heavy Metals and Phenolic Compounds Analysis of Libyan Honey Samples Collected from Benghazi during 2009-2010', *Food and Nutrition Sciences*, 4(1), pp. 33–40. doi: 10.4236/fns.2013.41006.

Alandejani, T., Marsan, J., Ferris, W., Slinger, R. and Chan, F. (2009). .'Effectiveness of honey on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms', *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 141(1), pp. 114–118. doi: 10.1016/j.otohns.2009.01.005.

Allen, K. L., Molan, P. C. and Reid, G. M. (1991) 'A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys.', *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 43(12), pp. 817–22. doi: 10.1111/j.2042-7158.1991. 03186.

Almeida-Muradian, L. B., Stramm, K. M., Horita, A., Barth, O. M., Da Silva de Freitas, A. and Estevinho, L. M. (2013) 'Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from Melipona subnitida and Apis mellifera', *International Journal of Food Science and Technology*, 48(8), pp. 1698–1706.: 10.1111.12140.

Al-Nahari, A. A. M., Almasaudi, S. B., Abd El-Ghany, E. S. M., Barbour, E., Al Jaouni, S. K. and Harakeh, S. (2015) .'Antimicrobial activities of Saudi honey against Pseudomonas aeruginosa', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5), pp. 521–525. 10.1016/j.sjbs.2015.04.006.

Andargachew, M., Belay, T. and Fetene, D. (2004). 'In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens', *Ethiopian Journal of Health Development*, 18, pp. 107–111. doi:

10.4314/ejhd.v18i2.9945.

Bang, L. M., Buntting, C. and Molan, P. (2003) ‘Peroxide production in honey & its implications’, *Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(2), pp. 267–273. doi: 10.1089/10755530360623383.

Bogdanov, S. (1997) ‘Nature and origin of the antibacterial substances in honey’, *LWT - Food Science and Technology*, 30(7), pp. 748–753. doi: 10.1006/fstl.1997.0259.

Bogdanov, S. (2014) ‘Honey in Medicine’, *Bee Product Science*, (February), pp. 1–24. doi: 10.1055/s-0033-1359950.

Boorn, K. L., Khor, Y. Y., Sweetman, E., Tan, F., Heard, T. A. and Hammer, K. A. (2010) ‘Antimicrobial activity of honey from the stingless bee Trigona carbonaria determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology’, *Journal of Applied Microbiology*, 108(5), pp. 1534–1543. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04552.x.

Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsì, F., Ferrari, G. and Hamdi, S. (2013) ‘Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia’, *Arabian Journal of Chemistry*. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.08.011.

Brodschneider, R. and Crailsheim, K. (2010) ‘Nutrition and health in honey bees’, *Apidologie*, 41(3), pp. 278–294. doi: 10.1051/apido/2010012.

Brown, D. G., May-Dracka, T. L., Gagnon, M. M. and Tommasi, R. (2014) ‘Trends and exceptions of physical properties on antibacterial activity for gram-positive and gram-negative pathogens’, *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(23), pp. 10144–10161. doi: 10.1021/jm501552x.

Brudzynski, K. (2006) ‘Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys’, *Canadian Journal of Microbiology*, 52(12), pp. 1228–1237. doi: 10.1139/w06-086.

Brudzynski, K. and Kim, L. (2011) ‘Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity’, *Food Chemistry*, 126(3), pp. 1155–1163. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.151.

Buriol, L., Finger, D., Schmidt, E. M., dos Santos, J. M. T., da Rosa, M. R., Quinaia, S. P., Torres, Y. R., Dalla Santa, H. S., Pessoa, C., de Moraes, M. O., Costa-Lotufo, L. V., Pinheiro Ferreira, P. M., Helena Frankland Sawaya, A. C. and Eberlin, M. N. (2009) .‘Chemical Composition and Biological Activity of Oil Propolis Extract: an Alternative to Ethanolic Extract’, *Quimica Nova*, 32(2), pp. 296–302.

Castaldo, S. and Capasso, F. (2002) .‘Propolis, an old remedy used in modern medicine’, *Fitoterapia*. doi: 10.1016/S0367-326X(02)00185-5.

Ceyhan, N. and Ugur, A. (2001). ‘Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey.’, *Rivista di biologia*, pp. 363–371. doi: 10.5897/JMPR12.577.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2015) .‘Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically’, *Approved Standard-Tenth Edition. CLSI document M07-A10.*, 35(2), pp. 1–87. doi: 10.4103/0976-237X.91790.

Codex Alimentarius (2001).‘Revishodsed Codex Standard for Honey, Standards and Standard Met’, *Codex Alimentarius Commission FAO/OMS*, 11(1987), p. 7.

Corry, J. E. L. (1994) *Handbook of microbiological media, International Journal of Food Microbiology*. doi: 10.1016/0168-1605(94)90011-6.

Crane, E. (1990) 'Bees and beekeeping: science, practice and world resources.', in *Bees and beekeeping: science, practice and world resources.*, p. xvii-+ 614 . *Agricultural Sciences*, 60(2), pp. 279–287. doi: 10.1016/j.aoas.2015.10.015.

Crane , Eva (2004) 'A short history of knowledge about honey bees (Apis) up to 1800', *Bee World*, 85(1), pp. 6–11. doi: 10.1080/0005772X.2004.11099604

Darwish, R. M., Fares, J. A., Zarga, M. H. A. and Nazer, I. K. (2010). 'Antibacterial effect of Jordanian propolis and isolated flavonoids against human pathogenic bacteria', *Journal of Biotechnology*, 9(36), pp. 5966–5974. doi: 10.5897/AJB10.718.

Delost, M. D., .(2014). *Introduction to Diagnostic Microbiology for the Laboratory Sciences, Vlsi Design*. Available at: https://books.google.com/books?id=ZKcdAwAAQBAJ&pgis=1.

Dortet, L., Poirel, L. and Nordmann, P. (2012) .'Rapid identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by using a biochemical test', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(12), pp. 6437–6440. doi: 10.1128/AAC.01395-12.

Elbanna, K., Attalla, K., Elbadry, M., Abdeltawab, A., Gamal-Eldin, H. and Fawzy Ramadan, M. (2014) .'Impact of floral sources and processing on the antimicrobial activities of different unifloral honeys', *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(3), pp. 194–200. doi: 10.1016/S2222-1808(14)60504-1.

Eteraf-Oskouei, T. and Najafi, M. (2013) .'Traditional and modern uses of

natural honey in human diseases: A review', *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, pp. 731–742. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.

El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D. and Shehata, M. G. (2015) 'Physicochemical characteristics of honey from different origins', *Annals of*

Flynn, D. (2011) 'Student Guide to SPSS', *Barnard College - Biological Sciences*, pp. 1–82. Available at: https://barnard.edu/sites/default/files/inline/student_user_guide_for_spss.pdf.

Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. (2006) 'Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), pp. 1220–1234. doi: 10.1016/j.jpba.2006.03.002.

Hall, G. S. (2007) 'Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 12th Edn', *Laboratory Medicine*. doi: 10.1309/LM5JC0PH0OGGBSZZ.

Hall, G. S. (2013) 'Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13th Edn', *Laboratory Medicine*, pp. e138–e139. doi: 10.1309/LM5JC0PH0OGGBSZZ.

Harrison, F., Roberts, A. E. L., Gabrilska, R., Rumbaugh, K. P., Lee, C. and Diggle, S. P. (2015) 'A 1,000-year-old antimicrobial remedy with antistaphylococcal activity', *mBio*, 6(4). doi: 10.1128/mBio.01129-15.

Haydak, M. H. (1970) 'Honey Bee Nutrition', *Annual Review of Entomology*, 15(1), pp. 143–156. doi: 10.1146/annurev.en.15.010170.001043.

Hegazi, A. G. and Abd El Hady, F. K. (2001) 'Egyptian propolis: 1-Antimicrobial activity and chemical composition of upper Egypt propolis', *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 56(1–2),

pp. 82–88.

Ivančajić, S., Mileusnić, I. and Cenić-Milošević, D. (2010) 'In vitro antibacterial activity of propolis extracts on 12 different bacteria in conditions of 3 various ph values', *Archives of Biological Sciences*, 62(4), pp. 915–934. doi: 10.2298/ABS1004915I.

Jeffrey, A. E. and Echazarreta, C. M. (1996) 'Medical uses of honey', *Rev Biomed*, 7(1), pp. 43–49. doi: 10.1136/jme.22.1.5.

Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinos, I. and Karathanos, V. T. (2009) 'Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus', *Food Chemistry*, 116(2), pp. 452–461. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.060.

Kartal, M., Yildiz, S., Kaya, S., Kurucu, S. and Topçu, G. (2003) 'Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia', *Journal of Ethnopharmacology*, 86(1), pp. 69–73. doi: 10.1016/S0378-8741(03)00042-4.

Katircio, H. and Mercan, N. (2006) 'Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different region s', *African Journal of Biotechnology*, 5(11), pp. 1151–1153. Available at: http://www.academicjournals.org/AJB.

Khalil, A. T., Khan, I., Ahmad, K., Khan, Y. A., Khan, J. and Shinwari, Z. K. (2014) 'Antibacterial activity of honey in north-west Pakistan against select human pathogens', *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(1), pp. 86–89. doi: 10.1016/S0254-6272(14)60059-5.

Khalil, M. I., Alam, N., Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A. and Gan, S. H.

(2011) ‘Phenolic Acid Composition and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys’, *Journal of Food Science*, 76(6). doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02282.x.

Khalil, M. I., Motallib, M. A., Anisuzzaman, A. S. M., Sathi, Z. S. and Shahjahan, M. A. H. and M. (2001) ‘Biochemical Analysis of Different Brands of Unifloral Honey Available at the Northern Region of Bangladesh’, *Journal of Medical Sciences*, pp. 385–388. doi: 10.3923/jms.2001.385.388.

Kimoto-Nira, H. and Amano, K. (2008) ‘Antimicrobial activity of honey produced by stingless honey bees’, *Journal of Apicultural Research*, 47(4), pp. 325–327. doi: 10.1080/00218839.2008.11101484.

Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S. (1999) ‘Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin’, *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), pp. 235–240. doi: 10.1016/S0378-8741(98)00131-7.

Kwakman, P. H. S., te Velde, A. A., de Boer, L., Speijer, D., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. and Zaat, S. A. J. (2010) ‘How honey kills bacteria.’, *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 24(7), pp. 2576–82. doi: 10.1096/fj.09-150789.

Kwakman, P. H. S., te Velde, A. A., de Boer, L., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. and Zaat, S. A. J. (2011) ‘Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity’, *PLoS ONE*, 6(3). doi: 10.1371/journal.pone.0017709.

Kwakman, P. H. S. and Zaat, S. A. J. (2012) ‘Antibacterial components of honey’, *IUBMB Life*, pp. 48–55. doi: 10.1002/iub.578.

Lotfy, M. (2006) ‘Biological activity of bee propolis in health and disease’, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7(1), pp. 22–31. doi: 10.1007/s00114-011-0770-7.

Maina, D., Okinda, N., Mulwa, E. and Revathi, G. (2014) ‘A FIVE YEAR REVIEW OF API20E BACTERIA IDENTIFICATION SYSTEM’S PERFORMANCE AT A TEACHING HOSPITAL’, *East African medical journal*, 91(3), pp. 73–76.

Mandal, M. D. and Mandal, S. (2011) ‘Honey: Its medicinal property and antibacterial activity’, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), pp. 154–160. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60016-6.

Mercês, M. D., Peralta, E. D., Trovatti, A. P. and Lucchese, A. M. (2013) ‘Antimicrobial activity of honey from five species of Brazilian stingless bees’, *Ciência Rural, Santa Maria*, 43, pp. 672–675. doi: 10.1590/S0103-84782013005000016.

Michener, C. D. (2000) *The bees of the world*, *The Johns Hopkins University Press*. doi: 10.1653/0015-4040(2002)085[0290:FMBLZH]2.0.CO;2.

Mohammadzadeh, S., Shariatpanahi, M., Hamedi, M., Ahmadkhaniha, R., Samadi, N. and Ostad, S. N. (2007) ‘Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis’, *Food Chemistry*, 103(4), pp. 1097–1103. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.006.

Moniruzzaman, M., Amrah Sulaiman, S. and Gan, S. H. (2017) ‘Phenolic Acid and Flavonoid Composition of Malaysian Honeys’, *Journal of Food Biochemistry*, 41(2). doi: 10.1111/jfbc.12282.

Mora, S. J., Eschenbruch, R., Knowles, S. J. and Spedding, D. J. (1986) ‘The

formation of dimethyl sulphide during fermentation using a wine yeast', *Food Microbiology*, 3(1), pp. 27–32. doi: 10.1016/S0740-0020(86)80022-3.

Mulu, A., Tessema, B. and Derbie, F. (2005) '*In vitro* assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens', *Ethiopian Journal of Health Development*, 18(2), pp. 107–111. doi: 10.4314/ejhd.v18i2.9945.

Nedji, N. and Loucif-Ayad, W. (2014) 'Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition', *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(6), pp. 433–437. doi: 10.1016/S2222-1808(14)60601-0.

Ng, W. J., Ken, K. W., Kumar, R. V., Gunasagaran, H., Chandramogan, V. and Lee, Y. Y. (2014) 'In-vitro screening of Malaysian honey from different floral sources for antibacterial activity on human pathogenic bacteria', *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines*, 11(2), pp. 315–318. doi: 10.4314/ajtcam.v11i2.14.

Nishio, E. K., Ribeiro, J. M., Oliveira, A. G., Andrade, C. G. T. J., Proni, E. A., Kobayashi, R. K. T. and Nakazato, G. (2016) 'Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: Scaptotrigona bipunctata Lepeletier, 1836, and S. postica Latreille, 1807', *Scientific Reports*, 6(1), p. 21641. doi: 10.1038/srep21641.

Nyirjesy, P. (2008) 'Vulvovaginal Candidiasis and Bacterial Vaginosis', *Infectious Disease Clinics of North America*, pp. 637–652. doi: 10.1016/j.idc.2008.05.002.

Oldfield, E. and Feng, X. (2014) 'Resistance-resistant antibiotics', *Trends in*

pharmacological sciences. Elsevier, 35(12), pp. 664–674.

Ouchemoukh, S., Louaileche, H. and Schweitzer, P. (2007) ‘Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys’, *Food Control*, 18(1), pp. 52–58. doi: 10.1016/j.foodcont.2005.08.007.

Poole, K. (2014) ‘Efflux-mediated antimicrobial resistance’, in *Antibiotic Discovery and Development*, pp. 349–395. doi: 10.1007/978-1-4614-1400-1_10.

Sanpa, S., Popova, M., Tunkasiri, T., Eitssayeam, S., Bankova, V. and Chantawannakul, P. (2017) ‘Chemical profiles and antimicrobial activities of Thai propolis collected from Apis mellifera’, *Chiang Mai Journal of Science*, 44(2), pp. 438–448.

Sforcin, J. M. and Bankova, V. (2011) ‘Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?’, *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), pp. 253–260. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.032.

Silici, S. and Kutluca, S. (2005) ‘Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region’, *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), pp. 69–73. doi: 10.1016/j.jep.2005.01.046.

Sorkun, K., Süer, B. and Salih, B. (2001) ‘Determination of chemical composition of Turkish propolis’, *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 56(7–8), pp. 666–668.

Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I. and Svabić-Vlahović, M. (2003) ‘In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs.’, *Microbiological research*, 158, pp. 353–357. doi:

10.1078/0944-5013-00215.

Subrahmanyam, M., Hemmady, A. and Pawar, S. G. (2001) ‘Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds’, *Annals of Burns and Fire Disasters,* 14(1), pp. 22–24. Available at: http://www.medbc.com/annals/review/vol_14/num_1/text/vol14n1p22.htm.

Tenover, F. C. (2006) ‘Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria’, *American Journal of Medicine,* 119(6 SUPPL. 1). doi: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011.

Weston, R. J. (2000) ‘The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: A review’, *Food Chemistry*, 71(2), pp. 235–239. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00162-X.

Whtie, J. W., Subers, M. H. and Schepartz, A. I. (1963) ‘The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system.’, *Biochimica et Biophysica ACTA*, 73(1), pp. 57–70. doi: 10.1016/0926-6569(63)90108-1.

Word Health Organiztion (2014) ‘Antimicrobial resistance.’, *Bulletin of the World Health Organization*, 61(3), pp. 383–94. doi: 10.1007/s13312-014-0374-3.

World Health Organization (2016) *WHO | Antimicrobial resistance*, *WHO*. doi: 10.1001/jama.2016.11764.

Yousuf, F. A., Mehmood, M. H., Malik, A., Siddiqui, R. and Khan, N. A. (2016) ‘Antiacanthamoebic properties of natural and marketed honey in Pakistan’, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), pp. 967–972. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.05.010.

Zainol, M. I., Mohd Yusoff, K. and Mohd Yusof, M. Y. (2013) 'Antibacterial activity of selected Malaysian honey', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13. doi: 10.1186/1472-6882-13-129.

Zamora, G., Arias, M. L., Aguilar, I. and Umaña, E. (2013) 'Costa rican pot-honey: Its medicinal use and antibacterial effect', in *Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees*, pp. 507–512. doi: 10.1007/978-1-4614-4960-7_37.

Zbuchea, A. (2014) 'Up-to-date use of honey for burns treatment', *Annals of Burns and Fire Disasters*, 27(1), pp. 22–30. doi: 10.1016/j.burns.2012.09.008.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the activity of anti-honey and alfalfa against a number of pathogenic microbes, as follows:

Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia. coli, Bacillus cereus, Salmonella .choleraesuis, Proteus. vulgaris

In addition to the Candida albicans fungus using the method of propagation in the middle of the agar (well diffusion method)

The results showed that both honey and propolis possessed the antimicrobial activity under study. This antagonist was different according to the sample, microbial and concentration. The best was seder honey with an average diameter of 29.38 mm. Followed by honey (24 mm) The best extract was chloroform, which had a lethal effect and microbicide, followed by acetone (32.42 mm), while the lowest effect of acetone extract was in the eastern region with acetone averaging 10.45 (mm), and the headquarters Between the effectiveness of these substances and commercial antibiotics commonly used, it was found that the effect of honey and the extracts of propolis exceeded the commercial antibiotics used in the study.