تحضير بعض الأوساط الزرعية محلياً من أوراق وسيقان نبات البربين *Portulaca oleracea oleracea L.* (Purslane) وتقييم كفاءتها في تنمية أنواع من البكتريا الممرضة بالمقارنة مع أوساط شركة Oxoid

بشرى علي كاظم ياسمين حسن علي

جامعة بغداد\ كلية التمريض

استلام البحث 8، أيلول ، 2014
قبول النشر 24، تشرين الثاني، 2014

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Licens

الخلاصة :

درس في هذا البحث امكانية استعمال أوراق وسيقان نبات البربين المحلي (Purslane) *Portulaca oleracea oleracea L* لتحضير مستخلصات منه بحالته المجففة والطرية ، إذ حضّرت هذه المستخلصات بوزن 60غم من النبات الطري والمجفف كل على حدة ثم تم غليه في 500مل من الماء المقطربعدها أكمل الحجم الى 1لتر، ثم أستعملت هذه المستخلصات في تحضير8 أنواع من الأوساط الزرعية شملت أوساطاً أساسية وإنتقائية وإغنائية لتنمية مجموعة من البكتريا الممرضة ، إذ أستعملت 8 أنواع منها لهذا الغرض وهي : *Escherichia coli* و*Pseudomonas flouresence* و*Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* و*Bacillus subtilis* و*Klebsiella pneumoniae* و *Proteus mirabilis* و*Proteus vulgaris* . أوضحت نتائج التحليل الإحصائي أن الأوساط المحلية المحضرة في هذا البحث(أكارالبربين الرطب المغذي و أكارالبربين الرطب- الدم و أكارالبربين الرطب- المانيتول و أكارالبربين الرطب- اللاكتوزوأكارالبربين المجفف المغذي و أكارالبربين المجفف- الدم و أكارالبربين المجفف- المانيتول و أكارالبربين المجفف- اللاكتوز) كانت جيدة لتنمية هذه البكتريا الممرضة مقارنة بالأوساط الزرعية المجهزة من شركة oxoid إذ ْ وفرت نمواً جيداً وكانت مناسبة لإستعمالها بوصفها أوساطاً أساسية وإغنائية وإنتقائية.

الكلمات المفتاحية : نبات البربين ، الأوساط الزرعية

المقدمة:

إهتم علماء الأحياء المجهرية منذ زمن بعيد في البحث عن كيفية تنمية الأحياء المجهرية مختبرياً من أجل دراستها وتشخيصها ولاسيما الممرضة منها والتي لها علاقة مباشرة بصحة الانسان وغذائه [1] ، إذ ْ دأبوا على تحضير أوساط زرعية صناعية وأخرى طبيعية تدعم نمو هذه الأحياء وبدأت الشركات الأجنبية هي الأخرى الولوج في هذا المضمار منذ بدء إكتشاف علم الأحياء المجهرية ومن أهم هذه الشركات هي شركة Oxoid وشركة Difco ، إذ ْ أسهمتا بشكل كبير في تحضير أنواع مختلفة من الأوساط الزرعية الملائمة لنمو مختلف الأحياء المجهرية مثل البكتريا والفطريات والخمائر [2] ويعرف الوسط الزرعي بأنه البيئة التي تحتوي جميع المتطلبات التغذوية الاساسية لإنماء الأحياء المجهرية والتي من أهمها مصادر الكاربون والطاقة ومصادر النيتروجين والكبريت والفسفور وعوامل النمو المختلفة [3] وتقسم الأوساط الزرعية إلى أنواع عدة أهمها الأوساط الزرعية الاساسية البسيطة مثل وسط الأكار المغذي والأوساط التفريقية التي تسهم في التشخيص والتفريق بين الأنواع البكتيرية مثل وسط أكار الماكونكي فضلاً عن الأوساط الانتقائية التي تدعم نمو مجموعة معينة من البكتريا دون أخرى مثل وسط أكار المانيتول والملح فضلاً عن الأوساط الغنية بالمغذيات مثل وسط أكار الدم وأكار الدم المسخن والتي تدعم نمو الأحياء المجهرية ذات الاحتياجات العالية [4] ويعد تحضير الأوساط التي تستعمل لأغراض عامة (أوساط أساسية) ذا أهمية خاصة وذلك لأن من الممكن إستعمالها في تنمية مختلف أنواع البكتريا في آن واحد فضلاً عن إمكانية إستعمالها من خلال بعض الاضافات في تحضير أوساط انتخابية وتفريقية متخصصة [5] ، إذ حضرت أوساط طبيعية من مواد خام مثل المواد الحية لاسيما النباتية منها، فقد أستعملت أوراق نبات الحلبة البري والجت وأوراق البرتقال في تحضير أوساط أساسية لتنمية مختلف أنواع الأحياء المجهرية مثل *Escherichia coli* و*Staphylococci* و*Lactobacilli* و *Klebsiella pneumoniae* [6، 7، 8، 9، 10] ومن هذا المنطلق كانت فكرة هذا البحث في إمكانية

إستعمال أوراق وسيقان نبات البربين بوصفه أساساً في تحضير وسط زرعي لتنمية الأحياء المجهرية فضلاً عن إستعماله في تحضير أوساط انتقائية وتفريقية وإغنائية ، ويعد نبات البربين (Purslane) *Portulaca oleracea oleracea L.* من النباتات الحولية المتوافرة بشكل كبير في بلدنا وفي جميع أنحاء العالم تقريباً ، وتعد الهند وايران الموطن الأصلي لهذا النبات ومنها إنتشر إلى اوربا وامريكا وبقية أنحاء العالم وينمو هذا النبات بسرعة في الربيع والصيف وتكون سيقانه إما منتصبة وإما منبسطة على سطح التربة ويصل إرتفاعها نحو30سم وتتمايز بأنها ملساء وذات لون أخضر إلى محمر ، عصيرية رخوة وأوراقه بيضاوية مقلوبة مستديرة القمة وأما أزهاره فصفراء جالسة وعملية التلقيح فيها تتم بصورة ذاتية ، إذْ تتفتح الأزهار من شهر شباط وحتى شهر أيلول [11 ، 12] ويتمايز هذا النبات بإحتوائه على مستويات عالية من المغنيسيوم والبوتاسيوم وفيتامين A , C والبيتاكاروتين والأحماض الدهنية من نوع اوميكا–3 فضلاً عن إحتوائه على مضادات الاكسدة مثل البيتالانين betalanin التي تكثر في السيقان والبيتازانثين betaxanthin التي تكثر في أزهاره [13 ، 14] ، ونظراً لتوافر هذا النبات بكثرة في بلدنا لذلك إرتأينا إستعماله في تحضير أوساط زرعية اساسية لنمو البكتريا فضلاً عن محاولة تحضير أوساط تفريقية وإنتقائية وإغنائية منه .

المواد :

1. أنواع البكتريا المستعملة :

إستعمل في هذا البحث 8 أنواع من البكتريا الممرضة والمأخوذة من المختبر الرئيس في مستشفى بغداد التعليمي والمعزولة من عينات سريرية مختلفة ، إذ أعيد زرعها وتشخيصها مرة ثانية للتأكد من نوعها ، إذْ اجريت عليها مجموعة من الاختبارات الشكلية والكيمياحياتية وطبقاً لما ورد في [15]، وجدول (1) يوضح هذه الأنواع البكتيرية وأماكن عزلها .

جدول (1) انواع البكتريا المستعملة واماكن عزلها

نوع البكتريا	مكان عزلها
Escherichia coli	الإدرار
Pseudomonas flouresence	القشع
Staphylococcus aureus	الدم
Staphylococcus epidermidis	الجروح
Bacillus subtilis	ارضية الردهة
Klebsiella pneumoniae	القشع
Proteus mirabilis	الجروح
Proteus vulgaris	الجروح

2. النبات :

أستعملت في هذا البحث أوراق وسيقان نبات البربين *(Portulaca oleracea oleracea L.)* والذي أخذ من مزارع منطقة الراشدية في بغداد ، إذْ غسل النبات جيداً وأستعمل مباشرة في تحضير المستخلص الرطب ، أما المستخلص الجاف فحضر من خلال تجفيف النبات طبيعياً تحت أشعة الشمس لعدة أيام وذلك للحفاظ على المواد المغذية الموجودة في النبات والتي قد تتلف عند تجفيفه بالفرن الحراري بدرجة عالية ، ومن ثم أستعمل النبات الرطب والجاف لتحضير الأوساط الزرعية المحلية.

أ. تحضير مستخلص النبات الرطب :

تم وزن 60 غم من النبات الطري إذ وجد تجريبياً أن هذا الوزن هو الأفضل من بين عدة أوزان هي (10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 60 و 70) غم لتحضير الوسط الزرعي المحلي ، قطع النبات إلى أجزاء صغيرة بإستعمال السكين ووضع في دورق سعة 1 لتر وأضيف له 500 مل من الماء المقطر ووضع على الصفيحة الساخنة hot plate الى أن بدأ بالغليان عندها تم حساب 5 دقائق ثم أنزل بعدها من على الصفيحة وترك ليبرد المستخلص ورشح بإستعمال الشاش وأكمل الحجم إلى 1 لتر ، بعدها أستعمل في تحضير الأوساط الزرعية المحلية وطريقة التحضير هذه هي طريقة بسيطة وسهلة أبتكرت في هذا البحث وأستعملت الطريقة نفسها في تحضير مستخلص النبات المجفف .

ب. تحضير مستخلص النبات المجفف :

تم وزن ايضاً 60 غم من النبات المجفف ووضع في دورق سعة 1 لتر وأضيف له 500 مل من الماء المقطر ووضع على الصفيحة الساخنة hot plate الى أن بدأ بالغليان عندها تم حساب 5 دقائق ثم أنزل بعدها من على الصفيحة ، ثم برد ورشح بإستعمال الشاش وأكمل الحجم إلى 1 لتر ، بعدها أستعمل في تحضير الأوساط الزرعية المحلية .

3. الأوساط الزرعية المستعملة :

أ. الأوساط الزرعية الأجنبية : أستعملت الأوساط الزرعية الأجنبية مثل (الأكار المغذي Nutrient agar وأكار المانيتول والملح Manitol salt agar وأكار الماكونكي MacConkey agar وأكار الدم الاساسي Blood agar base) والمجهزة من شركة oxoid ، حضرت هذه الأوساط بحسب تعليمات الشركة وأستعملت لغرض المقارنة بالأوساط المحلية المحضّرة في هذا البحث .

ب. الأوساط الزرعية المحضرة محلياً : أستعمل مستخلص النبات الرطب والجاف والمحضر سابقاً في تحضير الأوساط المحلية كما موضح في جدول (2) مع مراعاة إضافة مادة الأكار 18 غم لكل لتر

من الوسط المحضّر لغرض تصليبه وأذيبت المكونات جيداً وضبط الأس الهيدروجيني للوسط عند 7.2 وعقمت في جهاز الموصدة بدرجة 121 م لمدة 15 دقيقة وأخيراً بردت الأوساط وصبت في أطباق زرعية معقمة وتركت لتتصلب ،ثم أستعملت في طرائق العمل [16] .

جدول (2) الأوساط الزرعية المحلية المحضرة وطريقة تحضيرها مقارنة بالأجنبية

اسم الوسط	طريقة التحضير	الوسط الأجنبي المستعمل للمقارنة والمجهزمن شركة oxoid /إنكلترا
1. الأوساط المحلية المحضرة من مستخلص النبات الرطب أ. أكارالبربين الرطب المغذي	1لتر من المستخلص+ 18 غم أكار	الأكار المغذي
ب. أكارالبربين الرطب- الدم	1 لتر من المستخلص+ 18 غم أكار ويضاف له بعد التعقيم الدم بنسبة 5%	أكار الدم الاساسي
ج. أكارالبربين الرطب -المانيتول	مانيتول 10 غم 1 لتر من المستخلص+ 7.5 غم ملح كلوريد الصوديوم + أكار 18 غم + احمر الفينول 0.025 غم	أكار المانيتول والملح
د. أكارالبربين الرطب - اللاكتوز	1 لتر من المستخلص + لاكتوز 10 غم +الاحمر المتعادل 0.03 غم + البلور البنفسجي 0.001غم + املاح الصفراء 1.5 غم + 18 غم أكار .	أكار الماكونكي
2. الأوساط الزرعية المحلية المحضرة من مستخلص النبات المجفف أ. أكارالبربين المجفف المغذي	1 لتر من المستخلص+ 18 غم أكار	الأكار المغذي
ب. أكارالبربين المجفف- الدم	1 لتر من المستخلص + 18 غم أكار ويضاف له بعد التعقيم الدم بنسبة 5%	أكار الدم الاساسي
ج. أكارالبربين المجفف - المانيتول	مانيتول 10 غم 1 لتر من المستخلص+ 7.5 غم ملح كلوريد الصوديوم + أكار 18 غم + احمر الفينول 0.025 غم	أكار المانيتول والملح
د. أكارالبربين المجفف - اللاكتوز	1 لتر من المستخلص + لاكتوز 10 غم +الاحمر المتعادل 0.03 غم + البلور البنفسجي 0.001غم + املاح الصفراء 1.5 غم + 18 غم أكار .	أكار الماكونكي

طرائق العمل :

أ. طريقة التخطيط الرباعي Quadric Streaking :

لقحت الأوساط الزرعية الأجنبية والمحضّرة محلياً كافة بالبكتريا قيد الدراسة وبطريقة التخطيط الرباعي ، وحضّنت الاطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة وثبتت بعدها كثافة النمو الملاحظة على الأوساط المحلية (أكارالبربين الرطب المغذي و أكارالبربين المجفف المغذي)، كما لوحظت مميزات نمو البكتريا على بقية الأوساط المحلية المحضّرة في هذا البحث وسجلت جميع النتائج بشكل جداول [17] .

ب .طريقة التعداد الحي Viable Plate Connt :

لغرض تحديد كفاءة المستخلص الرطب والجاف في تحضير الأوساط الزرعية وفيما إذا كان هناك إختلاف في نمو البكتريا نفسها على الأوساط المحضرة من المستخلص الرطب عن الأوساط المحضرة من المستخلص الجاف أستعملت طريقة التعداد الحي ، إذ حضّرت تخافيف عشرية من البكتريا المستعملة في البحث بدءاً من التخفيف 10^{-1} إلى 10^{-8} وحضرت الأوساط المحلية (أكارالبربين الرطب المغذي و أكارالبربين المجفف المغذي) فضلاً عن وسط الأكار المغذي المجهز من شركة oxoid لغرض المقارنة ، ثم اخذ 0.1 مل من عالق البكتريا ومن التخفيف 10^{-6} تحديداً وزعت على هذه الأوساط بإستعمال الناشر L-shape، وحضّنت الاطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ثم قرئت النتائج وسجل عدد المستعمرات النامية على جميع الأوساط [18] وسجلت النتائج بشكل جدول ثم أجري التحليل الإحصائي للنتائج وحسب الخطأ القياسي بإجراء إختبار دنكن لبيان معنوية الفروق بين هذه النتائج وعند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ [19] .

النتائج والمناقشة :

أستعملت في هذا البحث 8 أنواع من البكتريا والمعزولة من عينات سريرية مختلفة ، إذ زرعت وشخصت مرة ثانية للتاكد من نوعها وأجريت عليها إختبارات شكلية وكيمياحياتية و يوضح الجدول (3) نتائج الإختبارات التشخيصية للبكتريا المستعملة في البحث وإنها مطابقة للصفات الشكلية والكيمياحياتية لكل منها .

جدول (3) نتائج الاختبارات الشكلية والكيمياحياتية لأنواع البكتريا المستعملة

نوع البكتريا	نتائج الاختبارات												
	التفاعل مع صبغة كرام	شكل الخلية	الاوكسيديز	الكتاليز	انتاج الاندول	المثيل الاحمر	فوكس بروس كاور	استهلاك السترات	اليوريز	الحركة	تخمير الكلوكوز	تخمير المانيتول	النموعلى وسط أكار الدم
Escherichia coli	-	كروي عصوي	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+ تحلل بيتا
Pseudomonas flouresence	-	عصوي	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+ تحلل بيتا
Staphylococcus aureus	+	كروي	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+ تحلل بيتا
Staphylococcus epidermidis	+	كروي	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+ بدون تحلل
Bacillus subtilis	+	عصوي	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+ تحلل بيتا
Klebsiella pneumoniae	-	عصوي	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+ بدون تحلل
Proteus mirabilis	-	كروي عصوي	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+ تحلل بيتا
Proteus vulgaris	-	كروي عصوي	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+ تحلل بيتا

كما أظهرت نتائج طريقة التخطيط الرباعي قدرة أنواع البكتريا كافة على النمو على الأوساط المحلية المحضّرة (أكار البربين الرطب المغذي و أكار البربين المجفف المغذي) وبشكل يضاهي نموها على وسط الأكار المغذي المجهز من شركة oxoid ، وهذا يشير إلى أن وسطي نبات البربين الرطب والمجفف والمحضرين في هذا البحث قد وفرا جميع المتطلبات التغذوية المهمة لنمو هذه البكتريا ، إذْ إستطاعت هذه الأوساط تعويض البكتريا عن مادة خلاصة لحم البقر Beef extract ومادة الببتون Peptone والتي هي عبارة عن مادة بروتينية ناتجة عن هضم البروتينات والموجوة في وسط الأكار المغذي المجهز من شركة oxoid [5] ، وجميع هذه النتائج تتفق مع [20] والذي أشار إلى أن أوراق وسيقان نبات البربين تحتوي على نسبة كبيرة من الاملاح مثل الصوديوم والبوتاسيوم والمغنسيوم والفسفور فضلاً عن وجود السكريات والبروتينات والدهون مما ساعد على نمو البكتريا بشكل جيد ، ومن المفيد أن نذكر أن بكتريا *P.mirabilis* و *P.vulgaris* أظهرتا نمواً جيداً على وسطي أكار البربين الرطب المغذي و أكار البربين المجفف المغذي ألا أنهما لم يستطيعا إظهار ظاهرة العج Swarming والتي تظهر عند نموهما على وسط الأكار المغذي الأجنبي إذْ ظهرتا بشكل مستعمرات منفصلة وهذا مفيد جداً إذْ أن أغلبية الدراسات على هاتين الجرثومتين تحتاج الحصول على مستعمرات مفردة ولهذا يستعمل وسط هو الآخر مجهز من شركة oxoid الأجنبية وهو وسط السستين واللاكتوز واطيء الألكترولية C. L. E. D. للحصول على المستعمرات المنفصلة وبهذا فأن وسطي أكار البربين الرطب المغذي و أكار البربين المجفف المغذي المحضرين محلياً من نبات البربين يضاهيان ويوازيان الوسط الاجنبي C.L.E.D. والذي يحتوي في تركيبه على الببتون والتربتون والأحماض الامينية مثل السستين [21] . وجدول (4) يوضح هذه النتائج .

جدول (4) كثافة النمو للبكتريا المستعملة على الأوساط المحلية أكار البربين الرطب المغذي و أكار البربين المجفف المغذي مقارنة بوسط الأكار المغذي المجهز من شركة Oxoid

نوع البكتريا	كثافة نمو البكتريا على الأوساط		
	الأكار المغذي المجهز من شركة Oxoid	أكار البربين الرطب المغذي	أكار البربين المجفف المغذي
Escherichia coli	++++	++++	++++
Pseudomonas flouresence	+++	+++	+++
Staphylococcus aureus	+++	+++	+++
Staphylococcus epidermidis	+++	+++	+++
Bacillus subtilis	++++	+++	+++
Klebsiella pneumoniae	+++	+++	+++
Proteus mirabilis	+++++	++++	++++
Proteus vulgaris	+++++	++++	++++

+++++ = النمو منتشر على جميع الطبق من دون مستعمرات منفصلة .
++++ = النمو منتشر على جميع الطبق مع وجود مستعمرات منفصلة .
+++ = النمو منتشر على ثلاثة ارباع الطبق .

أما فيما يتعلق بخصائص نمو البكتريا قيد الدراسة على الأوساط المحلية الاخرى المحضرة في هذا البحث مثل (أكار البربين- الدم و أكار البربين- المانيتول و أكار البربين- اللاكتوز) بنوعيها مقارنة بالأوساط الأجنبية المجهزة من شركة oxoid فقد استطاع وسطا أكار البربين الرطب- الدم و أكار البربين المجفف- الدم أن يضاهيا وسط أكار الدم الأساسي المجهز من شركة oxoid، إذْ استطاعت البكتريا ان تنمو وتظهر حالة التحلل الكلي لكريات الدم الحمر من نوع بيتا مثل بكتريا *E.coli* و *P.flourescence* و *S.aureus* و *B.subtilis* و *P.vulgaris* و *P.mirabilis* ، فيما استطاعت جرثومتا *S.epidermidis* و *K.pneumoniae* أن تنموا بشكل جيد وتظهرا من دون حدوث تحلل لكريات الدم الحمر (تحلل من نوع كاما) وتلك هي نفسها خصائص النمو للبكتريا قيد الدراسة على وسط أكار الدم الاجنبي مما يشير وبشكل جلي إلى أن المستخلصات المحضرة من أوراق وسيقان نبات البربين في هذا البحث مفيدة جداً في تحضير الأوساط الغنية Enriched media وإظهار خصائص النمو المميزة التي تساعد على تشخيص البكتريا كقابليتها على تحليل كريات الدم الحمر بإنتاج الهيمولايسين [22] ، كما أبدت البكتريا السالبة لصبغة كرام والتابعة للعائلة المعوية نمواً جيداً على وسطي أكار البربين الرطب- اللاكتوزو أكار البربين المجفف- اللاكتوز المحضرين محلياً وإظهار قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج مستعمرات وردية على سطح الوسط الزرعي مثل *E.coli* و *K.pneumoniae* ، فيما إستطاعت البكتريا *P. mirabilis* و *P.vulgaris* و *P. flouresence* أن تظهر نمواً جيداً على هذين الوسطين وإظهار عدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز وظهرت بشكل مستعمرات صفراء شاحبة ، فيما لوحظ أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *S. aureus* و *S. epidermidis* و *B. subtilis* لم تستطع النمو على هذين الوسطين لإحتوائهما على صبغة البلورالبنفسجي والتي عملت على تثبيط نمو هذه البكتريا كما هو الحال في وسط أكار الماكونكي الأجنبي[24،23] وهذه النتائج تشير إلى أن وسطي أكار البربين الرطب- اللاكتوزو أكار البربين المجفف- اللاكتوز المحضرين محلياً في هذا البحث من مستخلص أوراق وسيقان نبات البربين يضاهيان وسط أكار الماكونكي الأجنبي المجهز من شركة oxoid ، إذْ أظهرت البكتريا المذكورة سابقاً على النمو على هذه الأوساط وإظهار الخصائص الزرعية نفسها التي تظهر على وسط أكار الماكونكي الأجنبي [25] ما يشير إلى إمكانية تحضير الأوساط التفريقية Differnetial media مثل وسط أكار الماكونكي بإستعمال مستخلصات أوراق وسيقان نبات البربين لإحتوائه على العناصر الأساسية المهمة في نمو وإستزراع البكتريا [26] ، كما بينت نتائج هذا البحث قدرة جرثومتي *S. aureus* و *S. epidermidis* على النمو على وسطي أكار البربين الرطب- المانيتول و أكار البربين المجفف- المانيتول المحضرين محلياً من مستخلصات نبات البربين، إذْ أظهرت جرثومة *S.aureus* قدرتها على تخمير سكر المانيتول المضاف إلى الوسط وتغيير لونه إلى اللون الأصفر ، فيما لم تستطع جرثومة *S.epidermidis* تخمير سكر المانيتول لهذا بقى لون الوسط كما هو ، ولوحظ عدم قدرة بقية البكتريا قيد الدراسة على النمو على هذين الوسطين كما هو الحال في وسط أكار المانيتول والملح الاجنبي لكون هذه الأوساط انتقائية انتخابية لبكتريا العنقوديات لإحتوائها على نسبة 7.5% ملح كلوريد الصوديوم [27 ،28] ،ما يعطي إشارة واضحة إلى أن وسطي أكار البربين الرطب- المانيتول و أكار البربين المجفف- المانيتول المحضرين محلياً يضاهيان وسط أكار المانيتول والملح المجهز من شركة oxoid [29] ، نستنتج من ذلك إمكانية إستعمال مستخلصات نبات البربين في تحضير الأوساط الانتقائية Selective media مثل أكار المانيتول والملح ، وجدول (5) يوضح هذه النتائج .

جدول (5) مميزات نمو البكتريا المستعملة على الأوساط المحلية مقارنة بأوساط شركة Oxoid

نوع البكتريا	خصائص نمو البكتريا								
	أكار البربين الرطب- الدم	أكار البربين المجفف- الدم	أكار الدم االمجهز من شركةoxoid	أكار البربين الرطب- اللاكتوز	أكار البربين المجفف- اللاكتوز	أكار الماكونكي االمجهز من شركةoxoid	أكار البربين الرطب- المانيتول	أكار البربين المجفف- المانيتول	أكار المانيتول والملح المجهز من شركةoxoid
Escherichia coli	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ مستعمرات وردية	+ مستعمرات وردية	+ مستعمرات وردية	-	-	-
Pseudomonas flouresence	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	-	-	-
Staphylococcus aureus	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	-	-	-	+ مستعمرات مخمرة للمانيتول	+ مستعمرات مخمرة للمانيتول	+ مستعمرات مخمرة للمانيتول
Staphylococcus epidermidis	+ بدون تحلل	+ بدون تحلل	+ بدون تحلل	-	-	-	+ مستعمرات غير مخمرة	+ مستعمرات غير مخمرة	+ مستعمرات غير مخمرة
Bacilhus subtilis	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	-	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	+ بدون تحلل	+ بدون تحلل	+ بدون تحلل	+ مستعمرات وردية	+ مستعمرات وردية	+ مستعمرات وردية	-	-	-
Proteus mirabilis	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	-	-	-
Proteus vulgaris	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ تحلل بيتا	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	+ مستعمرات صفراء	-	-	-

+ : يوجد نمو ،–: لايوجد نمو

أما فيما يخص نتائج طريقة التعداد الحي للبكتريا قيد الدراسة فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال إختبار دنكن عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 ≥P في نمو البكتريا على وسط الأكار المغذي المجهز من شركة oxoid والأوساط الأساسية المحلية المحضّرة في هذا البحث (أكار البربين الرطب المغذي و أكار البربين المجفف المغذي) ، كما لوحظ وجود فروق معنوية مابين البكتريا في نموها على هذه الأوساط وهذه الفروق لوحظت أيضاً في حالة وسط الأكار المغذي المجهزمن شركة oxoid وهذا يعود إلى إختلاف المتطلبات التغذوية للبكتريا تبعاً لنوعها وجميع هذه النتائج تشير وبشكل واضح إلى أن مستخلصات أوراق وسيقان نبات البربين المحضرة في هذا البحث والتي أستعملت في تحضير الأوساط المحلية كانت جيدة ومناسبة في توفير المتطلبات التغذوية الاساسية لمجموعة البكتريا الممرضة قيد الدراسة ، إذْ استطاعت أن توازي وتضاهي الأوساط المجهزة من شركات أجنبية مثل شركة oxoid لإحتواء هذا النبات على نسب عالية من الأملاح الأساسية مثل الصوديوم والبوتاسيوم فضلاً عن البروتينات والاحماض الدهنية[30] وجدول (6) يوضح هذه النتائج وبهذا تكون نتائج بحثنا هذا لبنة علمية أساسية لإنشاء شركات محلية لإنتاج الأوساط الزرعية بدلاً من إستيرادها من الدول الأجنبية أسوة بشركات الأدوية المحلية التي تضاهي في إنتاجيتها كماً ونوعاً شركات إنتاج الادوية العالمية.

جدول (6) معدل عدد البكتريا قيد الدراسة النامية على الأوساط الزرعية المحضرة محلياً (أكارالبربين الرطب المغذي و أكارالبربين المجفف المغذي) مقارنة بوسط الأكار المغذي المجهزمن شركة Oxoid

نوع البكتريا	(المعدل ± الخطأ القياسي) للخلايا البكتيرية / 1 مل على الأوساط		
	الأكار المغذي المجهزمن شركة oxoid	أكارالبربين الرطب المغذي	أكارالبربين المجفف المغذي
Escherichia coli	^{a}(2.30 ±×10^{8} × 12)	^{a}(3.40 ± 10^{8}×15.7)	^{a}(3.12 ±10^{8}×14)
Pseudomonas flouresence	^{b}(4.01 ± 10^{8} ×17)	^{b}(5.23 ± 10^{8} ×20)	^{b}(4.31 ± 10^{8} ×18.5)
Staphylococcus aureus	^{c}(4.0 ± 10^{8} ×18)	^{c}(3.9 ± 10^{8} ×16)	^{c}(3.8 ± 10^{8} ×16.5)
Staphylococcus epidermidis	^{d}(5.10 ± 10^{8} ×20)	^{d}(4.92 ± 10^{8} ×19)	^{d}(4.8 ± 10^{8} ×19.8)
Bacillus subtilis	^{e}(5.91 ± 10^{8} ×23)	^{e}(4.8 ± 10^{8} ×21.5)	^{e}(5.92 ± 10^{8} ×22.4)
Klebsiella pneumoniae	^{f}(2.90 ± 10^{8} ×13)	^{f}(3.21 ± 10^{8} ×13.5)	^{f}(4.10 ± 10^{8} ×15)
Proteus mirabilis	^{g}(2.01 ± 10^{8} ×11.1)	^{g}(2.12 ± 10^{8} ×12)	^{g}(1.99 ± 10^{8} ×11.9)
Proteus vulgaris	^{h}(5.12 ± 10^{8} ×12.5)	^{h}(4.10 ± 10^{8} ×15)	^{h}(5.31 ± 10^{8} ×12.7)

الحروف المتشابهة عمودياً وافقياً تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى إحتمالية$P \leq 0.05$.
الحروف المختلفة عمودياً وافقياً تشير إلى وجود فروق معنوية عند مستوى إحتمالية$P \leq 0.05$.

المصادر:

[1] Tortora, G. and Funke, B. R. 2003. Microbiology: An Introduction. 8 th. ed. SanFrancisco: Benjamin/ Curnning .

[2] Prescott, L.M.; Harley, J. P. and Klein, D. A. 2002. Microbiology. 5 th. ed. New York, NY: McGraw – Hill .

[3] Baron, E.; Murray, P. R.; Jorgensen, J. H.; Pfaller, M. A. and Yolken, R. H. 2003 . Manual of Clinical Microbiology . 8 th. ed. Washington , DC : ASM Press .

[4] Oxoid and Remel Microbiology Products Manual .2012 . 6 th . ed . Ther mo Fisher. Scientific Inc.

[5] Zembro, M. J.; Power, D. A.; Miller. Sh. M.; Wilson, G. E. and Johnson, J. A. 2009. Difco and BBL Mual of Micro biological Culture Media 2nd . ed . Mc Graw – Hill .

[6] Kahdam, B. A. 2011. The Ability of Using the Extract of Leaves and Stem of *Trigonella foenum graecum L*. in Preparing of Culture Media for Microorganisms Growing.J .Kuf. Univ. Bio. 1(1):814-820.

[7] Essa, M. A. 2004.Study About the Use of (Alfalfa) *Medicago sativa* Extract in Preparing of Culture Media for Microorganisms Growing.J .Al-Raf.Scie. 5(11)20-25.

[8] Kulaf, S. H. and Essa, M. A. 1999. Study About a New Culture Media for *Lactobacilli* Bacteria .J .Al-Raf.Scie. 31(1):73-76.

[9] Kulaf, S. H.; Eiub, M. and Saeed, U. 2000. Using of Orange Leaves for Preparing MacConkey Agar Locally. J. Al-Raf.Scie.32(4):55-61.

[10] Al-Hasso, M. Z. 1999. The Isolation and Diagnosis of *Klebsiella pneumoniae* and Studing Some of Their Cultural and Pathogenic Characteristics. Thes. M.Scie. College of Science \Univ. of Mousul \ Iraq.

[11] Acevedo , p. R. and Strong , M. J. 2007 . Catalogue of the Seed plant of the west, India . 4th. ed Springer Company .

[12] National Plant Data Center. 2011. NRCS, USDA. Baton Rouge Comp .

[13] Simopolose, D. E. 2000. The Medical Using of *Portulac oleracea oleracea L*., The Benefit and Doses. Amer. J. Chromatograph. 29(2) :110-114.

[14] Duke, K. S. and Houng, A. D. 2004. The effect of *portulaca oleracea oleracea L*.on patient with respiratory tract infection. Amer. Eth. pharma. 20(7):231-236.

[15] Mlen, S. D.; Jan da, W. M.: Procop, G. W.; Schrec Kenberge, P. C.; Woods, G. L. and Winn, W. C. 2005. Koneman´ s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th. ed. Pub: Lippincoot William and Wilkins.

[16] Morellow, J. A.; Mizer , H. E. and Granato, P. A. 2006. Laboratory Manual and work book in Microbiology: Application to patient care. 8 th .ed. McGraw – Hill company.

[17] Vandepitte, J.; Verhaegen, J.; Engbaek, K.; Rohner, P.; Piot, P. and Heuck, C. C. 2003. Basic Laboratory Procedure in Clinical Bacteriology. 2 nd . ed . WHO, Geneva .

[18] Forbes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. 2002 . Baily and Scott´ Diagnostic Microbiology. 12th. ed. st. Louis: Mosby.

[19] Dawed, K. and Al – yas , Z.A. 1990. statical methods in agricultural research . Dar Al – Kuttub for printing and pub . Iraq . Mosul .

[20] Hubbert, K. S.; Brachmani, S. D. and Holt, M. B. 2007. Study the benefit of Purslane plant on human health. J. Chem. Boil. Interact . 33 (12) : 153 – 161 .

[21] Isenberg, K; Holly, M. C. and Koley, Z.M. 2007. Clinical Microbiology procedures handbook. 2nd. ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

[22] Downes, K. and Ito, B.2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods .4th . ed . American Public Health Association, Washington , D.C.

[23] Thanassi, D. G.; Cheng, L. W. and Nikaido, H. 1997. Active Efflux of Bile Salts by *Escherechia coli*.J .Bacteriol. 79(1):2512-2518.

[24] Raphael, B.; Mamroud, E.; Moshe, a.; Avital, T.; David, G.; Yehuda, F. and Cohen, S. 2003. Development of an Improved Selective Medium for Isolation of *Yersinia pestis*. Appl. Environ.Microbiol.69(10):5787-5792.

[25] Eaton, X.; Rice, A. D. and Baird, N. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st .ed. APHA, Washington , D.C.

[26] Artmase, S. 1992. Comparison Study between Wild and Cultured *Portulaca oleracea L*. in the Chemical Compositions. J.A. Food .21(8):233– 239 .

[27] Winslow, C. E. A.; Rothberg, W. and Parsons, E. I. 2000. Notes on the Classification of white and orange *Staphylococci*. J. Bacteriol. 5(1):145-167.

[28] Shields, P. and Tsang, A. Y.2013. Manitol Salts Agar Plates Protocols.J. Ameri. Socie. Microbiol. 1(26):34-42.

[29] Mac Fadin, J. 2000. The Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria . 3rd. ed . Lppincott Williams and Wilkins, Baltimore,Md .

[30] Jassim, J. M.; Mussa, R. K. and Abbas, R. G. 2006 .The response of proiler hybrid to replacement two types of aquatic plants in diet nutritive value and chemical composition .Basrah J. Agric. Scei.,19(1):59-70.

Preparation of Some Culture Media Locally from leaves and stems of Purslane plant (*Portulaca oleracea oleracea L.*) and Assessment of Their Efficiency Comparing with Culture Media of Oxoid Company

Bushra A. Kadhim ***Yassamin H. Ali***

College of Nursing /University of Baghdad.

Abstract:

The leaves and stems of the local Purslane plant (*Portulaca oleracea oleracea L.*) were used to preapare the extract of two types (wet and dried extractions) the extracts were prepared by weighting of 60grams of the wet and the dried plant individually, then boiled in 500ml of distal water. Finally the volume was completed to1 liter, then we used these extracts to prepare of 8 types of the culture media contained basic, selective and enrichment media for growing a group of pathogenic bacteria. 8 types of bacteria were used for this purpose: *Escherichia coli*, *Pseudomonas flouresenc*e, *Staphylococcus aureus , Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis , Klebsiella pneumoniae , Proteus mirabilis and Proteus vulgaris*.

The stastical analysis of the results showed that the locally prepared culture media in this research (Nutrient wet portulaca agar , Blood - wet portulaca agar, Manitol- wet portulaca agar, Lactose- wet portulaca agar, Nutrient dried portulaca agar , Blood - dried portulaca agar , Manitol- dried portulaca agar and Lactose- dried portulaca agar) were suitable for culturing of these pathogenic bacteria when compared to the media that supplied by Oxoid company. In addition they also revealed good growth and they were sufficient to use as basic, enriched and selective media .

Key words: *Portulaca oleracea oleracea L.*, Culture Media.