النشاط المضاد للبكتريا لمستخلصات الجسم للمفصلي قمل الخشب *Hemilepistus crenulatus* وبالغات الذباب المنزلي *Musca domestica*

الباحث. مهند فالح بدر أ.د. عطاالله فهد مخلف

قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الموصل

الملخص:

تُعد الحشرات أحد المصادر الطبيعية للعديد من المركبات الكيميائية ذات الاهمية الطبية ، فكانت إيجاد بدائل من المصادر الحيوانية ومنها الحشرات ضد البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية الحالية، وجرى في هذه الدراسة اختبار تأثير اربعة مذيبات باستعمال طريقة المذيبات المتعاقبة القطبية ، أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن لمستخلص الجسم الجاف للمفصلي قمل الخشب *Hemilepistus crenulatus* تأثيراً متبايناً

في تثبيط نمو البكتريا المختبرة ، (*Klebsiella pneumoniae*، *Salmonella typhi*، *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus*) فقد تفوق مستخلص الميثانول الحامضي للمفصلي قمل الخشب على باقي مستخلصاته بالمذيبات المستعملة الأخرى لتثبيط الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام *Klebsiella pneumoniae* ، *Salmonella typhi*، *Escherichia coli* وبأقطار تثبيطية (١٤، ٢٥ ، ١٨.٢) ملم على التوالي، بالمقارنة مع المستخلصات لبالغات الذباب المنزلي *Musca domestica* ، كان مستخلص الميثانول الحامضي للمفصلي قمل الخشب أكثر فعالية من مستخلصات بالغات الذباب المنزلي التي كانت بأقطار (١٥.٣ ، ١٣.٣ ،١٤) ملم للأنواع البكتيرية *Klebsiella pneumoniae*، *Salmonella typhi*، *Escherichia coli* على التوالي، في حين كان مستخلص الميثانول الحامضي لبالغات الذباب المنزلي ثبط نمو البكتريا *Staphylococcus aureus* بقطر ١٩.٦ ملم أعلى من تثبيط مستخلص قمل الخشب بالميثانول الحامضي لنفس البكتريا التي كانت بقطر ١١.٦ ملم .

الكلمات المفتاحية: *Hemilepistus crenulatus* ، *Musca domestica* ، بكتريا.

Antibacterial activity of body extracts of the woodlice arthropod Hemilepistus crenulatus and adult houseflies Musca domestica

Muhanad F. Badr prof. Dr Atallah F. Mekhlif

Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, University of

Abstract:

Insects have been considered the main source of very useful chemical compounds, It was to find alternatives from animal sources, including insects, against bacteria that are resistant to current antibiotics, In this study, the effect of four solvents was tested using the polar successive solvent method, The results of the current study showed that the body extract of the arthropod woodlice *Hemilepistus crenulatus* had a variable effect in inhibiting the growth of the tested bacteria, (*Klebsiella pneumoniae* ،*Salmonella typhi* ،*Escherichia coli* ،*Staphylococcus aureus*) The acidic methanol extract of the woodlice arthropod was superior to the rest of its extracts with other used solvents to inhibit Gram-negative bacterial species *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, and *Escherichia coli* with inhibition diameters of (14, 25, 18.2) mm, respectively. Compared with extracts of adult houseflies *Musca domestica*, acidic methanol extract of woodlice arthropods was more effective than extracts of adult houseflies whose diameters were (15.3, 13.3, 14) mm for *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, and *Escherichia coli*, respectively. While the acidic methanol extract of adult house flies inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* with a diameter of 19.6 mm higher than the inhibition of acidic methanol wood lice extract of the same bacteria with a diameter of 11.6 mm.

Keywords; Insect extract, *Hemilepistus crenulatus*, *Musca domestica*, bacteria

١. المقدمة Introduction

أدى اكتشاف البنسلين بواسطة ألكسندر فيلمينج في عام ١٩٢٨ الى علاج الكثير من الأمراض لعقود طويلة[١]. تم استخدام العقاقير المضادة للبكتيريا بشكل دقيق على مدى عقود عديدة ، ولكن

الإفراط في استخدام المضادات الحيوية وإساءة استخدامها قد أدى إلى تسريع مقاومة الأدوية المتعددة المضادة للبكتيريا[٢]. مع ذلك ، فإن تطور المضادات الحيوية الجديدة يركز بشكلٍ أساس على الموارد الجديدة[٣]. لذلك ، تم إجراء تجارب مضادة للبكتيريا على مستخلصات الحشرات لإيجاد بدائل مضادات حيوية جديدة [٤،٥]. لقد عرفت الحشرات قدرتها على مقاومة الأمراض المعدية[٦]. ومن أسباب نجاح وتطور الحشرات في كل النظم البيئية والتوطن في بيئات مختلفة و العيش فيها وبدون منافسة، و قدرتها على أنتاج مركبات مضادة للأحياء الممرضة وخصوصا الفايروسات والبكتريا[٧]. تتباين النظرة إلى الحشرات بحسب ثقافات الشعوب وتطورها العلمي؛ ففي الشعوب البدائية تستعمل الخنافس البراقة للزينة والطقوس السحرية وكطعام، وفي علاج الأمراض[٨]. كما تم استعمال أجسام وإفرازات الحشرات المجففة على نطاق واسع في الطب الشعبي لعلاج العديد من الأمراض بما في ذلك العديد من أنواع العدوى والسرطانات المختلفة[٩،١٠،١١]. امتلاك الحشرات جهازاً مناعياً فطرياً هو أحد المميزات القادرة على حمايتها من الميكروبات، فضلاً عن امتلاكها وسائل دفاعية فيزيائية وكيميائية قادرة على منع المسببات المرضية من الدخول إلى داخل أجسامها [١٢] .إن الحشرات غزيرة الإنتاج في تخليق المركبات الكيميائية – فرمونات الإنذار والتزاوج، البخاخات الدفاعية، السموم و الذيفان المعزول من النباتات أو فرائسها ثم تقوم بتركيزها أو تحويلها لإستخدامها الخاص[١٣]. فالنمل الساكن في التربة يصنع ويستعمل مركبات تقتل كلاً من الفطريات والبكتيريا في أعشاشها الموجودة تحت الأرض[١٤]. سموم الحشرات Insect poisons هي مركبات لها العديد من الأنشطة البيولوجية ويمكن استعمالها كأدوية مسكنة للألم وعلاج بعض الأمراض وحتى علاج السرطان[١٥]. قدمت العديد من الدراسات عن النشاط المضاد للميكروبات في الدم لمف ومستخلص اليرقات، إما في الجسم كله أو في براز الجسم / الإفرازات، حافزا لتطوير منتجات بديلة مضادة للميكروبات إلى عوامل مضادة للعدوى ذات قيمة علاجية[١٦]. عادة تظُهر الحشرات أجهزة مناعية فطرية تنتج الببتيدات المضادة للميكروبات Antimicrobial peptides (AMPs) لحمايتها من غزو الكائنات الممرضة ومنذ ذلك الحين تمت دراسة هذه الببتيدات بشكل

مكثف، ليس فقط لدورها الفسيولوجي في مناعة الحشرات، ولكن أيضا كبدائل محتملة للمضادات الحيوية التقليدية والتي ينُظر اليها على أنها مضادات حيوية طبيعية قوية لها قدرة واعدة في التطبيقات العلاجية والوقائية في علاج الأمراض المعدية[١٧،١٨،١٩،٢٠،٢١]. (AMPs) عادة يتم تصنيعها بشكل أساس في الجسم الدهني الذي هو عضو تخليق حيوي كبير ويشبه وظيفياً كبد الثدييات[٢٢]. ويتم إنتاجها بتراكيز صغيرة ونقلها إلى الهيمولمف (hemolymph) والأنسجة الأخرى؛ ومع ذلك، فإن وجود مسببات الأمراض يزيد من تركيزها[٢٣]. لا تطور البكتيريا مقاومة لـ AMPs بنفس سهولة المضادات الحيوية التقليدية. فضلا من ذلك ، فإن نشاطها المدمر للأغشية يجعل هذه الببتيدات مرشحة مثالية للعلاجات المركبة بالمضادات الحيوية التقليدية[٢٤] .

تهدف الدراسة الحالية إلى إيجاد بدائل كمثبطات للبكتريا المقاومة للمضادات الحياتية من المستخلص الجاف للمفصلي قمل الخشب وبالغات الذباب المنزلي.

٢. المواد وطرائق العمل Method and Materials

١.٢– جمع العينات

تم الحصول على المفصليات من أماكن تواجدها في بيئتها الطبيعية، فجمعت عينات قمل الخشب *Hemilepistus crenulatus* من اماكن تواجدها تحت الصخور الصغيرة الحجم و الأخشاب المتروكة الرطبة على الأرض. في حين جُمعت حشرات بالغات الذباب المنزلي من حاويات جمع النفايات وبقايا الطعام المتواجدة في الحي وباستعمال شبكة يدوية لاصطيادها. وبعدها تم قتل العينات التي جُمعت (بالتجميد لمدة ربع ساعة) جففت في الظل خلال فصل الصيف، أما شتاءً فجُففت بالفرن بدرجة حرارة ٣٥ مئوية، وبذلك تكون العينات مهيأة للسحق، وتم حفظها في أوعية محكمة الغلق في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مئوية.

٢.٢– تحضير المستخلصات Preparation of extract

تمت عملية استخلاص كل من الحشرات قيد الدراسة باستعمال مذيبات عضوية قطبية وغير قطبية بسحق ١٥ غرام من كل عينة، بوساطة الهاون الخزفي، باستعمال مذيبات متعاقبة القطبية من الأعلى قطبية؛ وكالآتي: الميثانول الحامضي (الماء، الميثانول ٥.٥، حامض الخليك) الكلوروفورم ٤.٢، الهكسان١.٠، فضلا عن المذيب غير القطبي رابع كلوريد الكاربون. تم مزج ١٠٠ مل من المذيب مع مسحوق (Crud) من جميع الحشرات في دورق مخروطي زجاجي مع التحريك المستمر بالمحرك المغناطيس (Magneatic stirrer) لمدة ٢٤ ساعة تحت ظروف المختبر. تم تحضير مستخلص الميثانول الحامضي (مل ٩٠ ميثانول، ٩ مل ماء مقطر، ١ مل حامض الخليك)[٢٥]. بمزج ١٠٠ مل من المذيب مع مسحوق Crud جميع الحشرات، في دورق مخروطي مع التحريك المستمر لمدة ٢٤ ساعة. ثم أُزيلت الشوائب بقماش الشاش وتم ترشيح المستخلص بورق الترشيح رقم ١ تحت ظروف الضغط المنخفض، وللحصول على المستخلص يتم سكب الراشح في أطباق زجاجية قطرها ١٥ سم وتترك أمام مروحة كهربائية صيفا أو مكيف الهواء شتاءً حتى يتبخر المذيب. ثم يضاف لها حجم معين من مادة DMSO حسب التركيز المطلوب، إلى المستخلص الجاف حسب التركيز المطلوب، ولغرض الحصول على التركيز المطلوب في التجارب وهو ٢٥٠ ملغم/ مل تمت اذابة ٢٥٠ ملغم من المستخلص الحشري الجاف في ١ مل من مادة Di Methyl sulfoxide (DMSO) وجمع المستخلص الجاف الذي يختلف وزنه بحسب نوع الحشرة والمذيب المستعمل للاستخلاص ووضع اسم كل مستخلص عليه وحفظ في الثلاجة بدرجة ٤° مئوية لحين البدء بالتجارب.

٢.٣– العزلات البكتيرية Bacterial Isolates

تم الحصول على الأنواع البكتيرية النقية والمشخصة من مختبر بحوث الأحياء المجهرية للدراسات العليا / قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة، التي استعملت في تجارب اختبارات فعالية مستخلصات الحشرات ضد اربعة أنواع من البكتريا الممرضة وهي *Staphylococcus aureus* الموجبة لصبغة كرام، والسالبة لصبغة كرام *Klebsiella pneumoniae*، *Salmonella typhi*، *Escherichia coli* .

٢.٤– اختبار حساسية البكتريا للمستخلصات الحشرية:

تم اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلصات الحشرات العضوية القطبية وغير قطبية على نمو البكتريا حسب طريقة الإنتشار بالحفر[١]. تم جلب اطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الزرعي مولار هانتون اكار Mueller-Hinton Agar تم حفظها في الثلاجة مسبقا، ثم زرعت البكتريا عليها بطريقة الفرش بأخذ مسحة من العزلة البكتيرية باستعمال ماسحة قطنية معقمة cottons swap بمسحها على سطح الوسط الزرعي المحضر مسبقا ويترك الطبق لمدة ١٠ دقائق إلى أن يجف داخل ردهة التعقيم Hood المعقمة أيضا. بعد ذلك يتم عمل ثقوب في الاطباق الحاوية على الاكار والتي زرعت بها الأنواع البكتيرية باستعمال أنبوب ثقب الفلين قطره ٦ ملم، ثم نضع في كل حفرة ٠.١ مل من المستخلصات الحشرية العضوية القطبية وغير القطبية يضاف مع هذه الحفر أقراص حاوية على مضادات حيوية تقليدية وهي تعتبر السيطرة الايجابية وقد استعمل المضاد الحيوي (CRO-10) Ceftriaxon، بعد ذلك توضع الاطباق الحاوية على البكتريا والمستخلصات في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧م° ولمدة ٢٤ ساعة. وبعد مرور ٢٤ ساعة لوحظت تأثيرات المستخلصات الحشرية على نمو البكتريا قيد الدراسة و تم قياس أقطار منطقة التثبيط بمسطرة مدرجة بوحدة الملم ليمثل مقدار منطقة التثبيط اذا كان قطر الدائرة التثبيط منتظم، أما إذا كان غير منتظم فيؤخذ معدل القطرين متعامدين ، وبذلك يمثل منطقة التثبيط وفي حالة عدم وجود نمو حول الحفر تعتبر النتيجة سالبة[٢٧]، وتجرى

التجربة نفسها والبرتوكول نفسه على الأنواع البكتيرية المختبرة وفي الظروف نفسها وبثلاث مكررات لكل نوع بكتيري.

٥.٢– التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم تحليل النتائج احصائيا وفق التصميم العشوائي الكامل. أما المعدل الانحرافي لقطر دائرة التثبيط فتم حسابه حسب اختبار Duncan متعدد المدى عند مستوى احتمالية ٠.٠٥ [٢٨].

٣– النتائج Results

1.3– تثبيط نمو البكتريا بفعل مستخلص *Hemilepistus crenulatus*:

يتبين من الجدول (١) علاقة تثبيط نمو أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام *Salmonella typhi*،*Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* ، *Staphylococcus aureus* بمستخلص قمل الخشب والمحضر باستعمال المذيبات العضويةالميثانول الحامضي و الكلوروفورم و الهكسان و المذيب غير القطبي رابع كلوريد الكاربون، أظهر مستخلص قمل الخشب بالميثانول الحامضي والكلوروفورم فعالية تثبيطية عالية في تثبيط نمو البكتريا *S.typhi* بأقطار (٢٥ ،٢٣.٨) ملم على التوالي، بينما كانت البكتريا *S.typhi* مقاومة لمستخلصي الهكسان ورابع كلوريد الكاربون ٠.٠ ملم كما في الصورة (٣)، وكان تأثير مستخلص *H.crenulatus* بالميثانول الحامضي فعالا في تثبيط نمو البكتريا *E. coli* بقطر تثبيط ١٨.٢ ملم، بينما كان تأثير مستخلص الهكسان في تثبيط نمو بكتريا الاشريكية القولونية بقطر (٩.٦) ملم، في حين أظهرت البكتريا *E. coli* مقاومة ٠.٠ ملم لتثبيط مستخلص قمل الخشب بالكلوروفورم ورابع كلوريد الكاربون كما في الصورة (٢). وكان تأثير مستخلصي الميثانول الحامضي ورابع كلوريد الكاربون في تثبيط نمو البكتريا *K.pneumoniae* بقطر (١٤ ،١٣) ملم على التوالي، وكان تأثير الفعل التثبيطي لمستخلص الهكسان ٩.٢ ملم، بينما كانت البكتريا *K.pneumoniae* مقاومة ٠.٠ لمستخلص قمل الخشب بالمذيب كلوروفورم كما في الصورة

(١). في حين كان أعلى تثبيط لبكتريا *Staph. aureus* بمستخلص الهكسان بقطر(١٥.٢) ملم، وأظهر مستخلص رابع كلوريد الكاربون فعلا مضادا على نمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بقطر ١٤ ملم، في حين كان الفعل التثبيطي لمستخلص الكلوروفورم في تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* بقطر مثبط ١٣ ملم ، بينما كان تثبيط مستخلص الميثانول الحامضي لهذه البكتريا بقطر ١١.٦ ملم كما في الصورة (٤). وكانت البكتريا *E. coli* مقاومة لتأثير المضاد الحيوي CRO، في حين ثبط المضاد الحيوي CRO الأنواع البكتيرية *S.typhi* ، *K.pneumoniae*، *Staph. aureus* بأقطار تثبيطية (٢٩ ، ٣٢ ، ١٤.٦) ملم على التوالي.

الجدول (1) تثبيط نمو الأنواع البكتيرية *Salmonella typhi*،*Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* ، *Staphylococcus aureus* بمستخلص قمل الخشب *H. crenulatus* والمحضر بالطريقة التسلسلية بحسب قطبية المذيبات العضوية :

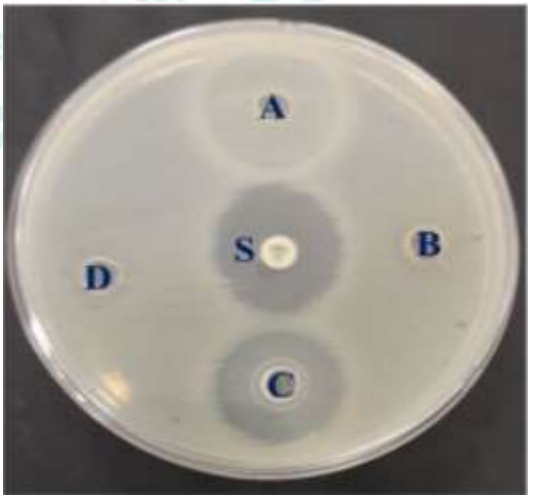
نوع البكتريا	قطر منطقة النمو المثبط بـ(ملم) للمستخلص بالمذيبات			
	Salmonella typhi	*Escherichia coli*	*Klebsiella pnumoniae*	*Staphylococcus aureus*
الميثانول الحامضي	25±0.5 a	18.2±0.3 b	14±0.0 c	11.6±0.6 d
الكلوروفورم	23.8±0.3 a	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	13±1.0 b
الهكسان	0.0±0.0 c	9.6±0.6 b	9.2±0.8 b	15.2±0.3 a
رابع كلوريد الكاربون	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	13±1.0 b	14±0.0 a
CRO (ve+)	29±1.0 b	0.0±0.0 d	32±0.0 a	14.6±0.6 c

- المعدل + الانحراف المعياري ±
- عدد المكررات ٣ – مكررات

- الأرقام التي تحمل حروفا متشابهة أفقيا لا يوجد بينها فرق معنوي بينها عند مستوى احتمالية ≤ ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن.

الصورة(١) تثبيط نمو البكتريا *K. pneumoniae* بمستخلص قمل الخشب

الصورة(٢) تثبيط نمو البكتريا *E.coli* بمستخلص قمل الخشب



الصورة(٣) تثبيط نمو البكتريا *S.typhi* بمستخلص قمل الخشب

الصورة(٤) تثبيط نمو البكتريا *Staph. aureus* بمستخلص قمل الخشب

**A:الميثانول الحامضي
B: الهكسان
C: الكلوروفورم
D: رابع كلوريد الكاربون
S: المضاد الحيوي

٢.٣- تثبيط نمو البكتريا بفعل مستخلص الجسم الكامل للذبابة المنزلية *Musca domestica* :

يتبين من الجدول (٢) علاقة تثبيط نمو أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام *Salmonella typhi*،*Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* بمستخلص بالغات الذباب المنزلي *Musca domestica* والمحضر باستعمال المذيبات العضوية الميثانول الحامضي و الكلوروفورم و الهكسان و المذيب غير القطبي رابع كلوريد الكاربون، أظهر مستخلص الذباب المنزلي *M. domestica* بالميثانول الحامضي تأثيراً في تثبيط البكتريا *S.typhi* بقطر ١٣.٣ ملم ، بينما كان تاثير مستخلصات بالغات *M. domestic* بالكلوروفورم والهكسان ورابع كلوريد الكاربون متباينا في تثبيط نمو البكتريا *S.typhi* بأقطار (١٠ ، ١٢.٢ ، ١١.٥) ملم على التوالي كما في الصورة (٧). بينما كان تثبيط البكتريا *E. coli* بمستخلص بالغات الذباب المنزلي *M. domestica* بالميثانول الحامضي بقطر١٤ ملم، في حين كانت الفعالية التثبيطية لمستخلصي الكلوروفورم و رابع كلوريد الكاربون في تثبيط نمو البكتريا *E. coli* بأقطار (١١،١٠) ملم على التوالي، بينما أظهرت بكتريا الاشريكية القولونية مقاومة لمستخلص الهكسان ٠.٠ ملم كما في الصورة (٦). وكانت الفعالية التثبيطية كما موضح بالصورة (٥) لمستخلص حشرة *M. domestica* الميثانول الحامضي في تثبيط نمو البكتريا *K .pneumoniae* بقطر تثبيط (١٥.٣) ملم، بينما أظهرت مستخلصات بالغات الذباب المنزلي *M. domestica* بالكلوروفورم و الهكسان ورابع كلوريد الكاربون فعالية في تثبيط نمو البكتريا

K.pneumoniae (١١.٦ ، ١٢.٥ ، ١٠.٦) ملم على التوالي. كما يتبين من الصورة(٨) أن كلاً من مستخلصي الميثانول الحامضي والكلوروفورم لبالغات الذباب المنزلي *M. domestica* أظهرا تأثيراً فعالاً في تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* بأقطار تثبيطية (١٩.٦، ١٨.٣) ملم على التوالي، بينما كان تأثير تثبيط نمو هذه البكتريا بمستخلصي الهكسان ورابع كلوريد الكاربون هي(١٢،١٠.٨) ملم على التوالي. وكانت البكتريا *E. coli* مقاومة لتأثير المضاد الحيوي CRO، في حين ثبط المضاد الحيوي CRO الأنواع البكتيرية *S.typhi* ، *K.pneumoniae*، *Staph. aureus* بأقطار تثبيطية (٢٩ ، ٣٢ ، ١٤.٦) ملم على التوالي.

الجدول (٢) تثبيط نمو الأنواع البكتيرية *Salmonella typhi*،*Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae*، *Staphylococcus aureus* بمستخلص بالغات الذباب المنزلي *Musca domestica* والمحضر بالطريقة التسلسلية بحسب قطبية المذيبات العضوية :

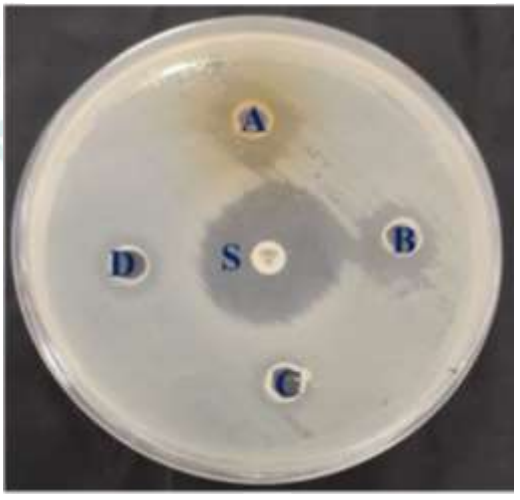
نوع البكتريا	قطر منطقة النمو المثبط بـ(ملم) للمستخلص بالمذيبات			
	Salmonella typhi	*Escherichia coli*	*Klebsiella pnumoniae*	*Staphylococcus aureus*
الميثانول الحامضي	13.3±0.6 d	14±0.0 c	15.3±0.6 b	19.6±0.6 a
الكلوروفورم	10±0.5 c	10±0.5 c	11.6±0.6 b	18.3±1.0 a
الهكسان	12.2±0.3 a	0.0±0 c	12.5±0.5 a	10.8±0.3 b
رابع كلوريد الكاربون	11.5±0.5 a	11±0.3 b	10.6 c	12±0.0 a
CRO (ve+)	29±1.0 b	0.0±0.0 d	32±0.0 a	14.6±0.6 c

- المعدل + الانحراف المعياري ±
- عدد المكررات ٣ – مكررات

- الأرقام التي تحمل حروفا متشابهة أفقيا لا يوجد بينها فرق معنوي بينها عند مستوى احتمالية ≤ ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن.

الصورة(٥) تثبيط نموالبكتريا *K. pneumoniae* بمستخلص الذباب المنزلي

الصورة(٦) تثبيط نمو البكتريا *E.coli* بمستخلص الذباب المنزلي



الصورة(٧) تثبيط نمو البكتريا *S.typhi* بمستخلص الذباب المنزلي

الصورة(٨) تثبيط نمو البكتريا *Staph.aureus* بمستخلص الذباب المنزلي

**A:الميثانول الحامضي C: الكلوروفورم S: المضاد الحيوي

B: الهكسان D: رابع كلوريد الكاربون

٤- المناقشة Discussion

١.٤- تثبيط نمو الأنواع البكتيرية بمستخلص قمل الخشب *Hemilepistus crenulatus*:

يتبين من الجدول (١) أظهرت نتائج الاختبار الحساسية بالحفر أن البكتريا *S. typhi* كانت الأكثر حساسية تجاه مستخلص الميثانول الحامضي من بين مذيبات المستخلصات المستعملة في الدراسة و متساو معنويا مع مستخلص الكلوروفورم ، بينما كانت البكتريا ذاتها مقاومة لمستخلص الهكسان و رابع كلوريد الكاربون، وأظهرت البكتريا *K. pneumoniae* تفوقا معنويا في حساسيتها بمستخلصي الميثانول الحامضي ورباعي كلوريد الكاربون المتماثلان معنويا، وانخفضت حساسية البكتريا *K. pneumoniae* بمستخلص الهكسان عن الأولى مع وجود فرق معنوي بينهما. وأظهرت البكتريا *E.coli* حساسية معنوية بمستخلص الميثانول الحامضي و بفروق معنوية أقل في حساسيتها لمستخلص والهكسان، في حين كانت مقاومة لمستخلصي الكلوروفورم ورابع كلوريد الكاربون، ومن جهة اخرى أظهر مستخلص الهكسان تأثيراً معنويا في تثبيط البكتريا *Staph. aureus* بقطر ١٥.٢ ملم وبفرق معنوي أقل مستخلص رابع كلوريد الكاربون ١٤ ملم وأظهر مستخلصي الميثانول الحامضي ١١.٣ ملم والكلوروفورم ١٣ ملم تأثيراً معنويا أقل في تثبيط نمو البكتريا *Staph. aureus*. وبالمقارنة بين المذيبات، فكان المستخلص بالمذيب الاعلى قطبية الميثانول معامل قطبيته ٥.١ اكثر فعالية في تثبيط نمو أنواع البكتريا قيد الدراسة جميعها ثم تلاه الكلوروفورم ،٤.٦ ومن ثمُ الهكسان٠.١، واخيراً رابع كلوريد الكاربون فهو من المذيبات العضوية الغير قطبية الكاره للماء وله القابلية على اذابة الدهون والزيوت الشموع [٢٩]، كما أن تأثير المستخلص الحشري على نوع بكتيري معين دون غيره يعود إلى الخاصية التركيبية لجدار الخلية البكتيرية [٣٠].تؤكد نتائج الدراسة الحالية ما سجله Ma

واخرون عن الفعل التثبيطي للبكتريا بسبب اجسام الحشرات المضادة لأنواع من البكتريا المقاومة للعديد من الأدوية Multi-drug resistant[31] .

٢.٤- تثبيط نمو الأنواع البكتيرية بمستخلص الجسم الكامل لبالغات الذباب المنزلي *Musca domestica*:

يتبين من الجدول (٢) في حين أظهر مستخلص الميثانول الحامضي ١٩.٦ ملم تفوقا معنويا في تثبيط البكتريا *Staph. aureus* على مستخلص الكلوروفورم بمدى ١.٣ ملم، وكذلك أظهر مستخلصي الهكسان رابع كلوريد الكاربون فروقا معنويا في تثبيط نمو البكتريا *Staph. aureus*.

أظهر مستخلص الميثانول الحامضي فعلا مضادا في تثبيط نمو البكتريا *S. typhi* بقطر ١٣.٣ ملم وبفروق معنوية أقل بمستخلصي الهكسان ورابع كلوريد الكاربون، و بفرق معنوي أقل بمستخلص الكلوروفورم. و أظهر مستخلص الميثانول الحامضي تفوقا معنويا في تثبيط البكتريا *E.coli* على مستخلصات الكلوروفورم و رابع كلوريد الكاربون، بينما كانت البكتريا *E.coli* مقاومة لمستخلص الهكسان. وبينت النتائج أن مستخلص الميثانول الحامضي أظهر فعلا مضادا متفوقا معنويا في تثبيط نمو البكتريا *K. pneumoniae*، وبفروق معنوية أقل بمستخلصي الكلوروفورم و الهكسان في تثبيط نمو هذه البكتريا وكذلك بفرق معنوي أقل عن المستخلص الأخير برابع كلوريد الكاربون. وبناءً على ذلك يتبين تفوق مستخلص الميثانول في تثبيط جميع الأنواع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وذلك بسبب قابلية ذوبان المواد الفعالة في مركب الميثانول؛ بسبب قطبيته العالية أما قلة فعالية المذيبات الأخرى سببه يعود إلى نوع المذيب وطريقة الاستخلاص[٣٢].

وف الدراسة لمستخلص الجسم بخلات الاثيل ليرقات الحشرات *Lucilia sericata,* *Chrysomya albiceps, Musca domestica* في تثبيط نمو بعض السلالات البكتيرية والفطريات والأنواع البكتيرية التي كانت حساسة لمستخلص يرقات الذبابة المنزلية هي *B.subtilis* ، *Staph. aureus* ، *Staph. epidermitis* ، *Pseudo. aeruginosa*، بينما كان نوعي البكتريا *E.coli*، *K. pneumoniae* مقاومة لهذا المستخلص، أما مستخلصي يرقات *L. sericata, C. albiceps* فكانت جميع الأنواع البكتيرية حساسة لهم سوى البكتريا *Pseudo. aeruginosa* كانت مقاومة لمستخلص يرقات *C. albiceps*[٣٣].

وهذا يتوافق مع دراسة على الذبابة المنزلية باستخلاص الدهون الجلدية والداخلية من الاطوار اليرقية والعذراء والبالغات(الأناث والذكور) بغمرها مذيبي الايثر البترولي مرة واحدة وثنائي كلورو إيثان مرتان وبفترة زمنية مختلفة حيث تم الحصول على الدهون الجلدية من عملية الغمر بالبتروليوم إيثر وثنائي كلورو إيثان لكل الاطوار والحصول على الدهون الداخلية من عملية الغمر الأخيرة بثنائي كلورو إيثان أظهرت المركبات الكحولية الموجودة في الدهون الجلدية ليرقات العذارى والذكور والإناث من *M. domestica* عمومًا نشاطًا مضادًا للميكروبات. في المقابل ، لم تظهر المستخلصات الخام المحتوية على كل من دهون الجلدية والداخلية أي نشاط مضاد للفطريات الممرضة للحشرات *Conidiobolus coronatus* ، والتي تقتل بكفاءة ذباب المنزل البالغ[٣٤].

الاستنتاجات

١- مستخلص أجسام الحشرات المعرضة لضغوط بيئية لها فعالية تثبيط نمو الأنواع البكتيرية الممرضة الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

٢- توجد فروقات معنوية في تثبيط نمو البكتريا لصالح المستخلصات الحشرية مقارنة مع المضادات الحيوية.

٣- أفضل طريقة استخلاص للمركبات الفعالة من جسم الحشرات هي باستعمال طريقة المذيبات المتعاقبة القطبية.

٤- المذيب العضوي الميثانول الحامضي أظهر تأثير مثبط أعلى معنويا من المذيبات القطبية الأخرى.

المصادر References

1. Felming A. Antibacterial action of culture of Pencillium with special references to the use in isolation P. influenza. Br. J. Exp. Pathol,1929:10:226-236.

2. Lee KS, Yun EY, Goo TW. Antimicrobial activity of an extract of Hermetia illucens larvae immunized with Lactobacillus salmonella species. Insects, 2020, 11(704). doi: 10.3390/insects11100704.

3. Allen HK, Trashsel J, Looft T, Casey TA. Finding alternatives of antibiotics. Ann. New York Academy of sciences,2104:1323(1):91-100.

4. Ma G, Wu I, Shao F, Zhang C, Wan H. Antimicrobial activity of 11 insects extracts against multidrug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus. IOP Conf. Series: Earth and Environ. Sci,2019:252:022132.

5. Borrellia L, Varriale I, Dipineto L, Pace A, Mcnna LF, Fioretti A. Insect derived Lauric acid as promising alternative strategy to antibiotics in the antimicrobial resistance senario. Front Microbial,2021:12:620798. doi: 10.3389/fmicrob.2021.620798.

6. Kurata, S. (2006). Intra – and extra cellular recognition of pathogenous and activation of innate immunity. Yakugaku zasshi, 266 (12): 1213 – 1218.

7. Narayanan, K. (2004). Insect defence: its impact on microbial control of insect.**Curr Sci**, 86, 800-14.

8. Costa-Neto, E. M. (2002). The use of insects in folk medicine in the state of Bahia, northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere Brazilian in folk medicine. **Human Ecology**, 30(2), 245-263.

9. Cherniack, E. P. (2010). Bugs as Drugs, Part 1: Insects: the" new" alternative medicine for the 21st century. **Altern Med Rev**, 15(2), 124-35.

10. Dossey, A. T. (2010). Insects and their chemical weaponry: new potential for drug discovery. **Natural product reports**, 27(12), 1737-1757.

11. Ratcliffe, N. A., Mello, C. B., Garcia, E. S., Butt, T. M., & Azambuja, P. (2011). Insect natural products and processes: new treatments for human disease. **Insect biochemistry and molecular biology**, 41(10), 747-769.

12. I. Dubovskiy, N. Kryukova, V. Glupov, and N. Ratcliffe, "Encapsulation and nodulation in insects," **Invertebrate Survival Journal**, vol. 13, pp. 229-246, 2016.

13. Pemberton, R.W.(1999). Insects and other arthropods used as drugs in Korean Traditional medicine. **Journal of ethnopharmacology**, 65(3), 207-216.

14. Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). The ants. Harvard University press, Cambridge, MA, 732 pp.

15. Jin, G., & Weinberg, A. (2019, April). Human antimicrobial peptides and cancer. In **Seminars in cell & developmental biology** (Vol. 88, pp. 156-162). Academic Press.

16. Dang X-L, Tian J-H, Yi H-Y et al. (2006) Inducing and isolation of antimicrobial peptides from oriental fruit fly, Bactrocera dorsalis Hendel. **Insect Science** 13: 257–262.

17. Yi HY, Chowdhury M, Huang YD, Yu XQ. 2014. Insect antimicrobial peptides and their applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 98(13): 5807–5822.

18. Srivastava, R., Mukerjee, A., & Verma, A. (2015). GC-MS analysis of Phytocomponents in, pet ether fraction of wrightia tinctoria seed. **Pharmacognosy Journal**, 7(4).

19. Tonk, M., & Vilcinskas, A. (2017). The medical potential of antimicrobial peptides from insects. **Current topics in medicinal chemistry**, 17(5), 554-575.

20. Ongey, E. L., Pflugmacher, S., & Neubauer, P. (2018). Bioinspired designs, molecular premise and tools for evaluating the ecological importance of antimicrobial peptides. **Pharmaceuticals**, 11(3), 68.

21. Kalsy, M., Tonk, M., Hardt, M., Dobrindt, U., Zdybicka-Barabas, A., Cytrynska, M., ... & Mukherjee, K. (2020). The insect antimicrobial peptide cecropin A disrupts uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. **NPJ biofilms and microbiomes**, 6(1), 6.

22. Wang, S., Liu, X., Xia, Z., Xie, G., Tang, B., & Wang, S. (2019). Transcriptome analysis of the molecular mechanism underlying immunity-and reproduction trade-off in Locusta migratoria infected by Micrococcus luteus. **Plos one**,14 (8), e0211605.

23. Yakovlev, A. Y., Nesin, A. P., Simonenko, N. P., Gordya, N. A., Tulin, D. V., Kruglikova, A. A., & Chernysh, S. I. (2017). Fat body and hemocyte contribution to the antimicrobial peptide synthesis in *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera: Calliphoridae) larvae. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, 53, 33-42.

24. Hollmann, A., Martinez, M., Maturana, P., Semorile, L. C., & Maffia, P. C. (2018). Antimicrobial peptides: interaction with model and biological Membranes and synergism with chemical antibiotics. **Frontiers in chemistry**, 6, 204.

25. Lamberty, M., Zachary, D., Lanot, R., Bordereau, C., Robert, A., Hoffmann, J. A., & Bulet, P. (2001). Insect immunity: constitutive expression of a cysteine-rich antifungal and a linear antibacterial peptide in a termite insect. **Journal of Biological Chemistry**, 276(6), 4085-4092.

26. Perez, C.; Poaul,M. and Bazerque,P. (1990). An antibiotic assay by the agar well diffusion method. Acta **Biol**. **Med**. Exp.,15:113-115.

27. L. Hou, Y. Shi, P. Zhai, and G. Le, "Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (Musca domestica)," Journal of Ethnopharmacology, vol. 111, pp. 227-231, 2007.

28. Duncan, D.B. (1955). Multiple range and multiple F test. Biometric, 11(1):1 -42.

29. Wypych G. (2001). Handbook of Solvents. **Chem Tec** Puplishing, Torento, 1694pp.

30. Panawala, L. (2017). Difference between gram positive and gram negative bacteria. Epedıa, 3, 1-13

31. Ma, G., Wu, L., Shao, F., Zhang, C., & Wan, H. (2019, April). Antimicrobial Activity of 11 Insects Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains Of Bacteria and Fungus. **In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science** (Vol. 252, No. 2, p. 022132). IOP Publishing

32. Abubakar, E., Misau, S.; Modibbo, S. and Lamaran Bala, G. (2017). Percentage yield and acute toxicity of the plant extracts of **Ceiba pentandra** grown in Bauchi State, North Eastern Nigeria. **Journal of Pharmacogn Phytochemical**, 6(5), 1777-1779

33. Amer, M. S., Hammad, K. M., Shehata, A. Z., Hasballah, A. I., & Zidan, M. M. (2019). Antimicrobial and antiviral activity of *Lucilia sericata*, *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) whole body extract. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology**, 12(2), 19-33.

34. Gołębiowski, M., Dawgul, M., Kamysz, W., Boguś, M. I., Wieloch, W., Włóka, E.,... & Stepnowski, P. (2012). Antimicrobial activity of alcohols from *Musca domestica*. **Journal of Experimental Biology**, 215(19), 3419-3428.