جامعة بنغازي

كلية العلوم **قسم علم النبات**

التأثير الحـــراري و اللاحـــراري لأشعـــة فـــرن المايكروويف كمؤثر قـــاتل بكتيري عـــلى بكتيريا القـــولون(البكتيريا الغائـــطية) *Esherichia coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *Staphylococcus aureus* .

مقدمة من :

وفاء أحمد محمود حمد

إشراف :

د. محمد فرج الحاسي

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات درجة الإجازة العليا (الماجستير) بقسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة بنغازي ، ليبيا

خريف 2010 / 2011

بسم الله الرحمن الرحيم

{ وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ }

صدق اللّٰه العظيم

سورة يوسف

الآية(76)

الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع إلى أرواح شهداء ثورة 17 فبراير وإلى كل من ساهم في تحرير ليبيا...

الشكر والتقدير

الشكر لله أولاً وأخيراً الذي منحني الإرادة و العزيمة لإنجاز هذا البحث ...

ومن ثم أتقدم بالشكر والتقدير إلى الدكتور الفاضل : محمد فرج الحاسي الذي لم يبخل بالتوجيه و النصح لإتمام هذا البحث ...

وكذلك أتقدم بالشكر و الامتنان إلى الدكتور المتواضع : عبد الله فضل رئيس قسم علم الحيوان ...

كما أتقدم بخالص الشكر و التقدير إلى أعضاء هيئة التدريس بقسم علم النبات وأخص بالذكر الدكتورة : فوزية القرابولي ...

و الشكر و التقدير للعاملين بقسم النبات في جامعة المرج و على رأسهم الأستاذ : خالد البيدوني ...

وأخيراً أشكر جميع صديقاتي الوفيات و أخص بالذكر كلٍ من بسمة التاجوري و منى الشريف ولكل من ساهم ولو بالكلمة الطيبة ...

المحتويات

Contents

الموضوع **الصفحة**

الملخص..... **ك**

1. الفصل الأول

المقدمة..... **1**

1.1 تاريخ فرن المايكروويف..... **1**

2.1 أشعة المايكروويف..... **2**

3.1 كيفية عمل فرن المايكروويف..... **3**

4.1 العوامل المؤثرة في قوة عمل فرن المايكروويف على الكائنات الدقيقة..... **5**

2. الفصل الثاني

الدراسات السابقة..... **6**

1.2 تأثير أشعة المايكروويف على غذاء و صحة الإنسان..... **6**

2.2 الكائنات المجهرية المستخدمة..... **8**

1.2.2 بكتيريا القولون (البكتيريا الغائطية)..... **8**

2.2.2 البكتيريا العنقودية البرتقالية..... **9**

3.2 المقارنة بين بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية من حيث تركيب الجدار الخلوي..... **10**

4.2 تأثير أشعة المايكروويف على كائنات مختلفة..... **11**

5.2 المضادات الحيوية..... **17**

6.2 تأثير المضادات الحيوية على أنواع بكتيرية مختلفة معرضة للمجال الكهرومغناطيسي..... **19**

7.2 سلفات دودي سايل الصوديوم..... **21**

8.2 تأثير ملح **SDS** على أنواع بكتيرية مختلفة معرضة لأشعة المايكروويف..... **22**

1.3 الهدف من الدراسة..... **23**

3. الفصل الثالث

المواد و طرق العمل..... **25**

1.4 المواد..... **25**

1.1.4 الأجهزة و المزودين..... **25**

2.1.4 الأوساط الغذائية و المواد الكيميائية..... **26**

2.4 الطرق العامة..... **26**

1.2.4 تعقيم منطقة التطبيقات العملية..... **26**

2.2.4 التحضين..... **27**

3.2.4 حفظ المزرعة البكتيرية..... **27**

4.2.4 تعريف البكتيريا..... **27**

3.4 تجارب الدراسة..... **28**

1.3.4 تنمية الخلايا البكتيرية..... **28**

2.3.4 طريقة قياس عدد الخلايا البكتيرية بعد التعرض لأشعة المايكروويف..... **28**

3.3.4 قابلية الخلايا البكتيرية المعرضة لأشعة المايكروويف للمضادات الحيوية..... **30**

4.3.4 حساسية الخلايا البكتيرية المعرضة لأشعة المايكروويف لملح SDS..... **30**

5.3.4 التعقيم بواسطة فرن المايكروويف..... **31**

4. الفصل الرابع

النتائج..... **32**

1.5 تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون (البكتيريا الغائطية) و البكتيريا العنقودية البرتقالية..... **32**

2.5 التأثيراللاحراري لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لكل من بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية..... **38**

3.5 تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون المعرضة لأشعة المايكروويف..... **42**

4.5 تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة لأشعة المايكروويف..... **49**

5.5 تأثير ملح SDS على بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة لأشعة المايكروويف..... **56**

6.5 التأثير التعقيمي لأشعة فرن المايكروويف على بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية..... **59**

5. الفصل الخامس

المناقشة..... **60**

6. الفصل السادس

الاستنتاج..... **70**

المراجع **72**

الملخص الأجنبي..... **79**

قائمة الجداول

List of tables

الجدول **الصفحة**

1. أنواع المضادات الحيوية حسب تأثيرها على البكتيريا..... **18**

2. تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة..... **34**

3. تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة..... **36**

4. التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة عند درجة حرارة أقل من 40مْ..... **40**

5. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90..... **44**

6. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لأشعة المايكروويف عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة..... **46**

7. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90..... **48**

8. تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90..... **51**

9. تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S. aureus* المعرضة لأشعة المايكروويف عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة..... **53**

10.تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90..... **55**

قائمة الأشكال

List of figures

الشكل **الصفحة**

1. التغير في درجة حرارة المعلق البكتيري مرتبطة بزمن التعرض لأشعة المايكروويف..... **33**

2. تأثير أشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة..... **35**

3. تأثير أشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة..... **37**

4. درجة حرارة المعلق البكتيري(*E.coli* أو *S.aureus*)أقل من 40مْ مرتبطة بزمن التعرض لأشعة المايكروويف..... **39**

5. التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة عند درجة حرارة أقل من 40مْ..... **41**

6. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

   أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

   ب. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

   ج. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

   د. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق **43**

7. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

   أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 90 .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 360 .

د. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 600..... **45**

8. تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

أ. غير معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق..... **47**

9. تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق..... **50**

10. تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 90 .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 360 .

د. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 600..... **52**

11. تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق..... **54**

12. تأثير ملح SDS على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة والغير معرضة لأشعة المايكروويف..... **57**

13. تأثير ملح SDS على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة والغير معرضة لأشعة المايكروويف..... **58**

الملخص

Summary

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير أشعة المايكروويف Microwave radiation على بكتيريا القولون*Escherichia coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *Staphylococcus aureus* وتم اختيار هذه السلالات البكتيرية لأنها تلوث الأغذية وتكون ممرضة للإنسان . أوضحت هذه الدراسة أن هناك تأثيراً حرارياً وتأثيراً آخراً لاحرارياً لأشعة المايكروويف و كل منهما يسبب تأثير قاتل على الخلايا البكتيرية . حيث تبين أن البكتيريا العنقودية البرتقالية الموجبة لصبغة جرام تكون أكثر حساسية لأشعة المايكروويف مقارنة بكتيريا القولون السالبة لصبغة جرام ويعود السبب في ذلك إلي الاختلاف في تركيب الجدار. وتتم عملية التعقيم بالكامل عن طريق التعرض لهذه الأشعة لفترات زمنية طويلة وعند قوى تأثيرية عالية . أيضا أوضحت هذه التجارب أن الخلايا المعرضة لأشعة المايكروويف تكون معطلة Inactivated وحساسة للتحلل بسهولة بواسطة ملح الصوديوم Sodium dodecyl sulphate خاصة بكتيريا القولون ، أما البكتيريا العنقودية البرتقالية فتكون مقاومة لملح SDS وذلك لصلابة وسماكة جدُرها . كذلك بينت هذه الدراسة بأن الخلايا البكتيرية المعرضة لهذه الأشعة خاصة عند فترات زمنية طويلة وقوى عالية تكون أكثر حساسية للمضادات الحيوية مقارنة بالخلايا الغير معرضة وهذا يكون دليل على أن أشعة المايكروويف تسبب تغيير في آلية عمل المضادات الحيوية Mechanism of antibiotics action .

الفصل الأول

المقدمـــة

Introduction

تعتبر أفران المايكروويف Microwave ovens من الأجهزة المنزلية الشائع استعمالها في الوقت الحالي في المدن المتطورة ، وهذه التقنية تكون غير مكلفة وتستخدم لطهي أو لتسخين الغذاء في المنازل وأماكن العمل وفي بعض المطاعم . وأفران المايكروويف كغيرها من الأجهزة التجـــارية العـــديدة التي تستخدم حزم من أشعـــة المـــايكروويف Microwave bands في عملها مثل أجهزة التلفـــاز وتقنية الرادار وبعض أجهزة الاتصال . أيضا أصبحت أشعـــة المـــايكروويف تستخدم الآن أكـــثر مـــن قبل في تجـــهيز الغـــذاء الغـــير المـــطهي وذلك لأنها تختزل الممرضـــات المـــيكروبية القـــوية Potential microbial pathogens المتواجدة في الـــغذاء Jamshidi *et al.*,2009 ؛ Vela & Wu ,1979) . وفي ديسمبر سنة 1995 وجد أن حوالي 77.2% مـــن الأستراليين يستخدمون فـــرن المـــايكروويـــف فـــي منـــازلهم لـــطهي الـــغذاء Aitken & Ironmonger (,1996) .

1.1 تاريخ فرن المايكروويف History of microwave oven

قام العالم الأمريكي الدكتور بيرس اسبنسر Percy Spencer أثناء الحرب العالمية باكتشاف أشعة المايكروويف Microwave radiation عن طريق الصدفة وذلك أثناء عمله على الرادار حيث لاحظ أن قطعة الشوكولاته التي كان يحملها في جيب سترته قد انصهرت رغم إنه لم يشعر بأي حرارة على جسمه أو سترته . وفي سنة 1945 كان اسبنسر أول من قام بمعاملة بعض أنواع الأغذية بواسطة أشعة المايكروويف ، وكان هذا الاكتشاف بداية لاكتشاف فرن المايكروويف . وفي سنة

1947 نزل إلي الأسواق أول فرن ميكروويف استخدم في المنازل عن طريق شركة ريتيون (Aitken & Ironmonger ,1996) .

2.1 أشعة المايكروويف Microwave radiation

تشكل أشعة المايكروويف جزء من الطيف الكهرومغناطيسي Electromagnetic spectrum كالتلفاز Television، موجات الراديو Radiowave ، الأشعة تحت الحمراء Infrared radiation، الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation والضوء المرئي Visible light (Hill, 1998)، ويمكن أن تعرف أشعة المايكروويف بأنها عبارة عن موجات كهرومغناطيسية لاأيونية بتردد يتراوح ما بين 300 MHZ و 300 GHZ ، وهي في الغالب ما تعرف بموجات المليمتر، نظراً لأن طولها الموجي في الفراغ يتراوح مابين 1-10 ملم. (Sun et al, 2000; Belyaev et al , 2005)

تتواجد الطاقة الكهرومغناطيسية Electromagnetic energy على هيئة شكلين مميزين هما :

1. شكل يعتمد على الخواص الكهربائية للجزيئات ثنائية الاستقطاب للمواد المعرضة للإشعاع ويسمي بالتأثير الحراري Thermal effect .

2. شكل لا يعتمد على الجزيئات ثنائية الاستقطاب وذلك لأنه ناتج عن تأثير مباشر للتردد الأشعة Radiofrequency يسمي بالتأثير اللاحراري Nonthermal effect Jeng *et al.*, (1987).

إن العديد من الدراسات الميكروبيولوجية Microbiological studies التي أجريت على أشعة المايكروويف أشارت إلى أن هناك استنتاجات متضاربة ، حيث إن بعضها أشارت إلى أن موت الخلايا البكتيرية ناتج من تأثير الحرارة وحدها المنتجة بواسطة أشعة المايكروويف والبعض الآخر استنتج إن موت الخلايا ناتج عن تأثير الحرارة والمجال الكهربائي Electric field

معاً ، ووجد أن التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف له تأثيرات بيولوجية Biological effects مختلفة وذلك نتيجة لتغيير أو تبديل معدل أو اتجاه التفاعلات الكيميائية الحيوية (Banik *et al.*, 2003) .

جميع الأنظمة الحيوية تكون ذات طبيعة كهروكيميائية Electrochemical nature لذلك ليس من المفاجئ إن المجالات الكهرومغناطيسية تؤثر على فسيولوجية الكائنات الدقيقة Physiological of microorganisms . إن العينة السائلة التي تحتوي على الكائنات الدقيقة والموضوعة في مجال كهرومغناطيسي ترتفع درجة حرارتها نتيجة لتحول الطاقة الكهربائية إلى طاقة حرارية ، وهذه الحرارة تخفي التأثير اللاحراري ، ولمعرفة التأثير اللاحراري للأشعة المايكروويف على فسيولوجية الميكروبات فيجب أن تكون العينات الميكروبية المعرضة للأشعة المايكروويف في حالة جافة (Jeng *et al*., 1987) .

3.1 كيفية عمل فرن المايكروويف How microwave oven work

يتم تخليق أشعة المايكروويف بواسطة الماجنترون Magnetron وهو عبارة عن أنبوب فارغ يتم فيه تحويل الطاقة الكهربائية إلي مجال كهرومغناطيسي ، وهذه الأشعة تكون موصلة إلي تجويف الفرن Oven cavity حيث تكون مرتدة علي الجدران المعدنية و أخيرا إلي الغذاء Aitken (& Ironmonger , 1996) ، وعندما تمتص المادة الغذائية أشعة المايكروويف تتولد الحرارة داخل الغذاء (Sun *et al.* , 2005) ، وذلك لأن الطاقة الكهرومغناطيسية داخل فرن المايكروويف عند تردد 2450MHZ تسبب في حدوث دوران واحتكاك جزيئات الماء الموجودة في داخل الغذاء مع بعضها مما يؤدي إلى إنتاج حرارة وبالتالي فإن درجة الحرارة الداخلية للغذاء تزداد بسرعة متناهية (Huang & Sites , 2007) . أما بالنسبة للغذاء الذي لا يحتوي على الماء فيتم تسخينه بواسطة

المادة الأيونية ، حيث تتسارع الأيونات بواسطة أشعة المايكروويف وتتصادم مع الجزيئات الأخرى وتسبب تسخين الغذاء (Hill , 1998) .

إن الطـــهي بواسطة فـــرن المايكـــروويف يعطي غـــذاء ذو نـــوعية أفضل و محصلة أعـــــلى و يأخذ زمن أقصر في التحضير من الغـــذاء المجهز بواسطـــة الطـــرق الاعتياديـــة (Luo *et al* . , 2006) .

ومـــن مميزات فرن المايكروويف الاقتصاد في الطاقة ، حيث يقوم بتوجيه جميع الطاقـــة المفيـــدة لطهي الغذاء والقليل من هذه الطاقة يفقد أثناء تسخين الإناء الذي يحتوي على الغذاء ، وهذه الميـــزة لا توجد في أفران الطهي الاعتيادية حيث تقوم هذه الأفران بتسخين الهواء المحيط بالغذاء وبالتـــالي تسبب فقـــد كبير فـــي الطـــاقة المستخـــدمة نتيجـــــة لتـــسخين الهـــواء الخـــارجي (Aitken & Ironmonger , 1996) .

إن استخـــدام فـــرن المـــايكروويف يزيد معـــدل قتـــل الكائنات الدقيقة أكثـــر من طرق الطـــــهي الاعتيـــادية وخاصـــة عندما يكون الغـــذاء محتوياً علـــى نـــسبـــة عاليـــــة مـــن المـــــاء) . (Almajhdi *et al* . , 2009

4.1 العوامل المؤثرة في قوة عمل فرن المايكروويف على الكائنات الدقيقة

Factors that effect on action of microwave radiation on treated microorganisms

إن تأثير فرن المايكروويف على حيوية الكائنات الدقيقة المتواجدة في العينة تعتمد على عوامل عديدة وهي :-

1. السلالة الميكروبية المعرضة للأشعة المايكروويف .

The Strain of microorganisms exposed to microwave radiation .

2. الظروف التي تنمو فيها هذه السلالة .

Growth conditions .

3. كثافة قوة الأشعة .

Power density of microwave radiation .

4. زمن التعرض لهذه الأشعة .

Time of exposure to microwave .

5. حجم العينة المعاملة بواسطة هذه الأشعة .

The sample volume exposed to microwave .

6. كمية الماء المتواجدة في العينة .

The water amount of sample . (Gorny *et al* . , 2007 ; Ferriss , 1984) .

الفصل الثاني

الدراسات السابقة

Literature review

1.2 تـــأثيرأشعـــة المـــايكروويـــف علـــى غـــذاء وصحة الإنسان

Effect of microwave radiation on human food and health

تـــعتبر أشعـــة المـــايكروويف مـــن الـــطرق الفـــعالة لتـــسخـــين وتـــــجفيف وتعقـــيم معظـــم المنتجات الغذائية (Aitken & Ironmonger , 1996) . حيث بينت دراســـة أجريـــت علـــى مـــزيج الحليب بالصويا و الذرة Corn-soy milk بأن طبيعة هذا المزيج لا تتغير عنـــد المعاملـــة بواســـطة أشعـــة المـــايكروويف ، وإن الفيتامينات A و B1 في هذا المزيج لا يحـــدث بهـــا أي تغييـــر فـــي مكوناتها الكيميائية . أيضـــا وجـــد أن حـــرارة المـــايكروويف تـــــقوم بتـــدمير ســـــلالات مـــن السالـــمونيلا المـــقاومة مـــــثل *Salmonella senftenberg* المتواجـــــدة فـــــي هـــذا المـــــزيج (Bookwalter *et al.* ,1982) .

تعتبر أشعـــة المـــايكروويف طريقة آمنة وسهلة وسريعة للحـــصول علـــى أغذيـــة غيـــر ملوثـــة ميكـــروبياً ، حيث وجد أن فـــرن المـــايكروويف يخـــتزل الممـــرضات الميكـــروبية فـــي الغـــذاء مثـــل أجزاء لـــحم الـــدجاج (Jamshidi *et al.* , 2009) ، وأيضا اثبت أن مـــعالجة الحليب بهـــذه الأشعـــة مهمـــة في عمـــلية التـــعقيم و البـــسترة نظـــراً لدورها الفعال في التأثير على الكائـــنات الـــدقيقة المتواجدة بصورة طبيعية في الحليب Milk Microflora (Codre *et al.* , 2010) .

بالإضافة إلى وجود دراسات اثبتت إن :

1. طهي الغذاء عند درجات حرارة عالية يخلق أنواع عديدة من المواد السامة تسمي سموم الطهي Cooking toxicants مثل الهيدروكربونات العطرية عديدة الحلقات المسرطنة Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons وهي عوامل مسرطنة و مطفرة للإنسان والحيوان . وعند استخدام طرق مختلفة لطهي لحم الدجاج أتضح أن هذه المواد السامة تتواجد بتراكيز عالية جدا في لحم الدجاج المشوي على لهب مباشر وكذلك في لحم الدجاج المقلي بينما تكون تراكيز هذه المواد قليلة جدا في لحم الدجاج المطهي بواسطة فرن المايكروويف مقارنة بطرق الطهي السابقة (El-badry , 2010) .

2. عند قلي شرائح السمك تتخلق كميات كبيرة جدا من الأحماض الأمينية العطرية الغير متماثلة الحلقات Heterocyclic aromatic amines وهي مواد مسرطنة تتكون عند طهي الأغذية البروتينية ولكن عند طهي هذه الشرائح بواسطة فرن المايكروويف لوحظ أنها خالية تماما من هذه المواد المسرطنة (Oz *et al* . , 2010) .

هناك أنواع جديدة من الأغذية تسمى بأغذية المايكروويف Microwavable foods تشمل وجبات خفيفة مثل صحون السمك و الدجاج الطازج و صحون جانبية مثل شطائر الجبن المشوي و المقليات الفرنسية و البسكويت و البيتزا . أيضا ظهر في الأسواق عدد كبير من أغذية المايكروويف المعلبة مثل أنواع من الأرز الذي يحتاج لمدة 3 دقائق فقط لينضج في فرن المايكروويف بينما عند استخدام جهاز الطهي العادي فإنه يحتاج إلى ساعة لكي ينضج ، وأغذية المايكروويف تكون ليست فقط سريعة التحضير بل أيضا تعطي بنفس طعم و تركيب و نكهة ألأغذية المحضرة بطرق الحرارة الاعتيادية . إن طهي ولون وطعم الغذاء المحضر بواسطة المايكروويف يعتمد على الخواص الفيزيائية للغذاء مثل الماء و الدهون والملح والبروتينات (Bertrand , 2005) .

أما بالنسبة لتأثير أشعة المايكروويف على جسم الإنسان فيكون حسب تردد هذه

الأشعة حيث يبدأ جسم الإنسان بامتصاص هذه الأشعة عند تردد يتجاوز 15MHZ . أيضا استخدمت هذه الأشعة في العلاج ، وذلك بتحفيز الأنسجة المصابة Infected tissues لإصلاحها و إعادة تخليقها مما يساعد في شفاء عددٍ كبيرٍ من الأمراض (Banik *et al* . , 2003) .

إن أفران المايكروويف تكون مصممة بحيث تحجز طاقة المايكروويف داخل تجويف الفرن ولا يسمح لها بالتسرب خارج الفرن عن طريق وجود الباب الذي يغلق التجويف بإحكام بواسطة الغلق الميكانيكي Mechanical lock . وهذه الميزة تكون مهمة أثناء تصميم فرن المايكروويف وذلك لأن طاقة المايكروويف يمكن أن يمتصها جسم الإنسان وتتحول إلى حرارة تسبب تدمير في أنسجة الجسم الحساسة (Hill , 1998) .

2.2 الكائنات المجهرية المستخدمة The used microorganisms

1.2.2 بكتيريا القولون(البكتيريا الغائطية) *Escherichia coli*

هذه السلالات تتبع جنس البكتيريا المعوية Enterobacteria ، وهي سلالات عصوية الشكل متحركة و سالبة لصبغة جرام وتنمو هوائي Aerobic و لاهوائي اختياري Facultative anaerobic . عند تنمية هذه السلالات على الأجار الدموي Blood agar تعطي مستعمرات ذات قطر يتراوح ما بين 1 - 4 ملم ، هذه السلالات موجبة لاختبار Indole و تقوم باختزال النترات إلى نتريتات (Cheesbrough , 1984) .

توجد هذه السلالات بصورة طبيعية في جسم الإنسان مثل القناة الهضمية وتوجد في الماء والتربة والخضراوات ، وتكون مهمة من الناحية الطبية لأنها تسبب العديد من الأمراض مثل التهاب المثانة Cystitis و التهاب حوض الكلية Pyelitis وتسبب أمراض إسهالية Diarrhoeal disease خاصة في الأطفال (Cheesbrough , 1984) .

تنتج بكتيريا القولون العديد من السموم مثل Heat stable toxin و Heat labile toxin وهذه السموم تسبب التهاب الأمعاء ، الـــذي ينتج عنه إسهال مائي حاد يؤدي إلـــى جفاف مميت في الأطفال . هـــذه البكتيريا تكون حساسة للعديد من المضادات الحيوية مثل التيتراسيكلين Tetracycline و الإموكسيلـــين Amoxycillin و الأمينوجلايكوســـيدات Aminoglycosides و الإمبيسيلـــين Ampicillin و غيرها من المضادات الحيوية الأخرى (Cheesbrough , 1984) .

2.2.2 البكتيريا العنقودية البرتقالية *Staphylococcus aureus*

هذه السلالات تتبع جنس مكورة البكتيريا العنقودية Staphylococci ، وهي سلالات كروية الشكل غير متحركة و موجبة لصبغة جرام وغير محاطة بكبسولة ، تنمو هوائيا و في وجود ثاني أكسيد الكربون ، ومعظم سلالاتها تنمو هوائي Aerobic و لاهوائي Anaerobic . وعنـــد تنميـــة هذه الســـلالات البكتيرية على الأجار الدمـــوي Blood agar و الأجار الشوكولاتـــي Chocolate agar فإنها تعطي مستعمرات ذات قطر يتراوح ما بين 1 – 2 ملم ذات لـــون أصفـــر مـــائل للكريم Cream . هذه السلالات تكون موجبة للاختبارات الآتية : Coagulase و DNAase و Catalase (Cheesbrough , 1984) .

توجد هذه السلالات بصورة طبيعية في جسم الإنسان حيث توجد على الجلد وفي القناة التنفسية العليا و القناة الهضمية ، وتكـــون مهمة من الناحيـــة الطبية وذلك لأنها تسبب العـــديد من الأمـــراض مثـــل التهاب الملتحمة Conjunctivitis وتعفن الدم Septicemia و تسمم الغذائي Food-poising وغيرها من الأمراض الأخرى (Cheesbrough , 1984) .

تنتج البكتيريا العنقودية البرتقالية العديد من السموم Toxins والإنزيمات Enzymes ، حيث إن التسمم الغذائي ينتج من وجود سم Enterotoxxin B الذي تنتجه هذه البكتيريا في الغذاء مثل اللحم المطبوخ والحليب ومنتجاته مثل الكريم المثلج . إن هذه البكتيريا تكون حساســـة Sensitive للعـــديد

من المضـــادات الحيوية مثـــل الإيرثرومايسين Erythromycin و البنيسيلين Penicillins و الفانكومايســـين Vancomycin و الينكومايســـين Lincomycin وغيرها من المضادات الأخرى (Cheesbrough , 1984) .

3.2 المقارنة بين بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية البرتقالية من حيث تركيب الجدار الخلوي

Comparison between *E.coli* and *S.aureus* cell wall stratcure .إن

الجدار الخلوي للبكتريا السالبة لصبغة جرام يتكون من :

1. غـــشاء سيتوبلازمـــي Cytoplasmic membrane : يتكـــون مـــن طبقتي فـــوسفوليبـــد Phospholipid وبروتينات التي تعمل كحاجز ضبط Control barrier بين السيتوبلازم والبيئة المحيطة بالبكتيريا .

2. طبقة ببتيدوجليكانPeptidoglycan layer : هذه الطبقة تكون عبارة عن طبقة رقيقة حوالي 8 نانومتر ومرصعة بالبروتينات الناقلة وتشكل شبكة مستمرة من عديدة التسكر Polysaccharide و الببتيدات المرتبطة تساهميا وتقع هذه الطبقة في المنطقة مابين الغشائين حيث تسمى الحيز البيريبلازمي Periplasmic space (الحيز الواقع بين الغشاء الستوبلازمي و الغشاء الخارجي)

3. الغشـــاء الخـــارجي Outer membrane : يتكـــون من فـــوسفوليبـــدات وعديدات التسكر الدهنية المتشابكة مع بروتينات الغشاء ، حيث يتفاعل هذا الغشاء مع الحيز الخارجي والمنطقة الموجود بين الغشاء الخارجي و الداخلي (Suo *et al* . , 2009).

أما جدار البكتريا الموجبة لصبغة جرام تتكون من :

1. الغشاء الستوبلازمي Cytoplasmic membrane : يتكون من طبقة فردية من الفوسفولبد .

2. طبقة ببتيدوجليكان Peptidiglycan layer : وهذه الطبقة تكون سميكة حوالي (20– 80) نانومتر وهي تعطي الخلية الصلابة وتحفظ شكلها ، و يوجد حمض التيكويك Teicloic acid يرتبط تساهميا بهذه الطبقة (Lienkamp *et al.* , 2009) .

4.2 تأثير أشعة المايكروويف على كائنات مختلفة

Effect of microwave radiation on different organisms

أجريت دراسة على أشعة المايكروويف حيث أوضحت أن هذه الأشعة تعتبر تقنية حديثة و متطورة وتستخدم كإحدى الطرق الحديثة في تحسين عملية إزالة التلوث Decontamination ، حيث وجد أن معظم الكائنات الدقيقة مثل البكتيريا Bacteria و البكتيروفاج Bacteriophage والخمائر Yeasts التي تلوث المياه تكون حساسة جدا لأشعة المايكروويف . أيضا أوضحت هذه الدراسة أن طرق الحرارة الاعتيادية تحتاج إلى وقت أطول بالمقارنة بحرارة أشعة المايكروويف ويرجع السبب في ذلك إلى أن هذه الأشعة تولد حرارة داخلية بالعينة مما يؤدي إلى إعطاء نتائج أفضل , . Almajhdi *et al* .(2009).

أثبتت دراسة أخرى بأن أشعة المايكروويف تؤثر على الحشرات ذات الأهمية من الناحية الطبية مثل *Chrysomya megacephala* وهذه الذبابة تعمل كناقل ميكانيكي ووبائي لعددٍ كبيرٍ من الكائنات الدقيقة إلى غذاء الإنسان ، حيث وجد أن معاملة يرقات هذه الحشرات بأشعة المايكروويف عند تردد 2.450MHZ و لمدة 7 ثواني يـــــؤدي إلى موت حوالي 40% من هذه اليرقات وعند تعرضها للأشعة لمدة 15 ثانية ، فإن معظم اليرقات تموت و لكن عند معاملتها لمدة 30 إلى 60 ثانية فإن كل اليرقات تموت ، وهذا يشير إلى أنه كلما زاد زمن تعرض اليرقات لهذه الأشعة يقل عددها . (Sripakdee *et al* . ,2005)

إن البكتيروفاج Bacteriophage والفطـــريات Fungi و الأكتيـــنوميسيتات Actinomycetes وأنواع عديدة من البكتيريا عندما تكون معرضة لأشعة المايكروويف في وجود محتوى مائي تختزل بينما عند تعرض هذه الكائنات للأشعة وهي جافة لا تتأثر (Vela & Wu , 1979) .

استخدم فرن المـــايكروويف في تعقيم الشاش المـــلوث بالبكتيريا العنقـــودية البرتقالية *S. aureus* والزائفـــة الزنجاريـــة *Pseudomonas aeruginosa* وخميرة الرشاشية البيضاء *Candida albicans* فوجد أنه عندما يكون الشاش مبلل ، فإن فـــرن المـــايكروويف يقتل جميع الكائنات الدقيقة المتواجدة على الشاش في دقيقة واحدة ، وعندما يكون جاف فلا يحدث تعقيم حتى بعد التعرض لفرن المايكروويف لمدة 5 دقائق حيث يكون معدل الحياة لبكتيريا *S. aureus* حوالي 17% Tanaka (*et al* . , 1998) .

أوضح Gedikil و آخرون 2008 بأن تأثير أشعة المايكروويف على كلٍ من بكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S. aureus* وعصية سريس *Bacillus cereus* يختلف عند استعمال كميات متباينة من البكتيريا وتعريضها للأشعة لمدة زمنية مختلفة ولقوي مختلفة ، حيث أن عدد المستعمرات البكتيرية يختزل مع زيادة درجة الحرارة و تأثير الأشعة يقل مع زيادة كمية الخلايا البكتيرية وأن التأثير الأقوى لهذه الأشعة يتم الحصول عليه عندما تكون كثافة قوة الأشعة أعلى .

بينت دراسة أجـــريت على جـــراثيم الفطـــريات و الأكتيـــنوميسيتات المعرضـــة لأشعـــة المـــايكروويف في وقت قصير(5-10) دقائق بأن حيوية الجراثيم الفطرية تنخفض بينما يحدث العكس للجراثيم الأكتينوميسيتية أي تزيد حيويتها ، ولكن عند تعرض هذه الجراثيم لأشعة المايكروويف لزمن طويل تنخفض حيويتها ، وبالتالي فإن تأثير أشعـــة المـــايكروويف على حيوية الكائنات يعتمد على نوع السلالة وزمن التعرض و غيرها من العوامل الأخرى , Gorny *et al* . (2007) .

أوضحت دراسة بأن التربة المعالجة بأشعة المايكروويف يحدث لها اختزال في عدد الكائنات الدقيقة الممرضة للنبات و أن تأثير الأشعة على هذه الكائنات يعتمد على عدة عوامل مثل زمن المعالجة وكمية التربة المعالجة والمحتوى المائي للتربة (Ferriss , 1984) .

بين Jamshidi و آخرون 2009 بأن لحم الدجاج الملوث بواسطة بكتيريا السالمونيللا الفأرية *Salmonalla typhimurium* والمعرض لأشعة المايكروويف لمدة زمنية مختلفة باستخدام فرن الميكروويف المنزلي ترتفع درجة حرارته السطحية إلى 72مْ وبتالي تختزل السالمونيللا الموجودة على سطح الدجاجة .

أثبت كلٍ من Pucciarelli و Benassi 2005 بأن حرارة المايكروويف تكون ذات فعالية قاتلة عالية جدا على بكتيريا *Salmonella enteritidis* وهذا يعتمد على زمن التعرض ومستوى القوة وذلك لأن تدمير الخلايا يكون أكثر فعالية عند مستويات قوة عالية . كذلك بينت هذه الدراسة أن فرن المايكروويف يسخن الغذاء بطريقة متجانسة أكثر من الفرن العادي ، وذلك لأن أفران المايكروويف في البداية تسخن سطح الغذاء بواسطة الأشعة ومن ثم يحدث تسخن للغذاء من الخارج إلى الداخل عن طريق عملية توصيل الحرارة .

وتبين من الدراسة التي أجراها Lakins و آخرون 2008 إن أشعة المايكروويف تسبب تدمير حراري و لاحراري للكائنات الدقيقة الممرضة مثل بكتيريا *Salmonella enteritidis* المتواجدة على قشر البيض ولا تسبب هذه الأشعة أي تأثير على المحتويات الكيميائية للبيض الأبيض أو الأسمر وذلك عن طريق استخدام تقنية المايكروويف المباشرة الحديثة New microwave directional technology، وهذه التقنية تحتوي على مصادر عديدة لأشعة المايكروويف (ماجنترونات Magnetrons) على عكس أفران المايكروويف التي تحتوي على مصدر واحد لهذه الأشعة .

تشير دراسة أجريت على بكتيريا *S. auerus* إلى أن أشعة المايكروويف تؤثر على النشاط الإنزيمي لهذه البكتيريا ، حيث وجد أن إنزيم Thermonuclease يزداد عند تعرض الخلايا البكتيرية للأشعة لمدة 10 دقائق وهذا التأثير لا يسببه التأثير الحراري وحده ، والمستويات العالية من النشاط الإنزيمي يكون مرتبط بوجود عددٍ كبيرٍ من الخلايا أما قلة النشاط الإنزيمي أو عدم وجود هذا النشاط مرتبط بعدد قليل من الخلايا , Dreyfuss & Chipley (1980) .

استخدمت كلٍ من تقنية المايكروويف والتقنية العادية على جراثيم بكتيريا *Clostridium sporogenes* بدرجات حرارة متساوية فكان التأثير لهذه المعالجات الحرارية تقريبا متساوي والاختلاف البسيط الموجود بين معدلات تثبيط الجراثيم يكون دليل على وجود التأثير اللاحراري للمايكروويف (Welt *et al* . , 1994) .

وفي نفس السياق أوضح Fujikawa و آخرون 1992 بأنه عند معاملة بكتيريا *E. coli* بأشعة المايكروويف والطرق الحرارية العادية و المقارنة بين الطريقتين تبين أن هناك اختلاف بسيط في درجة تدمير الخلايا البكتيرية . حيث يكون معدل اختزال الخلايا البكتيرية أعلى عند استخدام أشعة المايكروويف مقارنة بالطرق الحرارية العادية وهذا الاختلاف يفسر حدوث التأثير اللاحراري عند استخدام المايكروويف .

وجد كلٍ من Erdogrul و Cakiroglu 2004 أن اللحم المفروم الملوث بواسطة بكتيريا *Yersinia enterocolitica* التي عادة ما تكون قابلة للتغير لكي تتكيف مع درجات الحرارة العالية ، فعند معالجة هذا اللحم في فرن المايكروويف لمدة 4 دقائق عند درجات الحرارة 67مْ و80مْ و97مْ يصبح خالي تماماً من هذه الكائنات الدقيقة الممرضة .

استخدمت أشعـــة المايكروويف لتعقيم الأوعية البلاستيكية المستخدمة في زراعة الأنسجة حيث تكون ملوثة بتسعة سلالات بكتيرية ، أربعة منها سالبة لصبغة جرام و خمسة موجبة لصبغة جرام ، وهذه الأشعة يكون مصدرها فرن المايكروويف المنزلي ذو تردد 2.45GHZ حيث تكون قادرة على إزالة التلوث في 3 دقائق من زمن التعرض . أيضا أشعة المايكروويف تعطل الفيروسات Virusesعند نفس الزمن الذي يتم فيه قتل السلالات البكتيرية وبالتالي فإن أفران المايكروويف فعالة وسريعة وغير مكلفة في تعقيم هذه الأوعية التي تكون عادةً معقمة بواسطة غاز الإيثلين Ethylene oxide وتحتاج هذه الأوعية لوقت طويل بعد التعقيم لكي تتخلص من الغاز وتستعمل لزراعة الأنسجة وإن التعقيم بهذه الطريقة يكون مكلف (Sanborn *et al* . , 1982) .

استخدم Huang و Sites 2007 نظام حرارة المايكروويف و الحمام المائي عند درجات حرارة متساوية في عملية بسترة Pasteurization لحم البقر المعلب من بكتيريا *Listeria monocytogenes* فوجدا بأن معدل اختزال هذه البكتيريا يكون أعلى عند استخدام أشعة المايكروويف بالمقارنة بالحمام المائي وذلك لأن لحم البقر المعلب يمتص طاقة المايكروويف و تتخلق حرارة داخلية تسبب في سخونة اللحم أسرع من الحمام المائي وبالتالي فإن أشعة المايكروويف تكون أكثر فاعلية في تدمير بكتيريا *L. Monocytogenes* .

لقـــد بـــين Latimer وMatsen 1977 بـــأن 10 كـــائـــنات دقيقـــة ممـــرضة يـــتم تعقيمـــها بالكامل بواسطـــة تعريضها لأشعة المايكروويف لمدة 60 ثانية وهذه الممرضات هي *Bacillus subtilis* و *Enterobacter cloacae* و *Klebsiella pneumonia* و *Serratia marcescens* و *E. coli* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Enterococcus* و *S. Aureus* و *S.epidermis* .

في دراسة على نوع من الأرز المخمر والمحلى الذي يطلق عليه (Khao-Mark) بواسطة Tochampa وآخرون 2011 حيث وجد أن تعريض هذا المنتج لأشعة المايكروويف بواسطة تسخينه

في فرن المايكروويف لمدة 49 إلى 56 ثانية يسبب تثبيط Inhibition للكائنات الدقيقة في المنتج حتى عند تخزينه لفترة طويلة .

أيضا هناك دراسة أجــريت لبسترة بيــض الدجــاج عن طريق أشعــة المــايكروويف وذلك لأن البيــض يحتوي على مكونات سائلة حساسة للدرجات الحرارة العالية مثل البروتين الذي يتجلط عند درجــة 54مْ وذلك يحدث عند استعمال الطــرق الحرارية العادية أما عند استعمال أشعة المايكروويف فإنها تقتل الكــائنات الــدقيقة المتواجدة على قشر البيــض مــثل *E. coli* و *P. aeruginosa* و *Staphylococcus xylosus* و *Serratia lipuefaciens* و *Staphylococcus gallinarm* و *Citrobacter freundii* و *Acinetobacter lwoffi* عند درجة 44مْ فقط Wesierska & Trziszka , (2007) .

5.2 المضادات الحيوية Antibiotics

يمكن تعــريف المضادات الحيوية تقليــديا بأنها مركبــات كيميــائية ايضيــة ثانويــة Secondary metabolites تنتجها الكائــنات الــدقيقة وهي ذات نشاط مضــاد للبكتيريا Antimicrobial activity ، "يجب ألا تسبب تأثيرات جانبية على خلايا الإنسان" .عند ظهور الأدوية المضادة للبكتيريا المحضرة صناعيا أطلق مصطلح العوامل المضادة للبكتيريا Antimicrobial agents على كل من المركبات الطبيعية و المصنعة و لكن الآن أصبح مصطلح المضادات الحيوية Antibiotics يشمل كل العوامل المضادة للبكتيريا (Andersson , 2005) .

إن آلية عمل المضادات الحيوية تكون إما عن طريق قتل البكتيريا ويعرف هذا التــأثير بالتأثير القاتل للبكــتيريا Bactericidal effect ، أو عن طريق تثبيط نمو البكــتيريا و في هذه الحالة يعرف هذا التأثير بالتأثير المثبط للبكتيريا Bacteriostatic effect . تــهاجم المضادات الــحيوية البكــتيريا عــند أهــداف مــعينة Specific targets وتسبب تأثيرات قاتلة مختلفة تشمل : تثبيط

تخليق جدار الخلية Inhibition of cell wall synthesis ، وتثبيط تضاعف Inhibition of DNA replication ، وتثبيط تخليق RNA Inhibition of RNA synthesis ، وتثبيط تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis (Andersson , 2005) .

هناك أنواع عديدة من المضادات الحيوية يمكن توضيحها في جدول 1 :

جدول1 : أنواع المضادات الحيوية حسب تأثيرها على البكتيريا(Kohanski *et al* . , 2010) .

نوع المضاد الحيوي	المضاد الحيوي	تأثير المضاد الحيوي	مدى التأثير
بيتا لاكتامات B actams	البنيسلين Pencillin	تثبيط تخليق جدار الخلية Inhibition of cell wall synthesis	البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة جرام الهوائية و اللاهوائية
الجليكوببتيدات Glycopeptides	الفانكومايسين Vancomycin	تثبيط تخليق جدار الخلية Inhibition of cell wall synthesis	البكتيريا الموجبة لصبغة جرام
الليبوببتيدات Lipopeptides	البوليمايكسين بي Polymixin B	تثبط تخليق جدار الخلية Inhibition of cell wall synthesis	البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة جرام
الأمينوجلايكوسيدات Aminoglycosides	الجينتاميسين Gentamicin	تثبيط تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis	البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام الهوائية
الماكروليدات Macrolides	الإيرثرومايسين Erythromycin	تثبيط تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis	البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة جرام الهوائية و اللاهوائية
الستربتوجرامات Streptogramis	البرستينمايسين Pristinamycin	تثبيط تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis	البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام الهوائية واللاهوائية
الفينيكولات Phenicols	الكلورامفينيكول Chloramphenicol	تثبيط تخليق البروتين . Inhibition of protein synthesis	البكتيريا السالبة وبعض البكتيريا الموجبة لصبغة جرام .
التيتراسيكلينات Tetracylines	التيتراسيكلين Tetracyclin	تثبيط تخليق البروتين . Inhibition of protein synthesis	البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام الهوائية .
الفلوروكوينولات Fluoroquinolones	اليفوفلوكايسين Levofloxacin	تثبيط تضاعف DNA . Inhibition of DNA replication	البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام الهوائية وبعض السالبة لصبغة جرام اللاهوائية
الترامثوبريم سلفاميثواكسزولات Trimethoprim-sulfamethoxazole	كو - تراموكسازول Co- trimoxazole	تثبط تضاعف DNA . Inhibition of DNA replication	البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام الهوائية .
الريفامايسينات Rifamycines	الريفامايسين Rifamycine	تثبيط تخليق RNA . Inhibition of RNA synthesis	البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة جرام .

6.2 تأثير المضادات الحيوية على أنواع بكتيرية مختلفة معرضة للمجال الكهرومغناطيسي

Effect of antibiotics on electromagnetic field - heated different bacterial strains

أجريت دراسة على عينات عديدة من بكتيريا *E.coli* من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية فوجد أن حوالي 91.6% من العينات البكتيرية تكون مقاومة لتيتراسيكلين Tetracycline و86.7% من هذه العينات تكون مقاومة للإمبيسيلين Ampicillin و77.8% تكون مقاومة لسلفاأميد Sulphnamide و 39.3% تكون مقاومة لجنتامايسين Gentamicin و4.1% تكون مقاومة لحمض النالديك Nalidixic acid ، وأيضا وجد أن أعلى من 64% من بكتيريا *E.coli* تكوّن ما يعرف بالمقاومة المتعددة للأدوية Multi – drug resistane . (Olowe *et al* . , 2008)

تم عزل 240 عينة من بكتيريا *S. aureus* من الجلد والجروح بواسطة Obiazi و آخرون 2007 و عند معاملتها بالمضادات الحيوية وجد أن حوالي 50.0% من العينات تكون حساسة لجينتاميسين Gentamicin و40.0% من العينات تكون حساسة للإيرثرومايسين Erythromycin و 30.0% منها تكون حساسة لستربتومايسين Streptomycin ، و جميع هذه العينات تكون مقاومة لكلوكسيلين Cloxacillin و البنيسيلين Pencillin و التيتراسيكلين Tetracycline و الإمبيسيلين Ampicillin .

وعند دراسة مقاومة بكتيريا *S. aureus* للمضادات الحيوية مثل البنيسيلين Pencillin و جينتاميسين Gentamicin و إيرثرومايسين Erythromycin تبين أن أعلى نسبة لمقاومة تتمثل في بكتيريا *S.aureus* لهذه المضادات كانت من خلال تأثير البنيسيلين حيث كانت حوالي 48.4% بينما كانت لجينتاميسين و إيرثرومايسين حوالي 2.1% ، ووجد أن معظم هذه العينات المقاومة للبنسلين تنتج إنزيم البيتا لاكتاميز B Lactamase (Russi *et al* . , 2008) .

بينت دراسة أجراها Gaafar وآخرون 2006 بأن عند تعريض *E.coli* لمجال مغناطيسي لمدة زمنية مختلفة يسبب تغيير في حساسية هذه البكتيريا للمضادات الحيوية ، حيث وجد أن تعريض هذه البكتيريا للمجال المغناطيسي لمدة 6 ساعات تصبح البكتيريا أكثر حساسية للمضادات الحيوية مثل الأموكسيلين Amoxicillin وحمض النالديك Nalidixic acid و الإيرثرومايسين Erythromycin وذلك بزيادة قطر منطقة التثبيط Inhibition zone ، بينما تصبح بكتيريا *E.coli* مقاومة لهذه المضادات عند تعريضها للمجال المغناطيسي لمدة 16ساعة .

وفي دراسة أخرى تم عزل حوالي 805 عينة من بكتيريا *E.coli* و 660 عينة من بكتيريا *S.aureus* حيث تم أجرا عليها اختبار إنتاج إنزيم البيتا لاكتاميز B. Lactamase فوجد أن حوالي 89 عينة من بكتيريا *E.coli* تكون موجبة للاختبار وحوالي 58 عينة من بكتيريا *S.aureus* موجبة للاختبار وجميع هذه العينات أعطت مستويات عالية من المقاومة ضد المضادات الحيوية الآتية : السيفاليكسين Cephalexin و البنيسيلين Pencillin والكلورامفينيكول Chloroamphenicol و الإموكسيلين Amoxcillin و الإيرثرومايسين Erythromycin و الجينتاميسين Gentamicin و السيبروفلوكساسين Ciprofloxacin والدوكسيسيكلينDoxycycline و التايلوسين Tylosin والسيفوروأكسايم Cefuroxime والتيتراسيكلين Tetracycline و الإمبيسيلين Ampicillin (Mamza *et al* . , 2010) .

بينت دراسة عملية قام بها Drew وآخرون 1972 بأن مقاومة بكتيريا *S.aureus* للميثسيلين Methicillin يمكن تحديدها باستخدام طريقة كريبي باوير Kirby bauer method لاختبار حساسية المضادات ، واستخدم أقراص5 ميكروجرام من ميثسيلين لمعرفة ما أذا كانت هذه السلالات مقاومة أو حساسة لهذا المضاد وذلك عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حيث بينت النتائج أن

معظم السلالات مقاومة للميثسيلين تكون منطقة تثبيط Inhibition zone أقل قطر من السلالات الحساسة .

أوضحت دراسة أجريت على 35 عزلة من بكتيريا *P. aeruginosa* بواسطة Rassam 2010 أن حـــوالي 100% من هذه العزلات تكون مقاومة ليبسروفلوكساسين Ciprofloxacin و91% مقاومة لبيبيراسيلين Pipercillin و74% مقاومة لجينتاميسين Gentamicin و 54% مقاومة للأمكاسين Amikacin ، ولكن عند تعريـــض هذه العزلات البكتيرية لأشعة الليزر Laser light لفترات زمنية مختلفة تصبح حساسة لهذه المضادات وتزداد حساسية هذه البكتيريا للمضادات الحيوية اعتمـــادا على عاملين همـــا زيادة زمن التعرض لأشعة الليزر و زيادة جرعة الأشعة .

7.2 الصوديوم دودي أسايل سلفات Sodium dodecyl sulphate (SDS)

SDS هو عامل من العوامـــل الأنيونيـــة الفعالـــة علـــى الأســـطح Anionic surfactant و يستخدم بشكل واسع وهو مركب أساسي في الشامبو و معجـــون الأســـنان ، حيـــث يتجمـــع فـــي مياه البواليع المنزلية أو الصناعية و يسبب تـــأثيرات ســـامة مبـــاشرة علـــى كـــائنات مختلفـــة فـــي البيئـــة ويمـــكن وصـــفه بالملوثـــات الخطيـــرة Dangerous contaminations (Hossein *et al* . , 2007) . حيـــث يعتبـــر أن ملـــح الـــ SDS مـــادة منـــظفة تـــقوم بتدميـــر الخلايـــا البكتيريـــة عـــن طريـــق تفجيـــر غـــشـــاء الخليـــة Tiwari *et al* . , (2008) .

8.2 تأثير ملح SDS على أنوع بكتيرية مختلفة معرضة لأشعة المايكروويف

Effect of SDS on microwave radiation- heated different bacterial strains

وجد في دراســـات عديـــدة أن ملح Sodium dodecyl sulphate الذي يتجمع في البواليـــع المنزلية أو الصناعيـــة نتيجة لاستخدام المنظفات يسبب مشاكل من حيث معالجة المياه ، و لكن يمكن التخلص من هذا الملح عن طريق بعض الســـلالات البكتيرية مثل بكتيريا *Acinetobacter johnsoni* وبكتيريا *Pseudomonas beteli* حيث تعمـــل هـــذه البكتيريا كمحللة فعالة وسريعة لهذا الملح السام و تستعمله كمصدر وحيد للكربون (Hosseini *et al* . , 2007) .

أوضح Tiwari و آخرون 2008 بأنه عند معاملة بكتيريا *E.coli* و البكتيريا العصية القشية *Bacillus subtilis* بالعوامـــل المضادة للبكتيريا مثـــل جزيئـــات الفضـــة الـــدقيقة Silver nanoparticles وقياس كثافة الخلايا عند 600 نانوميتر إن كثافة الخلايا تنخفض في وجود SDS عندما تحضن لمدة 30 ثانية بينما عند عدم وجود SDS وجد أن كثافة الخلايا لا يحدث بها أي انخفاض، وهذا التأثير يمكن ملاحظته أكثر في أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام مقارنة بالبكتيريا الموجبة لصبغة جرام .

أيضا دراسات آخري أجريت على بكتيريا *E.coli* وبكتيريا *B.subtilis* بواسطة Woo وآخرون 2000 حيث وجد بأنه عند تعريض هذه الخلايا لأشعة المايكروويف يحدث لها اختزال في عدد الخلايا و زيادة في كمية كل من الحامض النووي DNA والبروتين المتحرر من الخلايا وذلك نتيجة لزيادة درجة الحرارة المعلق البكتيري المعرض للأشعة ، أيضا وجود ملح SDS مع بكتيريا *E.coli* المعرضة للأشعة يسهل انحلالها ويمكن معرفة ذلك عن طريق نقص كثافة الخلايا التي يمكن أن

تقاس بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophtometer بينما بالنسبة لبكتيريا *B.subtilis* عند وجو هذا الملح تزيد كثافتها وتكون مقاومة لهذا الملح .

1.3 الهدف من الدراسة The aim of the work

تهدف هذه الدراسة التطبيقية إلى :

1. معرفة التأثير الحـــراري و اللاحـــراري لفرن المايكروويف على العدد الحيوي لكلٍ من بكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* و والمقارنة بينها عند فترات زمنية مختلفة و كثافة قوي مختلفة .
2. معرفة مدى حساسية الخلايا البكتيريا المعرضة لفرن المايكروويف للمضادات الحيوية و SDS .

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

Material & Methods

1.4 المواد Materials

1.1.4 الأجهزة و المزودين Equipments and suppliers

جهاز التعقيم البخاري Autoclave من شركة Hirayama manufacturing corporation ،اليابان .

الحاضنة Incubator من شركة Momment ، ألمانيا .

الحاضنة الهزازة Shaker incubator من شركة Stuart scientific ، المملكة المتحدة .

الميزان الحساس Sensory balance من شركة Sartarius laboratory ، ألمانيا .

جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer بتردد 50/60Hz ، Jenway .

فرن المايكروويف Microwave oven بتردد 2,450MHz ، ألمانيا .

الماصات μL (100، 1000) Eppendoef ، ألمانيا .

أطباق بتري المعقمة و الأكياس المعقمة من شركة Sterilin المملكة المتحدة .

Parafilm rolls من شركة American national .

ابر العزل البلاستيكية من شركة Cultiplast ، ايطاليا .

بكتيريا *Echerichia coli* معزولة من بول شخص مصاب و معرفة بواسطة جهاز الفونكس Phoenix في مستشفي الجماهيرية .

بكتيريا *Staphylococcus aureus* معزولة من جرح شخص مصاب ومعرفة بواسطة جهاز الفونكس Phoenix في مستشفي الجماهيرية .

2.1.4 الأوساط الغذائية و المواد الكيميائية Nutrient media and chemicals

الأجار الغذائي Nutrient agar من شركة Himedia ، الهند .

المرق الغذائي Nutrient broth من شركة Himedia ، الهند .

كلوريد الصوديوم Sodium chloride من شركة Himedia ، الهند .

SDS من شركة Acros ، الولايات المتحدة الأمريكية .

المضادات الحيوية Erythromycin و Amoxcillin وVancomycin من شركة Himedia ، الهند بينما Gentamicin من شركة Oxoid، بريطانيا .

2.4 الطرق العامة General methods

1.2.4 تعقيم منطقة التطبيقات العملية Sterile practicing area

يعتبر عامل التعقيم من العوامل الأساسية في أجراء التجارب التي تختص بدراسة الكائنات الدقيقة . في البداية تُعقم جميع الأوساط الغذائية و المواد من خلال استعمال المعقم البخاري الأوتوكلاف Autoclave في ضغط 15 p.s.i لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 121مْ ، ما لم تكون هناك مواد أو أجهزة حساسة لتأثير الحرارة الرطبة . تعقم الأطباق البلاستيكية و الأدوات الأخرى الحساسة للحرارة مثل مقياس الحرارة Thermometer بواسطة تركها لمدة 24 ساعة في 70% من الكحول ثم بعد ذلك تغسل جيداً بالماء المعقم dH_2O .

قبل إجراء التجارب يجب تعقيم المكان الذي يتم فيه عزل الكائن الدقيق أو صب الأوساط الغذائية . تعقم أعناق وفوهات القنينات أو القوارير باللهب المباشر Direct flame قبل و بعد الاستعمال ثم بعد

ذلك يعاد وضع أغطية هذه القنينات على جميع الحاويات بسرعة فائقة كلما أمكن ذلك وذلك لتحاشي أمكانية تلوثها . تُعقم أطباق الزراعة Culture plates بعد صب الأوساط الغذائية السائلة وذلك من خلال إمرار اللهب المباشر على أسطح الأجار الذائب .

2.2.4 التحضين Incubation

تعتبر فترة حضانة الكائنات الدقيقة من أهم الخطوات الأساسية في التطبيقات المعملية الخاصة بالكائنات الدقيقة نظراً لما تلعبه هذه الخطوة من أهمية في عملية النمو . حيث تحضن الأطباق المحتوية على الخلايا البكتيرية في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة في حاضنة معتمة .

3.2.4 حفظ المزرعة البكتيرية Preservation of bacterial culture

تحفظ المزارع البكتيرية المعزولة في المبرد على هيئة أطباق مشمعة أو على هيئة أنابيب مائلة Slant cultures . تبقى هذه المزارع فترة من الوقت في ظروف بيئية باردة وذلك لمنع تكاثرها المفرط في وضع تخزيني Stock culture . بعد فترة من الوقت تجرى عملية الزرع الجزئي Sub-culturing وذلك من أجل تنشيط الخلايا البكتيرية و زيادة حيويتها .

4.2.4 تعريف البكتيريا Identification of bacteria

نظام الـــــ Phoenix لا يستعمل للكشف عن العينات الإكلينيكية مباشرة . ولكن يستعمل هذا الجهاز في اختبار العزولات المزراعية النقية Pure culture isolates مثل البكتيريا الهوائية أو البكتيريا اللاهوائية الاختيارية السالبة و الموجبة لصبغة الجرام . ولأجراء الاختبار فإنه يجب أن تكون المزارع في حالة نقية Axenic culture كذلك يجب أن يكون عمر المزرعة يتراوح ما بين 18 إلى 24 ساعة .

3.4 تجارب الدراسة 1.3.4 Study experiments

تنمية الخلايا البكتيرية Bacterial cell growth

قبل بدء التجارب يتم تنشيط البكتيريا وذلك بتنميتها على الأجار الغذائي Nutrient agarفي ظروف معقمة لمدة 24 ساعة عند درجة 37م . ثم يعاد تنمية البكتيريا في حوالي 200 مل من المرق الغذائي Nutrient broth في دورق 500 مل ويوضع في الحاضنة الهزازة عند سرعة دوران 150 دورة / دقيقة لمدة 20 ساعة عند درجة حرارة 35مْ ، وتوضع المزرعة البكتيرية في الأنابيب الخاصة بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer وتقاس عند 600 نانوميتر (Tahir *et* . *al* . , 2009)

2.3.4 طريقة قياس عدد الخلايا البكتيرية بعد التعرض للأشعة المايكروويف

Measurement of bacterial cell count after exposure to microwave radiation

يجب أن يكون الامتصاص Absorbance في المزرعة البكتيرية 0.5 تقريبا وذلك عن طريق قياسه بواسطة المطياف الضوئي Spectrophotometer وبعد ذلك تجهز أنابيب تحتوي على 9 مل من محلول ملحي بتركيز0.85% معقمة لعمل تخافيف متسلسلة Serial dilutions لجميع العينات . بعد التخفيف تصبح كل عينة تحتوي على 10 مل من المعلق البكتيري Bacterial suspension وتوضع كل عينة على حده في كأس 200 مل مقاوم للحرارة و يوضع هذا الكأس في كأس آخر1000 مل مقاوم للحرارة يحتوي على 200 مل من الماء ويوضع داخل فرن المايكروويف في الوسط على الصحن المتحرك وتعرض جميع العينات للأشعة المايكروويف لمدة زمنية مختلفة (1 و 2 و3) دقيقة و لقوي مختلفة (90 و360 و 600) ماعدا عينة واحدة تكون غير معرضة للأشعة وهذه العينة تستخدم كالضابط Control ليتم مقارنته مع العينات المعرضة للأشعة ، وإن سبب وضع

الماء في الكأس الذي يحتوي على العينة يكون لمنع تبخر العينة Gedikil et al. , 2008 ; Tahir *et al* . , 2009) .

و لمعرفة تأثير الأشعة فقط أي التأثير اللاحراري توضع العينات في كأس 1000 مل يحتوي على ثلج بدل الماء وذلك لحفظ العينة عند درجة حرارة 40مْ وتوضع داخل فرن المايكروويف في وسط الصحن المتحرك وتعرض كل العينات للأشعة لمدة (1 و 2 و3) دقيقة (Tahir *et al* . , 2009) .

يتم قياس درجة الحرارة بعد كل معاملة وذلك من خلال قياس درجة حرارة المعلق البكتيري بواسطة مقياس الحرارة Thermometer المعقم (Tahir *et al* . , 2009) .

بعد تعريض العينات لأشعة المايكروويف يتم تحريكها بشكل دائري لكي تتجانس ومن ثم يأخذ حوالي 0.1 مل من كل عينة وتوزع بشكل منتظم بواسطة قضيب زجاجي معقم على سطح أجار غذائي جاف متواجد في أطباق بتري و توضع هذه الأطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37مْ ويتم حساب عدد المستعمرات البكتيرية بعد فترة الحضانة (Tahir *et al* . , 2009) .

3.3.4 قابلية الخلايا البكتيرية المعرضة للأشعة المايكروويف للمضادات الحيوية

Susceptibility of microwave- heated bacterial cell to antibiotic

تم استخدام طريقة انتشار القرص بواسطة بيور وكاربي Bauer- Kirby disc diffusion لمعرفة مدى قابلية الخلايا البكتيرية المعرضة للأشعة المايكروويف لكلٍ من : الإيرثرومايسين Erythromycin 15 ميكروجرام والإموكسيلين Amoxycillin 10 ميكروجرام والجينتاميسين Gentamicin 10 ميكروجرام والفانكومايسين Vancomycin 10 ميكروجرام .

حيث تم تجهيز معلق بكتيري بتعكير أو بامتصاص 0.5 تقريبا بعد ذلك تم توزيعها في أنابيب بالتساوي Evenly حوالي 10 مل في كل أنبوبة وتم تعريضها لفرن المايكروويف بنفس الطريقة السابقة .

بعد تعرض العينات لفرن المايكروويف يتم تحريكها بشكل دائري حتى تتجانس وبعد ذلك يأخذ حوالي 0.3 مل من كل عينة وتوزع بشكل متساوي على سطح الأجار الغذائي و تترك لتجف لمدة 5 دقائق ومن ثم توضع أقراص المضادات الحيوية بشكل متقابل تقريبا وتترك فترة قبل أن توضع في الحاضنة وذلك لكي تلتصق الأقراص بالوسط الغذائي بعد ذلك توضع في الحاضنة عند درجة حرارة 35مْ لمدة 20 ساعة ويتم قياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone بعد فترة الحضانة (Drew *et al.* , 1972 ; Gaafar *et al.* , 2006) .

4.3.4 حساسية الخلايا البكتيرية المعرضة للأشعة المايكروويف لملحSDS

Sensitivity of microwave- heated bacterial cell to SDS

يتم توزيع المعلق البكتيري الذي يحتوي على البكتيريا و كلوريد الصوديوم بنسبة 0.9% في 16 دورق 250 مل معقمة بحيث يحتوي كل دورق على 10 مل من المعلق ، 8 عينات توضع داخل فرن المايكروويف وتعرض لدرجة حرارة تصل إلى85مْ وذلك عن طريق تعريض العينات لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين و8 العينات الأخرى لا تعرض للأشعة (Woo *et al*. 2000) .

بعد تعريض العينات للأشعة يوضع SDS بنسبة 0.1% في 4 عينات فقط من العينات المعرضة للأشعة وكذلك يوضع في 4 عينات من العينات الغير معرضة وتوضع كل العينات (16عينة) في الحاضنة الهزازة عند درجة 37مْ بسرعة دوران 150 دورة / دقيقة لمدة (1 و 2 و 3 و 4)

ســـاعات بعدها يتم قيـــاس كثـــافة الخـــلايا بواسطـــة جهـــاز المطيـــاف الضوئي Spectrophotometer عند 600 نانوميتر(Woo *et al*. 2000) .

5.3.4 التعقيم بواسطة فرن المايكروويف Sterilization by microwave oven

يتم تجهيز مزرعة البكتيريا بامتصاص 0.5 تقريبا وتوزع في أنابيب بالتساوي بحيث تحتوي كل أنبوبة على 5مل من المزرعة البكتيرية وتعرض لقوي مختلفة ولفترات زمنية مختلفة لأشعة فرن المايكروويف (Latimer & Matsen , 1977) .

وبعد التعرض لفرن المايكروويف توزع كل من هذه العينات على أطباق تحتوي وسط غذائي صلب معقم محضر سابقا وتوضع في الحاضنة عند درجة جرارة 35مْ لمدة 24 ساعة و ذلك لملاحظة وجود أو عدم وجود نمو(Latimer & Matsen , 1977) .

الفصل الرابع

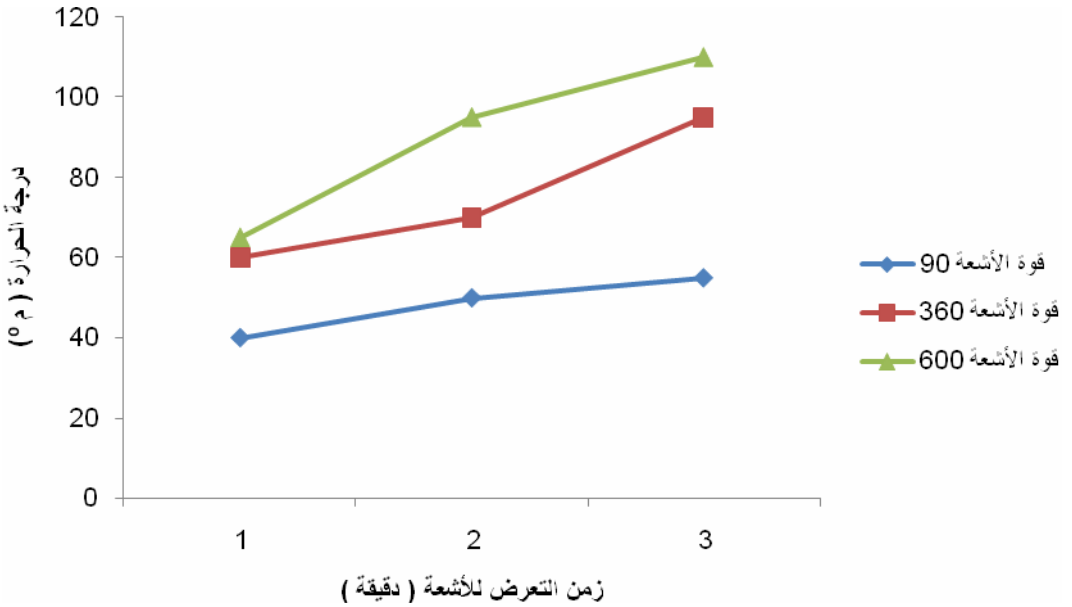
النتائج

Results

1.5 تأثير أشعــة فرن المــايكروويــف على العــدد الحيوي لبكتيريا القولــون (البكتيريا الغائطيه) و البكتيريا العنقودية البرتقالية .

Effect of microwave oven on viable count of *E.coli* and *S. aureus* في

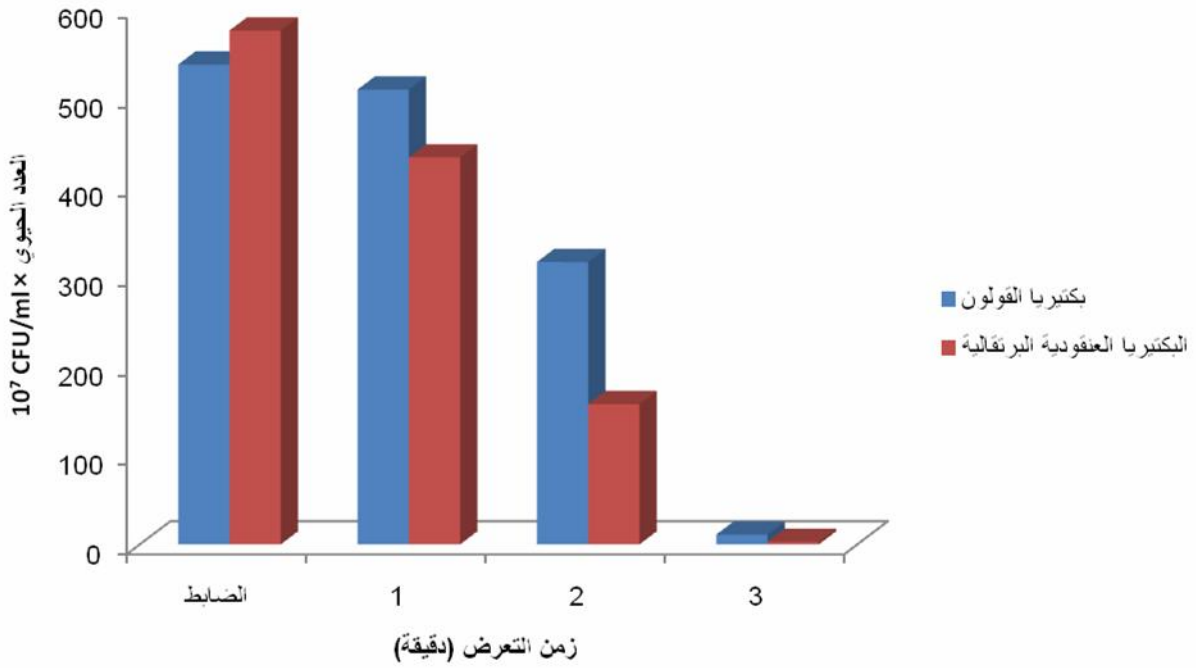
هذه التجربة تم تعريض العينات البكتيرية لأشعة فرن المايكروويف لفترات زمنية متباينة وقوى مختلفة ، حيث بينت النتائج في الشكل3 والجدول2 إن معدل اختزال العدد الحيوي لكلٍ من بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة للفرن المايكروويف لمدة دقيقة ودقيقتين و ثلاث دقائق وعند قوة 90 يزداد مع زيادة زمن التعرض Exposure time ، أيضا أوضحت النتائج أن معدل اختزال العدد الحيوي للبكتيريا العنقودية يكون أعلى من بكتيريا القولون مع إنها تكون معرضة لنفس الظروف . كذلك بينت النتائج في الشكل1 تغير في درجة حرارة المعلقات البكتيرية Bacterial suspensions المعرضة لأشعة المايكروويف مع تغير زمن التعرض ، حيث اتضح أنه كلما زاد زمن التعرض للأشعة زادت درجة حرارة المعلق البكتيري ، أيضا بــين الشكل4 والجدول3 تــأثير قوة الأشعــة 90 و360 و600 على العدد الحيوي لكلٍ من بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية البرتقالية ، فتضح من خلال ذلك زيادة في معدل اختزال العدد الحيوي البكتيري كلما زادت قوة الأشعة حيث كان العدد الحيوي أقل ما يمكن عند القوة 600 لمدة دقيقة .



شكل1: التغيير في درجة حرارة المعلق البكتيري مرتبطة بزمن التعرض للأشعة المايكروويف .

جدول2 : تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة .

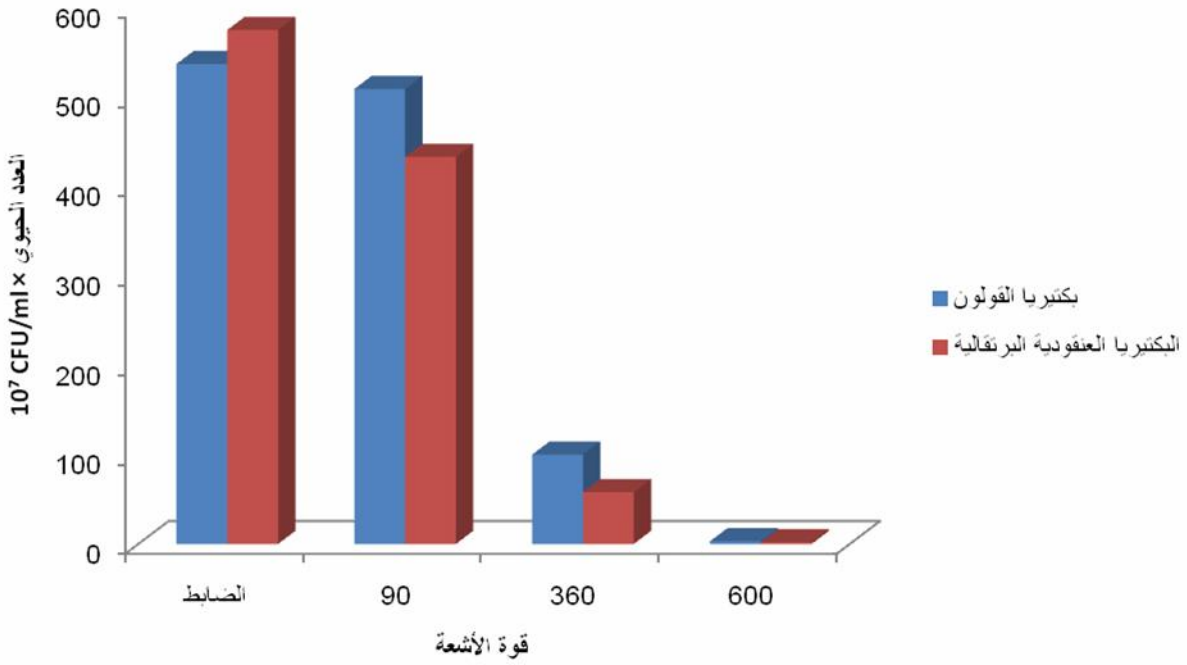
زمن التعرض للأشعة (دقيقة)	العدد الحيوي لبكتيريا القولون × 10^7CFU⁄ml	العدد الحيوي للبكتيريا العنقودية البرتقالية × 10^7CFU⁄ml
الضابط Control	**537**	**575**
1	**509**	**433**
2	**316**	**157**
3	**11**	**3**



شكل2 : تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة .

جدول3 : تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة .

قوة الأشعة	العدد الحيوي لبكتيريا القولون × 10^7CFU/ml	العدد الحيوي للبكتيريا العنقودية البرتقالية × 10^7CFU/ml
الضابط Control	537	575
90	509	433
360	100	58
600	3	2



شكل3 : تأثير أشعة فرن المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.auerus* عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة .

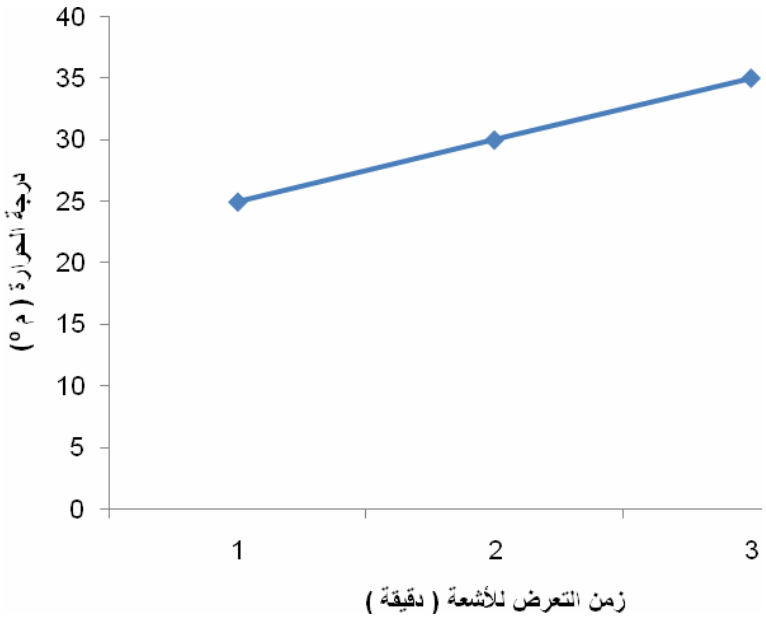
2.5 التأثير اللاحراري للأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لكل من بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية البرتقالية .

Non thermal effect of microwave radiation on viable count of *E.coli* and *S.aureus*

في هذه التجربة تم تعريض العينات البكتيرية للأشعة المايكروويف في وجود الثلج وذلك لحفظ درجة حرارة المعلق البكتيري اقل من40مْ ، حيث بينت النتائج في الشكل5 والجدول4 أنه يوجد تأثير لاحراري للأشعة فرن المايكروويف على معدل اختزال العدد الحيوي لبكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية عند تعرضها لهذه الأشعة لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90 ، وأتضح من خلال ذلك أن معدل الاختزال يزاد مع زيادة زمن التعرض لهذه الأشعة كذلك أن معدل الاختزال يكون أعلى في البكتيريا العنقودية البرتقالية مقارنة ببكتيريا القولون .

يوضح الشكل2 درجة حرارة المعلق البكتيري في وجود الثلج تتغير مع تغيير زمن التعرض عند قوة 90 حيث أن درجة الحرارة تكون أقل من 40مْ لإيضاح التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف

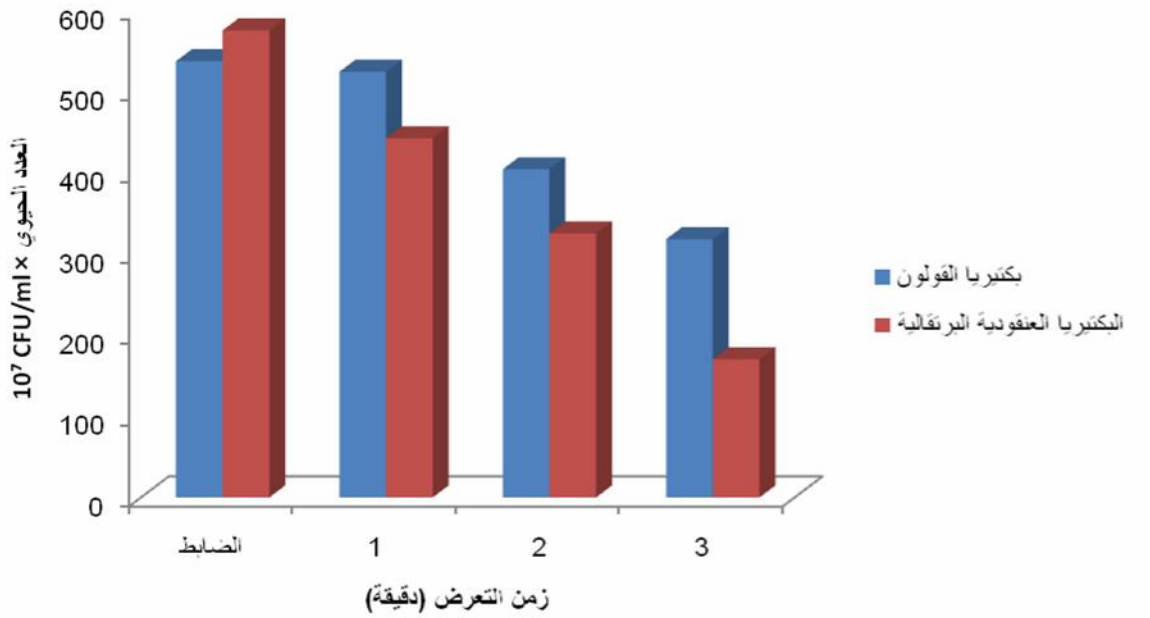
.



شكل4 : درجة حرارة المعلق البكتيري (*E.coli* أو *S. aureus*) أقل من 40مْ مرتبطة بزمن التعرض للأشعة المايكروويف .

جدول4 : التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة عند درجة حرارة أقل من 40مْ .

زمن التعرض للأشعة (دقيقة)	العدد الحيوي لبكتيريا القولون × 10^7CFU/ml	العدد الحيوي للبكتيريا العنقودية البرتقالية × 10^7CFU/ml
الضابط Control	537	575
1	524	442
2	404	325
3	318	170



شكل5 : التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي لبكتيريا القولون *E.coli* والبكتيريا العنقودية البرتقالية *S.auerus* عند قوة 90 لفترات زمنية مختلفة عند درجة حرارة أقل من 40مْ .

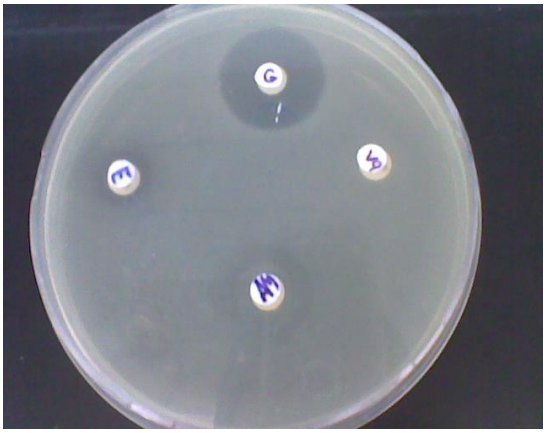
3.5 تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون المعرضة لأشعة المايكروويف

Effect of antibiotic on microwave- heated *E.coli* .

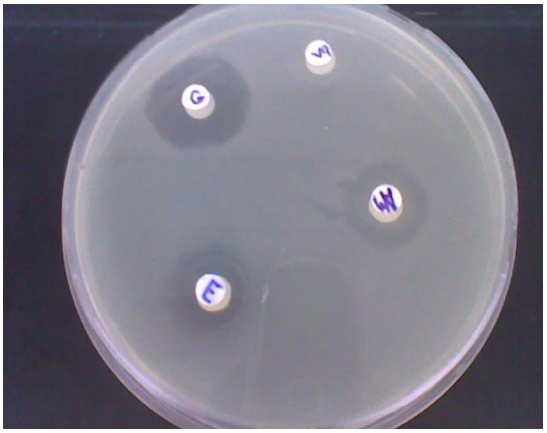
يمكن معرفة تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا المعرضة لأشعة المايكروويف عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone diameter و مقارنتها بالضابط Control ، حيث بينت النتائج في الشكل6 و الجدول5 إن الضابط لبكتيريا القولون أي العينة الغير معرضة للأشعة تكون مقاومة لمعظم المضادات الحيوية المستخدمة في التجارب وعند تعريض هذه البكتيريا لأشعة المايكروويف لمدة دقيقتين وثلاث دقائق عند قوة 90 تزيد حساسيتها للمضاد الحيوي الأموكيسيلين Amoxicillin كذلك عند نفس القوة ولمدة ثلاث دقائق تصبح هذه البكتيريا أكثر حساسية للمضاد الحيوي

الجينتاميسين Gentamicin . أيضا بينت النتائج في الشكل7 و الجدول6 إنه عند تعرض هذه البكتيريا لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند القوى 360 و600 تصبح أكثـــر حســـاسية للمضادات الحيوية الأتية : الأموكيسيلين Amoicillin والإيرثرومايسين Erythromycin والجينتاميسين Gentamicin ، أمـــا بالنسبـــة للمضـــاد الحيوي الفانكومايسين vancomycin فليس له تأثير على بكتيريا القولون حتى بعد التعرض للأشعة .

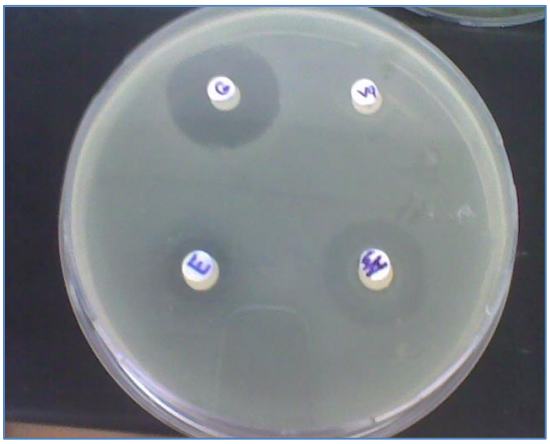
أما بالنسبة للبكتريا المعرضة للتأثير اللاحراري لمدة ثلاث دقائق عند قوة 90 فيمكن ملاحظة حساسيتها لمضاد الحيوي الجينتاميسين في الشكل8 والجدول7 .



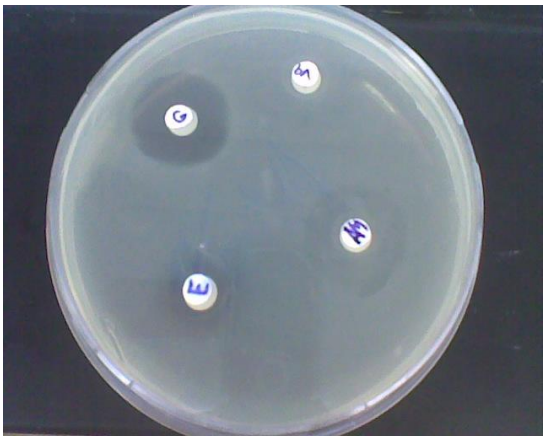
(أ)



(ب)



(د)



(ج)

شكل6 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

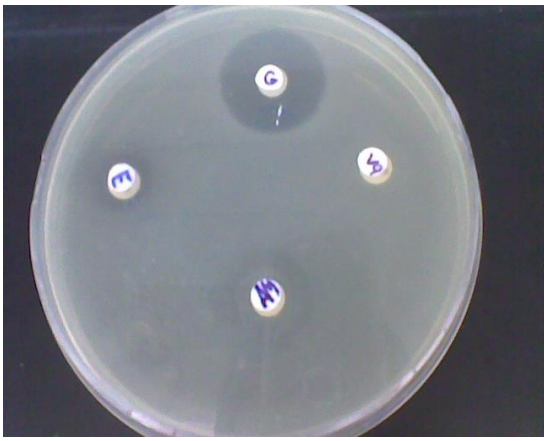
ب. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

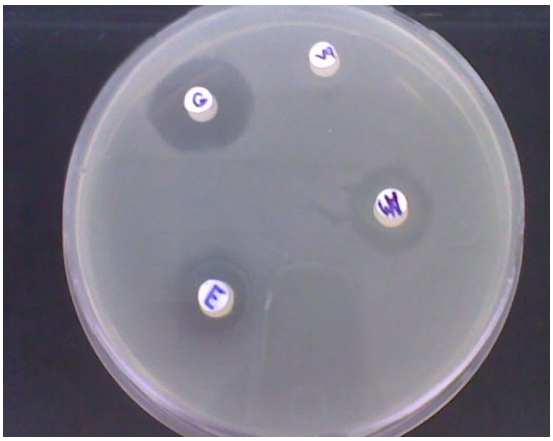
د. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق .

جدول5 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90 .

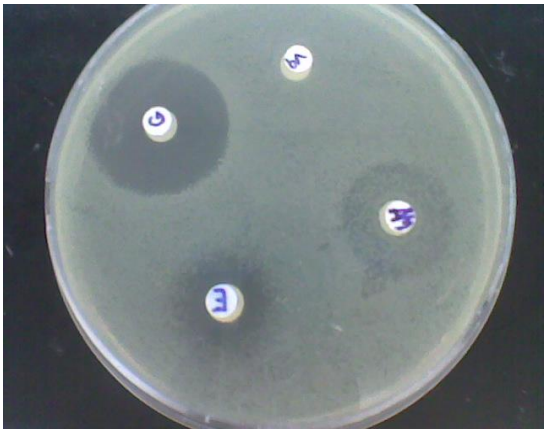
قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter (Cm)							المضادات الحيوية Antibiotic
معرضة للأشعة لمدة ثلاث دقائق	معرضة للأشعة لمدة دقيقتين	معرضة للأشعة لمدة دقيقة واحدة	الضابط Control	قابلية ومقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
1.9	1.9	1.5	1.5	>1.9	–	<2	أموكيسيلين Amoxicillin
2.3	2.1	2.1	2.1	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
1.1	1.1	1.1	1.1	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسين Erythromycin
0.7	0.7	0.7	0.7	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin



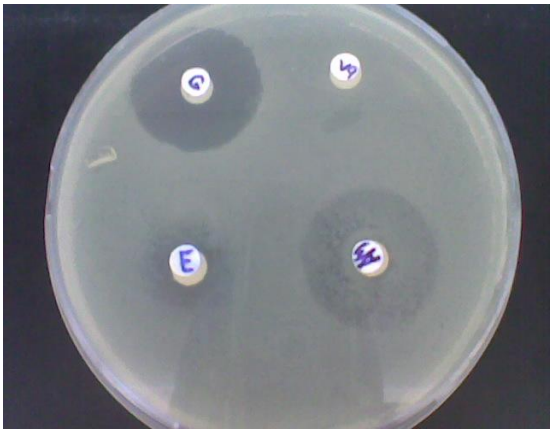
(أ)



(ب)



(د)



(ج)

شكل 7 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

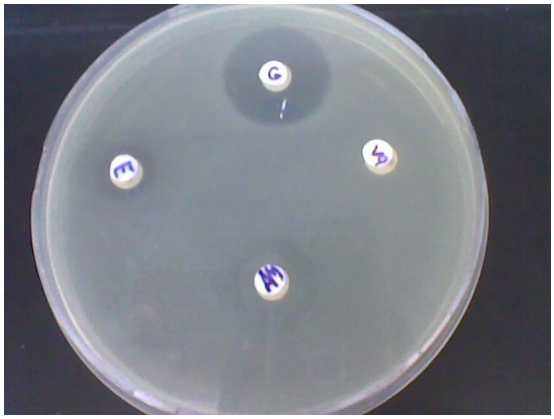
ب. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 90 .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 360 .

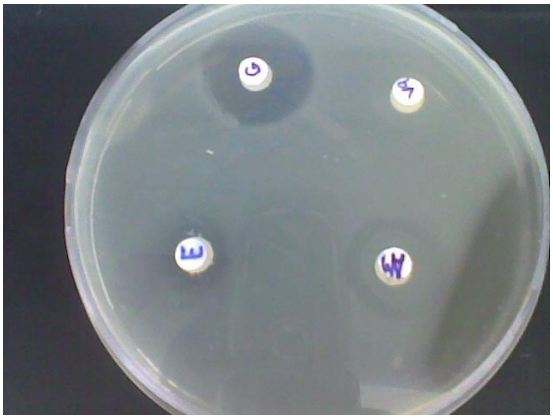
د. معرضة للأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 600 .

قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter(cm)							المضادات الحيوية Antibiotics
معرضة للأشعة عند قوة 600	معرضة للأشعة عند قوة 360	معرضة للأشعة عند قوة 90	الضابط Control	قابلية ومقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
2.1	2.5	1.5	1.5	>1.9	–	<2	أموكيسيلين Amoxicillin
2.5	2.5	2.1	2.1	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
1.7	1.3	1.1	1.1	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسين Erythromycin
0.7	0.7	0.7	0.7	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin

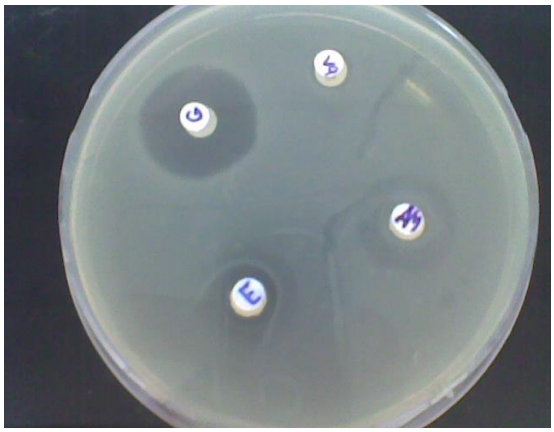
جدول6 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لأشعة المايكروويف عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة .



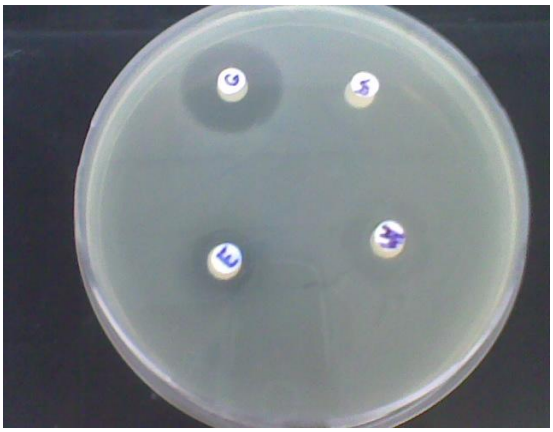
(أ)



(ب)



(د)



(ج)

شكل 8 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* عندما تكون :

أ. غير معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف(Control) .

ب. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لتاثيراللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق .

جدول7 : تأثير المضادات الحيوية على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة لتأثير اللاحراري

قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter(cm)							المضادات الحيوية Antibiotics
معرضة للأشعة لمدة ثلاث دقائق	معرضة للأشعة لمدة دقيقتين	معرضة للأشعة لمدة دقيقة واحدة	الضابط Control	قابلية و مقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
1.5	1.5	1.5	1.5	>1.9	–	<2	أموكيسيلين Amoxicillin
2.5	2.1	2.1	2.1	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
1.1	1.1	1.1	1.1	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسينن Erythromycin
0.7	0.7	0.7	0.7	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin

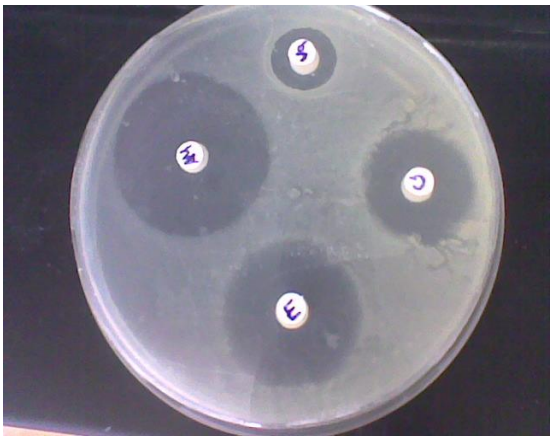
لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90 .

4.5 تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة لأشعة المايكروويف

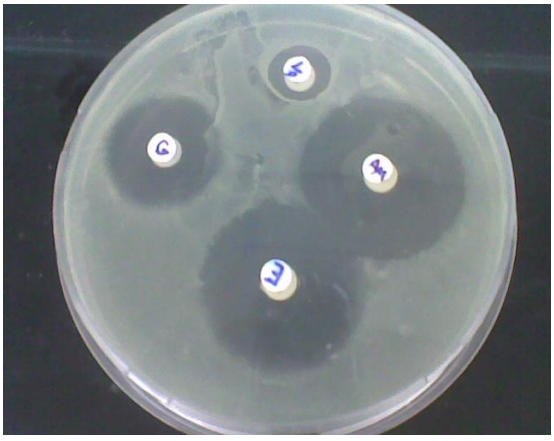
Effect of antibiotic on microwave-heated *S.aureus* .

إن سلالة البكتيريا العنقودية البرتقالية المستخدمة في هذه التجارب تبدي حساسية لجميع المضادات الحيوية المستخدمة وهذا يكون موضح في الشكل9 و الجدول8 وعند تعريض هذه البكتيريا لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة و دقيقتين وثلاث دقائق عند قوة 90 تظهر حساسية أعلى لكلٍ من المضاد الحيوي الإيرثرومايسين و المضاد الحيوي الأموكسيلين كذلك عند نفس القوة ولمدة ثلاث دقائق تصبح هذه البكتيريا أكثر حساسية للمضاد الحيوي الجينتاميسين ، أيضا أوضحت النتائج في الشكل10 والجدول9 أن البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة للأشعة لمدة دقيقة عند قوة 360 توضح حساسية أعلى للمضادات الحيوية الإيرثرومايسين والأموكسيلين والجينتاميسين ، كذلك إن تعريض هذه البكتيريا للأشعة لمدة دقيقة عند قوة 600 تبين حساسية أعلى لجميع المضادات الحيوية المستخدمة في التجارب .

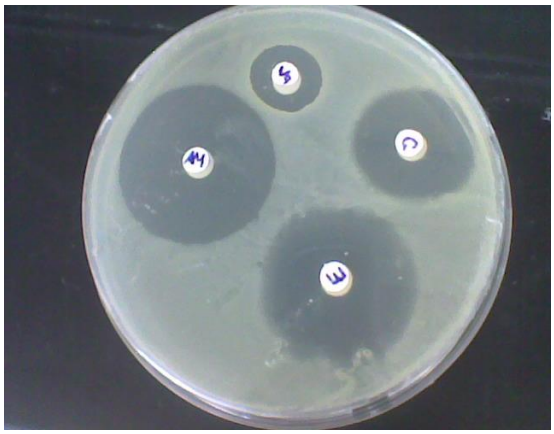
أما بالنسبة للبكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة للتأثير اللاحراري للأشعة لمدة دقيقة عند قوة 90 فتظهر حساسية أعلى للمضاد الحيوي الإيرثرومايسين في الشكل11 والجدول10 ، أيضا تعريض هذه البكتيريا لنفس التأثير لمدة دقيقتين عند قوة 90 تظهر حساسية أعلى لكلٍ من المضاد الحيوي الإيرثرومايسين و الأموكيسيلين ، ولكن عند تعريض هذه البكتيريا للتأثير اللاحراري لمدة ثلاث دقائق عند قوة 90 فإنه تظهر أقل حساسية للأموكسيلين .



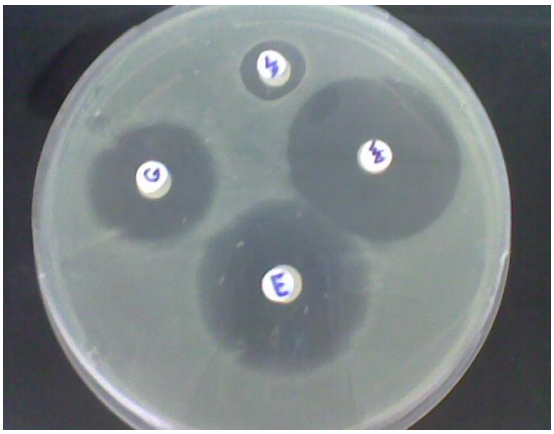
(أ)



(ب)



(د)



(ج)

شكل9 : تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S. aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

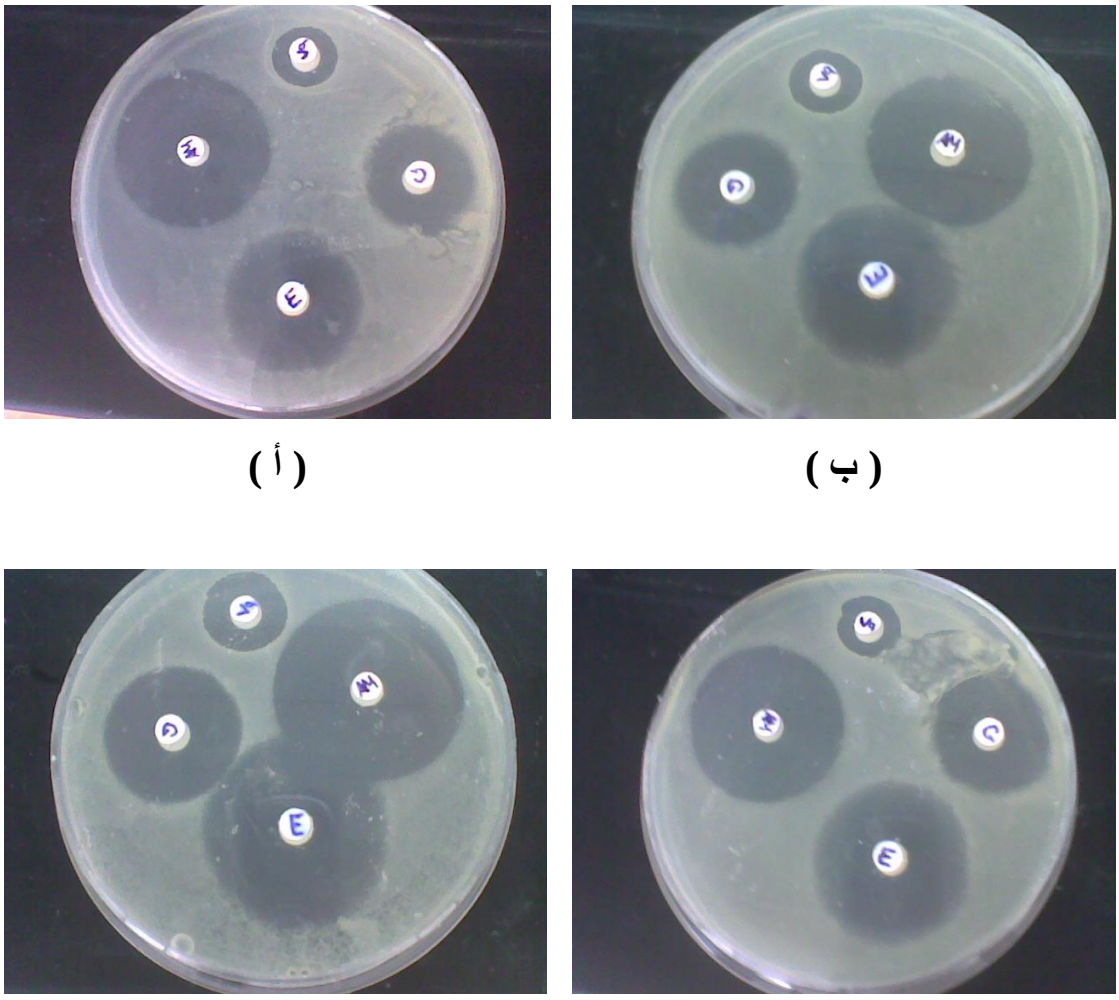
ب. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق .

جدول8 : تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90 .

قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter(cm)							المضادات الحيوية Antibiotics
معرضة للأشعة لمدة ثلاث دقائق	معرضة للأشعة لمدة دقيقتين	معرضة للأشعة لمدة دقيقة واحدة	الضابط Control	قابلية و مقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
3.3	3.3	3.3	2.9	>1.9	–	<2	أموكيسيلين Amoxicillin
2.7	2.3	2.3	2.3	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
3.1	3.1	2.9	2.5	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسين Erythromycin
1.3	1.3	1.3	1.3	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin



(أ) (ب)

(د) (ج)

شكل10 : تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لأشعة المايكروويف (Control) .

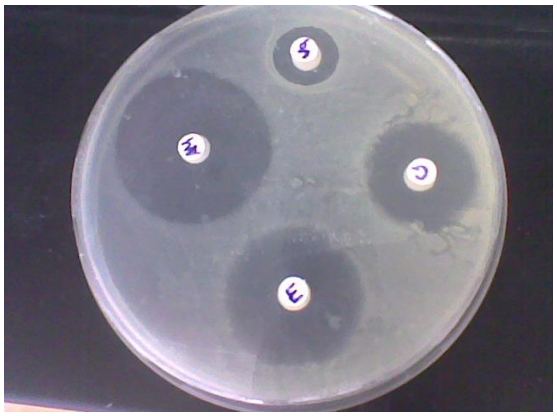
ب. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 90 .

ج. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 360 .

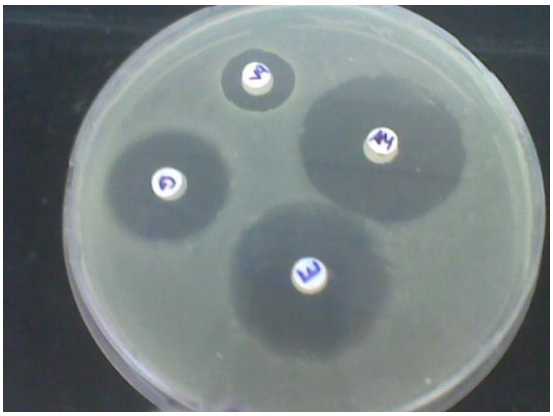
د. معرضة لأشعة المايكروويف لمدة دقيقة عند قوة 600 .

جدول9 : تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة لأشعة المايكروويف عند قوى مختلفة لمدة دقيقة واحدة .

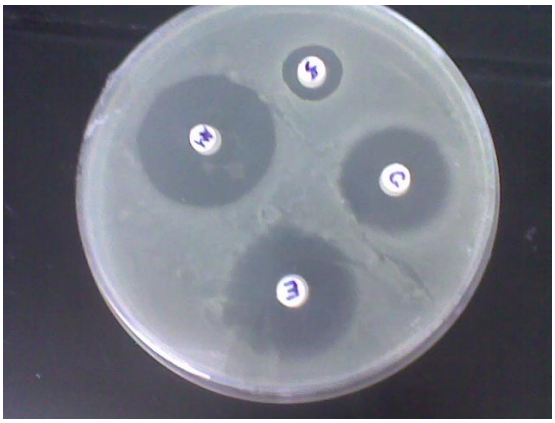
قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter(cm)							المضادات الحيوية Antibiotics
معرضة للأشعة عند 600	معرضة للأشعة عند 360	معرضة للأشعة عند قوة 90	الضابط Control	قابلية و مقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
3.7	3.5	3.3	2.9	>1.9	–	<2	أموكسيلين Amoxicillin
2.5	2.5	2.3	2.3	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
3.5	3.3	2.9	2.5	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسين Erythromycin
1.7	1.3	1.3	1.3	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin



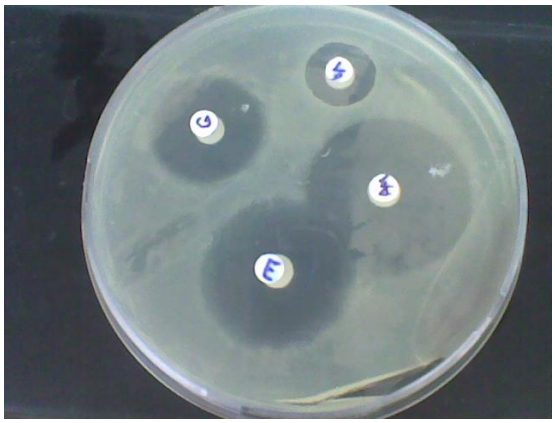
(أ)



(ب)



(د)



(ج)

شكل11 :تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* عندما تكون :

أ. غير معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف (Control) .

ب. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقة .

ج. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة دقيقتين .

د. معرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف عند قوة 90 لمدة ثلاث دقائق .

جدول10 : تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة لتأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة عند قوة 90 .

قطر منطقة التثبيط (سم) Inhibition zone diameter(cm)							المضادات الحيوية Antibiotics
معرضة للأشعة لمدة ثلاث دقائق	معرضة للأشعة لمدة دقيقتين	معرضة للأشعة لمدة دقيقة واحدة	الضابط Control	قابلية و مقاومة البكتيريا للمضادات			
				R	I	S	
2.7	3.3	2.9	2.9	>1.9	–	<2	أموكيسيلين Amoxicillin
2.3	2.3	2.3	2.3	>1.2	1.4-1.3	<1.5	الجينتاميسين Gentamicin
2.5	2.7	2.7	2.5	>1.3	2.2-1.4	<2.3	إيرثرومايسينن Erythromycin
1.3	1.3	1.3	1.3	–	–	<1.5	الفانكومايسين Vancomycin

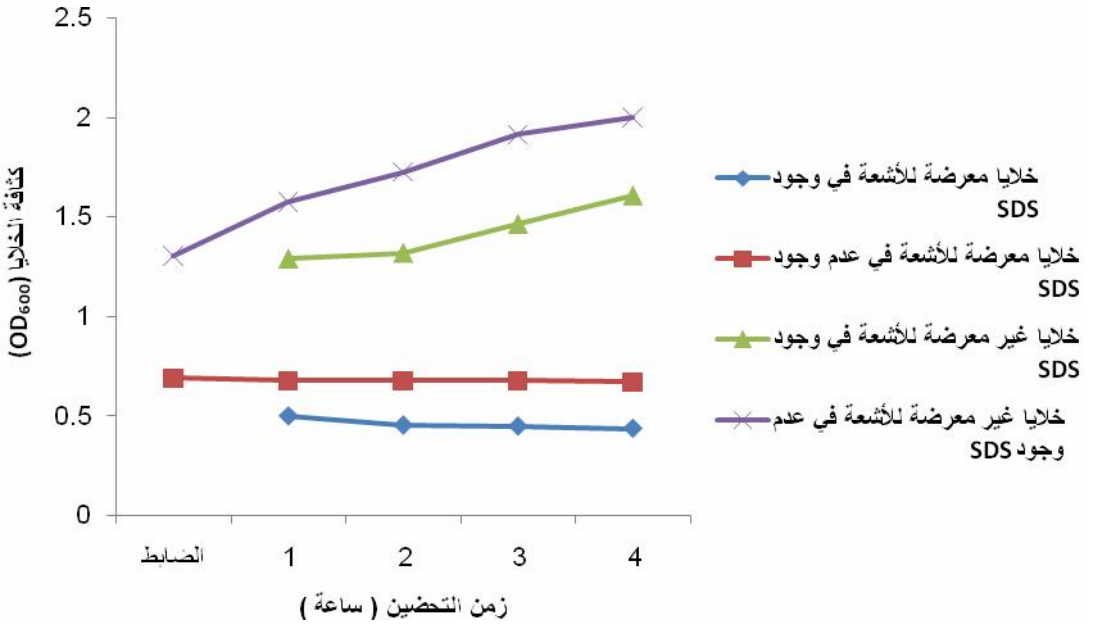
5.5 تأثير مـــلح SDS عـــلى بكتيريا القـــولون والبكتيريا العنقـــودية البرتقالية المعرضة للأشعة المايكروويف

Effect of SDS salt on microwave-heated *E.coli* and *S. aureus* .

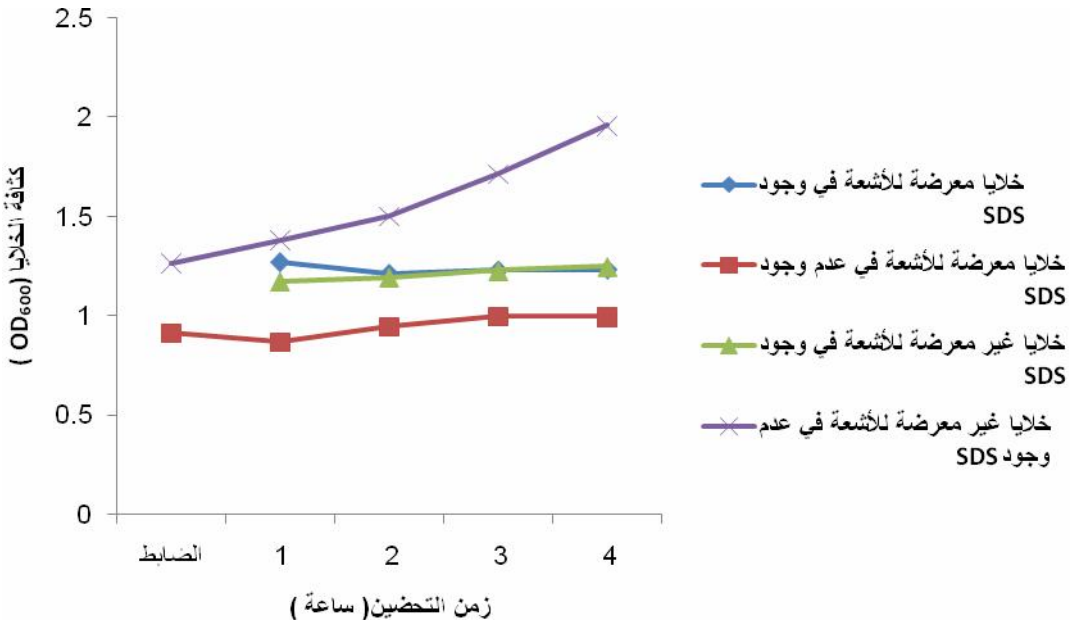
يتم ملاحظة تأثير ملح SDS على السلالات البكتيرية المعرضة لأشعة المايكروويف عن طريق قياس كثافة الخلايا Cell density بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي 600 نانوميتر، حيث توضح النتائج في الشكل12 أن كثافة الخلايا للبكتيريا القولون المعرضة للأشعة في وجود ملح SDS تقل بشكل واضح عند وضعها في الحاضنة لمدة ساعة واحدة ، أما في عدم وجود ملح SDS فإن كثافة الخلايا تقل بشكل طفيف يمكن إهماله . أما بالنسبة للخلايا البكتيريا الغير معرضة للأشعة في وجود ملح SDS لا تقل كثافة الخلايا حتى بعد وضعها في الحاضنة لمدة أربع ساعات .

أما في حالة البكتيريا العنقودية البرتقالية فالنتائج في الشكل13 بينت بأن كثافة الخلايا المعرضة و الغير معرضة للأشعة في وجود SDS زاد بينما كثافة الخلايا المعرضة تقل في عدم وجود SDS .

أيضا أوضحت النتائج في الشكل12 و13 أن كثافة الضابط Control لخلايا بكتيريا القولون المعرضة لأشعة المايكروويف في عدم وجود SDS وقبل وضعها في الحاضنة تكون أقل من كثافة الضابط لخلايا البكتيريا العنقودية البرتقالية بالرغم من النتائج المتحصل عليها سابقاً في الشكل3 و4 و5 بينت أن معدل الاختزال الحيوي في البكتيريا العنقودية البرتقالية يكون أعلى عند التعرض لهذه الأشعة من معدل الاختزال الحيوي في بكتيريا القولون .



شكل12 : تأثير ملح SDS على بكتيريا القولون *E.coli* المعرضة والغير معرضة لأشعة المايكروويف .



شكل13 : تأثير ملح SDS على البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* المعرضة وغير معرضة لأشعة المايكروويف .

6.5 التأثير التعقيمي لأشعة فرن المايكروويف على بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية

Sterilizing effect of microwave oven radiation on *E. coli* and *S. aureus*

تتم عملية التعقيم في هذه الدراسة بواسطة تعريض المعلق البكتيري للأشعة لفترات زمنية مختلفة وعند قوى مختلفة ، حيث بينت النتائج أن تعريض كل من بكتيريا القولون و البكتيريا العنقودية البرتقالية للأشعة عند قوة 90 يحتاج إلى9 دقائق للتعقيم الكامل أي لا يظهر نمو على الوسط الغذائي ، أما عند تعريض هذه السلالات البكتيرية لقوة 360 فإنها تحتاج لمدة 3 دقائق للتعقيم و أخيرا عند تعريض هذه البكتيريا للأشعة عند قوة 600 فإنها تحتاج لمدة دقيقتين للتعقيم . أيضا بينت هذه الدراسة في الشكل1 أن عملية التعقيم بواسطة فرن المايكروويف تتم عند درجة حرارة أقل من درجة الغليان .

الفصل الخامس

المناقشة
Discussion

تعتبر حرارة المايكروويف أحدى الطرق المفيدة أثناء صناعة الغذاء وذلك لأن هذه الأشعة تكون آمنة وتنتقل في مكونات الغذاء Food content بسرعة وكذلك تكون مناسبة لأنواع عديدة من المنتجات الغذائية ، حيث تؤثر على حيوية الكائنات الدقيقة microorganisms Viability of المتواجدة في الغذاء حتى عند استخدامها لوقت قصير، وذلك لأن أشعة المايكروويف تتفاعل مع الماء المتواجد في المنتج الغذائي و تتولد حرارة نتيجة لتسارع الأيونات و دوران الجزيئات ثنائية الكهربائية (Tochamp *et al* . , 2011) .

أوضحت هذه الدراسة في شكل1 و3 و4 إن درجة حرارة المعلق البكتيري suspension Bacterial المعرض لأشعة المايكروويف تزداد بزيادة زمن التعرض لهذه الأشعة وبالتالي ، فإن العدد الحيوي Viable countفي المعلق البكتيري يقل نتيجة لزيادة درجة الحرارة ، أيضا عند زيادة قوة الأشعة تزداد درجة الحرارة و بالتالـــي يقل العدد الحيوي للبكتيريا حيث يكون أقــل ما يمكــن عند أعلى قوة للأشعة وهذه النتائج تكون مشـــابه للنتائج المشار إليه بواسطة (Gedikli et al . , 2008) فيما يتعلق بدراسته عن تأثير القوى المختلفة لأشعة المايكروويف على سلالات بكتيرية مختلفة حيث أوضح أن اختزال العدد الحيوي للبكتيريا ناتج عن تكسير جدار الخلية بواسطة الحرارة المتولدة عند التعرض لأشعة المايكروويف . لقد أشار Tahir و آخرون 2009 أن معدل اختزال الخلايا البكتيرية يزداد مع زيادة زمن التعرض لأشعة المايكروويف ، وإن سبب هذا التأثير القاتل للبكتيريا Bactericidal effect يكون نتيجة لاختراق الموجات الكهرومغناطيسية للمادة الحيوية الرطبة والتي

تقوم بتسخين السوائل الخلوية الخارجية والداخلية External and internal cellular liquids عن طريق عملية نقل الطاقة من جزيئات الماء و الأيونات الذائبة . أيضا إن المعاملة بواسطة أشعة المايكروويف تسبب تغيير في طبيعة البروتينات التي بدورها تتجمع في السيتوبلازم و تحث على تكوين بروتينات مصدومة حرارياً Heat shock proteins وهذا يسبب ما يعرف بالتعطيل الميكروبيMicrobial inactivation . إن تأثير أشعة المايكروويف على الممرضات البكتيرية يعبر عنه في شكلين عن طريق تدمير الممرضات حرارياً و لاحرارياً ، حيث يكون التدمير الحراري مفتعل بواسطة تسخين المنتج في فرن المايكروويف حتى تصل الحرارة إلى معدلات يتم عندها تدمير الممرضات Pathogens . أبحاث عديدة استنتجت أن تدمير الممرضات بواسطة هذه الأشعة يكون نتيجة للتأثير اللاحراري (Lakins *et al.* , 2008) . و أشار Coder و آخرون 2010 إن هناك أربع نظريات تشرح عملية تعطيل نشاط الكائنات الدقيقة بواسطة التأثير اللاحراري لأشعة المايكروويف أو ما يعرف بالبسترة الباردة Cold pasteurization وهذه النظريات تكون كالأتي : نظرية التسخين الانتقائي Selective heating theory وعملية الإدخال الكهربائي Electroporation و تفجير غشـــاء الخلية و أخيراً عمليـــة اقتـــران المجـــال المغنـــاطيسي Magnetic field coupling ، و تقول نظرية التسخين الانتقائي أن أشعة المايكروويف تسخن الكائنات الدقيقة وتكون أكثر فاعلية من الوسائل الأخرى وتسبب قتل أسرع للكائنات . أما عملية الإدخال الكهربائي فتحدث عندما الجهد الكهربائي يعبر غشاء الكائن الدقيق وبالتالي يسبب في تكوين فتحات في الغشاء التي ينتج عنها فقد في المحتويات الخلوية و يحدث تدمير لغشاء الخلية نتيجة لنقص الجهد الكهربائي في الغشاء وبالتالي يقوم المجال المغناطيسي بتدمير المكونات الداخلية للخلية وهذا يؤدي إلى تحلل الخلية Cell lysis . وينتج عن هذا التأثير تدمير البكتيريا عند درجات حرارة أقل من استخدام الحرارة وحدها (Lakins et al . , 2008) . أيضا هناك أدلة أخرى على

وجود التأثيرات اللاحرارية لأشعة المايكروويف من هذه الأدلة عند تعرض بعض الأنواع البكتيرية لأشعة المايكروويف فإن الأنشطة الإنزيمية Enzymatic activity تتأثر بطريقة مختلفة تماما عن الذي يحدث عند تعرض هذه البكتيريا لطرق الحرارة العادية (Banik *et al* . , 2003) . حيث أثبتت النتائج التي تحصلنا عليها في الشكل2 و4 أن هناك تأثيراً لاحرارياً لأشعة المايكروويف ، فعند درجة حرارة أقل من40مْ يحدث اختزال في العدد الحيوي للبكتيريا . هذه النتيجة تكون عكس ما أشار إليه Tahir وآخرون 2009 حيث بين إن أشعة المايكروويف ليس لها تأثير لاحراري على العدد الحيوي للبكتيريا .

لقد بينت النتائج في هذه الدراسة أن أشعة المايكروويف لها تأثير حراري ولاحراري على كلٍ من بكتيريا القولون *E.coli* و البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* ، كما بينت هذه النتائج في الشكل1 و2 أن تأثير أشعة المايكروويف يكون أقوى على البكتيريا العنقودية البرتقالية من بكتيريا القولون و يرجع السبب في ذلك إلى أنه عند تعرض هذه البكتيريا لأشعة المايكروويف فإن معدل اختزال العدد الحيوي في البكتيريا العنقودية البرتقالية يكون أعلى من معدل اختزال العدد الحيوي في بكتيريا القولون . هذه النتيجة تتفق بشكل أو بآخر مع (Tahir *et al* . , 2009) فيما يتعلق بدراسته عن تأثير أشعة المايكروويف على سلالات بكتيرية مختلفة عند التعرض لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة ، حيث بين إن البكتيريا الموجبة لصبغة جرام تكون أكثر حساسية لأشعة المايكروويف من البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، و السبب يكون نتيجة للاختلاف في المكونات الكيميائية في جدار الخلية لبكتيريا الموجبة لصبغة جرام عن البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، أيضا إن المحتوى الدهني للجدار البكتيريا السالبة لصبغة جرام يكون أكثر مقاومة لأشعة المايكروويف . أيضا أوضح (Woo *et al.* 2000) أن الخلايا البكتيرية سواء كانت موجبة أو سالبة لصبغة جرام عند تعريضها لأشعة المايكروويف يحدث بها تحرر لمادة الوراثية في

المعلق البكتيري ، لكن كمية المادة الوراثية المتحررة تكون أكبر في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام من البكتيريا السالبة لصبغة جرام وهذا دليل على أن البكتيريا الموجبة يحدث بها تدمير أكثر في الغشاء من البكتيريا السالبة لصبغة جرام عند التعرض للأشعة . لقد أثبتت الدراسات أن غشاء الخلية البكتيرية المعرضة لأشعة المايكـــروويف يتحطم عندما تكون كثافة الأشعـــة و درجـــة الحرارة عالية كذلك تسبب هـــذه الأشعـــة نقص في النشاط الإنزيمي في الخلية البكتيرية Hong *et al* . , 2004). أيضا لأشعة المايكروويف القدرة على تدمير الروابط التساهمية و الكيميائية بجزئي الحامض النووي DNA وبالتالي يحدث تدمير للحامض النووي ولكن لا تتم هذه العملية إلا بعد تدمير غشاء الخلية البكتيرية (Hong *et al* . , 2004) .

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية يمكن أن تحضر صناعيا أو تفرز بواسطة الكائنات الدقيقة مثل البكتيريا والأكتينومايستات وغيرها من الكائنات الدقيقة الأخرى . حيث تسبب في موت الخلايا البكتيرية ويطلق عليها Bactericidal drugs أو تسبب تثبيط نمو الخلايا البكتيرية ويطلق عليها Bacteriostatic drugs . وفي هذه الدراسة تم معاملة كلٍ من بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة لأشعة المايكروويف لفترات زمنية مختلفة وقـــوى مختلفة بواسطة مجموعة مـــن المضـــادات الحيوية ، الأمـــوكيسيلين Amoxicillin و الفانكومـــايســـين Vancomycin التي تســـبب في تثبيـــط تخليق جـــدار الخلية البكتيرية Inhibition of bacterial cell wall synthesis و الإيرثرومايسين Erythromycin والجينتاميسين Gentamicin التي تسبب في تثبيط تخليق البروتين Inhibition of protein synthesis في الخلية البكتيرية . حيث أوضحت النتائج في الشكل6 و7 و8 و9 و10 و11 أن بكتيريا القولون تكون مقاومة لمعظم المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة على عكس البكتيريا العنقودية البرتقالية التي توضح بدورها حساسية كبيرة لمعظم هذه المضادات ، ويرجع السبب في ذلك إلى أن بعض الخلايا البكتيرية تمتلك قدرة هائلة لمنع دخول

الجزيئات الصغيرة وهذه الخاصية تكون أكثر فاعلية في البكتيريا السالبة لصبغة جرام من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وذلك لأن الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة لصبغة جرام يعمل كحاجز فعال حيث يشكل خط دفاع أول Frist line defence ضد العوامل المضادة للبكتيريا بينما البكتيريا الموجبة لصبغة جرام لا تحتوي على غشاء خارجي و بالتالي تفقد خاصية خط الدفاع الأول (Jayaraman ; 2009) ، و لقد بين Tenover 2006 أن مقاومة البكتيريا للعوامل المضادة للبكتيريا Antimicrobial agents تظهر نتيجة لحدوث طفرات Mutations أو نتيجة لاكتساب البكتيريا معلومات وراثية Genetic information من بكتيريا أخرى وتتم هذه العملية عن طريق آليات وراثية عديدة تتمثل في الآتي :

أولاً : النقل المباشر للمعلومات الوراثية Transformation حيث تكتسب البكتيريا قطع من المادة الوراثية DNA من DNA مكمل DNA complement المتحرر في البيئة نتيجة لتحلل بكتيريا أخرى .

ثانياً : الاقتران Conjugation حيث يتم في هذه العملية نقل البلازميد Plasmid الذي يحتوي على الجين المقاوم إلى البكتيريا المجاورة بواسطة تركيب بروتيني مطول Elongated proteinaceous structure حيث يربط بين الكائنين .

ثالثاً : الحمل بالفاج Transduction خلال هذه العملية يحدث نقل للجينات المقاومة Resistance genes من بكتيريا إلى بكتيريا أخرى عن طريق الفيروسات البكتيرية Bacteriophages .

أوضحت النتائج التي تحصلنا عليها من هذه الدراسة أن كلٍ من بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية البرتقالية تصبح أكثر حساسية لبعض المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة خاصة عند تعرضها لأشعة المايكروويف لزمن طويل وقوة أشعة عالية و تتفق هذه النتيجة مع Gaafar و آخرون 2006 الذين درسو تأثير المجال الكهرومغناطيسي على قابلية بكتيريا *E. coli*

للمضـــادات الحيوية ، حيث وجدو أن المجال الكهرومغناطيسي يؤثر في آلية عمل المضادات الحيوية التي تعمل على الخلايا البكتيرية المعرضة لهذا المجال . لقد أشار Rassam في 2010 أن زيادة حساسية الخلايا البكتيرية للمضادات الحيوية قد تكون ناتجة عن تغيير نظام الضخ Efflux pump في البكتيريا الذي يكون مسئولاً عن مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية مثل (البيتا لاكتامات و أمينوجليكوسيدات) ، كذلك إن عجز البكتيريا لإنتاج إنزيمات متخصصة التي تقيد عمل المضادات الحيوية يكون سبب آخر لزيادة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .

هناك العديد من الآليات التي من خلالها تستطيع البكتيريا مقاومة المضادات الحيوية و من هذه الآليات :

أولا : اكتساب البكتيريا جينات تشفر إنزيمات مثل بيتا لاكتاميز B-lactamases التي تكسر العامل المضاد للبكتيريا قبل أن يسبب في أي تأثير .

ثانيا : اكتساب البكتيريا مضخات طرد Efflux pumps التي تطرد العامل المضاد للبكتيريا من الخلية قبل أن يصل إلى الهدف الخاص به .

ثالثا : اكتساب البكتيريا جينات تغير المسار الايضي مثلا جينات تبدل الجدر الخلوية للبكتيريا و تصبح لا تحتوي على مكان ربط خاص للعامل المضاد للبكتيريا أو البكتيريا تكتسب طفرات تمنع دخول العامل المضاد للبكتيريا إلى مكان الهدف الموجود داخل الخلية بواسطة تغيير في الجينات الخاصة بمسامات الغشاء (Tenover , 2006) . لقد بينت النتائج في الشكل11 و الجدول10 أن التأثير اللاحراري للأشعة المايكروويف ينتج عنه بكتيريا عنقودية برتقالية أقل حساسية للمضادات الحيوية خصوصا الأموكسيلين الذي يعمل على تثبيط تخليق جدار الخلية . ومن جهة أخرى التعرض لأشعة المايكروويف يمكن أن يزيد من مقاومة البكتيريا للمضادات ، حيث أشار Saz وآخرون1951 أن الأشعة Irradiation تسبب زيادة في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وذلك لأن الأشعة تزيد معدل

الطفرة Mutation rate وتسبب مايعرف بالطفرات التلقائية Spontaneous mutations . ومن الطفرات التلقائية التي تسبب مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية الأتي :

1. تبديل البروتين الهدف وذلك عن طريق حذف أو تغيير في مكان الربط مثل تغيير بروتينات ربط البنسيلين Penicillin binding proteins 2b في بكتيريا Pneumococci التي تكون مقاومة للبنسيلين .

2. إنتاج إنزيمات تعطل العامل المضاد للبكتيريا مثل إنزيم الميثايليز الريبوسومي للإيرثرومايسين Erythromycin ribosomal methylase في بكتيريا المكورات العنقودية Staphylococci .

3. تبديل القنوات البروتينية الموجودة في الغشاء الخارجي التي تحتاجها الأدوية للدخول إلى الخلية مثل OmpE في بكتيريا القولون *E.coli* .

4. وجود مضخات الطرد Efflux pumps التي تطرد الأدوية من الخلية مثل مضخات طرد الفلوروكوينولات Fluoroquinolones في البكتيريا العنقودية البرتقالية *S.aureus* . أيضا من آلية مقاومة البكتيريا العنقودية البرتقالية للمضادات الحيوية B-Lactm هي تبديل الأهداف في جدار هذه البكتيريا وذلك يتم عن طريق اكتساب جين مقاوم يعرف بـ *mecA* الذي يشفر بروتين ربط البنسيلين جديد PBP2a وهذا ينتج عنه نقص في انجذاب أدوية البيتا لاكتامات إلى البكتيريا (Tenover , 2006) .

SDS (Sodium dodecyl sulphate) هو عبارة عن ملح يعمل كمادة منظفة ويقوم بتكسير الخلايا البكتيرية عن طريق تفجير غشاء الخلية خاصة عند تعرض هذه الخلايا لإجهاد يسبب خلل في ثبات الغشاء الخلوي وبالتالي تصبح هذه الخلايا عرضة لتفجير بواسطة SDS أكثر من الخلايا الطبيعية والغير معرضة لأي إجهاد (Tiwari *et al* . , 2008) . لقد بينت النتائج في الشكل12 و13

أن كثافة الخلايا Cell density في بكتيريا القولون المعرضة لأشعة المايكروويف تقل عند وجود SDS بشكل واضح ، أما في عدم وجود SDS فإن كثافة الخلايا لا تتأثر و يحدث العكس في البكتيريا العنقودية البرتقالية حيث تزداد كثافة الخلايا المعرضة لأشعة المايكروويف عند وجود SDS . وهذه النتائج تكون مشابه لما أشار إليه (Woo *et al* . , 2000) فيما يتعلق بدراسته عن تأثير ملح SDS على كل من بكتيريا *E. coli* و بكتيريا *B. subtilis*. المعرضة و الغير معرضة لأشعة المايكروويف ، حيث أوضح أن الخلايا المعرضة لهذه الأشعة تصبح معطلة Inactivition وغير متحللة في المعلق ولكن في وجود SDS تكون حساسة جدا وتتحلل بينما الخلايا الغير معرضة للأشعة تكون مقاومة لملح SDS ، أما بالنسبة للبكتيريا العنقودية المعرضة للأشعة فتكون مقاومة لملح SDS وذلك نتيجة لسماكة وصلابة جدار الخلية في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام .

تعتبر المواد المنظفة الأنيونية مثل SDS من المواد التي تسبب انحلال مباشر للخلية البكتيرية وذلك لأنها تتفاعل مع الشطر البروتيني و الدهون في غشاء الخلية في نفس الوقت أي تتفاعل مع المعقد البروتين الدهني Lipoprotein complex (Cilby & Few , 1960) . أيضا وجد كلٍ من Shafa و Salton 1960 أن آلية عمل ملح SDS تكمن في تفاعل هذا الملح مع الدهون والبروتينات الدهنية و عديدات التسكر الدهنية في جدار البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، كما أوضحا أن هذه الآلية أكثر دقة مما استنتج في دراسات سابقة والتي تقول إن آلية عمل SDS تكمن في تغيير طبيعة البروتينات عن طريق تدمير الروابط ثنائية الكبريت -S-S- bonds .

أيضا النتائج بينت أن كثافة خلايا البكتيريا العنقودية البرتقالية المعرضة للأشعة المايكروويف أعلى من بكتيريا القولون مع إن معدل اختزال العدد الحيوي يكون أعلى في البكتيريا العنقودية البرتقالية من بكتيريا القولون عندما تكون كل منهما معرضة للأشعة . يعود السبب في ذلك إلى أن

البكتيريا الموجبة لصبغة جرام تكون معطلة بواسطة حرارة المايكروويف أكثر من البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، وكذلك عنـــد مشاهـــدة الخلايا البكتيرية تحت المجهـــر الإلكتـــروني Electron microscope وجد أن أسطح الخلايا السالبة لصبغة جرام الغير معرضة للأشعة تكون ملساء بينما معظم الخلايا المعرضة تكون منتفخة و خشنة ، أما بالنسبة للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، فإن أسطح الخلايا سواء المعرضة أو الغير معرضة للأشعة تكون ملساء وبالتالي ، فإن الخلايا تكون معطلة وغير متحللة في المعلق البكتيري (Woo *et al.* , 2000) .

تستخدم طاقة المايكروويف في تعقيم و بسترة الغذاء عند درجات حرارة أقل و في زمن أقصر من الضروري في طرق الحرارة العادية (Tochampa *et al.* , 2011) . حيث أوضحت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال هذه الدراسة أن زمن التعرض لأشعة المايكروويف لكي تتم عملية التعقيم يختلف مع اختلاف قوة الأشعة ، فعندما تكون قوة الأشعة عالية يحدث التعقيم في زمن قصير وعندما تكون قوة الأشعة منخفضة نحتاج زمن أطول لكي تتم عملية التعقيم . وهذه النتيجة تتفق مع النتيجة التي تحصل عليها Abdul و آخرون 2011 أثناء تعقيم الوسط الغذائي الخاص بالفطريات Mushroom growth media بواسطة فرن المايكروويف حيث أوضحت هذه النتائج أن الاختلاف في قوة المايكروويف يؤدي إلى اختلاف في درجة تدمير الكائنات الدقيقة ، فعندما تكون قوة المايكروويف عالية يحدث تدمير هائل للكائنات الدقيقة في زمن قصير.

أيضا في هذه التجربة لوحظ أن التعقيم عند قوى مختلفة من أشعة المايكروويف يتم عند درجة حرارة أقل من نقطة الغليان Boiling point . ولقد كانت هذه النتائج مشابه لما أشار إليه Codre *et al.* , 2010) فيما يتعلق بتعقيم الحليب عند درجة حرارة أقل من درجة الغليان بواسطة أشعة المايكروويف . إن امتصاص أشعة المايكروويف يسبب في زيادة درجة حرارة الغذاء بسرعة و بالتالي تعمل هذه الحرارة على تعطيل الكائنات الدقيقة وتحدث عملية التعقيم و البسترة نتيجة لتدمير

الكائنات الدقيقة بواسطة التأثير الحراري للأشعة أو قد يكون التدمير ناتج عن التأثير اللاحراري الذي يسبب في قتل الكائنات الدقيقة عند درجات حرارة منخفضة .

الفصل السادس

الاستنتاج
Conclusion

نستنتج من هذه الدراسة التطبيقية ما يلي :

1. إن هناك تأثيرات حرارية و لاحرارية لأشعة المايكروويف على العدد الحيوي للخلايا البكتيرية سواء كانت سالبة أو موجبة لصبغة جرام Gram negative or gram positive .

2. إن التأثير الحراري لأشعة المايكروويف على البكتيريا يزداد بزيادة درجة الحرارة التي بدورها تزداد مع زيادة زمن التعرض وقوة الأشعة .

3. بالرغم من صلابة وسماكة جدار الخلية في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، إلا أنها تكون حساسة أكثر لأشعة المايكروويف من البكتيريا السالبة لصبغة جرام التي تكون اقل حساسية لهذه الأشعة ، ويرجع السبب إلى احتواء هذه البكتيريا على جدار غني بالدهون التي غالبا ما تكون مقاومة للأشعة وحتى بوجود هذه الميزة ، فإن هذه البكتيريا تتأثر بشكل كبير عند التعرض لهذه الأشعة لزمن طويل وقوة عالية .

4. عند تعريض البكتيريا سواء الموجبة أو السالبة لصبغة جرام لأشعة فرن المايكروويف لزمن طويل عند قوة منخفضة ولزمن قصير عند قوة عالية يتم القضاء على كل الميكروبات وعلى هذا الأساس يمكن استخدام فرن الاميكروويف للحصول على غذاء آمن ومعقم في فترة زمنية قصيرة بالمقارنة بطرق الطهي العادية .

5. إن الخلايا البكتيرية المعرضة لأشعة المايكروويف وخاصة السالبة لصبغة جرام تكون معطلة وحساسة لتحلل بسهولة في وجود ملح SDS الذي يقوم بتفجير غشاء الخلية البكتيرية المعرضة لأي

إجهاد يسبب فقدان ثبات الغشاء . أما بالنسبة للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام تكون مقاومة لملح SDS نتيجة لصلابة وسماكة جدار الخلية Cell wall .

6. إن أشعة المايكروويف تسبب تغيير في قابلية الخلايا البكتيرية للمضادات الحيوية ، فعند تعريض الخلايا البكتيرية للأشعة لزمن طويل وقوة عالية تزداد حساسية هذه الخلايا لمعظم المضادات الحيوية وهذا دليل على حدوث طفرات في الخلايا البكتيرية المعرضة للأشعة وهذه الطفرة قد تكون في الجين المسئول عن إنتاج الإنزيمات التي تعطل عمل المضادات أو نتيجة لحدوث طفرة تبدل القنوات البروتينية فتتغير نفاذية الغشاء .

المراجع

References

1. Abdul , A , M. Rozainee & M. Mutahharah . 2011 . Microwave sterilization of mushroom production media . Waste Management Bio. Technol. . 1 : 1- 11 .

2. Aitken , C. & D. Ironmonger. 1996 . Impacts of the domenstic microwave oven . Prometheus . 2(14) :168-178 .

3. Almajhdi , F. N. , H. Albrithen, H. Alhadlaq, M. A. Farrag & A. Abdel-megeed . 2009 . Microorganisms inactivation by microwave irriadiation in Riyadh sewage treatment water plant . World Appl. Sci. J. . 6(5) : 600-607 .

4. Andersson , D. I. . 2005 . The ways in which bacteria resist antibiotics . Int. J. Risk Safety Med. . 17 : 111-116 .

5. Banki , S. ,S. Bandyopadhyay & S. Ganguly . 2003 . Bioeffects of microwave – abrief review . Bioresource Technol. . 87 : 115-159 .

6. Belyaev , I. Y. , V.S. Shcheglov , E. D. Alipov & V. D. Ushakov . 2000 . Nonthermal effects of extremely high-frequency microwaveson chromatin conformation in cells in vitro-dependence on physical , physiological , and genetic factors . Ieee Trans. Microw. Theory Tech. . 48(11) : 2172-2179 .

7. Bertrand , K. . 2005 . Microwave foods . Food Tech. .59(1) : 30-34 .

8. Bookwalter , G. N. , T. P. Shukla & W. F. Kwolek . 1982 . Microwave processing to destroy Sallmonellae in corn-soy-milk blends and effect on product quality . J. Food Sci. . 47(5) : 1683-1686 .

9. Cheesbroug , M. . 1984 . Medical laboratory manual for tropical countries . ELBS . England .

10. Cilby A. R. & A. V. Few . 1960 . Lysis of protoplasts of Micrococcus lysodeikticus . J. Gen. Microbiol. . 23 : 19-26 .

11. Coder , A. D. , O. Rotaru . L. Giurgiulescu , F. Boltea , L. Crisan &^ B. Neghelea . 2010 . Preliminary researches regarding the microwaves influence on the milk microflora . Fascicula Biol. . 103-107 .

12. Drew , W. L. , A. L. Barry , R. O. Toole & J. C. Sherris . 1972 .Reliability of the Kirby –Bauer disc diffusion method for detecting methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* . Appl. Microbiol. . 24(2) : 240-247 .

13. Dreyfuss , M. S. & J. R. Chipley . 1980 . Comparison of effects of sublethal microwave radiation and conventional heating on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus* . Appl. Environ. Microbiol. . 39(1) : 13-16 .

14. El-badry , N. . 2010 . Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formation in chicken meat . World Appli. Sci. J. . 9(9) : 963-974 .

15. Erdogrul , O. & E. Cakiroglu . 2004 . Presence of *Yersinia enterocolitica* in minced meat exposed to heat treatment in microwave oven . Ann. Microbiol. . 54(3) : 283-288

16. Ferriss , R. S. . 1984 . Effect of microwave oven treatment on microorganisms in soil . Phytopathol. . 74(1) : 121-126 .

17. Fujkama , H. , H. Ushioda & Y. Kudo . 1992 . Kinetics of Esherichiaa coli destruction by microwave irradiation . Appl. Environ. Microbiol. . 58(3) : 920-924 .

18. Gaafar , E. A. , M. S. Hanafy , E. Y. Tohamy & M. H. Ibrahim . 2006 . Stimulation and control of *E. coli* by using an extremely low frequency magnetic field . Romanian J. Biophys. . 16(4) : 283-296 .

19. Gedikli ,S. , O. Tabak , O. Tomsuk & Cabuk . 2008 . Effect of microwave on some gram negative and gram positive bacteria . J. Appl. Biol. Sci. . 2(1) : 67-71 .

20. Gorny , R. L. , G. Mainelis , A. Wlazlo , A. Niesler , D. O. Lis , S. Marzec , E. Siwinska , B. Ludzen-Izbinska , A. Harkawy & J. Kasznia-Kocot . 2007 . Viability of fungal and actinomycetal spores after microwave radiation of building materials . Ann. Agric. Environ. Med. . 14 : 313-324 .

21. Hill , A. . 1998 . Microwave ovens . ILSI . Europe .

22. Hong , S. M. , J. K. Park & Y. O. Lee . 2004 . Mechanism of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliforms from biosolids . Water Res. . 38 : 1615-1625 .

23. Hosseini , F. , F. Malekzadeh , N. Amirmoz Fari & N. Ghaemi . 2007 . Biodegradation of anionic surfactants by isolated bacteria from activated sludge . Int. J. Environ. Sci. Tech. . 4(1) : 127-132 .

24. Huang , L. & J. Sites . 2007 . Automatic control of a microwave heating process for beef frankfurters . J. Food Eng. . 80 : 226-233 .

25. Jamshidi , A. , A. Ghasemi & A. Mohammadi . 2009 . The effect of short – time microwave exposures on Salmonella typhimurium inoculated onto chicken drumettes . Iranian J. Vet. Res. Shiraz Univ. . 10(4) : 378-381 .

26. Jayaraman , R. . Antibiotic resistance : an overview of mechanisms and a paradigm shift . 2009 . Current Sci. . 96(11) : 1475-1482 .

27. Jeng , D. K. H. , K. A. Kaczmarek , A. G. Woodworth 7 G. Balasky . 1987 . Mechanism of microwaves sterilization in the dry state . Appl. Environ. Microbiol. . 53(9) : 2133-2137 .

28. Kohanski , M. A. , D. J. Dwyer & J. J. Collins . 2010 . How antibiotics kill bacteria : from targets to net work . 8 : 425-435 .

29. Lakins ,D. G. , C. Z. Alvarado ,L. D. Thompson , M. T. Brashears , J. C. Brooks & M. M. Brashears . 2008 . Reduction of *salmonella entritidis* in shell eggs using directional microwave techanology . Poultry Sci. . 87 : 985-991 .

30. Latimer , J. M. & J. M. Matsen . 1977 . Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory . J. Clin. Microbiol. . 6(4) : 340-342 .

31. Lienkamp , K. , K. N. Kumary , A. Som , K. Nusslein & G. N. Tew . 2009 . Doubly selective antimicrobial polymers : How do they differentiate between bacteria . Chem. Eur. J. . 15 : 11710-11714 .

32. Luo , Z. , X. He ,X. Fu , F. Luo & Q. Gao . 2006 . Effect of microwave radiation on the physicochemical properties of normal maize , waxy maize and amylomaize V starches . Starch . 58 : 468-474 .

33. Mamza , S. A. , G. O. Egwu & G. D. Mshelia . 2010 . Beta – lactamase *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from chickens in Nigeria . Vet. Ital. . 46(2) : 155-165 .

34. Obiazia , H. A. K. , O. P. G. Nmorsi , A. O. Ekundayo & N. C. D. Ukwandu . 2007 . Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* from clinical isolated grown at 37 and 44 C° from Irrua , Nigeria . Afr. J. Microbiol. Res. . 057-060 .

35. Olowe , O. A. , B. M. Okanlawon , R. A. Olowe & A. B. Olayemi . 2008 . Antimicrobial resistant pattern of Escherichia coli from human clinical samples in Osogob , south western Nigeria . Afr. J. Microbiol. Res. . 2 : 008-011 .

36. Oz, F. , G. Kaban & M. Kaya . 2010 . Effect of cooking techniques and levels on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and fish . J. Animal Vet. Adv. 9(8) :1259-1264 .

37. Pucciarelli , A. B. & F. O. Benassi . 2005 . Inactivation of *salmonella enteritidis* on raw poultry using microwave heating . Brazil. Arch. Biol. Techanol. . 48(6) : 939-945 . 38. Rassam ,Y. Z. . 2010 . Effect of laser light on virulence factors and antibiotic susceptibility of locally isolated *Pseudomonas aeruginosa* . J. Appl. Sci. Res. . 6(8) : 1288-1302 .

39. Russi , N. B. , G. Bantar & L. F. Calvinho . 2008 . Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in Argentine dairy herds . Res. Argentina Microbiol. . 40 : 116-119 .

40. Sanborn , M. R. , S. K. Wan & R. Bulard . 1982 . Microwave sterilization of plastic tissue culture vessels for reuse . Appl. Environ. Microbiol. . 44(4) : 960-964 .

41. Saz , A. K. , H. Eagle & J. N. Toal . 1951 . The effect of ultraviolet irradiation on the development of resistance of bacteria to antibiotics . Soc. Am. Bacteriol. .(63) : 513-523 .

42. Shafa , B. F. & M. J. Salton . 1960 . Disaggregation of bacterial walls by anionic detergents . J. Gen. Microbiol. . 22 : 137-141 .

43. Sripakdee , D. , K. L. Sukotason , S. Piangjai , R. Ngern –Klun & K. Sukotason . 2005 . Effect of microwave irradiation on the blow fly *Chrysomya megacephala* (F) (Diptera : calliphoridae) . Faculty Med. . 36(4) : 893-895 .

44. Sun , X. , J. Y. Hwang , X. Huang , B. Li , & S. shi . 2005 . Effect of microwave on molten metals with low melting temperatures . J. Mineral Matr. Characterization Eng. . 4(2) : 107-112

45. Suo ,Z. , R. Avci , M. Deliorman , X. Yang & D. W. Pascual . 2009 . Bacteria surive multiple puncturing of their cell walls . Langmuir . 25(8) : 4588-4594 .

46. Tahir , A. , B. Mateen , S.Univerdi , O. Karagoban & M. Zengin . 2009 . Simple method to study the mechanism of thermal and nonthermal bactericidial action of microwave radiations on different bacterial species . J. Bacteriol. Res. . 1(5) : 058-063 47.

Tanaka , Y. , S. Fujiwara , D. Kataoka , T. Takagaki ,S. Takano, S. Honda , M. Katayose , Y. Kinosita & Y. Toyoshima . 1998 . Warming and sterilizing towels by microwave irradiation . Yonago Acta Med. . 41 : 83-88 .

48. Tenover ,F. C. . 2006 . Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria . Am. J. Med. . 199(6) : S3-S10 .

49. Tiwari , D. K. , J. Behari & P. Sen . 2008 . Time and dose – dependent antimicrobial potential of Ag nanoparticles synthesized by top- down approach . Current Sci. . 95(5) : 647-655 .

50. Tochampa , W. , N. Jitterpotch , T. Kongbangkered , K. Kraboun &^ K. Rojsuntornkitti . 2011 . The study of microwave heating time on chemical and microbiological properties and sensory evaluation in sweet fermented glutinous rice (khao-Mark) . Int. Food Res. J. . 18 : 239-248 .

51. Vela , G. R. & J. F. Wu . 1979 . Mechanism of lethal action of 2.450-MHZ radiation on microorganisms . Appl. Environ. Microbiol. . 550-553 .

52. Welt , B. A. , C. H. Tong , J. L. Rossen & D. B. Lund . 1994 . Effect of microwave radiation on inactivation of clostridium sporogenes (PA3679) spores . Appl. Environ. Microbiol. . 60(2) : 482-488 .

53. Wesierska , E. & T. Trziszka . 2007 . Effect of concentrated microwave field on bacteria reduction and physical properities of egg white . Medycyna Wet. . 63(4) : 421-424 .

54. Woo , I. , I. Rhee & H. Park . 2000 . Differential damage in bacterial cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure . Appl. Environ. Microbiol. . 66(5) : 2243-2247 .

Summary

This study has been carried out in order to test the effect of microwave radiation on the viability of cells of the bacterial species such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* . These bacterial strains were selected because they cause food contamination the food and are pathogenic to human . Data which actually obtained during this work indicated that microwave radiation had both thermal and nonthermal bactericidal . Gram positive bacteria such as *S. aureus was* more sensitive to microwave radiation comparing with Gram negative bacteria such as *E. Coli* . These differences may due to the differences of the bacterial cell wall structure . Exposure of bacteria cells to the microwave radiation at long exposure time and high power lead to actual death of cells and high performance of sterilization . Our experiments indicated that microwave radiation treated the bacterial cells became inactivate and highly sensitive to lysis by SDS especially *E. coli* , on other hand *S. aureus* was resistant to SDS because of their thick and rigid cell wall . The microwave exposed cells are more sensitivity to antibiotic than unexposed cells especially at high exposed time and power , this is evident of microwave radiation cause a changes in antibiotic mode action .