

التأثير التضادي لأبوال الإبل على البكتريا المقاومة للميثيسيلين *Staphylococcus aureus* المعزولة من عينات طبية

صالحة حسن مستور الزهراني، و أسماء أحمد الحربي

كلية العلوم للنبات، جامعة الملك عبدالعزيز، جدة

shaalzahrani@kau.edu.sa

المستخلص: أوضحت دراسة تأثير عينات من أبوال الإبل (الطازح، محفوظة لمدة سنة عند ٥ °م، وكذلك لمدة سنة، ودرجة حرارة المعمل ٢٥-٣٣ °م على نمو ست عزلات من *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين MRSA، منها ٤ عزلات مقاومة للميثيسيلين، وتحتوي على الجين *mecA* *S. aureus* Rm.1، *S. aureus* Rm.3، *S. aureus* Rm.24، *S. aureus* Rm.5، وعزلتان مقاومة للميثيسيلين لا تحتوي على جين *mecA*، *S. aureus* R.23 و *S. aureus* R.30. أكدت جميع النتائج القدرة التنشيطية العالية لأبوال الإبل للعزلات المختارة سواء أبوال الإبل غير المخزنة أو المحفوظة لمدة سنة عند ٥ °م و ٢٥-٣٣ °م. وكان أفضلها تنشيطاً لنمو العزلات المختبرة الأيوال المحفوظة عند ٥ °م لمدة سنة، كما كانت أبوال الإبل غير المعقمة لجميع العينات هي الأكثر تنشيطاً لنمو البكتريا المقاومة للميثيسيلين خاصة في البيئات السائلة. تم عزل وتعريف بعض العزلات البكتيرية من أبوال الإبل منها بكتيريا *E. coli* والتي ثبتت نمو ثلاث

عزلات MRSA تحتوي على الجين *mecA*، ومنها أيضاً عزلات تنتمي لبكتيريا حمض اللاكتيك والتي تثبتت نمو جميع عزلات البكتيريا المختبرة MRSA.

المقدمة

تمثل البكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين MRSA مشكلة كبرى خاصة في المستشفيات.^[1] إذ كثرت في السنوات الأخيرة حالات الإصابة ببكتيريا داخل المستشفيات، مما أدى إلى ظهور تعبير خاص يعرف Hospital infections حيث تصيب هذه البكتيريا الجروح المعقمة أو النظيفة أثناء أو بعد العمليات الجراحية. وغالباً ما تكون الإصابات ناتجة عن سلالات مقاومة للمضادات الحيوية مما يزيد الحالة سوءاً وصعوبة^[2]، ويطلق تعبير Hospital infections على أي عدوى صحية تسبب المرض والتي يكون لها فترة حضانة عندما يدخل المريض إلى المستشفى، وغالباً ما تظهر بعد مضي ٤٨ ساعة. وقد أظهرت الدراسات الحديثة ارتفاعاً ملحوظاً في نسبة انتشار هذه البكتيريا داخل المستشفيات مما يرجح أن يكون مصدر العدوى من داخل بيئة المستشفى ذاتها، وهناك محاولات كثيرة تبذل للحد من انتشار هذه البكتيريا والأوبئة الناتجة عنها. وتعتبر البرامج المعدة لذلك مكلفة للغاية، وتتطلب إمكانيات كبيرة حتى للبلدان المتقدمة. وتكمن صعوبة علاج الأمراض الناتجة عن هذه البكتيريا في عدم استجابتها للعديد من مضادات الحيوية الشائعة الاستخدام، مثل: مجموعات البنسلين بكل أنواعها وكذلك Erythromycin, Cephalosporine, Aminoglycoside, Clindamycin, Chloramphenicol Tetracycline and Quinolone^[3]. وتوجد *S.aureus* تقريباً بنسبة ٢٥٪ إلى ٣٠٪ من المستعمرات الطبيعية، و٠,٢٪ إلى ٧٪ منها MRSA^[4]. كل ذلك جعل الباحثين يتخذون إجراءات فعالية للسيطرة على العدوى، وتطوير طرق حساسة لكشف العدوى وتعريف الجين الخاص بهذه البكتيريا التي يجعلها مقاومة لمضادات

الحيوية^[٥]، وعلى الرغم من الكمية الهائلة من العقاقير المضادة للبكتيريا العقنودية antistaphylococcal التي استخدمت في السنوات الأخيرة، فإن معدل الإصابة بهذه البكتيريا لا يزال مرتفعاً في معظم البلدان. وهذا يتطلب البحث المستمر عن الجديد من المواد المضادة، وكذلك تطوير العلاجات البديلة وأسرع التشخيص لضمان فعالية العلاج المضاد لبكتيريا (S. aureus) في المستقبل^[٦]. وقد يكون في إيجاد مصادر جديدة وآمنة في القضاء عليها تكون بديلة للمواد والمركبات المتكونة صناعياً والمنتجة معملياً ذات الآثار الجانبية الخطيرة، ولأن الطبيعة هي المصدر الأساسي للعديد من العقاقير فقد أمدتنا بالعديد من الأدوية التي نستخدمها اليوم سواء كانت ذات أصل نباتي أو حيواني. ومن المصادر الحيوانية تعتبر أبوال الإبل من المصادر الطبية الهامة التي وردت في الأحاديث النبوية الشريفة، وقد أوضحت الدراسات أن بول الإبل يمكن استخدامه كمضاد حيوي يخلو من الآثار الجانبية على الإنسان، والتي وجدت في المضادات الحيوية المكتشفة، والتي قد تظهر لها أعراض جانبية بعد عدة سنوات من استخدامها، أما أبوال الإبل فقد استخدمت من قبل الإنسان بتوجيه من النبي صلى الله عليه وسلم الذي يوحى إليه من الخالق سبحانه وتعالى^[٧]، وقد كان العرب في الماضي يستخدمون أبوال الإبل في علاج الجروح، والقروح، وأمراض الأمعاء فيشفون من أمراضهم بإذن الله^[٨]. بالإضافة إلى أن هناك اتجاه كبير في الوقت الحالي لإجراء أبحاث لدراسة تأثيرها على بعض الأمراض المستعصية، مثل: السرطان، والصدفية، وغيرها؛ كذلك تثبيطها لنمو الكائنات الدقيقة وقد ذكرت بعض الدراسات أن لأبوال الإبل تأثير فعال على العديد من مسببات الأمراض شملت الفطريات، الخميرة، والبكتريا الممرضة^[٩-١٢]. كما أوضحت الدراسات أن أبوال الإبل ليس لها تأثير ضار على التركيب النسيجي لكلى وكبد الفئران حتى عند استخدامه بتركيز ١٠٠%^[١٣،١٤]، مما يشير إلى أهمية دراسته كمادة علاجية، ومصدر هام للمضادات الحيوية، والذي

قد يظهر فعالية ضد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية مثل: البكتيريا المختبرة في هذه الدراسة.

لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو بحث ومعرفة مدى تأثير أبوال الإبل على البكتيريا العنقودية المقاومة للميثسليين MRSA التي تحتوي أو لا تحتوي على الجين *mecA*.

مواد وطرق البحث

I - البكتيريا: استخدمت في هذه الدراسة سلالات من بكتيريا *Staphylococcus aureus* مقاومة للميثسليين MRSA تحتوي أو لا تحتوي على الجين *mecA* وقد عزلت من عينات طبية، تم تعريفها في دراسة أخرى بناء على الطرق الموصوفة^[١٥].

II - عينات أبوال الإبل: جمعت عينات من أبوال الإبل من إناث إبل ترعى في المناطق الساحلية الغربية على نباتات صحراوية، لدراسة فعالية أبوال الإبل على الميكروب العنقودي الذهبي. وكانت عبارة عن أبوال إبل أخذت حديثاً (غير مخزن)، أبوال إبل محفوظة أو مخزنة لمدة سنة عند درجة حرارة المعمل ٢٥-٣٣م° و عند ٥م°.

أ- دراسة تأثير أبوال الإبل على بكتيريا MRSA بالانتشار في المنبت الصلب بطريقة الثقوب^[١٦].

تم تقسيم كل عينة من أبوال الإبل إلى عينات استخدمت مباشرة بدون تعقيم وجزء تم تعقيمه (بالإزالة) باستخدام المرشح البكتيري من GEMA MEDICAL S.L. ٠,٢ ميكرومتر، وجزء عقم تعقيماً ساخناً في الأوتوكلاف عند ١٢١م°. لقت بيئة ميللر هينتون الصلبة^[١٧] Muller Hinton، بالعزلات المختارة من

البكتريا العنقودية الذهبية كل على حدة في أطباق بتري ووضع في ثقوب أقطارها ٥ ملم ٠,٢ مل من أبوال الإبل. حفظت الأطباق في الثلاجة لمدة ساعتين لإتاحة الفرصة لانتشار المادة الفعالة في البيئة الصلبة ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة $35 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة ٢٤ ساعة.

ب- دراسة وجود مواد مثبثة لنمو البكتريا العنقودية الذهبية في بعض النباتات التي تتغذى عليها الإبل.

تم عمل مستخلص مائي للنباتات البرية التي تتغذى عليها الإبل، كما في جدول (١)، والنامية في المنطقة التي أخذت منها عينات الأبوال وذلك بوضع ١٠ جم من النباتات المجففة المطحونة في ١٠٠ مل ماء مقطر ومعقم بعد نقعها لمدة ٢٤ ساعة رشح المستخلص، وبعد تعقيمه باستخدام المرشح البكتيري ٠,٢ ميكروميتر (GEMA MEDICAL S.L) استخدمت طريقة الانتشار بالثقوب^[١٦] لتنشيط نمو عزلات البكتريا الاختبارية بالمستخلصات النباتية.

ج- عزل وتعريف بعض أنواع البكتيريا من بول الإبل المستخدمة في الدراسة: استخدمت طريقة التخفيف المتدرج لعزل البكتريا الموجودة في أبوال الإبل على بيئة الأجار المغذي وبيئة (MRS)^[١٨].

د- تعريف البكتيريا المعزولة من أبوال الإبل: تم التعرف على العزلات بتحديد الشكل الخارجي بواسطة المجهر الضوئي بعد صبغها بصبغة جرام. نموها على بيئة مرق (MRS)^[١٩]. اختبار إنتاج الكاتاليز^[٢٠]. اختبار دي أوكسي ريبونوكلياز (DNase agar)^[٢١]، إنتاج الكوأجيوليز^[٢٢]، تخمر الكربوهيدرات^[٢٢]، دراسة حركة البكتيريا^[٢٣]، باستخدام تقنية النقطة المعلقة، تمييز نمو عزلات بكتيريا *E.coli* على بيئة (Mac Conkey agar)^[٢٤].

جدول (١). قائمة بأسماء النباتات التي تتغذى عليها الإبل وتمت دراسة تأثيرها التثبيطي على البكتيريا العنقودية الذهبية.

العائلة النباتية	الاسم العلمي	الاسم المحلي
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Aerva javanica</i>	نبات إيرفا - اروه
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Citrullus colocynthis</i>	نبات حنظل - حنضل
<i>Capparidaceae</i>	<i>Dipterygium glaucum</i>	نبات العلقا - صفرا
<i>Portulacaceae</i>	<i>Portulaca oleraceae</i>	نبات رجلة - بقلة
<i>Portulacaceae</i>	<i>Portulaca quadrifida</i>	نبات رجلة - أرنية
<i>Leguminosae</i>	<i>Rhynchosia spp.</i>	نبات العرقص
<i>Leguminosae</i>	<i>Tephrosia apollinea</i>	نبات الصقل - نفل
<i>Zygophyllaceae</i>	<i>Zygophyllum simplex</i>	نبات القرمل
<i>Boraginaceae</i>	<i>Heliotropium longiflorum</i>	نبات اكيرير
<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Striga hermonthica</i>	نبات العدار
<i>Gramineae</i>	<i>Panicum turgidum</i>	نبات الثمام
<i>Gramineae</i>	<i>Echinochloa colonum</i>	نبات السحمة
<i>Gramineae</i>	<i>Chloris spp.</i>	اجليلة - نجيل
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Digera nwricata</i>	عشبة النجمة
<i>Leguminosae</i>	<i>Acacia raddiana</i>	نبات الطلح
<i>Leguminosae</i>	<i>Acacia Arabia</i>	نبات السلم (السنط العربي)
<i>Gramineae</i>	<i>Aristida plumose</i>	نبات النغي

هـ- دراسة القدرة التضادية للبكتيريا المعزولة من أبقال الإبل ضد البكتيريا العنقودية الذهبية بطريقة الثقوب

تم اختيار عزلات ذات قدرة على إنتاج مواد مثبطة للعزلات المختارة وتم تقدير قدرتها على إنتاج المواد المثبطة لنمو بكتيريا *S. aureus* المختارة في البيئة السائلة، وذلك باستخدام طريقة الثقوب^[١٦] في المنبت

الصلب بوضع ٠,٢ مل من راشح عزلات البكتيريا الخالي من الخلايا البكتيرية (Cell-free Filtrate) المعقم في ثقب قطرها ٥ مم في البيئة الصلبة الملقحة بعزلات البكتيريا المختارة. وفحصت بعد ٢٤ ساعة من التحضين عند درجة حرارة 37 ± 2 م°.

النتائج والمناقشة

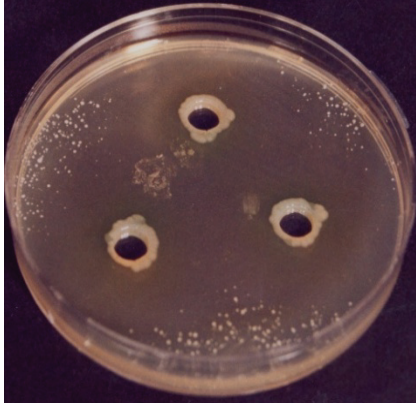
تأثير أبوال الإبل على نمو سلالات البكتيريا على البيئة الصلبة

توضح النتائج في الجدول ٢ أن استخدام عينات أبوال الإبل لتنشيط نمو *S. aureus* المقاومة للميثيسيلين التي تحتوي على الجين *mecA* العزلات *S. aureus* Rm1, *S. aureus* Rm5, *S. aureus* Rm24, *S. aureus* Rm37، فقد تم تنشيط نمو العزلة *S. aureus* Rm1 عند استخدام الأبوال بجميع حالاته وهي غير المعامل والمعقم تعقيماً بارداً باستخدام المرشح البكتيري، والمعقم تعقيماً ساخناً باستخدام جهاز الأوتوكليف، ويلاحظ أن أبوال الإبل المحفوظة عند ٥ م° كانت أكثر تنشيطاً لنمو هذه العزلة سواء المعقم، وغير المعقم (الصور رقم ١ و ٢ و ٣)، وتم تنشيط نمو العزلة *S. aureus* Rm5 بالأبوال الطازجة والمحفوظة عند درجة حرارة المعمل عدا العينات المعقمة تعقيماً ساخناً باستخدام جهاز الأوتوكليف، أما العزلة *S. aureus* Rm37 فتم تنشيط نموها عند استخدام الأبوال المحفوظة لمدة سنة بدون تعقيم، وبلغ قطري تنشيط نموها ١٢,٥ و ١٢ مم على التوالي ولم يثبط نمو العزلة *S. aureus* Rm24 بأي من عينات الأبوال. ويلاحظ أن عزلات البكتيريا المقاومة للميثيسيلين التي لا تحتوي على الجين *S. aureus* R23 و *S. aureus* R30، لم يثبط نموها بأي من عينات أبوال الإبل مقارنة بالعينات الضابطة.

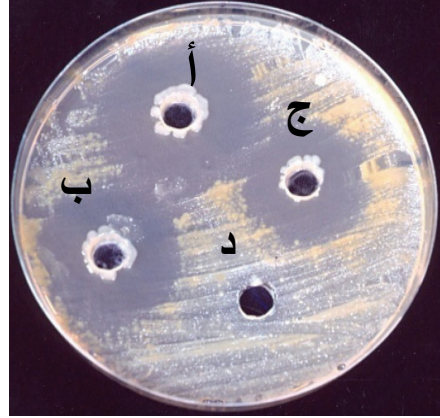
جدول (٢). تأثير أبوال الإبل الطازجة و المحفوظة على نمو سلالات البكتيريا العنقودية المختارة بطريقة الانتشار في البيئة الصلبة.

أبوال الإبل										سلالات البكتيريا الضابطة
المحفوظة في درجة حرارة المعمل (٢٥-٣٣ م) لمدة سنة			المحفوظة عنده ٥° م لمدة سنة			الطازجة				
تعقيم ساخن	تعقيم بارد	بدون معاملة	تعقيم ساخن	تعقيم بارد	بدون معاملة	تعقيم ساخن	تعقيم بارد	بدون معاملة	البيئة	
قطر منطقة تثبيط نمو بكتيريا <i>S. aureus</i> المختارة بالملم										لا يوجد تثبيط نمو العزلات
±١٣,٥ **١,٣٠	±١٦ **٠,٨٢	±١٩ **٠,٨٢	±١٩,٧٥ **٠,٩٦	±٢١,٥ **٠,٥٨	±٢٧,٢٥ **٠,٩٦	±١٣,٧٥ **٠,٩٦	±١٧,٥ **٠,٥٨	±٢٠ **٠,٨٢	<i>S. aureus</i> Rm1	
.	±١٢ **٠,٨٢	±١٥ **٠,٨٢	±١٣ **٢,١٦	±١٥,٢٥ **٠,٩٦	±٢١ **٠,٨٢	.	±١٥ **٠,٨٢	±١٧,٧٥ **٠,٩٦	<i>S. aureus</i> Rm5	
.	<i>S. aureus</i> Rm24	
.	.	±١٢ **٠,٨٢	.	.	±١٢,٥ **٠,٥٨	.	.	.	<i>S. aureus</i> Rm37	
.	<i>S. aureus</i> R23	
.	<i>S. aureus</i> R30	

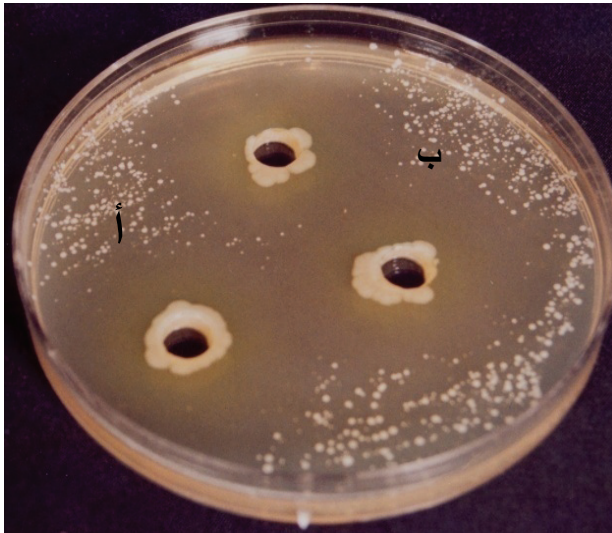
Rm- سلالة من البكتيريا العنقودية مقاومة للميثسليين، وتحتوي على الجين *mecA*، R- سلالة من البكتيريا العنقودية مقاومة للميثسليين، ولا تحتوي على الجين *mecA*، البيانات ممثلة على شكل المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري، **: معنوي عالٍ جدًا $P < 0,000$.



صورة (٢). توضح تثبيط نمو العزلة *S. aureus* Rm1 ببول الإبل المحفوظ عند ٥° م لمدة سنة المستخدم مباشرة بدون تعقيم.



صورة (١). توضح تثبيط نمو العزلة *S. aureus* Rm1 ببول الإبل غير المخزن المستخدم مباشرة بدون تعقيم (أ) المعقم على البارد (ب) والمعقم بالحرارة (ج) العينة الضابطة (د).



صورة (٣). تثبيط نمو العزلة *S. aureus* Rm1 ببول الإبل المحفوظ في درجة حرارة المعمل لمدة سنة المستخدم مباشرة (أ) بدون تعقيم والمعقم على البارد (ب).

تشير النتائج في جدول ٣ أن التركيزات المنخفضة من أبوال الإبل لها تأثير مثبط لنمو البكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثسلين التي تحتوي أو لا تحتوي على الجين *mecA* وتم تثبيط نموها بنسب عالية عند إضافة ٤٪ من أبوال الإبل إلى أوساط نموها السائلة، وزادت نسب تثبيط نمو السلالات عند إضافة ٢٠٪ من أبوال الإبل إلى أوساط نموها السائلة، وكانت أعلى نسبة تثبيط للعزلة ٢٣م° عند إضافة ٤٪ من الأبوال الطازجة وبلغت ٩١,٦٢٪، كذلك كانت أعلى نسبة تثبيط لنمو السلالة *S. aureus* Rm1 وبلغت ٩٨,٧٨٪ عند إضافة ٢٠٪ من أبوال الإبل المحفوظة (المخزنة) عند ٥م° وذلك مقارنة بالعينات الضابطة، وسجلت النتائج الإحصائية قيمة مرتفعة المعنوية.

جدول (٣). نسبة تثبيط نمو سلالات البكتيريا العنقودية المختارة بأبوال الإبل في البيئات السائلة.

تركيزات أبوال الإبل						عزلات البكتيريا
المحفوظة في درجة حرارة المعمل		المحفوظة عند ٥م°		الطازجة		
٢٠٪	٤٪	٢٠٪	٤٪	٢٠٪	٤٪	
٨٥,٢٦	٦٧,٨٨	٩٨,٧٨	٨٠,٤٣	٩٢,١٧	٧٨,٨١	<i>S. aureus</i> Rm1
٨٧,٧٣	٧٢,٧١	٩٢,٩٦	٧٧,٥٨	٨٨,٢٣	٧٤,٨٧	<i>S. aureus</i> Rm5
٧٥,٨٢	٤٦,٣٥	٩٢,١٦	٨١,٦٠	٨٧,٧٨	٧٣,٨٠	<i>S. aureus</i> Rm24
٥٠,٥٨	٢٠,٦٣	٨٩,٦٨	٧٢,٢١	٨١,١٥	٦٦,٧٧	<i>S. aureus</i> Rm37
٨٦,٧٤	٦٥,٩٥	٩٧,٣٦	٩٠,٤٧	٩٤,٨٧	٩١,٦٢	<i>S. aureus</i> R23
٧٩,١٢	٥٧,٦٥	٩٢,٤٥	٧٦,٦٠	٨٥,٢٨	٧٧,١٩	<i>S. aureus</i> R30

Rm-: سلالة من البكتيريا العنقودية مقاومة للميثسلين، وتحتوي على الجين *mecA*: R-: سلالة من

البكتيريا العنقودية مقاومة للميثسلين، ولا تحتوي على الجين *mecA*، البيانات ممثلة على شكل

المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري، **: معنوي عالٍ جدًا $P < 0,000$

وقد ذكر في بعض الدراسات على أبوال الإبل من أن الفاعلية ضد فطرية لأبوال الإبل قد ترجع إلى احتواءها على المواد الفعالة التي انتقلت إليها من النباتات البرية التي تتغذى عليها الإبل^[٩]، أما في هذه الدراسة فلم يلاحظ أن للمستخلصات المائية للنباتات التي تتغذى عليها الإبل أي تأثير تثبيطي لنمو البكتيريا العنقودية المقاومة للميثيسيلين. وقد ترجع الفعالية العالية لأبوال الإبل، للملوحة العالية في أبوال الإبل، والمتكونة من أملاح عديدة، وبتراكيزات مختلفة معتمدة على أنواع النباتات المختلفة، والأملاح لها دور فعال في معالجة العديد من الأمراض المتسببة عن الميكروبات، حيث تقوم تلك الأملاح بإخراج الماء من داخل خلايا الميكروبات مما يؤدي إلى بلزمتها، وبالتالي موت وتحلل الخلايا ذاتياً، حيث أتضح أن أبوال الإبل تعمل على بلزمة محتويات فطر *Aspergillus niger* وخميرة *Candida albicans*^[٩]، كذلك قد تكون كمية اليوريا الموجودة في أبوال الإبل تلعب دوراً في علاج الأمراض الجلدية، فتوجد بعض الأدوية التي تضاف اليوريا إلى تركيبها مما يساعد على نفاذ المواد الفعالة مثل المضادات الحيوية، إلى الجلد بسبب تأثير اليوريا على طبقة الكيراتين مما يساهم بدور فعال في العلاج^[٢٥].

عزل و تعريف البكتيريا المعزولة من أبوال الإبل

كان من المتوقع أن يكون للمواد المثبطة مصدرًا آخر، فمن المعروف أن أبوال الإبل تحتوي على بكتيريا قد تفرز مواد تثبط نمو العزلات المختارة، وقد تم عزل بكتيريا من أبوال الإبل بواسطة بعض الباحثين^[١١]، وقد وجد أنها تمتلك قدرة على تثبيط نمو *A. niger* *Fusarium oxysporum*، وخميرة *C. albicans* وبكتيريا (*S. aureus* and *E. coli*) وذلك بإنتاج مضادات حيوية^[٢٦]. وقد تم عزل وتعريف بعض الأنواع البكتيرية الموجودة في أبوال الإبل، وهي *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*^[٢٧].

وفي هذه الدراسة تم الحصول على عزلات مختلفة، وتعرفها عن طريق الاختبارات البكتريولوجية، والبيوكيميائية دلت النتائج أنها عزلات تنتمي لبكتيريا *E. coli*، *Staphylococcus sp.* وبكتيريا موجبة لصبغة جرام، كروية ثنائية، غير متحركة، سالبة لاختبار الكاتاليز، تخمر سكر الجلوكوز وغير منتجة للغاز، لا تخمر سكر اللاكتوز عند نموها على بيئة (MacConkey agar)، وتم تعريف العزلات بانها تنتمي لبكتيريا حمض اللاكتيك خاصةً عند نموها على بيئة MRS، وكذلك قدرتها على تخمير سكر الجلوكوز عند استخدام بيئة MRS fermentation الخاصة بتخميرات بكتريا حمض اللاكتيك جدول (٤).

جدول (٤). الاختبارات البيوكيميائية البكتريولوجية لتعريف البكتيريا المعزولة من أبوال الإبل.

الاختبار						الشكل الظاهري	العزلة
النمو على منبت MacConkey agar	تخمير الكربوهيدرات	تخمير سكر المانيتول	إنتاج الكاتاليز	صبغة جرام	اختبار الحركة		
+	+ وغاز	+	+	-	+	عصوية	<i>E. coli</i>
-	+ بدون غاز	+	+	+	-	عنقودية	<i>S. aureus</i>
-	+ بدون غاز	+	-	+	-	كروية	Lactic Acid Bacteria

+ نتيجة إيجابية، - نتيجة سالبة

توضح النتائج في جدول ٥ قدرة *E. coli* المعزولة من أبوال الإبل على تثبيط نمو عزلات البكتيريا العنقودية المختارة المقاومة للميثيسلين التي تحتوي على الجين *S. aureus* Rm24 و *S. aureus*, *S. aureus* Rm5, Rm1 *mecA* فقط ولم يثبط نمو العزلة *S. aureus* Rm37 كذلك باقي العزلات، وكان قطر منطقة التثبيط لها ١٥،٦٧ و ١٣،٣٣ و ١٢،٣٣ على التوالي، بينما بكتيريا *S. aureus* المعزولة من بول الإبل لم يكن لها نشاط تثبيطي لأي من العزلات المختارة.

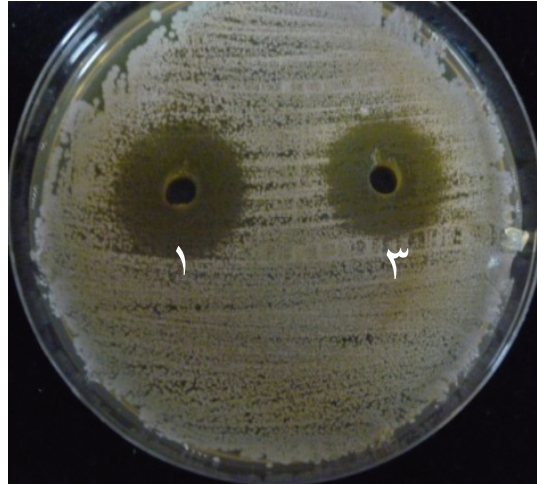
قد تعود الفعالية إلى بكتيريا تعيش في أبوال الإبل، أثبتت بعض الدراسات أنها تملك قدرة عالية للقضاء على الكائنات الدقيقة الممرضة للإنسان عن طريق المكافحة الحيوية، بالإضافة إلى أنها قد تفرز مضادات حيوية في الأبوال^[٢٥]. ويلاحظ من الجدول (٥) أن بكتيريا حمض اللاكتيك كان لها تأثير تثبيطي على نمو جميع عزلات البكتيريا المقاومة والحساسة للميثيسيلين، والتي تحتوي أو لا تحتوي على الجين *mecA*، وكانت العزلات أكثر قدرة على تثبيط العزلة *S. aureus* Rm1، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط ٢٦,٣٣م، وسجلت النتائج الإحصائية قيمة مرتفعة المعنوية لتأثير البكتيريا الموجودة في أبوال الإبل على نمو العزلات التي تأثرت بها، مقارنة بالعينة الضابطة. وقد تمت دراسة تأثير بكتيريا حمض اللاكتيك *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* التي تنتج مركبات لها القدرة على تثبيط نمو أو القضاء على خلايا RSA^[٢٨]. ومن المعروف أن بكتيريا حمض اللاكتيك تنتج موادًا تثبط نمو أنواع مختلفة من البكتيريا، وهذه المواد المضادة هي عبارة عن البكتريوسينات؛ كذلك تنتج بعضها فوق أكسيد الهيدروجين والبكتريوسينات، عبارة عن بروتينات ذات وزن جزيئي صغير تُنتج عادة بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك، وتكون فعالة في التركيزات المنخفضة^[٢٩]. جذب العديد من بكتيريا حمض اللاكتيك LAB الانتباه والاهتمام في السنوات الأخيرة لقدرتها على إنتاج بكتريوسينات متعددة^[٣٠-٣٣]. وتختلف البكتريوسينات المنتجة بواسطة البكتيريا الموجبة الجرام عن المواد المضادة المنتجة بواسطة البكتيريا السالبة لجرام، ومنها الكوليسينات *colicins* والتي تعتبر من السموم، وقد صُنفت إلى مجموعة من البكتريوسينات^[٣٤]، تنتج بعض أنواع البكتيريا الكوليسين *Colicin* مثل بكتيريا *Escherichia coli* *colicinV*، قد تنتجها أنواع من بكتيريا حمض اللاكتيك^[35]، وقد وُجد في هذه الدراسة أن العزلات السالبة لجرام تثبطت نمو ثلاث عزلات من البكتيريا المختبرة قد تكون هذه العزلات تنتج مواد مثبطة هي عبارة عن

الكولسينات. وجد أن هناك فرق معنوي كبير P عند ١٪ باستخدام التحليل الإحصائي T-test لجميع العزلات.

جدول (٥). تأثير البكتيريا المعزولة من أبوال الإبل على نمو عزلات البكتيريا العنقودية الذهبية المختارة.

LAB	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	عزلات البكتيريا
قطر منطقة تثبيط نمو البكتيريا بالملم			
**٠,٥٨±٢٦,٣٣	٠	**٠,٥٨±١٥,٦٧	<i>S. aureus</i> Rm1
**١,١٥±٢٠,٦٧	٠	**٠,٥٨±١٣,٣٣	<i>S. aureus</i> Rm5
**١,٥٣±٢١,٣٣	٠	**٠,٥٨±١٢,٣٣	<i>S. aureus</i> Rm24
**٠,٥٨±١١,٣٣	٠	٠	<i>S. aureus</i> Rm37
**٠,٥٨±١١,٦٦	٠	٠	<i>S. aureus</i> R23
**٠,٥٨±١٢,٦٧	٠	٠	<i>S. aureus</i> R30

Rm- سلالة من البكتيريا العنقودية مقاومة للميشلين، وتحتوي على الجين *mecA*، R- سلالة من البكتيريا العنقودية مقاومة للميشلين، ولا تحتوي على الجين *mecA*، البيانات ممثلة على شكل المتوسط الحسابي ± الإنحراف المعياري، **: معنوي عالٍ جدًا $P < ٠,٠٠٠$.



صورة (٤). تثبيط نمو العزلة *S. aureus* Rm5 بواسطة راشح نمو العزلتين رقم (١) ورقم (٣) المعزولة من أبوال الإبل.

المراجع العربية

- [٢] المشني، يوسف إبراهيم. علم الأحياء الدقيقة الجراثيم، الجزء الثاني الطبي والتشخيصي. الطبعة: الثالثة، الناشر: دار المستقبل للنشر والتوزيع، عمان، الأردن (١٩٩٨م).
- [٧] يس، شهاب البدري. التداوي بألبان وأبوال الإبل سنة نبوية ومعجزة طبية". الطبعة: الأولى، الناشر: دار طيبة الخضراء، مكة، المملكة العربية السعودية (٢٠٠٣م).
- [٨] الجبرتي، علي محمد. "الإبل". الناشر: دار الجبرتي للنشر والتوزيع، الخبر، المملكة العربية السعودية، (١٩٩٠م).
- [٩] العوضي، أحلام وهيكل، ناهد. صور من الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير بول الإبل المانع لنمو إحدى الفطريات الممرضة. بحوث المؤتمر العربي الأول للكيمياء التطبيقية الكيمياء وخدمة التنمية، القاهرة، ص: ١٨١-٢١١ (١٩٩٧م).
- [١٢] الزهراني، صالحة حسن مستور. دراسة تأثير أبوال النوق (بكر ولقاح) على فطر *Aspergillus niger* نايجر. مجلة الخليج العربي للبحوث العلمية ٢ (٢٠٠٢).
- [١٣] العلياني، رحمة علي. دلائل على الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير أبوال الإبل وألبانها على التركيب النسيجي لكلية الفئران. مجلة اتحاد البيولوجيين العرب القاهرة 11(A) علم الحيوان، ١١ (أ)، ص: ٢٢٣-٢٣٨ (١٩٩٩م).
- [١٤] خليفة، سناء أحمد. دلائل على الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير أبوال الإبل وألبانها على التركيب النسيجي لكبد الفئران. مجلة اتحاد البيولوجيين العرب القاهرة 11(A) علم الحيوان، ص: ٢٠٧-٢٢٢ (١٩٩٩م).
- [١٥] الحربي، أسماء. استخدام الطرق الجزيئية والبكتريولوجية في تشخيص البكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين في منطقة جازان وتأثير أبوال الإبل وبعض المستخلصات النباتية عليها. رسالة دكتوراة، كلية العلوم للبنات - جامعة الملك عبدالعزيز جدة/ المملكة العربية السعودية (٢٠١٠م).
- [٢٣] سيلبي، هاري و فان ديمارك. أبوال. ترجمة: عبد الحافظ، عبد الوهاب محمد و مبارك، محمد الصاوي محمد. الكائنات الدقيقة عملياً. الطبعة: الثانية، الناشر: الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر، القاهرة، جمهورية مصر العربية (١٩٩٢م).
- [٢٤] أبو الذهب، مصطفى كمال والجعراني، محمد عبد القادر. "البكتيريا التمارين المعملية الأساسية". الناشر: دار المطبوعات الجديدة، المنشية، جمهورية مصر العربية (١٩٨٣م).

- [٢٥] العوضي، أحلام والسحيباني، مضاوي والقطان، منال. عجائب وأسرار العلاج بأبوال الإبل. الطبعة: الأولى. المدينة المنورة-المملكة العربية السعودية (٢٠٠٤م).
- [٢٦] العوضي، أحلام والجديبي، عواطف. التأثير الضد فطري لبول الإبل على النمو وبعض الأنشطة الأيضية لفطر *Aspergillus niger*. مجلة الخليج العربي للبحوث العلمية، المنامة، ص ص: ٤٤-٥١ (٢٠٠١م).
- [٢٧] باحاذق، عائشة بنت محمد. التأثير المضاد لأبوال الإبل على بعض البكتيريا الممرضة للإنسان. رسالة ماجستير، جامعة الملك سعود، الرياض (١٤٢٧هـ).

المراجع الأجنبية

- [1] Unal, S.; Werner, K.; Girolami, P. D.; Barsanti, F. and Eliopoulos, G., Comparison of tests for detection of methicillin – resistant *S. aureus* in clinical microbiology laboratory. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **38**: 345-347 (1994).
- [3] Chambers, H. F., Methicillin resistance in *Staphylococcus*: Molecular and biochemical basis and clinical implication. *Clin. Microbiol. Rev.*, **10**(4): 781-791 (1997).
- [4] Valle, C.; Pascz, M.; Vitis, D.; Marzani, F.C.; Emmi, V. and Marone, P., Control of MRSA infection and colonization in an intensive care unit by GeneOhm MRSA assay and culture methods. *Bio. Med. Central. Ltd.* **9**: 137-147 (2009).
- [5] Cotter, L.; Lynch, M.; Cryan, B.; Greer, P. and Fanning, S., Investigation of methicillin-resistant *S. aureus* outbreak in an Irish hospital: Triplex PCR and DNA amplification fingerprinting. *J. Hospital Infect.* **36**(1): 37-47 (1997).
- [6] Knut, O., Novel antibiotics for the treatment of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Pharmacol.* **2**(6): 661-672 (2009). www.Medscape.com
- [10] Al-Awadi, A. and Al-Judaibi, A., Effect of camel's urine inhibiting growth of some pathogenic fungi and yeast. *J. Union Arab Biol., Cairo*, **8**(B) *Microbiol. and Viruses*. 335-363 (1999).
- [11] Al-Awadi, A. and Al-Jedabi A., Antimicrobial agents in camel's urine. *J. Union Arab Biol., Cairo*, **9** (B) *Microbiol. and viruses*. 265-281(2000).
- [16] National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS), Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Approved standard NCCLS publication, Villanova, PA, USA, M2-A5, (1993).
- [17] Atlas, R.M., Handbook of Microbiological Media. London: CRC Press. p: 1226 (2004).
- [18] de Man, J.C.; Rogosa, M. and Sharpe, M.E., A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Applied Bacteriology* **23**: 130-155 (1960).
- [19] Abdulkarim, M.I.; Mel, M.; Jamal, P.; Mohamed Salleh, M.R. and Alamin, N., Media screening of lactic acid fermentation using *Lactobacillus rhamnosus*. *J. Agri. Technol.* **2**(2): 203-210 (2006).
- [20] Macfaddin, J.F., Individual Biochemical Tests for Identification of *S.aureus*. In: MacFaddin, J. F. (ed.), Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, section I, p: 29, 41, 214. Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA (1976).
- [21] Cheesbrough, M., Medical Laboratory Manual for Tropical Countries Volume II: Microbiology. Printed in Great Britain, University Press, Cambridge (1984).
- [22] Baird-Parker, A., The Classification and Identification of Staphylococci and their Resistant to Physical Agents. In: The Staphylococci, Jay O. Cohen (ed.): 1-28: John Wiley and Son Press, New York, London, Sydney, Toronto (1972).

- [28] **Karska-Wysocki, B.; Bazo, M. and Smoragiewicza, W.**, Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Micres.* **11**: 008 (2009). Microbiol. Res. www.ScienceDirect.com.
- [29] **Rodgers, S.; Kailasapathy, K.; Cox, J. and Peiris, P.**, Bacteriocin production by protective cultures. *Food Service Technol.*, **2**: 59-69 (2002).
- [30] **Jack, R.W.; Tagg, B. and Ray, B.**, Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol., Rev.* **59**: 171-200 (1995).
- [31] **Nes, I.F.; Diep, D.B.; Halvarstein, L.S.; Brurberg, M.B.; Eijsink, V. and Holo H.**, Biosynthesis of bacteriocin in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. *Int J. Gen. Mol. Microbiol.*, **70**: 113-128 (1996).
- [32] **Eijsink, V.G.H.; Skeie, M.; Middelhoven, P.H.; Brurberg, M.B. and Nes, I.F.**, Comparative studies of class Ila bacteriocin of lactic acid bacteria. *Appl. and Environ. Microbiol.*, **64**: 3275-3281(1998).
- [33] **Montville, T.J. and Chen, Y.**, Mechanistic action of pediocin and nisin: Recent progress and unresolved questions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**: 511-519 (1998).
- [34] **Konings, W.N.; Kok, J.; Kuipers, O.P. and Poolman, B.**, Lactic acid bacteria: The bugs of the new millennium. *Curr. Opin. Microbiol.*, **3**: 276-282 (2000).
- [35] **MacCormick, J.K.; Klaenhammer, T.R. and Stiles, M.E.**, Colicin V can be produced by lactic acid bacteria. *Letters in Appl. Microbiol.* **29**: 37-41 (1999).

Antimicrobial Activity of Camel's Urine on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Specimens

S. H. Al-Zahrani, and A. A. Al-Harbi

Faulty of Salience for Girls- King Abdulaziz University- Jeddah
shaalzahrani@kau.edu.sa.com

Abstract: The camel's urine samples, fresh or preserved for one year at 5°C and 25-33°C, have an antimicrobial activity against six isolates of *Staphylococcus aureus* MRSA, four isolates have *mecA* gene, *S.aureus* Rm1, *S.aureus*Rm5, *S.aureus* Rm24, *S.aureus* Rm37, and two isolates MRSA don't have *mecA* gene *S. aureus* 23 and *S. aureus* 30. Results confirmed the high inhibition capacity of both fresh and preserved urine against MRSA. Untreated urine samples (unsterile) were the most effective regarding inhibiting bacterial growth. The camel's urine samples stored at 5°C for one year were more inhibitory to MRSA especially in liquid media. Some bacteria have been isolated from camel urine including *E. coli*, which inhibited three of MRSA have *mecA*, and lactic acid bacteria (LAB) that inhibited the growth of MRSA isolates.

Keywords: camel, urine, isolates, inhibition, batknia