استخدام الطرق الجزيئية والبكتريولوجية في تشخيص البكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين في منطقة جازان وتأثير بول الإبل وبعض المستخلصات النباتية عليها

إعداد

أسماء أحمد عبده الحربي

المشرف

د. أنور أحمد هيبة

المستخلص

يمثل انتشار البكتيريا العنقودية الذهبية مشكلة كبيرة في المستشفيات خاصة البكتيريا المقاومة للميثيسيلين حيث أن عملية مكافحة هذا الميكروب تتطلب إمكانيات كبيرة، وهناك محاولات كثيرة تبذل للحد من انتشار هذا الميكروب والأوبئة الناتجة عنه، وتكمن صعوبة علاج الأمراض الناتجة عن هذا الميكروب في عدم استجابة الميكروب للعديد من المضادات الحيوية الشائعة الاستخدام مثل مجموعات البنسلين بكل أنواعها والسيفالوسبورين والاريثرومايسين وكذلك مجموعة الامينوجليكوسايد، وقد أثبتت الدراسات الحديثة أن سبب مقاومة هذا الميكروب للميثيسيلين يكمن في افرازة لنوع من البروتينات، وقد أمكن تحديد الجين المسئول عن إنتاج هذه البروتينات وسمي mecA.

ولذلك تم في هذه الدراسة عزل البكتيريا العنقودية الذهبية من عينات من مختبر مستشفى الملك فهد المركزي في منطقة جازان وتعريفها بالاختبارات البكتريولوجية و البيوكيميائية واختبارات الحساسية ومقارنتها بالطرق الجزيئية عن طريق تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة PCR-real time ووجد أن عدد عزلات *S. aureus* ٤٦ عزلة تم تعريفها بالاختبارات البيوكيميائية ومدى حساسيتها للميثيسيلين والاكساسيلين باستخدام أقراص الحساسية ووجد أن العزلات المقاومة للميثيسيلين ٣٥ عزلة و١١ عزلة كانت حساسة للميثيسيلين و ٣٨ عزلة مقاومة و ٨ عزلات حساسة للاكساسيلين ، وعند إجراء اختبار PCR وجد اثنتان وثلاثون عزلة مقاومة للميثيسيلين تحتوي على جين mecA وثلاث عزلات مقاومة للميثيسيلين لا تحتوي على هذا الجين، واتضح أن عدد سبع عزلات حساسة للميثيسيلين تحتوي على هذا الجين وهناك أربع عزلات لا تحتوي على الجين mecA وبالتالي حساسة للميثيسيلين، ودلت نتائج هذه الدراسة على دقة هذه الطريقة واعتبارها الطريقة القياسية والتي تقارن باقي الطرق معها للكشف عن خاصية المقاومة للميثيسيلين.

وفي هذه الدراسة تم اختيار ١٠ عزلات من مجموع ٤٦ عزلة منها ٤عزلات مقاومة للميثيسيلين وتحتوي على جين mecA وعزلتان مقاومة للميثيسيلين لا تحتوي على جين mecA، وعزلتان حساسة للميثيسيلين تحتوي على جين mecA، وعزلتان حساسة للميثيسيلين ولا تحتوي على جين mecA لإجراء التجارب الأخرى.

كما تم في هذه الدراسة البحث عن مصادر طبيعية آمنة وبديلة للمضادات الحيوية المستخدمة حالياً في العلاج ذات الآثار الجانبية الخطيرة على جسم الإنسان لها القدرة على تثبيط هذا الميكروب. ومن هذه المصادر بول الإبل التي أشارت الدراسات المختلفة على كونه مادة علاجية شافية بإذن الله تعالى أوجدها الله سبحانه وتعالى في مخلوق أشار إليه بالآية القرآنية الدالة على أعظم إعجاز:﴿أَفَلَا يَنظُرُونَ إِلَى الْإِبِلِ كَيْفَ خُلِقَتْ ﴾{١٧}[الغاشية]. كما أكدت التجارب القدرة التثبيطية العالية لأبوال الإبل لنمو العزلات المختارة سواء الطازج أو المحفوظ ووجد أن أبوال الإبل غير المعاملة هي الأكثر تثبيطاً لنمو العزلات المختارة، وخاصة في البيئات السائلة وأكدت دراستنا على احتواء أبوال الإبل على بكتيريا تنتج مواد مثبطة لنمو عزلات البكتيريا المختارة، وقد تم تعريفها بالطرق البكتريولوجية وكانت عزلات من بكتيريا حمض اللاكتيك.

كما استخدم المستخلص المائي لبعض النباتات المتواجدة في منطقة جازان لدراسة تأثيرها التثبيطي على نمو عزلات البكتيريا المختارة وقد أوضحت الدراسة أن المستخلصات المائية للنباتات المختارة المعقمة بالإزالة بواسطة المرشح البكتيري قد ثبط نمو عزلات البكتيريا المختارة بدرجة أعلى من المستخلصات المائية المعقمة باستخدام الاوتوكلاف، وكان المستخلص المائي لقشر الرمان أكثرها قدرة على تثبيط نمو العزلات المختارة، لذلك تم استخلاص المواد الفعالة المضادة لنمو البكتيريا المختبرة من قشر الرمان بالمذيبات العضوية ،وتم فصلها بطريقة الفصل الكروماتوجرافي بالعمود، وتم تعريف المركبين المفصولين باستخدام الرنين النووي المغناطيسي وهما حمض الجاليك، وميثيل استر حمض الجاليك اللذان لهما قدرة تثبيطية عالية لنمو لجميع العزلات المختارة بتركيزات منخفضة جداً MIC ٢٥ ميكروجرام- ٦,٢٥ ميكروجرام.

Using Molecular and Bacteriological Methods in Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Gazan Region and Effect of Camel's Urine and Some Plant Extracts on it

Asmaa Ahmed Abdu Al-harbi

dr. Anwer Ahmed Heaba

Abstract

The spread of infections caused by *Staphylococcus aureus* in hospitals represents a significant problem, particularly the methicillin resistant strains, as the fight against it requires a great potential. There are many attempts to limit the spread of this microbe and epidemics resulting from it. The difficulty of treating diseases caused by this bacteria is mainly due to its high resistance to many commonly used antibiotics, such as penicillin, cephlosporins, erythromycin as well as aminoglycosides. Recent studies have proved that the cause of resistance to methecillin is mainly due to a certain type of protein. The gene coding for this type of protein was identified and called mecA gene.

In this study, strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from clinical specimens in King Fahd Central Hospital laboratory in Jazan region. The strains were identified by bacteriological and biochemical tests as well as their sensitivity to the different antibiotics which were examined using agar disc diffusion method. Also, molecular methods for identification of methicillin resistant *S. aureus* was performed using real-time PCR technology and the results were compared with the conventional methods.

In this study, 46 isolates of *S. aureus* were defined, and 35 of them were found to be methicillin resistant, while 11 were sensitive. Regarding oxacillin, 38 isolates were resistant and 8 were sensitive. When real- time PCR was performed on the 46 isolates, 32 isolates were found to be methicillin resistant (having mecA gene),and 3 isolates methicillin resistant were found negative(not having mecA gene) by real-time PCR. Also, out of the 11 methicillin sensitive isolates, only 7 isolates having mecA gene, and 4 isolates were negative(not having mecA gene). Such results indicate the accuracy of the molecular method in detecting MRSA.

In this study we searched for natural resources and safe alternative to the antibiotics currently used in the treatment of serious infection with such microbe. Among these resources is camel's urine, which previous various studies, had characterized as possessing curative properties. The trials in this study confirmed the high inhibitory capacity of camel's urine. Specimens of both fresh and preserved camel's urine were tested on MRSA isolates, and it was found that camel's urine could

suppress the growth of selected isolates, especially in liquid environments. Our study demonstrated the presence of a species of bacteria in the urine of camels, which produces substances that discourage the growth of MRSA. This bacterium has been defined and found to belong to lactic acid bacteria.

Also, we used aqueous extract of some plants located in the Jazan region to study their inhibitory effect on the growth of bacteria. It has been shown that the water extracts of plants sterilized by filtration were an inhibitory agent to MRSA more than those sterilized by autoclave. And the aqueous extract of pomegranate rind is the most capable of inhibiting the growth of isolates selected. Therefore, the extraction of effective anti-bacteria in pomegranate rind via organic solvents, and the separation by chromatography column was defined by nuclear magnetic resonance. Two compounds were identified, Gallic acid and Methylester Gallic acid, which were found to have marked inhibitory effect on MRSA at very low concentrations MIC 25µg- 6,25µg.