تأثير بعض المواد الكيميائية والنباتات الطبية العشبية على ظاهرة العج لجرثومة *Proteus mirabilis*

أميرة محمود محمد الراوي[1] ، رشا نزار حسون عبدالله السعدون[2]

[1] *قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

[2] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

(تاريخ الاستلام: ٢٣ / ٤ / ٢٠٠٨ ، تاريخ القبول٢٩ / ١٠ / ٢٠٠٨)

الملخص

شملت الدراسة تأثير بعض المواد الكيميائية والنباتات الطبية العشبية على ظاهرة العج Swarming لجرثومة *P. mirabilis* واظهرت الدراسة كفاءة مادة الثايمول Thymol المستخلصة من نبات الزعتر *Thymus vulgaris* في تأثيرها القاتل على الجرثومة وفي تراكيز مختلفة مشابهة لتأثير مادة (SDS) Sodium Dodecyl Suphate وبنفس التراكيز. كما أوضحت الدراسة إن تأثير مادة اليوريا Urea كعامل مثبط لظاهرة العج يزداد بزيادة التركيز المستخدم، أما مادة المرة مكي *Comiphora myrrha* العشبية فلم تظهر أي تأثير ايجابي على تثبيط العج بالمقارنة مع نموذج السيطرة.

الكلمات الدالة: ظاهرة العج، جرثومة *Proteus mirabilis*.

المقدمة

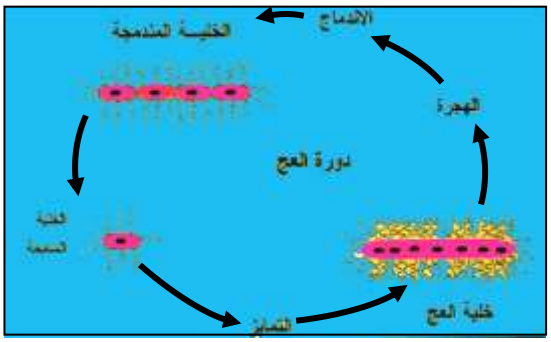
يعد جنس المتقلبات *Proteus* احد أجناس العائلة المعوية ويضم أربعة أنواع هي: *P. mirabilis* و *P. vulgaris* و *P. myxofaciens* و *P. penneri*، ويتميز أفراد جنس المتقلبات بأنها عصيات تبدو بشكل خلايا سابحة قصيرة أو خلايا عج متطاولة، سالبة لصبغة كرام، لاهوائية اختيارية متحركة باسواط محيطية تظهر صفة العج swarming على الأوساط الصلبة وتظهر خلال ذلك مستويات عالية من التعبير عن مورثات الضراوة لاسيما النشاط العالي لأنزيم اليوريز وتعد هاتان الصفتان من الصفات المميزة والتشخيصية لأفراد هذا الجنس عن بقية أفراد العائلة المعوية (Liaw *et al*., 2003; Koneman *et al*., 1997).

تكون جرثومة *P. mirabilis* ثنائية الشكل، وعندما تنمو في الأوساط السائلة تظهر خصائص الخلايا السابحة بشكل عصيات متحركة باسواط محيطية عددها (٦-١٠) سوطاً لكل خلية، تتراوح أطوالها من (١-٢) مايكرومتراً ومشابهة لما هو موجود في بقية أفراد العائلة المعوية وعندما تنقل عصيات الجرثومة إلى الأوساط الصلبة تخضع لتغيرات في النمط الشكلي وتتمايز إلى خلايا عج متطاولة تعج على سطح الوسط ويسمى هذا النوع من النمو لعصيات الجرثومة على سطوح الأوساط الصلبة بظاهرة العج(Mobley and Belas, 1995; Kotelko, 1986).

يمثل العج شكلاً من الانتقال عبر السطح الصلب للوسط الطبيعي أو الصناعي وهذه الخاصية ليست مقتصرة على المتقلبات وانما موجودة في جراثيم أخرى سالبة لصبغة كرام مثل أنواع من جنس *Vibrio* و *Serratia* فضلا عن جراثيم موجبة لصبغة كرام مثل أنواع من جنس *Clostridium* سس *Bacillus* (Alberti and Harshey, 1990; Mccarter and Silverman, 1989). يوصف نمو العج بانه تميز عصيات خضرية إلى خلايا عج متعددة النوى تتراوح أطوالها من (٢٠-٨٠) مايكرومتراً، كثيفة الاسواط، ويعتمد عدد الاسواط على حجم خلية العج وتتكون الاسواط الجديدة لخلايا العج من نفس البروتين المكون لاسواط الخلايا السابحة وهو فلاجلين وزنه الجزيئي (٣٦,٧) كيلودالتون(Belas and Flaherty, 1991).

تترافق التحولات في الأنماط الشكلية من الخلايا السابحة إلى خلايا عج مع بعض التراكيب المميزة والتغيرات الكيموحيوية مثلا عدد النوى في خلايا العج يتناسب طرديا مع الزيادة في الطول والخلية التي طولها (٤٠) مايكرومتراً إذ يوجد فيها تقريبا (٢٠) كروموسوماً (Belas, 1992).

أشار الباحث Belas (١٩٩٢) ان ظاهرة العج متكررة في طبيعتها وتتميز التغيرات في المظهر الشكلي لجرثومة المتقلبة الرائعة المرتبطة بالعج بثلاثة أطوار يتميز الأول بتكوين خلايا العج (التمايز) differentiation والثاني يتضمن الهجرة migration فيما يعبر الطور الثالث عن الاندماج Consolidation فعندما تلقح عصيات الجرثومة النامية في المرق broth التي تتراوح أطوالها (١-٢) مايكرومتراً وعرضها (٠,٦) مايكرومتراً على الأوساط الصلبة المناسبة تتكاثر الخلايا السابحة لمدة ثلاث ساعات تقريبا ثم تخضع لتغيرات في النمط الشكلي حيث تستمر الخلايا بالنمو وبسبب عدم الانقسام تبدأ بالاستطالة إلى أطوال تتراوح (١٠-٨٠) مايكرومتراً وعرض (٠,٧) مايكرومتراً متعددة النوى وتتمايز إلى خلايا عج متطاولة (Gygis *et al*., 1995 ; Allison *et al*., 1994) والشكل (١) يوضح مخطط لظاهرة العج لجرثومة*P. mirabilis*.



الشكل (١) مخطط لظاهرة العج لجرثومة *P. mirabilis* (Rozalski *et al*., 1997)

وتوصل الباحث Rozalski (٢٠٠٢) الى ان الخلايا السابحة وخلايا العج المتطاولة مهمة في امراضية الجرثومة لاسيما خلايا العج التي تكون مهمة في اخماج القناة البولية بالمسلك التصاعدي والاكثر شيوعا في سلالات جرثومة *P. mirabilis*.

واشار الباحث Burall وجماعته (٢٠٠٤) ان الخلايا السابحة الخضرية وخلايا العج الكثيفة الاسواط تتعاون لاحداث اخماج مجارٍ بولية بالمسلك التصاعدي سببها جرثومة *P. mirabilis* بوساطة الاسواط.

أستهدف البحث التحري عن تأثير بعض المواد الكيميائية والنباتات الطبية العشبية على ظاهرة العج لجرثومة *P. mirabilis* للكشف عن التاثير القاتل او المثبط لهذه المركبات .

المواد وطرائق العمل

المواد المستخدمة

- اليوريا Urea و Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)
- الزعتر *Thymus vulgaris* و مرة مكي *Comiphora myrrha*

تهيئة المزرعة

تم عزل وتشخيص جرثومة *P. mirabilis* من ادرار مريض مصاب بحصى الكلى واخماج القناة البولية اعتماداً على (Koneman *et al.*, 1997 ; Collee *et al.*, 1996) وحفظت على موائل الاكار المغذي. تم تهيئة مزارع منها بتلقيح خلايا الجرثومة في وسط مرق نقيع المخ والقلب (BHI) وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ْ م مدة ١٠ ساعات.

اختبارات تثبيط ظاهرة العج Swarming لجرثومة *P. mirabilis*

اختبار تأثير اليوريا Urea و Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) و الزعتر *Thymus vulgaris* والمرة مكي *Comiphora myrrha* على تثبيط ظاهرة العج

تمت تهيئة اطباق وسط الاكار المغذي مضاف اليه تراكيز مختلفة من مادتي الـ Urea والـ SDS (٠,٢٥%، ٠,٧٥%، ١,٢٥%) من كل مادة ثم لقحت بحملة لوب من الجرثومة بعمر (١٠) ساعات نامية في وسط مرق نقيع المخ والقلب (BHI) في مركز الطبق ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧ْ م لمدة (٢٤) ساعة وبعد انتهاء التحضين اختبر تأثير المواد المذكورة على ظاهرة العج وصورت الاطباق فوتوغرافيا. كما اختبر تأثير الـ Ureaعلى ظاهرة العج باستخدام وسط اكار الدم بالطريقة نفسها وصورت ايضا (Iwalokun *et al.*, 2004).

كما تم اجراء نفس التجربة مع استخدام الزعتر والمرة مكي وبنفس التراكيز وحضنت بالظروف نفسها وصورت النتائج فوتوغرافيا .

النتائج والمناقشة

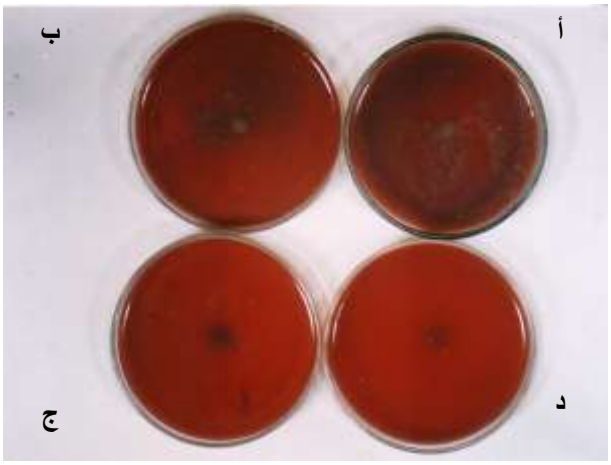
اختبارات تثبيط ظاهرة العج swarming

١.تأثير مادتي Urea وSDS على ظاهرة العج

لوحظ تثبيط واضح لظاهرة العج الذي تم تقديره بقياس أقطار حلقات النمو لظاهرة العج كما موضح في الجدول (١) حيث تبين النتائج ان الزيادة في تركيز اليوريا ينتج عنه زيادة في تثبيط حلقات العج مقارنة بنموذج السيطرة و كما موضح في الصورة (١).

جدول (١) تأثير اليوريا Urea بتراكيز مختلفة على نمو جرثومة *P. mirabilis*

تركيز مادة Urea لمضافة	قطر النمو (ملم)
نموذج سيطرة	**٩٠**
%٠,٢٥	**٥٠**
%٠,٧٥	**٦**
%١,٢٥	**١**



الصورة (١) التأثير التثبيطي لمادة Urea على ظاهرة العج (وسط اكار الدم)

أ : السيطرة ب : ٠,٢٥% ج : ٠,٧٥% د : ١,٢٥%

فضلا عن ذلك لوحظ التأثير القاتل لمادة SDS على الجرثومة وبمختلف التراكيز المضافة منها اذ لم يلاحظ أي نمو للجرثومة على الأكار المغذي بوجود مادة الـ SDS وبمختلف التراكيز مقارنة بنموذج السيطرة .

ان النتائج التي تم التوصل لها من خلال هذه الدراسة تنسجم مع النتائج التي توصل إليها الباحث Williams (١٩٧٣) حيث أشار بأن الـ Urea تمتلك خصائص مضادة للعج على الأوساط الصلبة فضلا عن ذلك تتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحث Davies وجماعته (١٩٩٨) عندما أشار بأن جرثومة *P. mirabilis* حساسة لمادة SDS وبالاضافة الى ما تقدم فان النتائج التي تم التوصل لها تتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحث Iwalokun وجماعته (٢٠٠٤) الذي أثبت مختبريا الخصائص التثبيطية لمادتي Urea و SDS وبالتراكيز من ٠,٢٥% الى ١,٢٥% على ظاهرة العج للعزلات الجرثومية السريرية لسلالات المتقلبات

٢. تأثير مادتي الزعتر *Thymus vulgaris* والمرة مكي *Comiphora myrrha* على ظاهرة العج

لوحظ التأثير القاتل لمادة Thymol ولكافة التراكيز المستخدمة في الدراسة اذ لم يلاحظ أي نمو للجرثومة على الأكار المغذي ، كما لوحظ نفس التأثير القاتل لمادة Thymol على ظاهرة العج باستخدام وسط أكار الدم كما موضح في الصورة (٢).

الصورة (٢) التأثير القاتل لمادة الثايمول بتراكيز مختلفة على جرثومة *P. mirabilis* مع نموذج السيطرة (وسط اكار الدم)

أ : السيطرة ب : ٠,٢٥% ج : ٠,٧٥% د : ١,٢٥%

فضلا عن ذلك لوحظ عدم وجود أي تأثير لمادة المرة مكي على ظاهر العج وللتراكيز كافة المستخدمة في الدراسة اذ لوحظ النمو الواضح للجرثومة على سطح الأكار المغذي كما موضح في الصورة (٣).

الصورة (٣) تأثير مادة المرة مكي على تثبيط ظاهرة العج وبتراكيز مختلفة مع نموذج السيطرة (وسط الاكار المغذي)

أ : السيطرة ب : ٠,٢٥% ج : ٠,٧٥% د : ١,٢٥%

أشار الباحث بينلوب (١٩٩٩) بأن الجزء الطبي المستخدم من نبات المرة مكي هو الساق وما يسيل منه من راتنج صمغي له خواص مطهرة ضد الجراثيم فضلا عن استخدامه مضاداً حيوياً في معالجة الاخماج التي تسببها الجراثيم الموجبة لصبغة كرام.

أشار الدجوي (١٩٩٦) أن الأوراق والقمم النامية لنبات الزعتر تحتوي على زيت طيار تتراوح نسبته من (١-٢,٥%) تستخلص

منه مواد فينولية أهمها مادة الثايمول Thymol التي يعزى إليها الفوائد الطبية كمادة لها خواص مطهرة ومضاد حيوي قوي للجراثيم فضلا عن ذلك تستخدم كمسكن لألام المغص الكلوي.

المصادر

- الدجوي، علي ١٩٩٦. موسوعة النباتات الطبية والعطرية، منشورات مكتبة مدبولي، القاهرة/ مصر.
- بينلوب، أودي ١٩٩٩. الكامل في الاعشاب والنباتات الطبية، اكاديميا انترناشيونال للنشر والطباعة، بيروت/ لبنان.
- Alberti, L. and Harshey, R. M. 1990. Differentation of *Serratia marcescens* 274 into swimmer and swarmer cells. J. Bacteriol. 172 : 4322 – 4328.
- Allison, C.; Emody, L.; Coleman, N. and Huges, C. 1994. The role of swarm cell differentiation and multicellular migration in the uropathogenicity of *Proteus mirabilis*. J. Infect. Dis. 169 : 1155 - 1158
- Belas, R. 1992. The swarming phenomenon of *Proteus mirabilis*. ASM News. 58 : 15 – 22.
- Belas, R. and Flaherty, D. 1991. Transposon mutagenesis in *Proteus mirabilis*. J. Bacteriol. 173 : 6289 – 6293.
- Burall, L. S.; Harro, T.M.; Li, X.; Lockatell, C. V.; Himpsl, S. D.; Hebel, R.; Johnson, D. E. and Mobley, H. L.2004. *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection : Indentification of 25 signature tagged mutants atternuted at least 100 – flod. Immun. Vol, 27, No. 5, P : 2922 – 2938.
- Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. 1996. Mackie and mccarteny practical medical microbiology. 14th ed., Churchill Livingstone, New York.
- Davies, D. G.; Parsek, M. R.; Pearson, J. P.; Lglewski, B. H.; Costerton, J. W. and Greenberg, E. P.1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of bacterial biofilm. Science, 280 : 295 – 298.
- Gygi, D.; Rahman, M. M.; Lai, H. C.; Carlson, R.; Guard-Petter, J. and Hughes, C.1995. A cell-surface polysaccharide that facilitates rapid population migration by differentiated swarm cell of *Proteus mirabilis* Mol. Microbiol. 77 : 1167 – 1175.
- Iwalokun, B. A.; Olukosi, Y. A.; Adejoro, A.; Olaye, J. A.; and Fashade, O. 2004. Comparative biochemical and molecular evaluation of swarming of *Proteus* and effects of anti-swarm agent. Afr. J. Biot. Vol. 3, P. 99 – 104.
- Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janada, W. M.; Schreckenberger, P. C. and Winn, W. C. 1997. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th ed., Lippincott-Raben publishers, Philadelphia, USA.
- Kotelko, K. 1986. *Proteus mirabilis* : taxonomic position, peculiarities of growth components of the cell envelope. Curr. Top. Microbiol. Immun. 129 : 181 – 215.
- Liaw, S.; Lai, H.; Ho, S.; Luh, K. and Wang, W. 2003. Role of RsmA in regulation of swarming motility and virulence factor expression in *proteus mirabilis*. J. Med. Microbiol.52(1):19– 28.
- Mccarter, L. and Silverman, M.1989. Iron regulation of swarmer cell differetitation of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Bacteriol. 171: 731-736.
- Mobley, H. L. and Belas, R. 1995. Swarming and pathogenecity of *proteus mirabilis* in the urinary tract infection. J. Trends. Microbiol. Jul; 3 (7) : 280-284.
- Rozalski, A. 2002. Molecular basis of the pathogenicity of *proteus* bacteria. Adv. Clin. Exp. Med. 11, 1, 3-18.

- Williams, F.D. 1973. Abolition of swarming of *Proteus* by p- nitrophenylglycerin: application to blood agar. Appl. Microbiol. 25: 751-754.

Effect of some chemicals and medicinal Plants on Swarming phenomenon of *Proteus mirabilis*

Amera M. M. AL-Rawi[1] , Rasha N.H.A. AL-Sa'doon[2]

[1] *Dept. of Biology , College of Science ,University of Mosul , Mosul , Iraq*
[2] *Dept. of Biology , College of Education for Girls ,University of Mosul , Mosul , Iraq*

(Received 23 / 4 / 2008 , Accepted 29 / 10 / 2008)

Abstract

The study involved the effect of some chemicals and medicinal plants on swarming phenomenon of *P. mirabilis* , the study showed the efficiency of thymol extracted from *thymus vulgaris* as a bactericidal effect in different concentrations similar to the effect of Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) and in the same concentration the study also pointed out the inhibitory effect of Urea on swarming which increased with increase the concentrations , while the herb *Comiphora myrrha* did not show any effect on swarming compared with the control sample.