DOI: http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2017.14.3.0455

دراسة تاثير المجال المغناطيسي الثابت في الفاعلية التثبيطية لخميرة *Saccharomyces boulardii* تجاه البكتريا الممرضة المعزولة من التهاب المجاري البولية

ندى صباح رزوقي **سجود حمود عبد الله**

قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، بغداد، العراق.
مستل من رسالة ماجستير
البريد الالكتروني: Sejood.hmood@gmail.com

استلام البحث 2017/1/22
قبول النشر 2017/3/9

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

الخلاصة :

ازداد التوجه نحو استعمال المعززات الحيوية ودراسة تأثيراتها في المسببات المرضية اذ تعرف بأنها كائنات حية مجهرية تعطي فائدة صحية للمضيف عند تناولها بكميات كافية ومنها خميرة *Saccharomyces boulardii* وكذلك أظهرت البحوث ان المجال المغناطيسي magnetic fields(MF) بمختلف انواعه له آثار احيائية، تهدف الدراسة الحالية إلى التحري عن تأثير المجال المغناطيسي الثابت في الفاعلية التثبيطية لخميرة *S. boulardii* تجاه عدد من العزلات البكتيرية المعزولة من التهاب المجرى البولي. وتم دراسة حساسية العزلات البكتيرية تجاه عدد من المضادات الحيوية بعد تشخيصها بالطرائق الزرعية والكيموحيوية وكذلك باستعمال عدة التشخيص E Api20 لتأكيد تشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام،وانتخبت العزلات الاكثر مقاومة للمضادات في التجارب اللاحقة، كما أستعملت طريقة الحفرWell diffusion method للتحري عن الفاعلية التثبيطية لراشح وعالق الخميرة المعرضتين للمجال المغناطيسي بأربع شدات مختلفة (500-400-300-200) ملي تسلا .أظهرت النتائج إن الفاعلية التثبيطية لكل منهما كانت أعلى بزيادة شدة المجال المغناطيسي واختلفت في مدى تأثيرها بحسب نوع البكتريا وان عزلة بكتريا *K.pneumoniea* كانت الاكثر تحسساً في كل التجارب اللاحقة،وكذلك كان تأثير العالق اكثر من فاعلية الراشح التثبيطية .

الكلمات المفتاحية: التهاب المجرى البولي، *Saccharomyces boulardii*، المجال المغناطيسي

المقدمة:

يعد أخماج المجرى البولي Urinary tract infections - UTIأحد اكثر الأمراض البكتيرية شيوعاً ويمكن ان يعرف بانه وجود عدد معنوي من الخلايا البكتيرية في الجهاز البولي اذ يقدر عدد الخلايا اللازمة لاحداث الاصابة اكثر من 1×10^5 خلية بكتيرية/مل [1،2] وبسبب زيادة مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية وظهور عدد من السلالات المقاومة ازداد التوجه نحو استعمال المعززات الحيوية ودراسة تأثيراتها في المسببات المرضية اذ تعرف بأنها كائنات حية مجهرية تعطي فائدة صحية للمضيف عند تناولها بكميات كافية، ومن أهم الكائنات المستعملة علاجياً هي خميرة *S. boulardii* التي تعمل على إعادة توازن النبيت الطبيعي في الجسم عبر زيادة البكتريا اللاهوائية المفيدة وخفض الكائنات الحية المسببة للمرض فضلا عن تحفيزها للآليات المناعية المخاطية والآليات غير المناعية من خلال منافسة الأسباب المرضية وتخفيف حدوث الاسهال وشدته وخفض خطر سرطان القولون لانتاجها بروتينات، وانزيمات، وفيتامينات ومواد مضادة للمايكروبات والسموم الميكروبية مما يؤدي الى تحسين صحة المريض [3].أظهرت البحوث ان المجال المغناطيسي magnetic fields (MF) بمختلف انواعه له آثار احيائية لذا أصبح موضوعاً ذا أهمية علمية خلال السنوات الماضية، اذ ان له اثاراً تثبيطية او تشجيعية لنمو الخلايا الحية وتكاثرها باختلاف نوع المجال المغناطيسي وشدته ونوع الكائن الحي وتركيبه الوراثي [4،5]. لذلك فقد هدفت هذه الدراسة الى التحري عن الفاعلية التثبيطية لخميرة *S. Boulardii* ضد عدد من العزلات البكتيرية المسببة لألتهاب المجاري البولية (دراسة

خارج الجسم الحي). ودراسة تأثير المجال المغناطيسي الثابت في فاعليتها العلاجية.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات:

جمعت 184 عينة إدرار من مرضى يعانون من اعراض إلتهاب المجرى البولي المتكرر وبأعمار مختلفة من مستشفى اليرموك التعليمي ومستشفى الكرامة ومستشفى مدينة الامامين الكاظمين ع الطبية، للمدة من 2015/9/22 لغاية2015/12/22. زُرعت عينات الادرار على وسط اكار الدم الاغنائي ووسط الماكونكي التفريقي بوساطة ناقل زرعي معقم وحضنت الأطباق عند 37مْ لمدة 24ساعة للعزل الأولي. بعدها اجريت عدد من الفحوصات التشخيصية المجهرية والزرعية والكيموحياتية لتشخيص البكتريا المسببة للإصابة [7,6]، ثم تم تأكيد التشخيص بإستعمال نظام Api20 E .

حساسية العزلات البكتيرية المعزولة للمضادات الحياتية Antibiotics Senitivity Test

أختبرت حساسية العـزلات البكتيرية تجاه 10مضـادات حياتية يكثر استعمالها في المستشفيات لإجراء اختبار الحساسية للعزلات البكتيرية المعزولة من الادرار -Amikacin(30) Ampicillin(10)Azithromycin(15)- Cefixime(5)-Gentamicin(10)- Erythromycin(15)- Nitrofurantion(300)- Nalidixic acid (30) Imipenem(10) Norfloxacin(10) (ملغم/قرص)،بحسب طريقة Kirby , Bauer وبإستعمال الوسط الزرعي المولر هنتون (Muller-HintonAgar) الذي نشر عليه المزروع البكتيري بعمر 18-24 ساعة ، بعدان تم قياس عكورة نموالمزروع مع عكورة محلول ثابت العكرة ماكفرلاند القياسي Macfarland Standard solution (انبوب0.5) تركت الاطباق لمدة 15 دقيقة ليجف سطحها، ثم وزعت اقراص المضادات الحياتية على سطح الطبق الزرعي ،حضنت الاطباق عند درجة حرارة 37مْ لمدة 24ساعة ،بعدها تم قياس مناطق التثبيط بالمليمتر حول الاقراص بإستعمال المسطرة الاعتيادية وقورنت النتائج على وفق ما ورد من قياسات عالمية [8].

تقدير الفاعلية التثبيطية لعالق خميرة *S.boulardii* والمعرضة للمجال المغناطيسي باستعمال طريقة الحفر:

اجريت هذه الطريقة وفقا للطريقة المذكورة في المصدر[10,9]حيث زرعت خميرة *S.boulardii* في 5 انابيب تحوي الوسط السائل Peptone Yeast Extract Glucose (YEGP) (حُضّر الوسط بأذابة 20غم من الكلوكوز ،20 غم من الببتون، 10غم من خلاصة الخميرة في لتر واحد من الماء المقطر[11]) لمدة 48 ساعة في 37 مْ ترك الانبوب الاول من دون التعريض للمجال المغناطيسي وعرضت الانابيب الاربعة البقية للمجال المغناطيسي بالشدات(500-400-300-200) ملي تسلا ثم عملت ثقوب بقطر 5 ملم بوساطة ثاقب فليني على سطح الآكار المغذي المنشور عليه معلق العزلات البكتيرية الممرضة المعزولة ووضع في كل ثقب 0.1 مل خميرة من كل انبوب وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة وبعد حضن الاطباق في 37مْ لمدة 24ساعة تم تسجيل النتائج بقياس قطر مناطق التثبيط.

توليد المجال المغناطيسي:

تم توليد المجال المغناطيسي الثابت من مغناطيس تم قياس شدة المجال المتولد عنه بأستعمال جهاز Gussemeter وتم تحديد اربع شدات مختلفة (500-400-300-200) ملي تسلا.

تقدير الفاعلية التثبيطية لراشح خميرة *S.boulardii* والمعرضة للمجال المغناطيسي باستعمال طريقة الحفر:

زرعت خميرة *S.boulardii* في انابيب تحوي وسط YEGP لمدة 48 ساعة في 37 مْ عرضت اربعة انابيب للمجال المغناطيسي بالشدات (500-400-300-200) ملي تسلا وانبوب السيطرة غير المعرض،حضر الراشح بعد إزالة خلايا الخميرة منه بالطرد المركزي (3000دورة /دقيقة) لمدة 15 دقيقة ثم عملت ثقوب بقطر 5ملم بوساطة ثاقب فليني على سطح الآكار المغذي المنشور عليه معلق العزلات البكتيرية الممرضة المعزولة ووضع في كل ثقب راشح خميرة من كل انبوب وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة وبعد حضن الاطباق في 37مْ لمدة 24ساعة تم تسجيل النتائج بقياس قطر مناطق التثبيط.

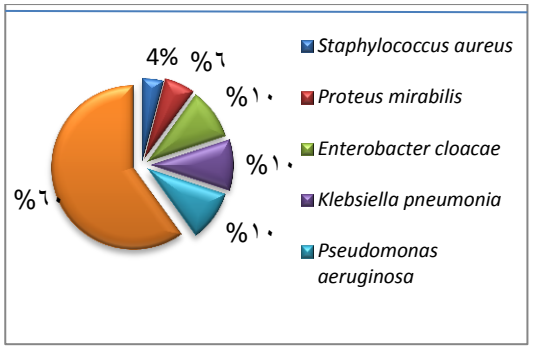
التحليل الاحصائي:

استعمل البرنامج الإحصائي Statistical SAS- Analysis System (2012) [12]في هذه الدراسة لتحليل البيانات عند دراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة على وفق تصميم عشوائي كامل (CRD) وباتجاهين (Two way)، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD).

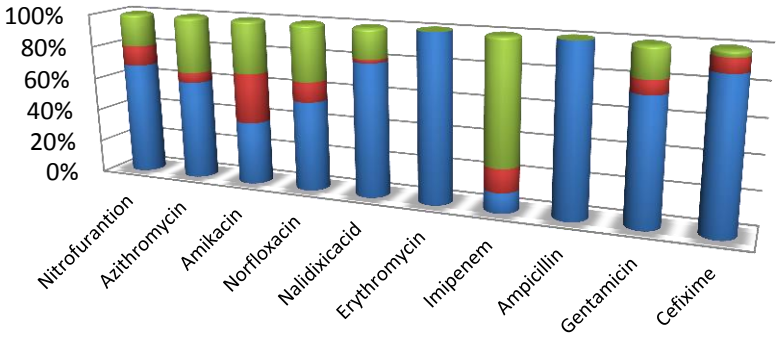
النتائج والمناقشة:

تم الحصول على 50عينة موجبة الزرع البكتيري مثلت بكتريا *Escherichia coli* 30عينة من مجموع العينات الموجبة الزرع اي بنسبة 60% ومثلت عزلات بكتريا -*Enterobacter cloacae* *Klebsiella pneumonia- Pseudomonas aeruginos* خمس عزلات لكل منهم اي بنسبة 10%وبكتريا *Proteus mirabilis* بمجموع

ثلاث عينات اي نسبة 6%في حين ان اقل نسبة كانت عائدة لبكتريا *Staphylococcus aureus*و بواقع عينتين فقط من مجموع العينات الموجبة الزرع. وبنسبة 4%وكما في الشكل (1) واظهرت العزلات البكتيرية مقاومة عالية للمضادات خاصة للمضادين Erythromycin وAmpicillin بنسبة 100% في حين ان معظم العينات كانت متحسسة للمضاد Imipenem وAmikacin كما مبين في الشكل (2) وهذا يتوافق مع ما توصل له الباحثون من زيادة مقاومة عزلات البكتريا للمضادات التي يعتقد انها بسبب إختلاف الانظمة المتبعة في تناول واستعمال مضادات الحياة ، اذ ان الاساءة في استعمال المضادات الحياتية وتناول كميات كبيرة من المضاد نفسه ولمدة طويلة فضلاً عن الاستعمال الواسع للمضادات في مجالات مختلفة فضلا عن الاستعمال المفرط دون ارشادات الطبيب وعدم اكمال دورات العلاج اللازمة والتوقف عن تناول المضادات عند ظهور علامات التحسن على المريض، كلها من شأنها ان تزيد في نسبة ظهور العزلات البكتيرية المقاومة لها [14,13] .



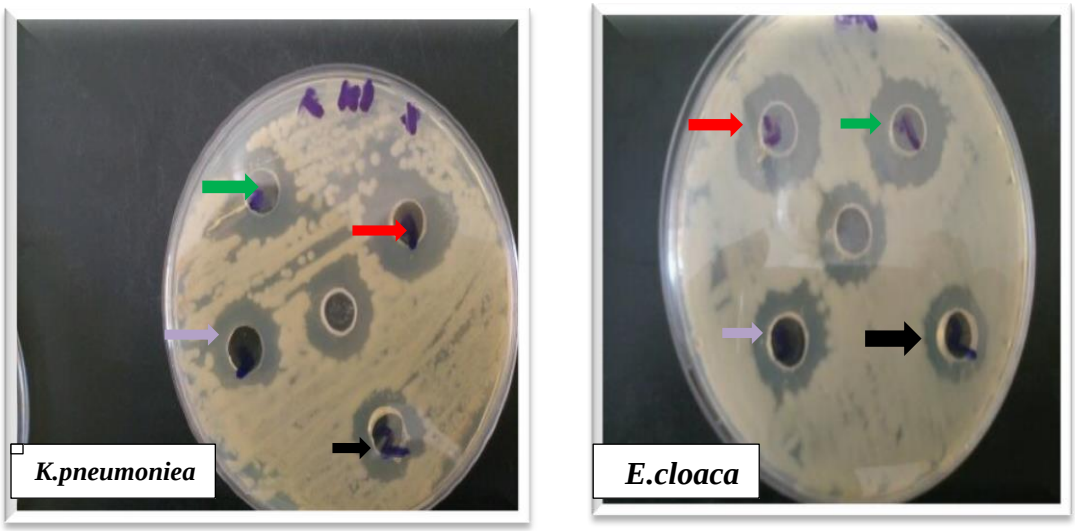
شكل(1): النسبة المئوية للمسببات البكتيرية الممرضة التي تم عزلها.



	Nitrofurantion	Azithromycin	Amikacin	Norfloxacin	Nalidixicacid	Erythromycin	Imipenem	Ampicillin	Gentamicin	Cefixime
Sensative	20%	34%	32%	34%	18%	0%	74%	0%	18%	4%
Intermedate	12%	6%	30%	12%	2%	0%	14%	0%	8%	8%
Resiste	68%	60%	38%	54%	80%	100%	12%	100%	74%	88%

شكل(2) نسبة مقاومة العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

وتم اختيار العزلة الاكثر مقاومة للمضادات من كل نوع بكتيري تم عزله في هذه الدراسة لدراسة تأثير القدرة التثبيطية للخميره تجاهه،تباينت اقطارمناطق تثبيط العزلات البكتيرية بالخميرة غير المعرضة للمجال المغناطيسي حيث يلاحظ ان اعلى معدل تثبيط لعالق عزلة خميرة*S. boulardii* سجل للعزلة البكتيرية *K.pneumoniea* حيث كانت بمعدل قطر 20 ملم اما قطر منطقة تثبيطها بإستعمال راشح الخميرة فهو 10ملم اما بكتريا *P.aeruginosa E.cloacae وS.aureus* و *E.coli*فكانت بمعدل قطر(7,10,13,14) ملم على التوالي بإستعمال عالق الخميرة و(7,9,14,13.5) بإستخدام راشحها (كما موضح في الشكل (3))حيث ان مناطق التثبيط بالراشح اقل من مناطق التثبيط بعالق الخميرة غير المعرضة للمجال. تشابهت هذه النتيجة مع الباحث [15] من حيث ان العالق اعطى منطقة تثبيط اعلى من الراشح ويعود ذلك الى ان التثبيط باستعمال العالق يكون بفعل تآزري بين الخميرة وبين المواد المثبطة التي تفرزها حيث تؤدي خلايا الخميرة الموجودة في العالق دورا تثبيطيا من خلال منافستها على المغذيات مع عزلات البكتريا الممرضة وكذلك اشارت بعض الدراسات الى ان بعض المواد المثبطة للخميرة لايتم افرازها للوسط وانما تكون جزءا من جدارها الخارجي [16] ان سبب تباين استجابة البكتريا المرضية الاختبارية الى التثبيط بوساطة الخميرة ربما يعود الى اختلاف سلالاتها التي تختلف في عدد ومستقبلات السم الموجود على الجدار الخلوي للخلايا الحساسة لها [17].



شكل(3): التاثير التثبيطي لراشح (الى اليسار) وعالق (الى اليمين) خميرة *S. boulardii* المعرضة لشدات مغناطيسية مختلفة تجاه بعض المسببات البكتيرية الممرضة المعزولة والمزروعة على وسط الاكار المغذي الصلب لمدة 24ساعة عند درجة حرارة 37مْ وكالاتي:

500ملي تسلا ➡ 400ملي تسلا ➡ 300ملي تسلا ➡ 200 ملي تسلا

اما الخميرة المعرضة للشدات المغناطيسية (200-300-400-500) ملي تسلا اذ اظهرت النتائج زيادة بمعدلات اقطار مناطق التثبيط مع زيادة شدة المجال المغناطيسي واظهر عالق الخميرة المعرضة للمجال اعلى مناطق تثبيط لمختلف العزلات وبصورة اكثر من الراشح وكما موضح في الجدول(1)حيث اظهر التحليل الاحصائي فروقا معنوية بالمستوى ($P<0.05$) في اقطار مناطق التثبيط لكل العزلات البكتيرية. وبينت النتائج التأثير الواضح لزيادة شدة المجال المغناطيسي في القدرة التثبيطية للخمائر بتناسب طردي،حيث اعطت الشدة400و 500ملي تسلا اعلى اقطار مناطق التثبيط في حين اقتربت اقطار مناطق التثبيط للخميرة المعرضة للشدة 200 و 300ملي تسلا من اقطار تثبيط الخميرة غير المعرضة للمجال المغناطيسي وان نسبة الزيادة بزيادة شدة المجال المغناطيسي بطريقة العالق اكثر من الزيادة الحاصلة بتأثير الراشح عند زيادة شدة المجال.ويعتقد ان السبب عائد في تأثير المجال المغناطيسي على تكاثر الخميرة وعدد انقساماتها وهذا ما اشار اليه الباحث[17] بلاضافة الى تغيير في الانزيمات والمواد المثبطة المفرزة من كليهما وهذا قريب نوعا ما من دراسة اجراها مجموعة من الباحثين[18]على خمس انواع فطريه تبين ان تعريضها للمجال المغناطيسي سبب زيادة في المواد المفرزة من بعض الانواع.وكذلك اشار الباحث [19] والباحث [20] من خلال دراسة اجروها في تأثير المجال المغناطيسي على البكتريا انه يتسبب في تغيير الشحنه السطحية للخلية مما يؤدي الى تغيير في وظائفها .

يستنتج من هذا انَّ بكتريا *E.coli* هي المسبب المرضي الرئيس لإلتهاب المجاري البولية وبنسبة 60% مقارنة بأنواع البكتريا الأخرى.وان اعلى حساسية للعزلات البكترية هي لمضاد Imipenem، وكذلك أفضلية أستعمال طريقة العالق في إنتاج المواد المثبطة لمدى واسع من انواع البكتريا الممرضة من الخميرة قيد الدراسة،وان تعريض الخميرة للمجال المغناطيسي ادى الى زيادة فاعليتها التثبيطية مقارنة بفعلها التثبيطي من غير معاملة.

جدول(1): معدل قطر مناطق التثبيط (ملم) بفعل عالق وراشح عزلة خميرة*S.boulardii* المعرض لشدات مغناطيسية مختلفة ضد العزلات البكتيرية.

العزلات البكتيرية	معدل قطر منطقة التثبيط (ملم)								قيمة LSD
	200ملي تسلا		300 ملي تسلا		400 ملي تسلا		500ملي تسلا		
	عالق	راشح	عالق	راشح	عالق	راشح	عالق	راشح	
E.coli	12	6.5	12	7	16	7	18	12	*
K.pneumoniea	20	15	20	17	24	19	24	19	*
P.mirabilis	12.5	9	14.5	7	16	7	17	12	*
P.aeruginosa	13	13	15	9	20	10	20	12	*
E.cloacae	13.5	13	14.5	14	19	16	20	15	*
S.aureus	13.5	8	15	13	17	12	18	11	*
قيمة LSD	*4.25	*3.31	*3.46	*3.22	*3.05	*3.08	*3.66	*3.42	---

* ($P<0.05$)، NS: غير معنوي.

المصادر:

[1] Oliveira, F.A.; Paludo, K.S.; Arend, L.N.; Farah, V.S.; Pedrosa, F.O.; Souza, E.M.;Surek.M.; Picheth, G. and Fadel-Picheth, C.M.T. 2011. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic Escherichia coli strains. Genet. Mol. Res., 10 (4): 14-25 .

[2] Evans, A. S. 2013. Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control. Springer.USA PP.702.

[3] Martins, F. S.; Elian, S. E. A.; Vieira, A. T.; Tiago, F. C. P.; Martins, A. K. S.; Silva, F. C. P.; Souza, E. L. S.; Sousa, L. P.; Araujo, H. R. C.; Pimenta, P. F.; Bonjardim, B. A.; Arantes, R. M. E.; Teixeira, M. M. and Nicoli, J. R. 2011. Oral treatment with Saccharomyces cerevisiae strain UFMG 905 modulates immune responses and interferes with signal pathways involved in the activation of inflammation in a murine model of typhoid fever. INT J MED MICROBIOL, 301: 359-364.

[4] Fijałkowski, K.; Nawrotek, P.; Struk, M.; Kordas, M. and Rakoczy, R. 2015. Effects of rotating magnetic field exposure on the functional parameters of different species of bacteria. Electromagn Biol Med., 34(1):48-55.

[5] Thanh, N. T. 2012. Magnetic Nanoparticles: From Fabrication to Clinical Applications, CRC press. USA. pp 616.

[6] Case, C. L. and Johnson, T. R. 2014. Laboratory experiments in microbiology (6^{th} ed), Benjamin/ Cummings publishing company. UK.PP 478

[7] Harvey, R. A.; Cornelissen, C. N. and Fisher, B. D. 2013. Lippincott's Illustrated Review Microbiology. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins Wolters Kluwer business. USA.

[8] National Committee For Clinical Laboratory Standareds. 2002. Perfomance Standared For Antibiotic Susceptibility Testing NCCLS. 12th informational supplement., 22(1): 1-133.

[9] Izgu, F .and Demet, A. 1997. Killer toxin of certain yeast strain have potential growth inhibitory activity on gram positive pathogenic bacteria. Microbios., 89 : 15 -22.

[10] Al-Gosha'ah, F. A. 2005. Studying the Effect of Inhibitory Substances Produced by *Saccharomyces boulardii* on Virulence Factors of Some Enteric Bacteria. Phd. College of Science. Al-Mustansiriyah University

[11] Atlas, R. M. and Snyder, J. W. 2013. Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology. New York, CRC Press. PP578

[12] SAS. 2012. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

[13] Al Douri, A. Y. 2011. Diagnostic and Genetic Study of the Bacteria Causing Urinary Tract Infections in Patients in Tikrit City. Phd. College of Education. University of Tikrit.

[14] Ahmed A. F. 2016. Molecular study of a number of bacterial adhesion of the bacteria Escherichia coli isolated of urine samples of children under five. Master Thesis, the College of Education Pure Sciences /Ibn Al-Haytham. University of Baghdad.

[15] Al-Samarraie, F. Q. 2013. Study the effect of *Saccharomyces boulardii* and *Lactobacillus acidophilus* on some uropathogens causes Reccurent Urinary Tract Infection in Women. Master theses. College of Science for Women. University of Baghdad.

2016. Effects of Static Magnetic Field on The Colony of Micro-Orgenism. PARIPEX-Indian Journal of Research, 5(5).

[19] Ali, Z. A.; Yahya, A. I. and Jabir A. S. 2014.The Effect of Static Magnetic Field on Growth and Biochemical Indices of Five Fungal Genera. JBR.,8(3):28-36.

[20] Kamel, F. H.; Saeed C. H. and Qader. S. S. 2013. The Effects of Magnetic Fields on Some Biological Activities of Pseudomonas aeruginosa. DJM.,5(1):29-35.

[16] Abbood, W. 2012. Detecting some factors affecting *Salmonella typhimurium* adhesion and inhibition by *Saccharomyces boulardii*. JBR.,6(2):74-82.

[17] Ateia ,A. M.(2013). Activity of Some Proteinous Inhibitors Producted by *Saccharomyce scerevisiae* Against some enteric bacteria.Master theses. College of Basic Education. University of AL-Mustansiriya.

[18] Haque, A.; Pawar, V. N.; Perwaiz, M. A. and Tabaene, H.

Study the effect of stable magnetic field on the inhibition activity of *Saccharomyces boulardii* against pathogenic bacteria isolated from urinary tract infection

Nada Sabah Razouqi ***Sajood Hamood Abdulla***

Department of Biology, College of Science for Women, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

Sejood.hmood@gmail.com

Received 22/1/2016
Accepted 9/3/2017

Abstract:

An increasing trend to use probiotic and study their effects on the pathogens has been conductor where they are defined as live micro-organisms that give a health benefit to the host when ingested in sufficient quantities, including the yeast *Saccharomyces boulardii* In addition research show that a magnetic field (MF) has a biological effect. This study aims to investigate the effects of magnetic field on the inhibitory action of *Saccharomyces boulardii* against bacteria isolated from urinary tract infection, Study the sensitivity of bacterial isolates to antibiotics after diagnosis by microscopic, Cultural and biochemical examinations as well as Api20 E examinations were used gram negative bacteria , Most isolates were resistant to antibiotics elected, using Well diffusion method to investigate the inhibitory action of suspension and supernatant of the yeast with and without magnetic field in four different intensities (200-300-400-500) milli Tesla. The results show that inhibitory efficacy of each was higher wish increasing the magnetic field strength and differed in their impact depending on the type of bacteria and the isolate of *K.pneumoniea* was the most sensitive in all experiments, and suspension was more effective.

Key words: Urinary tract infections ، *Saccharomyces boulardii* ،magnetic field