مجلة المختار للعلوم 37 (2): 168-174، 2022
ISSN: online 2617-2186 print 2617-2178
Journal Homepage https://omu.edu.ly/journals/index.php/mjsc/index

اختبار حساسية بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* لمستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis*

أحمد امراجع عبدالرازق، وسامي محمد صالح*

قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

تاريخ الاستلام: 05 نوفمبر 2021 / تاريخ القبول: 20 يونيو 2022
Doi: https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i2.553

المستخلص : تتمتع بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بمقاومة فريدة للعديد من المضادات الحيوية، مما جعلها في قائمة الأنواع المسببة للعدوى في المستشفيات الليبية. لذلك أجريت الدراسة الحالية بهدف اختبار حساسية ثلاث عزلات من بكتيريا *P.aeruginosa* المعزولة من إصابات مختلفة: التهابات المسالك البولية (Urin)، والتهابات الجروح (Wound)، والإسهال (Diarrhoea) لمستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis* المائية والايثانولية بتركيزي (50، 100) ملغم/ مل بالإضافة للمضادين النيومايسين، والجنتامايسين، واختبار حساسيتها بطريقة الأقراص. بينت النتائج أن جميع عزلات *P.aeruginosa* حساسة لمستخلصات طحلب *A.taxiformis*، كما لوحظ تفوق المستخلص الايثانولي بتركيز 100ملغم / مل على المضادات الحيوية، والمستخلص المائي، وكانت عزلة المسالك البولية (U) *P.aeruginosa* هي الأكثر حساسية للمستخلصات، بينما كانت عزلة الجروح (W) *P.aeruginosa* هي أكثر العزلات مقاومة للمستخلصات، والمضادات الحيوية، كما بينت النتائج أيضا أن جميع العزلات مقاومة للمضاد الحيوي الجنتامايسين مقارنة بالمضاد الحيوي النيومايسين. خلصت الدراسة إلى إمكانية الاعتماد على *Asparagopsis taxiformis* في التغلب على بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية : *Pseudomonas aeruginosa*، *Asparagopsis taxiformis*، المضادات الحيوية.

المقدمة

تمثل البكتيريا السالبة *Pseudomonas aeruginosa* العائدة لعائلة Pseudomonadaceae نموذجاً واضحاً للبكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية (Cabot et al., 2016)، وترتبط بارتفاع معدلات الوفيات في المستشفيات وخاصةً في غرف العناية المركزة (Alnour et al., 2017)، حيث تسبب عدوى الجهاز التنفسي، ومجرى الدم، والحروق، والجروح، والتهابات المسالك البولية (Al-Obaidi & Al-Dahmoshi, 2020)، وذلك لقدرتها على تكوين هياكل أغشية معقدة تسمى البيوفيلم بالإضافة لامتلاكها جينات متخصصة في مقاومة طيف واسع من المضادات الحيوية، وخاصةً مضادات البيتالاكتام (Sun et al., 2013)، وأجريت العديد من المحاولات في مختلف أنحاء العالم للتغلب على بكتيريا *P.aeruginosa*، والقضاء عليها باستخدام مستخلصات الطحالب البحرية مصدراً علاجياً بديلاً للمضادات الحيوية، حيث كشفت دراسة حديثة إلى إمكانية استخدام العديد من الطحالب البنية في القضاء على هذه البكتيريا (Madkour et al., 2019)، وأشارت دراسة أجريت في الهند إلى حساسية بكتيريا *P.aeruginosa* للمستخلصات الكحولية لنوعين من الطحالب الخضراء (Pushparaj et al., 2014)، وتتميز الطحالب الحمراء Rhodophyta بخصائص دوائية لاحتوائها على مركبات جيدة نشطة بيولوجياً (Cotas et al., 2020)، ومن ضمن أنواعها التي تم تسجيلها حديثاً في شرق

*سامي محمد صالح sami.mohammed@omu.edu.ly ، قسم الاحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

السواحل الليبية طحلب *Asparagopsis taxiformis* كأحد أنواع عائلة Bonnemaisoniaceae (Bazairi et al., 2013)، والمسجل كأسوء الأنواع الغازية في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط، له رائحة نفاذة يحتوي على العديد من المركبات الهالوجينية (Zenetos et al., 2010)، يستخدم مكملا غذائيا حيوانيا عالي الكفاءة لتخفيف غاز الميثان أثناء عملية التخمير المعوي في المجترات (Roque et al., 2021).

كما أن له دور في القضاء على العديد من المسببات المرضية، حيث أظهر المستخلص الخام للطحلب تأثيرا قويا ضد داء الليشمانيا نوع *Lishmania infantum* السائد في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط (Vitale et al., 2015)، وأكد (Marino et al., 2016) في إيطاليا أنه يمكن الاعتماد على هذا الطحلب في مجال تربية الأسماك بوصفه مضادا حيويا فعالا ضد البكتيريا، وفي الهند استطاع(Vedhagiri et al., 2009) استخدام طحلب *A.taxiformis* في القضاء على بكتيريا *Leptospira javanica* المسببة لداء البريميات.

أجريت هذه الدراسة في معمل كلية التربية جامعة عمر المختار البيضاء ليبيا، بهدف اختبار حساسية عزلات من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* لتراكيز مختلفة من مستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis*.

المواد وطرق البحث

الجمع والإعداد: جمعت عينات طحلب *Asparagopsis taxiformis* من شواطيء منطقة الحمامة شمال مدينة البيضاء/ الجبل الأخضر/ ليبيا، وصنفت في قسم الأحياء/ كلية التربية/ جامعة عمر المختار وفقا (Hayee-Memon & Shameel, 1996)، بعد التنظيف، والتجفيف الطبيعي لمدة أسبوع حفظت لحين الاستعمال.

تحضير المستخلصات: للحصول على المستخلص المائي تمت إذابة 5 جرامات من مسحوق طحلب *Asparagopsis taxiformis* في 100مل من الماء المقطر، ووضعت على حاضنة هزاز لمدة 24ساعة، ثم رشح المحلول بواسطة أوراق ترشيح (0.22 um)، بعدها بخر الراشح بواسطة جهاز المبخر الدوار للحصول على المسحوق الجاف للمستخلص، وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال (Alshalmani et al., 2014).

- ولتحضير المستخلص الايثانولي استخدمت الطريقة السابقة نفسها مع استبدال الماء بالايثانول.
- حضر المحلول الأساسي بتركيز 100 ملغم/مل بإذابة 1جم من المسحوق الجاف في 10 مل ماء مقطر.

العزلات البكتيرية: تم الحصول على عزلات معرفة، ومشخصة مسبقاً لإصابات مختلفة من بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*:

- ***P. aeruginosa* (U)** المعزولة من حالات التهابات المسالك البولية، مصدرها مختبر الرازي للتحاليل الطبية، مدينة البيضاء.
- ***P. aeruginosa* (W)** من حالات التهابات الجروح، مصدرها مستشفى الجلاء للحوادث، مدينة بنغازي.
- ***P. aeruginosa* (D)** من حالات الإسهال، مصدرها عيادة التراحم، مدينة البيضاء.

اختبار حساسية البكتيريا: تم إجراء الاختبار بطريقة الأقراصDisk diffusion method، حيث زرعت العزلات الثلاثة على وسط Mueller-Hinton agar، ثم وضعت أقراص مشبعة بمستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis* بقطر 6 ملم وبمسافات متساوية، وحضنت الأطباق لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37م (Abdulrraziq & Salih, 2020)، واستخدمت أقراص من المضادين النيومايسين (30µg) والجنتامايسين (10µg) للمقارنة، وتم قياس أقطار مناطق التثبيط الخالية من النمو الميكروبي منقوصا منها أقطار الأقراص للمستخلصات.

© 2022. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي 4.0 (CC-BY)

تصميم البيانات وتحليلها: تم تصميم تجارب الدراسة المعملية وفق التصميم كامل العشوائية Completely Randomized Design (CRD)، وأجريت عملية التحليل الإحصائي باستخدام برنامج (Minitab17) لتحليل تباين (ANOVA)، وتم إجراء المقارنة بين المتوسطات باستخدام اختبار (Tukey's) عند $P<0.05$.

النتائج

أختبرت حساسية بكتيريا *P.aeruginosa* المعزولة من إصابات مختلفة لمستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis* المائية، والايثانولية، وبعد قياس أقطار التثبيط، بينت النتائج أن هناك فروقاً معنويةً في مدى حساسية العزلات البكتيرية للمستخلصات، والمضادات الحيوية تبعاً لمصدر الإصابة، ونوع المستخلص، والتركيز المستخدم.

حساسية عزلات *P.aeruginosa* للمستخلصات: أظهرت النتائج من الجدول(1)، والشكل (1) أن بكتيريا *P.aeruginosa* (W) المعزولة من التهابات الجروح أبدت مقاومة للمستخلص المائي، في حين سجلت حساسية ضعيفة للمستخلص الايثانولي بأقطار تثبيط (1.0، 1.5) ملم للتركيزين 50، 100 ملغم / مل على التوالي، وبينت النتائج أيضا أن بكتيريا *P.aeruginosa* (D) المعزولة من حالات الإسهال سجلت حساسية ضعيفة للمستخلص المائي للتركيز 100ملغم / مل بقطر تثبيط (1.0) ملم، بينما كانت ذات حساسية متوسطة للمستخلص الايثانولي بتركيز 50ملغم/ مل بقطر تثبيط (2.4) ملم، في حين سجلت حساسية عالية للتركيز 100 ملغم/ مل بقطر تثبيط (5.2) ملم، كما أظهرت النتائج أن بكتيريا *P.aeruginosa* (U) المعزولة من التهابات المسالك البولية كانت هي الأكثر حساسية لجميع تراكيز المستخلصين المائي والايثانولي بأقطار تثبيط تراوحت من (2.5–6.3) ملم، كان أفضلها للمستخلص الايثانولي بتركيز 100 ملغم / مل.

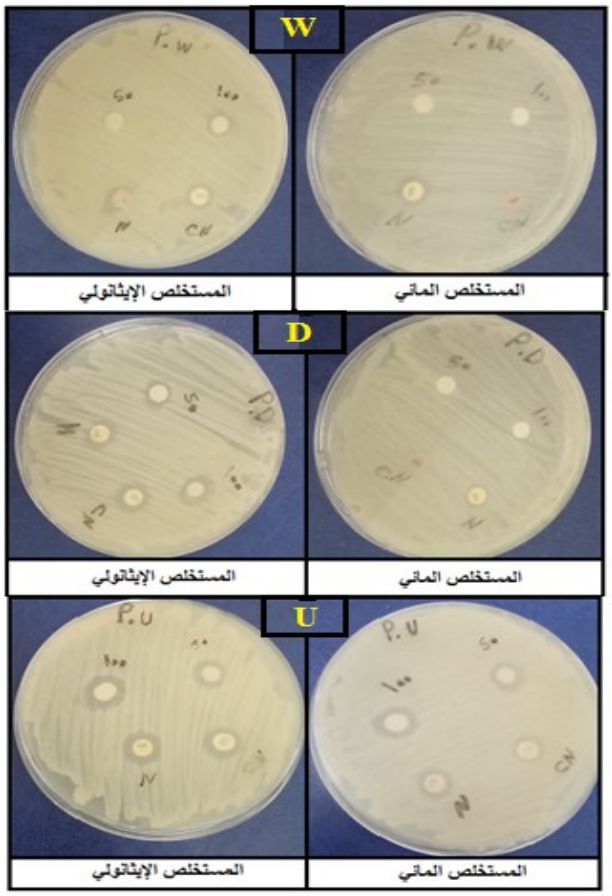
حساسية عزلات *P.aeruginosa* للمضادات: يتضح أيضاً مدى حساسية بكتيريا *P.aeruginosa* المعزولة من إصابات مختلفة للمضادين النيومايسين، والجنتامايسين، حيث لوحظ أن بكتيريا *P.aeruginosa* (W) المعزولة من التهابات الجروح كانت ذات حساسية ضعيفة تجاه المضادين النيومايسين، والجنتامايسين بقطر تثبيط (2.2، 1.8) ملم على التوالي، بينما كانت بكتيريا *P.aeruginosa* (U) المعزولة من التهابات المسالك البولية أكثر حساسية للمضاد الحيوي النيومايسين بقطر تثبيط (3.9) ملم مقارنة بالمضاد الحيوي الجنتامايسين بقطر تثبيط (2.6) ملم، في حين كانت بكتيريا *P.aeruginosa* (D) المعزولة من حالات الإسهال هي الأكثر حساسية بالمضادين.

جدول(1): حساسية بكتيريا *P.aeruginosa* لمستخلصات طحلب *A.taxiformis* والمضادات الحيوية (المتوسط ± الانحراف المعياري).

المستخلص / العزلة		*P.aeruginosa* (W)	*P.aeruginosa* (D)	*P.aeruginosa* (U)
المائي	50	0.0±0.0 c	0.0±0.0 e	2.5±0.3 b
ملغم/مل	100	0.0±0.0 c	1.0±0.0 d	3.1±0.5 b
الايثانولي	50	1.0±0.0 b	2.4±0.4 c	2.7±0.2 b
ملغم/مل	100	1.5±0.5 b	5.2±0.5 a	6.3±1.0 a
Neomycin	30	2.2±0.2 a	4.5±0.5 ab	3.9±0.5 b
Gentamicin	10	±0.1 ab61	±0.2 b6.3	2.6±0.1 b

• الحروف المختلفة توجد بينها فروق معنوية ضمن العمود نفسه عند مستوى 0.05%.

© 2022. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي 4.0 (CC-BY)



شكل(1): حساسية عزلات *P.aeruginosa* للمستخلصات والمضادات الحيوية.

المناقشة

تعتبر بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* مصدراً للعديد من الالتهابات الحادة والمزمنة، والمقاومة للكثير من المضادات الحيوية (Lavoie et al., 2011)، ولقلة الأبحاث المتداولة حول مدى حساسيتها لمستخلصات الطحالب الحمراء وخاصة الموجودة على السواحل الليبية، اجريت هذه الدراسة التي أظهرت أن بكتيريا *P.aeruginosa* المعزولة من إصابات مختلفة حساسة لمستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis*، واتفقت هذه النتيجة مع (Bhuyar et al., 2020; Dayuti, 2018) بوجود فاعلية للطحالب الحمراء ضد العديد من مسببات الأمراض البكتيرية، ولوحظ أن جميع عزلات بكتيريا *P.aeruginosa* كانت أكثر حساسية للمستخلص الايثانولي من المستخلص المائي واتفقت هذه النتيجة مع ما ذكره (Manilal et al., 2009) بأن المذيبات الكحولية هي الأفضل في استخلاص المركبات الفعالة، وأشارت النتائج أيضا إلى أن عزلة المسالك البولية (U) *P.aeruginosa* هي الأكثر حساسية للمستخلصات يليها عزلة الإسهال (D) *P.aeruginosa*، وكانت عزلة الجروح (W) *P.aeruginosa* أكثر العزلات مقاومة للمستخلصات، والمضادات الحيوية، كما كانت جميع العزلات حساسة للمضاد الحيوي النيومايسين مقارنة بالمضاد الجنتامايسين، واتفقت هذه النتائج مع (Kılınç et al., 2015) بتفاوت حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية ومقاومتها، وأن عزلاتها من الجروح هي الأكثر مقاومة، وتفوق المستخلص الايثانولي بتركيز 100 ملغم / مل على المضادات الحيوية في القضاء على هذه البكتيريا، وقد ترجع الفاعلية التثبيطية لطحلب *Asparagopsis taxiformis* لاحتوائه على halogenated compounds، haloforms، methanes، ketones، acetates، acrylates كمركبات نشطة بيولوجيا (Bansemir et al., 2006).

الخلاصة

نستنتج من هذه الدراسة أنه يمكن الاعتماد على مستخلصات طحلب *Asparagopsis taxiformis* بديلاً للمضادات الحيوية في مقاومة بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* وتوصي الدراسة بإجراء المزيد من الدراسات، والتحقق من فاعلية الطحالب الحمراء في مجال المكافحة الحيوية.

المراجع

Abdulrraziq, A. A., & Salih, S. M. (2020). Biological Effect of Posidonia oceanica Seaweed on Some Pathogenic Microbes. *Al-Mukhtar Journal of Sciences, 35*(4), 339-346 .

Al-Obaidi, R. D., & Al-Dahmoshi, H. (2020). Biofilm and antibiotic resistance profile among Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical samples. *Eurasia J Biosci, 14*(1), 1135-1139 .

© 2022. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي 4.0 (CC-BY)

nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta). *Life, 10*(3), 19 .

Dayuti, S. (2018). Antibacterial activity of red algae (Gracilaria verrucosa) extract against Escherichia coli and Salmonella typhimurium. IOP conference series: earth and environmental science ،

Hayee-Memon, A., & Shameel, M. (1996). A taxonomic study of some red algae commonly growing on the coast of Karachi .

Kılınç, Ç ،.Güçkan, R., Çepni, M., Aydın, O., & Çatakoğlu, A. H. (2015). Antibacterial Resistance in Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Various Clinical Samples. *Respiration, 104*, 31.38 .

Lavoie, E. G., Wangdi, T., & Kazmierczak, B. I. (2011). Innate immune responses to Pseudomonas aeruginosa infection. *Microbes and infection, 13*(14-15), 1133-1145 .

Madkour, F., A El-Shoubaky, G., & A Ebada, M. (2019). Antibacterial activity of some seaweeds from the Red Sea coast of Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 23*(2), 265-274 .

Manilal, A., Sujith, S., Kiran, G. S., Selvin, J., Shakir, C., Gandhimathi, R., & Lipton, A. P. (2009). Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of Microbiology, 59*(2), 207-219 .

Marino, F., Di Caro, G., Gugliandolo, C., Spano, A., Faggio, C., Genovese, G., Morabito, M., Russo, A., Barreca, D., & Fazio, F. (2016). Preliminary study on the in vitro and in vivo effects of Asparagopsis taxiformis bioactive

Alnour, I., Wagiran, H., Ibrahim, N., Hamzah, S., & Elias, M. (2017). Determination of the elemental concentration of uranium and thorium in the products and by-products of amang tin tailings process. AIP Conference Proceedings ،

Alshalmani, S. K., Zobi, N. H., & Bozakouk, I. H. (2014). Antibacterial activity of Libyan seaweed extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 5*(12 .5425 ،(

Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture, 252*(1), 79-84 .

Bazairi, H., Sghaier, Y. R., Benamer, I., Langar, H., Pergent, G., Bouras, E., Verlaque, M., Soussi, J. B., & Zenetos, A. (2013). Alien marine species of Libya: first inventory and new records in El-Kouf National Park (Cyrenaica) and the neighbouring areas. *Mediterranean marine science*, 451-462 .

Bhuyar, P., Rahim, M., Sundararaju, S., Maniam, G., & Govindan, N. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed Kappaphycus alvarezii against pathogenic bacteria. *Global Journal of Environmental Science and Management, 6*(1), 47-58 .

Cabot, G., Zamorano ،L., Moyà, B., Juan, C., Navas, A., Blázquez, J., & Oliver, A. (2016). Evolution of Pseudomonas aeruginosa antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. *Antimicrobial agents and chemotherapy, 60*(3), 1767-1778 .

Cotas, J., Leandro, A., Pacheco, D., Gonçalves, A. M., & Pereira, L. (2020). A comprehensive review of the

© 2022. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي 4.0 (CC-BY)

Framework Directive (MSFD). Part I. Spatial distribution .

phycoderivates on teleosts. *Frontiers in physiology, 7*, 459 .

Pushparaj, A., Raubbin, R., & Balasankar, T. (2014). An antibacterial activity of the green seaweed Caulerpha sertularioides using five different solvents. *International of Journal PharmTech Research, 6*, 01-05 .

Roque, B. M., Venegas, M., Kinley, R. D., de Nys, R., Duarte, T. L., Yang, X., & Kebreab, E. (2021). Red seaweed (Asparagopsis taxiformis) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. *PloS one, 16*(3), e0247820 .

Sun, Z., Jiao, X., Peng, Q., Jiang, F., Huang, Y., Zhang, J., & Yao, F. (2013). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa is associated with decreased fitness. *Cellular Physiology and Biochemistry, 31*(2-3), 347-354 .

Vedhagiri, K., Manilal, A., Valliyammai, T., Shanmughapriya, S., Sujith, S., Selvin, J., & Natarajaseenivasan, K. (2009). Antimicrobial potential of a marine seaweedAsparagopsis taxiformis againstLeptospira javanica isolates of rodent reservoirs. *Annals of Microbiology, 59*(3), 431-437 .

Vitale, F., Genovese, G., Bruno, F., Castelli, G., Piazza, M., Migliazzo, A., Minicante, S. A., Manghisi, A., & Morabito, M. (2015). Effectiveness of red alga Asparagopsis taxiformis extracts against Leishmania infantum. *Open Life Sciences, 10*(1 .(

Zenetos, A., Gofas, S., Verlaque, M., Çinar, M. E., García Raso, J. E., Bianchi, C., Morri, C., Azzurro, E., Bilecenoglu, M., & Froglia, C. (2010). Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy

© 2022. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي 4.0 (CC-BY)

Sensitivity testing of *Pseudomonas aeruginosa* to *Asparagopsis taxiformis* extracts

Ahmed A. Abdulrraziq and Sami M. Salih*

Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Libya

Received: 05.November 2021./ Accepted: 20 June 2022
Doi: https://doi.org/10.54172/mjsc.v37i2.553

Abstract: *Pseudomonas aeruginosa* has been to possess a unique level of resistance to most antibiotics, therefore made in the list of types to cause infections in Libyan hospitals. This study was conducted to test the sensitivity of three *P.aeruginosa* isolates from different infections: infection tract urinary (U), Wound infection (W), Diarrhoea (D), to aqueous and ethanol extracts of *Asparagopsis taxiformis* at a concentration of (50, 100) mg/ml, compared with Neomycin and Gentamycin. The results showed the sensitivity of all *P.aeruginosa* isolates to *A.taxiformis* extracts, superiority is observed of ethanol extract at a concentration of 100 mg/ml on antibiotics and aqueous extract. *P.aeruginosa* (U) isolates were the most sensitive to extracts, while *P.aeruginosa* (W) isolates were the most resistant to extracts and antibiotics. The results also showed a resistance of all isolates to gentamycin compared to neomycin. Data in this study indicated to possibility use of *Asparagopsis taxiformis* could be a valid alternative for bio-control of *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *Asparagopsis taxiformis*, Antibiotic.

***Corresponding author:** Sami mohammed salih sami.mohammed@omu.edu.ly , Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Libya