

فعالية الصمغ العربي *Acacia Senegal* ضد للأغشية الحيوية المكونة من بعض مجتمعات  
الميكروبات الممرضة (مختبريا)

**Effectiveness of Arabic Gum *Acacia Senegal* against Biofilms  
Formed by Some Pathogenic Microbial Communities (*In vivo*)**

د. هناء ونيس الفلاح

**Hana Wanis Elfallah**

كلية العلوم، جامعة المرقب، ليبيا دكتوراه في الأحياء الدقيقة، أستاذ مساعد،

[Hanafallah33@gmail.com](mailto:Hanafallah33@gmail.com)

**الملخص**

هناك العديد من المسببات المرضية أظهرت مقاومة للكثير من المضادات الحيوية مما قد يشكل خطراً على حياة الإنسان. الأغشية الحيوية هي إحدى أساليب الميكروبات للحفاظ على نفسها من البيئة ومن بعض العوامل خاصة منها المضادات الحيوية والتي كانت حساسة اليها في السابق. استخدمت العديد من أنواع المكافحة الحيوية منها استعمال بعض النباتات ومستخلصاتها ضد مثل هذه التجمعات مثل الصمغ العربي *Acacia Senegal* الذي استعمل في دراستنا الحالية بتركيز لأنهاء هذه التجمعات، أجريت هذه الدراسة في مختبر الأحياء الدقيقة كلية العلوم الخمس، لغرض التعرف على التأثير التضادي لمستخلصات الصمغ العربي بخلات الإيثيل وبكلورفورم مع المثانول بنسبة (1:1) على نمو الأغشية الحيوية لبعض الميكروبات المرضية قيد الدراسة، وقد أظهرت النتائج انه وبتركيز مختلفة للمستخلص بخلات الإيثيل ومستخلص الكلورفورم أن هناك تضادا لنموات هذه المجتمعات الضارة والمسببات المرضية.

الكلمات المفتاحية: الصمغ العربي، الأغشية الحيوية، التركيز المشبط الأدنى، مستخلصات، المستقلبات الأيضية الثانوية.



## Abstract

The emergence of multidrug-resistant pathogens poses a significant threat to human life. Biofilms are a key survival strategy employed by microorganisms to protect themselves from environmental stresses, including antibiotics. In this study, we investigated the antimicrobial activity of Acacia Senegal gum extracts against biofilm-forming pathogens. The extracts were prepared using ethyl acetate, chloroform, and methanol (1:1) and tested at various concentrations. Our results show that the ethyl acetate and chloroform extracts exhibited significant inhibition of biofilm formation by the tested pathogens. These findings suggest that Acacia Senegal gum extracts may be a promising natural antimicrobial agent against biofilm-forming pathogens.

## المقدمة

أصبحت الأغشية الحيوية ذات أهمية كبيرة بسبب مقاومتها للمضادات والتي تمثل خطورة على صحة الإنسان. في عام 1973 قام الباحث (Characklis) بالاهتمام وتسليط الضوء على السبب الرئيسي للمقاومة التي تنتجها الميكروبات المسؤولة على تكوين الأغشية الحيوية. وقد تشكلت الأغشية الحيوية من ميكروب واحد أو مجموعة من الميكروبات مثل البكتيريا والفطريات والطفيليات الأولية التي تلتصق بالأسطح الحية وغير الحية (Satpathy وآخرون 2016 & Flemming وآخرون 2010) تم استخدام مصطلح الأغشية الحيوية لأول مرة من قبل Costerton، في عام 1978، مصطلح الأغشية الحيوية لأول مرة كما ذكرها (Hall-Stoodley وآخرون 2004). اكتسبت الأغشية الحيوية أهمية في الآونة الأخيرة بسبب المشاكل التي تسببها في المجالات الطبية والصيدلانية حيث أنها تسبب العديد من الأمراض للإنسان والحيوان (Acker وآخرون 2014 & Alvarez- Ordóñez وآخرون 2019). تشير العديد من الدراسات أنها من ضمن مسببات حالات العدوى في أغلب المستشفيات حيث تقدر بحوالي 70% من تلك العدوى هي بسبب الأغشية الحيوية (Brooks & 2008). Flint) تعتبر المواد الأيضية الثانوية لأغلب النباتات مثل (القلويات، والراتنجات، والمنشطات، والعفص، والأوليوسينات، والترين، لها خصائص حيوية تضادية للميكروبات، حيث لوحظ في الآونة الأخيرة مدى التطور في علوم الأدوية لعلاج بعض الأمراض بناء على هذه الخصائص. وبالتالي، تم اكتشاف هذه المركبات وتم تطويرها بشكل سليم بحث يكون لها تأثيرات واضحة مضادة للميكروبات، فأغلب النباتات الطبية لها خصائص ذات آليات عمل متطورة لعلاج الأمراض الميكروبية المعدية والمكونة للأغشية الحيوية. (Egwaikhide وآخرون، 2009). ولذلك كان لا بد من البحث والتقصي للعثور على المكون الطبيعي البديل لهذه المركبات الكيميائية حيث يتم استخدام العديد من المنتجات النباتية والطبيعية المختلفة لعلاج العديد من الأمراض. تم استخدام النباتات الطبية لعلاج مجموعة من الأمراض المعدية خصوصا في الطب التقليدي وفقا لمehrotra وآخرون

(2010)، انه ما يقارب حوالي 80% من سكان العالم يستخدمون المنتجات والأدوية العشبية لعلاج الأمراض بناء على الصفات البيولوجية المضادة للمستقلات الأيضية الثانوية الموجودة في النباتات مثل القلويدات، والراتنجات، والمنشطات، والعفص، والأوليوسينات، والترين. أن المستخلص المائي لنبات للصمغ العربي *Acacia Senegal* الحاوي على بيتيدات مضادة للبكتيريا ضد كل من سالبة الجرام وإيجابية الجرام البكتيريا مثل *Staphylococcus aureus*، *MRSA*، *Pseudomonas sp*، *E. coli*، *Klebsiella pneumoniae*، *Enterobacteraceae sp* (Bnuyan وآخرون، 2015). كل هذه البكتيريا وغيرها مكونة للأغشية الحيوية ومسببة للأمراض فقد تم تحديد التراكيز المناسبة من فعالية المركبات المستخلصة من الصمغ العربي *Acacia Senegal* وتأثيرها المضاد للأغشية الحيوية التي تسببها البكتيريا قيد الدراسة.

#### أهمية الدراسة:

يعتبر الصمغ العربي *Acacia Senegal* بديل طبيعي للمضادات الحيوية الكيميائية حيث تستخدم المستخلصات في التقليل من تكوين الأغشية الحيوية للبكتيريا ويحد من قدرة البكتيريا على التكاثر والبقاء، والتقليل من مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية.

#### الهدف من الدراسة:

تقييم فعالية المركبات الفعالة الموجودة في مستخلصات الصمغ العربي بمذيبات عضوية مختلفة ذات قطبية مختلفة أيضا لكي تكون مصدرا حيويا بديل للأدوية الكيميائية ضد التجمعات الحيوية للبكتيريا ما يعرف بالأغشية الحيوية بحيث تعالج صفة المقاومة للمضادات الحيوية.

#### مشكلة الدراسة:

أن الأغشية الحيوية المتكونة من قبل الكائنات الدقيقة الممرضة مصدر قلق كبير بسبب مقاومتها للمضادات الحيوية والتي تمثل خطورة على صحة الإنسان، مما يحفزنا للتعرف على بديل جيد للقضاء على هذه المجتمعات.

#### منهجية الدراسة:

تم تنفيذ وتصميم التجارب الحيوية مختبريا بطريقة المنهجية التجريبية من حيث استخلاص المركبات الفعالة للصمغ العربي واختبار فعالية هذه المركبات على الأغشية الحيوية المتكونة من بعض الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان

#### المواد وطرق البحث:

#### 1- تجميع بعض عينات الميكروبات المسببة للأغشية الحيوية:

تم تجميع عينات الميكروبات الموجبة لصبغة جرام مثل *MRSA*، *Enterococcus faecalis*، *Bacillus cereus* والسالبة لصبغة جرام مثل *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Salmonella typhi* وكفطريات استخدمت *Candida albicans*. من مستشفى الخمس التعليمي.

## 2- تجميع عينات الصمغ العربي *Acacia Senegal*:

تم جمع عينات الصمغ العربي من الأسواق المحلية لمدينة الخمس. وتم إجراء عملية الاستخلاص للمركبات الفعالة من الصمغ العربي باستعمال المذيب العضوي خللات الايثيل وبنسبة (1:1) من المذيبين كلوروفورم وميثانول.

## 3- استخلاص المركبات الفعالة للصمغ العربي *Acacia Senegal*

تم استخلاص المركبات الفعالة للصمغ العربي *Acacia Senegal* باتباع الطريقة الموصوفة مسبقاً لـ Barbara وآخرون (2006) مع بعض التعديلات. بعد غسل العينات بالماء منزوع الأيونات dH<sub>2</sub>O وتجفيفها ثم طحنها بالهاون، تمت إضافة العينة المطحونة إلى 20 مل من مذيبات مختلفة كلوروفورم، خللات الإيثيل، وكلوروفورم: ميثانول (1:1) v/v لمدة 24 ساعة لضمان الاستخلاص الكامل، وتم ترشيحها من خلال ورق ترشيح Whatman No.1، ثم في جهاز الخضاض (Vortex) لمدة 30 ثانية. بعد ذلك يتم فصل العينة حيث نقوم بإزالة الطبقة السفلية، ويتم جمع الطبقة العليا وتجفيفها باستخدام جهاز التبخير الدوار. ثم تجفف العينات ويتم تجميعها بالميثانول لجمع المستخلصات وتخزينها عند درجة حرارة -20 درجة مئوية بعد التجفيف مرة أخرى لحين استخدامها في التجارب الخاصة بالدراسة.

## 4- اختبار النشاطات الحيوية لمستخلصات الصمغ العربي *Acacia Senegal*

### 1- اختبار النشاط التصادي الأولي لمستخلصات الصمغ العربي (طريقة انتشار القرص):

للتعرف على النشاط المضاد للميكروبات وذلك باستخدام مستخلصات خللات الإيثيل والكلوروفورم: الميثانول للصمغ العربي *Acacia Senegal* حسب الطريقة المتبعة Berghe & Vlietinck سنة 1991. لدراسة النشاط الميكروبي للكائنات (طريقة القرص المنتشر). وباستخدام كائنات الاختبار المستخدمة في هذا البحث *P. aeruginosa*، *Entero. faecalis*، *E. coli*، *B. cereus*، *S. typhi* و *C. albicans* و *Methicillin Resistance Staphylo coccus aureus* MRSA ولهذا الغرض، تم إذابة مستخلصات الصمغ العربي في الميثانول للحصول على تركيز 50 ميكروغرام/مل تم نقع الأقراص المعقمة مقاس 9 مم في هذا المحلول لمرات وتجفيفها بعد كل خطوة نقع. تم تلقيح أنابيب المرق المغذي بكائنات الاختبار بحيث تصل الى نمو يقدر بمعيار ماكفرلاند 0.5 عند كثافة 660 نانوميتر بجهاز Spectrophotometer. تم تخطيط أطباق ال Mueller Hinton Agar بيكتريا الاختبار ومن تم توضع أقراص المستخلصات والمخضرة سابقا على هذا الاجار، تم تحضن الاطباق عند 37 درجة مئوية لمدة 22 ساعة. يتم فحص الاطباق للتأكد من وجود منطقة تثبيط حول الأقراص. ثم تم قياس أقطار مناطق التثبيط. لتحديد أكثر المستخلصات نشاطا ضد هذه الميكروبات.

## 2- تحديد التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات Minimum Inhibition Concentration (MIC):

يتم تقدير الحد الأدنى من التركيز المثبط لمستخلصات الصمغ العربي *Acacia Senegal* الكلوروفورم: الميثانول واخللات الإيثيل بواسطة تقنية المتبعة ل Carbonnelle وأخرون (1987) حيث يتم تخفيف عينات المرق المغذي الملقحة بكائنات الاختبار المستخدمة في هذه الدراسة وهي *S. typhi*، *B. cereus*، *C. albicans*، *E. coli*، *Enterobacter faecales*، *P. aeruginosa*، و *MRSA*، يتم إذابة العينات المجففة من كلا المستخلصين في 100 ميكروليتر من DMSO من تم يضاف هذا المحلول إلى أنبوب مرق مولر هينتون للحصول على تركيز نهائي قدره 1000 ميكروجرام/مل. بعد ذلك تحضر سلسلة التخفيفات عن طريق نقل 50 ميكروليتر من هذا الأنبوب الأول إلى الأنبوب الثاني متبوعاً بالرج ثم نقل 50 ميكروليتر من الأنبوب الثاني إلى الأنبوب الثالث وهكذا. يتم تكرار نقل التخفيفات حتى الأنبوب الحادي عشر الذي تم التخلص من محتوى 50 ميكروليتر منه. تحتوي الأنابيب على مستخلصات الصمغ العربي المستخلصة بخلات الإيثيل وأخرى من مستخلص الكلوروفورم: الميثانول. ويضاف المضاد الحيوي ككنترول في أنبوب لوحده، يضاف 50 ميكروليتر من المعلق الميكروبي الذي يحتوي على  $10^6$  وحدة مستعمرة من كائنات الاختبار المستخدمة في دراستنا الحالية، تحضن جميع الأنابيب لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية، مع تسجيل النتائج. وتكون قيمة ال MIC هو أصغر تركيز من المستخلص التي تسببت في تثبيط نمو كائن الاختبار أو الذي تسببت في تحول اللون الأحمر إلى اللون الأصفر بسبب إنتاج المستقلبات الحمضية.

## 3- اختبار تثبيط تكون الأغشية الحيوية من قبل الكائنات الممرضة:

تم إجراء اختبار تثبيط الأغشية الحيوية لمستخلصات الصمغ العربي بالكلوروفورم: الميثانول واخللات الإيثيل تبعاً للإجراء الموصوف من قبل Voravuthikunchai & Limsuwan سنة (2008). تمت زراعة جميع البكتيريا المستخدمة في هذه الدراسة بشكل منفصل في المرق المغذي Nutrient broth في حاضنة هزازة عند 37 درجة مئوية ليلة كاملة. بعد ذلك تم إعداد تخفيف الوسط الغذائي بنسبة 1:200 وإضافة 100 ميكروليتر من هذه الأوساط المخففة إلى حفر طبق خاص يحتوي على 96 حفرة يسمى ب (plate) Microtiter. بعد ذلك يتم إضافة 100 ميكروليتر من تركيزات المختلفة لمستخلصات الصمغ العربي بالكلوروفورم: الميثانول (1:1) وأخرى بخلات الإيثيل إلى هذه الحفر بثلاث مكررات. تم بعد ذلك يرج الطبقة 220 دورة في الدقيقة ويحضن في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة يوم واحد. لم تتم إضافة آبار التحكم مع المعلقات البكتيرية. بمساعدة جهاز ELISA، تم قياس الكثافة الضوئية عند 550 نانومتر بعد فترة الحضانة. تم التخلص من محتويات الحفر وغسلها 3 مرات باستخدام محلول ملحي منظم يعرف ب (PBS) Phosphate buffered saline. يتم تخفيف البكتيريا المكونة للأغشية الحيوية بحيث تكون ملتصقة بسطح حفر الطبقة عند درجة حرارة 60 درجة مئوية

وصبغها لمدة خمس دقائق باستخدام محلول صبغة الكريستال البنفسجي المشبعة. يتم غسل الحفر مرة أخرى جيداً تحت الماء الجاري للتخلص من البقع الزائدة. وأخيراً، يتم تخفيف الأطباق عند درجة حرارة الغرفة ومن ثم قياس الكثافة الضوئية للبكتريا عند 490 نانومتر. مع وجود حفرة لعائق البكتريا والمضاد الحيوي الكلورامفينيكول كونترول إيجابي وأضافه عالق البكتريا مع كلا المذيبين في حفرتين آخر كونترول سلبي.

### تصميم وتحليل البيانات:

تم تقديم النتائج على شكل متوسط الانحراف المعياري ( $\pm$  Means) باستخدام MINITAB الإصدار 16. بالإضافة إلى إجراء تحليل التباين أحادي الاتجاه (ANOVA One Way).

### 1- اختبار النشاط التضادي الأولي لمستخلصات الصمغ العربي:

تم اختبار المستخلصات ضد مجموعة من الكائنات الحية، ووجد أن مستخلص الكلوروفورم: ميثانول أكثر نشاطاً ضد البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام وكذلك فطر الكانديدا. كما يظهر مستخلص الصمغ العربي بخلات الإيثيل تظهر فعالية أكثر ضد MRSA يوضح الجدول رقم (1) يوضح نشاط مستخلصات الصمغ العربي ضد الكائنات الحية المختلفة المستخدمة في هذه الدراسة.

الجدول (1): يوضح مناطق التضاد الميكروبي بملغم لمستخلصات الصمغ العربي بخلات الإيثيل وكلوروفورم: ميثانول

| الكائن الجهري                 | مستخلص الكلوروفورم: ميثانول<br>50 ميكروجرام /مل | مستخلص خللات الإيثيل<br>50 ميكروجرام /مل |
|-------------------------------|---|--|
| <i>MRSA</i>                   | 30 ملغم $\pm$ 0.7                               | 25 ملغم $\pm$ 0.3                        |
| <i>Enterococcus faecalis</i>  | 18 ملغم $\pm$ 0.6                               | 13 ملغم $\pm$ 0.6                        |
| <i>Bacillus cereus</i>        | 22 ملغم $\pm$ 0.2                               | 21 ملغم $\pm$ 0.6                        |
| <i>Escherichia coli</i>       | 24 ملغم $\pm$ 0.6                               | 22 ملغم $\pm$ 0.6                        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 15 ملغم $\pm$ 0.1                               | 11 ملغم $\pm$ 0.3                        |
| <i>Salmonella typhi</i>       | 13 ملغم $\pm$ 0.4                               | 6 ملغم $\pm$ 0.2                         |
| <i>Candida albicans</i>       | 30 ملغم $\pm$ 0.3                               | 26 ملغم $\pm$ 0.4                        |

### 2- تحديد تركيز المثبط الأدنى للمستخلصات (MIC):

تم أيضاً تحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط (MIC) لمستخلصات الصمغ العربي التي أظهرت نشاطاً ضد كائنات الاختبار في هذه الدراسة. وبناءً على ذلك، وجد أن نسبة الحد الأدنى المثبط لمستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم: الميثانول تتراوح بين 1.56 ميكروغرام/لتر و 12.5 ميكروغرام/لتر. ومع ذلك، كان الحد الأدنى المثبط لمستخلص الصمغ العربي بخلات الإيثيل بين 6.3 ميكروغرام/لتر و 25 ميكروغرام/لتر، ويتراوح الحد الأدنى المثبط للكلورامفينيكول من 0.4 ميكروغرام/لتر إلى 100 ميكروغرام/لتر (الكونترول). في حين أن الحد الأدنى لمستخلص الصمغ العربي لخلات الإيثيل ضد *E. coli* و *S. typhi* كان 12.5 ميكروغرام/لتر، كانت قيمة

الحد الأدنى لـ *P. aeruginosa* هي نفس قيمة الكلورامفينيكول (الكوتترول). ومع ذلك، في حالة *E. faecalis*، كانت قيمة الـ MIC لمستخلص خلايا الإيثيل أعلى قليلاً من قيمة الكلورامفينيكول. أثناء مقارنة النوعين المختلفين من المستخلصات، كان الحد الأدنى المثبط لجزء الكلوروفورم-ميثانول ضد *B. cereus* هو 3.12 ميكروغرام/لتر، وهو أقل من الحد الأدنى المثبط لخلايا الإيثيل ضد نفس الكائن الحي. ومع ذلك، فإن الحد الأدنى من التركيز لخلايا الإيثيل ضد *Candida albicans* و MRSA كان 6.3 ميكروغرام/لتر فقط، وهو أقل من مستخلص الكلوروفورم: الميثانول. تجدر الإشارة إلى أنه بالنسبة لكائنات الاختبار المختلفة، كان الحد الأدنى للثبيط لمستخلص الكلوروفورم: ميثانول هو 6.3 ملغم / مل لـ *S. typhi* و *E. coli*، و 12.5 ميكروغرام / مل لـ *E. faecalis*، و 3.12 ميكروغرام / مل لـ *C. albicans*. تم تسجيل أدنى MIC ضد *B. cereus* وهو 1.56 ميكروغرام/مل. ومع ذلك، لم يكن أقل من الحد الأدنى من الكلورامفينيكول. الجدول رقم (2) يوضح قيم MIC للمستخلصات المختلفة وكذلك الكلورامفينيكول ضد الكائنات الحية قيد هذه الدراسة.

الجدول (2) يوضح الحد الأدنى المثبط لمستخلصات الصمغ العربي بالكلوروفورم: ميثانول وخلايا الإيثيل.

| الكوتترول<br>Chloramphenicol | التركيز المثبط الأدنى لمستخلص<br>كلوروفورم : ميثانول | التركيز المثبط الأدنى لمستخلص<br>خلايا الإيثيل | الكائن المجهرى               |
|------------------------------|--|--|------------------------------|
| 100± 0.3                     | 3.12± 0.6  | 6.3 ± 0.5                                      | MRSA                         |
| 25± 0.4                      | 12.5± 0.7  | 3.12± 0.6                                      | <i>Enterobacter faecalis</i> |
| 0.4± 0.1                     | 1.56± 0.3  | 25± 0.4  | <i>Bacillus cereus</i>       |
| 1.6±0.3                      | 6.3± 0.5   | 12.5± 0.7                                      | <i>Escherichia coli</i>      |
| 25± 0.4                      | 3.12± 0.6  | 25± 0.4  | <i>P. aeruginosa</i>         |
| 12.5± 0.7                    | 6.3± 0.5   | 12.5± 0.7                                      | <i>Salmonella typhi</i>      |
| 12.5± 0.7                    | 3.12± 0.6  | 6.3± 0.5                                       | <i>Candida albicans</i>      |

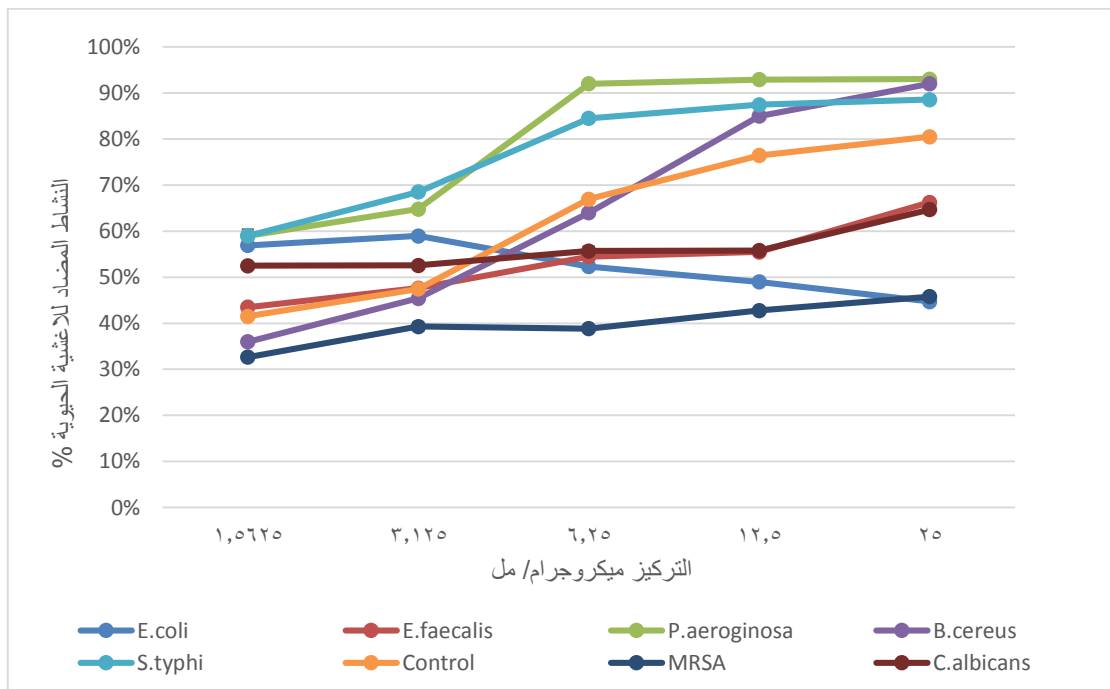
(±): لانحراف المعياري لثلاث مكررات لمتوسط قيم مناطق ب (مم)

### 3- اختبار تثبيط تكون الأغشية الحيوية من قبل الكائنات الممرضة:

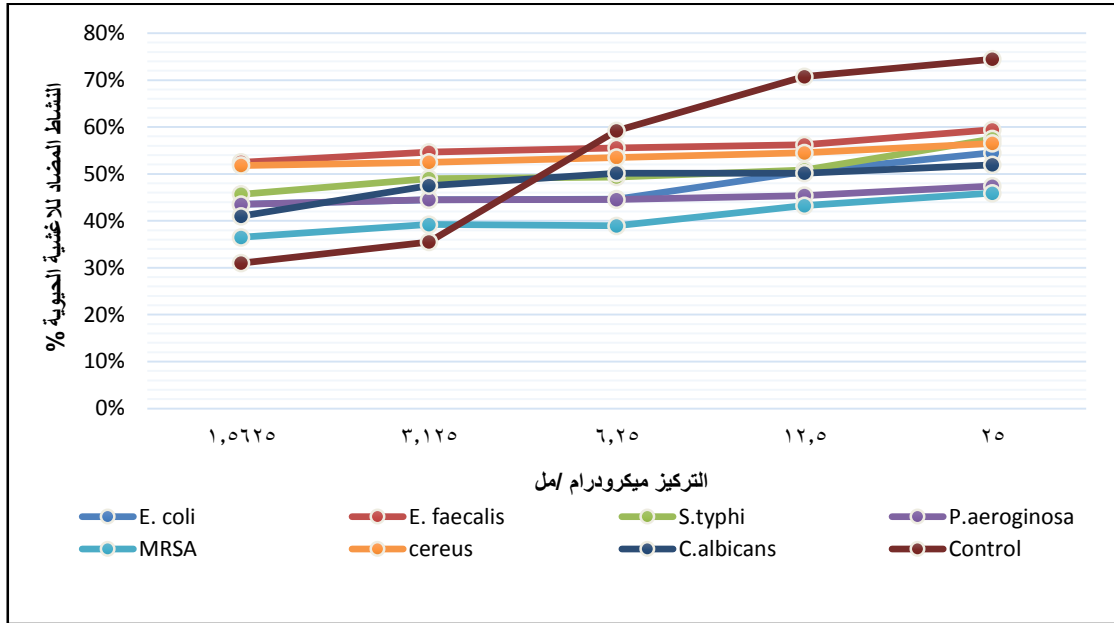
تظهر النتائج أن كلا مستخلصين الصمغ العربي بالكلوروفورم: ميثانول وبخلايا الإيثيل لها التأثير المضاد للأغشية الحيوية المتكونة من الكائنات المسببة للأمراض كما موضح بالشكل (1، 2) تظهر النتائج بوضوح أن كلما زاد تركيز المستخلص زاد نشاطه المضاد للأغشية الحيوية.

كان لمستخلص (الكلوروفورم: ميثانول) فعالية تثبيط بنسبة 92.8% ضد تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *P. aeruginosa*، كما أظهر نفس المستخلص نشاطاً بنسبة 92% ضد *B. cereus*، وبنسبة 88% ضد *S. typhi*، و 66% ضد *E. faecalis*، وبنسبة تضاد 66.6% ضد *E. coli*، ونشاط 65% ضد *C. albicans*. وأقلها نشاطاً ضد MRSA بنسبة 45% حتى عند أعلى تركيز لـ 25 ميكروغرام/مل. كما ويسبب

مستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم: ميثانول وبوضوح في تثبيط تكوين الغشاء الحيوي بواسطة *P. aeruginosa* بنسبة 92.7%، وأظهر نشاطاً بنسبة 92% ضد *B. cereus*، ونشاط 88% ضد *S. typhi*، ونشاط تثبيطي بنسبة 66% ضد *E. faecalis*، و 65.7% ضد *E. coli*، ونشاط 64.5% ضد *C. albicans*. ومع ذلك، كان النشاط ضد MRSA 45.6% فقط حتى عند التركيز الأقصى للمستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم: الميثانول 25 ميكروغرام/مل كما هو موضح بالشكل (1) تأثير المستخلص المضاد للكائنات قيد الدراسة ولوحظ أيضاً أن الزيادة في تركيز المستخلص أدت إلى زيادة مصاحبة في تثبيط تكوين الأغشية الحيوية بواسطة الكائنات الدقيقة في هذا البحث. والشكل رقم (2) يوضح تأثير مستخلص الصمغ العربي بخلات الإيثيل حيث أظهرت نشاطاً أضعف ضد تكوين الأغشية الحيوية وقد ثبت تكوين الأغشية الحيوية، بنسبة 57% لـ *S. typhi*، و 54.5% لـ *E. coli*، و 55.8% لـ *B. cereus*، و 45.1% بالنسبة لـ *P. aeruginosa* بنسبة 58.3% بواسطة *E. faecalis*، و 49% لـ MRSA و 56.4% لـ *C. albicans* وبالتالي تؤكد هذه النتائج على أن مستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم: الميثانول بنسبة (1:1) يثبط و بشكل فعال تكوين الأغشية الحيوية المتكونة من قبل أغلب الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض والمستخدمة في هذه الدراسة حيث تظهر أعلى نشاط ضد *B. cereus* و *P. aeruginosa* و *S. Typhi* أكثر من مستخلص الصمغ العربي بخلات الإيثيل مقارنةً بالكонтроل.



الشكل (1): يوضح التأثير المضاد لمستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم: ميثانول بنسبة (1:1) على تكوين الأغشية الحيوية للكائنات الممرضة قيد الدراسة



الشكل (2): يوضح التأثير المضاد لمستخلص الصمغ العربي بخلات الإيثيل على تكون الأغشية الحيوية للكائنات الممرضة قيد الدراسة.

## المناقشة

لقد أصبح البحث على مضادات ميكروبية جديدة ونافعة أمرًا لا جدال فيه. وذلك لما تسببه هذه الكائنات من مشاكل من خلال مقاومتها للمضادات الحيوية التي تعمل على قتل الخلايا البكتيرية المستخدمة من خلال تطورها الجيني وانتشار العدوى في المستشفيات (Mattana وآخرون 2012). وتبعاً ل(Seigler 2003)، فإن الصمغ والتريينات والقلويدات والجليكوسيدات والفلورواسيتات من مركبات المستقبلات الايضية الثانوية الموجودة في الصمغ العربي بالتالي هذه المواد قد يكون لها دور في إنهاء المصفوفة الحيوية التي تكونها مثل هذه الكائنات قيد الدراسة للحفاظ على البقاء ويمكن أن تسبب التهابات مزمنة بسبب مقاومتها للمضادات الحيوية للإنسان (Leseigneur وآخرون 2020) كما وان العلاج بالمضادات الحيوية ، بشكل عام ، سيقتل فقط الخلايا البكتيرية ، في حين أن البكتيريا التي هي مرتبة بإحكام في الأغشية الحيوية ستبقى على قيد الحياة (Tong وآخرون 2015 و Zaman وآخرون 2017).

تشير النتائج في هذا البحث، بعد ان تم إجراء استخلاص وتقييم المركبات الفعالة من الصمغ العربي باستخدام الكلوروفورم: ميثانول والمستخلص الاخر بخلات الايثيل والتعرف على قدرتهم في تثبيط تكوين مجتمعات البولي سكاريد (الأغشية الحيوية) للكائنات الدقيقة الممرضة مثل *E. coli*، *MRSA*، *B cereus*، *S. typhi*، *P. aeruginosa*، *E. faecalis* و *C. albicans* وبنسب مختلفة. الصمغ العربي قد يكون عاملاً طبيعياً مضاداً للأغشية الحيوية للوقاية من وعلاج الالتهابات المرتبطة بالأغشية الحيوية.



وان هذه الكائنات المستخدمة في هذه الدراسة والتي استخدمت للكشف عن التركيز المثبط الأدنى المضادة لنموها هي MRSA، *E. coli*، و *B. cereus*، و *C. albicans*، وتراوح قيم MIC المرصودة للمستخلصات بين 3.12-25 ميكروغرام/مل لكلا المستخلصين. لقد تم توثيق أنه غالبًا ما يكون هناك قدرة المستخلصات الصمغ العربي على إنتاج مركبات نشطة ونشاطها كعامل للمكافحة الحيوية خصوصًا باستخدام الكلوروفورم مع الميثانول بنسبة (1:1) والذي زاد من بزوغ المركبات الفعالة في الصمغ العربي، بالتالي كانت هذه المركبات النشطة المستخلصة بالكلوروفورم مع الميثانول اعلى تضادا من مستخلص خللات الايثيل مما لا شك فيه لقد أظهرت مستخلصات الصمغ العربي ذات كفاءة في مكافحة الأغشية الحيوية. وهذا يدل ا مستخلص الكلوروفورم والميثانول لديهم قطبية مختلفة فالأول غير مذيب قطبي والثاني مذيب قطبي بالتالي كانت فرصة استخلاص المركبات الفعالة من الصمغ العربي أكثر من مستخلص خللات الإيثيل شكل رقم (2) لإزالة الأغشية الحيوية. وبالمقارنة مع الكنترول

تشير نسبة التثبيط الأقل إلى زيادة البقاء عند بكتريا على قيد الحياة من خلال كمية الأغشية الحيوية المتكونة والتي استصعب على المستخلصات من إخمائها (Locke وآخرون، 2012). بالرغم من انه هناك نسب تثبيط عالية تصل فوق ال 90 % لتكوين الاغشية الحيوية لبكتريا ال *Pseudomonas aeruginosa* تليها بكتريا *B. cereus* و *S. typhi* من قبل مستخلص الكلوروفورم مع الميثانول بنسبة (1:1). شكل رقم (1). أي أن الصمغ العربي يعطل التركيبة البنيوية للأغشية الحيوية، مما أدى إلى انخفاض في سمك الأغشية الحيوية والكتلة الحيوية.

#### الخلاصة

وفي الختام، تظهرهذه الدراسة أن مستخلص الصمغ العربي بالكلوروفورم والميثانول كذلك مستخلص خللات الايثيل والذي كان بنسب أقل بقليل من المستخلص الأول نشاطاً مضاداً للأغشية الحيوية ضد العديد من البكتيريا المسببة للأمراض، بما في *MRSA*، *B. P. aeruginosa*، *C. albicans* و *Enterococcus faecalis*، و *E. coli*، *S. typhi*، *cereus* ويمكن أن يُعزى نشاط الصمغ العربي المضاد للأغشية الحيوية إلى قدرته على تعطيل سلامة الأغشية الحيوية. وهناك حاجة إلى مزيد من الدراسات للتعرف على آلية عمل مستخلصات الصمغ العربي المضادة لهذه الميكروبات وتقييم فعاليتها في الجسم الحي.

#### المراجع:

Acker, H.V.; Dijck, P.V.; Coenye, P.V. 2014. Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. Trends Microbiol. 22: 326–333

- Alvarez–Ordóñez, A.L.; Coughlan, M.; Briandet, R.; Cotter, P.D. 2019. Biofilms in food processing environments: Challenges and opportunities. *Annual. Review Food Science and Technology*.10:173–195.
- Barbara, A. S., Mostafa, M. M., & El-Sayed, A. M. 2006. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing wound infections. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(2): 196–202.
- Benyan, A. A., Al-Sheikh, Y. A., & Al-Saleh, A. A. 2015. Antimicrobial activity of Arabic gum against some pathogenic bacteria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 67(8).
- Berghe, D. A., & Vlietinck, A. J.1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in Plant Biochemistry*, 6: 47–69.
- Brooks, J.D.; Flint, S.H. 2008. Biofilms in the food industry: Problems and potential solutions. *International journal of Food Science and Technology* 43, 2163–2176.
- Carbonnelle, B., Denis, F., Mariani, P., & Reynaud, A.1987. In vitro activity of some plant extracts against bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 20(2): 147–154.
- Characklis, W.G. 1973. Attached microbial growths–II. Frictional resistance due to microbial slimes. *Water Resistant*. 7:1249–1258.
- Costerton, J. W., Geesey, G. G., & Cheng, K. J. 1978. How bacterial stick. *Scientific American*, 238(1): 86–95.
- Egwaikhide, P. A., Omzokpia, O. E., & Adisa, A. O. 2009. Antimicrobial activity of some Nigerian medicinal plants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(5): 591–597.
- Flemming, H.C.; Wingender, J. 2010. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol*. 8: 623–633.
- Hall–Stoodley, L.J.; Costerton, W.; Stoodley, P.2004. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Natural Review and Microbiology*.2: 95–108.
- Leseigneur C, Lê-Bury P, Pizarro–Cerdá J, Dussurget O., 2020. Emerging Evasion Mechanisms of Macrophage Defenses by Pathogenic Bacteria. *Front Cell Infection Microbiology*, 10: 1–9.

- Locke, J. C., Clark, A. M., & Foundation, R. 2012. Antimicrobial activity of plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(3): 152-158.
- Locke, T., Keat, S., Walker, A., Mackinnon, R., Read, R.C., 2012. Microbiology and infectious diseases on the move. *Microbiology and Infectious Diseases on the Move*. 1:242.
- Manttana, A. K., Singh, K. V., & Khandelwal, V. 2012. Antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogens. *Journal of Pharmacy Research*, 5(2): 1248-1252.
- Mehrotra, S., Singh, V. K., & Agarwal, S. S. 2010. Antimicrobial activity of some medicinal plants against certain pathogenic microorganisms. *Journal of Pharmacy Research*, 3(2): 252-255.
- Satpathy, S.; Sen, S.K.; Pattanaik, S.; Raut, S. 2016. Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. *Biocatalysts Agriculture and Biotechnology*. 7: 56-66.
- Seigler, D. S. 2003. Phytochemistry of *Acacia sensu lato*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(8): 845-873.
- Singh A, Prakash P, Achra A, Singh G, Das A, Singh R., 2020. Standardization and classification of in vitro biofilm formation by clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Glob Infect Dis*, [Internet], 9(3):93-101.
- Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. 2015. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiological Review*, 28(3): 603-61.
- Zaman S Bin, Hussain MA, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. A .2017. Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus*, 9(6):10403.