تقييم الفعالية المطهرة للبروبيوتك على بعض الجراثيم المتسببة بعدوى المشافي

جودي واني*، أحمد شمس الدين شعبان، روعة الكيالي*****

الملخص

إن نظافة بيئة المشافي لغرض منع انتقال العدوى المرتبطة بالمراكز الصحية له دور كبير في الحد من إصابة المرضى بالبكتريا الموجودة على أسطح المشافي. تظهر المطهرات الكيميائية التقليدية المستخدمة في إجراءات التطهير في المشافي العديد من العيوب مثل محدودية التأثير التطهيري وإعادة التلوث البكتيري السريع للأسطح المعالجة بالإضافة إلى احتمال ظهور الحساسية الكيميائية لدى المرضى والقوى العاملة وعمال النظافة. كما أدى الاستخدام المفرط للمنظفات والمطهرات الكيميائية في العقود الأخيرة إلى التسبب في ظهور مقاومة لدى البكتيريا المسببة لعدوى المشافي. وفقا للدراسات التجريبية الحديثة، فإن تقنيات التنظيف القائمة على استخدام البروبيوتيك لتطهير أسطح المشافي تعد واعدة.هدفت هذه الدراسة إلى تقييم مدى فعالية إجراء جديد للتطهير باستخدام منتجات التنظيف التي تحتوي على أشكال بوغية من بكتريا *Bacillus* spp. مقارنة بالمعالجة التقليدية المعتمدة على مطهر كيميائي وذلك على نوعين من البكتريا المرتبطة بعدوى المشافي وهي *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*. تظهر البيانات التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن المنظفات القائمة على البروبيوتيك تخفض بشكل كبير من وجود البكتيريا المسببة للأمراض على الأسطح الملوثة، كما أنها تمنع إعادة تكاثرها مع مرور الزمن بعكس المطهرات الكميائية التي يزول مفعولها بعد انتهاء زمن التماس.

الكلمات المفتاحية: عدوى المشافي، التطهير، البروبيوتيك، مسببات الأمراض، تلوث الأسطح.

*طالبة دراسات عليا (ماجستير)، قسم هندسة التقانات الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب

**أستاذ مساعد، قسم هندسة التقانات الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب

*** أستاذ مساعد، قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة حلب

1- المقدمة:

تعد العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية(Healthcare-Associated Infections (HAIsمن المضاعفات الأكثر شيوعًا التي تحدث في مرافق الرعاية الصحية، وتمثل مشكلة تتعلق بسلامة وجودة الرعاية الصحية في جميع أنحاء العالم. وتعرَّف بأنها عدوى يصاب بها الأشخاص أثناء تلقيهم الرعاية الصحية لحالة أخرى. إن HAIs هي سبب مهم للمرض والوفاة ويمكن أن يكون لها عواقبمالية وطبية خطيرة. تشير التقديرات إلى أن حوالي 5٪ إلى 15٪ من مجموع المرضى في المستشفى يصابون بالعدوى المتعلقة بالرعاية الصحية أثناء الاستشفاء والتي غالبًا ما تكون مستدامة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للأدوية المتعددة Multiple drug resistance (MDR) (Siegel *et al*., 2007).

وفقًا للمركز الأوروبي للوقاية من الأمراض ومكافحتها European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)، يصاب أكثر من 3 ملايين مريض بمرض HAI في المشافي الأوروبية كل عام، ويموت 37000 مريض كنتيجة مباشرة لأمراض HAI (Brusaferro *et al.*, 2015).

يضاف إلى ذلك المعاناة الإنسانية، ترتبط أيضًا التكاليف الاقتصادية الكبيرة بإدارة العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية. فقد أفادت مراكز السيطرة على الأمراض والوقاية منها Centers for Disease Control(CDC)، بأن التكاليف الطبية السنوية الإجمالية المباشرة للعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية في المشافي من 35.7 إلى 45 مليار دولار في الولايات المتحدة (Scott, 2009).

الكائنات الحية الدقيقة التي يتم عزلها بشكل متكرر من حالاتالعدوى المتعلقة بالرعاية الصحية هي: *Escherichia coli* 15.9% تليها *Staphylococcus aureus* 12.3% ومن ثم *Enterococcus* spp. 9.6% تليها *Klebsiella* spp. 8.7% تليها *staphylococci coagulase-negative* 7.5% تليها *Candida* spp. 6.1% و*Clostridium difficile* 5.4% و*Enterobacter* spp 4.2 و*Proteus* spp. 3.8% وفي النهاية *Acinetobacter* spp. 3.6% (Suetens *et al.*, 2013).

كما تبلغ نسبة الحمولة البكتيرية على الأسطح في المشافي $8\times10^{3}-1\times10^{6}$ (Odoyo *et al.*, 2021).

يجب تطبيق إجراءات التطهير على كل سطح قد يتلامس بشكل مباشر أو غير مباشر مع البشر للحد من هذه المخاطر.

تعتمد نهج التطهير التقليدية للأسطح على المطهرات الكيميائية وهي عبارة عن مواد فعالة بشكل أساسي في المحاليل المائية مثل هيبوكلوريت الصوديوم والكحولات ورباعيات الأمونيوم وغيرها. تُصنف منتجات التعقيم والمطهرات إلى ثلاثة مستويات: عالية ومتوسطة ومنخفضة وفقًا لمسببات الأمراض القادرة على قتلها. يجب أن يأخذ الاستخدام الصحيح للمطهرات الكيميائية في الاعتبار حقيقة أن فعاليتهتتأثر بالتركيز ووقت التلامس والآثار المحتملة للمواد التي قد تتداخل في عملية التطهير (مثل السوائل العضوية والصابون والأيونات المعدنية ودرجة الحموضة)، (Saccucci *et al.*, 2018).

هناك ثلاثة مبادئ أساسية يجب اتباعها لتحقيق نتيجة ناجحة هي اختيار منتج جيد لأن المطهرات الضعيفة ستفشل حتى لو تم تطبيقها بشكل صحيح، ثم يعد تطبيق طريقة العمل الصحيحة للمنتج المحدد أيضًا مهمًا للغاية لأن استخدام منتج جيد قد يكون غير فعال إذا كانت طريقة التطبيق غير صحيحة ثم إن عملية

التطهير تمتلك في طبيعتها جانبين، فالمطهر هو مادة قوية مصممة للتطهير ويمكن أن تشكل تهديدًا خطيرًا إذا تم استخدامها بشكل متكرر أو بشكل غير صحيح،وبالتالي إن الاستخدام الواسع النطاق للمطهرات الكيميائية يشكل خطر على البيئة وسلامة العمال (Saccucci *et al*., 2018). يمكن للكائنات الحية الدقيقة يمكن أن تتكيف مع مجموعة متنوعة من الظروف الفيزيائية والكيميائية البيئية، وبالتالي فليس من المستغرب أنه تم الإبلاغ عن مقاومة للمطهرات المستخدمة على نطاق واسع، بالإضافة إلى ذلك فقد تم التوصل إلى حقيقة أن التعرض لتراكيز غير معقمة من مبيدات الجراثيم قد يؤدي إلى مقاومة المضادات الحيوية (Frabetti *et al*., 2009).

لهذه الأسباب، فإن أهمية إجراءات التنظيف والتطهير التي تهدف إلى التحكم في حمولة البكتيريا المسببة للأمراض وخاصة المقاومة للأدوية المتعددة (Vandini *et al*., 2014).

لذلك تم التوجه إلى إستراتيجية واعدة تهدف إلى استخدام المنتجات الحيوية للأحياء الدقيقة (البكتيريا غير المسببة للأمراض) والمسماة بالبروبيتك Probiotics لاستعمار الأسطح من أجل مواجهة انتشار الأنواع البكتيرية الأخرى الضارة، وفقًا لمبدأ الاستبعاد التنافسي (قانون Gause's) الذي وضعه العالم Gause عام 1960 والذي ينص على أن استعمار الأسطح من قبل نوع من الكائنات الحية الدقيقة يمنع نمو أنواع أخرى (Hardin, 1960).

اعتمدت هذه الاسترتيجية على استخدام البروبيوتيك كمكملات غذائية،ويشار إلى البروبيوتك باسم الكائنات الحية الدقيقة التي تمنح فائدة صحية للمضيفعند تناولها بكميات كافية. وهكذا يتم عكس مشكلة النظافة في المستشفى تمامًا، نظرًا لأن الهدف من الإجراء لم يعد التطهير العام، الذي يقلل من وجود أي نوع من الكائنات الحية الدقيقة على أسطح المستشفى، ولكن مواجهة تطور السلالات التي يحتمل أن تكون ممرضة، والتسامح مع وجود كائنات دقيقة غير ضارة بالإنسان.

تحوي منتجات التنظيف باستخدام التقانة الحيوية على بكتيريا بروبيوتيك، معظمها من عائلة العصيات *Bacillus* spp. (Vandini *et al*., 2014).

بكتيريا *Bacillus* هي بكتيريا موجبة الجرام، على شكل عصيات، مكونة للأبواغ، منتشرة في كل مكان (توجد في التربة والمياه والأمعاء البشرية)، وتعد آمنة باستثناء نوعين معروفين جيدًا *Bacillus anthracis* و*Bacillus cereus*.

تعد هذه البكتيريا غير المسببة للأمراض من الكائنات الحية المعروفة عمومًا على أنها آمنة (GRAS) General recognized as safe لأنها لا تسبب أمراضًا للإنسان، ولا تؤثر على النباتات أو الحيوانات. حيث تتمتع جراثيم العصيات بتاريخ طويل من الاستخدام الآمن على البشر(Al-Marzooq *et al*., 2018).

ثبت أن بعض سلالات العصيات تمتلك نشاطًا مضادًا للميكروبات ضد مسببات الأمراض المختلفة، حيث يمكنها القضاء على المكورات العنقودية الذهبية عن طريق تثبيط جزيئات استشعار النصاب. علاوة على ذلك، لوحظ مؤخرًا أنها يمكن أن تمنع أيضًا نمو بعض الميكروبات البيئية.

نظرًا لأن هذه الجراثيم مقاومة للعديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية، فإن العصيات البكتيرية مناسبة بشكل خاص لإضافتها إلى المنظفات، لأنها لا تفقد نشاطها (Vandini *et al*., 2014). تعتمد الآلية الرئيسية

للعمل تعتمد على الاستبعاد التنافسي (قانون Gause's)، فإنها تنتج أيضًا مركبات مضادة للبكتيريا (بكتريوسينات) تزيد من نشاطها المضاد للبكتيريا. حيث أشارت النتائج التي تم جمعها إلى وجود إمكانات كبيرة للمنظفات القائمة على العصيات البكتيرية كعوامل تطهير (Al-Marzooq *et al.*, 2018).

تم طرح تطبيق هذا النهج لتحكم بعدوى المشافي لاول مرة من قبل العالمان Falagas وMakris في عام 2009حيث قاما بتقديم دراسة اقترحا فيها فرضية أن البروبيوتيك أو منتجاتها (العوامل الحيوية)، يمكن تطبيقها على معدات رعاية المرضى، مثل الأنابيب أو القثطرة، بهدف تقليل استعمار المواقع بواسطة مسببات الأمراض في المشافي وبالتالي تكون خطوة أساسية في منع التسبب في عدوى المشافي. وقد قاموا بالتأكد من صحة هذه النظرية من خلال دراسات في المختبر وصرحوا أن نتائج اختباراتهم كانت مشجعة للغاية للتوسع في الدراسات المعتمدة على هذا النهج (Falagas and Makris, 2009).

2- أهمية البحث:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التأثير المطهر لأحد منتجات التنظيف المتضمن على بروبيوتك *Bacillus* spp. على بعض الأحياء الدقيقة المسؤولة عن العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية ومقارنة فعالية النهج المعتمد على البروبيوتك بمادة شاهد مكونة من مطهر كيميائي، حيث أن التوصل إلى استراتيجيات تطهير جديدة فعالة ومستدامة وسهلة التطبيق من قبل فنيي التنظيف في مراكز الرعاية الصحية، سيقلل بشكل كبير من العدوى المرتبطة بمراكز الرعاية الصحية، مما سيؤدي أيضاً إلى تقليل الانتشار المتسارع لظاهرة مقاومة مضادات الميكروبات Antimicrobial Resistance(AMR) التي تسبب حالياً أحد أكثر المشكلات خطراً على الصحة العامة. وبالتالي معالجة واسعة لإحدى أكبر المشاكل المتعلقة بمراكز الرعاية الصحية.

3- مواد وطرائق البحث

أجريت هذه الدراسة في مختبر الدراسات العليا التابع لكلية الهندسة التقنية في جامعة حلب وفي شعبة الزرع الجرثومي التابع للمخبر المركزي في مشفى حلب الجامعي في مدينة حلب، وذلك خلال الفترة الممتدة مابين شهر نيسان للعام 2023 وحتى شهر كانون الثاني للعام 2023.

3-1 مجموعة الدراسة

تم إجراء الدراسة على نوعين من الجراثيمالممرضة المعزولة من عينات سريرية، أحدها مكورات إجابية غرام *Staphylococcus aureus* والثاني عصيات سلبية الغرام *Escherichia coli*لكونها الجراثيم الأساسية التي يتم عزلها بشكل متكرر من حالات العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية (Suetens *et al.*, 2013).

3-2 محاليل التطهير المستخدمة

المحلول المعتمد على البروبيوتيك المستخدم هو عبارة عن محلول تنظيف مركز، يمدد بالماء عندالاستخدام بتركيز 1%، يحوي خمس سلالات نافعة من بكتيريا الـ .*Bacillus* spp. بتركيز أكبر من 5×10^7 CFU/ mL . تم تصنيع هذا المنتج بواسطة شركة Chrisal بلجيكا.

استخدم محلول تطهير كيميائي جاهز للاستخدام كشاهد للمقارنة يعتمد على الكحول ومشتقات الغوانيدين وهو أحد المطهرات المستخدمة بشكل واسع في مشفى حلب الجامعي

3-3 تلويث السطح المختبر

تم تحضير عكارة من كل من بكتيريا *S. aureus* و*E. coli* المزروعة سابقاً على وسط (TSA) Tryptic soy agar لمدة 24 ساعة (من إنتاج شركة TMMEDIA، الذي يحضر بحل 40 غرام من وسط الزرع في 1000 مل ماء مقطر. يسخن حتى تمام الانحلال ثم يعقم بالأوتوغلاف على درجة حرارة 121 C° لمدة 15 دقيقة. يبرد إلى درجة حرارة 45 إلى 50 C° ثم يصب في أطباق بيتري المعقمة) عن طريق حلها بمحلول ملحي وضبط تركيز الجراثيم باستخدام جهاز ماكفرلاند لقياس تركيز الجراثيم لتحاكي الحد الأعلى من تلوث المشافي(8×10^3-1×10^6).

يتم بعد ذلك نشر معلق النوع البكتيري المدروس على سطح تجريبي مقسم الى مربعات كل مربع بمساحة 25 cm^2 لتسهيل أخذ المسحات، وتركه حتى يجف.

4-3 تطبيق كل من منتج البروبيوتك والشاهد على السطح التجريبي واختبار فعاليته

تم تطبيق كل من منتج البروبيوتك والمطهر الكيميائي بشكل منفصل على السطح الملوث بالبكتيريا وأخذ مسحات باستخدام ماسحة قطنية معقمة لمراقبة الحمولة الجرثومية مع مرور الزمن وذلك عند نقاط زمنية معينة وهي: (0 – 10 – 30 –60 –120 –1440) دقيقة عند اختبار منتج البروبيوتك و(0 – 1 – 30 –60) دقيقة عند استخدام الشاهد الكحولي وذلك لأن زمن التماس الخاص بالمطهرات الكيميائية الكحولية هو دقيقة واحدة بعد ذلك تم إجراء تخفيفات تسلسلية بنسبة 1:9 حتى تخفيف10^{-4}

تم زراعة 100 µl – 200 µl من كل تخفيف بطريقة الفرش بقضيب من الزجاج على شكل حرف L على طبق بتري يحتوي وسط زرع انتقائي هو EMB agar من أجل اختبار *E. coli* (من إنتاج شركة HIMEDIA، الذي يحضر بحل 37.5 غرام من وسط الزرع في 1000 مل ماء مقطر. يسخن حتى تمام الانحلال ثم يعقم بالأوتوغلاف عند درجة حرارة 121C° لمدة 15 دقيقة. يبرد إلى درجة حرارة 45 إلى 50C°يرج جيداً ثم يصب في أطباق بيتري المعقمة). ووسط Baird-Parker agar من أجل اختبار *S. aureus* (من إنتاج شركة Titan، الذي يحضر بحل 63 غرام من وسط الزرع في 950 مل ماء مقطر. يسخن حتى تمام الانحلال ثم يعقم بالأوتوغلاف عند درجة حرارة 121 C° لمدة 15 دقيقة. يبرد إلى درجة حرارة 50C° ويضاف بشكل معقم 50 مل من مستحلب صفار البيض التيلوريت يرج جيداً ثم يصب في أطباق بيتري المعقمة) وحضنت الأطباق على درجة حرارة 37 C° لمدة 24 ساعة.

تم عد المستعمرات في الأطباق المكافئة للتخفيف المناسب، حيث يعتبر الطبق قابل للعد إذا كان يحتوي على 25-250 مستعمرة في الطبق، ومن ثم حساب نسبة الإنخفاض للحمولة البكتيري مع مرور الزمن وحسابها إحصائياً.

4- النتائج والمناقشة:

نتائج فحص فعالية منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp.

تم خفض كمية المسببات المرضية على الأسطح المختبرة واضحًا بعد ساعة واحدة من المعالجة، مع انخفاض ملحوظ في عدد المستعمرات خلال 30 دقيقة لجميع السلالات المختبرة. تم الحفاظ على حمولة بكتيرية يمكن اكتشافها بالكاد بعد يوم من القياس، في حين تم التعرف على حمولات بكتيرية ثابتة على الأسطح الشاهد غير المعالجة (الجدول رقم 1)

جدول 1: تغيرات الحمل الجرثومي (cfu/25cm^2) مع الزمن لمكورات *S. aureus* موجبة الغرام وعصيات *E. coli* سالبة الغرام عند اختبار *Bacillus* spp. Probiotics بالمقارنة مع الشاهد (control)

Control	*S. aureus* +*Bacillus* spp *Probiotics*	Control	*E. coli* + *Bacillus* spp. Probiotics	الفترة الزمنية (دقائق)
1.69×10^5	7.9×10^4	6.1×10^4	2.33×10^5	0
1.02×10^3	-	5.6×10^2	-	1
-	1.05×10^3	-	9×10^3	10
2.5×10^3	9.8×10^1	7.1×10^2	5×10^3	30
2.66×10^3	1.1×10^2	1.31×10^3	2×10^2	60
-	9.85×10^2	-	6×10	120
-	1.99×10^1	-	3×10	1440

يبين الجدول رقم (1) تغيرات الحمل الجرثومي للمكورات موجبة الغرام والعصيات سالبة الغرام عند إضافة منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp. بالمقارنة مع الشاهد (control) المستخدم في المشافي والذي يحوي على خليط من (بروبانول + ايتانول + مشتقات الجوانيدين).

لوحظ أن الحمل الجرثومي البدائي لـ E.coli كان بحدود (2.33×10^5) عند اختبار منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp. مقابل (6.1×10^4) في معاملة الشاهد أي عند اختبار المستحضر التجاري المستخدم في المشافي، وبمرور الوقت بدأ الحمل الجرثومي بالانخفاض التدريجي حتى بلغ بعد ساعة حوالي (2×10^2) بوجود منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp. مقابل (1.31×10^3) في معاملة الشاهد، أي أن كفاءة منتج البروبيتويك بدأت تزداد بمرور الوقت واستمر العدد بالانخفاض إلى الفترة الزمنية 60 دقيقة فقط بعد 120 دقيقة وبعد يوم كامل (1440 دقيقة) لوحظ حمل جرثومي لا يتجاوز (30) خلية بكتيرية. في حين توقف قياس الحمولة البكتيرية بعد 60 دقيقة من وضع الشاهد نظراً لأن المنتجات الكحولية تتوقف فعاليتها بعد تطايرها عن السطح بينما منتجات البروبيوتك تنتشر على الأسطح لفترة طويلة من الزمن.

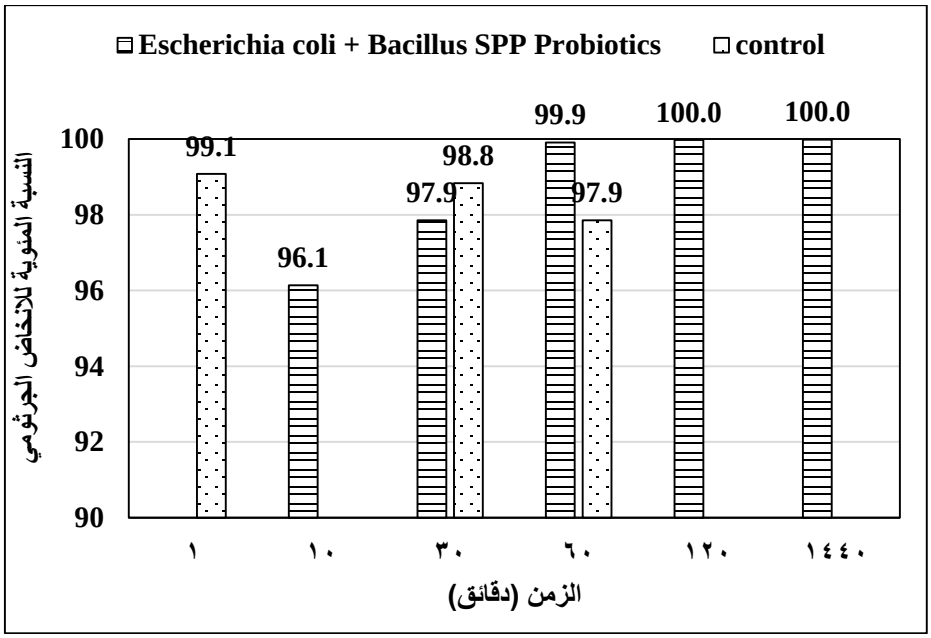
أما لدى دراسة *S. aureus*، فقد لوحظ أن الحمل الجرثومي البدائي كان بحدود (7.9×10^4) بوجود منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp. مقابل (1.69×10^5) في معاملة الشاهد أي بوجود المستحضر التجاري المستخدم في المشافي، وبمرور الوقت بدأ الحمل الجرثومي بالانخفاض التدريجي أيضاً كما كان في *E.coli* حتى بلغ بعد ساعة حوالي (1.1×10^2) بوجود منتج البروبيوتك المحتوي على *Bacillus* spp. مقابل (2.66×10^3) في معاملة الشاهد، وهنا كانت كفاءة منتج البروبيتويك أفضل من كفاءة المنتج

التجاري، لكن بعد مرور ساعتين ارتفع العدد إلى (985) وبعد يوم كامل لوحظ حمل جرثومي لا يتجاوز (19.9). في حين توقف العد بعد مرور ساعة من وضع المستحضر التجاري (الشاهد).

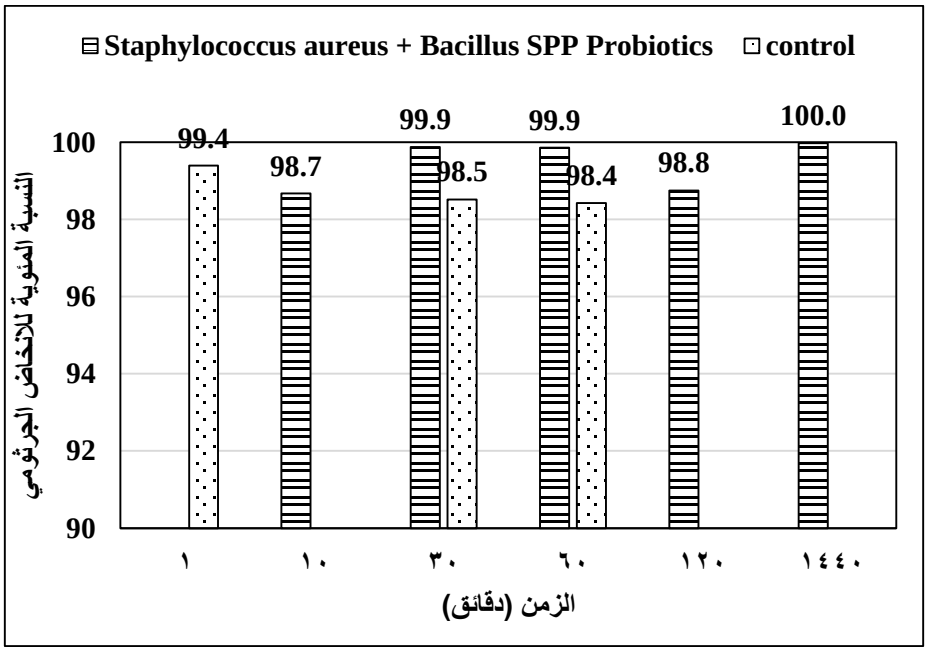
تدل النتائج السابقة على أهمية منتج البروبيوتيك المحتوي على *Bacillus* spp. في التطهير المستدام وأنه يحتاج ساعة لدى حالة *E. coli* و*S. aureus* ليتغلب على المنتج التجاري ويستديم حتى يوم كامل مع ملاحظة إمكانية زيادة اعداد *S. aureus* ثم انخفاضها يفسر ذلك بأن الـ *S.aureus* تستطيع تشكيل أغشية حيوية تساعدها على المقاومة والتكاثر.

يوضح الشكل 1 الذي يوضح النسبة المئوية للانخفاض الجرثومي عن الحمولة البدائية للنوع *E.Coli* مع مرور الزمن عند استخدام Probiotics .*Bacillus* spp بالمقارنة مع الشاهد،حيث يتبين ان النسبة المئوية للانخفاض تصل تقريباً 99.9% بعد مرور ساعة بوجود منتج البروبيوتيك، و100% بعد مرور ساعتين، في حين أن أقصى نسبة انخفاض في الشاهد بلغت 99.1% بعد مرور دقيقة من وضع المستحضر التجاري، لكن بعد ذلك لوحظ ازدياد في الحمل الجرثومي وبالتالي كانت نسبة الانخفاض بحدود 98.8 بعد نصف ساعة ثم 97.9% بعد ساعة.

يوضح الشكل 2 النسبة المئوية للانخفاض الجرثومي عن الحمولة البدائية للنوع *S. aureus*، إذ يلاحظ أن النسبة المئوية للانخفاض وبوجود منتج البروبيوتيك تصل تقريباً 99.9% بعد مرور نصف ساعة وساعة ثم تنخفض بعد مرور ساعتين إلى 98.8%، ثم لا تلبث أن ترتفع إلى 100% بعد مرور يوم كامل، في حين يلاحظ بعد وضع المستحضر التجاري الحصول على أعلى نسبة انخفاض في الشاهد بلغت 99.4% بعد مرور دقيقة واحدة، ثم يزداد الحمل الجرثومي بعد تطاير الكحول لتقل نسبة الانخفاض في الحمل الجرثومي مقارنة مع الحمل البدائي إلى 98.5 و98.4 % بعد نصف ساعة وساعة على التوالي، ثم توقف القياس بعدها نظراً لطبيعة المستحضر التجاري الحاوي على الكحول والذي يتطاير مع مرور الزمن وبالتالي تتوقف فعاليته التطهيرية.



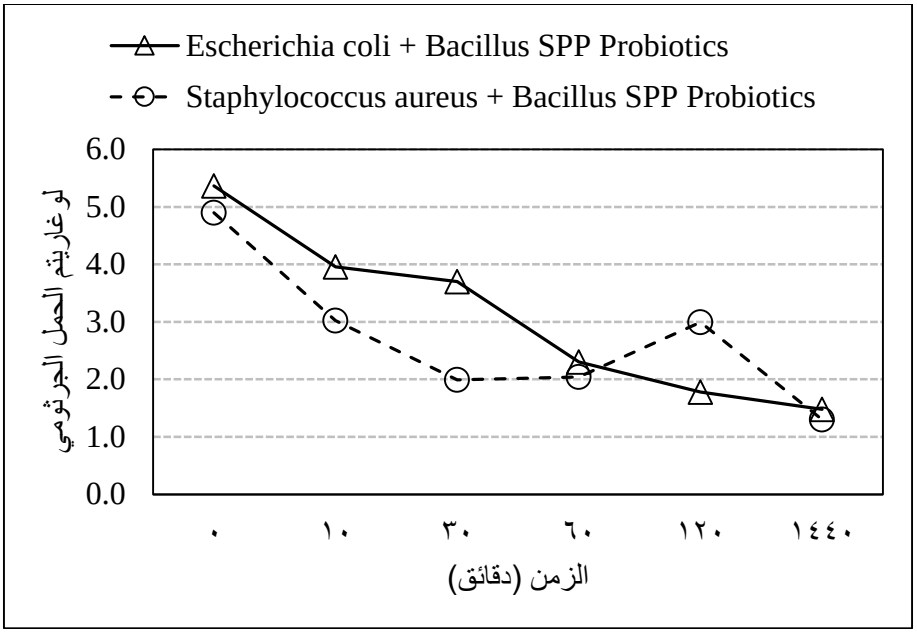
الشكل 1. النسبة المئوية للانخفاض الجرثومي للنوع *E. Coli* مع مرور الزمن عند استخدام *Bacillus* spp. Probiotics بالمقارنة مع الشاهد.



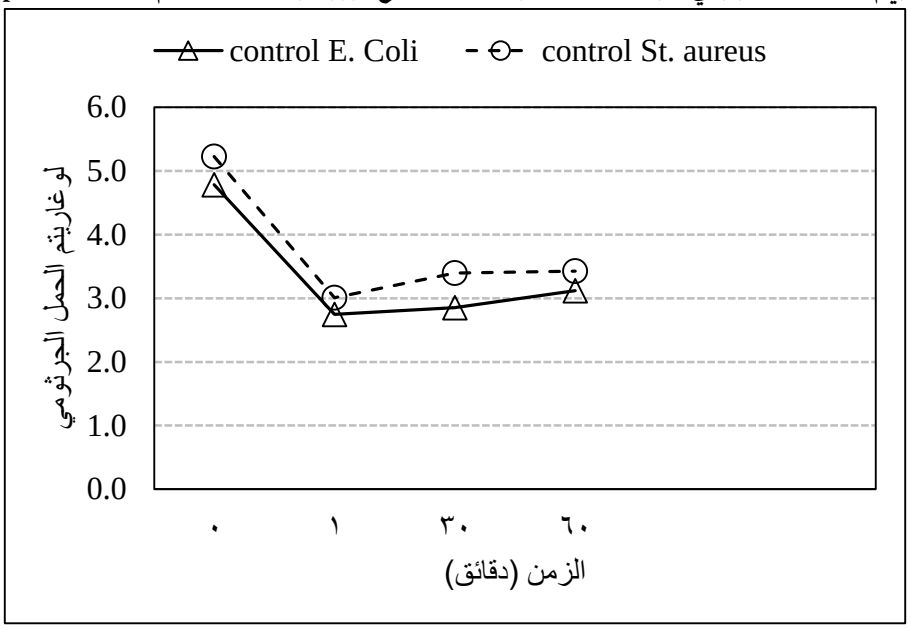
الشكل 2. النسبة المئوية للانخفاض الجرثومي للنوع S. aureus مع مرور الزمن عند استخدام Bacillus spp. Probiotics بالمقارنة مع الشاهد.

يظهر كل من الشكل 3 والشكل 4 قيم لوغاريتم الحمل الجرثومي حيث يتضح من كلا الشكلين أن قيم اللوغاريتم تنخفض بشكل متدرج لدى استخدام منتج البروبيوتيك المحتوي على *Bacillus* spp. حتى نهاية التجربة في كلا النوعين (*E. coli* و*S. aureus*) مع ملاحظة ارتفاع بسيط في أعداد الـ*S. aureus* بعد ساعتين ثم انخفاضها بعد يوم، يفسر الارتفاع بأن الـ *S.aureus* تستطيع تشكيل أغشية حيوية تساعدها على المقاومة. بينما اختلف معدل التناقص في معاملتي الشاهد إذ لوحظ انخفاض سريع في الحمل الجرثومي لدى كلا النوعين بمجرد وضع المنتج التجاري بعد دقيقة واحدة، لكن فيما بعد بدأ الحمل الجرثومي بالتزايد التدريجي.

لذلك تم رسم منحنى انحدار خطي من الدرجة الأولى لمعاملتي البروبيوتيك لكل من النوعين المدروسين، في حين كان شكل الانحدار من الدرجة الثانية لمعاملتي الشاهد كما هو موضح في الشكلين 5 و6. يفسر الارتفاع في الحمل الجرثومي بعد التناقص طعند استخدام عينة الشاهد إلى طبيعة المستحضر التجاري الحاوية على كحول والتي تتطاير مع الوقت وتصبح غير فعالة مما يستدعي إعادة تطبيقها مرة أخرى.



الشكل 3. لوغاريتم للانخفاض الجرثومي للنوعين *E. Coli* و *S. aureus*مع مرور الزمن عند استخدام *Bacillus* spp. Probiotics



الشكل 4. لوغاريتم للانخفاض الجرثومي للنوعين *E. Coli* و*S. Aureus* مع مرور الزمن عند استخدام الشاهد

لوحظ عند دراسة الانحدار الخطي لتغير لوغاريتم الحمل الجرثومي لـ *E. coli* بوجود مستحضر البروبيوتيك المحتوي على *Bacillus spp.* بالعلاقة مع الزمن أن قيمة معامل التحديد (المعامل التفسيري) R^2 = 0.9705 (الشكل 5)، وهي قيمة مرتفعة وكافية لتوقع الانخفاض وفق المعادلة المحددة بالعلاقة:

$$Y = 6.0601 – 0.684\ X$$

حيث Y: لوغاريتم الحمل الجرثومي

X: الزمن (دقائق).

6.0601: الحمولة الجرثومية البدائية المتوقعة بالمعادلة.

0.684-: معدل الانخفاض في لوغاريتم الحمل الجرثومي.

أي أنه بمرور كل دقيقة بوجود مستحضر البروبيوتك سينخفض لوغاريتم الحمل الجرثومي بمقدار (0.684).

أما تغيرات الشاهد كانت من الدرجة الثانية وفيها انخفاض ثم ارتفاع وهذا ما توضحه إشارات المعاملات في المعادلة التي بلغت قيمة معامل التحديد فيها (R^2=0.871):

$$Y = 6.8405 – 2.6265\ X + 0.3839\ x^20$$

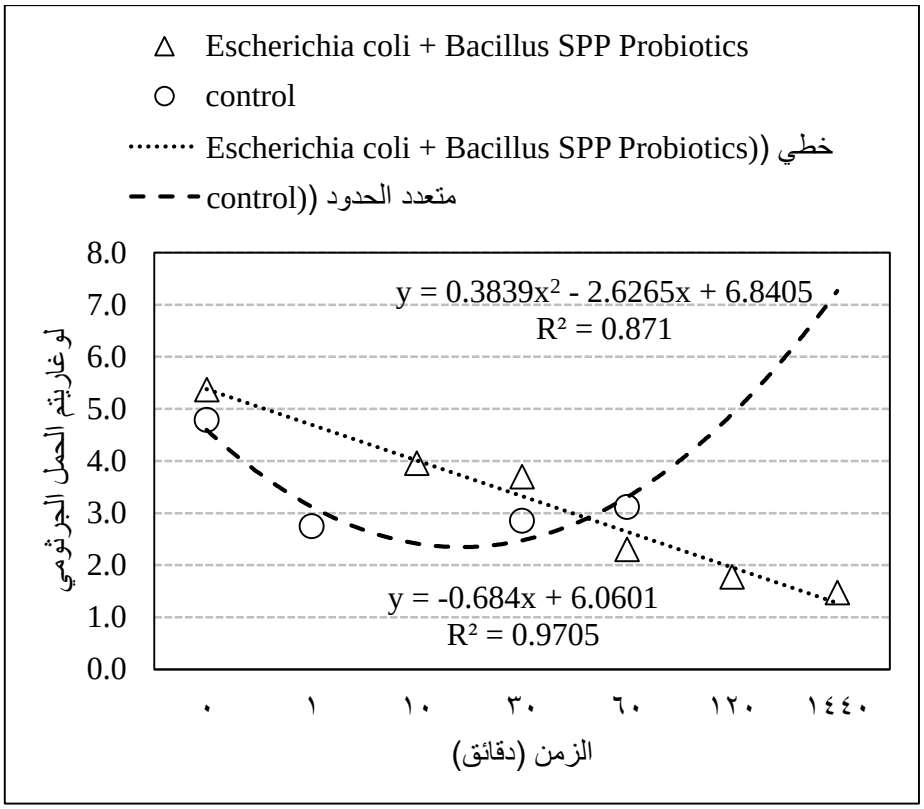
حيث Y: لوغاريتم الحمل الجرثومي

X: الزمن (دقائق).

6.8405: الحمولة الجرثومية البدائية المتوقعة بالمعادلة.

2.6265-: معدل الانخفاض في لوغاريتم الحمل الجرثومي في المرحلة الأولى من الانحدار ذو الدرجة الثانية (تربيعي).

0.3839 +: معدل الزيادة في لوغاريتم الحمل الجرثومي في المرحلة الثانية من الانحدار ذو الدرجة الثانية (تربيعي).

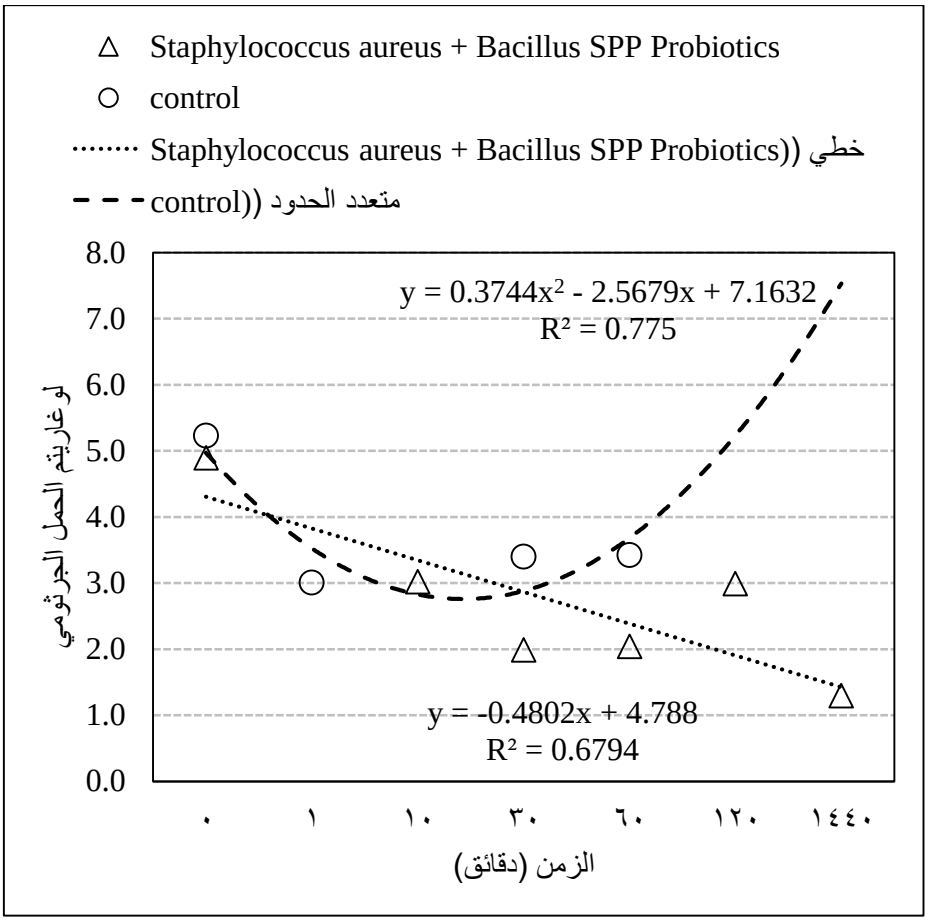


الشكل 5. الانحدار الخطي مع الزمنللوغاريتمالانخفاض الجرثومي للنوع *E. Coli* عند استخدام *Bacillus* spp. Probiotics والانحدار من الدرجة الثانية في الشاهد

وبنفس الطريقة المتبعة سابقاً يمكن من خلال الشكل 6 تحديد معادلتي الانحدار الخطي لمعاملة البروبيوتيك ومن الدرجة الثانية لمعاملة الشاهد وفق العلاقتين:

$$Y = 4.788 - 0.4802 \qquad R^2 = 0.6794$$

$$Y = 7.1632 - 2.5679\ X + 0.3744\ X^2 \qquad R^2 = 0.775$$



الشكل 6. الانحدار الخطي مع الزمنللوغاريتمالانخفاض الجرثومي لنوع *S. aureus* عند استخدام *Bacillus* spp. Probiotics والانحدار من الدرجة الثانية في الشاهد

5- الاستنتاجات والتوصيات

- تؤكد الدراسة الحالية على إثبات فعالية استخداماالاستراتيجية المعتمدة على المكافحة الحيوية باستخدام المنتجات القائمة على البروبيوتيك في خفض الحمولة الجرثومية لكل من بكتيريا الـ *E. Coli* و*S. aureus* المسببة لعدوى المشافي.
- استدامة فعالية البروبيوتك في خفض الحمولة الجرثومية حتى يوم كامل. بالمقابل لوحظ عودة في ارتفاع الحمولة الجرثومية عند استخدام المادة الكيمائية المعقمة الشاهد نظراً لأن فعالية المطهرات الكيميائية مرتبطة بزمن التماس الخاص بها.
- يوصى التحقق من فعالية استخدام استراتيجية المكافحة الحيوية للجراثيم الممرضة باستخدام البروبيوتك في مراكز الرعاية الصحية بإجرا دراسات على نطاق أوسع وأختبار فعالية البروبيوتك على أنواع أكثر من الجراثيم الممرضة المرتبطة بعدوى المشافي كما يوصى بإجراء دراسات على المستوى الجزيئي للتحقق من الجانب المتعلق بالمقاومة للصادات الحيوية.

6- المراجع

1- AL-MARZOOQ, F., AL BAYAT, S., SAYYAR, F., ISHAQ, H., NASRALLA, H., KOUTAICH, R. and AL KAWAS, S., 2018- **Can Probiotic Cleaning Solutions Replace Chemical Disinfectants in Dental Clinics.** *European journal of dentistry*, (12)4, 532.

2- BRUSAFERRO, S., ARNOLDO, L., CATTANI, G., FABBRO, E., COOKSON, B., GALLAGHER, R., HARTEMANN, P., HOLT, J., KALENIC, S., POPP, W. and PRIVITERA, G., 2015- **Harmonizing and supporting infection control training in Europe.** *Journal of Hospital Infection*, (89) 1, 351-356.

3- FALAGAS, M.E. and MAKRIS, G.C., 2009- **Probiotic Bacteria and Biosurfactants for Nosocomial Infection Control: A Hypothesis.** *Journal of Hospital Infection*, (71) 4, 301-306.

4- FRABETTI A, VANDINI A, BALBONI P, TRIOLO F and MAZZACANE S., 2009- **Experimental Evaluation of The Efficacy of Sanitation Procedures in Operating Rooms.** *American journal of infection control,* (37)8, 658-664.

5- HARDIN G., 1960- **The competitive exclusion principle: an idea that took a century to be born has implications in ecology, economics, and genetics.** *Science.* (131) 3409, 1292-1297.

6- ODOYO, E., MATANO, D., GEORGES, M., TIRIA, F., WAHOME, S., KYANY'A, C., and MUSILA, L., 2021- **Ten Thousand-Fold Higher Than Acceptable Bacterial Loads Detected in Kenyan Hospital Environments: Targeted Approaches to Reduce Contamination Levels.** *International Journal of Environmental Research and Public Health*, (18) 13, 6810.

7- SACCUCCI, M., BRUNI, E., UCCELLETTI, D., BREGNOCCHI, A., SARTO, M.S., BOSSÙ, M., DI CARLO, G. and POLIMENI, A., 2018- S**urface Disinfections: Present and Future**. *Journal of Nanomaterials*, (2018) 1, 8950143

8- SCOTT, R.D., 2009- **The Direct Medical Costs of Healthcare-Associated Infections in U.S. Hospitals and The Benefits of Prevention.** Atlanta: *Centers for Disease Control and Prevention (CDC).*

9- SIEGEL, J.D., RHINEHART, E., JACKSON, M., and CHIARELLO, L., Health Care Infection Control Practices Advisory Committee 2007- *Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. Am J Infect Control* 35(10 Suppl 2), 65-164.

10- SUETENS, C., HOPKINS, S., KOLMAN, J., DIAZ HÖGBERG, L., 2013- **Point Prevalence Survey of Healthcare Associated Infections and Antimicrobial Use in European Acute Care Hospitals**. *Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control.*

11- VANDINI, A., FRABETTI, A., ANTONIOLI, P., PLATANO, D., BRANCHINI, A., CAMERADA, M.T., LANZONI, L., BALBONI, P. and MAZZACANE, S., 2014**- Reduction Of the Microbiological Load on Hospital Surfaces Through Probiotic-Based Cleaning Procedures: A New Strategy to Control Nosocomial Infections**. *J Microbiol Exp*, 1(5), 00027.400

Disinfecting Efficacy Evaluation of Probiotics on Some Pathogens Responsible for Nosocomial Infections

Joudi Wani*, Ahmad Shams AL-Dien Shaaban, Rawa Alkayali*****

Abstract

The sanitation of the hospital environment for the purpose of preventing the transmission of healthcare-associated infections have a major role in reducing the infection of patients with the bacteria living on hospital surfaces.

Traditional chemical disinfectants used in disinfecting procedures in hospitals display several disadvantages such as limited biocide action, rapid bacterial re-contamination of treated surface sand potential onset of chemical sensitivity in patients, workforce and cleaners. The excessive use of chemical detergents and disinfectant in recent decades has led to microbial resistance in nosocomial infectious bacteria According to recent experimental studies; cleaning techniques based on probiotic for disinfecting hospital surfaces are promising.

This study was aimed to evaluate the efficacy of a new product of sanitation with cleaning products containing spore forms of *Bacillus* spp. in comparison with a traditional chemical disinfectant treatment on two types of bacteria associated with nosocomial infections, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli.* Data obtained in the present study show that probiotic-based detergents significantly reduce the presence of pathogenic bacteria on contaminated surfaces and prevent their re-multiplication over time, unlike chemical disinfectants, which wear off after the end of contact time.

Keywords: Nosocomial infection, Disinfection, Probiotic, Pathogens، Surface contamination.

*Postgraduate Student (M.Sc.), Dept. of Biotechnical Engineering, Faculty of Technical Engineering, University of Aleppo
** Assistant prof., Dept. of Biotechnical Engineering, Faculty of Technical of Engineering, University of Aleppo
***Assistant prof., Dept. of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, University of Aleppo