

عزل وتصنيف النوعين الجرثوميين *Staphylococcus aureus* و *Proteus mirabilis* من روث الأبقار في مزرعة زاهد بطرطوس

توفيق عثمان*

أميمة ناصر**

هيثم عيد***

(تاريخ الإيداع ٨ / ٧ / ٢٠٢٠ . قبل للنشر ٥ / ١ / ٢٠٢١)

الملخص

تم عزل نوعين من الجراثيم من روث أبقار (CD) سلالة فريزيان بعمر من (٢-٦) سنة من مزرعة زاهد في محافظة طرطوس، وتميظهما اعتماداً على التلوين والفحص المجهرى (صبغة غرام) والخصائص البيوكيميائية والزربية على الأوساط المغذية النوعية والانتقائية، وذلك استناداً إلى تصنيف بيرجي. بينت النتائج عزل المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* موجبة صبغة غرام، والمتقلبة ميرابيليس *Proteus mirabilis* سالبة صبغة غرام.

الكلمات المفتاحية: روث الأبقار، جراثيم، مزرعة زاهد، *Staphylococcus aureus*، *Proteus mirabilis*.

* طالب دراسات عليا (دكتوراه) قسم الوقاية البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

** أستاذ مساعد - قسم الوقاية البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

*** دكتور في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - طرطوس - سورية.

Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* and *Proteus mirabilis* from cow dung from Zahed farm, Tartous

Tofek Othman*
Omeima Nasser**
Haitham Eid***

(Received 8 / 7 / 2020 . Accepted 5 / 1 / 2021)

ABSTRACT

Two bacterial species were isolated and identification from Friesian Cow Dung (CD) (2-6) years, from Zahed farm in Tartous city. The isolated bacteria were identified and characterized based on their gram reaction characteristics, morphological and biochemical properties on the specific and selective media, that it was based on Bergey Manual.

The results showed two types of bacteria, the first was coccus (*Staphylococcus aureus*), gram positive. But the second was rod (*Proteus mirabilis*), gram negative.

Key words: Cow Dung, bacteria, Zahed farm, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*.

* Postgraduate student, Department of Environmental Prevention, Higher Institute for Environmental Research, Tishreen University.

** Assistant Professor in Higher Institute for Environmental Research, Department of Environmental Prevention, Higher Institute for Environmental Research, Tishreen University.

*** Doctor in Agricultural Scientific Researches, Tartous, Syria.

مقدمة:

يُعرّف روث الأبقار (CD) Cow dung بأنه عبارة عن مخلفات المواد الغذائية التي تتناولها هذه الحيوانات، يتكون بشكل أساسي من اللجنين والسلولوز والهيميسيلولوز، ويحتوي على عدد من العناصر مثل النيتروجين والبوتاسيوم، بالإضافة إلى كمية ضئيلة من الكبريت والحديد والمغنيزيوم والنحاس والكوبالت والمنغنيز (Garg & Mudgal, 2007; Randhawa & Kullar, 2011)، ويبين الجدول (1) مكونات روث الأبقار من بعض العناصر المعدنية.

الجدول (1) محتوى روث الأبقار من بعض العناصر المعدنية (Shen et al., 2015)

العنصر (ك أو أكسيد)	الكمية في روث الأبقار (wt % of Ash)
P ₂ O ₅	١٩,١٣
K ₂ O	٤,٧٩
Na ₂ O	١,٤٤
CaO	٨,٩٠
MgO	٦,٢٤
Fe ₂ O ₃	٢,٠٣
CuO	٠,٠٤
ZnO	٠,٠٤

يستخدم روث الأبقار في العمليات الزراعية على شكل سماد بلدي أو سماد حيوي، كما يُستخدم كمصدر للطاقة (Dhama et al., 2005).

أثبتت الأبحاث وجود تنوع ميكروبي لروث الأبقار لذلك من المهم دراسة هذا التنوع، إذ يحتوي روث الأبقار على عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة، فهو يحتوي أكثر من (٦٠) نوع من الأنواع الجرثومية المختلفة و(١٠٠) نوع من البروتوزوا والخمائر مثل: (*Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kluyvera spp.*, *Morgarella morganii*, *Pasteurella spp.*, *Providencia (alcaligenes)*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas spp.*, *Nocardia*, *Mucor*, *Rhizopus sp*) (Randhawa & Kullar, 2011; Sawant et al., 2007).

توجد *Staphylococcus aureus* في البيئة وجسم الإنسان كجزء من الفلورا الطبيعية، حيث تتواجد على الجلد والأغشية المخاطية (غالباً المنطقة الأنفية)، وقد وجدت أيضاً في روث الحيوانات كالأبقار. لا تسبب *S. aureus* عادةً عدوى على الجلد السليم، ولكن إذا تم دخولها إلى مجرى الدم أو الأنسجة الداخلية، فقد تسبب هذه الجراثيم مجموعة متنوعة من الالتهابات الخطيرة (Lowy, 1998). ومن أهم الأمراض التي تسببها هذه الجراثيم: القوباء، الدامل، التهاب السحايا، الالتهابات الرئوية والتهاب المسالك البولية وغيرها (Tong et al., 2015)، كما أنها من أهم مسببات التهاب الضرع عند الأبقار (Capra et al., 2017).

بينما يتواجد النوع *Proteus mirabilis* في التربة والمياه، كما يتواجد كفلورا طبيعية في جسم الإنسان (Jamil et al., 2019). ويسبب هذا النوع عدة أمراض منها التهابات المسالك البولية بما في ذلك التهاب المثانة والتهاب الكلية والقولون، كما يتسبب بتكوين حصيات في الكلية (Schaffer and Pearson, 2017).

عزل Sawant وزملاؤه (٢٠٠٧) عدة أنواع جرثومية من روث الأبقار منها: *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kluyvera* spp., *Morgarella morganii*, *Pasteurella* spp., *Providencia alcaligenes*, *Providencia stuartii* و *Pseudomonas* spp. (Sawant et al., 2007).

قام Lu وزملاؤه (٢٠١٤) بعزل العديد من السلالات الجرثومية من روث الأبقار بلغ عددها (٢١٩) عزلة، تم استخدامها كمبيد حيوي ضد ديدان النيما تودا من النوع *Caenorhabditis elegans*، أظهرت النتائج أن (١٧) عزلة قتلت أكثر من (٩٠%) من النيما تودا في غضون ساعة فقط. ومن هذه العزلات: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Proteus penneri*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas otitidis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus*, *Microbacterium aerolatum*, *Pseudomonas beteli* (Lu et al., 2014).

سلط Orji وزملاؤه (٢٠١٢) الضوء على أهمية الكائنات الحية الدقيقة (جراثيم وفطريات) المعزولة من روث الأبقار في معالجة التربة الملوثة بالمركبات البترولية، إذ تم تخفيض إجمالي الهيدروكربونات البترولية إلى (٠)٪ في تربة المنغروف الملوثة، من أهم هذه الأنواع الجرثومية: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium* (Orji et al., 2012).

اختبر Adams وزملاؤه (٢٠١٤) قدرة الجراثيم المعزولة من روث الأبقار على تحطيم الهيدروكربونات في التربة الملوثة بزيت المحرك، فوجد انخفاض إجمالي الهيدروكربونات البترولية بنسبة تصل إلى (٨١)٪، ومن أهم الأجناس المستخدمة: *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* (Adams et al., 2014).

عزل Swain وآخرون (٢٠١٢) جراثيم النوع *Bacillus subtilis* من روث الأبقار، والتي تبين أن لها قدرة كبيرة على إذابة الفوسفات، وتبين أيضاً أن عزلات *Bacillus* تمتلك خاصية مضادة لمسببات الأمراض النباتية (Swain et al., 2012).

يحتوي روث الأبقار مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة التي يمكن استخدامها في عدة مجالات، كالمعالجة الحيوية للملوثات البيئية، أو في مجال مكافحة الحيوية للأمراض النباتية. وبالتالي يمكن اعتبار روث الأبقار مصدراً بيولوجياً متاحاً بسهولة، وله إمكانات كبيرة للتنمية المستدامة في المستقبل القريب (Gupta et al., 2016).

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لوجود الكائنات الحية الدقيقة بشكل عام والجراثيم بشكل خاص في روث الأبقار بأعداد كبيرة وأنواع مختلفة، إذ توجد بعض الجراثيم المفيدة في عمليات تكوين الروث الجيد عند التخمر، بينما البعض الآخر ضارة بالصحة العامة. كان لابد من إجراء هذه الدراسة لما ستحققه من مساهمة مهمة في رفد الأبحاث العلمية في المجالات المختلفة (الزراعية والبيئية).

ويمكن تلخيص أهداف هذا البحث بالآتي:

- عزل بعض أنواع الجراثيم من روث الأبقار في مزرعة زاهد التابعة لمحافظة طرطوس.
- تتقنية وتحديد الجراثيم المعزولة بتتميتها على الأوساط الزرع المغذية العامة والانتقائية والمعتمدة عالمياً.
- تشخيص الجراثيم المعزولة اعتماداً على الخصائص البيوكيميائية.

طرائق البحث ومواده:

١ - العينات:

جُمعت عينات طازجة وبطريقة عشوائية من روث الأبقار خلال العام (٢٠١٩) من مزرعة زاهد للأبقار التي تقع في منطقة الصفصافة في القسم الغربي من سهل عكار وإلى الجنوب من مدينة طرطوس، ثم وُضعت العينات في أكياس من البولي إيثيلين المعقم لحين الوصول إلى مخبر الأحياء الدقيقة في المعهد العالي لبحوث البيئة بجامعة تشرين لإجراء التحاليل الجرثومية عليها. ثم أُجري تخفيف العينة بأخذ (١) غ من الروث مع (٩) مل من الماء المقطر المعقم، حيث تم الحصول على تخافيف من $(10^{-1} - 10^{-3})$.

٢ - الأجهزة المستخدمة:

جهاز الصاد الموصل (J.P Selecta, s. a)، غرفة عزل جرثومي (Telstar, Bio II A)، مجهر ضوئي (Olympus CX41)، مكبرة ضوئية (Optika)، حاضنة (Jad. 300 IC)، جهاز قياس الرقم الهيدروجيني pH، براد.

٣ - البيئات الغذائية المستخدمة لتنمية الجراثيم:

تم استخدام المرق المغذي السائل (NB) Nutrient Broth والأجار المغذي (NA) Nutrient agar كأوساط عامة. وتم استخدام الأوساط الآتية لتفريق وتمييز الجراثيم وهي: Simmons citrate agar- Kligler Iron Agar- Eosin methylene blue- Endo agar- KF .Streptococcal Agar Base- Pseudomonas Citrimid Agar- Salmonella Shigella (SS) Agar بالإضافة إلى مجموعة التشخيص البيولوجي (المسطرة البيولوجية) (API-E20) و (API- Staph).

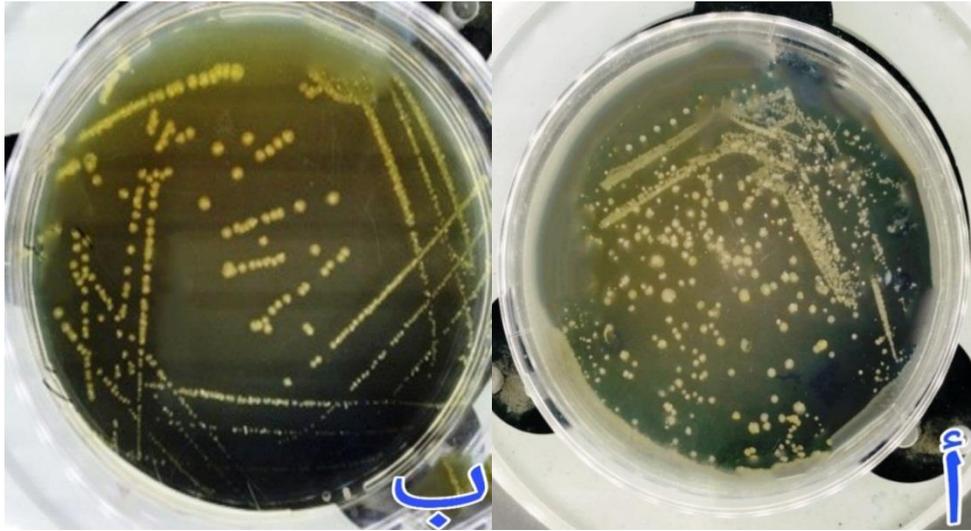
٤ - الزرع والعزل الجرثومي:

تمت عملية عزل الجراثيم والكشف عن هويتها اعتماداً على الطرائق العالمية (Cowan, 1974; Salle, 1973)، حيث نُقل من كل تخفيف مقدار إبرة تلقح إلى ثلاثة أطباق أوساط الأجار المغذي (Nutrient agar) وتركت بالحاضنة بالدرجة (٣٧) درجة مئوية لمدة (٢٤-٧٢) ساعة، ودرست الأطباق التي ظهر فيها نمو جرثومي، حيث عزلت باستخدام طريقة التخطيط على الوسط المغذي، وحضنت بالدرجة (٣٧) درجة مئوية لمدة (٤٨) ساعة. ثم زُرعت العينات على أوساط اصطفائية، وأجري لها التلوين بطريقة صبغة غرام، قسمت إلى جراثيم موجبة صبغة غرام، وجراثيم سالبة صبغة غرام، وبعد الحصول على مستعمرات نقية لكلا النوعين السالبة والموجبة صبغة غرام، تم انتقاء مستعمرات مفردة تم حلها بمحلول موقى (PBS X1) حسب عكارة (Mcfarland 2)، ثم أُجري لها

اختبارات بيوكيميائية باستخدام تقانة المسطرة البيوكيميائية، لتسهيل عملية التمييز بين الأنواع، وحضنت بدرجة حرارة (٣٧) درجة مئوية لمدة (٢٤) ساعة، وتمت مراقبة النتائج لمدة (٧٢) ساعة إضافية للتأكد من عملية التخمر.

النتائج ومناقشتها:

أظهرت عمليات الزرع الجرثومي على الأوساط المغذية أعداداً كبيرة من المستعمرات التي تم تفريقها بطريقة التخطيط على الطبق للحصول على عينات جرثومية نقية، فتم الحصول على عزلتين هما (A1) و (A2).

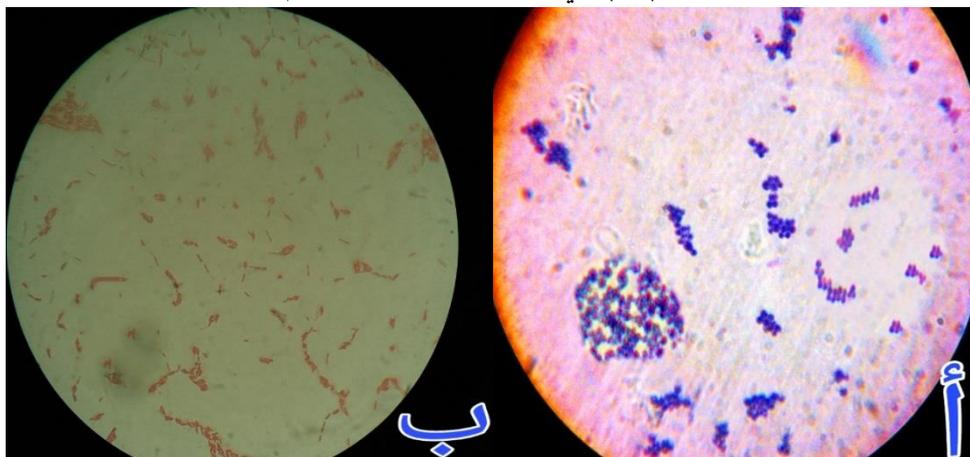


الشكل (1): (أ) نمو الجراثيم على الوسط المغذي العام Nutrient Agar، (ب) طريقة التخطيط لتفريق وعزل الجراثيم بعد التأكد من نقاوة المستعمرات تم انتقاء مستعمرات مفردة وحلها بمحلول (PBS 1x) حسب عكارة (Mcfarland2)، بعد ذلك ويهدف التحديد الدقيق للعزلات الجرثومية تم إجراء عملية التتميط تبعاً للخصائص الزرعية (شكل ولون المستعمرات).

الجدول (٢) بعض الصفات المزرعية للعزلتين الجرثوميتين

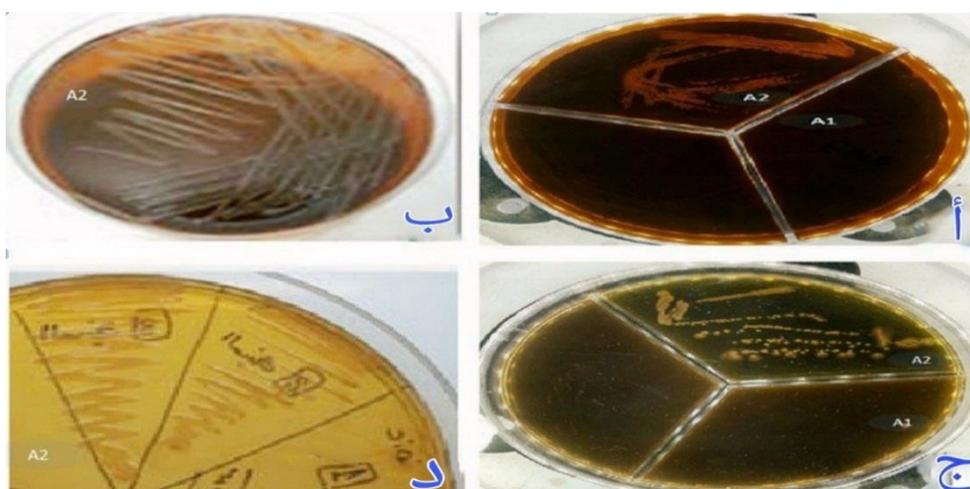
A2	A1	اسم العزلة الصفة
دائرية متداخلة	دائرية	شكل المستعمرات
كريمي	أصفر ذهبي	اللون على NA
متموجة	كاملة	حافة المستعمرة
متوسطة	متوسطة	الحجم
غير نفوذة	غير نفوذة	النفاذية

بعد ذلك تم التلوين بصبغة غرام حيث تبين أن العزلة الجرثومية الأولى (A1) هي عبارة عن مكورات إيجابية صبغة غرام، بينما العزلة الجرثومية الثانية (A2) هي عصيات سالبة صبغة غرام.



الشكل (٢): (أ) شكل خلايا العزلة الجرثومية الأولى بعد التلوين بصبغة غرام (A1)، (ب) شكل خلايا العزلة الجرثومية الثانية (A2) بعد التلوين بصبغة غرام

ثم تمت الزراعة على الأوساط الاصطفائية الآتية: وسط الإيوزين أزرق الميثيلين (EMB) ووسط (SS) Salmonella Shigella agar. بينت النتائج أن العزلة الجرثومية الثانية (A2) حققت نمواً جيداً على هذه الأوساط، بينما لم يحدث نمو بالنسبة للعزلة الجرثومية الأولى (A1).



الشكل (٣): النمو على الوسط EMB و SS-agar، حيث (أ) نمو العزلة (A2) على وسط EMB وعدم نمو العزلة (A1) عليه. (ب) العزلة (A2) على الوسط EMB. (ج) نمو العزلة (A2) على وسط SS-agar وعدم نمو العزلة (A1) عليه. (د) العزلة (A2) على الوسط SS-agar.

الجدول (٣) بعض الصفات الشكلية والمجهريّة للعزلتين الجرثوميتين

A2	A1	اسم العزلة الصفة
+	-	النمو على وسط EMB
+	-	النمو على وسط SS agar
+	-	الحركية Motility
عصيات	مكورات عنقودية	شكل الخلايا
-	+	صبغة غرام
-	-	تكوين الأبواغ

بعدها تم إجراء اختبارات بيوكيميائية بطريقة الصفيحة البيوكيميائية (API) لهذه المستعمرات كما هو الآتي:

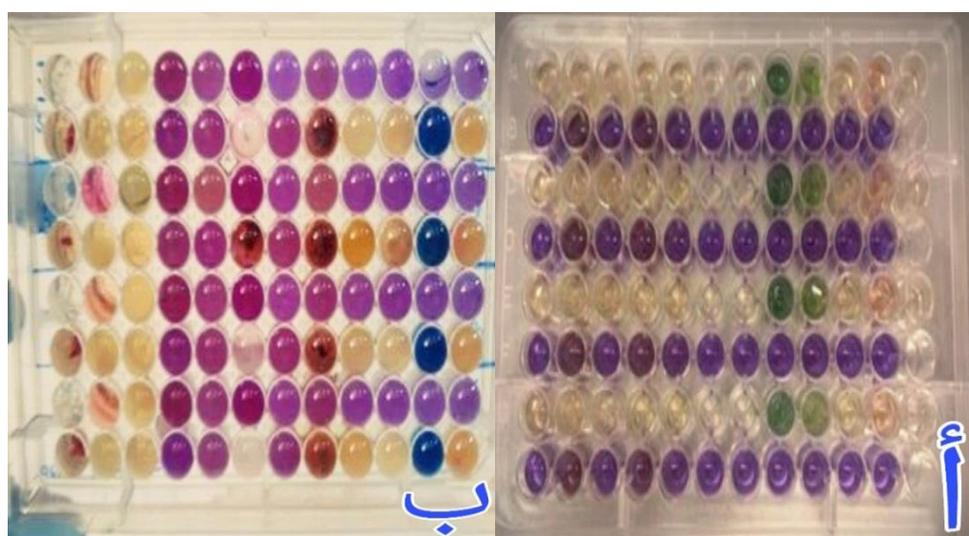
الجدول (٤) الاختبارات البيوكيميائية للعزلتين الجرثوميتين

A2	A1	اسم العزلة الصفة
±	±	الحاجة للأوكسجين
+	+	الكاتالاز Catalase
-	-	الأوكسيداز Oxidase
+	+	الارجنين Arginine
+	-	Ornithine Decarboxylases
+	+	نترات Nitrate
+	+	أحمر الميثيل Methyl red
-	+	فوكس بروسكار Voges-Proskauer
-	-	الاندول Indol
+	-	H ₂ S
+	-	الاسيتات Acetate
+	+	السترات Citrate
-	-	الاسكولين Esculine
+	+	الجيلاتين Gelatine
+	+	اليوريا Urea

بالإضافة لإجراء اختبارات تخمير السكريات على الصفيحة البيوكيميائية، إذ حُضنت بدرجة حرارة (٣٧) درجة مئوية لمدة (٢٤) ساعة، وتمت مراقبة النتائج لمدة (٧٢) ساعة إضافية للتأكد من عملية التخمير، والنتائج موضحة كالتالي:

الجدول (٥) تخمر السكريات للعزلتين الجرثوميتين

A2	A1	اسم العزلة الصفة
-	-	Arabinose ارابينوز
-	-	Cellobiose سيلوبيوز
+	+	Glucose جلوكوز
-	+	Lactose لاكتوز
-	+	Maltose مالتوز
-	+	Mannitol مانيتول
-	+	Mannos مانوز
-	-	Raffinose رافينوز
-	+	Sucrose سكروز
+	+	Trehalose تريهالوز
+	-	Xylose زيلوز
-	+	Fructose فركتوز



الشكل (4) صفيحة اختبارات تخمر السكريات حيث (أ) الشكل العام للصفحة قبل إجراء الاختبار، (ب) شكل الصفحة بعد إجراء الاختبار يتبين مما سبق وبعد إجراء العديد من الاختبارات البيوكيميائية على الجراثيم المعزولة من روث الأبقار أن السلالتين الجرثوميتين المعزولتين هما:

(A1) *Staphylococcus aureus*: جراثيم مكورة عنقودية الشكل موجبة صبغة غرام.

(A2) *Proteus mirabilis*: جراثيم عصوية سالبة صبغة غرام.

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع نتائج Rastegari وزملاؤه الذي حصل على عدة عزلات جرثومية عند دراسة تحلل روث الأبقار بواسطة دودة الأرض، وأبرز هذه العزلات كان: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxy-Toka*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.
توافقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج Omojowo وزملاؤه الذي حصل على عدة عزلات جرثومية من روث الأبقار أهمها: *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*.

الاستنتاجات:

- ١ - تم عزل نوعين من الجراثيم من روث الأبقار في مزرعة زاهد هما: الأولى *Staphylococcus aureus*، والثانية *Proteus mirabilis*.
- ٢ - بينت معطيات الفحص المجهرى خصائص العزلات حيث ظهرت العزلة الجرثومية *Staph. aureus* بأنها ذات خلايا كروية الشكل و متجمعة بشكل عناقيد موجبة صبغة غرام وغير متحركة. أما السلالة *P. mirabilis* فهي ذات خلايا عصوية الشكل لكنها سالبة صبغة غرام ومتحركة.
- ٣ - أظهرت الاختبارات البيوكيميائية أن العزلة الجرثومية *Staph. aureus* أعطت نتيجة تفاعل إيجابي بالنسبة لاختبار الكاتالاز والأرجنين والنترات وفوكس بروسكار وأحمر الميتيل والسترات واليوريا وتحلل الجيلاتين وسكر اللاكتوز، بينما أعطت تفاعل سلبي بالنسبة لاختبار الأوكسيداز والأورنيثين والإندول وكبريت الهيدروجين.
- ٤ - أظهرت الاختبارات البيوكيميائية أن العزلة الجرثومية *P. mirabilis* أعطت نتيجة تفاعل إيجابي بالنسبة لاختبار الكاتالاز والأرجنين والأورنيثين والنترات وأحمر الميتيل وكبريت الهيدروجين والسترات وتحلل الجيلاتين واليوريا، بينما أعطت تفاعل سلبي بالنسبة لاختبار الأوكسيداز وفوكس بروسكار والإندول وسكر اللاكتوز.

المقترحات:

- ١ - متابعة العمل على تشخيص الأنواع الجرثومية الموجودة في روث الأبقار لكونه يشكل مصدراً متنوعاً لتلك الجراثيم.
- ٢ - متابعة العمل على تشخيص عزلات جرثومية من مخلفات عضوية مختلفة، لتكون بنك معلومات محلي يمكن الاعتماد عليه في دراسات مستقبلية.

المراجع:

- 1 - ADAMS, G. O.; TAWARI-FUFEYIN, P. & Ehinomen, I. 2014, Laboratory Scale Bioremediation of Soils from Automobile Mechanic Workshops Using Cow Dung. Journal of Applied & Environmental Microbiology, 2(4), 128–134. <https://doi.org/10.12691/jaem-2-4-6>.
- 2 - BERGEY, D. H.; HENDRICKS, D.; HOLT, J. G.; & SNEATH, P. H. 1984, Bergey's Manual of systematic bacteriology. Vol. 2. Williams & Wilkins.
- 3 - CAPRA, E.; CREMONESI, P.; PIETRELLI, A.; PUCCIO, S.; LUINI, M.; STELLA, A. & CASTIGLIONI, B. 2017, Genomic and transcriptomic comparison between *Staphylococcus aureus* strains associated with high and low within herd prevalence of intra-mammary infection. BMC microbiology, 17(1), 21.

- 4 - COWAN, S. T. 1974, *Manual for the Identification of Medical Bacteria* (2nd). Retrieved from <https://www.abebooks.com/book-search/title/manual-identification-medical-bacteria/>.
- 5 - DHAMA, K.; CHAUHAN, R. & SINGHAL, L. 2005, *Anti-Cancer Activity of Cow Urine : Current Status and Future Directions*. International Journal of Cow Science, 1(2), 1–25.
- 6 - GARG, A. K. & MUDGAL, V. 2007, *Organic and mineral composition of Gomeya (cow dung) from Desi and crossbred cows-A comparative study*. International Journal of Cow Science, 3(1and2), 17–19.
- 7 - GUPTA, K. K.; ANEJA, K. R. & RANA, D. 2016, *Current status of cow dung as a bioresource for sustainable development*. Bioresources and Bioprocessing, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-016-0105-9>.
- 8 - JAMIL, R. T.; FORIS, L. A. & SNOWDEN, J. 2019, *Proteus Mirabilis Infections*. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- 9 - LOWY, F. D. 1998, *Staphylococcus aureus infections*. N. Engl. J. Med.
- 10 - LU, H.; WANG, X.; ZHANG, K.; XU, Y.; ZHOU, L. & LI, G. 2014, *Identification and nematicidal activity of bacteria isolated from cow dung*. Annals of Microbiology, 64(1), 407–411. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0660-7>.
- 11 - OMOJOWO, F. S. & OMOJASOLA, F.P. 2013, *Antibiotic resistance pattern of bacterial pathogens isolated from cow dung used to fertilize Nigerian fish ponds*. Notulae Scientia Biologicae, 5(1), 15-19.
- 12 - ORJI, F. A.; IBIENE, A. A. & DIKE, E. N. 2012, *Laboratory scale bioremediation of petroleum hydrocarbon - polluted mangrove swamps in the Niger Delta using cow dung*. Malaysian Journal of Microbiology, 8(4), 219–228.
- 13 - RANDHAWA, G. K. & KULLAR, J. S. 2011, *Bioremediation of Pharmaceuticals, Pesticides and Petrochemicals with Gomeya/Cow Dung*. ISRN Pharmacology, 2011, 1–7. <https://doi.org/10.5402/2011/362459>.
- 14 - RASTEGARI, N.; EBRAHIMI, A. A.; KARIMI, H. & MOKHTARI, M. 2017, *Existence of microbial species in vermicomposts derived from mixed sesame crust and cow manure treatments*. Journal of Environmental Health and Sustainable Development, 2(1), 229-234.
- 15 - SALLE, A. g. 1973, *Fundamental Principles of Bacteriology (7th ed)*. Los Angeles, USA: McGraw Hill Book Company.
- 16 - SAWANT, A. A.; HEGDE, N. V.; STRALEY, B. A.; DONALDSON, S. C.; LOVE, B. C.; KNABEL, S. J. & JAYARAO, B. M. 2007, *Antimicrobial-resistant enteric bacteria from dairy cattle*. Applied and Environmental Microbiology, 73(1), 156–163. <https://doi.org/10.1128/AEM.01551-06>.
- 17 - SCHAFFER, J. N. & PEARSON, M. M. 2017, *Proteus mirabilis and urinary tract infections*. Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management, 383-433.
- 18 - SHEN, X.; HUANG, G.; YANG, Z.; & HAN, L. 2015, *Compositional characteristics and energy potential of Chinese animal manure by type and as a whole*. Applied Energy, 160, 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.09.034>.
- 19 - SWAIN, M. R.; LAXMINARAYANA, K. & RAY, R. C. 2012, *Phosphorus Solubilization by Thermotolerant Bacillus subtilis Isolated from Cow Dung Microflora*. Agricultural Research, 1(3), 273–279. <https://doi.org/10.1007/s40003-012-0022-x>.

20 - TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L. & FOWLER, V. G. 2015, *Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management*. Clinical microbiology reviews, 28(3), 603-661.