وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم

تقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتية على البكتريا المرضية المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز والمعزولة من الاخماج الجلدية

رسالة مقدمة الى مجلس كلية العلوم / جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل
نغم محمد خلف
بكالوريوس علوم حياة /جامعة ديالى 2005

بأشراف
أ.م.د. عباس ياسين حسن

2020 A.D **1441 A.H**

بِسْم الله الرَّحْمٰن الرَّحِيم

الرَّحْمَٰنُ ﴿ ١ ﴾ عَلَّمَ الْقُرْآنَ ﴿ ٢ ﴾ خَلَقَ الْإِنْسَانَ ﴿ ٣ ﴾ عَلَّمَهُ الْبَيَانَ ﴿ ٤ ﴾

صدق الله العظيم

سورة الرحمن

(الاية 1-4)

الاهداء

اذا كان الاهداء يعبر عن القليل من الوفاء والشكر والتقدير ....

فأهدي رسالتي بعد صاحب الروح ورب العرش الى معلم البشرية وامام الناس وسيد الخلق...

الى رسول الله صلى الله عليه وسلم...

الى الشخص الذي عانى المشاق وكافح من اجل ايصالي الى هذه المرحلة...

الى روح والدي العزيز رحمه الله...

الى من لا اقدر على وصفها الغالية الجميلة...

(امي الغالية) ...

الى رفيق دربي وسندي في الحياة...

(زوجي العزيز) ...

الى فلذة كبدي وروحي...

اولادي (سمير ومصطفى وعبد الرحمن) ...

الى عمتي الغالية ام سامر...

الى رموز الوفاء والصدق والمحبة...

(اخوتي وصديقاتي) ...

الى كل يد امتدت لي بالخير ...

الى كل من يسره نجاحي ...

اليهم جميعا اهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا.

نغم

الشكروالتقدير

الحمد والشكرلله الذي وفقنا لتقديم هذا البحث ويسر لنا امرنا ووهب لنا العلم النافع ويسر لنا طريقه.
يسرني أن اتقدم بخالص الشكر وعظيم الامتنان للاستاذ الفاضل الدكتورعباس ياسين حسن على ما قدمه لي من علم نافع وعطاء متميز وارشاد مستمر وعلى ما بذله من جهد متواصل وتوجيه ونصح من بداية مرحلة البحث حتى اتمام الرسالة فجزاه الله عني خير الجزاء وجعل ذلك في ميزان حسناته.
وكما يسرني ان اتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية العلوم /جامعة ديالى ورئاسة قسم علوم الحياة لاتاحة الفرصة لي لاكمال دراستي العليا.

وأوجه شكري وتقديري الى من ساندني لاكمال دراسة الماجستير زوجي العزيز ساهرسمير لتهيئة بعض المستلزمات المختبرية وتزويدي بالمصادر القيمة وشكري وتقديري لكل من مد لي يد العون او اسدى لي معروفا او قدم لي نصيحة واخص بالذكر كل من (الدكتور واثق والدكتورسامي منذور) و المسؤوليين في مختبر استشارية مستشفى المقدادية (الست ضحى علي جاسم والست انتصار علي فاضل).

ولا يفوتني ان اشكر زميلاتي وزملائي طلبة الدراسات العليا داعية الله تعالى لهم بدوام الصحة والموفقية.

الخلاصة

أخذت مسحات من 150مريض مصاب بأخماج جلدية مختلفة شملت 32 مسحة لأخماج النسيج الخلوي Cellulitis و 32 مسحة لأخماج بصيلة الشعرة Folliculitis و34 مسحة لأخماج القوباء المعدي Impetigo و52 مسحة لأخماج الدمامل Boils ولكلا الجنسين بأعمار تراوحت بين (1-75) سنة من العيادة الاستشارية لمستشفى بعقوبة التعليمي من بداية شهر ايلول 2018 الى نهاية شهر كانون الثاني 2019.

جمعت 30 مسحة من جلد متطوعين أصحاء بأعمار مختلفة ومن كلا الجنسين ، شخصت لها 33 عزلة بكتيرية اعتمادا على الصفات البكتريولوجية والكيمياء الحيوية القياسية ، وهي بكتريا *Staphylococcus epidermidis* 11 عزلة بنسبة 33.2% و *Staphylococcus aureus* 6 عزلات بنسبة 18.2% و *Pseudomonas aeruginosa* 5 عزلات بنسبة 15.6% و*Klebsiella pneumoniae* 3 عزلات بنسبة 9% و *Escherichia coli* 4 عزلات بنسبة 12% و *Streptococcus pyogenes* 4 عزلات بنسبة 12%.

شخصت 156عزلة بكتيرية لمسحات مرضى الاخماج الجلدية ، تضمنت 80 عزلة بنسبة 51.3% لمجموعة البكتريا السالبة لصبغة كرام Gram negative والتي أقتربت نسبتها من مجموعة البكتريا الموجبة لصبغة كرام Gram positive إذ كانت 76 عزلة بنسبة 48.7%. شملت مجموعة البكتريا السالبة لصبغة كرام على 29 عزلة بنسبة 36.3% لبكتريا *P. aeruginosa* و 18عزلة بنسبة 22.5% لبكتريا *E. coli* و 15عزلة بنسبة 18.7% لبكتريا *Proteus mirabilis* و 14عزلة بنسبة 17.5% لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* و4 عزلات بنسبة 5% لبكتريا *Morganella morganii* . تضمنت مجموعة البكتريا الموجبة لصبغة كرام على 34 عزلة بنسبة 44.7% لبكتريا *Staph. aureus* و19 عزلة بنسبة 25% لبكتريا *Staph. epidermidis* و11عزلة بنسبة 14.5% لبكتريا *Sterpt. pyogenes* و6 عزلات بنسبة 7.9% لبكتريا *Strept. viridans* و4 عزلات بنسبة 5.3% لبكتريا *Strept. agalactiae* و2 عزلة بنسبة 2.6% لبكتريا *Actinomycetes sp.* .

بينت النتائج فرقا معنويا ($P<0.01$) لدى الذكور المصابين وبنسبة 58% مقارنة مع الاناث بنسبة 42% ، وقد تبين أرتفاع نسبة الاصابة في الفئة العمرية (1-15) سنة للمرضى الذكور بنسبة 34.5% والاناث بنسبة 42.9% بوجود فرق معنوي ($P<0.05$) مقارنة مع الفئات العمرية الاخرى والتي تعود لنفس الجنس .

أبدت غالبية عزلات *S. aureus* المعزولة من الاخماج الجلدية تحسسا لمضادات Gentamicin، Amikacin، Pipracillin/Tazobactam، Ofloxacin، Vancomycin، Norfloxacin، Imipenem، Meropenem، في حين أظهرت العزلات مقاومة لمضادات PenicillinG ، Ceftriaxone ، Trimethoprim ، Ampicillin/Sulbactam ، Amoxicillin/Clavulanic acid. من ناحية اخرى ابدت عزلات *P. aeruginosa* تحسسا لمضادات Imipenem، Meropenem، Pipracillin/Tazobactam، Ofloxicin، بينما كانت مقاومة لمضادات Ampicillin، Ceftriaxone، Trimethoprim، Aztreonam، Norfloxacin، Ciprofloxacin، Ceftazidime، Chloramphenicol، Cefotaxime.

تم الكشف عن قابلية العزلات البكتيرية لانتاج أنزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف بطريقة الاقراص المتاخمة Disc approximation ،إذ بينت النتائج بأن 7عزلات بنسبة 20.6% لبكتريا *Staph. aureus* كانت منتجة لانزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف ، في حين كانت 23عزلة بنسبة 79.3% تعود لبكتريا *P. aeruginosa* قد أنتجت هذه الانزيمات .

أستخدمت طريقة اتحاد المضاد الحيوي Imipenem مع مادة EDTA للكشف عن انتاج العزلات البكتيرية لانزيمات البيتالاكتميز المعدنية ، إذ أظهرت النتائج بأن 8عزلات بنسبة 23.5% كانت منتجة لهذه الانزيمات من قبل بكتريا *S. aureus* ، في حين أبدت 7عزلات بنسبة 24.1% تنتمي لبكتريا *P. aeruginosa* قابليتها على انتاج هذه الانزيمات.

بينت نتائج الدراسة أن المستخلص المائي الحار لنباتي العفص والخروع تأثيرا فعالا وبفارق معنوي ($P<0.05$) في اقطارالتثبيط للتراكيز المختلفة (12.5, 25, 50, 100, 200 ملغم/مل ضد بكتريا *S. aureus* المعزولة من الاخماج الجلدية المتنوعة وباقطار تثبيط (12.4, 13.6, 15.7, 18.6, 20.3) ملم ، (16.5, 18, 22, 27.6, 29.8) ملم على التوالي حسب زيادة تركيز المستخلص ، وكذلك للمستخلص الكحولي لنباتي العفص والخروع تاثير على هذه البكتريا وبفارق معنوي ($P<0.05$) في اقطار التثبيط لنفس التراكيز اعلاه وباقطار تثبيط (12.5, 15.7, 17.5, 19.9, 21.6) ملم و (13.5, 15.5, 17.6, 21.6, 25.2) ملم على التوالي.

أظهرت كذلك نتائج دراستنا ان للمستخلص المائي الحار لنباتي العفص والخروع تأثيرا فعالا وبفارق معنوي ($P<0.05$) في اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة (12.5, 25, 50, 100, 200 ملغم/مل ضد بكتريا *P. aeruginosa* المعزولة من الاخماج الجلدية وباقطار تثبيط

(10.5, 14.5, 16, 17.6, 19.3) ملم ، (15.4, 17.5, 21.6, 26, 29.6) ملم على التوالي حسب زيادة تركيز المستخلص ، وكذلك للمستخلص الكحولي لنباتي العفص والخروع تاثير على هذه البكتريا وبفارق معنوي ($P<0.05$) في اقطار التثبيط لنفس التراكيز اعلاه وباقطار تثبيط (13.5, 15.6, 17.5, 19.6, 24.8) ملم و (16.6, 19.6, 24.7, 29, 34.5) ملم على التوالي.

بلغت الدالة الحامضية للمستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص (5.6, 6.7) على التوالي ، بينما كانت للمستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع (5.8, 6.5) على التوالي. ومن حيث الدالة السمية فقد اوضحت النتائج بان جميع انواع المستخلصات النباتية المستعملة في دراستنا كان لها تاثيرا ساما على كريات الدم الحمر للانسان من خلال تمزق غشائها الخلوي وتحرر الهيموگلوبين.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
	الفصل الاول : المقدمة Introduction	
1	**المقدمة Introduction**	
	الفصل الثاني :استعراض المراجع Literature Review	
4	**أهمية وتركيب الجلد Importance and Structure of The Skin**	**1-2**
5	**النبيت الطبيعي للجلد Normal Flora of Skin**	**2-2**
6	**الاخماج الجلدية Cutaneous Infections**	**3-2**
6	**أخماج الدمامل Boil Infections**	**1-3-2**
7	**القوباء المعدي Impetigo**	**2-3-2**
8	**التهاب النسيج الخلوي Cellulitis**	**3-3-2**
8	**ألتهاب بصيلة الشعرة Folliculitis**	**4-3-2**
9	**دور البكتريا المرضية في الاخماج الجلدية**	**4-2**
9	**المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus***	**1-4-2**
11	**المكورات العنقودية البشروية *Staphylococcus epidermidis***	**2-4-2**
12	**المكورات المسبحية القيحية *Streptococcus pyogenes***	**3-4-2**
12	**العقديات المخضرة *Streptococcus viridans***	**4-4-2**
13	**المكورات المسبحية اللاحليبية *Streptococcus agalactiae***	**5-4-2**
13	**البكتريا الخيطية *Actinomycetes spp.***	**6-4-2**
14	**الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa***	**7-4-2**
15	**الاشريشيا القولونية *Escherichia coli***	**8-4-2**
16	**المتقلبة الرائعة *Proteus mirabilis***	**9-4-2**
16	**الكليبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae***	**10-4-2**
17	**مورغانيلا مورغاني *Morganella morganii***	**11-4-2**
17	**مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية**	**5-2**
19	**أنزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف Extended Spectrum β-lactamase**	**6-2**

7-2	أنزيمات البيتالاكتميز المعدنية Metallo β-lactamase	19
8-2	النباتات الطبية Medical plants	20
1-8-2	أهمية النباتات الطبية	20
2-8-2	نبات العفص	21
3-8-2	نبات الخروع	23
	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل Materials and Methods	
1-3	المواد Materials	24
1-1-3	الاجهزة والادوات Equipments and Instruments	24
2-1-3	المواد الكيميائية Chemical Materials	25
3-1-3	اقراص المضادات الحيوية Antibiotic Discs	27
4-1-3	المحاليل والكواشف والانزيمات Solutions,Indicators and Enzymes	28
1-4-1-3	محاليل صبغة كرام Gram stain solutions	28
2-4-1-3	الاوكسيديز Oxidase	29
3-4-1-3	محلول الملح الفسيولوجي Normal physiological saline	29
4-4-1-3	كاشف انزيم التخثر Coagulase	29
5-4-1-3	انزيمات الكاتاليز Catalase	29
6-4-1-3	داريء الفوسفات الملحي Phosphate buffer saline	30
7-4-1-3	محلول Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid(EDTA)	30
2-3	طرائق العمل Methods	30
1-2-3	طرائق التعقيم Sterilization methods	30
1-1-2-3	التعقيم بالحرارة الجافة	30
2-1-2-3	التعقيم بالحرارة الرطبة	30
3-1-2-3	التعقيم بالترشيح	31
2-2-3	تحضير الاوساط الزرعية Preparation of culture media	31
1-2-2-3	وسط اكار الدم Blood Agar Base	31
2-2-2-3	وسط الماكونكي الصلب MacConkey Agar	31
3-2-2-3	وسط اليوريا الصلبUrea Agar Base	31
4-2-2-3	وسط ماء الببتون Pepton Water Media	31
5-2-2-3	وسط الكليكلر الصلب Kligler Iron Agar	31
6-2-2-3	وسط الحركة Motility Media	32

7-2-2-3	وسط مولر هنتون الصلب Muller Hinton Agar	32
8-2-2-3	وسط اكار سيمون سترات Simmon Citrate Agar	32
3-2-3	جمع العينات Collection of Samples	32
4-2-3	زرع العينات Samples Culture	32
5-2-3	تشخيص البكتريا المعزولة Identification of isolated bacteria	33
1-5-2-3	التشخيص الزرعي	33
1-1-5-2-3	وسط الدم الصلب Blood Agar	33
2-1-5-2-3	وسط المانيتول الملحي الصلب Manitol Salt Agar	33
3-1-5-2-3	وسط الماكونكي الصلب MacConkey Agar	33
2-5-2-3	التشخيص المجهري	33
3-5-2-3	التشخيص الكيموحيوي Biochemical Identifications	34
1-3-5-2-3	اختبار انتاج انزيم Urease	34
2-3-5-2-3	اختبار انتاج انزيم الكاتاليز Catalase test	34
3-3-5-2-3	اختبار انتاج انزيم مجلط البلازما Coagulase test	34
4-3-5-2-3	اختبار انزيم الاوكسيديز Oxidase test	35
5-3-5-2-3	اختبار انتاج الاندول Indole test	35
6-3-5-2-3	اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test	35
7-3-5-2-3	اختبار كليكلر Kligler test	35
8-3-5-2-3	اختبار الحساسية للاوبتوجين والباستراسين Optochin and bacitracin susceptible test	36
9-3-5-2-3	اختبار الحركة Motility test	36
4-5-2-3	التشخيص باستخدام نظام API	36
6-2-3	اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotics susceptibility test	37
7-2-3	الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف Detection of extended spectrum β-lactamase(ESBLs)	38
8-2-3	الكشف عن قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتميز المعدنية Detection of Metallo β-lactamase	38
9-2-3	حفظ العزلات البكتيرية Preservation of bacterial isolates	39
1-9-2-3	الحفظ قصير الامد Short period culture	39
2-9-2-3	الحفظ طويل الامد Long period culture	39
10-2-3	دراسة تاثير المستخلصات النباتية على العزلات البكتيرية	39
1-10-2-3	جمع العينات النباتية	39
2-10-2-3	تحضير المستخلصات النباتية	40

1-2-10-2-3	المستخلص المائي الحار Hot water extract	40
2-2-10-2-3	المستخلص الكحولي Alcoholic extract	40
3-10-2-3	تقدير النسبة المئوية للمستخلص المائي الحار والكحولي لنباتي الخروع والعفص	41
4-10-2-3	تعقيم المستخلصات النباتية Sterilization of plant extracts	41
5-10-2-3	تحضير تراكيز المستخلصات النباتية المستخدمة في الاختبارات الحيوية	41
6-10-2-3	تاثير مستخلصات العفص والخروع في نمو البكتريا	41
7-10-2-3	تقدير الدالة الحامضية pH	42
8-10-2-3	فحص تلوث المستخلصات النباتية	42
9-10-2-3	تقدير السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي العفص والخروع	42
11-2-3	التحليل الاحصائي Statistical analysis	43
	الفصل الرابع :النتائج والمناقشة Results and Discussion	
1-4	الانواع البكتيرية المعزولة من جلد الاشخاص الاصحاء	44
2-4	الانواع البكتيرية المعزولة من الاخماج الجلدية Types of bacterial isolated from Cutaneous infections	45
1-2-4	العزل Isolation	45
2-2-4	التشخيص Identification	49
3-4	توزيع مرضى الاخماج الجلدية حسب الجنس	53
4-4	توزيع الاصابة حسب الفئات العمرية لكلا الجنسين	53
5-4	حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية	54
6-4	الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف Detection of extended spectrum- β-lactamase	58
7-4	انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية Production of metallo-β-lactamase	60
8-4	اختبار الفاعلية التثبيطية لنباتي العفص *Cupressus sempervirens* L. والخروع *Ricinus communis* L.	61
1-8-4	تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *Staph. aureus*	61
2-8-4	تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*	64
3-8-4	تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *Staph. aureus*	67
4-8-4	تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*	69

9-4	تقدير الدالة الحامضية والنسب المئوية وسمية المستخلصات النباتية والكحولية لنباتي العفص والخروع	71
الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendations		
	الاستنتاجات Conclusion	74
	التوصيات Recommendations	75
المصادر References		
	المصادر العربية	76
	المصادر الاجنبية	78
الملاحق Appendix		
1	استمارة المعلومات الخاصة بالمرضى	
2	الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام Api 20E	

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1-3	الاجهزة المستخدمة في الدراسة	24
2-3	الادوات المستخدمة في الدراسة	25
3-3	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة	25
4-3	الاوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	26
5-3	المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة	27
1-4	انواع البكتريا المعزولة من جلد الاشخاص الاصحاء	45
2-4	توزيع العزلات البكتيرية حسب نوع صبغة كرام	46
3-4	الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام المعزولة من الاخماج الجلدية ونسبها المئوية	46
4-4	الانواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام المعزولة من الاخماج الجلدية ونسبها المئوية	48
5-4	الاختبارات الكيموحيوية للبكتريا الموجبة لصبغة كرام	50
6-4	الاختبارات الكيموحيوية للعزلات السالبة لصبغة كرام	52
7-4	توزيع مرضى الاخماج الجلدية وفق الجنس	53
8-4	توزيع مرضى الاخماج الجلدية على وفق الفئات العمرية لكلا الجنسين	54
9-4	نتائج فحص حساسية بكتريا *Staph. aureus* للمضادات الحيوية	56
10-4	نتائج فحص حساسية *P. aeruginosa* للمضادات الحيوية	58
11-4	قابلية العزلات البكتيرية على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف	59
12-4	قابلية العزلات البكتيرية على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية	61
13-4	تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *Staph. aureus*	63
14-4	تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*	65
15-4	تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *Staph. aureus*	68
16-4	تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*	70
17-4	الخواص الفيزيائية للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي العفص والخروع	72

قائمة الصور والاشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
1-2	اوراق وثمار نبات العفص	22
2-2	اوراق وسيقان نبات الخروع	23
1-4	البكتريا المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف	59
2-4	البكتريا المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز المعدنية	60
1-4	تأثير المستخلص المائي الحار لنبات العفص على بكتريا *S. aureus*	62
2-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات العفص على بكتريا *S. aureus*	63
3-4	تأثير المستخلص المائي الحار لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*	64
4-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*	65
5-4	تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الخروع على بكتريا *Staph. aureus*	68
6-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات الخروع على بكتريا *Staph. aureus*	67
7-4	تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*	69
8-4	تأثير المستخلص الكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*	70

قائمة المختصرات

Abbreviations	Key
API	**Analytic Profile Index**
CLSI	**Clinical and Laboratory Standards Institute**
DNA	**Deoxyribonucleic acid**
E. coli	***Escherishia coli***
ESBLs	**Extended Spectrum β-lactamases**
MBL	**Metalloβ-lactamases**
P. aeruginosa	***Pseudomonas aeruginosa***
PBPs	**Penicillin – Binding protiens**
Strept. pyogenes	***Streptococcus pyogenes***
Strept. agalactiae	***Streptococcus agalactiae***
SPSS	**Statistical Package for Social Sciences**
Staph. aureus	***Staphylococcus aureus***
Staph. epidermidis	***Staphylococcus epidermidis***
Strept. viridans	***Streptococcus viridans***
Sp.	**Species**

قائمة المصطلحات

المصطلح	تعريفه
Bacteriostatic	**مثبط لنمو البكتريا**
Bacteriocidial	**قاتل للبكتريا**
Capture	**تقييد/استحواذ**
Hemolysis	**التحلل الدموي**
Integrons	**عناصر خاصة من DNA تقع على البلازميد او الكروموسوم**
Invasive pathogens	**الممرضات الغازية**
Phagocytosis	**عملية البلعمة**
Protien denaturation	**تمسخ البروتين**
Recombination	**اعادة الاتحاد**
Swarming phenomenon	**ظاهرة الانثيال**

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة

Introduction

تعد الاخمـــاج الجلديـــة البكتيريـــة من المشاكل الصحيـــة المهمة التي يعانـــي منها الكثير من المرضى لاسيما الراقديـــن في المستشفيـــات والتي تتراوح من حـالات التهابيـــــة بسيطـــة الـى حدوث مضاعفـــــات خطيرة قد تنتهـي بموت المريـــــض خاصـة عند وصـــول المسبب المرضي الى الدم وحصول حالات التسمـــم الدمـــوي Septicemia، ومن الاخمـــاج الجلديـــة البكتيريـــة التي تصيب الجلد هي الدمامل ،القوباء المعدي، التهاب بصيلة الشعرة والالتهاب الخلوي وغيرها (Levinson and Jawetz,2000;Brooks *et al*.,2004). أن المكورات العنقودية الذهبيـــة *S. aureus* هي من أكثر الأنواع البكتيرية المسؤولة عن الاصابات الجلدية السطحية إذ تشكل نسبة 60% من مجموع الاخماج الجلديـة البكتيريـة (Ji *et al*.,2018) وقد يعود السبب لإمتلاكها العديد من عوامل الضراوة مثل قابليتها على افراز الانزيمات كالأنزيم المخثر للبلازما Coagulase ،انـــزيم Hyaluronidase ،الانـــزيم الحـــال للـــدم Haemolysin ،DNase، Leucocidin و Protease، بالاضافـــــة الـى الذيفانـــات المعويـــــة Enterotoxins (Okonkwo *et al*.,2018). تليها بكتريا *P. aeruginosa* كثاني المسببات المرضية التي تعزل من اغلب حالات الحروق والجروح الجلدية المنفتحة لكونها من الانواع البكتيرية الخطرة التي تمتاز بمقاومتها للعديد من المضـــادات الحيوية (Yongsoon *et al*.,2018).

المضادات الحيوية منذ اكتشافها لها الأثر الكبير في خفض معدلات الاخماج المختلفة ،لكن الاستعمال العشوائي لهذه المضادات في العلاج أدى إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لمضاد حيوي واحد أو أكثر(Abdolmaleki *et al*.,2019).أن فشل المضـادات الحيويـة فـي قتل الممرضـات الجلدية ادى الى تكرار حدوث الاصابة بسبب مقاومة الاحياء المجهرية لهذه المضادات (Mascitti *et al*.,2018).اليات المقاومة للمضـادات الحيويـة تخضـع تحت سيطرة العوامل الوراثية المحمولـة علـــى الكروموســـومات Chromosomes أو البلازميـــدات Plasmids أو العناصـــر القـــافزة Transposons(Wojkowska-Mach *et al*.,2019).من الاليات التي تستخدمها البكتريا لمقاومة مضادات البيتالاكتام هي انتاج انزيمات البيتالاكتميز ،إذ تقوم هذه الانزيمات بمهاجمة حلقة البيتالاكتام الموجودة في نـواة السيفالوسبورينات والبنسيلينات ليتحـول المضـاد الـى مركـب غير فعـال ،إذ تشفر هذه الانزيمات بوساطة جينـات محمولـــة على الكروموسوم أو البلازميـــد . ومن الاليات الأخرى

لمقاومة المضادات هي تغيير موقع الهدف وتغيير حاجز النفاذية وجميع هذه الاليات تشفر من قبل عوامل وراثية تمتلكها البكتريا (Ruh *et al*.,2019) .

يعد انتاج انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف (Extended-Spectrum β-Lactamase) من اهم اليات المقاومة التي تم اكتشافها في العصيات السالبة لصبغة گرام ،حيث اجريت العديد من الدراسات لهذه الانزيمات ،وخصوصا التي تتعلق بالعوامل الوراثية التي تسيطر على انتاجها ،فوجد ان الجينات المشفرة لهذه الانزيمات محمولة على الكروموسوم او البلازميد ،إذ يتميز البلازميد بقابليته على التضاعف الذاتي بشكل متزامن مع DNA الكروموسومي والانتقال بين الانواع البكتيرية بوساطة عملية الاقتران البكتيري ،وهذا ما يفسر انتشار المقاومة للمضادات الحيوية (Feglo and Opoku,2014; Depelteau *et al*.,2019).

أن انزيمات البيتالاكتميز المعدنية (Metallo-β-Lactamase) لها المقدرة على تحليل مضادات الكاربابينيم ومقاومتها للتثبيط بوساطة مضادات البيتالاكتام ولكنها تثبط بوساطة املاح EDTA التي لها القابلية على سحب ايونات الزنك وتنافسها مع انزيمات البيتالاكتميز المعدنية للارتباط بهذه الايونات (Persoon *et al*.,2019).

بينت الدراسات الحديثة فاعلية النباتات الطبية من خلال مركبات ايضها الثانوي كمثبطات او مضادات ميكروبية فعالة ،ونتيجة للاستخدام العشوائي غير المنتظم والمتكرر للمضادات االحيوية ادى الى ظهور مقاومة عالية للمضادات الحيوية الصناعية من قبل البكتريا خصوصا عند تناولها لفترات طويلة وبسبب تاثيراتها الجانبية على الجسم البشري شجع الباحثين على استخدام المستخلصات النباتية الطبيعية بوصفها مواد علاجية (Sivananthan and Elamaran,2013).

تتمتع مستخلصات العفص بفاعليتها الكبيرة في علاج الكثير من الاخماج ،حيث استخدم في معالجة امراض الجهاز التنفسي ،الامراض المتعلقة بفشل القلب وبعض اورام الرحم بالاضافة الى معالجة الامراض الجلدية والتقرحات والثاليل وشفاء الجروح والحروق ،وكذلك يستخدم لمعالجة الروماتيزم وداء الصدفية (Stevens and Lowe,2004;Sepehrimanesh *et al*.,2018) . كما ان مستخلصات الخروع استخدمت كمضاد للسرطان و علاج السكري و التقرحات الجلدية وتشوهات الكبد و مسهل وملين للامعاء(Rashmi *et al*.,2019).

أهداف الدراسة :

1- عزل وتشخيص البكتريا المرضية من المرضى المصابين بالاخماج الجلدية المختلفة مثل (الدمامل والقوباء المعدي والالتهاب الخلوي والتهاب بصيلة الشعرة).

2- اختبار مقاومة العزلات للمضادات الحيوية المختلفة مثل البنسلين و السيفوتاكزيم والاميكاسين وغيرها.

3- الكشف عن انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف والانزيمات المعدنية .

4- تقييم فاعلية المستخلصات المائية والكحولية لنباتي العفص والخروع على نمو العزلات البكتيرية.

الفصل الثاني
استعراض المراجع
Literature Review

استعراض المراجع

Literature Review

1-2 أهمية وتركيب الجلد Importance and Structure of the Skin

الجلد هو اكبر عضو في جسم الانسان ويمثل حوالي 16% من وزن الجسم بالكامل ،وظيفته الرئيسية حماية الجسم ،ويعد احد خطوط الدفاع ضد الجراثيم ،والجلد يحمي الجسم من خلال خصائصه الفيزيائية فهو يقاوم البلل، ويمنع نفاذ السوائل التي تغمر انسجة جسم الانسان المختلفة ،ويحمي العضلات والاربطة والاعضاء الداخلية يضاف الى ذلك إن إفرازاته الحامضية تمنع البكتريا والمواد الكيميائية من دخول معظم اجزاء الجسم ، إذ تقدر حامضية الجلد pH بحوالي (4 -4.5) (Wong *et al*.,2016).

تحافظ البشرة على مرونتها من خلال الاحتفاظ بالماء والاملاح. حبيبات الميلانين الموجودة في البشرة تحمي الجلد من الاشعة فوق البنفسجية الضارة وتقلل من احتمالية الاصابة بسرطان الجلد يتكون الجلد من ثلاث طبقات رئيسية هي البشرة Epidermis(طبقة الجلد الخارجية) التي تحتوي على خلايا الميلانين المسؤولة عن لون البشرة، وطبقة الادمة Dermis(باطن الجلد) التي توجد تحت البشرة و تحتوي على النهايات العصبية والغدد العرقية والدهنية والاوعية الدموية والليمفاوية ،والطبقة الداخلية المتمثلة بالنسيج تحت الجلد Hypodermis التي تحتوي على الخلايا الدهنية وهي لاتعد في الحقيقة ضمن طبقات الجلد (Roger *et al*.,2019).

يتكون الجلد من طبقات خارجية سميكة ونظام واسع من الغدد العرقية الحساسة لتغيرات درجات الحرارة ومن طبقة واسعة من الانسجة الدهنية تحت سطحه ،ويحتوي ايضا على العديد من الخلايا الحساسة للمس ،الضغط و الحرارة (Fischer *et al*.,2013).تتكون البشرة من اربع طبقات من الخلايا الكيراتينية الظهارية تنتظم من الخارج الى الداخل وتشمل الطبقة المتقرنة التي تتركب من (15-40) صف من الخلايا الميتة تمتليء بمادة زلالية غير منفذة للماء تسمى الكيراتين ،والطبقة الحبيبية تتركب من صف او صفين من الخلايا الميتة التي تحتوي على حبيبات صغيرة من مادة تسمى هلام كيراتيني ،والطبقة الشوكية تتركب من (4-10) صفوف من خلايا حية لها زوائد شبه شوكية عند التقاء الخلايا بعضها ببعض ،والطبقة القاعدية تتكون من صف واحد من خلايا قاعدية طويلة وضيقة، وتشمل ايضا خلايا مكونة للصبغة تسمى الخلايا الميلانية المسؤولة عن انتاج الميلانين (Lowell *et al*.,2012).

تتكون الادمة من اوعية دموية ونهايات عصبية ونسيج ضام .تقوم الاوعية الدموية بتغذية كل من الادمة والبشرة ،يوجد على سطح الادمة كثير من النتوءات الصغيرة تسمى الحليمات تملاء الفجوات في السطح السفلي للبشرة،هذا يساعد في التحام الادمة بالبشرة ،تحتوي الحليمات على نهايات عصبية حسية توفر الاحساس باللمس والحرارة وتكثر بصفة خاصة في راحتي و اطراف اصابع اليدين ،تحتوي الادمة ايضا على بصيلات الشعر والغدد العرقية والغدد الدهنية والغدد المفرزة والاوعية الدموية حيث توفر الاخيرة الغذاء وازالة النفايات من الخلايا الخاصة بها (Edqvist *et al*.,2014).

اما النسيج تحت الجلد فيتكون من نسيج ضام واوعية دموية وخلايا تخزن الدهن ،يساعد هذا النسيج في وقاية الجسم من الضربات وغير ذلك من الاصابات،ويساعد ايضا في حفظ حرارة الجسم ،إذ تزداد كمية الدهن الموجودة فيه بزيادة تناول الطعام ،وإذا احتاج الجسم الى طاقة اضافية فانه يستهلك الدهن المخزون (Turkington and Dover, 2007) .

2-2 النبيت الطبيعي للجلد Normal Flora of Skin

مصطلح يصف الاحياء الدقيقة (البكتريا والفطريات) التي تعيش على جلد الانسان وفي تجويف الفم والقناة الهضمية والقولون والمهبل ، و تكون هذه الاحياء في بعض الاحيان متعايشة بصورة مفيدة وغير ضارة للمضيف كبكتريا القناة الهضمية الطبيعية تكون قادرة على المساعدة في هضم بعض المواد الغذائية كالكربوهيدرات التي لايستطيع جسم الانسان هضمها ،يعتبر النبيت الطبيعي في الجلد بسيط نوعا ما مقارنة بالنبيت الطبيعي للفم والمهبل والجهاز التنفسي ويتكون من البكتريا الهوائية واللاهوائية والخميرة ،تساعد هذه الكائنات على منع التهابات الجلد من خلال المنافسة البيئية مع الكائنات الحية الدقيقة المسببة للامراض عن طريق تحللها للدهون لانتاج الاحماض الدهنية الحرة السامة (Sender *et al*.,2016). يمثل الجلد حاجزا حيويا ضد الاخماج إذ يمتلك الكثير من الوسائل الدفاعية ضدها لكن الكائنات المجهرية تستوطن في هذه البيئة مثل انواع مختلفة من بكتريا المكورات العنقودية Staphylococcus إذ تشكل *S. aureus* نسبة (25-30)% من الاحياء المجهرية المتواجدة بشكل طبيعي على الجلد، تقوم هذه البكتريا في الجلد بتثبيط استعمار (Colonization) الاحياء المجهرية الاخرى لها عن طريق التنافس على المواد الغذائية وانتاج الببتيد (Peptide) الطارد لها ، الفلورا الطبيعية لاتسبب المرض ولكن إذا تغيرت الظروف تصبح انتهازية ممرضة وتسبب المرض (Fitz *et al*.,2013) .

ازدادت اهمية البكتريا المستقرة في جسم الانسان تكمن في تعزيز الصحة ومقاومة الامراض وذلك بمنع الممرض من الغزو او التنافس على المواد الغذائية و قتل الممرض،بالاضافة لقدرة هذه البكتريا على تحفيز الجهاز المناعي للاطفال حديثي الولادة ،كذلك الفلورا الطبيعية المعوية بفيتامين K الذي يسهل هضم وامتصاص المغذيات(Al-Sa'ady,2017) .

تقسم الكائنات المجهرية (البكتريا والفطريات)الموجودة على الجلد الى مجموعتين رئيسيتين هما النبيت الدائمي Resident flora تتكون الكائنات المجهرية بصورة ثابتة وعمر محدد والتي تكتسب خلال و بعد الولادة وعادة تتواجد بصورة دائمية، والنبيت المؤقت Transient flora تستوطن هذه الكائنات المجهرية الجلد او الاغشية المخاطية لفترة ساعات او ايام او اسابيع وتكون مرضية او غير مرضية وتكتسب من محيط الضيف وتنتقل ا لى اجزاء مختلفة من الجسم او تموت (Elsner and Hipler,2006).

3-2 الاخماج الجلدية Cutaneous Infections

1-3-2 اخماج الدمامل Boil Infections

أخماج الدمامل او مايسمى بالتهاب الجريبات هو نتوء في الجلد مملوء بالقيح ناتج عن عدوى بكتيرية،والدمل هو التهاب في بصيلة الشعرة والانسجة المحيطة بها وغالبا ما تحدث الدمامل على الوجه والعنق والجزء الخلفي من الرقبة ولكن في بعض الاحيان تحدث في الابطين او الفخذين او الظهر او الاعضاء التناسلية ،و يكون السبب الرئيسي هو المكورات العنقودية الذهبية وبعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام والبكتريا اللاهوائية خاصة للمرضى الذين يتعاطون مضادات حيوية لأوقات زمنية طويلة (Gesenhues *et al*.,2017). يمثل الدمل تجمعا قيحيا محاطا بالانسجة قد يحدث في اماكن مختلفة من الجلد ، يسمى الدمل Furunculosis اذا احتوى على بصيلة شعرية واحدة،اما اذا احتوى على مجموعة من البصيلات فيسمى Carbuncle،و تنتشر الاصابة عادة بين المراهقين والبالغين الشباب والعوامل التي تزيد الاصابة بالدمل هي داء السكري والسمنة و سوء النظافة ونقص المناعة وفقرالدم والالتهابات المزمنة و السرطانات ،وتصيب ايضا مدمني الكحول ومستخدمي المضادات الحيوية بشكل مستمر ،وتنتشرفي كثير من الاحيان بين افراد الاسرة عن طريق التلامس (Ibler and Kroman,2017). و الدمامل تكبر تدريجيا ويتجمع بها القيح وتتصف هذه الدمامل بكونها طرية ودافئة ومؤلمة للغاية ،يتراوح حجمها ما بين حبة البازلاء

الى حجم كرة الكولف وتظهر رؤوس بيضاء او صفراء اللون في مركز الدمل عندما يكون على وشك تفريغ مايحمله من صديد (Miller *et al*.,2015). يعاني المصاب في حالات العدوى الشديدة من الحمى والارهاق وتورم العقد اللمفاوية ويسمى الدمل متكرر الحدوث بالخراج المزمن Chronic abscess ، وتبدأ عادة بشكل عقيدات حمراء مؤلمة تكبر تدريجيا ويتجمع بها القيح ، تحدث بدون علامات جهازية وقد تؤدي الى التهاب العقد اللمفاوية القريبة منها (Bolognia *et al*.,2015).

2-3-2 القوباء المعدي Impetigo

يمثل المرض التهاب جلدي بسيط لكنه معدي ،تسببه في الغالب بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* أوأحد انواع المكورات العقدية *Streptococcus*،وهو يصيب بشكل رئيس الجلد حول الانف ،وعلى الفم وفروة الرأس ،ويكسى ببثور صغيرة تنفجر ليسيل منها قيح مائل للصفرة ،تتكون احيانا فقاعات صغيرة شبيهة بتلك التي تسببها الحروق ،وتشكل قشور تترك ندبا فاتحة اللون قد تنتشر القوباء في انحاء الجسم كله وتكثر الاصابة بين الاطفال بعمر (2-6) سنة ،لا تسبب مضاعفات ولكن المكورات العقدية قد تؤدي في حالات نادرة الى أصابة الكليتين او القلب (Gill *et al*.,2005).

تتمثل القوباء في شكلين سريريين،الاول هو القوباء الفقاعية والتي تكون في الأساس عدوى للرضع والأطفال بأعمار صغيرة. تتطور الفقاعات الشفافة الرخوة والأكثر شيوعا على بشرة الوجه ، الأرداف ،الجذع والأطراف والنوع الثاني هوالقوباء التقشرية والتي تحدث بنسبة 70% من الاخماج وهي غيرمتورمة تميل إلى التأثير على الجلد و الوجه أو الأطراف بسبب اللدغات أو الجروح أو صدمات أخرى،تتميز القوباء بصورة عامة بتحولها الى الحويصلات السطحية التي تحتوي على سائل مصلي قيحي ويحيط بها التهاب محمر اللون يمكن أن تزداد في الحجم والعدد مكونة آفات متعددة عادة ما تتواجدعلى الوجه والأطراف،يمكن أن تحدث في أي مكان على الجسم ،وقد تتمزق البثرات ويخرج سائل اصفر حالما يشكل قشور تشبه العسل ،وتختلف الآفات في الحجم من بضعة ملليمترات إلى عدة سنتيمترات (Steven *et al*.,2014).

3-3-2 التهاب النسيج الخلوي Cellulitis

التهاب النسيج الخلوي عبارة عن ردة فعل يصدرها الجهاز المناعي بسبب دخول البكتريا او غيرها من الجراثيم التي تصيب انسجة الجسم ،والالتهاب سلسلة من العمليات التي تبدأ بتدفق الدم الزائد الى مكان الاصابة ويكون احتقان الدم هو المسبب للاحمرار (Nimmo and Coombs,2010) ،يحدث هذا الالتهاب بسبب عدوى جرثومية تتواجد علـــى سطح الجلد مثل العقديات Sterptococci او العنقوديات Staphylococci،تدخل عند وجود شق طفيف بسبب جرح او طعنة او لسعة او شق ناجم عن عملية جراحية او بسبب قصور الاوعية الدموية والقرح المزمنة في الساق او التهاب الجيوب الانفية والتهاب الاذن الوسطى ويحدث كذلك نتيجة لعدوى الانسجة المجاورة،إذ تخترق البكتريا الجلد محدثة الاصابة.

يمتاز هذا المرض بقدرته الكبيرة على الانتشار عن طريق الدم واللمف وترافقه مضاعفات جسمية في غياب العلاج المناسب حيث تتطور الحالة فتلتهب الكلى ،ويحدث تسمم الدم بحالات نادرة وظهور الانتان وقد تنتشر الاصابة الى الوجه والدماغ . يكون التشخيص عبر عدد من الاختبارات منها ملاحظة ارتفاع عدد كريات الدم البيضاء (Ren *et al.*,2019).

4-3-2 التهاب بصيلة الشعرة Folliculitis

حالةٌ جلديّةٌ تلتهب فيها بصيلات الشّعر، وعادة ماتنتج عن عدوى جرثومية أو فطريّـة، وقد تبدو في البداية على هيئة حدبات حمراءَ صغيرةٍ أو بثورٍ بيضاء الرّأس حول البصيـــلات الشعرية التي تمثل الجيوب الدقيقة التي ينمو منها الشّعر، ويمكن أن تنتشر العدوى وتتحوّل إلـى قرحاتٍ قشريّةٍ غير قابلـةٍ للشّفاء، قد تسبّب الحكة والقرح والخراج، يمكن أن تسبّـب حـــــالات العدوى الحادّة تساقط الشعر الدّائم والجروح. تعرف أنواعٌ محدّدةٌ من التهاب البصيلات بطـــفح الحمّام الحارّ وبثور الحلاقة ،تتضمن اعراض التهاب البصيلات مجموعـــة من الانتفاخات الحمراء الصغيرة أو البثور ذات الرؤوس البيضاء والتي تتكون حول جريبات الشعر بثورًا ممتلئة بالقيح والتي تفتح محدثة حرقة الجلد وحكة وانتفـــاخ أو ورمًا كبيرًا (Compton,2013).

يوجد نوعين من التهاب البصيلات هما السطحي والعميق، ينطوي النوع السطحي على جزء من البصيلة ، بينما يشمل النوع العميق البصيلة بأكملها وعادة ما يكون أكثر حدة . تتضمّن الأشكـــال السّطحية لالتهاب البصيلات : التهاب البصيلات لبكتريا المكورات العنقوديـة الذهبيـة *S. aureus* ، و يتميّز هذا النّوع الشّائع من التهاب البصيـــلات ببثورٍ بيضـــاء مملوءةٍ

بالصديد وتثير الحكّة، و يحدث حين تصاب البصيلات الشّعرية ببكتريا المكورات العنقودية الذهبية التي تعيش على البشرة بصورةٍ دائمية، تدخل إلى الجسم عبر جرحٍ أو إصابةٍ أخرى. اما التهاب البصيلات الزائف يتمثل بطفح جلدي من البثور الحمراء المستديرة المثيرة للحكة بعد يوم أو يومين من التعرض لبكتريا الزائفة الزنجارية *P.aeruginosa*، التي توجد في أماكن متعددة من البيئة، بما في ذلك أحواض الاستحمام الساخنة والمسابح المسخنة التي لا تنظم فيها مستويات الكلور ودرجة الحموضة بصورة جيدة. وهناك نوع اخر من التهاب بصيلة الشعرة هو التهاب بصيلات اللحية الكاذب الذي يكون بحالة تهيج الجلد وينتج عن نمو الشعيرات للداخل، وتؤثر بصورة رئيسية على الرجال ذوي الشعر المجعد الذين يحلقون بشكل دقيق وتكون واضحة على الوجه والعنق، ويمكن أن تخلّف هذه الحالة ندبات مرتفعةً داكنة اللون (Alexis *et al*.,2014).اما التهاب جريبات الشعرة فينتج عن هذا النوع بثور مزمنة حمراء اللون ومثيرة للحكة في الظهر والصدر وأحيانًا على العنق والكتفين وأعلى الذراعين والوجه ويحدث هذا النوع نتيجة لعدوى الخمائر الفطرية (Goldsmith *et al*.,2012).

يحدث التهاب البصيلات في معظم الأحيان بسبب عدوى بكتيرية ،وقد يحدث أيضًا بسبب الفيروسات والفطريات،فالاخماج الناشئة عن نمو الشعر تحت الجلد تحدث في كل مكان في جسم الانسان باستثناء كف اليد وباطن القدم والشفاه والأغشية المخاطية (Panchaprateep *et al*.,2015).

4-2 دور البكتريا المرضية في الاخماج الجلدية

2-4-1 المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* هي مكورات موجبة لصبغة گرام Gram-positive موجبة للكاتاليز Catalase، موجبة لانزيم تجلط البلازما Coagulase ،تنتظم بشكل مجاميع تشبه العناقيد Grape-like،لاهوائية اختيارية Facultative anaerobes ،غير مكونة للسبورات Non-spore forming،غير متحركة Non-motile ،غير مكونة للغاز عند استهلاك الكاربوهيدرات، سالبة للاوكسيدز Oxidase تنمو بسرعة وكثافة تحت الظروف الهوائية ،درجة حرارة النمو المثلى 37 مْ ، على الرغم من كونها نبيت طبيعي على الجلد الا انها قد تسبب اخماج عديدة للانسان تتراوح من التقرحات الجلدية (التقرحات والقوباء) الى اصابات خطيرة منها ذات الرئة Pneumonia ، السحايا Meningitis وامراض شغاف القلب Endocarditis ،ومتلازمة العدسات السمية Toxic Lens Syndromبعد وضع العدسات ،والتهاب صمام القلب

الولادي Congenital Heart Valve Inflammation ،بالاضافة الى أن سمومها قد تسبب تسمم الاغذية Food poisoning (Ifeayichukwa *et al*.,2015).

العالم الالماني Rosenbach (1884) أول من ميز بكتريا المكورات العنقودية الذهبية عن طريق لون المستعمرات فتظهر المستعمرات ملساء ذات سطح لامع معتمة وغير شفافة وتنتج صبغات صفراوية برتقالية وبعضها تنتج صبغات بيضاء الى كريمية اللون على سطح اكارالدم، تتواجد بصورة طبيعية على سطح الجلد والانف والجهاز التناسلي الانثوي وتشمل 20% من سكان العالم كحاملين لها (Deepa *et al*.,2015; Liu,2011).

تخمر هذه البكتريا العديد من السكريات منتجة الحامض وتميع هلام الجيلاتين Liquefy gelatin وهي تحلل الدم عند تنميتها على بيئة اكار الدم (دم الارنب او الخروف)، موجبة لاختبارات DNase , Urease واختبار الفوسفاتيز ، وتختزل النترات NO3 الى نتريت NO2 (Oranusi *et al*.,2016).

يعتبر وسط اكار ملح المانيتول Manitol Salt Agar الحاوي على كاشف احمر الفينول وسطا انتخابيا وتفريقيا للمكورات العنقودية الذهبية ، إذ تنتج مستعمرات محاطة بهالة صفراء بسبب تخميرها لسكر المانيتول وبذلك تتميز عن الانواع الاخرى غير المخمرة له ، وتمتاز بقدرتها على تحمل الملوحة في هذا الوسط الذي يصل تركيز الصوديوم (7.5-10)% (السعدي واخرون،2014) تمتازالمكورات العنقودية الذهبية بمقاومتها العالية للمضادات الحيوية مسببة الاخماج المكتسبة في المستشفيات Nosocomial Infections (Ugwu *et al*.,2013;Thati *et al*.,2011).

إن من أهم وسائل انتقال البكتريا هو ايدي الكوادر الطبية الملوثة بالبكتريا في المستشفيات وبذلك يكون لها دور في نشر الاصابة الى اجهزة ووحدات طبية مثل اجهزة القثطرة وغسيل الكلى (Shakibaie *et al*.,2014).

تعد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من اكثر العوامل الممرضة السائدة في الاخماج الجلدية لقدرتها على التضاعف بشكل سريع ، و امكانية تطوير سلالات مقاومة للمضادات الحيوية (Ji *et al*.,2018).

2-4-2 المكورات العنقودية البشروية *Staphylococcus epidermidis*

المكورات العنقودية البشروية *S. epidermidis* موجبة لصبغة كرام ، تتصف مستعمراتها على سطح اكارالدم بكونها مدورة ومرتفعة قليلا وتمتلك حواف متكاملة ، يبلغ قطرها (0.5- 1.5) ملم،مستعمراتها لزجة Sticky colonies، لونها ابيض الى رمادي لامع Shiny gray على اكار الدم ،غير متحركة Non-motile وغير مكونة للابواغ Non-spore forming ،سالبة لفحص انزيم التخثر Coagulase ، لاهوائية اختيارية Facultative anaerobes ، غير مخمرة للمانيتول ،حساسة لمضاد Novobiocin تتواجد طبيعيا في مناطق واسعة من جسم الانسان مثل الجلد والقناة التنفسية ، وعند توفر الظروف المناسبة تصبح انتهازية وتسبب له العديد من الامراض الخطرة مثل التهاب المفاصل ، انتان الدم والتهاب الاوعية القلبية Mack *et al*.,2015;Namvar *et al*.,2014).

تعد المكورات العنقودية البشروية من الممرضات الانتهازية المترافقة للعدوى المكتسبة في المستشفيات Nosocomial infections ، والملوث الرئيسي للادوات الطبية Medical instruments ويعزى سبب ذلك كونها جزء من النبيت الطبيعي لجلد الانسان والاغشية المخاطية للانف والاذن والابط خصوصا اخماج الاطفال حديثي الولادة ومرضى الكبت المناعي (Chessa *et al*.,2016).

تعد البكتريا السبب الرئيسي لاخماج مجرى الدم والاخماج المتعلقة بالقثطرة القلبية واجهزة الغسيل الكلوي وتشترك في اخماج الجروح العميقة والحروق واخماج العين والاذن واخماج المسالك البولية (Wistrom *et al*.,2014).

أكدت دراسة الباحثان Flayyih و Abd rabaa (2015) التي اجريت على اشخاص مصابين بالاخماج الجلدية فوجدا أن 30 عزلة بنسبة 60 % من مجموع العزلات البالغ عددها 50 عزلة تعود الى المكورات العنقودية البشروية *S. epidermidis* ويعود سبب ذلك الى تواجدها بصورة طبيعية على الجلد .

3-4-2 المكورات المسبحية القيحية *Streptococcus pyogenes*

بكتريا المكورات المسبحية موجبة لصبغة كرام ،غير متحركة وغير مكونة للابواغ ،تنتظم بشكل ازواج او سلاسل مختلفة الاطوال ،كروية الشكل ،تظهر تحللا كاملا Beta-hemolysis عند زراعتها على وسط اكار الدم ،لا تعد جزءا من النبيت الطبيعي إذ تسبب العديد من الامراض تتراوح من الخفيفة الى اصابات خطرة مهددة للحياة وذلك يعود لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة ومنها انزيم Hyaluronidase المسؤول عن تحطم حامض Hyaluronic acid و الذي يعد المكون الاساسي للانسجة الرابطة للكائن المضيف(Cole *et al*.,2011) . تمتلك البكتريا القدرة على الانتشار داخل انسجة المضيف المصابة ولها القابلية على مقاومة البلعمة من قبل الخلايا البيضاء متعددة الانوية ويعود سبب ذلك الى امتلاكها M-protein وهي جزيئات بروتينية تساعد البكتريا على الالتصاق الى اسطح انسجة المضيف وتتواجد على سطح البكتريا (Fischetti,2016).

تسبب هذه البكتريا العديد من الاخماج مثل القوباء المعدي Impetigo،التهاب البلعوم Pharyngitis و التهاب اللوزتين Tonsillitis ،التهاب النسيج الخلوي Cellulitis (Ferreti *et al*.,2016). ومن الاخماج الاخرى التي تحدث نتيجة انتشار البكتريا في الانسجة تحت نسيج الجلد هي التهاب اللفافة الناخرNecrotizing fasciitis او ما تسمى الغنغريا العقدية التي تصيب الانسجة العميقة للجلد منتشرة بسرعة ،و غالبا ما تبدأ الاصابة في مواقع جروح العمليات و تقدرفيها نسبة الوفيات بحدود (70-80)% (Steven and Bryant,2016).

4-4-2 العقديات المخضرة *Streptococcus viridans*

العقديات المخضرة هي بكتريا كروية الشكل تنتظم على شكل سلاسل او ازواج ، وتعد موجبة لصبغة گرام Gram-positive تظهر تحلل جزئي Alpha-hemolysis للدم مما ينتج عنه اللون الاخضرعند زراعتهاعلى اكارالدم ومن هنا جاءت تسميتها بالعقديات المخضرة ،سالبة لفحص الكاتاليزCatalase،لاتنمو في اكار مستخلص الصفراء او 6.5% من ملح Nacl، تختلف عن *Strept. pneumoniae* بكونها حساسة لمضاد Optochin (Richter *et al*.,2008) . تعيش طبيعيا في الجهاز التنفسي العلوي ،الجهاز الهضمي ، والجهاز التناسلي الانثوي . تعد هذه العقديات السبب الرئيسي لانتان الدم ،الالتهاب الرئوي ، التهاب السحايا ، التهاب النسيج الخلوي والتهاب شغاف القلب بالرغم من كونها جزءا من النبيت الطبيعي للانسان (Juhnson and Tunkel,2000)،تسبب هذه البكتريا الخمج عندما يعاني الشخص من ضعف الجهاز المناعي

وتحطـم الغشاء المخاطي للفم بشكل كبيـر خصوصــا مرضـى السرطان الذيـن يعانـون مـن نقص خلايا العدلة Neutrophils (Shenep,2000).

5-4-2 المكورات المسبحية اللاحليبية *Streptococcus agalactiae*

تعد هذه البكتريا من الانواع الموجبة لصبغة غرام Gram-positive ،تكون على شكل سلاسل ،سالبة لاختبار الكاتاليزCatalase ومحللة للدم من النوع بيتا Beta-hemolysis لاهوائية اختيارية،تتواجد بشكل طبيعي في الامعاء البشرية وفي الجهاز البولي التناسلي لدى مايقارب 30% من النساء البالغات،تحاط البكتريا بغشاء من متعدد السكريات خاص بالبكتريا يمثل المحفظة Capsule (Whiley and Hardie,2009) . تسبب أمراضا خطرة مثل اخماج الأطفال حديثي الولادة ، والمرضى الحوامل وكذلك المرضى المسنين الذين يعانون من داء السكري ، وضعف الجهاز العصبي ، والسرطان ، وتليف الكبد و التهابات الجـــــلد والأنسجــــة الرخــوة،و التهـــاب السحايــــا والتهـــاب شغاف القلـــب (Sambola *et al*.,2002).

6-4-2 البكتريا الخيطية *Actinomycetes spp.*

تصنف البكتريا الخيطية كمجموعة من البكتريا الموجبة لصبغة كرام، وتعد فريدة من نوعها لقدرتها على تكوين الابواغ Spores و الهايفات Mycelia ، تنتمي لرتبة Actinomycetales ، وتعد مجموعة وسطية بين الفطريات الخيطية والبكتريا حيث انها وحيدة الخلية كالبكتريا الا انها خيطية او شعاعية كالفطريات لذلك فهي تشترك مع المجموعتين في كثير من الخواص مما يجعلها تـنظم فـي مجموعـــة واحـــدة احيانــــا يطلـــق عليهـا الفطريـات الحقيقيــة True fungi،تنمـو الاكتينومايسيتات ببطء مقارنـة بجميع الاحياء المجهرية الاخرى وتفرز في محيطها مواد ضـارة لاحياء مجهرية اخرى يطلق عليها المضـادات الحيويةٍ (Subramani *et al*.,2019) . تمثل هذه البكتريا خزانـــــات غنيـة بالمضـــادات الحيويــة الطبيـة و لذلـــك تدخـــل فــــي العديـــد مـــن الصناعــات الصيدلانيـــــة و الزراعـــية (Kumar *et al*.,2010). ويكثـر وجودهـا فـي الطبقـة السطحية للتربـة وتقل كلما ازداد العمق ويتـأثر نموهـا بـالاس الهيدروجيني pH إذ تتوقف الفعاليات الحيوية عند انخفاضه الى اقل من 5 ،بينما يكون pH الملائم لنموها بين (8-6.5) (Shah,2001).

7-4-2 الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

تعد هذه البكتريا من اكثر الانواع استخداما علىالنطاق التجاري ، تنتمي لمملكةBacteria ، قسم Gracillicutes ، صنف Scotobacteria ، رتبة Pseudomonadales ، عائلة *Pseudomonadaceae* حسب تصنيف العالمان Bergys وHolt (1994) .وهي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة كرام ،هوائية مجبرة،تكون الخلايا منفردة او ازواج او على هيئة سلاسل قصيرة متحركة لامتلاكها سوط قطبي واحد،موجبة لانزيمي الاوكسيديزOxidase والكاتاليزCatalase، متغيرة لفحص اليوريز Urease، موجبة لاختبارArginin dehydrolase، لاتنتج غازH_2S،وتعمل على تحلل الجيلاتين،لها رائحة مميزة (Shi *et al*.,2019) تنتشر بشكل عام في التربة و الماء وعلى سطوح النباتات والحيوانات وفي مياه الشرب والتصريف إذ تستطيع النمو بسرعة وذلك لانها تحتاج الى عوامل بسيطة للنمو وتتحمل الظروف والبيئات القاسية (Todar,2004) . لها القدرة علىانتاج صبغة Pyocyanin بلون اخضر مزرق وصبغتي Pyoverdin و Fluoarescein ذات اللون الاصفر المخضروالتي تتألق عند تعرضها للاشعة فوق البنفسجية،او صبغة Pyorubin ذات اللون البني الغامق(Govan,2007)،ليس لها متطلبات نمو خاصة ،و درجة حرارة نموها المثالية 37 ºم و تستطيع النمو بدرجة حرارة 42 ºم وبرقم هيدروجيني (7.6-7.4) (Forbes *et al*.,2002). تمتلك البكتريا القدرة العالية على مقاومة العديد من المضادات الحيوية بسبب الاستعمال المفرط وغير المنتظم لها ،وهذا ما يزيد من استعمارها لانسجة الجسم بعد انتهاء فترة العلاج وحدوث الاصابة المزمنة .(Chatterjee *et al*.,2016)

تنموهذه البكتريا على الاوساط الحاوية على Cetyl trimethyl aminebromide (Cetrimide) و لها قابلية النمو على العديد من الاوساط الانتخابية مثل وسط الماكونكي حيث تكون غير مخمرة لسكراللاكتوزNon- Lactose Fermentor ،وتظهر محللة للدم تحللا كاملا من نوع بيتا Beta-hemolysis على وسط اكار الدم وذلك لانتاجهاانزيم الهيمولايسين (Forbes *et al*.,2002).

تعد الزائفة الزنجارية من الممرضات المسببة للعديد من الامراض الحادة والمزمنة في العديد من المضائف ، تظهر كغازيات ثانوية Secondary invaders تسبب بعض الامراض المميتة عند مرضى التليف الحويصلي Cystic fibrosis والاشخاص المصابين بالكبح المناعي Immuno

compromised ، كذلك تسبب الاخماج الناجمة عن نقل الاعضاء Organ transport infections ، بالاضافة لحالات الجروح والحروق، و اخماج العوز المناعي الفايروسي Viral immunodeficiency (Bergamini *et al*.,2012;Goodman *et al*.,2009).

8-4-2 الاشريشيا القولونية *Escherichia coli*

هي عصيات سالبة لصبغة كرام ،تعد الاكثر تكرارا وشيوعا بين اجناس العائلة المعوية التي تستقر في امعاء الانسان والحيوان بصورة طبيعية(Tchptchet and Hansen,2011)، بينما البعض منها تكون ممرضة وتسبب اخماج القناة الهضمية،اخماج المسالك البولية ،التعفن الدموي ،اخماج السحايا ،الاخماج الرئوية وقد يسبب البعض منها اخماج الامعاء (Reddy,2010). لوحظت هذه البكتريا لاول مرة من قبل العالم Theodar Escherich عام 1885في المانيا ،بعض الانماط المصلية لهذه الجرثومة يمكن ان تسبب التسمم الغذائي الحاد للمضيف (CDCP,2012)، تتواجد بصورة طبيعية في القناة المعوية للمولود بعد ايام قليلة من الولادة مكونة النبيت الطبيعي في الامعاء والتي تشكل الجزء الاكبر منها،لكن البعض منها يصبح انتهازي ويسبب اصابات مختلفة خاصة عند انتقالها من الامعاء الى اعضاء اخرى من الجسم مثل المسالك البولية والتجويف البطني (Brooks *et al*.,2010).

تعد الجرثومة واحدة من اكثر المسببات شيوعا للامراض والوفيات للاطفال المصابين بالاسهال في جميع انحاء العالم خاصة الدول المتقدمة (Enayat *et al*.,2011)، و تمثل مصدرا للاصابات المكتسبة من المستشفيات خاصة لذوي المناعة الضعيفة مما يضطرهم الى استخدام المضادات الحيوية بكثرة وهذا يؤدي الى نشوء سلالات مقاومة لتلك المضادات (Korzeniewska *et al*.,2013). هذه البكتريا هي من اكثر المسببات شيوعا لاخماج المسالك البولية والتناسلية خاصة لدى النساء الحوامل إذ تصل نسبة الاصابة الى حوالي 10% (Dielubanza,2011).يعزى سبب امراضية البكتريا الى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة مثل احتواء جدارها الخلوي على متعدد السكريات الدهني Lipopolysaccharides،بالاضافة الى نوعين من السموم تفرزها البكتريا وهي ذيفانات داخلية من النوع الثابت بالحرارة والذيفانات غير الثابتة للحرارة.بالاضافة لامتلاكها للانزيم المحلل للدم (الهيمولايسين)الذي يلعب دور مهم في امراضيتها(Allen *et al*.,2012).

2-4-9 المتقلبة الرائعة *Proteus mirabilis*

تعرف باسم جرثومة العصيات الزرقاء، وهي بكتريا سالبة لصبغة كرام ، هوائية ، تتميز بصفة تعدد الاشكال حيث تتواجد باشكال مختلفة منها عصيات كروية قصيرة غير متحركة او خيطية طويلة مع حركة نشطة ،تتحرك بوساطة اسواط محيطية تكون واضحة عند نمو البكتريا على الوسط الزرعي ،تشكل حلقات مميزة على سطح الاكار وتسمى هذه الظاهرة بالانثيال (Bahashwan and Shafey,2013) . تعد هذه البكتريا من اخطر الممرضات على الانسان والسبب يعود لامتلاكها عوامل ضراوة متعددة منها قدرتها على الالتصاق بسطح انسجة العائل ،امتلاكها الخمل ، الحركة بوساطة الاسواط ،انتاج السموم والانزيمات كالهيمولايسين والبكتريوسين التي تساعدها على غزو الجهاز المناعي للمضيف (Baldo and Rocha,2014).

أهم أنواع بكتريا المتقلبات من الناحية الطبية هي *Proteus mirabilis* التي تعد من اهم اسباب اخماج المسالك البولية المعقدة المقترنة بالقسطرة مع بكتريا *E.coli* (Jacobson and Shirtliff,2011).

2-4-10 الكليبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumaniae*

هي بكتريا سالبة لصبغة كرام ،تمثل احد الممرضات التابعة للعائلة المعوية ،تتصف خلاياها بشكلها العصوي ،تسبب اخماج تتراوح مابين اصابة معقدة وشديدة كاخماج مجرى الدم ،الى غير معقدة كاخماج المسالك البولية .تمتلك هذه البكتريا مضيفين الاول هو البيئة وتشمل المياه السطحية والتربة ومياه الصرف الصحي والنبات (Kumar *et al* .,2011;Berrazeg *et al*.,2013). المضيف الثاني يتمثل بجلدالانسان الامعاء والمسالك التنفسية (Kallen and Srinivasan,2010). تعد هذه البكتريا من الممرضات التي تسبب الاخماج الانتهازية المرافقة مع العدوى المكتسبة من المستشفيات Nosocomial infections خاصة لمرضى الكبت المناعي كالالتهاب الرئوي البكتيري ،اخماج البلعوم ،و اخماج الجهاز التنفسي (Bodenstein and Du-Toit,2011).

أن ازدياد حدوث حالات اخماج الجهاز التنفسي المكتسب من المستشفيات قد يعود سببه الى ظهورسلالات من الكلبسيلا الرئوية المسببة للاخماج ومقاومة المضادات الحيوية مثل Penicillins , Carbapenems , Cephalosporins , Aztreonam وانتاجها لانزيمات Carbapenemase . (Sa *et al*.,2014).

11-4-2 مورغانيلا مورغاني *Morganella morganii*

هي عصيات سالبة لصبغة كرام تنتمي لعائلة *Enterobacteriaceae* و للفصيلة المورغانيلية تصنف الى نوعين *M. morganii* و *M. sibonii* (O'Hara *et al*.,2000). سميت بهدا الاسم نسبة لمكتشفها Morgan عام 1906بعد عزلها من الاطفال المصابين بالاسهال صيفا ،وتم تسميتها لاحقا باسم *Bacillus morganii* (Morgan,1906).

تشترك البكتريا مع *Proteus* في القدرة على إنتاج انزيمات Urease , Phenylalanine Diaminase. لكنها تختلف عنها بعدم قدرتها على تميع الجيلاتين و إنتاج H_2S ، وهي مخمرة لسكرالمانوز، ومنتجة لانزيم DNase(Farmer *et al*.,1995).

توجد بصورة طبيعية في امعاء الانسان والزواحف والثدييات (Falagas *et al*.,2006)، وتكون انتهازية حيث تعد المسبب الرئيسي الخامس لاخماج المسالك البولية،اخماج الجلد والانسجة الرخوة،و اخماج الكبد(Lin *et al*.,2014).

اكدت دراسة Falagas و اخرون (2006) ان 54% من الاشخاص الذين يعانون من اخماج الجلد والانسجة الرخوة في فترة اربع سنوات في مستشفى اليونان كان سببها بكتريا المورغانيلا مورغاني.

5-2 مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية تنتج من قبل الاحياء مجهرية (البكتريا والفطريات) ، تعمل على تثبيط نمو احياء مجهرية اخرى او منع نموها (Coumes-Florens *et al*.,2011). يرتبط انتاج المضادات الحيوية بانخفاض معدلات النمو باعتبارها مواد ايض ثانوية تكونها بعض الاحياء عند عملية التبوغ ،كما ان بعض النباتات تنتج مضادات ميكروبية تاثرا بالظروف البيئية (الشويخ،2016). تصنف المضادات الى نوعين اعتمادا على تاثيرها ،اما ان تكون مثبطة لنمو البكتريا Bacteriostatic مثل التتراسايكلينات،اوقاتلة لها Bacteriocidal كالبنسيلينات (Mayer,2010) ، كذلك يمكن تصنيفها الى صنفين اعتمادا على طيف فاعليتها هما مضادات ضيقة الطيف Narrow spectrum antibiotics يكون لها تاثير محدد على مجموعة من الاحياء المجهرية مثل Penicillin ومضادات واسعة الطيف Board spectrum antibiotics تكون ذات تاثير واسع على كلا نوعي البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام مثل Gentamicin (Tortora,2010). تعد مضادات السيفالوسبورينات مركبات ذات فاعلية واسعة الطيف تعمل على

تحطيم الجدار الخلوي البكتيري(Jacob,2015). اما مضادات البيتالاكتام فتعد من اهم مجاميع المضادات الحيوية ،حيث تمتلك طيف واسع ضد الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام (Ehmann and Lahiri,2014)،تعمل على تثبيط بناء الجدار الخلوي البكتيري من خلال ارتباط هذه المركبات مع مواقع خاصة تسمى Penicillin Binding Proteins(PBPs) وبذلك تمنع عمل انزيم Transpeptidase الذي يكون مسؤول عن تكوين الجسور الببتيدية في طبقة الببتيدوكلايكان التي تعد المكون الاساسي للجدار الخلوي البكتيري (Zervosen *et al*.,2012).اشار المرجاني (2011) الى ان هناك خمسة اجيال تابعة لمجموعة السيفالوسبورينات هي الجيل الاول الذي يضم Cefulothin,Cephazolin،الجيل الثاني يضم Cefaclor, Cefoxitin الجيل الثالث يضم Cefotaxime,Cefotazidme،الجيل الرابع يضم Cetprsome, Cefepime والجيل الخامس يضم Ceftobiproole.

المضادات المهمة الاخرى هي مجموعة الامينوكلايكوسايد Aminoglycoside والتي تكون ذات تأثير قاتل للبكتريا Bacteriocidal مثل Amikacin و Gentamicin التي تعمل على تثبيط بناء بروتينات الخلايا البكتيرية من خلال تداخلها في عمل رايبوسومات الخلايا البكتيرية إذ ترتبط مع الوحدة الصغرى للرايبوسوم (30S) ممايسبب قراءة خاطئة للرنا الرسولي mRNA (Quiros *et al*.,2012).

اما المجموعة التي يكون تأثيرها قاتل للبكتريا هي الكولينات Quinolones إذ تعمل على تثبيط بناء الحامض النووي البكتيري DNA (Hall *et al*.,2011). ومن المجاميع الاخرى التي تستعمل على نطاق واسع في معالجة الاخماج الناتجة عن البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة گرام هي مجموعة Macrolids والتي تشمل مضادات Erthromycin و Azithromycin حيث تعمل على تثبيط بناء بروتينات الخلايا البكتيرية ، يعد مضاد Erthromycin من اهم افراد هذه المجموعة لتأثيره الواسع على البكتريا والذي يوصف للمرضى الذين يعانون تحسس ضد البنسلين . (Oldach *et al*.,2013)

أن تكرار تناول المضادات الحيوية عند حدوث الاخماج واستعمالها المتكرر بشكل غير منتظم يؤدي الى ظهور مسببات مرضية مقاومة خصوصا الاخماج المكتسبة من المستشفيات Nosocomial infections (Alam and Imran,2014).

من الجدير بالذكر ان البكتريا تكتسب المقاومة للمضادات الحيوية من مصادر خارجيـــة وذلك عن طريق الانتقال الافقي للجينـــات بعمليـة الاقتران Conjugation والتحـــول Transduction (Chambers and Deleo,2009).

6-2 انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف Extended Spectrum β-lactamase

هذه الانزيمات تنتج من قبل أنواع معينة من البكتيريا،يمكنها تحطيم المكونات النشطة في العديد من المضادات الحيوية الشائعة ، مما يجعلها غير فعالة،او يمكن تعريفها بانها مجموعة من الانزيمات التي تحطم المضادات الحيوية التي تنتمي الى مجموعة البنسلين والسيفالوسبورين وتجعلها غيـــر فعالـــة ،عـــن طريـــق تكســـير اصـــرة النتـــروجين – كـــاربون فـــي حلقـــة البيتالاكتـــام (Walsh,2003).يمكن تصنيفها على اساس التشابه في تسلسل الاحماض الامينية تصنيف Ambler (1980)،وعلى اساس الوظيفة حسب تصنيف Bush - Jacoby (2010).

يصنف مخطط Ambler β-lactamases إلى أربع فئات وفقًا لتماثل البروتين الخاص بالأنزيمات. فبيتا لاكتاميز من الفئة (أ) و (ج) و (د) هي عبارة عن إنزيم سيرين بيتالاكتميز والإنزيمات من الفئة (ب) هي معادن لاكتاميز معدنية.

7-2 انزيمات البيتالاكتميز المعدنية Metallo-β-Lactamase (MβL)

تعمل انزيمات البيتالاكتاميز على تحلل أنواع مختلفة من مضادات البيتالاكتام ومن ضمنها السيفالوسبورينات الواسعة الطيف والـ Carbapenems، وتثبط هذه الانزيمات خارج الجسم الحي (Person *et al.*,2019) ويتم التثبيـــط بالعديد من المركبات مثل: $CuCl_2$, $FeCl_2$, EDTA ومركبات الثايول، ولكن لا تثبط بمثبطات البيتالاكتاميز مثل Clavulanic acid وSulbactum و Tazobactamوذلك لان مثبطات هذه الانزيمات هي من المواد الكلابية والتي تعمل على سحب ايونات الزنك من الموقع الفعال للانزيم مما يثبط من عمله حيث ان انزيمات MBL تحتاج إلى ايون ثنائي التكافؤ (Livermore and Woodford,2000).

غالبا ما يكون الزنك عاملاً مساعداً لفاعلية الانزيم، وأن المضادات الحيوية التي تستخدم في معالجـة الجـراثيم التـي تبـدي مقاومـة متعـددة والمنتجـة لانزيمـات MBL تشـمل Colistin و Aztreonam . تم الكشف عن أنزيم MBL لأول مرة في جرثومة *P. aeruginosa* في اليابان عام 1991(Pitout *et al.*,2005) ،وهي فعالة تجاه مضاد Imipenem ،وتوجد حالياً أنواع مختلفة من هذا الأنزيم والذي انتشر إلى أنواع جرثومية أخرى . السيطرة على هذه الانزيمات تعد

مسالة مهمة وذلك لكونها مرتبطة مع مقاومة بعض او كل انواع المضادات ويمكن أن تنتشر هذه الأنزيمات إلى بقية افراد العائلة المعوية والتي تكون فيها آلية المقاومة غير مميزة أو معروفة (Peleg *et al*., 2005). تشكل مضادات Carbapenems مجموعة فعالة بين أنواع مضادات البيتالاكتام لعلاج الاخماج المختلفة التي تسببها العصيات السالبة لصبغة گرام وذلك لفعاليتها وثباتيتها العالية ضد العزلات التي تمتلك انزيمات بيتا -لاكتاميز المعدنية (Yan *et al*.,2001) . تقسم انزيمات MβL الى ستة مجاميع استنادا للتركيب الجزيئي (VIM,AIM,GIM,SPM,SIM,IMP) (Sacha e*t al*.,2008).

8-2 النباتات الطبية Medical plants

1-8-2 اهمية النباتات الطبية

يعرف النبات الطبي بانه النبات الذي يحتوي في عضو او اكثر من اعضائه المختلفة او تحوراته على مادة كيمياوية واحدة او اكثر بتركيز منخفض او مرتفع والتي لها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين او تقلل من اعراض الاصابة بهذا المرض وذلك باستخدام هذا النبات بصورة طبيعية او عن طريق المواد الفعالة المستخلصة منه (Jamshidi-Kia *et al*.,2018).

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الانتاج الزراعي لاهميتها العلاجية إذ تستخدم في الحالات المرضية التي يصعب استخدام الادوية الكيمياوية فيها خوفا من تدهور حالة المريض واصابته باعراض جانبية خطيرة، وأمينة الاستعمال سهلة التطبيق دون الحاجة لمهارات وخبرات خاصة في تحضيرها واعدادها للاستعمال ومتوافرة في معظم البلدان مما يجعلها سهلة التناول رخيصة الاسعار إذا ما قورنت بالادوية الكيمياوية غالية الثمن ،و معالجة اكثر من حالة مرضية في ان واحد لاحتواء النبات على مركبات عديدة فضلا عن الفيتامينات والمعادن ذات الاهمية في تقوية المريض وحفظ صحته، و الاطمئنان النفسي عند استخدامها في العلاج كونها طبيعية (Sofowora *et al*.,2013).

تصنف النباتات الطبية تبعا للجزء المستخدم والذي يحتوي على المادة الفعالة الى نباتات تستعمل باكملها حيث تتواجد المادة الكيمياوية الفعالة بالاجزاء النباتية المختلفة مثل الداتورة ونباتات تستعمل اوراقها حيث تتواجد المادة الكيمياوية الفعالة في اوراقها مثل الصبار ونباتات تستعمل ثمارها مثل الفلفل الحار ونباتات تستعمل بذورها مثل حبة البركة ونباتات تستعمل اجزاؤها الارضية مثل عرق السوس (Khameneh *et al*.,2019).

معظم المواد الطبية والادوية التي تستخدم لعلاج العديد من الامراض التي تصيب الانسان تعود بالاصل الى النباتات ،كالاسبرين Asprin الذي يعد مصدره لحاء نبات الصفصاف *Wilk bark* ،كذلك حبوب منع الحمل مادتها الخام من البطاطا الحلوة البرية في المكسيك وغيرها من النباتات الطبية (Mills *et al*.,2006).

حددت النباتات الطبية بوصفها مستحضرات نباتية ومصدر للطب البديل وفقا لمنظمة الصحة العالمية (WHO,2014) وذلك باستخدام التقنيات ،اذ أدخلت المواد النباتية بعمليات كالاستخلاص ،التجزئة ،التنقية ،التركيز وعمليات فيزيائية اخرى يمكن ان تنتج في الاساس منتجات نباتية صيدلانية بوصفها علاجات دوائية (Alo *et al*.,2012).

2-8-2 نبات العفص

الاسم العلمي لنبات العفص هو *Cupressus sempervirens* L. وتسمى شجرة العفص بالسرو وهي من الاشجاردائمة الخضرة ،بطيئة النمو ،هرمية الشكل يصل ارتفاعها الى 30 متر ذات اوراق صغيرة شبيهة بالحراشف ،خضراء غامقة دقيقة،صورة (2-1) وازهارها وحيدة الجنس Monoclonal احادية المسكن Monoecious ، تحتوي على مخاريط ذكرية وانثوية يمتاز خشبها برائحة عطرية ، وهو من اهم النباتات التي تعود الى العائلة السروية *Cupressaceae* موطنها الاصلي تركيا ويكثر في الاجواء المعتدلة وخاصة في بلاد الشام والعراق كما انه يزرع حاليا في جميع دول حوض البحرالابيض المتوسط ، ومن انواعه الاصلية في الوطن العربي السرو الاطلسي *Cupressus atlantica* والسرو الصحراوي *Cupressus dupreziana* والسرو المتوسط *Cupressus sempervirens* (Farjon,2005).

يستعمل العفص لاغراض علاجية عديدة لاحتواءه على مواد فعالة اهمها التانينات ، مضادات الاكسدة المختلفة ،فيتامينات (C وA)، وبروتينات مع بعض الكاربوهيدرات ،لعلاج الامراض مثل النقرس،الروماتزم والاسهال، كما انه موقف للنزيف،قابض للاوعية الدموية ،معقم للجروح كمادة مضادة للتسمم بالقلويدات، ويطلق على نبات العفص شجرة الحياة Tree of life لاعتقاد الناس في كندا ان هذه الشجرة تمتلك قوى خارقة في شفاء الناس من الامراض وكذلك لان راتنج هذه الاشجار استعمل لعلاج تاثيرات ضغط الدم في اوربا الغربية (حسين واخرين،1995). يستخدم العفص لعلاج اخماج الجهاز التنفسي ، شفاء بعض الامراض المتعلقة بفشل القلب ، وبعض اورام الرحم وقابض للانسجة المترهلة ومضاد للميكروبات والبكتريا ومضاد للالتهابات ، ويعد ايضا من مضادات الاكسدة ،إذ يستعمل في حالات أتمام الولادة لكي يقبض عضلات الرحم ويعيدها الى ما كانت

عليه قبل الولادة (Stevens and Lowe,2004) . اضافة لعلاج الاخماج الجلدية ، ازالة التقرحات والثاليل ، علاج الحروق والجروح ، داء الصدفية ، كما يعمل على تخفيف الاثار السمية الناجمة عن العلاج بالمواد الكيمياوية او الاشعاعية (Fetraw and Avila,2004;Sunila and Kuhan,2005).

يستخلص زيت العفص من اوراق وسيقان نبات العفص ويكون ذات اهمية علاجية لاحتواءه على مكونات عديدة مثل alpha thujone ,beta thujone ,alpha pinene , camphene sabinene , fenchone , delta terpinene،camphone اضافة الى مركب bornyl acetate (Gruenwald,2004;Gadak *et al*.,2000).

جوزة العفص تكون كمصدرلحامض التانيك (العفصيك) Tannic acid المستعمل للدباغة والصبغ وصناعة الحبر(عبد الاله ،1998) ،وكذلك تحتوي على ellagic acid،chebulic acid ، gallic acid ، m-di gallicacid ، gallotamic acid ، quercetin flavenol ، بالاضافة الى Starch resin (Kizmaz,2000).

صورة رقم (2-1) اوراق وثمار نبات العفص (media-arabia.com)

3-8-2 نبات الخروع

الاسم العلمي لنبات الخروع هو *Ricinus communis* L. ، يطلق عليه ايضا زيت الخروع Castor oil، وهومن اهم النباتات التي تعود لعائلة *Euphorbiaceae* ، إذ يعد احد النباتات الصحراوية الواسعة الانتشار في العراق والوطن العربي ،يوجد بصنفين صنف معمر

شجيري وصنف حولي اوراقه شمسية خضراء ذات عروق حمراء يكسو الثمرة غلاف شائك (Weiss,2000;Dange *et al.*,2005) وهي اشجارقصيرة خشبية تنموبطول ستة أمتار تقريبا وينتشروجودها عالميا في بلدان عديدة مثل جنوب افريقيا والهند والبرازيل و روسيا (Vwioko and Fashemi,2005;Severino *et al.*,2012) .

تحتوي بذورنبات الخروع على نسبة كبيرة من الزيت مقارنة ببقية اجزاء النبات الاخرى ،و يتكون زيت الخروع من احماض دهنية و الريسين الذي هو بروتين توكسيني شديد السمية يتكون من N-acetyl galgctosamine-binding lectinالسريع الذوبان في الماء(CNN,2003).

لنبات الخروع استعمالات طبية عديدة اذ تستخدم كل اجزاء النبات إذ يستخدم مستخلص ساق نبات الخروع كمضاد للسرطان Anticancer ومضاد لمرضالسكري Antidiabetic (Ikechukwu,2019). استخدم الهنود جذور نبات الخروع واوراقه المكونة من خمس فصوص كفية الشكل ،صورة (2-2) وبذوره في علاج مختلف الامراض مثل علاج التقرحات الجلدية وتشوهاتالكبد Liver disorders و سكر الدم Hypoglycemic و مسهل وملين للامعاء (Nair and Chanda,2004) .

صورة رقم (2-2) اوراق وسيقان نبات الخروع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

المواد و طرائق العمل

Materials and Methods

1-3 المواد Materials

1-1-3 الاجهزة والادوات Equipments and Instruments

استخدمت في هذه الدراسة الاجهزة المدونة في الجدول (1-3) والادوات في الجدول (2-3).

جدول (1-3) الاجهزة المستخدمة في الدراسة

اسم الجهاز		الشركة المصنعة /المنشأ
المازج الدوار	Vortex	Fanem (Brasil)
المبخر الدوار	Rotary evaporator	Buchi (Switzerland)
ثلاجة	Refrigerator	Egur(Turkey)
جهاز تقطير	Water distillator	Nuva(Turkey)
جهاز طرد مركزي	Centrifuge	Nuva
حاضنة	Incubator	Memmert(Germany)
حمام مائي	Water bath	Memmert
فرن كهربائي	Oven	Nuva(Turkey)
كابينة السلامة الحيوية	Laminar hood	Nuva
مجهر ضوئي	Optical microscope	Nikon(Japan)
مطحنة كهربائية	Electric grinder	Arthur H. thomas(U.S.A)
مقياس الرقم الهيدروجيني	pH meter	Radiometer(Danmark)
موصدة	Autoclave	Lac-So 60s(Korea)
ميـزان كهربـائي حسـاس	Sensitive electric balance	Mettler(Switzerland)
مسخن حراري ممغنط	Magnetic hot plate and stirrer	Gallenkamp(England)

جدول (3-2) الادوات المستخدمة في الدراسة

الادوات	الشركة المصنعة /المنشأ
اسطوانة زجاجية مدرجة Graduated glass cylinder	Supc Orior(Germany)
ماصة باستور Pasteur Pipette	Bioerieux(France)
انابيب ابندروف Appendrof tubes	Grenier(Germany)
محاقن نبيذة(5،10) مل Disposable syringes	Meheco(China)
دوارق مختلفة الاحجام Flasks	Meheco (China)
ثاقب فليني Cork borer	West(Germany)
ملقط Forceps	Behring(Germany)
الماصة الدقيقة Micropipette	Brand(Germany)
وحدة الترشيح الدقيق Millipore filter unit	Whatman(Germany)
شريط غلق Parafilm	Pechiney(USA)
الناقل الزرعي القياسي Standard wire loop	Himedia(India)

3-1-2 المواد الكيميائية Chemical Materials

استخدمت في هذه الدراسة المواد الكيميائية المبينة في الجدول (3-3).

جدول (3-3) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة

اسم المادة	الشركة المصنعة /المنشأ
كليسرول Glycerol	BDH(England)
كاشف انزيم الاوكسيديز Tetra methyl-Para-Phenylene diamino	BDH
كحول اثيلي Ethanol بتركيز 70%	BDH
داريء الفوسفات الملحي Phosphate buffer	BDH
محاليل صبغة كرام Gram stain solutions	Himedia(India)
محلول ثابت العكرة القياسي Macfarland solution	Biomerieux(France)
ثنائي فوسفات الصوديوم احادي الهيدروجين Na_2HPO_4	BDH(England)
هيدروكسيد الصوديوم NaOH	BDH(England)

اثيلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك EDTA	BDH
فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2PO_4	BDH(England)
بلازما دم الارنب	BDH(England)
بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 30%	Fluka(Switzerland)
اليوريا Urea	BDH(England)
الفا-نفثول Alpha-Naphthol	BDH
ببتون Peptone	Oxoid(Englad)
محلول الملح الفسيولوجي Normal physiological saline	Melsngen(Germany)

جدول (3-4) الاوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

اسم الوسط	الشركة المصنعة	الغرض من الاستخدام
وسط الماكونكي الصلب	Difco(USA)	تنمية البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز للبكتريا السالبة لصبغة غرام
وسط ماء الببتون	Himedia(India)	فحص الاندول
وسط الدم الصلب	Himedia	وسط تفريقي يميز بين البكتريا المحللة وغير المحللة للدم
وسط الكليكلر الصلب	Himedia	فحص الكشف عن غاز H_2S وتخمر السكريات وانتاج غاز CO_2
وسط مولر هنتون الصلب	Himedia	فحص حساسية المضادات الحيوية
وسط المغذي الصلب	Mast	تنمية البكتريا لغرض التشخيص
وسط المرق المغذي	Mast(England)	حفظ العزلات البكتيرية وادامتها
وسط سيمون سترات	Mast(England)	فحص استهلاك السترات
وسط المانيتول الملحي الصلب	Mast	تمييز المكورات العنقودية

		المخمـــرة وغيـــر المخمـــرة للمانيتول
وسط نقيع القلب والدماغ	Oxoid(England)	لغرض تنمية البكتريا ودراسة بعض خواصها وسط للتنشيط

3-1-3 اقراص المضادات الحيوية Antibiotic Discs

استعملت في الدراسة الحالية المضادات الحياتية المدرجة في الجدول (3-5) .

جدول (3-5) المضادات الحياتية المستخدمة في الدراسة

المضاد الحيوي	الرمز	تركيز المضاد في القرص(مايكروغرام/قرص)	الشركة المصنعة(المنشأ)
Amoxicillin/Calvulanic acid	AMC	20/10	Bioanalyse(Turkey)
Ampicillin/Sulbactam	SAM	10/10	
Augmentin/Sulbactam	AMS	30/15	
Cefotaxime	CTX	30	
Ceftriaxone	CRO	30	
Cefepime	FEP	30	
Imipenem	IPM	10	
Meropenem	MEM	10	
Oxacillin	OX	1	
PenicillinG	P	10 IU	
Pipracillin/Tazobactam	TPZ	100/10	
Trimethoprim	TM	5	
Gentamicin	GM	10	
Amikacin	AK	30	
Ciprofloxacin	CIP	5	
Ofloxacin	OFX	5	

Vancomycin	VA	30	
Nitrofurantoin	NI	30	
Azthromycin	AZM	15	
Norfloxacin	NOR	10	
Calvulanic acid Ticarcillin/	TIM	85	
Ampicillin	AM	10	
Aztreonam	ATM	30	
Ceftazidime	CAZ	30	
Chloramphenicol	C	30	

3-1-4 تحضيرالمحاليل والكواشف والانزيمات

Preparation of Solutions , Indicators and Enzymes

حضر العديد من الكواشف والمحاليل في هذه الدراسة وعقمت باستخدام الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 ْم لمدة 15دقيقة ،بضغط 15باوند /انج^{2}و عقمت المواد والمحاليل التي تتأثر بالحرارة باستعمال وحدات الترشيح Millipore filters،بقطر 0.22 مايكروميتر، اما المواد الزجاجية فقد عقمت بالفرن Ovenعند درجة حرارة 180 ْم لمدة ساعتين .

3-1-4-1 محاليل صبغة گرام Gram stain solutions

استعملت محاليل صبغة گرام الجاهزة من قبل شركة Himedia الهندية المتكونة من محلول صبغة البلورات البنفسجية ومحلول الايودين والكحول وصبغة السفرانين، اذ استعملت في تصبيغ الشرائح الزجاجية المحضرة من المزارع البكتيرية لملاحظة خواصها وصفاتها المجهرية وتصنيفها الى موجبة وسالبة لتلك الصبغة.

3-1-4-2 كاشف أنزيم الاوكسيديز Oxidase reagent

حضر انيا من اذابة 1غم من مادة Tetra methyl-para - phenylene diamino dihydro chlorideالمجهز من شركة BDH الانكليزية في 90مل من الماء المقطر المعقم ثم اكمل الحجم الى 100 مل .استعمل هذا الكاشف للكشف عن قدرة البكتريا على انتاج انزيم الاوكسيديز(Koneman *et al*.,1997).

3-1-4-3 محلول الملح الفسيولوجي Normal physiological Saline

استعمل المحلول الجاهز من قبل الشركة Melsngen (Germany) لتخفيف عينات العزلات البكتيرية ومقارنتها مع محلول ثابت العكرة القياسي Macfarland standered solution (Forbes *et al*.,2007).

3-1-4-4 كاشف انزيم التخثر Coagulase reagent

حضر الكاشف المجهز من قبل شركة (England/BDH) باضافة 5مل ماء مقطر معقم الى القنينة الحاوية على هذا الانزيم المجهزة من قبل الشركة وحفظ في الثلاجة حيث يبقى صالحا للاستعمال لمدة 15يوما ،استخدم هذا الكاشف لاختبار *Staphylococcus aureus* المنتجة لانزيم Coagulase وتميزها عن غير المنتجة للانزيم،يتم ذلك باخذ 0.5مل من القنينة المخففة ومزجها مع كمية من المستعمرات البكتيرية وحضنها بالحاضنة لمدة(1-4)ساعة ،وجود ظاهرة التجلط بحرارة 37 ْم دليل على النتيجة الموجبة (Geo *et al*.,2007).

3-1-4-5 كاشف انزيم الكاتاليز Catalase reagent

حضر الكاشف المجهز من قبل شركة (England/BDH) من خلط 1مل من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 30% مع 9مل من الماء المقطر للحصول على تركيز 3 % بيروكسيد الهيدروجين ،حفظ في الثلاجة في عبوة داكنة ،استعمل للكشف عن قدرة العزلات البكتيرية قيد الدراسة على انتاج انزيم الكاتاليز(Collee *et al*.,1996).

6-4-1-3 داريء الفوسفات الملحي Phosphate buffer saline

حضر الداريء حسب ما اورده Sambrook واخرون (2001) وذلك باذابة 0.144غم من فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2PO_4 مع 9 غم من كلوريد الصوديوم NaCl و 0.79 غم من ثنائي فوسفات الصوديوم احادي الهيدروجين Na_2HPO_4 في 800 مل من الماء المقطر وضبط الاس الهيدروجيني الى 7.4 ثم اكمل الحجم الى لتر واحد وعقم بالموصدة .

7-4-1-3 محلول Ethylene Di amine Tetra acetic Acid(EDTA)

حضر المحلول بتركيز 0.5 مولاري وذلك باذابة 93.06 غم من مادة EDTA في 400مل من الماء المقطر ،ثم ضبط الاس الهيدروجيني الى 8 باستعمال NaOH ،ثم اكمل الحجم الى 500 مل ماء مقطر وعقم بالموصدة (Stephenson *et al*.,2003) .

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 طرائق التعقيم Sterilization methods

1-1-2-3 التعقيم بالحرارة الجافة

عقمت الزجاجيات والادوات التي تحتاج الى التعقيم الجاف بالفرن الكهربائي Oven بدرجة حرارة 180 ْم ولمدة ساعتين .

2-1-2-3 التعقيم بالحرارة الرطبة

عقمت الاوساط الزرعية المستخدمة لغرض الدراسة بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 ْم وتحت ضغط (15) باوند /انج^2 لمدة 15دقيقة .

3-1-2-3 التعقيم بالترشيح

عقمت المواد والمحاليل التي تتاثر بالحرارة باستعمال مرشحات دقيقة Millipore filters بقطر 0.22 مايكروميتر (الدوري ،2006).

2-2-3 تحضير الاوساط الزرعية Preparation of culture media

استخدمت في هذه الدراسة الاوساط الزرعية المدرجة في جدول (3-4).

1-2-2-3 وسط الدم الصلب Blood Agar Base Medium

حضر هذا الوسط باضافة دم الانسان بنسبة 5% الى وسط اكار الدم الاساس المحضر وفق تعليمات الشركة المجهزة والمعقم بالموصدة وذلك بعد تبريده بدرجة حرارة (45-50) ْم وصب في اطباق وترك ليتصلب ،ومن ثم حفظ بالثلاجة بدرجة حرارة 4 ْم لحين الاستعمال (Cheesbrough,2006).

2-2-2-3 وسط الماكونكي الصلب MacConkey Agar Medium

حضر هذا الوسط وفق تعليمات الشركة المجهزة ثم عقم بالموصدة وصب بالاطباق ،ثم حفظ بالثلاجة بدرجة حرارة 4 ْم لحين الاستعمال (Harly and Prescott,1996).

3-2-2-3 وسط اليوريا الاساس الصلب Urea Agar Base Medium

حضر 950 مل من وسط اليوريا الاساس الصلب حسب تعليمات الشركة المصنعة وبعد تعقيمه بالموصدة وتبريده الى 45 ْم اضيف اليه 50مل من محلول 40% يوريا معقمة بالترشيح باستعمال اغشية الترشيح الدقيقة بحجم 0.22 مايكروميتر ،ثم صب في انابيب معقمة بصورة مائلة وحفظ بالثلاجة بدرجة حرارة 4 ْم لحين الاستعمال (Li *et al*.,2005).

4-2-2-3 وسط ماء الببتون Pepton Water Medium

حضر هذا الوسط باذابة 2غم من الببتون و0.5غم من كلوريد الصوديوم في 100مل من الماء المقطر المعقم ،عقم بالموصدة بعد ضبط الاس الهيدروجيني الى 7،استعمل هذا الوسط في الكشف عن تكوين حلقة الاندول (Koneman *et al*.,1992).

5-2-2-3 وسط الكليكلر الصلب Kligler Iron Agar Medium

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة وبعد تعقيمه بالموصدة صب في انابيب اختبار معقمة بشكل مائل ،وحفظ بالثلاجة لحين الاستخدام (Brown,2007).

3-2-2-6 وسط اختبارالحركة Motility Test Medium

حضر هذا الوسط وفق مااورده Harly و Prescot (1996) باذابة 10غم من التربتون و5 غم من كلوريد الصوديوم و5غم من اكار –اكار في 1لتر من الماء المقطر ، ثم عقم بالموصدة بعد ضبط الاس الهيدروجيني الى 7.2 وحفظ بدرجة 4°م لحين الاستعمال .

3-2-2-7 وسط مولر هنتون الصلب Muller Hinton Agar Medium

حضر هذا الوسط وفق تعليمات الشركة المصنعة ،وبعد تعقيمه بالموصدة صب في اطباق وحفظ بالثلاجة لحين الاستعمال .

3-2-2-8 وسط سيمون سترات الصلب Simmon Citrate Agar Medium

حضر هذا الوسط وفق مااورده Macfaddin (2000) حسب تعليمات الشركة المصنعة وبعد تعقيمه ،صب في انابيب ذات سدادات محكمة بصورة مائلة ثم ترك ليتصلب وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال ،استخدم الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على استهلاك السترات كمصدر وحيد للكاربون .

3-2-3 جمع العينات Samples Collection

جمعت 30 مسحة من اماكن الجلد لاشخاص اصحاء و150 مسحة تعود لمرضى مصابين بأخماج الجلد توزعت الى 32 مسحة لاخماج بصيلة الشعرة و32مسحة لاخماج النسيج الخلوي و 34 مسحة لاخماج القوباء المعدي و52مسحة لاخماج الدمامل في العيادة الاستشارية في مستشفى بعقوبة التعليمي باشراف طبيب استشاري الامراض الجلدية والتناسلية في محافظة ديالى للفترة من بداية شهر ايلول 2018 الى نهاية شهر كانون الثاني 2019 و بأعمار تراوحت بين (1-75) سنة و للجنسين كليهما .

3-2-4 زرع العينات Samples Culture

زرعت العينات على وسط الدم الصلب، وسط الماكونكي ووسط المانيتول الملحي وحضنت بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24ساعة .

3-2-5 تشخيص البكتريا المعزولة Identification of isolated bacteria

شخصت البكتريا اعتمادا على صفاتها الزرعية ،المجهرية ،والاختبارات الكيموحيوية وكالاتي:

3-2-5-1 التشخيص الزرعي Culture Identification

3-2-5-1-1 وسط الدم الصلب Blood Agar

شخصت العزلات البكتيرية النامية اعتمادا على صفاتها الزرعية من حيث حجم المستعمرات ولونها ، قوام المستعمرات ،فضلا عن قدرة العزلات على تحلل كريات الدم الحمراء على الوسط.

3-2-5-1-2 وسط المانيتول الملحي الصلب Manitol Salt Agar

شخصت العزلات البكتيرية على هذا الوسط والذي يعد وسطا تشخيصيا وانتخابيا Selective media لعزل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية التي لها القدرة على النمو بتركيز (7.5-10)% من NaCl ،حيث نقل جزء من المزروع البكتيري بعد التشخيص الاول على وسط اكار الدم الى وسط المانيتول الملحي ،وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة (24-48)ساعة للتمييز بين المكورات العنقودية الذهبية المخمرة عن غير المخمرة لسكر المانيتول ،إذ يتغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر بسبب وجود كاشف احمر المثيل (Brooks *et al*.,2010).

3-2-5-1-3 وسط الماكونكي الصلب MacConkey Agar

شخصت العزلات البكتيرية اعتمادا على تخمر سكر اللاكتوز اذ يعد وسطا تفريقيا واختياريا للبكتريا السالبة لصبغة گرام وللتمييز بين البكتريا المخمرة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز(Alexander *et al*.,2004).

3-2-5-2 التشخيص المجهري

فحصت العزلات البكتيرية مجهريا بعد أن صبغت مسحة خفيفة من المستعمرات البكتيرية بصبغة گرام ، و فحصت تحت العدسة الزيتية لتمييز شكل الخلايا وطريقة تجميعها وايجابيتها وسلبيتها للصبغة.

3-5-2-3 التشخيص الكيمياء الحيوية Biochemical Identifications

اعتمدت الاختبارات الكيمياء الحيوية لغرض التشخيـص وعلى النحو الاتــي:

1-3-5-2-3 اختبار اليوريز Urease Test

زرعت البكتريا بطريقة التخطيط على وسط اليوريا الصلب وتم حضنها بدرجة حرارة 37 ْم لمدة (24-48) ساعة ،ظهور اللون الوردي دلالة على النتيجة الموجبة اذ تتغير الدالة الحامضية للوسط الى القاعدية بفعل الامونيا المتكونة (Chakraborty *et al*.,2011).

2-3-5-2-3 اختبار الكاتاليز Catalase Test

نقل جزء من المزرعة البكتيرية بعمر (18-24) ساعة الى شريحة زجاجية نظيفة وجافة باستخدام العيدان الخشبية المعقمة Wooden sticks ،واضيف اليها قطرة من 3% بيروكسيد الهيدروجين حيث تعد النتيجة موجبة عند ظهور فقاعات هوائية على سطح الشريحة دلالة على تحطم بيروكسيد الهيدروجين السام وتحـــــرر غــاز الاوكسجين والمـاء بسبب انتـاج انـزيم الكاتـاليز (Harley and Prescott,2002).

3-3-5-2-3 اختبار انتاج انزيم مجلط البلازما Coagulase Test

أجري الفحــص بطريقتــين :

A/طريقة الشريحة Slide Method

أجري الفحص للكشف عن الانزيم المختر للبلازما المرتبط Bound coagulase والذي يعد صفة تشخيصية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية ،تم الاختبار بوضع قطرة من المحلول الملحي الفسلجي Normal saline على شريحة زجاجية نظيفة ،ثم نقل اليها مستعمرة لبكتريا المكورات العنقودية من الوسط الزرعي الصلب ومزجت جيدا ،بعد ذلك أضيفت قطرة من كاشف البلازما ،يستدل على النتيجة الموجبة بحدوث التجمع خلال 15ثانية ،إذ يرتبط عامل التكتل Clumping factor بخليـــة الجرثومــة محــولا الفايبرينوجيـــن Fibrinogen الـــى فايـبريـــن Fibrin (Forbes *et al*.,2007).

B/طريقة الانبوب Tube Method

لقح الانبوب الحاوي على كاشف البلازما بعدد من المستعمرات الفتية وحضنت (1 -4) ساعة وبعد انتهاء فترة الحضن لوحظ حدوث التكتل (التجلط) دلالة على انتاج المكورات العنقودية الذهبية للانزيم الحر، اما النتائج السالبة فقد تركت الى اليوم التالي بدرجة حرارة الغرفة لكون بعض السلالات تنتج انزيـــــم Coagulase free ببطء (Brooks *et al*.,2010).

4-3-5-2-3 اختبار انزيم الاوكسيديز Oxidase test

نقل جزء من المزرعة البكتيرية بعمر (18-24) ساعة بوساطة عود خشبي الى ورقة ترشيح مرطبة بكاشف انزيم الاوكسيديز ، تغير اللون الى البنفسجي الغامق بعد مرور 30 ثانية دلالة على ايجابية الفحـــص (Benson *et al*.,2002).

5-3-5-2-3 اختبار انتاج الاندول Indole test

لقح وسط ماء الببتون بعدد من مستعمرات العزلات وحضن بدرجة حرارة 37 ˚م ولمدة 24 ساعة و اضيف اليه 0.5 مل من كاشف كوفاكس Kovacs reagent ، ثم مزج جيدا ،تم الاستدلال على النتيجة الموجبة للتفاعل من تكون حلقة حمراء في طبقة الكحول الايزوميلي Isomyl alcohol نتيجة لتحلل الحامض الاميني التربتوفان وتحوله الى الاندول (Alexander *et al*.,2004).

6-3-5-2-3 اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test

لقح وسط السترات المائل بالبكتريا وحضن بدرجة حرارة 37 ْم ولمدة (24-48) ساعة ، يعد تغير لون البروموثايمول من اللون الاخضر الى اللون الازرق نتيجة زيادة الاس الهيدروجيني دلالة على ايجابية التفاعل ،إذ يستخدم هذا الاختبار للكشف عن قدرة البكتريا المعزولة على استخدام السترات كمصدر وحيد للكاربون والطاقة (Benson *et al*.,2002).

7-3-4-2-3 أختبار كليكلر Kligler test

لقحت انابيب مائل كليكلر بمستعمرات البكتريا المراد تشخيصها بطريقة الطعن والتخطيط وحضنت بدرجة حرارة 37 ◦م لمدة 24ساعة ، تم قراءة النتيجة اعتمادا على ما اورده Macfaddin (2000) وكمـا يلـــي :

1. ALK/ALk تعني عدم تخمر السكريات .

2. ++ Acid/Acid تعني تخمر السكريات وانتاج غاز H_2S وغاز CO_2.

3. +- Acid/Acid تعني تخمر السكريات وانتاج غاز CO_2 وعدم انتاج غاز H_2S.

4. -- Acid/Acid تعني تخمر السكريات وعدم انتاج غازي H_2S و CO_2.

5. -- ALK/Acid تعني تخمر الكلوكوز وعدم انتاج غازي H_2S و CO_2.

3-2-5-3-8 اختبار الحساسية للاوبتوجين والباستراسين

Optochin and bacitracin susceptible test

أستخدم الاختبار للتمييز بين الانواع التابعة لجنس *Streptococcus spp.* ، لقحت اطباق الدم الصلبة بالبكتريا بطريقة التخطيط باستعمال الناقل ،ثم وضع قرص الباستراسين (0.04) وحدة عالمية وقرص الاوبتوجين (30) مايكروغرام على الوسط الملقح وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة ، لوحظت مناطق تثبيط النمو حول الاقراص (Alexander *et al*.,2004).

3-2-5-3-9 اختبار الحركة Motility test

لقحت انابيب الاختبار الحاوية على الوسط المغذي الصلب ونصف الصلب Semi Solid Agar بالبكتريا بطريقة الطعن ثم حضنت الانابيب لمدة (24-48) ساعة بدرجة حرارة 37 °م. لوحظ النمو بانتشار البكتريا حول منطقة الطعن وهذا يعني ان البكتريا لها قابلية الحركة ويعد دليل على ايجابية الاختبار ، اما عدم انتشار البكتريا حول منطقة الطعن دلالة على ان البكتريا غير متحركة (Benson *et al*.,2002).

3-2-5-4 التشخيص بأستخدام نظام API

حصلت نتائج الفحوص الاولية التي تنطبق على الاجناس البكتيرية قيد الدراسة بعد استخدام عدة التشخيص API 20E Kit حسب تعليمات الشركة المصنعة لتشخيص انواع الاجناس البكتيرية التابعة للعائلة المعوية وبكتريا *Pseudomonas spp.* ،إذ لقح 5مل من المحلول الملحي الفسلجي بالبكتريا للحصول على عالق متجانس وذلك بالمقارنة مع محلول ثابت العكرة القياسي ،إذ نقل مقدار 0.12 مل من عالق البكتريا لكل انبوب اختبار فيما بلغت كمية اللقاح البكتيري 0.28 مل لانابيب الاختبارات H2S , URE , ADH , CIT , VP , GEL. اضيف الزيت Oil لانابيب الاختبارات

LDC , ODC لغرض توفير ظروف لاهوائية ثم حضنت الاشرطة بدرجة حرارة 37 ْم ولمدة 24ساعة .بعد مدة الحضن تم قراءة الشرائط اذ ان نواتج الفعاليات الايضية للبكتريا تسبب تغيرا لونيا في الاختبارات وبعض من هذه الاختبارات تحتاج الى كواشف لملاحظة التغير اللوني مثل:

-اختبار IND باضافة قطرة من كاشف كوفاكس وتكوين الحلقة الحمراء دلالة على النتيجة الموجبة .

-اختبار TDA باضافة قطرة من كاشف TDA وظهور اللون البني دلالة على النتيجة الموجبة .

-اختبار VP باضافة قطرات من كاشف VP1 ثم قطرة من كاشف VP2 وظهور اللون الاحمر دلالة على النتيجة الموجبة .

شخصت البكتريا بعد قراءة النتائج وتحويلها الى ارقام حيث ان الشريط يحتوي على سبعة مجموعات وكل مجموعة تحتوي على ثلاثة ارقام 1,2,4 وكل فحص موجب يعطي الرقم الموجود على الحفرة والفحص السالب لايعطي له رقم ثم جمعت الارقام لكل مجموعة و سجلت وكونت بالنهاية سبعة ارقام قورنت مع الفهرس الخاص بالنظام ليعطي اسم الجنس والنوع للبكتريا قيد الاختبار (Kloos and Schleifer,1975).

6-2-3 أختبار حساسية للمضادات الحيوية Antibiotics susceptibility test

أجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية المدونة في الجدول (3-4) حسب طريقة Kirby Bauer (1966) إذ استعمل وسط Muller Hinton Agar حسب تعليمات الشركة المنتجة ،بعد تعقيمه وتبريده الى درجة حرارة 50°م ثم صب في اطباق بتري معقمة بحيث تكون كمية الوسط 2.5 مل . وبعد تصلب الاطباق والتاكد من عدم تلوثها ، استخدمت طريقة انتشار الاقراص Disk diffusion method وعلى وفق ماجاء في (CLSI،2018) وكالاتي:

1- نقل (3-5) مستعمرات تمتلك نفس الصفات المظهرية نامية على وسط الدم المغدي الصلب بوساطة ناقل الزرع القياسي الى انبوبة تحوي 5مل من المحلول الملحي الفسلجي.

2- بعد ذلك قورنت مع ثابت العكورة القياسي 0.5 والذي يعطي عددا تقريبيا للخلايا (1.5×10^8) خلية /مل.

3- نقل 100مايكروليتر من العالق البكتيري بوساطة الماصة الدقيقة Micropipette ،ثم نشر بوساطة مسحة Swab على سطح وسط Muller Hinton Agar بصورة متجانسة ،بعدها تركت الاطباق لتجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة (10-15) دقيقة.

4- نقلت بعد ذلك اقراص المضادات الحيوية بوساطة ملقط معقم الى الاطباق ،ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة .

5- تمت قراءة النتائج بقياس قطر مناطق التثبيط بالمليمتر حول اقراص المضادات الحيوية، وقورنت مع الجداول القياسية في (CLSI,2018) وعلى اساس ذلك تعد البكتريا حساسة او مقاومة لتلك المضادات الحيوية .

3-2-7 الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف

Detection of extended spectrum β-lactamase (ESBLs)

أستعملت طريقة الاقراص المتاخمة المحورة Disc approximation للكشف عن انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف حسب ما جاء في (Jalier *et al.*,2011) وكالاتي:

- حضر عالق بكتيري من العزلات البكتيرية المراد اجراء الاختبار لها بنقل مستعمرة مفردة بعمر 24 ساعة منماة على وسط نقيع القلب والدماغ الصلب الى 5 مليلتر من المحلول الملحي الفسلجي ثم قورنت عكورة العالق مع محلول ثابت العكرة القياسي الذي يعطي عدد تقريبي للخلايا مقداره ($10^8 \times 1.5$) خلية /مليلتر.
- نشر 0.1 مليلتر من العالق البكتيري بوساطة المسحة القطنية Swab المعقمة على سطح الاطباق الحاوية على وسط مولر-هنتون الصلب بصورة كاملة ، تركت الاطباق لمدة 10دقائق لتجف .
- وضع قرص لمضاد Augmentin المتكون من Amoxicillin/Clavulanic acid في وسط الطبق الزرعي الملقح بعد ذلك رتبت اقراص المضادات الحيوية Cefotaxime, Azitreonam Ceftazidime, على بعد 3 سم من مركز قرص الاوكمنتين .
- حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة .
- بعد ملاحظة مناطق التثبيط فان حدوث اتساع في منطقة التثبيط بين القرص المركزي وواحد او اكثر من الاقراص المذكورة دليل على النتيجة الموجبة اي انتاج العزلات للانزيم .

3-2-8 الكشف عن قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتميز المعدنية

Detection of metallo-β-lactamase (MBLs)

اعتمدت طريقة Lee واخرون (2017) لاختبار قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتميز المعدنية ، حضر عالق بكتيري لكل عزلة تحت الاختبار ثم فرشت على وسط مولر

هنتون الصلب،بعد ذلك وضع قرصين لمضاد Imipenem بتركيز10 مايكروغرام/قرص على سطح الوسط ،نقل 10مايكروليتر من محلول EDTA(المحضر بتركيز 0.5 مولاري) الى احد قرصي Imipenem ،وبعد الحضن بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 18ساعة ، تم مقارنة مناطق التثبيط فيما إذا كانت منطقة التثبيط حول قرص الامبينم مع EDTA تساوي او اكبرمن 7 ملم عن قرص Imipenem لوحده دلالة على ان النتيجة موجبة .

3-2-9 حفظ العزلات البكتيرية Preservation of bacterial isolates

3-2-9-1 الحفظ قصير الامد Short period culture

لقحت العزلات البكتيرية بعد تشخيصها على وسط القلب والدماغ الصلب (Brain Heart Infusion Agar) المحضر بشكل مائل وبطريقة التخطيط ،وحضنت بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة ،ثم حفظت بدرجة حرارة 4 ْم للاستعمال اليومي ،وجددت العزلات بشكل دوري شهريا ،وذلك بتنشيطها على وسط نقيع القلب والدماغ السائل (Brain Heart Infusion Broth) ثم اعادة زرعها على وسط مائل جديد لضمان بقاء العزلات بشكل نشيط طيلة مدة الدراسة (WHO,2003).

3-2-9-2 الحفظ طويل الامد Long period culture

حضرت الانابيب الصغيرة الحاوية على 1مل من كليسرول (15-20)% معقم ،واضيف اليها 4 مل من المزروع البكتيري المنمى على وسط نقيع القلب والدماغ السائل ،وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24ساعة وبعدها حفظت الانابيب بدرجة حرارة -20 ْم لحين الاستعمال (Burnett and Crocker,2005).

3-2-10 دراسة تاثير المستخلصات النباتية على العزلات البكتيرية

3-2-10-1 جمع العينات النباتية

جمعت اوراق نبات الخروع وثمار اشجار العفص من المشاتل في مدينة بعقوبة في محافظة ديالى وصنفت من قبل الاستاذ الدكتور خزعل ضبع وادي /جامعة ديالى/ كلية العلوم (تخصص /تصنيف نبات)،على ان نبات الخروع هو *Ricinus communis* ونبات العفص هو *Cupressus sempervirens* ، تركت الاوراق والثمار في المختبر لمدة اسبوع واحد بدرجة حرارة 25°م لغرض تجفيفها ،استعملت مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق حفظ بقناني زجاجية معتمة .

2-10-2-3 تحضيرالمستخلصات النباتية

1-2-10-2-3 المستخلص المائي الحار Hot water extract

اتبعت طريقة Parekh و Chanda (2007) وذلك بوزن 50غم من مسحوق النبات الجاف وإذابته في 500 مل من الماء المقطرالمغلي بعد تبريده الى درجة 60 °م ثم وضعها على جهاز Magnatic Sterile Hotplate لمدة 2ساعة بعدها رشح المزيج بإستعمال الشاش الطبي ،ثم رشح بإستعمال أوراق ترشيح Whatman No.1 ,2 ,3,6 ، وزع الراشح في انابيب جهاز النبذ المركزي وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10دقائق ،بعدها عرض الراشح للتبخير بوساطة المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة (40-50) °م ،جفف المتبقي باستعمال أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة في الفرن Oven على درجة حرارة 40 °م الى أن تبخر الماء كليا وبالتالي الحصول على مسحوق جاف من المستخلص المائي، وضع في انابيب زجاجية معقمة محكمة الغلق ،بعد ذلك علمت وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 °م لحين الاستعمال في الاختبارات الكيميائية الحيوية،كررت العملية لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص.

2-2-10-2-3 المستخلص الكحولي Alcoholic extract

أتبعت طريقة Jameela واخرون (2011) ، تم وزن 50غم من المسحوق النباتي وأذيب في 500 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 70% ،ووضع المزيج في الحاضنة الهزازة لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 35 °م بعد ذلك رشح المزيج باستعمال الشاش الطبي ثم رشح باستعمال اوراق الترشيحWhatman No.1 ,2,3,6، وزع الراشح في انابيب جهاز النبذ المركزي وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق ،بعدها عرض الراشح المتبقي للتبخير بوساطة المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة (40-50) °م ثم جفف المتبقي باستعمال أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40 °م لحين الاستعمال ،كررت العملية عدة مرات لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص.

3-10-2-3 تقدير النسبة المئوية للمستخلص المائي الحار والكحولي لنباتي الخروع والعفص

قدرت النسب المئوية للمستخلصات النباتية المحضرة وفق طريقة البالاني (2013) وكالاتي :

النسبة المئوية للمستخلص=وزن المستخلص/وزن المسحوق النباتي ×100

4-10-2-3 تعقيم المستخلصات النباتية Sterilization of plant extracts

اعتمدت طريقة العوادي (1993) لتعقيم المستخلصات النباتية وكالاتـــــي:

1- عقم المستخلص المائي بأخذ غرام واحد من المستخلص الجاف وأذيب في 5 مل من الماء المقطر المعقم ،بذلك يكون المستخلص بتركيز 200 ملغم/مل ،وهو المحلول الاساسي للخزين Stock solution ،عقم المستخلص باستخدام المرشحات الغشائية 0.22 مايكروميتر وأعتبر مصدرا لتحضير التخافيف اللاحقة في الدراسة .

2- عقم المستخلص الكحولي باذابة 1غم من المستخلص في 5مل من مادة Buffer sulfate ثم عقم باستخدام المرشحات الغشائية 0.22 مايكروميتر، وأعتبر مصدرا لتحضير التخافيف اللاحقة في الدراسة.

5-10-2-3 تحضير تراكيز المستخلصات النباتية المستخدمة في الاختبارات الحيوية

حضرت التراكيز باذابة 2 غم من مسحوق المستخلص النباتي في 10مل من الماء المقطر للمستخلص المائي الحار والوزن نفسه في المحلول Buffer phosphate solution للمستخلص الكحولي ،ويعد المحلول الاساسي للخزين وباستخدام قانون التخفيف العام C1V1=C2V2 ،حضرت التراكيز (12.5,25,50,100,200)ملغم /مل وعقمت باستخدام المرشحات الدقيقة Millipore filter ذات ثقوب 0.22 مايكروميتر(العوادي ،1993).

6-10-2-3 تأثير مستخلصات العفص والخروع في نمو البكتريا

أستخدمت طريقة الانتشار بالحفر Well Diffusion Method بواقع ثلاث مكررات وذلك وفق طريقة العكيلي (2002)، إذ حضر العالق البكتيري ونشر على وسط المولر

هنتون الصلب Muller Hinton Agar Medium بوساطة مسحة على أن يكون سمك المولر هنتون الصلب 20 مليمتر وترك يجف لمدة 5 دقائق ثم عمل 6 حفر، قطر كل حفرة 6 مليمتر مع اعتبار أحدى الحفر سيطرة قياسية Control ثم أضيف 20 مايكروليتر من المستخلص لكل حفرة بتراكيز متوالية وهي (12.5,25,50,100,200) ملغم/مل ثم تركت لمدة ساعة لضمان الانتشار الصحيح ،ووضع الماء المقطر في حفرة السيطرة للمستخلص المائي الحار ،ومحلول Buffer phosphate solution للمستخلص الكحولي ثم وضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة ،حددت فاعلية كل تركيز من المستخلصات النباتية بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمتر بوساطة مسطرة مدرجة .

3-2-10-7 تقدير الدالة الحامضية pH

وزن 1غم من المسحوق النباتي المائي والكحولي وخلطه مع 5 مل من الماء المقطر لمدة 10دقائق بوساطة خلاط مغناطيسي ،رشح المحلول ثم قيس الاس الهيدروجيني للمحلول المحضر بوساطة جهاز pH meter.

3-2-10-8 فحص تلوث المستخلصات النباتية

فحص تلوث المستخلصات النباتية بأخذ 0.1 مل من المستخلصات سواء كانت مائية او كحولية وزرعت على الوسط المغذي الصلب وحضنت بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24 ساعة (الربيعي، 2000).

3-2-10-9 تقدير السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي العفص و الخروع

قدرت السمية الخلوية Cellular toxicity للمستخلصات النباتية المستعملة بوضع 0.2 مل من خلايا الدم الحمر للانسان Red Blood Cells في انبوبة اختبار معقمة ونظيفة و أضيف لها 0.8 مل من كل مستخلص ليصبح الحجم النهائي 1 مل ثم حضنت بالحاضنة بعد رجها قليلا لمدة 5 دقائق بمعدل 1000 دورة /دقيقة ولوحظ بعدها التحلل الدموي Hemolysis واستخدمت انبوبة اختبار تحتوي على دم فقط كمعامل سيطرة لملاحظة الفرق في التحلل الدموي (Xian Guo and Ursalla,1994).

11-2-3 التحليل الاحصائي Statistical analysis

استخدم برنامج الحزمة الاحصائية Statistical Pakage for Social Science (SPSS) ذي الاصدار رقم 22 في دراسة تاثير العوامل المختلفة في الصفات المدروسة ،تم وصف المتغيرات ذات الصيغة العددية باستخدام المعدل والخطأ المعياري للمعدل (Mean±SE.Mean) وتم استخدام اختبار دنكن Duncan اثناء المقارنة بين المتوسطات الحسابية وعند مستوى معنويـة($P<0.05$) .اما المتغيرات ذات الصيغة الوصفية فوصفت بصيغة العدد والنسبة المئوية وتمت المقارنة باستخدام اختبار مربع كاي (X^2) .

الفصل الرابع
النتائج والمناقشة
Results and Discussion

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1-4 الانواع البكتيرية المعزولة من جلد الاشخاص الاصحاء

جمعت 30 مسحة من جلد متطوعين أصحاء من كلا الجنسين وبأعمار مختلفة واعتمادهم كمجموعة سيطرة ، زرعت على اوساط غذائية مناسبة فكانت نتيجة الزرع موجبة في 28 عينة بنسبة 93.3%، في حين لم يظهر نمو في العينتين الباقية ، شخصت 33 عزلة بكتيرية اعتمادا على صفاتها المظهرية على الاوساط الزرعية المستخدمة وعلى نتائج الاختبارات الكيموحيوية المعتمدة والمميزة للبكتريا .فكانت 11 عزلة بنسبة 33.2% تعود لبكتريا *Staphylococcus epidermidis* ،و 6 عزلات بنسبة 18.2% تعود لبكتريا *Staphylococcus aureus* ، و5 عزلات بنسبة 15.6% تعود لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، و4 عزلات بنسبة 12% تعود لبكتريا *Escherishia coli* ، و4 عزلات بنسبة 12% تعود لبكتريا *Streptococcus pyogenes* ،و 3 عزلات بنسبة 9% تعود *Klebsiella pneumoniae* جدول (4-1). بينت نتائج الدراسة ان العزلة السائدة هي بكتريا *Staph. epidermidis* تليها *S. aureus* والتي يعد وجودها بشكل طبيعي على الجلد والاغشية المخاطية المبطنة للانف بنسبة (30-25) % (Fitz *et al*.,2013) ، وعند توفر الظروف الملائمة تصبح بكتريا انتهازيةOpportunistic bacteria تسبب الكثير من الامراض تتراوح ما بين البسيطة التي تصيب الجلد الى امراض تهدد الحياة . (Koboyshi *et al*.,2015)

أن عزل بكتريا *Klebsiella pneumoniae* , *Strept. pyogenes* , *Pseudomonas aeruginosa* , *E. coli* ضمن الدراسة الحالية من الاشخاص الاصحاء لايعد أمرا غريبا ، إذ تتواجد هذه الانواع البكتيرية في انسجة الطيات الجلدية للانسان كنبيت طبيعي (Cogen *et al*.,2008) ، فائدة تواجد هذه الاحياء طبيعيا على جلد الانسان تتبين من خلال اعاقة الميكروبات المرضية لأستيطان سطوح الانسجة ومنافستها على المواد الغذائية ،الانها احيانا تكون انتهازية عند تو فر ظروف معينة وتصبح مرضية عند زيادة اعدادها فوق المستوى الطبيعي او عند تغير موقعها الطبيعي من الجسم (Jawetiz *et al*.,2016) .

جدول (4-1) انواع البكتريا المعزولة من جلد الاشخاص الاصحاء

اسم البكتريا	العدد	النسبة المئوية(%)
S. epidermidis	11	33.2
S. aureus	6	18.2
P. aeruginosa	5	15.6
E. coli	4	12
Strep. pyogenes	4	12
Klebsiella pneumoniae	3	9
Total	33	100

4-2 الانواع البكتيرية المعزولة من الاخماج الجلدية

Types of bacteria isolated from Cutaneous infections

4-2-1 العزل Isolation

أخذت مسحات من 150 مريض مصاب بأخماج جلدية مختلفة شملت32 مسحة لاخماج النسيج الخلوي Cellulitis و 32 مسحة لاخماج بصيلة الشعرة Folliculitis و 34 مسحة لاخماج القوباء المعدي Impetigo و 52 مسحة لاخماج الدمامل Boils من العيادة الاستشارية لمستشفى بعقوبة التعليمي من بداية شهر ايلول 2018 الى نهاية شهر كانون الثاني 2019 وبأعمار تراوحت بين (1-75) سنة وللجنسين كليهما ، إذ بينت النتائج الزرعية و الاختبارات التشخيصية للعينات بأن 80 عزلة بنسبة 51.3% تنتمي لمجموعة البكتريا السالبة لصبغة كرام Gram negative من المجموع الكلي للعزلات البالغ 156 عزلة بكتيرية وهي الاكثر عزلا لاخماج الجلد و 76 عزلة بنسبة 48.7% تعود لمجموعة البكتريا الموجبة لصبغة كرام Gram positive جدول (4-2) .قد يعود سبب سيادة عزلات البكتريا السالبة لصبغة كرام في الاخماج الجلدية الى كثرة مقاومتها للمضادات الحيوية والى عوامل الضراوة التي تملكها مثل الذيفانات الداخلية Endotoxins التي تعد كمادة سامة متواجدة في خلاياها ضمن جدرانها الخارجية والتي تتحرر بعد دخول الجراثيم الى مجرى دم المضيف.

جدول (4-2) توزيع العزلات البكتيرية حسب نوع صبغة گرام

نوع الصبغة	عدد العزلات	النسبة المئوية(%)
موجبة لصبغة غرام Gram –positive	76	48.7
سالبة لصبغة غرام Gram-negative	80	51.3
المجموع الكلي	156	100

تضمنت العـزلات الموجبـة لصبغـة گـرام علـى 34 عزلـة وبنسبـة 44.7 % *S. aureus*، 19 عزلـة بنسبة 25% *S. epidermidis*، 11عزلـة بنسبة 14.5% *S. pyogenes*، 6 عزلات بنسبة 7.9% *S. viridans*، 4 عزلات بنسبة 5.3% *S. agalactiae* وعزلتين بنسبة 2.6% *Actinomycetes sp.* جدول (4-3).

جدول (4- 3) الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة گرام المعزولة من الاخماج الجلدية ونسبها المئوية

العزلات البكتيرية	التهاب النسيج الخلوي		القوباء المعدي		الدمامل		التهاب بصيلة الشعرة		المجموع	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
S. aureus	7	20.5	14	41.2	9	26.5	4	11.8	34	100
S. epidermidis	3	15.8	5	26.3	7	36.8	4	21.1	19	100
Strep. pyogenes	5	45.4	1	9.1	4	36.4	1	9.1	11	100
Strep. viridans	2	33.3	1	16.7	2	33.3	1	16.7	6	100
Strep. agalactiae	0	0	2	50	1	25	1	25	4	100
Actinomycetes	0	0	2	100	0	0	0	0	2	100
Total	17	22.4	25	32.9	23	30.3	11	14.4	76	100

بينت نتائج الدراسة الحالية ان البكتريا الاكثر عزلا هي *S. aureus* إذ عزلت بنسبة 44.7% من مجموع العزلات البالغ عددها 34 عزلة ،وعلى الرغم من عزلها بشكل طبيعي من جلد الاشخاص الاصحاء الا انها السائدة في الاخماج الجلدية وهذا يتفق مع دراسة Ji واخرون (2018)، إذ بين ان اغلب الاخماج الجلدية كانت بسبب هذه البكتريا التي تصيب كلا من الجلد والانسجة الرخوة

لجسم المضيف ،كما اتفقت مع ما توصل اليه الباحث Masika واخرون (2018)، إذ سجلت بكتريا *S. aureus* اعلى نسبة عزل 54% .

قد يعزى سبب سيادة *S. aureus* الى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة ،إذ تحدث الاصابات عن طريق ملامستها لسطح الانسجة الجلدية للعائل اوعن طريق الخدوش Abrasions او الجروح Wounds فتفرز عدد من الانزيمات منها الانزيم المحلل للدهون Lipase وانزيم Hyaluronidase الذي يساعدها على الانتشار وتحطيم المادة الاساس للنسيج الرابط فتحدث خللا واضطرابا في هذه الانسجة (Janstova *et al*.,2012).

عزلت 19 عزلة لبكتريا *S. epidermidis* وبنسبة 25% من مجموع العزلات الكلي حيث فاقت نسبتهاعن مجموعة السيطرة ويعزى سبب ذلك الى كونها بكتريا انتهازية عند توفر الظروف المناسبة تسبب الخمج وامتلاكها لعدةعوامل ضراوة تتمثل بقدرتهاعلى انتاج الغشاء الحيوي Biofilmوالطبقة اللزجة Slime layer بالاضافة الى افرازها الذيفانات Toxins والانزيمات الخارجية Exoenzymes ومضخات الدفق Efflux pump (Namvar *et al*.,2014)، ولا تتفق مع دراسة زين العابدين و خورشيد (2017) إذ عزلت بنسبة 9.3% من مجموع العزلات الكلي.

عزلت 11عزلة لبكتريا *S. pyogenes* من الاخماج الجلدية بنسبة 14.5% من مجموع العزلات الكلي وهذا يتفق مع دراسة الجبوري والشواني (2015) ، ولا تتفق مع ما اشار اليه الباحث Bzdil واخرون (2016) ،ويعود سبب قابليتها على احداث مدى واسع من الامراض الى امتلاكها للعديد من عوامل الضراوة مثل المحفظة Capsule والبروتينات السطحية Surface proteins للجدار الخلوي (Borek *et al*.2012).

شملت العزلات السالبة لصبغة گرام Gram negative 29 عزلة بكتيرية بنسبة 36.3% تعود لبكتريا *P. aeruginosa* ،18عزلة بنسبة 22.5% *E. coli* ،15عزلة بنسبة 18.7% *Proteus mirabilis* ،14عزلة بنسبة17.5% *Klebsiella pneumoniae* و4 عزلات بنسبة 5% *Morganella morganii* الجدول (4-4).

جدول (4-4) الانواع البكتيرية السالبة المعزولة من الاخماج الجلدية ونسبها المئوية

العزلات البكتيرية	التهاب النسيج الخلوي		القوباء المعدي		الدمامل		التهاب بصيلة الشعرة		المجموع	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
P. aeruginosa	9	31	6	20.7	4	13.8	10	34.5	29	100
E. coli	3	16.7	4	22.2	6	33.3	5	27.8	18	100
Proteus mirabillis	5	33.3	3	20	4	26.7	3	20	15	100
Klebsiella pneumoniae	5	35.7	2	14.3	4	28.6	3	21.4	14	100
Morganella morganii	1	25	0	0	2	50	1	25	4	100
Total	23	28.8	15	18.7	20	25	22	27.5	80	100

بينت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا *P. aeruginosa* هي الاكثر عزلا بالنسبة للبكتريا السالبة لصبغة گرام وهذا يتفق مع ما توصل اليه الباحث Yongsoon واخرون (2018) إذ سجلت اعلى نسبة عزل بمقدار 76% ،كما اتفقت مع دراسة الباحثان حسين وعبيد (2017) التي اجريت في العراق وبلغت البكتريا اعلى نسب العزل بمقدار 74.6%، وقد يعزى سبب ضراوة هذه البكتريا الى كونها من الممرضات الغازية Invasive pathogens التي تغزو الجلد والانسجة الرخوة وتسبب الاخماج الجلدية ولامتلاكها العديد من عوامل الضراوة المختلفة التي تمكنها من مقاومة المضادات الحيوية كانتاج الانزيمات والذيفانات مثل انزيمات البيتالاكتميز المعدنية Metallo β-lactamases وانزيمات واسعة الطيف Extended Spectrum β-lactamases (Zafer *et al*.,2014;Shaikh *et al*.,2015) ،بالاضافة الى انتاج الغشاء الحيوي الذي يقاوم المضادات الحيوية وعملية البلعمة Phagocytosis وهو مسؤول عن الاحتفاظ بالمواد الغذائية والماء في الظروف البيئية الصعبة (Wei and Ma,2013).

عزلت 18عزلة لبكتريا *E. coli* وبنسبة 22.5% من مجموع العزلات الكلي وهذا يتفق مع دراسة Kamal وGhodge (2016) ،إذ عزلت بنسبة 21% من مجموع العزلات الكلي البالغ 300 عزلة ، ولاتتفق مع ما جاء به الباحثان زين العابدين و خورشيد (2017) إذ عزلت بنسبة 8.13% ،يعزى سبب امراضية *E. coli* الى امتلاكها للعديد من عوامل الضراوة مثل احتواء

الجدار الخلوي على شعيرات متعددة الدهون Lipopolysaccharide و المحفظة Capsule بالاضافة الى اعضاء الالتصاق Fimbriae التي لها دور في الالتصاق على سطح خلية العائل وغزو نسيج العائل (Emody *et al*.,2003)،وبالرغم من كون بعض انواعها تتواجد كنبيت طبيعي Normal flora الا انها تصبح انتهازية عند توفر الظروف المناسبة مثل ضعف مناعة المضيف وسوء التغذية (Bischoff *et al*.,2002).

عزلت 15 عزلة لبكتريا *Proteus mirabilis* و بنسبة 18.7% من الاخماج الجلدية وهذه النتيجة لم تتفق مع ما توصل اليه الباحثان زين العابدين و خوررشيد (2017) إذ عزلت بنسبة 2.3% ،ويعزى سبب امراضيتها واحداث الخمج الى امتلاكها مضخات الدفق Efflux-pumps اضافة الى قابليتها على انتاج انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف وامتلاكها لظاهرة الانثيال Swarming phenomenon (Tokajian *et al*.,2012)، في حين عزلت 14عزلة تعود الى *Klebsiella pneumoniae* وبنسبة 17.5% من مجموع العزلات الكلي ،وجاءت هذه النتيجة متفقة مع دراسة زين العابدين و خورشيد (2017) إذ عزلت بنسبة 17.4% ويعزى سبب ضراوتها الى قدرتها على انتاج انزيم اليوريز Ureaseبالاضافة الى امتلاكها المحفظة Capsule التي تكسبها خاصية اللزوجة والمقاومة ضد الاليات الدفاعية للمضيف (Alvarez *et al*.,2000).

اما بكتريا *Morganella morganii* فقد عزلت 4 عزلات فقط من الاخماج وبنسبة 5% ،وجاءت هذه النتيجة مقاربة لدراسة Liu واخرون (2016) حيث عزلها بنسبة 7.9% ، و يعزى سبب امراضيتها الى قابليتها على التكيف للتغير في الظروف البيئية والتنافس مع الاحياء المجهرية الاخرى ومقاومتها للمضادات الحيوية .

2-2-4 التشخيص Identification

شخصت العزلات البكتيرية المعزولة من الاخماج الجلدية اعتمادا على صفاتها المظهرية على الاوساط الزرعية و صفاتها المجهرية وتلونها بصبغة گرام والفحوصات الكيموحيوية Biochemical test ، وأكد التشخيص باستخدام Api 20 E لافراد العائلة المعوية السالبة لصبغة گرام ،كما تم عزل البكتريا الموجبة لصبغة گرام اعتمادا على صفاتها المجهرية من خلال ملاحظة ترتيب الخلايا واشكالها ،فظهرت انواع *Staphylococcus spp*. بالفحص المجهري بشكل كروي وتنتظم خلاياها بشكل يشبه عناقيد العنب Grap like shape (Forbes,2007)، ظهرت المستعمرات على وسط الدم الصلب Blood Agar لماعة ذات منطقة تحلل حول المستعمرة وبحجم متوسط الى كبيرة ، وظهرت *Staph. aureus* على وسط المانيتول الملحي الصلب Manitol

Salt Agar بلون اصفر ذهبي ويعود سبب ذلك الى قدرتها على تخمر سكر المانيتول و بذلك يعد وسطا تفريقيا بين *Staph. aureus* و *Staph. epidermidis* غير المخمرة لسكر المانيتول (Gillespiy and Howkey,2006). بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية أن جميع عزلات المكورات العنقودية أعطت نتائج موجبة لفحص الكاتليز Catalase ، و أبدت عزلات *Staph. aureus* نتائج ايجابية لفحص انتاج انزيم التخثر Coagulase في حين كانت العزلات التابعة لنوع *Staph. epidermidis* قد اعطت نتائج سلبية لهذا الفحص (Forbes,2007) .

ظهرت بكتريا *Strept. pyogenes* باشكال كروية ذات سلاسل طويلة او قصيرة او بشكل ازواج بالفحص المجهري ، وأعطت تحلل كامل حول المستعمرات عند تنميتها على وسط الدم الصلب ،وأبدت نتيجة سلبية لفحص الكاتليز (Carapetis *et al*.,2005) .

بينما ظهرت *Strept. viridans* على شكل سلاسل من كريات مستديرة لاتحتوي على كبسولة بالفحص المجهري ،وهي من نوع α-hemolytic عند تحلل كريات الدم الحمر الى اللون الاخضرتحلا جزئيا Green partial hemolysis بتنميتها على وسط الدم الصلب و يعود سبب ذلك الى تحلل مادة البيليروبين Bilirubin ، البكتريا مقاومة لمضاد Optochin وهذامايميزها عن *Strept. pneumoniae* الحساسة لهذا المضاد،وذات نتيجة سالبة لفحص الكاتليز Catalase.

أما بكتريا *Strept. agalactiae* فهي من نوع β– hemolytic ، إذ تسبب تحلا كاملا لخلايا الدم الحمراء Clear complete hemolysisعند تنميتها على وسط الدم الصلب ،وتقاوم مضاد Bacitracin وهذا ما يميزها عن *Strept. pyogenes* الحساسة لهذا المضاد، وبالنسبة للاكتينومايسيتات*Actinomycetes* فقد شخصت بالفحص المجهري إذ ظهرت بشكل عصوي Rod متفرعة ومتعددة الاشكال Polymorphic ،والجدول (4-5) يوضح الاختبارات التشخيصية للبكتريا الموجبة لصبغة گرام.

جدول (4-5) الاختبارات الكيموحيوية للبكتريا الموجبة لصبغة گرام

نوع البكتريا / نوع الاختبار	*Staph. aureus*	*Staph. epidermidi*	*Strept. pyogenen*	*Strept. viridans*	*Strept. agalactiae*	*Actinomyc etes*
صبغة گرام	+	+	+	+	+	+
اختبار الكاتليز	+	+	–	–	–	/

اختبار الاوكسيديز	–	–	–	–	–	/
اختبار مخثر البلازما	+	–	–	–	–	/
اختبار تخمر المانيتول	+	–	–	–	–	/
مضاد Bacitracin	/	/	S	/	R	/
التحلل Hemolysis	/	/	β- hemolytic	α- hemolytic	β- hemolytic	/

العلامات تعني: **(+)** فحص ايجابي ،**(-)** فحص سلبي ،**(R)** Resistant (**S**) Sensitive، **(/)** لم تخضع للاختبار

شخصت العزلات السالبة لصبغة گرام اعتمادا على الصفات المظهرية والفحوصات المجهرية والكيموحيوية ، إذ تم الاعتماد على شكل المستعمرات وقوامها اضافة الى قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز على وسط الماكونكي الصلب، فظهرت مستعمرات *P.aeruginosa* بحجم كبير وذات رائحة مميزة تشبه رائحة العنب المتخمرو بلون رمادي على وسط الدم الصلب، وغير مخمرة لسكر اللاكتوز في وسط الماكونكي الصلب (Carroll *et al.*,2016) ، واعطت نتيجة موجبة لفحصي الاوكسيديز Oxidaseوالكاتليز Catalase ولها القدرة على اختزال السترات Citrate وسالبة لفحصي الاندول Indol واليوريز Urease وغير منتجة لغاز H_2S . (Anthony *et al.*,2014)

كانت مستعمرات *E. coli* متوسطة الحجم وجافة ،صلبة ،محدبة ،وظهرت بلون وردي على وسط الماكونكي الصلب ويعزى سبب ذلك الى قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز في الوسط ،في حين اعطت نتائج ايجابية لفحصي الكاتليز Catalase والاندول Indol ، لكن ليس لها القدرة على استهلاك السترات وغير منتجة لغاز H_2S (Chees,2012).

شخصت مستعمرات *Proteus mirabilis* اعتمادا على ظاهرة الانثيال Swarming phenomenon على وسط الدم الصلب كصفة تشخيصية اولية ، ولعدم قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز ظهرت بلون اصفر شاحب على وسط الماكونكي الصلب ،اعطت نتائج ايجابية لفحصي الكاتليز Catalase واليوريز Urease وسالبة لفحص الاندول Indolوالسترات Citrate و منتجة لغاز H_2S ومتحركة (Carrey *et al.*,2013).

اما مستعمرات *Klebsiella pneumoniae* فقد شخصت على وسط الماكونكي الصلب إذ كانت مستعمراتها وردية اللون لقدرتها على تخمر سكر اللاكتوز في الوسط ،وتكون ذات قوام مخاطي لاحتواءها على المحفظة Capsule ،اعطت نتائج سالبة لفحص الاندول و نتيجة ايجابية لفحص السترات ، لاتنتج غاز H_2S وغير متحركة (Magesh *et al*.,2011).

اعطت نتائج الفحوصات الكيموحيوية لمستعمرات *Morganella morganii* نتائج ايجابية لفحص الاندول Indol واليوريز Urease والحركة Motility ونتائج سلبية لفحصي السترات Citrate وانتاج غاز H_2S .والجدول (4-6) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية للعزلات السالبة لصبغة گرام .

جدول (4-6) الاختبارات الكيموحيوية للعزلات السالبة لصبغة گرام

نوع الاختبار / نوع البكتريا	*Pseudomonas aeruginosa*	*E. coli*	*Proteus mirabilis*	*Klebsiella pneumoniae*	*Morganella morganii*
صبغة گرام	_	_	_	_	_
اختبار انتاج الاوكسيديز	+	_	_	_	_
اختبار انتاج الكاتليز	+	+	+	+	+
اختبار انتاج الاندول	_	+	_	_	+
اختبار انتاج اليوريز	_	_	+	+	+
اختبار استهلاك السترات	+	_	-/+	+	_
اختبار الحركة	+	+	+	_	+
اختبار استهلاك السكريات الثنائية وانتاج غاز H2S وانتاج غاز CO_2	K/A H_2S _ CO_2 _	A/A H_2S _ CO_2 +	K/A H_2S + CO_2 _	K/K H_2S _ CO_2 _	K/A H_2S _ CO_2 _

العلامـــات تعنـــي :**(+)** فحـــص ايجـــابي ، **(-)** فحـــص ســـلبي ، **(+/-)** متغـــايرة ، A=Acid، K=Alkaline

3-4 توزيع مرضى الاخماج الجلدية حسب الجنس

بينت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة الذكور المصابين بالاخماج الجلدية اكبر من نسبة الاناث إذ بلغ عدد الذكور المصابين 87 بنسبة 58% ،في حين كان عدد الاناث 63 بنسبة 42% من مجموع المصابين الكلي البالغ 150 جدول (4-7) وبفرق معنوي ($P<0.01$)، أتفقت هذه النتيجة مع نتائج دراسة Ugwu (2013) في اليابان التي بينت بان اعلى نسبة قد سجلت كانت للمرضى الذكور بمقدار 76.6 % وللاناث بنسبة 68.6%، بالاضافة الى ذلك أتفقت مع نتائج الباحث Al-zoubi (2015) التي اجريت في الاردن ، واتفقت مع ما توصل اليه الباحث Masika واخرون (2018)،ان سبب اختلاف نسبة الاصابة بين الذكور والاناث قد يعود الى كمية ونوعية النبيت الطبيعي في اجسام الجنسين المختلفين اضافة الى اختلاف طريقة جمع العينات او بسبب تعرض الذكور بشكل يومي للملوثات البيئية حسب طبيعة العمل ،النشاط الهرموني والبدني ، الحالة النفسية مثل القلق والتوتر والحالة الصحية وسوء النظافة الشخصية والتركيب الجيني للشباب الذكور ومشاركة الادوات الشخصية كمكائن الحلاقة عند الحلاقين ونوعية التغذية، كل هذه العوامل تساعد على زيادة عدد المصابين الذكور مقارنة بالاناث (Joshua *et al*.,2017). لاتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة Mason واخرون (2016) في جزيرة سليمان إذ كانت نسبة الذكور المصابة 42.2% ونسبة الاناث 57.8%.

جدول (4-7) توزيع مرضى الاخماج الجلدية وفق الجنس

الجنس	عدد العينات	النسبة المئوية(%)
الذكور	87*	58
الاناث	63	42
المجموع	150	100

(*) تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.01$)

4-4 توزيع الاصابة حسب الفئات العمرية لكلا الجنسين

تناولت الدراسة الحالية المرضى لكلا الجنسين وباعمار تراوحت بين (1-75) سنة وكما هو موضح في جدول (4-8) ،إذ تبين ان الفئة العمرية (1-15) سنة تشكل اعلى نسبة اصابة في الذكور بعدد 30 وبنسبة 34.5% مقارنة مع الفئات العمرية الاخرى ، و كذلك للاناث بعدد 27 وبنسبة 42.9% وبوجود فرق معنوي($P<0.05$) مقارنة مع الفئات العمرية الاخرى والتي تعود للجنس نفسه. قد يعود السبب الى ان المرضى بعمر (1-15) سنة والتي تشمل فئة الاطفال الرضع والاطفال في سن المدرسة يكون لهم زيادة في النشاط البدني والهرموني اكثر من غيرهم من الفئات العمرية ، كذلك العوامل الاقتصادية و سوء النظافة الشخصية والمستوى التعليمي وعامل الدخل اضافة الى الازدحام السكاني لافراد الاسرة او الاستخدام السيء للمحاقن الطبية للعلاج، كل ذلك يفسر الاصابة العالية لهذه الفئات العمرية (Joshua *et al.*,2017).اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماجاء به الباحث Mason واخرون (2016) إذ بين ان الفئة العمرية (5-14) سنة هي الاكثر عرضة للاصابة بنسبة 43.9% مقارنة بالفئات العمرية الاخرى.

جدول (4-8) توزيع مرضى الاخماج الجلدية على وفق الفئات العمرية لكلا الجنسين

الجنس	الاعمار (العدد/النسبة المئوية)					المجموع الكلي
	(1-15)*	(16-30)	(31-45)	(46-60)	(61-75)	
الذكور	30 (%34.5)	23 (%26.4)	20 (%23)	12 (%13.8)	2 (%2.3)	87 (%100)
الاناث	27 (%42.9)	21 (%33.4)	4 (%6.3)	5 (%7.9)	6 (%9.5)	63 (%100)
المجموع	57 (%38)	44 (%29.3)	24 (%16)	17 (%11.4)	8 (%5.3)	150 %100

(*) تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($P<0.05$)

5-4 حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

درست حساسية *Staph. aureus* الموجبة لصبغة كرام والبالغ عددها 34 عزلة و *P. aeruginosa* السالبة لصبغة كرام و البالغ عددها 29 عزلة و التي تم عزلهما من الاخماج الجلدية البالغ عددها الكلي 156عزلة بكتيرية لخمسة وعشرون مضادا حيويا بحسب طريقة Kirby-Bauer ،حددت الحساسية اعتمادا على قياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone لاقراص

المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وقورنت مع ما ورد في CLSI (2018) . تم اختبار حساسية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph. aureus* تجاه 18 مضاد حيوي كما مبين في جدول (4-9)، إذ أظهرت كافة العزلات مقاومة عالية بنسبة 100% لمضاد Penicillin G وهذا يتفق مع ما توصلت اليه نتائج الباحث Masika واخرون (2018)، يعزى سبب المقاومة العالية الى امتلاك البكتريا انزيمات البيتالاكتاميز المحللة لمجموعة البنسلينات والتي تكون جيناتها اما كروموسومية او بلازميدية المنشأ.كما تنتج هذه البكتريا البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs) الموجودة في الغشاء السايتوبلازمي الذي يرتبط بجدار الخلية ،وهذه البروتينات تعد هدفا لكل من مضادات مجموعتي البنسلينات والسيفالوسبورينات ،إذ انها تغير موقع الهدف لمضادات البيتالاكتام مما تنتج المقاومة البكتيرية لها (Fuda *et al*.,2004).أن كمية البروتينات الرابطة للبنسلين لا ترتبط كليا بالمقاومة لمضادات البيتالاكتام إذ إن وجود الجين *mecA* الذي يشفر الى انتاج البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs) التي تعمل على تقليل الفة الارتباط بمضادات البيتالاكتام ، ويعد العامل الاساسي لزيادة نسبة مقاومة البكتريا لمضادات البيتالاكتام (Assadullah *et al*.,2003) ، فضلا عن ذلك ابدت العزلات مقاومة عالية تجاه مضاد Ceftriaxone بنسبة 94.2% ، اتفقت هذه النتيجة مع نتائج الباحث التميمي (2012) ويعزى سبب ذلك الى احتمالية تطوير سلالات مقاومة لهذه المضادات من خلال انتاجها لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف التي تعمل على ابطال فاعلية مضادات البيتالاكتام عن طريق كسر حلقة البيتالاكتام في مجموعة البنسلينات والسيفالوسبورينات (Jacoby and Munoz-Price,2005) ، كما ابدت العزلات مقاومة متفاوتة تجاه المضاداتTrimethoprimوAmoxicillin/Clavulanic acid وAmpicillin/Sulbactam بنسب (76.5% ،76.5% ،67.6%) على الترتيب، اتفقت نتائج دراستنامع ما توصلت اليه دراسة AlSa'adi (2017) ويعزى سبب المقاومة لهذه المضادات الى التغير في نفاذية الغشاء الخارجي للبكتريا مثل افراز انزيمات البيتالاكتميز وانظمة مضخات الدفق (Livermore,2002)، اضافة الى ذلك فان Amoxicillin يؤثر على عملية تصنيع جدار الخلية البكتيرية ،اما Clavulanic acid فله القدرة على تحطيم انزيم Pencillinase (التميمي،2013)، في حين اظهرت غالبية العزلات تحسسا تجاه مضادات Pipracillin/Tazobactam ، Gentamicin ، Amikacin ، Norfoloxacin ، Ofloxacin بنسب (79.4%،85.3%،76.5%،88.2%،91.2%) على الترتيب ،اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Yadav واخرون (2016). كما ابدت كل العزلات تحسسا لمضادات Imipenemو Meropenemو Vancomycin بنسبة 100%،اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه Hasan و Ismael(2018)، يعد مضاد الفانكومايسين من المضادات واسعة الطيف ذات التاثير الفعال على العديد من الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام

اضافة الى ذلك مضادي Imipenem و Meropenem اللذان يعودان لمجموعة Carbapenems من المضادات واسعة الطيف (Broad spectrum) ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة گرام ذات فاعلية ضد العديد من مسببات امراض الجلد والانسجة الرخوة إذ تعمل على تحطيم انزيمات البيتالاكتميز(Douglas,2016).

جدول (4-9) نتائج فحص حساسية بكتريا *S. aureus* للمضادات الحيوية

المضادات الحيوية	*S. aureus* العدد الكلي = 34			
	العزلات الحساسة		العزلات المقاومة	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
Penicillin G	0	%0.00	34	%100
Ceftriaxone	2	%5.8	32	%94.2
Trimethoprim	8	%23.5	26	%76.5
Ampicillin/Sulbactam	11	%32.4	23	%67.6
Oxacillin	14	%41.2	20	%58.8
Augmentin/Sulbactam	16	%47	18	%53
Gentamicin	29	%85.3	5	%14.7
Amoxicillin/Clavulanic acid	8	%23.5	26	%76.5
Amikacin	26	%76.5	8	%23.5
Pipracillin/Tazobactam	27	%79.4	7	%20.6
Ciprofloxacin	18	%52.9	16	%47.1
Ofloxacin	31	%91.2	3	%8.8
Vancomycin	34	%100	0	%0.00
Nitrofurantoin	14	%41.2	20	%58.8
Azithromycin	20	%58.8	14	%41.2
Norfloxacin	30	%88.2	4	%11.8
Imipenem	34	%100	0	%0.00
Meropenem	34	%100	0	%0.00

تم اختبار حساسية بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* تجاه 17 مضادا حيويا جدول (4-10) ، إذ ابدت عزلات *P. aeruginosa* مقاومة عالية تجاه مضادات البيتالاكتام إذ كانت نسبة المقاومة لمضاد Ampicillin 100% ،يعود سبب هذه المقاومة الى

تغير في تركيب البروتينات الرابطة للبنسلين Penicillin Binding Protiens(PBPs) او الى انتاج انزيمات البيتالاكتميز التي لها القدرة على مهاجمة طيف واسع من مضادات البيتالاكتام (Abdullah and Mahdi,2016) ، اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه زين العابدين وخورشيد (2017) ، في حين ابدت العزلات مقاومة مختلفة تجاه مضادات Ceftriaxone,Trimethoprim,Aztreonam,Norfloxacin,Ciprofloxacin, Cefotaxime, Chloramphenicol, Ceftazidime، اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه Khaled واخرون (2018) وما توصل اليه Zeb واخرون (2017)، ويعزى سبب المقاومة المتعددة الى وجود جينات المقاومة بشكل مجاميع Clusters والتي قد تنتقل سوية الى الخلية المستلمة بوساطة عناصر خاصة من DNA تعرف Integrons تقع على البلازميد او الكروموسوم الجرثومي ويمكن تقييد Capture الجينات التي تشفر للمقاومة عن طريق عملية اعادة الاتحاد Recombination إذ يمكن Integrons من الالتصاق على Gene cassette واحد او اكثر ضمن مواقع ارتباطه وبذلك تتكون مجاميع من جينات المقاومة للمضادات الحيوية ومضادات البيتالاكتام(Yalda *et al*.,2011).في حين ابدت غالبية العزلات تحسسا تجاه مضادات Piperacillin/Tazobactam و Ofloxacin بنسبة(86.2% ،79.3%) على الترتيب، وهذا يتفق مع ما توصلت اليه دراسة عبد الله ومهدي (2015) ، وابدت جميع العزلات تحسسا عاليا لمضادي Meropenemو Imipenem بنسبة 100% ، اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصلت اليه دراسة زين العابدين واحمد (2015)،ويعزى سبب ذلك الى كونها من المضادات واسعة الطيف ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة گرام ،فضلا عن ذلك ان هذه المضادات مستعملة حديثا ويقتصر استخدامها على المرضى الراقدين في المستشفى فقط لان تداولها يجب ان يكون بوساطة المحلول الفسيولوجي Normal saline وريديا ولمدة زمنية محددة من قبل الطبيب المعالج ،ويعد هذا احد اسباب حساسية البكتريا لها .

جدول(4-10) نتائج فحص حساسية بكتريا *P. aeruginosa* للمضادات الحيوية

المضادات الحيوية	*P. aeruginosa* العدد الكلي = 29			
	العزلات الحساسة		العزلات المقاومة	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
Ampicillin	0	%0.00	29	%100
Imipenem	29	%100	0	%0.00
Meropenem	29	%100	0	%0.00
Pipracillin/Tazobactam	25	%86.2	4	%13.8
Ceftriaxone	4	%13.8	25	%86.2
Trimethoprim	3	%11.3	26	%89.7
Amikacin	18	%62.1	11	%37.9
Aztreonam	6	%20.6	23	%79.4
Cefepime	17	%58.6	12	%41.4
Gentamicin	12	%41.4	17	%58.6
Tobramycin	11	%38	18	%62
Ofloxacin	23	%79.3	6	%20.7
Norfloxacin	9	%31	20	%69
Ciprofloxacin	4	%13.8	25	%86.2
Ceftazidime	9	%31	20	%69
Chloramphenicol	10	%34.5	19	%65.5
Cefotaxime	5	%17.2	24	%82.8

6-4 الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

Detection of extended spectrum-β-lactamase

تم الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بطريقة الاقراص المتاخمة Disk approximation، إذ تعد النتيجة موجبة عند حدوث اتحاد في منطقة التثبيط بين قرص المضاد

المركزي Augmentin واحد اقراص مضادات Aztreonam, Cefotaxime وCeftriaxone صورة رقم (4-1)،أظهرت النتائج المبينة في جدول (4-11) ان 7 عزلات بكتيرية بنسبة 20.6%من مجموع 34 عزلة تعود لبكتريا *S. aureus* منتجة لهذه الانزيمات وهذا يتفق مع ما توصلت اليه الباحثة السعدي (2017) إذ بلغت نسبة العزلات المنتجة لهذه الانزيمات 19.04% . في حين ابدت 23 عزلة بكتيرية بنسبة 79.3%من مجموع 29عزلة تعود لبكتريا *P. aeruginosa* انتاجها لانزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف، اتفقت نتائج دراستنا مع ما توصل اليه عبد الله ومهدي (2016) إذ بلغت نسبة العزلات المنتجة لهذه الانزيمات 80% .

يعتمد انتشار السلالات المنتجة لانزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف Extended Spectrum -β- lactamase في بيئة المستشفيات على معدل النقل للسلالات المنتجة بين الاشخاص الراقدين والعاملين في المستشفيات ،وطريقة استعمال المضادات ،ونوع التعقيم المستخدم في وحدة العناية المركزة (Sorajamma and Ramakrishna,2011).

صورة رقم (4-1) البكتريا المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

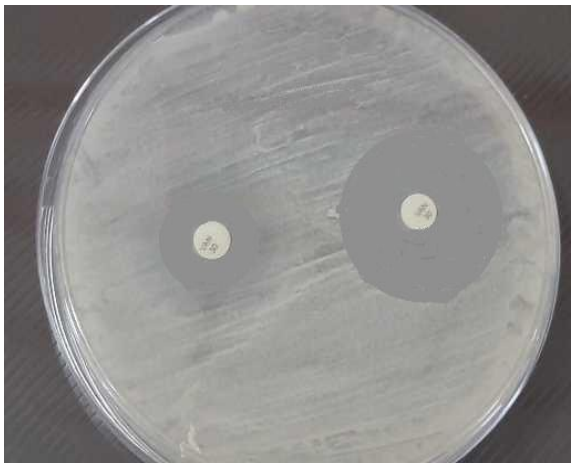
جدول (4-11) قابلية العزلات البكتيرية على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

البكتريا	عدد العزلات الكلي	العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف	
		العدد	النسبة المئوية(%)
Staph. aureus	34	7	%20.6
P. aeruginosa	29	23	%79.3

7-4 انتاج انزيمات البيتالاكتميز المعدنية Production of metallo-β-lactamase

أستخدمت طريقة اتحاد مضاد الامبينيم Imipenem مع EDTA للكشف عن انزيمات البيتالاكتميز المعدنية للعزلات البكتيرية صورة رقم (4-2)، اظهرت نتائج الدراسة الحالية كما هو موضح في جدول (4-12) ان 8 عزلات من مجموع 34 عزلة بنسبة 23.5% تعود لبكتريا *Staph. aureus* منتجة لانزيمات البيتالاكتميز المعدنية ، اتفقت دراستنا مع ما توصلت اليه نتائج دراسة السعدي (2017) إذ بلغت نسبة العزلات المنتجة لهذه الانزيمات 23.8% .كما كانت 7 عزلات من مجموع 29 عزلة بنسبة 24.1% تعود لبكتريا *P. aeruginosa* منتجة لهذه الانزيمات ، اتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه Wadekar واخرون (2015) ،إذ كانت نسبة العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتميز المعدنية 23.5% و اقتربت من نتائج الباحثان Bakhtyiar و Kamal (2019) إذ بلغت نسبة العزلات المنتجة لهذه الانزيمات 28%.

تستطيع انزيمات البيتالاكتميز المعدنية تحليل جميع مضادات البيتالاكتام تقريبا ، ولا يوجد مثبطات لهذه الانزيمات و ان الجينات المشفرة لها تستطيع الانتقال من بكتريا الى اخرى بسهولة خلال انتقال الجين الافقي Horizontal gene transfer مما يجعلها اكثر اهمية من اليات المقاومة للمضادات الحيوية الاخرى وهذا ما يجعل انزيمات البيتالاكتميز المعدنية مهددة لصحة الانسان (Anwar *et al*.,2016).



صورة رقم (4-2) البكتريا المنتجة لانزيمات البتالاكتاميز المعدنية

جدول (4-12) قابلية العزلات البكتيرية على انتاج انزيمات البيتالاكتميز المعدنية

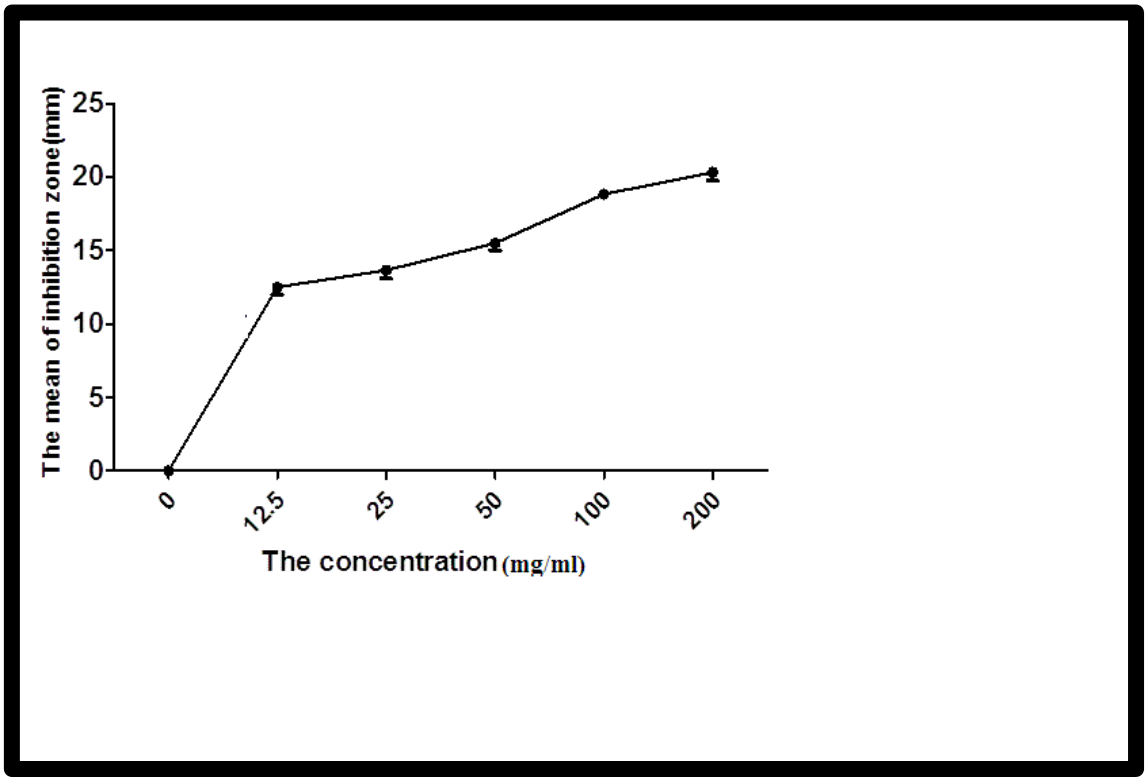
البكتريا	عدد العزلات الكلي	العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز المعدنية	
		العدد	النسبة المئوية
S. aureus	34	8	%23.5
P. aeruginosa	29	7	%24.1

8-4 اختبار الفاعلية التثبيطية لنباتي العفص *Cupressus sempervirens* L. والخروع *Ricinus communis* L.

اختبرت فاعلية مستخلصات نباتي العفص والخروع على بكتريا *S. aureus* و *P.aeruginosa* لدورهما المؤثرفي الاخماج الجلدية وذلك باستخدام طريقة الانتشار في الحفر بالغراء Agar well-diffusion method.

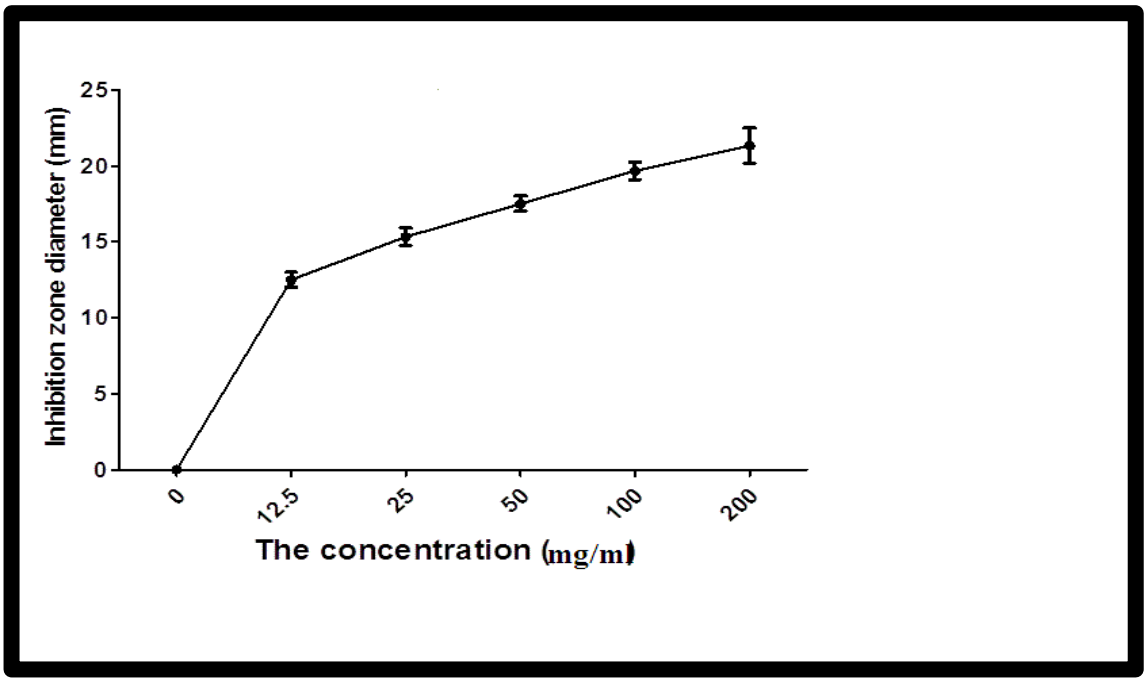
1-8-4 تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *S.aureus*

بينت النتائج ان المستخلص المائي الحار لنبات العفص يمتلك فاعلية عالية ضد بكتريا *S.aureus* عند تركيز 200 ملغم /مل إذ بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 20.3 ملم ،تليها التراكيز (25,50,100) ملغم/مل وبمعدل اقطار تثبيط (13.6,15.7,18.6) ملم على الترتيب، بينما كان الاقل تاثيرا عند التركيز 12.5ملغم/مل إذ بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 12.4ملم ،ولوحظ انه يوجد فرق معنوي ($P<0.05$) في اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة جدول (4-13) شكل (4-1).



شكل (4-1) تأثير المستخلص المائي الحار لنبات العفص على بكتريا *S. aureus*

فضلا عن ذلك اوضحت النتائج ان المستخلص الكحولي لنبات العفص يمتلك تاثيرا تثبيطيا على بكتريا *S. aureus* بمقدار21.6 ملم عند تركيز 200 ملغم/مل ،تليها التراكيز (25,50,100) ملغم/مل بمعدل اقطار تثبيط (15.7,17.5,19.9) ملم على الترتيب في حين بلغ معدل قطرمنطقة التثبيط 12.5ملم عند تركيز 12.5ملغم/مل ، وتبين انه يوجد فرق معنوي ($P<0.05$) في اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة ،جدول (4-13) شكل (4-2).



شكل (4-2) تأثير المستخلص الكحولي لنبات العفص على بكتريا *S. aureus*

جدول (4-13) تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *S. aureus*

التركيز (ملغم/مل)	المستخلص المائي الحار معدل قطر منطقة التثبيط(ملم) ± الخطأ المعياري	المستخلص الكحولي معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري
0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00
12.5	*(a,c,d,e,f)0.20 ± 12.4	*(a,c,d,e,f)0.10 ±12.5
25	*(a,b,d,e,f)0.30 ±13.6	*(a,b,d,e,f)0.30 ±15.7
50	*(a,b,c,e,f)0.20 ±15.7	*(a,b,c,e,f)0.20±17.5
100	*(a,b,c,d,f)0.10 ±18.6	*(a,b,c,d,f)0.30±19.9
200	*(a,b,c,d,e)0.30 ±20.3	*(a,b,c,d,e)0.60±21.6

-العلامة (*) دليل على وجود فرق معنوي (P<0.05)

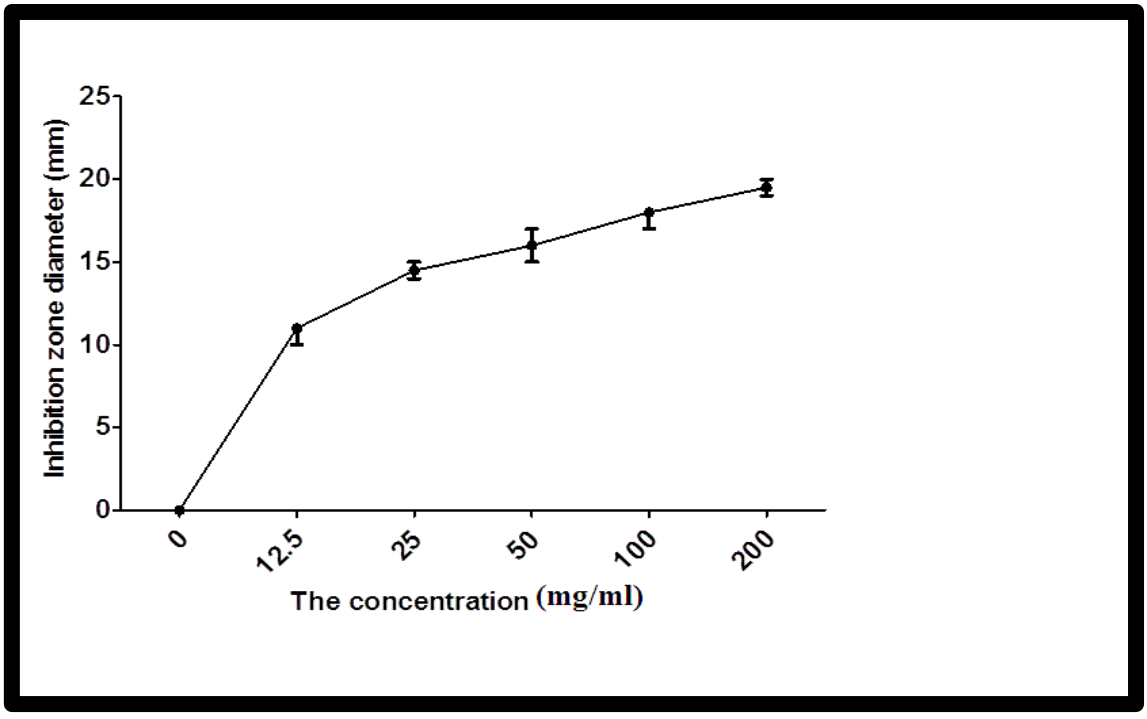
-الحروف (a,b,c,d,e,f) تمثل التراكيز (0 ,12.5,25,50,100,200) ملغم/مل على التوالي.

عند مقارنة النتائج المتعلقة بتأثير المستخلص المائي الحار والكحولي أحصائيا تجاه بكتريا *Staph. aureus* وجد ان هنالك فرقا معنويا (P<0.05) لصالح المستخلص الكحولي إذ فاق في تأثيره نظيره المستخلص المائي الحار اعتمادا على نوع المستخلص وتركيزه ، الجدول (4-13) والشكلين (4-1) و(4-2) وقد يعود سبب ذلك الى احتواء المستخلص الكحولي على متعدد السكريات Polysaccharides وألديهايدات Aldehydes تعمل على قتل المكروبات

والتسريع في شفاء الجروح ولديها فاعلية ضد مايكروبية تعمل على منع حدوث الاخماج البكتيرية الثانوية (EL-Sharquie *et al*.,2017). أتفقت نتائج دراستنا مع ما توصل اليه الباحث كمونة (2011) إذ بين أن للمستخلص الكحولي لنبات العفص تأثيرا اكبر من المستخلص المائي الحار في التثبيط الميكروبي لبكتريا *S. aureus* ،بالاضافة الى ذلك اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه Khubeiz واخرون (2016) إذ بين ان للمستخلص الكحولي لنبات العفص فاعلية تثبيطية عالية تجاه البكتريا المرضية، كما اتفقت مع دراسة Chakraborty واخرون (2018) ،إذ بين ان المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص يمتلك فاعلية تثبيطية ضد بكتريا *S. aures* إذ بلغ قطر منطقة التثبيط للمستخلص الكحولي29.8 ملم عند تركيز 200ملغم/مل.

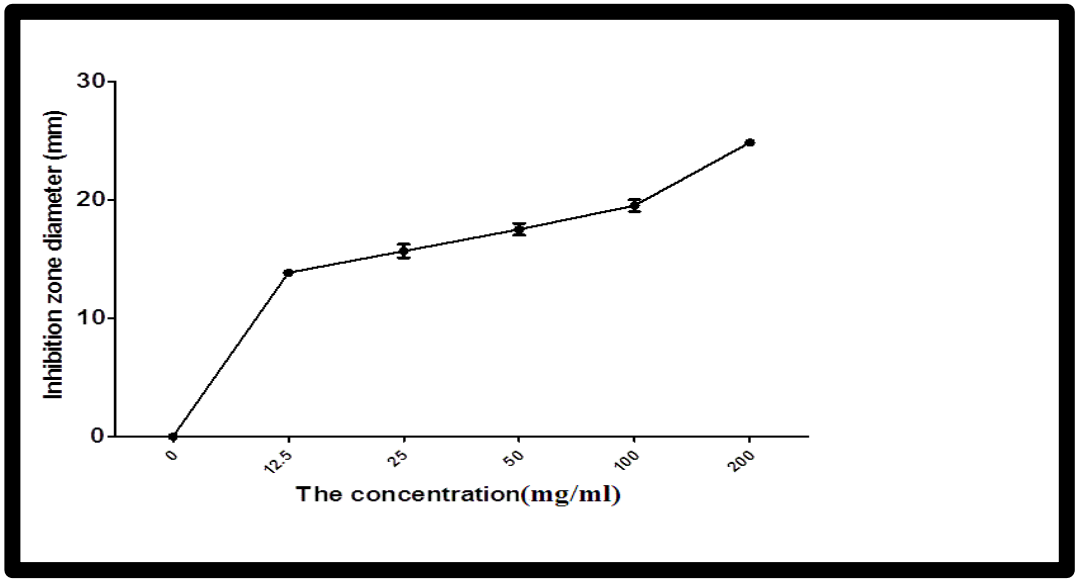
4-8-2 تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*

أظهرت نتائج الدراسة ان للمستخلص المائي الحار لنبات العفص تاثيرا تثبيطيا كبيرا تجاه بكتريا *P. aeruginosa* بمقدار19.3 ملم عند تركيز 200 ملغم/مل ، تليها التراكيز الاخرى (25,50,100) ملغم/مل بمعدل اقطار تثبيط (14.5,16,17.6) ملم على الترتيب ، بينما كان الاقل تاثيرا بتركيز 12.5 ملغم /مل إذ بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 10.5ملم ، ولوحظ انه يوجد فرق معنوي ($P<0.05$) بين اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة ، جدول (4-14) شكل (4-3).



شكل (4-3) تأثير المستخلص المائي الحار لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*

أن للمستخلص الكحولي لنبات العفص تأثيرا تثبيطيا عاليا تجاه بكتريا *P. aeruginosa* بمقدار 24.8 ملم عند تركيز 200 ملغم /مل، في حين اظهرت التراكيز (25,50,100) تأثيرا تثبيطيا بمقدار (15.6,17.5,19.6) ملم على الترتيب ، بينما بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 13.5ملم عند التركيز 12.5 ملغم/مل وهو الاقل تأثيرا، بينت النتائج وجود فرق معنوي ($P<0.05$) بين التراكيز المختلفة ، جدول (4-14) شكل (4-4).



شكل (4-4) تأثير المستخلص الكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*

جدول (4-14) تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات العفص على بكتريا *P. aeruginosa*

التركيز (ملغم/مل)	المستخلص المائي الحار	المستخلص الكحولي
	معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري	معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري
0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00
12.5	*(a,c,d,e.f) 0.30±10.5	*(a,c,d,e,f)0.10±13.5
25	*(a,b,d,e,f)0.50±14.5	*(a,b,d,e,f)0.30±15.6
50	*(a,b,c,e,f)0.50±16	*(a,b,c,e,f)0.20±17.5
100	*(a,b,c,d,f)0.30±17.6	*(a,b,c,d,f)0.20±19.6
200	*(a,b,c,d,e)0.20±19.3	*(a,b,c,d,e)0.10±24.8

-العلامة(*) دليل على وجود فرق معنوي ($P<0.05$)

-الحروف (a,b,c,d,e,f) تمثل التراكيز(0,12.5,25,50,100,200)ملغم/مل على التوالي.

بينت نتائج الدراسة الحالية ان المستخلص الكحولي لنبات العفص عند تركيز 200ملغم/مل قد أظهر تأثيرا تثبيطيا عاليا وبفارق معنوي ($P<0.05$) مقارنة بالمستخلص المائي الحار تجاه بكتريا *P. aeruginosa* كما موضح في الجدول (4-14) والشكلين (4-3) و(4-4).

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه كمونة (2011) إذ بلغ قطر منطقة التثبيط للمستخلص المائي الحار لنبات العفص13ملم عند التركيز25 ملغم/مل ، في حين اظهر المستخلص الكحولي لنبات العفص فاعلية تثبيطية ضد بكتريا *P. aeruginosa* بقطر23 ملم عند التركيز 200 ملغم/مل.اضافة الى ذلك بينت دراسة Kamal واخرون (2016) ان لمستخلص نبات العفص المائي الحار والكحولي فاعلية تثبيطية عالية تجاه *P. aeruginosa* وهذا ما اتفق مع دراستنا الحالية .

تعزى فاعلية مستخلصات نبات العفص الى امتلاكه العديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات و الفلافونات التي لها دور مهم في تثبيط نمو البكتريا إذ تعمل على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات فيؤدي الى مسخ البروتين Protein denaturation مما يتسبب في موت البكتريا ، بالاضافة الى احتوائه على التانينات التي لها فاعلية تثبيطية للبكتريا لقدرتها على تحفيز الخلايا البلعمية Phagocytic cells وايضا له فاعلية في تحطيم البروتينات والتراكيب الاخرى المتواجدة على جدار الخلية البكتيرية التي تستخدمها البكتريا للالتصاق بخلايا المضيف إذ لها القدرة على ترسيب بروتينات الخلية مؤدية الى موتها (Hosea *et al*.,2018).

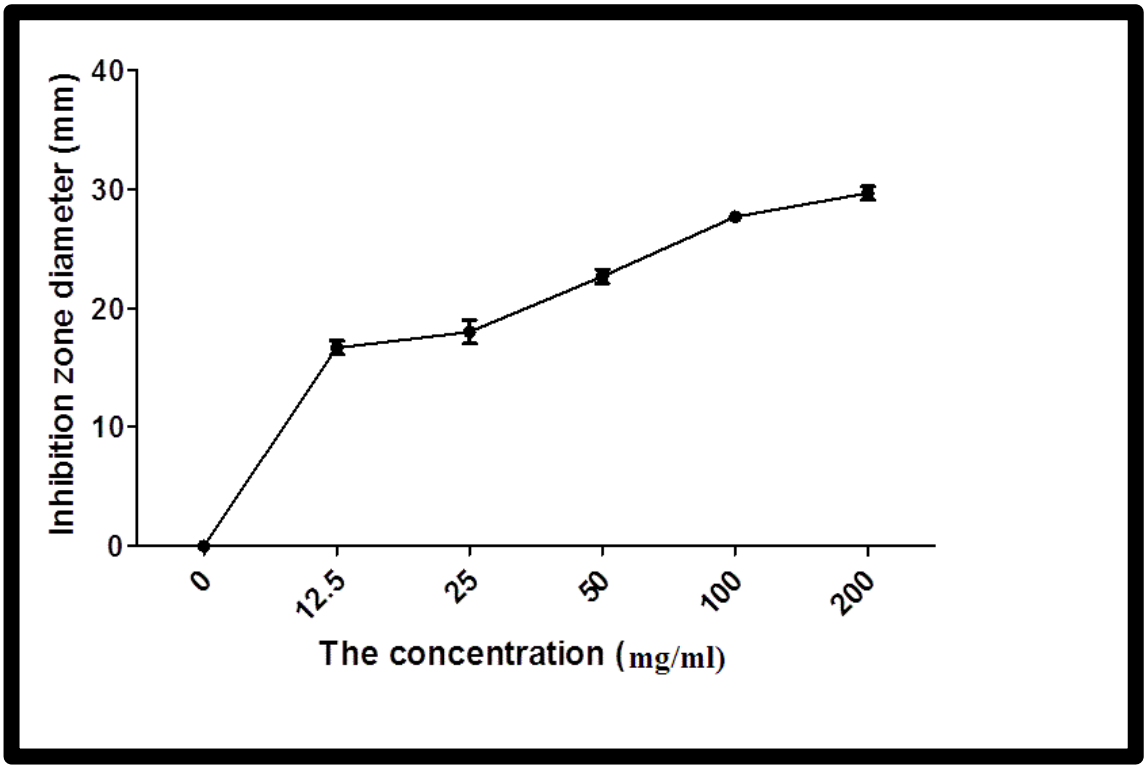
يحتوي العفص على مكونات رئيسية مثل Cedrol, Carene-3, Pinene-α, Limonene, Terpinolene, α-Humulene, Caryophyllene-β, التي لها فاعلية ضد مايكروبية تجاه الاحياء الممرضة (Khubeiz *et al*.,2016).

فضلا عن ذلك يحتوي العفص على مواد اخرى مثل Terpene, Saponin, Alkaloids Flavonoid,إذ تمتلك فاعلية عالية لتثبيط البكتريا (Chakraborty *et al*.,2018) . بصورة عامة بينت نتائج دراستنا ان للمستخلص الكحولي لنبات العفص فاعلية تثبيطية عالية مقارنة بالمستخلص المائي وتزداد هذه الفاعلية بزيادة التركيز ويعزى سبب ذلك الى ان المواد الفعالة لنبات العفص لا تذوب بشكل جيد في الماء وانما تذوب بصورة جيدة في المذيبات العضوية كالايثانول وتزداد المواد الفعالة عند زيادة التركيز (Abu-Shanab *et al*.,2004).

بينت دراسة الساعدي واخرون (2010) نتائج الكشف الكيميائي للمكونات الفعالة لنبات العفص احتوائه على التانينات والراتنجات وبلغت النسبة المئوية للرطوبة 8.33% .

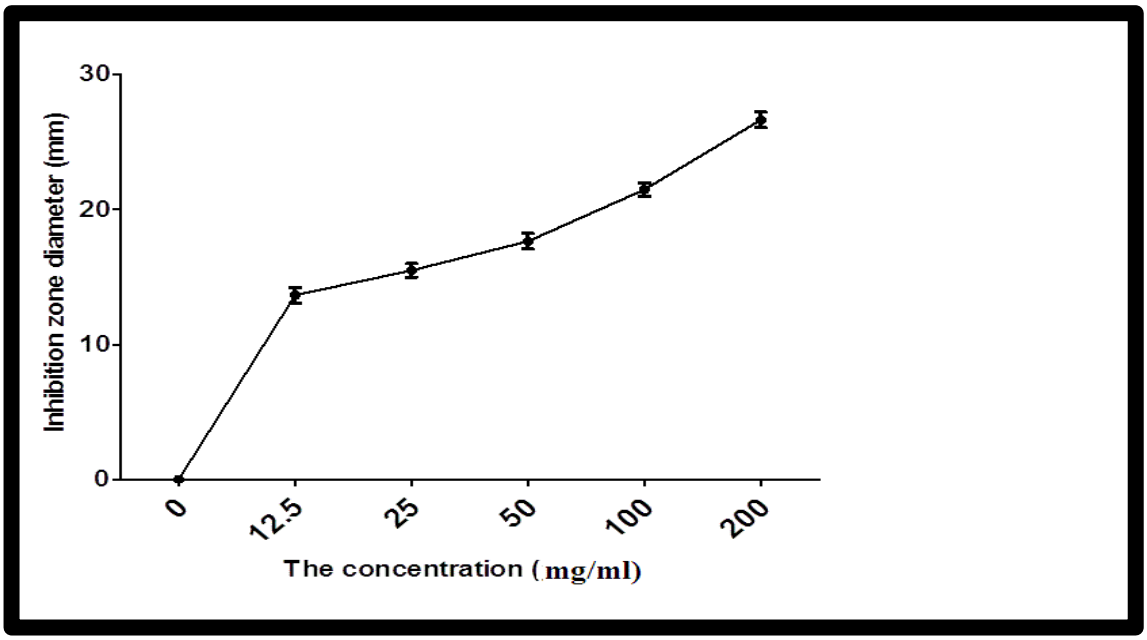
3-8-4 تأثير المستخلص المائي الحاروالكحولي لنبات الخروع على بكتريا*S. aureus*

بينت النتائج ان للمستخلص المائي الحارلنبات الخروع أعلى تثبيط لبكتريا *S. aureus* عند تركيز 200 ملغم/مل إذ بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 29.80 ملم،تليها التراكيز (12.5,25,50,100) ملغم/مل بمعدل اقطار تثبيط (16.5,18,22,27.6) ملم على التوالي ، ولوحظ انه يوجد فرق معنوي ($P<0.05$) بين اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة جدول (4-15) شكل (4-5).



شكل (4-5) تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الخروع على بكتريا *S. aureus*

اوضحت النتائج ان المستخلص الكحولي لنبات الخروع يمتلك أعلى تأثير تثبيطي على بكتريا *S. aureus* عند تركيز 200ملغم/مل بمقدار 25.2ملم ، يليه التراكيز (12.5,25,50,100) ملغم/مل بمعدل اقطار تثبيط (13.5,15.5,17.6,21.6) ملم على الترتيب ، وقد لوحظ انه يوجد فرق معنوي ($P<0.05$) بين اقطار التثبيط للتراكيز المختلفة ، جدول (4-15) شكل (4-6).



شكل (4-6) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الخروع على بكتريا *S. aureus*

جدول (4-15) تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *S. aureus*

التركيز (ملغم/مل)	المستخلص المائي الحار معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري	المستخلص الكحولي معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري
0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00
12.5	*(a,c,d,e,f)0.30±16.5	*(a,c,d,e,f)0.30±13.5
25	*(a,b,d,e,f)0.50 ±18	*(a,b,d,e,f)0.20±15.5
50	*(a,b,c,e,f)0.30±22	*(a,b,c,e,f) 0.30±17.6
100	*(a,b,c,d,f)0.10±27.6	*(a,b,c,d,f)0.20±21.6
200	*(a,b,c,d,e)0.30±29.8	*(a,b,c,d,e)0.10±25.2

-العلامة(*) دليل على وجود فرق معنوي (P<0.05)

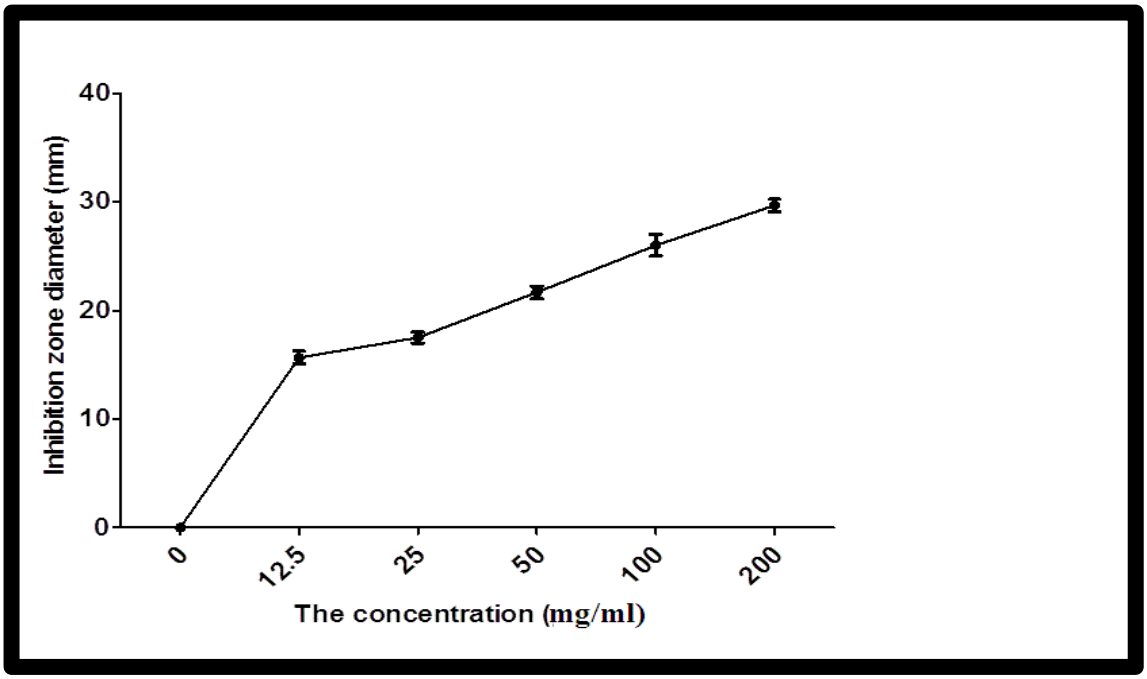
-الحروف (a,b,c,d,e,f) تمثل التراكيز(0,12.5,25,50,100,200) ملغم /مل على التوالي.

جاءت نتائج الدراسة الحالية مقاربة مع ما توصل اليه الباحث Al-Mamun واخرون (2016) إذ بين إن المستخلص المائي الحارلنبات الخروع يمتلك فاعلية تثبيطبية ضد بكتريا *S. aureus* إذ بلغ قطر منطقة التثبيط 23.1 ملم عند تركيز200ملغم/مل.

أن للمستخلص المائي الحار لنبات الخروع كان له تأثيرا تثبيطيا عاليا بفارق معنوي (P<0.05) مقارنة بالمستخلص الكحولي لنفس النبات تجاه بكتريا *S. aureus* وقد يعود السبب الى تأثرالبكتريا بشكل كبير بالمركبات الفعالة الذائبة بالماء الحار لمستخلص نبات الخروع.

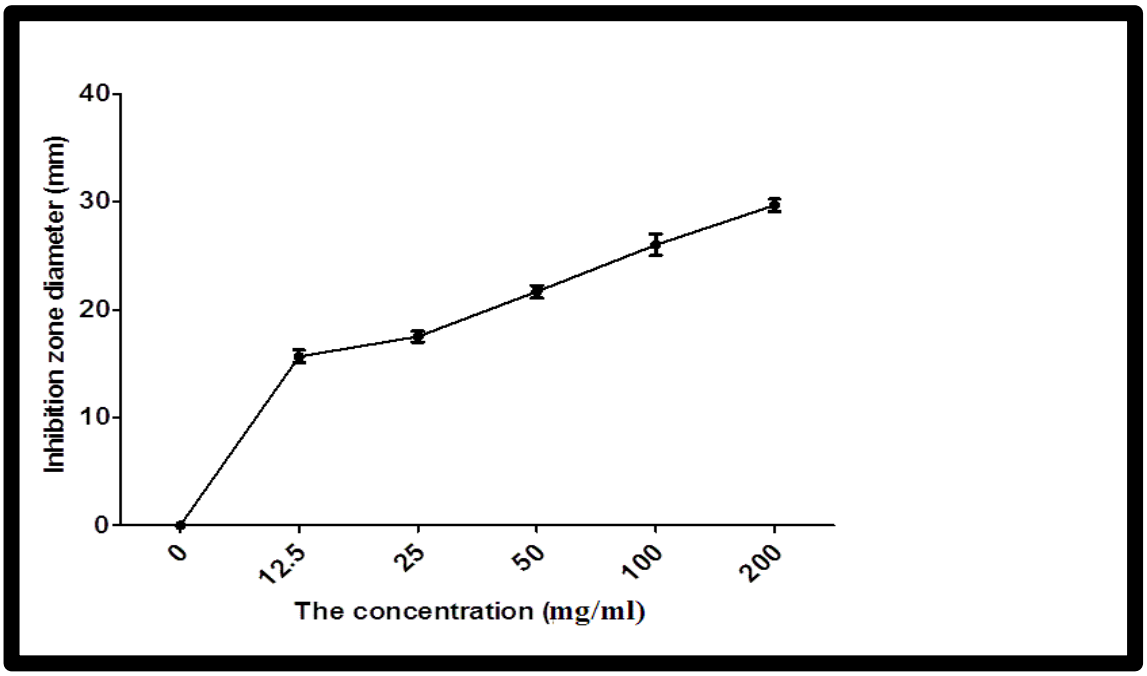
4-8-4 تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*

اكدت النتائج ان المستخلص الكحولي لنبات الخروع يمتلك اعلى تأثير تثبيطي على بكتريا*P. aeruginosa* عند تركيز 200 ملغم /مل ،إذ بلغ معدل قطر منطقة التثبيط 34.50 ملم ، تليها التراكيز (12.5,25,50,100) ملغم/مل بمعدل اقطار تثبيط (16.6,19.6,24.7,29)ملم على التوالي ،وقد لوحظ وجود فرق معنوي (P<0.05) بين التراكيز المختلفة للمستخلص، جدول (4-16) شكل (4-7).



شكل (4-7) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*

فضلا عن ذلك اوضحت الدراسة ان المستخلص المائي الحار لنبات الخروع يمتلك اعلى مستوى تثبيطي تجاه بكتريا *P. aeruginosa* بمقدار 29.6 ملم عند تركيز 200 ملغم/مل ،تليها التراكيز(12.5,50,25,50,100) ملغم/مل وبمعدل اقطار تثبيط (15.4,17.5,21.6,26) ملم ، ولوحظ انه يوجد فرقا معنويا (P<0.05) بين التراكيز المختلفة للمستخلص، جدول (4-16) شكل (4-8).



شكل (4-8) تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*

جدول (4-16) تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع على بكتريا *P. aeruginosa*

التركيز (ملغم/مل)	المستخلص المائي الحار معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري	المستخلص الكحولي معدل قطر منطقة التثبيط (ملم) ± الخطأ المعياري
0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00	*(b,c,d,e,f)0.00±0.00
12.5	*(a.c,d,e,f)0.30±15.4	*(a,c,d,e,f)0.20±16.6
25	*(a,b,d,e,f)0.20±17.5	*(a,b,d,e,f)0.30±19.6
50	*(a,b,c,e,f)0.30±21.6	*(a,b,c,e,f)0.30±24.7
100	*(a,b,c,d,f)0.50±26	*(a,b,c,d,f)0.50±29
200	*(a,b,c,d,e)0.30±29.6	*(a,b,c,d,e)0.20±34.5

-العلامة(*)دليل على وجود فرق معنوي ($P<0.05$)

-الحروف (a,b,c,d,e,f) تمثل التراكيز (0,12.5,25,50,100,200) ملغم/مل على التوالي.

عند مقارنة النتائج احصائيا بين المستخلص المائي الحار والكحولي لنبات الخروع فقد وجد ان هنالك فرقا معنويا ($P<0.05$) لصالح المستخلص الكحولي قد فاق نظيره المستخلص المائي الحار وفقا لتركيزه، بينت نتائج دراسة الموسوي واخرون (2009) للكشف الكيميائي النوعي للمكونات

الفعالـة بأن اوراق الخروع تحتوي على التانيـنات والكلايكوسيدات والقلويـات والكومارينـات إذ ان اهميـة التانينات للنبات تكمـن بكونها مصـدر للطاقـة يستهلكـه النبـات في عمليـات الايـض الحيويـة كـذلك انهـا مـواد فينـولية مطهـرة تحمي النبـات مـن الحـشرات والفطريـات الممرضـة للنبـات (Rashmi *et al*.,2019).

اتفقت نتائج دراستنا مع ما توصل اليه الباحث Al-Mamun و اخرون (2016) إذ اشارت الى ان للمستخلص الكحولي لنبات الخروع فاعلية تثبيطية تجاه بكتريا *P. aeruginosa* حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 19.5ملم عند تركيز25ملغم/مل. تعود فاعلية مستخلص نبات الخروع الى امتلاكه الفيتامينات A,B6,C والستيرولات Sterols والكالسيوم والحديد والتانينات و الصابونيات Saponins والكلايكوسيدات Glycosides والفينـولات Phenols التي تكـون فعالــة ضـد الاحيـاء المجهريــة المرضيــة المتسببــة فــي إحداث أخماج الجـروح والحـروق و الاخمـاج الجلديـــة (Rahmati *et al*.,2015).

أكدت نتائج دراستنا ما توصل اليه الباحث Rashmi واخرون (2019) إذ بين ان للمستخـلص المائي الحار والكحولي لنبـات الخروع تأثير تثبيـطي عالـي تجـاه بكتريا *E.coli* و *Staph. aureus* و *P. aeruginosa* .

فضلا عن ذلك اشار الباحث Abdu واخرون (2018) الى أن للمستخلص الكحولي لنبات الخروع تاثير تثبيطي عالي تجاه بكتريا *S. aureus* ، وان المستخلص المائي الحار والكحولي يمتلك تاثير تثبيطي تجاه بكتريا *Strept. pyogenes* و *E. coli* وبعض الفطريات.

4-9 تقديرالدالة الحامضية والنسب المئوية وسمية المستخلصات النباتية المائية والكحولية لنباتي العفص والخروع

أجريت عدة فحوصات على المستخلصات النباتية قيد الدراسة منها قياس الدالة الحامضية وفحص الدالة السمية وقياس النسبة المئوية لكل مستخلص نباتي جدول (4-17).

جدول (4-17) الخواص الفيزيائية للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي العفص والخروع

النبات	نوع المستخلص	الدالة الحامضية (pH)	النسبة المئوية للمستخلص النباتي	الدالة السمية
العفص	المستخلص المائي الحار	6.7	%14.56	نعم
	المستخلص الكحولي	5.6	%15.64	نعم
الخروع	المستخلص المائي الحار	6.5	%10.94	نعم
	المستخلص الكحولي	5.8	%15	نعم

أظهرت النتائج ان قيمة الدالة الحامضية pH للمستخلصات المائية الحارة لنباتي العفص والخروع اعلى قيمة من المستخلصات الكحولية ،ان ارتفاع pH يساعد على زيادة ذوبانية المواد الفعالة للنبات (AL-Ani and Haleem,2014).

تبين من خلال نتائج الدراسة ان المستخلصات المائية الحارة والكحولية لنبات العفص اعطت أعلى النسب المئوية 14.56% و 15.64% على التوالي ،تليها المستخلصات المائية الحارة والكحولية لنبات الخروع 10.94% و 15% على التوالي ، يعود سبب اختلاف النسب المئوية الى اختلاف قطبية المذيبات المستخدمة كالكحول الاثيلي والماء المقطر،و يعزى سبب التباين الى اختلاف ثابت العزل الكهربائي لهذه المذيبات ،إذ يبلغ ثابت العزل للكحول الاثيلي 24.5 في حين يبلغ ثابت العزل للماء 78.4 (Bacon *et al*.,2017).

أظهرت مستخلصات اوراق الخروع و ثمارنبات العفص تأثيرا سميا ضد كريات الدم الحمراء في الانسان من خلال التحلل الدموي الذي ظهر في الزجاج *In vitro* بغض النظر عن تركيز المستخلص ونوعه ،إذ بينت النتائج ان المستخلصات المائية والكحولية للنباتات المدروسة قد امتلكت تأثيرات سمية خلوية ويعود سبب ذلك الى وجود مادة Saponins في مستخلص نبات العفص وهي مركبات صابونية ستيرويدية تمتاز بفعاليتها التحللية لكريات الدم الحمراء في الانسان من خلال التحلل الدموي Hemolysis وذلك لالفة مادة Saponins للستيرولات الموجودة في تركيب الغشاء البلازمي لكريات الدم الحمراء مسببا في ازالة ذلك الغشاء ومحررا الهيموگلوبين بالاضافة الى المكونات الفعالة الموجودة في مستخلص نبات الخروع التي تعمل كسموم مثل بروتين الريسين الذي له فاعلية مستضدية تتسبب في تخثر الدم وتقلل من تصنيع البروتين في الجسم (Metspulu *et al*.,2001).

الاستنتاجات Conclusions

1- البكتريا السالبة لصبغة گرام اكثر انتشارا للاخماج الجلدية من البكتريا الموجبة لصبغة گرام

2- بكتريا *Staphylococcus aureus* اكثرانتشارا في الاخماج الجلدية.

3- نسبة الذكور المصابين بالاخماج الجلدية كانت اكبر مقارنة بنسبة الاناث ، والفئة العمرية (1-15) سنة كانت الأكبرإصابة بالخمج مقارنة بالفئات العمرية الاخرى.

4- تمتلك العزلات البكتيرية (*S. aereus* و*P. aeruginosa*) صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية مما يشكل خطرا كبيرا على المجتمع.

5- تمتلك عزلات بكتريا *P. aeruginosa* انزيمات البيتالاكتاميزواسعة الطيف والمعدنية بنسبة اعلى من عزلات بكتريا *S. aureus*.

6- التركيز(200 ملغم/مل) للمستخلصات المائية الحارة والكحولية لنباتي العفص والخروع كان الأكثر تثبيطا على بكتريا *S. aereus* و *P. aeruginosa*.

التوصيات Recommendations

1- الحد من إستعمال المضادات الحيوية التي اظهرت لها العزلات البكتيرية مقاومة عالية.

2- التحري الجزيئي عن عوامل الضراوة للعزلات المقاومة للمضادات الحيوية المستخدمة في هذه الدراسة.

3- استخلاص المركبات الفعالة باستخدام GC-mass لنباتي العفص والخروع وبحث فعاليتهما البايولوجية داخل وخارج جسم الكائن الحي.

المصادر

References

المصادر العربية

- **البالاني،** ماجد رشيد. (2003).تأثير المستخلصات النباتية الخام و قلويد الفاسيين (Vasicine).لنبات حلق السبع الشجيري *Adhutodavasica* في بعض الجراثيم المرضية. رسالة ماجستير /كلية العلوم - جامعة بغداد.
- **التميمي،** زينب عامر حاتم. (2013).دراسة بكتريولوجية ووراثية للبكتريا المعزولة من مرضى مصابين بألتهاب اللوزتين في مدينة المقدادية *Streptococcus pyogenes* .رسالة ماجستير/ كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى.
- **التميمي،** احمد عيسى جعفر. (2012). دراسة وراثية لبكتريا .*Staphylococcus spp* المقاومة لمضاد الفانكومايسين .رسالة ماجستير/كلية التربية للعلوم الصرفة –جامعة ديالى.
- **الجبوري،** إبراهيم صالح احمد، الشواني، ازاكاو حميد سعيد. (2015). دراسة جزيئية لانزيمات السوريتيز في بكتريا *Streptococcus pyogenes* المعزولة من مرض التهاب اللوزتين في مدينة كركوك، مجلة جامعة كركوك. 10(2): 227-241.
- **السعدي،** عادل عبيد حسون; عباس، فاضل ; رياض، كرار وسعدي، جمهورية. (2014). استخلاص وتنقية البروتين المرتبط بالفايبرونكتين من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية .مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية .3(22):1303-1309.
- **السعدي،** لينا عبد الامير سلمان. (2017). نسق التحمل للمعادن الثقيلة والحساسية للمضادات الحيوية لبكتيريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من مصادر سريرية في مدينة بعقوبة .مجلة ديالى للعلوم الصرفة .13(1):130-144.
- **الشويخ،** رنا مجاهد عبد الله. (2016). المضادات الحيوية واستعمالاتها . الطبعة الأولى. عمان. دار دجلة للنشر والتوزيع. 13-39.
- **الدوري،** أشواق يونس. (2006). دراسة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من أجسام المصورين الشعاعيين .رسالة ماجستير/ كلية التربية- جامعة تكريت.
- **العكيلي،** عدنان حنون عباس. (2002). دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتريا أصابات الجروح .رسالة ماجستير/كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.
- **العـوادي،** سـلوى صـابر. (1993). دراسـة الفاعليـة المضـادة لنمـو الجـراثيم. رسـالة ماجستير/كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

- **الربيعي،** زيد شاكر ناجي. (2000). تاثير المستخلصات المائية و الكحولية لنباتي الحنظل *Colocynthis citrullus* وعنب الذيب *Solanum nigrum* في نمو بعض البكتريا المعزولة من اخماج الحروق. رسالة ماجستير/كلية العلوم –الجامعة المستنصرية.
- **الموسوي،** زينب عبد الرزاق جبارة; حاجم ،عبد الفارس حسين; نايف، محمد فياض; مهدي ،ايناس سالم ومجيد، وسن. (2009). تقدير بعض الصفات الكيميائية لبعض أجزاء نبات الخروع. رسالة ماجستير/كلية الزراعة - جامعة بغداد.40(5):102-110.
- **ثابت،** علي. (2018). تقدير الارتفاع لاشجار السرو دائم الاخضرار (*Cupressus sempervirens* L.) في منطقة مصياف بأستخدام النمذجة الرياضية. المجلة السورية للبحوث الزراعية 5(4) : 179-190.
- **حسين،** سوزان سعدي و عبيد، ختام علي. (2017). دراسة تأثير بعض المضادات الحيوية على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* المعزولة من أخماج الحروق والجروح . مجلة جامعة بابل. 1(25).
- **حسين،** سيد مشتاق والحاج، قاسم محمود. (1995). النباتات المزروعة في العراق وأهميتها ،الطبعة الاولى ،مطبعة بغداد.
- **زين العابدين،** صلاح سلمان و أحمد، زهراء عابد. (2015). التحري عن أنزيمات البيتالاكتميز المستحثة في بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من نماذج مرضية .مجلة جامعة كركوك /الدراسات العلمية .10(4):71-92.
- **زين العابدين،** صلاح سلمان و خورشيد، محمد بهرام. (2017). تردد بكتريا الزوائف الزنجارية مع بعض البكتريا المرضية في أصابات الحروق ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية .مجلة جامعة كركوك.12(1):349-992.
- **عبد الاله،** سؤدد. (1998). الوجيز في علم العقاقير النظري والعملي الجزء الاول ،مطبعة جامعة بغداد، العراق.
- **عبد الله،** رنا مجاهد و مهدي، عباس فالح. (2016). الكشف عن انزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف ESBLs في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* متعددة المقاومة بأستعمال Chrom agar ESBLs ،مجلة كلية التربية الاساسية .21(90).
- **كمونة،** زيد كاظم. (2011). تقدير الفعالية البايولوجية التثبيطية لنبات العفص تجاه بعض الاحياء المجهرية المرضية .مجلة كلية التربية الاساسية .العدد 68.

المصادر الاجنبية

- **Abdolmaleki**, Z.; Mashak, Z. and Dehkordi, F. S. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of Antibioyic resistance in the Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospital cockroaches. Antimicrobial resistance & infection control, 8 : 54.
- **Abdu**, W. M.; Hajrah, N. H.; Sabir, J. S., Al-Garni, S. M.; Sabir, M. J.; Kabil, S. A.; Saini, K. S. and Bora, R. S. (2018). Therapeutic role of *Ricinus communis* L. and its bioactive compounds in disease prevention and treatment. *Asian pacific J. of Tropical Medicine*, 11(3):177-185.
- **Abdullah**, R. M. and Mahdi, A. F. (2016). Identification of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimen by using 16 Sr DNA . Iraq Acad. Sci. J., 10(1):45-49.
- **Abu-Shanab**, B.; Adwan, G.; Abu-Safiya, D.; Jarrer, N. and Adwan, K. (2004). Antibacterial activities of some plant extrats utilized in popular medicine in palestine. Turk. J. Biol., 28:99-102.
- **Alam,** M. and Imran, M. (2014). Multiple antibiotic resistance in metal tolerant *Escherichia coli* from hospital waste water, Bioinformation.,10(5):267-27.
- **AL-Ani**, R. and Haleem, A. (2014). Phytocemical analysis of some Iraqi medical plants. world. J. pharm. Sci., 2(12):1873-1840.
- **Alexander**, S. K.; Strete, D. and Niles, M. J. (2004). Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology. The McGraw-Hill Inc. Newyork.

- **Alexis**, A.; Heath, C. R. and Halder, R. M. (2014). Folliculitis Keloidalis nuchae and Pseudofolliculitis barbae : are prevention and effective treatment within reach? Dermatologic Clinics; P:183.
- **Allen**, W. J.; Phan, G. and Waksman, G. (2012). Pilus biogenesis at the outer membrane of Gram-negative bacterial pathogens. Current opinion in structural Biolog., 22:500-506.
- **Al-Mamun**, A. M.; Akter, Z.; Uddin, M. J.; Ferdans, K. M. and AbuReza, M. (2016). characterization and evaluation of antibacterial and antiproliferation activities of crude protein extracts isolated from the seed of *Ricinus communis* in Bangladesh. BMC. complement Altem Med. 16:211.
- **Alo**, M.; Eze, U. G. and Anyim, C. (2012). In vitro Antimicrobial activities of Extracts of *Magnifera indica*, *Caricapapaya* and *Psidium guajava* Leaves on *Samonella typhi* isolates. World *J*. of pub.Heal.Scie.,1:1-6.
- **Al-Sa'ady**, A. T. (2017). Normal Bacterial Flora in Human .Medical Microbiology. Septmber 23.Fulltext.
- **Alvarez**, D.; Merino, S. Tomas, J. (2000). Capsular polysaccharide is amajor complement resistance factor in lipopolysaccharide O side chain –deficient *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. Infect. Immun. 68:953-955.
- **Al-Zoubi**, M.; Al-Tayyar, S.I.; Ali, H. E.; Al-Jabali, A. and Khudairat, S.(2015). Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens in Northern area of Jordan. Iran J. Microbial. 7(5):265-272.
- **Anthony**, D.; Amand, J.; Eshwar, M.; Parel, D.; Wieslaw, K.; Zuzanna, D. and Stoyanka, R. (2014). Microbiology open. Developing

aninternational *Pseudomonas aeruginosa* reference panel. Black-well publish. Ltd. 389:33-46.

- **Anwar**, M.; Ejaz, H.; Zafer, A. and Hamid, H. (2016). Phenotypic detection of metallo- β- lactamases in Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatric patients in pakistan, J. of pathogens.
- **Assadullah**, S.; Kakru, D. K.; Thoker, M. A.; Bath, F. A.; Hussain, N. and Shah, A. (2003). Emergence of Low level Vacomycin resistant in MRSA. Clin. Microbial. 21(3):196-198.
- **Bacon,** K.; Boyer, R.; Denhow, C.; O'keefe, S.; Neilson, A.; William, R. (2017). Evaluation of different solvents to extract antibacterial compounds from jalapeno peppers. J. food Scie. & Nutrition. 5:497-503.
- **Bahashwan**, S. A. and Shafey, H. M. (2013). Antimicrobial resistance patterns of *Proteus* isolates from clinical specimens. Es. J., 9:188-202.
- **Baldo**, C. and Rosh, S. P. (2014). Virulence factors of Uro pathogenic *Proteus* mirabilis –Amini Review. Inter. J. of Scie. and Techno. Res., 3.
- **Benson**, H. J. (2002). Microbiological applications laboratory manual in general microbiology.8thed.The McGraw-Hill companies. USA.
- **Bergamini**, G. D.; Disilvestre, D.; Mauri, D.; Mauri, P.; Cigana, C.; Bragonz, A.; Depalma, A.; Benazzi, L.; Doring, G.; Assael, B. M.; Metott, P. and Sorio, C. (2012). Mud P.T analysis of released proteins in *Pseudomonas aeruginosa* Laboratory and Clinical strains in relation to pro. Infaimmatory effects Integr. Biol., 4(3):270-9.
- **Bergey**, N. R. and Holt, J. G. (1994). Bergey's Manual of systematic bacteriology 9thed.Williams and Wilkins Baltimore.

- **Berrazeg**, M.; Diene, S. M.; Drissi, M.; Kempf, M.; Richet, H.; Landraud, L. and Rolatin, J. (2013). Biotyping of Multidruge-Resistance *Klebsiella pneumoniae* clinical isolated from France and Algeria using MALDI-TOF MS Plos one.,8.
- **Bischoff**, M.; White, D. G.; Mcdermott, P. F.; Zhao, S.; Gaines, S.; Maurer, J. J. and Nisbet, D. J. (2002). Characterization of chloramphenicol resistant in β-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in neonatal swin. J. of clinical microbiology;40(2):389-94.
- **Bochud**, P. Y.; Caland, T. and Francioli, P. (1994). Bacteremia due to *Viridans streptococci* in neutropenic patients: areview .A. J. Med. ;97:256-64.
- **Bodenstein**, J. and Du-Touit, K. (2011). Susceptibility *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* to naturally derived selected of flavonoids .Anti-microbial agents. Edited by Varapirasad Bobbarala. In Tech., pp:73-84.
- **Bolognia**, J. L.**;** Jorizzo, J. L. and Schaffer, J. V. (2015). Dermatology 3rded, volume (1).
- **Borek**, A. L.; Obszanska, K.; Hryniewicz, W. and Sitkiewicz, L. (2012). Detection of *Streptococcus pyogenes* virulence factors by multiplex pcr : virulence. 3(6):529-533.
- **Brooks(a)**, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2004). Alange medical book-Jawetz, melinick and Aldelberg, S. Medical microbiology. 23rded. McGraw Hill companies, United States. pp: 133-235.
- **Brooks(b)**, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2010). Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology. 22nded. McGraw-Hill Inc. Newyork.

- **Brooks**, G. F.; Carroll, K. C.; Butel, J. S.; Mores, S. A. and Mietzner, T. A. (2010). Jawetz, Melnich and Adelbergs medical microbiology. 25thed. thr.
- **Brown**, A. E. (2007). Microbiological applications laboratory manual in general microbiology. 10thed. McGraw-Hill Comp. Inc.**,** USA. p:102-263.
- **Burnett**, D. and Crocker, J. (2005). The science of laboratory diagnostic.2nded. John wily and sons Ltd, The Atrium. England.
- **Bush**, K. and Jacoby, G. A. (2010). Anupdated functional classification of lactamases Antimicrob. Agents chemother. 54(3) :969-976.
- **Bzdil**, J.; Holy, O. and Chmelar, D. (2016). Gram-positive aerobic and microaerophilic microorganisms isolated from pathological processes and lesions of horses, J. veterinarni medicina; 62(1):1-9.
- **Carapetis**, G. R.; Steer, A. C.; Mulholland, E. and Weber, M. (2005). The global burden of group *Astreptococci* diseases., Lanset. Infect. Dis., 5:685-694.
- **Carrey**, S.; Copeland, M. F.; Scotte, R.; Tuson, H. H. and Weibel, D. B. (2013). Flagellum density regulations *Proteus mirabilis* Swarmer cell notility in viscous environments. J. Bacteriol., 195(2):368-377.
- **Carroll**, K. C.; Morses, S. A.; Mietzner, T. and Miller, S. (2016). *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. In: Jawetz, Melinick and Adelbergs medical microbiology, 27thed. Alange medical book.
- **CDCP**, ceuters for Disease control and prevention. (2012). National center for Emerging and Zoonotic Infectious diseases *Escherichia coli*. Enter for disease dynamics, Economica &Polisy, 2015.

- **Chambers,** H. F. and Deleo, F. R. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic Era-Nat Rev Microbiology, 7(9):629-641.
- **Chakraborty**, S. P.; Mahapatra, S. K. and Roy, S. (2011). Biochemical charactersand antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates. Asian pacific. J. of Tropical Biomedicine, 721(102) : 212 - 216.
- **Chakraborty**, Sh.; Afaq, N.; Singh, N. and Majumdar, S. (2018). Antimicrobial activity of *Cannabis sativa*, *Thuja orientalis* and *Psidium guajava* leaf extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus.* J. of Integrative medicine.
- **Chatterjee**, M.; Anju, C. P.; Biswasl, A.; Kumar, V.; Gopi-Mohan, C. and Biswa, S. (2016). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. Int. J. Med. Microbiol. Elservier GmbH., 306 : 20-28.
- **Cheesbrough**, M. (2006). District Laboratory practice in Tropical countries part 22nded. USA., pp:225-235.
- **Chess**, T. (2012). Microb. 18thed. McGrow Hill. United States.
- **Chessa**, D.; Ganau, G.; Spiga, L.; Bulla, A.; Mazzarello, V. and Campus. (2016). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* virulence strains as causative agents of persistent infections in breast implants. PLOS one, 11(1) : e0146668. doi : 10.1371/J. pone. 0146668.
- **CLSI**. (2018). Clinicaland Laboratory Standars Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty - Second Informational Supplement. CLSI document M 100 - S26. Wayne, PA: Clinical and laboratory standards institute.

- **CNN**. com. (2003). Time line: UK ricin terrorprobe. January 23, full text.
- **Cogen**, A. L.; Nizet, V. and Gallo, R. L.(2008). Skin microbiota: asource of disease or defence? NIH public Aceess Brj. Dermatol. 158(3):442-455.
- **Cole,** J. N.; Barnett, T. C.; Nizet, V. and Walker. (2011). Moleculer insight in to invasive group A Streptococcus disease. Nature Review Microb., 736-724.
- **Collee**, J. S.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Mackie & Mecarthey paractical medical microbiology. 20thed. vol.1. Churchill living stone. London.
- **Compton**, G. A. (2013). Bacterial skin and soft tissue infections in older adults. Clinicls in Geriatric Medicine. P :29-443.
- **Coumes-Florens,** S.; Brochier-Armanet, C.; Guiseppi, A.; Denizot, F. and Foglino, M. (2011). A new highly conserved antibiotic sensing resistance pathway in firmicutes involves an ABC transporter interplaying with asignal trans-duction system.plos one.,6(1): e159-51.
- **Dange,** S. R. S,; Desal, A. G.; and Patel, S. I. (2005). Diseases of *castor*. In: Saharan, G. S.; Mehta, N. and Sangwanm, M.S. (Eds), diseases of oil seed crops. Indus publishing co, Newdelhi, India, 176:211-234.
- **Deepa**, T.; Kasturi, T.; Avinash, G.; Iakshmi, P. M.; Rrddy, P. S.; Jithendra, K. and Kumar, T. R. (2015). Bacteriological profile in patients with diabetic foot ulcers with special reference to their antibiotic sensitivity pattern. *Int. J. Microbial. App. Sci.,* 4(3):706-712.
- **Depelteau**, J. S.; Brenzinger, S. and Briegel, A. (2019). Bacterial and Archaeal cell structure. Reference module in life sciences. http://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20679-1.

- **Dielubauza,** E. J. (2011). Urinary tract infection in women .Med. Clin. Of North America, 95(1):27-41.
- **Douglas,** N. F. (2016). Meropenem in the treatment of complicated skin and soft tissue infections. *J. Therapeutics and clinical risk management.* 2(4):401-415.
- **Edqvist,** P. D.; Fagerberg, L.; Hallstrom, B. M.; Danielsson, A.; Edlund, K.; Uhlen, M. and Ponten, F. (2014). Expression of Human Skin-Specific genes defined by Transcriptomics and Antibody-Basedprofiling. *J. of Histochemistry &Cytochemistry*, 63(2): 129-141 .
- **Ehmann,** D. E. and Lahiri, S. D.(2014). Novel compounds targeting bacterial DNA to poisomerase/ DNA gyrase. Current opinion in pharmacology.,18:76-83.
- **El-Sharquie**, K.; Noaimi, A. A.; Saleh, B. M.; Sharara, Z. A.; Al-Salam, W. S. (2017). Topical 40% *Loranthus europaens* ointment as an alternative medicine in the treatment of acute cutaneous Leishmaniasis versus topical 25% podophyllin solution. *J. of cosmetics .Dermatological sciences and applications*, 7:148-163.
- **Emody,** L.; Kereni, M. and Nagy, G. (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* .Int. *J. Antimicrob. Agents*; 22 suppl.2:29-33.
- **Enayat**, K.; Sohili, F.; Salimi, H.; Soltan, D. and Mohammed, M. (2011). Frequency, antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of *Escherichia coli* pathotypes obtained from children with acute diarrhea. Med. Res. J., 4(1):23-28.
- **Falagas,** M. E.; Kavvadia, P. K.; Mantadakis, E.; Kofteridis, D. P.; Bliziotis, I. A.; Saloustros, E.; Maraki, S. and Samonis, G. (2006). *Morganella* morganii infections in ageneral Tertiary hospital. Infec. , 34: 315-321.

- **Farjon**, A. (2005). Monograph of *Cupressaceae* and *Sciadopitys*. Royal. Botanic Grandens, Kew. ISBN 1-84246-068-4.
- **Farmer,** J. J.; Murray, P. R.; Baron, E. J.; Pealler, M. A.; Tenover, E. C. and Yolken, R. H. (1995). *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. Manual of clinical microbiology .6thed. Washington, Dciamerican. Society for microbiology; 438-449.
- **Feglo,** P. and Opoku, S. (2014). Ampc β-lactamase production among *Pseudomonas* aeruginosa and Proteus mirabilis isolates at the Komfo Anoke Teaching Hospital, Kumasi, Ghana. *J. of Microbiol. and Antimicrobials*,6(1):13-20.
- **Ferretti,** J. J.; Stevens, D. L. and Fischetti, V. A.(2016). Streptococcus pyogenes. Basic Biology to clinical manifestations (internet). Oklahoma city(ok): University of Oklahoma Health. Sci. Center. (cited: 2th septern. P.384.Available from: https//WWW.ncbi. n/m.nih.gov/books/NBK 333417/.
- **Fetrow,** C. W. and Avila, J. R. (2004). Professionals handbook of complementary and Alternative medicines. Philadelphia, A: Lippincott Williams and wilkins.
- **Fischetti,** V. A. M.(2016). Proteins and other surface protiens on Streptococci .Feb 10. In:editors.
- **Fischer,** J.; Myer and Hoffert. (2013). Regulation of Kallikrein related peptidases in the skin from physiology to discuses therapeutic options thrombosis and haemostasis. 110(3):442-90.
- **Fitz**; Gibbon, S. (2013). Propion bacterium acne strain population in human skin microbiota associated with acne .J. Invet. Dermatol. 133:2152-2160.

- **Flayyih,** M. T. and Abdrabaa, M. K. (2015). Isolation, Identification and treatment of Vancomycin-Resistant *Staphylococcus epidermidis .Iraqi J. of science;* 56(1):701-707.
- **Forbes**, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. (2002). Baily and Scott's diagnostic microbiology. 9thed. Mosby, Inc. St. Louis. USA.,1 : 509.
- **Forbes**, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. (2007). Baily and Scott's diagnostic microbiology. 12thed. Mosby, Inc. Baltimore. USA. pp: 266-277.
- **Fuda**, C.; Suvorov, M.; Vakulenko, S. B. and Mobashery, S. (2004). The basis for resistantce to beta-lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.J. Biol. chem.* 279:40802-40806.
- **Gadek,** P. A.; Heselwood, D. L. and Queen, C. J. (2000). Relation ships within *Cupressaceae sensolato* acombined morphological and molecular approach .
- **Geo,** F. B.; Karen, C. C.; Janet, S. B. and Stephen, A. M. (2007). Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology. Newyork: McGraw Hill medical. 24thed.
- **Gesenhues,** S.; Gesenhues, A. and Welterman, B. (2017). Praxisletfaden all gemein medizin. Bad worishofen: Urban and Fischer.
- **Gill,** S. R.; Fouts, D. E.; Archer, G. L.; Mongodin, E. F.; Deboy, R. T.; Ravel, J.; Daugherty, S. C.; Vamathevan, J.; Jiang, L. and Fraser, C. M. (2005). Insight on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin. Resistant from the complete genome analysis *Staphylococcus aureus* strains and a

biofilm-producing Methicillin –resistant Staphylococcus epidermidis strains. *J. Bacteriol*. 187: 2426-2438.

- **Gillespie,** S. H.; Dan Hawkey, P. M. (2006). Principle and Practice of clinical bacteriology, 2nded. John Wiley and Sons Ltd. Inggris-Hal: 432.
- **Goldsmith**, L. A.; Katz, S. I.; Bjarnsholt, T.; Tolker-Nielson, T. and Givskov, M. (2012). Bacterial colonizations and infections of skin and soft tissues: Introduction. Fitz Patrick's dermatology in general medicine. 8thed. Newyork.
- **Goodman**, A.L.; Merighi, M.; Hyodo, M.; Ventrel, I.; Filloux, A. and Lorry, S. (2009). Direct interaction between sensor kinase protiens mediates acute and chronic disease phenotypes in a bacterial pathogen. Genes Dev., 23(2):249-259.
- **Gruenwald**, J. (2004). PDR for Herbal medicines. 3rded. Montvale, NJ: Thomson PDR.
- **Hall,** M. M.; Finnoff, J. t. and Smith, J. (2011). Musculoskeletal complications of fluoroquinolones: Guidelines and precautions for usage in the athletic population. PM.R.,3:133-142.
- **Harley**, J. P. and Prescott, L. M. (2002). Laboratory exercises in microbiology 5thed. The McGraw-Hill companies, Inc. New york, 8(13):456-459.
- **Harly,** J. P. and Prescott, L. M. (1996). Laboratory Exercises in microbiology 3rded. McGraw-Hill publishing company. Newyork USA**.**
- **Hasan**, A. Y. and Ismael, Th. K. (2018). Antimicrobial activity of *Loranthus* europaeus L. and *Lowsownia* inermis L. extract against clinical Methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* isolated from boil infections. Tikrit *J. of pure science* 23(6).

- **Hosea**, Z., Y.; Kator, L. and Rh0da, E. H. (2018). Phytochemical Properties and Antimicrobial Activities of Aqueous extract of *Curcuma longa* (Turmeric) Rhizome extract. Asian J. *of Research in Crop Science*,2(1):1-8.
- **Ibler**, K. S. and Kromann, B. C. (2017). Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, 7:59-64.
- **Ifeanyichukwu**, I.; Chika, E.; Emmanuel, N.; Anthonia, O.; Ngozi, A. and Esther, U. I. (2015). Community acquired Methicillin-resistant Staphylococcus *aureus* (Ca-MRSA) carriage amongst tertiary school students. American *J. of science and Technology*. 2(1):18-21.
- **Ikechukwu**, N. A. (2019). Insupport of Massive cultivation of Castor oil bean (*Ricinus communis* L.) plant. Int. *J. of Agriculture & Agribusiness,* 4(1) : 19-29.
- **Jacobsen,** S. M. and Shirtliff, M. E. (2011). *Proteus mirabilis* biofilms and Cathrter -associated Urinary tract infections Landes bioscience.2 (5):1-6.
- **Jacoby**, G. A. and Munoz-Price, L. S. (2005). The new beta-lactamases. The New England *J. of medicine*, 352(4):380-391.
- **Jameela**, M.; Mohideen, A.; Sunith, K. and Narayanan, M. (2011). Antimicrobial activities of there medicinal plant Extracts against fish pathogens. *Int. J. Bio. Tech.,* 2(2):57-60.
- **Jamshidi-Kia**, F.; Lorigooini, Z. and Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: past history and future perspective. *J. Herbmed. Pharmacol,* 7(1): 1-7.
- **Janstova**, B.; Necidova, L. and Janstova, B. (2012). Comparing the growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Staphylococcal Enterotoxin Cin sheeps and goats milk. *J. Microbiology Biotechnology and food sciences*, pp: 758-768.

- **Jarlier**, V.; Nicolas, M.; Fourier, G. and Philippon, A. (2011). Extended broud -spectrum β-lactamases conferring transferable resistance to newer β-lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 10(4):867-878.
- **Jawetiz**, Melnick and Delbergs. (2016). Medical microbiology, 27thed. American Lange; 470.
- **Ji**, S. L.; Hyun-Sun, P. and Soyun, C. (2018). Treatment Response in bacterial skin infection *J. Annals of dermatology*,30(2):186-191.
- **Joshua**, A.; Zeichner, M. D.; Dlawrence, F.; Billary, E.; Baldwin, M. D.; Cfran, E.; Cook, M. D.; Eichenfiled, M. D.; Dsheila, S.; Fallon, M. D.; Edavid, A.; Rodriguez, M. D. (2017). Emerging issues in Adult female Acne. *J. of clinical and aesthetic dermatology* January (10).
- **Johson**, C. C. and Tunkel, A. R. (2000). *Viridans streptococci* and groups C and G Streptococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. principles and practice of infections diseases.5thed. Philadelphia: Churchill- living- stone,p : 2167-83.
- **Kallen**, A. and Srinivasan, A. (2010). Current epidermology of multidrug-resistance Gram-negative bacilli in united state. Infect. Control. Hosp. Epidermal., 31:51-54.
- **Kamal**, H.; Shahin, H.; Mohamed-Yaseen, Y. and El-Hela, A. A. (2016). Callus induction treatments influence antimicrobial effect of tissue culture-derived *Thuja orientalis* L. *J. of Scien. and Innova*. *Resea.;* 5(3):79-82.
- **Kamal**, U. and Ghodge, R. (2016). Aretrospective study of common bacterial isolates and their antimicrobial susceptibility pattern from skin infections in a tertiary care hospital in Goa. Original research article.

- **Khaled**, D. W. and Abdullah, B. A. (2018). Antibiotic resistant infection of the bacterial group ESKAPE. Scien. J. of Med. Res., 2(8):166-171.
- **Khubeiz**, M. J.; Mansour, G. and Zahraa, B. (2016). Antibacterial and phytochemical investigation of *Thuja orientalis* L. leaves essential oil from Syria .*Int. J. of current pharmaceutical* review and research; 7(5):243-247.
- **Kizmaz,** M. (2000). Production of medical culinary and Aromatic plants in Turkey, Director of research and planning division general directorate of forests. 26(23):59-62.
- **Kloos**, W. E. and Schleifer, K. H. (1975). Isolation and characterization of Staphylococcus from Human skin. II Description of four new species: *S. aureus, S. capitis*, *S. hominis* and *S. simulans J. Bacteriol.* 25: 62-79.
- **Koboyshi**, S. D.; Molochowa, N. and Deleo, F. R. (2015). Pathogenesis of Staphylococcus *aureus* abscesses. *Am. J. Pathol*. 18S: 1518-1527.
- **Koneman**, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C. and Winn, W. C. (1997). Color Atlas and textbook of diagnostic microbiology 5thed. *J. B. Lippincott*- Raven publishers Philadelphia, USA.
- **Koneman**, E. W.; Allen, S.D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C. and Winn, W.C. (1992). Color Atlas and textbook of diagnostic microbiology 4thed. *J. B. Lippincott Company*. Philadelphia.
- **Korzeniewska**, E.; Korzeniewska, A. and Harnisz, M. (2013). Antibiotic resistant *Escherichia coli* in Hospital and municipal sewage and their emission to the environment. Ecotoxicol. Environ. Saf., 91:96-102.

- **Kumar**, N.; Singh, R. K. and Mishra, S. K. (2010). Isolation and Screening of Soil *Actinomycetes* as sources of antibiotics active against bacteria *Int. J. of Microbiol. Resear*. 2:12-16.
- **Kumar**, A.; Chakraborti, S.; Josh, P. and Chakrabari, B. (2011). Multiple antibiotic and serum resistant Oligotrophic strain. *Klebsiella* pneumoniae MB45 Having novial dfrA 30s sensitive to Zn 0.0Ds. ANN. Clin. Microbial. Antimicrob.,10 (19):1476-711.
- **Lee**, K.; Lim, Y.S.; Yong, D.; Yum, J. H. and Chong, Y. (2017). Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-β-lactamase producing isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp. J. Clin. Microboil*. 41:4623-4629.
- **Levinson**, W.and Jawetz, E. (2000).Microbiology and Immunology examination and board review, 6thed. , McGraw-Hill companies, Inc. USA. pp: 336-408.
- **Li**, Y. H.; Zhang, X. L.; Xiong, Z. G.; and Jin, X. H.(2005). Study of the physicochemical properties of trimethoprim with β- cyclodextrin in solution *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 38:370-374.
- **Lin**, T.Y.; Chan, M. C.; Yang, Y. S.; Lee, Y.; Yeh, K. M.; Lin, J. C. and Chang, F. Y. (2014). Clinical manifestations and prognostic factors of *Morganella morganii* bacteremia. *Eur. J.Clin. Microbiol. Infect. Dis.*
- **Liu**, C.; Bayer, A.; Gorwitz, R. J.; Kaplan, S. L.; Ry, M. J.; Talan, D. A. and Chambers, H. F. (2011). Clinical practice Guidelines by the infectious Diseases Society of America for the treatment of Methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* Infection in adults and children *J. Clin. Infect. Dis.* Clinical practice Guidelines, 52:1-38.

- **Liu**, H.; Zhu, J.; Hu, Q. and Rao, X. (2016). *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen, *Int. J. of Infect. Dis.*, 50:10-17.
- **Livermore**, D. M. and Woodford, N. (2000). Carbapenemases: Aproblem in waiting curropin microbial. 3: 489-495.
- **Livermore**, D.M. (2002). Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nighmare? Clin. Infect. Dis., 34:634-640.
- **Lowell**, A.; Goldsmith Stephan, I.; Katzbarbara, A.; Gilchrest, A. M.; Pallar, S.; David, J.; Leffell, K. and Wolff, F. (2012). Dermatology in general medicine McGraw-Hill medical.
- **Macfaddin**, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria 3rded. The Williams and Wilkins. Baltimore. USA.
- **Magesh**, H.; Kamatchi, G.; Vaidyanathan, R. and Sumathi, G. (2011). Identification of plasmid –mediated quinolone resistance genes qnrA1, qnrB1 and aac(6-1) pcr in amultiple drug-resistant isolate of *Klebsiella pneumoniae* from Chennai. *Indian J. Med. Microb*., 29:262-268.
- **Mascitti**, H.; Duran, C.; Marie Nemo, E.; Bouchand, F.; Calin, R.; Descatha, A.; Gaillard, J.; Lawrence, C. Davido, B.; Barbier, F. and Dinh, A. (2018). Factors associated with bacteraemia due to multidrug - resistant organism carriage: acase control study Antimicrob. Resist. & Infect. Control, 7: 116.
- **Masika**, M.; Musyoki, M.; Museve, B. and Mutwiri, T. (2018). Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens at Kenyatta National Hospital *BMC J*., 11:226.
- **Mason**, D. S.; Marks, M.; Sokana, O.; Solomon, A. W.; Mabey, D. C. and Romani, L. (2016). The prevalence of Scabies and Impetigo in the

Solomon Islands, Apopulation-based survey. PLOs Negl Trop. Dis. 10(6):eooo4803.

- **Metspulu**, L.; Hiisaar, K.; Joudu, J. and Kuusik, A. (2001). The effect of certain toxic plant extracts on the Larva of *Colorado potato* beetle and Kappa beetle.
- **Miller**, L. G.; Eisenberg, D. F.; Liu, H.; Chang, C. L.; Wang, Y. and Luthra, R. (2015). Incidence of skin and soft tissue infections in Ambulatory and in patient settings, 2005-2010. BMC Infect. Dis., 15:362.
- **Mombini**, S.; Rezatofighi, S. E. and Mohamedi, H. (2019). Diversity and Metallo-β lactamase producing genes in *Pseudomonas aeruginosa*. Strain isolated from filters of household water treatment systems *J. Environ manage*, 231 : 413-418.
- **Morgan**, H. R. (1960). Upon the bacteriology of the summer diarrhea of Infants *Br. Med. J.*, 1:908-912.
- **Mayer,** G. (2010). Antibiotics-Protein synthesis, nucleicacid synthes and metabolism faculty of science university Tunku Abdul Rahman in partial fulfillment of the requirements for the degree of Bachelor of science(Hons)Biotechnology,Available at:(Accessed:18january 2013).
- **Nair**, R. and Chanda, S. V. (2004). Antibacterial activity of some medicinal plants of Saurashtra region *J. Tissue. Res* 4,: 117-120.
- **Namvar**, A. E.; Bastara hang, S.; Abasi, N.; Ghehi, G. Sh.; Farhad bakhtiarin, S.; Arezi, P.; Hosseini, M.; Baravati, Sh. Z.; Jokar, Z. and Chermahin, S. G. (2014). Clinical characteristics of *Staphylococcus* epidermidis : A systematic review. GMS Hygiene and infection control, 9(3).

- **Nester**, E.; Anderson, D.; Roberts, J. R.; Paersall, N. and Nester, M. (2001). Microbiology: A human perspective. 3rded. McGraw Hill Companies USA, : 225-249.

- **Nimmo**, G. and Coombs, G. (2010). The Australian Society for Microbiology Inc., 29(3):6-10.

- **O'Hara**, C. M.; Brenner, F. W. and Miller, J. M. (2000). Classification, Identification and Clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. Clin. Microbiol. Rev., 13:534-546.

- **Okonkwo**, E. C.; Orji, J. O.; Ugbo, E. N.; Moses, I. B.; Ogene, L. and Nwuna, E. N. (2018). Prevalence and Antibiotic sensitivity pattern of *Staphylococcus aureus* isolates of Non-Hospital origin. Arch. Clin. Microbiol. 9(1):1989-8436.

- **Oldach,** D.; Clark, K.; Schranz, J.; Das. A.; Craft, J. C.; Scott, D.; et al. (2013). Study comparing the efficacy and safety of oral solithromycin (CEM-101) to those of oral levofloxacin in the treatment of patients with community-acquired bacterial pneumonia. Antimicrob. Agents. Chemother., 57:2526-2534.

- **Oranusi**, S.; Galadima, M. and Umoh, V. J. (2016). Toxicity test and bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus* isolates from food contact surfaces and foods prepared by families in Zaria, Nigeria. *J. Bio line*. 5(4):362-365.

- **Panchaprateep**, R.; Tanus, A. and Tosti, A. (2015). Clinical, Dermoscopic and Histo pathologic features of body hair disorders, *J. of the American academy of dermatology*,P:72-890.

- **Parekh**, J. and Chanda, S. (2007). In vitro Antimicrobial activities of extracts of *Launaea procumbens* .Roxb (*Labiateae*), *Vitis vinifera* L.

(*Vitaceae*) and *Cyprus rotundes* L. *(Cyperaceae*). African *J. Bio. Med. Res.*, 9:89-93.

- **Peleg**, A. Y.; Franklin, C.; Bell, J. M. and Spelman, D. W. (2005). Infect. Dis., 41:1549-1556.

- **Persoon**, M. C.; Voor, A. F.; Meer, P. A.; Bokhoven, K. G.; Gommers, D.; Vos, M. C. and Severin, J. A. (2019). Mortality related to Verona integrin-encoded Metallo-β-lactamase positive *Pseudomonas aeruginosa*: assessment by anovel clinical tool .Antimicrob. Resist. & Infect. Control, 8:107.

- **Pitout**, J. D D.; Gregson, D. B. and Poirel, L. (2005). Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing Metallo- β lactamases in a large centralized laboratory *J. Clin. Microbiol.* 43:3129-3135.

- **Quiros,** Y.; Vicente-Vicente, L.; Morales, A. I.; *et al*. (2011). Anintegrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytoxicity of gentamicin toxicol. Sci.

- **Rahmati**, H.; Salehi, S.; Malekpour, A. and Farhangi, F. (2015). Antimicrobial activity of Castor oil plant (*Ricin communis*) Seeds extract against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and Yeast. Int. J. of Molecular and Med. and Advan. Scien. 11(1):9-12.

- **Rashmi**, D.; Pathak, V. and Kumar, R. (2019). Effect of *Ricinus communis* L. on microorganisms: Advantages and dis advantages Int. *J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 8(4): 878-884.

- **Reddy**, K. R. (2010). Microbiology & Parasitology. 4thed. Paras Medical Publisher. New Delhi.

- **Ren**, J. H.; Chia, C. C.; Jui, M. L.; See, T. P.; Chien, Y. L.; Heng, C. C.; Cheng, K. C.; Hsiao, W. W.; Ying, H. C. and Po, H. L. (2019). The association of Cellulitis incidence and Metrological factors in Taiwan. Epidemiology and Infection, 147(138):1-4.

- **Richter**, S. S.; Heilmann, K. P.; Dohrn, C. L.; Riahi, F. Beekmann, S. E. and Doern, G. V. (2008). Accuracy of phenotypic methods for identification Clin. Microbiol. 46:2184-8.

- **Roger**, M.; Fullard, N.; Costello, L.; Bradbury, S.; Markiewicz, E.; O'Reilly, S.; Darling, N.; Ritchie, P. and Maatta, A. (2019). Bio engineering the microanatomy of human skin *J. of Anatomy*, 234(4) : 438-455.

- **Ruh**, E.; Zakka, J.; Hoti, K.; Fekrat, A.; Guler, E.; Gazi, U. and Suer, K. (2019). Extended- spectrum β-lactamase, plasmid- mediated Ampc β-lactamase, fluoroquninolone resistance and decreased susceptibility to carpenems in *Enterobacteriaceae*: fecl carriage rates and associated risk factors in the community of Northern Cyprus, Antimicrob. Resist. & Infect. Control, 8: 98.

- **Sa**, M. B.; Ralph, M. T.; Nascimento, D. C. O.; Ramos-Barbosa, I. M. S.; Sa, F. B. and Lima-Filho, J. V. (2014). Photo chemistry and Preliminary Assessment of the Antimicrobial activity of chloroform extract of Ambulant Clearances (Ale Mao) A. C. Sm. against Klebsiella *pneumoniae* Carbapenmase-producing strains. Avid. Based Complement Alternative Med., 186586.

- **Sacha**, P.; Wieczorek, P. and Hauschild, T. (2008). Metallo-β lactamases of *Pseudomonas aeruginosa* A novel mechanism resistance to β- lactam antibiotics Folia Histochem. Cytobiol., 46: 137-142.

- **Sambola**, A.; Miro, J. M. and Tornos, M. P. (2002). *Streptococcus agalactiae* infective endocarditis: analysis of 30 cases and review of the literature. Clin. Infect. Dis., 34:1576-1584.

- **Samboorak**, J. and Russell, D. W. (2001). Molecular cloning: A laboratory manual. 3rded. Cold spring Harbor, New york, USA. 5:2-5, 14:8-2.

- **Sender**, R.; Fuchs, S. N. and Milo, R. (2016). Resided estimates for number of human and bacteria cell in the body. DOI., 10:1101/36103.

- **Sepehrimanesh**, M.; Samimi, N.; Hosseinabadi, O.; Mokhtari, M. and Zadeh, S. (2018). Effects of *Cupressus sempervirens* extract on the healing of acetic acid – induced Ulcerative colitis in rat *J. of Coloproctology*, 38(4): 309-313.

- **Severino**, L. S.; Auld, D. L.; Chen, G.; Tan, D.; Lavanya, C.; Miller, T. D.; Wang, M. L.; Zanotto, M. D. and Zieler, H. A. (2012). A review of the challenges for increased production of *Castor J. of Agronomy*, 104:853-880.

- **Shah**, V. O. (2001). A Canadian Task force on preventive healthcare. Prevention of early-onset group B Streptococcal infection in the Newborn: Systematic review and recommendations. CTFPHC Technical report, 01-6.London.

- **Shaikh**, S.; Fatima, J.; Shakil, S.; Rizvi, S. M. D. and Kamal, M. A. (2015). Prevalence of Multidrug resistant and extended spectrum β-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital Saudi. J. Biol. Sci., 22(1):4-62.

- **Shakibaie**, M. R.; Golkari, X. and Salajegheh, G. H. (2014). Antimicrobial susceptibility virulence factors and biofilm formation

among *Staphylococcus aureus* isolate from hospital infections in Kerman, Iran. *J. Microb. Infect. Dis.*,4(4):152-158.

- **Shenep**, J. L. (2000). *Viridans* group Streptococcal infections in immunocompromised hosts. *Int. J. Antimicrob. agents*. 14:129-35.

- **Shi**, Q.; Huang, C.; Xiao, T.; Wu, Z. and Xiao, Y. (2019). Aretros pective analysis of *Pseudomonas aeruginosa* blood stream infection : prevalence , risk factors , and outcome in Carbapenem -susceptible and non - susceptible infections Antimicrob. Resist. & Infect. Control, 8 : 68.

- **Sivanathan**, M. and Elmaran, M. (2013). Medicinal and Pharmacological properties of Andrographis Pediculate *Int. J. of Biomedicine*, 3(2):1-12.

- **Sofowora**, A.; Ogunbodede, E. and Onayade, A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med*., 10(5) :210-229.

- **Sorjamma**, V. and Ramakrishna, V. (2011). Prevalence of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in tertiary care hospital. ISRN Microbial., 2011(1):1-5.

- **Stephenson,** F. H. (2003). Calculations for molecular biology and biotechnology: Aguide to mathematics in the laboratory. 1st edition. Elsevervier. USA. CH-2:18-34.

- **Stevens**, A. and Lowe, J. (2004). Pathology 2nded. Mosby company , London, PP: 79-104.

- **Stevens**, D.; Bisno, A. L.; Chambers, H. F.; Dellinger, E. P.; Goldstein, E. J. C.; Gorbach, S. L. and Wade, J. C. (2014). Practice

guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 Update by the infectious Diseases Society of America. Clinical Infect. Dis., 59(2):e10-e52.

- **Stevens,** D. L. and Bryant, A. E. (2016). Severe Group A Streptococcal infections. *Int. J. Bio. Sci.;* 2(11): 132-141.

- **Subramani**, R. and Sipkema, D. (2019). Marine rare *Actinomycetes* :Apromising source of structurally diverse and unique novel products *J. of marine drugs*, 17(5) : 249.

- **Sunila**, E. S. and Kuhan, G. (2005). Protective effect in mice. Integrative cancer Therapies, Vol., 4:328.

- **Tchaptchet**, S. and Hansen, J. (2011). The yin and yang of host – commenced mutualism. Gut Microbes. , 2:347-352.

- **Thati,** V.; Shivannavar, Ch. T. and Gaddad, S. M. (2011). Vancomycin resistance among Methicillin–resistant *Staphylococcus aureus* isolates from intensive care units of tertiary care hospitals in Hyderabad. *Indian J. Med. Res*., 134 : 704-708.

- **Todar**, K. (2004). Textbook of bacteriology. University of Wisconsin Madison-department for microbiology .Todar's online.

- **Tokajian**, S.; Timani, R.; Issa, A. and Arag, G. (2012). Molecular characterization, Multiple drug resistant and virulence determination of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Lebanon British *Microbiology research J*. 2(4):243-250.

- **Tortora,** G. J.; Funke, D. R. and Case, C.L.(2010). Microbiology Anintroduction. 10th ed.; pearson benjamin cummings U.S.A. pp:355-402.

- **Turkington**, C. and Dover, J. S. (2007). Skin Deep. Third edition checkmark books, Newyork.

- **Ugwu**, M. C.; Ikegbunam, M. N. and Esimone, C. O. (2013). Molecular characterization and Efficacy of Antibiotic *Staphylococcus aureus* isolated from Nostrils of *healthy human volunteers J. Pharm. Sci. and Res.*, 5(1):26-32.

- **Vwioko**, D. E. and Fashemi, D. S. (2005). Growth response of *Ricinus communis* L. (Castor oil) in spent lubricating oil polluted soil *J. Appl. Sci. Environ.* Mg. 9(2):73-79.

- **Wadekar**, M. D.; Naganath, M. and Venkatesha, V. (2015). Detection of ESBLs, MBL and MRSA among isolates of chronic Osteomyelitis and their antibiogram *Int. J. curr. Microbiol. App. Sci*. 4(10):289-295.

- **Walsh**, C. (2003). ASM press; Washington, Dc. Antibiotics: actions, origins, resistance.

- **Wei**, A. and Ma, L. Z. (2013). Biofilm matrix and its regulation in P*seudomonas aeruginosa Int. J. Moi. Sci.*, 14(10):20983-1005.

- **Weiss**, E. A. (2000). Oilseed Crops, 2nded. Blackwell science, Oxford.

- **Whiley**, R. A. and Hardie, J. M. (2009). Genus I. Streptococcus rosebush 1884: Berge's Manual of systematic bacteriology.

- **WHO** (World Health Organization). (2003). Basic laboratory procedures in bacteria Annul. cell Der. Bio.,1 (21):319-346.

- **WHO** (World Health Organization). (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. [ISBN9789241564748] Geneva, Switzerland.

- **Wistrom,** J.; Sjosted, A. and Monsen, T. (2014). Coagulase- negative Staphylococci update on molecular epidemiology and clinical presentation, with focus on Staph. Epidermidis and *Staph. saprophyticus*. *Eur. J. Clin. Micr. Infe. Dis*.,31:7-20.

- **Wojkowska-Mach**, J.; Godman, B.; Glassman, A.; Kurdi, A.; Pilc, A.; Rozanska, A.; Skoczynski, S.; Wataszek, M. and Bochenek, T. (2019). Antibiotic consumption and antimicrobial resistance in Poland; finding and implications. Antimicrob. Resist. & Infect. Control, 7:136.

- **Wong**, R.; Geyer, S.; Weninger, W.; Guimberteau, J. C. and Jason. (2016). The dynamic anatomy patterning of skin. Experimental dermatology, 25:92-98.

- **Xian-Guo,** H. and Ursalla, M. (1994). Antifungl compounds from solarium higrescens.*J. Ethnopharm*, 43:173-177.

- **Yadav**, V. C.; Kiran, V. R.; Jaiswal, M. K. and Singh, K. (2016). Astudy of antibiotic sensitivity pattern of *Pseudomonas aeruginosa* .isolated from atertiary care hospital in south Chhattisgarh. *Int. J. of Med. Scien. and Public. Health*, 6(3):600-605.

- **Yalda,** K.; Sun, T. and Jamuna, V. (2011). Analysis of integrons and associated gene cassettes of Metallo-β lactamase positive *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia *J. of Med. Microbiol.*

- **Yan**, J. J.; Ko, W. C.; Tsai, S. H.; Wu, H. M. and Wu, J.J. (2001). Outbreak of infection with multi-drug resistance *Klebsiella pneumoniae* carrying bla-IMP-8 in uninvesting medical center in Taiwan, *J. Clin. Microbiol.*, 39 :4433-4439.

- **Yongsoon**, Ch.; Jin, H. P.; Ji, H. K.; Seung, B. H. and Areum, D. (2018). Clinical predictors of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in Emergency department *J. Emergency Med. Int.*

- **Zafer**, M. M.; Al-Agamy, M. H.; El-Mahallawy, H. A.; Amin, M. A. and Ashour, M. S. (2014). Antimicrobial resistance pattern and their beta-lactamase encoding genes among Pseudomonas aeruginosa strains isolated from cancer patient. Bio. Med.Research International. 1-8.

- **Zeb**, A.; Ullah, I.; Rehman, H. U.; Jadoon, M. A.; Alam, I.; Ullah, R. and Hayat, A. (2017). Antibiotic susceptibility pattrens of *Pseudomonas aeruginosa* in tertiary care hospital *J. of Entamology and Zoology studies*, 5(1):437-439.

Summery

Swabs were collected from 150 patients with different skin infections, included (32 for cellulitis, 32 for Folliculitis, 34 for Impetigo and 52 for boils) from both genders with aged ranging from (75-1) years old with attended Consultative Clinic /Baquba Teaching Hospital for aperiod from September 2018 to the end of January 2019.

Thirty swabs were collected from the skin of healthy volunteers with different ages and from both genders, 33 bacterial isolates was dignosed depended on the standard bacteriological and biochemical tests. It was *Staphylococcus epidermidis* 11 isolates (33.2%), *Staphylococcus aureus* 6 isolates (18.2%), *Pseudomonas aeruginosa* 5 isolates (15.6%) , *Klebsiella pneumoniae* 3 isolates (9%), *Escherichia coli* 4 isolates (12%),and *Streptococcus pyogenes* 4 isolates (12%).

One hundred fifty six bacterial isolates were identified for swabs collected of skin infections, included 80 isolates (51.3%) were Gram negative where as 76 isolates (48.7%)were Gram-positive. The identifying of where as Gram negative bacteria were 29 isolates (36.3%) *P. aeruginosa*, 18 isolates (22.5%) *E. coli*, 15 isolates (18.7%) *Proteus mirabilis*, 14 isolates (17.5%) *Klebsiella pneumoniae* and 4 isolates (5%) *Morganella morganii*. Gram-positive bacteria were identified as 34 isolates (44.7%) *S. aureus* ,19 (25%) isolates *S. epidermidis*, 11 (14.5%) isolates *Sterpt. pyogenes* , 6 isolates (7.9%) *Strept. viridans* , 4 isolates (5.3%) for *Strept. agalactiae* and 2 (2.6%) isolates *Actinomycetes sp.*

The results showed a significant difference (P <0.01) in males infected (58%), in compared with females (42%) , According to the age groups, (15-

1) years old was most infected to cutaneous infections to apercentage (34.5%) for males and (42.9%) for females.

A significant difference ($P < 0.05$) compared with other age groups of the same genders.

The majority of *Staph. aureus* isolated from skin infections showed sensitivity towared Gentamicin, Amikacin, Pipracillin / Tazobactam, Ofloxacin, Vancomycin, Norfloxacin, Imipenem and Meropenem, while isolates showed resistance to Penicillin G, Ceftriaxone, Trimethoprim, , Ampicillin/Sulbactam and Amoxicillin/Calvulanic acid On the other hand, the isolates of *P. aeruginosa* were sensitive toward Imipenem, Meropenem, Pipracillin / Tazobactam and Ofloxicin, while they were resistant to Ampicillin, Ceftriaxone, Trimethoprim, Aztreonam, Norfloxacin, Ciprofloxacin, Ceftazidime,Chloramphenicol and Cefotaxime.

The ability of bacterial isolates to produce Extended Spectrum beta-lactamase (ESβLs) were detected by disc approximation method. The results showed that 7 isolates (20.6%) of *staph. aureus* were produced of these enzymes, while 23 isolates (79.3%) of *P. aeruginosa* were produced these enzymes.

The combining disc method of Imipenem with EDTA was used to detect production of bacterial isolates for metallo-beta-lactamase (MβLs) enzymes. Eight isolates (23.5%) of *Staph. aureus* were produced these enzymes, while 7 isolates (24.1%) of *P. aeruginosa* showed their ability to produce these enzymes.

The results of this study showed that the aqueous hot extract of *Cepressus sempervirens* and *Ricinus communis* had major effect with a significant difference ($P<0.05$) in the inhibition diameters of different concentrations (12.5, 25, 50, 100, 200) mg/ml against *Staph. aureus* with an inhibition

diameters of (12.4, 13.6, 15.7, 18.6, 20.3) mm, and (16.5, 18, 22, 27.6, 29.8) mm, respectively, according to the increasing in concentration of the extract. Also, the alcoholic extract of *Cepressus sempervirens* and *Ricinus communis* effect on these bacteria with significant difference (P <0.05) in inhibition diameters for the same concentrationswhich mentioned above and inhibition diameters (12.5, 15.7, 17.5, 19.9, 21.6) mm and (13.5, 15.5, 17.6, 21.6, 25.2), respectively.

The aqueous hot extract of *Cepressus sempervirens* and *Ricinus communis* revealed an effect with a significant difference (P<0.05) in inhibition diameters of different concentrations (12.5, 25, 50, 100, 200) mg / ml against *P. aeruginosa* isolated from cutaneous infections and the inhibition diameters were (10.5, 14.5, 16, 17.6, 19.3) mm, and (15.4, 17.5, 21.6, 26, 29.6) mm, respectively, depending on the increasing in concentration of the extract, as well as the alcoholic extract of the *Cepressus sempervirens* and *Ricinus communis* had an effect on these bacteria and a significant difference (P <0.05) in Inhibition diameters for the same concentrations above and inhibition diameters (13.5, 15.6, 17.5, 19.6, 24.8) mm and (16.6, 19.6, 24.7, 29, 34.5) mm respectively.

The PH of hot and alcoholic aqueous extract of tannins was 5.6 and 6.7 respectively; While the hot and alcoholic aqueous extract of castor plant was 5.8 and 6.5, respectively. In terms of toxicity, the results showed that all types of plant extracts used in this study had a toxic effect on human erythrocytes by rupturing of their cell membrane and release haemoglobin.

ملحق (1) استمارة المعلومات الخاصة بالمرضى

رقم العينة:

اسم المريض:

العمر:

الجنس:

السكن:

نوع العينة:

تاريخ جمع العينة:

مكان العزل:

النتيجة:

ملحق(2) الاختبارات الكيموحيوية باستخدام نظام Api 20E

الاختبار	المادة الاساس	النتيجة الموجبة	النتيجة السالبة
ONPG	β-galactosidase	اصفر	عديم اللون
ADH	Arginine dihydrolase	برتقالي او احمر	اصفر
LDC	Lysine decarboxylase	برتقالي او احمر	اصفر
ODC	Ornithine decarboxylase	برتقالي او احمر	اصفر
CIT	Citrate utilization	ازرق مخضر او ازرق	اخضر
H2S	H2Sproduction	اسود	عديم اللون
URE	Urea production	وردي	اصفر
TDA	Tryptophan deamination	بني غامق	اصفر
IND	Indole production	وردي	عديم اللون
VP	Acetoin production	وردي او احمر	عديم اللون
GEL	Gelatin hydrolysis	اسود	عديم اللون
GLU	Glucose fermentation	اصفر	ازرق
MAN	Mannitol	اصفر	ازرق
INO	Inositol	اصفر	ازرق
SOR	Sorbitol	اصفر	ازرق
RHA	Rhamnose	اصفر	ازرق
SAC	Sucrose	اصفر	ازرق
MEL	Melibiose	اصفر	ازرق
AMY	Amygdalin	اصفر	ازرق
ARA	Arabinose	اصفر	ازرق

Ministry of Higher Education

and Scientific Research

University of Diyala

College of Science

Evaluation the effectiveness of some plant Extracts on pathogenic bacteria producing β-lactamase enzymes isolated from cutaneous infections

A thesis Submitted to Council of College of Science,

University of Diyala in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree Master in Biology

By

Nagham Mohamed Khalaf

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Abbas Yaseen Hasan

2020 A.D. *1441 A.H*

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions& Recommendations