



جامعة كربلاء

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

**الفعالية ضد بكتيرية لمستخلصات بعض النباتات الطبية ضد البكتريا المرضية
المتعددة المقاومة للأدوية والمكونة للغشاء الحيوي والمعزولة سريريا**

رسالة

مقدمة الى مجلس كلية العلوم - جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

رويدة عادل حمزة حسن المطيري

بإشراف

الأستاذ الدكتور

ناجح هاشم كاظم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

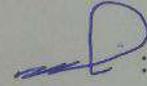
قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة «البقرة» الآية (32)

إقرار المشرف

اشهد أن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات
نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة.

التوقيع: 

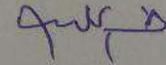
الاسم: أ.د. ناجح هاشم كاظم

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ: 2023/ /

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على توصية المشرف ، أحيل هذه الدراسة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع: 

الاسم: أ.م.د. خالد علي حسين

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان: رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ: 2023/ /

اقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة ، نشهد باننا قد اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (الفعالية الضد بكتيرية لمستخلصات بعض النباتات الطبية ضد البكتريا المرضية المتعددة المقاومة للأدوية والمكونة للغشاء الحيوي والمعزولة سريريا) وقد ناقشنا الطالبة (رويدة عادل حمزة) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 25/06/2023 ونرى انها جديرة لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة بتقدير (امتياز).

عضو اللجنة



التوقيع :

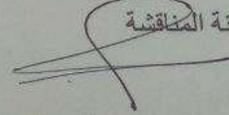
الاسم : أ.م.د. زهير حميد عبود

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم/ جامعة كربلاء

التاريخ : 2023 / 7 / 11

رئيس لجنة المناقشة



التوقيع :

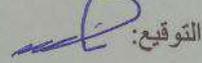
الاسم : أ.د. نكري عدنان جواد

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم/ جامعة القاسم الخضراء

التاريخ : 2023 / /

عضو اللجنة (مشرف)



التوقيع :

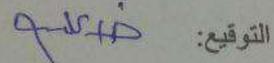
الاسم : أ.د. ناجح هاشم كاظم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم/ جامعة كربلاء

التاريخ : 2023/ /

عضو اللجنة



التوقيع :

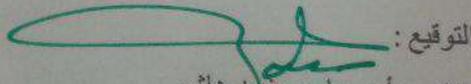
الاسم : أ.م.د. خالد علي حسين

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم/ جامعة كربلاء

التاريخ : 2023 / /

مصادقة عميد كلية العلوم / جامعة كربلاء



التوقيع :

الاسم : أ.د. جاسم حنون هاشم

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 2023/ 7/ 5

الإهداء

والذي العزيز

الشخص الذي علمني العطاء بدون انتظار، و الى من أحمل اسمه بكل افتخار، الى روحه رحمه الله.

امي الحبيبة

التي تحت قدميها تكمن الجنة ، و معنى الحب والتفاني والحنان .

زوجي الحبيب

الذي جعل ربي بيني وبينه مودة ورحمة، فهو رفيق الدرب، ومن ساندني وخطى معي خطواتي.

أخوتي وأخواتي

الذين رافقوني في السراء والضراء ، وبهم أستمد القوة والعزيمة .

اولادي

زينتي في الحياة الدنيا ، و قرّة عيني ، و من أرى التفاؤل بعينهم والسعادة في ضحكتهم.

اهدي ثمرة جهدي المتواضع..



شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه المنتجبين ومن تبعهم بإحسان الى يوم الدين ، وبعد :

فإني احمد الله وأسجد له شكرا على ما غمرني به من سداد وتوفيق حتى تم إكمال هذه الرسالة فله سبحانه الفضل والمنة .

من دواعي الوفاء أن أتقدم بخالص التقدير والاحترام إلى عمادة كلية العلوم ورئاسة قسم علوم الحياة وبالأخص السيد رئيس القسم **أ.م.د خالد علي حسين** المحترم لمتابعته التحليل الإحصائي الذي تطلبه البحث .

ويطيب لي بعد أن من الله علي بإنجاز هذه الدراسة أن أتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى أستاذي الفاضل **أ.د. ناجح هاشم كاظم** المحترم لاقتراحه موضوع الرسالة ، والذي لم يبخل علي يوماً بوقته وجهده وفكره وآرائه النيرة وملاحظاته ، توجيهاته السديدة ونصائحه القيمة التي كان لها الأثر الاكبر في إتمام هذا البحث وإخراجه بهذه الصورة ، فجزاه الله عني خير الجزاء ومتعته بوافر الصحة والعافية .

وانتقدم بالشكر والعرفان والامتنان الى جناب **الدكتور عدنان هاشم** (اخصائي أنف وأذن وحنجرة) الذي كان له الفضل في الحصول على العينات من خلال مراجعة المرضى في عيادته وفقه الله لكل خير وحفظه من كل سوء.

كل الشكر والامتنان الى منتسبي مستشفى النسائية والتوليد واخص بالذكر **السيد مهدي خلف جبر** جعل الله ثمرة ذلك في ميزان حسناتهم .

الباحثة

المخلص Summary

تم الحصول على 120 عزلةً بكتيرية من 128 مسحةً لمرضى مصابين بالتهاب اللوزتين في محافظة كربلاء المقدسة ، وكانت نسبة الإصابة في المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين بين الاناث اعلى إذ بلغت نسبة 58.33% مقارنة بالذكور إذ كانت نسبة الإصابة 41.66% ، وكانت أعلى إصابة في الفئة العمرية (5-15) بنسبة 38% .

وبعد إجراء الفحوصات بطرائق التشخيص الكيموحيوية تبين إن هذه العزلات تتضمن بكتريا *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Streptococcus spp* ، *Staphylococcus spp* ، *Enterobacter spp* ، *Pseudomonas spp* ، وكانت البكتريا الأعلى نسبة هي *Staphylococcus aureus* بعدد 19 عزلةً و18 عزلةً لبكتريا *K. pneumoniae* ، وعند إخضاع تلك العزلات لإختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة قياس قطر التثبيط حول الأقراص فكانت جميعها مقاومة للأدوية المتعددة Multi-drug resistant (MDR) ، وعند إخضاع العزلات المنتخبة التابعة لبكتريا *S. aureus* و *K.pneumoniae* للفحص بتقنية VITEK compact system 2-ظهرت نتائج التشخيص مطابقة للتشخيص الأولي وكذلك مطابقة لنتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية (Antibiotic susceptibility). وظهر أن هناك (6) عزلات تابعة لبكتريا *S. aureus* و(7) عزلات تابعة لبكتريا *K. pneumoniae* لها قابلية قوية في بناء الغشاء الحيوي (Biofilm) بعد فحصها باختبار صفائح المعايرة (MTP) titer Micro – plate.

تم التحري عن الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي الحار لنبات الشاي الأخضر والدارسين وعرق السوس والقرنفل بتركيز (10 ، 20 ، 40 ، 60 ، 80 ، 100) ملغم / مل ، أسفرت النتائج بأفضلية مستخلص الشاي الأخضر بفعالية تثبيطية عالية ضد عزلات بكتريا *K. pneumoniae* و *S. aureus* بالمقارنة مع بقية المستخلصات النباتية المتبقية ، ولم تبد بقية المستخلصات أية فعالية ضد عزلات *K. pneumoniae*.

وتم تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) لمستخلص الشاي الأخضر، إذ كان بتركيز 8 ملغم / مل ضد بكتريا *S. aureus* و36 ملغم / مل ضد بكتريا *K. pneumoniae*.

كما تم دراسة السمية الخلوية لمستخلص الشاي الأخضر ، إذ كانت النسبة المئوية للسمية 8 % وتبين إن النتائج كانت جيدة ولا يوجد أي نشاط إنحلالي ضد خلايا الدم الحمراء البشرية .

قائمة المحتويات

صفحة	الموضوع	تسلسل
أ	الملخص	
I	قائمة المحتويات	
V	قائمة الاشكال	
VI	قائمة الجداول	
VI	قائمة المختصرات	
	الفصل الأول : المقدمة واستعراض المراجع	1
1	المقدمة	1-1
4	استعراض المراجع	2-1
4	التهاب اللوزتين tonsillitis	1-2-1
5	أنواع التهاب اللوزتين	1-1-2-1
5	التهاب اللوزتين الحاد Acute tonsillitis	1-1-1-2-1
5	التهاب اللوزتين المزمن Chronic tonsillitis	2-1-1-2-1
5	مسببات التهاب اللوزتين	2-1-2-1
6	جنس المكورات العنقودية (<i>Staphylococcus Spp</i>)	3-2-1
7	بكتريا <i>Staphylococcus aureus</i>	4-2-1
8	<i>Staphylococcus aureus</i> Pathogenesis	1-4-2-1
9	بكتريا <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5-2-1
10	عوامل الضراوة Virulence factors	1-5-2-1
11	Capsular polysaccharide (CPS) (K-antigen)	1-1-5-2-1
12	Lipopolysaccharide (LPS)	2-1-5-2-1
12	Siderophores production حاملات الحديد	3-1-5-2-1
12	Fimbriae (pili)	4-1-5-2-1
13	آليات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية	5-1-5-2-1
13	أولاً- إنتاج الانزيمات المثبطة للمضادات الحيوية	
13	ثانياً- تغير في نفاذية الغشاء الخلوي	
13	ثالثاً - تغير في موقع الهدف	
14	رابعاً - تغير في المسارات الأيضية	
14	الأغشية الحيوية Biofilms	6-1-5-2-1
15	آلية تكوين الغشاء الحيوي Mechanism of Biofilm Formation	2-5-2-1
15	المرحلة الأولى: التلامس والالتصاق Attachment and adhesion	
15	المرحلة الثانية: تكوين المستعمرات المجهرية ونضج الغشاء الحيوي Formation of Microcolonies and Maturation of Biofilm	
16	المرحلة الثالثة: الانفصال De attachment	

16	Role of Biofilm in دور الأغشية الحيوية في المجتمعات الميكروبية : Microbial Communities	3-5-2-1
16	Protection from environmental الحماية من الظروف البيئية conditions	1-3-5-2-1
16	Nutrient Availability توفر المغذيات	2-3-5-2-1
16	Acquisition of New Genetic Trait اكتساب صفة وراثية جديدة	3-3-5-2-1
16	Penetration of Antimicrobial اختراق عامل مضادات الميكروبات Agent	4-3-5-2-1
17	Medical Plant النباتات الطبية	6-2-1
17	Green Tea الشاي الأخضر	1-6-2-1
19	Active Compound المركبات الفعالة	1-1-6-2-1
20	medical importance الأهمية الطبية للشاي الأخضر	2-1-6-2-1
21	Carnation نبات القرنفل	2-6-2-1
23	Liquorice عرق السوس	3-6-2-1
25	Cinnamomum verum الدارسين	4-6-2-1
	الفصل الثاني : المواد وطرائق العمل	2
28	Materials and Equipment's used الاجهزة والمواد المستعملة	1-2
28	Instruments of Laboratory الاجهزة والادوات المخبرية	1-1-2
30	المواد الكيميائية والبيولوجية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المصنعة لها	2-1-2
32	اقرص المضادات الحيوية المستعملة والشركة المصنعة لها والمنشأ	3-1-2
33	طرائق العمل Methods	2-2
33	جمع وتشخيص العينات	1-2-2
34	الأوساط الزرعية المستعملة في عزل وتشخيص البكتريا قيد الدراسة	2-2-2
36	Sterilization طرائق التعقيم	3-2-2
37	الكواشف والمحاليل المستعملة لعزل وتشخيص البكتريا قيد الدراسة	4-2-2
38	خطوات تشخيص البكتريا المسببة لالتهاب اللوزتين	3-2
38	عزل وتشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام	1-3-2
38	عزل وتشخيص بكتريا <i>Klebsiella Spp</i>	1-1-3-2
38	الفحوصات المجهرية Microscopic tests	2-1-3-2
38	الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests	3-1-3-2
40	عزل وتشخيص الأنواع الأخرى من البكتريا السالبة لصبغة غرام	2-3-2
40	عزل وتشخيص الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة غرام	3-3-2
40	عزل وتشخيص بكتريا <i>S. aureus</i>	1-3-3-2
40	الفحوصات المجهرية Microscopic tests	2-3-3-2
41	الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests	3-3-3-2
41	عزل وتشخيص بكتريا <i>Streptococcus Spp</i>	4-3-3-2
42	الفحوصات المجهرية Microscopic tests	1-4-3-3-2
42	الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests	2-4-3-3-2

45	اختبار حساسية البكتريا قيد الدراسة للمضادات الحيوية	4-2
46	التحري عن قابلية البكتريا قيد الدراسة لتكوين الغشاء الحيوي (Biofilm)	5-2
46	طريقة اختبار صفائح المعايرة (MTP) (Micro – titer – plate) (method)	1-5-2
47	التعرف على البكتيريا قيد الدراسة باستخدام جهاز Vitek 2 compact system	6-2
48	تحضير المستخلصات النباتية	7-2
48	المستخلص المائي الحار	1-7-2
49	تحضير تراكيز محاليل المستخلصات النباتية لإختبار فعاليتها التثبيطية ضد البكتريا	2-7-2
49	طريقة الانتشار بالحفر : Well Diffusion Method	3-7-2
50	الكشف عن التركيز المثبط الأدنى (MIC) باستخدام طريقة Microdilution	4-7-2
51	تحديد سمية المستخلص النباتي للشاي الأخضر	5-7-2
52	التحليل الإحصائي Statistical Analysis	6-7-2
	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	3
53	عزل وتشخيص البكتريا المسببة لإصابات التهاب اللوزتين	1-3
55	تشخيص البكتريا المسببة لإصابات التهاب اللوزتين tonsillitis	2-3
55	تشخيص البكتريا الموجبة لصبغة غرام	1-2-3
55	تشخيص بكتريا <i>S. aureus</i>	1-1-2-3
56	تشخيص بكتريا المكورات المسببة <i>Streptococcus Spp</i>	2-1-2-3
57	تشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام	2-2-3
57	تشخيص بكتريا <i>K. pneumonia</i>	1-2-2-3
58	تشخيص بكتريا <i>E. Coli</i>	2-2-2-3
60	تشخيص بكتريا <i>Pseudomonas spp</i>	3-2-2-3
60	تشخيص بكتريا <i>Enterobacter spp</i>	4-2-2-3
63	اختبار حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة للمضادات الحيوية	3-3
63	اختبار حساسية بكتريا <i>Staphylococcus aureus</i> للمضادات الحيوية	1-3-3
66	مقاومة بكتريا <i>Klebsiella pneumoniae</i> للمضادات الحيوية	2-3-3
69	تكوين الغشاء الحيوي Biofilm Formation	4-3
72	تأكيد تشخيص البكتريا قيد الدراسة بجهاز Vitek 2 compact system	5-3
73	تقدير الفعالية التثبيطية لنبات الشاي الأخضر و عرق السوس والقرفة والقرنفل	6-3
73	تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات الشاي الأخضر ضد بكتريا <i>S.aureus</i> و <i>K.pnuemoniae</i>	1-6-3
77	تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس ضد بكتريا <i>S.aureus</i> و <i>K.pnuemoniae</i>	2-6-3
79	تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات الدارسين ضد بكتريا <i>S.aureus</i> و <i>K.pnuemoniae</i>	3-6-3

81	تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات القرنفل ضد بكتريا <i>S.aureus</i> و <i>K.pnuemoniae</i>	4-6-4
82	الكشف عن التركيز المثبط الأدنى (MIC) باستعمال طريقة Microdilution	7-3
83	السمية الخلوية لمستخلص الشاي الأخضر في المختبر	8-3
	الفصل الخامس : الاستنتاجات والتوصيات	4
85	الاستنتاجات	1-4
86	التوصيات	2-4
87	المصادر References	
	الملاحق Appendixes	

قائمة الاشكال

الصفحة	الموضوع	التسلسل
4	التهاب اللوزتين	1-1
11	تمثيل تخطيطي لعوامل إمراضية لل <i>Klebsiella</i>	2-1
19	الشاي الأخضر	3-1
22	نبات القرنفل	4-1
24	جذور نبات عرق السوس	5-1
26	الدارسين	6-1
44	(مخطط) خطوات إجراء الدراسة	1-2
53	توزيع المسحات المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis) حسب جنس المريض	1-3
54	توزيع العزلات البكتيرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis) حسب جنس المريض	2-3
55	توزيع العزلات البكتيرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis) حسب الفئات العمرية	3-3
58	<i>S. aureus</i> in Mannitol salt agar	4-3
59	بكتريا E.coli على وسط MacConkey agar	5-3
66	نسب مقاومة وحساسية عزلات بكتريا <i>S. aureus</i> للمضادات الحيوية	6-3
68	نسب مقاومة عزلات بكتريا <i>Klebsiella pneumoniae</i> للمضادات الحيوية	7-3
70	انتاج الغشاء الحيوي biofilm من قبل عزلات بكتريا <i>K.pneumoniae</i> بطريقة (MTP) (Micro – titer – plate method)	8-3

قائمة الجداول

صفحة	الموضوع	تسلسل
7	التصنيف العلمي لجنس <i>Staphylococci</i>	1-1
9	التصنيف العلمي ل <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2-1
18	التصنيف العلمي للشاي الأخضر	3-1
21	التصنيف العلمي لنبات القرنفل	4-1
23	التصنيف العلمي لنبات عرق السوس	5-1
25	التصنيف العلمي للقرفة (الدارسين)	6-1
28	الأجهزة والادوات المختبرية والشركات المصنعة لها	1-2
29	المواد ذات الاستخدام الواحد والشركة المصنعة لها	2-2
30	المواد الكيميائية والبايولوجية والاسواط الزراعية	3-2
32	اقرص المضادات الحيوية	4-2
61	الاختبارات الشكلية والكيموحيوية لبعض أنواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام المعزولة من إصابات التهاب اللوزتين	1-3
62	الأنواع البكتيرية المعزولة من التهابات اللوزتين ونسبها المنوية	2-3
65	النسبة المنوية لمقاومة عزلات بكتريا <i>S. aureus</i> للمضادات الحيوية قيد الدراسة	3-3
69	النسبة المنوية لمقاومة عزلات بكتريا <i>Klebsiella pneumoniae</i> للمضادات الحيوية قيد الدراسة	4-3
70	نتائج اختبار بناء الغشاء الحيوي لعزلات بكتريا <i>S.aureus</i> بطريقة Micro – titer – plate method(MTP)	5-3
71	نتائج اختبار بناء الغشاء الحيوي لعزلات بكتريا <i>K.pnuemoniae</i> بطريقة Micro – titer – plate method(MTP)	6-3
72	تشخيص البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام المعزولة من إصابات التهاب اللوزتين باستخدام نظام VITEK-2 Compact System	7-3
74	معدلات الأقطار التثبيطية (IZD) للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر (Green tea) ضد بكتريا <i>S.aureus</i> بطريقة الانتشار بالحفر	8-3
75	معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر (Green tea) ضد بكتريا <i>K.pnuemoniae</i> بطريقة الانتشار بالحفر	9-3
78	معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي لجذور نبات عرق السوس ضد بكتريا <i>S.aureus</i> بطريقة الانتشار بالحفر	10-3
80	معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي للدارسين ضد بكتريا <i>S.aureus</i> بطريقة الانتشار بالحفر	11-3
81	معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي للقرنفل ضد بكتريا <i>S.aureus</i> بطريقة الانتشار بالحفر	12-3

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح
BAP	Biofilm - associated proteins
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
CPS	Capsular polysaccharide
CRD	Completely Randomized Design
EC	Epicatechin
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ECG	Epicatechin gallate
EGC	Epigallocatechin
EGCG	Epigallocatechin gallate
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ENT	Ear, Nose and Throat
EPS	Extracellular polymeric substances
LPS	Lipopolysaccharide
LSD	Least significant difference
MDR	Multi-drug resistant
MHA	Muller Hinton Agar
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MR- VP	Methyl Red-Voges -Proskauer
MRSA	Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSA	Manitol salt agar
MTP	Micro - titer plate
N.S	Normal saline

OD	Optical density
PBP	Proteins Binding Penicillin
PBS	phosphate buffer solution
PH	Power of Hydrogen
WHO	World Health Organization
EDR	Exteme -drug resistant

1- المقدمة واستعراض المراجع Introduction and literatures Review

1-1 المقدمة Introduction

التهاب اللوزتين Tonsillitis هو التهاب يصيب اللوزتين ، هو مرض شائع في الجهاز التنفسي العلوي ويصيب جميع الفئات العمرية وخاصة الأطفال والبالغين ، وهي حالة سريرية شائعة ناجمة عن عدوى بكتيرية أو فيروسية ، وتلعب اللوزتين دورًا مهمًا في الجهاز المناعي بوصفها خط دفاع أول ضد الميكروبات التي تدخل عبر الأنف والفم ، وأكثر أعراض التهاب اللوزتين شيوعًا هي التهاب الحلق واحمرار اللوزتين المتورمة والألم عند البلع والحمى والسعال والصداع والتعب والقشعريرة وتضخم الغدد الليمفاوية في الرقبة وألم في الأذنين أو الرقبة والأعراض الأقل شيوعًا تشمل الغثيان و ألم المعدة و قيء و تغير في الصوت و رائحة الفم الكريهة ، من أهم المسببات البكتيرية الممرضة للقناة التنفسية العليا *Streptococcus pyogenes* و *Streptococcus pneumoniae* و *Haemophilus influenzae* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus*. (Suman et al., 2014).

ولعل من أخطر الأنواع وأهمها بكتريا *S. aureus* و *K. pneumoniae* والتي تعد واحدة من الممرضات الإنتهازية (Opportunistic Pathogens) لأنهما يسببان الإلتهاب الرئوي المكتسب ولا سيما في المرضى الراقدين في المستشفى أو المصابين بأمراض مزمنة أو الذين يعانون من نقص المناعة (Mahon et al., 2018).

وقد تغزو هذه البكتيريا أنسجة الجلد للمريض ، مما قد تسبب تجرثم الدم أو قد تصيب الجهاز التنفسي وتسبب التهابات رئوية حادة ، وقد تسبب التهاب شغاف القلب أو التهابات المفاصل أو المسالك البولية أو الجهاز الهضمي أو التهاب السحايا ، وما يزيد من خطورتها أنها تزيد من خطر الوفاة ، ووفقًا للبيانات الصادرة عن المركز الأوروبي للوقاية من الأمراض ومكافحتها (ECDC) European Centre for Disease Prevention and Control تبين أنه يموت سنويًا حوالي 33000 شخص في الإتحاد الأوروبي من العدوى بسبب البكتيريا المقاومة للعديد من الأدوية ، كما إن هناك العديد من العوامل التي تسهم في انتشار العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية ، مثل الأجهزة والمعدات الملوثة والإجراءات الجراحية والاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية (Kowalski , 2007).

تُعد صفة المقاومة للأدوية التي تمتلكها البكتيريا واحدة من أهم المشاكل الصحية في بلدان العالم ، فالاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية بدون إستشارة الطبيب و لمدة غير مثالية يمكن أن يؤدي إلى مقاومة البكتيريا العالية للمضادات الحيوية أو قد تقوم بإنتاج الانزيمات المثبطة للمضادات الحيوية وتغير في موقع الهدف و تغير في نفاذية الغشاء الخلوي ، فضلاً عن إن واحدة من طرائق مقاومة البكتيريا هي قدرتها على إنتاج الأغشية الحيوية biofilm وهي عبارة عن تجمع الخلايا البكتيرية والتصاقها بالأسطح الصلبة ، وتكون محاطة بمادة بينية خارج خلوية extracellular matrix التي تكون عبارة عن سكريات متعددة وبروتينات الدنا من الأحياء المجهرية ، وتساعد هذه المادة الخارج خلوية في تثبيت الغشاء الحيوي ، إذ يساهم هذا الغشاء في عمليات إصابة المضيف ويزيد من قابلية البكتيريا على مقاومة المضادات الحيوية ، كما يوفر حماية الخلايا من الاليات الدفاعية للجسم (Hughes & Andersson, 2017).

ومن جانب آخر فإن ظهور بكتيريا *S. aureus* و *K. pneumoniae* المقاومة للميثيسيلين وانتشارها بشكل ملفت ومثير للقلق يمثل تحديًا كبيرًا للصحة العامة وعبئًا اقتصاديًا بالنظر لصعوبة علاجها فضلاً عن إرتفاع معدل الوفيات جراء الإصابات الناجمة عنها (Grundmann et al., 2006) .

أثارت النباتات الطبية إهتمامًا كبيرًا في العصر الحديث من خلال استعمالها لعلاج بعض الأمراض وأصبحت من الوسائل الصحية في كثير من البلدان المتقدمة ، ويعد نبات الشاي الأخضر من أهم النباتات حيث يحتوي الشاي الأخضر على العديد من مضادات الأكسدة ، التي تلعب دوراً كبيراً في حماية الجهاز التنفسي و تقليل الإلتهاب في الرئتين وتحسين صحة الرئة ، ويساعد على تثبيط تطور الورم وتثبيط معدل تضاعف الخلايا ، كما له تأثير مضاد للأحياء المجهرية وذلك لان له فعالية واضحة في تثبيط نمو الأحياء المجهرية (محمد بو عبد الله سعاد & لعلاوي قريشي ، 2017).

وقد كان هدف هذه الدراسة هو معرفة التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية لنبات جذور عرق السوس و أوراق الشاي الأخضر و لحاء الدارسين و بذور القرنفل ومقارنتها مع تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا في محاولة لإيجاد بدائل علاجية لتقليل الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية الذي أدى الى انتشار صفة المقاومة المتعددة لهذه المضادات الحيوية وذلك من خلال الخطوات الآتية:

1- عزل البكتيريا وتشخيصها من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين Tonsillitis في محافظة كربلاء المقدسة .

- 2- اختيار أنواع البكتريا المرضية الأكثر تردداً وإخضاعها إلى إختبارات الحساسية للمضادات الحيوية (Antibiotic susceptibility).
- 3- التحري عن امتلاك العزلات التي أظهرت مقاومة متعددة للأدوية من الخطوة السابقة لعامل الضراوة (الغشاء الحيوي).
- 4- تأكيد تشخيص تلك العزلات بجهاز VITEK 2 compact system.
- 5- التحري عن مستخلص نباتي معين يمتلك فعالية ضد بكتيرية ، وكذلك ضد بناء الغشاء الحيوي للعزلات المرضية قيد الدراسة.

2-1 استعراض المراجع literatures Review

1-2-1 التهاب اللوزتين tonsillitis

اللوزتين: هما عبارة عن كتلتين لحميتين تشبهان اللوز في شكلهما ، وتتكون كل لوزة من نسيج لمفي وتغطي بغشاء مخاطي ، وتقع اللوزتان في مؤخرة الفم على الجانبين ويبرز سطحهما الحر في جوف البلعوم ويختلف حجم اللوزتين من شخص الى آخر. وتعد اللوزتان من المكونات المهمة لجهاز المناعة ، إذ تقومان بالدفاع عن الجسم وذلك بتكوين أجسام مضادة للفيروسات والبكتيريا التي تدخل عن طريق الجهاز التنفسي العلوي.

ويُعد البلعوم الجزء العلوي من الجهاز الهضمي - التنفسي يبلغ طوله 10 سم ، ويقسم البلعوم إلى ثلاثة أقسام هي: البلعوم الأنفي و البلعوم الفموي والبلعوم الحنجري . ولجدار البلعوم ثلاث طبقات:

1 - مخاطية

2 - ليفية

3 - عضلية

ويعد التهاب اللوزتين هو عدوى في الجهاز التنفسي العلوي الشائعة التي تصيب كل الفئات العمرية ولاسيما الأطفال والبالغين ، وكذلك يعرف بأنه عملية التهابية تحدث في الغشاء المخاطي والنسيج اللمفي للبلعوم (Katkowska et al., 2017).



شكل رقم (1-1) . التهاب اللوزتين

1-1-2-1 أنواع التهاب اللوزتين

يوجد نوعين لإلتهاب اللوزتين هما :

1-1-1-2-1 التهاب اللوزتين الحاد Acute tonsillitis

يظهر هذا النوع بشكل مفاجئ على أنسجة اللوزتين ، وقد تختفي أعراض الإلتهاب بعد العلاج ويتكرر لعامين على الأقل مع خمس هجمات حادة أو أكثر سنويًا ، ومن أعراضه الغثيان أو القيء وألم المعدة و خراجات حول اللوزة (Vijayashree et al., 2014).

2-1-1-2-1 التهاب اللوزتين المزمن:Chronic tonsillitis

هو إلهاب شديد ومستمر يصيب اللوزتين إذ البكتيريا المسببة لا تسكن فقط سطح اللوزتين وإنما أيضاً الأنسجة العميقة للوزة يؤدي في النهاية الى تورمها وتقرح سطحي في اللوزتين ، ويحدث في الفئات العمرية الصغيرة وهو أكثر خطورة على الأنسجة من النوع الأول ، ومن أعراضه الحمى التي تتخطى درجة حرارة 38 م° و التهاب الحلق الشديد و رائحة الفم الكريهة و صعوبة في فتح الفم و البلع و التنفس و ألم بالأذن و وجود دم في القشع و إستمرار بحة الصوت لأكثر من اسبوعين و السعال و الصداع و التعب والقشعريرة وقد حدد الطب أن الإصابة المتكررة والمزمنة تتفاقم عن طريق بناء الأغشية الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة في الطيات الرطبة والدافئة وبالتالي يكون الإستئصال الجراحي للوزتين هو الخيار الوحيد (Morad et al., 2017).

2-1-2-1 مسببات إلهاب اللوزتين

يحدث إلهاب اللوزتين بشكل عام نتيجة عدوى قد تكون فيروسية أو بكتيرية ، تكون المسببات الفيروسية هي الأكثر شيوعًا بما في ذلك فيروس rhinovirus و respiratory syncytial virus و adenovirus و coronavirus ، وعادة ما تكون العدوى البكتيرية ناجمة عن *Streptococcus pyogenes* و *Streptococcus pneumoniae* و *Haemophilus influenzae* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* (Mahon et al., 2018).

تعد *S. aureus* واحدة من أهم مسببات التهاب اللوزتين وذلك بسبب قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية و يمكن لوجود الغشاء الحيوي أن يفسر الفشل العلاجي ، وكذلك يعود إلى مقاومتها للمضادات الحيوية وثباتها

في الأنسجة الداخلية باللوزتين يمكن أن يؤدي وجود البكتيريا *S. aureus* المنتجة للـ beta lactamase في اللوزتين إلى تعزيز مقاومة البنسلين (Torretta et al., 2013)

إن قدرة تكوين الأغشية الحيوية لبكتيريا *k.pneumoniae* تقلل من الاستجابة المناعية للمضيف وفعالية المضادات الحيوية ، قد يكون لذلك تأثير كبير في المرضى ويرتبط تكوين الغشاء الحيوي ارتباطاً وثيقاً بأمراضية بكتيريا *k. pneumoniae* ، والتي غالباً ما تسبب التهابات يصعب علاجها بالمضادات الحيوية ، إذ يعالج الأطباء عدوى المكورات الرئوية بالمضادات الحيوية تسمى carbapenems حتى تتوفر نتائج اختبار الحساسية وإذا اشتبه الطبيب في أن البكتيريا قد طورت مقاومة للمضادات الحيوية، فيمكنه طلب إختبارات لتحديد مدى حساسية البكتيريا لمضادات حيوية معينة قبل اختيار الخيار الأكثر فعالية ، وقد يكون من الصعب على الأطباء علاج عدوى البكتيريا الرئوية لأن في الآونة الأخيرة طورت بعض *K. pneumoniae* مقاومة للكاربابينيمات carbapenems (Rabin et al., 2015).

بينت Oliveira وجماعته (2018) إن البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة (MDR) حالة طوارئ عالمية مهمة تشجع على البحث عن إستراتيجيات جديدة للتغلب على هذه الظاهرة المعقدة ، وأدت الدراسات المتنوعة إلى أن العدوى بسلالات (MDR) هي واحدة من الأسباب الرئيسية للأمراض والوفيات .

3-2-1 جنس المكورات العنقودية *Staphylococcus spp*

هي مجموعة متباينة من البكتيريا تمثل جزءاً من الفلورا الطبيعية وتقوم بالوقت نفسه بإحداث العديد من الإصابات للإنسان بدءاً من إصابات الجلد الطفيفة وصولاً الى الإصابات المهددة للحياة ، وتكون المكورات العنقودية أكثر أنواع البكتيريا إنتشاراً في الطبيعة إذ يمكن أن تتواجد على الجلد والأغشية المخاطية والقنوت التنفسية كما أنها تكون في المنتجات الحيوانية كاللحوم والحليب والأجبان ، فضلاً عن وجودها في الهواء والتربة ومياه البحار وتتصف هذه البكتيريا بمقاومتها لمختلف الظروف البيئية (Vasconcelos and Cunha, 2010) .

واما التصنيف العلمي لجنس *Staphylococci* فهو كما موضح في الجدول (1-1) أدناه (Public Health : (England, 2014

Domain	Bacteria
Kingdom	Eubacteria
Phylum	Firmicutes
Class	Coccus
Order	Bacillales
Family	Staphylococcaceae
Genus	<i>Staphylococcus</i>
Species	<i>Aureus</i>

4-2-1 بكتريا *Staphylococcus aureus*

تعود *Staphylococcus* إلى عائلة *Staphylococaceae* ، ويضم جنس *Staphylococcus* 47 نوعاً Species وكذلك يضم 21 subspecies ، وقد لوحظت هذه البكتريا لأول مرة من قبل الجراح البريطاني الكسندر اوغستون Ogston Alexander عام 1880 م عبر فحصه لـ 88 عينة قيح لخُراج بشري تحت المجهر ، إذ لاحظ وجود مكورات صغيرة موجبة لصبغة كرام والتي تعني بالإغريقية عناقيد العنب Bunches of grapes اطلق عليها اسم *Staphylococcus* (Myles & Datta, 2012).

وتوصف بكتريا *S. aureus* بأنها غير متحركة و غير مكونة للابواغ و لاهوائية إختيارية ، وموجبة لإنزيم الكاتاليز وسالبة لإنزيم الأوكسيديز ، واعتماداً على ظروف النمو فإن لون المستعمرات يتغير من رمادي ، رمادي- أبيض مشوب باصفرار إلى برتقالي كما أنها تبدي تحللاً كاملاً (β - hemolysis) عند نموها على وسط أكار الدم ، و تكوّن مستعمرات ناعمة محدبة لماعة دائرية يتراوح قطرها بين (1.5- 0.5) مايكرومتر ، فضلاً عن إنها تتميز بقدرتها على مقاومة درجات الملوحة العالية و تعيش بمدى حراري يتراوح من (44 – 56) درجة مئوية ، كما يمكنها البقاء في الأغذية المجمدة و المجففة لأسابيع وأشهر عدة ، تعد درجة الحرارة 37 م° هي المثلى لنمو بكتريا *S. aureus* أما الرقم الهيدروجيني الأمثل لنموها فيتراوح بين 6-7 (Rasigade et al., 2014).

Staphylococcus aureus Pathogenesis 1-4-2-1

الامراضية: هي قدرة الكائنات الحية المجهرية على إحداث المرض ، وهذا يعني دخولها واستعمارها داخل المضيف ، وتعد بكتريا *S. aureus* بكتريا تكافلية تتواجد على أجسام 30 % من البشر، و لكن يمكن أن تتحول إلى بكتريا مرضية مسببة عدداً من الإصابات الجهازية كالاتهاب الرئوي Pneumonitis و التهاب شغاف القلب Endocarditis و تسمم الدم Septicaemia ، إذ تم اختراق الأغشية المخاطية ، ويمكن أن تتمكن المكورات العنقودية الذهبية من الوصول إلى الأنسجة الكامنة ، مما يسبب عدوى انتهازية opportunistic infection (Lee et al., 2018).

كما تعتبر هذه البكتريا واحدة من الأسباب الأكثر شيوعاً للعدوى في المستشفيات والمجتمعات المحلية Nosocomial infection حول العالم ، إذ تكون مقاومة للمضادات الحيوية و لاسيما الميثيسيلين Methicillin و التي أصبحت تعرف بـ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) و بذلك أصبحت مشكلة مرضية رئيسية (Stark, 2013).

تعتمد إمراضية بكتيريا *S. aureus* جزئياً على إنتاج عدد كبير من السموم الخارجية والبروتينات المثبتة على جدار الخلية والتي تسمح للكائن الحي بالتهرب من الجهاز المناعي من أجل إنشاء الإصابة والحفاظ عليها، وتنتج هذه البكتريا الغشاء الحيوي المقاوم للمضادات الحيوية كواحد من عوامل الضراوة، وكذلك تفرز أربعة أنواع من Hemolysins (ألفا ، بيتا ، وكاما ، ودلتا) ، وكذلك تنتج انزيم Hemolysins والذي يعمل مع السموم الخلوية على تحلل كريات الدم الحمر و الصفائح الدموية والذي يزيد من تقاوم الإصابة ، فضلاً عن إنها تنتج عدداً من السموم الخارجية Exotoxins و الأنزيمات كالأنزيم الحال للنواة Nucleases ، والانزيم الحال للبروتين Protease ، والانزيم الحال للكولاجين Collagenase ، والانزيم الحال للهياالوروندييز Hyaluronidase والانزيم الحال لليسيثينيز Lecithinase و الستافلوكاينيز Staphylokinase و التي وظيفتها تحويل أنسجة المضيف و مكوناتها إلى مغذيات ضرورية لنمو و استمرار البكتريا (Bien et al., 2011).

على وجه التحديد، يكون خطر الإصابة ببكتيريا *S. aureus* في المرضى الذين يعانون من داء السكري ومتعاطي المخدرات عن طريق الوريد، والمرضى في المستشفى الذين يخضعون لغسيل الكلى، والجروح الجراحية بعد العملية، والمرضى الذين يعانون من اضطراب القصبات الهوائية المزمن، وحديثي الولادة، وكبار السن، والأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة بشكل عام (Dasenbrook et al., 2010).

5-2-1 بكتريا *Klebsiella pneumoniae*

التصنيف العلمي لـ *K. pneumoniae* (Singh et al., 2019) مثلما مبين في الجدول (1-2) أدناه :

Kingdom	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacterial
Order	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Genus	<i>Klebsiella</i>
Species.	<i>Pneumoniae</i>

عرفت بكتريا *Klebsiella* بأنها ممرض رئوي فقد تم إكتشافها لأول مرة من قبل عالم الأحياء المجهرية Edwin Klebs سنة 1834 وسميت باسمه ، واما تاريخياً فتم تشخيصها من قبل العالم Friedlander سنة 1882 ومنها جاءت تسميتها بعصيات فريد لاندر (Friedlander Bacilli) ، وتكون *Klebsiella* غير متحركة بإستثناء *k. mobilis* ، وغير مكونة للابواغ ، ولا هوائية اختيارية anaerobic ، وتكون سالبة لصبغة كرام ، ومخمرة لسكر اللاكتوز ، وموجبة للكاتليز ، وعصوية الشكل ومرتبة بصورة فردية او أزواج او سلاسل قصيرة ، وتتراوح أقطارها بين (0.3-1) مايكروميتر وأطوالها (0.6-6) مايكروميتر ، يكون نطاق درجة حرارة النمو هو (12-43) م° لكن المثلى 37 م° وتعد المسبب الشائع لذات الرئة البكتيري (Paczosa and Mecsas, 2016) .

وتحتوي على كبسولة capsule عديد السكاريد الكبيرة غنية بحامض glucouronic acid and pyruvic acid ، وتغلف المحفظة سطح الخلية بالكامل ، وتمتاز هذه البكتريا بأنها غير محللة للدم ، وتكون وردية اللون على MacConkey agar الصلب مما يشير إلى تخمر gamma haemolysis

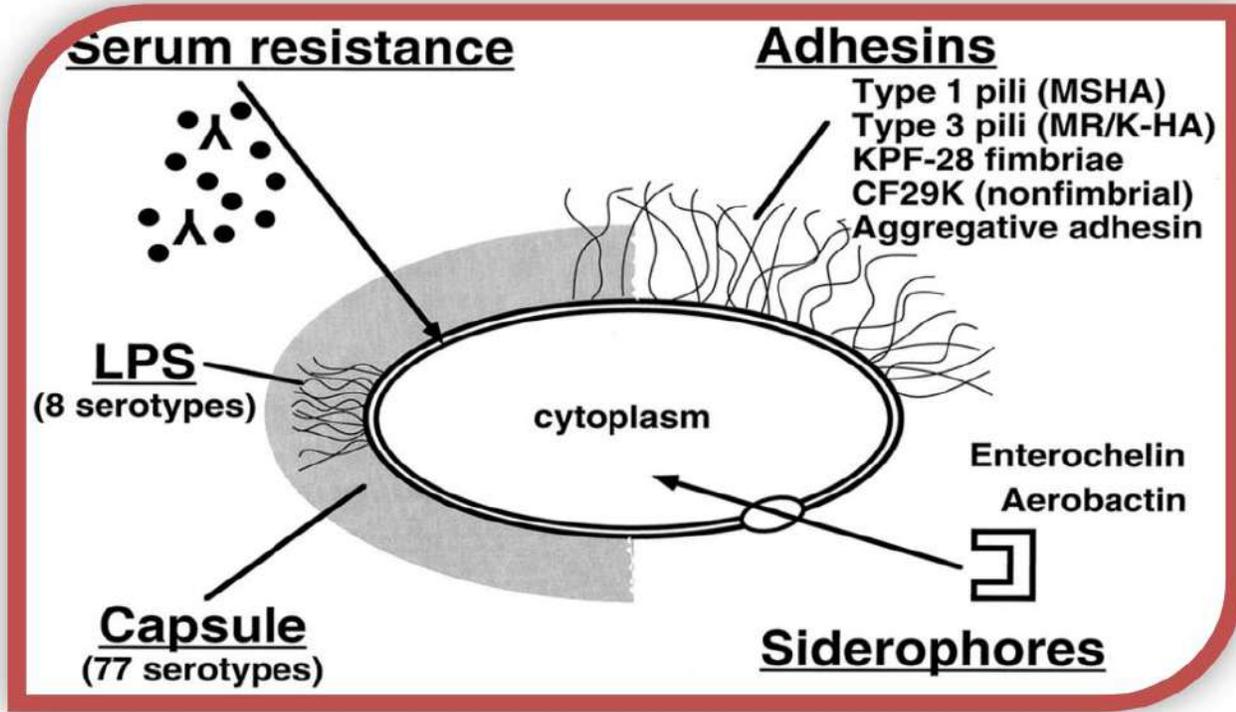
اللاكتوز ، وتكون مستعمراتها كبيرة ومخاطية تعتمد درجة الغشاء المخاطي على كمية الكربوهيدرات في الوسط (Effah et al., 2020) .

تعد *Klebsiella* من مسببات الأمراض الانتهازية opportunistic Pathogenes التي يمكن أن تصيب الأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة والمرضى الذين يدخلون المستشفى وبالتالي تؤدي إلى أمراض خطيرة مثل تسمم الدم ، والإلتهاب الرئوي ، وخراج الكبد ، والتهابات الجهاز العصبي المركزي ، والتهابات الأنسجة الرخوة ، المسؤولة عن وجود الخراج في الرئتين و غشاء الجنب ، وأنسجة البروستات الرخوة ، وكذلك مسؤولة عن التهاب العظم والنقي (Li et al., 2014) .

1-5-2-1 عوامل الضراوة :Virulence factors

تمتلك سلالات *K. pneumoniae* مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة التي تسهل العدوى وإبقاء البكتريا على قيد الحياة في المضيف. من عوامل الضراوة لل *Klebsiella . pneumoniae* (Struve et al., 2015) مثلما موضح في الشكل (2-1) هي :

- ❖ المحفظة لتثبيط البلعمة.
- ❖ عديدات السكارايد الدهني Lipopolysaccharide (LPS) .
- ❖ fimbriae للاتصاق .
- ❖ حاملات الحديد siderophores لاكتساب الحديد .
- ❖ تكوين الغشاء الحيوي المقاوم للمضادات الحيوية .



شكل (2-1) : تمثيل تخطيطي لعوامل إمراضية لـ *Klebsiella* (Struve *et al.*, 2015)

Capsular polysaccharide (CPS) K-antigen 1-1-5-2-1

تعد الكبسولة (CPS) من أهم عوامل الضراوة لبكتيريا *K.pneumoniae* إذ يكون سمكها 160 نانومتر وتكون عبارة عن عديد السكارايد الحامضي المعقد ، وتتكون من وحدات فرعية متكررة من 4-6 سكريات (مثل glucose, galactose, mannose, fructose and rhamnose) وغالبًا ما تكون أحماض مثل (uronic acid, glucouronic acid, galacturonic acid, pyruvic acid) ، وهي المسؤولة عن المظهر المخاطي اللامع للمستعمرات على أطباق الأكار ، وتعمل كحاجز ضد الجهاز المناعي للمضيف و تتشكل الكبسولة من هياكل ليفية سميكة تحيط بالسطح البكتيري لحماية البكتيريا عن طريق تثبيط البلعمة ، وهي جزء من وظيفة البلعمة لتساعد أيضاً على الإستعمار البكتيري وتكوين الأغشية الحيوية Biofilm في مواقع الإصابة (Struve *et al.*, 2015) .

تم تصنيف CPS إلى 77 نوع مصلي، إذ تسمى مستضدات K (K-antigens) وترتبط سلالات *Klebsiella* من الأنماط المصلية K1 إلى K6 بشكل أكبر بالعدوى التنفسية الحادة وتسمم الدم في الإنسان مقارنة بالأنماط المصلية الأخرى (Li et al., 2014).

Lipopolysaccharide (LPS) 2-1-5-2-1

(LPS) هو واحد من مكونات الغشاء الخارجي لجدر البكتريا السالبة لصبغة كرام يتكون من ثلاثة أقسام مميزة: lipid A (phosphate amine glucose + fatty acids) وعديد السكريات الأساسي core polysaccharide والسلسلة الجانبية التي تسمى المستضد -o polysaccharide (O-Ag) antigen. إن LPS سوف يرتبط بالأنسجة المصابة وبالتالي يُعقد الإصابات الناتجة من *Klebsiella* عن طريق إنتاج المركب السام (ETC) extracellular toxic complex الذي ثبت أنه مسؤول عن نخر الرئة (Younes, 2010).

Siderophores production حاملات الحديد 3-1-5-2-1

يعد الحديد من العناصر الضرورية لنمو البكتريا والمركبات الحاملة للحديد هي مركبات كلابية ذات أوزان جزيئية واطئة تسحب الحديد من مركباته ولها ألفة عالية جدًا للحديد، ومن هذه الحاملات الموجودة في *K. pneumoniae* هي Aerobactin و Enterobactin و Enterochelin مما يمكنها من التضاعف والبقاء في الأنسجة، ويعمل الحديد بشكل أساسي كمحفز للأكسدة والاختزال في البروتينات المشاركة في عمليات نقل الألكترون أو قد يتوفر عنصر الحديد داخل الخلايا من خلال إرتباطه بالبروتينات كالهيموكلوبين hemoglobin و ferritin و hemosiderin وأخيرا Myoglobin، بينما خارج الخلايا يكون على شكل transferrin و lactoferrin، وتحصل العديد من أجناس البكتريا المعوية على الحديد المرتبط ببروتينات المضيف من خلال صنع حاملات الحديد وإفرازها Siderophores (Holden et al., 2016).

Fimbriae (pili) 4-1-5-2-1

Fimbriae هي هياكل طويلة مرنة، وخيطية تشبه الشعر، وتمتد إلى الخارج من السطح البكتيري، ويصل طول هذه الهياكل إلى 10 مايكرومتر ويبلغ قطرها من 1-11 نانوميتر، إذ تكون Fimbriae هي المسؤولة عن التصاق الكائن الممرض على أسطح الأغشية المخاطية، وهناك نوعان سائدان من Pili لبكتريا *K.pneumoniae* يُعرفان عمومًا باسم: النوع الأول type 1 والنوع type 3 وبذلك توفر حماية للكائن

المجهري ضد الوسائل الدفاعية ، ومنها البلعمة ، وللنوعين الاول والثالث الأثر المهم في ضراوتها وإصابة الرئة والجهاز الهضمي والتصاقها بالأغشية المخاطية (Zargaran et al .,2020).

5-1-5-2-1 آليات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

من الآليات التي تستطيع خلالها الأحياء المجهريّة أن تظهر مقاومة للمضادات الحيوية ما يأتي (Foudraine et al., 2021).

أولاً- إنتاج الانزيمات المثبطة للمضادات الحيوية

تنتج الأحياء المجهريّة أنزيمات تحطم العقار على سبيل المثال تنتج بكتريا *Staphylococci* المقاومة للبنسلين G انزيم B- Lactamase الذي يحطم العقار، وكذلك تنتج العصيات السالبة لصبغة كرام المقاومة لمضادات Aminoglycoside انزيمات مثبطة لهذه المجموعة مثل Acetylating enzyme و Phosphorylating enzyme و Adenylating enzyme .

ثانياً- تغيير في نفاذية الغشاء الخلوي

تمتلك البكتريا السالبة لصبغة كرام الغشاء الذي يعد حاجزاً قوياً محبباً للماء، و التغيير في التركيب الكيميائي للغشاء أو الإختزال في عدد الثقوب الموجودة فيه يؤدي الى تغيير في نفاذيته مما يؤثر في عمل المضاد الحيوي ويجعل منه غير قادرٍ على عبور أنظمة النقل في الغشاء ونتيجة لهذه التغييرات تصبح البكتريا مقاومة للمضادات الحيوية ، فضلا عن توافر بروتينات (PBPs Proteins Binding Penicillin) الموجودة في الغشاء السائتوبلازمي ذات الطبيعة الانزيمية التي تدخل في التخليق الحيوي للبيتايدوكلايكان والتي لها القابلية على الارتباط تساهمياً بمضادات البيتا لاكتام.

ثالثاً - تغيير في موقع الهدف

تؤثر هذه الآلية في بناء الاحماض النووية nucleic acids وان حدوث طفرة وراثية في موقع الهدف يؤدي إلى التقليل من ألفة المضاد لهذا الهدف وبالتالي تتحول البكتريا من حساسة إلى مقاومة وهذا ما يحدث في المقاومة لمضاد Erythromycin اذ يتم تغيير الهدف وهو الوحدة الرايبوسومية (50 S) وتغيير الوحدة الرايبوسومية (30S) أي تحدث خلا في صنع البروتين التي تعد موقع الهدف لمجموعة Aminoglycosides .

رابعاً - تغير في المسارات الأيضية

تظهر بعض البكتيريا مقاومة لعمل المضاد الحيوي من خلال تغير في مسارها الكيموحيوي وكذلك تطور انزيمات متغيرة تؤدي وظيفة أيضية وأقل تأثراً بالعقار فأنزيم Dihydrofolic acid reductase الذي تنتجه البكتيريا المقاومة لـ Trimethoprim أقل تثبيطاً بـ Erimethoprim من البكتيريا الحساسة لمضاد Trimethoprim ، فضلا عن امتلاكها الى مضخات الدفع efflux pumps التي تضخ المواد الضارة خارج البكتيريا وتسمح لها بالبقاء في بيئة غير ملائمة .

6-1-5-2-1 الأغشية الحيوية Biofilms

هو غشاء رقيق يتكون من مواد حيوية تُطرح إلى الخارج تعمل على إعطاء البكتيريا القدرة على الالتصاق بمختلف السطوح ، مما يساعد على بقائها حية بإستيطانها لتلك السطوح ، مما يزيد في مقاومتها لمختلف وسائل الدفاع الموجودة في الجسم ، ويتكون الغشاء الحيوي بشكل أساسي من سكريات متعددة وجزيئات الحمض النووي والبروتينات و ماء ومعادن أخرى (Asma et al., 2022).

ويعد العالم Antony Van أول من وضع دلالة تاريخية عن وجود الغشاء الحيوي Biofilm في القرن السابع عشر ، فقد لاحظ وجود بقع على أسنانه فقام بفحصها تحت المجهر فشهد أحياء دقيقة متراسة بعضها مع البعض الآخر على السطح وبين ان هناك علاقة وثيقة بين قدرة البكتيريا على تكوين الغشاء الحيوي وقدرتها على إحداث المرض من خلال إنتاج بروتينات مرتبطة بالغشاء الحيوي Biofilm associated proteins ، فالبكتيريا المكونة للغشاء الحيوي لها قابلية أكبر على استعمار جسم المريض والإقامة فيه وتصبح أقل حساسية للعلاج بالمضادات الحيوية ، وتوجد الأغشية الحيوية على الأسطح الصلبة الحية وغير الحية بما في ذلك الأنسجة الحية ومينا الاسنان و الأجهزة الطبية الساكنة مثل القسطرة والصمامات والأطراف الصناعية) (Rabin et al., 2015).

تبنى الأغشية الحيوية من قبل نوع واحد من الأحياء المجهرية Single species أو من أنواع عدة Multiple species ، ويوفر الغشاء الحيوي الحماية للأحياء المجهرية تجاه المواد ضد الميكروبية agents Antimicrobial والعائيات Bacteriophages ، إذ تتواصل البكتيريا مع بعضها في الغشاء الحيوي بواسطة إشارات كيميائية تدعى محفزات ذاتية auto- inducers (Vasudevan, 2014) .

وتحيط البكتيريا نفسها بمادة بينية خارج خلوية (EPS) التي هي عبارة عن سكريات متعددة (polysaccharides) ، بروتينات الدنا من البكتيريا إذ تساهم هذه المادة في تثبيت الغشاء الحيوي وبالتالي

يمكن أن تؤدي الى عواقب وخيمة وهذا يعقد بشدة خيارات العلاج ويعد Biofilm أنظمة دفاعية تحمي أفرادها من الإقتراس والظروف البيئية المتطرفة (Sun *et al.*, 2013).

2-5-2-1 آلية تكوين الغشاء الحيوي Mechanism of Biofilm Formation

يتضمن الغشاء الحيوي حدوث تغيرات في الشكل والوظيفة للبكتريا وكذلك يقوم بتنظيم مسار حياتها ، ويعد مرحلة تطويرية في علم البكتريا ، إذ يمكن اختصار خطوات تكوين Biofilm وهي سلسلة من الخطوات المنفصلة والمعقدة والمنظمة جيدا، وإن مراحل تطور الأغشية الحيوية Biofilm متشابهة عبر مجموعة كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة (Srivastava *et al.*, 2019).

المرحلة الأولى: التلامس والالتصاق Attachment and adhesion

يعد الإرتباط او الإلتصاق الخطوة الأولى في تكوين الغشاء الحيوي ، وهي عملية معقدة إذ تسمح الاسواط للبكتريا بالحركة بإتجاه المكان الملائم للإلتصاق وتحصل هذه العملية خلال (5-30) ثانية وعلى مرحلتين:

- A. مرحلة الإلتصاق العكسي reversible attachment : وتتم هذه المرحلة بواسطة الاسواط flagella وعوامل الجذب الكيميائية chemotaxis الأخرى للبكتريا ، وفي هذه المرحلة تبقى البكتريا متحركة حركة إرتعاشيه وتزال بسهولة تحت تأثير ضغط أو جهد معتدل.
- B. مرحلة الإلتصاق غير عكسي irreversible attachment : في هذه المرحلة تقل إستطالة الخلايا ويتم إنتاج مواد متعددة خارجية EPS ، ويستعمل في هذه المرحلة النوع الاول من الأهداب (type1pili) .

المرحلة الثانية: تكوين المستعمرات المجهرية ونضج الغشاء الحيوي Formation of Microcolonies and Maturation of Biofilm

في هذه المرحلة تتكون المستعمرات المجهرية في الغشاء الحيوي بعد ساعات قليلة من عملية الإلتصاق وتحت الظروف الملائمة للنمو، إذ تنتج البكتريا السكريات المتعددة (polysaccharides) لتسهيل عملية تجمع الخلايا على الأسطح الصلبة والتصاقها ، فضلاً عن العديد من المواد كالأحماض النووية والبروتينات .

المرحلة الثالثة: الانفصال de attachment

تعد هذه العملية إشارة لنهاية عملية بناء الغشاء الحيوي القديم وبداية لعملية بناء غشاء حيوي جديد ، وهناك أسباب تبرز حصول الانفصال وحدوث تغييرات داخل الغشاء منها زيادة سمك الغشاء الحيوي وقوى الضغط والتشد والانزيمات والتآكل والإنسلاخ وأشارت الدراسات الى ان قابلية إنتاج الأغشية الحيوية لها دور أساسي في العديد من الإصابات البكتيرية اعتماداً على الجهاز المناعي للمضيف هذا من جهة ، ومن جهة أخرى يمكن ان يثبط الغشاء الحيوي باستعمال مستخلصات نباتية او المضادات الحيوية او دفاعات الجهاز المناعي للمضيف .

3-5-2-1 دور الأغشية الحيوية في المجتمعات الميكروبية Role of Biofilm in Microbial

Communities

1-3-5-2-1 الحماية من الظروف البيئية Protection from environmental conditions

تعد عملية تشكيل الغشاء الحيوي عملية منظمة توفر الحماية ضد العوامل البيئية حيث يلعب EPS دوراً مهماً في بناء الأغشية الحيوية إذ يوفر المأوى للبكتيريا الموجودة في الغشاء الحيوي وكذلك الحماية من الصدمة الأوزموزية والجفاف ودرجة الحرارة والأس الهيدروجيني .

2-3-5-2-1 توفر المغذيات Nutrient Availability

غالباً ما تتكون المجتمعات المايكروبية في الأغشية الحيوية من مستعمرات مختلفة من الأحياء المجهرية الدقيقة وبذلك توفر الأغشية الحيوية قنوات تعد طرائقاً فعالة لتبادل الماء والمغذيات والتخلص من النواتج الأيضية السامة بين تلك المستعمرات.

3-3-5-2-1 اكتساب صفة وراثية جديدة Acquisition of New Genetic Trait

تعد طريقة نقل الجينات الأفقي من طرائق الاقتران بين المجتمعات البكتيرية وامراً مهماً للتطور والتنوع الجيني ، إذ توفر الأغشية الحيوية بيئة نموذجية لتبادل الجينات وبالتالي منح تلك المجتمعات صفة وراثية ومظهرية جديدة .

4-3-5-2-1 إختراق عامل مضادات الميكروبات Penetration of Antimicrobial Agent

تتمثل إحدى آليات مقاومة الأغشية الحيوية للعوامل المضادة للميكروبات في فشل تلك العامل في الوصول إلى العمق الكافي للغشاء الحيوي على سبيل المثال يتطلب إختراق ciprofloxacin السطح المعقم الطبيعي 40 ثانية بينما يستغرق الإختراق في الأسطح المحتوية على الأغشية الحيوية 21 دقيقة .

6-2-1 Medical Plant النباتات الطبية

النباتات الطبية هي النباتات التي تحتوي موادًا فعالة تستعمل لأغراض علاجية ، إذ ركزت العديد من الدراسات على تأثير المستخلصات النباتية على الأحياء المجهرية وإمكانية إستعمالها في علاج بعض الأمراض المتسببة من الإصابات الميكروبية ، وتنتج معظم النباتات العديد من مركبات الأيض الثانوي ، ولهذه المركبات دورًا مهمًا في تثبيط الأحياء المجهرية مثل القلويدات ، والتانينات ، الصابونينات ، الفينولات والزيوت الطيارة ، وان فعالية هذا النباتات تعتمد على وجود واحد أو أكثر من هذه المركبات (Al-Snafi, 2015).

وتعد النباتات مصدرًا طبيعيًا و آمنًا من الناحية الطبية ، ففكرة الشفاء باستخدام النباتات هي فكرة قديمة تستعمل كدواء تقليدي في جميع أنحاء العالم وقد سبقت دخول المضادات الحيوية والأدوية الحديثة ، ووفقا لمنظمة الصحة العالمية (World Health Organization(WHO) فإن ما يقارب 80 % من سكان العالم لا يزالون يعتمدون على الأعشاب الطبية كمصدر أساسي للعلاج ، وقد أستعملت النباتات لعلاج أغلب الحالات المرضية ومنها إصابات الجهاز التنفسي لإمتلاكها مواد فعالة وسلامتها طبييا وسهولة الحصول عليها وقلّة تأثيراتها الجانبية مقارنة بالمضادات الحيوية Antibiotics) (Sharmeen et al., 2012).

علاوة على ذلك ، فإن ظهور سلالات متعددة من الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للأدوية بسبب الإستعمال العشوائي للمضادات الحيوية لعلاج الأمراض المعدية قد وّلد اهتمامًا متجددًا بالأدوية العشبية لذلك توجهت العديد من الأبحاث العلمية للبحث عن بدائل وأهمها الطب التقليدي لما يمتلكه من خزينة ضخمة من الأعشاب والعلاجات التي يمكن إستغلالها كمصدر طبيعي للحصول على العوامل المضادة من النباتات بعد إجراء الأبحاث العلمية عليها ، وإن التقدم العلمي والصناعي الذي يوفر طرائق وأساليب فعالة في حفظ النباتات الطبية وسهولة تداولها بأشكال مختلفة على شكل أقراص أو حبوب جافة و خلاصات لزجة أدى الى زيادة التوجه نحو استعمال هذه النباتات لخلوها من المواد الكيميائية الصناعية (Abdallah et al., 2013).

1-6-2-1 الشاي الأخضر Green Tea

الاسم العلمي *Camellia sinensis*

التصنيف العلمي للشاي الأخضر (Mahmood et al., 2010): حسب الجدول (3-1) في أدناه

Superdivision	Spermatophyta -Seed Plant
Division	Magnoliophyta -Flowering Plant
Class	Magnoliopsida -Dicotyledons
Subclass	Dilleniidae
Order	Theales
Family	Theaceae-Tea family
Genus	<i>Camellia</i>
Species	<i>sinensis</i>

شجيرة الشاي دائمة الخضرة تكون كثيرة التفرع ، وتحمل أوراقًا خضراء داكنة اللون تكون عادةً بيضوية طويلة ، ويُعد جنوب شرق آسيا الموطن الاصلي لزراعة الشاي ولكنه يزرع الآن في أكثر من 30 بلدًا من بلدان العالم ، ويعد الشاي ثاني شراب يستهلك بعد الماء ، فقد أكتشف لأول مرة في الصين بصورة عرضية من قبل إمبراطور صيني وخبير طبي يدعى Shen Nung ، إذ كان عادةً ما يقوم بغلي الماء قبل شربه وفي إحدى المرات وعند غليانه للماء تحت شجرة الشاي سقطت بضعة أوراق من تلك الشجرة وبعد تذوقه لاحظ الطعم القوي والرائحة العطرة عندها قام بإضافة الشاي الى قائمة الأعشاب الطبية الخاصة به ، واشتهر الشاي الأخضر بأسماء شائعة عدة منها الشاي الأخضر ، والشاي الصيني ، والشاي الياباني (Abdel-Gabbar, 2011).



شكل رقم (1-3) . الشاي الأخضر

1-1-6-2-1 المركبات الفعالة Active Compound

تحتوي أوراق الشاي الأخضر على مركبات متعددة الفينول (Polyphenolic compound)، وإن أغلب هذه المركبات هي ال Flavonols والتي تعرف Catechines وتشمل (EC) Epicatechin، gallate - (EGCG) Epigallocatechin -3-gallat ، (EGC) Epigallocatechin ، (ECG) Epicatechin-3 ، إذ تعد هذه المركبات من أكثر المواد الفعالة بايولوجياً وعلى وجه الخصوص (EGCG) ، كما تشمل المركبات المتعددة الفينول Phenolic acid Flavonoids و Flavadiols ، وهو يحتوي على المركبات القلوية Alkaloid والتي تشمل Gaffeine المسؤول عن التأثير المنبه للشاي ، كما يحتوي على بروتينات تشكل الأنزيمات جزءاً مهماً منها ، و يحتوي على أحماض أمينية مثل Lysine ,Valin ,Serine ,Glycin و Glutamic acid وغيرها ، ويحتوي على كربوهيدرات مثل السليلوز والبكتين و كلوكوز و سكروز ، فضلاً عن إحتوائه على دهون Lipids مثل (Linoleic and Linolenic acid) ، وفيتامينات (مثل E وB وC) وزيوت طيارة (Volatile Oiles) ، واما المعادن تشمل P وNa وCo و Zn و Cu وFe وMn وMg وCa وAl أو غيرها فضلاً عن Quinic acid وRiboflavin وFolic acid وNiacin وPantothenic acid وصبغات Carotenoids ,Chlorophyll ومواد أخرى.

2-1-6-2-1 الأهمية الطبية للشاي الأخضر medical importance

وهو واحد من أهم النباتات الطبية الذي يعود تأريخه إلى أكثر من 4000 سنة ، وللشاي الأخضر إستعمالات طبية عدة ، إذ يستخدم للوقاية من التسوس بفضل قدرته الفعالة على مكافحة البكتريا الموجودة في تجويف الفم ومنع طبقة البلاك من التكون فوق سطح السن ، كما يلعب الشاي الأخضر دوراً مهماً في منع التصاق البكتريا بالأسنان لانه يحتوي على الفلوريد بصورة طبيعية وله استعمال آخروهو الحفاظ على صحة اللثة وذلك بمضضة الفم بالشاي الأخضر وذلك لأحتوائه على نسبة عالية من مضادات الأكسدة مثل الفلافونيدات التي تحمي أنسجتها من الإصابة بالالتهاب ، ويستعمل للتخلص من رائحة الفم الكريهة لاحتوائه على مادة البوليفينول التي تساهم في القضاء على الميكروبات المسببة لهذه المشكلة الحرجة.

أثبتت الدراسات التي قام بها العالم (Kong et al., 2022) إن تناول فنجان من الشاي الأخضر يساعد علي تقليل الإلتهاب في الرئتين وتحسين صحة الرئة ويحمي اللثة والأسنان ويقاوم التسوس، ويقاوم البكتيريا الضارة التي تسبب رائحة النفس الكريهة ، كما أشارت دراسة نشرتها صحيفة (لو جورنال سانتيه) الفرنسية إلى أن انخفاض معدل الإصابة بالتهاب الرئتين في الصين يعود إلى تناول كوبين من الشاي الأخضر يومياً يساعد على راحة عضلات الرئتين ويقلل من التهاباتها لأنه يحتوي على الكافاين الذي يساعد على توسيع القصبات الهوائية ، و يسهل عملية التنفس ويستمر تأثيره مدة تصل إلى 4 ساعات مما يجعله من الخيارات الجيدة لعلاج إلتهاب الرئتين ، ووفقا لدراسة يابانية جديدة فإن الغرغرة بالشاي الأخضر تعمل على تعزيز المناعة ضد الأنفلونزا .

ويستعمل لعلاج الإسهال Diarrhea والتقيؤ Vomiting، ولعلاج إضطرابات وآلام المعدة ومشاكل الهضم ، و لعلاج الصداع وأوجاع الجسم وعلاج عسر البول Dysuria، و يعمل على تنظيم درجة حرارة الجسم ، ويستعمل كمنشط يعمل على تحفيز الجهاز العصبي المركزي ، ويساعد على فقدان الوزن فقد وجد خلال الدراسات أن مستخلصات الشاي الأخضر تحتوي على 90 ملغم من EGCG وبأخذه ثلاث مرات يوميا تحرق ما يعادل أكثر من 266 سعرة حرارية باليوم الواحد (Zhao et al., 2011).

وأوضحت الدراسة التي قام بها (Asbaghi et al., 2021) إن مستخلص الشاي الأخضر يعمل على خفض السكر بالدم بوصفه يعمل على تحسين فعالية الأنسولين الذي يعمل على تنظيم مستوى السكر بالدم ، إذ يستعمل كشراب طبي لعلاج الاكتئاب والقلق Anxiety ، و لتحسين وظائف الجسم المناعية وإزالة السموم .

أشار الباحثون من كلية الطب في جامعة طوكيو إلى وجود معدلات قليلة من الإصابات السرطانية بين الأشخاص الذين يعيشون في منطقة إنتاج الشاي الأخضر في اليابان فقد تبين إنهم يشربون ما يعادل 1-2 كوب من الشاي الأخضر يوميًا وبهذا أكدت الدراسات الحديثة قدرة الشاي الأخضر على قتل الخلايا السرطانية الموجودة في الفم (Kuriyama et al., 2006).

وأما لعلاج أمراض القلب فيعمل على خفض تركيز الكوليسترول الكلي في المصل ، وكذلك خفض ضغط الدم ، كما يستعمل لعلاج أمراض الكبد من خلال حمايته من التأثيرات الناتجة من المواد السامة مثل الكحول ، فضلاً عن أهم استعمالات الشاي الأخضر ومستخلصاته ولاسيما EGCG إذ انه مضاد للأكسدة ، ومضاد للالتهابات ، ومضاد للسرطان مثل سرطان البنكرياس ، والقولون ، والرئة ، والمريء ، وسرطان الجلد وغيرها.

وتعمل مستخلصات الشاي وتحديداً EGCG على تثبيط تطور الورم وتثبيط معدل تضاعف الخلايا ، كما له فعالية واضحة في تثبيط نمو الأحياء المجهرية وبذلك فإن المستخلص المائي للشاي الأخضر له فعالية كقاتل بكتيري Bactericidal ، إذ إن المادة الفعالة المستخلصة من النباتات تُعطي نتائج أفضل من المادة نفسها والتي قد ترافقها تأثيرات جانبية سمية مما يؤدي إلى إمكانية مشاركة المواد الثانوية الموجودة في المادة الفعالة في تعزيز الدور الفعال للنبات (Axelrod et al., 2010).

2-6-2-1 نبات القرنفل Carnation

الاسم العلمي: *Syzygium aromaticum*

التصنيف العلمي لنبات القرنفل (Batiha et al., 2020) حسب الجدول (1-4) في أدناه :

Kingdom	Plantae
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Myrtales
Family	Myrtaceae

Genus:	<i>Syzgium</i>
Species	<i>aromaticum</i>



شكل رقم (1-4) . نبات القرنفل

نبات عشبي معمر ينتمي الى العائلة القرنفلية Caryophyllaceae ، وتكون أشجار القرنفل دائمة الخضرة صغيرة معمرة ، ومخروطية الشكل ، تعطي مجموعة كثيرة من الأزهار ذات اللون القرمزي ولأوراقها رائحة عطرية طيبة ، وأما البراعم الزهرية الطرية فذات لون أخضر يتحول عند النضج الى اللون الأحمر ثم يصبح بني الشكل بعد جفافها وتصبح تشبه المسامير ، ويعود موطنه الأصلي إلى الهند وجنوب اوربا وتحديداً على المنحدرات الجبلية في مناطق البحر الأبيض التي تمتد من فرنسا الى اليونان ، و معرفة الإنسان بهذا المحصول الزهري قديمة جداً وتم وصفه من قبل العالم Theophrastus نحو 300 عام قبل الميلاد وكان الإغريق يتوجون به أبطال الألعاب الأولمبية وسمي بالإنكليزية Carnation أي تتويج الملوك والأمراء والأبطال.

وأثبتت الدراسات العلمية الحديثة ومنها ماتوصل اليه الباحث (Nejad et al., 2017) أن للقرنفل فوائد طبية وعلاجية جمة لجسم الانسان ولأسيما انه يستعمل كمطهر موضعي في حالات وجع الأسنان ويدخل في صناعة معاجن الأسنان وغسول الفم إذ يعالج جميع المشاكل التي تصيب الفم والأسنان واللثة ، ويمتلك زيت القرنفل خصائص مضادة للالتهاب لإحتوائه على مادة اليوجينول Eugenol التي تعمل كمسكن و مضاد حيوي.

أثبتت دراسات ان القرنفل غير المطحون مع الشاي يقي من سرطان الرئة ويعمل كطارد للقشع والربو والسعال وللحساسية ولنزلات البرد والتهاب الشعب الهوائية والتهاب اللوزتين ، ويستعمل لإنسداد الأنف من خلال إستنشاق الزيوت الطيارة الموجودة فيه التي تعمل كمهدئ ، ويساعد على الهضم ، إذ يحتوي على كميات كبيرة من مضادات الأكسدة التي تساعد الجسم في التخلص من السموم ، كما له تأثير مضاد للسرطان ، منشط للدورة الدموية ، وكذلك يستعمل لعلاج التهابات المفاصل ، كما ينصح باستعمال زيت القرنفل مع زيت الزيتون لتدليك العضلات (د. الحسن شبانه ، 2016) .

3-6-2-1 عرق السوس Liquorice

الاسم العلمي : *Glycyrrhizin glubara*

التصنيف العلمي لنبات عرق السوس كما مبين في الجدول (5-1) ادناه (Batiha et al., 2020)

Kingdom:	Plantae
Division	Magnoliopsida
Phylum:	Tracheophyta
Class:	Magnoliopsida
Order:	Fabales
Family:	Fabaceae
Genus:	<i>Glycyrrhiza</i>
Species:	<i>Glubara</i>



شكل (5-1) جذور نبات عرق السوس

يعد نبات عرق السوس من النباتات العشبية البرية المعمرة، فهو ينتمي الى العائلة البقولية Leguminosae ، الساق منتصب مضلع طويلاً قوي مجوف ، والجذر خشبي وطعمه سكري ، ويعرف بأسماء شائعة منها عرق سوس أو أصل السوس ، وعود السوس ، والخشب اللذيذ وتوجد ثلاثة أنواع منه عرق السوس الإسباني ، والروسي ، والفارسي. إذ تم تصنيفه كما في الجدول (5-1).

انتشرت زراعته في العراق وسوريا ومصر وايران وتركيا وروسيا وإسبانيا وإيطاليا ، ولكن يعد العراق من أغنى مناطق العالم لزراعة عرق السوس ونتاجه ، ولا سيما في الموصل وعلى سفوح الجبال الشرقية وفي السهل الرسوبي ومنطقة الأهوار، وهو مشهور في البلاد العربية منذ أقدم العصور، فضلا عن إنه من النباتات المهمة على المستوى الطبي والاقتصادي لأنه غني بالمركبات الحيوية (البروتينات والفلافونيدات والكربوهيدرات والقلويدات ومعادن وفيتامينات) ، تعد الفصيصة التي اسمها العلمي Glycyrrhizin glubara هي الأهم والأفضل بوصفها غنية بأساس مادة عرق السوس والتي يعود اليها المذاق الحلو ولهذا في طعمه حلاوة تتراوح من 50-100 مرة أعلى من حلاوة السكر العادي ، وهذه المادة تسمى الكليسيرازين

Glycyrrhizin ويعد اغلب عرق السوس العراقي من الفصيلة الجيد *G . glubara* لأنه يحتوي نسبة كبيرة من النشويات والسكريات والمواد الصمغية والأملاح وغيرها (Fukia *et al.*, 2013).

أثبتت الدراسات الحديثة التي توصلت اليها (عفاف ، 2018) إنه يدخل في الإستعمالات الطبية لعلاج الربو والتهاب الحلق ، ويعالج إلتهابات الجهاز التنفسي العلوي وإلتهاب الشعب الهوائية ، وكذلك دخل في تحضير المواد الصيدلانية مثل حبوب مقويات الدم ، كمشع وملين وللتقليل من مرارة بعض الأدوية وتحليلتها ويفيد في علاج أمراض المفاصل والروماتزم ويعد علاجاً موضعياً للإلتهابات الجلدية مثل الأكزيما والحساسية والحكة الجلدية ، ويعالج حالات العقم عند الرجال والنساء ، إلى جانب ذلك محفز للشهية وينفع لوجع الأسنان ويساعد في تقوية الجهاز المناعي في الجسم ، ويدخل في العديد من الإستعمالات الغذائية كعنصر يضيف نكهة للأغذية ، و صناعة العلكة والحلويات والسكريات .

4-6-2-1 الدارسين *Cinnamomum verum*

التصنيف العلمي للقرفة (الدارسين) مثلما مبين في الجدول (1-6) ادناه. (Abd El-Hack *et al.*, 2020)

Kingdom	Plantae
Division	Tracheophyta
Sub Division	Spermatophytina
Class	Magnoliopsida
Superorder	Magnoliana
Order	Laurales
Family	Lauraceae
Genus	<i>Cinnamomum</i>
Species	<i>verum</i>



شكل رقم (1-6) . الدارسين

الاسم العلمي للقرفة هو *Cinnamomum zeylanicum* أو *Cinnamomum verum* ويسمى بالعامية الدارسين ، وتم تصنيفه كما في الجدول (1-6) .

القرفة هي لحاء نبات شجرة دائمة الخضرة إستوائية كثيفة ، وساقها منتصب ، والأوراق متعاقبة مركبة، والأزهار صفراء صغيرة ، والثمرة صغيرة تشبه القرنفل ، وعندما يجف اللحاء يكون على شكل عيدان لونها بني داكن وذات رائحة عطرية ، وموطنها الأصلي سريلانكا لكنها أيضاً تزرع في جنوب شرق آسيا ، وأمريكا الجنوبية والهند ، ومن أهم المواد الفعالة فيها هو مركب يعرف باسم سينمالمالدهيد *Cinnamic aldehyde*، كما يعدّ مركب اليوجينول *Eugenyl acetate* المركب الثاني والذي يُعزى إليه التأثير المهدئ وتوجد مركبات أخرى أقل أهمية من المركبين السابقين (Chen et al., 2022).

أشارت الدراسات التي توصل إليها (Rao et al., 2014) أن القرفة تسهم في علاج أمراض الجهاز التنفسي ، ولا سيما التهاب اللوزتين البكتيري وذلك بخلط مسحوق منها مع ملعقة من العسل ، ويتم تناول الخليط ٣ - ٤ مرات يومياً إذ يساعد في علاج نزلات البرد والإنفلونزا والتهاب الحلق وكذلك يعالج التهاب اللثة فضلاً عن إنه يخفف ألم الأسنان ويقي من التسوس.

وأثبتت دراسات حديثة أخرى إنه يساعد على الهضم ، وهو قابض أيضاً ولذلك يعالج حالات الاسهال ، ومضاد للتقلصات في الجهازين الهضمي والبولي ، ويرفع درجة حرارة الجسم فيعمل على الشعور بالدفء

شْتَاءً، تحتوي القرفة على زيوت طيارة ويفيد مغلي مسحوق لحاء القرفة لحالات الغثيان والقيء والإسهال وآلام العضلات ويخفض ضغط الدم العالي وهو أيضا فاتح للشهية ، ومقوي ومنشط للدورة الدموية والقلب (Wang *et al.*, 2020).

ويستعمل زيت القرفة أيضا كدهان وذلك لعلاج الكلف والنمش والصداع والزركام وآلام الأذن ، إذ يستعمل مع الخل دهاناً لعلاج البثور والقروح الجلدية ، فضلا عن استعماله بقطرة إلى قطرتين كمادة مطهرة وحديثاً دخل مسحوق القرفة في صناعة مراهم ضد الحروق والقروح ، ولها استعمالات غذائية وذلك بإضافتها للمأكولات للحلويات والمعجنات لتطيبيها ولإعطائها الطعم المميز، وتضاف القرفة للعلكة التي تضافي على الفم الرائحة والنفس الطيب ، ويقدم كمشروب ساخن يضاف الدارسين للشاي (Kumar *et al.*, 2019).

1-2 الاجهزة والمواد المستعملة: Materials and Equipment's used:**1-1-2 الاجهزة والادوات المختبرية: Instruments of Laboratory:**

الجدول (1-2): الاجهزة والادوات المختبرية والشركات المصنعة لها

الشركة المصنعة/المنشأ	الاجهزة والادوات المستعملة	ت
Labtech/Korea	مؤسدة Autoclave	1
Biomerieux /France	جهاز VITEK 2 compact	2
BioTeck (USA)	ELISA	3
Labnet/Germany	جهاز الطرد المركزي centrifuge	4
Concord/ (Lebanon)	Deep Freezer (-20°C)	5
Labtech/Korea	جهاز المزج ذي الصفيحة الساخنة (Magnetic Stirrer with hot plate)	6
Binder / Germany	حاضنة Incubator	7
Julabo/ Germany	حمام مائي Water bath	8
LabTech/ Korea	جهاز تقطير Water Distillator	9
ROMA/Italy	مازج Vortex	10
Memmert/ Germany	جهاز قياس الرقم الهيدروجيني pH Meter	11
Olympus/Japan	مجهر الضوئي Light microscope	12
Concord/ Lebanon	ثلاجة Refrigerator	13
Denver / Germany	ميزان الكتروني حساس electronic Sensitive Balance	14
Jeio-Tech/Korea	(Laminar flow cabinet) Hood	15
Malaysia/ Panasonic	الطاحونة الكهربائية Electrical Mill	16
Elektro.mag/ Turkey	فرن كهربائي Electrical oven	17

Hirschman / Germany	Glass slides, cover slides flasks and beakers	18
Cecil (France)	Spectrophotometer جهاز المطياف الضوئي	19
National/ Japan	Cork Borer ثاقب فليني	20
National/ Japan	L-Spreader الناشر بشكل حرف	21
National/ Japan	Forceps ملقط	22
Jenway/Germany	Bunsen burner مصباح بنزن	23
Himedia / India	loop لوب	24
Human/ Germany	Micropipettes ماصات دقيقة	25

الجدول (2-2): المواد ذات الاستعمال الواحد والشركة المصنعة لها

الشركة المصنعة/المنشأ	اسم المادة	ت
Afco-Dipo / Jordan	Petri dish أطباق بلاستيكية	1
Afco-Dipo / Jordan	10ml tubes أنابيب مختبرية حجم	2
Sterellin Ltd / England	Tips	3
Girenier (China)	transporter swabs مسحات قطنية مع وسط نقل	4
BDH / England	Parafilm فيلم بارافين بلاستيكي	5
HAD/ China	Cotton قطن طبي	6
Broche / Malaysia	Latex Gloves قفازات مطاطية	7
Afco-Dipo / Jordan	Sterilized needles محاقن معقمة	8
Afco-Dipo / Jordan	Sterilized cotton swabs مسحات قطنية معقمة	9
Germier/ Germany	Filter paper أوراق ترشيح	10
/ Spain Sigma	Millipore Filter (0.22µm) المرشحات الغشائية	11
Supreme/ China	Wooden Sticks عيدان خشبية	12

Nunclon / Denmark	Micro titer plate	13
Microlab / China	Syringe filter	14
Eppendorf / Germany	Micro tubes	15

2-1-2 المواد الكيميائية والبيولوجية والأوساط الزرعية المستعملة والشركات المصنعة لها :

الجدول (2-3) : المواد الكيميائية والبيولوجية والأوساط الزرعية

الشركة المصنعة / المنشأ	اسم المادة	ت
Scharlau/ European Union	Methanol ميثانول	1
Scharlau / European Union	C ₂ H ₅ OH ايثانول مطلق	2
Germany / Fluka	Sodium Citrate سترات الصوديوم	3
Amresco / United States	Triton X-100	4
Fluka / Germany	K ₂ HPO ₄ فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين	5
Albasheer scientific bureau	gram stain kit	6
Fluka- Germany	Sodium Chloride (NaCl) كلوريد الصوديوم	7
GCC-UK	CH ₃ COOH حامض الخليك الثلجي	8
UK / BDH	(H ₂ SO ₄) حامض الكبريتيك	9
BDH / England	Barium chloride كلوريد الباريوم	10
BDH / England	Glycerol كليسيرول	11
Bioneer / Korea	ماء مقطر خالي من الايونات	12
Fluka / Germany	(KH ₂ PO ₄) فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	13

Promega / USA	محلول منظم الفوسفات المتعادل	14
Shijiazhuang / Chaina	Crystal violate powder	15
معهد المصول واللقاح العراقية (VSI)	بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2	16
BDH	Tetramethyl P-phenylen diamine dihydrochlorid	17
Himedia / India	Kovac's reagent كاشف كوفاكس	18
Himedia / India	methyl red reagent كاشف المثيل الاحمر	19
Bioanalyse®/Turkey	Bacitracin Disk	20
Oxoid	وسط المثيل الاحمر والفوكس بروسكاور MR- VP Methyl Red-Voges -Proskauer	21
Fluka /Germany	Agar-Agar أكار أكار	22
Himedia / India	Blood Agar وسط	23
Himedia / India	MaCconkey Agar وسط	24
Himedia / India	Nutrient broth وسط	25
Himedia / India	Brain Heart infusion broth وسط	26
Himedia / India	Mueller Hinton Agar وسط	27
Oxoid	Mannitol Salt Agar وسط	28

3-1-2 أقراص المضادات الحيوية المستعملة والشركة المصنعة لها والمنشأ:

الجدول (4-2): اقراص المضادات الحيوية

الشركة المصنعة/المنشأ	اسم المادة	ت
Turkey /Bioanalyse	Amikacin (AMK30mg)	1
Turkey /Bioanalyse	Azithromycin (AZM15mg)	2
Turkey /Bioanalyse	Ciprofloxacin (CIP5mg)	3
Turkey /Bioanalyse	Gentamicin (CN10mg)	4
Turkey /Bioanalyse	Doxycycline (DOX30 mg)	5
Turkey /Bioanalyse	Rifampicin (RD30 mg)	6
Turkey /Bioanalyse	Penicillin (PEN10 unit)	7
Turkey /Bioanalyse	Trimethoprin sulphamethoxazole (SXT25)	8
Turkey /Bioanalyse	Tetracycline (TET30 mg)	9
Turkey /Bioanalyse	Levofloxacin (LVX 5mg)	10
Turkey /Bioanalyse	Cefotaxime (CTX30 MG)	11
Turkey /Bioanalyse	Imipenem (Ipm 10 mg)	12
Turkey /Bioanalyse	Ceftriaxone(CRO 30 mg)	13
Turkey /Bioanalyse	Cefoxitin (FOX 30 mg)	14

2-2 طرائق العمل Methods

1-2-2 جمع وتشخيص العينات :

جُمعت 128 عينةً سريرية من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين Tonsillitis المراجعين الى مركز صحي (الملحق) والعيادات الخارجية للأنف والأذن والحنجرة(ENT) في محافظة كربلاء المقدسة ، وكذلك جُمعت 20 عينةً من أشخاص أصحاء وتم أخذ العينات بواسطة مسحات قطنية معقمة (Cotton Swabs) بعد الحصول على موافقة المريض ومعرفة الحالة الصحية وأخذ المعلومات ، واعتمد نظام ترقيم العينات من 1 الى 128 بطريقة جدول يُبين فيه تفاصيل المرضى (رقم العينة ، الإسم الثلاثي للمريض ، الجنس ، العمر ، تاريخ أخذ العينة ، والأمراض المزمنة لدى المريض ؟ وفق إستمارة أُعدت لهذا الغرض مُبينة في (ملحق رقم 1) .

وبعد جمع العينات تم نقلها إلى المختبر لزراعتها على الأوساط الزرعية المُعدة مسبقا لغرض تنميتها وتنقيتها ومن ثم تشخيصها ، إذ تم زراعة العينات على وسط Blood Agar base ، MacConkey Agar ، Mannitol salt agar (MSA) بواسطة التخطيط على الوسط الصلب لتأمين الحصول على مستعمرات منفردة من البكتريا المحتمل وجودها في المسحات ، وتمت هذه العملية بالقرب من اللهب في غرفة التلقيح المخصصة لعملية زراعة الوسط الزرعى للحصول على عزلات غير ملوثة ، وتم نقلها إلى الحاضنة لتنميتها بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة للحصول على معدل أعلى للنمو ، إذ تم الكشف عنها بعد هذه المدة ، ولوحظ نمو مستعمرات البكتريا داخل الوسط من خلال التشخيص المظهري للمستعمرات Morphologic tests من حيث الحجم ، واللون ، والشكل ، والقوام وشكل الحافة وتمت تنقية مستعمرة واحدة من كل مجموعة مستعمرات متشابهة في المظهر الخارجي لأجل التشخيص المجهرى Microscopic tests بعد إخضاعها للتصبيغ بصبغة كرام للتأكد من تصنيفها من حيث الجنس والنوع وكذلك تم القيام بالاختبارات الكيموحيوية Biochemical testsبالإضافة الى استعمال تقنية VITEK 2 compact system.

2-2-2 الأوساط الزرعية المستعملة في عزل وتشخيص البكتريا قيد الدراسة

❖ **Blood Agar base**

حُضِر هذا الوسط الزرعي حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بإذابة 40 غم في لتر من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة وبعد اكمال عملية التعقيم بُرد إلى درجة (45-50) م وأُضيف إليه دم الإنسان بنسبة (3-5) % ،استعمل هذا الوسط وسطاً اغنائياً في عزل وتشخيص البكتريا. (Cheesbrough , 2012)

❖ **MacConkey Agar**

حُضِر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة ، وذلك بإذابة 51.5 غم في لتر من الماء المقطرو عقم بالمؤصدة ، ويستعمل هذا الوسط لعزل البكتريا السالبة لصبغة كرام وتشخيصها من حيث قابليتها على تخمير سكر اللاكتوز .

❖ **Brain – Heart infusion broth**

حُضِر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة ، وذلك بإذابة 37 غم من الوسط المغذي السائل في لتر من الماء المقطر، وعقم بالمؤصدة ووزع في أنابيب ، واستعمل هذا الوسط لغرض تنمية وتنشيط البكتريا فضلا عن استعماله لحفظ العزلات البكتيرية لفترة طويلة الأمد (8-12) شهر وذلك بإضافة 15% كلبيسبول .

❖ **Nutrient Broth**

حُضِر هذا الوسط الزرعي حسب تعليمات الشركة المجهزة ، وذلك بإذابة 13 غم من الوسط المغذي السائل في لتر من الماء المقطر ووزع في أنابيب ومن ثم تعقيمه بالمؤصدة ، واستعمل هذا الوسط لغرض تنمية البكتريا وتنشيطها .

❖ **Mannitol salt agar**

حُضِرَ هذا الوسط الزراعي حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بإذابة 108 غم في لتر من الماء المقطر، وتم تعقيمه بالمؤصدة ، استعمل هذا الوسط لعزل المكورات العنقودية وتشخيصها من حيث قابليتها على تحمل ملوحة الوسط واختبار قابلية البكتيريا على تخمير سكر المانيتول اذ يتحول لون الوسط الى الأصفر الذهبي .

❖ **Mueller Hinton Agar**

تم تحضير هذا الوسط الزراعي وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة ، وذلك بإذابة 38غم في لتر من الماء المقطر وتم تعقيمه بالمؤصدة ، وبعد إكمال عملية التعقيم وانخفاض درجة الحرارة الى (45- 50) م° وتم صبه في أطباق بتري معقمة ، واستعمل الوسط لتنمية العزلات البكتيرية لغرض اجراء اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية .

❖ **وسط احمر المثيل - فوكس بروسكاور Proskauer Voges-Red Medium**

حُضِرَ بإذابة 5 غم من البيبتون و5 غم من K_2HPO_4 ، 10غم من الكلوكوز في كمية كافية من الماء المقطر وبعد ضبط الأس الهيدروجيني الى 7.4 أكمل الحجم إلى لتر من الماء المقطر وعُقم بالمؤصدة ، وبعد إكمال عملية التعقيم برد بعدها الى درجة (45 - 50) م° وتم صبه في أنابيب معقمة وحفظ عند 4 م° (Collee et al., 1996) .

❖ **وسط اختبار الأندول Indol test Medium**

حضر بإذابة 20 غم من البيبتون الحاوي على التربتوفان و 5 غم من NaCl في كمية كافية من الماء المقطر وبعد ضبط الأس الهيدروجيني الى 7.4 أكمل الحجم الى لتر من الماء المقطر ، وعُقم بالمؤصدة ، استعمل هذا الوسط لكشف قدرة البكتيريا على إنتاج الأندول من التربتوفان (Collee et al., 1996) .

3-2-2 طرائق التعقيم Sterilization

تم تعقيم الأوساط الزرعية والمحاليل بإستعمال طريقتين وفق (Alfred and Brown , 2005) وكالاتي :

A. التعقيم بالحرارة

عُقت جميع الأوساط الزرعية المحضرة مختبريًا ، وأغلب المحاليل المستعملة في هذه الدراسة التي لا تتأثر بالحرارة بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121 م° ، وتحت ضغط 1 جو لمدة 15 دقيقة ، وأما الزجاجيات فقد تم تعقيمها بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة 160 م° لساعة واحدة .

B. التعقيم بالترشيح

عُقت قسم من المحاليل التي تتأثر بالحرارة وبعض الصبغات باستعمال مرشحات غشائية Millipore Filers ذات فتحات بقطر 0.22 مايكروميتر.

4-2-3 الكواشف والمحاليل المستعملة لتشخيص البكتريا قيد الدراسة:

❖ كاشف الكاتليز (Catalase reagent)

استعملت مادة بيروكسيد الهيدروجين (Substrate) بتركيز 3% للتحري عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم الكاتليز (Tille and Van, 2014).

❖ كاشف الأوكسيديز (Oxidase reagent)

حُضر الكاشف أنيًّا بإذابة 1 غم من مادة رباعي مثيل بارافنيلين ثنائي أمين ثنائي هيدروكلورايد (Tetramethyl P-phenylene diamine dihydrochloride) في 100 مل من الماء المقطر في عبوة معقمة ومعتمة ، إذ استعمل هذا الكاشف في التحري عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم الأوكسيديز (Tille and Van , 2014) .

❖ كاشف أحمر المثيل Methyl Red Reagent

حُضر بإذابة 0.1 غم من صبغة أحمر المثيل في 300 مل كحول أثيلي ، وبعد إذابة الصبغة بالكامل أُضيف لها 200 مل ماء مقطر ثم حفظ الكاشف المحضر بدرجة حرارة 4 م° في قنينة معقمة (Tille and Van , 2014).

❖ كاشف فوكس بروسكاور Voges- Proskauer Reagent

حضر على النحو التالي :

المحلول الأول :حُضِر بإذابة 40 غم من هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) في 100 مل ماء مقطر.
المحلول الثاني : حُضِر بإذابة 5 غم من صبغة الفا نفثول في 100 مل كحول أثيلي (Collee *et al.*, 1996).

❖ محلول صبغة البنفسج البلوري 0.1% Crystal violate solution

تم تحضير هذا المحلول بإذابة 0.1 غم من مسحوق البنفسج البلوري Crystal violate powder في 10 مل من الميثانول ثم أكمل الحجم بالماء المقطر إلى 100 مليلتر ثم عُقِم المحلول بإستعمال وحدات الترشيح الدقيقة ذات قطر نفاذية 0.22 مايكروميتر إذ استعمل هذا المحلول في الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي للعزلات البكتيرية قيد الدراسة (Christensen *et al.*, 1985).

❖ المحلول الملحي الفسيولوجي (Normal saline)

حُضِر هذا المحلول بإذابة 0.85 غم من كلوريد الصوديوم في 50 مل ماء مقطر ، وبعد إتمام عملية الإذابة أُكْمِل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر ايضاً ، وحفظ بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال.

❖ محلول دارى الفوسفات الملحي (Phosphate buffer saline (PBS)

حُضِر الدارى حسب ما جاء في (Macfaddin 2000) من المواد الآتية :
أُذِيب 8 غرام من كلوريد الصوديوم ، 0.3 غم فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين و1.12 غم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في حجم قليل من الماء ، ثم أُكْمِل الحجم الى لتر وضبط الرقم الهيدروجيني الى 7.2 بواسطة جهاز pH meter وعُقِم بالمؤصدة وحفظ بالثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال ، استعمل هذا المحلول في تجربة الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي من قبل العزلات قيد الدراسة وكذلك في اختبار السُمية للمستخلص النباتي .

❖ محلول ماكفرلاند (أنبوب رقم 0.5) Macfarland Solution :

حُضِر هذا المحلول بحسب الطريقة التي تم وصفها من قبل (Tille and Van , 2014) إذ يتكون من محلولين :

- 1) محلول كلوريد الباريوم (1.175%) : أذيب 1.175 غم من كلوريد الباريوم في كمية من الماء المقطر، وبعد إتمام الإذابة أكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر.
- 2) محلول حامض الكبريتيك (1%) : أضيف 1 مل من حامض الكبريتيك المركز الى 99 مل من الماء المقطر .
- حُضِر محلول ماكفر لاند (انبوبة رقم 0.5) وذلك بإضافة 0.5 مل من محلول A الى 99.5 مل من محلول B ومزج المحلول جيداً ، تم استعمال هذا المحلول لمقارنة الكثافة البكتيرية المستعملة في اختبارات فحص الحساسية ، إذ أن كثافة الانبوبة رقم 0.5 تعادل كثافة بكتيرية مقدارها 1.5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة / مليلتر وهو ما يعادل إمتصاصاً ضوئياً مقداره (0.13-0.08) عند الطول الموجي 625 نانوميتر .

3-2 خطوات تشخيص البكتريا المسببة لإلتهاب اللوزتين :

1-3-2 عزل وتشخيص البكتريا السالبة لصبغة كرام

1-1-3-2 عزل وتشخيص بكتريا *Klebsiella* spp

تم تمييز مستعمرات بكتريا *Klebsiella* إذ تم تشخيصها من خلال الفحوصات المجهرية والكيموحيوية.

2-1-3-2 الفحوصات المجهرية Microscopic tests

❖ تصبغ البكتريا :

تم انتقاء المستعمرات النامية على وسط MacConkey Agar الصلب ، وتم تصبغها بصبغه غرام للتعرف على شكل الخلايا وتجمعاتها .

3-1-3-2 الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

❖ اختبار الكاتليز Catalase test

أجري هذا الاختبار بإضافة قطرة من بيروكسيد الهيدروجين بنسبة 3 ٪ إلى مستعمرة أو جزء من البكتريا المنقولة على شريحة زجاجية ، إذ تكون النتيجة موجبه عند إطلاق فقاعات الاوكسجين من البكتريا (Tille and van , 2014) .

❖ اختبار الاوكسيديز Oxidase test

تم نقل مستعمرة بكتيرية بواسطة عود خشبي معقم (stick) ووضعها على ورقة ترشيح ، وأضيفت لها قطرة من كاشف الاوكسيديز ، ثم الإنتظار من 30الى60 ثانية إذا تحول لون المستعمرة الى اللون البنفسجي الغامق دليل بأن الفحص إيجابي (Tille and van , 2014) .

❖ اختبار الأندول Indol test

أجري هذا الاختبار من خلال تلقح الأنابيب الاختبار الحاوية على وسط ماء البيبتون peptone water بالمستعمرات البكتيرية ، ثم حضنت لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 °م ، بعدها أضيف للوسط 1-2 قطرة من كاشف كوفاكس Kovacs reagent مع رج الأنبوبة بشكل خفيف ، إذ لوحظ تكون حلقة إرجوانية أعلى الوسط الذي يعد دليلاً على النتيجة الموجبة (Hemraj et al., 2013) .

❖ اختبار المثيل الأحمر Methyl red test

لُقحت الأنابيب الحاوية على وسط المثيل الأحمر – فوكس بروسكاور (MR-VP) بالمستعمرات البكتيرية ، ثم حضنت لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م وبعد مدة الحضانة أُضيف الى الأنابيب 4-5 قطرات كاشف أحمر المثيل Methyl red reagent مع رج خفيف والنتيجة الموجبة هي تحول لون الوسط إلى اللون الأحمر (Hemraj et al., 2013)

❖ اختبار فوكس-بروسكاور Voges- Proskauer test

لُقحت الأنابيب الحاوية على وسط المثيل الأحمر – فوكس بروسكاور (MR-VP) بالمستعمرات البكتيرية وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م ، وبعد مدة الحضانة أُضيف الى الأنابيب 10 قطرات من المحلول الأول الفا نفتول alpha naphthol ثم 5 قطرات من المحلول الثاني هيدروكسيد البوتاسيوم

KOH ، و رُجت الأنابيب جيدا ، ولوحظت النتائج بعد 5 دقائق ، ثم سجلت النتائج بعد نصف ساعة ، وعند ظهور اللون الأحمر فإن ذلك دليل على النتيجة الموجبة (Hemraj et al., 2013) .

2-3-2 عزل وتشخيص الأنواع الأخرى من البكتريا السالبة لصبغة كرام

تم تمييز المستعمرات الشبيهة بمستعمرات بكتيريا *Escherichia Coli* ، *Pseudomonas spp* ، *Enterobacter spp* ، إذ تم تشخيصها اعتماداً على الفحوصات المجهرية والاختبارات الكيموحيوية المستعملة في تشخيص بكتريا *Klebsiella* .

3-3-2 عزل وتشخيص الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام

1-3-3-2 عزل وتشخيص بكتريا *S. aureus*

تم تشخيص المستعمرات من خلال تنميتها بدرجة 37 °م وتمت دراسة الصفات المظهرية لمستعمرات البكتريا الشبيهة بصفات بكتريا *S. aureus* ، من حيث الحجم واللون والشكل والقوام وشكل الحافة وتمت تنقية مستعمرة واحدة باستعمال وسط (Manitol salt agar) ، واستعمل هذا الوسط لعزل المكورات العنقودية الذهبية وتشخيصها من حيث قابليتها على تحمل ملوحة الوسط ، فضلاً عن قابليتها على تخمير سكر المانيتول وتحويل لون الوسط الى الأصفر ، الى جانب الفحوصات المجهرية والاختبارات الكيموحيوية ويمكن إيجاز خطوات إجراء الدراسة على وفق المخطط (1-2).

2-3-3-2 الفحوصات المجهرية (Microscopic tests)

❖ تصبغ البكتريا

تم انتقاء المستعمرات النامية على وسط Mannitol salt agar الصلب وصُغت بصبغة كرام ، إذ تم وضع قطرة من (N.S)Normal saline على شريحة زجاجية نظيفة مع كمية قليلة من البكتريا المراد فحصها ومررت على اللهب مع تحريكها فوّه مرتين أو ثلاث مرات لتجف ثم تم تصبغها بعدة صبغة كرام وفحصها بواسطة المجهر الضوئي ، إذ لوحظ مدى استجابة البكتريا لصبغة كرام وكذلك التعرف على أشكال الخلايا و تجمعاتها (Brust et al., 2019) .

3-3-3-2 الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

لتشخيص العزلات أُجريت الاختبارات الكيموحيوية بالاعتماد على مصنف بركي Bergeys

(Brust *et al.* , 2019) (Mannuel of Systematic Bacteriology

❖ اختبار انزيم التخثر coagulase test

اختبرت العينات باستعمال بلازما الإنسان ، حيث تم وضع 0.5 مل من البلازما في أنابيب معقمة ثم نُقلت مستعمرة بواسطة عروة (loop) الى الأنابيب الحاوية على البلازما وتم مزجها جيدا ثم حضنت بدرجة حرارة (35-37) °م لمدة 4 ساعات ، وان حصول التخثر دلالة على إيجابية الفحص (Tille , 2014 and Van) .

❖ اختبار الكاتليز Catalase test

أجري هذا الاختبار كما موضح في الفقرة (3-1-3-2) (Tille and van , 2014).

❖ اختبار الاوكسيديز Oxidase test

تم نقل مستعمرة بكتيرية بواسطة عود خشبي معقم (stick) ووضعها على ورقة ترشيح وأضيفت لها قطرة من كاشف الأوكسيديز ، تم الإنتظار لمدة 30-60 ثانية إذا تحول لون المستعمرة الى اللون البنفسجي الغامق دليل بان الفحص إيجابي (Tille and Van , 2014) .

4-3-3-2 عزل وتشخيص بكتريا Streptococcus Spp.

شخصت عزلات بكتريا *Streptococcus* وفق ما جاء في (Whiley and Hardi, 2009) إذ تم الإعتماد على الصفات المظهرية والفحوصات الكيموحيوية في التشخيص.

1-4-3-3-2 الفحوصات المجهرية Microscopic tests**❖ تصبغ البكتريا**

تم إنتقاء المستعمرات النامية على وسط Blood agar الصلب والتي تحتوي على التحلل الدموي التام (B-hemolysis) التي تحيط بالمستعمرات وتم تصبغها بصبغة غرام للتعرف على أشكال الخلايا وتجمعاتها.

2-4-3-3-2 الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests**❖ اختباري الكاتليز و الأوكسيديز**

أجري هذان الاختباران بحسب الطريقة الموصوفة في تشخيص بكتريا *Staphylococcus* المذكورة في الفقرة (3-3-3-2).

❖ Bacitracin susceptibility test

يعتبر هذا الاختبار شديد الحساسية ويستخدم بشكل شائع لتشخيص بكتريا *S. pyogenes* حسب طريقة (Abraham & Sistla, 2016).

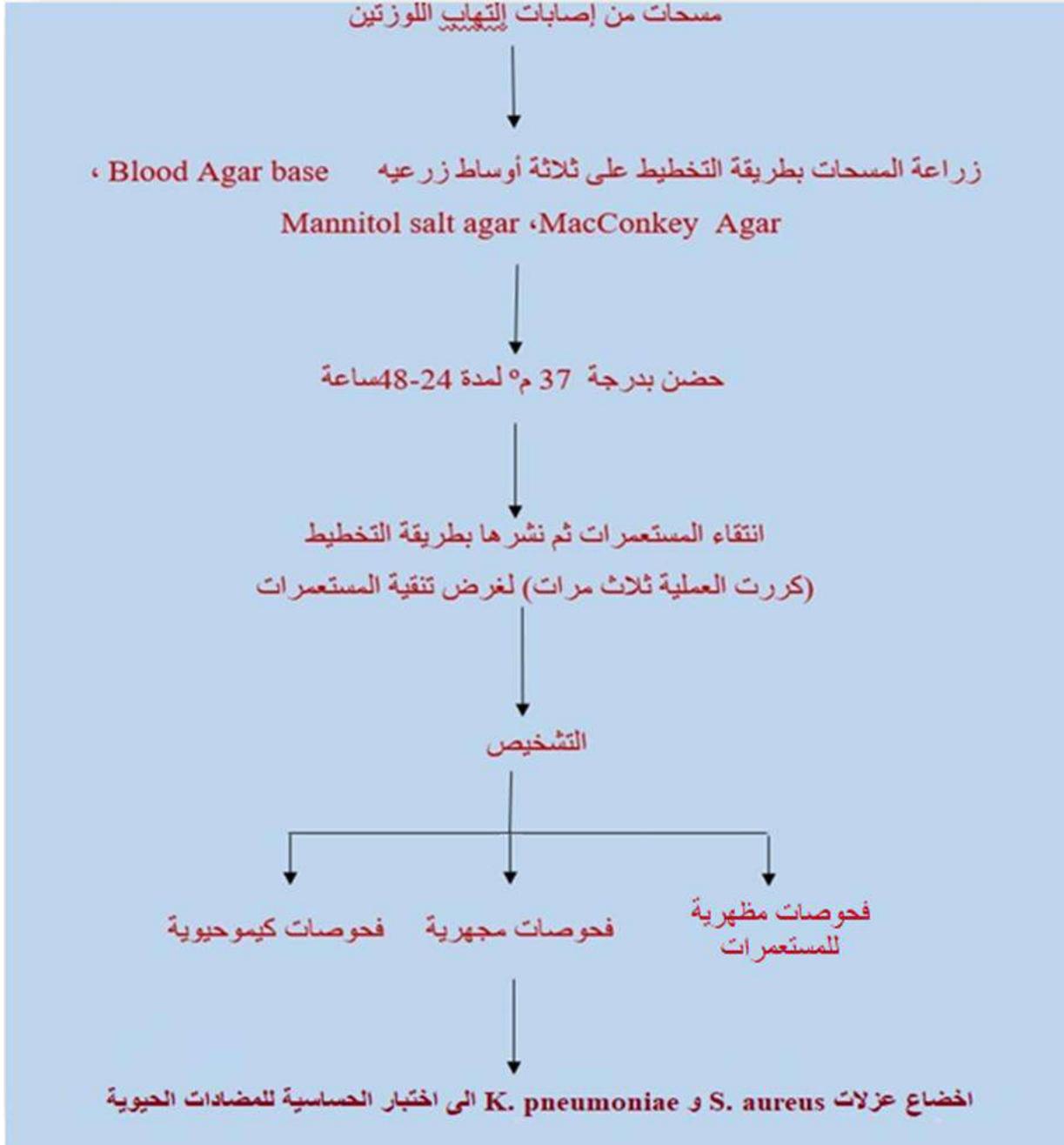
1 - تم تحضير العالق البكتيري وذلك بأخذ 3-4 مستعمرة ونقلها الى أنبوبة تحتوي على المحلول الفسيولوجي للوصول إلى عكورة أنبوبة ماكفرلاند القياسية الموجودة بالمختبر البالغة (1.5×10^8) خلية/مل .

2- تم اخذ 100 مايكروليتر من العالق البكتيري ونشره على اطباق تحتوي Blood Agar وتركت لمدة 30 دقيقة ومن ثم وضع قرص Bacitracin ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة .

3 - تم قراءة النتائج بقياس أقطار مناطق التثبيط بالمليمتر حول قرص Bacitracin بإستعمال المسطرة ، تم إعتبار منطقة التثبيط أكثر من 15 ملم حساسة .

Rapid Strep-A Test ❖

تم إجراء اختبار Rapid Strep-A وذلك بوضع عينة المسحة في الكارت الخاص بالاختبار ووضع الكاشف (reagent) عليها ثم قراءة النتائج في غضون 8 دقائق عندما يظهر خطان ملونان تدل إن نتيجة الاختبار إيجابية ، ولكن عندما تعرض فقط منطقة التحكم control خطأً ملوناً واحداً كانت النتيجة سلبية.





مخطط رقم (1-2) يوضح خطوات إجراء الدراسة:

4-2 اختبار حساسية البكتريا قيد الدراسة للمضادات الحيوية

أستعملت طريقة الانتشار بالأقراص (Disk diffusion test) لتحديد حساسية البكتريا المعزولة للمضادات الحيوية على وفق ما جاء في (Cockerill et al., 2012) بحسب الخطوات الآتية :

(1) نشطت عزلات بكتريا *S. aureus* على وسط Mannitol salt agar وبكتريا *K. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة .

(2) تم نقل كمية قليلة من مستعمرات البكتريا النامية المشار إليها آنفاً بواسطة العروة (loop) الى أنابيب تحوي المحلول الملحي الفسلجي ومزجت جيداً ، وفُورنت عكورة النمو مع عكورة محلول ثابت العكورة القياسي (McFarland standard 0.5) والذي يعطي عدداً تقريبياً للخلايا 1.5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة / مليلتر .

(3) نقل 100 مايكروليتر من العالق البكتيري بواسطة الماصة الدقيقة (Micropipette) ، ثم نشره بواسطة الناشر الزجاجي شكل حرف (L) على سطح وسط مولر – هنتون أكار بصورة متجانسة ، بعدها تركت الأطباق لتجف في درجة حرارة الغرفة لمدة (30) دقيقة .

(4) وزعت أقراص المضادات الحيوية الخاصة لكل بكتريا بواسطة ملقط معقم على سطح الوسط الزرع ، ثم تم حضنها بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة .

(5) تم قراءة النتائج بقياس أقطار التنشيط بالمليمتر حول أقراص المضادات الحيوية بإستعمال المسطرة ثم فُورنت النتائج بالجدول القياسية لأقطار مناطق التنشيط للمضادات الحيوية وفقاً لما جاء في المعايير السريرية والمختبرية المعتمدة والمحدثة للعام 2022, CLSI لتحديد ما إذا كانت البكتريا حساسة (S) أو وسيطة (I) أو مقاومة (R) للمضادات الحيوية .

5-2 التحري عن قابلية البكتريا قيد الدراسة لتكوين الغشاء الحيوي (Biofilm)

1-5-2 طريقة إختبار صفائح المعايرة Micro - titer plate(MTP)method

تم الكشف عن قابلية البكتيريا على إنتاج الغشاء الحيوي ومدى قوته (قوي او متوسط او ضعيف) بالاعتماد على (Nicolau *et al.*, 2013) بموجب الخطوات الآتية.

1 . تم تنشيط العزلات المحفوظة بدرجة حرارة المختبر على الأوساط الزرعية المحضرة مسبقا مثل بكتريا *S. aureus* على وسط Mannitol salt agar وبكتريا *K. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar وحضنت بدرجة حرارة 37 ° م و لمدة 24-48) ساعة لضمان الحصول على عزلات نقية نشطة تظهر نتائج واضحة وكذلك تحسباً لأي تلوث من مزروع بكتيري آخر وأخيرا لتلافي التالف من العزلات المحفوظة .

2. تم تحضير العالق البكتيري وذلك بأخذ 2-3 مستعمرة بالنسبة لـ *K. pneumoniae* و 3-4 مستعمرة بالنسبة *S. aureus* ونقلها الى أنبوبة تحتوي على المحلول الفسيولوجي للوصول إلى عكورة أنبوية ماكفر لاند القياسية الموجودة بالمختبر البالغة (1.5 × 10⁸) خلية / مل ، ثم وضعه بالحاضنة لمدة 24 ساعة عند 37 م ° .

3 . نقل 1مل من العالق البكتيري الى أنبوبة تحتوي 3 مل من Brain – Heart infusion broth ومقارنته بعكورة أنبوبة ماكفر لاند القياسية البالغة (1.5 × 10⁸) خلية / مل .

4 . ملئت الحفر في الصف الأخير بالوسط المغذي السائل المعقم دون لقاح بكتيري و أستعملت هذه الحفر كسيطرة سالبة (negative Control) في حين ملئت حفر الصفيحة بـ 200 مايكرو ليتر من الأنبوبة التي تحتوي على العالق البكتيري والوسط المغذي السائل وحركت الصفيحة بهدوء وغُلفت بشريط شمعي لاصق (parafilm) وتم حضنها في الحاضنة بدرجة 37 ° م و لمدة 24 ساعة .

5 بعد انتهاء مدة الحضانة أُفرغت الصفيحة من المزروع البكتيري وغسلت الحفر بـ 200 مايكرو ليتر ولمرتين من محلول دارى الفوسفات الملحي (PBS) ثم تركت بدرجة حرارة الغرفة.

- 6 . أُفرغت الصفيحة من محلول دارى الفوسفات الملحي ووضعها في (oven) بدرجة حرارة 60 ° م لمدة نصف ساعة و تم إضافة صبغة البنفسج البلوري بتركيز 0.1 % وتركها 15 دقيقة وبالتالي أُفرغت وُعُسلت بمحلول حامض الخليك الثلجي بتركيز 33%.
- 7 . قُرأت النتائج بجهاز (ELISA reader) كما موضح في ملحق رقم (2) بطول موجي 630 نانوميتر لتقدير الكثافة الضوئية (Optical density (OD) لتحديد كفاءة العزلات في إنتاج الغشاء الحيوي Biofilm بمقارنة القراءات وفقاً للمعادلات التالية :-

$$\text{Mean (OD) control} - \text{Mean (OD) test} = (\text{OD}) \text{ biofilm}$$

Average OD value	Biofilm production
$\leq 2 \times \text{ODc}$	Weak
$2 \times \text{ODc} < - \leq 4 \times \text{ODc}$	Moderate
$> 4 \times \text{ODc}$	Strong

6-2 تشخيص واختبار حساسية البكتيريا قيد الدراسة للمضادات الحيوية باستخدام جهاز VITEK 2 System

تم إختيار عدد محدد من العزلات البكتيرية لتأكيد تشخيصها وحساسيتها للمضادات الحيوية باستخدام جهاز VITEK 2 في أحد مختبرات مدينة كربلاء المقدسة مختبر النقاء الطبي كما موضح في ملحق رقم (3) .

- 1- تم تنشيط العزلات المحفوظة بدرجة حرارة المختبر على الأوساط الزرعية المحضرة مسبقاً مثل بكتريا *S. aureus* على وسط Mannitol salt agar وبكتريا *K. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar وحضنت بدرجة حرارة 37 ° م ولمدة (24- 48) ساعة لضمان الحصول على عزلات نقية نشطة تظهر نتائج واضحة وكذلك تحسباً لأي تلوث من مزرع بكتيري آخر وأخيراً لتلافي التالف من العزلات المحفوظة .

- 2- تم تصبغ العينة بصبغة كرام لمعرفة ما إذا كانت إيجابية أم سلبية للصبغة بالإضافة إلى التأكد من نقاء العينة.
- 3- تم عمل عالق بكتيري وذلك بنقل كمية قليلة من مستعمرات البكتريا النامية المشار إليها انفاً بواسطة العروة (loop) الى أنبوبة خاصة من الشركة المصنعة تحتوي 3 مل من normal saline مُزجت جيداً وتكون ذات كثافة تراوح من (0.5 - 0.63) باستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer بطول موجي 625 نانومتر.
- 4- وضع cassette Card الكاسيت الخاص بتشخيص الأنواع البكتيرية وفحص الحساسية للمضادات الحيوية في كل أنبوبة من أنابيب لما ورد في الاختبار، ثم وُضعت الأنابيب في جهاز الفايتهك، ثم قُرأت النتائج وفقاً لما ورد في (Gherardi et al., 2012) وسجلت النتائج التي تدل على الأنواع البكتيرية وحساسيتها للمضادات الحيوية .

7-2 تحضير المستخلصات النباتية

تم تحضير أربعة أنواع من المستخلصات النباتية (جذور عرق السوس ، أوراق الشاي الأخضر ، لحاء الدارسين و بذور القرنفل بطريقة المستخلص المائي الحار (Wijesundara et al., 2019)

1-7-2 المستخلص المائي الحار

خُضرت المستخلصات المائية للنباتات المستعملة في الدراسة (الذي تم طحنه مرات عدة للحصول على مسحوق ناعم من كل جزء نباتي في طاحونة كهربائية (Electrical Mill) وذلك بمزج 15 غم من المسحوق النباتي ووضعه في دورق زجاجي وأضيف اليه 500 مل من الماء المقطر المعقم المغلي وتم تركه على هزاز مغناطيسي لمدة 10 دقائق لزيادة نسبة الاستخلاص ولتفكيك جدران الخلايا النباتية وتمزيقها ، ثم رشح المزيج من خلال طبقات من قطع الشاش الطبي المعقم ومن ثم رشح ثانيةً باستخدام ورق ترشيح ذات قطر 0.22 مايكروميتر وتم جمعه ووضعه في أنابيب اختبار معقمة ونبذت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق، بعدها وضع المستخلص في صواني (trays) كبيرة حتى تبخر الماء بشكل تام وبالتالي تم قشط العينات المجففة وضعت في قناني زجاجية معقمة محكمة الغلق وفي ظروف خالية من الرطوبة لحين الإستعمال وأعيدت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص (Riose et al., 1987).

2-7-2 تحضير تراكيز محاليل المستخلصات النباتية لإختبار فعاليتها التثبيطية ضد البكتريا :

حُضِر المحلول الخزين Stock Solution وتعليمة وذلك بإذابة 1.5 غم من مسحوق المستخلص النباتي كل على حده في 15 مل من الماء المقطر ويعد كذلك المعاملة ذو تركيز 100 ملغم /مل.

حضرت التراكيز (10، 20، 40، 60، 80) ملغم /مل وكالاتي (Wijesundara et al., 2019) :

❖ حضر 5مل بتركيز 10 ملغم /مل وذلك بإخذ 0.5 مل من المحلول الخزين وأضيف له 4.5 مل من الماء المقطر المعقم D.W .

❖ حضر 5مل بتركيز التركيز 20 ملغم /مل وذلك بإخذ 1 مل من المحلول الخزين وأضيف له 4 مل من الماء المقطر المعقم D.W .

❖ حضر 5مل بتركيز 40 ملغم /مل وذلك بإخذ 2 مل من المحلول الخزين وأضيف له 3 مل من الماء المقطر المعقم D.W .

❖ حضر 5مل بتركيز 60 ملغم /مل وذلك بإخذ 3 مل من المحلول الخزين وأضيف له 2 مل من الماء المقطر المعقم D.W .

❖ حضر 5مل بتركيز 80 ملغم /مل وذلك بإخذ 4 مل من المحلول الخزين وأضيف له 1 مل من الماء المقطر المعقم D.W .

3-7-2 طريقة الانتشار بالحفر: Well Diffusion Method

أُستخدِمت طريقة الإنتشار بالحفر للكشف عن فعالية التثبيط للمستخلصات النباتية المختارة في هذه الدراسة ضد البكتريا قيد الدراسة وفقا لما جاء في (Farjana et al., 2014).

1. تم تنشيط العزلات المحفوظة على الأوساط الزرعية المحضرة مسبقا مثل بكتريا *S. aureus* على وسط Mannitol salt agar وبكتريا *K. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar وحضنت بدرجة حرارة 37م° ولمدة (24- 48) ساعة لضمان الحصول على عزلات نقية ونشطة .

2. تحضير العالق البكتيري وذلك بأخذ 2-3مستعمرة بالنسبة لـ *K. pneumoniae* و 3-4 مستعمرة بالنسبة لـ *S. aureus* ونقلها الى أنبوبة تحتوي على 3مل من المحلول الفسيولوجي ومقارنتها مع عكورة أنبوبة ماكفر لاند القياسية الموجودة بالمختبر البالغة ($10^8 \times 1.5$) خلية / مل .

3. تم نشر 100 مايكرو ليتر من العالق البكتيري الذي يحتوي على الكائنات الحية الدقيقة الى أطباق حاوية على وسط Muller Hinton Agar (MHA) بواسطة الناشر L-Shape وتركه لمدة 30 دقيقة .
4. عمل حفر على سطح الأكار بواسطة الناقب الفليني (قطرها 6 ملم) حيث كانت المسافة متساوية بين حفرة وأخرى ثم وضع 50 مايكرو ليتر من كل تركيز من تراكيز المستخلصات النباتية قيد الدراسة تم ترك حفرة كسيطرة سالبة بإضافة 50 مايكرو ليتر من الماء المقطر المعقم .
5. حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة ، بعد الحضانة تم قياس أقطار منطقة تثبيط نمو البكتريا بالمليمتر (ملم) بواسطة المسطرة (Holder and Boyce, 1994) .

4-7-2 الكشف عن التركيز المثبط الأدنى (MIC) باستعمال طريقة Microdilution

تم إستعمال طريقة تخافيف الصفيحة الدقيقة حسب (Wijesundara *et al.*, 2019)

- 1- تم تنشيط العزلات المحفوظة بدرجة حرارة المختبر على الأوساط الزرعية المحضرة مسبقا مثل بكتريا *S.aureus* على وسط Mannitol salt agar وبكتريا *K. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar وحضنت بدرجة حرارة 37م° و لمدة (24- 48) ساعة لضمان الحصول على عزلات نقية ونشطة .
- 2- تحضير العالق البكتيري وذلك بأخذ 2-3 مستعمرة بالنسبة لـ *K. pneumoniae* و 3-4 مستعمرة بالنسبة *S. aureus* ونقلها الى أنبوبة تحتوي على كمية قليلة من 0.9% من المحلول الفسيولوجي ومقارنتها مع عكورة أنبوبة ماكفر لاند القياسية الموجودة بالمختبر البالغة ($10^8 \times 1.5$) خلية / مل .
- 3- تم تحضير التراكيز المطلوبة مسبقاً لهذه الدراسة (أخذت في مدى أوطأ وأعلى من تركيز المستخلص النباتي فظهر فيه أقل تثبيط للعزلات قيد الدراسة) ونضع 100 مايكرو ليتر من Nutrient broth ، 10 مايكرو ليتر من العالق البكتيري ، 100 مايكرو ليتر من تركيز المستخلص النباتي قيد الدراسة الى الحفر الأولى ، ثم استمر مع التخفيفات الأخرى في الحفر المتبقية بينما تم ترك حفرتين ، كانت أحدهما كسيطرة سالبة الذي تحتوي على مخفف المستخلص النباتي و Nutrient broth فقط والحفرة الأخرى كسيطرة موجبة والذي تحتوي على Nutrient broth والعالق البكتيري فقط وتم تغطية الصفيحة بغطاء معقم (Parafilm) و خلط جميع المكونات برفق .

4- تم الحضان عند 37 م° لمدة 24 ساعة. بعد ذلك ، تمت قراءة الامتصاصية بواسطة جهاز (ELISA) بطول موجي 630 حيث إن MICs والتي تم تعريفها على أنها أقل تركيز يثبط نمو الكائنات الحية المجهرية ولا تظهر أي نمو بصري .

2-7-5 تحديد سمية المستخلص النباتي للشاي الأخضر :

تم تحديد السمية لمستخلص نبات الشاي الأخضر بواسطة طريقة انحلال الدم التي تعطل كريات الدم الحمراء RBCs في المختبر لذلك تم استخدام دم إنسان سليم وغير مدخن في هذا الاختبار كما هو موضح في (Bataineh *et al.*, 2021) :

- 1- تم عمل طرد مركزي بسرعة 5000 دورة لمدة 5 دقائق للدم لفصل البلازما عن RBCs وعلق في 2% بمحلول بفر دارى الفوسفات الملحي ثم حرك ببطيء لمزجها .
- 2- تم اضافة (1.5) مل من تركيز المستخلص النباتي المنتخب المحضر مسبقا و1.5مل من RBCs في انبوبة اختبار ، وتم تحضير أنبوبة إختبار لتحضير السيطرة السالبة التي تتكون من 1.5 RBCs و1.5 من normal saline ، أما بالنسبة للسيطرة الموجبة تم تحضيره من 1.5 RBCs و1.5 من Triton x-100 ثم الحضان عند 37 م° لمدة ساعة وبعدها تم الطرد المركزي بقوة 1500 دورة لمدة 10 دقائق ثم تم أخذ الرائق فقط للقراءة باستعمال spectrophotometer عند طول موجي 540 نانوميتر حسب المعادلة التالية :

$$\% \text{ hemolysis} = \frac{At - An}{Ac - An} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

حيث :

At = امتصاصية العينة

An = امتصاصية السيطرة السالبة (normal saline)

Ac = امتصاصية السيطرة الموجبة (Triton X-100)

6-7-2 التحليل الإحصائي (Statistical Analysis) :

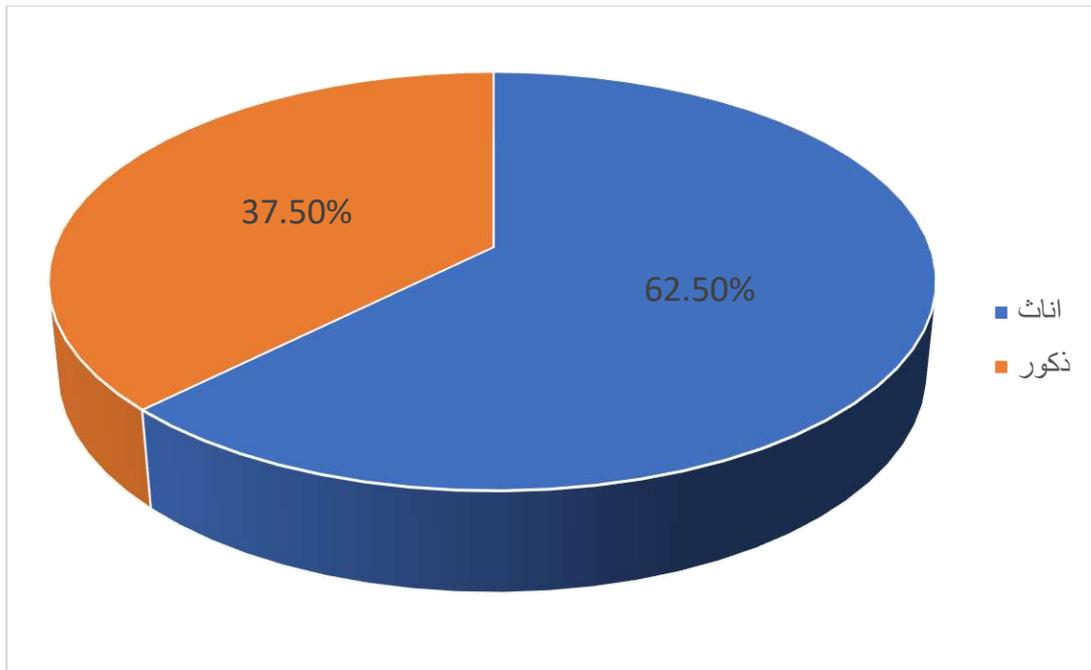
استعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) Completely Randomized Design وحللت البيانات إحصائياً باستخدام الحاسوب اعتمدت قيم (LSD) للمقارنة بين متوسطات المعاملات على مستوى احتمالية (0.05) في جميع التجارب (Steel *et al*, 1997).

1-3 عزل وتشخيص البكتريا المسببة لإصابات التهاب اللوزتين :

جمعت خلال مدة الدراسة (من 2 - كانون الأول - 2021 ولغاية 28 - شباط 2022) 128 مسحة وبواقع

80 أنثى و48 ذكور من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (Tonsillitis) في محافظة كربلاء المقدسة

كما موضح في الشكل رقم (1-3)

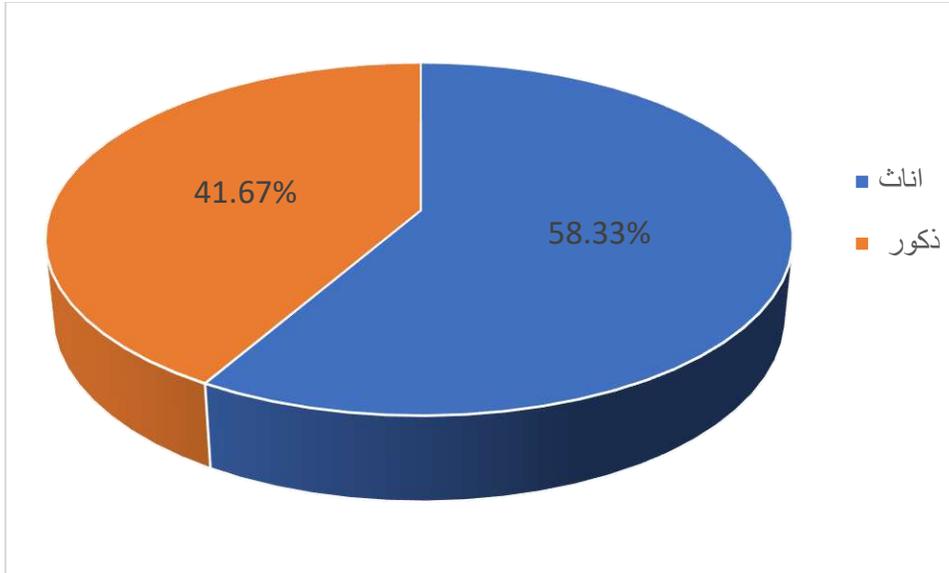


الشكل رقم (1-3) توزيع المسحات المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis)

حسب جنس المريض

أسفرت عملية العزل عن الحصول على (120) عزلة بكتيرية وبواقع 70 عزلة معزولة من الإناث و50

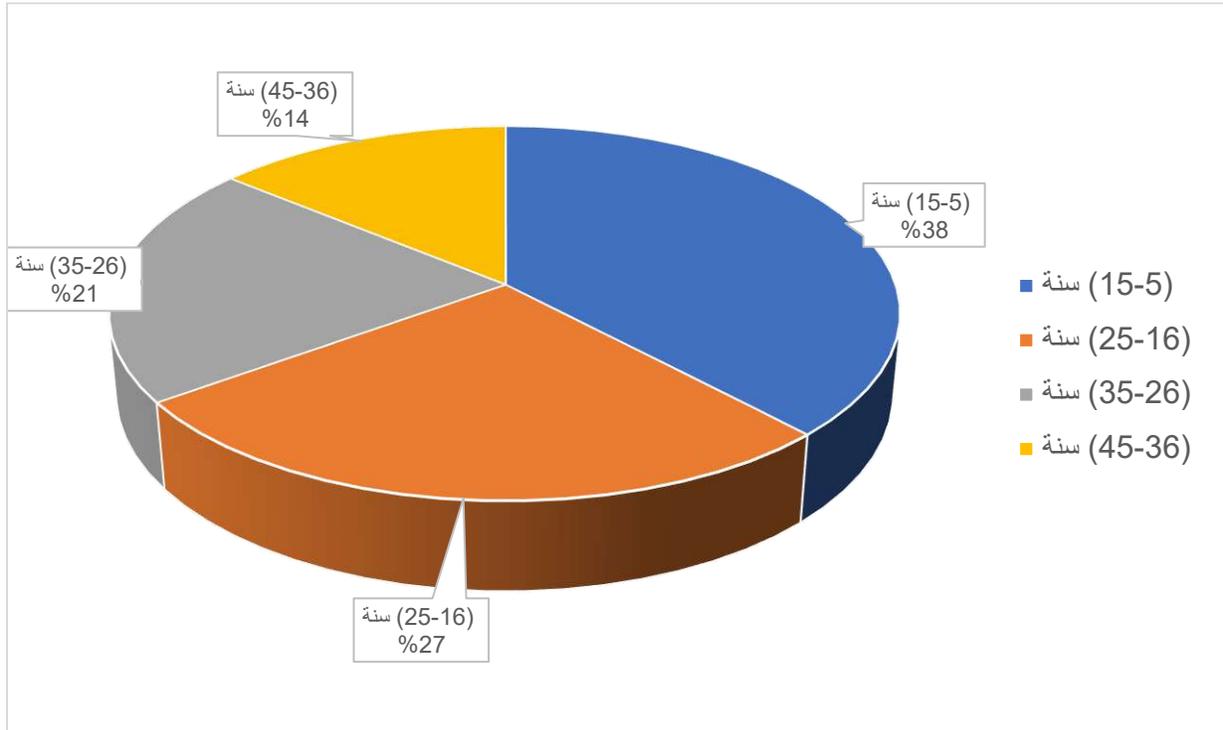
عزلة معزولة من الذكور كما في الشكل رقم (2-3) .



الشكل رقم (2-3) توزيع العزلات البكتيرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis) حسب جنس المريض

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (2-3) إرتفاع نسبة الإصابة في المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين بين الاناث إذ بلغت نسبة 58.33% مقارنة بالذكور إذ كانت نسبة الإصابة 41.66% ، وكانت أعلى إصابة في الفئة العمرية (15-5) بنسبة 38% تليها الفئة العمرية (25-16) 27% ثم (35-26) 21% والأقل نسبة إصابة في الفئة العمرية (45-36) 14% كما في الشكل (3-3)، قد يعود السبب الى ان المرضى بعمر (5-15) سنة والتي تشمل فئة الأطفال في سن المدرسة يكون لهم زيادة في النشاط البدني والهرموني أكثر من غيرهم من الفئات العمرية ، وكذلك العوامل الاقتصادية وانعدام النظافة الشخصية والمستوى التعليمي كل ذلك يفسر الإصابة العالية لهذه الفئات العمرية (Alasmari *et al.*, 2019).

وجاءت نتائجنا متطابقة مع ما بينه (Vijayashree *et al.*, 2014) إذ وجدوا أن حدوث التهاب اللوزتين في الفئة العمرية (5-15) سنة بنسبة 40% تليها الفئات العمرية (16-25) سنة بنسبة 25% والفئة العمرية (26-35) سنة بنسبة 20% والنسبة الأقل إصابة بلغت 15% في الفئة العمرية (36-45) سنة.



الشكل رقم (3-3) توزيع العزلات البكتيرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب اللوزتين (tonsillitis) حسب الفئات العمرية

2-3 تشخيص البكتريا المسببة لإصابات التهاب اللوزتين tonsillitis

تم إخضاع جميع عزلات البكتريا المتحصل عليها لفحص الاستجابة الى صبغة كرام وحسب استجابتها لتلك الصبغة تم إكمال التشخيص .

1-2-3 تشخيص البكتريا الموجبة لصبغة غرام

1-1-2-3 تشخيص بكتريا *S. aureus*

A - الصفات الزرعية والمجهريّة Cultural and Microscopical characteristics

تم عزل بكتريا *Staphylococcus spp* اعتماداً على زرعها وتتميتها على وسط Mannitol salt agar الذي يعد وسطاً تفریقياً وإختيارياً ويستعمل لتمييز بكتريا المكورات العنقودية عن بقية المكورات الموجبة لصبغة كرام ، إذ ظهرت بكتريا المكورات بشكل مستعمرات دائرية ومحدبة براقّة Shiny

وذات لون أصفر – ذهبي Yellow-Golden لها القابلية على تخمير سكر المانيتول مؤدية الى إنتاج حامض يتسبب في تحويل الكاشف من اللون الوردي الى الأصفر .

اما مجهرياً فكانت بهيئة مكورات موجبة لصبغة كرام ومتجمعة بهيئة عناقيد Clusters مما يدل على ان هذه البكتيريا تعود لجنس المكورات العنقودية *Staphylococcus* ، وهذا يتفق مع ما وصفه

(Leboffe & Pierce, 2010).

B- الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

عند إجراء الفحوصات الكيموحيوية الموضحة في الجدول (1-3) وجد إن عزلات بكتريا المكورات العنقودية كانت موجبة لفحص الكاتليز (Catalase test) والذي يميز جنس المكورات العنقودية عن المسبقيات *Streptococci* ، كما أجري فحص (Oxidase test) اذ ظهرت جميع العزلات سالبة ويستعمل هذا الفحص للتمييز الأولي بين *Staphylococci* و *Micrococci* ، وعندما أخضعت العزلات لاختبار إنتاج انزيم تجلط البلازما (Coagulase test) فقد استجاب عدد منها الى هذا الاختبار وأعطت نتيجة موجبة ، مما يدل على أن هذه العزلات تعود لبكتريا *S. aureus* ، وهذا يتفق مع ما وصفه (Forbes et al., 2002).

2-1-2-3 تشخيص بكتريا المكورات المسبحية *Streptococcus spp* :

A - الصفات الزرعية والمجهرية Cultural and Microscopical characteristics

عند تنمية بكتريا *Streptococcus spp* على وسط أكار الدم Blood Agar تم الحصول على مستعمرات ناعمة بيضاء - رمادية تميز البعض منها بقابليته على تحلل الدم جزئياً (α - emolysis) فيما تميز البعض الآخر بالتحلل الكامل (β - hemolysis).

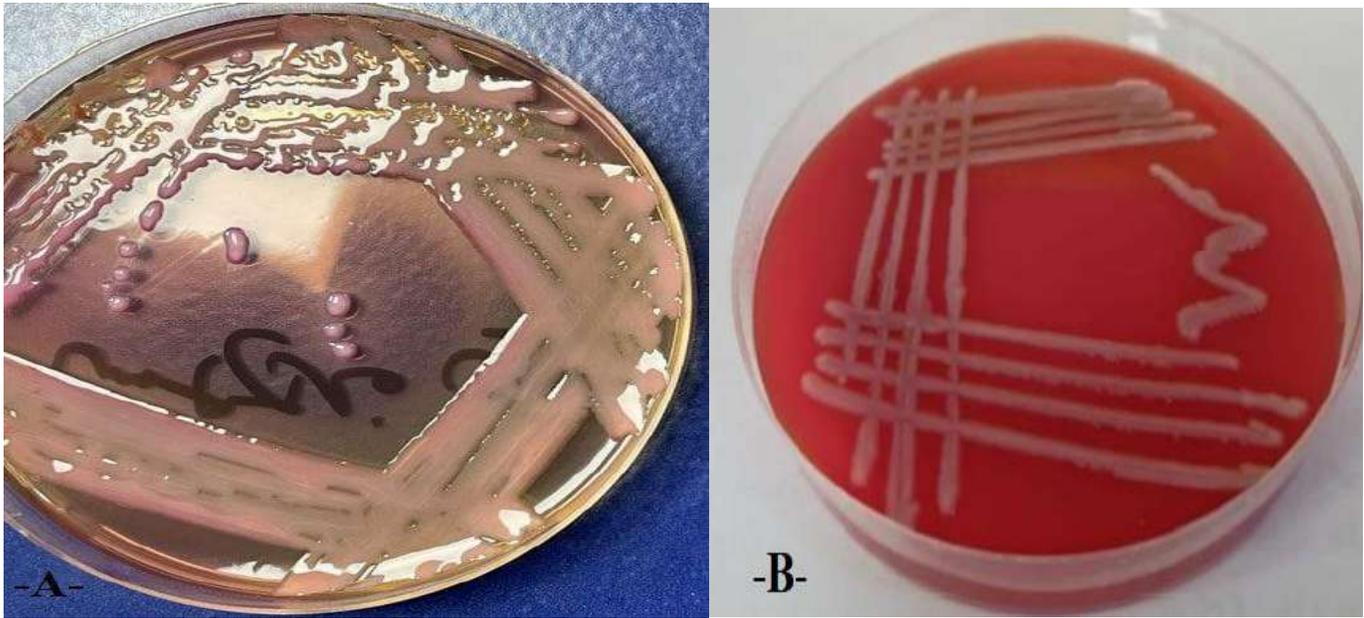
وعند الفحص بالمجهر كانت موجبة لصبغة كرام على شكل كروي ذات سلاسل طويلة او قصيرة أو بشكل أزواج وهذا يتفق مع ما وصفه (Carapetis et al. , 2005)

B- الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

عند إجراء الفحوصات الكيموحيوية على عزلات *Streptococcus spp* وجد ان العزلات جميعها سالبة لاختبار الكاتليز والأوكسديز، واما اختبار Rapid Strep-A Test كما موضح في الملحق رقم (4) ، إذ كانت جميعها سالبة له وكذلك لفحص حساسية المضاد الحيوي الباستراسين Bacitracin كما موضح في الجدول (1-3) وهذا يدل على عدم وجود أي عزلة منها تابعة لبكتريا *Streptococcus pyogenes* .

2-2-3 تشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام:**1-2-2-3 تشخيص بكتريا *Klebsiella pneumonia*****A- الصفات الزرعية والمجهريّة Cultural and Microscopical characteristics**

أوضحت النتائج عند تنمية بكتريا *k. pneumoniae* على وسط MacConkey Agar ظهور مستعمرات دائرية كبيرة الحجم ذات حافات وردية براقية مما يدل إنها مخمرة لسكر اللاكتوز، ذات قوام مخاطي Mucoïd وهي صفة مميزة لنوع *K. pneumoniae* ، كما في الشكل رقم (3-4)- A - وعند زرع البكتريا على وسط أكار الدم Blood Agar كانت مستعمراتها رمادية اللون لماعة ومخاطية وغير قادرة على تحلل الدم كما في الشكل رقم (3-4) B). وعند الفحص بالمجهر كانت على شكل عصيات قصيرة مرتبة بشكل فردي ، وأزواج أو سلسلة قصيرة ، وسالبة لصبغة غرام ، وكانت هذه الصفات مطابقة للصفات التشخيصية العالمية لهذه البكتريا حسب وصف (Jawetz et al., 1991).



الشكل رقم (3-4) : *K. pneumoniae* -B : *K. pneumoniae* on MacConkey agar - A: (4-3) on Blood agar.

-B الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

عند إجراء الفحوصات الكيموحيوية على العزلات المتحصل عليها بالنسبة لبكتريا *K. pneumoniae* كما في الجدول رقم (3-1) أعطت نتيجة سالبة لإختبار (Oxidase test) ، (Catalase test) ، وإختبار الأندول وموجبة لكل من إختبار أحمر المثيل إختبار الفوكس - بروسكاور، وكانت تلك النتائج متطابقة مع الصفات التشخيصية العالمية لبكتريا *K. pneumoniae* (Garrity et al., 2005).

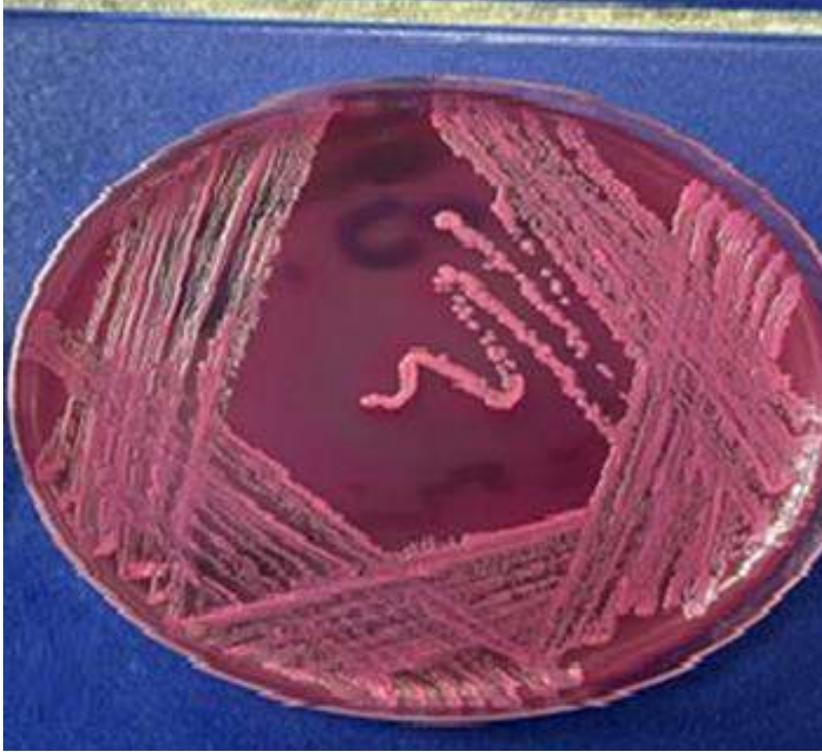
2-2-2-3 تشخيص بكتريا *E.Coli*

-A الصفات الزرعية والمجهريّة Cultural and Microscopical characteristics

أوضحت النتائج عند تنمية بكتريا *E.Coli* على وسط أكار الدم الحصول على مستعمرات رمادية اللون ناعمة براقّة Shiny وكانت المستعمرات محله للدم نوع التحلل الفا α -hemolysis ، واما عند تنميتها على

وسط الماكونكي فكانت المستعمرات وردية جافة مسطحة متوسطة الحجم محاطة بمنطقة وردية غامقة كما في الشكل (3-5). (Yaratha et al., 2017).

اما مجهرياً كانت بهيئة عصيات سالبة لصبغة كرام إن هذه الصفات الزرعية والمجهرية تشير إلى ان العزلات البكتيرية هي بكتريا *E. coli* (Markey et al., 2013).



الشكل رقم (3-5) : بكتريا *E. coli* على وسط MacConkey agar

B- الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

اظهرت نتائج الفحوصات الكيموحيوية كما في الجدول رقم (3-1) ان بكتريا *E. coli* كانت موجبة لاختبار الكاتليز والأندول والمثيل الأحمر وسالبة لاختبار الأوكسيدز وفوكس - بروسكار (Tille & Van, 2014).

3-2-2-3 تشخيص بكتريا *Pseudomonas* spp.

A- الصفات الزرعية والمجهرية Cultural and Microscopical characteristics

أوضحت النتائج عند تنمية بكتريا *Pseudomonas* spp على وسط أكار الدم إن مستعمراتها مسطحة وذات حافات مسننة متموجة النمو وتمتلك بريقاً معدنيًا ذو لون أخضر ولها رائحة شبيهة برائحة العنب المتخمر فضلاً عن ظهور مناطق شفافة حول المستعمرات بسبب أنتاج البكتريا للهيموليسين الذي يحلل الدم الموجود في الوسط وغالباً ما يكون التحلل نوع β Beta- hemolytic .

اما عند تنمية بكتريا *Pseudomonas* المعزولة في هذه الدراسة على وسط الماكونكي فقد ظهرت المستعمرات شاحبة اللون لإنتاجها صبغة pyocyanin على هذا الوسط بسبب عدم قابليتها على تخمير اللاكتوز.

اما مجهرياً فكانت بهيئة عصيات سالبة لصبغة غرام ، وان هذه الصفات الزرعية والمجهرية تشير إلى ان العزلات البكتيرية هي *P.aeruginosa* (Tille & Van ,2014).

B- الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

أظهرت نتائج الفحوصات الكيموحيوية كما في الجدول رقم (3-1) ان بكتريا *P. aeruginosa*. أعطت نتيجة موجبة لإختبار الكاتليز والأوكسيديز، وكانت سالبة لإختبار الاندول والمثيل الأحمر وإختبار فوكس - بروسكاور (Tille & Van ,2014).

4-2-2-3 تشخيص بكتريا *Enterobacter* spp

A- الصفات الزرعية والمجهرية Cultural and Microscopical characteristics

أوضحت النتائج عند تنمية بكتريا *Enterobacter* spp على وسط اكار الدم كانت بهيئة مستعمرات كبيرة مسطحة وحافاتهما كاملة ، بينما على وسط الماكونكي كانت المستعمرات وردية اللون مخمرة للاكتوز ومخاطية ، وعند الفحص بالمجهر فكانت بهيئة خلايا عصوية الشكل سالبة لصبغة غرام ، وهذه الصفات الزرعية والمجهرية تشير الى ان العزلة هي بكتريا *Enterobacter aerogenes* .

B- الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

أظهرت نتائج الفحوصات الكيموحيوية كما في الجدول رقم (1-3) ان بكتريا *Enterobacter aerogenes* كانت موجبة لاختبار الكاتليز ولفحص فوكس - بروسكاور وسالبة لاختبار الأوكسيدز و لاختبار الاندول و المثيل الاحمر. (Tille & Van ,2014).

الجدول رقم (1-3) : الاختبارات الكيموحيوية والصفات المجهرية لبعض أنواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام المعزولة من إصابات التهاب اللوزتين .

<i>Enterobacter</i> SPP	<i>Streptococcus</i> SPP	<i>Pseudomonas</i> SPP	<i>E.Coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumonia</i>	الاختبار	النتائج
-	+	-	-	+	-	صبغة غرام	1
عصوية مستعمرات الشكل	خلايا كروية مسبحية الشكل	عصوية مستعمرات الشكل	خلايا عصوية	خلايا كروية بشكل عناقيد	خلايا عصوية الشكل	المظهر الخلوي	2
+	-	+	+	+	-	Catalase test	3
-	-	+	-	-	-	oxidase test	4
/	/	/	/	+	/	Coagulase test	5
-	/	-	+	/	-	Indol production	6
-	/	-	+	/	+	Methyl red	7
+	/	-	-	/	+	Voges-porskauer	8
/	-	/	/	/	/	Bacitracin susceptibility	9

(+) نتيجة موجبة , (-) نتيجة سالبة , (/) لم يتم اجراء الاختبار

وبعد إتمام اختبارات التشخيص وكما موضح في الجدول رقم (2-3) تم الحصول على 35 عزلة بكتيرية *Staphylococcus spp* 19 عزلة منها *S.aureus*، 29 عزلة من بكتريا *Streptococcus spp* ، 18 عزلة من بكتريا *K. pneumonias* ، 15 عزلة من بكتريا *E. coli*، 13 عزلة من بكتريا *Enterobacter spp*

و10 عزلة من بكتريا *Pseudomonas spp* يتضح سيادة بكتريا *S. aureus* و *K. pneumonias* على بقية أنواع البكتيريا الأخرى المعزولة من إصابات التهاب اللوزتين، وجاءت هذه النتائج متوافقة مع ما أشارت اليه الدراسات السابقة من أن الحنجرة تعد المستوطن الرئيس لهذه البكتريا ، إذ تمكن (Azzab et al. 2016) من عزل بكتريا *S. aureus* و *K.pneumoniae* ، *E. coli* ، *Streptococcus spp* ، *Enterobacter spp* ، *Pseudomonas spp* من التهابات اللوزتين بنسب بلغت (27.2 ، 15 ، 15 ، 19.5 ، 9.5 ، 7.3) % على التوالي.

وتم اخذ 20 مسحة من أشخاص أصحاء (control group) ، إذ تم الحصول على 32 عزلة تضمنت 18 أناث و14 ذكور وتم تشخيص البكتريا المستحصلة بانها (*staphylococcus spp*) وكانت سالبة الاستجابة لفحص تجلط الدم (coagulase test).

الجدول رقم (2-3) : الأنواع البكتيرية المعزولة من التهابات اللوزتين ونسبها المئوية .

نسبة العزل		عدد العزلات	نوع البكتريا
% 24.16		29	<i>Streptococcus Spp</i>
% 29.16	% 15.83	19	<i>Staph. aureus</i>
	% 13.33	16	<i>Staph. spp</i>
% 15		18	<i>K. pneumoniae</i>
% 12.5		15	<i>E. coli</i>
% 10.83		13	<i>Enterobacter Spp</i>
% 8.33		10	<i>Pseudomonas Spp</i>
%100		120	المجموع

3-3 اختبار حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة للمضادات الحيوية

1-3-3 اختبار حساسية بكتريا *Staphylococcus aureus* للمضادات الحيوية

تنزايد المقاومة بين سلالات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* في أنحاء العالم ويعود ذلك الى الاستعمال الواسع للمضادات الحيوية في الوقاية والعلاج من الأمراض وبسبب الإستعمال العشوائي لها (Gitau et al., 2018).

وفي هذه الدراسة تم اختبار حساسية جميع العزلات التابعة لبكتريا *S. aureus* تجاه (10) من المضادات الحيوية حسب طريقة Bauer -Kirby و حددت الحساسية اعتماداً على قياس قطر منطقة التثبيط (Inhibition zone) لأقراص المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وقورنت مع ما ورد في CISI (2022).

أظهرت النتائج الموضحة في الملحق رقم (5) أن جميع عزلات بكتريا *S. aureus* المتحصل عليها في هذه الدراسة كانت متعددة المقاومة للأدوية (MDR) إذ كانت مقاومة للمضادات 100% Tetracycline ، Doxycycline ، Rimpicin ، Cefoxitin ، بينما كانت 50% للمضاد Trimethoprim- sulfomethoxazole (SXT) وكانت 83.33% للمضاد Ciprofloxacin .

و كانت مقاومتها للـ Penicillin 100% ، وهذا يتفق مع ما توصلت اليه نتائج الباحث (Gitau et al., 2018) إذ يحتوي البنسلين على حلقة β -lactam في تركيبه

ويمكن أن تتحقق مقاومة البكتريا لهذا المضاد بثلاث آليات الأولى : تتمثل بإفراز أنزيمات β -lactamases التي تعمل على تحلل حلقة البيتا لاكتام الموجودة في المضاد و الثانية : تقليل نفاذية البكتريا للمضاد و بالتالي تمنعه من الدخول الى داخل الخلية ، وأما الثالثة : فتعتمد على تغيير الهدف المحدد للمضاد الموجود في الخلية مما يتعذر على المضاد الارتباط بالهدف المرسوم له و بالتالي عدم قتل البكتريا (Onanuga et al., 2005).

اظهرت عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* حساسية بنسبة 83.33% وهو ما ذكره (Kumar and Varela , 2013) إنه يمنع إعادة نمو البكتريا بعد مدة قصيرة من التعرض لهذا المضاد وبذلك يثبط تصنيع البروتين من خلال إرتباطه مع 50S subunit لرابيوسومات البكتريا .

تمكنت بكتريا *S. aureus* من مقاومة Tetracycline بنسبة 100% وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Kumar and Varela , 2013) وهو من المضادات التي تؤثر على عملية تصنيع البروتين، وقد يعود سبب المقاومة لهذا المضاد باليتين هما الإخراج الفعال (Active efflux) للمضاد من البكتريا مما يؤدي الى تخفيف تركيز المضاد داخل الخلية فضلاً عن الآلية الأقل شيوعاً المتمثلة بإيقاف فعالية المضاد عن طريق عمليات الأكسدة و الاختزال (Redox process).

وكذلك تمكنت هذه البكتريا من مقاومة المضاد Cefoxitine الذي يعود لمجموعة السيفالوسبورينات بنسبة 100% من خلال تحليل حلقة β -lactam الموجودة في تركيب هذا المضاد الحيوي كما إن الإستخدام الواسع والعشوائي لهذه المضادات أدى الى زيادة نسبة المقاومة والذي يؤدي بدوره الى صعوبة علاج الإصابات المتسببة عن هذه البكتريا وقد تعود مقاومة هذه البكتريا إلى حدوث تغيرات في البروتينات المرتبطة بالبنسلين Penicillin-binding protein 2a (PBP-2a) مما يقلل من دخولها داخل الخلية (Wertheim et al., 2005) .

كما تبين أن بكتريا *S. aureus* كانت مقاومة لهذين للمضادين Rimpicin و Doxycycline بنسبة 100% وجاءت هذه النتائج متوافقة مع (Agrawal et al., 2014) .

في حين كانت مقاومة للمضاد بنسبة 50% trimethoprimp- sulfamethoxazole حيث يعمل على تثبيط نشاط الخلايا البكتيرية من خلال تثبيط صنع الانزيمات التي تحتاجها البكتريا لنموها ونشاطها وكانت هذه النتائج تتفق مع (Coombs et al., 2011) .

أشار الباحث (Reygaert et al., 2013) الى إن عزلاته من المكورات العنقودية الذهبية أبدت مقاومة لمضاد Ciprofloxacin بنسبة 88% وهذا مقارب لما توصلنا اليه حيث بلغت نسبة العزلات المقاومة لهذا

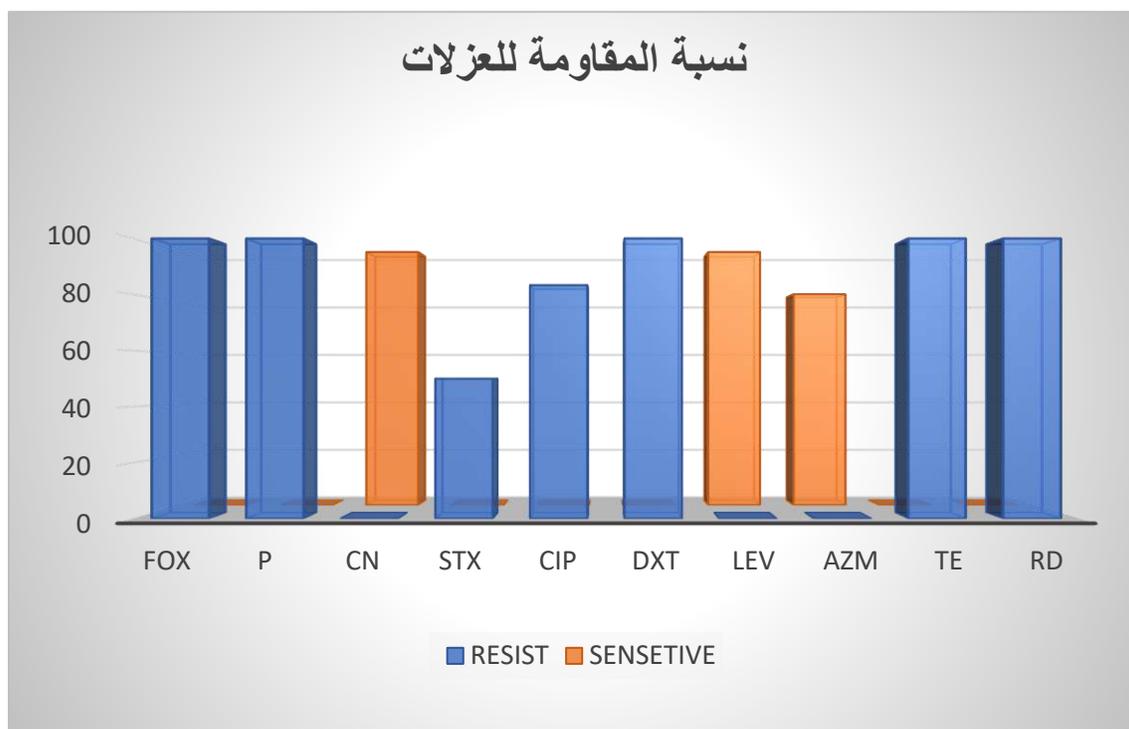
المضاد حوالي 83.33 % ، هومن مضادات Fluoroquinolone التي تمتاز بفعاليتها ضد أنزيمات Gyrase ، Topoisomerase التي توقف عملية تضاعف DNA (replication DNA) وعملية الاستنساخ. ان بكتريا *S.aureus* كانت حساسة للمضاد levofloxacin بنسبة 100 % حيث اتفقت النتائج مع (Drago et al., 2001).

كما أظهرت العزلات البكتيرية حساسية عالية تجاه المضاد Gentamicin بنسبة 100 % والذي يصنف ضمن مجموعة Aminoglycosides وهذا يتفق مع (Agrawal et al., 2014) إذ كانت عزلاته بنسبة 100% حساسة لهذا المضاد وهذا يفسر ان حساسية البكتريا تعتمد على نظام نقل المضاد الحيوي المتطلب للأوكسجين (Oxygen requiring drug transport system) لذا نجد ان هذه المضادات تكون فعالة ضد البكتريا الهوائية لكنها غير فعالة ضد البكتريا اللاهوائية الاجبارية بسبب فقدانها لهذا النظام .

يبين الجدول رقم (3-3) ان هنالك تبايناً لمقاومة عزلات *S. aureus* لكل من المضادات الحيوية الخاصة بها قيد الدراسة.

الجدول رقم (3-3) يوضح النسبة المئوية لمقاومة عزلات بكتريا *S. aureus* من مجموع المضادات الحيوية قيد الدراسة

العزلات	النسبة المئوية للمقاومة
S. aureus 115	30
S. aureus 99, S. aureus 55	40
S. aureus 38, S. aureus 87, S. aureus 119, S.aureus 95, S. aureus 40	50
S.aureus 54, S.aureus 85, s.a20, S.aureus 120, S.aureus 101, S.aureus 67, S.aureus 50	60
S.aureus 93, S.aureus 89, S.aureus 33, S.aureus 10	70



الشكل رقم (3-6) نسب مقاومة وحساسية عزلات بكتريا *S. aureus* للمضادات الحيوية

2-3-3 مقاومة بكتريا *K. pneumoniae* للمضادات الحيوية

تم إجراء اختبار الحساسية للعزلات البكتيرية البالغ عددها 18 عزلة تجاه 12 نوعاً من المضادات الحيوية شائعة الاستعمال في علاج الإصابة ببكتريا *K. pneumoniae* كما موضح في ملحق (6)، وكانت البكتريا متباينة في مقاومتها لهذه المضادات المختبرة، إذ كانت معظم العزلات البكتيرية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية (MDR) وبنسبة مقاومة 100% تجاه المضادات الحيوية: Penicillin، Cefoxitin، Ceftriaxone، Ciprofloxacin، Tetracycline، Gentamicin، Cefotaxime، وأبدت مقاومة بنسبة 57.14% تجاه المضاد Levofloxacin، Azithromycin، Doxycycline، Amikacin بينما كانت نسبة مقاومتها للمضاد بنسبة 71.42% Imipenem.

أظهرت جميع عزلات بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة كبيرة بنسبة 100% للمضاد الحيوي Penicillin و Cefoxitin ، هذه النتيجة مقارنة لما توصل إليه (Zu and Zhang, 2022) إذ بلغت مقاومة بكتريا *K. pneumoniae* للمضادين بنسبة 97 % ، 100 % على التوالي .

أما المضاد Tetracycline فقد أظهرت النتائج أن جميع العزلات مقاومة له بنسبة 100% ، وتختلف هذه النتيجة حسب ماتوصل اليه (Mehdi, 2006) إذ سجل مقاومة لها بنسبة 81.8% ولكنها تتوافق مع (Fluit et al., 2001) .

وأظهرت عزلات بكتريا *K.pneumoniae* جميعها مقاومة تامة تجاه المضاد Gentamicin بنسبة 100 % وتوافقت هذه النتائج مع (Elmer et al., 1997).

أبدت عزلات البكتريا *K. pneumoniae* مقاومة كاملة تجاه المضاد Ciprofloxacin بنسبة 100% وتوافقت هذه النتائج مع نتائج (Masadeh et al., 2016) ويعزى سبب المقاومة المتعددة الى وجود جينات المقاومة التي تقع على الكروموسوم البكتيري .

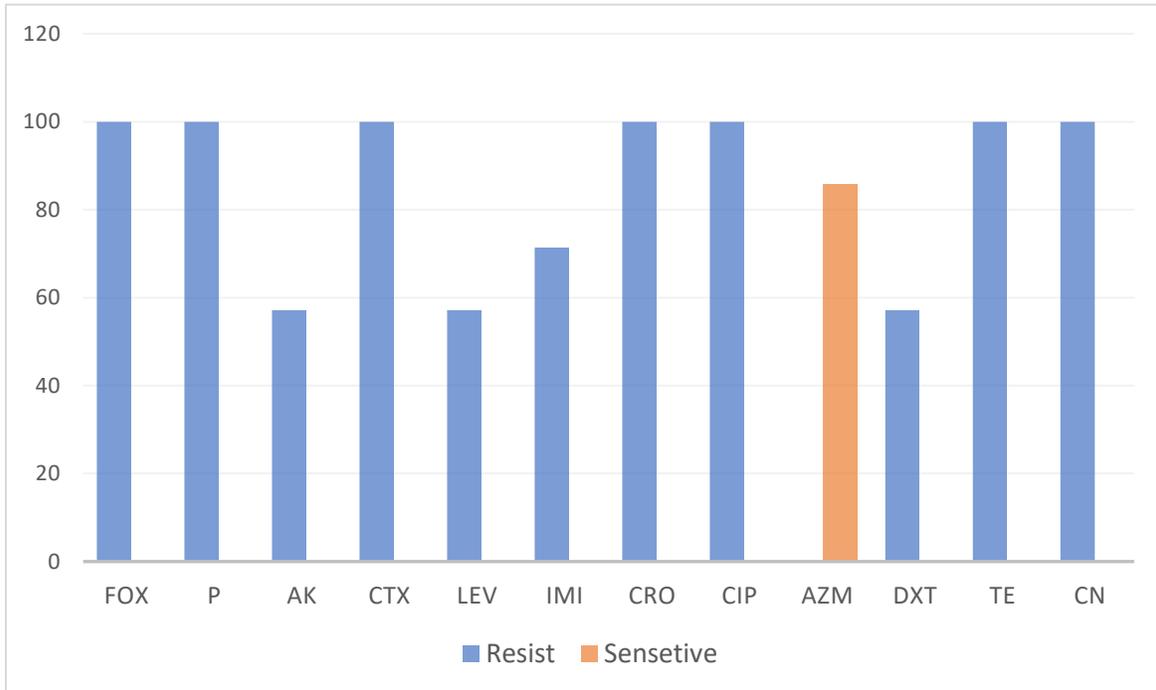
أظهرت العزلات جميعها مقاومة تامة تجاه المضاد Cefotaxime بنسبة 100% ، وهذه النتيجة مقارنة لما توصل إليه (زيدان ، 2021) الذي وجد أن نسبة مقاومة البكتريا لمضاد Cefotaxime بلغت 95.5% ويعود سبب المقاومة لحدوث تغيير في حاجز النفاذية مما يؤدي إلى صعوبة مرور المضاد ووصوله إلى موقع عمله وهو خاص بالبكتيريا السالبة لصبغة كرام ، إذ يحتوي الغشاء الخارجي على قنوات بروتينية تدعى البورين (porin) التي تعمل على منع دخول المضادات الى داخل الخلية البكتيرية. (Spanu et al., 2002) كما أبدت عزلات بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة إتجاه المضاد Levofloxacin بنسبة 57.14 % وهذه النتيجة تختلف مع ما توصل اليه (Mohamed et al., 2020) إذ سجل نسبة مقاومة 83%.

وسجلت العزلات *K. pneumoniae* مقاومة تجاه المضاد Imipenem بنسبة 71.42 % واتفقت هذه النتيجة مع دراسة (Chen et al., 2014) ، وتشير النتائج التي توصل اليها الباحث والذي حدد فيها المقاومة لمضاد Imipenem بنسبة 73.3 % .

كما أبدت عزلات بكتريا *K. pneumoniae* حساسية تجاه المضاد Azithromycin 85.71% وهذه النتيجة مقارنة لما توصل إليه (Parnham et al., 2014) ، إذ كانت حساسية البكتريا لهذا المضاد 75% وهذا يعود الى إنه من مضادات (Macrolide) الذي يعمل يعمل على توقف النمو البكتيري عن طريق منع عملية تخليق وترجمة البروتينات ، لأنه يرتبط بالوحدة الفرعية (23S) للحمض النووي الرايبوزي الرايبوسومي للبكتيريا(50S) وبهذا تُمنع خطوة تخليق البروتينات .

وفي هذه الدراسة كانت العزلات البكتيرية مقاومة للمضاد Amikacin بنسبة 57.14 % وهذا يتفق مع (Shakil et al., 2008) إذ كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد 60.18 % .

ويعد إنتاج الأغشية الحيوية من أهم آليات المقاومة وبهذا تعد مصدر قلقٍ رئيس ، وغالبًا ما يؤدي إلى فشل علاجي ، إذ يوفر الحماية لهذه البكتيريا من الأوضاع البيئية القاسية والعوامل الضارة ، مثل المضادات الحيوية ، وان الاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية بدون إستشارة الطبيب و لمدة غير مثالية يمكن أن يؤدي إلى مقاومة عالية للمضادات الحيوية التي تستعمل عادة في علاج إصابات التهاب اللوزتين التي تسببها بكتريا *K.pneumoniae* (Jamal et al., 2018).



الشكل رقم (3-7) نسب مقاومة عزلات بكتريا *Klebsiella pneumoniae* للمضادات الحيوية

يوضح الجدول رقم (3-4) أن هنالك تبايناً لمقاومة عزلات *K. pneumoniae* لكل من المضادات الحيوية قيد الدراسة الخاصة بها

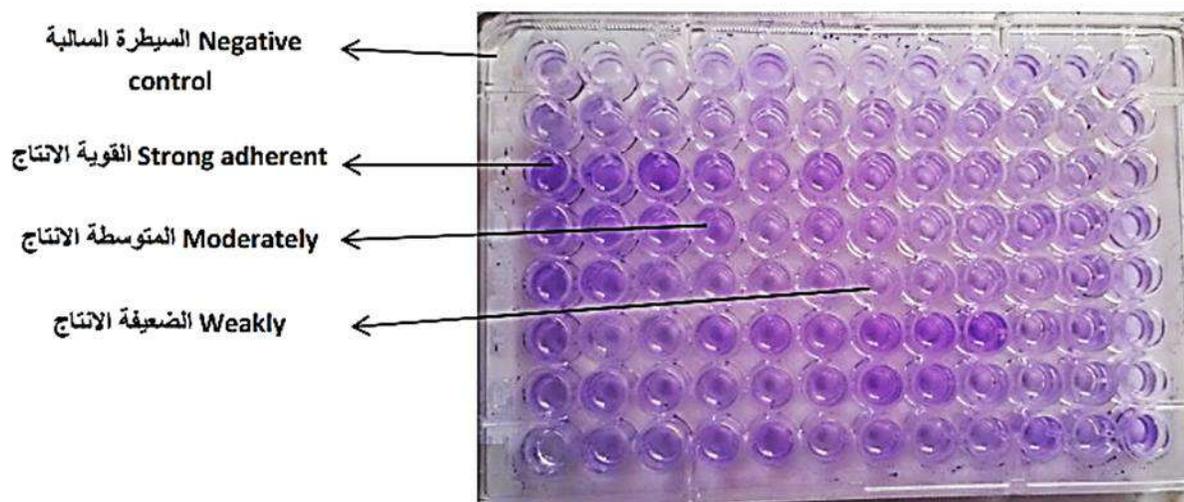
الجدول رقم (3-4) يوضح النسبة المئوية لمقاومة عزلات بكتريا *K. pneumoniae* من مجموع المضادات الحيوية قيد الدراسة

النسبة المئوية للمقاومة	العزلات
58	<i>k.pneumoniae</i> 31, <i>k.pneumoniae</i> 17, <i>k.pneumoniae</i> 22
66	<i>k.pneumoniae</i> 76
75	<i>k.pneumoniae</i> 106
83	<i>k.pneumoniae</i> 34, <i>k.pneumoniae</i> 28, <i>k.pneumoniae</i> 15, <i>k.pneumoniae</i> 42, <i>k.pneumoniae</i> 117
91	<i>k.pneumoniae</i> 54, <i>k.pneumoniae</i> 69, <i>k.pneumoniae</i> 88, <i>k.pneumoniae</i> 98
100	<i>k.pneumoniae</i> 83, <i>k.pneumoniae</i> 91, <i>k.pneumoniae</i> 110, <i>k.pneumoniae</i> 112

4-3 تكوين الغشاء الحيوي Biofilm Formation

تم التحري عن بناء الغشاء الحيوي بطريقة الإختبار الكمي لصفائح المعايرة الدقيقة (MTP) method Micro - titer plate ذات 96 حفرة والتي تعد أكثر دقة وحساسية في دراسة المراحل المبكرة في تكوين الغشاء الحيوي وتم تقسيم العزلات البكتيرية وفقاً لقابليتها على إنتاج الغشاء الحيوي من خلال إستخدام جهاز الاليزا (ELISA) والذي يعتمد على (OD) الكثافة والطول الموجي 630 نانوميتر ، وتم تصنيف الإنتاجية الضعيفة والمتوسطة والقوية ، فقد اظهرت النتائج كما موضح في الشكل (3-8) ان العزلات بهذه الطريقة كانت منتجة للغشاء الحيوي بنسب مختلفة بالمقارنة مع السيطرة السالبة وبتطبيق المعادلة المحتسبة في الفقرة

رقم (5-2) ، وجاءت هذه الدراسة متلائمة مع ماتوصل اليه (خضر، 2013) بأن طريقة صفيحة -micro-titer أكثر حساسية وسهولة التحري عن إنتاج الغشاء الحيوي.



الشكل (8-3): إنتاج الغشاء الحيوي biofilm من قبل عزلات بكتريا *K.pnuemoniae* بطريقة (Micro- titer- plate- method) MTP

أظهرت النتائج بالنسبة لعزلات بكتريا *S.aureus* إذ كانت (5) عزلات منها بنسبة (26.31%) ذات إنتاجية ضعيفة للغشاء الحيوي Weakley adherent و (8) عزلات بنسبة (42.12%) إنتاجية متوسطة للغشاء الحيوي Moderately adherent و (6) عزلات بنسبة (31.57%) إنتاجية قوية للتكوين للغشاء الحيوي (Strong adherent) كما موضح في الجدول رقم (5-3).

تتفق النتائج مع ماتوصل اليه (Mohammed *et al.*, 2015) إذ أظهرت نتائج إن نسبة العزلات ذات الإنتاجية الضعيفة كانت 27% ونسبة الإنتاجية المتوسطة 42% ونسبة الإنتاجية القوية للغشاء الحيوي كانت 31%.

الجدول رقم (5-3): نتائج اختبار بناء الغشاء الحيوي لعزلات بكتريا *S.aureus* بطريقة (MTP)

Micro - titer plate method

عدد العزلات الكلي	قوة الغشاء الحيوي	عدد العزلات	النسبة المئوية
19	قوي	6	% 31.57
	متوسط	8	% 42.12
	ضعيف	5	%26.31

اما بالنسبة لبكتريا *K. pneumoniae* كما موضح في الجدول رقم (3-6) كانت (4) عزلات بنسبة (22.22%) ذات إنتاجية ضعيفة للغشاء الحيوي Weakley adherent و (7) عزلات بنسبة (38.88%) إنتاجية متوسطة للغشاء الحيوي Moderately adherent و (7) عزلات بنسبة (38.88%) إنتاجية قوية التكوين للغشاء الحيوي (Strong adherent) وتقاربت هذه النتائج مع ما توصلت اليه Abdul-Razzaq *et al.*, (2013) إذ وجدوا ان نسبة الإنتاجية الضعيفة للغشاء الحيوي بطريقة الاليزا كانت 23% ، ونسبة الإنتاجية المتوسطة 38% ، وكانت نسبة الإنتاجية الشديدة 39%.

الجدول رقم (3-6) : نتائج اختبار بناء الغشاء الحيوي لعزلات بكتريا *K. pneumoniae* بطريقة
Micro - titer plate method (MTP)

عدد العزلات الكلي	قوة الغشاء الحيوي	عدد العزلات	النسبة المئوية
18	قوي	7	%38.88
	متوسط	7	%38.88
	ضعيف	4	%22.22

وفي دراسات أخرى أوضح فيها الباحثون ان طيات الغشاء الحيوي يمكن أن تصل لأكثر من 100 طية والتي تعد واحدة من أهم عوامل ضراوة البكتريا التي تمنحها صفة المقاومة للمضادات الحيوية ، وتكون هي السبب في حدوث الإلتهابات المزمنة لعدد من الأمراض التي لا تعالج بسهولة بالمضادات الحيوية التقليدية والاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية حفز البكتريا على مقاومة العديد منها (الخفاجي ، 2008).

وتعد قابلية البكتريا قيد الدراسة على إنتاج الغشاء الحيوي التي يوفر حماية ذاتية للبكتريا من الخلايا البلعمية ، إذ يعد المرحلة الأولى لبدء الاصابة واستمرارها وحدث المرض فضلاً عن دوره المهم لبقاء البكتريا على السطوح الصلبة ولاسيما في بيئة المستشفيات مسببا الأصابات المكتسبة في المستشفيات (Nosocomial infections) ، عند تواجد البكتريا في البيئة السائلة ويتوافر الظروف البيئية سوف تتحول من بكتريا غير منتجة للغشاء الحيوي تعيش في البيئة السائلة الى بكتريا منتجة للغشاء الحيوي تعيش على

السطوح الصلبة ، وتكون البكتريا المنتجة للغشاء الحيوي مقاومة للمضادات الحيوية بأكثر من 1000 مرة من البكتريا غير المنتجة له، ويعود ذلك لعدة اسباب : منها قلة انتشار المضاد الحيوي خلال المادة البينية للزجة للغشاء الحيوي، وانتقال جينات المقاومة في داخل بيئة الغشاء الحيوي بين الخلايا البكتيرية سواء بواسطة البلازميد (plasmid) او الجينات القافزة (transposons) او بفعل حدوث الطفرات العشوائية التي تؤدي إلى زيادة مقاومة الخلايا للمضادات الحيوية (Soto,2013).

5-3 تأكيد تشخيص البكتريا قيد الدراسة بجهاز Vitek 2 compact system

تم إستعمال هذا النظام لتأكيد التشخيص النهائي لبكتريا *S. aureus* و *K. pneumoniae* والتي أثبتت قابليتها العالية في بناء الغشاء الحيوي (Biofilm) للحصول على تشخيص أكثر دقة للعزلات البكتيرية المنتخبة والتعرف على حساسيتها تجاه المضادات الحيوية كما موضح في الملحق رقم (7) ، و تم الكشف عن البكتيريا بشكل أسرع وبعيداً عن التلوث الذي قد يمنع إكتشاف العامل الممرض ، وتم إجراء إختبار التشخيص والحساسية للعزلات المنتخبة بإستعمال تقنية Vitek 2 ، ويعد من أفضل الأجهزة المعتمدة أخيراً في المختبر للتعرف على أنواع الأحياء المجهرية خلال مدة قصيرة وبشكل دقيق جدا لانه يتعرف على الخلايا الحية فقط بإستعمال كارت التعريف ، ويستعمل لتشخيص البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، إذ يتم تحديد مستوى تشخيص الكائن وتقارن بالصفات التصنيفية للجهاز فيعطى للكائن نسبة إحصائية ومستوى ثقة ولذلك كانت نسبة الإحتمالية للعزلات في هذه الدراسة بين 96-99 % فهي عند مستوى ثقة ممتاز وفق ما موضح في الجدول (3-7).

الجدول (3-7) : تشخيص البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام المعزولة من إصابات التهاب اللوزتين

باستخدام نظام VITEK-2 Compact System

النسبة المئوية لاحتمالية التشخيص	رقم العزلة
99	العزلات k.p22 و k.p83 و k.p91 و k.p110 و k.p112
97	العزلات k.p76 و k.p17

98	العزلات S.a10 و S.a67 و S.a50 و S.a101
96	العزلات S.a33 و S.a89

وأتفق ذلك مع دراسة (Ganda *et al.*, 2021) التي بينت إن تقنية VITEK 2 compact system هي تقنية سريعة ودقيقة يجب العمل بها في التشخيص المختبري للأحياء المجهرية في جميع المختبرات. أما دراسة (Ali, 2017) التي أثبت تطوير هذه التقنية بحيث يمكنها تشخيص المضاد الحيوي المناسب لكل كائن مجهري ممرض بواسطة كارت الحساسية.

وكانت نتيجة التشخيص في جهاز VITEK 2 إن جميع العزلات تعود لبكتريا *S. aureus* و *K. pneumoniae* ، وأكدت نتائج الاختبارات المستخدمة في هذا النظام (الموجودة في الملحق رقم 4) ان البكتريا قيد الدراسة تعد واحدة من بين الأنواع المسببة الأخرى لإلتهاب اللوزتين .

3-6 تقدير الفعالية التثبيطية لنبات الشاي الأخضر و عرق السوس والقرفة والقرنفل

أختبرت فعالية المستخلصات النباتية لأوراق الشاي الأخضر وجذور عرق السوس ولحاء القرفة وبذور القرنفل ضد عزلات بكتريا *S.aureus* و *K.pnuemoniae* المنتخبة وذات الإنتاجية القوية للغشاء الحيوي وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالحفر Well Diffusion Method .

3-6-1 تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات الشاي الأخضر ضد بكتريا *S.aureus* و

k.pnuemoniae :

أظهرت نتائج المستخلص المائي الحار للشاي الأخضر بطريقة الانتشار بالحفر (Agar well diffusion) لـ 6 عزلات من بكتريا *S.aureus* والمكونة للغشاء الحيوي فعالية ضد النمو البكتيري ومقارنة النتائج مع المضاد الحيوي القياسي الجنتاميسين (Gentamicin) .

يتوضح من الجدول رقم (3-8) معدلات الأقطار التثبيطية Inhibition Zone Diameters (IZD) مقاسة بوحدات المليمتر (mm) ، وإن للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر فعالية تثبيطية ضد بكتريا *S.aureus* وأظهرت هذه الدراسة فروقات معنوية بمستوى احتمالية 0.05 إذ كانت الفعالية في أفضل حالاتها عند تركيز 100 ملغم / مل نستنتج من ذلك إنه كلما زاد تركيز المستخلص المائي لأوراق الشاي

الأخضر، كلما كبر قطر المنطقة التثبيطية وهذا يدل على التأثير الطردني الفعال للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر كمثبط لعزلات البكتريا قيد الدراسة ، وكان أعلى معدل قطر تثبيط بتركيز 100 ملغم / مل 19.67ملم الذي تفوق إحصائيا عن معاملة السيطرة 17.83ملم . وأما بالنسبة للتركيز (10،20،40،60،80) ملغم/ مل فإنها غير كافية لأحداث التأثير المطلوب وقد يرجع السبب لإنخفاض تركيز المواد الفعالة في هذه التراكيز وعدم قدرتها على إختراق الغشاء الحيوي (Biofilm) القوي الذي تنتجه البكتريا ، إذ وجد أن حساسية البكتريا تزداد بزيادة التركيز.

اختلفت عزلات بكتريا *S.aureus* إحصائيا في حساسيتها للمستخلص المائي للشاي الأخضر ، إذ كانت العزلة S.a101، S.a50، و S.a33 حساسة أكثر للمستخلص المائي الحار للشاي الأخضر، وسجلت أعلى قطر تثبيط بمعدل (17.35، 17 ، 16.7) ملم على التوالي مقارنة بالعزلات الأخرى .

الجدول (3-8): معدلات الأقطار التثبيطية (IZD) للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر (Green tea) ضد بكتريا *S.aureus* بطريقة الأنتشار بالحفر

معدل أقطار التثبيط (ملم)	التركيز (ملغم / مل)							رمز العزلة
	Cont. CN (10 µg)	100	80	60	40	20	10	
17.35	17	22.5	18.5	17.5	15.5	15	15.5	S.a101
16.07	18.5	21.5	18	16.5	15.5	12.5	10	S.a89
15.9	17.5	19	17.5	17.5	15	14.5	10.5	S.a 67
17	17	20.5	19.5	17.5	16	14.5	14	S.a50
16.7	18	21	18	18.5	15.5	14	12	S.a33
12	19	13.5	11.5	11.5	9.5	10	9	S.a10
0.357							0.946	L.S.D (0.05)
15.8	17.83	19.67	17	16.5	14.5	13	11.8	معدل أقطار التثبيط (ملم)
							0.386	L.S.D (0.05)

L.S.D = Least Significance Differences

CN = (Gentamicin)

0.05 = P ≤ 0.05 مستوى معنوية

وكان للتداخل بين التركيز والعزلات أثراً معنوياً في حساسية العزلات قيد الدراسة ، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط للعزلة S.a₁₀₁ 22.5 ملم بتركيز 100 ملغم / مل ، في حين كانت العزلة S.a₁₀ أكثر مقاومة إذ سجلت قطر تثبيط بمعدل مقداره 9 ملم بتركيز 10 ملغم / مل للمستخلص النباتي للشاي الأخضر .

أما بالنسبة لبكتريا *K.pnuemoniae* أظهرت نتائج المستخلص المائي الحار للشاي الأخضر 7 عزلة بكتيرية ومقارنة تلك النتائج مع المضاد الحيوي القياسي (Azithromycin) وكانت النتائج الموضحة في الجدول رقم (3-9) إن للمستخلص المائي الحار لأوراق الشاي الأخضر ضد بكتريا *K.pnuemoniae* فعالية تثبيطية تجاه هذه العزلات وأظهرت هذه الدراسة فروقات معنوية بمستوى احتمالية 0.05 وإن الفعالية كانت في أفضل حالاتها عند تركيز 100 ملغم / مل بلغ معدل قطر التثبيط 14.5 ملم عن معاملة السيطرة 16.64 ملم نستنتج من ذلك إنه كلما زاد تركيز المستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر كلما كبر قطر المنطقة التثبيطية وهذه النتائج تتفق مع نتائج (Kadhim et al., 2012) إذ بين إنه حصل على أعلى قطر تثبيط بمعدل 15ملم.

الجدول (3-9) : معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر (Green tea) ضد بكتريا *K.pnuemoniae* بطريقة الأنتشار بالحفر

رمز العزلة	التركيز (ملغم / مل)							معدل أقطار التثبيط (ملم)
	Cont. AZM(15µg)	100	80	60	40	20	10	
k.p ₁₁₂	15	13.5	9.5	10.5	8.5	0	0	8.14
k.p ₁₁₀	18	14.5	12	13.5	13	7	5.5	11.92
k.p ₉₁	16	15.5	12	12.5	10.5	5.5	4	10.85
k.p ₈₃	18	13	12.5	11.5	11	5	4	10.71
k.p ₇₆	17.5	14.5	13.5	11.5	10	6	5	11.14
k.p ₂₂	15	15.5	15	11	9.5	6.5	4.5	11
k.p ₁₇	17	15	14	12.5	9	7	5	11.35
L.S.D (0.05)				0.634				0.240
معدل أقطار التثبيط (ملم)	16.64	14.5	12.64	11.85	10.21	5.28	4	14.56
L.S.D (0.05)			0.259					

AZM=Azithromycin

L.S.D = Least Significance Differences

0.05 = P ≤ 0.05 مستوى معنوية

إختلفت عزلات بكتريا *K.pnuemoniae* إحصائياً في حساسيتها للمستخلص المائي للشاي الأخضر، إذ كانت العزلة k.p₁₇ k.p₁₁₀ حساسة أكثر للمستخلص المائي الحار للشاي الأخضر وسجلت أعلى قطر تثبيط بمعدل (11.92، 11.35) ملم على التوالي مقارنة بالعزلات الأخرى .

وكان للتداخل بين التركيز والعزلات أثراً معنوياً في حساسية العزلات قيد الدراسة ، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط للعزلة k.p₉₁ ، 15.5 ملم بتركيز 100 ملغم / مل ، في حين كانت العزلة ، k.p₈₃ أكثر مقاومة إذ سجلت قطر تثبيط بمعدل مقداره 4 ملم بتركيز 10 ملغم /مل للمستخلص النباتي للشاي الأخضر.

وتوافقت هذه النتائج مع ما أشار إليه (Anita et al., 2014) عن فعالية مستخلص الشاي الأخضر ضد العديد من الأحياء المجهرية و قدرته على تثبيطها لأحتوائه على الفلافونيدات ومادة (Catechin) التي تقاوم الالتهابات التي تحدثها الأحياء المجهرية .

وبينت الدراسة أن هذا النبات كان أكثر فاعلية مقارنةً بالنباتات الأخرى المستعملة في هذه الدراسة فقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما بينه (Kadhim et al., 2012) ، إذ أكد إن المستخلص المائي الحار لأوراق الشاي الأخضر هو المضاد الأمثل ضد بكتريا *S.aureus* و *K.pnuemoniae* لما له تأثير فعال في إستخلاص المواد الفعالة ، وكذلك فسراًلية عمل المركبات الفينولية Polyphenol الموجودة في أوراق الشاي الأخضر من خلال قابليتها على تغيير صلابة الغشاء الخلوي لتتمكن من الدخول وحال دخولها ستسبب تغيراً في نفاذية الجدار الخلوي مؤدية الى موت الخلية ، فضلاً عن دورها الرئيس في تثبيط بعض الانزيمات الموجودة في الكائن الحي .

وبين (Taguri et al., 2006) إن كفاءة المستخلص المائي لأوراق الشاي الأخضر التثبيطية لتلك البكتريا تعود إلى إحتواء الشاي الأخضر على مركبات فعالة عديدة منها الألكالويدات ، وصابونين ، وكافائين ، وبكتين ، وألياف ، ونشأ ، catechin ، epigallocatechin ، و epigallocatechingallate ويحتوي كذلك على الكاروتين و رايبو فلافين و نيكوتينك أسيد و بانتوتنك أسيد و اسكوربيك أسيد هي التي تعطي النشاط العالي لهذا المستخلص في التثبيط والتي لها دور مضاد للبكتريا ، إذ تقلل من كفاءة وقابلية البكتريا الممرضة

من تكوين الطبقة اللزجة . biofilm ويعتمد النشاط المضاد للبكتيريا لنبات الشاي الأخضر على نوع المذيب والوقت ودرجة الحرارة لعملية الاستخلاص ، وكل هذه العوامل تؤثر على نوع وكمية المادة الفعالة المستخلصة. بين (Scalbert , 1991) بأن التانينات الموجودة في الشاي الأخضر لها القابلية على تثبيط نمو الأحياء المجهرية بثلاث آليات :

الآلية الأولى : تثبيط عمل الأنزيمات الميكروبية.

الآلية الثانية : تبدي التانينات تداخل مباشر مع العمليات الايضية الميكروبية.

الآلية الثالثة : التانينات لها القابلية على زعزعة الاستقرار في السائتوبلازم والغشاء البلازمي وتسبب نقص في المواد الغذائية اللازمة لنمو الأحياء المجهرية.

2-6-3 تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس ضد بكتريا *S.aureus* و

K.pnuemoniae

أكدت النتائج إن المستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس لا يمتلك فعالية تثبيطيه ضد بكتريا *K.pnuemoniae* ولجميع التراكيز المستخدمة من المستخلص المائي في هذه الدراسة.

بينت النتائج إن المستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس يمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *S.aureus* ، كما موضح في الجدول رقم (3-10) وأظهرت هذه الدراسة فروقات معنوية بمستوى إحصائية 0.05 وإن الفعالية كانت في أفضل حالاتها عند تركيز 100ملغم / مل وكان أعلى معدل قطر تثبيط بتركيز 100 ملغم / مل 13 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة 17.83ملم .

اختلفت عزلات بكتريا *S.aureus* إحصائياً في حساسيتها للمستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس ، إذ كانت العزلة S.a50 حساسة أكثر للمستخلص المائي الحار لعرق السوس وسجلت أعلى قطر تثبيط بمعدل 13 ملم مقارنة بالعزلات الأخرى .

الجدول (3-10) معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي لجذور نبات عرق السوس ضد بكتريا *S.aureus* بطريقة الانتشار بالحفر

معدل أقطار التثبيط (ملم)	التركيز (ملغم / مل)							رمز العزلة
	Cont. CN (10 µg)	100	80	60	40	20	10	
12	17	14.5	14	12.5	12	8	7.5	S.a ₁₀₁
12	18.5	13	13	11.5	12	11	7	S.a ₈₉
10.5	17.5	10.5	12	10	7.5	8.5	8	S.a ₆₇
13	17	14	13	13.5	12.5	11.5	9.5	S.a ₅₀
12	18	13	13.5	11.5	11	9.5	7.5	S.a ₃₃
11.9	19	14	11.5	11.5	11	9.5	7	S.a ₁₀
0.284	0.752							L.S.D (0.05)
12	17.8	13	12.8	11.75	11	9.6	7.75	معدل اقطار التثبيط (ملم)
0.307							L.S.D (0.05)	

CN = (Gentamicin)

L.S.D = Least Significance Differences

0.05 = P ≤ 0.05 مستوى معنوية

وكان للتداخل بين التركيز والعزلات أثرًا معنويًا في حساسية العزلات قيد الدراسة ، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط للعزلة S.a₁₀₁ 14.5 ملم بتركيز 100 ملغم / مل في حين كانت العزلة S.a₁₀ أكثر مقاومة ، إذ سجلت قطر تثبيط بمعدل مقداره 7 ملم بتركيز 10 ملغم / مل للمستخلص النباتي لجذور عرق السوس . وتوافقت نتائج دراستنا مع ما توصل اليه الباحث (Chakraborty et al.,2011) ، إذ بين ان المستخلص المائي الحار لنبات عرق السوس يمتلك فعالية تثبيطية ضد بكتريا *S.aureus* تعزى الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات عرق السوس الى إمتلاكه العديد من المركبات الفعالة كالفيبولات ، والفلافونات ، والكلايكوسيدات والصابونينات التي لها دور مهم في تثبيط نمو البكتريا ، إذ تعمل على تثبيط الأنزيمات

المسؤولة عن التفاعلات الأيضية الأساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات فيؤدي الى مسخ البروتين Protein denaturation مما يتسبب في موت البكتريا .

وهذا يتفق مع ما توصلت إليه (Sultana *et al.*, 2010) إذ أشارت إلى وجود مركبات gancaonin, isolicoflavone, licoisoflavone B, glabridin, glabrene خلال تأثيرها على الجدار ، وكذلك أشارت Sultana إلى أن القدرة التثبيطية لمستخلص عرق السوس تعود لاحتوائه على مركب Glycyrrhethinic الذي يعمل على تثبيط النمو البكتيري من خلال كبح بناء الحامض النووي .

وتلائمت نتائج دراستنا مع ما توصل اليه الباحث (Abu-Shanab *et al.*, 2004) بين أنه يحتوي على التانينات، Flavonoid، Alkalioids، Saponin، Terpene التي لها فاعلية تثبيطية للبكتريا لقدرتها على تحفيز الخلايا البلعمية phagocytic cells وأيضاً له فاعلية في تحطيم البروتينات والتراكيب الأخرى المتواجدة على جدار الخلية البكتيرية التي تستخدمها البكتريا للألتصاق بخلايا المضيف ، إذ لها القابلية على ترسيب بروتينات الخلية مؤدية الى موتها .

3-6-3 تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات الدارسين ضد بكتريا *S.aureus* و

K.pnuemoniae

بينت النتائج إن المستخلص المائي الحار لنبات الدارسين لا يمتلك فعالية تثبيطية ضد بكتريا *K.pnuemoniae* ، وربما يعزى الى حدوث طفرات جينية أنتجت انزيم يسبب مقاومة لهذه البكتيريا ، او قد يرجع السبب إحتواء هذه البكتريا على غشاء نفاذي فعال (Permeability membrane) في جدارها الخارجي يعمل كمانع لدخول هذه المستخلصات الى داخل الخلية وبذلك يمنع تأثيرها التثبيطي.

يتوضح من خلال الجدول رقم (3-11) إن للمستخلص المائي الحار للدارسين فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *S.aureus* فقد أظهرت هذه الدراسة فروقات معنوية بمستوى إحصائية 0.05 ، إذ كانت الفعالية في أفضل حالاتها عند تركيز 100 ملغم / مل وكان أعلى معدل قطر تثبيط بتركيز 100 ملغم / مل 21.7 ملم الذي تفوق إحصائياً عن معاملة السيطرة 17.8 ملم .

إختلفت عزلات بكتريا *S.aureus* إحصائياً في حساسيتها للمستخلص المائي الحار لنبات الدارسين ، إذ كانت العزلة S.a101، S.a33 حساسة أكثر للمستخلص المائي الحار للدارسين ، وسجلت أعلى قطر تثبيط بمعدل (13.7، 14.2) ملم على التوالي ملم مقارنة بالعزلات الأخرى.

وكان للتداخل بين التركيز والعزلات أثرًا معنويًا في حساسية العزلات قيد الدراسة ، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط للعزلة S.a₅₀ 23 ملم بتركيز 100 ملغم / مل في حين كانت العزلة S.a₁₀₁ أكثر مقاومة ، إذ سجلت قطر تثبيط بمعدل مقداره 7.5 ملم بتركيز 20 ملغم / مل للمستخلص النباتي للدارسين .

الجدول (3-11) معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي للدارسين ضد بكتريا *S.aureus* بطريقة

الانتشار بالحفر

معدل أقطار التثبيط (ملم)	التركيز (ملغم / مل)							رمز العزلة
	Cont. CN (10 µg)	100	80	60	40	20	10	
13.7	17	22.5	17.5	16.5	15	7.5	0	S.a ₁₀₁
12.8	18.5	21.5	17	17.5	15	0	0	S.a ₈₉
12.5	17.5	20	18.5	16	15.5	0	0	S.a ₆₇
13.1	17	23	18	18	16	0	0	S.a ₅₀
14.2	18	20.5	19	17.5	14.5	10	0	S.a ₃₃
12.9	19	22.5	17.5	17	14	0	0	S.a ₁₀
0.310	0.821							L.S.D (0.05)
13.2	17.8	21.7	17.9	17.1	15.0	2.9	0.0	معدل اقطار التثبيط (ملم)
0.335								L.S.D (0.05)

L.S.D = Least Significance Differences

CN = (Gentamicin)

مستوى معنوية $0.05 = P \leq 0.05$

أشار (Sharifi-Rad *et al.*, 2017) إلى ان الفعالية التثبيطية تعود الى إحتواء المستخلص على مركبات الفلافونات ، والكلايكوسيدات، والقلويدات ، والتانينات ، والراتنجات ، والصابونينات ، والكومارينات ، والفينولات ، والتربينات والسترويدات والتي هي بدورها مواداً مضادة للأكسدة ، وان هذه المجاميع الفعالة جعلت المستخلصات المائية الحارة ذات فعالية عالية تجاه الأحياء المجهرية .

كما ذكر (Yoda et al., 2004) أن البكتريا الموجبة لصبغة غرام أكثر حساسية للمستخلص المائي ، وقد يكون السبب اختلاف الأنواع البكتيرية وقابليتها على إنتاج الغشاء الحيوي وقابلية الغشاء الحيوي على نفاذية المستخلص النباتي فضلاً عن صنف النبات واختلاف المركبات البايولوجية الفعالة فيها واختلاف تراكيزها وطريقة تحضير المستخلص .

4-6-3 تأثير فعالية المستخلص المائي الحار لنبات القرنفل ضد بكتريا *S.aureus* و

K.pnuemoniae

أكدت النتائج إن المستخلص المائي الحار لنبات القرنفل لا يمتلك فعالية تثبيطية ضد بكتريا *K.pnuemoniae* ولجميع التراكيز المستعملة من المستخلص في هذه الدراسة .

وبينت النتائج إن فعالية المستخلص المائي الحار لنبات القرنفل تباينت تجاه نمو كلا النوعين من البكتريا قيد الدراسة ويتوضح من الجدول رقم (3-12) إن للمستخلص المائي للقرنفل ضد بكتريا *S.aureus* فعالية تثبيطية عالية تجاه العزلات قيد الدراسة وأظهرت هذه الدراسة فروقات معنوية بمستوى احتمالية 0.05 وإن الفعالية كانت في أفضل حالاتها عند تركيز 100 ملغم / مل وكان أعلى معدل قطر تثبيط بتركيز 100 ملغم / مل 19 ملغم الذي تفوق إحصائياً عن معاملة السيطرة 17.8 ملغم .

فقد اختلفت عزلات بكتريا *S.aureus* إحصائياً في حساسيتها للمستخلص المائي الحار لنبات القرنفل ، إذ كانت العزلة ، S.a50، S.a33، S.a10، حساسة أكثر للمستخلص المائي الحار للقرنفل وسجلت أعلى قطر تثبيط بمعدل (13.6، 13.8، 13.8) ملغم على التوالي مقارنة بالعزلات الأخرى.

الجدول (3-12) معدلات الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي للقرنفل ضد بكتريا *S.aureus* بطريقة الانتشار بالحفر

معدل أقطار التثبيط (ملغم)	التراكيز (ملغم / مل)							رمز العزلة
	Cont. CN(10 µg)	100	80	60	40	20	10	
9	17	19	17.5	9.5	0	0	0	S.a101
8.4	18.5	22.5	18	0	0	0	0	S.a89
8.5	17.5	13.5	15	13.5	0	0	0	S.a 67
13.8	17	21	17.5	14.5	11.5	8.5	7	S.a50

13.8	18	20	18.5	12.5	10.5	10	7.5	S.a ₃₃
13.6	19	18	15.5	14	11	10.5	7.5	S.a ₁₀
0.292	0.772							L.S.D (0.05)
11.2	17.8	19	17	10.6	5.5	4.8	3.6	معدل اقطار التثبيط (ملم)
0.315								L.S.D (0.05)

L.S.D = Least Significance Differences

CN = (Gentamicin)

0.05 = $P \leq 0.05$ مستوى معنوية

وكان للتداخل بين التركيز والعزلات أثرًا معنويًا في حساسية العزلات قيد الدراسة ، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط للعزلة S.a₈₉ كان 22.5 ملم بتركيز 100 ملغم / مل ، في حين كانت العزلة S.a₅₀ أكثر مقاومة فقد سجلت قطر تثبيط بمعدل مقداره 7 ملم بتركيز 10 ملغم / مل للمستخلص النباتي للقرنفل .

بينت النتائج إن المستخلص المائي الحار لبذور القرنفل يمتلك فعالية عالية ضد بكتريا *S.aureus* ، وهذا يتفق مع ما اشار اليه الباحث (Cortés-Rojasf et al., 2014) ، إذ أكد إن هذه النتيجة تعد جيدة كعلاج لهذه البكتريا إذ انه من النباتات التي تحتوي مواد أساسية كالكاربوهيدرات والبروتينات بالإضافة الى ان زيت القرنفل يمتلك خصائص مضادة للالتهاب بإحتوائه على مادة (Eugenol) التي تعد كمضاد حيوي.

واشارت العديد من الدراسات إلى إن البكتريا الموجبة لملون كرام أكثر حساسية للعوامل المثبطة للنمو من البكتريا السالبة لملون كرام والسبب يعود إلى مكونات الجدار الخلوي التي توفر نوع من الحماية للخلية البكتيرية ، فضلاً عن وجود بعض أنظمة الحماية في البكتريا السالبة تمكنها من مقاومة الظروف غير الملائمة للنمو (Cimanga et al., 2002).

7-3 الكشف عن التركيز المثبط الأدنى (MIC) باستعمال طريقة Microdilution

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن التركيز المثبط الأدنى (MIC) لمستخلص أوراق الشاي الأخضر ضد نوعين من البكتريا واحدة منها موجبة لصبغة كرام والأخرى سالبة لهذه الصبغة ، وتم تحديد قيمتها ، إذ بلغت 8 ملغم/ مل ضد بكتريا *S. aureus* و 36 ملغم/ مل ضد بكتريا *K.pneumoniae* كانت البكتريا

السالبة لصبغة كرام أعلى حساسية من البكتريا السالبة لصبغة كرام للمستخلص المائي للشاي الأخضر، ويعود هذا الاختلاف في بنية وتكوين الجدار الميكروبي، إذ إن خلايا البكتريا تحتوي على الغشاء الخارجي outer membrane، إذ إنه يعمل كحاجز لانه يقلل أو يمنع تغلغل العديد من مضادات الميكروبات وبالتالي مسؤول عن مقاومة البكتريا السالبة لصبغة كرام لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية، وأودع يعود الفرق بالتأثير التثبيطي بين البكتريا الموجبة والسالبة لعدة عوامل تؤثر في قيمة MIC منها إنتاج البكتريا لبعض الأنزيمات (Ghai, I & Ghai S., 2018).

وتعزى فعالية الشاي الأخضر تجاه العزلات قيد الدراسة الى إمتلاكه للصابونينات، إذ لها القابلية على تحليل الغشاء البلازمي للخلايا البكتيرية وبسبب إحتواء أوراق هذا النبات على التربينات ذات الفعالية التثبيطية للبكتريا من خلال تمزيق الأغشية الخلوية، وقد تعزى الفعالية البايولوجية الى وجود المركبات الفينولية التي لها دور كبير في تثبيط النمو البكتيري وذلك لتأثيرها على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الأساسية من خلال تداخلها غير التخصصي مع البروتينات مؤدية الى مسخ البروتين وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (Sowjanya et al., 2018).

وذكر (Ropponen et al., 2021) أن احتواء الشاي الأخضر على الكاتكينات والفينولات المتعددة يفسر العديد من الخصائص التي يمتلكها هذا المستخلص مثل الفعالية ضد البكتريا (Antibacterial) وضد الفيروس (Antivirus) وضد التسرطن (Anticarcinogenic) وضد التطهير (Antimutagenic). إن هذه الدراسة أثبتت ان لمستخلص أوراق الشاي الأخضر فعالية تثبيطية ضد الأحياء المجهرية المسببة لإلتهاب اللوزتين.

وتطابقت قيمة MIC التي تم الحصول عليها مع نتائج دراسة (Cui et al., 2012)، إذ كانت قيمة MIC لبكتريا *S. aureus* تساوي 6 ملغم/مل وكانت لبكتريا *K.pneumoniae* 38 ملغم/مل.

8-3 السمية الخلوية لمستخلص الشاي الأخضر

تم تحديد السمية الخلوية للمستخلص المائي للشاي الأخضر في المختبر بإستعمال طريقة إنحلال الدم، إذ تم إستعمال كريات الدم الحمراء في الدم البشري (RBCs) لأشخاص أصحاء وغير مدخنين كما موضح في الملحق رقم (8).

وأكدت النتائج عدم وجود سمية خلوية لإحلال الدم لمستخلص الشاي الأخضر بسبب تأثيره الضئيل على اضطراب كريات الدم الحمراء إذ كانت النسبة المئوية للسمية 8%، وهذه النتائج تتطابق مع دراسة (Zhao *et al.*, 2022) إذ إن أوراق الشاي الأخضر المستهلكة بشكل طبيعي وبجرع تتراوح من كوب الى كوبين في اليوم تكون آمنة ولا تنتج عنها أي سمية أو آثار ضارة ، ولا يوجد أي نشاط انحلاي ضد الخلايا الدم الحمراء البشرية ، وكذلك بين أن شرب جرع عالية من الشاي الأخضر قد يسبب تراكم المواد في الاسنان وتصبغها ، الأرق، والقلق، والغثيان ، والصداع ، واضطراب المعدة ، واضطرابات في القلب والرعاش .

توافقت نتائجنا مع نتائج الباحث (Bataneh *et al.*, 2021) ، إذ كانت النسبة المئوية للسمية الخلوية 10% وكذلك بين قدرة المركبات الفينولية الموجودة في الشاي الأخضر على حماية كريات الدم الحمراء من الانحلال.

4- الاستنتاجات والتوصيات

1-4 الاستنتاجات

1. تُعد بكتريا *S. aureus* و *K. pneumoniae* من المسببات الرئيسية لمرضى التهاب اللوزتين للأشخاص قيد الدراسة .
2. ان الفئة العمرية (5-15) سنة أكثر عرضة للإصابة بالتهاب اللوزتين مقارنة بالفئات العمرية الأخرى.
3. امتلاك عزلات المكورات العنقودية *S.aureus* صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (MDR) ، واما عزلات بكتريا *K.pneumoniae* فقد تعددت لأكثر من ذلك ، إذ تعد مقاومة للأدوية على نطاق واسع (XDR) Exteme - drug resistant مما يشكل صعوبة في علاج المرضى قيد الدراسة .
4. هنالك علاقة كبيرة بين قابلية العزلات البكتيرية في بناء الغشاء الحيوي (Biofilm) ومقاومتها للمضادات الحيوية مما يدل على الدور الرئيسي للغشاء الحيوي كعامل ضراوة ضد المضادات الحيوية.
5. كفاءة المستخلص المائي لاوراق الشاي الأخضر في فعاليته التثبيطية ضد العزلات قيد الدراسة مقارنة مع بقية المستخلصات النباتية (القرنفل ، والدارسين ، وعرق السوس) التي كانت فعاليتها التثبيطية ضعيفة مع عزلات المكورات العنقودية ومعدومة نهائياً مع عزلات *K..pneumoniae*.

2-4 التوصيات

1. عدم استعمال المضادات الحيوية بشكل عشوائي للمرضى إلا بعد إخضاع المسببات المرضية لفحص الحساسية للمضادات الحيوية (Antibiotic susceptibility test).
2. التحري الجزيئي عن عوامل الضراوة للعزلات المقاومة للمضادات الحيوية المستعملة في هذه الدراسة .
3. التوسع في إجراء الأبحاث عن تأثير مستخلصات نباتية أخرى غير مدروسة ، ومعرفة فعاليتها التثبيطية في البكتريا الممرضة .
4. الكشف عن المركبات الفعالة للمستخلصات النباتية التي تضمنتها دراستنا وخصوصاً الشاي الاخضر والتي أثبتت إمتلاكها فعالية تثبيطية ضد المسببات المرضية ومحاولة تنقية تلك المركبات ، واختبار فعاليتها التثبيطية كل على حده بالمقارنة مع المستخلصات الخام للوصول الى أفضل فعالية بأقل الجرع وتجنب الآثار الجانبية للمستخلصات الخام .
5. دراسة تأثير المستخلصات النباتية على تكوين الغشاء الحيوي .
6. اجراء دراسة تأثير المستخلصات النباتية على البكتريا الممرضة في حيوانات التجربة .

المصادر العربية :

- خضر ,أيمان محمود (2013). التحري عن قدرة بعض الأنواع البكتيرية على إنتاج المادة المخاطية . مجلة علوم الرافدين، المجلد 24، العدد 1 ، ص. 36-49.
- الخفاجي , مروى حميد مطشر(2008) تكون الغشاء الحيوي بوساطة Klebsiella pneumoniae الملوثة للمثبتات الخارجية ومقاومته لمضادات الحياة.رسالة ماجستير ,كلية العلوم جامعة بغداد .
- د. الحسن شبانه (2016)، كتاب النباتات لصحة الفم والأسنان، إصدار، الطبعة الأولى ، كود اسبن 9781326547530
- زيدان ، مرتضى مزهر (2021). فحص أنتشار وحساسية بكتريا Klebsiella pneumoniae المعزولة من إصابات مختلفة للمضادات الحيوية . رسالة دبلوم عالي ، كلية الصيدلة ،جامعة المستنصرية
- عفاف عبد الرحمن ايوب (2018). دراسة المادة الفعالة لنبات عرق السوس وتطبيقاتها . Engineering and Technology Journal, 36(3 Part (C)).
- محمد بو عبد الله سعاد & ,لعلاوي قريشي. (2017). دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر Camellia Sinensis على النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للبكتيريا.

المصادر الأجنبية:

- Abd El-Hack ME, Alagawany M, Abdel-Moneim AM, Mohammed NG, Khafaga AF, Bin-Jumah M, Othman SI, Allam AA, Elnesr SS. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) oil as a potential alternative to antibiotics in poultry. *Antibiotics*. 2020 Apr 26;9(5):210.
- Abdallah NA, Abd El-Rahman RZ, Amer AK, Ismaeel LI. Antibacterial activity of some plant extracts on the treatment of surgical wounds infection. *The Egyptian Society of Experimental Biology*. 2013;9(1):115-24.
- Abdel-Gabbar M. *Green Tea* as a Functional Food for Better Health: A Brief Review. Available at SSRN 3595705. 2011.
- Abdul-Razzaq MS, Bunyan AP, Al-Dahmoshi HO. Investigation of FimH adhesin among *Enterobacter* spp. isolates and their role in biofilm formation. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*. 2013;18(2).
- Abraham T, Sistla S. Identification of *Streptococcus pyogenes*–Phenotypic Tests vs Molecular Assay (spy1258PCR): A Comparative Study. *Journal of Clinical and diagnostic research: JCDR*. 2016 Jul;10(7):DC01.
- Abu-Shanab B, ADWAN GM, Abu-Safiya D, Jarrar N, Adwan K. Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turkish Journal of Biology*. 2004;28(2):99-102.
- Agrawal A, Kumar D, Goyal A, Gupta R, Bhooshan S. Bacteriological evaluation and their antibiotic sensitivity pattern in tonsillitis. *IOSR J Dental Med Sc*. 2014 Mar;13(3):51-5.
- Alasmari NS, Bamashmous RO, Alshuwaykan RM, Alahmari MA, Alshahrani AA, Alqarni SA, Alhadlag AS, Alotaibi FA, Alassiri AS, Alnaji AA, Alamri SO. Causes and treatment of tonsillitis. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2017 Oct 1;69(8):2975-80.

- Alfred. E. Brown. Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology. McGraw-Hill Higher Education; 2005.
- Ali SM. Performance of VITEK 2 in the routine identification of bacteria from positive blood cultures in Sulaimani pediatrics' hospital. Iraqi Journal of Science. 2017;58(1C):435-41.
- Al-Snafi AE. Bioactive components and pharmacological effects of *Canna indica*-An Overview. International Journal of Pharmacology and toxicology. 2015 Feb;5(2):71-5.
- Anita P, Sivasamy S, Kumar PM, Balan IN, Ethiraj S. *In vitro* antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. Journal of basic and clinical pharmacy. 2014 Dec;6(1):35.
- Asbaghi O, Fouladvand F, Gonzalez MJ, Ashtary-Larky D, Choghakhori R, Abbasnezhad A. Effect of green tea on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2021 Jan 1;15(1):23-31.
- Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, Muzammil S, Rasool M, Yasmeen N, Shah T, Chaudhry TH, Rasool MH, Shahid A, Xueshan X. Antibiotic resistance: one health one world outlook. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2021:1153.
- Asma ST, Imre K, Morar A, Herman V, Acaroz U, Mukhtar H, Arslan-Acaroz D, Shah SR, Gerlach R. An overview of biofilm formation–combating strategies and mechanisms of action of antibiofilm agents. Life. 2022 Jul 23;12(8):1110.
- Axelrod M, Berkowitz S, Dhir R, Gould V, Gupta A, Li E, Park J, Shah AN, Shi K, Tan CX, Tran MM. The inhibitory effects of *green tea* (*Camellia*

- sinensis) on the growth and proliferation of oral bacteria. J. New Jersey Gov. Sch. 2010;3:1-9.
- Azzab MM, El Sokkary RH, Tawfeek MM, Gebriel MG. Multidrug-resistant bacteria among patients with ventilator-associated pneumonia in an emergency intensive care unit, Egypt. EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal. 2016;22(12):894-903.
 - Bataineh SM, Tarazi YH, Ahmad WA. Antibacterial efficacy of some medicinal plants on multidrug resistance bacteria and their toxicity on eukaryotic cells. Applied Sciences. 2021 Sep 13;11(18):8479.
 - Batiha GE, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK. *Syzygium aromaticum* L.(Myrtaceae): traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. Biomolecules. 2020 Feb;10(2).
 - Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of virulence factors of *Staphylococcus aureus*: novel function of known virulence factors that are implicated in activation of airway epithelial proinflammatory response. Journal of pathogens. 2011 Sep 14;2011.
 - Brust FR, Boff L, da Silva Trentin D, Pedrotti Rozales F, Barth AL, Macedo AJ. Macrocolony of NDM-1 producing *Enterobacter hormaechei* subsp. *oharae* generates subpopulations with different features regarding the response of antimicrobial agents and biofilm formation. Pathogens. 2019 Apr 14;8(2):49.
 - Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases. The Lancet infectious diseases. 2005 Nov 1;5(11):685-94.

- Chakraborty SP, Mahapatra SK, Roy S. Biochemical characters and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2011 Jun 1;1(3):212-6.
- Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries, part 2. Cambridge university press; 2005.
- Chen P, Seth AK, Abercrombie JJ, Mustoe TA, Leung KP. Activity of imipenem against *Klebsiella pneumoniae* biofilms in vitro and in vivo. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014 Feb;58(2):1208-13.
- Chen P, Zhou J, Ruan A, Zeng L, Liu J, Wang Q. Cinnamic Aldehyde, the main monomer component of Cinnamon, exhibits anti-inflammatory property in OA synovial fibroblasts via TLR4/MyD88 pathway. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2022 Feb;26(3):913-24.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey EH. Adherence of coagulase-negative *staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *staphylococci* to medical devices. Journal of clinical microbiology. 1985 Dec;22(6):996-1006.
- Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, Totté J, Pieters L, Vlietinck AJ. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. Journal of ethnopharmacology. 2002 Feb 1;79(2):213-20.
- Cockerill FR, Wikler M, Bush K, Dudley M, Eliopoulos G, Hardy D. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. 2012.

- Collee JG, Miles RS, Watt B. Tests for identification of bacteria. Mackie and McCartney practical medical microbiology. 1996;14:131-49.
- Coombs GW, Nimmo GR, Pearson JC, Collignon PJ, Bell JM, McLaws ML, Christiansen K. Australian group on antimicrobial resistance hospital-onset *Staphylococcus aureus* surveillance programme annual report, 2011. Communicable diseases intelligence quarterly report. 2013;37(3):E210-8.
- Cortés-Rojas DF, de Souza CR, Oliveira WP. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2014 Feb 1;4(2):90-6.
- Cui Y, Oh YJ, Lim J, Youn M, Lee I, Pak HK, Park W, Jo W, Park S. AFM study of the differential inhibitory effects of the green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Food Microbiology. 2012 Feb 1;29(1):80-7.
- Dasenbrook EC, Checkley W, Merlo CA, Konstan MW, Lechtzin N, Boyle MP. Association between respiratory tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. Jama. 2010 Jun 16;303(23):2386-92.
- Drago L, De Vecchi E, Mombelli B, Nicola L, Valli M, Gismondo MR. Activity of levofloxacin and ciprofloxacin against urinary pathogens. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001 Jul 1;48(1):37-45.
- Effah CY, Sun T, Liu S, Wu Y. *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2020 Dec;19(1):1-9.
- Elmer, W. K., et al. "A Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology." (1997): 122-30..

- Farjana A, Zerín N, Kabir MS. Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2014 Sep 1;4:S920-3.
- Fluit AC, Visser MR, Schmitz FJ. Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*. 2001 Oct 1;14(4):836-71.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Diagnostic microbiology*. St Louis: Mosby; 2007.
- Foudraïne DE, Strepis N, Stingl C, Ten Kate MT, Verbon A, Klaassen CH, Goessens WH, Luidér TM, Dekker LJ. Exploring antimicrobial resistance to beta-lactams, aminoglycosides and fluoroquinolones in *E. coli* and *K. pneumoniae* using proteogenomics. *Scientific Reports*. 2021 Jun 14;11(1):12472.
- Fukai T, Cai BS, Maruno K, Miyakawa Y, Konishi M, Nomura T. An isoprenylated flavanone from *Glycyrrhiza glabra* and rec-assay of licorice phenols. *Phytochemistry*. 1998 Dec 5;49(7):2005-13.
- Ganda RP, Soehita S. Suitability Tests for Bacterial Identification and Antibiotic Sensitivity Tests using Microscan Walkaway on Vitek 2. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*. 2021;15(2):3985-91.
- Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR, Manual BS. *Systematic bacteriology. The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics. 2005;2.
- Ghai I, Ghai S. Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability. *Infection and drug resistance*. 2018 Apr 4:523-30.
- Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F, Avola A, Fico L, Palazzo C, Sapia GF, Visaggio D. Comparative evaluation

- of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2012 Jan 1;72(1):20-31.
- Gitau W, Masika M, Musyoki M, Museve B, Mutwiri T. Antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens at Kenyatta National Hospital. *BMC research notes*. 2018 Dec;11:1-5.
 - Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *The lancet*. 2006 Sep 2;368(9538):874-85.
 - Hemraj V, Diksha S, Avneet G. A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare journal of life science*. 2013;1(1):1-7.
 - Holden VI, Breen P, Houle S, Dozois CM, Bachman MA. *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1 α stabilization during pneumonia. *MBio*. 2016 Nov 2;7(5):10-128.
 - Hughes D, Andersson DI. Evolutionary trajectories to antibiotic resistance. *Annual review of microbiology*. 2017 Sep 8;71:579-96.
 - Italian Prevalence Study on Infections Related to the Assistance and Use of Antibiotics in Acute Care Hospitals—ECDC Protocol, Italian Report PPS2, 2017; p. 2
 - Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Hussain T, Ali M, Rafiq M, Kamil MA. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the chinese medical association*. 2018 Jan 1;81(1):7-11.
 - Jawetz E, Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. (No Title). 1991.

- Kadhim ZR. Extraction and purification of flavonoids from *Camellia sinesis* leaves and *Punica granatum* peels and determination of their antioxidant activity (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis. Karbala Univ).
- Katkowska M, Garbacz K, Stromkowski J. *Staphylococcus aureus* isolated from tonsillectomized adult patients with recurrent tonsillitis. *Apmis*. 2017 Jan;125(1):46-51.
- Kong C, Zhang H, Li L, Liu Z. Effects of green tea extract epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on oral disease-associated microbes: A review. *Journal of Oral Microbiology*. 2022 Dec 31;14(1):2131117.
- Kowalski WJ. The epidemiology and aerobiological pathways of airborne nosocomial infections and methods of air and surface disinfection. *HPAC Engineering: Air-Treatment Systems for Controlling Hospital-Acquired Infections*. 2007.
- Kumar S, Kumari R, Mishra S. Pharmacological properties and their medicinal uses of *Cinnamomum*: A review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019 Dec;71(12):1735-61.
- Kumar S, Varela MF. Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *chemotherapy*. 2013;14(18):522-34.
- Kuriyama S, Shimazu T, Ohmori K, Kikuchi N, Nakaya N, Nishino Y, Tsubono Y, Tsuji I. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: the Ohsaki study. *Jama*. 2006 Sep 13;296(10):1255-65.
- Leboffe MJ, Pierce BE. *Microbiology: laboratory theory and application*. Morton Publishing Company; 2015.

- Lee AS, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nature reviews Disease primers. 2018 May 31;4(1):1-23.
- Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. Future microbiology. 2014 Sep;9(9):1071-81.
- Mahmood T, Akhtar N, Khan BA. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. Journal of Medicinal Plants Research. 2010 Oct 4;4(19):2028-33.
- Mahon CR, Lehman DC. Textbook of diagnostic microbiology-e-book. Elsevier Health Sciences; 2022 Nov 2.
- Markey B, Leonard, F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. Clinical veterinary microbiology. (2013). 2nd ed. Mosby Elsevier.
- Masadeh MM, Alzoubi KH, Al-Azzam SI, Khabour OF, Al-Buhairan AM. Ciprofloxacin-induced antibacterial activity is attenuated by pretreatment with antioxidant agents. Pathogens. 2016 Mar 9;5(1):28.
- Mehdi DS. Bacteriological and genetical studies on biofilm medical devices. M.Sc. College of Science. University of Babylon.(2006).
- Mohamed SH, Khalil MS, Mabrouk MI, Mohamed MS. Prevalence of antibiotic resistance and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* carrying fimbrial genes in Egypt. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2020;13(7):3051-8.
- Mohammed MK, Rasheed MN, Nadeer MI. Detection of Biofilm–Associated Genes in Clinical *Staphylococcus Aureus* Isolates from Iraqi Patient. Int J Sci Nature. 2015;6(1):19-22.

- Morad A, Sathe NA, Francis DO, McPheeters ML, Chinnadurai S. Tonsillectomy versus watchful waiting for recurrent throat infection: a systematic review. *Pediatrics*. 2017 Feb 1;139(2).
- Myles IA, Datta SK. *Staphylococcus aureus*: an introduction. In *Seminars in immunopathology* 2012 Mar (Vol. 34, pp. 181-184). Springer-Verlag.
- Nejad SM, Özgüneş H, Başaran N. Pharmacological and toxicological properties of eugenol. *Turkish journal of pharmaceutical sciences*. 2017 Aug;14(2):201.
- Nicolau Korres AM, Aquije GM, Buss DS, Ventura JA, Fernandes PM, Fernandes AA. Comparison of biofilm and attachment mechanisms of a phytopathological and clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. *The Scientific World Journal*. 2013 Jan 1;2013.
- Oliveira D, Borges A, Simões M. *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*. 2018 Jun 19;10(6):252.
- Onanuga A, Oyi AR, Onaolapo JA. Prevalence and susceptibility pattern of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* isolates among healthy women in Zaria, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4(11).
- Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2016 Sep;80(3):629-61.
- Parnham MJ, Haber VE, Giamarellos-Bourboulis EJ, Perletti G, Verleden GM, Vos R. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology & therapeutics*. 2014 Aug 1;143(2):225-45.

- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations : Identification of *Staphylococcus species*, *Micrococcus species* and *Rothia species*. Standards Unit, Microbiology Services. (2014) 3(12): 32 p, PHE.
- Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future medicinal chemistry*. 2015 Mar;7(4):493-512.
- Rao PV, Gan SH. Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014 Oct;2014.
- Rasigade JP, Vandenesch F. *Staphylococcus aureus*: a pathogen with still unresolved issues. *Infection, genetics and evolution*. 2014 Jan 1;21:510-4.
- Reygaert WC. Antimicrobial resistance mechanisms of *Staphylococcus aureus*. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. 2013;1(1):297-305.
- Riöse A, Jone M, Anderson W. Preparation of water and alcoholic extracts in plants. *Jbot*. 1987;15:155-9.
- Ropponen HK, Diamanti E, Siemens A, Illarionov B, Hauptenthal J, Fischer M, Rottmann M, Witschel M, Hirsch AK. Assessment of the rules related to gaining activity against Gram-negative bacteria. *RSC Medicinal Chemistry*. 2021;12(4):593-601.
- Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 1991 Jan 1;30(12):3875-83.
- Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan AU. Aminoglycosides versus bacteria—a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *Journal of biomedical science*. 2008 Jan;15:5-14.
- Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, Tundis R, Sharifi-Rad M, Loizzo MR, Ademiluyi AO, Sharifi-Rad R.

- Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*. 2017 Jan 1;22(1):70.
- Sharmeen R, Hossain MN, Rahman MM, Foysal MJ, Miah MF. *In-vitro* antibacterial activity of herbal aqueous extract against multi-drug resistant *Klebsiella* sp. isolated from human clinical samples. *International Current Pharmaceutical Journal*. 2012 May 6;1(6):133-7.
 - Singh AK, Yadav S, Chauhan BS, Nandy N, Singh R, Neogi K, Roy JK, Srikrishna S, Singh RK, Prakash P. Classification of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* based on their *in vitro* biofilm forming capabilities and elucidation of the biofilm matrix chemistry with special reference to the protein content. *Frontiers in Microbiology*. 2019 Apr 4;10:669.
 - Soto SM. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*. 2013 Apr 1;4(3):223-9.
 - Sowjanya NS, Ramya SR, Kanungo R. In Vitro Antibacterial Activity of Green Tea (*Camellia sinensis*) Extract against *Staphylococcus Aureus* and MRSA. *IP Int. J. Med. Microbiol. Trop. Dis*. 2020;4:214-7.
 - Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G. The Italian ESBL Study Group: Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(1):196-202.
 - Srivastava D, Srivastava S, Singh PC, Kumar A. Mechanisms of Biofilm Development, Antibiotic Resistance and Tolerance and Their Role in Persistent Infections. *Antibacterial Drug Discovery to Combat MDR: Natural Compounds, Nanotechnology and Novel Synthetic Sources*. 2019:115-30.

- Stark L. *Staphylococcus aureus*: aspects of pathogenesis and molecular epidemiology (Doctoral dissertation, Linköping University Electronic Press)..
- Steel RG, Torrie JH, Dickey DA. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach 3rd edition MacGraw–Hill. New York. 1997.
- Struve C, Roe CC, Stegger M, Stahlhut SG, Hansen DS, Engelthaler DM, Andersen PS, Driebe EM, Keim P, Krogfelt KA. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. MBio. 2015 Sep 1;6(4):10-128.
- Sultana S, Haque A, Hamid K, Urmi KF, Roy S. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. Agric Biol JN Am. 2010;1(5):957-60..
- Suman S, Mukherjee K, Prakash S. Study on bacteriology of tonsillitis in a hospital. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences. 2014 Feb 17;3(7):1639-42.
- Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE. Fibrosis and adipose tissue dysfunction. Cell metabolism. 2013 Oct 1;18(4):470-7.
- Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2006;29(11):2226-35.
- Tille C, van Wincoop E. International capital flows under dispersed private information. Journal of International Economics. 2014 May 1;93(1):31-49.
- Torretta S, Drago L, Marchisio P, Cappadona M, Rinaldi V, Nazzari E, Pignataro L. Recurrences in chronic tonsillitis substained by tonsillar biofilm-producing bacteria in children. Relationship with the grade of tonsillar hyperplasy. International journal of pediatric otorhinolaryngology. 2013 Feb 1;77(2):200-4.

- Vasconcelos NG, Cunha MD. Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and detection methods. *Journal of Public Health and Epidemiology*. 2010;29-42.
- Vasudevan R. Biofilms: microbial cities of scientific significance. *J Microbiol Exp*. 2014 Jun;1(3):00014.
- Vijayashree MS, Viswanatha B, Sambamurthy BN. Clinical and bacteriological study of acute tonsillitis. group. 2014;1(2):3.
- Wang J, Su B, Jiang H, Cui N, Yu Z, Yang Y, Sun Y. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Cinnamomum* (Lauraceae): A review. *Fitoterapia*. 2020 Oct 1;146:104675.
- Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet infectious diseases*. 2005 Dec 1;5(12):751-62.
- Whiley RA and Hardi JM. In *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 2nd ed (2009); Wilkins: Baltimore MA, USA.
- Wijesundara NM, Rupasinghe HV. Herbal tea for the management of pharyngitis: inhibition of streptococcus pyogenes growth and biofilm formation by herbal infusions. *Biomedicines*. 2019 Aug 24;7(3):63.
- Yaratha G, Perloff S, Changala K. Lactose vs non-lactose fermenting *E. coli*: epidemiology, clinical outcomes, and resistance. In *Open forum infectious diseases 2017* (Vol. 4, No. suppl_1, pp. S589-S590). US: Oxford University Press.
- Yoda Y, Hu ZQ, Shimamura T, Zhao WH. Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2004 Jan 1;10(1):55-8.

- Younes AE. Molecular diversity and genetic organization of antibiotic resistance in *Klebsiella* species. Ph.D. dissertation. Edinburgh University, Department of Molecular Chemotherapy 2011.
- Zargaran FN, Akya A, Rezaeian S, Ghadiri K, Lorestani RC, Madanchi H, Safaei S, Rostamian M. B cell epitopes of four fimbriae antigens of *Klebsiella pneumoniae*: a comprehensive in silico study for vaccine development. International journal of peptide research and therapeutics. 2021 Jun;27:875-86.
- Zhao T, Li C, Wang S, Song X. *Green tea (Camellia sinensis)*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Molecules. 2022 Jun 18;27(12):3909.
- Zhao Y, Chen P, Lin L, Harnly JM, Yu LL, Li Z. Tentative identification, quantitation, and principal component analysis of green pu-erh, green, and white teas using UPLC/DAD/MS. Food chemistry. 2011 Jun 1;126(3):1269-77.
- Zu DM, Zhang L. Assessment of mechanisms of infectious pneumonia based on expression of fibrinogen, procalcitonin, high-sensitivity C-reactive protein expression, T helper 17 cells, regulatory T cells interleukin-10, and interleukin-17. Translational Pediatrics. 2022 Jan;11(1):73.



الملاحق
Appendixes

						رقم العينة :
						الاسم الثلاثي للمريض :
						العمر :
						الجنس :
						السكن :
						تاريخ جمع العينة :
						الأمراض المزمنة لدى المريض :
						النتيجة :

ملحق (1) استمارة المعلومات الخاصة بالمرضى



ملحق رقم (2) جهاز الاليزا



ملحق رقم (3) جهاز Vitek 2 compact



ملحق رقم (4) Rapid Strep-A Test

bioMérieux Customer: Microbiology Chart Report Printed July 22, 2022 5:20:25 AM AST

Patient Name: 10,

Patient ID: 1014

Location:

Physician:

Lab ID: ab914

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 9.92 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Bionumber: 2627735553573150	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 12.85 hours	Status: Final
----------------------------	----------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
+Amoxicillin		R	Cefepime	<= 0.12*	S
Amoxicillin/Clavulanic Acid	16	*R	+Aztreonam		R
+Ampicillin/Sulbactam		R	Ertapenem	<= 0.12	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Imipenem	1	R
+Cefadroxil		R	Meropenem	<= 0.25	S
+Cefalexin		R	Amikacin	2	S
Cefazolin	>= 64	R	Gentamicin	<= 1	S
Cefuroxime	>= 64	R	+Tobramycin		S
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	+Nalidixic Acid		S
+Cefmetazole		R	Ciprofloxacin	<= 0.06	R
+Cefoxitin		R	+Levofloxacin		S
Ceftazidime	1	S	+Norfloxacin		S
+Ceftizoxime			Fosfomycin	>= 256	R
Ceftriaxone	32	R	Nitrofurantoin	<= 16	S
+Ceftazidime/Avibactam		S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	R

*- AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 22, 2022 5:13:02 AM AST

Patient Name: 5,

Patient ID: 1011

Location:

Physician:

Lab ID: ab911

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 5.82 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Bionumber: 0627735553573000
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 9.72 hours	Status: Final
----------------------------	---------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
+Amoxicillin		R	+Cefoperazone/Sulbactam		
Amoxicillin/Clavulanic Acid	>= 32	R	+Ceftazidime/Avibactam		S
+Ampicillin/Sulbactam		R	Cefepime	1	S
+Ticarcillin/Clavulanic Acid			+Aztreonam		R
+Piperacillin/Sulbactam			Ertapenem	<= 0.12	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Imipenem	0.5	S
+Cefadroxil		R	Meropenem	<= 0.25	S
+Cefalexin		R	Amikacin	<= 1	R
Cefazolin	>= 64	R	Gentamicin	<= 1	R
Cefuroxime	>= 64	R	+Tobramycin		S
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	+Nalidixic Acid		S
+Cefmetazole		R	Ciprofloxacin	<= 0.06	S
+Cefoxitin		R	+Enrofloxacin		
+Cefixime			+Levofloxacin		S
+Cefpodoxime			+Norfloxacin		S
+Cefotaxime			Fosfomycin	>= 256	R
Ceftazidime	2	S	Nitrofurantoin	<= 16	S
+Ceftizoxime			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Ceftriaxone	>= 64	R			

AES Findings	
Confidence:	Consistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 22, 2022 5:13:56 AM AST

Patient Name: 7,

Patient ID: 1013

Location:

Physician:

Lab ID: ab913

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.83 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 2627734557572010	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 13.10 hours	Status: Final
----------------------------	----------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Amoxicillin/Clavulanic Acid	≥ 32	R	Imipenem	1	R
Piperacillin/Tazobactam	≤ 4	S	Meropenem	≤ 0.25	S
Cefazolin	≥ 64	R	Amikacin	4	S
Cefuroxime	≥ 64	R	Gentamicin	≤ 1	S
Cefuroxime Axetil	≥ 64	R	Ciprofloxacin	≤ 0.06	S
Ceftazidime	2	S	Fosfomycin	≥ 256	R
Ceftriaxone	32	R	Nitrofurantoin	≤ 16	S
Cefepime	0.25	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	≤ 20	R
Ertapenem	≤ 0.12	S			

AES Findings	
Confidence:	Inconsistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 22, 2022 5:50:05 AM AST

Patient Name: 6,

Patient ID: 1012

Location:

Physician:

Lab ID: ab912

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.85 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 6627734757572010	Klebsiella Pneumoniae
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 12.15 hours	Status: Final			
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Amoxicillin/Clavulanic Acid	16	I	Imipenem	0.5	R
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Meropenem	<= 0.25	R
Cefazolin	>= 64	R	Amikacin	2	S
Cefuroxime	>= 64	R	Gentamicin	<= 1	R
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	Ciprofloxacin	<= 0.06	S
Ceftazidime	2	S	Fosfomycin	>= 256	R
Ceftriaxone	32	R	Nitrofurantoin	<= 16	S
Cefepime	<= 0.12	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Ertapenem	<= 0.12	S			

AES Findings	
Confidence:	Inconsistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 22, 2022 5:12:18 AM AST

Patient Name: 4,

Patient ID: 1010

Location:

Physician:

Lab ID: ab910

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.88 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Bionumber: 0627734557532010
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 12.43 hours	Status: Final
----------------------------	----------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Amoxicillin/Clavulanic Acid	8	S	Imipenem	0.5	R
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Meropenem	<= 0.25	S
Cefazolin	>= 64	R	Amikacin	2	R
Cefuroxime	>= 64	R	Gentamicin	<= 1	S
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	Ciprofloxacin	<= 0.06	S
Ceftazidime	0.25	S	Fosfomycin	<= 16	S
Ceftriaxone	8	R	Nitrofurantoin	<= 16	S
Cefepime	<= 0.12	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 20	R
Ertapenem	<= 0.12	S			

AES Findings	
Confidence:	Inconsistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 22, 2022 5:11:30 AM AST

Patient Name: 3,

Patient ID: 1009

Location:

Physician:

Lab ID: ab909

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella Pneumoniae*

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.90 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 0627734557532000	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 10.48 hours	Status: Final
----------------------------	----------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Amoxicillin/Clavulanic Acid	>= 32	R	Imipenem	0.5	R
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Meropenem	<= 0.25	S
Cefazolin	>= 64	R	Amikacin	2	S
Cefuroxime	>= 64	R	Gentamicin	<= 1	R
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	Ciprofloxacin	<= 0.06	R
Ceftazidime	2	S	Fosfomycin	>= 256	R
Ceftriaxone	>= 64	R	Nitrofurantoin	<= 16	S
Cefepime	0.5	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	R
Ertapenem	<= 0.12	S			

AES Findings	
Confidence:	Inconsistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 23, 2022 5:16:34 AM AST

Patient Name: 2, .
 Location:
 Lab ID: ab921

Patient ID: 1030
 Physician:
 Isolate Number: 1

Organism Quantity:
 Selected Organism : **Klebsiella Pneumoniae**

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 5.13 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Klebsiella Pneumoniae	Bionumber: 536413375773771
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 18.17 hours	Status: Final
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Levofloxacin	0.5	*R	Vancomycin	>= 32	R
+Azithromycin		R	+Doxycycline		R
+Clarithromycin		R	+Minocycline		R
Erythromycin	>= 8	R	Tetracycline	>= 16	R
+Lincomycin		R	Nitrofurantoin	128	R
Teicoplanin	>= 32	R			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 23, 2022 5:19:13 AM AST

Patient Name: 7, .
 Location:
 Lab ID: ab920

Patient ID: 1029
 Physician:
 Isolate Number:

Organism Quantity:
 Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.83 hours	Status: Final
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 2627735553573155	Staphylococcus aureus
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 3.10 hours	Status: Final
----------------------------	---------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	+Imipenem		R
Benzylpenicillin		R	+Meropenem		R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	Gentamicin	<= 0.8	S
+Ampicillin/Sulbactam		R	Tobramycin	<= 1	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Levofloxacin		S
+Cloxacillin		R	Moxifloxacin	0.7	S
+Methicillin		R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
Oxacillin		R	+Azithromycin		S
+Cefadroxil		R	+Clarithromycin		R
+Cefalexin		R	Erythromycin	>= 10	R
+Cefuroxime		R	Clindamycin	>= 10	R
+Cefmetazole		R	+Lincomycin		R
+Cefoxitin		R	+Daptomycin		S
+Cefixime		R	Teicoplanin	>= 30	R
+Cefpodoxime		R	Vancomycin	>= 32	R
+Cefmenoxim		R	+Doxycycline		R
+Cefoperazone		R	Tetracycline	>= 18	R
+Cefotaxime		R	Nitrofurantoin	132*	R
+Ceftazidime		R	Fusidic Acid		S
+Ceftizoxime		R	Rifampicin	>= 32	R
+Ceftriaxone		R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	21	S
+Cefepime		R			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 23, 2022 5:15:12 AM AST

Patient Name: 6, .
 Location:
 Lab ID: ab919

Patient ID: 1028
 Physician:
 Isolate Number:

Organism Quantity:
 Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.87 hours	Status: Final
Selected Organism	98% Probability Bionumber: 2627735553573150	Staphylococcus aureus
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 9.33 hours	Status: Final
-----------------------------------	----------------------------------	----------------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	+Imipenem		R
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	+Meropenem		R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	Gentamicin	<= 0.8	S
+Ampicillin/Sulbactam		R	Tobramycin	<= 1	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Levofloxacin		R
+Cloxacillin		R	Moxifloxacin	0.7	S
+Methicillin		R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
Oxacillin		R	+Azithromycin		S
+Cefadroxil		R	+Clarithromycin		R
+Cefalexin		R	Erythromycin	>= 10	R
+Cefuroxime		R	Clindamycin	>= 8	R
+Cefmetazole		R	+Lincomycin		R
+Cefoxitin		R	+Daptomycin		S
+Cefixime		R	Teicoplanin	>= 30	R
+Cefpodoxime		R	Vancomycin	>= 32	R
+Cefmenoxim		R	+Doxycycline		R
+Cefoperazone		R	Tetracycline		R
+Cefotaxime		R	Nitrofurantoin	135*	R
+Ceftazidime		R	Fusidic Acid		S
+Ceftizoxime		R	Rifampicin	>= 32	R
+Ceftriaxone		R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	22	S
+Cefepime		R			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 23, 2022 5:12:25 AM AST

Patient Name: 5, .
Location:
Lab ID: ab918

Patient ID: 1027
Physician:
Isolate Number:

Organism Quantity:
Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source:

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.89 hours	Status: Final
Selected Organism	98% Probability Bionumber: 0427732553573173	Staphylococcus aureus
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 9.84 hours	Status: Final
----------------------------	---------------------------	---------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	+Imipenem		R
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	+Meropenem		R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	Gentamicin	<= 0.8	S
+Ampicillin/Sulbactam		R	Tobramycin	<= 1	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Levofloxacin	0.5	S
+Cloxacillin		R	Moxifloxacin	0.7	S
+Methicillin		R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
Oxacillin	>= 4	R	+Azithromycin		S
+Cefadroxil		R	+Clarithromycin		S
+Cefalexin		R	Erythromycin	>= 10	R
+Cefuroxime		R	Clindamycin	>= 8	R
+Cefmetazole		R	+Lincomycin		R
+Cefoxitin		R	+Daptomycin		S
+Cefixime		R	Teicoplanin	>= 30	R
+Cefpodoxime		R	Vancomycin	>= 32	R
+Cefmenoxim		R	+Doxycycline		R
+Cefoperazone		R	Tetracycline	>= 16	R
+Cefotaxime		R	Nitrofurantoin	130*	R
+Ceftazidime		R	Fusidic Acid	>= 28	R
+Ceftizoxime		R	Rifampicin	>= 32	R
+Ceftriaxone		R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	25	S
+Cefepime		R			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction

Laboratory Report

bioMérieux Customer:

System #:

Patient Name: 2, .

Isolate: ab915

Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Printed by: Labadmin

Patient ID: 1024

Organism Quantity:

Selected Organism: Staphylococcus aureus

Identification Information	Analysis Time: 4.87 hours	Status: Final
Selected Organism	98% Probability Bionumber: 3555357315026277	Staphylococcus aureus
ID Analysis Messages		

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Tobramycin	<= 1	S
Benzylpenicillin		R	+Ciprofloxacin		R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	+Enrofloxacin		
+Ampicillin/Sulbactam		R	Levofloxacin	2	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Moxifloxacin	<= 0.25	S
+Cloxacillin		R	+Norfloxacin		R
+Methicillin		R	+Ofloxacin		
Oxacillin	>= 4	R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
+Cefadroxil		R	+Azithromycin		S
+Cefalexin		R	+Clarithromycin		R
+Cefuroxime		R	Erythromycin	>= 8	R
+Cefmetazole		R	Clindamycin	>= 8	R
+Cefoxitin		R	+Lincomycin		R
+Cefixime		R	Linezolid	>= 8	
+Cefpodoxime		R	+Daptomycin		S
+Cefmenoxim		R	Teicoplanin	1*	*R
+Cefoperazone		R	Vancomycin	>= 32	R
+Cefotaxime		R	+Doxycycline		R
+Ceftazidime		R	+Minocycline		
+Ceftizoxime		R	Tetracycline	>= 16	R
+Ceftriaxone		R	Tigecycline	<= 0.12	S
+Cefepime		R	Fosfomycin		
+Imipenem		R	Nitrofurantoin	<= 16	S
+Meropenem		R	Fusidic Acid		R
+Amikacin			Mupirocin		
Gentamicin	<= 0.5	S	Rifampicin		R
+Kanamycin			+Trimethoprim		
+Neomycin			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole		S

* = AES modified ** = User modified

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02
 MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based
 AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC
 AES Parameter Last Modified: Jul 1, 2021 21:10 AST

Laboratory Report

bioMérieux Customer:

System #:

Patient Name: 3, .

Isolate: ab916

Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Printed by: Labadmin

Patient ID: 1025

Organism Quantity:

Selected Organism: *Staphylococcus aureus*

Identification Information	Analysis Time: 4.87 hours	Status: Final
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 3573150262773555	<i>Staphylococcus aureus</i>
ID Analysis Messages		

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Tobramycin	<= 3	S
Benzylpenicillin		R	+Ciprofloxacin	<= 2	R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	+Enrofloxacin		
+Ampicillin/Sulbactam		R	Levofloxacin	2	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Moxifloxacin	<= 0.19	S
+Cloxacillin		R	+Norfloxacin		S
+Methicillin		R	+Ofloxacin		
Oxacillin		R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
+Cefadroxil		R	+Azithromycin		S
+Cefalexin		R	+Clarithromycin		R
+Cefuroxime		R	Erythromycin	>= 9	R
+Cefmetazole		R	Clindamycin	>= 11	R
+Cefoxitin		R	+Lincomycin		R
+Cefixime		R	Linezolid	>= 8	
+Cefpodoxime		R	+Daptomycin		S
+Cefmenoxim		R	Teicoplanin	2	R
+Cefoperazone		R	Vancomycin	>= 29	R
+Cefotaxime		R	+Doxycycline		R
+Ceftazidime		R	+Minocycline		
+Ceftizoxime		R	Tetracycline	>= 10	R
+Ceftriaxone		R	Tigecycline	<= 0.15	S
+Cefepime		R	Fosfomycin		
+Imipenem		R	Nitrofurantoin	<= 16	S
+Meropenem		R	Fusidic Acid	3	S
+Amikacin			Mupirocin		
Gentamicin	<= 0.5	S	Rifampicin	>= 25	R
+Kanamycin			+Trimethoprim		
+Neomycin			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole		S

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02

MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based

AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Phenotypic

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC

AES Parameter Last Modified: Jul 1, 2021 21:10 AST

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed July 23, 2022 5:09:14 AM AST

Patient Name: 4, .
 Location:
 Lab ID: ab917

Patient ID: 1026
 Physician:
 Isolate Number: 1

Organism Quantity:
 Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source:

Collected:

Comments:	

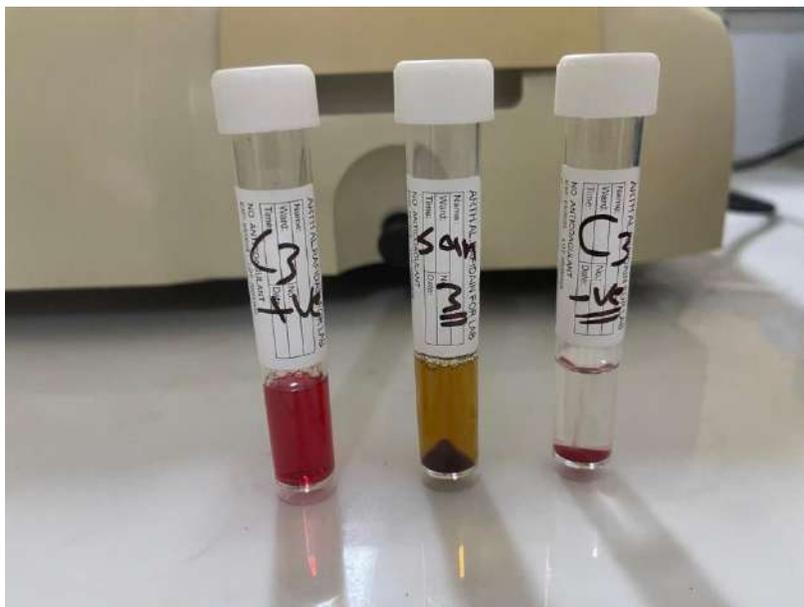
Identification Information	Analysis Time: 4.87 hours	Status: Final
Selected Organism	98% Probability Bionumber: 2627735553573150	Staphylococcus aureus
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 8.87 hours	Status: Final
-----------------------------------	----------------------------------	----------------------

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	+Imipenem		R
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	+Meropenem		R
+Amoxicillin/Clavulanic Acid		R	Gentamicin	<= 0.5	S
+Ampicillin/Sulbactam		R	Tobramycin	<= 1	S
+Piperacillin/Tazobactam		R	Levofloxacin	0.5	S
+Cloxacillin		R	Moxifloxacin	0.5	S
+Methicillin		R	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
Oxacillin	>= 4	R	+Azithromycin		S
+Cefadroxil		R	+Clarithromycin		R
+Cefalexin		R	Erythromycin	>= 8	R
+Cefuroxime		R	Clindamycin	>= 8	R
+Cefmetazole		R	+Lincomycin		R
+Cefoxitin		R	+Daptomycin		S
+Cefixime		R	Teicoplanin	>= 32	R
+Cefpodoxime		R	Vancomycin	>= 32	R
+Cefmenoxim		R	+Doxycycline		R
+Cefoperazone		R	Tetracycline	>= 16	R
+Cefotaxime		R	Nitrofurantoin	128*	R
+Ceftazidime		R	Fusidic Acid	>= 32	R
+Ceftizoxime		R	Rifampicin	>= 32	R
+Ceftriaxone		R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	20	S
+Cefepime		R			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent with correction



ملحق رقم (8) السمية الخلوية لمستخلص الشاي الأخضر

S.a120	S.a93	S.a40	S.a119	S.a55	S.a95	S.a87	S.a20	S.a99	S.a115	S.a 38	S.a85	S.a54	S.a10	S.a33	S.a50	S.a 67	S.a89	S.a101	رقم العزلة المضاد الحيوي	ت	
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	FOX	1
R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	P	2
R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	CN	3
S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	S	S	STX	4
R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	CIP	5
R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	DXT	6
S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	LEV	7
S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	AZM	8
R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	TE	9
R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	RD	10

جدول رقم (5) : اختبار حساسية عزلات بكتريا Staphylococcus aureus

K.P 117	K.P89	K.P88	k.P 69	K.P54	K.P42	K.P31	K.P106	K.P15	K.P28	k.p34	k.p17	k.p22	k.p76	k.p83	k.p91	k.p110	k.p112	رقم العزلة	ت
																		المضاد الحيوي	
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	FOX	1
S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	P	2
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	AK	3
R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	CTX	4
R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	LEV	5
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	IMI	6
R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	CRO	7
S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	CIP	8
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	AZM	9
R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	DXT	10
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	TE	11
R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	CN	12

ملحق رقم (6) : اختبار حساسية عزلات بكتريا *Klebsiella pneumoniae*

Summary

120 bacterial isolates were obtained from 128 swabs of patients with tonsillitis in the holy city of Karbala, and after conducting tests by biochemical diagnostic methods, it was found that these isolates include *Staphylococcus* Spp, *Streptococcus* Spp, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* Spp, *Pseudomonas* Spp, and the highest numbers were *Staphylococcus aureus* numbered 19 isolates and 18 isolates of *Klebsiella pneumoniae*. When these isolates were subjected to an antibiotic sensitivity test by measuring the diameter of inhibition around the discs, all of them were multi-drug resistant (MDR).

It appeared that there are (6) isolates of *S. aureus* and (7) isolates of *K. pneumoniae* that have a strong ability to build biofilm after examining them by titer plate - Micro plate (MTP) test.

After subjecting the selected isolates of *S. aureus* and *k. pneumoniae* assay using the VITEK-2 compact system, the diagnostic results appeared to be identical to the initial diagnosis and to the results of the antibiotic susceptibility test.

The inhibitory effects of the hot aqueous extract of Green Tea, Carnation, Liquorice, and Cinnamomum verum were investigated at concentrations (10, 20, 40, 60, 80, and 100) mg/ml. *aureus* compared with the rest of the remaining plant extracts, and the rest of the extracts did not show any activity against *K.pnuemoniae* bacteria isolates.

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value for green tea extract was determined at a concentration of 8 mg/ml against *S. aureus* and 36 mg/ml against *K.pneumoniae*.

The cytotoxicity of green tea extract was also studied, as the percentage of toxicity was 8%. It was found that the results were good and there was no hemolytic

activity against human red blood cells, as Green Tea leaves consumed naturally and in doses ranging from one or two cups per day are safe and not It results in no toxicity or harmful effects, due to the ability of the phenolic compounds present in Green Tea to protect red blood cells from decomposition. The cytotoxicity of green tea extract was also studied and the results were good, as green tea leaves consumed naturally and in doses ranging from one or two cups per day are safe and do not result in any toxicity or harmful effects.



Karbala University

College of Science

Department of biology

**Antibacterial activity of extracts of some medicinal plants
against multi-drug resistant (biofilm forming) pathogenic
bacteria clinically isolates.**

A thesis

Submitted to the council of the

College of Science – University of Kerbala

In partial fulfillment of requirements for degree of Master of Science in
Biology

By

Rowaida Adel Hamzah Al-Mutairi

Supervised By

Professor Dr. Najeh Hashem Kadhum

1444 A.H.

2023 A.D.