الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

دراسة مقارنة بين تأثير بعض المستخلصات النباتية وبعض المضادات الحيوية على أنواع الجنس Staphylococcus المعزولة من منطقة المنخرين بين طلاب وطالبات جامعة تكريت

حنين فاضل عباس الداوودي ، عبدالكريم فتاح عمر ، ايوب جمعة عبدالرحمن البياتي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية:

الاسم: حنين فاضل عباس الداوودي

البريد الاليكتروني:

رقم الهاتف:

الملخص

شملت الدراسة الحالية جمع 100 عينة من منطقة المنخرين بعض طلاب وطالبات جامعة تكريت، وقد اخذت العينات من الفئات العمرية بين (18–24) سنة، وقد أجريت الدراسة في الفترة من بداية شهر التاسع 2017 ولغاية شهر الواحد 2018، كانت عدد العينات التي اعطت نمواً ايجابياً 80 %، وقد تم تشخيص العينات إعتماداً على خواصها المورفولوجية والمزرعية والكيموحيوية، وأظهرت النتائج ظهور عدد المكورات العنقودية الذهبية *Staph. Aureus* 55 عينة بنسبة 68.75% وتليها عدد العنقوديات البشرية *Staph.epidermidis* 25 عينة بنسبة 31.25%. أظهرت نتائج فحص مقاومة العزلات للمضادات الحيوية أن عزلات *Staph. aureus* مقاومة ل 5 أنواع من المضادات المستخدمة، وبكتريا *Staph.epidermidis* مقاومة ل7 أنواع من المضادات المستخدمة في الدراسة، اما بالنسبة للفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي للحبة السوداء عند تركيز 50 و 100 ملغم/مل. كانت عزلات *Staph. aureus* و *Staph.epidermidis* حساسة بنسبة 16 و 21 على التوالي، اما المستخلص المائي للحبة السوداء بتركيز 50 ملغم /ملم كانت *Staph.epidermidis* اكثر حساسية من *Staph. aureus* بينما حساسية العزلات متساوية لكلا النوعين عند تركيز 100 ملغم/ ملم.

1. المقدمة

الجهاز التنفسي هو الرابط بين المحيط الخارجي والجسم، حيث يحتوي على الكثير من انواع البكتريا والتي تكون جزءاً من النبيت الطبيعي Normal flor [1]. أن الاحياء المجهرية تلعب دوراً بارزاً في اصابة الجهاز التنفسي العلوي ومن الدراسات السابقة يتبين أن لهذه الاصابة تأثيراً اقتصادياً مهماً اذ أن المعالجة الزائدة وغير المهمة لها تساهم في احداث الكثير من المشاكل من اهمها تطور مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية [2]. أن من أهم البكتريا التي تصيب الجهاز العلوي هي العنقوديات Staphylocci يعد جنس المكورات العنقودية Staphylococcus من أهم بكتريا عائلة المكورة الدقيقة Micrococcaceae من الناحية الطبية ، اذ تعد واسعة الانتشار في الطبيعة حيث توجد على الجلد والاغشية المخاطية للانسان والقناة الهضمية والقناة التنفسية العليا وفي الهواء وفي التربة [3] واهمها هي *Staph. aureus* التي لها القسم الاكبر في اصابة الانف وقدرتها على احداث اصابة اللوزتين وتكون لها القدرة على المعيشة في الانسجة الطلائية للانف تكون متعايشة وعند الظروف الملائمة تصبح محدثة للاصابة وتكون انتهازية [4].

لقد كان لأكتشاف هذه المضادات اثر مهم في تحديد واقلال انتشار هذه الامراض وهذا شجع على انتاج كميات كبيرة من المضادات الحيوية لكي تساعد في التخلص من البكتريا [5] وفي الوقت الحاضر اصبحت للبكتريا قدرة كبيرة على مقاومة المضادات الحيوية مما ادى الى تقليل قابلية المضاد الحيوي في قتل البكتريا وجعل العلاج باستخدام المضادات غير فعالة ومن جانب اخر فأن مقاومة البكتريا للمضاد الحيوي تكون قابلة للانتقال من جنس بكتيري الى اخر [6] . تعد مقاومة البكتريا للمضاد الحيوي تهديد حقيقي في الكثير من الحالات المرضية في كثير من بلدان العالم [7].

إن العديد من النباتات تمتلك فعالية تثبيطية ضد الكائنات الممرضة لاحتوائه على مركبات وعناصر فعالة إضافة الى قلة تأثيراتها الجانبية وفقدان الجراثيم من مقاومتها ،لقد اجريت العديد من الدراسات حول

استخدام المستخلصات النباتية في تثبيط نمو او قتل الأحياء المجهرية كونه علاج اقتصادي أمين وذو كفاة عالية [8] . استعملت النباتات والاعشاب الطبية ومستخلصاتها في علاج الكثير من الامراض وخاصة لعلاج امراض الجهاز التنفسي [9] جمعت 100 عينة أخذت من الجهاز التنفسي العلوي (الأنف) ، وقد أخذت هذه العينات من بعض طلاب وطالبات لبعض كليات جامعة تكريت، وبأعمار من 18 –24 سنة وفي هذه الدراسة أستخدمت بذور الحبة السوداء *Nigell sativa* L. seed أو مايعرف بحبة البركة وهي من النباتات الطبية وجد [10] دور تثبيطي لمستخلص نبات الحبة السوداء بتراكيز 50 و100 % في نمو بكتريا *S. epidermidis* و *E.coli*.

الهدف من دراستنا الحالية هو :

1- عزل أنواع البكتريا الهوائية من منطقة المنخرين وتشخيصها بين طلاب وطالبات جامعة تكريت .

2- تحديد نوع المواد الفعالة وتركيزها في نباتي الحبة السوداء ونبات إكليل الجبل.

3- دراسة التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية والكحولية لبذور الحبة السوداء وأوراق إكليل الجبل على أنواع البكتريا المعزولة خلال الدراسة الحالية ومقارنتها بالمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام .

2. اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotics Sensitivity test

إجرى اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على العزلات قيد الدراسة بطريقة الانتشار بالإقراص وبحسب طريقة Kirby-Baure method المعدلة والموصوفة من قبل منظمة الصحة العالمية [11] ، واستخدمت 10 أنواع من اقراص المضادات الحيوية ، باستخدام وسط Mueller hinton agar ، أذ حضر معلق من عزلات بكتيرية ونقل عدداً من المستعمرات النقية إلى انابيب حاوية على وسط Nutrient broth ، وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة 35 م^0 لمدة 18– 24 ساعة ، وبعدها تم مقارنة النمو في الانابيب مع الانابيب الحاوية على محلول ماكفرلاند والذي يساوي 1.5* 8 خلية / مل ، ونشرت البكتريا باستخدام ماسحة قطنية معقمة على وسط آكار مولر هنتون ، ثم تركت لمدة 15 دقيقة لتجف الاطباق وبعدها وزعت اقراص المضادات الحيوية بملقط معقم على الوسط ، وحضنت الاطباق لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م^0 ، ثم قورنت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط ومقارنته بالجداول القياسية والمحددة من [12] قبل وذلك لمعرفة البكتريا المقاومة والحساسة والمعتدلة للمضادات الحيوية.

جدول (1) المضادات الحيوية المستخدمة

Antibiotics	Potency (µg /disc)	Diameter of inhibition zone (mm)		
		Resistant	Intermediate	Sensitive
Oxacillin (Oxoid ,UK)	1	≤ 18	19 – 20	≥ 21
Penicillin G (Oxoid ,UK)	25	≤ 24	–	≥ 25
Clindamycin(Oxoid ,UK)	30	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Vancomycin (Oxoid ,UK)	30	≤ 14	–	≥ 15
Amocillin / Clavulanic acid (Oxoid ,UK)	1,23	≤ 19	–	≥ 20
Azithromycin (Oxoid ,UK)	30	≤ 19	–	≥
Trimethoprim (Oxoid ,UK)	5	≤ 19	–	≥ 20
Ciprofloxacin(Oxoid ,UK)	1	≤ 13	–	≥ 14
Tetraycycline (Oxoid ,UK)	30	≤ 30	–	≥ 31
pipracilin (Oxoid ,UK)	75	≤ 20	21– 22	≥ 23

. British Society for Antimicrobial Chemotherapy, Standing Committee on Susceptibility Testing. Version 14.0, 05-01-2015.

3- جمع النباتات وتحضيرها

جمعت النباتات من الأسواق المحلية في مدينة تكريت ، ثم نقلت إلى المختبر، تم تنظيفها وجففت بالظلام بعد أن وضعت في اواني نظيفة بحرارة المختبر مع التقليب المستمر لمنع تعفنها ، ثم طحنت جيداً، وحفظت، في ظروف خالية من الرطوبة لحين بدء عمل المستخلصات النباتية منها .

3-1 تحضير المستخلصات النباتية Preparation of Plant Extracts

تم تحضير المستخلص المائية والكحولية لنبات، حضرت المستخلص بوضع 75 غم من مسحوق بذور الحبة السوداء، في دورق زجاجي سعتة 1000 مللي لتر ، واضيف إليه 500 مل من الماء المقطر المغلي ، ووضع الدورق في حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م^0 ، ثم رشح المستخلص بإستخدام قمع بخنر الحاوي على عدة طبقات من الشاش الطبي لإزالة إجزاء النباتات الكبيرة ، فضلاً عن ترشيحة بإستخدام اوراق الترشيح Whatman No-1 ، نبذ الراشح بإستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2500 دورة لكل دقيقة ، لمدة 15 دقيقة ، كما تم تركيز الراشح بإستخدام فرن كهربائي بدرجة حرارة 37 م^0 لحين حصول الجفاف التام للمستخلص ، وتم الأحتفاظ بالنموذج الجاف في الثلاجة حتى الأستخدام [13] .

3-2 فصل مكونات الزيت الطيار لبذور الحبة السوداء الجبل بتقنية HPLC

3-2-1 تحضير المحاليل / استعملت طريقة الاستخلاص الكحولي للحصول على المركبات الفعالة في بذور الحبة السوداء وتمت هذا الطريقة على ضوء وصفها باستخدام 2 غم من البذور المطحونة واذابتها في 20 مل ميثانول وتم الترشيح باستخدام اوراق (1) وجمع

الراشح المحتوي على المواد الفعالة ووضع في انابيب محكمة الغلق لأجراء القياسات عليها بتقنية HPLC .

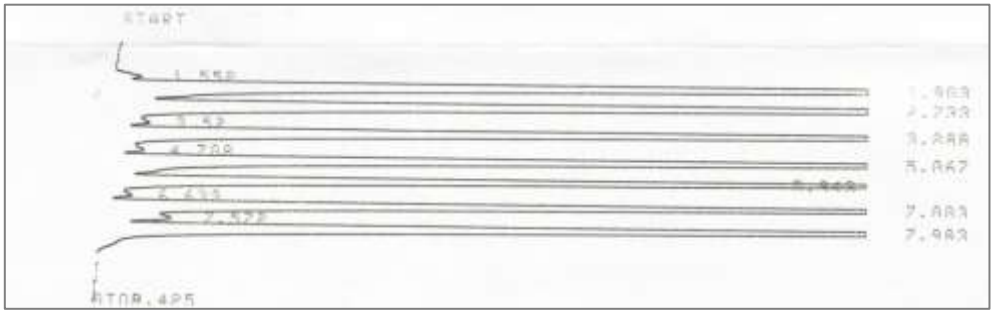
2-2-3 تحديد نوع وتركيز المواد الفعالة / تم معرفة نوع وكمية المواد الفعالة في الزيت الطيار لبذور الحبة السوداء في مختبرات قسم الكيمياء وزارة العلوم والتكنلوجيا بأستعمال جهاز HPLC المجهز من شركة Shimadzu نوع LC-10A 2000 المزود بمقياس الطيف بالاطوال الموجية المتغيرة Spd- Spectrophotometer 6A-Uv. ثم حقن 20 مايكرو مل من الراشح المحتوي على المواد الفعالة في عود الجهاز HPLC ذات ابعاد (50 x 4.6mm I.D) بواسطة الحاقن injector وسجلت البيانات بواسطة الحاسبة التي تقوم الكروموتوغراف جدول(1) وتم استخدام المحاليل القياسية لنبات الحبة السوداء كما وتم فصل المحاليل القياسية والتعرف على مساحة الحزمة النموذج القياسي Peak area ووزن الأحتجاز Retention time وارتفاع الحزم . ثم تم قياس زمن احتجاز ومساحة وارتفاع الحزم الناتجة من حقن العينات ، بعد ذلك تمت مقارنة الحزم التي حصلنا عليها مع حزم المحلول القياسي الناتجة تحت الظروف نفسها [14] ثم تم حساب تركيز المركبات في النموذج وفق وحسب المعادلة التالية، تركيز المركب في العينة = مساحة حزمة المركب/ مساحة حزمة النموذج x تركيز النموذج القياسي x(25) معامل التخفيف.

جدول(2) ظروف الفصل الكروموتوغرافي في جهاز ال HPLC لمركبات الزيت الطيار في بذور نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* .

العمود	عمود الطور المعكوس (50x2.0 mm I.D)
الطور المتحرك	Acetonitrile (50.4) : tetrohydrofuran 0.1% (1.6) : phosphoric acid (28) v\v
سرعة الجريان	1.5 مل / دقيقة
نوع الكاشف	الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 215 nm
درجة الحرارة	20 $م^0$
سرعة ورقة التسجيل على الحاسبة	10 ملم / دقيقة
حجم الحشوة	3 مايكرومل

جدول (3) يبين زمن الاحتجاز ومساحة الذروة والتركيز لمركبات المحلول القياسي لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa*

المركبات	زمن الاحتجاز	مساحة الذروة	التركيز µg/ml
Nigellon	1.90	273831	25
Picymen	2.73	269364	25
Alph-pineue	3.88	237781	25
Thimohydro quinone	5.07	241321	25
Carotetine	7.983	227797	25



شكل (1) يبين زمن الاحتجاز ومساحة الذروة لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa*

3-2-3 اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية ضد البكتريا (قطر منطقة التثبيط)

إستخدمت طريقة الأنتشار في الاكار Agar diffusion method بوساطة الحفر Wells لإختبار حساسية البكتريا للمستخلصات النباتية عند تراكيز 25 ، 50 ، 100 ، ملغرام /مل في الحفرة من الوسط الزرعي، وتضمنت الطريقة عمل ثلاث حفر بابعاد متساوية 5mm في وسط مولر – هنتون الصلب ، بواسطة ثاقب فليني، بعدها زرع 0.1 مل من العالق البكتيري بتركيز 1 غرام لكل 10 مل ماء على الوسط، ثم تركت الاطباق في الثلاجة لمدة ساعة واحدة ، ثم وضعت محاليل النباتات بمقدار 0.2 مل لكل حفرة ، ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 $م^0$ لمدة 24 ساعة، وقرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibitition Zone، [15].

4- النتائج والمناقشة

4-1 الفحص المجهري Microscopical examination

يعد الفحص المجهري من الاختبارات الأولية للتشخيص وقد تبين بان المسحات البكتيرية المصبوغة بصبغة كرام هي عبارة عن خلايا موجبة

لصبغة كرام كروية الشكل إذ ظهرت العنقوديات بشكل عناقيد غير منتظمة [16] .

2-4 الخصائص الزرعية Cultural characteristics

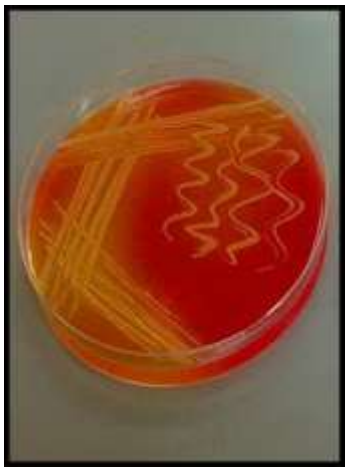
زرعت العينات على الأوساط الزرعية وتمت مراقبة ظهور النمو على هذه الأوساط بدارسه أشكال المستعمرات النامية ، إذ ظهرت المكورات العنقودية على وسط أكار الدم Blood agar بشكل مستعمرات صغيرة بيضاء محدبة نوعاً ما [17] .

3-4 الفحوصات الكيموحيوية

4-3-1 فحص الكتاليز/ بينت نتائج الفحص الأولي بأن جميع عزلات المكورات العنقودية كانت موجبة لفحص الكتاليز وهذا يتطابق مع ما ذكره الباحث [18] والباحثة [19] وذلك بظهور فقاعات هوائية عند نقل جزء من المستعمرة إلى قطرة من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2، إذ يعد هذا الاختبار ضرورياً في تشخيص المكورات العنقودية الموجبة لهذا الفحص ، ولتمييزها عن عائلة *Streptococcaceae* السالبة لهذا الفحص .حيث يستعمل هذا الفحص لتفريق بين *Staphylococcus* و *Micreococci* و *Neissria* المنتجة للكاتاليز عن *Streptococcus* غير المنتجة ولاسيما عندما يصعب تمييزها.

4-3-2 فحص الاوكسيديز/ أعطت جميع العزلات قيد الدراسة النتيجة السالبة لهذا الفحص.

4-3-3 تخمر المصادر الكاربوهيدراتية/ إن جميع عزلات العنقوديات قد تم تنميتها على وسط المانيتول فأعطت فحصاً موجباً لتخمير سكر المانيتول بظهور مستعمرات والوسط المحيط بها يكون أصفر اللون دلالة على تكوين حامض نتيجة لتخمر سكر المانيتول وتغير pH الوسط من المتعادل إلى الحامضي بفعل نشاط هذه البكتريا كما هو موضح في الشكل (4-1) هذه النتائج مطابقة مع الباحثة [19]، أما بكتريا العنقوديات البشروية *Staph. epidermidis* فإنها لم تتمكن من تخمير سكر المانيتول وكما موضح في الشكل (4-2) وتأتي هذه النتائج مطابقة لما ذكره الباحث [18] .



شكل (2) مستعمرات النوع *Staph. aureus* المخمرة للمنيتول الملحي

شكل (3) مستعمرات النوع Staph. epidermidis المخمرة للمنيتول الملحي

جدول (4) عدد وانواع البكتريا المعزولة من الأنف ونسبها المئوية

ت	العزلات البكتيرية	عدد العزلات	النسبة المئوية %
1	*Staph. aureus*	55	%55
2	*Staph. epidermidis*	25	%25
	المجموع	80	%80

سجلت نتائج الدراسة الحالية نسبة عزل نمو البكتريا الايجابي 80% كفلورا طبيعية للانف وهي نسبة كبيرة جداً مقارنة بما حصل عليه [18] في دراسته اذ سجل نسبة 14.2%، وتعد كبيرة ايضاً مقارنة بما حصلت عليه كلاً من [21،20]، إذ سجلت نسبهم 6.2% و2.8% لأصابة الانف على التوالي.

4 – 4 البكتريا المعزولة من اخماج السبيل التنفسي العلوي :

4-4-1 جنس المكورات العنقودية Staphylococcus

أظهرت النتائج عزل (55) عزلة من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Stap h.aureus* و(25) عزلة من بكتريا العنقوديات البشروية *Staph. epidermidi* وقد احتلت المكورات الذهبية النسبة الأعلى (55%) كما هو موضح في جدول (4-2) أن بكتريا المكورات الذهبية *Staph. aureus* تقوم بدور مهم في أخماج السبيل التنفسي العلوي، ومما يؤكد ذلك عزلها بصورة نقية من تلك الإخماج وإنّ هذا النوع *Staph. aureus* موجودٌ في السبيل التنفسي وهي بكتريا انتهازية تشترك في أخماج الجهاز التنفسي العلوي السفلي[22]. وأشار [23]إلى إمكانية عزل *Staph. aureus* من التهاب الجيوب الأنفية، وذكر [24] بأنها تعد من المسببات الرئيسة لالتهاب الجيوب الأنفية 60 %، وهذا أيضاً مطابق لما أشار إليه حول الإصابة الثانوية الناتجة عن الإصابة بالعنقوديات الذهبية والتي تحصل بعد أن يتعرض الشخص لمرض الأنفلونزا واتفقت نتائج دراستنا الحالية مع ما توصلت إليه كلاً من [20] و[25] إذ عزلوا المكورات العنقودية من 13, 14 مريض على التوالي كانوا قد تعرضوا لنزلة برد.

4-5 حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية Sensetive of bacteria to antibiotics

تم اختبار حساسية عزلات بكتريا العنقوديات قيد الدراسة اتجاه (10) نوع من المضادات الحيوية ، وقد أظهرت النتائج أن العزلات تتباين في حساسيتها مقاومتها إتجاه المضادات الحيوية المستخدمة حسب استخدام الشخص للمضادات مسبقاً، وقد تم التحري عن حساسية العزلات للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار من القرص (Kirby-Bauer methods) وتم الاعتماد على قياس قطر منطقة التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية المستخدمة في تحديد مدى حساسية هذه العزلات للمضادات و أظهرت نتائج دراستنا الحالية أن افراد النوع *Staph. aureus* ذات حساسية عالية للمضادات Ciprofloxacin (95%) و Clidamycin (80%) ، وايضاً كانت حساسة Vancomycin (75%) ، وحساسية معتدلة لكلاً من المضادات Amoxillin / Clavulanic acid (50%) و Trimethoprime (60%) و Azithromycin (65%) ، وكانت مقاومة إتجاه المضادات الأخرى مثل Tetracyclin , Oxacillin, Pencillin G, Pipracillin, بنسب مقاومة (40% ، 30% ، 20% ، 15%) على التوالي، أما النوع *Staph. epidermdis* فقد كانت حساسة لل Ciprofloxacin بنسبة (90%) وحساسة لل Clindamycin بنسبة (70%) وأظهرت حساسية معتدلة إتجاه و Azithromycin بنسب (50%) وكانت مقاومة لبقية المضادات الاخرى.

4-5-1 حساسية المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية :

Ciprofloxacin / بلغت نتائج دراستنا الحالية حساسية عالية لبكتريا *Staph. aureus* إتجاه المضاد بنسبة (95%) حيث اتفقت مع دراسة [26] حيث كانت نسبة حساسية البكتريا (90%) واتفقت مع دراسة [26] إذ بلغت نسبة الحساسية (100%) ، وأختلفت نتائج دراستنا مع كل من[27،28،29] إذ كانت نسب المقاومة مقاربة في دراستهم (20.4% ، 13% ، 16.27%) على التوالي. اما **Clindamycin**/ بلغت نتائج الدراسة الحالية حساسية لبكتريا *Staph. aureus* إتجاه المضاد بنسبة (80%) وهذه النتيجة متقاربة لدراسة [18] حيث كانت النسبة في دراسته (100%) ، ولاتتفق نتائج دراستنا مع [30] إذ كانت النسبة (25%). أما **Azithromycin**/ أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن البكتريا *Staph. aureus* تمتلك حساسية معتدلة إتجاه المضاد بنسبة (65%) وهذا لم تتفق مع دراسة [31] حيث كانت نسبة المقاومة في دراستها (18.5%). اما **Trimethoprim**/ أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا *Staph. aureus* تمتلك حساسية معتدلة إتجاه المضاد بنسبة (60%) وهذه مقاربة مع دراسة [19] اذ كانت النسبة (41.6%)، ولم تتفق دراستنا مع دراسة [32] إذ كانت النسبة (100%). إما **Amoxicillin / Clavulanic acid**/ أظهرت نتائج دراستنا أن بكتريا *Staph. aureus* تمتلك حساسية معتدلة إتجاه المضاد بنسبة (50%) وهذه النتيجة مقاربة مع نتيجة خضر (2011) حيث بلغت النسبة في دراستها (66.7%) ، وتختلف نتائج دراستنا مع نتيجة [18] حيث كانت النسبة (80%) .اما **Penicilln G** / أظهرت نتائج دراستنا الحالية مقاومة بكتريا *Staph. aureus* إتجاه المضاد بنسبة (30%) وهذه النتيجة اتفقت مع دراسة [33] حيث كانت النسبة في دراستهم (24%)، ولم تتفق مع دراسة [19]حيث كانت النسبة في دراستها (50%).

Oxacillin / أظهرت نتائج الدراسة الحالية مقاومة البكتريا *Staph. aureus* إتجاه المضاد بنسبة (20%) وهذه تتفق مع دراسة خضر [31] حيث كانت النسبة في دراستها (37%) .اما **Tetracyclin** /أظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية البكتريا *Staph. Aureus* بنسبة (15%) حيث اتفقت مع نتيجة[31] اذ بلغت نسبة المقاومة (18.5%) وكذلك اتفقت نتيجة دراستنا مع دراسة خلف (2008) اذ كانت النسبة (24%)، بينما أختلفت نتائج دراستنا مع كل من [34]حيث كانت النسبة في دراسته (55%) .

Vancomycin / أظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية البكتريا *Staph. aureus* إتجاه هذا المضاد بنسب (75 %) وهذه تتفق مع دراسة [18] حيث كانت النسبة في دراسته (70.5%) ، وتتقارب مع دراسة الامين (2017) حيث كانت النسبة (50%) ولاتتفق مع دراسة [34] اذ كانت النسبة (30.6%)

4-5-2 حساسية المكورات العنقودية البشرية للمضادات الحيوية

Ciprofloxacin / أظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية بكتريا *Staph. epidermdis* إتجاه هذا المضاد بنسبة (90%) وهذه النتيجة لاتتفق مع دراسة [31] حيث كانت النسبة في دراستها (44.4%). اما **Clindamycin** / اظهرت نتائج الدراسة الحالية أن البكتريا *Staph. epidermdis* إتجاه هذا المضاد تمتلك حساسية معتدلة بنسبة (70%) وهذا لاتتفق مع دراسة [18] حيث كانت النسبة في دراسته (100%).

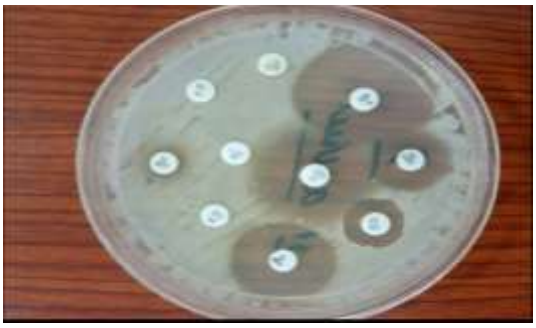
Tetracycline / اظهرت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا *Staph. epidermdis* تمتلك حساسية إتجاه هذا المضاد Tetracycline بنسبة (34%) وهذه النتيجة لا تتفق مع [35] حيث كانت النسبة في دراسته (15.6%) ولاتتفق مع [34، 25، 30] حيث كانت النسب في دراستهم (62.5%، 63.3%، 70%). اما **Amocillin/Clavulanic acid** / اظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية البكتريا *Staph.epidermdis* بنسبة (25%) إتجاه هذا المضاد Amocillin / Clavulanic acid وهذا لاتتفق مع دراسة خضر [31] حيث بلغت النسبة (55.6%) وايضاً لاتتفق مع دراسة [18] حيث بلغت النسبة (85.7%) .

Trimethoprm / اظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية البكتريا *Staph.epidermdis* إتجاه هذا المضاد بنسبة (30%) وهذه النتيجة مطابقة تماماً مع دراسة [34] حيث كانت النسبة (30%)، ولاتتفق مع دراسة [31] إذ كانت النسبة (59.3%) . اما **Azithromycin** / اظهرت نتائج دراستنا الحالية أن بكتريا

Staph.epidermdis تمتلك حساسية معتدلة إتجاه هذا المضاد بنسبة (50%) وهذه النتيجة متقاربة مع دراسة [31] حيث كانت النسبة في دراستها (74.1%) .

Oxacillin / اظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية بكتريا *Staph. epidermdis* إتجاه هذا المضاد بنسبة (28%) وهذه لم تتفق مع دراسة [31] حيث كانت النسبة (81.5%)، اما **Penicilln G** / اظهرت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا *Staph.epidermdis* تمتلك حساسية إتجاه هذا المضاد بنسبة (10%) وهذا لاتتفق مع ا[34] حيث كانت النسبة في دراسته (100%).

Vancomyocin / أظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية بكتريا *Staph.epidermdis*إتجاه المضاد بنسبة (40%) وهذه اتفقت مع دراسة [34]حيث كانت النسبة في دراسته (46.8%) .



شكل (5) حساسية عزلات *Staph. aureus* للمضادات الحيوية

شكل (6) حساسية عزلات *Staph epidermidis* للمضادات الحيوية

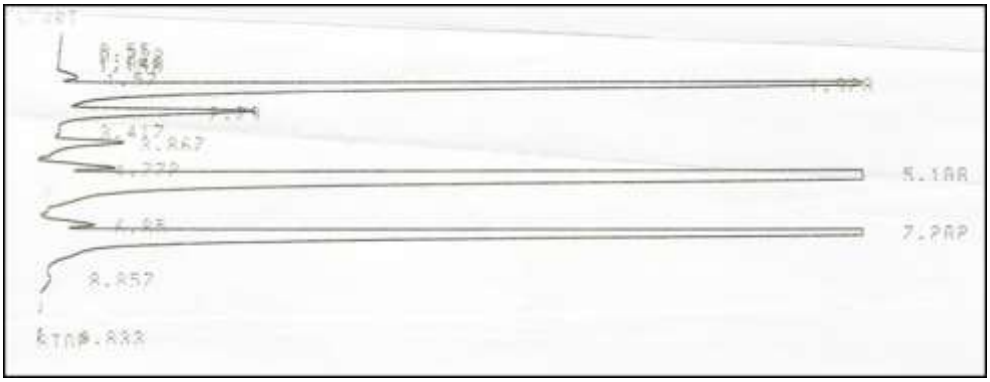
4-7 نوع وتركيز المركبات الفعالة

4-6 نوع وتركيز المركبات الفعالة في نبات الحبة السوداء .

يتبين من الجدول (6) والشكل (7) أن استخدام تقنية HPLC اظهر وجود مركبات Nigellon ,piycymen, alph-pinine, Thymohydroquinone, Thymol وكانت بتراكيز 79.45% ، 9.18% ، 6.47% ، 378 ، 207.67% على التوالي تؤكد نتائج الدراستنا ما ذكره [35] احتواء زيت الحبة السوداء على مركب Thymohydroquinone وهو من مشتقات الثايموكيتون .

جدول (6) يبين زمن الاحتجاز ومساحة الذروة والتراكيز لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa*

المركبات	زمن ا لأحتجاز	مساحة الذروة	تركيز µg/ml	تركيز %	معامل التخفيف
Nigellon	1.928	183796	839.00	79.45	50
Picymen	2.700	30871	143.25	9.18	50
Alph-pinine	3.867	13011	68.398	6.47	50
Thymoquinone	5.108	772058	3.99	378.69	50
Thymol	7.202	399787	2.19	207.67	50



شكل (7) يبين زمن الاحتجاز ومساحة الذروة والتراكيز لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa*

4-7 تأثير مستخلص بذور نبات الحبة السوداء في نمو العزلات البكتيرية: تشير نتائج الجدول (5) الى وجود أختلاف في معدلات اقطار التثبيط للعزلات البكتيرية بين المستخلص المائي والكحولي، وكذلك يبين التراكيز المستخدمة من المستخلصات إذ بلغ اعلى قطر تثبيط للعزلتين 18 (ملم) لدى إستخدام المستخلص المائي بتركيز 100% في حين بلغ اعلى قطر تثبيط للعزلتين 21 (ملم) لدى

إستخدام المستخلص الكحولي بالتراكيز نفسه. أن تفوق التراكيز 100% في كلتا المستخلصين يعود الى التراكيز العالية من المركبات الفعالة، من هذه المركبات الفعالة الثايموكينون Thymoquinone ($C_{10}H_{12}O_2$) ومشتقات الثايموهيدروكينون Thyimohydroquinone ($C_{10}H_{14}O_2$) وهذا الاخير له تأثير مضاد للأحياء الدقيقة من البكتريا الموجبة لصبغة كرام [36] كذلك احتوائه على مركبات فعالة كال ثايمول Thymol والفينولات Phenols بالإضافة الى مركبات أخرى ساهمت بشكل فعال في تثبيط نمو المجهريات المدروسة [37]، نتائجنا اتفقت من [38] الذي لاحظ تأثير مثبط لمركبات الحبة السوداء في نمو *Staph. aureus* وكذلك تتفق مع [39] اللذان اشارا الى وجود تأثير مثبط للزيت الطيار للحبة السوداء على نمو *S. aureus* كما تتطابق نتائج الدراسة الحالية مع [40] وأن تفوق المستخلص الكحولي ربما يعود الى قدرة الكحول على استخلاص اكبر كمية ممكنة من المواد الفعالة من النسيج النباتي تتفق النتائج مع [41] الذين اشارو الى افضلية المستخلص الكحولي في قتل الأحياء المجهرية وأختلفمع الباحث نفسه حيث اشار الى أن *Staph.aureus* اكثر تحسساً من *Staph. epidermidis*.

شكل(8) تأثير المستخلص المائي للحبة السوداء لبكتريا *Staph.aureus*

شكل (9) تأثير المستخلص المائي للحبة السوداء لبكتريا *Staph.epidermdis*

شكل (10) تأثير المستخلص الكحولي للحبة السوداء على البكتريا *Staph.epidermdi*

شكل(11) تأثير المستخلص الكحولي للحبة السوداء على البكتريا *Staph.aureus*

جدول (5) معدلات اقطار التثبيط (ملم) لعزلات البكتريا المعاملة بمستخلص الحبة السوداء

المستخلصات / العزلات البكتيرية	المائي			الكحولي		
	التراكيز (%)			التراكيز (%)		
	25	50	100	25	50	100
Staph. Aureus	9	13	18	12	16	21
Staph. Epidermidis	8	14	18	11	16	21

المصادر

[29] أحمد، سبلدا سعيد ياسين (2008). عزل وتشخيص مسببات أخماج الجروح ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية والمطهرات في مستشفى مدينة كركوك العام. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

[19] الامين، نور تحسين ذنون احمد (2017). تأثير المستخلص المائي والكحولي لنباتي الثوم والزنجبيل على بعض انواع البكتريا المعزولة من التهاب اللوزتين. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت.

[10] الثويني، امنة نعمة، سناء سلمان نصيف، صباح مهدي هادي (2010). تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتات القرنفل والحبة السوداء وعين البزون في نمو بعض الجراثيم المرضية. مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة 2 (1): 1-12.

[32] الجبوري، سامي حمد مجيد حمد (2012). عزل وتشخيص بعض انواع البكتريا المسببة لاخماج الجروح من مصابين في مستشفى تكريت التعليمي، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

[30] جرجيس، خانزاد خضر (2006). دراسة مقاومة أنواع من البكتريا المعزولة من المرضى لبعض المضادات الحياتية. كلية العلوم، الجامعة المستنصرية. رسالة ماجستير.

[18] حسين، احمد حامد مهدي شكران (2009). عزل وتشخيص بكتريا المكورات العنقودية والمسبحيات من التهابات الجهاز التنفسي

وحساسيتها للمضادات الحيوية، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة تكريت.

[31] خضر، هدى صالح (2011). دراسة بكتريولوجية ووراثية لبعض البكتريا المعزولة من أخماج الجهاز السفلي لدى البالغين في تكريت، اطروحة دكتوراة، كلية التربية، جامعة تكريت.

[34] الدوري، محمد نظير معروف (2009). دراسة وراثية وجزيئية لبعض أنواع المكورات الموجبة لصبغة كرام المقاومة للفانكومايسين. اطروحة دكتوراة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت.

[21] زيدان، أسراء علي (2007). دراسة بكتريولوجية ووراثية لبكتريا *Staphylococcus aureus* المقاومة لمضاد الحياة الفانكوميسين. كلية العلوم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير.

[25] السعدي، زينب نشأت (2001). دراسة بكتريولوجية ووراثية عن بعض الجراثيم الهوائية المعزولة من أخماج السبيل التنفسي. كلية التربية للبنات، جامعة تكريت. رسالة ماجستير.

[8] السيد، محمد درويش (2004). العلاج بالاعشاب الطبية، موسوعة علماء المسلمين المنظمة، علوم بيئة تقنية. جمهورية مصر العربية.

[9] الشحات، نصر ابو زيد (2006). فسيولوجيا وكيمياء النباتات الطبية واهميتها الدوائية والعلاجية، دار العربية للنشر والتوزيع – مصر.

[41] عبدالصاحب، رياض عبدالجبار، غازي منعم ،.(2008). تأثير المستخلص الخام لبذور الحبة السوداء في الأحياء المجهرية المعزولة من اصابات سريرية. المجلة العراقية للعلوم 49 (2): 72–81 .

[20] العوادي، براء قاسم (2000). دراسة سريرية ووراثية عن بعض البكتريا الهوائية المعزولة من إصابات البلعوم والأذن والأنف . رسالة ماجستير. كلية العلوم، جامعة بغداد.

[6] النعيمي، نجلاء عبد الله فتحي (2001). دراسة في تقيم دور مجموعة من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وجرثومة *Mycoplasma pneumonia* في الاصابات التنفسية لدى الأطفال ألحديثي الولادة في مدينة الموصل. كلية العلوم، جامعة الموصل. رسالة ماجستير.

[38] Abdulilah, S.I. (2011). Effe of Black seed Alkoloids Against some Pathogenic Bacteria. R of J.Sc. 22(4) :9-16

[1] Albrich, W.C. Madhi SA, Adrian PV *et al.*, (2012). Use of a rapid test of pneumococcal colonization density to diagnose pneumococcal pneumonia . Clin. Infect.Dis.54(5),601-609.

[33] Anab, F.; Naqvi, S.B.S.; Abdul Khaliq .S.; Perveen, S.; Yousuf, R.I. and Saeed, R.(2013). Staphylococcal resistance against five groups of life saving antibiotics in the year 2003-2005. J. Pharm. Sci. 26(6):1137-1140.

[13] Anes, C. and Perez C. (1993). Screening of plants used in Argentine flok medicine for antimicrobial activity Ros . J. Vete Sei., 39(2):119-128 .

[4] Brook, I.; Frazier, E.H and Foote, P.A. (1997). Microbiology of chronic Maxillary sinusitis comparison between Specimeus obtaind by sinus endoscopy and by surgical draing. Med. Microbiol. 46:430-432. **[2]Carroll, K. and Reimer, L. (1996).** Microbiology and diagnosis of upper respiratory tract infection. Clinical infections Diseases.23:442-448

[37] El-Alfy, T.S.; H.M. El-Fatatry and M.A. Toama .(1995). Isolation and structure of antibacterial princiole from the volatile of *Nigella sativa* seed

[39] Forbes ,B .A .; Sahm. D.F.; and Weissfled , A. S . (2002) .Baiely and scott's Dignostic Microbilogy . 11 th ed .Mosby . St Louis .

[7] Fraimow, H.S; Jungkind D.L; Lander, D.W; Denn, J.L. (1994). Urinary tract infection with an Enterococcus feclis. Isolated that requires Vancomycin for growth. Ann Intern Med,121(1):22-26

[3] Herbert, S; Barry, P. and Novick, R. (2001). Subinhibitory Clindamycin inhibits transcription of exoproteingenes in Staph aureus infection Immunity .69:2996-3003.

Holt, J. C.; Krieg, N. R.; Sneth, A.; Starcheg, J. T. and William, S. T. (1994). Bergy's Manual Determinating Bacteriology. 9 th ed . U.S.A.

[16] Kirkan, S.; Coksoy, E. O. and Kaya, O. (2005). Identification and Aantimicrobial Susceptibility of staphylococcus from boving mastitis in the Aydin region of Turkey . Turk .J. Vet . Anim .Sci .29 :719 – 796 ..

[23] Macfarlande, J .(1982) . Lobar pneumonia . Post graduat. Doct .5 (5): 454 – 462 .

[12] National Committee for clinical Laboratory standards.(2003). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically approred standards 6th ed . 23(2):1-46.

[14] Nishizawa, H.; Okimura, S. and Abe, Y. (1991). Application liquid particle extraction to the purification of glycyrrhizin. Chemical pharm. Bull. 39.969 -971.

[5] Ritchie N,D,j Mitchell T,J, Evans TJ.(2012). What is different about serotype 1 pneumococci ? Futuer Microbiol.7(1),33-46.

[17] Shittu, A.; Lin, J.; Morrison, D. and kolawole, D. (2004). Isolation and molecular characterization of multiresistance S. scuiri & S. heamolyticus associated with skin and soft tissues infection. J. Med. Microbiol. 53 : 51 - 55 .

[11] Vandepitte, J.; Engback, K.; Piont, P. and C.C. (1991). Basic Laboratory procedures in Clinical Bacteriology WHO , Geneva .

A comparative study between the effect of some plant extracts and some antibiotics on species of Staphylococcus Isolated from Al-Munkhar Area between students of the University of Tikrit

Haneen F Abbas Al-Dawode , Abdul Kareem F. Omar , Ayyub J. Abdlrahmaan

Department of Biology , College of Education for Women , Tikrit University , Tikrit , Iraq

Abstract

The current study included the collection of 100 samples from Tikrit University studants age group of the study population ranged between. The study was conducted from the beginning of October 2017 until January 2018 . The samples were isolated Bactericidal growth of 80 samples of the nose and the samples were diagnosed based on their morphological ,agricultural and biochemical properties ,The results showed that *S.aureus* was 68.75% followed by *S.epidermidis* at 31.25% . The results of the resistance test for isolates of antibiotics showed that *S.aureus* is resistant to 5 kinds of antibiotic used, and bacteria *S.epidermidis* resistant to 7 types of antibiodies used in study.The results of the inhibitory effect of the *N. savita* extract were 50 and 100 mg / mm . *S.aureus* and *S.epidermidis* isolates were sensitive 16 and 21 respectively. The water extract of the *N. savita* at 50 mg / mm was *S. epidermidis* was more sensitive than *S.aureus* . At 100 mg / mm concentration, the isolates were equal for both species.