Study of Inhibition activity of placenta and cord blood and aqueous extract of *Eucalyptus comaldulensis* and *Rhus coriaria* against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA Multiple Resistant of Antibiotics.

دراسة القدرة التثبيطية لدم المشيمة والحبل السري والمستخلص المائي لنباتي اليوكالبتوس والسماق تجاه بكتريا Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* MRSA

ابتسام ثامر جعاز
جامعة القادسية/كلية التربية

وجدان نادر عودة
جامعة القادسية/كلية التربية

الخلاصة

جمعت 271 عينة مشيمة وحبل سري من الولادات الطبيعية التي تمت في مستشفى الولادة والأطفال التعليمي في مدينة الديوانية لنساء تتراوح أعمارهن بين 20-40 سنة للمدة من تشرين الثاني 2008 ولغاية نيسان 2009 كما تم الحصول على عزلة محلية نقية من بكتريا *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* MRSA من مختبر البكتريلوجي في المستشفى التعليمي العام في مدينة الديوانية إذ كانت هذه العزلة منتجة للأنزيم الحال للدم Haemolysin ولأنزيم التجلط Coagulase ولأنزيم البيتالاكتامز B-Lactamase.

اظهرت نتائج الدراسة ان معدل تركيز IgG في مصل دم المشيمة 229 وحدة دولية/مل إما معدله في مصل دم الحبل السري للعينات المجموعة فكان 222 وحدة دولية/مل فيما كان معدله في مصل دم مجموعة السيطرة وهم مجموعة الأشخاص الطبيعيين115وحدة دولية/مل إما معدل تركيز IgM و IgA في مصل دم المشيمة والحبل السري فكانت 0.0 وحدة دولية/مل أما تركيزيهما في عينة مجموعة السيطرة فكانت 116 , 139 وحدة دولية/مل على التوالي.

كذلك تم التعرف على القدرة التثبيطية لمصل دم المشيمة والحبل السري لنمو بكتريا MRSA إذ تبين إن القدرة التثبيطية لمصل دم المشيمة كانت أعلى من تأثير مصل دم الحبل السري إذ بلغ معدل خلايا بكتريا MRSA 55 وحدة مكونة للمستعمرة CFU في مصل دم المشيمة مقابل 60 وحدة مكونة للمستعمرة CFU في مصل دم الحبل السري وباستخدام طريقة النشر على وسط الاكار المغذي .

وتم تحديد الوقت المثالي لتفاعل مصل دم المشيمة والحبل السري في تثبيط نمو أعلى نسبة من بكتريا MRSA فقد تبين أن الحضانة لمدة 30 دقيقة هو الوقت الأمثل لتثبيط نمو عزلة بكتريا MRSA.

أظهرت هذه الدراسة القدرة التثبيطية العالية للمستخلص المائي البارد لأوراق نبات اليوكالبتوس ضد بكتريا MRSA خاصة في التراكيز العالية، تلاه المستخلص المائي الحار لأوراق هذا النبات اما المستخلص المائي البارد لنبات السماق فجاء بالمرتبة الثانية بعد نبات اليوكالبتوس تلاه المستخلص المائي الحار لهذا النبات من ناحية قدرته التثبيطية لنمو بكتريا MRSA.

Summary:

Tow hand red seventy one placenta and cod samples were collected from women 20-40 years contacting the Educational Hospital for childhood and gynecology in AL-Diwaniya city during the period from oct 2008 until Apnl 2009. Methicilln resistant *Staphylococcus aureus* MRSA is olatel , whicl had the ability to produce haemolysin , coagulase and B- lactamase .

Results of this Study showed IgG concentration in placenta and cord blood 229Iu/ml, 222Iu/ml while in control 115iu/ml. while IgM and IgA concentration in placenta and cord blood 0 iu/ml while in control 116,139 Iu/ml.

It was also found that inhibition activity of placenta and cord blood to MRSAwere 55, 60. the results also showed optimium time to react placenta and cord blood in inhibition activity or killing higher rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA was 30 minute.

The cold aqueous extract of *Eucalyptus comaldulensis* leaves, Since it has Strong inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* MRSA especially in high concentrations followed by

heat aqueous extract of this Plant. Wile the cold aqueous extract of *Rhus cariaria* cane in secondary stage after *Eucalptus camaldulenis* plant followed by heat aqueous extract of this plant.

المقدمـــة

تسبب بكتريا Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* MRSA مشكلة صحية كبيرة إذ تعد مسؤولة عن الإصابات صعبة المعالجة في الإنسان بسبب مقاومتها المتعددة للمضادات الحياتية كما انها مقاومة لمجموعة كبيرة من المضادات الحياتية التي تسمى البيتالاكتام والمتضمنة البنسلينات و السيفالوسبورينات ولقد ظهرت بشكل واسع في الولايات المتحدة الأمريكية سنة 1981 إذ تنتج أنزيمات البيتا لاكتاميز B-lactamase والمحطمة لحلقة البيتالاكتام في هذه المضادات(1). وهي مقاومة للـMethicillin وعدد من المضادات لاكثر من 40 سنة فتعرف بـ MRSA وتتطور هذه المقاومة عند تعرض المرضى للمضادات او من الاصابات داخل المستشفيات او المجتمع (2).

وتعد هذه البكتريا من الممرضات الانتهازية apportunistic pathogens مسببة أصابات خطيرة وذلك عند حدوث أي خلل أو اضطراب في دفاعات الجسم قد تؤدي بحياة المريض (3). وأشار(4) الى ان الزيادة في مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحياتية أصبحت مشكلة حقيقية في كل أنحاء العالم وازدادت خطورتها تبعاً لذلك إذ تسبب اخطر الإصابات في الإنسان. فقد أشار بحث تم أجراؤه في الولايات المتحدة أنها سببت أعداد كبيرة من الوفيات في الولايات المتحدة نتيجة هذه المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية إضافة إلى تأثير السموم المنتجة من قبلها ولعل اكثرها ضراوة واحداث للامراضية السموم الحالة للدم Haemolysins (1).

كما ان بعض سلالاتها تسبب متلازمة الصدمة السمية Toxic shock syndrome toxin بسبب إنتاجها السم المسؤول عن هذه المتلازمة (5).

كذلك أشار (6) إلى قدرة هذه البكتريا لإنتاج أنزيم Hyaluronidase المحطم لحامض الهيلارونيك إذ يعد المكون الأساس للأنسجة الرابطة مما يمكنها من الانتشار في منطقة كذلك إنتاجها للـ Fibrinolysin المحلل لخثرة الليفين والجيلاتينيز Gelatinase المحلل للجلاتين والبروتينيز Protease المحلل للبروتينات الخلوية. كذلك اللايبيز Libase حال للدهون والذي يمكنها من الانتشار في الأنسجة الدهنية للجلد وما تحت الجلد (7).

ولقد ذكر (8) ان بعض سلالات MRSA التي تمتلك المحفظة المتكونة من متعدد السكريد السطحي Surface polysaccharides والتي تعد عامل التصاق مهم لهذه البكتريا .

اظهرت الدراسات ان مصل دم الحبل السري ولعاب الأم وحليب الثدي كان له دوراً ايجابياً في مقاومة السموم المنتجة من قبل جرثومة *Staphylococcus aureus* المسببة لمتلازمة موت الرضع المفاجئة Sudden infant death syndrome SIDS (9). تنتقل الأجسام المضادة من النوع IgG من المشيمة إلى الدورة الدموية للجنين عبر الحبل السري إذ يحدد ذلك وجود مستقبلات الشظية المتبلورة والتي تعرف بـ FcR Flourescence receptor إذ تقوم بتنظيم تركيز IgG في المصل والأنسجة (10).تلعب الأجسام المضادة IgE, IgD , IgM , IgG , IgA دوراً دفاعياً مهماً لحماية الجسم من الإصابات البكتيرية المختلفة إذ تعد بروتينات مرتبطة بالكاربوهيدرات وتتواجد في المصل والسوائل النسيجية لكل الحيوانات(11).

لقد توجه المختصين في علم الاحياء المجهرية لاستخدام مواد بديلة مستخلصة من النباتات الطبية تملك فعالية فسيلوجية واضحة ضد الجراثيم كما انها مأمونة الجانب من ناحية الاثار الجانبية للادوية والعلاجات المصنعة (12).

لزيت اليوكالبتوس فعالية ضد مايكروبية ومعنوية عالية اضافة الى مادة chlorhexidine digluconateCHG كذلك فعلهما التآزري ضد بكتريا MRSA و *E.coli* و *Candida albicans* و أن اليوكالبتوس والآس لهما فعالية تآزرية قوية ضد بكتريا MRSA لذلك اصبحت علاجات بديلة لامراض مختلفة .يعود الفعل المثبط لليوكالبتوس الى احتوائه على مادة 1.8 Cineole (13). كما يملك نبات السماق تأثير متميز على عزلات بكتريا *Staphylococcus aureus* (14) . كما ان ثمار السماق تحوي مواد عفصية والسماق الحلو والعطري يحتوي ايضاً على الستروذز والتربينات الثلاثية والزيوت الطيارة والاحماض الدهنية ومضاد للجراثيم كالميرستين وOxygeneretin مواد دباغية مثل Myricatin و Anthraquinon وثمار السماق لها فائدة كمادة مدررة ومخفضة للحمى اما بذورها فتستعمل كغرغرة لعلاج التهاب اللثة والحنجرة اما السماق الحلو او العطري فله اهمية كبيرة اذ اثبتت الدراسات الحديثة ان حامض Galeac acid هو احد مركبات المواد العفصية في النبات وله تأثير مضاد للبكتريا والفايروسات (15) .

يهدف هذا البحث الى اجراء اختبار القدرة التثبيطية لمصل دم المشيمة والحبل السري تجاه عزلة بكتيرية من MRSA خلال التعرف على المدة الزمنية المثلى لقتل أعلى نسبة من الخلايا النامية وتقدير نسبة الأجسام المضادة IgA , IgM , IgG في مصل دم المشيمة والحبل السري ومجموعة من الأشخاص الطبيعيين مجموعة السيطرة وكذلك التعرف إلى القدرة التثبيطية للمستخلص المائي لنباتي اليوكالبتوس والسماق تجاه هذه العزلة البكتيرية.

المواد وطرائق العمل:-

- العزلة البكتيرية والتشخيص :

تم الحصول على عزلة من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* إذ تم التشخيص الأولي لها في مختبر البكتريلوجي في المستشفى التعليمي العام في مدينة الديوانية بعدها تمت اعادة التشخيص في المختبر وفقاً لما ورد في (16) وبالاعتماد على الطرائق المتبعة من قبل (16) اذ تم اجراء الفحوصات الشكلية والمظهرية وشكل النمو والمستعمرات وكذلك اختبارات الانزيم الحال للدم Haemolysin والانزيم المخثر لبلازما الدم Coagulase (16) .

أعطت هذه العزلة نتيجة ايجابية لفحص إنتاج أنزيم البيتالاكتاميز أذ اتبعت طريقة الأنابيب الشعرية المباشرة Direct capillary tubes method بإضافة 2 مل من محلول 0.5% من احمر الفينول إلى 16.6 مل من الماء المقطر لقنينة تحوي مليون وحدة من Penicillin G ثم أضيف NaOH 1مولاري ، بشكل قطرات إلى أن تغير لون المحلول بحيث اصبحت قيمة PH=8.5 بعدها غمرت نهاية الأنابيب الشعرية في محلول البنسلين حتى ارتفع السائل إلى 1-2ملم في الأنبوبة الشعرية بعدها تم إدخال جزء من النمو البكتيري المراد فحصه بوساطة نهاية الأنبوب الشعري وترك هذا الأنبوب بشكل عمودي في درجة حرارة الغرفة , ان تغير اللون إلى الأصفر خلال ساعة دلالة على ايجابية الفحص كذلك طريقة اليود السريعة Iodometric method إذ وزع 0.5 مل من محلول Penicillin G في أنابيب صغيرة لقحت بعدها بمستعمرات بكتيرية فتية بواسطة loop ثم تركت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة ، أضيف لها بعد ذلك 0.2 مل من محلول النشا و 0.1 مل من كاشف اليود ان تغير اللون الأزرق للمحلول سريعاً إلى عديم اللون دليل على إن النتيجة موجبة (17). تم أجراء عدد من الاختبارات الكيموحيوية وذلك للتأكد من تشخيص هذه البكتريا وكما ورد في (18 , 19). كما تم التشخيص النهائي لهذه البكتريا باستعمال نظام API الخاص بالعنقوديات الذهبية .

- جمع العينات :-

تم الحصول على عينات مصل الدم من المشيمة والحبل السري من مجموع 271 حالة ولادة طبيعية تمت في مستشفى الولادة والأطفال التعليمي في مدينة الديوانية إذ أخذت المشيمة والحبل السري بعد الولادة الطبيعية مباشرة في ظروف معقمة وباستخدام سرنجة معقمة سحبت كمية 10 مل من الدم من كل من المشيمة والحبل السري ووضعت في أنابيب اختبار معقمة ليس فيها مانع للتخثر بعدها ترك الدم في الثلاجة لكي يتخثر ولمدة نصف ساعة بعدها نبذت مركزياً بسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة عشر دقائق لغرض الحصول على النصل وحفظت في -20 م° لحين الاستعمال (20) .

التأثير التثبيطي للمصل :-

تم زرع ملء لوب من المصل على وسطي Nutrient agar و Nutrient brooth وحضنت بحرارة 37 مْ لمدة 24 -48 ساعة للتأكد من خلوها من التلوث البكتيري ولقد اتبعت طريقة العد الحي للمستعمرات على الطبق للتعرف على الوقت الامثل لتفاعل مصل دم المشيمية والحبل السري مع المعلق البكتري لقتل اعلى نسبة من بكتريا *Staphylococcus aureus* وذلك باضافة 0.5 مل من المصل الى 0.5 مل من المعلق البكتري اما عينة السيطرة فحوت على 0.5 مل من التخفيف الخامس للمعلق البكتيري دون اضافة المصل بعدها علمت الانابيب وزرع المعلق البكتيري الممزوج مع المصل بطريقة النشر على وسط الاكار المغذي كذلك وسط السيطرة الحاوي على المعلق البكتيري بدون مصل حضنت العينات بعدها لفترات زمنية 8 ، 18 ، 30 ، 60 دقيقة بحرارة 37مْ ثم قدرت اعداد الخلايا البكترية المتواجدة في المعلق الممزوج بطريقة العد الحي للمستعمرات على الطبق باعتبار ان كل مستعمرة هي اصلاً خلية بكتيرية واحدة (21) . ثم حددت الكلوبيولينات المناعية IgA , IgM , IgG كمياً حسب تعليمات شركة Kallested USA اذ يتكون طبق الفحص من 16 حفرة وضع 5 مايكرو ليتر من المصل الخاص بالمشيمة او الحبل السري في الحفرة وحضن بحرارة 18-28 مْ لمدة 48 ساعة للكلوبيولينات IgA , IgG و 72 ساعة للكلوبيولين IgM .

-المستخلصات النباتية:-

تم استخدام اوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* وثمار السماق *Rhus coriaria* بعد تصنيفهما في مختبر تصنيف النبات - كلية التربية – جامعة القادسية بعد التنظيف والتجفيف حضر المستخلص المائي البارد كما جاء في (22) اذ مزج 1غم من المسحوق الجاف في 2مل من الماء المقطر بواسطة خلاط كهربائي وبدرجة حرارة الغرفة بعدها ترك المحلول 24ساعة رشح بعدها بواسطة عدة طبقات من الشاش الطبي بعدها وزع الناتج من الترشيح في انابيب اختبار ونبذت مركزياً بسرعة 3500 دورة بالدقيقة كررت بعدها العملية باستخدام الماء المغلي اخذ الراشح وجفف بالفرن الكهربائي بحرارة 35 مْ حضر المحلول الخزين 200ملغم/مل باذابة 2غم من المستخلص المجفف في 10مل من الماء المقطر وحضرت منها التراكيز التصاعدية للتجربة 50 ، 75 ، 100 ، 200 ملغم/مل واتبعت طريقة (20) لمعرفة القدرة التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه عزلة بكتريا MRSA اذ تم اضافة 0.5مل من التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة الى 0.5 مل من معلق MRSA مع مراعاة عينة السيطرة الحاوية على 0.5 مل من التخفيف الخامس للمعلق البكتيري بدون اضافة لاي تركيز من المستخلصات المائية للنباتات الطبية بعدها تم الزرع بطريقة النشر على وسط الاكار المغذي وحضنت الاطباق بحرارة 37مْ لمدة 18 -24 ساعة وبثلاث مكررات لكل تركيز بعد ذلك تم تحديد عدد المستعمرات بطريقة العد الحي للمستعمرات على الطبق.

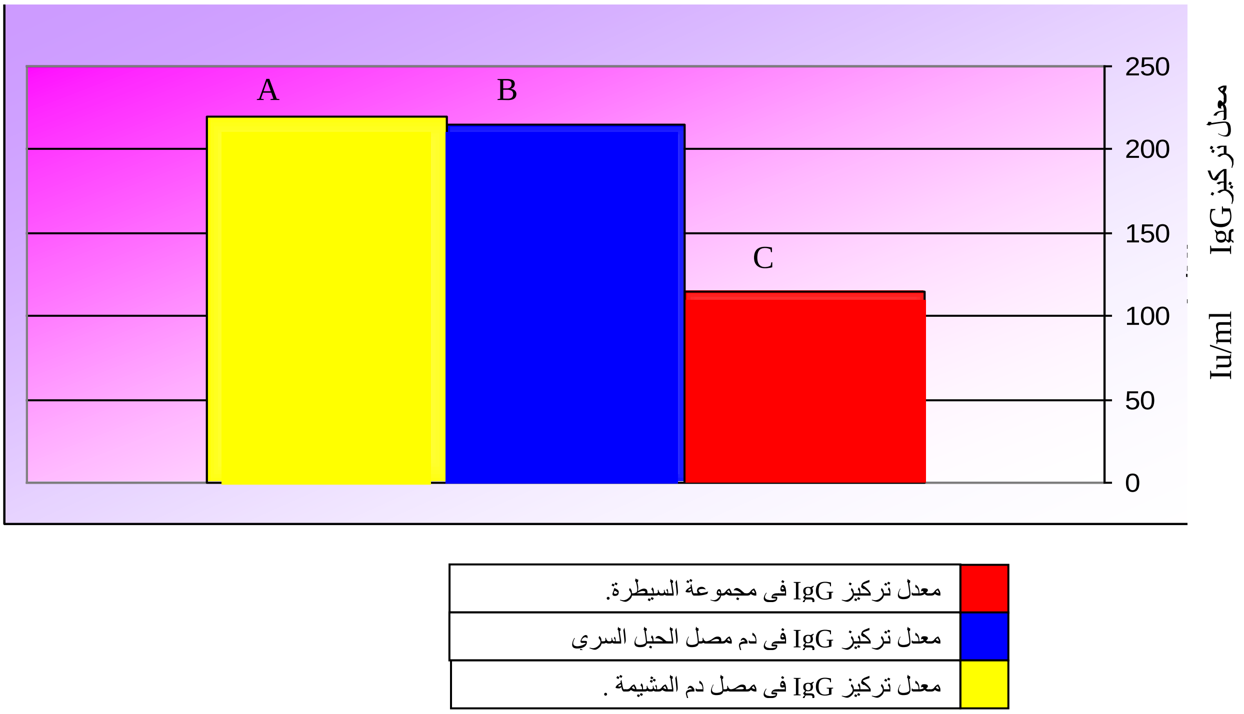
وفيما يخص التحليل الاحصائي فتم استخدام اختبار التصميم العشوائي الكامل CRD لغرض معرفة وجود فروق معنوية بين العينات تم استخدام اقل فرق معنوي LSD كذلك استخدام اختبار T للتعرف على الفروق المعنوية(23).

النتائج والمناقشة:-

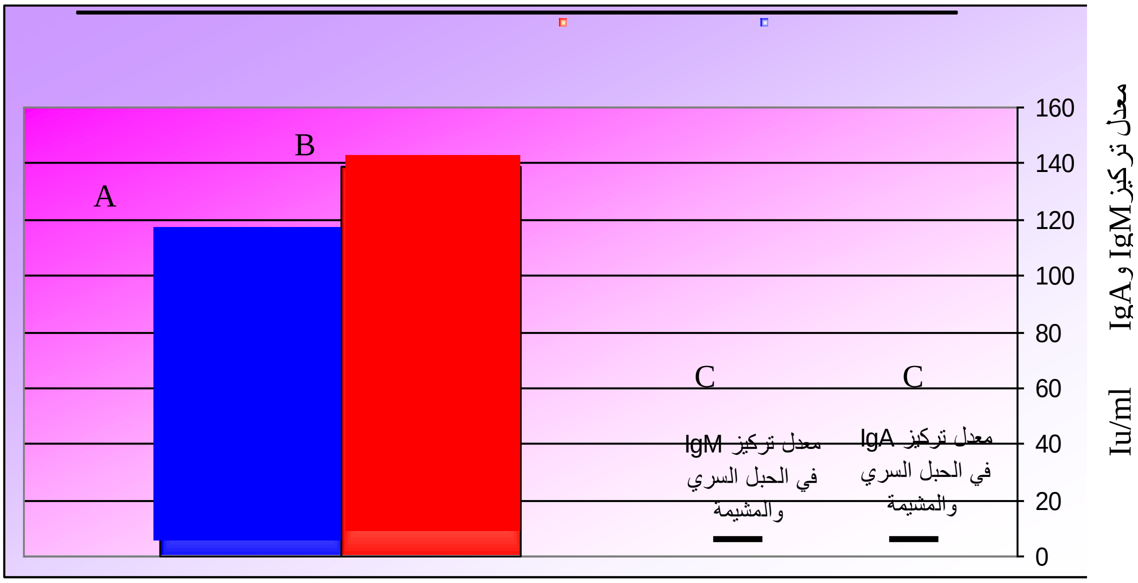
تبين نتائج هذه الدراسة في شكل1 إن معدل تركيز الكلوبيولين المناعي IgG في مصل دم المشيمة هو ما يعادل229 وحدة دولية / مل فيما كان معدل تركيزه في مصل دم الأشخاص الطبيعيين لعينة السيطرة هو 115 وحدة دولية /مل إما معدل تركيزه في مصل دم الحبل السري في عينات هذه الدراسة فلقد كان 222 وحدة دولية /مل إذ يعد الكلوبيولين المناعيIgG الأكثر تواجد في مصل الإنسان إذ تصل نسبته من 70-75% من مجموع الكلوبيولينات المناعية إذ يتضمن أربعة جزيئات من سلاسل مفردة ويعد أكثر الكلوبيولينات المناعية أهمية إذ يحفز الاستجابة المناعية الثانوية إذ يتوزع بانتظام بين الأوعية الدموية الدقيقة إذ إن IgG الخاص بالإنسان يستطيع عبور المشيمة ومنح درجة عالية من المناعة للأجنة والأطفال حديثي الولادة (11).

كما أشار (10) بان من أهم وظائف الأجسام المضادة هي عملية الطهو Opsonization إذ يحصل تفاعل بين مستقبلات سطح الخلايا البكتيرية ومنطقة ارتباط المستضد في جريئة الجسم المضاد Fab بعدها تحدث عملية البلعمة الخلوية بوساطة خلايا تمتلك مستقبلات منطقة الشظية المتبلورة FC على سطحها كما في خلايا الدم البيضاء العدلة.ولقد كان معدل تركيز الكلوبيولين المناعي IgA في مصل دم المشيمة والحبل السري0.0 وحدة دولية /مل بينما كان معدل تركيزه في مصل دم الأشخاص الطبيعيين لعينة السيطرة هو139 وحدة دولية /مل كذلك كان معدل تركيز الكلوبيولين المناعي IgM في مصل دم المشيمة والحبل السري 0.0 وحدة دولية /مل أما معدل تركيزه في مصل دم الأشخاص الطبيعيين لعينة السيطرة هو 116 وحدة دولية /مل كما هو موضح في الشكل (2).

ولقد أشار (10) بان جميع أصناف IgG تستطيع العبور من خلال الحاجز المشيمي وذلك بسبب وجود مستقبلات خاصة لمنطقة الشظية المتبلورة FC الخاصة بـ IgG على سطح المشيمةFlourescence receptorFCR. كما ذكر (24، 25) بان الكلوبيولينات المناعية IgM، IgA القادمة من الأم لاتعبر الحاجز المشيمي بسبب عدم وجود مستقبلات للـ FC لها على المشيمة كما إن IgM يتميز بكبر حجمه إذ يتكون من خمسة جزيئات من الأجسام المضادة لذلك لاتستطيع عبور الزغابات المشيمية.



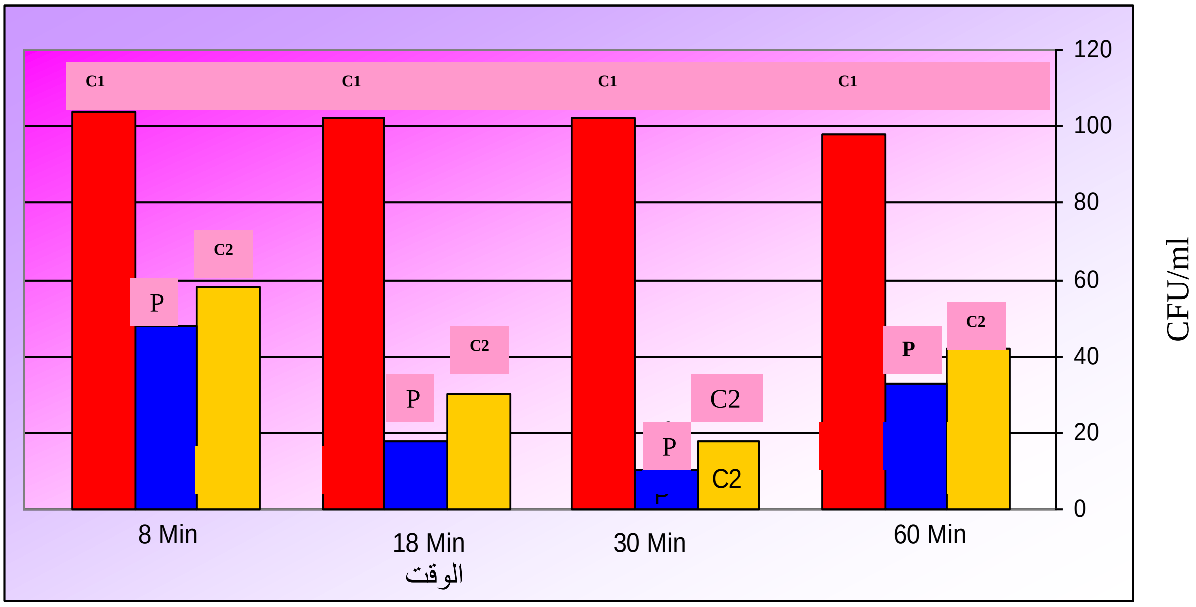
شكل-1- معدل تركيز الكلوبيولين المناعي نوع IgG في مصل دم المشيمة والحبل السري للام وقيمه الطبيعية لدى مجموعة السيطرة المتمثلة بمصل دم الأشخاص الطبيعيين.
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية P≤0.05



- معدل تركيز IgA و IgM في الحبل السري والمشيمة

معدل تركيز IgA في مجموعة السيطرة	(أحمر)
معدل تركيز IgM في مجموعة السيطرة	(أزرق)

شكل -2- معدل تركيز الكلوبيولين المناعي نوع IgM , IgA في مصل دم المشيمة والحبل السري للام وقيمة الطبيعية لدى مجموعة السيطرة المتمثلة بمصل دم الأشخاص الطبيعيين.
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية P≤0.05
الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية P≤0.05



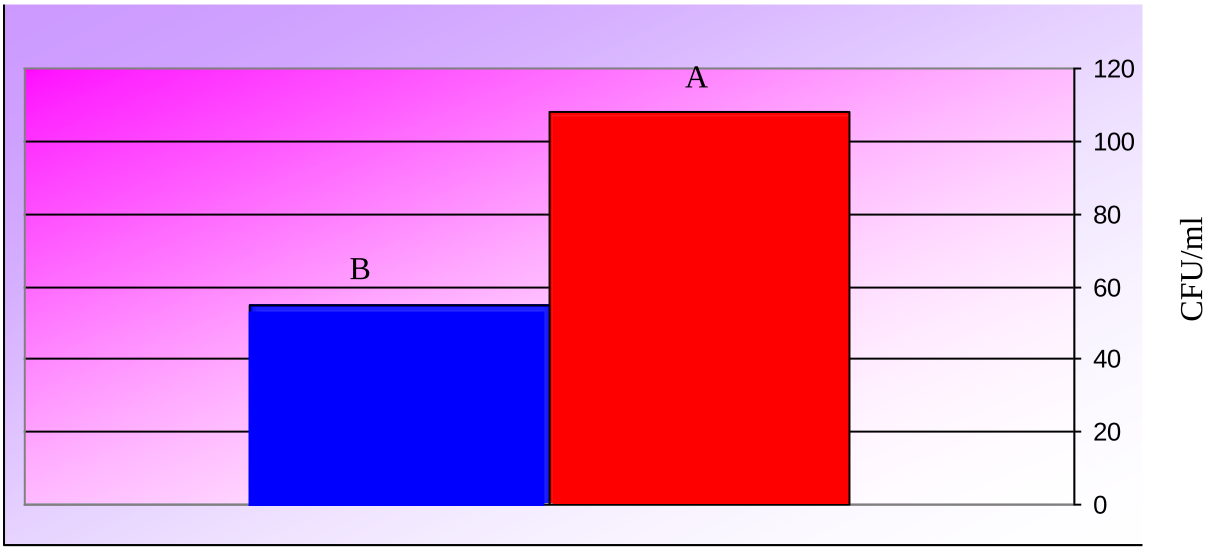
a b c a b c a b c a b c

الشكل -3- الوقت الأمثل لتفاعل مصل دم المشيمة والحبل السري ضد خلايا بكتريا MRSA
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية P≤0.05
C1 = Control السيطرة
C2 = Cord blood مصل دم الحبل السري
P = Placenta blood مصل دم المشيمة

وبالنسبة لتحديد الوقت الأمثل لمصل دم المشيمة والحبل السري في قتل أعلى نسبة من بكتريا MRSA. بينت نتائج هذه الدراسة كما في الشكل 3 إن مرور 8 دقائق من التحضين لبكتريا MRSA مع المصل كان معدل عدد خلايا بكتريا MRSA في عينة السيطرة هو 104 CFU/مليلتربينما كان المعدل بعد إضافة مصل دم المشيمة 48 CFU/مليلتر وبعد إضافة مصل دم الحبل السري 58 CFU/مليلترإما بعد مرور 18 دقيقة من التحضين لبكتريا MRSA مع المصل كان معدل عدد خلايا بكتريا MRSA في عينة السيطرة 102 CFU/مليلترفيما كان المعدل بعد إضافة مصل دم المشيمة 18 CFU/مليلتر إما المعدل بعد إضافة مصل دم الحبل السري فكان 30 CFU/مليلتر وبعد مرور 30 دقيقة من التحضين لبكتريا MRSA مع المصل كان معدل عدد خلايا بكتريا MRSA في عينة السيطرة 102 CFU/مليلتر فيما كان المعدل بعد إضافة مصل دم المشيمة 10 CFU/مليلتروالمعدل بعد إضافة مصل دم الحبل السري 18 CFU/مليلتر إما بعد مرور 60 دقيقة من التحضين مع المصل كان معدل عدد خلايا بكتريا MRSA في عينة السيطرة 98 CFU/مليلتر فيما كان المعدل بعد إضافة مصل دم المشيمة 33 CFU/مليلتر والمعدل بعد إضافة مصل دم الحبل السري 42 CFU/مليلتر ومن كل ما تقدم تبين لنا إن الوقت الأمثل لتفاعل مصل دم المشيمة والحبل السري لقتل أعلى نسبة من هذه البكتريا هو نصف ساعة .

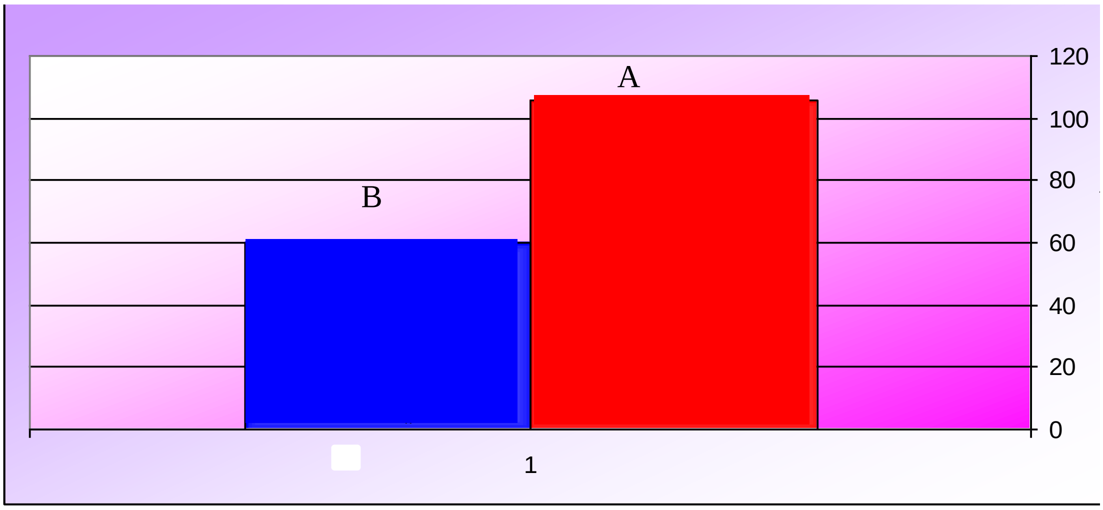
ويتضح من الشكلين 4 و 5 القدرة التثبيطية لمصل دم المشيمة والحبل السري تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus MRSA* اذ وجد إن معدل عدد خلايا بكترياMRSA في عينة السيطرة هو 108 CFU/مليلتر أما معدلها بعد إضافة مصل دم المشيمة فكان 55 CFU/مليلتر إما معدل عدد خلايا MRSA في عينة السيطرة كان 106 CFU/مليلتر إما معدلها بعد إضافة مصل دم الحبل السري فكان 60 CFU/مليلتر إذ يتوضح من ذلك القدرة العالية لمصل دم المشيمة والحبل السري في تثبيط نمو بكتريا MRSA المقاومة للعديد من المضادات الحياتية المستعملة كعلاج إذ تعد نسبة IgG العالية في مصل دم المشيمة ثم يليها مصل دم الحبل السري سببا في هذه القدرة وذلك كون إن IgG هو احد العوامل المصلية الذي له تأثير كبير في مقاومة الغزو البكتيري للجسم (10).

كما إن للكلوبيولين المناعي IgG القدرة على قتل البكتريا من خلال عملية تفعيل المتمم Complement activation إذ تتم هذه العملية بمساعدة الشظية المتبلورة FC للجسم المضاد IgG , IgM حيث تؤدي الى موت الخلية البكتيرية بمكونات المتمم والتي تضرب فتحات الجدار الخلوي مؤدية لحدوث موت تنافذي للجدار الخلوي، كما يمتلك جدار *Staphylococcus aureus.* بروتين A الذي يملك القدرة على الارتباط بمنطقة الشظية المتبلورة FC للكلوبيولين المناعي IgG مما يحفز الجهاز المناعي ضد التواجد لبكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* (11). كما ان بروتين A المتواجد على سطح الخلية لـ95% من سلالات البكتريا التي تصيب الانسان *Staphylococcus aureus* يملك القدرة للارتباط الى بروتين F.C للكلوبيولين المناعي IgG (26) .



(أحمر)	معدل عدد خلايا بكتريا *Staphylococcus aureus* في عينة السيطرة
(أزرق)	معدل عدد خلايا بكتريا *Staphylococcus aureus* بعد نصف ساعة من الحضن مع دم المشيمة .

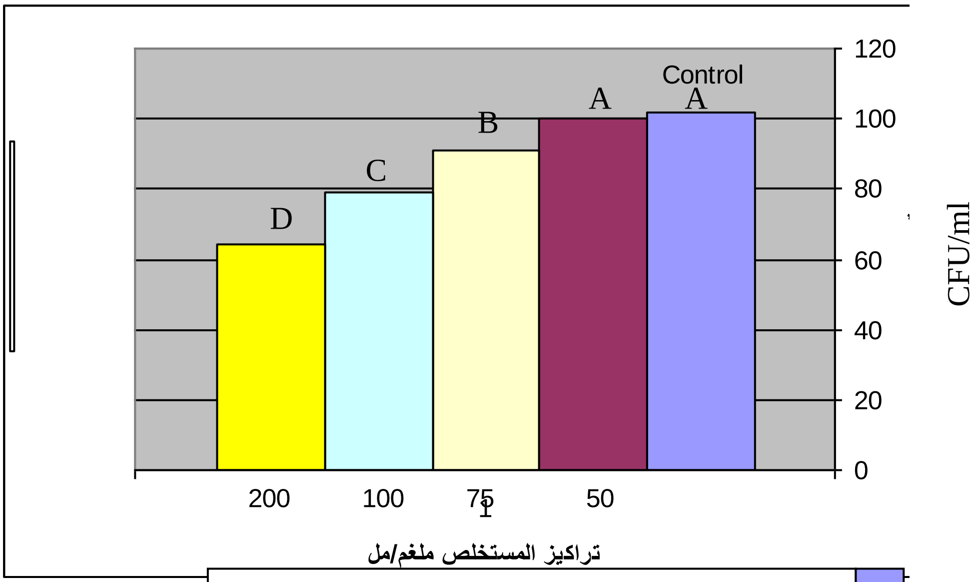
شكل -4- القدرة التثبيطية لمصل دم المشيمة ضد بكتريا MRSA.
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$



	معدل عدد خلايا بكتريا *Staphylococcus aureus* في عينة السيطرة
	معدل عدد خلايا بكتريا *Staphylococcus aureus* بعد نصف ساعة من الحضن مع مصل دم الحبل السري

شكل -5- القدرة التثبيطية لمصل دم الحبل السري ضد بكترياMRSA.
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$

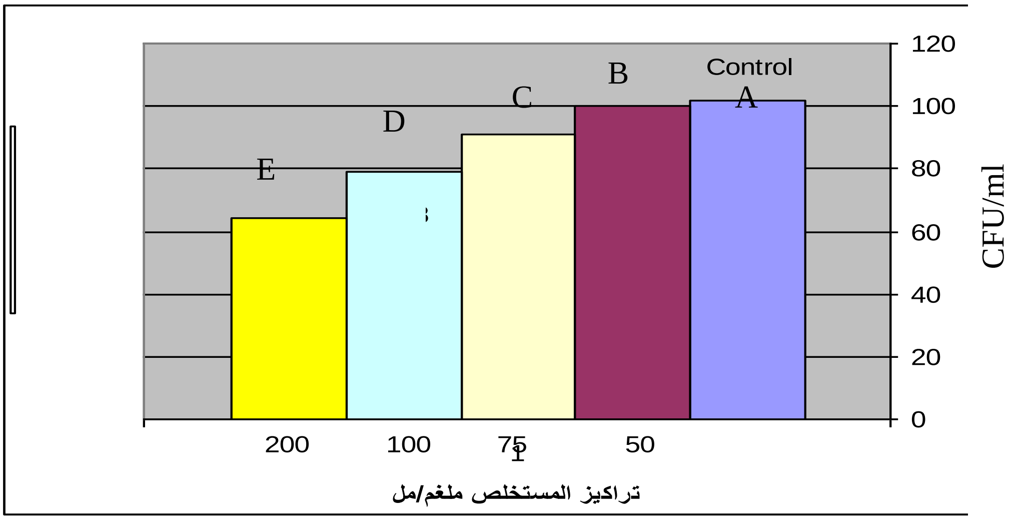
ولقد بينت النتائج إن بكتريا MRSA *Staphylococcus aureus* كانت حساسة للمستخلص المائي البارد لنباتي اليوكالبتوس والسماق إذ ازدادت الحساسية وانخفض معدل عدد خلايا هذه البكتريا بازدياد تركيز المستخلص خاصة عند التركيزين 200 و100 ملغم/مل اذ بلغ عدد MRSA CFU 79 ، 64 اما عند التركيزين 50 و75 ملغم/مل بلغ عدد CFU 100 و 91 للمستخلص المائي البارد لنبات اليوكالبتوس علماً ان عدد خلايا الMRSA في مجموعة السيطرة لمستخلص اليوكالبتوس المائي البارد كان CFU102/مليلتر كما بلغ 89 ، 81 للمستخلص المائي البارد لنبات السماق في التركيزين 100 و 200 ملغم/مل اما التركيزين 50 و75 ملغم/مل فبلغ عدد خلايا CFU 103 و CFU 97/مليلتر على التوالي كما يتبين من الشكلين 6 و 8 علماً ان عدد خلايا MRSA في مجموعة السيطرة لمستخلص السماق المائي البارد كان CFU110 /مليلتر إذ ذكر(17) بان المواد الفعالة في أوراق نبات اليوكالبتوس تتأثر بالحرارة وبالتالي فان المستخلص يفقد جزءاً من فعاليته التثبيطية أما الاستخلاص بالماء المقطر وبدرجة حرارة الغرفة فيمكنه أن يوفر المواد الفعالة في أوراق هذا النبات ومنها التانينات والصابونين والتربينات.



	عدد خلايا *Staphylococcus aureus* لعينة السيطرة
	القدرة التثبيطية عند تركيز 50ملغم/مل
	القدرة التثبيطية عند تركيز 75 ملغم/مل
	القدرة التثبيطية عند تركيز 100 ملغم/مل
	القدرة التثبيطية عند تركيز 200 ملغم/مل

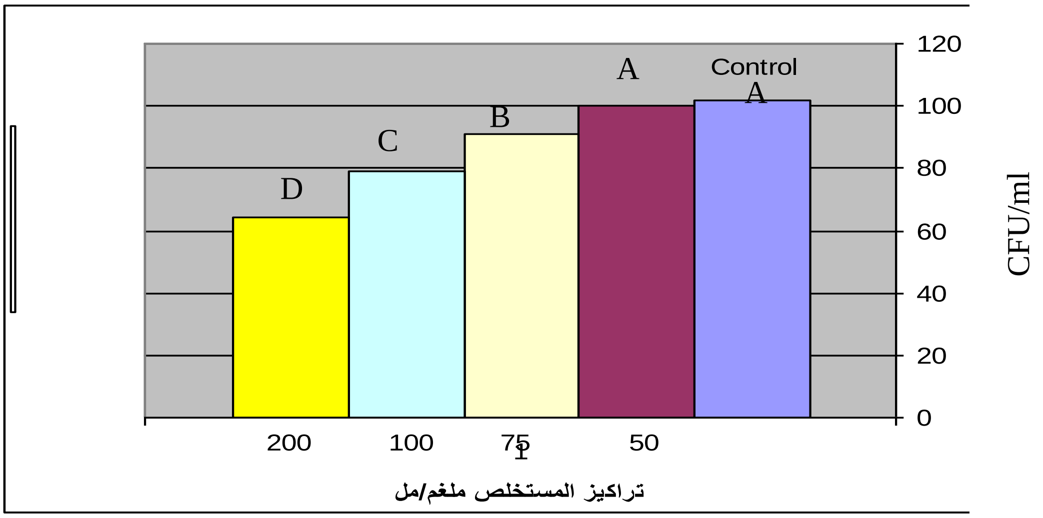
شكل -6- القدرة التثبيطية للمستخلص المائي البارد لأوراق اليوكالبتوس ضد MRSA
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$
الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$

اما بالنسبة للمستخلص المائي الحار لنبات اليوكالبتوس فكانت له فعالية تثبيطية جيدة ايضا على نمو هذه البكتريا اذ بلغت عند التركيزين 100 و 200 ملغم/مل 88 و 75 CFU/مليلتر اما عند التركيزين 50 و 75 ملغم/مل بلغ عدد الخلايا 102 و 98 CFU/مليلتر على التوالي اما المستخلص المائي الحار لنبات السماق بلغ عند التركيزين 100 و200 ملغم/مل 94 و89 CFU/مليلتر فقط . اما عند التركيزين 50 و75 ملغم/مل فكان 102 و CFU101 /مليلتر على التوالي وكل ذلك يتوضح من الشكلين 7 و 9.



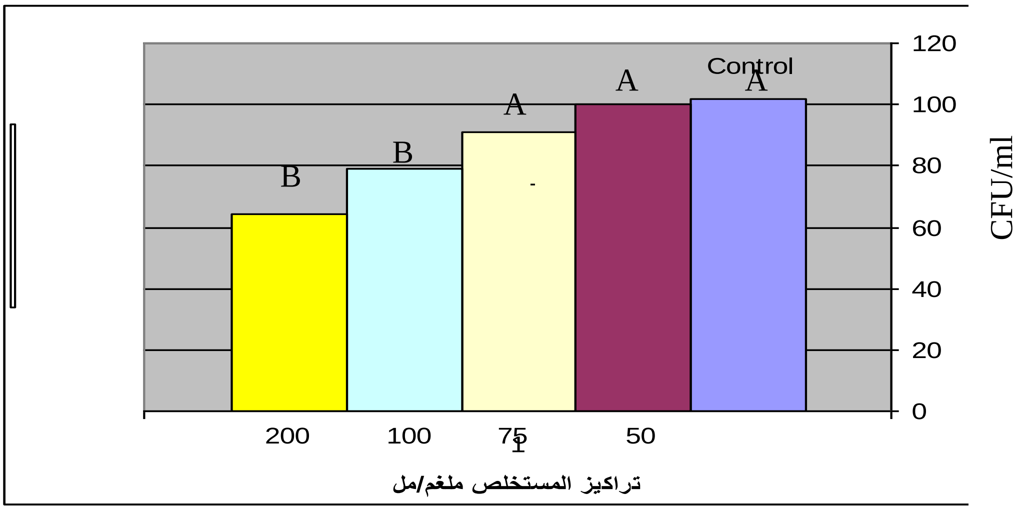
عدد خلايا *Staphylococcus aureus* لعينة السيطرة	
القدرة التثبيطية عند تركيز 50ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 75 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 100 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 200 ملغم/مل	

شكل-7- القدرة التثبيطية للمستخلص المائي الحار لأوراق اليوكالبتوس ضد MRSA
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$



عدد خلايا *Staphylococcus aureus* لعينة السيطرة	
القدرة التثبيطية عند تركيز 50ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 75 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 100 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 200 ملغم/مل	

شكل -8- القدرة التثبيطية للمستخلص المائي البارد لثمار السماق ضد MRSA
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$
الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P\leq0.05$



عدد خلايا *Staphylococcus aureus* لعينة السيطرة	
القدرة التثبيطية عند تركيز 50ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 75 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 100 ملغم/مل	
القدرة التثبيطية عند تركيز 200 ملغم/مل	

شكل -9- القدرة التثبيطية للمستخلص المائي الحار لثمار السماق ضد MRSA
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$
الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$

يتبين من كل ما سبق القدرة التثبيطيه العالية التي يمتلكها مصل دم المشيمة في تثبيط نمو بكتريا MRSA يليه مصل دم الحبل السري ثم المستخلص المائي البارد لنبات اليوكالبتوس ثم المستخلص المائي الحار لهذا النبات واخيرا المستخلص المائي البارد ثم الحار لنبات السماق .

المصادر

References

1. Wyllie, D.; Crook, D. and Peto, J. (2006). Mortality after *Staphylococcus aureus* bacteraemia in two hospitals in oxfordshire 1997-2003. Cohort Study. B. M. J. 333(7562). P: 281.
2. Wilson, J.(2001). Infection control in clinical practice . 2th –ed . London Bailliere Tindall .
3. Murray, P. R.; Baron, E. J.; Tenover, F. C., and Yolken, R. H. (1999). Manual of clinical microbiology. 7th-ed. American Society of Microbiology. ASM Press. Washington. D. C.
4. Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2001). Jawetz, Melnick and Adelberg's. Medical microbiology. 22th-ed. A Divison of the McGraw-Hill Companies.
5. Marples, R. R. and Wieneke, A. A. (1993). Enterotoxins and toxic shock syndrome texin in non enteris Staphylococcal disease. Epidemiol infect. 100. P: 477-488.
6. Rose, A. H. (1979). Secondary products of metabolism. Vol (3). Academic. Press. Inc. London
7. Atlas, R. M. (1995). Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, Inc, London.

8. Annette, H. K.; Tore, T. and Arve, L. (2005). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide types 5 and 8 reduce killing by bovin Neutrophils *in vitro*.J. Infection and Immunity. 73 (3). P:1523.
9. Harrison, L. M.; Morris, J. A.; Bishop, L. A.; Laudar, R. M.; Tylor, C. A. M. and Telford, D. R. (2004). Detection of specific antibodies in cord blood infant and maternal saliva and breast milk to staphylococcal toxins implicated in Sudden infant death Syndrome (SIDS). Immunology and Medical Microbiology. 42(1).P: 94-104.
10. Leach, J. L.; Sedmak, D. D.; Osborne, J. M., Rghill, B.; Lairmore, M. D. and Anderson C. L. (1998). Isolation from human placenta of the IgG transporter, FcR, and ocalization to the yacytiotrophoblast implications for maternal fetal antibody transport. The Ohio state University Columbs. The Jaurnal of Immunology. 157(8).P: 3317-3322.
11. Pillitteri, A. (1999). Maternal and Child health nursing care of the Child bearing and Childrearing family. Philadelphia.
12. Eloof, G.N. (1999) It is possible to use her barium sbecimens to screen for antibacterial components in some plants . J Ethnophormacol . 67. P:355-360.

13. Hendry , E.R.; Worchington , T. ; Conway , B.R. and Lambert , P.A. (2009) . Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1.8 cineole alone and in compnation with chlorhexidine digluconate egainst microorganisms grown in plank tonnic and biofilm cultures. Aston university Aston , triangle , Birminsham B47 ET. UK.
14. الياسين ، سارة عزيز وطبان . (2001) . دراسة الفعالية التضادية للنباتات الطبية على بعض الجراثيم المرضية . رسالة ماجستير . كلية العلوم .جامعة الكوفة .
15. مجيد ، سامي هاشم ومحمود ، مهند جميل . (1988) . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي ، الطبعة الاولى .
16. Macfadin , J. F.(1979). biohemical test for identification of medical bacteria . Willams and Wilkins , USA.
17. Garrod, L. P.; Reeves, D. S.; Phillips, I.; Williams, J. D. and Wise, R. (1978). Laboratory method in antimicrobial chemotherapy. Churchill Living Stone, New York.
18. Collee,J.G . , Frase , A.G . , Marmion , B.P. and Simons , A.S. (1969). Practical medical microbiology . 14 th-ed. Chuchill Living Stone, New York .
19. Baron , E.J,; Peterson ,L.R.;Finegold , S.M.(1994).Micro organism encountered in urinary tract in Baily and scott's diagnostic microbiology . 9th-ed. Mosly company , USA.
20. Sigleton , P. and sainbury , L.(1985) , Microbiology . 4th-ed John wiley and sons . New York , USA.
21. Prescott, L. M.; Harely, J. P. and Klein, D. A. (1996). Microbiology. 3th-ed. Wm. Co. Brown Communication, Inc, USA.
22. Hernandez, M.; Lopez, R. A.; Darias, R. M. and Arias, A. (1994). Antimicrobial activity of *Visnea*. *mocanera* leaf extracts. J. Ethnopharacology 41. P: 102-109.
23. الراوي , خاشع محمود . (2000). المدخل الى الاحصاء . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .جامعة الموصل .
24. السعد، مها رؤوف و الزبيدي، طارق صالح. (1982). علم المناعة، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مطبعة جامعة بغداد.
25. Johnson, A. G.; Ziegler, R. J.; Lukasewyez, O. A. and Hawley, L. B. (2002). Board review series microbiology and immunology. 4th-ed. Lippincott Williams and Wilkins Awolters Kluwer Campany.
26. Essers , L. and Radebold , K. (1980) . Rapid and reliable identification of *staphylococcus aureus* by a latexagg lutination test . J.clin . Microbiol.12.P:641-643.