Determination the inhibitory efficiency of hybrid nano chlorhexidine against some gram negative bacteria in vitro

تقييم الكفاءة التثبيطية للمطهر كلورهكسدين النانوي الهجين ضد بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام خارج الجسم الحي

*نورس مجيد حميد علي عبد الكاظم الغانمي
جامعة كربلاء / كلية العلوم /قسم علوم الحياة

*البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول .

الخلاصة :

تم تقييم الكفاءة التثبيطية لكل من المطهر كلورهكسدين النانوي الهجين Magnisum-Alaminum-Chlorhexidine-Layered Double Hydroxide (Mg-Al-CHX-LDH) فضلاً عن المطهر كلورهكسدين الحر بطريقة الانتشار في الاكار ضد بكتريا *Pseudomonas spp.* و *Klebsiella pneumonia* و *Acinetobacter baumannii* وأوضحت النتائج أن أعلى فعالية تثبيطية كانت ضد عزلتي بكتريا *K. pneumonia* (16-B و 27) بمعدل تثبيط مقداره (15.25 و 15.16) ملم ، على التوالي في حين كانت عزلتي بكتريا *P. aeruginosa* (4-C و 15-A) الأقل تأثراً بالفعل التثبيطي للمطهر بمعدل تثبيط مقداره (6.87 و 6.75) ملم ، على التوالي . تم إجراء اختبار الحساسية الدوائية لخمسة عشر مضاد حيوي وكانت حساسية البكتريا للمضادات الحيوية مختلفة باختلاف العزلات المختبرة, وجد ان المضادين الحياتيين Ciprofloxacin و Netilmicin هما الأكثر كفاءة بنسبة 100 % ضد كل من بكتريا *K. pneumonia* و *A. baumannii* , على التوالي و بصورة عامة وجدت نسبة عالية من المقاومة للمضادات الحياتية المختبرة.

Abstract:

The inhibitory activity of each of the nano disinfectant Chlorhexidine [Magnisum-Alaminum-Chlorhexidine-Layered Double Hydroxide (Mg-Al-CHX-LDH)] in addition to free Chlorhexidine (CHX) were assessed by diffusion agar method against *Pseudomonas spp.* , *Klebsiella pneumonia* and *Acinetobacter baumannii*. Results showed that highest inhibitory activity was obtained against isolates *K. pneumonia* 16-B and 27 with average inhibition zone of 15.25 and 15.16 mm , respectively, while isolates *P. aeruginosa* 4-C and 15-A were the lowest affected with average inhibition zone of 6.87 and 6.75 mm, respectively. The antimicrobial susceptibilities test was carried out for 15 antibiotics and the susceptibility of the bacteria to different antibiotics varied depending on the isolate, Ciprofloxacin and Netilmicin were the most effective antimicrobial agents against *K. pneumonia* and *A. baumannii* , respectively . Generally, high resistance among the tested isolates was detected.

المقدمة :

يعد الكلورهكسدين (CHX 1:6 di [4-chlorophenyldiguanido]-hexane) مُطهر موضعي مُصنع بدأ إنتاجه صناعياً عام 1954 وهو عبارة عن Chlorophenyl-bis-biguanide يحتوي على سلسلتي كلوروجوانيد مرتبطتين بواسطة سلسلة سداسية المثيلين (Hexamethylene chain) ، تكون محاليل الكلورهكسدين عديمة اللون والرائحة وذات طعم مر [1] . يتوفر الكلورهكسدين بشكل أملاح الاستيت و الكلوكونيت والهيدروكلوريد ويمتاز بعدد من الصفات منها : فعاليته المضادة للبكتريا واسعة الطيف و ذو فعالية متبقية جيدة (Good residual activity) و لهُ امتصاص جهازي واطئ فضلاً عن سميته الواطئة [2] .

إن استخدام المحلول المائي Chlorhexidine diacetate بتركيز0.05 % يؤدي وبشكل ملحوظ إلى اختزال المجاميع البكتيرية الموجودة في الجروح الملوثة دون أن يؤدي إلى زيادة التهاب الأنسجة كما يمتلك الكلورهكسدين فعالية ضد مدى واسع من البكتريا وبعض الفطريات والفايروسات [3] .

يستخدم الكلورهكسدين وخاصة Digluconate ester بشكل واسع في العديد من التطبيقات الموضعية كمحاليل غسول الفم ومعاجين الأسنان بسبب قابليته على الارتباط بأسطح الفم المخاطية و بذلك يمنع تسوس الأسنان ، كما يوجد في اللصقات والضمادات والمراهم والتحاميل وهُلامات منع الحمل وكمحاليل لتعقيم الجروح فضلاً عن استخدامه كمُطهر جلدي لتقليل حالات

الإصابة بالعدوى داخل الأوعية الدموية المرتبطة بالقسطرة. إن العديد من الأدوات الطبية مثل القسطرة البولية والقسطرة الوريدية المركزية والكنيولات تكون مغلفة بطبقة رقيقة من الكلورهكسدين لزيادة تعقيم هذه الأدوات . اما Chlorhexidine diacetate فيستعمل كمادة حافظة في منتجات عديدة مثل تحضير مضادات الحموضة و سوائل العدسات اللاصقة ومواد التجميل وفي التعامل مع المواد الغذائية التجارية كما يوجد في المواد المطهرة المنزلية [4] . وقد اتجهت التقنية النانوية في السنوات الأخيرة نحو إيجاد الحلول الكفيلة بتوصيل المركب العلاجي (Delivering therapeutic compound) إلى موقع الهدف بشكل كفوء لذا فقد تم تحميل الأدوية (Drugs) على حوامل نانوية (Nanocarriers) إذ تتصف الأخيرة بسهولة استقبالها من قبل الخلايا مقارنة بالجزيئات الأكبر منها لذا فقد تم استخدام تلك الحوامل بنجاح كأدوات توصيل (Delivery tools) للمركبات الفعالة حيوياً إذ أن طريقة اتحاد الدواء بالحامل النانوي وإستراتيجية وصوله إلى الهدف تعد مهمة جداً لاستخدامه في العلاج [5].

و بالنظر إلى الأهمية الكبيرة للمطهر كلورهكسدين فقد هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الكفاءة التثبيطية للكلورهكسدين المحضر نانويا ضد بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام .

المواد وطرائق العمل :

البكتريا المستخدمة في الدراسة :

تم الحصول على 16 عزلة بكتيرية من قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كربلاء . اشتملت هذه العزلات على 8 عزلات من جنس *Pseudomonas* كانت 7 منها *Pseudomonas aeruginosa* وواحدة *Pseudomonas oryzihabitans* و 4 عزلات *Klebsiella pneumonia* و 4 عزلات *Acinetobacter baumannii* علماً بأنها كانت معزولة من إصابات الحروق .

اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

تم اختبار حساسية العزلات البكتيرية السالبة لصبغة كرام المستخدمة في هذه الدراسة تجاه عدد من المضادات الحيوية وفق طريقة انتشار الأقراص (Disk diffusion test) لتحديد حساسية البكتريا المعزولة للمضادات الحيوية على وفق ما جاء في [6] اشتملت على Tobramycin و Amoxicillin– Clavulanic acid و Piperacillin و Imipenem و Tetracycline و Gentamicin و Ceftriaxone و Cefixime و Aztreonam و – Piperacillin Tazobactam و Cefotaxime و Ceftazidime و Netilmicin و Amikacin و Ciprofloxacin .

المطهر المستخدم في الدراسة

تم الحصول على مطهر نانوي هجين من الكلورهكسدين المحمل على طبقات ثنائية الهيدروكسيد Magnisum-Alaminum-Chlorhexidine-Layered Double Hydroxide (Mg-Al-CHX-LDH) ، إذ ان المطهر النانوي المذكور مُحضر في دراسة سابقة [7]، كما أستخدم المطهر الحر لغرض المقارنة .

اختبار الفعالية التثبيطية للمطهر النانوي الهجين Mg/Al-CHX -LDH ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمطهر النانوي الهجين Mg/Al-CHX -LDH والمطهر الحر ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام وفق طريقة الانتشار في الاكار [8] كما تم تحديد معدل التثبيط الأدنى للمطهر النانوي ضد أنواع البكتريا قيد الدراسة وذلك باستخدام تراكيز من المطهر بلغت (0.01-5) ملغم/ مل.

النتائج والمناقشة :

اختبار حساسية عزلات البكتريا السالبة لصبغة كرام للمضادات الحيوية :

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول **1** ان جميع عزلات بكتريا *Pseudomonas* كانت مقاومة بنسبة 100 % لمضادات Tobramycin (TOB) و Amoxicillin - Clavulanic acid (AMC) و Ceftriaxone (CRO) (CFM) و Cefixime و Cefotaxime (CTX) وبنسبة 87.5 % لكل من Gentamicin (CN) و Aztreonam (AZT) و Piperacillin - Tazobactam (PTZ) و Ceftazidime (CAZ) وبنسبة 75 % لمضاد Piperacillin وبنسبة 62.6 % للمضادين Tetracycline (TE) و Netilmicin (NET) و بنسبة 50 % لكل من Amikacin (AK) و Ciprofloxacin (CIP) بينما كانت العزلات أقل مقاومة لمضاد Imipenem (IPM) إذ بلغت نسبة المقاومة 37.5 % .

تُصنف مضادات AMC و CRO و CFM و CTX ضمن مجموعة β -lactams ، ويمكن ان تتحقق مقاومة البكتريا لهذه المضادات بثلاث آليات الأولى : تتمثل بافراز انزيمات β - Lactamases التي تعمل على تحلل حلقة البيتا لاكتام الموجودة في المضاد والثانية : تقليل نفاذية البكتريا للمضادات وبالتالي تمنعها من الدخول إلى داخل الخلية أما الثالثة : فتعتمد على تغيير الهدف المحدد للمضاد الموجود في الخلية مما يتعذر على المضاد الارتباط بالهدف المرسوم له ، وبالتالي عدم قتل البكتريا . يعود مضاد Ciprofloxacin لمجموعة Fluoroquinolones وتتمكن البكتريا من مقاومته بنفس الآلية الأولى لمضادات AMC وCRO و CFM و CTX [9] .

تتفق نتائج دراستنا الحالية في جزء منها مع ما حصل عليه [10] إذ أن بكتريا *P. aeruginosa* المعزولة من أحد مراكز الحروق في طهران بإيران كانت مقاومة لمضادات Amikacin و Gentamicin و Cefotaxime و Ceftazidime و Cefixime و Ceftriaxone بنسب بلغت (95 و 96 و 81 و 95 و 100 و 92) % ، على التوالي . كما تتفق نتائج دراستنا أيضاً مع ما حصل عليه [11] إذ أن بكتريا *P. aeruginosa* المعزولة من مرضى الحروق في مستشفى اليرموك التعليمي ببغداد كانت مقاومة للمضادين Cefixime و Ciprofloxacin بنسبة (100و 46.2) % ، على التوالي .

تم اختبار حساسية عزلات بكتريا *K. pneumonia* و *A. baumannii* تجاه المضادات نفسها المستخدمة في اختبار حساسية بكتريا *P. aeruginosa* واظهرت النتائج الموضحة في الجدول **2** ان جميع عزلات بكتريا *K. pneumonia* كانت حساسة بنسبة 100 % لمضاد Ciprofloxacin وبنسبة 25 % لمضاد Tetracycline ، في حين كانت هذه العزلات مقاومة بنسبة 100% لبقية المضادات المستخدمة في هذه الدراسة . وقد جاءت هذه النتائج موافقة في جزء منها مع ما توصل إليه [12] إذ كانت عزلات بكتريا *Klebsiella spp.* المعزولة من مرضى الحروق من أحد المستشفيات في بنغلادش حساسة بنسبة 100 % لمضاد Ciprofloxacin .

اما عزلات بكتريا *A. baumannii* فكانت حساسة بنسبة 100 % لمضاد Netilmicin في حين أظهرت العزلتان (A-16و B-22) مقاومة متوسطة لكل من المضادين Tetracycline و Ciprofloxacin فيما تبين أن العزلتين (A-14 وA-31) كانتا حساستين لهذين المضادين . لاتتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما حصل عليه [13] اللذان أشارا إلى أن بكتريا *A. baumannii* المعزولة من أحدى المستشفيات في أيران كانت حساسة للمضادين Gentamicin و Ciprofloxacin بنسبة (100 و 85) % ، على التوالي .

تقاوم البكتريا مضاد التتراسايكلين بآليتين هما الإخراج الفعال (Active efflux) للمضاد من البكتريا مما يؤدي إلى تخفيف تركيز المضاد داخل الخلية فضلاً عن الآلية الأقل شيوعاً المتمثلة بإيقاف فعالية المضاد عن طريق عمليات الاكسدة و الاختزال (Redox process). ينتمي المضادان Erythromycin و Azithromycin لمجموعة Macrolide ويمكن تفسير مقاومة البكتريا لهما بآليتين : الأولى : من خلال افراز انزيم Estrase الذي يعمل على تحلل حلقة اللاكتون (Lactone ring) او يعمل الانزيم على تغيير تركيب المضاد عن طريق نقل مجموعة فعالة (Functional group) للمضاد مثل مجاميع acyl و ribosyl و phosphoryl , والثانية : تتمثل بتغيير الهدف للمضاد الحيوي , بينما تتمكن البكتريا من مقاومة المضاد Clindamycin عن طريق تغيير تركيب المضاد بفعل انزيم Nucleotide transferase [9].

الجدول 1: اختبار حساسية عزلات بكتريا *Pseudomonas spp.* تجاه المضادات الحيوية

النسبة المئوية لمقاومة المضادات	*P. oryzihabitans*	*P. aeruginosa*							اسم العزلة	
	14 - B	28 - B	11	24 - A	4 - C	18	15 -A	1	رقم العزلة / المضاد الحيوي	ت
100 %	R	R	R	R	R	R	R	R	TOB	1
100 %	R	R	R	R	R	R	R	R	AMC	2
75 %	R	R	I	R	R	R	R	I	PIP	3
37.5 %	R	S	S	S	S	R	I	R	IPM	4
62.5 %	I	R	S	I	R	R	R	R	TE	5
87.5 %	R	R	R	S	R	R	R	R	CN	6
100 %	R	R	R	R	R	R	R	R	CRO	7
100 %	R	R	R	R	R	R	R	R	CFM	8
87.5 %	I	R	R	R	R	R	R	R	AZT	9
87.5 %	R	R	R	S	R	R	R	R	PTZ	10
100 %	R	R	R	R	R	R	R	R	CTX	11
87.5 %	R	R	R	R	R	R	R	I	CAZ	12
62.5 %	R	R	S	S	R	S	R	R	NET	13
50 %	S	R	S	S	R	R	R	S	AK	14
50 %	S	R	S	S	R	R	R	S	CIP	15

Intermediate (I) , Resist (R) , Sensitive (S)

تنتمي مضادات Tobramycin و Gentamicin و Netilmicin و Amikacin إلى مجموعة Amimoglycosides وتقاوم البكتريا هذه المضادات من خلال عدة آليات تتضمن : الأولى : تثبيط المضاد من خلال أنزيم يعمل على تغيير تركيب المضاد عن طريق نقل مجموعة فعالة (Functional group) للمضاد مثل مجاميع acyl و ribosyl و phosphoryl او Thiol عن طريق تغيير تركيب المضاد بفعل انزيم Nucleotide transferase والثانية : تتمثل بتحوير الهدف للمضاد الحيوي بواسطة عملية Methylation على الحامض النووي 16S rRNA, والثالثة : تقليل نفاذية جدار البكتريا للمضادات الحيوية وبالتالي تمنعها من الدخول إلى داخل الخلية البكتيرية [9].

الجدول 2 : اختبار حساسية عزلات بكتريا *K. pneumonia* و *A. baumannii* تجاه المضادات الحيوية

اسم العزلة		*K. pneumonia*				النسبة المئوية لمقاومة المضادات	*A. baumannii*				النسبة المئوية لمقاومة المضادات
ت	رقم العزلة / المضاد الحيوي	27	4 - B	16 - B	15 - B		16 - A	14 - A	31 -A	22 - B	
1	TOB	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
2	AMC	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
3	PIP	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
4	IPM	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
5	TE	R	S	R	R	75 %	I	S	S	I	0 %
6	CN	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
7	CRO	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
8	CFM	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
9	AZT	R	R	R	R	100 %	R	I	R	R	75 %
10	PTZ	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
11	CTX	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
12	CAZ	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
13	NET	R	R	R	R	100 %	S	S	S	S	0 %
14	AK	R	R	R	R	100 %	R	R	R	R	100 %
15	CIP	S	S	S	S	0 %	I	S	S	I	0 %

Intermediate (I) , Resist (R) , Sensitive (S)

الفعالية التثبيطية للمطهر النانوي الهجين Mg/Al-CHX-LDH والحر CHX ضد البكتريا المعزولة من الحروق

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمطهر كلورهكسدين بنوعيه الحر والنانوي الهجين ضد 16 عزلة من البكتريا السالبة لصبغة كرام اشتملت على 8 عزلات من جنس *Pseudomonas* كانت 7 منها *Pseudomonas aeruginosa* وواحدة *Pseudomonas oryzihabitans* و 4 عزلات *Klebsiella pneumonia* و 4 عزلات *Acinetobacter baumannii* ويتضح من النتائج المبينة في الجداول (3 و4 و5) إن هناك تبايناً في تأثير المطهر الحر و النانوي الهجين على أنواع البكتريا المدروسة إذ يتضح من ملاحظة الجدول 3 أن الفعل التثبيطي للمطهر قيد الدراسة كان أقوى ضد عزلات بكتريا *K. pneumonia* في حين كانت عزلتي بكتريا *P. aeruginosa*(C-4 و A-15) الأقل تأثراً بالفعل التثبيطي للمطهر .

وتعود فعالية هذا المركب إلى تفاعل الشحنة الموجبة للجزيئة مع مجاميع الفوسفات ذات الشحنة السالبة على جدار الخلية المايكروبية مما يؤدي إلى تغيير التوازن الازموزي للخلية وبالتالي زيادة نفاذية جدار الخلية ودخول جزيئات المركب إلى البكتريا . عند استخدام الكلورهكسدين بتركيز قليل (0.2%) فأن المواد واطئة الوزن الجزيئي سوف تتسرب إلى خارج الخلية خاصة البوتاسيوم والفسفور، أما عند استخدامه بتركيز عالي (2%) فأنهُ يكون قاتل للبكتريا (Bactericidal) إذ يؤدي إلى ترسيب مكونات السايتوبلازم مؤدياً إلى موت الخلية [14] و [15] و [16] .

لم تتوفر دراسات سابقة عن الفعل التثبيطي للكلورهكسدين النانوي الهجين ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام . في حين أشارت العديد من الدراسات إلى الفعل التثبيطي للكلورهكسدين الحر ضد بعض أنواع البكتريا ، ففي دراسة قام بها [10] عن استخدام الكلورهكسدين ضد بكتريا *P. aeruginosa* المقاومة للأدوية المعزولة من خمج الحروق من احد المستشفيات في مدينة طهران بإيران ، تبين أن هذا المطهر كان فعالاً ضد البكتريا قيد الدراسة بقطر تثبيط مقداره 1.9± 14.4 ملم كما تمكن [17] من اختبار الفعالية التثبيطية للكلورهكسدين ضد عدد من عزلات بكتريا *Acinetobacter spp* و *Klebsiella spp* وقد تراوحت أقطار التثبيط للعزلات المدروسة بين (10-19.9) ملم .

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للجدولين (3و5) أن هناك فروقات معنوية $p<0.05$ بين العزلات البكتيرية المدروسة وكذلك بين المركب الحر والنانوي الهجين Mg/Al-CHX-LDH وبين التراكيز المستعملة من هذين المركبين بينما بينت نتائج التحليل الإحصائي للجدول 4 أن هناك فروقات معنوية $p<0.05$ بين العزلات البكتيرية وبين التراكيز المستعملة فقط في حين كان الفرق بين المركب النانوي الهجين و المركب الحر غير معنوي $p>0.05$.

كما تظهر النتائج الموضحة في الجدول 3 تفوق المطهر النانوي الهجين على المركب الحر معنوياً $p<0.05$ بينما تظهر النتائج الموضحة في الجدول 5 تفوق المطهر الحر على المطهر النانوي الهجين وتجدر الإشارة إلى أن معدل التثبيط للتراكيز الستة المستعملة يزداد معنوياً $p<0.05$ بزيادة التركيز المستعمل لكل من المطهر الحر والمطهر النانوي .

تبين النتائج في الجدول 3 أن العزلة 14-B *P. oryzihabitans* كانت أكثر حساسية تجاه المركبين المدروسين إذ أعطت أعلى معدل تثبيط والبالغ 13.50 ملم وبفروقات $p<0.05$ معنوية عن بقية العزلات بينما كانت عزلتا *P. aeruginosa* (4-C و15-A) أكثر مقاومة للمركبين إذ أعطيا أقل معدل تثبيط وهو (6.87 و 6.75) ملم ، على التوالي كما تظهر النتائج الموضحة في الجدول ذاته تفوق المركب النانوي الهجين على المركب الحر معنوياً $p<0.05$ أذ كان معدل التثبيط للمركب النانوي الهجين 9.72 ملم والذي يختلف معنوياً $p<0.05$ عن معدل تثبيط المركب الحر والبالغ 9.53 ملم .

أن النتائج الموضحة في الجدول 4 تبين أن العزلتين (16-Bو27) *K. pneumonia* كانتا أكثر حساسية تجاه المركبين المدروسين إذ أعطتا أعلى معدل تثبيط والبالغ (15.25 و 15.166) ملم ، على التوالي وبفروقات معنوية $p<0.05$ عن بقية العزلات بينما كانت العزلة 4-B *K. pneumonia* أكثر مقاومة للمركبين إذ أعطت أقل معدل تثبيط وهو 13.70 أن الفرق بين المركب النانوي الهجين و المركب الحر غير معنوي $p>0.05$ أذ كان معدل التثبيط للمركب النانوي الهجين والحر هو (14.39و 14.64) ملم ، على التوالي ، كما أن معدل التثبيط للتراكيز الستة المستعملة يزداد معنوياً $p<0.05$ بزيادة التركيز المستعمل إذ كان أعلى معدل تثبيط للمركبين النانوي الهجين والحر عند التركيز 5 ملغم/ مليلتر هو(22.25 و 21.62) ملم ، على التوالي .

تبين النتائج في الجدول 5 أن العزلة 14-A و *A. baumannii* كانت أكثر حساسية تجاه المركبين المدروسين إذ أعطت أعلى معدل تثبيط والبالغ 8.91 ملم وبفروقات $p<0.05$ معنوية عن بقية العزلات بينما كانت العزلة 22-B *A. baumannii* أكثر مقاومة للمركبين إذ أعطت أقل معدل تثبيط وهو 7.583 ملم ، كما تظهر النتائج الموضحة في الجدول ذاته تفوق المركب الحر على المركب النانوي الهجين معنوياً $p<0.05$ أذ كان معدل التثبيط للمركب الحر 9.77 ملم والذي يختلف معنوياً $p<0.05$ عن معدل تثبيط المركب النانوي الهجين والبالغ 7.24 ملم . ومما تجدر الإشارة إليه أن معدل التثبيط للتراكيز الستة المستعملة يزداد معنوياً $p<0.05$ بزيادة التركيز المستعمل إذ كان أعلى معدل تثبيط للمركبين الحر و النانوي الهجين عند التركيز 5 ملغم/ مليلتر هو (18.75 و 17.5) ملم ، على التوالي .

الجدول 3 : الفعالية التثبيطية للمركب النانوي CHX-LDH و المركب الحر CHX ضد البكتريا *Pseudomonas spp*.

المركبات	CHX-LDH						CHX-Free						معدل تثبيط العزلات
تركيز المركب (ملغم/مل)	5	1	0.5	0.25	0.1	0.01	5	1	0.5	0.25	0.1	0.01	
عزلات البكتريا	قطر التثبيط بالملم												
P. aeruginosa 1	22.5	16.5	13	0	0	0	20.5	17	12	11	0	0	9.375 C
P. aeruginosa 15-A	22.5	14	0	0	0	0	20	13	11.5	0	0	0	6.75 F
P. aeruginosa 18	18.5	15.5	11.5	0	0	0	21	14	11.5	0	0	0	7.66 E
P. aeruginosa 4-C	20	12.5	0	0	0	0	23.5	15.5	11	0	0	0	6.875 F
P.aeruginosa 24-A	24	21	18.5	17	14	0	19.5	14.5	13	11.5	0	0	12.75 B
P. aeruginosa 11	24	18.5	18	16	14.5	0	22	16	13.5	12	0	0	12.875 B
P. aeruginosa 28-B	21.5	16	11	0	0	0	20	16	13	0	0	0	8.125 D
P. oryzihabitans 14-B	21.5	16.5	15	13.5	0	0	22.5	21	19.5	17.5	15	0	13.50 A
معدل تثبيط التركيز	21.81 a	16.31 c	10.87 f	5.812 h	3.562 i	0.0 k	21.12 b	14.62 d	13.12 e	6.50 g	1.875 j	0.0 k	
معدل تثبيط المركبات	9.727 A						9.539 B						

العامل	المركبات	العزلات	التركيز	التداخل
$LSD_{0.05}$	0.146	0.207	0.253	0.717

الجدول 4: الفعالية التثبيطية للمركب النانوي CHX-LDH و المركب الحرCHX ضد البكتريا *K. pneumonia*

المركبات	CHX-LDH						CHX-Free						معدل تثبيط العزلات
تركيز المركب(ملغم/مل)	0.01	0.1	0.25	0.5	1	5	0.01	0.1	0.25	0.5	1	5	
عزلات البكتريا	قطر التثبيط بالملم												
K. pneumonia 27	0	13.5	16	17.5	18.5	23.5	0	15.5	17	18	20.5	22	15.166 A
K. pneumonia 4-B	0	12.5	16	16.5	17	20.5	0	12	15.5	17	17.5	20	13.708 C
K. pneumonia 16-B	0	14.5	16	17	20	24.5	0	14.5	15	18	21	22.5	15.25 A
K. pneumonia 15-B	0	13	15	16.5	19.5	22	0	10.5	16	17	17.5	24.5	14.291 B
معدل تثبيط التركيز	0.0 j	13.37 h	15.75 g	16.87 f	18.75 d	21.62 b	0.0 j	13.12 i	15.87 g	17.5 e	19.12 c	22.25 a	
معدل تثبيط المركبات	14.393						14.643						

العامل	المركبات	العزلات	التركيز	التداخل
$LSD_{0.05}$	غير معنوي	0.195	0.145	0.676

الجدول 5 : الفعالية التثبيطية للمركب النانوي CHX-LDH و المركب الحر CHX ضد بكتريا *A. baumannii*

المركبات	CHX-LDH						CHX-Free						معدل تثبيط العزلات
تركيز المركب(ملغم/مل)	0.01	0.1	0.25	0.5	1	5	0.01	0.1	0.25	0.5	1	5	
عزلات البكتريا	قطر التثبيط بالملم												
A. baumannii 16-A	0	0	0	11.5	14	18	0	0	13.5	14.5	15.5	18.5	8.791 A
A. baumannii 14-A	0	0	0	12.5	14	17.5	0	0	13.5	15	16.5	18	8.916 A
A. baumannii 31-A	0	0	0	11.5	14	18	0	0	13	14	15.5	19	8.75 A
A. baumannii 22-B	0	0	0	12	14.5	16.5	0	0	0	13.5	15	19.5	7.583 B
معدل تثبيط التركيز	0.0 g	0.0 g	0.0 g	11.87 e	14.12 d	17.5 b	0.0 g	0.0 g	10.0 f	14.25 d	15.62 c	18.75 a	
معدل تثبيط المركبات	7.248 B						9.77 A						

العامل	المركبات	العزلات	التركيز	التداخل
$LSD_{0.05}$	0.146	0.207	0.253	0.717

* الحروف الكبيرة المختلفة عموديا تشير الى وجود فروقات معنوية ($p<0.05$) بين عزلات البكتريا.
* الحروف الصغيرة المختلفة عموديا تشير الى وجود فروقات معنوية ($p<0.05$) بين تراكيز المركبات.
* الحروف الكبيرة المختلفة افقيا تشير الى وجود فروقات معنوية ($p<0.05$) بين المركبات

المصادر :

1- Calogiuri, F.G.; Di Leo, E.; Trautmann, A.; Nettis, E.; Ferrannini, A. and Vacca, A.(2013). Chlorhexidine hypersensensitivity: a critical and updated review. J Allergy Ther.4(4):1-7

2- Lozier, S.M.(1993). Topical wound therapy, in: Harari J editor. Surgical complications and wound healing in small animal practice. Philadelphia,63-88.

3- Waldron, D.R. and Trevor, P.(1993). Management of superficial skin wounds. In:Slatter DH,editor.Textbook of small animal surgery 2nd edn. Saunders, Philadelphia.262-279.

4- Lim, K.S.and Kam, P.C.(2008). Chlorhexidine-pharmacology and clinical applications. Anaesth Intensive Care.36:502-512.

5- Suri , S.S. ; Fenniri, H. and Singh, B. (2007) . Nanotechnology –based drug delivery systems . J Occup Med Toxicol, 2: 16.

6- Morello, J.A.; Mizer, H.E.; and Granato. (2006). Laboratory manual and workbook in microbiology applications to patient care. 18th.ed. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York: 95-99.

7- AL-Khafaji, N. M. (2015). Preparation of nano compounds from some antimicrobial agents and studying their biological activities.University of Kerbala- College of Science. MSc thesis .(In Arabic) .

8- Egorove, N.S.(1985).Antibiotics ascientific approach. Mir Publishers, Moscow.

9- Kumar, S. and Varela, M.F.(2013) . Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education (A. Méndez-Vilas, Ed.) .

10- Owlia, P.; Saderi, H.; Mansouri, S.; Salemi, S. and Ameli, H.(2006).Drug resistance of isolated strains of Pseudomonas aeruginosa from burn wound infections to selected antibiotics and disinfectants. Iranian Jounal of Pathology.1(2):61-64.

11- Mohammed, S.W.(2007). Isolation and identification of aerobic pathogenic bacteria from burn wound infections. Journal of Al-Nahrain University.10(2)pp.94-97.

12- Magnet, M.H.; Arongozeb ; Khan, G.M. and Ahmed, Z.(2013). Isolation and identification of different bacteria from different types of burn wound infections and study their antimicrobial sensitivity pattern. International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences.1(3):125-132.

13- Ekrami, A. and Kalantar, E.(2007). Bacterial infections in burn patients at aburn hospital in Iran. Indian J Med Res.126,541-544.

14- Greenstein, G.; Berman, C. and Jaffin, R.(1986). Chlorhexidine:An adjunct to periodontal therapy. Journal of Periodontology.57,370- 6.

15- Gomes, B.P.F.A.; Souza, S.F.C.; Ferraz, C.C.R.; Teixeira, F.B.; Zaia, A.A.; Valdringhi, L. and Souza-Filho, F.J.(2003a). Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus fa*ecalis in bovine root dentine in vitro. International Endodontic Journal.36,267-75.

16- Gomes, B.P.; Sato, E.; Ferraz, C.C.; Teixeira, F.B.; Zaia, A.A. and Souza-Filho, F.J.(2003b). Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. International Endodontic Journal.36:604-9.

17- Echague, C.G.; Hair, P.S. and Cunnion, K.M.(2010).A comparison of antibacterial activity against MRSA and gram negative organisms for antimicrobial compounds in a unique composite wound dressing. Eastern Virginia Medical School.