Bioactivity of Furfural on Different Species of Pathogenic Bacteria

A Thesis

Submitted To The Council of The college of science , Babylon University in Partial FulFillment of The Requirements For The Degree of master Of science Biology /Microbiology

By

Adil Aubaid Hassony AL–Saddi

March-٢٠٠٢

الفعالية الحياتية للفورفورال على أنواع مختلفة من البكتريا الممرضة

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم-جامعة بابل
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في
علوم الحياة/ علم الأحياء المجهرية

من قبل

عادل عبيد حسوني السعدي

ذو الحجة ١٤٢٢هـ **آذار ٢٠٠٢م**

بسم الله الرحمن الرحيم

رَبَّنَا آتِنَا مِنْ لَدُنْكَ رَحْمَةً وَهَيِّئْ لَنَا

مِنْ أَمْرِنَا رَشَداً .

﴿صدق الله العلي العظيم﴾

﴿من سورة الكهف﴾

بِسۡمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحۡمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

شكر وتقدير

اتقدم بالشكر والتقدير الى أستاذيّ المشرفين الدكتور عبد الله كاظم هندي والدكتور هيثم ناجي احمد لاقتراحهما موضوع البحث وتذليل الصعوبات التي واجهت تنفيذها .

وعرفاناً بالجميل اتقدم بالشكر الجزيل الى رئاسة جامعة بابل وعمادة كلية العلوم وقسم علوم الحياة لاتاحة الفرصة لأكمال دراستي كما اتقدم بجزيل شكري وتقديري الى منظمة الطاقة الذرية لتسهيل مهمتي في اجراء البحث واتقدم بشكري الى السيدة أوميت البكتريلوجية في مختبر مستشفى مرجان بالحلة لمساعدتي بالحصول على العزلات . واتقدم بالشكر والتقدير الى الآنسة زينب جواد عبد الحسين مجلة الجامعة / جامعة بابل لجهودها الحثيثة في طباعة الرسالة وشكري الجزيل الى المقوم اللغوي الدكتور خالد عباس حسين كلية التربية / جامعة كربلاء لتقويم الرسالة لغوياً .

كما اتقدم بالشكر والتقدير الى كل من مدّ يد العون والمساعدة لي .

ومن الله التوفيق .

عادل السعدي

توصية الأستاذين المشرفين

نشهد إن إعداد هذه الرسالة جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة بابل وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة / احياء مجهريه.

التوقيع
اسم المشرف : د. عبد الله كاظم هندي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل
التاريخ : / / ٢٠٠٢

التوقيع
اسم المشرف : د. هيثم ناجي احمد
المرتبة العلمية : رئيس باحثين
العنوان : منظمة الطاقة الذريه
التاريخ : / / ٢٠٠٢

توصية رئيس القسم

إشاره الى التوصيه اعلاه المقدمه من قبل الأستاذين المشرفين ، احيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :
الاسم : د. فكرت مجيد حسن
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل
التاريخ : / / ٢٠٠٢

قرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا اعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على الرسالة الموسومة الفعالية الحياتية للفورفورال على أنواع مختلفة من البكتريا المرضية وقد ناقشنا الطالب **عادل عبيد حسوني السعدي** في محتوياتها وفيما له علاقه بها وذلك بتاريخ ٥ / ٥ / ٢٠٠٢ ووجدنا بأنها جديره بالقبول وبتقدير (امتياز) لنيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة / احياء مجهريه

رئيس لجنة المناقشة
الاسم : د. هشام عطا شحاذه
المرتبة العلميه :استاذ مساعد
العنوان :وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

عضو اللجنة
التوقيع :

عضو اللجنة
التوقيع :

الاسم : عباس صبري عبد الرزاق
المرتبة العلمية :استاذ مساعد
العنوان : كلية طب الاسنان / جامعة بغداد

الاسم :محمد صبري عبد الرزاق
المرتبة العلمية :استاذ مساعد
العنوان :كلية الطب/ جامعة بابل

عضو اللجنة المشرف
التوقيع :
الاسم : د. عبد الله كاظم هندي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل

عضو اللجنة المشرف
التوقيع :
الاسم : د. هيثم ناجي احمد
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : منظمة الطاقة الذريه

مصادقة عمادة كلية العلوم

اصادق على ما جاء في قرار اللجنة اعلاه

التوقيع :
الاسم : د. فلاح حسن حسين
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل
التاريخ : / / ٢٠٠٢

الخلاصة

ان العمل المنجز في هذه الرسالة قد تم في جامعة بابل للفترة من تشرين أول /٢٠٠٠ الى تشرين أول /٢٠٠١ وبأشراف كل من الدكتور عبد الله كاظم هندي والدكتور هيثم ناجي أحمد وباستثناء ما مشار اليه بمصدر معين فأن المعلومات الموجودة هي من نتاج الباحث وانها لم تقدم لنيل درجة علمية اخرى سابقاً.

تهدف هذه الدراسة بيان الفعالية الحياتية للفورفورال على نشاط وحيوية مجموعة من الانواع البكترية الممرضة ، ولتحقيق هذا الغرض تم استخلاص وفصل مادة الفورفورال حيث تم انتاجها من كوالح الذرة في منظومة تمثيل عمليتي التصعيد والفصل في وقت واحد وقد تم العمل في ظروف المختبر والتسخين بدرجة حرارة C° ١٠٤ باستعمال ٤٠٠ غم من كوالح الذرة و١٦٠٠ مل من حامض الكبريتيك بتركيز ١٠٪ مع ٥٠٠ غم من ملح الطعام الذي يعطي ناتج افضل للفورفورال بمدة ست ساعات ،

وتم اجراء الدراسة لتحديد الفعالية الحياتية لمادة الفورفورال على مجموعة من الانواع البكترية التي شملت انواع موجبة الكرام تمثلت بالانواع *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pyogens*, *Streptococcus pneumoniae* وانواع اخرى سالبة الكرام تمثلت *بالانواع* *Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli* , *Salmonella typhi* *Klebsiella pneumoniae* , *Proteus mirabilis* , *Shigella dysentery*

وقد أكدت النتائج التي تم التوصل اليها بأن للفورفورال تأثيراً فعالاً على الانواع البكترية المدروسة كافة ما عدا بكتريا الـ proteus التي لم يكن للفورفورال تأثير واضح عليها .

ومن خلال الدراسة تبين أنّ تأثير الفورفورال كان مثبطاً لنمو الانواع البكترية الموجبة لصبغة كرام Bacteristatic ، وقاتلاً للانواع البكترية السالبة لصبغة كرام Bactericidal حيث تم تحديد منطقة التثبيط Inhibition zone (hz) باستخدام تراكيز مختلفة من الفورفورال تمثلت بـ (١ ، ٠.٨ ، ٠.٦ ، ٠.٤ ، ٠.٢ ، ٠.١) مولاري .

وكذلك تم تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى (MBC) Minimal Bacteriostatic Concentration في مجموعة بكتريا الاختيار باستخدام

B

تراكيـــز تمثلــت بــ ($\frac{1}{10},\frac{1}{20},\frac{1}{30},\frac{1}{40},\frac{1}{50}$) مـايكروغرام/ مـل . ولـوحظ ان قيمـة الــ MBC للبكتريا الموجبة بلغت $\frac{1}{30}$ بينما كانت قيمة الـ MBC للبكتريا السالبة $\frac{1}{20}$.

((المحتويات))

الموضوع	الصفحة
الخلاصة	I
المحتويات	III
قائمة الجداول	VIII
قائمة الاشكال	X
١ الفصل الأول- المقدمة	١-٢٢
١-١ مقدمة عامة	١
١-٢ الاصابات الجلدية المتسببة بواسطة البكتريا	٢
١-٣ النباتات الطبية	٤
١-٤ اهمية النباتات الطبية	٥
١-٥ المضادات المايكروبية	٦
١-٥-١ الشروط المثاليه المطلوب توفرها للمضاد المايكروبي	٧
١-٦ مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية	٧
١-٧ الفورفورال	٩
١-٨ انتاج مادة الفورفورال صناعياً	١٠
١-٩ انتاج مادة الفورفورال مختبرياً	١٢
١-١٠ الخواص الفيزيائية والكيميائية للفورافورال	١٢
١-١٠-١ الخواص الفيزيائية	١٢
١-١٠-٢ الخواص الكيميائية	١٣
١-١١ مشتقات الفورفورال المهمة واستخداماتها	١٤
١-١٢ فعالية الفورفورال السمّية	١٦
١-١٢-١ تأثيره على الحيوان والأنسان	١٦
١-١٣ التأثيرات الحياتية للفورفورال على الأحياء المجهرية	١٧
١-١٣-١ تأثير الفورافورال على الخمائر	١٨
١-١٣-٢ تثبيط الفطريات النباتية بواسطة الفورافورال	١٨
١-١٣-٣ استخدام الفورفورال في مكافحة نيماتودا تعقد الجدور على كل من الخيار والباذنجان.	١٩
١-١٣-٤ فعالية الفورافورال في مكافحة تفحم الحنطة	١٩
١-١٣-٥ تأثير الفورافورال على بعض انواع البكتريا المرضية	١٩
١-١٤ اهداف البحث	٢٢
٢- الفصل الثاني – المواد وطرائق العمل	٢٣-٤٦
٢-١ الاجهزة المستخدمة	٢٣
٢-٢ الأوساط الزرعية المستخدمة	٢٤
٢-٣ منظومة التفاعل المختبرية	٢٥

٢-٤ تشغيل المنظومة المختبرية	٢٧
٢-٥ ايقاف المنظومة عن العمل	٢٧
٢-٦ عزلات بكتريا الأختبار	٢٨
٢-٧ أوساط الاختبارات التأكيدية	٢٩
٢-٧-١ الوسط المغذي الصلب	٢٩
٢-٧-٢ الوسط المغذي السائل	٢٩
٢-٧-٣ وسط نقيع المخ والقلب السائل	٢٩
٢-٧-٤ وسط نقيع المخ والقلب الصلب	٢٩
٢-٧-٥ وسط الماكونكي	٣٠
٢-٧-٦ وسط اكار الدم الصلب	٣٠
٢-٧-٧ وسط E.M.B	٣٠
٢-٧-٨ وسط سالمونيلا-شيغلا الصلب	٣٠
٢-٧-٩ وسط D C A	٣٠
٢-٧-١٠ وسط المانيتول الصلب	٣١
٢-٧-١١ وسط مولرهنتون الصلب	٣١
٢-٧-١٢ وسط البايوسيانين	٣١
٢-٧-١٣ وسط اكار الجيلاتين	٣١
٢-٧-١٤ وسط اكار اليوريا	٣١
٢-٧-١٥ وسط اكار النشا	٣٢
٢-٧-١٦ وسط ماء الببتون	٣٢
٢-٧-١٧ وسط اكار الحليب الصلب	٣٢
٢-٧-١٨ وسط سيمون ستريت	٣٢
٢-٦-١٩ وسط كلكلر	٣٣
٢-٧-٢٠ وسط اختبار الحركة	٣٣
٢-٧-٢١ وسط احمر المثيل وفوكس بروسكور	٣٣
٢-٧-٢٢ وسط التايروسين	٣٥
٢-٧-٢٣ وسط المالونيت	٣٥
٢-٧-٢٤ وسط تخمير السكريات	٣٥
٢-٨ الصبغات والمحاليل والكواشف	٣٥
٢-٨-١ صبغة كرام	٣٥
٢-٨-٢ محلول الفانفثيل أمين	٣٥
٢-٨-٤ كاشف اختبار الأوكسيديز	٣٦
٢-٨-٥ كاشف اختبار الكاتليز	٣٦
٢-٨-٦ كاشف فرازيرز	٣٦
٢-٨-٧ كاشف لوكول	٣٦

٢-٨-٨ كاشف كوفاكس	٣٧
٢-٨-٩ المحلول الملحي الفسيولوجي	٣٧
٢-٨-١٠ محلول ماكفرلاند	٣٧
٢-٩ التعقيم والغسل	٣٨
٢-١٠ عزلات بكتريا الاختبار	٣٨
٢-١٠-١ تحضير المزروع البكتيري	٣٨
٢-١٠-٢ ادامة المزروع النقي	٣٨
٢-١١ الفحوصات الكيموحياتية التأكيدية	٣٩
٢-١٢ التراكيز المستخدمة في التجربة	٤٤
٢-١٣ اختيار الفعالية التضادية للفورفورال	٤٤
٢-١٤ تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى	٤٥
٣- الفصل الثالث – النتائج والمناقشة	**٤٧-٨١**
٣-١ العزلات البكتيرية	٤٧
٣-٢ التأثير الحياتي للفورفورال على الاجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام	٥٠
٣-٢-١ المكورات العنقودية الذهبية	٥٠
٣-٢-٢ المسبحيات القيحية	٥٣
٣-٢-٣ المسبحيات الرئوية	٥٦
٣-٢-٤ تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى	٥٩
٣-٢-٥ مقارنة التأثير التثبيطي للفورفورال على نمو الاجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام.	٦٠
٣-٣ التأثير الحياتي للفورفورال على الاجناس البكتيرية السالبة لصبغة كرام .	٦٢
٣-٣-١ بكتريا الزائفه الزنجارية	٦٢
٣-٣-٢ بكتريا الاشركيا القولونية	٦٤
٣-٣-٣ بكتريا الكلبسيلا الرئوية	٦٧
٣-٣-٤ بكتريا السالمونيلا	٧٠
٣-٣-٥ بكتريا الشيغلا	٧٣
٣-٣-٦ بكتريا الـ Proteus. Mirabilis	٧٦
٣-٣-٧ تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى	٧٩
٣-٣-٨ مقارنة التأثير التثبيطي للفورفورال في نمو الاجناس البكتيرية السالبة لصبغة كرام .	٧٩
الاستنتاجات والتوصيات	٨٢-٨٣
الاستنتاجات	٨٢
التوصيات	٨٣
المصادر والمراجع	٨٤-٩٥

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
١-١	اسماء وتراكيب مختلفة من مشتقات الفورفورال	١٥
٢-٣	الفحوصات الكيوحياتية.	٤٨
٣-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا العنقوديات الذهبية.	٥١
٤-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات القيحية .	٥٤
٥-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات الرئوية.	٥٧
٦-٣	قيم التركيز المثبط الادنى للاجناس البكترية الموجبة لصبغة كرام.	٦١
٧-٣	التأثير التثبيطي للفورفورال على الاجناس البكترية الموجبة لصبغة كرام.	٦١
٨-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الزائفة الزنجارية.	٦٢
٩-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الاشركيا القولونية.	٦٥
١٠-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الكلبسيلا الرئوية.	٦٨
١١-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا السالمونيلا.	٧١
١٢-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الشيغلا.	٧٤
١٣-٣	قيم الـM I C للاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام.	٨٠
١٤-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام.	٨١

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
٢-١	رسم تخطيطي لمنظومة التفاعل المختبرية .	٢٦
٣-٢	تأثير الفورافورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية .	٥٢
٣-٣	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات القيحية	٥٥
٣-٤	تأثير الفورافورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات الرئوية .	٥٨
٣-٥	تأثير الفورافورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الزائفه الزنجارية .	٦٣
٣-٦	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الاشركيا القولونيه .	٦٦
٣-٧	تأثير الفورافورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الكلبسيلا الرئوية .	٦٩
٣-٨	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا السالمونيلا .	٧٢
٣-٩	تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الشيغلا .	٧٥

٣-١٠	تـــأثير الفورفـــورال بتراكيـــز مختلفـــة علـــى بكتريـــا الـــ **Proteus .mirabilis**	٧٨

الفصل الاول CHAPTER ONE

المقدمة Introduction

١-١ مقدمة عامة General Introduction

تعد البكتريا المرضية من أكثر الاحياء المجهرية المسببة للعديد من الامراض للانسان والحيوان على حد سواء وعملية حصول الإصابة تكمن بالدرجة الاساس في الآلية التي تسلكها البكتريا المرضية لأحداث هذه الإصابة ، ومن ثم تطورها الى ظهور العلامات والاعراض المرضية لدى الشخص المصاب واستقرار الكائن المرضي وصولاً الى المراحل المتقدمة من الإصابة .

وتمتلك البكتريا المرضية مميزات خاصة تجعل منها ذات قدرة كبيرة على أحداث الاصابة، منها قابليتها الفائقة على الانتقال من مكان الى آخر والالتصاق بخلايا المضيف والانتشار الى الخلايا والانسجة الاخرى ، اضافة الى ذلك قابليتها على افراز السموم المختلفة ذات الفعالية التأثيرية العالية ومن ثم غزو الجهاز المناعي للشخص المصاب .

(John & Sons , ١٩٩٨)

بصورة عامة قُسَمت البكتريا اعتماداً على امراضيتها الى عدة مجاميع ، فالمجموعة الأولى هي الاحياء المجهرية الطبيعية Normal flora وتكون هذه المجموعة عادة غير ممرضة للانسان او الحيوان .

اما المجموعة الثانية فهي الاحياء المجهرية الانتهازية apportunistics مثل بكتريا *Ps. aeruginosa* وهذه المجموعة لها القابلية على الانتقال واحداث الاصابة عند توفر الظروف والفرصة المناسبة لها ، وغالباً ما يُسبب هذا النوع من البكتريا عدوى المستشفيات nosocomial infection خاصة بين المرضى الراقدين والاشخاص الملامسين لهم.

(Alshibib et al , ١٩٨٢)

اما المجموعة الاخرى من هذه الاحياء فهي تشمل الاحياء المجهرية المرضية وهذه المجموعة تختلف باختلاف طريقة الاصابة بها وطبيعتها فمنها ما تكون اصابتها كامنة أي يكون المضيف حاملاً للاصابة Carrier دون ظهور الاعراض المرضية التي تشير الى حدوث هذه الاصابة ، وهذا النوع من الصعب تشخيصه سريرياً ، والنوع الآخر من البكتريا المرضية هي التي تبدأ اصابتها الأولية في الحيوان ومن ثم تنتقل الى الانسان بطريق المنتجات الغذائية ومثال عليها بكتريا السالمونيلا *Salmonella* وبكتريا *Campylobacter*

ان طرق انتقال الاصابة البكترية عديدة ومتنوعة ويُعدَّ الجلد من اكثر الاماكن تعرضاً لغزو البكتريا المرضية ومن ثم أجزاء الجسم الأخرى ، وذلك بسبب تعرض الجلد الى الجروح والحروق والخدوش ولسعات الحشرات التي تسهل للبكتريا المرضية الدخول من خلالها ومن ثم الانتقال في مجرى الدم الى الاجزاء المختلفة من الجسم واحداث الاصابات المرضية. (John & Sons ; ١٩٩٨; Alshibib et al , ١٩٨٢ ; Nichols , ١٩٩١).

١-٢ الاصابات الجلدية المتسببة بواسطة البكتريا:-

يعدّالجلد احد اهم الدفاعات الميكانيكية التي تعترض دخول البكتريا الى الجسم ولكن هناك انواع من البكتريا المرضية لها القابلية على احداث أصابات جلدية مختلفة فلهذه البكتريا القدرة على الالتصاق بالجلد بصورة مباشرة ، وقد تغزوه من خلال تعرضه الى الجروح او الحروق او الخدوش او لسعات الحشرات وعند اختراق هذه البكتريا الجلد المصاب تنتقل في مجرى الدم الى اعضاء الجسم الاخرى (Archer , ١٩٩٦ ; Darmstdt , ١٩٩٦).

ومن الاصابات الجلدية التي تسببها البكتريا اصابة الجريبات الشعرية Hair follicles مسببة التهاب الجريبات (Folliculitis) وقد تنتقل هذه الاصابة من الجريبة الشعرية الى الانسجة المجاورة مسببة موت هذه الانسجة واهم انواع البكتريا المسببه لهذه الاصابات هي بكتريا *Staph . aureus* .

(Eugenew . et al , ١٩٩٨ ; Wesley et al , ١٩٩٤ ; Feingold , ١٩٩٠ ;Epstein et al ,١٩٩٧ ; ١٩٧٩ الجليلي) .

هناك انواع اخرى من البكتريا المرضية التي تسبب اصابات جلدية مثل بكتريا *Strept . Pyogens* التي تسبب تقيح الجلد (Pyoderma) ، والذي ينتتج بسبب تعرض الجلد للسعات الحشرات أو بسبب الحروق أوالجروح أوالخدوش وقد تصل هذه الاصابة الى مناطق عميقةٍمن البشرةِ ، وتنتج هذه البكتريا المرضية الانزيمات التي توقف عمل البروتين (proteases) والاحماض النووية (nucleases).

(RAMNIK et al , ١٩٨٧ ; Nichols , ١٩٩١ ; Bessen et al , ١٩٩٦).

اضافة الى ذلك فأن بكتريا *Rickettsia rickettsi* لها القابلية على احداث الاصابات الجلدية مكونة بثرات في الذراع والساق وهذه البثرات قد تصبح نازفةً وقد يحصل النزف في مواقع مختلفة من الجسم مثل الفم والانف ، والعامل الرئيسي لحدوث هذه الاصابة هو لسعات القراد (ticks) التي تحرر البكتريا من خلال لعابها ، وقد تمتد الاصابة الى الانسجة الاخرى عن

طريق مجرى الدم مؤدية الى حصول الصدمة والنزف العام (Eugene w. Nester et al ١٩٩٨).

١-٣ النباتات الطبية Medical Plants

عرف الانسان العقاقير المستخلصة من النباتات منذ زمن طويل ، وقد اظهرت الدراسات التي اجراها الباحثون في هذا المجال أن العديد من الاصناف النباتية تحتوي كميات كبيرة من النواتج الطبيعية Natural Products ، وهذه النواتج أظهرت تأثيراً تثبيطياً فعالاً على انواع مختلفة من البكتريا المرضية وقد عُدَّت اغلب هذه النواتج على أنها مضادات حياتية ضد العديد من الانواع البكترية والفطريات المرضية.

(AL-Shamma & Mitscher , ١٩٧٩ ; Dimayuga & Carcia , ١٩٩١)

اشارت الدراسات الى أن العديد من هذه النباتات قد تم استخدامها في علاج الامراض الناتجة عن مسببات جرثومية كالثوم الذي وصف لعلاج التقرحات الجلدية وزيادة مقاومة الجسم ضد الامراض البكترية . (مكرزل ، ١٩٨٢)

هناك استخدامات عديدة للثوم في علاج العديد من الامراض المتسببة بفعل الاحياء المجهرية كالبكتريا والفطريات وذلك لاحتوائه على العديد من المواد المضادة للجراثيم كمادة الاليسين (Allicin). (Egorove , ١٩٨٥)

في الوقت الحاضر تم اختيار مستخلصات العديد من النباتات ضد الميكروبات وثبت من نتائج تلك الاختبارات ان غالبية انواع النباتات لها فاعلية مثبطة لنمو الجراثيم ، وعليه يمكن توظيف تلك الانواع من النباتات لتصنيع مواد مضادة للجراثيم Antimicrobial agents للسيطرة على العديد من الامراض الجرثومية

(Jovel et al , ١٩٩٦ ; Hernandez et al , ١٩٩٤)

من الجدير بالذكر ان المستخلصات النباتية الخام قد تحتوي على مركبات متنوعة منها ما هو فعال ومنها ما ليس له أي تأثير بل قد يكون له تأثير سلبي على فعالية النوع الاول، فمن الضروري فصل هذه المركبات بعضها عن البعض الاخر واختبار فعاليتها بصورة منفردة اضافة الى اختبار مستخلصاتها الخام.(AL-Rawi , ١٩٨٨).

١-٤ أهمية النباتات الطبية :

لقد احتلت النباتات الطبيه اهمية كبيرة في العديد من دول العالم في الوقت الحاضر وخاصة في مجال انتاجها الزراعي وعُدّت المصدر الرئيس في انتاج العقاقير الطبية وتحضير الادوية إذ

انها مواد خام لانتاج العديد من المركبات الكيمياوية التي تستخدم في صناعة العديد من الادوية المهمة.(حسين ، ١٩٩٨١ ، العلمي١٩٨٨ ، بيرم ، ١٩٨٩).

وقد وجد أن النباتات الطبية تحتوي على مواد اساسية وثانوية لها دور كبير وهام في الطب ومنها الفينولات والقلوبدات والكلايكوسيدات وغيرها ، وهذه المواد منها ما يعدّعوامل مضادة للبكتريا خصوصاً الفينولات.(Atherden,١٩٦٩)

وقد استخدم الصابونين وهي عبارة عن مركبات كيمياوية من نوع التربينات الثلاثية في تصنيع الكورتيزون ذات الاستخدامات العلاجية المختلفة .(١٩٨٨ , Tyler et al)

وكذلك تم اختبار مادة الفلافونات وهي مركبات فينولية موجودة في فجوات الكلوروبلاست وقد تبين أن لهذه المركبات قابلية تثبيطية للعديد من الكائنات الحية فقد تم اختبار فعاليتها ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام.

(Mahasnch et al , ١٩٩٦ , Chazal et al ١٩٩٢)

وقد استخدمت الزيوت النباتية على انها مواد حافظة للاغذية من التعفن والتلف بفعل الاحياء المجهرية . (Frazier & Westhoff , ١٩٧٨)

ومن الجدير بالذكر أن هناك اسباب عديدة تدعو المختصين في هذا المجال الى البحث عن مصادر جديدة للمضادات المايكروبية منها ما يتعلق بقلة المضادات المستخدمة في الوقت الحاضر والحاجة الى المزيد منها لتغطية متطلبات النواحي العلاجية ، ومنها ما يتعلق في البحث عن بدائل علاجية للمضادات التقليدية المستخدمة منذ زمن طويل ولا زالت تستخدم لدرجة انها لم تعد فعاله بسبب ظهور سلالات ما يكروبية مقاومة لها لاسباب معروفه معظمها وراثيه

(Gupte , ١٩٨٨ ; Woodruf et al , ١٩٨٦ ; Hugo & Russel , ١٩٨١)

ولهذا اشار الباحثون الى امكانية استخلاص مركبات ذات فعالية متنوعه يمكن استخدامها كمضادات مايكروبيه .

(Egorove , ١٩٨٥ ; Mitscher et al , ١٩٧٢)

١-٥ المضادات المايكروبية Antimicrobial drugs

تم خلال نصف القرن الماضي تطوير المئات من ادوية المضادات المايكروبية وتصنيعها وقد استعملت بنجاح كبير للسيطرة على معظم اوبئة الامراض المعدية ، وامراض الانسان التي تسببها المايكروبات بأنواعها المختلفة من بكتريا وفطريات وطفيليات وبصوره قليله جداً من الفايروسات .

وقد تم تقسيم المضادات المايكروبية عملياً حسب تأثير مفعولها على احد مجاميع المايكروبات الى اربعة مجموعات رئيسة :

١- مضادات البكتريا Anti bacterial drugs

٢- مضادات الفايروسات Anti viral drugs

٣- مضادات الفطريات Anti fungal drugs

٤- مضادات الطفيليات Anti parasitic drugs

(الشهابي عاصم عطا ، (١٩٩٨)

١-٥-١ الشروط المثاليه المطلوب توفرها للمضاد المايكروبي:

١- إن يقتل الدواء الميكروب Microbiocidal او يوقف نموه Micro biostatic .

٢- ان لا يقوم المايكروب بتطوير مقاومه ضد الدواء على المدى القصير .

٣- ان يؤثر الدواء على انواع او أصناف محدده من مجاميع المايكروبات مثلاً على عصبات او مكورات البكتريا سالبه الصيغة او ايجابية الصبغة كرام والتي تنمو هوائياً او لا هوائياً.

٤- ان لا يحدث الدواء مضاعفات جانبيه او تسمم او تلف في اجهزة الجسم ، مع العلم انه لا يوجد أي دواء مضاد للميكروبات خالياً نسبياً من المضاعفات السلبية .

٥- ان يبقى مفعول الدواء مستمراً لفترة طويلة داخل سوائل وانسجة الجسم .

وبطبيعة الحال فأنّ هذه الشروط المثالية لا تتوفر مجتمعة في معظم المضادات الميكروبية المتداولة حالياً في المعالجة .

(الشهابي ، عاصم عطا ، ١٩٩٨ ; John & Sons , ١٩٩٨ ; Alcamo , ١٩٩٧; Gerlach et al , ١٩٨٣).

١-٦ مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية Anti microbial resistance

مع بداية عصر استعمال المضادت الميكروبية ظنّ الكثيرون من المختصين في هذا المجال أنّ الخوف من الميكروبات المسببة للعديد من الامراض سيختفي بفضل توفر عدد كبير من هذه المضادات، ولكن سرعان ما تبين ان غالبيتها تتحول خلال فتره لا تتجاوز العشر سنوات الى ادوية ذات فائدة محدودة ليس لها أي جدوى في العلاج .

ويعزى تطور آليات المقاومة للمضادات الميكروبية من قبل المايكروبات الى عدة اسباب من اهمها .

١- نوعية التركيب الكيمياوي للدواء .

٢- آلية تأثيره على النشاط الحيوي للمكروب .

٣- كثرة استعمال الدواء في العلاج والوقت اللازم له .

٤- نوع الميكروب وقدرته الحيوية على تطوير وسائل مقاومة ذاتية ضد الدواء .

فكيف تحدث أذن ظاهرة المقاومة للمضادات المايكروبية؟ وهل يمكن منعها او السيطرة عليها؟ فهناك تغيرات تحدث للبكتريا منها :-

١- التغيرات الوراثية والبلازميدات في البكتريا ، فقد يحدث احياناً ان تنشأ لاحد السلالات طفرة Mutant Strain من بكتريا معينه نتيجة للعلاج الطويل باحد المضادات الحيوية وتكون هذه السلالة مقاومة لهذا العلاج .

وقد تنشأ طفرات بكترية بصورة فجائية وطبيعية بسبب تغير بسيط في الشريط الوراثي المكون للجينات في كروموسوم الخلية البكترية. او يحدث نتيجة انتقال شريط وراثي حلقي صغير جداً يعرف بالبلازميد Plasmid

(الشهابي ١٩٩٨ ; Rubens et al , ١٩٧٩; Jackson , ١٩٨٩ ; Davies , ١٩٩٦)

وهناك ثلاث أليات يتم عن طريقها نقل البلازميد بين انواع البكتريا وهي الانتقال التحولي Transformation والاقتران conjugation والتنبيغ Transduction.

ويلاحظ انه تتجمع في بعض انواع البكتريا التي تتعايش طبيعياً مع الانسان والحيوان اثناء المعالجة بالمضادات الحيوية عدة بلازميدات وهذه تكسبها صفة عدم التحسس او ما عرف بالمقاومة Resistance لعدد من المضادات الحيوية .

٢- قد تحدث المقاومة للمضادات المايكروبية نتيجة لافراز الانزيمات من البكتريا وهذه الانزيمات تعمل على تحطيم فعالية الدواء مثل بكتريا *Staphylococcus* المقاومه الى Penicillin G من خلال انتاج B- lacta masse الذي يحطم الدواء .

(Waxman & Strominger , ١٩٨٣; Schoenkecht , ١٩٨٦ ; Medeiros , ١٩٨٤; Alece et al , ١٩٩٧)

٣- قد تحدث المقاومة نتيجة التغيرات في نفاذية البكتريا للدواء او تطور البكتريا طرق ايضية لتثبيط الدواء (Williams , ١٩٨٣) .

يجب الاشاره هنا الى نتائج الدراسات والابحاث التي اجريت في عدد من الدول العربية خلال العشر سنوات الاخيرة تؤكد انتشار ومقاومة انواع واصناف من البكتريا لعدد كبير من المضادات البكتيرية المستعملة بكثرة خاصة تلك الانواع التي تسبب العدوى للمرضى في المستشفيات اضافة الى بكتريا السالمونيلا والشيغلا التي تسبب الاسهالات .

(الشهابي، ١٩٩٨; Yousif & Aladin , ١٩٩٨)

١-٧ الفورفورال Furfural

يُعدُّ الفوروفورال من المركبات الحلقية غير المتجانسة وهي المركبات التي تتميز بوجود تركيب حلقي يحتوي على الاقل نوعين مختلفين من الذرات ضمن الحلقة ، وأكثرها تحتوي على

الكاربون بنسبة عالية ، ويُعدُّالكبريت والنتروجين والاوكسجين اكثر الذرات غير المتجانسة انتشاراً ضمن الحلقة . الا أن هناك بعض العناصر الاخرى يمكن مصادفتها مثل البروم (أكسيون١٩٧٦; ١٩٨١ , Beknozarov) .

والمركبات الحلقية غير المتجانسة واسعة الانتشار في الطبيعة وهي ضرورية للحياة في صور متعددة مثل الفيوران ومشتقاته ، فقد صنفت المركبات الحلقية غير المتجانسة وفقاً لنوع الذرات المختلفة المتواجدة ضمن الحلقة او على عددها .(١٩٨٥ , Katirtzky)

فالمركبات الحلقية غير المتجانسة الخماسية مثل الثايوفين ، البايرول والفيوران تمتلك خصائص اروماتيه . ان حلقة القيوران هي حلقه مستوية خماسية ، ومن مشتقات الفيوران – (Furan Carboxy aldhyde) او ما يسمى بالفورفورال ، وهو متوفر وموجود بمدى واسع في الغلات الزراعية نتيجة التحلل الحامضي لها بوجود عامل مساعد ، ويعد هذا المشتق مركباً اروماتياً مستقراً واروماتيته تعود الى الزوج الالكتروني على ذرة الاوكسجين .

(Kasner et al , ١٩٧٠ ; Gi Lchrist et al , ١٩٨٥)

٨-١ انتاج مادة الفورفورال صناعياً:

ينتج الفورفورال صناعياً من جميع الاجزاء النباتية ومخلفاتها في العديد من الاصناف النباتيه الحاويه على السكريات الخماسية المعقدة (البنتوسان) Pentosans ورمزها الكيمياوي $(C_5 H_8O_4)_x$ وهي من مركبات انصاف السليلوز تدخل في تركيب المواد البكتينيه والاصماغ النباتية وتشكل المكون الرئيسي للاعشاب واغلفة الحبوب وسيقانها .

(Hitchcok & Duffey , ١٩٤٨ ; Mcketta & Cunnighom , ١٩٨٦)

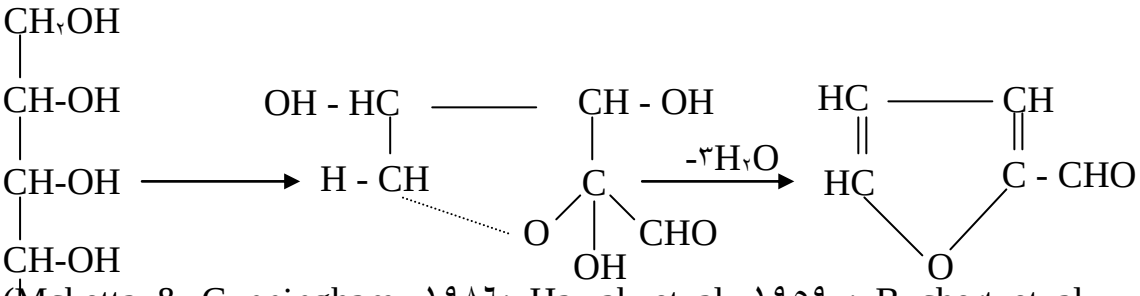
كما تدخل في تركيب خشب الصنوبر ولحاء الزان والبلوط وتختلف نسب تواجد البنتوسان في النباتات تبعاً لنوع النبات ، فهي تشكل ٣٠٪ في كوالح الذرة و ٢٩ . ٢ % في سيقانها ونسبة ٢٧ % في اغلفة بذور زهرة الشمس و ٢٣٪ في مخلفات استخلاص زيت الزيتون . (Mcketta & Cunningham , ١٩٨٦)

ينتج من التحليل المائي للبنتوسان Pentosan سكريات خماسية بسيطة تدعى البنتوس (C_5 pentose ($H_{10}.O_5$) يمثل الزايلوز اهم انواعها الذي يعد مركباً وسطياً يتحول الى فورفورال أثناء تسخينه مع الحوامض المخففة كحامض الكبريتيك او حامض الهيدروكلوريك كما في المعادلة التالية :

$$C_5H_8O_4 + H_2O \rightarrow C_5H_{10}O_5 \xrightarrow[-3H2O]{acide} C_5H_4O_2 + 3H_2O$$

Pentosans — pentose — Furfural

وكما في الشكل التالي:



(Mcketta & Cunningham, ١٩٨٦; Hawak et al, ١٩٥٩ ; Buchert et al , ١٩٨٨).

وقد تم التوصل الى طرائق ذات امكانيات صناعية اذ بدأ الانتاج التجاري للفورفورال عام ١٩٢٢ من قبل شركة (Quaker) (١٩٤٨ , Hitchcok & Duffey)

وكانت المواد الاولية التي تم استعمالها هي كوالح الذره وقشور الشوفان وظل Quaker اكبر منتج للفورفورال في العالم مستعملاً بقايا المواد الزراعية في انتاجه .

١-٩ انتاج الفورفورال مختبرياً:

يعد الباحث (Dobereiner) اول من حصل على الفورفورال مختبريا عام ١٨٢١ عندما حاول تصنيع الفورميك من السكر إذ استعمل في تجربته سكر الزايلوز وحامض الكبريتيك وثنائي اوكسيد المنغنيز لكنه حصل على الفورفورال بدلاً من حامض الفورميك ، وفي تجربه اخرى له عام ١٨٢٤ حصل على الفورفورال بوساطة تقطير السكر وحامض الكبريتيك ، من احد منتجات الفحم الحجري التي تسمى (Pyrolusite) .

وبعد تطور العمل في انتاج الفورفورال مختبرياً . تم اثبات وجود الفورفورال كناتج من تفكك عدة مواد كاربوهدراتيه وذلك باستعمال محلول قلوي من كلوريد الخارصين لتحضيره ، ويعد Brownlee اول من حضر عينه مختبرية للفورفورال من قشور الشعير والشوفان عام ١٩٣٣ . (١٩٤٨ , Hitchcok & Duffey). بعدها تطور العمل بصوره واضحة في بداية العشرينات باستعمال مواد اوليه اخرى لتحضير الفورفورال .

ففي عام ١٩٢٣ درس (Mains , laforge) تحضير مادة الفورفورال من كوالح الذره وبدون عامل مساعد (Mcketta & Cunnigham , ١٩٨٦) .

١-١٠ الخواص الفيزيائية والكيميائية للفورفورال:

١-١٠-١ الخواص الفيزيائيه :

ان الفورفورال زيت عديم اللون له رائحة اروماتيه نفاذه مميزه تشبه رائحة البنزالدهايد وزنه الجزيئي ٠٨ . ٩٦ غم / مول ، كثافته ١٥٢٦١ .١ غم / مل ، درجة الغليان عند الضغط الجوي ْ C ٧ . ١٦١ ، معامل الانكسار له (n_D) ١.٥٢١ ونسبه (O, H, C) ٦٢.٥٠٪ ، % ٤.١٤ ، ٣٣.٣٠ % على التوالي ، يذوب في ١٠ -١١ جزء من الماء بمدى ٣ . ٨ % في درجة ْ C ٢٠ .

يتأكسد الفورفورال بواسطة الهواء اذ يتغير لونه نتيجة الاكسده الذاتية Autoxidation ويتحول لونه للأصفر ومن ثم الى اللون البني ويكون غالبا اسود اللون نتيجة البلمرة Polymerization.

ان للفورفورال استقرارية حرارية عالية بغياب العوامل المساعدة والأوكسجين ، اذ وجد ان تعريضه لدرجات حرارة عالية تصل الى ْC ٢٣٠ ولعدة ساعات لا يحدث له أي تغيير ماعدا تغيير لونه .

(Mcketta & Cunnigham , ١٩٨٦; Stecher et al , ١٩٦٨)

١-١٠-٢ الخواص الكيميائية :

الخواص الكيميائية للفورفورال تعتمد على عملية التشبيع في الحلقة الفيورانية ومجموعة الا لديها يد المنجذبة نحو الحلقة وهاتين الخاصيتين جعلت منه ذا فعالية كيميائية وبالتالي اصبح ذا تطبيقات واسعة في الصناعة ويعد اكثر ثباتاً تجاه الكواشف الحامضية من الفيوران بسبب مجموعة الالدهايد الساحبة للالكترونات .

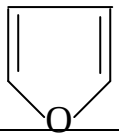
(Gilchrist , ١٩٨٥)

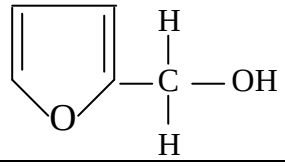
١-١١ مشتقات الفورفورال المهمه واستخداماتها:

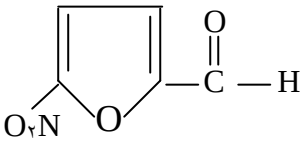
يمتلك الفورفورال عدداً من المشتقات الضرورية للمتطلبات الصناعية منها ما يدخل بصورة مباشرة في التفاعل ومنها ما يعد مادة وسطية لانتاج مادة اخرى مهمة تدخل في الصناعة والجدول (١) يوضح اسماء وتراكيب مختلفة من مشتقات الفورفورال .

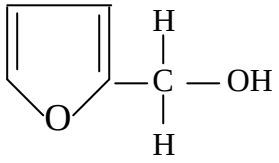
(Lester , ١٩٧٤)

جدول رقم (١) يوضح اسماء وتراكيب مختلفة من مشتقات الفورفورال

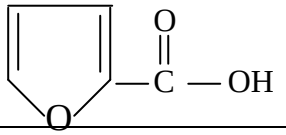
اسم المركب Compound	التركيب الكيمياوي Structure	استخداماته uses
Furan		**في صناعة الراتنجات Furan resin**

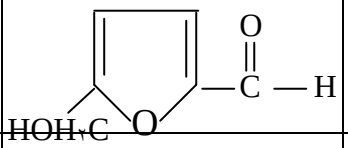


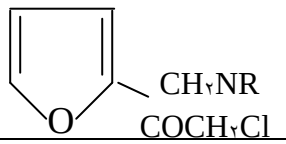




في الصناعات البلاستيكية **Plastic industrial**		Furfuryl Alcohol
مضاد حيوي **Antibiotics**		٥- Nitro Furfural
تطبيقات صناعية **Application industerial**		Terahydro furfuryl Alcohol
قاتل للبكتريا **Bactericide**		٢-Furan Carboxylic acid
مضاد للفطريات **Antifungal**		٥- Hydroxymethyl furfural
مضاد للاعشاب **Herbicidal**		٢-Chlorofurfuryl acetonilidas







١-١٢ فعالية الفورفورال السمية :

١-١٢-١ تأثيره على الانسان والحيوان :

ان للفورفورال تـأثيرات حياتيـة علـى الصـحة العامـة للانسـان فهـو يـؤدي الـى تهـيج الغشـاء المخاطي ،تهيج الحنجرة ، اضطرابات عصبية ، حساسية الجلد والعين كما ان تركيزه من ١٤- ١.٩ جزء بالمليون يؤدي الى صداع الرأس .

كذلك للفورفورال تـأثيرات واضـحة علـى الحيوانـات بصـورة عامـه فقد تبين انـه يسـبب حساسـية الجلد والعين وتـهيج الغشـاء المخـاطي وقنـاة الرغـامي وهـو سـام للجهـاز العصـبي والكبـد والكليـه والدم ونخاع العظم .

وقد لوحظ ان الجرعة القاتلة للفئران (L . D ٥٠) هي ٥ ، جزء بـالمليون عنـد اخـذها عن طريق الفم اما عند استنشاق ٢٦٠ جزء بالمليون لفترة (٦) ساعات يومياً ولمدة (٤) أسـابيع فقد

أحدث اضراراً في الكبد ، في حين لم يلاحظ أي تغيير عند تعريضها لتراكيز تبلغ (٦٣)جزء بالمليون .

وقد وجد ان الجرعة القاتلة للكلاب (LD_{50}) هي ٠.٣ ملغم / كغم

(Stecher et al , ١٩٦٨ ; Anonymous , ٢٠٠٠)

١-١٣ التأثيرات الحياتيه للفورفورال على الاحياء المجهرية :

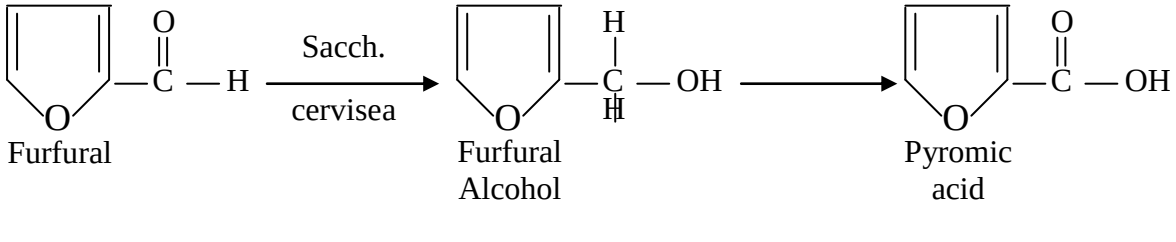
لقد اشادت العديد من الدراسات التي اجريت على مادة الفورفورال بأن لها تأثيرات مباشرة على العديد من الاحياء المجهرية وشملت هذه الدراسات الجوانب التالية :

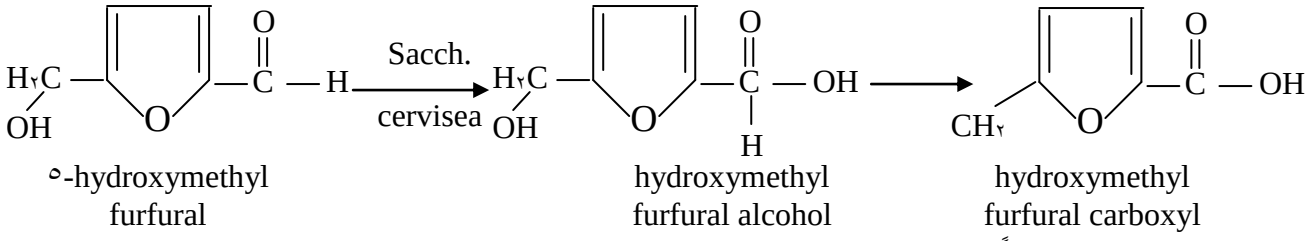
١-١٣-١ تأثير الفورفورال على الخمائر . Yeasts

لقد وجد ان للفورفورال تأثيراً على الخمائر ولا سيما خميرة الخبز *Sacchoromyces cervisea* والخميره ***Candida guillicermordii***

(Nemirovskii and Gusarova ,١٩٨٩)

اذ وجد ان خلايا خميرة الخبز تحول الفورفورال الى فورفورال الكحول وبعدها الى pyromic acid كما في المعادلة رقم (١) وتحول هيدروكسي مثيل – فورفورال الى هيدروكسي مثيل فيوران كاريوكسيل كما في المعادلة رقم (٢) .





وهذا ما يحدث فعلاً اثناء التخمر الكحولي في عملية تصنيع البيره .

(Berta et al , ١٩٨٨ ; Marsal and Sorre , ١٩٨٨) .

١-١٣-٢ تثبيط الفطريات النباتية الممرضة بواسطة الفورفورال :

اثبتت مادة الفورفورال نجاح فعاليتها في تثبيط نمو بعض الفطريات النباتية الممرضة عند تنميتها على الوسط الغذائي (Malt extract agar) المحتوي على تراكيز معينه من الفورفورال وقد اشارت النتائج الى حساسية الفطر *Pythium debarynum* للفورفورال حيث توقف نموه كلياً في الوسط الغذائي المحتوي على ٥٠٠ جزء بالمليون وقد تحقق تثبيط كامل لنمو الفطر *Rhizoctonia Solani* عند مستوى ١٥٠٠ جزء بالمليون من الفورفورال ومع هذا فأن نمو الفطر *Trichoderma harizianum* لم يتأثر بهذه التراكيز ، اما الانواع الاخرى من الفطريات *Fusarium ovenaceum , Fusaium Macrophomina phasedi moniliforms* , فقد سببت جميع التراكيز المستخدمة من الفورفورال ٥٠٠-٢٠٠٠ جزء بالمليون تقليلاً وتأخيراً في نمو المستعمرات الفطرية مع حدوث تثبيط كامل لنمو النوع الاخير عند مستوى ٢٠٠٠ جزء بالمليون من الفورفورال ومن جانب أخر فقد اوضحت النتائج عدم تأخير فعالية الفورفورال بظروف تعقيم البيئات الغذائية .

(هيثم النعيمي واخرون ، ٢٠٠٠ ، رجاء العنبكي ، ٢٠٠١)

١-١٣-٣ استخدام الفورفورال في مكافحة تيماتودا تعقد الجذور على كل من الخيار والباذنجان :_ *Meloidogene javanica*

لقد اثبتت الدراسة عند استخدام تراكيز معينه من الفورفورال تمثلت بـ (١٠٠٠، ٢٠٠٠) جزء بالمليون ومعاملتها مع التربة الملوثة ببيوض التيماتودا المسببة لتعقد الجذور *Meloidogene javanica* تنتج خفض معنوي في معامل الاصابة على الخيار ، بينما لم يكن هناك أي اثر للاصابة على الجذور عند استخدام تركيز ٤٠٠٠ جزء بالمليون .

اما في الباذنجان تم الحصول على نتائج مماثلة باستثناء ان منع الاصابة قد لوحظ عند استخدام تركيز ٥٠٠٠ جزء بالمليون من الفورفورال في معاملة التربة الملوثة ببيوض الثيماتودا (الحمداني وآخرون ، ١٩٩٩) .

١-١٣-٤ فعالية الفورفورال في مكافحة مرض تفحم الحنطه:

urocystis agrapyric

تم اثبات كفاءة الفورفورال في مكافحة مسبب مرض تفحم الحنطة اللوائي حيث وجد ان غمر بذور الحنطه الملوثه في محلول مائي للفورفورال (١٠٠٠ جزء بالمليون) لمدة خمس دقائق ادى الى اختزال نسبة الاصابة من ٣ . ٨٥ % الى ١٣ % .

ان كفاءة الفورفورال في مكافحة مسبب مرض التفحم اللوائي على الحنطة قد تم استعراضها تحت ظروف بيئية مناسبة لحدوث وتطور الاصابة بدون حدوث حالة الهروب من المرض . (الحمداني وآخرون ، ١٩٩٩) .

١-١٣-٥ تأثير الفورفورال على بعض انواع البكتريا المرضية :

لقد اثبتت الدراسات بأن للفورفورال تأثيراً على بعض انواع البكتريا المرضية ومنها *Pseud . aeruginosa* اذ يكون مثبطاً لها بتراكيز قليلة اما التراكيز الاكثر من ١ . ٠ % فيكون مميت لها . (Kim et al , ١٩٨٣)

كما وجد بأن للفورفورال فعالية تطفيرية على بكتريا السالمونيلا *Sal. typhimurium*.حيث يعتبر الفورفورال من المطفرات mutagenic agents في تحطيم الحامض النووي DNA وله سميه وراثيه .

(Janzowskic , ٢٠٠٠ ; Malgo et al , ١٩٧٨) .

وتجدر الاشاره الى انه في مجال تنقية مياه الشرب فقد وجد الباحثان (Mironet and, Savina) ان تنشيط ذرات الكاربون للفورفورال تخفي سمية المركب في مياه الشرب للحيوانات .

اثبتت العديد من الدراسات والتقنيات الحديثة التي اجراها الباحثون والعاملون في مجال التطبيقات الخاصة بالفورفورال والتي تم تطبيقها على العديد من الاحياء المجهرية وخاصة البكتريا والفطريات والخمائر بأن لهذه المادة تأثيراً فعالاً على مختلف الفعاليات الحياتية لهذه الكائنات فقد تبين بأن له تأثيراً واضحاً على انتاج cellulase للفطريات الخيطية Filemantous fungi نوع *Trichoderma veesei* وهي واحده من افضل السلالات الفطريه في انتاج الـ cellulas (٢٠٠٠ , Szengyelz)

حيث اكدت الدراسة ان الفورفورال يعمل كعامل مثبط يسبب نقص في انتاج كلاً من Beta – glucosidase , cellulase

وفـي دراسـة اخـرى لـوحظ بـأن للفورفـورال تـأثيراً فسـيولوجياً علـى خميـرة الخبـز *Sacch . cervisea* حيث يؤدي الى نقص Co_2 . (Taherzadeh MT , ٢٠٠٠)

واشارت الدراسات ايضاً الى ان الفورفورال يُعدُّ من المطفرات لبلازميد بكتريا القولون *E . coli* . (Khan QA , ٢٠٠٠) .

وقد تبين ايضاً من خلال التجارب التي اجراها الباحثون بأن للفورفورال تأثيراً ساماً على الاحياء المجهريه الاخرى ومنها بكتريا *Zymomonas mobilis* ، حيث وجد ان اضافة الفورفورال او احدى مشتقاته يؤدي الى قتل هذه البكتريا (Ranatunga et al,١٩٩٧) واكدت بحوث اخرى بأن للفورفورال فعالية عالية لتثبيط وقتل البكتريا والفطريات على مختلف انواعها .(Xingpo . W et al, ١٩٩٣)

من اجل المقارنة ومعرفة تأثير الفورفورال على انواع مختلفة من البكتريا المرضية فقد ارتأينا في بحثنا هذا دراسة تأثير الفورفورال على انواع منتخبه من البكتريا المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام لملاحظة تأثيره العام على هذه البكتريا والتوصل الى استنتاجات وتوصيات في هذا المجال.

لغرض ايجاد البدائل العلاجية من العوامل المضادة للبكتريا ونظراً لما يمتلكه قطرنا من كميات وفيرة من نبات الذرة وحيث ان الموسوعة النباتية العراقية غنية بالنباتات الطبية المتنوعة (Guest & Al Rawi , ١٩٦٦).

بهدف تحديد محتوى نبات الذره من مادة الفورفورال ومعرفة تأثيرها على انواع عديدة من البكتريا المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام ولغرض تحقيق هذا الهدف فقد شرع البحث في اجراء النواحي التالية .

١-١٤ اهداف البحث :

١- دراسة تأثير الفورفورال وبتراكيز مختلفة في نمو عدد من الانواع البكترية الممرضة وحساب قطر منطقة التثبيط في وسط الاكار المغذي لكل نوع من الانواع البكترية المدروسة وحسب التراكيز المستخدمة .

٢- تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى (MBC) للفورفورال في نمو الانواع البكترية المختارة.

الفصل الثاني CHAPTER TWO

المواد وطرائق العمـل Materials and Methods

٢ ـ ١ الأجهـزة المستخدمة

ت	اسم الجهاز	الشـركة المجهزة
١	منظومة التفاعل المختبرية	
٢	حمام مائي water bath	Gallen kamp/ England
٣	جهاز قياس الحامضيه pH meter	Hoelzle chelius kG
٤	الموصدة Autoclave	Karkolb /Germany
٥	ميزان حساس الكتروني Electrical Sensitive balance	MeterL / Switzerland
٦	حاضنـة incubator	Gallen kamp / England
٧	جهاز النبذ المركزي Centrifuge	Hermle Z ٢٣٠
٨	هزاز Vortex	Griffin Goegrage Ltd
٩	جهاز مطيافية المنطقة المرئية وفوق البنفسجية U.V.Visible Spectrophotometer	Shimadzu / Japan
١٠	فرن Oven	Gallen kamp / England
١١	مجهر ضوئي Microscope	Olympus/ Japan

٢ـ٢ الأوساط الزرعيـة المستخدمة Culture media

ت	اسم الوسط الزرعي	الشركة المجهزة
١-	الوسط المغذي الصلب Nutrient agar	Oxoid

٢-	الوسط المغذي السائل N . broth	Mast diagnostics
٣-	وسط نقيع المخ والقلب السائل brain heart infusion broth	Difco
٤-	وسط نقيع المخ والقلب الصلب Brain heart infusion agar	Biolife
٥-	وسط الماكونكي Mac Conkey agar	Mast diagnostics
٦-	وسط اكلر الدم الصلب Blood agar	Oxoid
٧-	وسط (E M B)	Mast diagnostics
٨-	وسط سالمونيلا – شبغلا الصلبS.S. agar	Mast diagnostics
٩-	وسط D C Aالصلب	Mast diagnostics
١٠-	وسط المانيتول الصلب Mannitol salt agar	Oxoid
١١-	وسط مولرهنتون الصلب Muller hinton agar	Oxoid
١٢-	وسط البايوسيانين piocianosel agar	Difco
١٣-	وسط اكار الجيلاتين gelatin agar	
١٤-	وسط اكار اليوريا Urea agar	Oxoid
١٥-	وسط اكار النشأ Starch	
١٦-	وسط ماء الببتون Peptone water	Difco
١٧-	وسط اكار الحليب الصلب Milk agar	Oxoid
١٨-	وسط Simmon citrate	Difco
١٩-	وسط Kligler lron agar	Oxoid
٢٠-	وسط اختبار الحركه Motility medium	Difco
٢١-	وسط احمر المثيل وفوكس بروسكور MR – VP	Oxoid
٢٢-	وسط التايروسين Tyrosine agar	
٢٣-	وسط مرق المالونيت Malonat broth	Difco

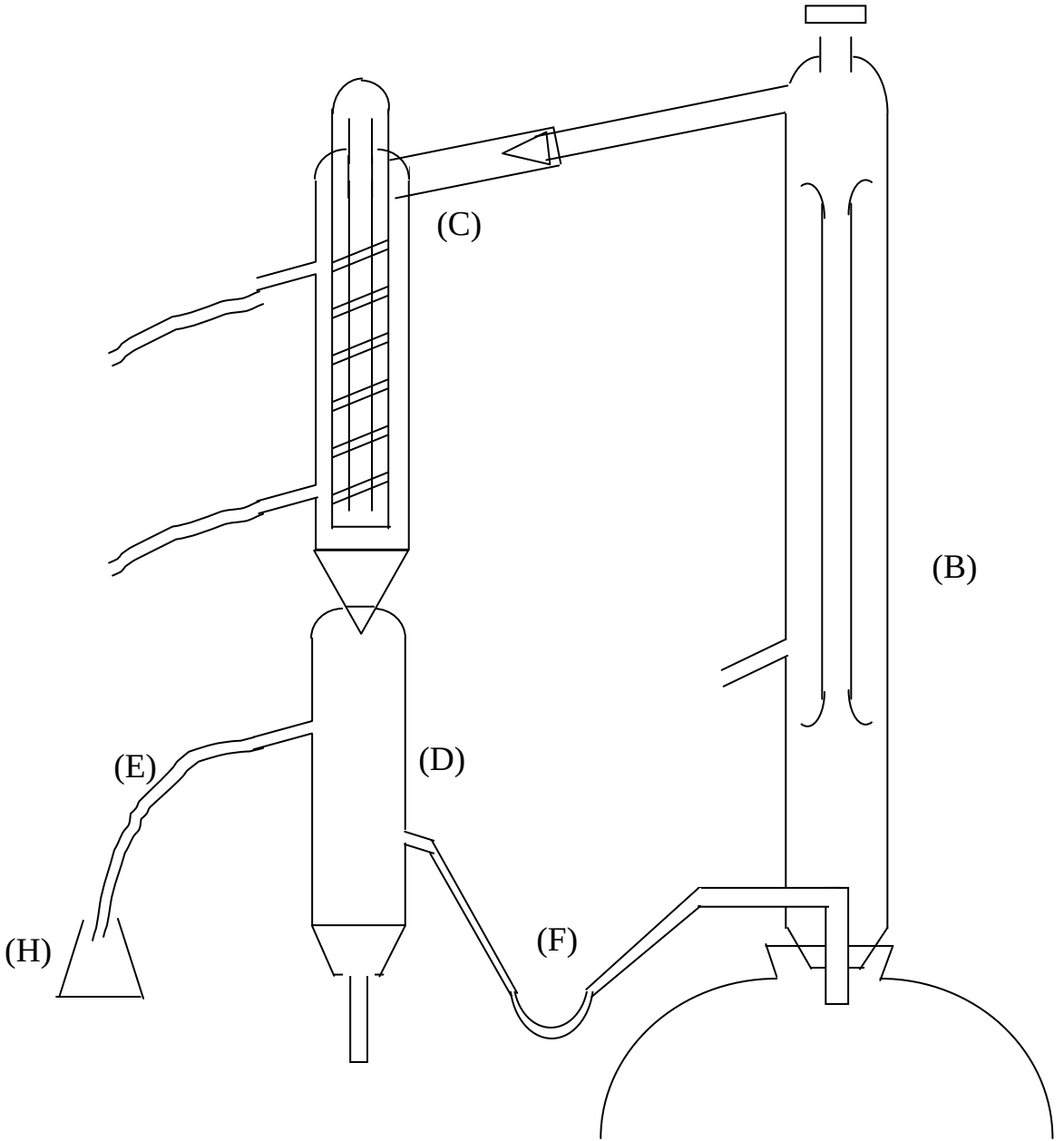
٢٤-	وسط تخمير السكريات	

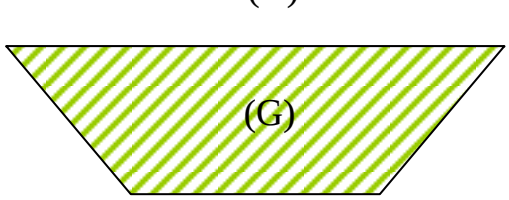
٢ – ٣ منظومـة التفاعـل المختبرية :

أن منظومـة التفاعـل المختبريـة عبـارة عـن مجموعـة زجاجيـات مختبريـه بسـيطة مصـممه لانتاج مادة الفورفورال وتكون مغلقة إذ لاتسمح بتسريب أبخـرة المـاء المحـمولة بـالفورفورال الـى الخـارج ممـا يـؤدي الـى تقلـيل النـاتج وتسـرب مـادة الفورفـورال وهـي مـادة رائحتهـا غيـر مستساغة .

تتكون المنظومـة من دورق زجـاجي سعة ٥ لتر (A) يوضـع داخـل مسـخن حـراري مقعر (G) يرتبط الدورق الزجاجي بأنبوب زجاجي معزول (B) الذي يرتبط بدوره بمكثف مزدوج (C) الذي يتصل بـه من الأسفل قمع فصل (D) وفتحتين جـانبيتين ، الفتحـة العليـا تتصل بأنبوب مطاطي (E) يذهب ألي دورق مملوء بالماء (H) والفتحة الثانية تتصل بـأنبوب مطاطي (F) يرجع الماء الزائد الى دورق الهضم (A) .

والشكل رقم (١) يوضح الرسم التخطيطي للمنظومة .





شكل رقم (١) الرسم التخطيطي لمنظومة التفاعل المختبرية

٢ - ٤ تشغيل المنظومة المختبرية : (هيثم النعيمي ، ١٩٩٣)

يتم تشغيل منظومة التفاعل المختبرية حسب الخطوات التالية :

١ - توضع المادة الأولية Raw material مع كمية معينة من الملح في دورق الهضم ثم يضاف اليها الحامض حيث يضاف ٤٠٠ غم من كوالج الذرة و ١٦٠٠ مل حامض الكبريتيك تركيز ١٠% و ٥٠٠ غم من الملح .

٢ - تغلق المنظومة بربط فوهة الدورق (A) مع الأنبوب الزجاجي (B) .

٣ - التأكد من وضع الأنبوب المطاطي (E) في الدورق المملوء بالماء (H) .

٤ - ترقع درجة الحرارة للمزيج باستعمال مسخن حراري (G)

٥ -التأكد من أن درجة حرارة التبريد في المكثف قد أصبحت ٥ $^{\circ}$C وبهذا نكون قد أكملنا عملية تشغيل المنظومة التي من الممكن ان تعمل على هذه الحالة لمدة (٢٤) ساعة .

٢ ــ ٥ إيقاف المنظومة عن العمل :

بعد نهاية العمل والحصول على الكمية اللازمة من الفورفورال نوقف التفاعل اخذين بنظر الاعتبار الملاحظات الآتية :

١- ان المنظومة مغلقه وان التفاعل الحاصل داخلها يتم تحت ضغط بخار الماء المتكون ويوقف التفاعل عن طريق خفض درجة الحرارة داخل المفاعل ونتيجة لتكثف البخار ينخفض الضغط داخل المنظومة المغلقة فتقوم بسحب الهواء الخارجي من الجو عن طريق الأنبوب المطاطي (E) وبذلك يمكن سحب كمية من الماء الموجود في (H) لذلك يسحب الأنبوب المطاطي من حوض الماء بعد إطفاء المسخن للسماح بدخول الهواء ألي داخل المنظومة المغلقة .

٢ - يبقى المكثف مبرداً لفترت ربع ساعة بعد إيقاف التفاعل لتكثيف جميع البخار الموجود داخل المنظومة .

٢ - ٦ عزلات بكتريا الاختبار Test bacterial isolates

تم الحصول على العزلات البكتيرية الآتية مشخصة تشخيصاً أولياً من مستشفى مرجان في الحلة ، وهذه العزلات استخدمت لاختبار الفعالية الحياتية للفورفورال .

وكانت العزلات على النحو التالي :-

أ- العزلات الموجبة لصبغة كرام

١- *Staph . aureus*

٢- *Strept . pyogens*

٣- *Strept . pneumoniae*

ب- العزلات السالبة لصبغة كرام

١- *Pseud. Aeruginosa*

٢- *E.coli*

٣- *Kleb. Pneumoniae*

٤- *Sal. Typhi*

٥- *Proteus. Mirabilis*

٦- *Shigella. Dysentery*

أجريت على هذه العزلات عدد من الإختبارات التشخيصية التأكيدية وشملت النواحي التالية :

٢-٧- أوساط الاختبارات التأكيدية

٢-٧-١- الوسط المغذي الصلب Nutrient agar

حضر هذا الوسط المغذي بإذابة ٢٨ غم من الوسط المغذي في لتر من الماء المقطر وقد استخدم لغرض تنمية البكتريا ودراسة الخصائص المظهرية للمستعمرات وكذلك في حفظ السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة .

٢-٧-٢- الوسط المغذي السائل Nutrient broth

حضر هذا الوسط بإذابة ٢٥ غم من الوسط المغذي في لـتر من المـاء المقطر، استخدم لغرض تنمية وتنشيط البكتريا وتحضير العوالق البكتيرية المختلفة .

٢-٧-٣- وسط نقيع المخ والقلب السائل

brain heart infusionbroth

حضر هذا الوسط بإذابة ٣٧ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر واستخدم لغرض حفظ وتجديد نشاط البكتريا .

٢-٧-٤- وسط نقيع المخ والقلب الصلب

brain heart infusion-agar

حضر هذا الوسط من إذابة ٥٢ غم من الوسط في لتر ماء مقطر . واستخدم هذا الوسط لغرض حفظ وتجديد نشاط البكتريا .

٢-٧-٥- وسط الماكونكي Mac Conkey agar

حضر هذا الوسط بإذابة ٥٠ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر واستخدم لغرض التفريق بين البكتريا السالبة لصبغة كرام المخمرة لسكر اللاكتوز من غير المخمرة .

٢-٧-٦- وسط اكار الدم الصلب . Blood agar

حضر بإضافة ٥% من الدم الى وسط blood agar base بالظروف الاعتيادية والمبرد الى ٤٥°م . والمحضر من إذابة ٣٧.٥ غم من الوسط في لتر ماء مقطر واستخدم هذا الوسط في التحري عن قابلية البكتريا على تحليل الدم

٢-٧-٧- وسط eosin methylene blue (EMB)

حضر بإذابة ٤٠غم من الوسط الى لتر ماء مقطر ، استخدم هذا الوسط لغرض تفريق بكتريا E . Coli .

٢ -٧ -٨ – وسط سالمونيلا – شبغلا الصلب S . S agar

حضر بإذابة ٥ . ٥٠ غم من الوسط في لتر ماء مقطر ، استخدم هذا الوسط في تشخيص بكتريا السالمونيلا والشبغلا .

٢-٧-٩ – وسط DCA

(mast diagnostic) deoxy cholate citrate agar

حضر هذا الوسط بإذابة ٤٨.٥ غم في لتر ماء مقطر ، استخدام لتشخيص بكتريا الشبغلا .

٢-٧-١٠ – وسط المانيتول الصلب mannitol salt agar

حضر بأذية ١١١غم من الوسط الصلب في لتر من الماء المقطر استخدم لغرض تشخيص يكتريا المكورات العنقودية الذهبية . *S taph . aureus* (١٩٨٥ , Merck)

٢-٧-١١- وسط مولرهنتون الصلب Muller hinton agar

حضر بإذابة ٣٨ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ، استخدم لغرض اختبار الفعالية التضاديه للفورفورال تجاه بكتريا الاختبار .

٢-٧-١٢- وسط البايوسيانين piocianosel agar

حضر بإذابة ٤٥ غم من الوسط في ٩٨٠ مل من الماء المقطر وأضافه ٢٠ مل من الكليسرول ، استخدم هذا الوسط لغرض التحري عن قابلية بكتريا *Pseud. aeruginosa* على افراز مادة البايوسياتين Pyocianin.

٢-٧-١٣ - وسط أكار الجلاتين gelatin agar

حضر بإذابة ٤.٤ % غم من الجلاتين ألي الوسط المغذي الصلب Nutrient agarووزع في أنابيب نظيفة ومعقمة ، استخدم لغرض التحري عن قابلية البكتريا على تحليل الجلاتين .

٢-٧-١٤ - وسط أكار اليوريا urea agar

حضر يأضافة ٥ مل من محلول ٤٠% من اليوريا المعقمة بطريقة الكلوروفورم إلى وسط ureas base agar (oxoid) المحضر بإذابة ٢.٤غم من هذا الوسط في ٩٥ مل من الماء المقطر المعقم ، ووزعت المحتويات في أنابيب اختبار معقمة وتركت لتتصلب بشكل مائل ، استخدم هذا الوسط للكشف عن قدرة البكتريا على إنتاج أنزيم اليوريز urease) Christensen, ١٩٤٦)

٢-٧-١٥ - وسط أكار النشأ starch agar

حضر بإضافة ٤.٤ % غم من النشأ الى الوسط المغذي الصلب Nutrient agar ووزع في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة ، استخدم هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل النشأ .

٢-٧-١٦ - وسط ماء الببتون peptone water

حضر بإذابة ١٥غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ووزع الوسط على أنابيب

اختبار ، استخدم هذا الوسط للتحري عن قدرة البكتريا على إنتاج جذر الاندول حسب طريقة (Cruick shank et al, ١٩٧٥).

٢-٧-١٧ – وسط أكار الحليب الصلب Milk agar

حضر بإذابة ٢٠ غم من الحليب skim milk (oxoid) في ٥٠٠ مل من الماء المقطر لتكوين محلول (A) كما أذيب ٢٠ غم من الاكار المغذي في ٥٠٠ مل من الماء المقطر لتكوين محلول (B) ، عدل PH الوسط الى ٧ ، بمزج المحلولان ويعقم بالطريقة الاعتيادية لغرض التحري عن البكتريا المحللة للكازائين حسب طريقة (Aaronson , ١٩٧٣)

٢-٧-١٨ – وسط Simmon citrate

حضر هذا الوسط بإذابة ٢٤.٢ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ووزعت المحتويات في أنابيب اختبار معقمة لتتصلب بشكل مائل الاكار ، استخدم هذا الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على استهلاك الستوات بوصفها مصدر للكاربون

٢-٧-١٩ – وسط kligler lron agar

حضر بإذابة ٥٨ غم من الوسط في لتر ماء مقطر ووزع في أنابيب اختبار ثم ترك ليتصلب بشكل مائل الاكار ، استخدم هذا الوسط للكشف عن قابلية البكتريا لإنتاج غاز H_2S (Sanchovalls et al , ٢٠٠٠)

٢-٧-٢٠ – وسط اختبار الحركة motility medium

حضر باذابة ٢٠غم من الوسط في لتر من الماء المقطر حسب طريقة (Difco,١٩٨٤) ووزع في انابيب اختبار ثم عقم وترك ليبرد بشكل عمودي ، استخدم للكشف عن قابلية البكتريا على الحركة .

٢-٧-٢١- وسط احمر المثيل و فوكس بروسكور (MR-VP)

حضر هذا الوسط بإذابة ١٧ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ووزع الوسط على أنابيب اختبار وعقم ، استخدم هذا الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على توليد الحامض والاستيل مثيل كاربينول .

٢-٧-٢٢ – وسط التايروسين Tyrosine agar

حضر بإضافة ٠.٥غم من التايروسين الى ١٠ مل من الماء المقطر وعقم بدرجة ١٢١ لمدة ١٥ دقيقة ثم أضيف المزيج الى الاكار المغذي ومزجا معاً وصب في أطباق بتري معقمة ، استخدم هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل التايروسين .

٢-٧-٢٣- وسط مرق المالونيت Malonat broth (Difco)

حضر بإذابة ٨ غم من الوسط في لتر من الماء المقطر ووزع في انابيب اختبار ، استخدم هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على استغلال المالونيت بوصفه مصدراً للكربون .

٢-٧-٢٤ – وسط تخمير السكريات

أ - الوسط الأساسي Medium base

حضر حسب ما جاء في (Macfadin , ١٩٧٤) باذابة ١٠ غم ببتون Bacto- peptone مع ١غم من خلاصة لحم البقر Bacto – beef extract و ٥ غم من كلوريد الصوديوم NaCl و ٠.٠١٨ غم من دليل احمر الفينول في لتر من الماء المقطر عدل pH الى ٧.٤ ووزعت المحتويات على أنابيب اختبار و أضيف لكل منها أنبوبة درهم Durham للتحري عن إنتاج الغاز وعقمت الأنابيب بالطريقة الاعتيادية

ب – محلول السكر Sugar solution

تم تحضير محاليل السكريات بتركيز ١% وعقمت بوساطة بخار الكلوروفورم وبما ان معظم السكريات تتلف بالحرارة ، فقد أضيف القليل من الكلوروفورم ألي محلول السكر ورج جيداً ومن ثم ،تِرَك ليركد لمدة ساعة واصبح بعدها المحلول معقماً (smith , ١٩٣٢) ٠ ثم سحب من الأعلى بوساطة ماصة معقمة حجم ١مل من محلول السكر واضيف الى كل أنبوب من الأنابيب المعقمة السابقة في الفقره (أ) ، استخدم هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج الحامض وتوليد الغاز من السكريات.

٢-٨ الصبغات والمحاليل والكواشف :

٢-٨-١ - صبغة كرام Gram stain

حضرت حسب ما جاء في (Buxton and Fraser , ١٩٧٧) وتتكون من المحاليل التالية :

- صبغة Crystal violet ، حضرت بإذابة ٠.٥ غم من الصبغة في ١٠٠ مل من الماء المقطر .

ـ محلول اليود ، حضر بإذابة ١ غم من اليود و ٢ غم من يود يد البوتاسيوم في ٣٠٠ مل من الماء المقطر .

ـ كحول مطلق Absolute Alcohol

ـ صبغة السفرانين ، حضرت باذابة ٥ . ٠ غم من الصبغة في ١٠٠ مل ماء مقطر .

استخدمت هذه الصبغة المذكورة لتصبيغ عزلات البكتريا لغرض التفريق بين البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام ودراسة الخصائص المجهرية .

٢ ـ٨ ـ٢ ـ محلول الفا نفثيل أمين α- naphthyl amine

حضر بإذابة ٥غم من الفا نفثيل امين في ١٠٠٠ / مل من ٥N-acetic acid (Difco – ١٩٨٤) استخدم لغرض الكشف عن التحلل الجزئي للسكريات .

٢ ــ ٨ ـ٣ ـ كاشف احمر المثيل Methylred reagent

حضر بإذابة ٠.١غم من صبغة احمر المثيل قي ٣٠٠ مل من كحول اثيلي ٩٥ % واكمل الحجم الى ٥٠٠ مل بإضافة الماء المقطر ، استخدم لغرض الكشف عن التحلل الكامل للسكريات .

٢ ــ ٨ ـ٤ ـ كاشف اختبار ألا وكسيديز Oxidase test reagent

حضر محلول Dimethyl - p – phenylen diamine hydrochloride عند الاستعمال بإذابة ١غم من المادة في ١٠٠ مل ماء مقطر ، استخدم في التحري عن قابلية البكتريا على إنتاج أنزيم الاوكسيديز .

٢ـ٨ـ٥ ــ كاشف اختبار الكاتليز Catalase test reagent

استخدم بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ٣٠ % للكشف عن قابلية البكتريا على انتاج أنزيم الكاتليز .

٢ـ٨ـ٦ ـ كاشف فرازيرز Fraziers reagent

حضر بإذابة ٥غم من كلوريد الزئبقيك H_gcl_2 في ٢٠ مل من حامض الهيدروكلوريك HCl المركز ثم اضيف ١٠٠ مل ماء مقطر كما ورد في (Bisson and Cabilli , ١٩٧٩) استخدم للكشف عن قابلية البكتريا على تحليل الجلاتين.

٢ـ٨ـ٧ ـ الكاشف عن تحليل النشأ Lugols reagent

حضر بإذابة ٢ غم من يود يد البوتاسيوم في ١٠٠ / مل من الماء المقطر ، ثم ذوب ١غم من اليود في المحلول السابق واكمل الحجم الى ٣٠٠ مل بإضافة الماء المقطر كما ورد في (Buxton and frazer , ١٩٧٧) ، استخدم للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل النشا .

٢-٨-٨ - كاشف كوفاكس Kovacs reagent

حضر بإذابة ٥غم من مادة P – dimethyl aminobenzyldhyde في ٧٥مل من الكحول ألا ميلي Amyl alcohol او البيوتيلي Butyl alcohol لنحصل على مزيج وأضيف ٢٥ مل من حامض Hcl المركز الى مزيج الالديهايد – الكحول (Mac fadin ,١٩٧٩) استخدم في الكشف عن جذر ألا ندول .

٢-٨-٩ - المحلول الملحي الفسيولوجي Normal Saline

حضر بإذابة ٨٥ . ٠ غم من كلوريد الصوديوم NaCl في ١٠٠ مل من الماء المقطر وعقم بالظروف الاعتيادية ، استخدم لأغراض الغسل والتخفيف .

٢ – ٨ -١٠ - محلول ماكفرلاند Macfrland solution

أنبوب رقم ٠.٥ ويتكون من :

محلول (A) :وفيه يتم إذابة ١.٧٥ غم من كلوريد الباريوم $Bacl_2.H_2O$ في ١٠٠ مل من الماء المقطر .

محلول (B) : يحضر بإذابة ١مل من حامض الكبريتيك المركز H_2So_4 ألي ١٠٠مل من الماء المقطر .

عند الاستعمال يضاف ٠.٥ مل من محلول A الى ٩٩.٥ مل من محلول B ، استخدم المحلول للمقارنة في إعطاء العدد التقريبي لخلايا البكتريا مقداره ١.٥ x $١٠^{٨}$ خلية/ مل وذلك عند إجراء فحص الحساسية للمضادات الحياتية والمستخلصات النباتية حسب ما جاء في (Barry , ١٩٧٦) .

٢-٩ - التعقيم والغسل :

١-الأوساط الزرعية العامة ثم تعقيمها باستخدام الموصدة (Autoclave) بدرجة حرارة ١٢١مْ وضغط ١ باوند لمدة ١٥ دقيقة .

٢- المواد التي تتلف بالحرارة كالسكريات واليوريا فقد تم تعقيمها بطريقة التعقيم بالكلوروفورم .

٣- الزجاجيات اللازمة ثم تعقيمها باستخدام الفرن الحراري (oven) بعد غسلها وشطفها بالماء المقطر عدة مرات .

٢-١٠- عزلات بكتريا الاختبار :

٢-١٠-١ - تحضير المزروع البكتيري :

لتحضير العالق البكتيري لغرض التجربة تنشط البكتريا بعمل مستنبت جديد على وسط الاكار المغذي وتحضن لمدة ١٨- ٢٤ ساعة بدرجة ٣٧ مْ ثم تنقل ٣-٤ مستعمرات الى أنابيب اختبار تحتوي ٥ مل من المرق المغذي Nutrient broth وتحضن لمدة ١٨ -٢٤ساعة بدرجة ٣٧ مْ بعدها يعدل المعلق البكتيري بواسطة محلول الملح الفسيولوجي للحصول على عكورة مساوية لأنبوبة ماكفرلاند رقم ٠.٥ المستخدم في أجراء اختبار الحساسية.

٢-١٠-٢ - إدامة المزروع النقي .

أديمت المزارع البكتيرية بعمل مستنبت Subculture جديد كل ٢-٤ أسابيع على وسط الاكار المغذي وحضن بدرجة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ساعة ثم حفظت في الثلاجة بدرجة ٤ مْ، ولغرض الحفظ الطويل الأمد ينقل النمو البكتيري بعمر ١٨-٢٤ ساعة الى وسط المرق المغذي Nutrient broth او وسط نقيع المخ والقلب .

brain heart infusion broth وإضافة ٥% من الكليسرول ويحفظ بدرجة ٢٠ مْ

٢-١١ - الفحوصات الكيمو حياتية التأكيدية Biochemical test

أجريت الفحوصات التأكيدية لعزلات بكتريا الاختبار استناداً الى

(MacFadin , ١٩٧٩ ,Baron and Finegold , ١٩٩٠ ,Holt and Krig , ١٩٩٤)

والجدول (٢) يبين الفحوصات البايوكيمائية التأكيديه لبكتريا الاختبار . وفيما يلي الفحوصات التي تم اجرائها للتشخيص .

- الكشف عن أنزيم الكاتليز : -

نقلت كمية قليلة من النمو البكتيري الموجود على الوسط المغذي الصلب بعمر ١٨-٢٤ ساعة بواسطة الحامل المعقم الى شريحة زجاجية نظيفة وجافة ووضع فوقها قطره من كاشف بيروكسيد الهايدروجين H_2O_2 . ان تكون فقاعات هوائية على سطح الشريحة دليل النتيجة الموجبة .

- الكشف عن أنزيم الاوكسيديز

حيث نقلت كمية قليلة من النمو الجرثومي الموجود على الوسط المغذي الصلب بعمر ١٨-٢٤ ساعة بواسطة الحامل المعقم الى ورقة الترشيح ووضع فوق المسحة بضع قطرات من الكاشف . ودل تلون المستعمرات باللون البنفسجي على النتيجة الموجبة (Baron and Feingold , ١٩٩٠)

- الكشف عن أنزيم تحلل الدم : -

ثم تنمية المزروع البكتيري على وسط blood a gar

وحضنت بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة .

النتيجة الموجبه تكون بشكل تحلل حول المستعمرات النامية وكذلك درس نوع التحلل فيما اذا كان نوع β او α او γ (Cowan , ١٩٨٥).

- الكشف عن أنزيم اليوريز : -

تم تحضير وسط اليوريا urea agar حسب تعليمات الشركة المجهزه ووضع الوسط داخل أنابيب وطعن وخطط الوسط بالمزروع البكتيري وحضن لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ مْ والنتيجة الموجبة هي تغير لون الوسط الى الوردي .

(Macfadin , ١٩٧٩)

- الكشف عن أنزيم التخثر : -

وهو يشمل : -

أ – فحص اختبار عامل التكتل Clumping Factor test

تم التحري عن هذا العامل باستخدام طريقة الشريحة الزجاجية (slid test) واتبعت طريقة (Baron and Feingold, ١٩٩٠) للتحري عن عامل التكتل وذلك بإضافة قطرة من المحلول الملحي الفسيولوجي على شريحة زجاجية نظيفة ومزجها مع جزء من النمو الجرثومي بعمر ١٨ ساعة بواسطة عودة الناقل ، وبعد حصول مستحلب للمزروع أضيف أليه بلازما الإنسان الطبيعي وبعد تحريك الشريحة بلطف فحصت قرب مصدر ضوئي لملاحظة التخثر. إذ أن حدوث التخثر الواضح بالمقارنة مع السيطرة المتكونة من المحلول المحلى الفسيولوجي والنمو الجرثومي دليل على إيجابية الفحص .

ب – فحص أنزيم المخثر البلازما الحر Free coagulase test

اتبعت طريقة (Treagan and Pulliam, ١٩٨٢) حيث أضيف ٠.١ مل من العالق الجرثومي بعمر ٢٤ ساعة في أنبوبة اختبار تحتوي على ٠.٥ مل من البلازما غير المخففة وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة ٣٧ مْ وتمت مراقبة التخثر كل نصف ساعة لمدة ٤ ساعات ان حدوث التخثر يدل على النتيجة الموجبة بالمقارنة مع أنبوبة السيطرة الحاوية على

المحلول الملحي والعالق الجرثومي . ثم حصنت الأنابيب التي لم تعط نتيجة موجبة خلال ٤ ساعات لمدة ٦ – ٢٤ ساعة للتأكد من سالبية الفحص استعمل هذا الفحص لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية Staph. aureus التي لها القابلية على إنتاج أنزيم المحلل للبلازما Coagulase enzyme.

- كشف القابلية على حل النشأ : -

زرعت البكتريا على الوسط الحاوي على النشأ لمدة ٣- ٥ أيام بدرجة حرارة ٣٧ م بعدها أضيف كاشف لوكول على المستعمرات وترك لبضع دقائق . النتيجة الموجبة هو ظهور مناطق شفافة حول المستعمرات (Difco , ١٩٨٤).

- كشف القابلية على إسالة الجلاتين : -

خطط المزروع البكتيري بعمر ١٨ – ٢٤ ساعة على وسط الجلاتين الصلب وحضنت الأنابيب لمدة ٣ – ٧ أيام بدرجة حرارة ٣٧ مْ ثم غمرت المستعمرات النامية بمحلول كاشف فريزر لمدة ٥ – ١٠ دقيقة . ثم التعرف على النتيجة الموجبة بظهور مناطق شفافة حول المستعمرات (Bisson and Gabilli, ١٩٧٩) .

- قابلية البكتريا على تخمير سكر اللاكتوز : _

استعمل الوسط MaConkey agar المحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة حيث زرع العالق البكتيري عليه وحضن بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ -٤٨ ساعة والنتيجة الموجبة هي اكتساب المستعمرات النامية اللون الوردي . استخدم هذا الوسط للتفريق بين البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز من غير المخمرة .

- قابلية البكتريا على تخمر سكر المانيتول :-

استعمل لهذا الغرض وسط المانيتول الملحي الصلب (Mannitol salt agar)المحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة حيث زرع العالق البكتيري على هذا الوسط وحضن لمدة ٤٨- ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ مْ , النتيجة الموجبة هو تحول لون الوسط الى الأصفر .استخدم لعزل وتشخيص المكورات العنقودية الذهبيه (Difco,١٩٨٤).

- قابلية النمو على وسط E . M . B : - استخدم هذا الوسط لعزل بكتريا الاشريكيا القولونيه E. coli. حيث يدل ظهور مستعمرات ذات بريق معدني على النتيجة الموجبه .

- القابلية على إنتاج جذر ألا ندول : -

لقحت الأنابيب الحاوية على الوسط بالمزروع الجرثومي وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٤ ٢ – يوم بعدها أضيف لكل انبوبه بضع قطرات من كاشف كوفاكس . ان تكون حلقة حمراء

دليل على إيجابية الفحص (Yokoyam and Carlson , ١٩٧٤) إذ تستطيع بعض أنواع من البكتريا على تحليل حامض تربتوفان وتكوين حامض البايروفيك واندول وامونيا.

_ فحص احمر المثيل وفوكس بروسكور : -

حيث استُخدِمَت مجموعتان من الأنابيب تحوي على وسط احمر المثيل وفوكس بروسكور المحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة . إذ لقحت بالمزروع البكتيري وحضنت بدرجة حرارة ٧ ٣ مْ. لمدة ٤٨ ساعة ، بعد ذلك أضيف للمجموعة الأولى من الأنابيب ٥ قطرات من كاشف احمر المثيل حيث يدل تحول لون الوسط الى اللون الأحمر على التحلل الكامل للسكريات وانتاج عدد من الأحماض . أما المجموعة الثانية من الأنابيب فأضيف لها ٠.٦ مل من كاشف α- nephthol , ٠.٢ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ٤٠% حيث يدل تغير لون الوسط الى الأحمر بعد مرور ١٥دقيقة على التحلل الجزئي للسكريات وانتاج مركب داي استايل كاربينول (Diacetyl carbinol) .

- اختبار استهلاك السترات : -

استخدام وسط (Simmons Citrate) حيث صب الوسط بأنابيب اختبار معقمة وترك ليتصلب ثم زرع العالق البكتيري وحضن بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة النتيجة الموجبة تكون بتحول لون الوسط من الأخضر الى الأزرق . استخدم هذا الفحص للكشف عن قابلية البكتريا على النمو بوجود سترات الصوديوم كمصدر وحيد للكاربون .

- اختبار انتاج غاز كبريتيد الهايدروجين : -

استخدم وسط كلكر الصلب وصب في أنابيب اختبار معقمة وترك ليتصلب بشكل مائل بعدها طعن وخطط بالعالق البكتيري وحضن لمدة ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ مْ , ويدل تكون الراسب الأسود في قعر ألا نبوبه على النتيجة الموجبه (Cowan , ١٩٨٥)

- اختبار قابلية النمو على وسط Crystial violate : -

استخدم هذا الوسط كوسط انتقائي لعزل البكتريا الموجبة لصبغة عزام وبالأخص لعزل المسبحيات streptococci صب الوسط في اطباق معقمة وخطط بالعالق البكتيري وحضن بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة ثم لوحظ نمو Streptococci من عدمه (Johnson et al , ١٩٩٦).

- الكشف عن تخمر السكريات وانتاج غاز : -

لقحت الأنابيب الحاوية على المحلول السكري بالمزروع البكتيري وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢ – ٥ يوم . أن تغير لون الوسط من الأحمر الى الأصفر وظهور الغاز في أنبوبة درهم دليل على إيجابية الفحص (Macfadin , ١٩٧٩).

- القدرة على إنتاج صبغة البايوسيانين : -

استخدم هذا الفحص لتشخيص بكتريا الزائفة الزنجاريه Ps .aeruginosa حيث زرعت البكتريا على وسط مولر هنتون وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة . ان تكون اللون الأزرق المخضر دلالة على إيجابية الفحص (الشبيب ، ١٩٨٩) .

- فحص اختبار الحركة : -

وتم التحري عن قابلية البكتريا على الحركة بطريقتين : -

أ- باستخدام وسط فحص الحركة المحضر ، حيث صب في أنابيب معقمة وترك ليتصلب ثم لقح بالمزروع البكتيري بطريقه الطعن وحضنت لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة والنتيجة الموجبه هو حدوث النمو خارج مستوى الطعنة (Macfadin , ١٩٧٩)

ب- باستخدام الشريحة الزجاجية Wet mount slide

(Baron and Feingold , ١٩٩٠)

٢ – ١٢ التركيز المستخدمة في التجربة : -

تم تحضير محلول خزين Stock solution من الفورفورال وحضرت منه التراكيز المطلوبة الأخرى لأجراء اختبار الفعالية التضادية للفورفورال وتحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (Mitscher et al , ١٩٧٢).

٢ – ١٣ اختبار الفعالية التضا دية للفورقورال :

اتبعت طريقة الانتشار في الاكار Agar diffusion method بوساطة الحفر (Egorove, ١٩٨٥) في اختبار حساسية البكتريا للفورفورال وتتضمن الطريقة مايلي : -

١- تم تحضير تراكيز مختلفة من الفورفورال تمثلت بالتراكيز .

(١ , ٠.٨ , ٠.٦ , ٠.٤ , ٠.٢ , ٠.١) مولاري حيث أضيفت كمية من الفورفورال مقدارها ٠.٩٦ مل في أنبوبة اختبار نظيفة ومعقمة ثم اكمل الحجم الى ١٠ مل بإضافة الماء المقطر ليصبح التركيز ١ مولاري ثم حضرت منه التراكيز الأخرى المطلوبة على التوالي .

٢- حضرت أطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الزرعي الصلب مولرهنتون Muller hinton agar وزرعت بالعالق البكتيري لأنبوبة ماكفرلاند المراد اختباره بوساطة مسحة قطنية معقمه Cotton swab بعدها تم عمل حفرة واحدة بقطر ٨ ملم بوساطة الثاقب الفليني المعقم Cork borer .

٣ - أضيفت كمية مقدارها ٠.٢ مل من كل تركيز في الحفره الواحدة في كل طبق بحيث امتلأت الحفره وبعد إضافة هذه التراكيز تركت الأطباق الحاوية على المزروع البكتيري والتراكيز

المختلفة من الفورفورال في الثلاجة لمدة ساعة واحدة لغرض انتشار المحلول في الوسط الزرعي (Hernandez et al ١٩٩٤)

٤ - بعدها نقلت الأطباق الى الحاضنة بدرجة ٣٧ مْ لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة ثم قُرِئت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط (hz) لكل تركيز بواسطة المسطرة (Saxena et al , ١٩٩٥).

٢ – ١٤ - تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى

Minimal Bacteriostatic concentration

استخدمت طريقة التخفيف في الأنبوبه tube dilution method (NCCLS , ١٩٩٣) لغرض تحديد اقل تركيز تثبيطي للفورفورال وتضمنت الطريقة مايلي : -

١ - تم إضافة ١ مل من الفورفورال الى ٩ مل من الوسط المغذي السائل N. broth في انبوبة اختبار نظيفة ومعقمه ليصبح التركيز $\frac{1}{10}$ مايكروغرام/مل .

٢- تم نقل حجم ٥ . ٢ مل من التراكيز $\frac{1}{10}$ الى أنبوبة اختبار نظيفة ومعقمه ثم اكمل الحجم بإضافة ٥ . ٢ مل من الوسط المغذي السائل N, broth ليصبح التركيز $\frac{1}{20}$ مايكروغرام/مل على التوالي بنفس الطريقة المذكورة أعلاه .

٣- حُضّرت التراكيز الاخرى $\frac{1}{30}$ ، $\frac{1}{40}$ ، $\frac{1}{50}$ ، مايكروغرام / مل على التوالي بنفس الطريقة المذكورة اعلاه.

٤ - زرعت هذه الأنابيب الحاوية على التراكيز المذكورة بعالق البكتريا المراد اختبارها من أنبوبة ماكفرلاند .

٥ - تحضن الأنابيب الحاوية على التراكيز المذكورة والعالق البكتيري بدرجة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ١٨ – ساعة .

٦ -ينقل ١ . ٠ مل من كل تخفيف بواسطة الماصة الى أطباق بتري الحاوية على الوسط الزرعي الصلب وينشر بوساطة الناشر Spreader ثم تركت الأطباق بضع دقائق لكي تجف، بعدها نقلت مرة أخرى الى الحاضنة بدرجة ٣٧ مْ ولمدة ١٨ – ٢٤ ساعة .

٧ - تقرأ النتائج ويحدد الـ M. B .C على انه اقل تركيز من الفورفورال أدى الى تثبيط نمو البكتريا كلياً . ويهمل النمو في حالة ظهور ١ – ٢ مستعمره في الطبق . وتسجل النتائج على أساس وجود نمو (+) او عدم وجود نمو (-) (Piddock , ١٩٩٠).

الفصل الثالث Chapter three

النتائج والمناقشة Results and Discussion

٣- ١ العزلات البكترية :-

تم جمع ٦٠ عزله بكترية مشخصه تشخيصاً أولياً في مختبر مستشفى مرجان في محافظة بابل للفترة من ١/ ١٠/ ٢٠٠٠ ولغاية ١/١٠/٢٠٠١ وهذه العزلات جمعت من مرضى شخصوا سريرياً كحالات مصابة بالجروح والتهابات المجاري البولية والاخماج الجلدية وحالات مرضية أخرى.

ولغرض التأكد من الأنواع البكترية قيد الدراسة والتي استخدمت بوصفها سلالات اختبار محلية , تم أجراء عدد من الفحوصات التأكيدية التقليدية منها مظهر المستعمرات Colonial morphology وأشكال الخلايا البكتيرية Bacterial morphology واجراء الفحوصات البايوكيميائية المبينة في الجدول (٢) . وتمت مقارنة الفحوصات التي تم أجرائها لغرض تشخيص الأنواع البكترية قيد الدراسة بنتائج مرجعية

(Macfadin, ١٩٧٩ ;Holt and Krig ,١٩٩٤ ; Baron and Fingold , ١٩٩٠)

وقد اشتلملت عزلات الاختبار على مجموعتين ، إحداهما البكتريا الموجبة لصبغة كرام وتضم الأجناس التالية :

Streptococcus pyogens, Staphylococcus aureus, streptococcus pneumoniae.

والأخرى البكتريا السالبة لصبغة كرام وتضم الأجناس التالية .

Klebsiella . pneumoniae , pseudomonas . aernginosa,

Salmonella. typhi , Escherichia . coli

Proteus. Mirabilis, Shigella . dysentery

جدول رقم (٣-٢) الفحوصات البايوكيميائيه التأكيديه لبكتريا الاختبار

Pr. Mirab	***Sal. typhi***	***Shig. Dyse.***	***Kleb. Pneu.***	***Ps. aerug***	***E coli***	***Strept Pneu .***	***Strept Pyogens***	***Staph . aureus***	**النتيجة الاختبارات**
-	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	+	+	+	**صبغة كرام**

فحص الاوكسيديز	-	-	-	+	-	-	-	-	-
فحص الكاتليز	+	-	-	+	-	-	-	-	-
فحص اليوريز			-	-	+	-	-	-	+
فحص الجيلاتين	+	-	-						
استهلاك السترات			-	-	+	-	+	-	-
انتاج حامض وغاز من كلوكوز	+		AG	A	A	-	A	AG	AG
السكروز			+-	-	+	-	-	-	+
لاكتوز			+	-	+	-	-	-	-
مانيتول	+	-	+	-	+	-	-+	-	-
فوكس بروسكور			-	-	+	-	-	-	-
احمر المثيل			+	+	-	+	+	+	+
انتاج H_2S			-	-	-	-	-	+	+
الحركه	-	-	+	+	-	-	-	+	+
الانزيم المخثر للبلازما	+								
انتاج صبغة اليايوسيانين				+					
فحص الاويتوكين			+						
فحص اذابة الصفراء			+						
انتاج الاندول			+	-	-	+-	-		+

٣-٢ التأثير الحياتي للفورفورال على الأجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام

٣ – ٢ – ١ المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus . aureus*

يتضح من الجدول (٣) تأثير الفورفورال على العنقوديات الذهبية مقدراً بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone إذ أظهرت المادة تأثيراً تثبيطياً واسعاً على نمو بكتريا الـ *Staph . aureus* ، حيث أن حلقة التثبيط بلغ قطرها ٣٥ mm عند أعلى تركيز مستخدم (١مولاري) و ١٠ mmعند أوطأ تركيز (٠.٤ مولاري) ، في حين لم تظهر التراكيز الاخرى (٠.٢ ، ٠.١) تأثيرا يذكر على نمو البكتريا من خلال عدم ظهور حلقة التثبيط .

وقد تبين من خلال الدراسة ان تأثير الفورفورال على هذه البكتريا كان موقفاً لنموها Bacteristatic والشكل (٢) يمثل صورة توضيحية لتأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على العنقوديات الذهبية *Staph . aureus* .

جدول (٣ - ٣) تأثير الفورفورال بتراكيز مختافة على بكتريا العنقوديات الذهبية *Staphylococcus . aureus* .

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition zone m m	Concentration mol / L	NO.
-	+	٣٥	١	١
-	+	٣٠	٠.٨	٢
-	+	٢٥	٠.٦	٣
-	+	١٠	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر

١=١ M	٤=٠.٤ M
٢=٠.٨ M	٥=٠.٢ M
٣=٠.٦ M	٦=٠.١M

شكل (٣ -٢) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* .

ان المكورات العنقودية الذهبية واسعة الانتشار ولها القدرة على أحداث ألا مراضية فهي مكورات منتجة للسموم المعوية Enterotoxin وتهاجم الدم مسببة ما يسمى تسمم الدم Septicemia وتعد إحدى مسببات التهاب المسالك البولية والجروح والدمامل وذات الرئة وتلوث ردهات المستشفيات .

(Mulder , ١٩٩٦ ; Bennett et al , ١٩٨٦ ; Dohnalek et al , ١٩٨٩; Trilla and Mior , ١٩٩٥) .

وهذه البكتريا مقاومة للعديد من المضادات الحياتية مثل الارثرومايسين Erthromycin والكلورامفنيكول Chloremphenicol والجنتاميسين Gantamycin والريفادين Rifampicin .

ان النتيجة المحصلة لدينا هي:- ان تأثير الفورفورال على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية جديرٌ بالاهتمام لما لهذه البكتريا من مقاومة للعديد من المضادات الحيوية الشائعة ، ولما لها من تأثيرات مرضية على الإنسان والحيوان .

٣ ـ ٢ ـ ٢ المسبحيات القيحية *Streptococcus pyogens*

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (٤) ان للفورفورال تأثيراً تثبيطياً واسعاً على نمو بكتريا المسيحيات القيحيه بحيث أن حلقة التثبيط بلغ قطرها ٣٥mm عند أعلى التراكيز المستخدمة في الدراسة (١ مولاري) وبلغ قطرها ١٥ mm عند التركيز ٠.٤ مولاري الذي يمثل أوطأ التراكيز المؤثرة على البكتريا في حين لم يكن للفورفورال أي تأثير على هذه البكتريا عند التراكيز ٠.١ , ٠.٢ من خلال عدم وضوح حلقة التثبيط . وكما مبين في الشكل (

٣) الـذي يمثـل صـورة توضـيحية لتـأثير الفورقـورال علـى بكتريـا المسـيحيات القيحيـة *Strept . pyogens* عند التراكيز المستخدمة في الدراسة .

وقد بينت الدراسة ان تأثير الفورفورال كان موقفاً لنمو البكتريا Bacteristatic .

جـدول (٣ - ٤) تـأثير الفورفـورال بتراكيـز مختلفـة علـى بكتريـا المسـبحيات القيحيـه *Streptococcus pyogens*

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition Zone m m	Concentration mol / L	NO.
-	+	٣٥	١	١
-	+	٣٠	٠.٨	٢
-	+	٢٥	٠.٦	٣
-	+	١٥	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر

١ = ١ M ٤ = ٠ . ٤ M

٢ = ٠ . ٨ M ٥ = ٠ . ٢ M

٣ = ٠ . ٦ M ٦ = ٠ . ١ M

شكل (٣-٣) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على المسبحيات القيحية

Streptococcus pyogens .

ان بكتريا المسبحيات القيحيه *Strept . pyogens* تنتشر في الغالب بشكل مكورات مسبحية متطفلة على الإنسان والحيوان ، وتسبب هذه البكتريا إصابات مختلفة منها المنتشر Spreading وكذلك تسبب التهاب اللوزتين والمفاصل والبلعوم والحمى القرمزيه والتهاب الأغشية الدماغية والحمى الروماتزمية إلحاده والتهاب الكبيبات الكلوية الحادة وتسبب خمجات الجروح المتقيحه والحروق والتهاب الخلايا Cellulitis وخراجات الأعضاء .

(Eugene , ١٩٩٨ ; Reid et al , ١٩٩٠) .

وهذه البكتريا حساسة الى البنسلين Penicillin والارثرومايسين Erythrormycin ومقاومة الى التتراسايكلين Tetracyclin، وقد لوحظ من خلال هذه الدراسة ان بكتريا المسبحيات القيحية حساسة للفورفورال بتراكيز معينة .

٣ – ٢ – ٣ المسبحيات الرئوية *Streptococcus pneumoniae*

يتبين من الجدول (٥) تأثير مادة الفورفورال على بكتريا المسبحيات الرئوية *Strept –pneumoniae* اذ نلاحظ ان للمادة تأثيراً تثبيطياً فعالا عند التراكيز (١, ٠.٨ , ٠.٦ , ٠.٤) مولاري إذ بلغ قطر حلقة التثبيط (٤٠ , ٣٥ , ٣٠ , ٢٠) m m على التوالي , بينما لم تبد المادة أية فعالية تثبيطيه عند التراكيز ٠.٢ , ٠.١ مولاري وكما موضح في الشكل (٤) الذي يظهر التأثير التثبيطي للفورفورال على البكتريا عند التراكيز المستخدمة في التجربة .

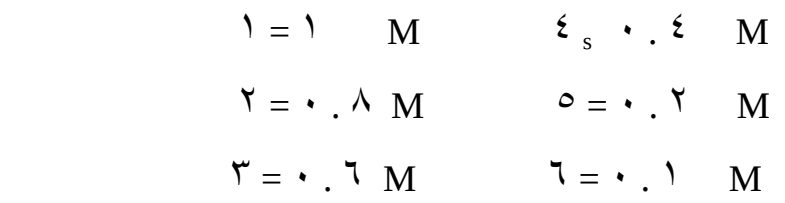
ومما تجدر الإشارة أليه ان تأثير الفورفورال كان موقفاً لنمو بكتريا المسبحيات الرئوية Bacteristatic وهذا ماتم إثباته من خلال التجربة .

جدول (٣ - ٥) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات الرئوية *Streptococcus pneumoniae*

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition zone m m	Concentration mol / L	NO.
-	+	٤٠	١	١
-	+	٣٥	٠.٨	٢
-	+	٣٠	٠.٦	٣
-	+	٢٠	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر



شكل (٣-٤) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا المسبحيات الرئوية

Streptococcus . pneumoniae

تتواجد بكتريا المسبحيات الرئوية بشكل مألوف في البلعوم والمعروف أن انتقال العدوى يكون بين أفراد العائلة الواحدة lntra family spreading ، وتسبب المسبحيات الرئوية عدد من الخمجات القيحيه وهي التهاب القصبات والرئة Branchopneumoniae والتهاب الأغشية الدماغية pneumococcal meningitis وآفات قيحيه متفرقة مثل التهاب الآذن الوسطى والبريتون والجيوب الأنفية وهذه البكتريا حساسة للمضاد الحيوي , Sulfonamides penicillin G ومقاومة للعديد من المضادات الحيوية مثل التتراساكلين Tetracycline والارثرومايسين Erythromycin

(Archer , ١٩٩٦ , Gupte ; ١٩٨٢ ,).

وقد أبدت بكتريا المسبحيات الرئوية حساسيه واضحة تجاه الفورفورال خلال الدراسة ، وهذه النتيجة جديره بالاهتمام نظرا لشدة امراضية هذه البكتريا .

٣ – ٢ – ٤ تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى (M B C)

Minimal Bacteriostatic concentration

تم تعيين قيمة التركيز الثبيط الادنى MBC حسب طريقة التخفيف في الأنبوبة (N.C.C.L, ,١٩٩٣) ويبين الجدول (٧) قيمة MBC للفورفورال على الأجناس البكتيريه الموجبة لصبغة كرام ، فقد أظهر تأثيرا متشابهاً في بكتريا الاختبار حيث كان التركيز $\frac{1}{30}$ يمثل التركيز المثبط الأدنى لكافة الأجناس البكتيريه المدروسة .

٣ – ٢ – ٥ مقارنة التأثير التثبيطي للفورفورال على نمو الأجناس البكتيريه الموجبة لصبغة كرام

يتضح من خلال النتائج التي تم التوصل ألبها والمبينة في الجدول (٧) ان بكتريا المسبحيات الرئوية *Strpt. pneumoniae* كانت اكثر الأجناس البكتيريه حساسة للفورفورال مقارنة مع باقي الأجناس الأخرى ثم تليها بكتريا المسبحيات القيحية *Strept. pyogens* و بدرجة اقل بكتريا العنقوديات الذهبية *Staph aureus* حيث كانت متماثلة في حساسيتها للفورفورال مع بكتريا المسبحيات القيحية لكافة التراكيز المستخدمة ماعدا التركيز ٠.٤ حيث كانت الفروقات قليلة .

يعزى هذا التقارب في حساسية الأجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام الى طبيعة الغشاء الخلوي Cell membrane ومدى نفاذيته للفورفورال .
ويلاحظ من خلال الإشكال والجداول التي مر ذكرها ان عملية التثبيط في الأجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام تتناسب طردياً مع زيادة التركيز وقد يعزى ذلك الى زيادة تراكيز المواد المثبطه في الفورفورال بزيادة تركيزه وجاءت هذه النتائج متوافقة مع ما أشار أليه (Taylor et al , ١٩٩٦ ; Hernandez et al , ١٩٩٤) .
ان التأثير التثبيطي للفورفورال على بعض الفعاليات الحيوية داخل الخلية للاجناس البكتيرية الموجبة لصبغة كرام ربما يعود الى تأثيره على جدار الخلية او تثبيط فعالية الانزيمات الخلوية.
ومن خلال الاطلاع على معظم الدراسات المنشورة في العراق حول هذا الموضوع تعد هذه الدراسة أول دراسة لاختبار التأثير الحياتي للفورفورال على أجناس مختلفة من البكتريا الموجبة لصبغة كرام .

جدول (٣ - ٦) قيم التركيز المثبط الأدنى للأجناس البكترية الموجبة لصبغة كرام
Minimal Bacteriostatic concentration

M B C µg / ml				
Strept .pneumoniae	***Strept.pyogens***	***Staph. aureus***	**Concentration**	**No.**
-	**-**	**-**	**١/١٠**	**١**
-	**-**	**-**	**١/٢٠**	**٢**
-	**-**	**-**	**١/٣٠**	**٣**
+	+	+	**١/٤٠**	**٤**
+	+	+	**١/٥٠**	**٥**

- عدم وجود نمو
+ وجود نمو

جدول (٣ – ٧) التأثير التثبيطي للفورفورال على الأجناس البكترية الموجبة لصبغة كرام

Inhibition zone m m				
Strept ,pneumoniae	*Strept , pyogens*	*Staph. aureus*	Concentration mol /L	NO.
٤٠	٣٥	٣٥	١	١
٣٥	٣٠	٣٠	٠.٨	٢
٣٠	٢٥	٢٥	٠.٦	٣
٢٠	١٥	١٠	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

٣-٣ التأثير الحياتي للفورفورال على الأجناس البكتيرية السالبة لصبغة كرام:

٣-٣-١ بكتريا الزائفه الزنجاريه : *Pseudomonas aeruginosa*

تشير النتائج المبينة في الجدول (٨) الى ان لمادة الفورفورال تأثير تثبيطي فعال ضد بكتريا الزائفه الزنجارية *Ps . aeruginosa* وقد انعكس هذا التأثير على نمو البكتريا وتناسب مقدار التثبيط طردياً مع زيادة التركيز الفورفورال المضاف الى الوسط الزرعي ، فعند استخدام التركيز ١ مولاري فأن قطر حلقة التثبيط بلغ mm ٤٠ ، وعند استخدام التراكيز (٠.٨ ، ٠.٦ ، ٠.٤ ، ٠.٢) بلغ قطرها ٣٥ ، ٣٠ ، ٢٥ ، ١٥ mm على التوالي بينما لم يبد الفورفورال أية فعالية تثبيطيه عند التركيز ١ . ٠ ، وكما مبين في الشكل (٥) .

وقد تبين من خلال الدراسة ان تأثير الفورفورال كان قاتلاً للبكتريا Bactericidal عند التراكيز المستخدمة .

- **جدول (٣-٨) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa***

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition zone m m	Concentration moL / L	No .
+	-	٤٠	١	١
+	-	٣٥	٠.٨	٢

٣	٠.٦	٣٠	-	+
٤	٠.٤	٢٥	-	+
٥	٠.٢	١٥	-	+
٦	٠.١	-	-	-

+ مؤثر

-غير مؤثر

M ٠.٤ = ٤ M ١ = ١

M ٠.٢ = ٥ M ٠.٨ = ٢

M ٠.١ = ٦ M ٠.٦ = ٣

شكل (٣-٥) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

تنتشر بكتريا الزائفه الزنجارية *PS . aeruginosa* بشكل واسع في التربة والمياه والحيوان والانسان ، وتوجد في الاجواء الرطبة للمستشفيات وهي من النوع الانتهازي apportunistic وتعد هذه البكتريا المسبب الرئيسي لعدوى المستشفيات والتهاب الجروح والحروق والتهابات المسالك البولية والجهاز التنفسي والعين ، ولا سيما انها تفرز السموم المعوية . (Alshibib et al , ١٩٨٢ ; Krige et al , ١٩٧٦ ; Day , ١٩٨٠ ; Lchhpujani ١٩٩٤ ;١٩٨٤ ،وفاء حليم وآخرون).

وبالرغم من أحتلال بكتريا الزائفة الزنجاريه *PS . aeruginosa* صفة المقاومة لمعظم المضادات الحيوية الشائعة ، فأن هذه الدراسة تأكد كفاءة الفورفورال في تثبيط نموها من خلال حلقة التثبيط المتكونة في وسط الاكار المغذي .

٣-٣-٢ بكتريا الاشركيا القولونيه : *Escherichia coli*

لقد تبين من خلال الدراسة ان لمادة الفورفورال فعالية عالية على بكتريا الاشركيا القولونيه *E . coli* وكما موضح في الجدول (٩) اذ بلغ قطر حلقة التثبيط m m ٤٠ عند التركيز ١ مولاري وبلغ ٣٥ ، ٣٠ ، ٢٠ m m عند التراكيز ٨ . ٠ ، ٦ . ٠ ، ٤، ٠ . ٠ على التوالي ، بينما لم تظهر اية فعالية عند التراكيز ٢ . ٠ ، ١ . ٠ ويوضح الشكل (٦) تأثير الفورفورال على البكتريا عند التراكيز المستخدمة في الدراسة .

وقد اوضحت النتائج ان تأثير الفورفورال على بكتريا الاشركيا القولونية *E . coli* كان قاتلاً لها Bactericidal .

جدول (٣-٩) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفه على بكتريا الاشركيا القولونيه *Escherichia Coli*

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition zone m m	Concentration mol / L	No
+	-	٤٠	١	١
+	-	٣٥	٠.٨	٢
+	-	٣٠	٠.٦	٣
+	-	٢٠	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر

١ = ١ M	٤ = ٠ . ٤ M
٢ = ٠ . ٨ M	٥ = ٠ . ٢ M
٣ = ٠ . ٦ M	٦ = ٠ . ١ M

شكل (٣-٦) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الاشركيا القولونيه

Escherichia coli

تتواجد بكتريا الاشركيا القولونية *E . coli* في التربة والهواء والمسطحات المائية والاجزاء السطحية للحيوان والانسان ، وتسبب هذه البكتريا التهابات المسالك البولية والمثانة والاسهال والتهابات قيحية في خمجات الجروح وتكوين الخلايا الجرثومية داخل خلايا القيح وتسبب تسمم الدم والتهابات الاغشية السحائية .

(pyat kin et al , ١٩٨٧ ; Lesley , ١٩٩٠ ; Pamela , ١٩٩٦).

ولو امعنا النظر في النتائج التي تم التوصل اليها ما للفورفورال من تأثير تثبيطي عالٍ على نمو بكتريا الاشركيا القولونيه *E . coli* لوجدنا ان هذه النتائج جديره بالاهتمام وذلك لكثرة الاصابات التي تسببها هذه البكتريا وقابليتها على مقاومة العديد من المضادات الحيوية الشائعة ،

وقد اشارت الدراسات التي اجراها الباحثين ان للفورفورال فعالية تطفيرية لبلازميد بكتريا الاشركيا القولونيه (Khan . QA , ٢٠٠٠)

٣-٣-٣ بكتريا الكلبسيلا الرئوية : *Klebsiella Pneumoniae*

من خلال دراسة التأثير التثبيطي للفورفورال على بكتريا الكلبسيلا الرئوية *Kleb pneumoniae*. وكما مبين في الجدول (١٠) وجد ان تأثير المادة في وسط الاكار المغذي مؤثرة على هذه البكتريا ، لاسيما ان حلقة التثبيط بلغ قطرها m m ٣٥ عند التركيز (١ مولاري) و mm ٢٨ عند التركيز ٨ . ٠ وmm ٢٥ عند التركيز ٦ . ٠ و mm ١٥ عند التركيز ٤ . ٠ اما بقية التراكيز الأخرى ٢ . ٠ ، ١ . ٠ فلم يكن أي تأثير للفورفورال على البكتريا من خلال عدم ظهور حلقة التثبيط . والشكل (٧) يوضح تأثير الفورفورال على بكتريا الكلبسيلا الرئوية عند التراكيز المستخدمة .

وعند دراسة التأثير الحياتي للفورفورال على هذه البكتريا تبين انه قاتلٌ لها Bactericdial عند نفس التراكيز .

جدول (٣-١٠) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفه على بكتريا الكلبسيلا الرئوية

Klebsiella Pneumoniae

Bactericidal	Bacteristatic	Inhibition zane mm	Concentration moL / L	NO .
+	-	٣٥	١	١
+	-	٢٨	٠ . ٨	٢
+	-	٢٥	٠ . ٦	٣
+	-	١٥	٠ . ٤	٤
-	-	-	٠ . ٢	٥
-	-	-	٠ . ١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر

١ = ١ M

٤ = ٠.٤ M

٥ = ٠.٢ M ٢ = ٠.٨ M

٦ = ٠.١ M ٣ = ٠.٦ M

شكل (٣-٧) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا الكلبسيلا الرئوية

Klebsiella Pneumoniae

تنتشر بكتريا الكلبسيلا الرئوية *Kleb . pneumoniae* في القناة التنفسية والمعوية للانسان والحيوان ، وهي مسؤولة عن ٣ % من التهابات الرئة وتسبب التهاب المجاري البولية واصابات قيحية pyogenic infections وكذلك تسبب عدوى المستشفيات nosocomail Infection

(Podschum et al, ٢٠٠٠; Berezine , ١٩٩٥; Walter et al , ١٩٨٩; Briody et al, ١٩٨٤ ; Frykland et al , ١٩٩٥ ; Hirakata et al , ١٩٩٦) .

وتشير النتائج التي توصلت اليها هذه الدراسة ان للفورفورال تأثيراً فعالاً على بكتريا الكلبسيلا الرئوية حيث ان حلقة التثبيط هي النتيجة المحصلة لهذا التأثير والتي تؤكد صحة هذه النتائج ، وعليه يجب اعطاء هذا الموضوع درجة كبيرة من العناية والاهتمام نظراً لمقاومة هذه البكتريا للعديد من المضادات الحيوية ولأمراضيتها الشديدة .

٣ – ٤–٣ بكتريا السالمونيلا : *Salmonella typhi*

يتضح من الجدول (١١) ان مادة الفورفورال أظهرت تأثيراً تثبيطياً على بكتريا السالمونيلا ، حيث ان حلقة التثبيط بلغ قطرها mm ٢٥ عند اعلى تركيز مستخدم (١ مولاري) وبلغ mm ١٠ عند اوطأ تركيز ٤ . ٠ في حين لم تبد التراكيز ٢ . ٠ ، ١ . ٠ أي تأثير ملحوظ على البكتريا ، وكما مبين في الشكل (٨) الذي يّبن بوضوح تأثير الفورفورال بتراكيزه المختلفة على بكتريا السالمونيلا .

وقد أمكن التوصل من خلال التجربة الى ان للفورفورال تأثيراً قاتلاً Bactericidal على نمو هذه البكتريا .

ومما تجدر الاشارة اليه ان تأثير الفورفورال على هذه البكتريا يختلف عن الاجناس الأخرى فقد اتضح من خلال الشكل (٨) ان منطقة التثبيط في اغلب التراكيز كانت عبارة عن منطقة كبيرة واضحة وأخرى صغيرة أقل وضوحاً .

جدول (٣-١١) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا السالمونيلا

Salmonella typhi

Bactericidal	Bacteristatic	inhibition zone mm	Concentration mol / L	NO .
+	-	٢٥	١	١
+	-	٢٠	٠.٨	٢
+	-	١٥	٠.٦	٣
+	-	١٠	٠.٤	٤
-	-	-	٠.٢	٥
-	-	-	٠.١	٦

+ مؤثر

- غير مؤثر

١ = ١ M	٤ = ٠.٤ M
٢ = ٠.٨ M	٥ = ٠.٢ M
٣ = ٠.٦ M	٦ = ٠.١ M

شكل (٣-٨) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا السالمونيلا *Salmonella typhi*

ان بكتريا السالمونيلا واسعة الانتشار في التربة والمياه والاغذية وفي القناة الهضمية ومخلفات المجازر ومياه المجاري وتسبب الحمى المعوية (التايفوئيد) Enteric fever وقد تسبب تضخم الكبد وكيس الصفراء والرئة واعضاء أخرى (وفاء الرجب،١٩٨٤).

وقد اوضحت النتائج التي تم التوصل اليها بأن للفورفورال تأثيراً تثبيطياً واضحاً على هذه البكتريا ، وقد يعزى سبب ظهور منطقة تثبيط كبيرة وأخرى صغيرة الى ان هناك سلالات من البكتريا قد تم تطفيرها واصبحت مقاومة لهذه المادة ، فالغالبيه من الخلايا ابدت حساسيه فأعطت المنطقة الكبيرة من التثبيط والمطفره كان عددها اقل فظهرت على هيئة منطقة ثانية ، وهذا يتوافق مع ما جاء به .

(Janzowsk ic , ٢٠٠٠ ; Malgo et al , ١٩٧٨)

بأن للفورفورال فعالية تطفيرية على بكتريا السالمونيلا .

٣ ـ ٥ـ٣ بكتريا الشيغلا: *Shigella dysentery*

من الجدول (١٢) يتبين ان للفورفورال فعالية عالية تجاه بكتريا الشيغلا ، اذ لوحظ ان للمادة تأثيراً تثبيطياً واسعاً فعند التركيز ١ مولاري بلغ قطر حلقة التثبيط mm ٣٥ وبلغ قطرها ٣٠، ٢٥ ، ١٥ mm عند التراكيز ٠.٨ ، ٠.٦ ، ٠.٤ على التوالي ، اما عند التراكيز ٠.٢ ، ٠.١ فلم تبد المادة أي تأثير على البكتريا .

والشـــكل (٩) يمثـــل صـــورة توضـــيحية لتـــأثير الفورفـــورال علـــى بكتريـــا الشـــيغلا *Shig . dysentery* عند التراكيز المستخدمة في التجربة ، فقد لوحظ من خلال الصورة اعلاه انه في التراكيز ٦ . ٠ ، ٤ . ٠ كانت هناك منطقة تثبيط كبيرة وآخرى صغيرة كما هو الحال في بكتريا السالمونيلا .

وقد تأكد من خلال التجربة ان تأثير الفورفورال كان قاتلاً Bactericidal على بكتريا الشيغلا *Shig . dysentery* .

جدول (٣-١٢) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفه على بكتريا الشيغلا

Shigclla dysentery

NO .	Concentration M ol / L	Inhibition zone mm	Bacteristatic	Bactericidal
١	١	٣٥	-	+
٢	٠.٨	٣٠	-	+
٣	٠.٦	٢٥	-	+
٤	٠.٤	١٥	-	+
٥	٠.٢	-	-	-
٦	٠.١	-	-	-

+ مؤثر

- غير مؤثر

١ = ١ M

٢ = ٠.٨ M

٣ = ٠.٦ M

٤ = ٠.٤ M

٥ = ٠.٢ M

٦ = ٠.١ M

شكل (٣-٩) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفه على بكتريا الشيغلا

Shigella dysentery

تنتشر بكتريا الشيغلا *Shig . dysentery* في الاقنية الهضمية للانسان والفقريات المتقدمة وهذه الجراثيم مسؤولة عن مرض الدزنتري ولها القابلية على انتاج السموم ، وهي حساسة

للتتراسايكلين Tetracyclin والكلورامفينكول Chloramphenicol وأدوية السلفا Sulfa drugs ومقاومة للعديد من المضادات الحيوية الأخرى .

(الرجب ، ١٩٨٤; AL Camo , ١٩٩٧) .

وقد اوضحت هذه الدراسة أن لبكتريا الشيغلا حساسية عالية تجاه الفورفورال وقد يعزى ذلك الى التأثير التثبيطي العالي للمواد التي يحتويها الفورفورال . أما ظهور منطقة تثبيط كبيرة وأخرى صغيرة في التراكيز المشار اليها فمن الممكن تفسيرها وكما هو الحال في بكتريا السالمونيلا بحصول طفرة لبعض السلالات جعلت منها مقاومة للفورفورال اما السلالات التي لم تحدث فيها طفرة فكانت اكثر حساسية للفورفورال .

٣-٣-٦ بكتريا *Proteus mirabilis*

يتضح من الشكل (١٠) ان تراكيز الفورفورال المستخدمة لم تبد آية فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *Pr .emirabilis* وقد وجد من خلال التجربة أنها مقاومة لكافة التراكيز ، ولم يلاحظ أي تأثير تثبيطي على هذه البكتريا في وسط الاكار المغذي، مما يشير الى ان بكتريا تبدي مقاومة شديدة تجاه الفورفورال .

تنتشر هذه البكتريا في القناة المعوية للانسان وفي مياه المجاري والتربة ، وتسبب حالات التهاب المجاري البولية والتهاب الرئة وخمجات المستشفيات وتسمم الدم (Pyatkin: et al , ١٩٨٧) .

وبكتريا الـmirabilis . Pr حساسة للتتراسايكلين Tetracycline والكلورامفثيكول chloramphenicol ومجموعة الـ aminoglycosides ومقاومة لأغلب المضادات الحيوية .

وقد اظهرت هذه الدراسة أنّ هذه البكتريا من اكثر الاجناس مقاومة للفورفورال ولم تبد أي حساسية معينة تجاهه ، وقد تعزى هذه المقاومة الى طبيعة الغشاء الخلوي او التركيب الوراثي لهذه البكتريا او الى امتلاكها لعوامل أخرى مثل حصول طفرات سريعة لسلالاتها تجعل منها شديدة المقاومة للفورفورال .

ونظراً لأختلاف هذه البكتريا عن الانواع الأخرى المدروسة في مقاومتها للفورفورال يجب اعطاء هذا الجانب قدراً من الأهمية لمعرفة الاسباب الحقيقية التي جعلت منها اكثر الانواع البكترية المدروسة مقاومة للفورفورال .

M ١ = ١
M ٢ = ٠.٨
M ٣ = ٠.٦
M ٤ = ٠.٤
M ٥ = ٠.٢
M ٦ = ٠.١

شكل (٣-١٠) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على بكتريا *Proteus mirabilis*

تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى (M B C)

Minimal Bacteriostatic Concentration

تم تعيين قيمة التركيز المثبط الادنى M B C حسب طريقة التخفيف في الانبوبة وكما ورد في (NCCLs , ١٩٩٣) ويبين الجدول (١٣) قيمة M B C للفورفورال في الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام ، فقد اظهر تأثيراً متشابهاً في بكتريا الاختبار فكان التركيز $\frac{1}{20}$ هو التركيز المثبط الادنى M B C لكافة الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام .

ومن الجدير بالذكر أن نبّن بأنه لا توجد دراسات منشورة سابقاً او مراجع نستند اليها لغرض مقارنة ما توصلنا اليه من نتائج عن هذا الموضوع .

٣-٣-٨ مقارنة التأثير التثبيطي للفورفورال في نمو الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام

يتضح من النتائج المبينة في الجدول (١٤) **ان** بكتريا الزائفة الزنجارية *Ps.aerugnosa* اكثر حساسية للفورفورال من الاجناس الاخرى السالبة لصبغة كرام ، حيث انها البكتريا الوحيدة التي ابدت حساسية للتركيز ٢ . ٠ مما يدل على شدة حساسيتها للفورفورال ، علماً ان هذه البكتريا تبدي مقاومة شديدة لأغلب المضادات الحيوية الشائعة .

ثم تليها في شدة الحساسية بكتريا الاشركيا القولونية : *E . coli* ثم بكتريا الشيغلا *Shig . dysentery* وتأتي بعدها من حيث الحساسية بكتريا الكلبسيلا الرئوية *Kleb. pneurnoniae* ، اما بكتريا السالمونيلا *Sal. typhi* فكانت أقل الاجناس حساسية للفورفورال من خلال قياس قطر منطقة التثبيط .

كذلك يوضح الجدول (١٤) مدى المقاومة الشديدة التي تبديها بكتريا الـ *Pr. mirabilis* لتراكيز الفورفورال المستخدمة في الدراسة .

ومن خلال الجداول والاشكال التي تم عرضها فقد لوحظ ان التأثير التثبيطي للفورفورال في نمو الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام يتناسب طردياً مع زيادة التركيز وقد يعزى ذلك الى زيادة تراكيز المواد المثبطة في الفورفورال بزيادة تركيزه ، وجاءت هذه النتائج متوافقة مع ما اشار اليه (Taylor et al , ١٩٩٦ ; Hernandez et al , ١٩٩٤).

ان التـأثير التثبيطـي للفورفـورال علـى بعـض الفعاليـات الحيويـة داخـل الخليـة للاجنـاس البكتيريـة السـالبة لصـبغة كـرام يعـود الـى تـأثيره علـى جـدار الخليـة او تثبـيط فعاليـة الانزيمـات الخلوية.

جدول (٣-١٣) قيم الـ M B C للاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام.

M B C µg / ml						
Sal typhi	***Shig dysentry***	***Kleb Pneumoniae***	***E. coli***	***PS. aeruginosa***	**Concentration**	**No**
-	-	-	-	-	**١/ ١٠**	**١**
-	-	-	-	-	**١/ ٢٠**	**٢**
+	+	+	+	+	**١/ ٣٠**	**٣**
+	+	+	+	+	**١/ ٤٠**	**٤**
+	+	+	+	+	**١/ ٥٠**	**٥**

+ وجود نمو

- عدم وجود نمو

جدول (٣-١٤) تأثير الفورفورال بتراكيز مختلفة على الاجناس البكترية السالبة لصبغة كرام.

Inhibition zone l m m							
Pr . mirabilis	***Sal . typhi***	***Shig . dysentcry***	***K l eb . pneumoniae***	***E . coli***	***PS . aeruginosa***	**Concentration Mol / L**	**No .**
-	٢٥	٣٥	٣٥	٤٠	٤٠	١	١
-	٢٠	٣٠	٢٨	٣٥	٣٥	٠.٨	٢
-	١٥	٢٥	٢٥	٣٠	٣٠	٠.٦	٣
-	١٠	١٥	١٥	٢٠	٢٥	٠.٤	٤
-	-	-	-	-	١٥	٠.٢	٥
-	-	-	-	-	-	٠.١	٦

ولغرض التأكد من وجود فرق في النمو بين السيطرة (control) وباقي تراكيز الفورفورال تمت مقارنة كافة النتائج التي تم الحصول عليها مع اطباق السيطرة ، وكان الفرق واضحاً بين اطباق السيطرة والاطباق الحاوية على تراكيز الفورفورال .

ان حلقة التثبيط تعتمد على عدة عوامل منها سرعة انتشار المادة المثبطة خلال الوسط الزرعي وسمك الوسط الزرعي وحجم المادة الملقحة وسرعة نمو الكائن ومدة حضانته وعندما تنتشر المادة خلال الاكار ربما يوجد تركيز للمادة قريب من الحفرة الذي يمثل µg/ml او mol / L فضلاً عن ان سرعة الانتشار تعتمد على الوزن الجزيئي للمادة الملقحة , (Reevs et al ١٩٨٧)

ومما تجدر الاشارة اليه انه تم اختيار وسط مولر – هنتون الصلب (M. H. A) في اختبار فحص الحساسية للفورفورال وذلك لسرعة نمو البكتريا الممرضة والمستخدمة في الدراسة وبدون اضافة مغذيات الى الوسط اضافة الى ثبوتية الاس الهيدروجيني الذي لا يتداخل مع فحص الحساسية (Barry , ١٩٧٦) .

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions

١- ان للفورفورال تأثيراً تثبيطاً واضحاً على البكتريا المرضية السالبة والموجبة لصبغة كرام المختارة في هذه الدراسة والتي شملت بكتريا *S. aureus* و *St. Pyogens* و *St.Pneumoniae* و *Ps.aeruginosa* و *E.coli* و *Kl.Pneumoniae* و *Sal.typhi* و *Sh. Dysentery* و *Pr. Mirabilis* ويزداد هذا التأثير مع زيادة التركيز حيث كانت العلاقة طردية بين التركيز وحلقة التثبيط .

٢- نستنتج أن بعضاً من هذه الاجناس البكتيرية ابدى مقاومة شديدة للفورفورال ولكافة التراكيز المستخدمة في الدراسة وبالاخص بكتريا *Pr. Mirabilis* مما يدل على ان هذه البكتريا تمتلك خصائص تختلف عن باقي الاجناس الأخرى جعلت منها اكثر مقاومة للفورفورال .

التوصيات Recommendations

١- من الممكن استعمال الفورفورال ضمن تركيبات دوائية واختبار مدى صلاحيته كمادة دوائية لمعالجة الامراض التي تسببها البكتريا المرضية بعد معرفة الآلية التي يسلكها للتأثير على هذه البكتريا .

٢- اجراء الاختيارات على الحيوانات المختبرية ومعرفة مدى صلاحية استعمال الفورفورال لمعالجة الاصابات البكتيرية بعد تلويث جسم الحيوان بالبكتريا المرضية وخاصة الجروح والحروق .

٣- اختيار تأثير الفورفورال على الفطريات المرضية وخاصة تلك التي تصيب الجلد والتي يتم عزلها في المستشفيات لملاحظة مدى تأثير الفورفورال على هذه الفطريات ومعالجتها .

٤- من الممكن اجراء وتطوير البحوث والدراسات العميقة والشاملة على مادة الفورفورال للوصول الى نتائج نستطيع من خلالها جعل الفورفورال كمادة علاجية ذات فائدة ملموسة وتطبيقيه في المجال الطبي .

REFERENCES المصادر

Aaronson, S. (١٩٧٣). Enrichment culture. In. CRC, Hand book of microbiology, Organismic Microbiology, Laskin, A. L and Lechevalier, H. A. (eds). The chemical Rubber Co. press, Cleveland, U. S. A. ١: ٧٢٥–٧٣٥.

Al Camo, Edward. I. (١٩٩٧). Fandamental microbiology, ٥ th. ed. , NewYork : ٧١٢ – ٧١٨.

AL Rawi, A. (١٩٨٨). Poisonous plant of Iraq. ٣ d. ed. Baghdad.

AL Shamma, A. Drake., S. Flynn., D. L. Mitscher., L. A. pa. K., Y. H. Rao., G.S.R. (١٩٨١). Antimicrobial agents from higher plants. Antimicrobial agents from peganum harmal seeds. J. of. Nat. prod. ٤٤: ٧٤٥- ٧٤٧.

AL Shibib, A. Hassan., F. K., and. F. Y. Al Ani. (١٩٨٢). Purification and characterization of pyocin from Pseudomonas aeruginosa., Folia Microbial. ٣٠: ٢٥ – ٢٩.

Alecc, J., A. Chatelus., and N. Wagner. (١٩٩٧). Skin distribution and pharmacutical aspects of adoplenegel, J. Amer Acad Derma , ٣٦: ١١٩ –١٢٥.

Anonymous, (٢٠٠٠). Health occupation safety and health guide line for furfural, health hazard information.

Archer, G. L. (١٩٩٦). Staphylococcal Infections in : Bennett, J. G. and plum, F (eds). Cecil Text Book of Medicine٢٠ th. ed. W. B. Saunders com. Adevison of Hart Cort Brace and Company. Vol. (٢).

Atherden, L.M. (١٩٦٩). Bentley and Divers. Text Book of pharmacutical chemistry., ٨ th. ed London, Oxford. University, Oxford press.

Baron, E. T., and S. Finegold. (١٩٩٠). Diagnostic Microbiology, ٨ th. ed. Bailey and Scotts, The C. V. Mosloy Company.

Barry, A.L. (١٩٧٦). The Antimicrobial Susceptibility Test, Principles and Practices, Lea and Febiger. Press Philadelphia.

Beknazarov, A. (١٩٨١). Fundamentals of organic chemistry. Mir publishers. Moscow., Vol. (٣)

Bennett, R.W., M. Yeterian., W. Smith., C.M. Coles., M. Sassaman., F.D. Maclur. (١٩٨٦). Staphylococcus aureus, Identification, characteristics and enterotoxigenicity., J. Food sci, ٥١ : ١٣٣٧–١٣٣٩.

Berezine, B. (١٩٩٥). Nosocomial Infections new agents, Incidence, prevention. press. Med. ٢٤: ٨٤ – ٩٧.

Berta, S., and B. Juan. (١٩٨٨). Pyromucic acid formation from carbohydrates by Sacchromyce cervisea., Enzyme microb. Technol., ١٠: ٣١٥–٣١٨, (C. A. ١٠٩, ١٩٨٨, ٥٢٦٧ w).

Bessen, D. E., C. M. Solir., J. L. Readdy., and S. K. Holling. Head. (١٩٩٦). Genetic correlates of throat and skin isolates of group A streptococci. J, Infect. Dis. ١٧٣: ٨٩٦ – ٩٠٠. Bioeng, ٦٩:٥٢٦-٥٣٦.

Bisson, J. W., and V.J. Cabilli.(١٩٧٩). Membrane filter Enumeration method for Clostridium perfringens., APPL. Environ. Microbiol. ٣٧: ٥٥-٦٦.

Briody, A.B., and E.R. Gills. (١٩٨٤). Microbiology and Infections diseases., MC Grow- Hill book Company.

Brownlee, H.J., (١٩٣٣). U.S. Patent ١:٩١٢. (cited by Hitchcok, L.B., and H.R. Duffey, ١٩٤٨).

Buchert, J., J. Plus., and Pontanen.(١٩٨٨). Applied Microbiology and Biotechnology, ٢٨: ٣٦٧.

Buxton, A., and G. Fraser. (١٩٧٧). Animal Microbiology, ١st. ed Black well scientific pub. Ltd. Vol.(١).

Chazal, S.A., M. Auzarqa., and A.M. Mahaneh.(١٩٩٢). Antimicrobial activity of Polygonum equiseti form extracts and Flavonoids. J. Phytatherapy Res. ٦ : ٢٦٥-٢٦٩.

Christensen, W.B. (١٩٤٦). Urea decomposition as ameans of differentiating proteins and Paracolon Cultures from each others and from Salmonella and Shigella type., J. Bacteriol. ٥٢ : ٤٦١.

Cowan, S. J. (١٩٨٥). Cowan and Steel Manual for Identification of Medical Bacteria, ٢ nd. ed. Cambridge Univ. Press – U.K.

Cruikshank, R., J.P. Duguid., B.P. Marmion., and R.H.A. Swain. (١٩٧٥). Medical Microbiology, McGraw Hill Press, London, New York. (suPP١ ٣B). C.A. ١٠٩, ١٢٧٢٩ x. ١١: ٥٤-٦٤. ٣٨.

Darmstdt, G. L. (١٩٩٧). Diagnostic Techniques Series, chap. ٢, Churchill livingston Company. (٥).

Davies, J. (١٩٩٦). Origin and evolution of antibiotic resistance. Microbiologia. Sem. ١٢ : ٩-١٦.

Day, D.F. (١٩٨٠).Gentamycin in Pseudomonas aeruginosa, Current Microbiology, ٤ : ٢٧٧.

Difco manual of dehydrated culture media and reagent for microbiology and clinical Laboratory Procedures. (١٩٨٤), loth. ed. Difco Laboratories Detroit, Michigan, U. S A.

Dimayuga, R.E., G.K. Cacia.(١٩٩١). Antimicrobial Screening of medicinal plants from Baja California Cure, Mexico., J. Ethnopharmacol. ٣١ : ١٨١-١٩٢.

Dobereiner, T.W. (١٨٣٢). Ann, ٣. (Cited by Hitchcok, L.B., and H.R. Duffey. ١٩٤٨).

Dohnalek, M. I. H., and E.H. Marth. (١٩٨٩). Staphylococcus aureus, Production of extra cellular Compounds and behavior in food. A review. J. of food protection. ٥٢: ٢٦٧-٢٨٢.

Egorovc, N.S. (١٩٨٥). Antibiotics a scientific approach, Mirpublishers, Moscow.

Epstein, M.E., m. Amodio-Groton., and N.S. Sadick. (١٩٩٧). Antimicrobial agents for dermatologist I.B. lactam antibiotic and related Compound, J. Amer. Acad. Dermatol. ٣٧: ١٤٩- ١٦٥.

Eugene, W. Nester., and C. Evans Robents. (١٩٩٨). Microbiology A human Perspective, ٢ nd. ed., Washington, U.S.A. ٤٧٥-٤٨٠

Feingold, K.R. (١٩٩٠).The regulation of role of epidermal lipid synthesis, Adv. Lipid.Res. ٢٤ : ٥٧-٨٢.

Frazier, W.C., and D.C. Westhoff.(١٩٧٨). Food Microbiology, ٣ rd. ed. McGraw, Hill Book Co, New York.

Fryklund, B., K. Tullus., L.G. Burman. (١٩٩٥). Epidemology and attack index of gram negative bacteria causing invasive infection in three special care, Neonatal units and risk factors for infection, ٢٣: ٧٦-٨٠.

Gerlach, E. H., R. N. Jones., and A. L. Barry. (١٩٨٣). Collaborative evaluation of the microbial profile system for quantitative antimicrobial susceptibility testing, J. Clin. Microbial, ١٧: ٤٣٦- ٤٤٤.

Gilchrist, T. L. (١٩٨٥). Hetero cyclic chemistry, Acad press, Belfast, Ltd.

Guest, E., and A. Al Rawi. (١٩٦٦). A flora of Iraq, ministry of Agriculture, Baghdad.

Gupte, S. (١٩٨٨). The Short Text Book of Medical Microbiology, ٣ rd. ed. J type. Brothers. Newdelhi.

Gupte, S. (١٩٨٢). The Short Text Book of Medical Microbiology, lst. ed, ١٤٣ – ١٥١.

Hawak, P.B., and B. L. Oser. (١٩٥٤). Practical physiological chemistry, ١٣ th. ed. London, J and A. Churchill Ltd.

Hernandez, M., R. Lopez., R. M. Abonal., V. Darias., and A. Arias. (١٩٩٤). Antimicrobial activity of visnca mocanera leaf extract, J. Ethnopharmacology, ٤١: ١١٥- ١١٩.

Hirakata, Y., N. Furuya., K. Tateda., and K. Yama guchi. (١٩٩٦). Experimental endogenous septicimia caused by klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in mice. Med. Microbial, ٤٤ : ٢١١-٢١٤.

Hitchcok, L. B., and H. R. Duffy. (١٩٤٨). Commercial Production of Furfural in its Twenty-fifth year., Chem. Eng. Progress, ٤٤: ٦٦٩ – ٦٧٤.

Holt, J.G., and N.R. Krig. (١٩٩٤). Bergy's manual of Determinative bacteriology. ٩ th. ed. Williams and Welkins, U. S. A.

Hugo, W., and AD. Band Russell. (١٩٨١). Pharmaceutical Microbiology, ٢ nd. ed. B lack well scientific publication, oxford.

Jackson, F. L. (١٩٨٩). Antibiotic resistance, lnter. Med, ١:١٠١-١٠٣.

Janzawskic., V. Glaab., E. Samimi., J. Schlatter., G. Eisen brand. (٢٠٠٠). Hydroxymethyl furfural assessment of mutagenicity, DNA. damaging potential reactivity to ward cellular glutathion., Food chemotoxical, ٣٨:٨٠١-٨٠٩.

John., and sons. (١٩٩٨). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine, ٤ th. ed., New York: ٢٣٣ – ٣٢٢

Johnson, D. R.; E.L. Kaplan.; J. Sramek., R. Bicora.; J. Havllekek., H. Avllecek., J. Motlova., and D. Krize. (١٩٩٦). Laboratory diagnosis of group, A streptococcal infections, WHO.

Jovel, E.M., J. Cabanillas., and G.H.N. Towers. (١٩٩٦). Anethnobotanical study of the traditional medicine of the mestizo people of sunimirano, Loveto, peru, J., Ethnopharmacology,
٥٣: ١٤٩- ١٥٦.

Kasner, M. L., T. G Mclaughlin., and E.W. Paull. (١٩٧٠). Resonance in Aromatic Furan Compounds., J. of org. Chem., ٣٥: ٩٨٣.

Katritzky, A. R. (١٩٨٥). Heterocyclic Chemistry, Acad press, ٣ ed. ed. Oxford.

Khan, Q. A., F.A. Shamsi.; S. M. Hadi. (٢٠٠٠). Mutagenicity of furfural in plasmid DNA., Biotechnology, Bioeng, ٦٩:٥٢٦-٥٣٦.

Kim, T.Y., Y. C. Ha., and S.W. Hong.(١٩٨٣). Effect of furfural on Pseudomonas aeruginosa, J. microbiology", Korea ٢١: ١٤٤-١٥٥,

Krige, N. R., and J.G. Holt (١٩٨٤), Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins Baltimore, U.S.A. Vol (١),

Lchhpujani, R.L. (١٩٩٤). Microbiology for Nurses. ١ st. ed. Jaypee Brothers. Medical publisher, Ltd.

Lesely, E. (١٩٩٠).The Pathogenesis of urinary tract infection associated with Escherichia coli., J. Med Microbial, ٣٢: ٣٢-٣٥.

Lester, M. (١٩٧٤). U. S. Patent, ٣, ٨١٩, ٦٦١,[C.A٨١,١٩٧٤, ١٠٥٢٥٩٥].

Macfadin, J. F. (١٩٧٩).Biochemical test for Identification, the E. test and detection of men A for determination Resistance in coagulase negative Staphylococci, Eur., J. Clin. Microbial infection disease, ١٥: ٥٦٧-٥٧٣.

Mahasnch,A.M., J.A. Abbas., and A.A. EJ. Oqlah. (١٩٩٦). Antimicrobial activity of traditional medicine of Bahrain Phytotherapy Res. ١٠: ٢٥٧-٢٥٣.

Mains., and Laforgc. (١٩٢٣). Preparation of furfural from corn cobs., Ind. Eng. Chem. ٥١:١٠٥٧.

Malgo Razata., Borbara., Maria., and Teresa. (١٩٧٨). Mutagenic activity of furfural in Salmonella typhimurium., Mutation research, Holand Biomedical Press. ٥٨: ٢٠٥-٢٠٩.

Marsal, F., and C. Sorre. (١٩٨٨). Formation of hydroxymethyl furfural carboxy by fermentation., Connaiss vignevia, C.A. ١٠٩, ١٢٧٢٩X. ٢٢: ٣٣-٣٨,

Mcketta, J. J., and W.A. Canningham.(١٩٨٦). Encyclopedia of chemical processing and Design, New York and Basal. Vol. (٢٤).

Medeiros, A.A. (١٩٨٤). B. Lactamase., Br. Med. Bull, ٤٠: ١٨-٢٧.

Merck, E. (١٩٨٥). Hand Book culture Media, Merck Frank further strabe ٢٥٠, D. ٦١٠٠, Darmstdt ١.

Mitscher, L. A., R. Leu., M. S. Bathala., M. N. W U. Beal., J.L., and R. white. (١٩٧٢). Antimicrobial agents from higher plants , Lloydia, ٣٥ :١٥٧-١٦٦.

Mulder, J. G. (١٩٩٦). Comparison of disk diffusion, The E. test and detection of men A for determination resistance in coagulase negative Staphylococci, Eur.J. Clinical microbiology infection disease, ١٥: ٥٦٧-٥٧٣.

National Commite for Clinical Laboratory Standards. (١٩٩٣). Approved standard. M٧-A٣., Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, Villanova, Pa.

Nemirovskii, V. D., L.A.Gusarova., (١٩٨٩). Formation of furfural alcohol by Candida guillicermordii., Biotechnology,Russ, (C.A. ١١١, ١٩٨٩. ٥٥٨ ٢٢ k). ٥ : ٢٨٥-٢٨٩.

Nichols, R.L. (١٩٩١). Surgical wound infections., Amer. J. Med. (supp١ ٣B). ٩١:٥٤-٦٤.

Pamela, B. (١٩٩٦).Enterobacteriacea. En. Colle, J.G, Fraser, A. G. and marmion, B-P (eds). Practical Medical Microbiology. ١٤th–ed. Churchill livingston.

Piddock, L.J.V. (١٩٩٠). Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria., J. APP١ Bacterial, ٦٨: ٣٠٧-٣١٨.

Podschum,R., A. Fischer., and U. Ullman. (٢٠٠٠). Expression of putative virulance Factors by clinical isolates of Klebsiella planticolla. J. Med. Microbial, ٤٩: ١١٥-١١٩.

Pyatkin, K., and Yn. krivoshein . (١٩٨٧). Microbiology, Mir publishers, Moscow.

Ramniksood., and Maulana Azad. (١٩٨٧). Medical Laboratory Technology, (Method and Interpretation), ٢ nd. ed. India: ٣٣٩-٣٤١.

Ranatunga, T.D., J. Jervis., R.F. Helm., J.D. Mcmillan., C. Hatzis. (١٩٩٧). Identification of inhibitory components toxic to ward Zymomonas mobilis., Applied Biochemistry and biotechnology, U. S. A. ٦٧: ١٨٥-١٩٨.

Reeves, D. s ; I. Phillips., and J. D. Williams & Wise. (١٩٨٧). Laboratory method in Antimicrobial Chemotherapy, Acad Press London & NewYok.

Reid, H.F.M., D.C.J. Basselt., E.Gaworzewsk., G. Colman., and Poon-Kinggt. (١٩٩٠). Streptococcal serotype newly associated with epidemic post streptococcal acute glomerulonephritis., J. med. microbiol. ٣٢ :١١١-١١٤.

Rubens, C. E., M. C. Neil., W. F., and W. E. Farrar. (١٩٧٩). Evolution of multiple antibiotic resistance plasmid. J. Bacterial. ١٤٠: ٧١٣-٧١٩.

Sanchovalls, J., R. Baldris Nacente., M. Sanchezcool. (٢٠٠٠).Hand book of Microbiological Culture media, LaJota, Barcelona, Spain. ٨٦: ٨٠١٦,

Savina, R. V., and N. V. Mironets., (١٩٨٧). Purification of drinking water., Gig. Sonit, ٢, P: ٨٦-٨٨, cc. A. ١٠٧), ٢٠٨٩n,Russ.

Saxena, G., S. Farmer., Hancoek., R. E.W., and G. H. N. Towers. (١٩٩٥). Antimicrobial Compounds from Alnus rubra., Int., J. of pharmacognosy, ٣٣ : ٣٣-٣٦.

Schoenknecht, F. D. (١٩٨٦).Bacterial tolerance to antimicrobial agents., Clin. Microbiolgy. News Leher, ٨: ٧٢-٧٤.

Smith, M. L. (١٩٣٢). The effect of heat on sugar solution, used for culture media, Biochemistry., J. ٢٦: ١٤٨٧.

Stecher, P. G., M. Windholz., and D.S. Leahy. (١٩٦٨). The merck index, ٨ th. ed. Merck and co, Inc. Rhaway. N., J, U.S.A.

Szengyel, Z., G. Zacchi. (٢٠٠٠). Effect of acetic acid and furfural on Cellulase production of Trichoderma reesei., APPL. Biochem. Biotech. ٨٩: ٣١-٤٢.

Taherzadeh, M. J., L. Gustafsson., Niklassone., and Liden G. (٢٠٠٠). Physiological effects of hydroxymethyl furfural on Saccharomyces cervisiae. Applied Microbiology biotechnology. ٥٣:٧٠١-٧٠٨.

Taylor, R.S.L., F.Adel., B. P. Manandhar., and G. H. N. Towers.(١٩٩٦). Antimicrobial activity of Southern Nepals, Medicinal Plants, J. of Ethnopharmacalogy ٥٠: ٩٧-١٠٢.

Thomas, C. G. A. (١٩٦٨). Medical Microbiology. lst. ed. , Acad press London. : ١٣٩ – ١٩٤.

Thomas, C. G. A. (١٩٧٠). Medical Microbiology, ٢ nd-ed., Acad press London : ١٩٠-١٩٣.

Treagan,L., and L. Pulliam. (١٩٨٢). Medical microbiology Laboratory procedures., W. B. Saunders – Company.

Trilla, A., and Miro, J.M. (١٩٩٥). Identifying High risk patients for Staphylococcos aureus infections skin and soft tissue infection., J. Chemother. ٣: ٣٧-٤٣.

Tyler, V.E., L.R. Brady., and Robbes. (١٩٨٨). Pharmacognosy, ٩th. ed, Lea and febiger, Philadelphia.

Walter, B. J.., and S.M. Israel. (١٩٨٩).General Pathology,٥ th. ed. Churchill. Livingstone, London and New York.

Waxman, D.J., and J.L. Strominger. (١٩٨٣). Penicillin binding proteins and the mechanisms of action of lactam antibiotics. Ann. Rev. Biochem, ٥٢: ٨٢٩-٨٦٩.

Wesleye. Kloos., and Tommyl. Bannerman.(١٩٩٤). Clinical Microbiology Review , Carolina, ٧: ١١٧-١٤٠.

Williams, J. D. (١٩٨٣). Principles of Bacteriology, Virology and Immunology, ١٧ th. ed, , Edward Arnold Company. : ٩٧-١٤٤

Woodruf, W. A., T. S. Parry., R. E. W. Hancock., L.E. Hanne., T. I. Nicas., and B. H. lglewski. (١٩٨٦) . Expression in Escherichia coli and function of Pseudomonas aeruginosa outer membrane porin protein. F. J. Bacteriol, ٥٤: ١٠٩-١١٧.

Xingpo, W., (١٩٩٣). Synthesis and Bacteriostatic activity of furfural thiosemicarbazone derivatives., J. Acta Academic medicine shangdong, ٣١: ٣٥١-٣٥٣.

Yokoyama, m. T., and J. R. Carlson. (١٩٧٤). Dissemination of tryptophan and related indol compound by ruminal microorganisms in vitro App. Microbiol, ٢٧: ٥٤٠.

Yousifz. Abou., and A. S. Aladin.Alwan.(١٩٩٨). Guide to chemotherapay and chemoprophylaxis in bacterial infection, ٢ nd-ed, World Healthy Organization.

المصادر والمراجع العربية

-العلمي . رياض رمضان ، (١٩٨٨) . الدواء من فجر التأريخ الى اليوم . المجلس الوطني للثقافة والفنون والآداب .

-المرعب . صفاء رزوقي ، (١٩٨٨) . الكيمياء التحليلية العملي ، التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد ، كلية التربية .

-النعيمي . هيثم ناجي ، (١٩٩٣) . انتاج مادة الفورفورال من كوالح الذرة وقصب السواقي ، تقرير منشور داخل منظمة الطاقة الذرية .

-الحمداني ، محمد عبد الخالق ، النعيمي ، هيثم ناجي ، (١٩٩٩)مجلة الزراعة العراقية (وقائع المؤتمر العلمي الاول للبحوث الزراعية) . الانتاج النباتي ووقاية النبات ، المجلد (٤)، العدد (١) ، مجلة علمية زراعية تصدر عن الهيئة العامة للبحوث الزراعية ، وزارة الزراعة ، جمهورية العراق .

-الحمداني ، محمد عبد الخالق ، النعيمي ، هيثم ناجي ، هادي مهدي وحمود صالح .(١٩٩٩) مجلة وقاية النبات العربية ، مجلد (١٧) ، العدد (٢) ، تصدر عن دائرة البحوث الزراعية والبايلوجية ، بغداد العراق .

-الحمداني ، محمد عبد الخالق ، النعيمي ، هيثم ناجي ، (٢٠٠٠) . مجلة العلوم الزراعية ، مجلد (٢٧) ، تصدر عن دائرة البحوث الزراعية والبايلوجية ، بغداد ، العراق.

-الجليلي ، محمود . (١٩٧٣) . المعجم الطبي الموحد ، طبعة خاصة . بغداد .

-رياض رشيد سلمان ، انيس مالك الراوي ،(١٩٨٨) . مباديء في الكيمياء الحديثة ، كلية التربية للبنات ، جامعة بغداد .

-السعدي . نرجس هادي ، (٢٠٠٠). دراسة حركية لانتاج الفورفورال من كوالح الذرة العراقية مع تطبيقات حياتية على اجناس مختارة من البكتريا ، أطروحة ماجستير ، جامعة بغداد ، كلية التربية للبنات .

-العنبكي ، رجاء عبد الرزاق ، (٢٠٠١) ، تثبيط نمو الفطريات النباتية الممرضة بواسطة الفورفورال ، أطروحة ماجستير ، جامعة بغداد . كلية التربية للبنات .

-بيرم ، عبد الحسين ، (١٩٨٩) . التداوي بالاعشاب الطبية دار التربية للطباعة والنشر والتوزيع .

-مكرزل ، قبلان سليم ، (١٩٨٢) . اعشابنا دواء صحتك وجمالك ، مؤسسة عز الدين للطباعة والنشر ، بيروت ، لبنان .

-الشهابي ، عاصم عطا ، (١٩٩٨). الميكروبات المعدية للانسان (١) ، ٤٦-٦٦ ، عمان الاردن .

-الرجب وفاء حليم وحسن القزاز ، (١٩٨٤). علم الاحياء المجهرية ، الجزء الثاني ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل .

-الشيب ، اسفار شهاب (١٩٨٩). البكتريا المرضية المعوية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . ص ٣٢٥.

-القطب ، حسين فوزي . (١٩٨١) . النباتات الطبية العطرية والسامة في الوطن العربي – الخرطوم .

-اكيسون ، ر . م . (١٩٧٦) . مقدمة في كيمياء المركبات الحلقية غير المتجانسة ، ترجمة.(١٩٨٣) النعمة ، حسين عبد الملك ، توفيق وياسين ، عبد العزيز ، جامعة صلاح الدين مطبعة جامعة الموصل .