

العصوية والتطبيقات الصناعية للعصوية الرقيقة

Bacillus and Industrial Applications of
Bacillus subtilis

(دراسة مرجعية Review Study)

الملخص

عزلت 13 سلالة من العصوية الرقيقة من التربة والمياه من منطقة دمشق، وُحِدَّت اعتماداً على الاختبارات الحيوية الكيميائية والاختبارات الجزيئية، وعزلت 163 سلالة من العنقوديات من العينات المرضية والتربة والمياه والجلد السليم من منطقة دمشق، وُحِدَّت اعتماداً على الاختبارات الحيوية الكيميائية والاختبارات الجزيئية.

كان للمزارع السائلة للعصوية الرقيقة تأثيراً كبيراً في العنقوديات الذهبية والجلدية إذ لوحظ أن مزارع السلالات الآتية: *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH* تتميز بتأثير عال تجاه معظم سلالات العنقودية الذهبية ماعداً بعض السلالات كالسلالة S16 المعزولة من خراج، والسلالة S17 المعزولة من قيح، والسلالة S36 المعزولة من فقاغ، وكذلك السلالة S42 المعزولة من جلد سليم، وتراوحت أقطار هالات التثبيط بين 8 - 36 مم، وتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من تأثير مزارع السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة أما سلالات العنقودية الجلدية بين 8 - 35 مم، أما مزارع السلالات الأخرى من العصوية الرقيقة *BS3K, BS4M, BS5W, BS6J* فكان تأثيرها متوسطاً تجاه بعض سلالات العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية وضعيفاً تجاه بعضها الآخر، وتراوح متوسط أقطار الهالات من السلالات السابقة بين 10 - 20 مم.

إن العنقودية الرمامة S143 المعزولة من السائل أو الشنت البريتواني الدماغي، والعنقودية الرمامة S144 المعزولة من مفرزات قصبية لم تتأثر بأي مزرعة من المزارع السائلة للعصوية الرقيقة، وكذلك العنقودية الإنسانية *S. hominis* S148 و S149 المعزولة من عينة فقاغ.

إن الخلاصات المجفدة لسلالات العصوية الرقيقة: *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH* تميزت بتأثير كبير في معظم سلالات العنقودية الذهبية إذ تراوح متوسط أقطار هالات التثبيط بين 8 - 40 مم، ماعداً بعض السلالات مثل السلالة S36 المعزولة من فقاغ، والسلالة S42 المعزولة من جلد سليم، وكان تأثير خلاصات العصوية الرقيقة لجميع السلالات قوياً وواضحاً تجاه سلالات العنقودية الذهبية S28, S39 المعزولتين من جلد سليم، والسلالة S45 المعزولة من عينة بول، من جهة أخرى لوحظ بضع سلالات من العنقودية الذهبية مثل S32, S33, S42 المعزولة من جلد سليم، و S50 المعزولة من عينة قيح، والسلالة S84 المعزولة من جرح، أنها لم تتأثر بأي خلاصة للعصوية الرقيقة، أما سلالات العنقودية الذهبية S88 المعزولة من التربة، والسلالتين S89, S90 المعزولتين من مياه ملوثة فقد تحسست لتأثير خلاصات العصوية الرقيقة ولاسيما خلاصات السلالات *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH*.

وتميزت الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة بتأثير كبير في العنقودية الجلدية *S. epidermidis*، إذ تميزت خلاصات السلالات الآتية: *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH* بتأثير عال في معظم سلالات العنقودية الجلدية ماعداً بعض السلالات المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية كالسلالتين

S107, S94 المعزولتين من جلد سليم، أما السلالات الأخرى فتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من تأثير خلاصات السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة بين 8 - 32 مم.

وكان تأثير خلاصات السلالات الأخرى *BS3K, BS4M, BS5W, BS6J, BS10Q* متوسطاً تجاه بعض السلالات وضعيفاً تجاه بعضها من العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية، وتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من السلالات السابقة بين 8 - 20 مم، وتبين أن تأثير خلاصات العصوية الرقيقة لجميع السلالات كان قوياً وواضحاً تجاه كل من العنقودية الجلدية S114 المعزولة من جلد سليم، و S91 المعزولة من قيح، ولوحظ أيضاً وجود بضع سلالات من العنقودية الجلدية مثل S107, S94 المعزولتين من جلد سليم إذ لم تتأثرا بأي خلاصة للعصوية الرقيقة، أما السلالة S140 المعزولة من التربة فقد لوحظ تحسس خلاصات العصوية الرقيقة فيها ولاسيما السلالات *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH*.

بيّنت نتائج تأثير خلاصات العصوية الرقيقة في العنقودية الرمامة وغيرها، إن العنقودية الرمامة S143 المعزولة من السائل أو الشنت البريتواني الدماغي، وكذلك العنقودية الرمامة S145, S144 المعزولة من مفرزات قصبية لم تتأثر بأي خلاصة من خلاصات العصوية الرقيقة، وكذلك العنقودية الإنسانية S149 المعزولة من عينة فقاع، والعنقودية *S. lentus* المعزولة من الأذن.

إن السلالات التي بينت الدراسة أنها تحمل المورثة *mecA* التي تميز سلالات العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسلين MRSA، مثل السلالات S8 المعزولة من عينة قيح، و S52 المعزولة من عينة بول، و S60 المعزولة من عينة سائل دماغي شوكي، لوحظ تأثير كل من المزارع السائلة والخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة فيها، وتراوحت أقطار هالات التثبيط لهذه السلالات بين 8 - 28 مم.

بينت نتائج قراءة ومسح طيف الخلاصات المجفدة على جهاز FTIR بين 400 - 4000 سم⁻¹ وجود روابط غوانيدية أميدية من الامتصاص 3361 سم⁻¹، وروابط كربونيلية من الامتصاص 1694 سم⁻¹، ومجموعات كربوكسيلية من الامتصاص 3300 سم⁻¹، وروابط هيدروجينية من الامتصاص 3500 سم⁻¹، وكذلك روابط كربون-كربون من الامتصاص 1456 سم⁻¹، وهذا كله دليل على وجود بيتيدات، كما أجري تحديد مادتين من مكونات الخلاصات المجفدة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة، إذ تبين وجود الصاد الحيوي الباسيتراسين Bacitracin A بتركيز بين 50 - 55 ميكروغراماً، والصاد الحيوي Polymyxin B بتركيز 112 - 114 ميكروغراماً.

العنقوديات والإنتانات

Staphylococci and Infections

(دراسة مرجعية Review Study)

مقدمة

تعد العسوية الرقيقة *Bacillus subtilis* من أهم الأنواع التي أُدخلت عالم الصناعة، وهي من العسويات النموذجية بين أنواع جنس العسوية *Bacillus*، وتنتج عدداً من المركبات الحيوية وفق ما أكده كثير من الأبحاث والدراسات التي أجريت في أنحاء العالم، إذ تنتج العسوية الرقيقة عدداً من المركبات الحيوية في المجالات الصناعية والطبية والصيدلانية كالمضادات الحيوية Antibiotics الجرثومية (Polymyxin و Subtilin) والمضادات الفطرية (Iturines)، والمعززات الحيوية Probiotic، إضافة إلى اللقاحات Vaccines والفيتامينات Vitamins، مثل: الريبوفلافين Riboflavin والتيامين Thiamine وحمض الفوليك Folic acid، وبعض المركبات الكيميائية الدقيقة Fine chemicals و نوكلوزيدات البورين Purine nucleosides والثوماتين Thaumatin، إلى جانب المركبات المهمة في المجال الزراعي ومقاومة الأمراض، وتعد الإنزيمات المجموعة الأكبر بين المستقلبات Metabolites للعسوية الرقيقة، وتزود بأكثر من 50% من إنتاج السوق حالياً، ويُستفاد منها في التطبيقات الغذائية والصيدلانية والتجارية مثل ألفا-أميلاز α -Amylase وبيتا-غلوكوناز β -Gluconase والغلوتاميناز Glutaminase وغيرها، وهذه المركبات مأمونة، ويشار إليها في الولايات المتحدة باسم Generally Regarded As Safe GRAS وفي الاتحاد الأوروبي باسم Qualified Presumption of Safety QPS.

تعد العنقوديات Staphylococci من أهم الجراثيم الممرضة المسببة للعديد من الإنتانات وفي جميع الأعضاء والأجهزة تقريباً، منها إنتانات الجلد التقيحية السطحية مثل الدامل، والجمرات، والحصف، والجروح، وإنتانات النسيج الناعمة، وإنتانات النسيج الهلالية Cellulites، وإنتانات الجيوب الأنفية والأذن الوسطى، وإنتانات الثدي، وتشوه العظام، وذات الرئة، والإنتانات البولية، وإنتانات ما بعد العمليات الجراحية، وإنتانات الدم، والتسمم، والأمراض الناتجة عن تسمم الغذاء، والتسمم الجلدي الخارجي، ومتلازمة الصدمة السمية Toxic Shock Syndrome TSS، ونحو 20% من الناس تقريباً يحملون العنقوديات الذهبية في الأنف والبلعوم، ويمكن أن تسبب إنتانات للجلد مباشرة أو على نحو ثانوي، ويعد Panton-Valentine leukocidin PVL ناتجاً للعنقودية الذهبية يسبب تسمم الدم، والتتخر الجلدي، وعدة أنواع من حالات ذات الرئة التنخري، ومن ناحية أخرى فإن ازدياد وتطور المقاومة للمضادات الحيوية بسبب التغيرات الوراثية، وانتقاء الصاد القوي في وجود أدوية أخرى، والطفرات التي تحدث في المورثات الجرثومية فتكسبها صفة المقاومة، أو تكتسب مورثات المقاومة من جراثيم أخرى، وكذلك الطفرات الصبغية أو الوراثية في الجراثيم قد تغير موقع المستقبل للصاد الحيوي في الجراثيم؛ مما يجعل ارتباط الصاد الحيوي صعباً، فتنتج مقاومة لهذا الصاد، كما أن الاستعمال الكبير وغير الرشيد لأعداد من

الصادات الحيوية في التطبيقات الطبية والبيطرية والزراعية أدى إلى ازدياد نسب المقاومة عند الجراثيم ومكّن الجراثيم من تطوير مقاومتها لهذه الأدوية.

وقد أصبحت المستشفيات هنا وهناك مصدراً لكثير من الإنتانات وجراثيم المستشفيات ولاسيما العنقودية الذهبية *S. aureus* والعنقودية الجلدية *S. epidermidis* التي تعد سبباً رئيساً للإنتانات في المستشفيات، كما أن نحو مليون ومائتي ألف حالة مرض بالعنقوديات سنوياً تصبح مقاومة للصادات الحيوية في الولايات المتحدة الأمريكية وحدها، وهذه الإنتانات غدت ظاهرة خطيرة وتحدياً كبيراً للأطباء والباحثين والعاملين في القطاع الصحي وكثير منها تسببها العنقوديات ولاسيما العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسلين Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA، ومن أهمها: الإنتانات البولية، والإنتانات التنفسية، وذات الرئة، وإنتانات الدم، وإنتانات النسيج الجلدية الرخوة، والإنتانات الناتجة عن إدخال المواد المعدنية أو صفائح غريبة عن الجسم لأغراض علاجية مثل القثاطر القلبية والبولية وغيرها ولاسيما الإنتانات الناتجة عن العنقوديات سالبة المخثرات Coagulase Negative *Staphylococci* CNS، وإنتانات الجيوب الأنفية، وقد اتخذت الحكومات والمراكز الصحية والمستشفيات تدابير حازمة وإجراءات صارمة للحد أو التخفيف من هذه الإنتانات مثل المراقبة الصحية للعاملين الصحيين وعاملي النظافة في المستشفيات، وكذلك استعمال الحقن الطبية من قبل الممرضين والممرضات، وفي دراسة حديثة قدرت تكاليف علاج العنقوديات المسببة للإنتانات والمقاومة للصادات الحيوية في الولايات المتحدة الأمريكية وحدها بين 150 مليون - 30 بليون دولار سنوياً، فكيف الأمر بإضافة تكاليف العلاج في دول الاتحاد الأوروبي والبلدان العربية وأفريقيا وغيرها.

يواجه العالم اليوم تحديات علاجية كبيرة بسبب الإنتانات التي تصيب الإنسان من العنقوديات المقاومة للصادات الحيوية، والإنتانات الناتجة عن العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية هي الأكثر شيوعاً في المستشفيات ولاسيما الأمريكية، وهناك 40 - 60% من العنقوديات المسببة للإنتانات في المستشفيات مقاومة للميتيسلين حالياً في عدة دول صناعية متقدمة، وعلى الرغم من حجم الدراسات الكثيرة التي أجريت على تركيب الجدار الخلوي والصفات الوراثية للعنقوديات وتحديد المستقبلات الهدف للصادات الحيوية في الجدار الخلوي، مازالت الدراسات مستمرة بسبب تطور وازدياد مقاومة العنقوديات للصادات الحيوية، إضافة إلى مشكلات الاستجابة المناعية في الأفراد المصابين بإنتانات العنقوديات، وتطور كل دولة حالياً برنامج التحكم في العدوى الناتجة من إنتانات الجراثيم المقاومة ولاسيما العنقودية الذهبية للتخفيف من الأخطار الصحية ولتحقيق الرعاية الصحية المناسبة لمواطنيها، وكثير من المستشفيات أصبح لديها مراكز خاصة تتحكم في أبعاد هذه المقاومة، وتستأثر الأبحاث التي تسعى لإيجاد صادات حيوية جديدة أو خلاصات جديدة تقضي على هذه الإنتانات أو تخفف منها بأهمية كبيرة.

وتأتي أهمية هذه الدراسة من كونها الدراسة الأولى محلياً وعربياً، ومن بين الدراسات القليلة عالمياً التي تدرس تأثير الخلاصات المجفدة لسلاسل العصوية الرقيقة المعزولة من التربة والمياه، ومقارنتها بتأثير المزارع السائلة، وتأتي أهميتها أيضاً من كونها تكشف عن تأثير هذه الخلاصات في سلالات كثيرة من العنقوديات المعزولة من العينات المرضية المختلفة والجلد السليم للإنسان، إضافة إلى عينات التربة والمياه الملوثة.

أهداف البحث Aims of The Study

1. تعريف العصوية الرقيقة *B. subtilis* المعزولة من التربة والمياه في منطقة دمشق والعنقوديات (الذهبية والجلدية والرمامة) اعتماداً على الاختبارات الحيوية الكيميائية وبتقنية PCR.
2. تحديد تأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات المعزولة.
3. تحديد تأثير الخلاصات الخام المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات المعزولة.
4. تحديد أهم الصادات الحيوية في خلاصة العصوية الرقيقة بتقنية الاستشراب السائل عالي الأداء HPLC وتقنية طيف الأشعة تحت الحمراء بتحليل فوريير FTIR Spectrum.

أولاً. العصوية *Bacillus*

1. الجراثيم في التربة *Bacteria in Soil*

التربة منظومة حركية غير مستقرة، عالية التعقيد تتميز بعمليات حيوية كيميائية متنوعة تتأثر بدرجة كبيرة بالعوامل البيئية، إذ تحتوي مجموعات كثيرة من الأحياء الدقيقة كالجراثيم *Bacteria*، والشعاعيات *Actinobacteria*، والفطريات *Fungi*، والطحالب *Algae*، وهذه مع الإنزيمات والمستقلبات الخارجية التي تنتجها لها دورٌ أساسي في تفاعلات التربة، فهي المفتاح الرئيس لتحويلات المواد العضوية واستمرار السلاسل الغذائية (Alef & Nannipieri 1995, Barton & Northup 2011). تحتل مجموعة الجراثيم مكاناً متميزاً بين الأحياء الدقيقة التي تستوطن التربة، فهي أكثرها انتشاراً وتقسّم إلى قسمين: الجراثيم الأصلية *Autochthonous* التي تستوطن التربة بصورة طبيعية ودائمة، والجراثيم الدخيلة *Allochthonous* التي تضم الجراثيم المجلوبة مع مياه الأمطار ومخلفات الإنسان والحيوانات، وتبلغ نسبة الجراثيم في التربة أكثر من 10^9 خلية جرثومية/غ من التربة، وهكذا فالجراثيم تتحكم في وظائف النظام البيئي من خلال دورها في السلاسل الغذائية ودورات العناصر، وربما تعد كأحد الدالات *Indicators* على التغيرات في سلامة النظام البيئي (Paul 2007, Dixon & Tilston 2010).

2. الجراثيم في المياه *Bacteria in Water*

تنتشر الجراثيم في جميع الأوساط المائية، كالبهار والمحيطات، والأنهار والبرك والبحيرات، والمياه العذبة والملوثة، وتبلغ نسبتها في المياه بين $10^8 - 10^{12}$ خلية جرثومية/مل، وتؤدي دوراً كبيراً في العلاقات بين الأحياء ودورات العناصر، كما أن نسبة وجود بعض الجراثيم في المياه الملوثة تعد معياراً دقيقاً للتلوث، ولبعضها دورٌ مهمٌ في تنقية المياه الملوثة من جهة أخرى كجراثيم *Thiobacillus ferroxidans* (علي نظام والأشقر 2013، Barton & Northup 2011).

3. العصوية الرقيقة في التربة والمياه *B. subtilis in Soil and Water*

تكون التربة الوسط الطبيعي للعصوية الرقيقة التي توجد فيها بأعداد كبيرة وتبلغ نسبتها بين $10^6 - 10^7$ خلية/غ، إلا أن بعضها قد يكون ناتجاً عن أبواغ داخلية، وللعصوية الرقيقة أهمية كبيرة في كثير من العمليات والعلاقات الجرثومية في التربة، وهي مترافقة أيضاً مع نمو وحياء النباتات، إذ إن وجود جنس العصوية في التربة يبقي النباتات سليمةً كما يُحسّن من إنتاج المحاصيل لأهميتها في امتصاص وانحلال العناصر كالفوسفور وبعض المركبات العضوية (Schaechter 2004, Varma et al., 2008)، وتوجد العصوية الرقيقة في المياه العذبة والشاطئية ومياه المحيطات وإن كان بنسبة أقل منها في التربة (Schaechter 2004, Barton & Northup 2011).

4. العنقوديات في التربة والمياه *Staphylococci in Soil and Water*

تنتشر العنقوديات في جميع البيئات الطبيعية كالترية والمياه والهواء، وكذلك تكوّن نسبة من الجراثيم المتعايشة على جلد الإنسان والحيوانات، إضافة إلى انتشارها في المستشفيات ودورها في الإلتانات، و تعد نسبة وجود العنقوديات في التربة والمياه قليلة مقارنة بها للعصويات فهي تتراوح بين 3 - 5% في كل غرام من التربة أو مليلتر من المياه (Prescott *et al.*, 2002, Schaechter 2004).

5. تصنيف العصوية الرقيقة *B. subtilis* Classification of *B. subtilis*

تنتمي العصوية الرقيقة إلى الفصيلة الجنس *Bacillus* من العصوية *Bacillaceae* التي تضم تسعة عشر جنساً منها *Bacillus*, *Geobacillus*, *Alkalibacillus*, *Fiolbacillus* وهي عصويات هوائية أو لاهوائية اختيارية، عضوية التغذية الكيميائية، إيجابية بصبغة غرام، وإن كان بعض الأنواع متغيرة بين إيجابية وسلبية بصبغة غرام، وتشكل أبواغاً داخلية، علماً أنه توجد أنواع مكورة غير منتجة للأبواغ الداخلية كاستثناء عن هذه الصفات، والعصوية الرقيقة تنتمي إلى وصنفت (*De vos et al.*, 2009) وفق الآتي:

المملكة: الجراثيم *Bacteria*

الشعبة: *Firmicutes*

الصف: العصويات *Bacilli*

الرتبة: العصوية *Bacillales*

الفصيلة: العصوية *Bacillaceae*

الجنس: العصوية *Bacillus*

نوع العصوية الرقيقة *B. subtilis*.

6. جنس العصوية *Bacillus*

من أهم وأكبر الأجناس في الفصيلة العصوية، إذ يضم أكثر من 200 نوع مختلف، وهي جراثيم واسعة الانتشار في الطبيعة فهي توجد في المياه والترية وسطح أوراق النباتات والغذاء الفاسد ومصادر متنوعة أخرى، إلا أنها أكثر نشاطاً في التربة عند وفرة المواد المناسبة للنمو، وتنتشر هذه الجراثيم وتوزع بكثرة في الترب الزراعية، وتسبب الكثير من الأمراض للحشرات والديدان لذا تستعمل كثيراً في مكافحة الحيوية التي تأخذ أشكالاً مختلفة بسبب الطيف الواسع للمواد التي تنتجها هذه الجراثيم (*Gardener*, 2004, *Varma et al.*, 2008, *De vos et al.*, 2009).

العصويات مستقيمة أو متموجة قليلاً، قد تكون مفردة أو في سلاسل، تنتج أبواغاً داخلية (بوغة لكل خلية) مركزية بيضوية، وتعد صفة مميزة للأنواع، متكيفة مع شروط بيئية متنوعة كالحرارة والإشعاع

والمطهرات وغيرها، إيجابية بصبغة غرام، متحركة بسياط محيطية، هوائية أو لاهوائية اختيارية، الصفات الشكلية للمزارع متنوعة ويمكن أن تنتج أصبغة على بعض الأوساط، تبدي تنوعاً كبيراً من الصفات الفيزيولوجية، منها ما هو متكيف مع البرودة، أو مع الحرارة، أو مع الحموضة، أو مع القلوية، وبعض الأنواع متكيف مع الملوحة، وأنواع أخرى لها احتياجات متنوعة للملوحة، إيجابية الكتلاز في معظم أنواعها، إيجابية أو سلبية الأكسידاز، غير ممرضة للإنسان ما عدا عسوية الجمرة الخبيثة *B. anthracis* والعسوية الشمعية *B. cereus* التي يمكن مشاهدتها في الأغذية الملوثة والفاسدة، وهي ذات نهاية مدورة، والخلية ذات أبعاد $0,4 - 1,8 \times 0,9 - 10$ ميكرومتراً (De vos et al., 2009, Todar 2011)، وينتج بعض أنواعها الصادات الحيوية مثل الباسيتراسين والبوليميكسين، والغراميسيدين وغيرها، أما التركيب الكيميائي للغشاء الخلوي فمعقد مثل باقي الجراثيم الإيجابية بصبغة الغرام مع صفات المقاومة، والجدار الخلوي يتألف من الببتيدوغليكان الذي يحتوي ميزو دي أمينوبيميليك (DAP) إضافة إلى كميات كبيرة من حموض التيكونيك المرتبطة مع الموراميك (Prescott et al., 2002, (Schaechter 2004, De vos et al., 2009, Todar 2011).

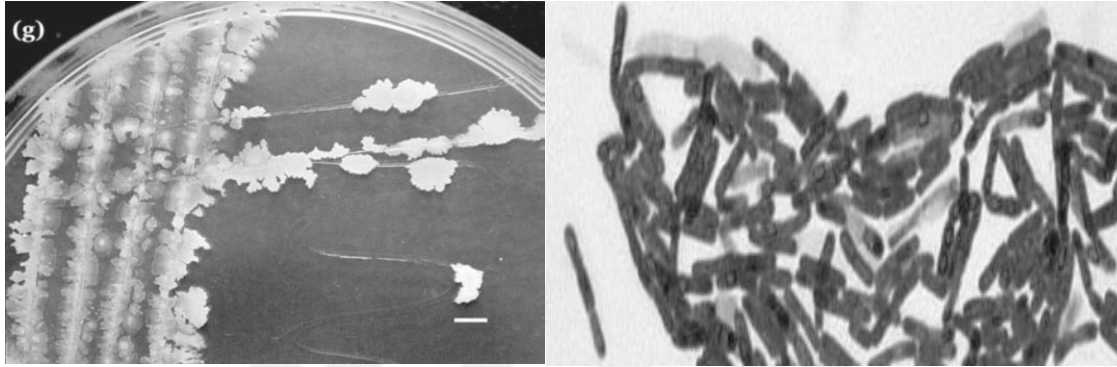
وضعت أنواع العسويات في خمس مجموعات اعتماداً على بنية السوط وشكله وصفات شكلية أخرى وعلى الخصائص الحيوية الكيميائية، كما أن الصفات العامة لمزارع سلالات العسويات تختلف كثيراً وفق العوامل البيئية مثل تركيب الوسط ودرجة الحضان والكثافة، وهذه الصفات تتغير مع التغيرات البيئية، أما أقطار المستعمرات فتعتمد على عددها في الطبق ونسبة المواد المغذية في الوسط، ويمكن أن تقارن أشكال المزارع بسلالات معيارية (De vos et al., 2009).

1.6 نوع العسوية الرقيقة *Bacillus subtilis*

سمى كريستيان إيرينبرغ Christian Ehrenberg عام 1835 العسوية الرقيقة أول مرة باسم *Vibrio subtilis*، ثم أعاد تسميتها كوخ *Bacillus subtilis* Coch عام 1872، وهي عسويات هوائية، منتشرة في التربة والمياه وعلى النباتات وبيئات أخرى، موجبة بصبغة غرام، متحركة، وتكون أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية، تنمو على الآغار وأبعاد خلاياها $0,7 - 0,8 \times 2,0 - 3,0$ ميكرومترات، مفردة أو مزدوجات وقلما تكون في سلاسل، وتتنوع الصفات الشكلية للمزارع بين السلالات، مزارعها ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة مع سطوح بارزة أو مسطحة بيضاء (الشكل 1 أ و ب)، ويمكن أن تصبح بلون كريمي إلى بني خفيف (De vos et al., 2009).

يتراوح قوام المستعمرات بين الرطب إلى المخاطي والغشائي مع أو دون بنية مخاطية في الأسفل، تنتج أصبغة متنوعة من اللون الكريمي إلى الأصفر والأحمر والأسود، وإنتاج الأصبغة يعتمد على تركيب وسط الاستزراع وفق وجود أملاح وحموض أمينية معينة، وتنمو العسوية الرقيقة في درجة حرارة بين $28^{\circ} \text{C} - 30^{\circ} \text{C}$ م وفي درجة صغرى 5°C م ودرجة عظمى 55°C م ودرجة حموضة pH بين

5,5 - 8,5، ولكن لم يسجل نمو العصوية الرقيقة في حدود درجات الحرارة والحموضة هذه، لأنه لوحظ أنها ينمو في ظروف وحدود أخرى، ويمكن أن تنمو هذه الجراثيم في وسط ملحي 7% NaCl وبعض السلالات حتى 10% NaCl، موجبة الكتلاز وموجبة الأكسيداز عموماً مع وجود بعض الاستثناءات القليلة، تفكك الكازيين والأسكولين والهلام والنشاء، ترجع النترات إلى النتريت، موجبة اختبار فوش- بروشكاير VP، كما تنتج حموضاً بدون غازات بدءاً من الجلوكوز ومن مجموعة كبيرة من السكريات، وهي غير ممرضة ونادراً ما تسبب التسمم وفساد الأغذية، وحديثاً اكتشفت نوعيات من هذه الجراثيم ووضعت تحت العصوية الرقيقة *B. subtilis subsp.* (De vos et al., 2009).



الشكل 1. العصوية الرقيقة: (أ) الأبواغ الداخلية. (ب) مزارع العصوية الرقيقة.

2.6 النوع *Bacillus licheniformis*

عصويات لاهوائية اختيارية، منتشرة في التربة وبيئات أخرى وكذلك في الغذاء والعينات المرضية من الحيوان، موجبة بصبغة غرام متحركة، تشكل أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية أو كروية، تنمو على الآغار وأبعاد خلاياها $0,6 - 0,8 \times 1,5 - 3,0$ ميكرومتراً، مفردة أو مزدوجات أو في سلاسل، الصفات الشكلية للمستعمرات متنوعة بين السلالات، مستديرة ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة وعلى الآغار المغذي تكون عاتمة ذات سطوح ناعمة إلى خشنة، يتراوح القوام بين الرطب إلى المخاطي والغشائي مع أو دون بنية مخاطية في الأسفل، تنتج أصبغة متنوعة من اللون الكريمي إلى الأصفر والبني، تنمو بين $15 - 37$ °م وفي درجة عظمى تصل 55 °م، يمكن أن تنمو هذه الجراثيم في وسط ملحي 7% NaCl، موجبة الكتلاز وموجبة وسالبة الأكسيداز، تفكك الكازيين والأسكولين والهلام والنشاء، ترجع النترات إلى النتريت، موجبة باختبار فوش- بروشكاير VP، كما تنتج الحموض دون غازات من الجلوكوز ومن مجموعة كبيرة من السكريات (De vos et al., 2009).

3.6 النوع *Bacillus amyloliquefaciens*

عصويات هوائية، منتشرة في التربة وبيئات كثيرة متحركة، تشكل أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية، تنمو على الآغار وأبعاد خلاياها $0,7 - 0,9 \times 1,8 - 3,0$ ميكرومتراً، موجبة بصبغة غرام تكون غالباً في سلاسل، مستعمراتها ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة، وهي لا تنمو في درجة

حرارة 15° أو فوق الدرجة 50°م، ويمكن أن تنمو في وسط 5% NaCl وأغلب السلالات تتحمل حتى 10% NaCl، موجبة الكتلاز وموجبة الأكسيداز عموماً مع وجود بعض الاستثناءات، تفكك الكازئين والأسكولين والهلام والنشاء والتوين 20، 40 حتى 60، ترجع النترات إلى النتريت، موجبة اختبار فوش - بروشكاير VP، وتنتج الحموض دون غازات من الغلوكوز ومن مجموعة كبيرة من السكريات (De vos et al., 2009).

4.6 النوع *Bacillus thuringiensis*

عصويات لاهوائية اختيارية، منتشرة في التربة والمياه وعلى النباتات والأغذية وغيرها، موجبة بصيغة غرام، متحركة تكوّن أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية، تنمو على الآغار وأبعاد خلاياها 1,0 - 1,2 × 3,0 - 5,0 ميكرومتراً، مفردة أو مزدوجات أو تكون في سلاسل، مستعمراتها مستديرة ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة، ذات لون أبيض إلى كريمي وأقطارها كبيرة (2 - 7 مم)، تنمو بين 40 - 45°م في درجة صغرى 10 - 15°م ودرجة عظمى حتى 45°م، موجبة الكتلاز وسالبة الأكسيداز، تفكك الكازيين والهلام والنشاء، ترجع النترات إلى النتريت، موجبة اختبار فوش - بروشكاير VP، وتنتج الحموض دون غازات من الغلوكوز ومن عدد محدود من السكريات وتسبب أمراضاً للحشرات والديدان الممرضة للنباتات لذا يستعمل هذا النوع في مكافحة الحيوية (De vos et al., 2009).

5.6 نوع العصوية الشمعية *Bacillus cereus*

عصويات هوائية ولاهوائية اختيارية، موجبة بصيغة غرام، عادة متحركة، تشكل أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية، تنمو على الآغار وأبعاد خلاياها 1,0 - 1,2 × 3,0 - 5,0 ميكرومتراً، مفردة أو مزدوجات أو في سلاسل طويلة، الصفات الشكلية للمزارع متنوعة ضمن السلالات أو بينها، مستعمراتها ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة وهي كبيرة بقطر 2 - 7 مم، وتنمو بين 20 - 40°م في درجة صغرى 10°م ودرجة عظمى 45°م، موجبة الكتلاز وسلبية الأكسيداز وموجبة باختبار فوش - بروشكاير VP، تفكك الكازئين والهلام والنشاء، معظم سلالاتها ترجع النترات إلى النتريت.

تنتج بعض الأصبغة بألوان بنية أو داكنة على وسط الآغار المغذي، وتختلف احتياجاتها من الفيتامينات والحموض الأمينية من سلالة لأخرى، تنتشر أبواغها بكثرة في التربة والحليب وعدد كبير من الأغذية فتسبب فسادها، وتزداد خطورتها مع ازدياد مدة بقائها في الغذاء بسبب ازدياد نسبة المواد السامة فيه فهي تفرز السموم، وهذا النوع هو الثاني بعد عصوية الجمرة الخبيثة من حيث الأمراض للإنسان والحيوانات وكثير من الثدييات من بين أنواع العصوية، وقد تسبب للإنسان الغثيان والإقياء والإسهالات عند تناول الطعام الملوث بها (Jay et al., 2005, Bhunia 2008, Okanlawon et al., 2010).

6.6 النوع *Bacillus coagulans*

عصويات لاهوائية اختيارية، موجبة بصبغة غرام متحركة تشكل أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية أو كروية، متوسطة التكيف للحرارة والحموضة، تنمو على الأغار وأبعاد خلاياها تتراوح بين 0,6 - 1,0 ميكرومتراً، والاحتياجات الغذائية متنوعة حسب السلالات ومستعمراتها ذات حواف مستقيمة عاتمة وذات سطوح ناعمة، تنمو بين 40 - 57°م وأقصى درجة للنمو هي 57°م وأحياناً 61°م، لا تنمو هذه الجراثيم في وسط 5% NaCl، موجبة الكتلاز وسلبية باختبار فوش- بروشكاير VP، تفكك النشاء ولا تفكك الكازيين.

تعد من الجراثيم المهمة تجارياً من ناحية الغذاء فهي تنتج مركبات تجارية قيّمة مثل حمض اللاكتيك، وإنزيمات مستقرة بالحرارة thermostable enzymes، وصادات حيوية مثل الكوأغولين coagulin، ومعرزات حيوية (De vos et al., 2009).

7.6 نوع العسوية الضخمة *Bacillus megaterium*

عصويات هوائية، موجبة بصبغة غرام، متحركة، تشكل الأبواغ بقوة، ضخمة وأبعاد خلاياها بين 1,2 - 1,5 × 2,0 - 5,0 ميكرومتراً، مفردة أو مزدوجات أو في سلاسل والنمو على الأغار المغذي مترام دون انقطاع عاتمة، تنمو بين 30 - 45°م وفي درجة صغرى 3°م ودرجة عظمى حتى 60°م، ويمكن أن تنمو هذه الجراثيم في وسط 7% NaCl ولكن لا تنمو في وسط 10% NaCl، موجبة الكتلاز، تفكك الكازيين والهلام والنشاء، لا ترجع النترات إلى النتريت (De vos et al., 2009).

8.6 نوع عسوية الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis*

عصويات هوائية ولاهوائية اختيارية، موجبة بصبغة غرام، غير متحركة، تشكل أبواغاً مركزية أو شبه مركزية بيضوية أو كروية، تنمو على الأغار وأبعاد خلاياها 1,0 - 1,2 × 3,0 - 5,0 ميكرومتراً، مفردة أو مزدوجات، مستعمراتها ذات حواف مستقيمة إلى غير منتظمة عاتمة.

تنمو في درجة حرارة بين 30 - 40°م، موجبة الكتلاز وموجبة باختبار فوش- بروشكاير VP، تفكك الكازيين والهلام والنشاء، معظم سلالاتها ترجع النترات إلى النتريت.

وهو النوع الممرض المعروف من بين أنواع العسوية وتسبب أمراضاً للحيوانات ويمكن أن تنتقل إلى الإنسان من الأغنام والماعز والثدييات بالتماس المباشر أو التنفس وغيرها، فهي تسبب الجمرة الخبيثة anthrax، وتبقى أبواغها حية في التربة والمنتجات الحيوانية كالحليب، وقد عانت الدول المتقدمة من بعض نتائجها، ويجب الحذر عند عزل هذه الجراثيم بسبب خطورتها العالية ومقاومتها لبعض الصادات الحيوية (Prescott et al., 2002, Brooks et al., 2007, De vos et al., 2009).

ثانياً. التطبيقات الصناعية لجنس العصوية

Industrial Applications of Bacillus

استعملت أنواع العصوية في مجالات صناعية واسعة وعمليات التخمير في إنتاج كثير من المواد والمركبات المهمة مثل الريبوفلافين (Schallmey *et al.*, 2004)، إضافة إلى الاستفادة من التطورات والأبحاث الحديثة في المستوى الجزيئي والحيوي، ويؤكد كثير من الأبحاث التي تناولت إنتاج العصويات لبعض المركبات والمنتجات الصناعية المهمة أنها تنتج عدداً من المركبات الحيوية في المجالات الصناعية والطبية والصيدلانية كالصادات الحيوية الجرثومية مثل الباسيتراسين Bacitracin والبوليميكسين Polymyxin والسبتيلين Subtilin، والصادات الفطرية مثل الإيتورينات Iturines، والمعززات الحيوية، واللقاحات والفيتامينات، مثل: الريبوفلافين والنيامين وحمض الفوليك، وبعض المركبات الكيميائية الدقيقة والنوكليوزيدات البورينية والثوماتين، إلى جانب المركبات المهمة في الزراعة ومقاومة الأمراض (Glazer & Nikaido 2007, Kuijk *et al.*, 2011, Madigan *et al.*, 2012)

1. إنتاج الإنزيمات Production of Enzymes

تعد الإنزيمات المجموعة الأكبر بين المُستقلّبات لجنس العصوية وتزود بأكثر من 50% من إنتاج السوق العالمي حالياً، ومن أهم التطبيقات إنتاج المنظفات المنزلية، والنشاء وإنزيمات الحلمة والغزل والنسيج، والخبز والمعجنات، إضافة إلى أن بعضها تتميز بصفات فريدة منها تحمّل الدرجات العالية من الحرارة، وتتحمل طيفاً واسعاً من درجات الحموضة والقلوية، وتنشط أو الحد من كثير من المنتجات الثانوية في بعض العمليات الصناعية المهمة؛ مما تجعل هذه الإنزيمات من أفضل وأحسن الخيارات في التطبيقات، وإن إدخال بعض التحسينات تزيد من الخيارات التطبيقية الصناعية والتجارية الجديدة (Barredo 2005, Goldman & Green 2009, Madigan *et al.*, 2012).

2. الفيتامينات والمركبات الكيميائية الدقيقة Vitamins and Fine Chemicals

تعد الفيتامينات والمركبات الكيميائية الدقيقة في المرتبة الثالثة من حيث أهميتها التجارية والصناعية بعد الإنزيمات والصادات الحيوية التي تؤدي فيها أنواع العصويات دوراً مهماً في عمليات التخمير والتصنيع ومن هذه المركبات التيامين، وحمض الفوليك والثوماتين (Waites *et al.*, 2001, Goldman & Green 2009)

3. التطبيقات الزراعية Applications in Agriculture

تعد التطبيقات الزراعية من المجالات المهمة التي يكون فيها لأنواع العصويات أهمية اقتصادية كبيرة، مثل: *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. lentimorbus* حيث تعد مصادر مهمة للمبيدات

B. الحيوية Biopesticides ضد طيف واسع من الحشرات الممرضة للنباتات والمحاصيل، فمثلاً *thuringiensis* ينتج مبيد δ -endotoxin أو البروتين كراي Cry protein الذي يظهر كمنتج فعال مبلور خلال عملية التبوغ نشط ضد الحشرات، ففي عام 2004 كان هناك 26 مركباً على الأقل منتجاً من هذا النوع ومسجلاً بوكالة الحماية البيئية الأمريكية The United States Environmental Protection Agency (EPA) (Glazer & Nikaido 2007, Goldman & Green 2009)، كذلك بيّنت الأبحاث أن لأنواع العسويات نشاطاً مثبطاً لكثير من الفطريات والأعفان التي تسبب كثيراً من الأمراض للنباتات كالذرة والقطن (Kim *et al.*, 2004, Ongena *et al.*, 2007, Kim *et al.*, 2008,) (Ali *et al.*, 2014).

ثالثاً. التطبيقات الصناعية للعصوية الرقيقة

Industrial Applications of *Bacillus subtilis*

تعد العصوية الرقيقة من أهم الأنواع التي أدخلت في عالم الصناعة، فهي النموذجية من بين أنواع هذا الجنس، وتنتج عدداً من المركبات الحيوية في المجالات الصناعية والطبية والصيدلانية وفق ما أكده كثير من الأبحاث والدراسات التي أجريت في أنحاء العالم ومن هذه المجالات والمركبات التي دخلت عالم الصناعة والتجارة وما زالت تجرى فيها الأبحاث والدراسات:

1. الإنزيمات Production of Enzymes

تنتج العصوية الرقيقة عدداً من الإنزيمات ذات الأهمية التجارية والصناعية إضافة إلى أنها تتميز بميزات فريدة تجعلها في مقدمة الخيارات الاقتصادية الفعالة من حيث تحملها لمجال واسع من درجات الحرارة العالية، وطيف كبير من درجات الحموضة والقلوية وقلة المنتجات الثانوية خلال بعض المراحل الأساسية في صناعة بعض المركبات والمنتجات، ويُستفاد منها في التطبيقات الغذائية والصيدلانية والتجارية، ومن هذه الإنزيمات ألفا-أميلاز α -Amylase الذي يستعمل في صناعة الورق والنشاء والنسيج والتخمير والصناعات الغذائية، وبيتا-غلوكوناز β -Gluconase الذي يستعمل في صناعة المشروبات عموماً، والغلوتاميناز Glutaminase الذي يستعمل في المنكهات والصناعات الغذائية، والغالاکتوماناز Galactomannase الذي يستعمل في الصناعات الغذائية، وNeutral (metallo-) protease الذي يستعمل في صناعة الغذاء والمنظفات، والبروتياز القلوي Alkaline (serine-) protease الذي يستعمل في صناعة المنظفات والنسيج وغيرها، وهذه المركبات مأمونة، ويشار إليها في الولايات المتحدة باسم Generally Regarded As Safe GRAS وفي الاتحاد الأوروبي باسم Qualified Presumption of Safety QPS (Kurosawa *et al.*, 2006, Madigan *et al.*, 2012)

2. المركبات الكيميائية الدقيقة والفيتامينات Fine Chemicals and Vitamins

تنتج العسوية الرقيقة عدداً من الفيتامينات مثل: الريبوفلافين، والنيامين، والبيوتين Biotin، والبانثوتينات Pantothenate، وحمض الفوليك، وغيرها، وجميعها تستعمل في الغذاء والدواء، إضافة إلى أنها تنتج بعض المركبات الكيميائية الدقيقة مثل نوكلوزيدات البورين، والثوماتين، ودي-ريبوز D-ribose، والستربتافيدين Streptavidin وبولي-غلوتاميك أسيد Poly- δ -glutamic acid، إلى جانب المركبات المهمة في المجال الزراعي ومقاومة الأمراض (Zhu et al., 2005, Forbes et al. 2007,) (Goldman & Green 2009).

3. التطبيقات الزراعية Applications in Agriculture

للعسوية الرقيقة أهمية كبيرة في المجال الزراعي ولاسيما في مكافحة الحيوية فهي تنتج عدداً من الصادات الفطرية التي تثبط أو تقتل الفطريات المسببة لأمراض النباتات والمحاصيل وتثبط النمو المشيجي لفطريات الأسبرجلوس *Aspergillus*، والبنسليوم *Penicillium*، والفوزاريوم *Fusarium* (Zhang et al., 2009)، من جهة أخرى لها دور فاعل في إنتاج المبيدات الحيوية التي تستعمل على نطاق واسع في مكافحة الحيوية وغيرها (Glazer & Nikaido 2007).

4. التطبيقات الطبية Medical Applications

تنتج العسوية الرقيقة المعززات الحيوية واللقاحات (Goldman & Green 2009)، والصادات الحيوية الجرثومية مثل البوليميكسين والسبتيلين وغيرها التي تثبط أو تقتل كثيراً من الجراثيم الممرضة للإنسان، والصادات الفطرية مثل الإيتورينات، والمواد الفعالة سطحياً Surfactants (Risøen et al.,) (2004, Kolkman et al., 2008, Goldman & Green 2009).

5. الصادات الحيوية المنتجة من العسوية الرقيقة

Antibiotics Produced from *B. subtilis*

تعد الصادات الحيوية من المُستقلَّبات الثانوية للعسوية الرقيقة المنتجة وتكون من البيبتيدات، والبوليببتيدات، والليبوببتيدات Lipopeptides (Prescott et al., 2002, Stein 2005, Okafor) (2007)، وتصنف هذه المركبات حسب تأثيرها في الأحياء الأخرى إلى صادات للجراثيم مثل البوليميكسين، السبتيلين، السبتيلوزين Subtilosin، الكوليستين Colistin، الباسيتراسين، الغراميسيدين Gramicidin، التيروتريسيدين Terotricidin وغيرها، ومضادات الفطريات ومعظمها لليبوببتيدات مثل الإيتورينات Iturines، والمواد الفعالة سطحياً، والزويترمايسين Zwittermycin، والفينجيسين Fengycin وغيرها، إضافة إلى مضادات الفيروسات ومضادات الأورام السرطانية (Okafor 2007,) (Fernandes et al., 2007, Duitman et al., 2007, Quintana et al., 2014).

6. العسوية الرقيقة والتطبيقات المستقبلية *B. subtilis* and Future Applications

إن التطور المتسارع في علوم الحياة أحدث الانفجارات المعرفية الهائلة في البيولوجيا الجزيئية والهندسة الوراثية، والفيزيولوجيا والنمو، وعلوم الخلية وتقاناتها، هذا كله من شأنه أن يؤثر إيجاباً في الأحياء الدقيقة الصناعية، ويزيد من المعرفة والقدرة على فهم مسارات الحياة والاستقلاب للعسوية الرقيقة ويدفع نحو التفكير والعمل في إنتاج مركبات طبية حيوية حديثة ذات نشاط مهم لمواجهة الأمراض والإنتانات التي تهدد حياة الإنسان، ومعرفة المورثات أو الخريطة الوراثية للعسوية الرقيقة يمكن أن توجه الباحثين إلى استعمالها في إجراء تعديلات أو طفرات آمنة لإنتاج مركبات وصادات حيوية للقضاء على بعض الإنتانات المستعصية والقضاء على الجراثيم المقاومة للصادات الحيوية (Kleflenz 2002, Okafor 2007, Goldman & Green 2009).

7. طرائق إنتاج الصادات الحيوية من العسوية الرقيقة

Production Methods of Antibiotics from *B. subtilis*

الطريقة في المختبر هي الطريقة المبدئية التي تعتمد الاستزراع في الدوارق Erlenmeyer's flask على الوسط السائل بعد التلقيح ثم التهوية والحركة بما يلائم المزرعة في حاضنة مناسبة ودرجة حرارة محددة ثم التثقيب والترشيح بعدها يجرى الاستخلاص بطرائق مختلفة: بالمحلات العسوية المناسبة كالإيتر والهكسان، وبالترسيب باستعمال مواد كيميائية، وبالتجفيد Lyophilization، ويجرى الاستزراع في المخمرات الصغيرة بالمختبر، أما الطريقة الصناعية فهي الإنتاج بوساطة باستعمال المخمرات الكبيرة، إذ تختلف أشكالها وأغراضها وتتميز بصفات أساسية مثل متانة الأوعية، وقابلية التحريك وضبط نمو الأحياء الدقيقة ووسائل إدخال اللقاح، إضافة إلى وجود أحواض أساسية وإضافية وفتحات للتصريف (علي نظام 2014، Stanbury *et al.*, 2003).

أولاً. الفصيلة العنقودية وتصنيف العنقوديات

Staphylococcaceae and Classification of Staphylococci

يندرج تحت هذه الفصيلة أربعة أجناس أهمها *Staphylococcus*, *Micrococcus*، مكورات مفردة أو ثنائية أو رباعيات في هيئة عنقود العنب أو في سلاسل قصيرة، بأبعاد 0,5 – 1,5 ميكرومتراً، منتشرة في معظم البيئات كالتربة والمياه والأغذية والعينات المرضية، وبعض أنواعها على جلد الإنسان، وفي الفم والبلعوم والأنف، غير متحركة، موجبة بصبغة غرام، لاهوائية اختيارية وتنمو بسرعة وكثافة في ظروف هوائية، إيجابية الكتلاز، سلبية الأكسידاز، معظم السلالات ينمو في وسط 10% NaCl، وبين الدرجة 18 و 40°م، وبعض أنواعها ممرض للإنسان والحيوانات، يتكون الجدار الخلوي من الببتيدوغليكان Peptidoglycan وحمض التيكويك، ويوجد حمض دي أمينوبيميليك Diaminopemelic في طبقة الببتيدوغليكان، وتصنف العنقوديات (De vos et al., 2009) وفق الآتي:

المملكة: الجراثيم Bacteria

الشعبة: Firmicutes

الصف: العنقوديات Staphylococci

الرتبة: العنقوديات Staphylococcales

الفصيلة: العنقودية Staphylococcaceae

الجنس: العنقودية Staphylococcus

النوع: العنقودية الذهبية *S. aureus*

النوع: العنقودية الجلدية *S. epidermidis*

العنقودية الرمامة *S. saprophyticus* وأنواع غيرها.

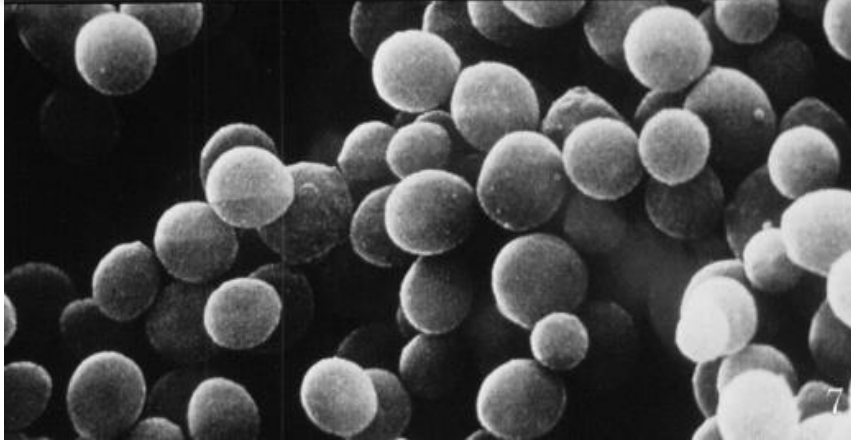
1. جنس العنقودية Staphylococcus

مكورات موجبة بصبغة غرام، أبعادها 0,5 – 1,5 ميكرومتراً، تجتمع غالباً في هيئة عناقيد وتوجد أحياناً مفردة أو أشفاح أو تجمعات، أو سلاسل قصيرة في الأوساط السائلة، غير متحركة، لمعظم سلالاتها محفظة رقيقة من عديد السكريات، مقاومة للجفاف والملوحة؛ مما يجعلها واسعة الانتشار في الطبيعة، مترافقة بالدرجة الأولى مع الجلد أو الأنف عند الإنسان، والحيوانات ذوات الدم الحار، إضافة إلى أن بعض الأنواع ممرض للإنسان، وتعد العنقودية الذهبية مسؤولة عن عدد من المتلازمات المرضية السريرية (Gillespie & Bamford 2001, Prescott et al., 2002, De vos et al., 2009) وينتمي إلى الجنس 37 نوعاً وفق تصنيف برجي لعام 2009 من أهمها:

S. aureus, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. lentus*,
S. haemolyticus,

1.1 العنقودية الذهبية *S. aureus*

مكورات، غير متبوعة، حساسة للصاد الحيوي النوفوبيوسين (الشكل 2) Novobiocin، تنمو على الآغار بتكوين مستعمرات صغيرة مدورة وتنمو جيداً على وسط مانيتول سولت آغار MSA حيث تخمر المانيتول وتحوله إلى لون أصفر، وموجبة المخترار وهذا ما يميزها من غيرها من العنقوديات الممرضة، موجبة النوكلياز، يمكن أن تسبب إنتانات للجلد والعين، والأنف والبلعوم، والمثانة، والمهبل، والمسالك الهضمية، والإنتانات الحويصلية Folliculitis والدمامل Furuncles وهي توصف بوجود القيح، ويمكن أن تسبب أمراضاً وإنتانات أخرى في ظروف معينة ولاسيما عند ضعف المناعة، وتسبب إنتانات الجروح والحروق، وإنتانات تنفسية، وإنتانات الدم، وإنتانات المسلك التنفسي العلوي والسفلي، وإنتانات الجهاز البولي، كما تسبب أعراضاً لدى أشخاص مصابين بالتسمم الغذائي الناتج عن العنقوديات: الغثيان والإقياء وتطبُّل وانتفاخ في البطن وإسهال مائي (Gillespie *et al.*, 1994, Haward *et al.*, 1994, Kayser *et al.*, 2005, Wolff *et al.*, 2007).



الشكل 2. مكورات العنقودية الذهبية بالمجهر الضوئي.

المركبات التي تنتجها العنقودية الذهبية:

***الإنزيمات Enzymes:** من أهمها: المخترار Coagulase: بروتين يخثر البلازما إذ يرتبط الإنزيم بمولد الليفين Fibrin؛ مما يؤدي إلى بلمرة الليفين (الفيبرين)، أي يتم تقسيم الفيبرينوجين ويحدث التخثر، ومن جهة أخرى يمكن للفيبرين أيضاً أن يكون طبقة على سطح الخلية الجرثومية حيث تحميها من البالعات الكبيرة.

عامل التخثر Clumping factor: مركب مختلف عن المخترار مرتبط بجدار الخلية، ومسؤول عن التصاق الخلية على مولد الليفين والليفين عند مزجها مع البلازما حيث تتكون خثرات.

الكتلاز Catalase: يفك الماء الأكسجيني إلى ماء وأكسجين.

النوكلياز Nuclease: إنزيم مفكك للحموض النووية وهو ثابت بالحرارة.

الديناز DNase: يفك حمض الدنا DNA.

فيبرينوليزين Fibrinolysin: حال ومفك لليفين.
البنسيليناز Penicillinase أو β -lactamase يفك البنسيلين.
الهيالورونيداز Hyaluronidase: عامل فصل حيث إذ يفك حمض الهيالورونيك بين الخلايا.
البروتياز Protease: يفك البروتينات.
الليباز Lipase يفك الليبيدات (Tang & Stratton 2006, Fauci *et al.*, 2008, Locke *et al.*,)
(2012).

الذيفانات Toxins

أ. الذيفانات المعوية Enterotoxins: بروتينات مقاومة للحرارة والعصارة الهاضمة تفرزها 60% من سلالات العنقودية الذهبية، لها سبعة أنماط مستضدية (A, B, C1, C2, C3, D, E) غذائية.
ب. ذيفان متلازمة الصدمة السمية TSS: سببها التلوث بسلالات من العنقوديات.
ج. الذيفانات الحالة للبشرة Exfoliative: مقاومة للحرارة وتسبب انفكاً فقاغياً داخل البشرة، وفقاغات وانسلاخ البشرة المصابة.
د. ذيفانات حالة للخلايا Cytolytic Toxins أو حالة للدم Hemolysis: وتسمى الحالة العنقودية، ويعرف منها أربعة (ألفا، بيتا، غاما، لمدا)، إن 90.80% من سلالات العنقودية الذهبية تصنع الحالة ألفا ذات التأثير الحال للكريات الحمر، ولها تأثير سام في الكريات البيض والصفائح، ولها تأثير ناخر للجلد، ومقبض للأوعية الدموية.
هـ. اللوكوسيدين Leucocidin: ذيفان يؤدي إلى قتل الكريات البيض البالغة التي تقاوم هذه الجراثيم (Prescott *et al.*, 2002, Fauci *et al.*, 2008, Engelkirk & burton 2009).

2.1 العنقودية الجلدية *S. epidermidis*

مكورات عنقودية بيضاء لا تخمر المانيتول، دائمة الوجود على سطح الجلد من زمرة العنقوديات سلبية المختراز CNS، حساسة للصاد الحيوي النوفويوسين، تتراوح كثافتها على سطح الجلد بين 10^2 - 10^6 سم²، وعندما تتبدل الظروف الطبيعية تكتسب العنقوديات الجلدية صفات ممرضة كأن تُحدث إنتان الشغاف القلبي الجرثومي، أو الإنتانات الناجمة عن الدسامات القلبية الصناعية، والقناطر الوعائية وبدل المفصل الوركى ولاسيما عند المرضى المعالجين بمثبطات المناعة، وإنتانات ناجمة عند المدمنين على المخدرات، ومرضى الإيدز AIDS (فالكو وآخرون 1995, Fauci *et al.*, 2008).
وهي أكثر المسببات الشائعة لإنتانات الدم في المستشفيات، وتعزل منها بنسبة بين 74% - 92%، وتكون 75% من السلالات المعزولة سريرياً كالأطفال الخدج، والمرضى الذي نقل إليهم نقي العظام، والمرضى الذين أجروا عمليات جراحية للمسلك الهضمي المعوي (فالكو وآخرون 1995, Haward *et al.*, 1994, Kayser *et al.*, 2005).

3.1 العنقودية الرمامة *S. saprophyticus*

مكورات عنقودية موجبة بصبغة غرام، غير متبوعة، غير متحركة، أبعاد خلاياها 0,6-1,2 ميكرومتر، توجد مفردة أو أشفاغ، مستعمرات صغيرة وناعمة، لا تفرز أصبغة أو أحياناً أصبغة صفراء على نحو خفيف، هوائية ولاهوائية اختيارية، موجبة الكتلاز، والبيزيدين، موجبة اليورياز، تنمو في وسط 15% NaCl، مرجعة للنترات، سلبية المخثرات والأكسيداز، لا تخمر المانيتول، مقاومة للصاد الحيوي النوفوبيوسين، تنتج الحموض من مجموعة من السكريات مثل الغليسرول، والغلوكوز، والتريهاوز، وتعد المسبب الثاني بعد الإشريكية المعوية للإنتانات البولية عند النساء الشابات، أو المتزوجات في سن مبكر، ويمكن أن تسبب الإنتانات البولية عند الرجال بنسبة صغيرة ومعظمهم فوق 50 سنة، وقد يسبب إنتانات غير نوعية في الحالب خلال النشاط الجنسي عند الرجل (Haward et al., 1994, Kayser et al., 2009, De vos et al., 2005).

تعد العنقودية الجلدية والرمامة غالباً جراثيم انتهازية، فهي توجد على نحو طبيعي على الجلد والأغشية المخاطية ولكن في حالات خاصة يمكن أن تصبح انتهازية عند الذين لديهم اضطراب مناعي، ويتمتع بعضها بصفة الالتصاق بالمواد اللدنة إذ تلتصق بعناد على القناطر الوعائية والبولية أو البدائل الدسامية والصفائح العظمية وغيرها، إذ يتم إدخال القناطر لمناطق عقيمة فتسبب إنتانات صعبة العلاج لأن هذه العنقوديات مقاومة جداً للصادات الحيوية (Locke et al., 2012, Longo et al., 2012).

4.1 العنقودية الإنسانية *S. hominis*

مكورات موجبة بصبغة غرام، أبعادها تتراوح 0,5 - 1,5 ميكرومتر، تجتمع غالباً في هيئة عنقود وأحياناً مفردة أو أشفاغ، هوائية ولاهوائية اختيارية، موجبة الكتلاز واليورياز، سلبية المخثرات، سلبية الفوسفاتاز القلوي، تنتج الحموض من مجموعة من السكريات كالفركتوز، والمالتوز، والسكروز، ودي غلوكوز D-glucose، حساسة للصاد الحيوي النوفوبيوسين توجد متعايشة على جلد الإنسان، وعزلت من بعض العينات المرضية (De vos et al., 2009).

5.1 العنقودية *S. lentus*

مكورات موجبة بصبغة غرام، غير متبوعة، غير متحركة، أبعاد خلاياها 0,7 - 1,2 ميكرومتر، توجد مفردة أو ثنائية أو في رباعيات، مستعمرات صغيرة وناعمة، تفرز أصبغة أحياناً رمادية بيضاء إلى بيضاء أو كريمية، هوائية ولاهوائية اختيارية، بعض سلالاتها مخاطية، موجبة الكتلاز، والجيلاتيناز، تفكك الأسكولين، تنمو ببطء في وسط 10% NaCl، مرجعة للنترات، موجبة النوكلياز والأكسيداز، حساسة للصاد الحيوي النوفوبيوسين، تنتج الحموض من مجموعة من السكريات (De vos et al., 2009).

6.1 العنقودية *S. xylosus*

مكورات موجبة بصبغة غرام، غير متبوعة، غير متحركة، أبعاد خلاياها بين 0,8 - 1,2 ميكرومتر، توجد مفردة أو أشفاغ أو في رباعيات، مستعمراتها متنوعة صغيرة ناعمة أو خشنة، مرتفعة قليلاً، عاتمة عادة، تفرز أصبغة أحياناً بيضاء مصفرة إلى صفراء أو صفراء برتقالية، لاهوائية اختيارية، موجبة الكتلاز واليورياز، موجبة البينزيدين، سلبية المختراز، غير حالة للدم، حساسة للصاد الحيوي النوفوبيوسين، منتشرة في معظم البيئات، وتعزل من الإنسان والثدييات، ونادراً ما تكون مترافقة مع الإنتانات، تنمو في وسط 10% NaCl، تنتج الحموض من مجموعة من السكريات مثل الجلوكوز والغليسرول، والفركتوز، والتريهالوز وغيرها (De vos et al., 2009).

7.1 العنقودية *S. warnari*

مكورات موجبة بصبغة غرام، غير متبوعة، غير متحركة، أبعاد خلاياها 0,5 - 1,2 ميكرومتر، توجد مفردة أو أشفاغ وأحياناً في رباعيات، مستعمراتها لزجة ناعمة، مرتفعة لماعة، عاتمة، تفرز أصبغة أحياناً بيضاء إلى صفراء أو صفراء برتقالية، لاهوائية اختيارية وتنمو أفضل في الشروط الهوائية، موجبة الكتلاز واليورياز، موجبة البينزيدين والليياز، سلبية المختراز، حساسة للصاد الحيوي النوفوبيوسين، منتشرة في معظم البيئات، وتعزل من الإنسان والثدييات ومن الجلد، وتكون أحياناً مترافقة مع الإنتانات، تنمو في وسط 10% NaCl، تنتج الحموض من مجموعة من السكريات مثل الجلوكوز والغليسرول، والفركتوز، والتريهالوز والسكروز وغيرها (De vos et al., 2009).

ثانياً. الجلد والعنقوديات المترافقة Skin Associated Staphylococci

1. بنية الجلد The Structure of Skin

الجلد واحد من أكبر الأعضاء في الجسم وتبلغ مساحته 1,8 م² ويكوّن نحو 16% من وزن الجسم، يتكون من ثلاث طبقات هي البشرة والأدمة وتحت الأدمة، ومنها ما تكون مشعرة، ومنها دون شعر (Gawkrodger 2003, Burns et al., 2010).

2. أهمية الجلد The Importance of Skin

الجلد هو العضو الأكبر الفاعل مناعياً في الجسم، ويعد عضواً أساسياً في تنظيم حرارة الجسم، ويؤدي استجابة جيدة وفاعلة للقوى الحركية، وتعتمد وظائفه المناعية على نوع الخلايا في البشرة والأدمة وعلى التركيب الكيميائي إذ يوجد بعض الصادات الحيوية الببتيدية (AMPs)، وهو سد منيع لحماية الجسم من أضرار العوامل الخارجية، والإبقاء على الأجهزة الداخلية سليمة (Mann et al., 2009, Allen 2010, Burns et al., 2010).

3. العنقوديات المترافقة مع الجلد Staphylococci Associated with the Skin

يحتوي الجلد عادةً أحياناً دقيقة غير ضارة من الجراثيم والخمائر، وكل فرد يكتسب تجمعاً من الجراثيم المتعايشة من البيئة المحيطة معظمها من العنقوديات مثل العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية والمكورات، ورغم ذلك فإنها لا تسبب الأمراض للإنسان بل تبقى متعايشة معه، وأهم المناطق في الجسم التي تكثر فيها هي الجلد ولاسيما في المناطق الرطبة، والفم والأنف والبلعوم، والمهبل، وتختلف أعدادها من منطقة لأخرى، والعنقودية الذهبية يمكن أن تقاوم آليات المضيف وتسبب المرض عند ضعف المناعة، أما العنقوديات سالبة المخثرات CNS فتوجد على الجلد مثل العنقودية الجلدية، والعنقودية الإنسانية التي توجد بكثرة، وتوجد الأنواع الأخرى بنسبة أقل مثل العنقودية الرمامة، والعنقودية *S. warnari* والعنقودية *S. xylosum*، وتصل حمولة الأنف من العنقودية الذهبية إلى حوالي 72% (Hardy 2002, Wilson 2012, Gordillo & Dekio 2008).

أما في حالات السلامة والصحة فإنها تقوي المناعة إذ إن الجراثيم تحافظ على صحة المضيف ويرجع ذلك جزئياً إلى أن وجودها يجعل الأمر صعباً على الجراثيم الممرضة باختراق الجسم، ولكل نوع من الجراثيم المتعايشة في الجسم توقيع خاص به ويتمثل ذلك بنسخة خاصة لكل مورثة هو الرنا الريبوزومي 16sRNA الذي يرمز لجزء معين من RNA في الريبوزومات التي تعمل على تركيب البروتين في الخلايا، وعلى هذا فإن أي إنسان ولاسيما الأطفال عندما يتعرض لجرعات مرتفعة من الصادات الحيوية معرض لمواجهة تغيرات أخرى في مجموعات الجراثيم؛ مما يؤدي إلى أمراض خطيرة وأمراض بعيدة نسبياً عن عالم الجراثيم مثل البدانة (أكيرمان 2012).

ثالثاً. الإنتانات التي تسببها العنقوديات

Infections Caused by Staphylococci

1. بعض المصطلحات الطبية المتعلقة بالإنتانات الجلدية

الانتبار Wheals: آفات جلدية محدودة مرتفعة قليلاً عن سطح الجلد سريعة التكون والزوال وحاككة بشدة لونها أحمر فاتح.

الحطاطة المصلية Seropapule: حويصل صغير يتكون في مركز الانتبار كما في الشرى الحطاطي عند الأطفال.

الحطاطة Papules: عنصر ارتشاحي تخين عديم الجوف، ويكوّن اندفاعات محدودة مرتفعة عن سطح الجلد تتراوح بين 1 مم حتى 1 سم، وهي تظاهرات لأمراض جلدية مختلفة.

التحزز أو الحزازة Lichenification: تسمك التهابي في الجلد مع ازدياد في البروزات الجلدية.

العقيدات والعقد Nodules and Nodes: تكاثر نسيجي قاسي ومحدود يمكن تمييزها بوضوح من النسيج المحيطة بها، وتتكون في الجلد وتستعمل للدلالة على العقيدات الالتهابية.

الحويصلات Vesicles والفقاعات Blistres: الحويصلات ترتفع فوق الجلد عادة وتحتوي سائلاً ويتراوح حجمها بين رأس الدبوس وحبّة البازلاء، أما الفقاعة فهي أكبر ويمكن أن يكون محتواها مصلياً أو دموياً، ويمكن أن تتكون الحويصلات والفقاعات في مناطق مختلفة من الجلد مثلاً تحت الطبقة المتقرنة كما في القوباء المعدية أو داخل البشرة كما في الإكزيما.

الجُلب Crusts والجُلب المنتخِر Necrotic Scab: تنتج الجلب عن جفاف المفرزات الموجودة على القرحات وقد تكون هذه المفرزات مصلية (جلب صفراء) أو دموية (جلب حمراء) أو مفرزات قيحية (صفراء عسليّة).

الندبات Scars: تكوّن ليفي دائم ثانوي لآفات بدئية سابقة، ينقصه البناء الطبيعي للجلد، ولون الندبات الحديثة أحمر، والقديمة مائلة إلى البياض، والندبات هي المراحل النهائية لتطور العديد من الأمراض الجلدية المختبرية.

البثرات Pustules: تحتوي البثرات القيح ويمكن أن تتكون مباشرة كما في الصدف البثري، وقد تحتوي الجراثيم المقيحة كما في القوباء.

القرحات Ulcers: تنتج القرحات عن ضياع مادي أو خلل عميق في الجلد يشمل البشرة والأدمة أو حتى الطبقة ما تحت الأدمة، تلتئم القرحات تلقائياً أو ببطء أو يمكن أن تؤدي إلى ندبات تختلف بحسب عمقها، تحدث القرحات لأسباب كثيرة منها الكيمائية أو الإنتانات الموضعية (فالكو وآخرون 1995).

2. إنتانات العنقوديات Infections of Staphylococci

تسبب العنقوديات إنتانات كثيرة في جميع الأعضاء والأجهزة تقريباً، منها إنتانات الجلد التقيحية السطحية مثل الدامل والجمرات، والحصف، والجروح، وإنتانات النسيج الناعمة، وإنتانات النسيج الهلالية Cellulites، وإنتانات الجيوب الأنفية والأذن الوسطى، إنتانات الثدي، وتشوه العظام، وذات الرئة، والإنتانات البولية، وإنتانات ما بعد العمليات الجراحية، وإنتانات الدم، والتسمم، والأمراض الناتجة عن تسمم الغذاء، والتسمم الجلدي الخارجي، ومتلازمة الصدمة السمية TSS، ونحو 20% من الناس تقريباً يحملون العنقوديات الذهبية في الأنف والبلعوم، ويمكن أن تسبب إنتانات للجلد مباشرة أو على نحو ثانوي، ويعد Panton-Valentine leukocidin PVL ناتجاً عن سم تنتجه العنقودية الذهبية يسبب تسمم الدم، والتتخر الجلدي، وعدة أنواع من حالات ذات الرئة التخري (Kayser et al., 2005, Forbes et al. 2007, Wolff et al., 2008, Gordillo and Dekio 2012).

1.2 الإنتانات الجلدية Infections of the Skin

إنتانات الجلد المترافقة مع الجراثيم الموجبة بصبغة غرام مثل العنقوديات والعقديات مصدر مهم للإمراضية ومعدل الوفيات، والجلد الطبيعي عند الأشخاص سليمي البنية والمناعة هو خط الدفاع الأول ضد كثير من العوامل الممرضة مثل العقديات والعنقوديات وما تسببه من أمراض، والعوامل الممرضة غير قادرة على اختراق طبقات الكيراتين في الجلد، وغزو الجلد، إلا عند تغير بعض الظروف المحيطة أو بيئة الجلد نفسه، كدرجة الحموضة، أو نسبة الدهون، وبعض الظروف الفيزيائية (Wolff et al., 2008)، ومن أهم الإنتانات التي تسببها العنقوديات في الجلد:

القوباء أو الحصف Impetigo: من الإنتانات الجلدية السطحية التي تسببها العنقوديات أو العقديات أو كلاهما، وتدل على إنتان قحي للأقنية المفرغة العرقية، والأقنية الجريبية الزهمية (الشكل 3-أ) (Wolff et al., 2008, Allen 2010).

القوباء المعدية Impetigo Contagiosa: إنتان سطحي في الجلد تسببه العنقوديات، لاسيما عند الأطفال، (الشكل 3-ج) (Wolff et al., 2013).

القوباء الفقاعية Bullous Impetigo: تسببها العنقودية الذهبية ولسيما عند الأطفال والكهول مع التشكل السريع لفقاعة كبيرة ورخوة، تنتشر بسرعة في المستشفيات والحاضنات والعائلات (الفقاع الوليدي) (الشكل 3-ب) (فالكو وآخرون 1995).



الشكل 3. القوباء: أ. القوباء. ب. القوباء الفقاعية. ج. القوباء المعدية. (Prescott et al., 2002)

القوباء الفقاعية الوليدية Neonatal Bullous Impetigo: تتكوّن حويصلات كبيرة بسرعة في إنتان البشرة العنقودي عند الرضع، وتشكل الثنيات بيئة مناسبة لنمو لجراثيم، ولذلك فهي تصاب على نطاق واسع؛ مما يؤدي إلى حدوث مساحات واسعة مناسبة لامتصاص الذيفان، وقد يتطور المرض بسرعة وعلى نحو غير ملحوظة إلى متلازمة الجلد التقشري الوليدي العنقودية المنشأ (Wolff et al., 2008, Mei-Kane et al., 2009).

تقيح جريبات الأشعار Follicular Pyoderma: تسببه العنقودية الذهبية، يكثر في جميع الأعمار ويميل لكي يصبح مزمناً، وهو يتطلب بعض العوامل المؤهبة كمناطق الثنيات الرطبة والدافئة والتعرق الشديد عند البدينين والمناطق الرطبة والزهمية (فالكو وآخرون 1995، Wolff *et al.*, 2008).

إنتان القيحي للغدد العرقية Hidradenitis: إنتان مزمن نخري شبيه بالدمل، يميل للتدب، يحدث في الإبطين والمناطق المغبنية وفي الركب ولاسيما عند الرجال، تسببه العنقوديات الذهبية (فالكو وآخرون 1995، Wolff *et al.*, 2008).

خراج العضلة Psoas muscle abscess: يحدث في التراكيب البطنية والمنطقة الحوضية، لدى الشباب عموماً، ويصاب الذكور أكثر من الإناث، والعنقودية الذهبية السبب الرئيس فيه.

إنتان ما حول الظفر الجرثومي Paronychia: ينجم عن العنقوديات، والزوائف الزنجارية، وبنسبة أقل العقديات (Levis & Garmel 2009, Burns *et al.*, 2010).

الإكثيما Ecthyma: إنتان عميق في الجلد ينجم عن العنقوديات والعديات الحالة للدم وتصيب الساقين خصوصاً، إذ تبدأ في هيئة حويصل ثم تتقرح مع قاعدة ملتهبة وحواف مرتفعة، ومعظمه يصيب القدم، ويمكن أن تظهر في مدمني المخدرات، أو ضعيفي المناعة (الشكل 4-ج) (Wolff *et al.*, 2008, Sánchez 2012).

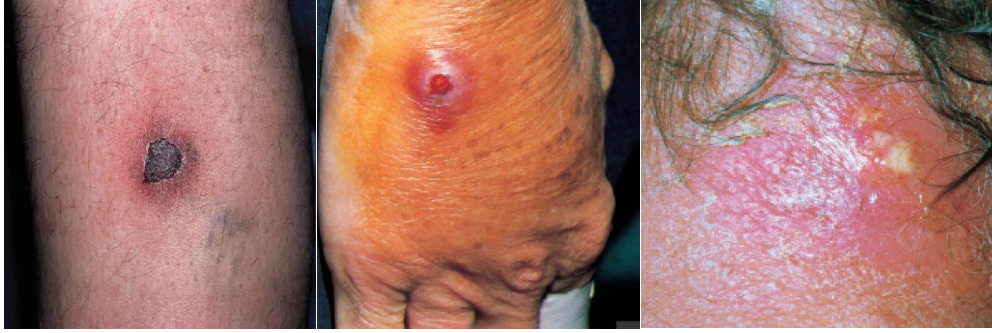
الشّعيرة Hordeolum: إنتان جريبات الأهداب وما حولها أو حول العين، تسببه العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية (Brennan *et al.*, 2005, Chaudhry 2013).

الدَّمْل Furuncle: تورم إنتاني عميق مع تجمع قيحي مركزي ناجم عن إصابة جريب أو عدة جريبات بالعنقودية الذهبية التي تنتقل إلى المريض بأساليب مختلفة، ويمكن أن تحدث الدمل في أي مكان من الجسم المشعر ولاسيما الرقبة، والوجه، والإبطين، والأليتين، والساعدين والساقين (الشكل 4-ب) (Cowan 2012, Wolff *et al.*, 2013).

الجمرة Carbuncle: هو الشكل الوخيم من الدمل وينجم عن الاتساع الكبير للآفات الدملية تسببه العنقودية الذهبية، وهي تشبه الدمل في حدوثها في أي منطقة من الجلد المشعر ولكنها تميل إلى التطور والمضاعفات الشديدة، وهناك خطر حدوث إنتان دم (الشكل 4-أ).

الإكزيما Eczema: غالباً ما تعزل العنقودية الذهبية من أماكن النمو الكبير أو الكثيف للمرض، ولاسيما جروح الإكزيما، والحمولة الجرثومية للعنقودية الذهبية كبيرة جداً في هذه الحالات، كما تنتج العنقودية الذهبية السموم (Burns *et al.*, 2010, Cowan 2012).

التهاب الهل Cellulitis: إنتان شائع في الجلد وعميق مع انتشار عبر الأوعية اللمفية تسببه العنقودية الذهبية، ويمكن أن تصيب المنطقة ما حول الجروح، ويظهر في هيئة بقع حمراء، مؤلمة مع حكة أو تخرب للنسج (Brennan *et al.*, 2005, Levis & Garmel 2009, Wolff *et al.*, 2013).



أ. الجمرة Carbuncle، ب. الدمل Furuncle، ج. الإكثيما Ecthyma (Prescott et al., 2002).

الخراج Abscess: هو المثال البسيط عن الإنتانات التي تسببها العنقودية الذهبية، ويمكن أن تنتشر الجراثيم من هذا الخراج إلى الدم أو نسج أخرى (Buxton 2003).

متلازمة الصدمة السمية Toxic shock syndrome TSS: هي حالة خطيرة تصيب الرضع والأعمار الأخرى حتى 5 سنوات، وتتجم عن ذيفانات العنقوديات حيث يتميز المرض بالحمى وإصابات أجهزة متعددة، وحمى منتشرة وتقرح الجلد (Thappa 2009, Black 2012, Wolff et al., 2013).

متلازمة الجلد المسموط العنقودي Staphylococcal Scalded Skin Syndrome SSSS: يأتي هذا الإنتان في المرتبة الثالثة من إنتانات العنقودية الذهبية، ويسببه بعض سلالات العنقودية الذهبية المنتجة للسموم الحالة للبشرة، أكثر شيوعاً عند الرضع وحديثي الولادة، وتعاني رياض الأطفال كثيراً من حالات تقشي المرض، وتترافق أو تتبع بالحصف، وتقرح طبقات من الجلد (الشكل 5) (Steele 2007, Weller et al., 2008, Mei-Kane et al., 2009, Allen 2010, Wolff et al., 2013).



الشكل 5. متلازمة الجلد المسموط العنقودي SSSS (Prescott et al., 2002).

انحلال البشرة النخري السمي Toxic epidermal necrolysis: يعد هذا المرض مشكلة جلدية خطيرة قد تكون قاتلة ولاسيما عند الرضع والأطفال الصغار (Steele 2007, Allen 2010).
إنتان الإحليل بالعنقوديات Staphylococcal Urethritis: قد يحدث بعدد من الأنواع الجرثومية من أهمها العنقوديات، ويمكن أن تنتقل هذه العنقوديات وتسبب إنتاناً صاعداً في الحويضة والكلية (فالكو وآخرون 1995، أندرولي وآخرون 2003).

2.2 إنتانات المسالك البولية UTIs Urinary Tract Infections

تأتي العنقودية الذهبية في المرتبة الثانية بعد الإشريكية المعوية من بين العوامل الجرثومية السائدة المسببة للإنتانات البولية، وتعد العنقوديات الذهبية والجلدية من العوامل الجرثومية الشائعة المترافقة مع إنتانات ما بعد العمليات الجراحية البولية، والقناطر البولية والأدوات الطبية الأخرى، ومما يعقد حالة الإنتان إمكان تكوين الرقاقت الحيوية Biofilms بفعل العنقودية الذهبية حتى 100%، والعنقوديات سالبة المخثرز CNS من تأثير السموم التي تفرزها، أما العنقودية الرمامة فتصل نسبة الإنتانات بسببها إلى نحو 20% (Chan *et al.*, 2005, Tenke 2011, Nelius 2013, Bauman 2015)، وينجم إنتان المثانة الحاد غير المختلط عند النساء عن العنقوديات الرمية في 5 – 15% منها، وتكون الإنتانات الجرثومية في المثانة والحويضة والكلية أكثر شيوعاً في النساء وتزداد نسبة الحدوث مع تقدم العمر، والحمل والداء السكري (أندرولي وآخرون 2003، آهيا وآخرون 2003، Longo *et al.*, 2012).

3.2 إنتانات الدم Sepsis

تعد العنقوديات الذهبية والعنقوديات سالبة المخثرز CNS عوامل ممرضة شائعة في إنتانات الدم، وقد يأتي من إنتانات جلدية أو ذات الرئة، أو إنتانات بولية أو إنتانات الجهاز العصبي المركزي مثل السحايا والسائل الدماغي الشوكي، أو من القناطر، والعاملون في المستشفيات مصدر لها (Chamberlain 2009, Walker *et al.*, 2014)، وتوجد أعلى معدلات لحدوث إنتانات الدم المكتسبة في المستشفى عند مرضى السرطان وضحايا الرضوض أو الحروق، وتزداد خطورة الإنتان مع زيادة أيام الإقامة في المستشفى من 4 – 7 أيام (أندرولي وآخرون 2003).

4.2 إنتانات ذات الرئة Pneumonia Infections

تسبب العنقودية الذهبية إنتانات ذات الرئة المكتسبة في المجتمع Pneumonia Nosocomial Infections وهي مسؤولة عن 2 – 5% من إنتانات ذات الرئة (Harvey *et al.*, 2013, Longmore *et al.*, 2014)، والعنقودية الذهبية مترافقة مع إنتانات المسلك التنفسي عموماً، وقد ازدادت نسبة عزل العنقودية الذهبية من حالات ذات الرئة خلال العشرين سنة الماضية ولاسيما في الولايات المتحدة الأمريكية، وتتفاقم بوجود سلالات مقاومة للميتيسلين، أو السلالات المقاومة المكتسبة من المجتمع CA-MRSA Community Acquired-MRSA، وقد تصل نسبة الإصابة عند الأطفال إلى 10%، وتوجد العنقودية الذهبية مترافقة مع خراجات الرئة، وتقيح الجنب Empyema (Taussig *et al.*, 2008, Mahboub & Vats 2013).

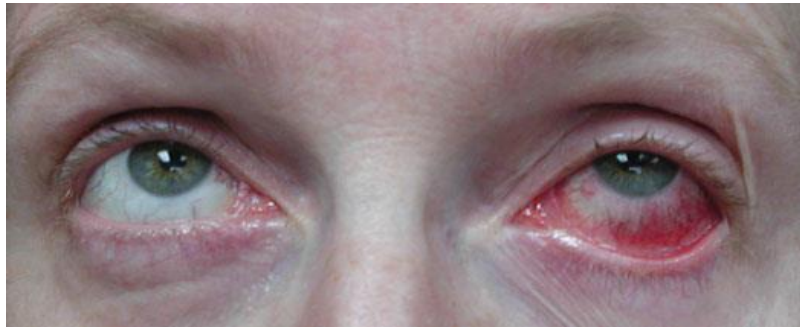
5.2 إنتانات الأذن والأنف والبلعوم Ear, Nose, and throat Infections

إن أكثر الجراثيم الممرضة المسؤولة عن التهاب الأذن الظاهرة الحاد هو الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* ولاسيما أذن السباحين، والعنقوديات الذهبية *S. aureus*، وعلى الرغم

من أن هذه الأخيرة ليست عوامل شائعة في إنتان الأذن الوسطى إلا أنها قد تكون مسؤولة عنها (Longo *et al.*, 2012)، وتنتج إنتانات الأنف والجيوب الأنفية: من عوامل فيروسية وجرثومية وفطرية، ومن أهم الجراثيم العقديات والعنقوديات، وتعد العنقودية الذهبية عاملاً حقيقياً في نحو 10% من حالات إنتانات الجيوب الحادة عند البالغين، وعند الأطفال بنسبة تصل إلى 8%، أما الإنتانات المزمنة للجيوب فنسبتها أقل، ويمكن للعنقودية الذهبية أن تؤدي دوراً في تكوين الرقاقت حيوية Biofilms في بعض الحالات، أما إنتانات الغدد اللعابية Sialadenitis فالعنقوديات الذهبية والمكورات الرئوية وبعض الجراثيم اللاهوائية من أهم الجراثيم المسببة لها (قسومة وآخرون 2011، Marseglia & Chan *et al.*, 2005، Caimmi 2011).

6.2 إنتانات العين Eye Infections

تسبب العنقودية الذهبية مجموعة من الإنتانات بالعين وملحقاتها، فهي تسبب الشعيرة أو انتانات الغدد الدهنية للجنف Hordeola في 90 - 95% من الحالات، ويمكن أن تحدث إنتانات الملتحمة Conjunctivitis بسبب عدة أنواع من الجراثيم الممرضة، والإنتانات الناتجة عن الجراثيم شائعة، وأكثر انتشاراً عند الأطفال الرضع، وتلاميذ المدارس، والعنقودية الذهبية من أهم الجراثيم التي تسبب الإنتانات الحادة في الملتحمة، وقد عزلت العنقودية الذهبية من مفرزات إنتانات الملتحمة بنسبة 43% (الشكل 6)، والعنقوديات سالبة المخثرات بنسبة 26,6% (Cowan 2012, Chaudhry 2013)، وقد تكون إنتانات الملتحمة مترافقة مع إنتانات الأذن الوسطى أو الرمد القيحي Purulent، وتسبب العنقوديات التقرن الجرثومي في العين Bacterial Keratitis (Chamberlain 2009, Brisco & Mullur 2010، Harvey *et al.*, 2013).



الشكل 6. إنتان الملتحمة Conjunctivitis بسبب العنقودية الذهبية (Chamberlain 2009).

7.2 إنتان الشغاف القلبي Infective Endocarditis IE:

على الرغم من التقدم الكبير في المعالجة بالصادات الحيوية والتدخل الجراحي، ما تزال العنقودية الذهبية الأكثر تكراراً في عينات الإنتان الشغافي، والعنقودية الذهبية تنتج عدداً من السموم خارج خلوية مثل (ألفا-توكسين α -toxin) (Black 2012, Marques 2012, Bauman 2015)، وينجم إنتان الشغاف عادة عن المكورات إلا أن نسبة الإصابة بالعنقوديات ترتفع عند من يستعمل الأدوية الوريدية

والمصابين بإنتان مترافق مع قثطرة وريدية، وتعد العنقوديات الذهبية من أكثر العوامل الممرضة شيوعاً في حالة الإنتان الحاد، أما الإنتان بالعنقوديات الجلدية سلبية المختراز CNS فيؤدي إلى إنتان شغاف يحدث عند مرضى الدسامات الصناعية وهي مسؤولة عن 30 - 35% من الحالات، وغالباً ما تكون هذه الجراثيم معددة على البنسلينات والبنسلينات نصف الصناعية والسيفالوسبورينات (Chamberlain 2009, Toy & Patlan 2009, Tortora et al., 2013).

8.2 إنتان شغاف الصمام البديل أو الصناعي Prosthetic Valve Endocarditis PVE:

يحدث عند 1 - 4% من المرضى ويضاعف إنتان شغاف الصمام البديل نحو 3% من حالات استبدال صمام القلب، ويحدث PVE الباكر خلال 60 يوماً من الجراحة وينجم غالباً عن العنقوديات الجلدية أو العصيات المعوية السلبية بصبغة غرام، والعنقوديات الذهبية مسؤولة عن نحو 30 - 40% من هذه الإنتانات (أندرولي وآخرون 2003، آهيا وآخرون 2003، Toy & Patlan 2009).

9.2 الإنتانات التي تصيب حديثي الولادة Neonatal Bacterial Infection

العنقودية الذهبية من أهم العوامل الجرثومية الممرضة التي تسبب إنتانات الدم المبكرة أو المتأخرة عند حديثي الولادة Neonatal sepsis وبنسبة قد تصل إلى نحو 20%، وكذلك من العوامل الممرضة المهمة في ذات الرئة عند حديثي الولادة، والعنقودية الذهبية هي العامل الممرض الأكثر شيوعاً في حالات إنتانات نقي العظام Osteomyelitis عند الأطفال وحديثي الولادة، والأطفال وحديثي الولادة عند دخولهم المستشفى هم أكثر الفئات عرضة للإنتانات المكتسبة في المستشفى Hospital Acquired Infections (Lucas & Gilles 2003, Steele 2007, Resch 2013).

10.2 ذات العظم والنقي Osteomyelitis

تحدث إنتانات العظام إما كنتيجة للانتشار الدموي أو من خلال الامتداد من إنتان موضعي، وقد تكون إنتانات حادة دموية المنشأ أو مترافقة مع بؤرة إنتانية وأكثر ما يسبب النوعين العنقوديات الذهبية، كما يمكن أن تسبب العنقوديات إنتانات النخاع الشوكي الفقري الذي يصيب عادة جسم الفقرة، إضافة إلى أن العنقوديات الجلدية ظهرت كعامل ممرض مهم عند المرضى الذين يستعملون القثاطر الوريدية الملوثة بها (أندرولي وآخرون 2003، Walker et al., 2014, Levis & Garmel 2009).

11.2 إنتان السحايا Meningitis

تعد العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية من أهم العوامل الممرضة المسببة لإنتان السحايا، والدراسات في الدول النامية بينت اختلافات في عزل العوامل الممرضة المسببة للمرض، على الرغم من توافق وتقارب النسب في عزل الأمعائيات Enterobacteriaceae المسببة لهذا الإنتان بين الدول النامية والدول المتقدمة، وقد تعود أسباب هذا الاختلاف إلى أنماط العناية عند الولادة، وأنماط المعيشة والسكن، أو الاختلافات الوراثية، أو الاختلافات في التفاعلات والاستجابة المناعية، ويمكن أن تأتي العدوى من

إنتانات الأذن، أو الأنف أو الجيوب الأنفية، أو البلعوم، ولاسيما عند حديثي الولادة، وتسبب العنقودية الذهبية الإنتانات الحادة للسحايا، وإنتانات السائل الدماغي الشوكي CSF (Chamberlain 2009,) (Broby 2012, Cowan 2012, Bauman 2015).

12.2 الإنتانات المعوية Gastrointestinal Infections

تنتج العنقودية الذهبية عدداً من السموم الداخلية في الغذاء الملوث بها وتسبب الإسهال والغثيان والإقياء وغالباً ما تأتي من الطباخين والعمال المشاركين في تحضير الطعام، ويمكن أن تسبب العنقودية الذهبية ذبحة لودويغ الصدرية Ludwig's Angina وهي مسببات شائعة للإنتانات الحادة للغدد النكفية (Chamberlain 2009, Harvey *et al.*, 2013).

13.2 إنتانات الجروح Wound's Infection

كثير من إنتانات الجروح تسببها العنقوديات التي على الأرجح تنتقل إلى الجرح بعد العملية، أو من الأدوات المستعملة، أو من عاملي المستشفى (Walker *et al.*, 2014).

الصادات الحيوية والمقاومة

The Antibiotics and Resistance



أولاً. الصادات الحيوية Antibiotics

جزيئات صغيرة تنتج عادة من الجراثيم أو الفطريات تقتل الأحياء الدقيقة الأخرى دون أن تسبب الأذى للفرد المعالج، طبيعية أو نصف صناعية، أو صناعية تستطيع أن تثبط الجراثيم أو تبيدها، وتسمح بتحقيق التوازن بين الجراثيم وأجهزة الدفاع في العضوية، وتختلف عن المطهرات ومضادات الفطريات التي تقتل الأعفان والخمائر نوعياً، وضع Ehrlich في مطلع القرن العشرين أسس المعالجة بالصادات الحيوية، واعتقد آنذاك أن التوصل إلى إيجاد مواد كيميائية تصطفي في تأثيرها في الجراثيم، دون أن تؤثر في خلايا العضوية المضيفة، أمر صعب المنال وإن أفضل ما يمكن السعي إليه، هو إيجاد مواد تحقق شيئاً من الاصطفائية تجاه الجراثيم، بحيث تملك تأثيراً أعظماً في الجراثيم وتأثيراً أصغرياً على الخلايا المضيفة في العضوية، واعتمد هذا التطور في المفهوم والنتائج على وجود اختلافات بنيوية وحيوية كيميائية بين الخلية الجرثومية (هدف تأثير الصادات) والخلية في العضوية المضيفة، وبالتالي حددت مواقع تأثير الصادات، على الخلية الجرثومية نتيجة الاعتماد على هذه الاختلافات البنيوية والحيوية الكيميائية (البنية وآخرون 2008، بغدادي وعلي نظام 2009، Hogg 2005, Guilfoile 2007).

1. تصنيف الصادات Classification of Antibiotics

تصنف حسب التركيب الكيميائي أو طريقة قتلها للجراثيم، أو آلية التأثير وموقع التأثير وأيضاً طيف التأثير الجرثومي ونوعية التأثير، ومنها ما تكون قاتلة أو مبيدة كالبيتا لاكتامينات والبوليببتيدات، ومنها ما تكون مثبطة مثل الماكروليدات Macrolides، وتحتوي بيتا-لاكتامات β -lactam صادات ذات نشاط قوي، وتندرج تحتها أربع مجموعات فرعية من أهمها البنسيلينات، التي تعد المجموعة الأصل لكثير من الصادات التي استعملت ضمن هذه المجموعة مثل أمبيسيلين، أموكسيسيلين، أما التتراسيكلينات Tetracyclines فتضم عدداً من الصادات المهمة التي تمنع الجراثيم من تركيب البروتينات (Guilfoile 2008, Wax et al., 2007)، وتمتلك الأمينوغليكوزيدات Aminoglycosides جزيئات السكرات (غليكوزيدات) مع مجموعة أمينية من أهمها ستربتوميسين وجنتاميسين، تمنع الجراثيم من إنتاج البروتينات الوظيفية المهمة (Arya 2007)، وتمنع الماكروليدات مثل إريثروميسين الجراثيم من تركيب البروتينات، أما الكينولونات Quinolones فتحوي صادات مثل سيبروفلوكساسين تسبب تقطع إنزيم الجيراز Gerase فلا يتكوّن الحمض النووي بشكل طبيعي وتمنع الجراثيم من إعادة إصلاحه، والباسيتراسين يثبط تركيب الجدار الخلوي الجرثومي، والبوليميكسين يسبب ضرر الغشاء الخلوي (Glazer & 2008, Ritter et al., 2007, Nikaido)، ووفق آلية التأثير، تصنف إلى صادات تؤثر في جدار الخلية الجرثومية مثل السيفالوسبورينات، الفانكوميسين، البنسيلينات، الباسيتراسين، وصادات تؤثر في الغشاء السيتوبلازمي الجرثومي مثل البوليميكسين B، وصادات تؤثر في تركيب البروتينات الجرثومية مثل

الكلورامفينيكول، وصادات تؤثر في الحموض النووية مثل السلفاميدات والريفامبيسين والتريميتوبريم (البنّي وآخرون 2008, Hauser 2013, Bobbarala 2012).

التركيز الأدنى المثبط Minimum Inhibitory Concentration MIC: هو التركيز الأدنى المثبط لنمو الجراثيم في الزجاج Invitro ويحدد عتبة الفاعلية الدنيا للصاد الحيوي (البنّي وآخرون 2008, Guilfoile 2007).

2. مصدر مورثات المقاومة للصادات الحيوية

The Origin of Genes of Antibiotic Resistance

توجد عدة مصادر محتملة لأصل مورثات المقاومة في الجراثيم: منها ما هو ناتج عن طفرات بسيطة حدثت على المورثات الطبيعية، وطفرات حدثت على مورثات طبيعية لإنتاج بروتينات وإنزيمات تدخل في الاستقلاب الجرثومي ثم تؤدي إلى إنتاج بروتينات تسبب مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية، وتنتج الجراثيم والفطريات هذه الصادات كنوع من الحماية في البيئة، وكذلك ظهور مورثات المقاومة بسبب ظروف بيئية نوعية من خلال نموها ودورة حياتها، وانتقال مورثات المقاومة من خلية جرثومية لأخرى، ويمكن أن تنتقل بين الجراثيم من أنواع مختلفة وبين مجموعات جرثومية متباعدة، وتصبح الجراثيم مصدراً لانتشار المقاومة المتعددة، ولاسيما في المستشفيات (Denyer *et al.*, 2004, Hogg 2005, Guilfoile 2007).

3. أسباب مقاومة الصادات الحيوية Causes of Antibiotic Resistance

يؤدي الاستعمال الخاطئ للصادات الحيوي إلى نشوء الطفرات في المورثات فتكتسب صفة المقاومة، أو تكتسب مورثات المقاومة من جراثيم أخرى، وقد تغير الطفرات الوراثية موقع المستقبل للصاد الحيوي في الجراثيم؛ مما يجعل ارتباط الصاد صعباً، فتنتج مقاومة له، كما أن الاستعمال الكبير وغير المرشد لأعداد من الصادات الحيوية في التطبيقات الطبية والبيطرية أو الزراعية قد أدى إلى ازدياد نسب المقاومة عند الجراثيم (Wax *et al.*, 2008, Hauser 2013).

4. انتقال المورثات بين الجراثيم Transferring of Resistance Genes

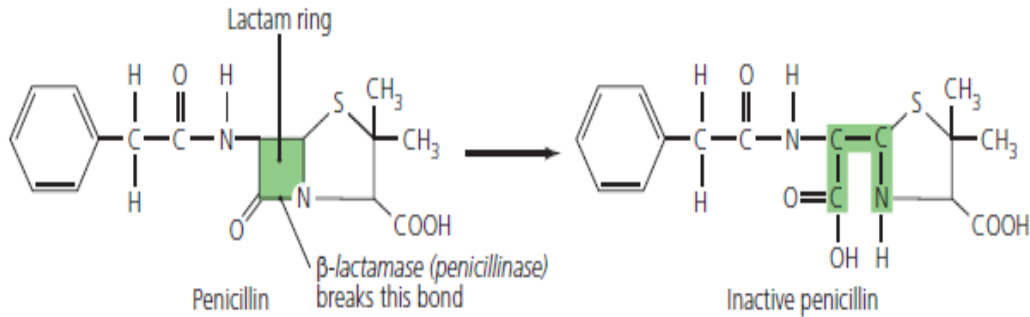
تنتقل المورثات بين الجراثيم بآليات عديدة ولهذه الآليات دور أساسي في نقل مورثات المقاومة فيما بين الجراثيم ومنها: الاقتتان Conjugation انتقال المورثات بالبلاسميد من خلية جرثومية إلى أخرى فتنتقل عبرها مورثات المقاومة، والاستئقال Transduction وهو تحول في مورثات الجراثيم بوساطة عاثيات الجراثيم Bacteriophage، والاستحالة Transformation وهذا تحول طبيعي تستعمل الخلية فيه بعض أجزاء المادة الوراثية بالوسط في تركيب مادتها الأصلية، إذ تُعبر الخلية عن الدنا المحول إليها (علي نظام 2014, Guilfoile 2007, Wax *et al.*, 2008, Katzung *et al.*, 2012).

5. آليات المقاومة Mechanisms of Resistance

تحدث آليات المقاومة بوحدة أو أكثر من الأساليب الآتية: عدم فعالية الدواء أو الصاد الحيوي بسبب التعديلات الوراثية في الجراثيم أو التغيرات الفجائية في الدنا، وتعديل أو تغيير الهدف أو موقع ارتباط الصاد الحيوي على سطح الخلية الجرثومية، ونفوذية منخفضة أو انعدام نفوذية الغشاء أو الجدار الجرثومي، وتخرب الجزيء الهدف بمعنى تغيير جهة التثبيت واستقلاب للجزيء الهدف، وتعطيل وإبطال الصاد الحيوي بالإنزيمات المنتجة في الجراثيم مثل البنسيليناز والبيتا-لاكتاماز، وتراكم ناقص أو دفع خلوي معاكس Decreased accumulation في هذه الحالة يعجز الدواء أو الصاد الحيوي في الوصول إلى موقع تأثيره لقتل الجراثيم إذ تقوم هذه الجراثيم بالتحكم في مرور أو اختراق الصاد الحيوي، فبعض الجراثيم السالبة بصيغة غرام تمنع مرور الصادات الحيوية مثل البيتا-لاكتام والتتراسيكلينات لأن المورثة المقاومة المحمولة على البلاسميد تنتج بروتينات تتوضع في الغشاء السيتوبلازمي وتعرض على إخراج الصاد الحيوي إلى خارج الخلية الجرثومية مسببة عدم تراكمه وبالتالي ظهور المقاومة، وهناك مورثة في العنقوديات الذهبية مسؤولة عن إنتاج بروتين يرتبط بالغشاء السيتوبلازمي مؤدياً إلى نزوح فاعل للكينولونات المفلورة إلى خارج الخلية الجرثومية (البنبي وآخرون 2008، Denyer *et al.*, 2004, Harvey *et al.*, 2013).

6. المقاومة للصادات الحيوية بيتا-لاكتام Resistance to β -lactam antibiotics

تعمل بيتا-لاكتام على تثبيط كربوكسيل/ترانسبيبتيداز أو Penicillin-binding proteins (PBPs) في المراحل المتأخرة من التركيب الحيوي للبيتيدوغليكان، وهذه الصادات ما زالت ذات فاعلية جيدة في القضاء على الجراثيم، إلا أن مقاومة الجراثيم ولاسيما العنقوديات لهذه الصادات أصبحت شائعة وغالباً ما تحدث بسبب إنتاج بيتا-لاكتاماز وبالتالي تغيير الهدف للصادات بيتا-لاكتام ومن أهمها البنسيلينات (الشكل 7)، وقد تكون المورثة المسؤولة عن تركيب بيتا-لاكتاماز موجودة على صبغي جرثومي، أو اكتسبتها الجراثيم من انتقال البلاسميد (Denyer *et al.*, 2004, Koch 2007).



الشكل 7. آلية عمل إنزيم بيتا-لاكتاماز (بنسيليناز) في إبطال فاعلية البنسلين بكسر رابطة في حلقة اللاكتام الجزء المهم في فاعلية الدواء في القضاء على الجراثيم (Bauman 2015).

ثانياً. العنقوديات والمقاومة للصادات الحيوية

Staphylococci and Antibiotic Resistance

1. العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسلين MRSA

تمتلك العنقوديات عامل حماية ضد البلعمة وهو محفظة عديدة السكر، وتمتلك أيضاً الكتلاز الذي يزيل مفعول بيروكسيد الهيدروجين، كما اكتسبت العنقودية الذهبية مقاومة للميتيسلين بسبب طفرة أصابت موقع ارتباط الصاد الحيوي البنسلين Penicillin Binding Protein PBP وقد عرفت منذ أكثر من 30 عاماً، وتمثل حالياً هذه العنقوديات المقاومة المسبب الرئيس لأكثر من 40% من حالات تجرثم الدم في الدول النامية، والعنقوديات المقاومة تكوّن نحو 50% من الإنتانات الخاصة بالمستشفيات في الولايات المتحدة الأمريكية، كما تنتج سموماً أخرى تسبب كثيراً من الإنتانات، وإن معظم العنقوديات منتجة للبنسليناز ونسبة كبيرة منها مقاومة لنظائر البنسلين، وعلى الرغم من الإشارة إلى هذه الزمرة على أنها عنقوديات ذهبية مقاومة للميتيسلين MRSA إلا أنها مقاومة لجميع البيتا لاكتامات B- Lactamate (أندرولي وآخرون 2003، Walker et al., 2014).

أثبتت البنسلينات فعاليتها ضد العنقوديات، ولكن ظهرت سلالات من العنقودية الذهبية مقاومة للميتيسلين MRSA وسببت إنتانات كثيرة في المستشفيات، وأصبحت هذه السلالات مقاومة للبنسلينات بامتلاكها للمورثة (*mecA*) المسؤولة عن إنتاج بروتين هدف لا يرتبط به الميتيسيلين، ومعظم هذه السلالات مقاومة لكثير من الصادات إضافة إلى البنسلينات، مثل الماكروليدات والأمينوغليكوزيدات، وصادات البيتا-لاكتام، وظهرت سلالات من العنقودية الجلدية مقاومة للميتيسلين Methicillin *MRSE resistant Staphylococcus epidermidis*، وحاملة للمورثة (*mecA*) أيضاً وغدت مسؤولة عن إنتانات كثيرة وشكلت مع الإنتانات الناتجة عن العنقوديات الذهبية المقاومة للميتيسلين خطراً كبيراً في المستشفيات (Koch 2007, Glazer & Nikaido 2007, Black 2012, Pana 2012).

2. الإنتانات الناتجة عن العنقوديات سالبة المخثرز

Infections of Coagulase-negative Staphylococci (CNS)

إن هذه العنقوديات جزء أساسي من الجراثيم المتعايشة على جلد الإنسان، ولكنها قد تصبح ممرضة ومقاومة كذلك للصادات، وتعدّ العنقودية الجلدية العامل الممرض الأهم من بينها، إذ تسبب الإنتان الحويصلي والإكزيميا، وإنتانات الجروح ولاسيما الإنتانات المترافقة مع الأدوات الجراحية أو المعدنية المزروعة في الجسم، إذ تكون العنقوديات الجلدية سبباً مهماً للإنتانات المترافقة مع الأجسام الغريبة في الجسم، وبينما تكون بعض سلالات العنقوديات الجلدية مقاومة لكل البيتا-لاكتامات لكنها تبقى حساسة للفانكوميسين (Tortora et al., 2013, Bauman 2015).

3. الرقاقات الحيوية الجرثومية Bacterial Biofilms

يمكن أن تتكون هذه الرقاقات للعنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية على الأدوات والسطوح المعدنية البلاستيكية التي تدخل إلى الجسم لأغراض علاجية حتى العدسات اللاصقة؛ مما يؤدي إلى مجموعة من الإنتانات (Romeo 2008, Basak 2013, Longmore *et al.*, 2014).

4. الإنتانات المكتسبة من المستشفيات Hospital Acquired Infections

أصبحت المستشفيات مصدراً لكثير من الإنتانات التي تظهر أول مرة بعد 72 ساعة أو أكثر من دخول المستشفى؛ مما يسبب ازدياداً كبيراً في نسب الإمبراضية والوفيات، وقد أصبحت باهظة التكاليف خلال عمليات المعالجة، ومما يزيد من خطورة اكتساب هذه الإنتانات الإقامة الطويلة للمريض في المستشفى، والاستعمال غير الملائم للصادات الحيوية واسعة الطيف، والأدوات الطبية الجراحية، والزوار، والماء والهواء (Levy & Marshall 2004, Cowan 2012)، وكثير من هذه الإنتانات تسببها العنقوديات ولاسيما العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسيلين MRSA، ومن أهمها: الإنتانات البولية، وإنتانات المسلك التنفسي، والإنتانات الناتجة عن إدخال المواد المعدنية أو صفائح غريبة عن الجسم لأغراض علاجية ولاسيما CNS Infections، إنتانات الجيوب الأنفية، وقد اتخذت الحكومات والمراكز الصحية والمستشفيات تدابير حازمة وإجراءات صارمة للحد أو التخفيف من هذه الإنتانات مثل المراقبة الصحية للعاملين الصحيين وعاملي النظافة في المستشفيات، وكذلك في استعمال الحقن الطبية من قبل الممرضين (McKean *et al.*, 2012, Longmore *et al.*, 2014).

إن بقاء MRSA على الجلد يمكن أن يدوم سنوات للمريض الذي أصيب مسبقاً بها، ومما يزيد من عوامل الخطورة أن يعاد المريض نفسه إلى المستشفى، وعوامل الخطورة تزداد وتتطور عند استعمال الصادات الحيوية المستعملة مسبقاً، أو تواصل المريض مع عمال الرعاية الصحية في المستشفى أو الممرضات أو دخوله إلى وحدات العناية المركزة، إضافة إلى استعمال أدوات الغسل الكلوي أو الغسل البريتواني أو أي قثطرات أو أدوات جراحية أخرى، وتصيح مقاومة الصادات الحيوية أسوأ مما كان عليه من قبل، من جهة أخرى ظهرت سلالات مقاومة للصاد الحيوي الفانكوميسين منذ بداية التسعينات، ولكن مازال هذا الصاد الحيوي فاعلاً في كثير من الإنتانات الناتجة عن العنقودية الذهبية حول العالم (Burns *et al.*, 2010, Goldman & Schafer 2012).

5. التحديات العلاجية والتحكم في الإنتانات

Treatment Challenges and Control of Infections

انتشرت الإنتانات الناتجة عن الجراثيم على نحو كبير منذ بداية الثمانينات، والبشر لا يعدون مستقبلين للأوبئة فحسب بل حاملين وناقلين لها، وتكمن خطورة ذلك بأن حامل المرض قد لا تظهر عليه الأعراض

مباشرة بعد تلقيه العدوى، ومن هذه الإنتانات المنتقلة من خلال الحاملين من البشر إنتانات العنقوديات، ومما زاد من تقاوم الوضع الصحي ظهور سلالات مقاومة للميتيسلين والفانكوميسين، إضافة إلى الأشخاص الذين يمرضون أو يموتون من سموم العنقوديات في الغذاء الملوث بها، وفوق ذلك التكاليف المادية الباهظة التي تتحملها الدول بسبب ذلك (Storz & Aronis 2000, Koren & Bisesi 2003).

يواجه العالم تحديات علاجية كبيرة بسبب الإنتانات التي تصيب الإنسان من العنقوديات المقاومة للصادات الحيوية، والإنتانات الناتجة عن العنقودية الذهبية والعنقودية الجلدية هي الأكثر شيوعاً في المستشفيات الأمريكية، وحالياً 40 - 60% من العنقوديات المسببة للإنتانات في المستشفيات مقاومة للميتيسلين في عدة دول صناعية متقدمة، وعلى الرغم من حجم الدراسات الكثيرة التي أجريت على تركيب الجدار الخلوي والصفات الوراثية للعنقوديات وتحديد المستقبلات الهدف للصادات الحيوية في الجدار الخلوي، مازالت الدراسات مستمرة بسبب تطور وازدياد مقاومة العنقوديات للصادات الحيوية، إضافة إلى مشكلات الاستجابة المناعية في الأفراد المصابين بإنتانات العنقوديات (Chan *et al.*, 2006, Goldman & Green 2009, Black 2012).

تطور كل دولة حالياً برنامج التحكم في العدوى الناتجة عن إنتانات الجراثيم المقاومة ولاسيما العنقودية الذهبية للتخفيف من الأخطار الصحية ولتحقيق الرعاية الصحية المناسبة لمواطنيها (Basak 2013)، وكثير من المستشفيات أصبح لديها معاهد أو مراكز خاصة تتحكم في أبعاد هذه المقاومة لاحتواء انتشار الإنتانات الناتجة عن هذه الجراثيم المقاومة (Black 2012, Bauman 2015).

ويؤكد كثير من الدراسات والأبحاث حول العالم ازدياد المقاومة لدى سلالات العنقوديات ولاسيما العنقودية الذهبية والجلدية منها، وفي سورية تزايدت نسبة مقاومة العنقوديات المعزولة من الإنتانات البولية للصادات الحيوية (Ali-Nizam & Hussain 2012)، وفي دراسات متصلة تبين ازدياد نسبة سلالات العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسلين، إذ بلغت 51,8% بسبب تغير نماذج مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية (Basak 2013)، وفي الأردن جمعت 60 سلالة من العنقودية الذهبية من المستشفى الأردني في عمان وحددت وفق وجود بروتين *Staphylococcus protein A (spa)* إضافة إلى دراسة حساسيتها تجاه سبع صادات حيوية (Bazzoun *et al.*, 2014)، وعزلت سلالات من MRSA من الأسماك من مرحلة التحضير للأكل وأجري البحث عن المورثة *mecA* في هذه السلالات ودرست مقاومتها للصادات الحيوية (Sergelidis *et al.*, 2014)، كما استنتج Moghadam *et al.* (2014) أنه من بين 65 سلالة من العنقودية الذهبية وجدت المورثة *mecA* في 40 منها، وعزلت سلالات CNS مقاومة من مخلفات مراكز الرعاية الصحية واختبرت حساسيتها للصادات الحيوية، وأجري البحث عن المورثة *mecA* في هذه السلالات (Nascimento *et al.*, 2015).

6. الاتجاهات الحديثة في البحث عن الصادات الحيوية

Progressing Trends in Searching for the Antibiotics

يعد تطور المعالجة بالصادات الحيوية التقدم الأكثر إثارة في الممارسة الطبية منذ بداية اكتشافها في القرن العشرين حتى الآن، فقد برهنت معدلات الوفيات العالية المرافقة للإنتانات والصدمة الإنتانية رغم تحسن المعالجة بالصادات الحيوية وتقنيات العناية المشددة على عجز المعالجة المتاحة حالياً لكثير من الإنتانات، إضافة إلى تطور وازدياد مقاومة الجراثيم، وتعكف مراكز الأبحاث والجامعات على إجراء مزيد من الدراسات والأبحاث لإيجاد خلاصات سائلة أو جافة من مصادرها الطبيعية النباتات أو الجراثيم والفطريات بهدف الحصول على صادات حيوية أو مركبات جديدة تثبط أو تقتل الجراثيم الممرضة.

يجري البحث في كثير من شركات الأدوية عن أشكال صيدلانية مناسبة أو خلاصات جاهزة مثل المساحيق لتستعمل ضد الجراثيم المسببة للإنتانات دون أن تكون لها تأثيرات جانبية أو سمية في الإنسان، ولعل التجفيد Lyophilization طريقة مناسبة في هذه الحالات مع الحفاظ على نشاط الخلاصات المجفدة إلى حد بعيد، وهنا تبرز أهمية استعمال أنواع العصويات ومنتجاتها الاستقلابية كأدوية وصادات حيوية، إذ إن جميع هذه المنتجات آمنة وغير خطرة وصالحة للاستعمال وفق منظمات الأغذية والأدوية العالمية، وقد درس جنس العصوية وأنواع منها مع التركيز على استخلاص مركبات حيوية من العصويات واستعمالها في المكافحة الحيوية ضد الجراثيم المعزولة من الأغذية والأمراض، فقد أجريت الدراسات على أنواع العصويات الرقيقة والشمعية والضحمة وغيرها لاستعمالها في المكافحة الحيوية والتصادية الفطرية والجراثومية (Fiddaman & Rossall 1993, Lebbadi *et al.*, 1994, Leifert *et al.*, 1995, Munimbazi & Bullerman 1998, Oscáriz & Pisabarro 2000).

وأجري البحث عن الصاد الفطري باسيلومييسين Bacillomycin من الإيتورينات ودرس تأثيرها في الرشاشيات *Aspergillus* والفوزاريوم *Fusarium* (Moyne *et al.*, 2001)، كما درست مورثة الرنا الريبوزومي ribosomal RNA لتصنيف أنواع العصويات (Joung & Côté 2002)، وعزلت سلالات جديدة من العصوية واستعملت كعوامل مكافحة حيوية ضد الفطريات الممرضة للنباتات (Cornea *et al.*, 2003)، وعزلت سلالات من العصويات من نهر في إسبانيا واختبر إنتاجها للمركبات الفعالة على السطح (Ruiz-Garcia *et al.*, 2005)، وأجريت المقارنة بين صفات أبواغ العصوية الرقيقة المتكونة من الأوساط السائلة والأوساط الصلبة (Rose *et al.*, 2007)، وعزلت سلالات العصوية الرقيقة من نبات الأفوكادو ودرست صفاتها التصادية الفطرية ضد فطريات ممرضة للنباتات (Cazorla *et al.*, 2007)، وعزلت سلالة من العصوية الرقيقة ودرس إنتاجها لمركبات Biosurfactant باستعمال مصادر مختلفة للكربون والنتروجين تحت شروط الحرارة والبرودة (Hadad *et al.*, 2009)، وعزلت العصوية الرقيقة والزائفة الزنجارية من تربة ملوثة بالنفط وأجري التحري لإنتاج Biosurfactant اعتماداً على أربع

مصادر عضوية ولوحظ أن العسوية الرقيقة أفضل إنتاجاً (Priya & Usharani 2009)، وعزلت سلالات من التربة واختبرت فاعليتها ضد الفطريات الممرضة، كما درس تأثير الأوساط والحرارة في النشاط التصادي (Kumar et al., 2009)، وعزلت سلالة من العسوية الرقيقة واختبر نشاطها التصادي تجاه فطريات ممرضة (Zhang et al., 2009)، وعزلت صادرات حيوية فطرية من أنواع العسوية وحددت بالطرائق الجزيئية (Athukorala et al., 2009)، ودرس تأثير عوامل مختلفة مثل مدة الحضان، ودرجة الحموضة في إنتاج *B. licheniformis* للصاد الحيوي الباسيتراسين (Aftab et al., 2010)، وعزلت مركبات حيوية صادة من العسوية الرقيقة ودرس تأثيرها في السلمونيلة (Bhatta & Kapadnis 2010)، ودرس إنتاج مركبات فعالة على السطح Biosurfactants من أنواع العسويات المعزولة من بيئات ملوثة بالهيدروكربونات ومدى فاعلية هذه المركبات في زيادة محصول النباتات (Violeta 2011)، كما درست التأثيرات السمية لبعض الصادات الحيوية المنتجة من العسوية الرقيقة (Starón et al., 2011)، و درس تأثير العناصر النادرة في إنتاج العسوية الرقيقة للأميلاز والصاد باسيليسين Bacilysin (Inaoka & Ochi 2011)، وعزلت أنواع من العسويات قادرة على تخفيض نسب الصوديوم كازينات sodium caseinate لإنتاج ببتيدات حيوية فاعلة في التصادية الجرثومية مثل كازئين أ و ب (Kent et al., 2012)، ولوحظ تأثيراً واسع الطيف للعسوية *Bacillus sp.* في الرقاقات الحيوية الجرثومية المكونة من مكورات وعسويات (Wu et al., 2013)، وأجريت هندسة بعض المورثات في العسوية الرقيقة لمعالجة أمراض وديدان الأنكلستوما *Anklistoma* (Hu et al., 2013)، ودرست التطبيقات الصيدلانية للأصبغة الخضراء المنتجة من العسوية الشمعية (Banerjee et al., 2013)، وأجريت التنقية الجزيئية ودرست بعض الصفات لصاد حيوي فطري جديد chitinase أنتج من العسوية الشمعية (Hammami et al., 2013)، ولوحظت زيادة النشاط التصادي للجنتاميسين بوجود خلاصة البولي فُسفات معزولة من العسوية الضخمة *B. megaterium* (Ghashghaei & Emtiazi 2013)، وحددت عدة صادرات حيوية أنتجت من العسوية *B. amyloliquefaciens* مترافقة مع الرسابة الخلوية cell pellet من أهمها الماكرولاكتين E Macrolactin E (Yuan et al., 2014)، وعزل السبتيولوزين Subtilosin من النوع *B. amyloliquefaciens* ودرس تأثيره كمضاد لفيروس الحلا Herpes (Quintana et al., 2014)، كما عزلت جراثيم منها العسوية الرقيقة من الغابات المطرية واستعملت في تحفيز النمو في نباتات أخرى مثل الذرة (Huang et al., 2014)، ودرس تأثير العسوية الرقيقة في نمو بادرات الكاكاو في المراحل المبكرة وتقييم صفاتها التصادية (Falcão et al., 2014)، واستعملت أبواغ العسوية الرقيقة في إزالة الأثر المتبقي من المبيدات الحشرية العضوية الفسفورية Organophosphorus المستعملة كثيراً في مكافحة أمراض النباتات والمحاصيل (Pour et al., 2015).

مواد البحث وطرائقه

Materials & Methods

أولاً. المواد Materials

1. أوساط الاستزراع Cultures Media

وسط الآغار المغذي Nutrient Agar من شركة Hi media الهندية، أو Abtec Biologicals الإنكليزية، وسط مولر هنتون Mueller Hinton Agar من شركة Merck الألمانية، أو Abtec Biologicals الإنكليزية، أو من Hi media الهندية، وسط كليغلر آغار Kligler iron Agar من شركة Biomark الهندية، وسط مرق اللاكتوز Lactose Broth من شركة Merck الألمانية، وسط المرق المغذي Nutrient Broth من شركة Hi media الهندية، وسط مانيتول سولت آغار Salt Mannitol Agar من شركة Biolife الإيطالية، وسط الآغار المدمى Blood Agar base من شركة Abtec Biologicals الإنكليزية، وسط بيرد باركر آغار Baird Parker Agar base من شركة Scharlau Microbiology الإسبانية. تحل كمية مناسبة من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر جيداً تبعاً لتعليمات الشركة الصانعة مع التسخين، ويجرى التعقيم في المعقمة بالدرجة 121 °م تحت الضغط 1 جو مدة 20 دقيقة، ثم تصب وتحفظ في الدرجة 4 °م لحين الاستعمال.

2. الأدوات Tools

أطباق بتري، وإبر زرع، ومسحات قطنية، وأقراص ورقية معقمة مشبعة ببلازما الأرنب لاختبار المخثرات Coagulase test، وعبوات زجاجية بسعات مختلفة، وزجاجيات مختلفة وأقماع زجاجية، وأنايب اختبار بأحجام مختلفة، وعبوات بلاستيكية معقمة لجمع عينات البول، وأنايب ابندورف بسعات مختلفة 1 مل، 1,5 مل، 2 مل، وممصات دقيقة Micropipettes بأحجام مختلفة 0,5 - 1000 ميكرو لتر، وماصات زجاجية دقيقة، وصفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Alugram® Sil G 60 Macherey-Nagel, Germany، وملاقط معدنية، وأوراق ترشيح عادية وجراثومية 0,45 ميكرومتر، وقمع بوخزر، وحجيرات بلاستيكية صغيرة (كوفيت) لقراءة الامتصاصية وصفائح مجهرية، وأدوات أخرى لازمة.

3. الأجهزة Equipments

مجهر ضوئي، والمعقمة (الصاد الموصد) Autoclave، وفرن التعقيم بالحرارة الجافة، وحاضنة جراثومية Incubator، وحاضنة هزازة Shaker incubator (JSR, Korea)، وميزان حساس، وجهاز قياس العكارة أو الكثافة الضوئية Optical Density OD بطول الموجة 600 نانومتر WPA CO8000 Biochrome، وجهاز قياس العكارة (مكفرلاند) من شركة BioMérieux France، ومجمدة للتبريد درجة -30 °م، -40 °م، وجهاز Polymerase chain reaction PCR من شركة Bioer thermal cycler (China)، وجهاز توثيق الهلام Gel documentation، والرحلان الكهربائي على الهلام Gel Electrophoresis، والمثقلة من

شركة Hittch الألمانية سرعة الدوران 5000 دروة/د، 12000 دروة/د، والمجفدة Lyophilizer من شركة Lyotrap الإنكليزية، والحمام المائي Water Bath، وجهاز المُسَلِّس Sequencer لقراءة نتائج PCR، وجهاز تحديد الزمر الكيميائية في مركب ما FTIR، وجهاز الاستشراب السائل عالي الأداء HPLC، وجهاز أو حوض كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، ومقياس pH، ومصباح اللهب، وحجيرة الزرع، والبراد.

4. المواد والكواشف **Materials & Reagents**

عدة كيت API Staph. 20 (BioMérieux، وعدة كيت API 50 CHB (BioMérieux, France)، والبادئ Primer من شركة ألفا دنا Alpha DNA الكندية لتحديد وتصنيف العسوية الرقيقة والعنقوديات بالطرائق الجزيئية، وكذلك محلول Taq Polymerase، المواد والمحاليل المستعملة لعزل الدنا، والعمل على جهاز PCR، وملون غرام، والماء الأكسجيني، وملون أخضر المالاكيت، ومحاليل عضوية مختلفة: تري فلوروأسيستيك أسيد T.F.A، الأسيونتريل Acetonitrile، الكلوروفورم Chloroform، الميثانول من شركة Merck و Panreac، إضافة إلى أقراص الصاد الحيوي نوفوبوسين Novobiocin discs (Bio-analyse, Turkey)، وصادات حيوية عيارية من شركة سيجما Sigma: مسحوق Bacitracin A ومحلول Polymyxin B.

ثانياً. طرائق البحث **Methods**

1. المواقع وجمع العينات **Sites and Sampling**

1.1 عينات التربة: جُمعت العينات من منطقة دمشق في المواقع الآتية : الديماس، الربوة، قاسيون، التل، دوما، المليحة، كفرسوسة، والعدوي بساتين كلية الزراعة، يعفور، جديدة، خان الشيح (الشكل 8)، في الفترة بين 2011/8 – 2012/8، واستعملت الأدوات مثل: أكياس بولية إيتيلين معقمة، أدوات حفر، مسطرة لقياس العمق، كحول، قطن، مصدر لهب، حيث أخذت 3 – 5 عينات مختلفة من كل موقع بأداة معقمة على عمق 10 – 15 سم بعد إزالة الطبقة السطحية، ثم وضعت في الأكياس مع تسجيل المعلومات على كل منها، ونقلت إلى المختبر، وخلطت لتحضير عينة مركبة Composite لتمثل الموقع الموافق (Steubing 1993, Alef & Nannipieri 1995, Lindquist 2009).

2.1 عينات المياه Water's samples: جمعت العينات من منطقة دمشق في المواقع الآتية: الربوة، الهامة، المليحة، كفرسوسة، العدوي، فرع بردى كلية الزراعة، باب شرقي، داريا (الشكل 8)، في الفترة بين 2011/8 – 2012/8، واستعملت الأدوات المناسبة، عبوات زجاجية معقمة سعتها 50 – 100 مل، بغمر الزجاج وفتح العبوة تحت الماء حتى ملء نحو ثلثها ثم غلقها تحت الماء، وتسجيل درجة الحرارة و pH، ونقلت إلى المختبر للدراسة (Mara & Horan 2003, Bitton 2005).



ج. قاسيون



ب. ربوة



أ. التل



ك. ربوة



هـ. كفرسوسة



د. عدوي

الشكل 8. بعض المواقع التي أخذت منها عينات التربة والمياه بمنطقة دمشق.

3.1 من الأفراد الأصحاء Healthy People: جمعت العينات من أفراد أصحاء من منطقة دمشق في 2013 باستخدام المسحات القطنية المعقمة Swab من اليدين والوجه وحول الفم (الشكل 9-د)، وزرعت في مدة لا تزيد على نصف ساعة من وقت أخذ العينة (Benson 2001, Vandepitte *et al.*, 2007, Brooks *et al.*, 2003).

4.1 من الأفراد المرضى Patients: جمعت العينات من المرضى في المستشفيات الجامعية الآتية بدمشق: مستشفى الأطفال، مستشفى الأمراض الجلدية والتناسلية، مستشفى الموساة في 2013 باستخدام مسحات قطنية معقمة من الأذن والعين (الملتحمة أو غيرها)، والفتحة التناسلية، والجروح والقيوح، والدمامل والبثور، والخراجات (الشكل 9-أ، ب، ج)، وزرعت خلال مدة لا تزيد على نصف ساعة من وقت أخذ العينة (Benson 2001, Isenberg 2007).

وأخذت عينات البول من مرضى الإنتانات البولية باستخدام عبوات بلاستيكية معقمة بعد تنظيف وتعقيم منطقة الأعضاء البولية التناسلية، أما عينات الدم، والسائل الدماغي الشوكي Cerebrospinal fluid CSF، والسائل البريتواني Peritoneal fluid، والشنت الدماغي البريتواني Brain Peritoneal shunt، وسائل (انصباب) الجنب Pleural effusion فقد أخذت بإبر وأدوات أخرى معقمة بإشراف الطبيب المختص، وزرعت خلال مدة لا تزيد على نصف ساعة من وقت أخذ العينة (Isenberg 2007, Mangel and Schwiebert 2009).



ب. مسحة من فيح



أ. مسحة مرض جلدي



د. مسحة وجه. جلد سليم



ج. مسحة فقاع

الشكل 9. مسحات من عينات مرضية وجلد سليم.

2. عزل الجراثيم Isolation of Bacteria

1.2 عزل العصوية الرقيقة *Bacillus subtilis*

من التربة: عُرِّضت العينة للحرارة في حمام مائي بالدرجة 80°م مدة 20 دقيقة بهدف التخلص من أكبر عدد ممكن من الأحياء الدقيقة المرافقة للعصويات ثم أخذ 10 غ وأضيفت إلى 90 مل ماء مقطر معقم، وحُضِرَت تخفيفات متسلسلة بدءاً من هذا المعلق حتى 10⁶ (1 مل من المحلول الأم إلى 9 مل ماء مقطر)، ثم زرع 0.1 مل من كل تركيز على وسط الآغار NA أو زرع 1 مل من آخر تمديدتين على وسط الآغار المغذي ثم حضنها بالدرجة 37°م مدة 24 ساعة، بعدها تلاحظ الصفات الشكلية للمستعمرات. تؤخذ مستعمرة أو أكثر وتنقل إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية من العصويات (Steubing 1993, De vos *et al.*, 2009, Lindquist 2009).

من المياه: عُرِّضت العينة للحرارة في حمام مائي بالدرجة 80°م مدة 20 دقيقة للتخلص من أكبر عدد ممكن من الأحياء الدقيقة المرافقة للعصويات ثم أخذ 10 مل منها وأضيفت إلى 90 مل ماء مقطر معقم، وحضرت تخفيفات متسلسلة من هذا المعلق حتى 10⁶ (1 مل من المحلول الأم إلى 9 مل ماء مقطر)، ثم زرع 0.1 مل من كل تركيز على وسط الآغار NA أو زرع 1 مل من آخر تمديدتين على وسط الآغار المغذي ثم حضنت بالدرجة 37°م مدة 24 ساعة، بعدها تلاحظ الصفات الشكلية للمستعمرات، وتؤخذ مستعمرة أو أكثر وتنقل إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية من العصويات (Benson 2001, Mara & Horan 2003, De vos *et al.*, 2009).

2.2 عزل العنقوديات *Staphylococci* Isolation of

من التربة: أخذ 10 غ من عينة التربة وأضيفت إلى 90 مل ماء مقطر معقم وحضرت تخفيفات متسلسلة من هذا المعلق حتى 10^{-6} (1 مل من المحلول الأم إلى 9 مل ماء مقطر)، ثم زرع 0.1 مل من كل تركيز على وسط الآغار المغذي NA، ووسط مانيتول سولت آغار، ووسط Baird Parker BP المميز للعنقوديات المعزولة من التربة، ثم حضنت بالدرجة 37°C مدة 24 ساعة، وأخذت مستعمرة أو أكثر ونقلت إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية، بعدها لوحظت الصفات الشكلية للمستعمرات (Steubing 1993, Benson 2001, De vos *et al.*, 2009).

من المياه: أخذ 10 مل من عينة المياه وأضيفت إلى 90 مل ماء مقطر معقم وحضرت تخفيفات متسلسلة من هذا المعلق حتى 10^{-6} (1 مل من المحلول الأم إلى 9 مل ماء مقطر)، ثم زرع 0.1 مل من كل تركيز على وسط الآغار المغذي NA ووسط مانيتول سولت آغار، ووسط BP المميز للعنقوديات المعزولة من المياه، ثم حضنت بالدرجة 37°C مدة 24 ساعة، وأخذت مستعمرة أو أكثر ونقلت إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية من العنقوديات، بعدها لوحظت الصفات الشكلية للمستعمرات (Benson 2001, Mara & Horan 2003, De vos *et al.*, 2009).

من الأفراد المرضى: زرعت السوائل والمسحات القطنية المأخوذة من الأفراد على وسط الآغار المغذي NA، ووسط مانيتول سولت آغار، ووسط الآغار الدمى، ثم حضنت بالدرجة 37°C مدة 24 ساعة، وأخذت مستعمرة أو أكثر ونقلت إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية من العنقوديات، بعدها لوحظت الصفات الشكلية للمستعمرات تحت المجهر (Benson 2001, Isenberg 2007, Willey *et al.*, 2008).

من الأفراد الأصحاء: زرعت المسحات القطنية المأخوذة من الأفراد (اليدين، الوجه، حول الفم) على وسط الآغار المغذي NA، ووسط مانيتول سولت آغار MSA، ووسط الآغار الدمى BA، ثم حضنت بالدرجة 37°C مدة 24 ساعة، وأخذت مستعمرة أو أكثر ونقلت إلى وسط الآغار المغذي الصلب أكثر من مرة حتى الحصول على مزارع نقية، بعدها لوحظت الصفات الشكلية للمستعمرات (Benson 2001, Vandepitte *et al.*, 2003, Isenberg 2007, Willey *et al.*, 2008).

3. تعريف الجراثيم Identification of Bacteria

1.3 العصوية الرقيقة *B. subtilis*: اعتمد في تمييز وتعريف العصوية الرقيقة على الاختبارات الحيوية الكيميائية حسب دليل بيرجي لعام 2009، Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (De vos *et al.*, 2009).

الاختبارات الحيوية الكيميائية Biochemical Tests

تلوين غرام Gram Stain، وتلوين الأبواغ بأخضر الملاكيت 5% ومحلول السفرائين، واختبار الكتلاز Catalase، النمو في 7% من ملح كلور الصوديوم NaCl. النمو في درجات حرارة مختلفة: تُزرع العزلات في أنابيب مائلة حاوية الآغار المغذي وتحضن في درجات حرارة مختلفة 25، 35، 45، 55، 60، 65° م، والعصوية الرقيقة لا تنمو فوق الدرجة 55° م (Benson 2001, Harisha 2007, De vos *et al.*, 2009).

الاختبارات الحيوية الكيميائية وفق نظام API 50 CHB: اعتمد في هذه الاختبارات على مجموعة التفاعلات الحيوية الكيميائية المعتمدة على دليل برجي لعام 2009، وأهمها إنتاج الحموض من مجموعة كبيرة من السكريات، وأجريت الاختبارات على السلالات والأنواع المعزولة حسب تعليمات الشركة الصانعة (API 50 CHB (BioMérieux, France)، حيث وضع الشريط على الطبق أو المجرى الذي يحتوي كمية صغيرة من الماء المقطر لتأمين الرطوبة خلال الحضان، وحضر معلق جرثومي في حبابه خاصة تحتوي وسطاً محدداً ومزوداً من الشركة بتلقيح مزرعة أو أكثر من الآغار المغذي بعد نمو 24 ساعة، وفحص على جهاز مكفرلانند حتى نسبة العكارة 2 cfu/ml، ثم ثملاً كل حجرة من هذا المعلق بممص باستور المعقم وتغطى وتحضن بالدرجة 35 - 37° م مدة 24 - 48 ساعة، ثم تقرأ النتائج بعد 48 ساعة. أدخلت النتائج على برنامج من الشركة API web CHB 50، والتي يبلغ عدد الاختبارات فيها 50 اختباراً والجدول 1 يوضح أهم الاختبارات الحيوية الكيميائية حسب هذا البرنامج.

2.3 تعريف العنقوديات Identification of Staphylococci: اعتمد في تمييز وتعريف

العنقوديات على الاختبارات الحيوية الكيميائية بحسب دليل بيرجي لعام 2009 (De vos *et al.*, 2009) والمرجع المعتمد من الجمعية الأمريكية للميكروبيولوجيا (Isenberg 2007) ومراجع أخرى مماثلة. الصفات الشكلية للمزارع Culture Morphology: تبدو المستعمرات على الآغار المغذي مدورة منتفخة وعاتمة بقطر 1 مم بيضاء في بادئ الأمر ثم تأخذ بالتلون بعد 24 - 36 ساعة بألوان مختلفة حسب نوع هذه المكورات العنقودية الذهبية الصفراء أو الذهبية، والعنقودية الجلدية البيضاء، والعنقودية الرمامة البيضاء إلى الكريمي قليلاً، أما على آغار الدم فتكون المستعمرات عادة عاتمة، ويمكن أن تكون بيضاء أو كريمية أحياناً صفراء إلى برتقالية، وعلى وسط مانيتول سولت آغار فالمكورات العنقودية الممرضة ولاسيما الذهبية تنمو وبالتالي يحول لونه من البرتقالي إلى الأصفر نتيجة تفكك المانيتول وتحرر الحموض التي تغير من درجة الحموضة، أما المكورات العنقودية غير الممرضة فيمكن أن تنمو على هذا الوسط وتلونه بلون أحمر فاتح دون أن تفكك المانيتول (Benson 2001, Isenberg 2007,) (De vos *et al.*, 2009).

الجدول 1. أهم الاختبارات الحيوية الكيميائية وفق نظام API 50 CHB.

الاختبار		الاختبار		الاختبار	
Glycerol	GLY	D-Mannitol	MAN	D-Raffinose	RAF
Erythritol	ERY	D-Sorbitol	SOR	Amidon (starch)	AMD
D-Arabinose	DARA	Methyl- α D-Mannopyranoside	MDM	Glycogen	GLYG
L-Arabinose	LARA	Methyl- α D-Glucopyranoside	MDG	Xylitol	XLT
D-Ribose	RIB	N-Acetylglucosamine	NAG	Gentibiose	GEN
D-Xylose	DXYL	Amygdalin	AMY	D-Turanose	TUR
L-Xylose	LXYL	Arbutin	ARB	D-Lyxose	LYX
D-Adonitol	ADO	Esculin Ferric citrate	ESC	D-Tagatose	TAG
Methyl- β D-Xylopyranoside	MDX	Salicin	SAL	D-Fucose	DFUC
D-Galactose	GAL	D-Cellobiose	CEL	L-Fucose	LFUC
D-Glucose	GLU	D-Maltose	MAL	D-Arabitol	DARA
D-Fructose	FRU	D-Lactose(bovine origin)	LAC	L-Arabitol	LARA
D-Mannose	MNE	D-Melibiose	MEL	Potassium Gluconate	GNT
L-Sorbose	SBE	D-Saccharose	SAC	Potassium 2-KetoGluconate	2KG
L-Rhamnose	RHA	D-Trehalose	TRE	Potassium 5-KetoGluconate	5KG
Dulcitol	DUL	Inulin	INU		
Inositol	INO	D-Melezitose	MLZ		

الاختبارات الحيوية الكيميائية: طريقة تلوين غرام، اختبار الكتلاز، اختبار إنزيم المخثرات: يميز العنقودية الذهبية موجبة المخثرات من العنقوديات الأخرى سالبة المخثرات، وأجري الاختبار بطريقة اختبار الشريحة Slide Test وفق تعليمات الشركة الصانعة Sigma Aldrich (Isenberg 2007, Kar) (2008, De vos et al., 2009).

اختبار الحساسية للصاد الحيوي نوفوبوسين Novobiocin: يميز بين العنقودية الرمامة المقاومة للصاد الحيوي وكل من العنقودية الذهبية والجلدية الحساسة له. يجرى التحسس بطريقة الانتشار القرصي Kirby bauer الموثقة من National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (Benson 2001, Henry 2001, Morello et al., 2003, CLSI 2007, De vos et al., 2009).

الاختبارات الحيوية الكيميائية وفق نظام API Staph. Ident. 20: اعتمد فيها على النظام المعتمد من شركة (BioMérieux, France) API Staph. 20. والجدول 2 يوضح أهم الاختبارات الحيوية الكيميائية حسب هذا البرنامج.

3.3 الطرائق الجزيئية لتعريف العنقودية الرقيقة والعنقوديات Identification of *B. subtilis* and Staphylococci

عزل الدنا DNA: أجري عزل الدنا اعتماداً على طريقة (Japone et al., 2004, Kalia et al.,) (1999) مع بعض التعديلات وفق الآتي: زرعت سلالات العنقودية الرقيقة والعنقوديات كلاً على حدة على

مرق اللاكتوز LB وحضنت في حاضنة هزازة مدة 36 - 48 ساعة، وأخذ 10 مل من المعلق الجرثومي، وثقلت بسرعة دوران 12000 دورة/د مدة 15 دقيقة، ثم أهمل السائل الطافي وأخذت الرسابة (الكتلة الحيوية للخلايا)، وأعيد حلها في 700 ميكرو لتر من المحلول الموقى TE مدة 10 دقائق، ثم أضيف 30 ميكرو لتر من محلول الاستخلاص الأول (10% SDS)، بمقدار 10 ميكرو لتر من الإنزيم الحال للبروتينات proteinase k، وأضيف 250 ميكرو لتر من كلوريد الصوديوم 5 مول/لتر، ومزجت بشكل جيد.

الجدول 2. أهم الاختبارات الحيوية الكيميائية وفق نظام API Staph. 20.

الاختبار		الاختبار	
D-Galactose	GAL	β -naphthyl phosphate	PAL
D-Glucose	GLU	Sodium pyruvate	VP
D-Fructose	FRU	D-Raffinose	RAF
D-Maltose	MAL	D-Xylose	XYL
D-Lactose(bovine origin)	LAC	D-Saccharose	SAC
D-Trehalose	TRE	Methyl- α D-Glucopyranoside	MDG
D-Mannitol	MAN	N-Acetylglucosamine	NAG
Xylitol	XLT	L-Arginine	ADH
D-Melibiose	MEL	Urea	URE
Potassium nitrate	NIT		

أضيف 600 ميكرو لتر من محلول الاستخلاص الثاني (2% CTAB)، ثم حضن المزيج في حمام مائي ذي 65° م مدة 30 د، ثم يثقل من جديد بسرعة دوران 12000 دورة/د مدة 8 دقائق، وينقل السائل الطافي إلى أنابيب ابندورف نظيفة ومعقمة سعتها 1.5 مل، ويُرسَّب الدنا بإضافة 700 ميكرو لتر من الايزوبروبانول البارد وتمزج بلطف ثم تحفظ في الدرجة -20° م مدة 10 دقائق.

نتخلص من السائل الطافي بعد التثليل بسرعة دوران 14000 دورة/د مدة 5 دقائق ثم نغسل راسب الدنا مرتين بمقدار 700 ميكرو لتر من الإيتانول 70% للتخلص من بقايا أملاح المحاليل المستعملة، ويتم طرح الكحول بعد التثليل الأخير، ثم يجفف راسب الدنا بقلب الأنبوب على مناديل ورقية معقمة مدة 1 ساعة، ثم تعلق في محلول وقاء TE، وتخزن في المجمدة -20° م لحين إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسلة Polymerase Chain Reaction PCR:

كان تعريف سلالات العسوية الرقيقة على مستوى النوع باستعمال المورثة 16S rDNA باستعمال البادئات المتخصصة (Nair *et al.*, 2002) وفق التسلسل الآتي للبادئات الأمامية والخلفية (5'ϕ BacF GTGCCTAATACATGCAAGTC-3'ϕ), BacR (5'ϕ-CTTTACGCCCAATAATTCC-3') إن قطعة الدنا الناتجة طولها 550 نوكلويداً (545 bp)، وللتفريق بين السلالات المختلفة ومعرفة تسلسل هذه القطعة لكل سلالة على انفراد أدخلت النتائج على جهاز التسلسل Sequencer، وقرنت نتائج التبدلات على مستوى النوكليوتيد الواحد بواسطة برنامج متخصص كروماس 2 (Chromas 2).

كما كان تعريف سلالات العنقوديات على مستوى النوع باستعمال المورثات الثلاثة الآتية: مورثة 16S rRNA التي ترمز منطقة بطول 479 bp (Geha *et al.*, 1994) باستعمال البادئات: (SF1(5'-GGAATTCAAAGGAATTGACGGGGGC-3')16 و (CCAGGCCCGGGAACGTATTCAC-3' 16SR2(5'-CGGGATC و مورثة gap التي ترمز الإنزيم glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase الذي يوجد في الجدار الخلوي لكثير من العنقوديات بطول 933 bp، وقد أُجري التضخيم مع زوج من البادئات: (GF1(5'- ATGGTTTTGGTAGAATTGGTCGTTTA-3' و (GR2(5'-GACATTTTCGTTATCATACCAAGCTG-3' وهي تضخم منطقة بطول تقريباً 933 bp (Ghebremedhin *et al.*, 2008)، ومورثة النوكلياز nuc التي تشفر منطقة بطول 270 bp بوجود شفع من البادئات المتخصصة: (nuc-F (5'GCGATTGATGGTGATACGGTT-3') و (nuc-R(5' AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3') كما أُجري التضخيم للمورثة *mecA* التي تشفر مورثات المقاومة للميتيسلين أو البنسلينات (Thompson *et al.*, 2008) مع شفع من البادئات F (5'- AGTTGTAGTTGTCGGGTTT-3') و R (5'- AGTGGAACGAAGGTATCATC-3') وهي تشفر منطقة بطول 533 تقريباً (Thompson *et al.*, 2012)، وقد أمكن الحصول على جميع هذه البادئات من شركة Alpha DNA الكندية.

أُجري تفاعل PCR في حجم نهائي 25 ميكرولتراً وفق الآتي: 100 نانوغرام من الدنا DNA، 12,5 ميكرولتراً من One PCR™ Master Mix ويحتوي (إنزيم تضاعف الدنا، محلول PCR الموقفي، ومزيج الأسس النتروجينية الأربعة، أصبغة تلوين gel loading dyes، صبغة الفلورة fluorescence dye)، و 250 نانومولاً من كل بادئ، وماء مقطر معقم وخالٍ من الشوارد، وأنجز التفاعل المتسلسل في جهاز المدوار الحراري PCR وفقاً للآتي:

دورة ابتدائية واحدة بدرجة حرارة 94° م مدة 3 دقائق، ثم 45 دورة مؤلفة من ثلاثة درجات حرارية متتالية هي: درجة حرارة تمسخ denaturation temperature قالب الدنا المضاعف 94° م مدة 1 دقيقة، ثم درجة حرارة ربط annealing temperature البادئة بقالب الدنا وهي 55° م لبادئات المورثة 16S rDNA، *mecA*، و 58° م لبادئات *nuc*، *16S rRNA*، والدرجة 60° م للمورثة *gap* مدة 1 دقيقة، ثم درجة حرارة تطويل extinction temperature سلسلة الدنا المكمل للقلاب بدرجة 72° م مدة دقيقتين 2، والدورة الانتهائية بدرجة 72° م مدة 10 دقائق، وبعد انتهاء التفاعل يبرد الجهاز حتى 4° م،

ثم أُجري ترحيل الدنا المضخم على هلامة الآغاروز 1% الحاوية الإثديوم بروميد، وأظهرت العصابات بوساطة جهاز توثيق الجل بالأشعة فوق البنفسجية.

معرفة التسلسل النوكليوتيدي: عُرف تسلسل مورثة 16S rDNA لسلاسل العصوية الرقيقة باستعمال المُسلسل، ثم أُدخل التسلسل الناتج إلى البنك المورثي العالمي NCBI BLAST-n (www.ncbi.nlm.gov/blast). لمقارنتها بالتسلسلات النوكليوتيدية للسلاسل الموثقة، وبعدها حُدد التباين باستعمال برنامج كروماس 2 (Chromas 2).

4.3 حفظ المزارع النقية Save of Pure Culture: حفظت المزارع النقية لجميع جراثيم العصوية الرقيقة والعنقوديات بزرعها على وسط الآغار المائل في الأنابيب، ثم حفظها في الثلاجة بدرجة 4° م إذ يمكن أن تحفظ مدة تتراوح بين 30 - 40 يوماً، وعند تنشيطها زرعت على وسط الآغار المغذي الصلب مدة 24 ساعة، كما حفظت الجراثيم في المجمدة -20° م، حيث زرعت على وسط NB وإضافة غليسرول 20% للحفاظ مدة سنة (De vos et al., 2009).

5.3 اختبارات التصادية Antagonistic Tests: درست ظاهرة التصادية الحيوية بطريقة الانتشار من الحفر في الآغار Cylinder plate method أو Agar well diffusion method حيث حضر وسط مولر هنتون آغار وفق الشركة الصانعة (ميرك) والتعقيم والصب، ثم فرشت بالعنقوديات المختبرة المزروعة على مرق الآغار مدة 24 ساعة، ثم حفر الوسط 4 حُفر بأسطوانة من الستانلس ستيل معقمة قطرها 6 مم، ولقحت الحفر إما بالمزارع السائلة Liquid cultures أو بالخلاصة المجفدة الخام (مسحوق) Crude Lyophilized extracts من العصوية الرقيقة ثم تحضن بالدرجة 37° م، بعدها قيست هالات التثبيط (عدم النمو) (CLCI 2007, Isenberg 2007).

6.3 تحضير الوسط الزرع للعنقوديات Preparation of Staphylococci culture: زرعت سلاسل العنقوديات على مرق الآغار NB ووضعت في الحاضنة الهزازة بسرعة اهتزاز 150 دورة/د مدة 24 ساعة، ثم حددت الكثافة الضوئية للمزارع ($OD_{600} 0.5 = 1 \times 10^8$ cfu/ml).

7.3 تحضير المزارع السائلة Preparation of Liquid Culture: زرعت جراثيم العصوية الرقيقة في مرق اللاكتوز ثم وضعت في الحاضنة الهزازة بسرعة اهتزاز 150 دورة/د مدة 24 ساعة، ثم حددت الكثافة الضوئية لمزارع العصوية الرقيقة (WPA CO8000, $OD_{600} 0.5 = 5 \times 10^7$ cfu/ml, Biochrome England) ودرس النشاط الصاد لهذه المزارع بأخذ 50 ميكرولتراً من المزرعة السائلة ووضعها في الحفر، ثم قيست أقطار هالات التثبيط بعد حضنها 24 ساعة في الدرجة 37° م، وأجريت ثلاث مكررات لكل سلالة (Bhatta & Kapadnis 2010).

8.3 تحضير الخلاصات المجفدة الخام Preparation of Crude Lyophilized Extracts: زرعت جراثيم العصوية الرقيقة في مرق اللاكتوز ثم وضعت في الحاضنة الهزازة بسرعة

اهتزاز 150 دورة/د مدة 72 ساعة، ثم حددت الكثافة الضوئية لمزارع العسوية الرقيقة، ثم جمع السائل ووثق بسرعة 12000/د مدة 15 دقيقة، ورشح السائل الطافي عبر مرشح جرثومية 0,45 ميكرومتر، جمعت الرشاحات ووضعت في المجمدة -40 م° 6 - 8 ساعات، ثم وضعت في المجمدة مدة 48 - 72 ساعة حتى تمام التجفيد والحصول على مسحوق بني مائل للاصفرار قليلاً (Dechow 1989, Hadad *et al.*, 2009, Bhatta & Kapadnis 2010).

9.3 اختبار التصادية الحيوية للخلاصات المجفدة: درست بطريقة الانتشار من الحفر، حيث أعيد حل الخلاصة في الماء المقطر والمعقم بتركيز 0,5 ملغ/ميكرو لتر، ولقح 20 ميكرو لترًا في كل حفرة على وسط مولر هنتون، وعملت ثلاث مكررات لكل خلاصة (Dechow 1989).

10.3 التركيز الأصغري المثبط للخلاصات المجفدة MIC: حسب طريقة (CLCI 2007) وحسب (Bhatta & Kapadnis 2010)، حلت الخلاصات في الماء المقطر والمعقم بتركيز 0,5 ملغ/ميكرو لتر، ثم حضرت سلسلة من الأنابيب المزروعة بالوسط السائل والعنقوديات (2 مل)، ثم لقحت بالخلاصة المجفدة بتركيز متتالية بدءاً من 1 - 8 ميكروغرامات، علماً أن التركيز المستعمل في طريقة الانتشار هو 10 ميكروغرامات في الحفرة.

11.3 تحديد الزمر الكيميائية في الخلاصات المجفدة بجهاز طيف الأشعة تحت الحمراء FTIR
Determination of Chemical Cliques in the Lyophilized Extracts: حُدِّدت بعض الزمر والوظائف الكيميائية العضوية بمسح طيف الخلاصات على جهاز مطياف الأشعة تحت الحمراء بتحليل فوريير Fourier (Fourier transform infrared FTIR 4200 Jasco,) في مجال محدد بين 400 - 4000 سم⁻¹، والحصول على الطيف بتقنية بروم البوتاسيوم (Japan KBr 100 mg) المجفف في مخلية هواء بالدرجة 100 م° مدة 48 ساعة حيث مزجت الخلاصات مع بروم البوتاسيوم 5 ملغ، وسجل الطيف للوظائف الكيميائية ضمن المجال السابق (Kumar *et al.*, 2009, Bhatta & Kapadnis 2010).

12.3 تحديد صادين حيويين في الخلاصات المجفدة
Determination of Two Antibiotics in the Lyophilized extracts

الاستشراب على صفائح Thin Layer Chromatography TLC: أخذت 5 ميكرو لترات من الخلاصة المجفدة ووضعت على ثلاث صفائح من TLC (Alugram® Sil G Macherey-Nagel,) (Germany) على بعد 2 سم من طرف الصفيحة ووضعت في حوض الترحيل الذي وضعت فيه المحاليل: ميتانول، ماء، كلوروفورم (15، 25، 15) وفصلت المكونات بالمحاليل السابقة، والتركيز الأصلي لكل خلاصة كان 0,5 ملغ/ميكرو لتر، وأظهرت البقع الفعالة بالتعرض للأشعة فوق البنفسجية، وسجلت قيم معامل الانسياب Rf Refractive Index للمركبات الحيوية، بالمعادلة: المسافة التي تقطعها المادة/

المسافة التي تقطعها جبهة المذيب (Al- Bhatta & Kapadnis 2010, Awais *et al.* . 2007, Ajlani & Hasnain 2010).

الاستشراب السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography

HPLC: أنجز الفصل على HPLC لفصل بعض الصادات الحيوية مقارنة بالمواد المعيارية المستعملة وتحديد تراكيزها في الخلاصات، إذ أجري العمل وفق الشروط الآتية: حقنت الخلاصات في عمود الفصل (PREP-ODS C18, Agilent hp 1100, Columbia, MWD, USA)، أما الطور المتحرك فيتألف من محلولين: محلول /A/ 0,1% تري فلوروأسيستيك أسيد (TFA) في الماء، ومحلول /B/ 0,1% تري فلوروأسيستيك أسيد (TFA) في الأستونتريل (ACN)، مررت المكونات بسرعة تدفق 1 مل/د⁻¹ بتدرج من المحلول /A/ 0% إلى المحلول /B/ 50%، على طولي الموجة 215 و 268 نانومتر، ثم جمعت المركبات المفصولة وحددت تراكيزها مقارنة بالمواد المعيارية (Kazakevich & Lobrutto 2007, Chen *et al.*, 2008, Snyder *et al.*, 2010, Corradini 2011, Yuan *et al.*, 2014).

13.3 الطرائق الإحصائية Statistical methods

استعملت الطرائق الإحصائية الآتية: اختبار تحليل التباين وحيد الطور (One Way Anova ver. 17) لمقارنة نتائج أقطار هالات التنشيط للمزارع السائلة والخلاصات المجفدة، وأحد اختبارات التحاليل المتعددة الأبعاد وهو التحليل وفق العوامل المركبة الرئيسية Principal Component Analysis (PCA) (البرنامج Statistica ver.10) لمقارنة تأثير المزارع والخلاصات المجفدة.

النتائج والمناقشة

Results and Discussion



أولاً. عزل وتوزع العصوية الرقيقة والعنقوديات

Isolation and Distribution of *B. subtilis* and Staphylococci

1. العزل والتوزع في التربة Isolation and Distribution in Soils

يبين الجدول 3 نتائج توزع سلالات العصوية الرقيقة وسلالات العنقوديات التي عزلت من الترب في منطقة دمشق، إذ عزلت هذه الجراثيم من بعض الترب ولم تعزل من أخرى، كما يبين الجدول بعض صفات وخصائص هذه الترب، وكانت أعداد سلالات العنقوديات قليلة.

الجدول 3. توزع سلالات العصوية الرقيقة وسلالات العنقوديات في ترب منطقة دمشق.

الموقع	لون التربة	رطوبة التربة	العصوية الرقيقة	العنقودية الذهبية	العنقودية الجلدية	<i>S. warnari</i>	<i>S. xylosus</i>
قاسيون	بيضاء	جافة	2	0	0	2	1
الديماس	سوداء	رطبة قليلاً	0	0	0	0	1
التل	سوداء	رطبة قليلاً	1	0	0	0	0
دوما	سوداء	رطبة	1	0	0	0	0
مليحة	سوداء	رطبة	1	0	0	0	0
الربوة	سوداء	رطبة	1	0	0	1	1
زراعة (عدوي)	سوداء	رطبة	2	1	1	0	0
جديدة	سوداء	جافة	1	0	0	0	0
خان الشيح	سوداء	جافة	1	0	0	0	0
كفرسوسة	سوداء	رطبة	0	0	0	0	2
يعفور	حمراء	رطبة قليلاً	0	0	0	0	0
المجموع			10			10	

2. العزل والتوزع في المياه Isolation and Distribution in Water

يبين الجدول 4 نتائج توزع سلالات العصوية الرقيقة وسلالات العنقوديات التي عزلت من المياه في منطقة دمشق، إذ عزلت هذه الجراثيم من بعض قنوات المياه ولم تعزل من أخرى، وكانت أعدادها قليلة.

3. العزل والتوزع من العينات المرضية والأفراد الأصحاء

Isolation and Distribution from Clinical and Healthy Samples

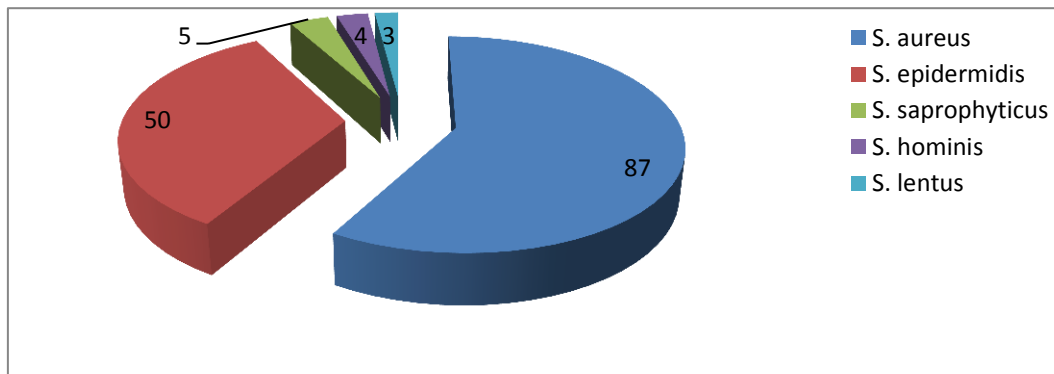
بلغ عدد سلالات العنقوديات 149 سلالة من العينات المرضية والأفراد الأصحاء، العنقودية الذهبية (87 سلالة) تليها العنقودية الجلدية (50 سلالة)، العنقودية الرمامة (5 سلالات)، والعنقودية الإنسانية (4 سلالات)، والعنقودية *S. lentus* (3 سلالات)، ويبين الجدول 5 والشكل 10 نتائج توزع أنواع العنقوديات من المرضى بحسب العينات المرضية ومن الجلد السليم، إذ عزلت من عدد كبير من العينات المرضية كالجلد والعين والأذن والسائل البريتواني والشنت البريتواني الدماغية والسائل الدماغي الشوكي، وانصباب الجنب.

الجدول 4. توزع سلالات العنقودية الرقيقة وسلالات العنقوديات في مياه منطقة دمشق.

الموقع	خصائص المياه	العنقودية الرقيقة	<i>S. aureus</i>	<i>S. xylosus</i>
باب شرقي	مياه ملوثة	2	0	0
الربوة	مياه ملوثة	0	2	1
الهامة	مياه ملوثة	1	0	0
دمر	مياه ملوثة	0	0	0
كفرسوسة	مياه ملوثة	0	0	1
داريا	مياه ملوثة	0	0	0
المجموع		3		4

الجدول 5. توزع أنواع العنقوديات من المرضى بحسب العينات المرضية ومن الجلد السليم.

مصدر العينات	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. lentus</i>
الجلد السليم	23	25	0	2	0
القيوح، الجروح، الخراجات	17	7	1	0	1
السائل الدماغي الشوكي	12	6	0	1	0
فقاع وإنتانات جلدية	11	0	0	1	0
الأذن	7	5	0	0	2
البول	5	2	0	0	0
العين، الملتحمة	4	0	0	0	0
القشع ومفرزات قصبية	3	2	2	0	0
السائل البريتواني والدماغي البريتواني	3	1	2	0	0
الدم	0	1	0	0	0
الحواضن (حديثي الولادة)	0	1	0	0	0
الفتحة التناسلية	1	0	0	0	0
سائل الجنب	1	0	0	0	0
المجموع	87	50	5	4	3



الشكل 10. توزع أعداد أنواع العنقوديات من العينات المرضية والجلد السليم.

ثانياً. نتائج تعريف العصوية الرقيقة والعنقوديات

Results of Identification of *B. subtilis* and Staphylococci

1. تعريف العصوية الرقيقة حسب الاختبارات الحيوية الكيميائية

B. subtilis Identification by Biochemical tests

أجري تعريف 11 سلالة من العصوية الرقيقة بنسبة مئوية تراوحت بين 90 - 100%، بعد مقارنة هذه الصفات بالبيانات في دليل بيرجي 2009 (الشكل 11- أ، ب، ج) .

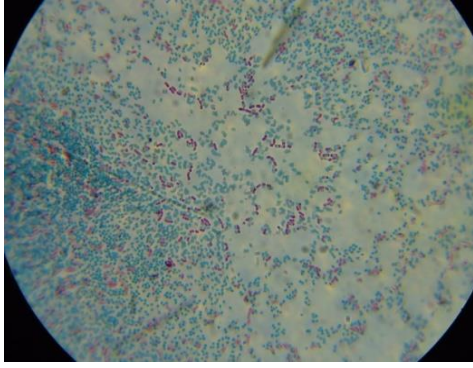
2. تعريف العصوية الرقيقة حسب الطرائق الجزيئية

B. subtilis Identification by Molecular Methods

أجري تصنيف السلالات السابقة بعد تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR (الشكل 11- د)، وإدخال النتائج مع البادئات المستعملة إلى المُسَلِّس، حيث أدخلت البيانات الناتجة موقع NCBI BLAST-n (www.ncbi.nlm.gov/blast) لتحليلها، وأجري البحث عن نوكلوتيدات مشابهة ومطابقتها باستعمال برنامج كروماس 2 (Chromas 2) (الشكل 12)، وحددت سلالات العصوية الرقيقة بالأرقام المرجعية الآتية للسلالات وفق الجدول 6 الآتي:

الجدول 6. أرقام السلالات المعتمدة المدروسة مع مصدرها والأرقام المرجعية بحسب NCBI.

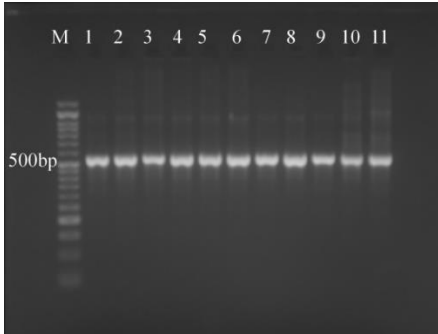
Accession Number الرقم المرجعي	Strain's No. رقم السلالة	مصدر السلالة	
KM052377	BS1A	التل	تربة
KM192148	BS2D	دوما	
KF792061	BS3K	خان الشبح	
KM251459	BS4M	الملوحة	
KF792060	BS5W	الزراعة (عدوي) 1	
KM189125	BS6J	الجديدة	
KF792061	BS9Q	قاسيون 1	
KF792060	BS10Q	قاسيون 2	
KM251459	BS11W	الزراعة (عدوي) 2	
KF792061	BS7SH	باب شرقي 1	
KM189125	BS8SH	باب شرقي 2	
-	BS12R	ربوة	
-	BS13H	هامة	



ب. تلوين أبواغ العصوية الرقيقة بأخضر الملايكة



أ. مزرعة العصوية الرقيقة معزولة من مياه باب شرقي



د. نتائج رحلان الدنا لسلاسل العصوية الرقيقة المورثة 16sRNA
M=50 bp DNA Ladder و 1,25% هلامة الأغاروز



ج. بعض نتائج اختبارات API CHB 50

الشكل 11. بعض نتائج الاختبارات التعريفية لسلاسل العصوية الرقيقة.

Bacillus subtilis strain APSAU198 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: gb|KM251459.1|Length: 879Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 54 to 233GenBankGraphicsNext Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
329 bits(178)	6e-87	179/180(99%)	0/180(0%)	Plus/Plus
Query 1	CTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGTGTTGAACCGC	60		
Sbjct 54	CTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGTGTTGAACCGC	113		
Query 61	ATGGTTCAAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATT	120		
Sbjct 114	ATGGTTCAAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATT	173		
Query 121	GCTAGTTGGTGAGGTAAYGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGA	180		
Sbjct 174	GCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGA	233		

الشكل 12. إحدى نتائج المسلسل على موقع NCBI بحسب برنامج Chromas 2.

3. تعريف العنقوديات حسب الاختبارات الحيوية الكيميائية

Staphylococci Identification by Biochemical tests

بعد إجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية المعتمدة حسب المراجع المذكورة في تعريف العنقوديات أجري

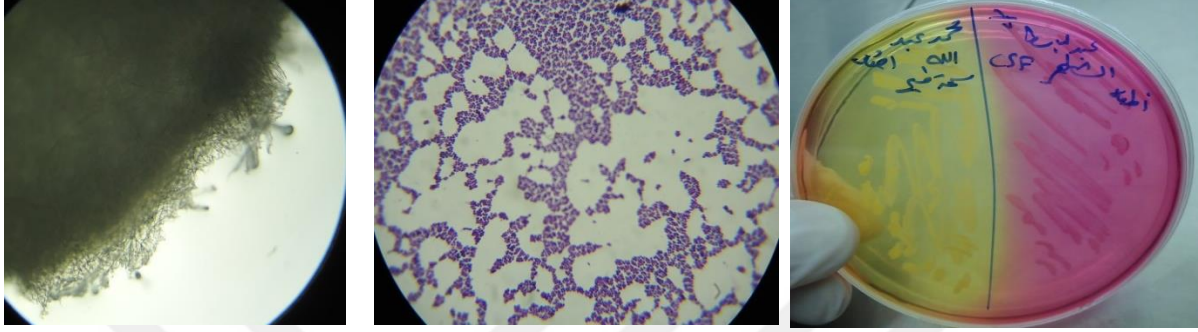
تحديد 163 سلالة موزعة بين سبعة أنواع من العنقوديات بنسبة مئوية تتراوح بين 95 - 100% (الشكل

13- أ، ب، ج، د، هـ).

4. تعريف العنقوديات حسب الطرائق الجزيئية

Staphylococci Identification by Molecular Methods

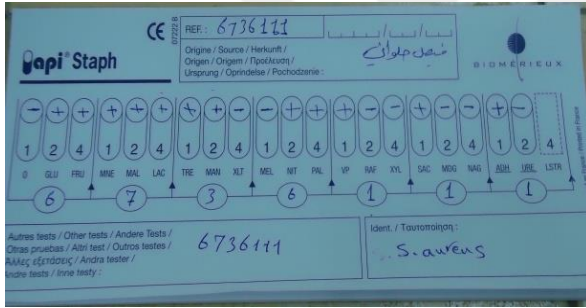
اعتماداً على الاختبارات الجزيئية السابقة في فصل الطرائق، أمكن التحقق من خصائص هذه السلالات بواسطة البادئات المستعملة للمورثات (*16SRNA*, *gap*, *nuc*, *mecA*) Genes حيث تطابقت الاختبارات الحيوية الكيميائية مع الاختبارات الجزيئية (الشكل 14- أ، ب).



ج. اختبار المخثرات

ب. تلوين العنقوديات بصبغة غرام

أ. نمو العنقوديات على وسط MSA



هـ. نتائج اختبار API Staph 20



د. اختبار API Staph 20

الشكل 13. نتائج الاختبارات الحيوية الكيميائية لسلالات العنقوديات.

<p>ب. نتائج رحلان الدنا لسلالات العنقوديات، المورثة <i>gap</i>, <i>nuc</i> هلامة الأغاروز 1,25% و M=50 bp DNA Ladder</p>	<p>أ. نتائج رحلان الدنا لسلالات العنقوديات، المورثة <i>mecA</i> هلامة الأغاروز 1,25% و M=50 bp DNA Ladder</p>

الشكل 14. نتائج الاختبارات الجزيئية لسلالات العنقوديات.

ثالثاً. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات

Liquid Cultures Effect of *B. subtilis* on Staphylococci Strains

1. تأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية

Cultures Effect of *B. subtilis* on *S. aureus*

كانت نتائج تأثير المزارع السائلة لسلالات العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات المعزولة مختلفة حسب سلالة العصوية الرقيقة، وكذلك حسب سلالة العنقوديات إضافة إلى مصدر سلالة العنقودية فيما إذا كانت ممرضة أم من الجلد السليم أم من التربة أم المياه، وتبين الجداول 7 - 14، والأشكال 15 - 19 أقطار حالات التثبيط المتكونة من تأثير المزارع السائلة لسلالات العصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية *S. aureus*، ويلاحظ من هذه البيانات أن مزارع السلالات الآتية: *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* تميزت بتأثير عال في معظم سلالات العنقودية الذهبية ماعدا بعض السلالات المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية، مثل: العنقودية الذهبية S16 المعزولة من خراج، والعنقودية الذهبية S17 المعزولة من قيح، والعنقودية الذهبية S36 المعزولة من فقاغ، وكذلك العنقودية الذهبية S42 المعزولة من جلد سليم، والسلالة S21 المعزولة من فقاغ يلاحظ تأثير السلالة *BS1A* فقط فيها (10 مم)، وهذا على سبيل المثال، أما السلالات الأخرى فيتراوح متوسط أقطار حالات التثبيط من تأثير مزارع السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة في معظم سلالات العنقودية الذهبية بين 8 - 36 مم. أما تأثير مزارع السلالات الأخرى من العصوية الرقيقة: *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J* فكان متوسطاً في بعض السلالات من العنقودية الذهبية وضعيفاً في بعضها الآخر، وتراوح متوسط أقطار حالات التثبيط من السلالات السابقة بين 10 - 20 مم. أما السلالتان الباقيتان *BS13H*, *BS12R* فتأثيرهما في سلالات العنقودية الذهبية أقل من المتوسط في عدد قليل من السلالات وضعيفاً أو معدوماً في سلالات كثيرة أخرى. من الجدولين 7 و 8 يُلاحظ أن تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة لجميع السلالات كان قوياً وواضحاً في كل من سلالات العنقودية الذهبية S22, S23, S28 المعزولة من جلد سليم، والعنقودية الذهبية S24 المعزولة من عينة دماغ، وفيما يتعلق بسلالتي العنقودية الذهبية S27, S29 المعزولتين من عيني قيح، والسلالة S63 المعزولة من حطاطة جلد. من الجدولين 11 و 12 يُلاحظ وجود بضع سلالات من العنقودية الذهبية مثل S51 المعزولة من السائل الدماغي الشوكي، و S52 المعزولة من البول، والسلالة S53, S42 المعزولتين من جلد سليم، وأنها لم تتأثر أو تستجيب لتأثير أي من مزارع العصوية الرقيقة، وكذلك السلالة S84 المعزولة من جرح، كما يتضح من الجدولين 13 و 14.

أما سلالات العنقودية الذهبية التي عزلت من التربة والمياه الملوثة فهي مبينة بالجدولين 13 و 14، فالسلالة S88 معزولة من التربة، والسلالتان S89, S90 معزولتان من مياه ملوثة، إذ يلاحظ تأثير مزارع العصوية الرقيقة فيها ولاسيما مزارع السلالات: *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH*.
الجدول 7. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
10.66±1.15 ^d	0	14.66±2 ^c	18.33±2 ^b	23.66±1.52 ^{a*}	سائل دماغي شوكي	S1
8.66±1.15 ^a	8±0 ^a	0	10.66±1.15 ^a	13±1.73 ^b	سائل دماغي شوكي	S2
17.33±1.15 ^c	8±0 ^d	17.33±1.15 ^c	27.33±1.15 ^b	31.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S3
0	0	0	10.66±1.15 ^b	19±1 ^a	أذن	S4
0	0	13.66±2 ^b	12±0 ^b	22±2 ^a	مفرزات قصبية	S5
0	0	13.33±1.15 ^c	8±0 ^c	21±1 ^b	قبيح	S6
0	0	12.66±0.57 ^b	10.66±1.15 ^b	36.33±3 ^a	عين	S7
0	0	0	0	14.33±4 ^a	قبيح	S8
0	0	0	9.33±1.15 ^b	15.66±0.57 ^a	أذن	S9
0	0	0	8.66±1.15 ^b	14.66±3 ^a	قبيح	S10
0	0	0	8.66±1.15 ^b	16±4 ^a	أذن	S11
0	0	0	8±0 ^a	9.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S12
0	0	0	10±0 ^b	16.33±1.52 ^a	أذن	S13
0	0	0	10±0 ^b	24.33±0.57 ^a	مفرزات قصبية	S14
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	16±2 ^a	شنت دماغي بريتواني	S15
0	0	0	0	0	خراج	S16
0	0	0	0	0	قبيح	S17
0	0	0	11.33±1.15 ^b	18.33±1.15 ^a	قبيح	S18
0	0	0	0	19.66±0.57 ^a	دمامل	S19
0	0	8.66±1.15 ^b	10±0 ^b	14.66±1.15 ^a	خراج	S20
0	0	0	0	10.66±1.15	فقاغ	S21
9.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	12±0 ^a	10±0 ^a	12±0 ^a	جلد سليم وجه	S22
11.33±1.15 ^b	16.66±1.15 ^a	16.66±1.15 ^a	16.66±1.15 ^a	19.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S23
0	0	0	17.33±1.15 ^a	17±1 ^a	دمامل	S24
0	12±0 ^a	11.33±1.15 ^a	0	14±0 ^a	جلد سليم وجه	S25

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 8. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS13H</i>	<i>BS12R</i>	<i>BS8SH</i>	<i>BS7SH</i>	<i>BS6J</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
8.66±1.15 ^h	21±1 ^g	25.66±2 ^f	22.33±2.51 ^e	19.33±1.15 ^e	سائل دماغي شوكي	S1
0	0	10±0	0	0	سائل دماغي شوكي	S2
0	13.33±1.15 ^d	10±0 ^d	8±0 ^d	21±1 ^e	سائل دماغي شوكي	S3
0	0	14±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0	أذن	S4
0	0	12.66±0.57 ^b	10.66±1.15 ^b	0	مفرزات قصبية	S5
0	0	12±0 ^c	10±0 ^c	0	قيح	S6
12±0 ^b	12±0 ^b	14.66±3 ^b	10±0 ^b	10±0 ^b	عين	S7
0	0	14±0 ^a	10.66±1.15 ^a	0	قيح	S8
0	0	12.66±0.57 ^b	12±0 ^b	0	أذن	S9
0	0	12±0 ^a	0	0	قيح	S10
0	0	10±0 ^b	0	0	أذن	S11
0	0	12±0 ^a	0	0	جلد سليم وجه	S12
0	0	12.66±0.57 ^b	10±0 ^b	0	أذن	S13
8±0 ^b	10±0 ^b	11.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	مفرزات قصبية	S14
0	10.66±1.15 ^b	12.66±0.57 ^b	12±0 ^b	0	شنت دماغي بريتواني	S15
0	0	0	0	0	خراج	S16
0	0	0	0	0	قيح	S17
0	0	0	0	0	قيح	S18
0	0	12±0 ^b	12±0 ^b	0	دمامل	S19
10.66±1.15 ^b	0	10.66±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	خراج	S20
0	0	0	0	0	فقاع	S21
11.33±2.30 ^a	11.33±1.15 ^a	18.33±1.15 ^b	15.33±1.15 ^a	12±0 ^a	جلد سليم وجه	S22
16.66±1.15 ^a	16±0 ^a	17.33±2.30 ^a	16±0 ^a	17.33±2.30 ^a	جلد سليم وجه	S23
11.33±1.15 ^b	15±0 ^a	17.33±2.30 ^a	12±0 ^b	19.33±1.15 ^a	دمامل	S24
0	10.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S25

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 9. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

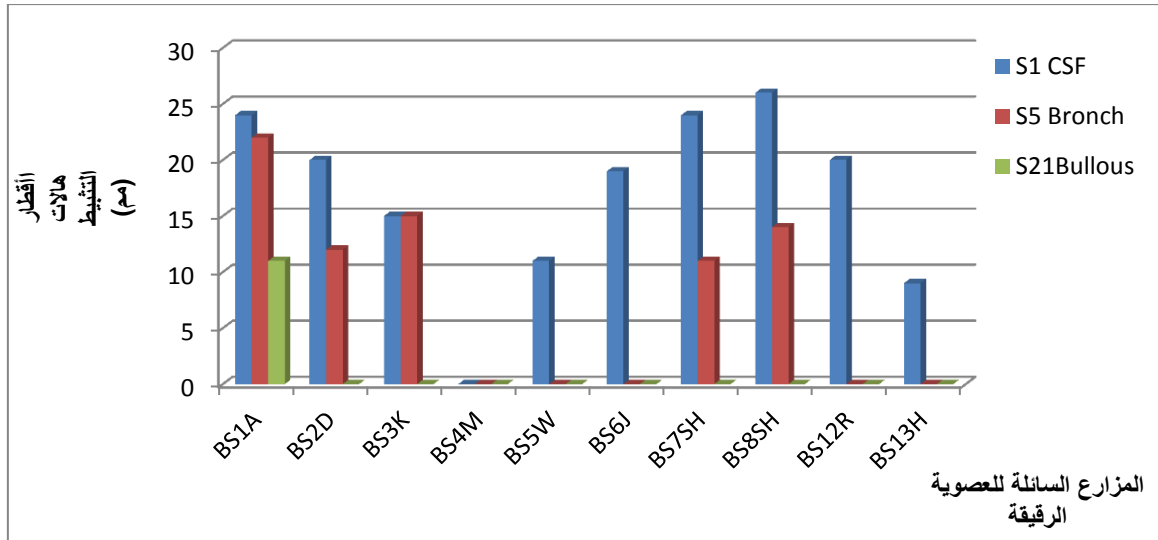
<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	0	18.33±2 ^b	12.66±0.57 ^a	سائل دماغي شوكي	S26
10±0 ^b	8±0 ^b	14.66±2 ^b	14±0 ^b	33.33±1.15 ^a	قيح	S27
18±0 ^b	9.33±1.15 ^c	18±0 ^b	24±2 ^a	23.66±1.52 ^a	جلد سليم يد	S28
15±0 ^a	16.33±1.15 ^b	19.33±1.15 ^b	20±2 ^b	22±2 ^b	قيح	S29
0	0	0	0	18.33±2 ^b	قيح	S30
0	0	0	0	22±1 ^b	خراج	S31
12.66±0.57 ^b	15.66±0.57 ^b	12±0 ^b	16.33±1.15 ^b	18.33±2 ^b	جلد سليم وجه	S32
0	0	0	20±0 ^a	20±2 ^a	جلد سليم وجه	S33
14±0 ^c	0	0	21±1 ^a	22±2 ^a	فتحة تناسلية	S34
11.33±1.15 ^a	12±0 ^a	12±0 ^a	15.66±0.57 ^a	14.66±2 ^a	جلد سليم وجه	S35
0	0	0	0	0	فقاع	S36
0	0	0	8±0 ^a	9.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S37
0	0	0	0	18.33±2 ^a	جلد سليم وجه	S38
0	0	0	10±0 ^a	10.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S39
22±2 ^a	20±0 ^a	20±0 ^a	22±0 ^a	22±2 ^a	جلد سليم وجه	S40
0	0	0	0	16±1 ^a	جلد سليم وجه	S41
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S42
0	0	0	0	21±1 ^a	خراج	S43
0	0	0	0	23±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S44
10.66±1.15 ^a	0	0	13±1.73 ^a	13.33±1.15 ^a	بول	S45
0	0	0	0	0	فقاع	S46
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	22±2 ^a	جلد سليم وجه	S47
0	0	0	0	18.33±2 ^a	قيح	S48
0	0	0	0	19.33±1.15 ^a	خراج	S49
0	0	0	0	16.33±1.52 ^a	قيح	S50

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 10. متوسط أقطار حالات التثبيت (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

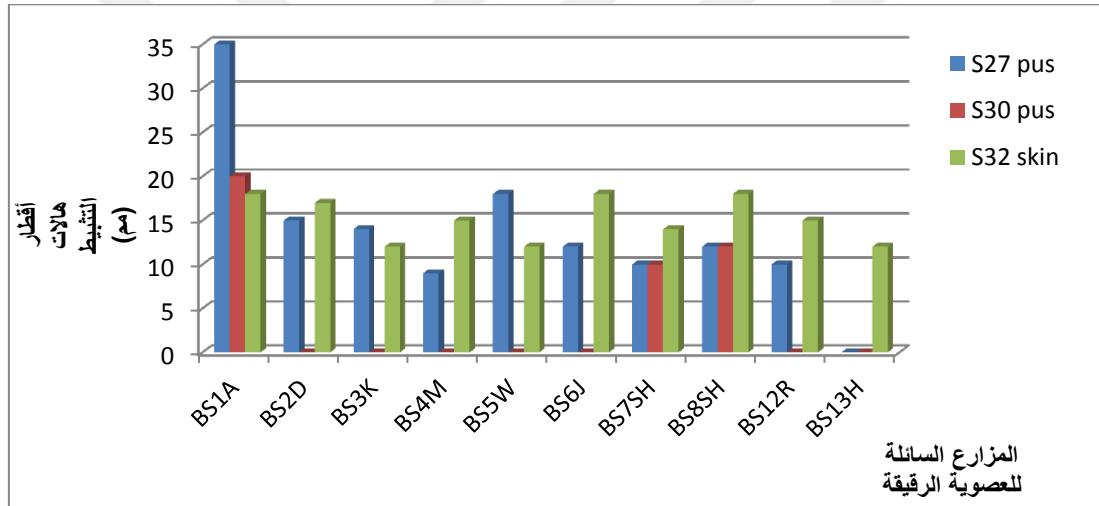
العنقوديات الذهبية	المصدر	BS6J	BS7SH	BS8SH	BS12R	BS13H
S26	سائل دماغي شوكي	0	0	0	0	0
S27	قيح	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	12±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0
S28	جلد سليم يد	21±1.15 ^a	15.33±1.15 ^d	17.33±1.15 ^a	20±1 ^a	18±1.15 ^b
S29	قيح	18.33±2 ^a	18.33±2 ^a	19.33±1.15 ^a	16.66±0.57 ^a	14.33±1.15 ^c
S30	قيح	0	9.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	0	0
S31	خراج	0	9.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	0	0
S32	جلد سليم يد	17.33±1.15 ^b	13.33±1.15 ^b	17.33±1.15 ^b	15±0 ^b	10.66±1.15 ^a
S33	جلد سليم وجه	9.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	0
S34	فتحة تناسلية	9.33±1.15 ^c	12±0 ^c	13±1.73 ^c	10±0 ^c	9.33±1.15 ^c
S35	جلد سليم وجه	10.66±1.15 ^a	12±0 ^a	14±0 ^a	12±0 ^a	15±0 ^a
S36	فقاغ	0	0	0	0	0
S37	سائل دماغي شوكي	0	0	12±0 ^a	0	0
S38	جلد سليم وجه	0	10.66±1.15 ^b	12±0 ^b	0	0
S39	جلد سليم وجه	0	0	11.33±1.15 ^a	0	0
S40	جلد سليم وجه	17.33±1.15 ^a	15.33±0.57 ^a	19.33±1.15 ^a	18.33±1.15 ^a	18.33±2 ^a
S41	جلد سليم وجه	10±0 ^b	0	0	11.33±1.15 ^b	0
S42	جلد سليم وجه	0	0	0	0	0
S43	خراج	0	8.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	0
S44	سائل دماغي شوكي	0	9.33±1.15 ^b	12±0 ^b	0	0
S45	بول	0	9.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	0
S46	فقاغ	0	0	0	0	0
S47	جلد سليم وجه	0	9.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	8±0 ^b	0
S48	قيح	0	8±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0	0
S49	خراج	0	8±0 ^b	10±0 ^b	0	0
S50	قيح	0	8±0 ^b	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

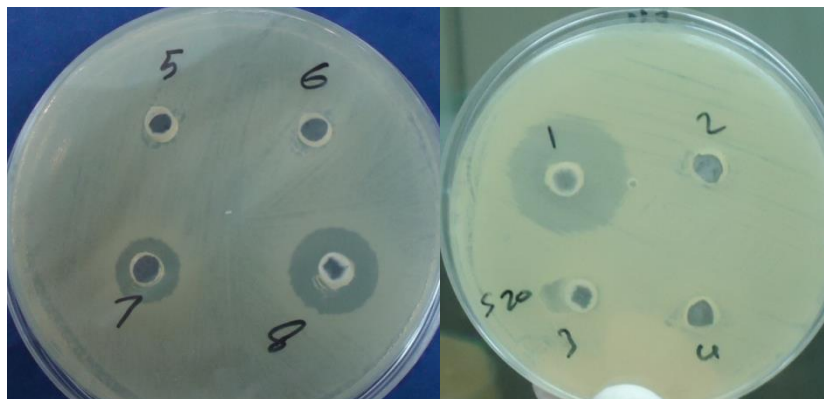


الشكل 15. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية.

S1 CSF السائل الدماغي الشوكي، مفرزات قصبية S5 Bronchial lavages، فقاع S21 Bullous .



الشكل 16. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية، قبح، S27، S30، pus، الجلد S32 skin .



الشكل 17. أقطار هالات التثبيط المتكونة من تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية S8 .

الجدول 11. متوسط أقطار حالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	0	0	0	سائل دماغي شوكي	S51
0	0	0	0	0	بول	S52
0	0	0	0	15±0 ^a	جلد سليم وجه	S53
0	0	0	11.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S54
0	0	0	12±0 ^b	20±0 ^a	فقاغ	S55
12±0 ^b	16±1.15 ^a	9.33±1.15 ^b	14±0 ^a	18.33±2 ^a	دمامل	S56
0	0	9.33±1.15 ^b	0	22±1 ^a	جلد سليم يد	S57
11.33±1.15 ^b	8±0 ^b	8.66±1.15 ^b	12±0 ^b	24±1 ^a	جلد سليم وجه	S58
0	0	0	0	20±1 ^a	جلد سليم وجه	S59
0	0	0	10±0 ^b	21±1 ^a	سائل دماغي شوكي	S60
0	0	0	0	0	تقرحات	S61
10.33±1.15 ^a	14±0 ^a	11.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	14±0 ^a	قوباء أو تقويؤ	S62
14±0 ^a	14±0 ^a	14.66±2 ^a	12±0 ^a	16.33±1.15 ^a	حطاطة جلد	S63
0	0	0	0	20±0 ^a	سائل دماغي شوكي	S64
0	0	0	0	20±0 ^a	أن	S65
0	0	0	0	17.33±1.15 ^a	بول	S66
0	0	0	10±0 ^b	15±0 ^a	بول	S67
0	0	0	0	13.33±1.15 ^a	بول	S68
0	0	0	0	18.33±1.15 ^a	سائل جنب	S69
0	0	0	0	20±1 ^a	سائل دماغي شوكي	S70
0	0	0	0	22±1 ^a	عين	S71
0	0	0	0	21±1 ^a	عين	S72
10±0 ^b	0	0	10±0 ^b	21±1 ^a	سائل بريوتان	S73
0	0	0	0	20±0 ^a	أن	S74
0	0	0	0	20±0 ^a	قيح	S75

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 12. متوسط أقطار حالات التثبيت (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

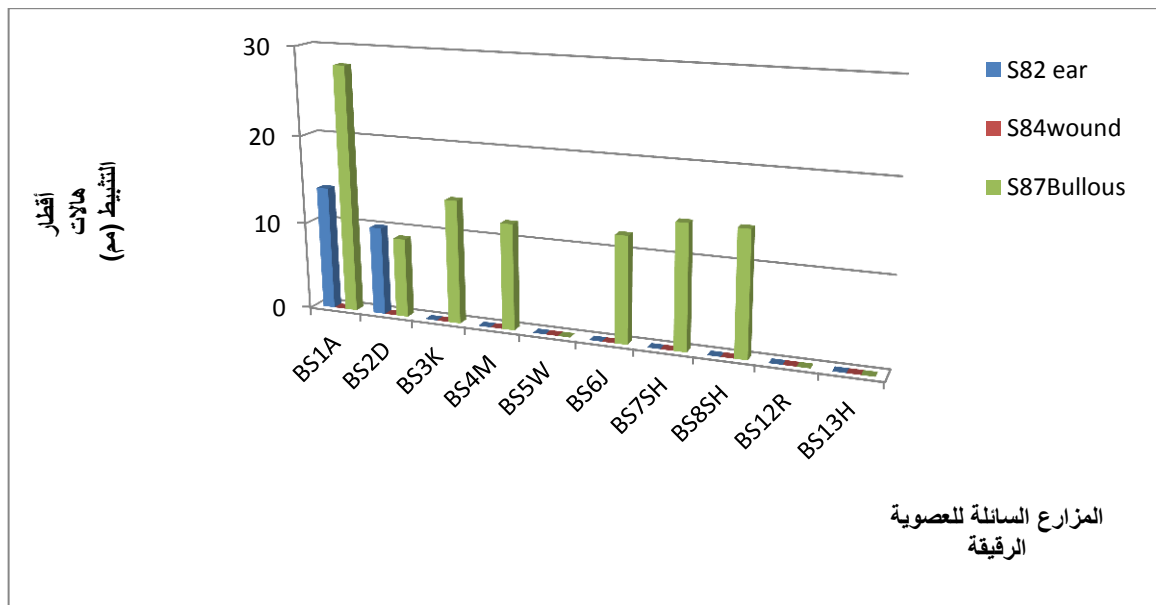
<i>BS13H</i>	<i>BS12R</i>	<i>BS8SH</i>	<i>BS7SH</i>	<i>BS6J</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	0	0	0	سائل دماغي شوكي	S51
0	0	0	0	0	بول	S52
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S53
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S54
0	12±2 ^b	10.66±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	8±0 ^b	فقاغ	S55
12±0 ^b	12±0 ^b	16.66±0.57 ^b	14.66±2 ^b	12±0 ^b	دمامل	S56
0	10.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	10±0 ^b	0	جلد سليم يد	S57
12.66±0.57 ^b	12.66±0.57 ^b	11.33±1.15 ^b	10±0 ^b	13.33±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S58
0	10.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S59
0	11.33±1.15 ^b	12±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S60
0	0	0	0	0	تقرحات	S61
13.33±1.15 ^a	12.66±0.57 ^a	10.66±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	12±0 ^a	قوباء أو تقويؤ	S62
19±0 ^a	15±0 ^a	13.33±1.15 ^a	13±1.73 ^a	15±0 ^a	حطاطة جلد	S63
0	0	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S64
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	0	أذن	S65
0	0	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	بول	S66
0	0	10±0 ^b	8±0 ^b	0	بول	S67
0	10±0 ^a	10±0 ^a	10±0 ^a	0	بول	S68
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	0	سائل جنب	S69
0	0	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S70
0	0	8.66±1.15 ^b	0	0	عين	S71
0	0	12±0 ^b	10±0 ^b	0	عين	S72
0	0	10±0 ^b	0	11.33±1.15 ^b	سائل برنتوان	S73
0	0	10±0 ^b	8±0 ^b	0	أذن	S74
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	0	قيح	S75

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 13. متوسط أقطار حالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

العنقوديات الذهبية	المصدر	BS1A	BS2D	BS3K	BS4M	BS5W
S76	جلد سليم وجه	10±0	0	0	0	0
S77	جلد سليم وجه	17.33±1.15 ^a	16.66±0.57 ^a	15±0 ^a	14±0 ^a	13.33±1.15 ^a
S78	سائل دماغي شوكي	18±0 ^a	10±0 ^b	0	0	0
S79	شنت دماغي بريتواني	18.66±1.15 ^a	12±2 ^b	0	0	0
S80	جرح	20±0 ^a	12.66±0.57 ^b	0	0	0
S81	مفرزات قصبية	19.33±1.15 ^a	17.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	0	0
S82	عين	33.33±1.15 ^a	10±0 ^b	0	0	0
S83	فقاع وصدفية	18.66±1.15 ^a	0	0	0	0
S84	جرح	0	0	0	0	0
S85	سائل دماغي شوكي	21±1 ^a	0	0	0	0
S86	أذن	14±1 ^a	0	0	0	0
S87	فقاع	24.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^b	14.66±0.57 ^c	13±1.73 ^c	0
S88	تربة	15±0 ^a	8.66±1.15 ^b	6.66±0.57 ^b	0	0
S89	مياه	10±0 ^a	8±0 ^a	0	0	0
S90	مياه	8±0 ^a	8±0 ^a	0	0	0

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



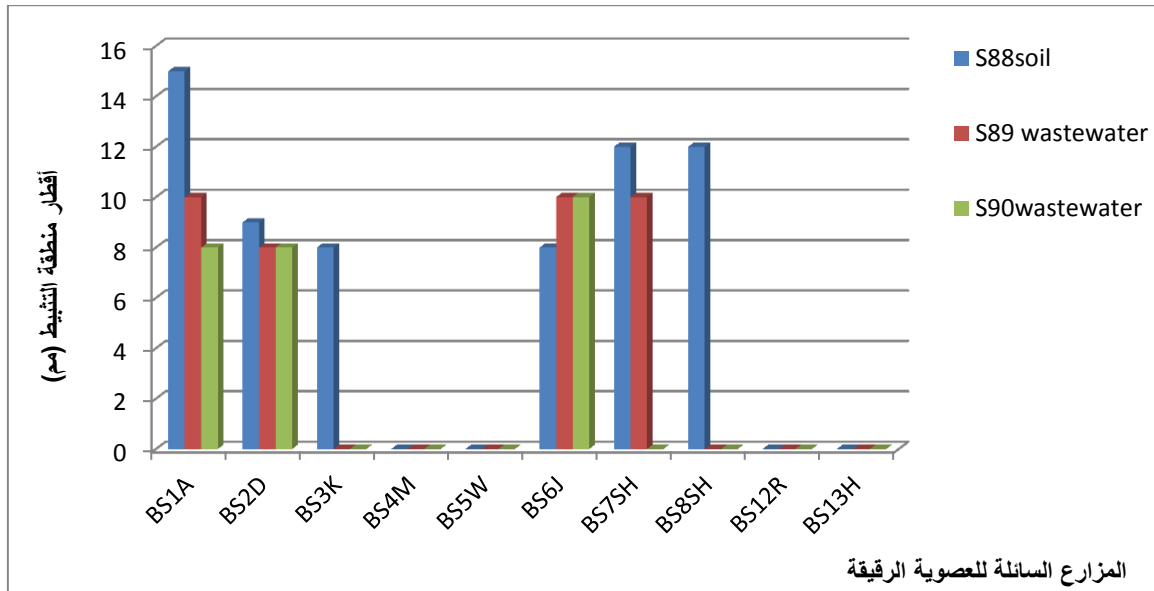
الشكل 18. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية.

الأذن S82 ، جرح S84 wound ، فقاع S87 Bullous.

الجدول 14. متوسط أقطار حالات التثبيت (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

العنقوديات الذهبية	المصدر	BS6J	BS7SH	BS8SH	BS12R	BS13H
S76	جلد سليم وجه	0	0	0	0	0
S77	جلد سليم وجه	17.33±1.15 ^a	15±0 ^a	15±0 ^a	14.33±1.15 ^a	15.33±1.15 ^a
S78	سائل دماغي شوكي	0	0	0	0	0
S79	شنت دماغي بريتواني	9.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	0	0
S80	جرح	0	10±0 ^b	13.33±1.15 ^b	0	0
S81	مفرزات قصبية	10.66±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	0
S82	عين	0	0	0	0	0
S83	فقاغ وصدفية	0	10±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0	0
S84	جرح	0	0	0	0	0
S85	سائل دماغي شوكي	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	11.33±1.15 ^b	0	0
S86	أذن	0	9.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	0
S87	فقاغ	12.66±0.57 ^c	15±0 ^c	15±1 ^c	0	0
S88	تربة زراعة (عدوي)	8.66±1.15 ^b	12±0 ^a	12±0 ^a	0	0
S89	مياه ريوة	10±0 ^a	9.33±1.15 ^a	0	0	0
S90	مياه ريوة	10±0 ^a	0	0	0	0

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 19. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية المعزولة من التربة S88 والمياه الملوثة S89, S90.

2. تأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية

Cultures Effect of *B. subtilis* on *S. epidermidis*

تبين الجداول 15 - 18 والشكلان 20 و 21 نتائج تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الجلدية المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية، ويلاحظ أن مزارع السلالات الآتية: *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* تميزت بتأثير عال في معظم سلالات العنقودية الجلدية ماعدا بعض السلالات المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية، مثل سلالاتي العنقودية الجلدية *S101*, *S103* المعزولتين من جلد سليم، أما السلالات الأخرى فيتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من تأثير مزارع السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة بين 8 - 35 مم.

أما تأثير مزارع السلالات الأخرى: *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J* فكان متوسطاً في بعض السلالات من العنقودية الجلدية وضعيفاً في بعضها الآخر، وتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من السلالات السابقة بين 10 - 20 مم.

أما تأثير المزارع السائلة للسلالتين *BS13H*, *BS12R* في سلالات العنقودية الجلدية فكان في بعض السلالات ضعيفاً ومعدوماً في سلالات باستثناء بعض السلالات القليلة.

من الجدولين 15 و 16 يلاحظ أن تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة لجميع السلالات كان قوياً وواضحاً في كل من سلالات العنقودية الجلدية *S94*, *S107*, *S114* المعزولة من جلد سليم، والعنقودية الجلدية *S134* المعزولة من أذن، كذلك الأمر فيما يتعلق بالعنقودية الجلدية *S140* المعزولة من حالة قبيح.

من الجداول 15 - 18 يُلاحظ وجود بضع سلالات من العنقودية الجلدية مثل *S101* المعزولة من مفرزات قصبية والسلالتين *S131*, *S138* المعزولتين من السائل الدماغي الشوكي، و *S119* المعزولة من الأذن، لوحظ أنها لم تتأثر أو تستجيب لتأثير أي من مزارع العصوية الرقيقة، ويلاحظ أن السلالة *S125* المعزولة من الحواضن استجابت لتأثير مزارع السلالات: *BS1A*, *BS7SH*, *BS8SH* فقط.

يُلاحظ أن استجابة سلالات العنقودية الجلدية المعزولة من جلد سليم من اليد أو الوجه متوسطة أمام تأثير جميع المزارع السائلة للعصوية الرقيقة باستثناءات طفيفة.

أما سلالات العنقودية الجلدية التي عزلت من التربة والمياه الملوثة فهي مبينة بالجدولين 17 و 18، وهي سلالة واحدة *S141* معزولة من التربة، إذ يلاحظ أنها لم تتأثر بمزارع العصوية الرقيقة باستثناء *BS7SH*, *BS8SH*.

الجدول 15. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

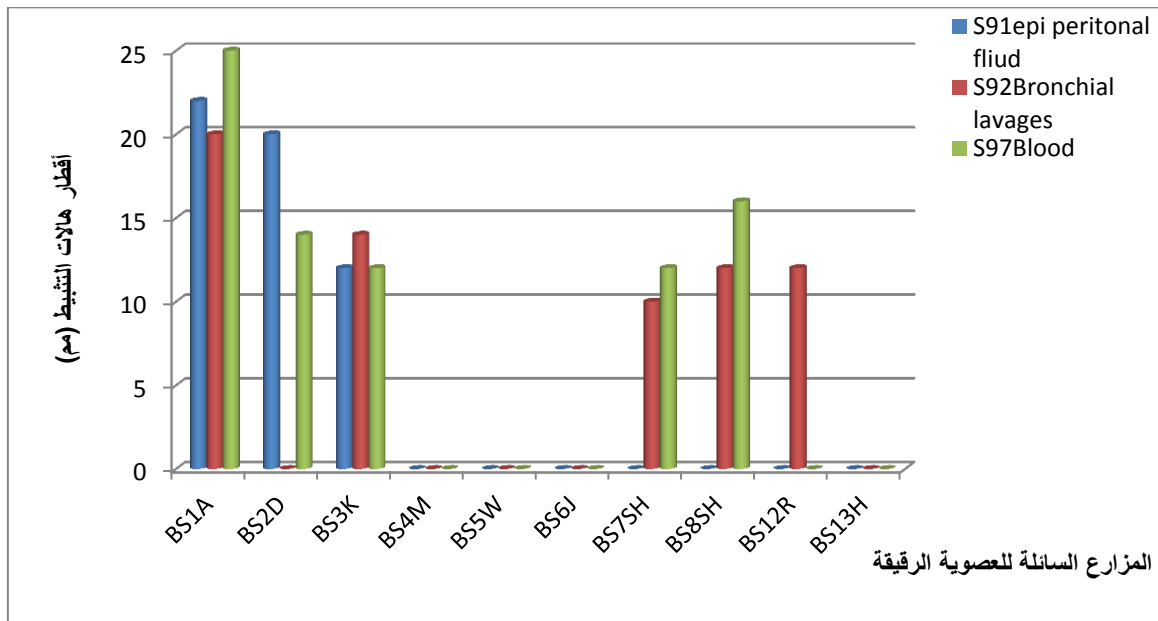
<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	0	11.33±1.15 ^b	21±1 ^a	21.33±1.15 ^a	سائل بريتواني	S91
0	0	12.66±0.57 ^b	0	21±1 ^a	مفرزات قصبية	S92
0	0	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	27.33±1.15 ^a	أذن	S93
13±1.73 ^b	14±0 ^b	16±0 ^b	14±0 ^b	20±0 ^a	جلد سليم وجه	S94
0	0	0	10.66±1.15 ^b	19.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S95
0	0	13.33±1.15 ^b	14±0 ^b	34.33±1.15 ^a	جلد سليم يد	S96
0	0	12±0 ^b	13.33±1.15 ^b	25.33±1.15 ^a	دم	S97
0	0	11.33±1.15 ^b	0	20±2 ^a	سائل دماغي شوكي	0S98
0	0	0	0	15±0 ^a	بول	S99
0	0	10.66±1.15 ^b	0	16±0 ^a	أذن	S100
0	0	0	0	13±1.73 ^a	مفرزات قصبية	S101
0	0	0	0	17.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S102
0	0	0	0	0	جلد سليم يد	S103
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S104
8±0 ^a	9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	8±0 ^a	13±1.73 ^b	جلد سليم وجه	S105
0	11.33±1.15 ^b	15±1 ^c	11.33±1.15 ^b	24±2 ^a	جلد سليم وجه	S106
12.66±0.57 ^c	8±0 ^c	16.66±0.57 ^b	20.66±0.57 ^b	33±2 ^a	جلد سليم وجه	S107
0	0	0	25±1 ^a	28±2 ^a	جرح	S108
0	0	12±0 ^b	30±0 ^a	30.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S109
0	0	0	26±1 ^a	26.66±0.57 ^a	جلد سليم وجه	S110
0	0	0	0	20±0 ^a	جلد سليم وجه	S111
0	0	0	0	21±1 ^a	جلد سليم وجه	S112
0	0	0	9.33±1.15 ^b	25±1 ^a	جلد سليم يد	S113
11.33±1.15 ^b	13±1.73 ^b	13.33±1.15 ^b	10±0 ^b	16.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S114
0	0	10±0 ^b	0	22±2 ^a	جلد سليم وجه	S115

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

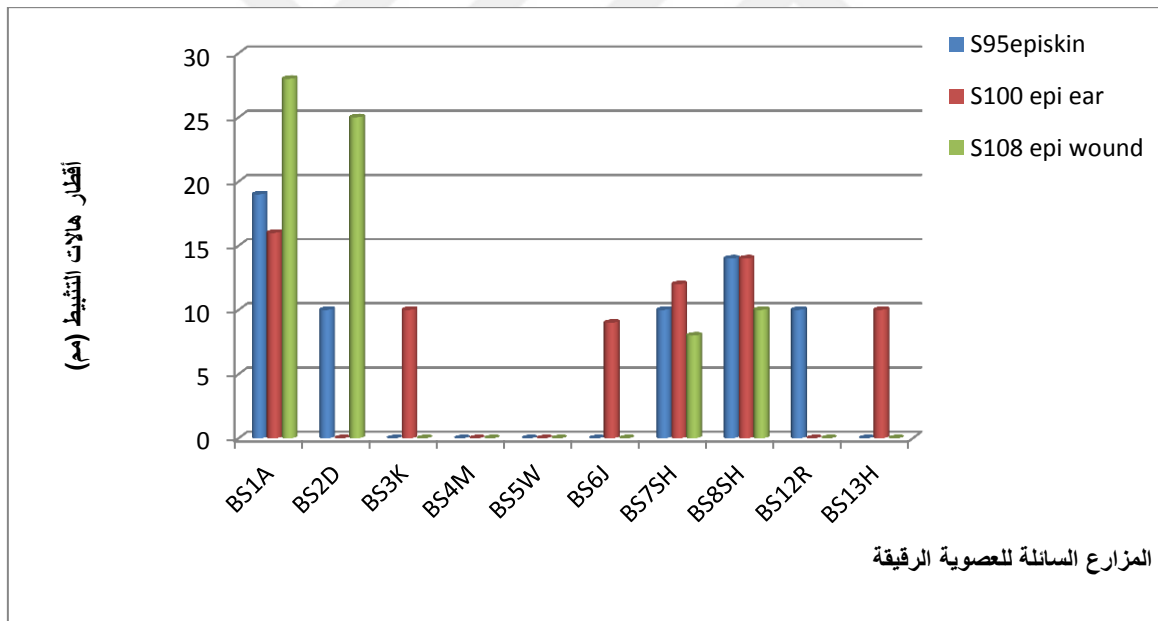
الجدول 16. متوسط أقطار حالات التثبيت (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

<i>BS13H</i>	<i>BS12R</i>	<i>BS8SH</i>	<i>BS7SH</i>	<i>BS6J</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	11.33±1.15 ^b	0	0	0	سائل بريوتواني	S91
0	12.66±0.57 ^b	12±0 ^b	10±0 ^b	0	مفرزات قصبية	S92
0	0	16.66±0.57 ^c	18.33±2 ^c	0	أذن	S93
12.66±0.57 ^b	15.33±1.15 ^c	14.66±2 ^c	9.33±1.15 ^b	13±1.73 ^b	جلد سليم وجه	S94
0	9.33±1.15 ^b	14.66±2 ^b	9.33±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S95
0	15±1 ^b	17±1 ^b	0	14.66±2 ^b	جلد سليم يد	S96
0	0	17.33±1.15	12±0	0	دم	S97
0	0	14.66±2 ^b	12.66±0.57 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S98
0	0	16±0 ^a	12.66±0.57 ^a	0	بول	S99
10±0 ^b	0	14±0 ^a	12±0 ^b	9.33±1.15 ^b	أذن	S100
0	0	0	0	0	مفرزات قصبية	S101
0	0	12.66±0.57 ^b	10±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S102
0	0	10.66±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	0	جلد سليم يد	S103
0	0	16±0 ^b	10±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S104
0	0	9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S105
0	12.66±0.57 ^b	10.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	12.66±0.57 ^b	جلد سليم وجه	S106
0	18.33±2 ^b	10.66±1.15 ^c	0	14±2 ^b	جلد سليم وجه	S107
0	0	10.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	جرح	S108
0	0	14±0 ^b	0	0	جلد سليم وجه	S109
0	9.33±1.15 ^b	12±0 ^b	0	0	جلد سليم وجه	S110
0	12±0 ^b	12±0 ^b	10±0 ^b	11.33±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S111
0	8.66±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	0	0	جلد سليم وجه	S112
11.33±1.15	14.66±2	13.33±1.15	10±0	12±0	جلد سليم يد	S113
14.66±2 ^b	11.33±1.15 ^b	15±1 ^b	12±0 ^b	13.33±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S114
0	8±0 ^b	11.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S115

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 20. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الجلدية، السائل البريتواني S91 peritoneal fluid، مفرزات قصبية S92 bronchial lavages ، دم S97 Blood.



الشكل 21. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الجلدية S95, S100, S108.

الجدول 17. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	0	0	0	27±1 ^a	جلد سليم وجه	S116
11.33±1.15 ^b	13.33±1.15 ^b	0	0	18.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S117
12±0 ^b	0	0	10±0 ^b	31.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S118
0	0	0	0	0	أذن	S119
0	0	0	0	24±1 ^a	جلد سليم وجه	S120
7.33±1.15 ^b	0	0	0	19.33±1.15 ^a	خراج	S121
0	0	0	0	31.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S122
0	0	0	0	26.66±0.57 ^a	سائل دماغي شوكي	S123
0	0	0	0	21±1 ^a	جرح	S124
0	0	0	0	28±2 ^a	حواضن	S125
0	0	9.33±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	16.66±0.57 ^a	سائل دماغي شوكي	S126
0	0	0	15±1 ^a	0	جلد سليم يد	S127
0	0	0	0	31.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S128
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S129
13±2 ^a	14.66±2 ^a	14.66±2 ^a	14.66±2 ^a	16.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S130
0	0	0	0	0	سائل دماغي شوكي	S131
0	0	0	0	17.33±1.15 ^a	بول	S132
0	0	0	0	20±0 ^a	جرح	S133
12±0 ^c	19.33±1.15 ^b	16.33±1.15 ^b	16±0 ^b	22.66±0.57 ^a	أذن	S134
0	0	0	14.66±2 ^b	19.33±1.15 ^a	خراج	S135
0	0	0	10±0 ^b	16±0 ^a	جرح	S136
12±0 ^c	0	9.33±1.15 ^c	15 ^b	20±0 ^a	أذن	S137
0	0	0	10±0 ^b	15±0 ^a	جلد سليم وجه	S138
10.66±1.15 ^b	0	0	10±0 ^b	17.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S139
11.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	12±0 ^a	قيح	S140
0	0	0	0	0	تربة زراعة (عدوي)	S141

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 18. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

العنقوديات الجلدية	المصدر	BS6J	BS7SH	BS8SH	BS12R	BS13H
S116	جلد سليم وجه	0	9.33±1.15 ^b	14.66±2 ^b	9.33±1.15 ^c	0
S117	جلد سليم وجه	17.33±1.15 ^a	0	0	11.33±1.15 ^b	18.33±1.15 ^a
S118	جلد سليم وجه	0	12±0 ^b	14.66±2 ^b	10.66±1.15 ^b	0
S119	أذن	0	0	0	0	0
S120	جلد سليم وجه	0	8.66±1.15 ^b	12±0 ^b	11.33±1.15 ^b	0
S121	خراج	8±0 ^b	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0
S122	سائل دماغي شوكي	0	0	0	11.33±1.15 ^b	0
S123	سائل دماغي شوكي	0	11.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	12±0 ^b	0
S124	جرح	0	10±0 ^b	10±0 ^b	0	0
S125	حواضن	0	13.33±1.15 ^b	12±0 ^b	12±0 ^b	0
S126	سائل دماغي شوكي	0	8.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	0
S127	جلد سليم يد	17.33±1.15 ^a	10±0 ^a	10±0 ^a	15±1 ^a	16±1 ^a
S128	سائل دماغي شوكي	14.66±2 ^a	11.33±1.15 ^a	14.66±2 ^a	0	0
S129	جلد سليم وجه	0	0	0	0	0
S130	جلد سليم وجه	16±0 ^a	15.33±1.15 ^a	14±0 ^a	14±0 ^a	14±0 ^a
S131	سائل دماغي شوكي	0	0	0	0	0
S132	بول	0	0	0	10±0 ^b	0
S133	جرح	0	14±0 ^a	11.33±1.15 ^a	0	0
S134	أذن	18.33±2 ^b	12±0 ^c	11.33±1.15 ^c	16.66±1.15 ^b	18.33±2 ^b
S135	خراج	0	10±0 ^c	11.33±1.15 ^c	0	0
S136	جرح	15.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	0
S137	أذن	0	10±0 ^c	12±0 ^c	9.33±1.15 ^c	0
S138	جلد سليم وجه	0	0	0	0	0
S139	جلد سليم وجه	12±0	12±0	13.33±1.15	10±0	0
S140	قيح	12±0 ^a	14±0 ^a	18.33±2 ^b	0	0
S141	تربة زراعة (عدوي)	0	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	0

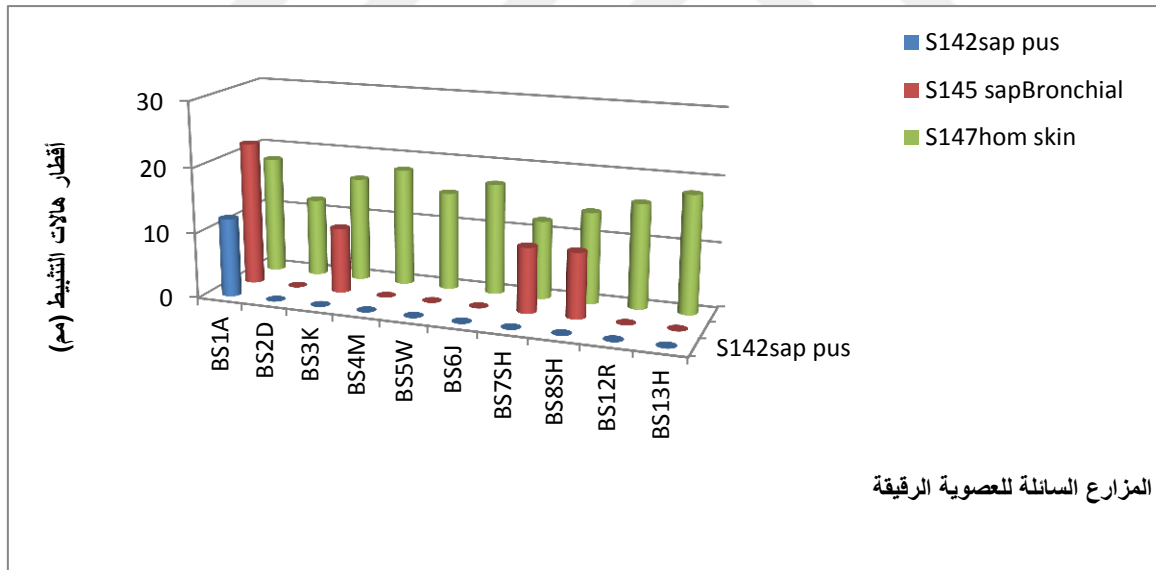
* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

3. تأثير مزارع العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الرمامة والإنسانية و *S. lentus*

Effect of *B. subtilis* Cultures on *S. saprophyticus*, *S. hominis* and *S. lentus* Strains

يبين الجدولان 19 و 20 والشكل 22 نتائج تأثير مزارع العصوية الرقيقة في العنقودية الرمامة والإنسانية و *S. lentus*، إذ إن العنقودية الرمامة S143 المعزولة من السائل أو الشنت البريتواني الدماغي، وكذلك العنقودية الرمامة S144 المعزولة من مفرزات قصبية لم تتأثر بأي من مزارع العصوية الرقيقة، من جهة أخرى فإن سلالاتي العنقودية الإنسانية S148 و S149 المعزولتين من عينة فقاغ لم تتأثر بمزارع العصوية الرقيقة.

أما سلالاتي العنقودية *S. lentus* S151 المعزولة من الأذن و S153 المعزولة من خراج كبدي فلم تستجب لتأثير مزارع العصوية الرقيقة باستثناء تأثير مزارع السلالات: *BS1A*, *BS7SH*, *BS8SH* فيها. ويبين الجدولان 19 و 20 والشكلان 23 و 24 نتائج تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات المعزولة من التربة والمياه، مثل: *S. warnari*, *S. xylosus*، إذ يلاحظ تأثير السلالات *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* في معظم هذه السلالات بوضوح، أما السلالات الأخرى فلم تؤثر فيها.



الشكل 22. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقوديات الأخرى الرمامة والإنسانية S142, S145, S147.

الجدول 19. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الأخرى.

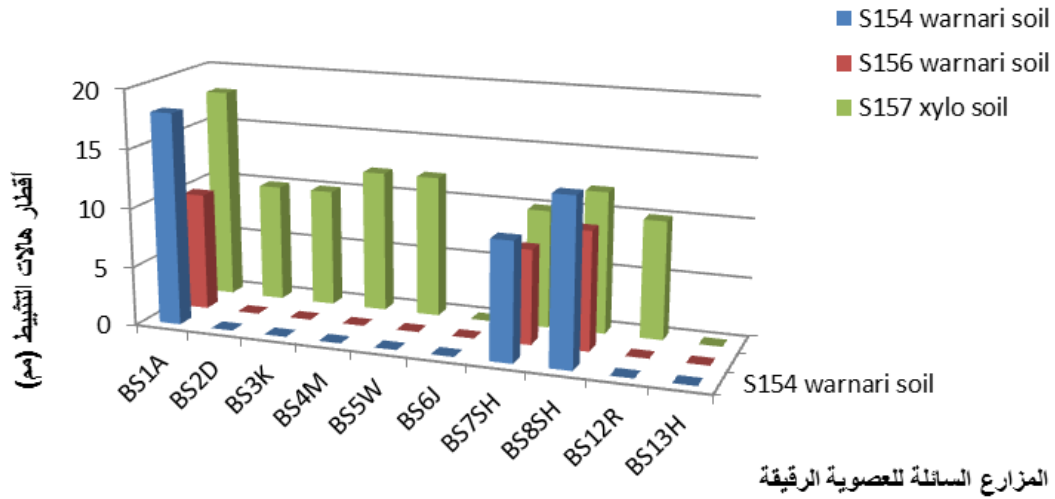
BS5W	BS4M	BS3K	BS2D	BS1A	المصدر	العنقوديات	الرقم
0	0	0	0	11.33±1.15	قيح	العنقودية الرمامة	S142
0	0	0	0	0	سائل بريوتواني دماغي		S143
9.33±1.15 ^a	0	0	0	0	قشع (مفرزات قصبية)		S144
0	0	0	0	21±1 ^a	قشع (مفرزات قصبية)		S145
10±1 ^a	10±0 ^a	12±0 ^a	0	12.66±0.57 ^a	سائل بريوتواني		S146
14.66±2 ^c	16±1 ^c	22.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	18.33±2 ^c	اليد		S147
0	0	0	0	22.33±1.15 ^a	فقاع	العنقودية الإنسانية	S148
0	0	0	0	0	فقاع		S149
8.66±1.15 ^b	0	0	8.66±1.15 ^b	14.66±2 ^a	وجه		S150
0	0	0	0	0	أذن	<i>S. lentus</i>	S151
0	0	0	0	15±1 ^a	أذن		S152
0	0	0	0	15±0 ^a	خراجة كبدية		S153
0	0	0	0	18.66±1.15 ^a	تربة قاسيون	<i>S. warnari</i>	S154
0	0	0	0	18.33±2 ^a	تربة قاسيون		S155
0	0	0	0	10±0 ^a	تربة ريوه		S156
11.33±1.15 ^b	12±0 ^b	10±0 ^b	10.66±1.15 ^b	18.33±2 ^a	تربة قاسيون	<i>S. xylosus</i>	S157
0	0	0	8.66±1.15 ^a	10±0 ^a	تربة ريوه		S158
0	0	10±0 ^b	0	17.33±1.15 ^a	تربة كفسوسة		S159
11.33±1.15 ^b	0	0	0	17.33±1.15 ^a	تربة كفسوسة		S160
0	0	0	0	0	تربة ديماس		S161
0	0	0	0	0	مياه ريوه		S162
0	0	0	0	0	مياه كفسوسة		S163

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

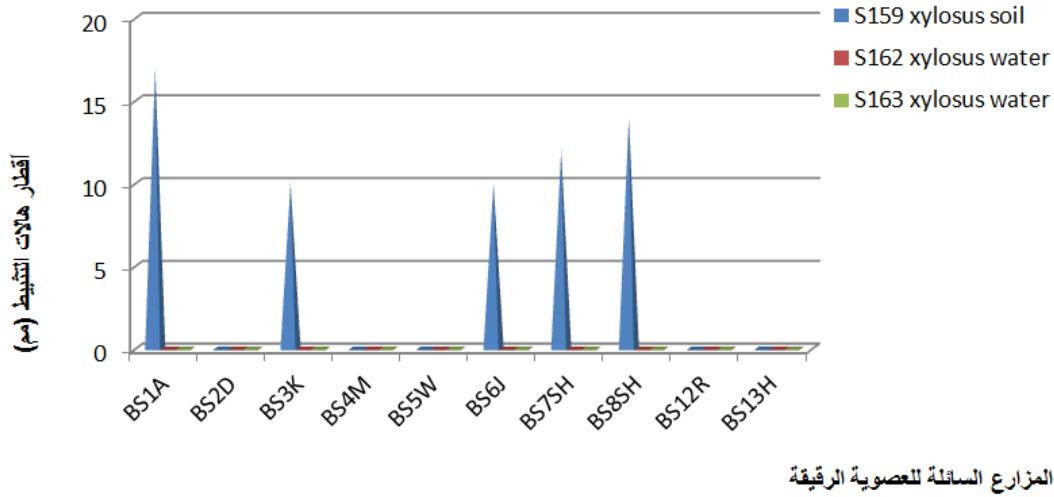
الجدول 20. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير مزارع العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الأخرى.

BS13H	BS12R	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات	الرقم
0	0	0	0	0	قيح	العنقودية	S142
0	0	10.66±1.15 ^a	10±0 ^a	0	سائل بريوتاني دماغي	الرمامة	S143
0	10±0 ^a	0	0	0	قشع (مفرزات قصبية)		S144
0	0	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	قشع (مفرزات قصبية)		S145
0	0	10.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	سائل بريوتاني		S146
18±0 ^c	14.66±2 ^c	13.66±1.15 ^b	12±0 ^b	16±0 ^c	اليد	العنقودية	S147
0	0	0	0	0	فقاغ	الإنسانية	S148
0	0	0	0	0	فقاغ		S149
0	13±1.73 ^a	10±0 ^b	8.66±1.15 ^b	0	وجه		S150
0	0	0	0	0	أذن	S. lentus	S151
0	0	0	0	0	أذن		S152
0	0	10.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	خراجة كبدية		S153
0	0	14.66±2 ^b	9.33±1.15 ^b	0	تربة قاسيون	S. warnari	S154
0	0	11.33±1.15 ^b	10±0 ^b	0	تربة قاسيون		S155
0	0	9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	0	تربة ريوه		S156
0	10±0 ^b	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	0	تربة قاسيون	S. xylosus	S157
0	0	10±0 ^a	8±0 ^a	0	تربة ريوه		S158
0	0	13.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	تربة كفسوسة		S159
10.66±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	10±0 ^b	14.66±2 ^a	تربة كفسوسة		S160
0	0	0	0	0	تربة ديماس		S161
0	0	0	0	0	مياه ريوه		S162
0	0	0	0	0	مياه كفسوسة		S163

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 23. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقوديات المعزولة من التربة S154, S156, S157.



الشكل 24. تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقوديات المعزولة من التربة والمياه S159, S162, S163.

رابعاً. تأثير الخلاصات المجفدة من العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات

Effect of *B. subtilis* Lyophilized Extracts on Staphylococci

1. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية Lyophilized Extracts

Effect of *B. subtilis* on *S. aureus*

تبين أن نتائج تأثير الخلاصات المجفدة من سلالات العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات المعزولة مختلفة حسب سلالة العصوية الرقيقة، أو سلالة العنقوديات، إضافة إلى مصدر سلالة العنقودية فيما إذا كانت ممرضة أم من الجلد السليم أم من التربة أو المياه.

استبعدت السلالتان *BS13H*, *BS12R* اللتان استعملتا في دراسة تأثير المزارع، في دراسة تأثير الخلاصات المجفدة لأن تأثيرهما كان ضعيفاً أو معدوماً في معظم سلالات العنقوديات، إضافة إلى أن نسبة التصنيف الكيميائي لم تزد على 85%، ووضعت مكانهما السلالتان *BS9Q*, *BS10Q* المعزولتان من تربة قاسيون إذ إنهما لم تكونا معزولتين عند دراسة تأثير المزارع السائلة.

تظهر الجداول 21 - 28 والأشكال 25 - 27 نتائج تأثير الخلاصات المجفدة من العصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية *S. aureus*، ويُلاحظ أن خلاصات السلالات الآتية: *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* تميزت بتأثير عال في معظم سلالات العنقودية الذهبية ماعدا بعض السلالات المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية مثل العنقودية الذهبية S36 المعزولة من فقاع، وكذلك العنقودية الذهبية S42 المعزولة من جلد سليم، وهذا على سبيل المثال، أما السلالات الأخرى فيتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من تأثير خلاصات السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة بين 8 - 40 مم. أما تأثير خلاصات السلالات الأخرى: *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J*, *BS10Q* فكان متوسطاً تجاه بعض السلالات وضعيفاً تجاه بعض السلالات الأخرى من العنقودية الذهبية، ويتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من السلالات السابقة بين 8 - 20 مم. من الجدولين 23 و 24 يُلاحظ أن تأثير خلاصات العصوية الرقيقة لجميع السلالات كان قوياً وواضحاً في سلالتي العنقودية الذهبية S28, S39, المعزولتين من جلد سليم، وسلالة العنقودية الذهبية S45 المعزولة من عينة البول. من الجدولين 23 و 24 يُلاحظ وجود بضع سلالات من العنقودية الذهبية مثل السلالة S42 المعزولة من جلد سليم، والسلالة S50 المعزولة من عينة قيح، لم تتأثر بأي من خلاصات العصوية الرقيقة، كذلك السلالتان S30, S33 لم تتأثرا بأي من خلاصات العصوية الرقيقة باستثناء السلالتان *BS7SH*, *BS8SH*. يلاحظ أن السلالة S64 المعزولة من عينة سائل دماغي شوكي لم تتأثر بأي من الخلاصات ما عدا خلاصة *BS1A* إذ بلغ قطر هالة التثبيط 21 مم، أما السلالة S73 المعزولة من عينة سائل بريتوان فلم تتأثر بأي خلاصة ما عدا خلاصة *BS1A* إذ بلغ قطر هالة التثبيط 12 مم، وخلاصتي السلالتين *BS7SH*, *BS8SH* إذ بلغ قطر هالة التثبيط 15 و 8 مم على التوالي. أما سلالات العنقودية الذهبية التي عزلت من التربة والمياه الملوثة فهي مبينة بالجدولين 27 و 28، فالسلالة S88 معزولة من التربة، والسلالتان S89, S90 معزولتان من مياه ملوثة، إذ يُلاحظ تأثير خلاصات العصوية الرقيقة فيها ولاسيما خلاصات السلالات *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH*.

الجدول 21. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
8±0 ^b	10±0 ^b	8±0 ^b	12.66±1.15 ^b	29.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S1
0	0	0	15.33±1.15 ^b	30.33±0.57 ^a	سائل دماغي شوكي	S2
8±0 ^c	10±0 ^c	8±0 ^c	23.33±1.15 ^b	40.66±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S3
0	0	0	12.66±1.15 ^b	29.33±1.15 ^a	أذن	S4
0	0	0	0	0	مفرزات قصبية	S5
0	0	0	15.33±1.15 ^b	30.33±0.57 ^a	قيح	S6
0	0	0	20.66±1.15 ^b	40.66±1.15 ^a	عين	S7
0	0	0	14.33±0.57 ^b	28.66±1.15 ^a	قيح	S8
0	0	0	14±0 ^a	13.33±2.88 ^a	أذن	S9
0	0	0	0	18.66±1.15 ^a	قيح	S10
0	0	0	10±0 ^a	14.66±1.15 ^a	أذن	S11
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S12
			18.66±1.15 ^a	0	أذن	S13
0	0	0	0	0	مفرزات قصبية	S14
0	0	0	10±0 ^b	20.66±1.15 ^a	شنت دماغي بريتواني	S15
0	0	0	0	0	خراج	S16
			10.66±1.15 ^a	14±0 ^a	قيح	S17
0	0	0	15.33±1.15 ^a	0	قيح	S18
0	0	0	12±2 ^a	11.33±1.15 ^a	دمامل	S19
0	0	0	10±0 ^b	21.33±0.57 ^a	خراج	S20
0	0	0	0	0	فقاع	S21
0	8±0 ^c	8±0 ^c	12.66±1.15 ^a	15.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S22
0	0	0	12±2 ^a	12.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S23
0	10.66±1.15 ^a	12±2 ^a	10.66±1.15 ^a	0	دمامل	S24
0	0	0	14.66±1.15 ^a	16.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S25

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 22. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS10Q</i>	<i>BS9Q</i>	<i>BS8SH</i>	<i>BS7SH</i>	<i>BS6J</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	12±0 ^b	12±0 ^b	12±2 ^b	سائل دماغي شوكي	S1
0	0	12±2 ^b	12±0 ^b	12±2 ^b	سائل دماغي شوكي	S2
0	0	14.33±0.57 ^c	12±0 ^c	12±2 ^c	سائل دماغي شوكي	S3
0	0	12.66±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	0	أذن	S4
0	0	10±0 ^a	8±0 ^a	0	مفرزات قصبية	S5
0	0	16.33±1.15 ^b	8.66±1.15 ^c	0	قيح	S6
0	0	14.66±1.15 ^d	12.66±1.15 ^c	0	عين	S7
0	0	13.33±1.15 ^b	8.66±1.15 ^c	12±2 ^b	قيح	S8
0	0	10.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	0	أذن	S9
0	0	0	0	0	قيح	S10
0	0	0	0	0	أذن	S11
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S12
0	0	13.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	0	أذن	S13
0	0	14±0 ^b	8±0 ^a	0	مفرزات قصبية	S14
0	0	14±0 ^b	12±2 ^b	0	شنت دماغي بريتواني	S15
0	0	0	0	0	خراج	S16
0	0	13.33±1.15 ^a	12.66±1.15 ^a	0	قيح	S17
0	0	14.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	0	قيح	S18
8±0 ^a	0	12.66±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	0	دمامل	S19
0	0	12.66±1.15 ^b	0±10 ^b	0	خراج	S20
0	0	0	0	0	فقاع	S21
0	0	15.33±0.57 ^a	13.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S22
0	0	14±0 ^a	10.66±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S23
0	0	10.66±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	0	دمامل	S24
10±0 ^a	8±0 ^b	14±0 ^a	12±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S25

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 23. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

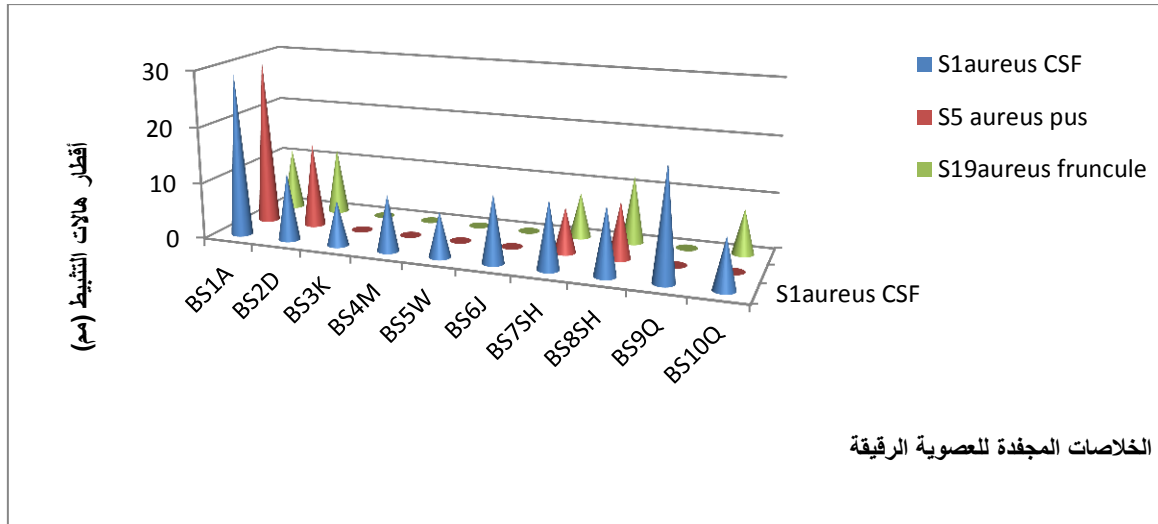
<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	0	13.33±0.57 ^a	12.33±0.57 ^a	سائل دماغي شوكي	S26
0	0	0	18.66±1.15 ^a	0	قيح	S27
10.33±0.57 ^b	10.66±1.15 ^b	14±0 ^a	10±0 ^b	15.66±0.57 ^a	جلد سليم يد	S28
0	9.33±1.15 ^a	11.33±1.1 ^a	8.66±1.15 ^a	12.66±1.15 ^a	قيح	S29
0	0	0	0	0	قيح	S30
0	0	0	10.66±1.15 ^b	21.33±1.15 ^a	خراج	S31
0	0	0	0	0	جلد سليم يد	S32
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S33
0	0	0	10.66±1.15 ^a	12.33±0.57 ^a	فتحة تناسلية	S34
0	0	0	10±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S35
0	0	0	13.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	فقاغ	S36
0	0	0	14.66±1.15 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S37
0	0	0	10±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S38
8.66±1.15 ^b	7.66±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	15.33±1.15 ^a	17.33±2.30 ^a	جلد سليم وجه	S39
17.33±2.30 ^b	15.33±1.15 ^b	15.33±1.15 ^b	24±0 ^a	22.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S40
0	0	0	0	14±0 ^a	جلد سليم وجه	S41
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S42
0	0	0	14.66±0.57 ^a	13.33±1.15 ^a	خراج	S43
0	0	0	10±0 ^b	20±0 ^a	سائل دماغي شوكي	S44
10.66±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	16±5.19 ^a	15.33±1.15 ^a	بول	S45
0	0	0	13.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	فقاغ	S46
0	0	0	10±0 ^a	10±0 ^a	جلد سليم وجه	S47
0	0	0	11.33±1.15 ^a	14.66±1.15 ^a	قيح	S48
0	0	0	14±0 ^a	11.33±1.15 ^a	خراج	S49
0	0	0	0	11.33±1.15 ^a	قيح	S50

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

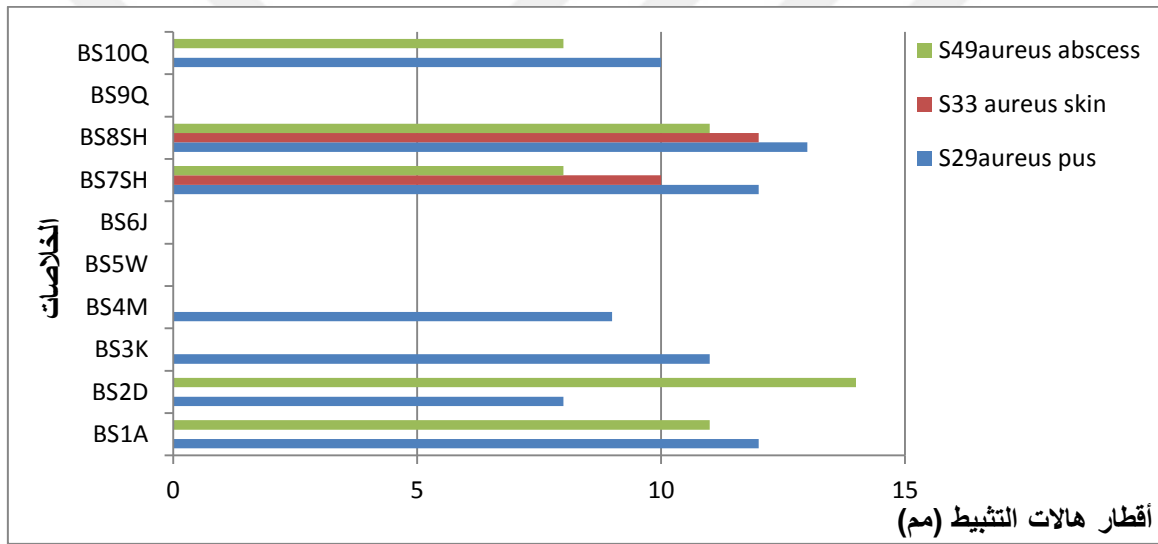
الجدول 24. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

BS10Q	BS9Q	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	15.33±0.57 ^a	12.66±1.15 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S26
0	0	27.33±1.15 ^c	12.66±1.15 ^b	0	قيح	S27
13.33±0.57 ^d	13.33±0.57 ^d	20.33±0.57 ^c	16.33±0.57 ^a	8.66±1.15 ^b	جلد سليم يد	S28
10±0 ^a	0	13.33±0.57 ^a	12.66±1.15 ^a	0	قيح	S29
0	0	13.33±0.57 ^a	10±0 ^a	0	قيح	S30
8±0 ^b	0	14±0 ^b	10.66±1.15 ^b	0	خراج	S31
10±0 ^a	8.33±0.57 ^b	14±0 ^a	12±0 ^a	0	جلد سليم يد	S32
0	0	12±0 ^a	10±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S33
8±0 ^c	0	14±0 ^b	10±0 ^a	0	فتحة تناسلية	S34
0	0	10±0 ^a	10±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S35
0	0	0	0	0	فقاغ	S36
0	0	19.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S37
8±0 ^b	0	14±0 ^a	14±0 ^a	0	جلد سليم وجه	S38
11.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	16.66±1.15 ^b	13.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S39
15.33±1.15 ^b	0	16.66±1.15 ^b	18.66±1.15 ^b	17.33±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S40
0	0	10±0 ^b	10±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S41
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S42
8±0 ^b	0	15.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	0	خراج	S43
8±0 ^c	0	12±0 ^b	12±0 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S44
11.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^b	15.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^b	بول	S45
8±0 ^b	0	15.33±1.15 ^a	10±0 ^b	0	فقاغ	S46
0	0	0±10	0	0	جلد سليم وجه	S47
8.66±1.15 ^b	0	15.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	0	قيح	S48
0	0	11.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	0	خراج	S49
0	0	0	0	0	قيح	S50

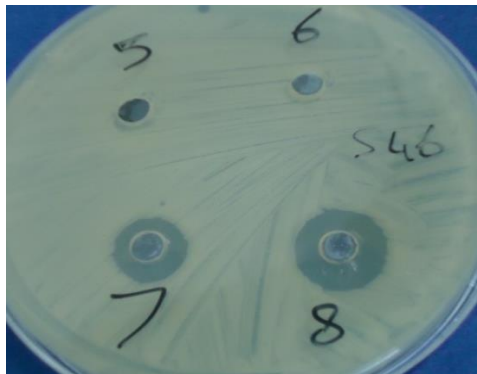
* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 25. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية S1, S5, S19.



الشكل 26. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الذهبية S49, S33, S29.



الشكل 27. أقطار هالات التثبيط للخلاصات المجفدة في العنقودية الذهبية S27.

الجدول 25. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	8.66±1.15 ^b	10±0 ^b	14±0 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S51
0	8±0 ^a	8.66±1.15 ^a	12.66±0.57 ^a	10.66±1.15 ^a	بول	S52
0	0	0	15.33±1.15 ^b	21±1 ^a	جلد سليم وجه	S53
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S54
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	فقاغ	S55
0	9.33±1.15 ^a	10±0 ^a	11.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	دمامل	S56
0	0	0	0	0	جلد سليم يد	S57
0	0	0	15±0 ^b	10.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S58
0	10.66±1.15 ^a	12±0 ^a	10.66±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S59
0	0	0	10±0 ^a	11.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S60
11.33±1.15 ^c	11.33±1.15 ^c	11.33±1.15 ^c	22±2 ^a	25±0 ^a	تقرحات	S61
0	0	0	0	18.66±1.15 ^a	قوباء أو تقويؤ	S62
0	0	0	11.33±1.15 ^b	23.33±1.15 ^a	حطاطة جلد	S63
0	0	0	0	21±1	سائل دماغي شوكي	S64
0	0	0	10±0 ^a	0	أن	S65
0	0	0	16.33±1.15 ^a	0	بول	S66
8±0 ^c	0	0	15.33±1.15 ^b	28.66±1.15 ^a	بول	S67
0	0	0	0	15.33±1.15 ^a	بول	S68
0	0	0	0	0	سائل جنب	S69
0	0	0	0	20.66±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S70
0	0	0	10±0 ^a	0	عين	S71
0	0	0	0	0	عين	S72
0	0	0	0	12.66±0.57 ^a	سائل بريوتوان	S73
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	أن	S74
0	0	8±0 ^a	11.33±1.15 ^a	0	قيح	S75

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 26. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

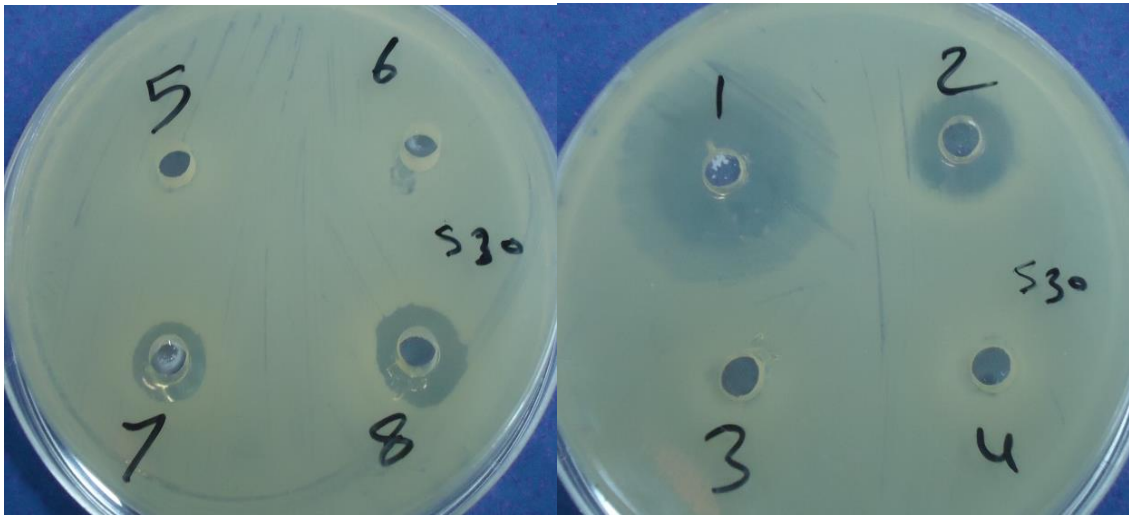
BS10Q	BS9Q	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات الذهبية
0	0	15.66±1.15 ^a	10.66±1.15 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S51
10±0 ^a	8±0 ^a	10±0 ^a	8.66±1.15 ^a	0	بول	S52
9.33±1.15 ^c	0	15±0 ^b	13.33±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S53
9.33±1.15 ^a	0	13.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S54
0	0	15.33±1.15 ^b	11.33±1.15 ^a	0	فقاغ	S55
10±0 ^a	0	14±0 ^b	10.66±1.15 ^a	0	دمامل	S56
8.66±1.15 ^b	0	14.66±2 ^a	11.33±1.15 ^a	0	جلد سليم يد	S57
0	0	14.66±2 ^b	13.33±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S58
10±0 ^a	0	13.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S59
0	0	13.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S60
16±0 ^b	10.66±1.15 ^c	15±0 ^c	14±0 ^c	10.66±1.15 ^c	تقرحات	S61
0	0	0	10.66±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	قوباء أو تقويؤ	S62
0	0	11.33±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	0	حطاطة جلد	S63
0	0	0	0	0	سائل دماغي شوكي	S64
8±0 ^a	0	14±0 ^b	10±0 ^a	0	أنن	S65
0	0	15.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^b	0	بول	S66
8±0 ^c	0	12±0 ^c	10±0 ^c	0	بول	S67
8±0 ^b	0	14.66±1.15 ^a	10.66±1.15 ^b	0	بول	S68
8±0 ^a	0	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	سائل جنب	S69
0	0	11.33±1.15 ^b	10±0 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S70
0	0	13.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	عين	S71
0	0	0	0	0	عين	S72
0	0	10.66±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	0	سائل بريوتوان	S73
0	0	10.66±1.15 ^a	8±0 ^a	0	أنن	S74
8±0 ^a	0	13.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	قيح	S75

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 27. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

العنقوديات الذهبية	المصدر	BS1A	BS2D	BS3K	BS4M	BS5W
S76	جلد سليم وجه	16.66±1.15 ^a	14.66±2 ^a	0	0	0
S77	جلد سليم وجه	12.66±0.57 ^a	10±0 ^a	9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	0
S78	سائل دماغي شوكي	0	0	0	0	0
S79	شنت دماغي بريتواني	0	10.66±1.15 ^a	0	0	0
S80	جرح	0	12±0 ^a	0	0	0
S81	مفرزات قصبية	12±0 ^a	0	0	0	0
S82	عين	10±0 ^a	12.66±0.57 ^a	0	0	0
S83	فقاع وصدفية	0	12±0 ^a	0	0	0
S84	جرح	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	0	0
S85	قيح	0	10±0 ^a	0	0	0
S86	أذن	12.66±0.57 ^a	10.66±1.15 ^a	0	0	0
S87	فقاع	10±0 ^a	12.66±0.57 ^a	0	0	0
S88	تربة	22.66±1.15 ^a	14±0 ^b	0	0	0
S89	مياه	24±0 ^a	0	0	0	0
S90	مياه	0	0	0	0	0

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 28. أقطار هالات التثبيط للخلاصات المجفدة في العنقودية الجلدية S99 .

الجدول 28. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقوديات الذهبية.

BS10Q	BS9Q	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات الذهبية
10±0 ^b	8±0 ^b	12±0 ^b	10±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S76
9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	17.33±1.15 ^b	12.66±0.57 ^a	0	جلد سليم وجه	S77
0	8±0 ^a	0	12.66±0.57 ^a	9.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S78
0	8±0 ^a	0	15.33±1.15 ^b	12.66±0.57 ^b	شنت دماغي بريتواني	S79
0	0	0	14±0 ^a	8.66±1.15 ^b	جرح	S80
0	0	0	14±0 ^a	8.66±1.15 ^b	مفرزات قصبية	S81
0	8.66±1.15 ^a	0	12±0 ^a	10±0 ^a	عين	S82
8±0 ^a	0	11.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	0	فقاغ وصدفية	S83
0	0	11.33±1.15 ^a	11.33±1.15 ^a	0	جرح	S84
0	0	12±0 ^a	9.33±1.15 ^a	0	قيح	S85
0	9.33±1.15 ^a	0	14±0 ^b	10±0 ^a	أذن	S86
8.66±1.15 ^a	0	14.66±2 ^b	14.66±2 ^b	0	فقاغ	S87
0	8±0 ^b	0	13.33±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	تربة زراعة (عدوي)	S88
0	0	0	13.33±1.15 ^b	12±0 ^b	مياه ريوة	S89
0	0	0	0	0	مياه ريوة	S90

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

2. تأثير الخلاصات المجفدة من العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية

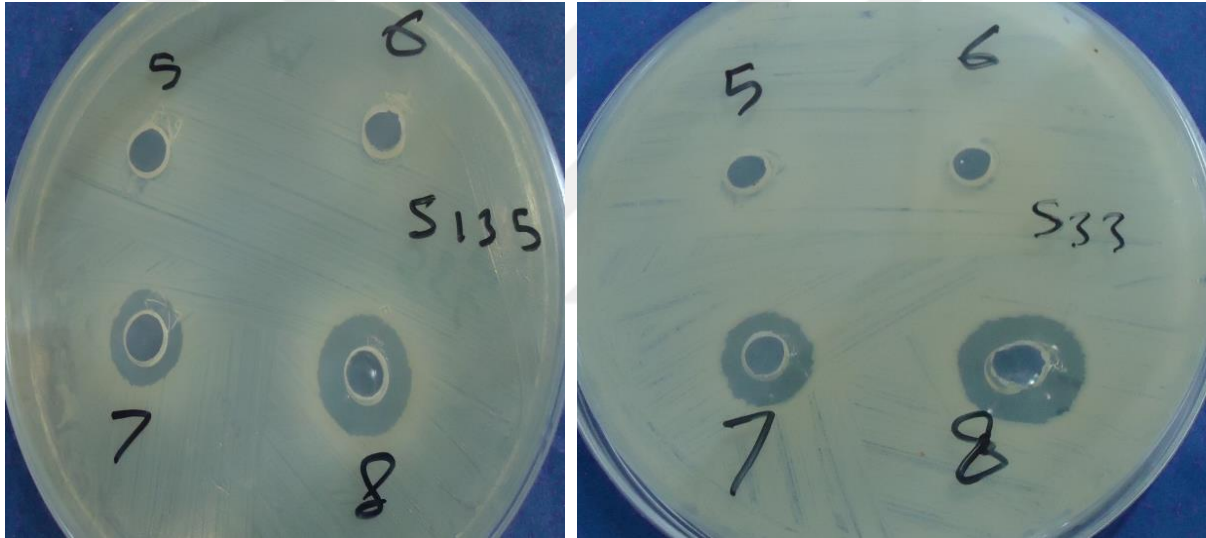
Lyophilized Extracts Effect of *B. subtilis* on *S. epidermidis*

تظهر الجداول 29 - 32 والأشكال 28 - 31 نتائج تأثير الخلاصات المجفدة من العصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية *S. epidermidis*، ويلاحظ منها أن خلاصات السلالات الآتية: *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* تميزت بتأثير عال في معظم سلالات العنقودية الجلدية ماعدا بعض السلالات المعزولة من مصادر مختلفة مرضية وغير مرضية مثل سلالاتي العنقودية الذهبية *S94*, *S107* المعزولتين من جلد سليم، وهذا على سبيل المثال، أما السلالات الأخرى فيتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من تأثير خلاصات السلالات المذكورة من العصوية الرقيقة بين 8 - 30 مم.

أما تأثير خلاصات السلالات الأخرى: *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J*, *BS10Q* فكان متوسطاً تجاه بعض السلالات وضعيفاً تجاه بعضها من العنقودية الجلدية ويتراوح متوسط أقطار هالات التثبيط من السلالات السابقة بين 8 - 20 مم.

من الجدولين 29 و30 يُلاحظ أن تأثير خلاصات العصوية الرقيقة لجميع السلالات كان قوياً وواضحاً في كل من العنقودية الجلدية S114 المعزولة من جلد سليم، و S91 المعزولة من قيح. ويلاحظ تأثير الخلاصات من السلالات *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* فقط في السلالة S92 المعزولة من مفرزات قصبية، وتأثير الخلاصتين *BS7SH*, *BS8SH* فقط في السلالة S125 المعزولة من حواضن.

من الجدولين 29 و30 يُلاحظ وجود بضع سلالات من العنقودية الجلدية مثل S94, S107 المعزولة من جلد سليم، أنها لم تتأثر بأي خلاصة مجفدة من خلاصات العصوية الرقيقة. أما سلالات العنقودية الجلدية التي عزلت من التربة والمياه الملوثة فهي مبينة بالجدولين 31 و32، وهي سلالة واحدة S141 معزولة من تربة بساتين الزراعة (العدوي) إذ لم يلاحظ تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة فيها باستثناء تأثير خلاصتي السلالتين *BS7SH*, *BS8SH*.



S136

S100

الشكل 29 . أقطار هالات التثبيط للخلاصات المجفدة في العنقودية الجلدية.

الجدول 29. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

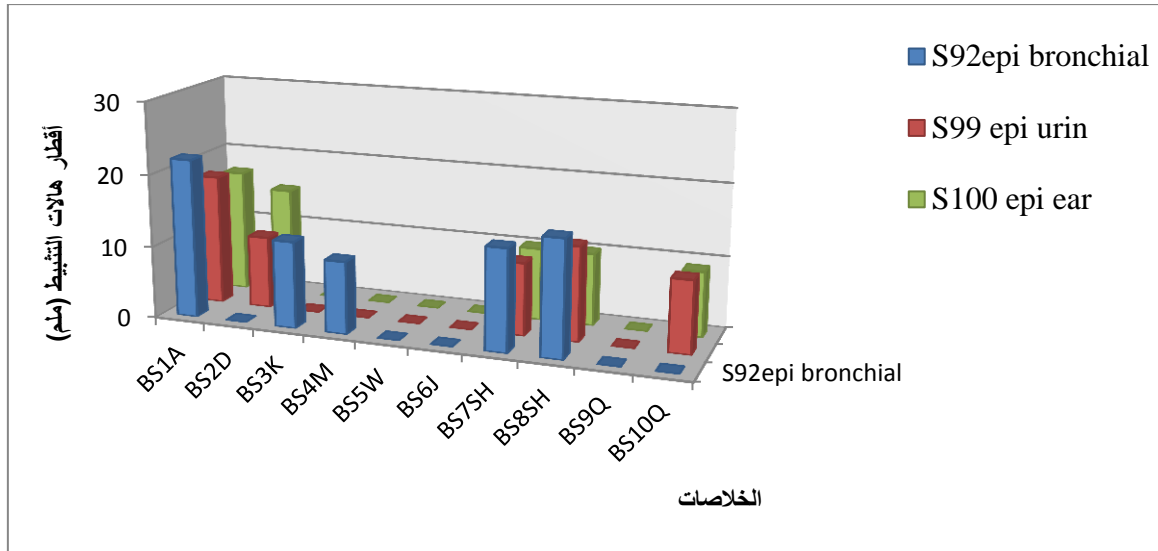
<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	10±1 ^b	9.33±1.15 ^b	20.33±0.57 ^a	23.33±0.57 ^a	سائل برينواني	S91
0	0	0	20.33±0.57 ^a	20.33±0.57 ^a	مفرزات قصبية	S92
0	0	0	13.33±0.57 ^b	19.33±0.57 ^a	أذن	S93
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S94
0	12±2 ^b	0	15.66±0.57 ^a	10±0 ^b	جلد سليم وجه	S95
0	0	0	15.66±0.57 ^a	0	جلد سليم يد	S96
0	0	0	19±1 ^a	21.33±0.57 ^a	دم	S97
0	0	0	17.66±0.57 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S98
0	0	0	10.66±1.15 ^b	18±0 ^a	بول	S99
0	0	0	15.33±1.15 ^a	17.66±1.15 ^a	أذن	S100
0	0	0	12.66±1.15 ^b	10±0 ^b	مفرزات قصبية	S101
0	0	0	14±0 ^b	18±0 ^a	جلد سليم وجه	S102
0	0	0	15.33±1.15 ^b	22±0 ^a	جلد سليم يد	S103
0	0	0	14±0 ^b	20±0 ^a	جلد سليم وجه	S104
0	0	0	11.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S105
0	0	0	14±0 ^a	16±0 ^a	جلد سليم وجه	S106
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S107
0	0	0	12±0 ^a	10±0 ^a	جرح	S108
0	0	22±0 ^b	25.33±1.15 ^b	30.33±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S109
0	0	0	26.66±1.15 ^a	22±0 ^b	جلد سليم وجه	S110
0	0	0	10±0 ^b	20±0 ^a	جلد سليم وجه	S111
0	0	0	10±0 ^b	18.66±1.15 ^a	جلد سليم وجه	S112
0	8±0 ^b	10±0 ^b	26.66±1.15 ^a	0	جلد سليم يد	S113
10±0 ^b	9.33±1.15 ^b	10±0 ^b	10.66±1.15 ^b	12±0 ^b	جلد سليم وجه	S114
0	8.66±1.15 ^b	10±0 ^b	21.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S115

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

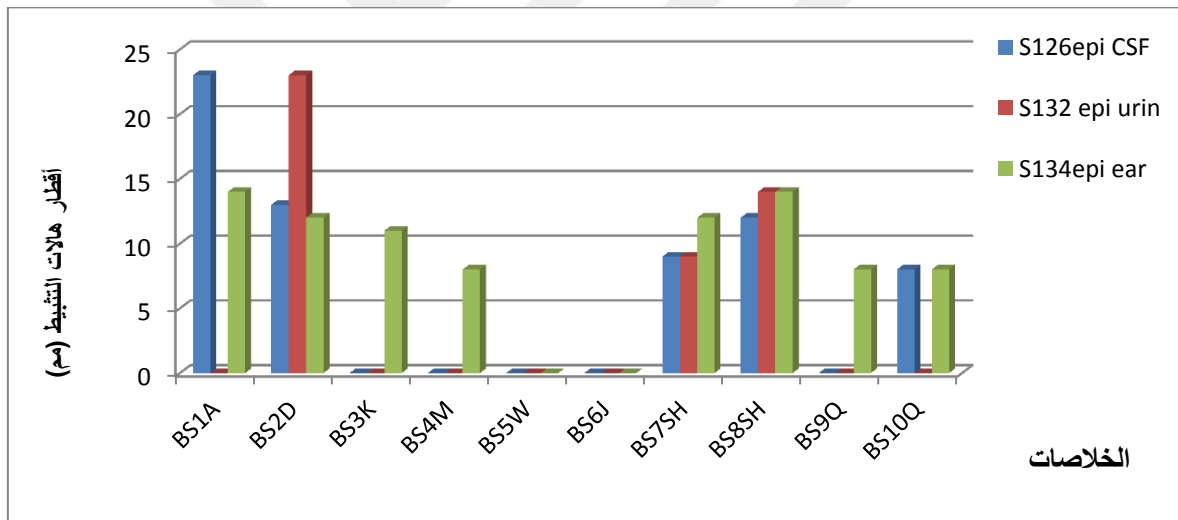
الجدول 30. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

BS10Q	BS9Q	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	0	13.66±1.15 ^b	9.33±1.15 ^b	0	سائل بريتواني	S91
0	0	14±2 ^b	14±0 ^b	0	مفرزات قصبية	S92
0	0	13.66±1.15 ^b	10±0 ^b	0	أذن	S93
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S94
10±0 ^b	11.66±0.57 ^b	18.66±1.15 ^a	14±2 ^a	0	جلد سليم وجه	S95
0	0	10.66±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	0	جلد سليم يد	S96
10±0 ^b	0	13.33±1.15 ^b	10±0 ^b	0	دم	S97
0	0	14.66±0.57 ^b	11.66±0.57 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S98
10±0 ^b	0	13.33±1.15 ^b	10.66±0.57 ^b	0	بول	S99
9.33±1.15 ^b	0	10.66±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	0	أذن	S100
8±0 ^c	0	14.66±1.15 ^a	12±0 ^b	0	مفرزات قصبية	S101
10±0 ^b	0	14±0 ^b	12±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S102
9.33±1.15 ^c	0	15.33±0.57 ^b	13±1 ^b	0	جلد سليم يد	S103
8±0 ^c	0	15±0 ^b	12±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S104
0	0	8.66±1.15 ^a	0	0	جلد سليم وجه	S105
0	0	12±0 ^a	12±0 ^a	14±0 ^a	جلد سليم وجه	S106
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S107
0	0	10±0 ^a	8±0 ^a	0	جرح	S108
0	0	15.33±1.15 ^c	12±0 ^c	0	جلد سليم وجه	S109
8±0 ^c	0	12±0 ^c	10±0 ^c	0	جلد سليم وجه	S110
10±0 ^b	0	12±0 ^b	10±0 ^b	12±0 ^b	جلد سليم وجه	S111
0	0	12±0 ^b	12±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S112
8.66±1.15 ^b	0	20.66±1.15 ^c	12.66±1.15 ^b	0	جلد سليم يد	S113
9.33±1.15 ^c	9.33±1.15 ^c	17.33±1.15 ^a	14.66±1.15 ^b	10±0 ^b	جلد سليم وجه	S114
0	0	16.33±1.15 ^c	12±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S115

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 30. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الجلدية S92, S99, S100.



الشكل 31. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقودية الجلدية S126, S132, S134.

الجدول 31. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

<i>BS5W</i>	<i>BS4M</i>	<i>BS3K</i>	<i>BS2D</i>	<i>BS1A</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
0	0	0	11.33±1.15 ^a	12±0 ^a	جلد سليم وجه	S116
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S117
0	9.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	16.33±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S118
0	0	0	0	0	أذن	S119
0	0	0	0	23.66±1.52 ^a	جلد سليم وجه	S120
8±0 ^b	0	0	0	19.33±1.15 ^a	خراج	S121
0	0	0	0	0	سائل دماغي شوكي	S122
0	0	0	0	17.33±1.15 ^a	سائل دماغي شوكي	S123
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	جرح	S124
0	0	0	0	0	حواضن	S125
0	0	0	13.33±1.15 ^b	23.66±1.52 ^a	سائل دماغي شوكي	S126
0	0	10.66±1.15 ^b	8±0 ^b	16.33±1.15 ^a	جلد سليم يد	S127
8±0 ^b	0	0	0	14.66±2 ^a	سائل دماغي شوكي	S128
0	9.33±1.15 ^b	8.66±1.15 ^b	17.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^b	جلد سليم وجه	S129
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S130
0	8.66±1.15 ^a	10±0 ^a	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	سائل دماغي شوكي	S131
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	بول	S132
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	جرح	S133
0	8±0 ^b	11.33±1.15 ^a	12±0 ^a	14±0 ^a	أذن	S134
0	0	0	10±0 ^a	0	خراج	S135
0	0	0	14±0 ^a	0	جرح	S136
0	0	0	12±0 ^a	0	أذن	S137
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S138
0	0	0	10.66±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S139
11.33±1.15 ^a	12±0 ^a	11.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	14±0 ^a	قيح	S140
0	0	0	0	0	تربة زراعة (عدوي)	S141

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

الجدول 32. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في العنقودية الجلدية.

<i>BS10Q</i>	<i>BS9Q</i>	<i>BS8SH</i>	<i>BS7SH</i>	<i>BS6J</i>	المصدر	العنقوديات الجلدية
9.33±1.15 ^a	0	14.66±1.15 ^a	14.66±1.15 ^a	0	جلد سليم وجه	S116
0	0	16.66±1.15 ^a	11.33±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S117
8±0 ^b	0	15.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S118
0	0	0	0	0	أذن	S119
0	11.33±1.15 ^b	12±0 ^b	8.66±1.15 ^b	0	جلد سليم وجه	S120
0	10±2 ^b	10.66±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	8±0 ^b	خراج	S121
0	0	13.33±1.15	10±0	0	سائل دماغي شوكي	S122
0	0	8.66±1.15 ^b	0	0	سائل دماغي شوكي	S123
0	0	12±2 ^a	10.66±1.15 ^a	0	جرح	S124
0	0	12±2 ^a	10±2 ^a	0	حواضن	S125
8±0 ^b	0	12±2 ^b	9.33±1.15 ^b	0	سائل دماغي شوكي	S126
0	0	15.33±1.15 ^a	8.66±1.15 ^b	11.33±1.15 ^b	جلد سليم يد	S127
10.66±1.15 ^a	0	14.66±2 ^a	12±0 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S128
0	0	11.33±1.15 ^b	10±0 ^b	0	جلد سليم وجه	S129
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S130
10±0 ^a	9.33±1.15 ^a	13.33±1.15 ^a	10.66±1.15 ^a	0	سائل دماغي شوكي	S131
0	0	14±0 ^b	9.33±1.15 ^a	0	بول	S132
8±0 ^b	0	13.33±1.15 ^a	9.33±1.15 ^a	0	جرح	S133
8±0 ^b	8±0 ^b	14±0 ^a	12±0 ^a	0	أذن	S134
8±0 ^a	0	13.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	خراج	S135
8±0 ^a	0	12.66±0.57 ^a	10±0 ^a	0	جرح	S136
0	0	12±0 ^a	8±0 ^b	0	أذن	S137
0	0	0	0	0	جلد سليم وجه	S138
0	0	0	12±0 ^a	10±0 ^a	جلد سليم وجه	S139
0	0	18.66±1.15 ^b	14±0 ^a	12±0 ^a	قيح	S140
0	0	10±0 ^a	11.33±1.15 ^a	0	تربة زراعة (عدوي)	S141

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

3. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الرمامة والإنسانية و *S. lentus*

Effect of *B. subtilis* Lyophilized Extracts on *S. saprophyticus*, *S. hominis* and *S. lentus* Strains

يبين الجدولان 33 و34 والشكل 32 نتائج تأثير خلاصات العصوية الرقيقة في العنقودية الرمامة والإنسانية و *S. lentus*، إذ إن العنقودية الرمامة S143 المعزولة من السائل أو الشنت البريتواني الدماغي، وكذلك سلالاتي العنقودية الرمامة S144, S145 المعزولتين من مفرزات قصبية لم تتأثر بأي خلاصة مجفدة للعصوية الرقيقة، والعنقودية الإنسانية S149 المعزولة من عينة فقاع لم تتأثر بخلاصات العصوية الرقيقة.

ولم تتأثر سلالتا العنقودية *S. lentus* S151, S152 المعزولتان من الأذن بأي خلاصة للعصوية الرقيقة، أما السلالة S153 المعزولة من عينة خراج كبدي فلم تستجب لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة ماعدا السلالات *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* بقطر تثبيط 10 مم. ويبين الجدولان 33 و 34 والشكل 33 نتائج تأثير خلاصات العصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات المعزولة من التربة والمياه مثل *S. warnari*, *S. xylosus*.

بينت الدراسة الجزيئية لسلالات العنقوديات أن بعض السلالات يحمل المورثة *mecA* التي تميز سلالات العنقوديات المقاومة للميتيسلين MRSA و MRSE، وهذه السلالات هي العنقودية الذهبية S8 المعزولة من عينة قيح، و S52 المعزولة من عينة بول، و S60 المعزولة من عينة سائل دماغي شوكي، و S74 المعزولة من مسحة أذن، و S86 المعزولة أيضاً من مسحة أذن، وسلالة من العنقودية الإنسانية *S. hominis* S148 المعزولة من عينة فقاع، إذ لوحظ تأثير كل من المزارع السائلة والخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في هذه السلالات من العنقوديات المقاومة للميتيسلين أو البنسيلينات، وتتراوح أقطار هالات التثبيط لها بين 8 - 28 مم (الشكل 34)، ولم تختلف النتائج تقريباً بين تأثير كل من المزارع السائلة والخلاصات المجفدة في هذه السلالات.

الجدول 33. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الأخرى.

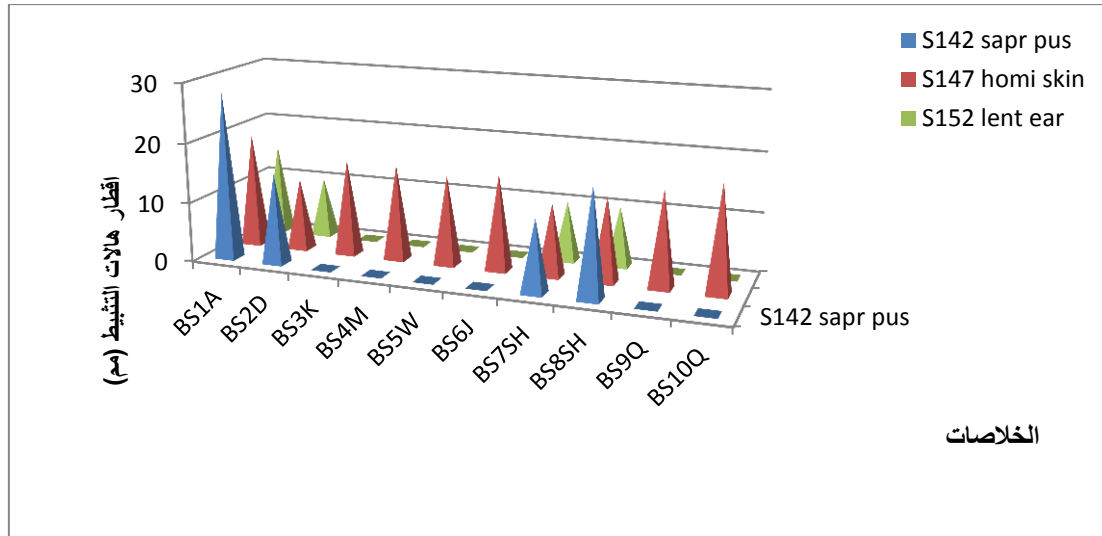
BS5W	BS4M	BS3K	BS2D	BS1A	المصدر	العنقوديات	الرقم
0	0	0	15.33±1.15 ^b	28.33±1.15 ^a	قيح	العنقودية الرمامة	S142
0	0	0	13.33±1.15 ^a	0	سائل بريوتواني دماغي		S143
0	0	0	0	0	قشع (مفرزات قصبية)		S144
0	0	0	0	0	قشع (مفرزات قصبية)		S145
0	0	0	0	0	سائل بريوتواني		S146
8±0 ^a	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	12.66±0.57 ^a	14.66±2 ^a	اليد		العنقودية الإنسانية
0	0	0	12.66±0.57 ^a	10.66±1.15 ^a	فقاغ	S148	
0	10±0 ^a	10±0 ^a	11.33±1.15 ^a	12±0 ^a	فقاغ	S149	
8.66±1.15 ^b	0	0	8.66±1.15 ^b	14.66±2 ^a	وجه	S150	
0	0	0	0	0	أذن	<i>S. lentus</i>	S151
0	0	0	0	0	أذن		S152
0	0	0	10 ^a	10 ^a	خراجة كبدية		S153
0	0	0	12.66±0.57 ^b	17.33±1.15 ^a	تربة قاسيون	<i>S. warnari</i>	S154
0	0	0	0	0	تربة قاسيون		S155
0	0	0	0	10±0 ^a	تربة ريوه		S156
0	0	0	10.66±1.15 ^b	18.33±1.15 ^a	تربة قاسيون	<i>S. xylosus</i>	S157
0	0	0	8.66±1.15 ^a	10±0 ^a	تربة ريوه		S158
0	0	10±0 ^b	0	17.33±1.15 ^a	تربة كفسوسة		S159
11.33±1.15 ^b	0	0	0	17.33±1.15 ^a	تربة كفسوسة		S160
0	0	0	0	0	تربة ديماس		S161
0	0	0	0	0	مياه ريوه		S162
0	0	0	0	0	مياه كفسوسة		S163

* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.

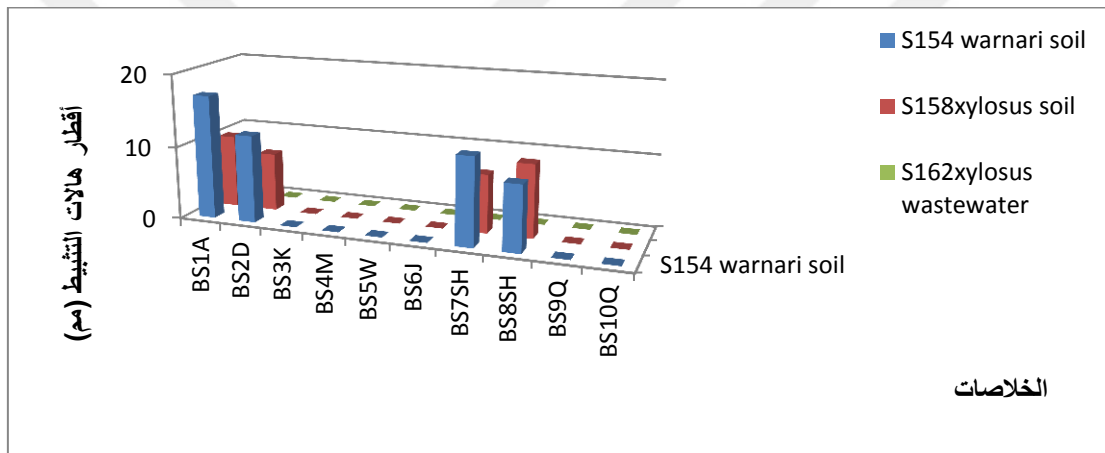
الجدول 34. متوسط أقطار هالات التثبيط (مم) مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات الأخرى.

BS10Q	BS9Q	BS8SH	BS7SH	BS6J	المصدر	العنقوديات	الرقم
8.66±1.15 ^c	0	15.33±1.15 ^b	13±1.73 ^b	0	قيح	العنقودية	S142
8±0 ^c	0	18±0 ^b	13±1.73 ^a	0	سائل بريتواني دماغي	الرمامة	S143
0	0	0	0	0	قشع (مفرزات قصبية)		S144
8±0 ^a	0	13±1.73 ^a	10.66±1.15 ^a	0	قشع(مفرزات قصبية)		S145
0	0	0	0	0	سائل بريتواني		S146
11.33±1.15 ^a	16±0 ^b	10.66±2.30 ^a	10.66±1.15 ^a	8.66±1.15 ^a	اليد	العنقودية	S147
8±0 ^a	0	14.66±2 ^a	10±0 ^a	0	فقاغ	الإنسانية	S148
10±0 ^a	0	14±0 ^a	12±0 ^a	0	فقاغ		S149
0	13±1.73 ^b	10±0 ^b	8.66±1.15 ^b	0	وجه		S150
0	0	0	0	0	أذن	<i>S. lentus</i>	S151
0	0	0	0	0	أذن		S152
0	0	10±0 ^a	10±0 ^a	0	خراجة كبدية		S153
0	0	9.33±1.15 ^b	0	0	تربة قاسيون	<i>S. warnari</i>	S154
0	0	0	0	0	تربة قاسيون		S155
0	0	9.33±1.15 ^a	8±0 ^a	0	تربة ربوة		S156
8.66±1.15 ^b	0	11.33±1.15 ^b	10.66±1.15 ^b	0	تربة قاسيون	<i>S. xylosus</i>	S157
0	0	10±0 ^a	8±0 ^a	0	تربة ربوة		S158
0	0	13.33±1.15	11.33±1.15	10.66±1.15	تربة كفرسوسة		S159
10.66±1.15 ^a	0	11.33±1.15 ^a	10±0 ^a	0	تربة كفرسوسة		S160
0	0	0	0	0	تربة ديماس		S161
0	0	0	0	0	مياه ربوة		S162
0	0	0	0	0	مياه كفرسوسة		S163

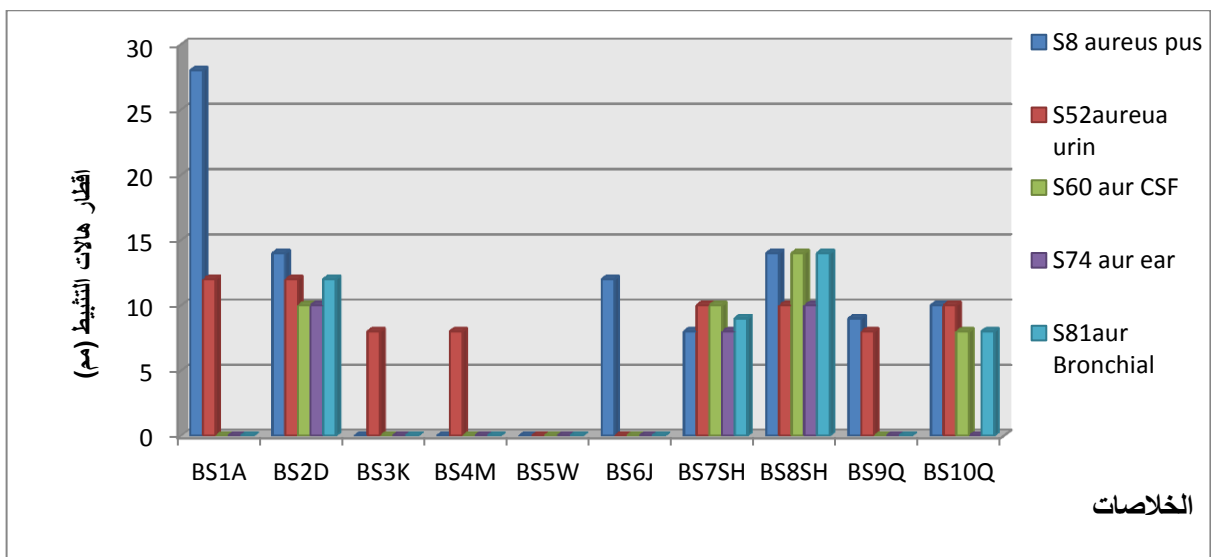
* الأحرف المختلفة (a,b,c) في السطر نفسه تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية بين القيم في الجدول.



الشكل 32. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقوديات الأخرى الرمامة والإنسانية S142, S147, S152 .



الشكل 33. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في بعض سلالات العنقوديات الأخرى المعزولة من التربة والمياه, S154, S158, S162.

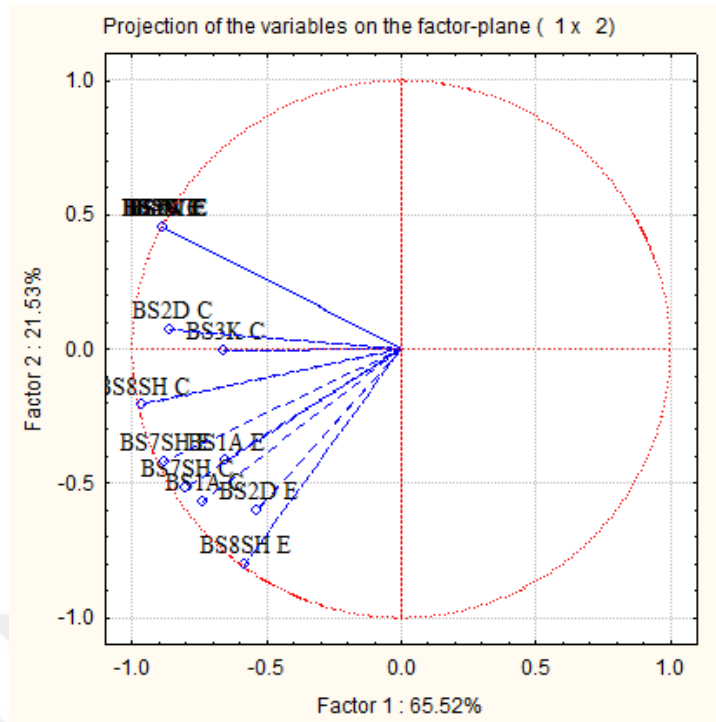


الشكل 34. تأثير الخلاصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقودية الذهبية الحاملة للمورثة *mecA*.

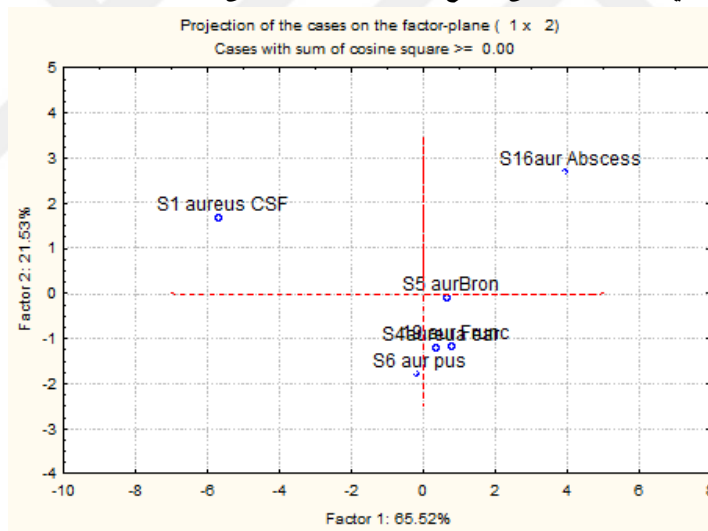
4. الدراسة الإحصائية Statistical study

أُجريت الدراسة الإحصائية لمعرفة الفروق والاختلافات بين تأثير المزارع السائلة والخلصات المجفدة في سلالات العنقوديات بعدد من الاختبارات، فقد بينت الدراسة الإحصائية اعتماداً على الاختبارات المطبقة أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تأثير كل من السلالات *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* في أكثر من نصف عدد السلالات، ولا توجد فروق في الأخرى، كذلك تبين أنه لا توجد فروق ذات دلالة معنوية بين *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J* في التأثير بين سلالات العنقوديات، فعلى سبيل المثال، فيما يتعلق بسلالات العنقودية الذهبية توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية بين تأثير المزارع السائلة للعصوية الرقيقة في السلالات *S1*, *S2*, *S3*, *S5*, *S15*، ولا توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية بينها في السلالات *S79*, *S140*, *S130*، وأحياناً قد توجد فروق بين تأثير كل من *BS1A*, *BS2D*, *BS3K*، ولا توجد فروق بين تأثير كل من *BS7SH*, *BS8SH* في بعض سلالات العنقوديات مثل السلالة *S93*، كذلك تأثير الخلصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقوديات إذ توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين بعض السلالات مثل *S39*, *S45*, *S103*, *S142*، ولا توجد فروق بين تأثير بعض السلالات الأخرى مثل *S56*, *S77*، ووضعت نتائج الدراسة الإحصائية في الجداول نفسها التي وضعت فيها نتائج التأثير إذ أُشير إليها بالأحرف الصغيرة ضمن الجداول، والأحرف المختلفة تدل على وجود فروق ذات دلالة معنوية، أما الأحرف المتشابهة فلا تدل على وجود الفروق.

ولمقارنة نتائج تأثير كل من المزارع السائلة والخلصات المجفدة للعصوية الرقيقة في سلالات العنقودية الذهبية، يوضح الشكلان 35، 36 دائرة الارتباط بين المتغيرات المدروسة وخارطة توزع الأفراد بالنسبة للمحورين التركيبيين الأول والثاني (وهذا يمثل نحو 87,05% من التباين الكلي)، إذ يظهر تجمع المتغيرات في جهة واحدة من المحور التركيبي الأول؛ وهذا منطقي ويدل على الارتباط الإيجابي فيما بينها نظراً إلى امتلاك كل من المزارع السائلة والخلصات المجفدة تأثيراً في سلالات العنقودية الذهبية، غير أن الأفراد (السلالات) تتوزع على نحو جيد، إذ يظهر وجود تباين بين السلالة *S1* التي تقع في الجهة السالبة من المحور التركيبي الأول (وهذا يدل على حساسيتها الشديدة بتأثير المزارع السائلة والخلصات) والسلالة *S16* التي تقع في الجهة الموجبة من هذا المحور (تبدي أقل حساسية ضمن كل السلالات المزارع والخلصات)، أما السلالات الأخرى *S4*, *S5*, *S19* فتشغل موقعاً وسطاً بين هاتين المجموعتين ولا يبدو واضحاً انفصال المتغيرات على المحور التركيبي الثاني على نحو جيد.



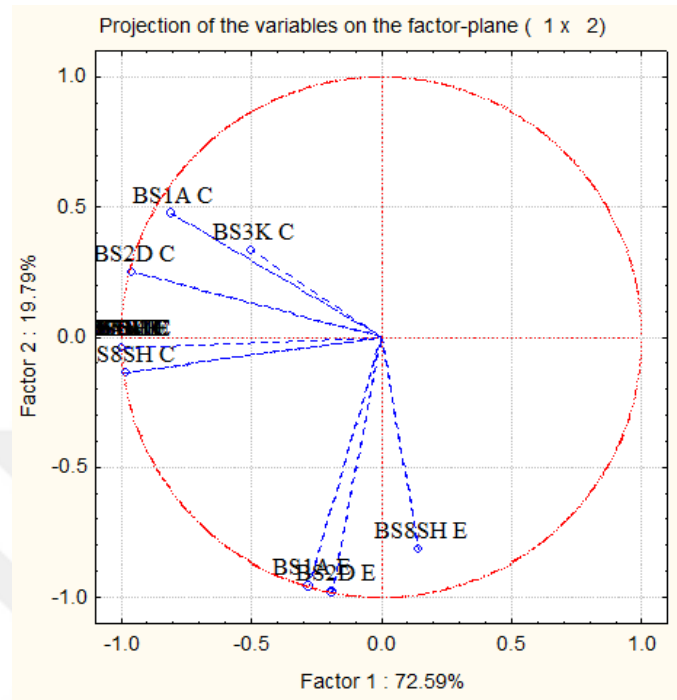
الشكل 35. دائرة الارتباط بين الخلاصات للمحورين التركيبيين الأول "الأفقي" والثاني "العمودي". إذ يظهر رموز السلالات للعصوية الرقيقة، ويدل الحرف C على المزارع السائلة، والحرف E على الخلاصات المجفدة.



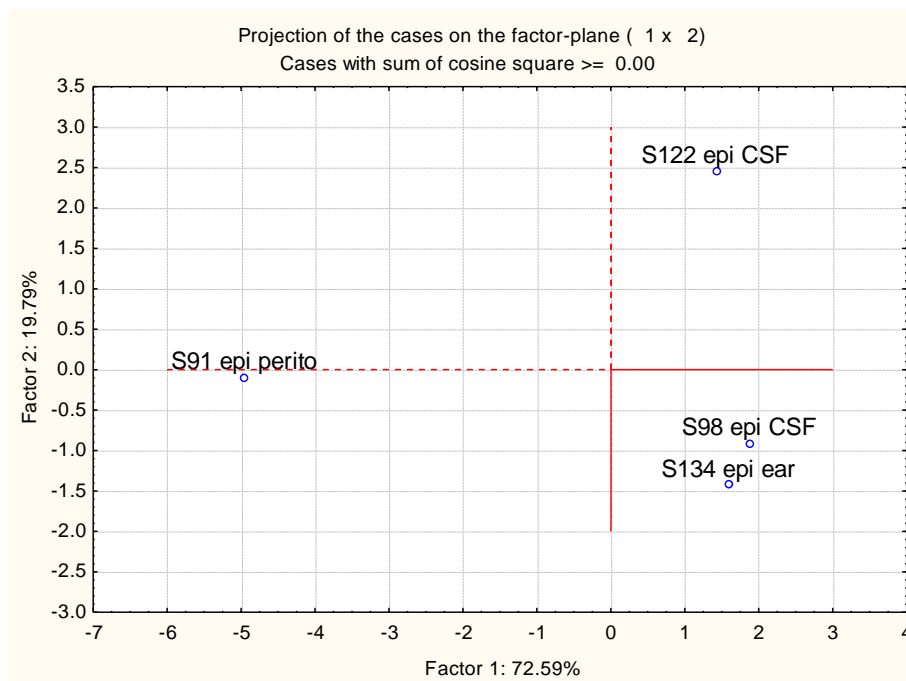
الشكل 36. خريطة توزيع العنقوديات الذهبية ضمن المحورين التركيبيين 1*2.

أما مقارنة تأثير كل من المزارع السائلة والخلاصات المجفدة في سلالات العنقودية الجلدية، فيوضح الشكلان 37 و 38 دائرة الارتباط بين المتغيرات المدروسة وخارطة توزيع الأفراد بالنسبة للمحورين التركيبيين الأول والثاني (وهذا يمثل نحو 92,38% من التباين الكلي)، إذ يظهر تجمع المتغيرات في جهة واحدة لكل من المحور التركيبي الأول والثاني؛ وهذا يدل على الارتباط الإيجابي بين عناصر كل مجموعة وانعدام الارتباط بين المجموعتين الممثلتين على كل محور، أما توزيع السلالات المختبرة ضمن هذين المحورين فهو يعكس تبايناً بين السلالة S91 التي تقع في الجهة السالبة من المحور (وتبدي حساسية أكثر تجاه المزارع والخلاصات المجفدة) والسلالات S98, S122 S134 التي تقع في الجهة الموجبة من

المحور (تبدي حساسية أقل مقارنة بالسلالة S91)، أما المتغيرات الممثلة على نحو جيد على المحور التركيبي الثاني فتقع في الجهة السالبة منه أيضاً وهي *BS7SH*, *BS8SH*, *BS2D* وأكثر السلالات حساسية هي S98, S122, S134 لهذه الخلاصات.



الشكل 37. دائرة الارتباط بين الخلاصات للمحورين التركيبيين الأول "الأفقي" والثاني "العمودي". حيث يظهر رموز السلالات للعصوية الرقيقة، ويبدل الحرف C على المزارع السائلة، والحرف E على الخلاصات المجفدة.



الشكل 38. خريطة توزيع العنقوديات الجلدية ضمن المحورين التركيبيين 1*2.

5. التركيز الأصغري المثبط للخلاصة المجفدة

Minimum Inhibitory Concentration MIC of Lyophilized Extract

اعتماداً على CLSI 2007 المركز المعتمد للاختبارات المعيارية للمختبرات والسريريات، حضرت سلسلة من الأنابيب والتخفيفات الحاوية وسط النمو السائل المغذي مع الجراثيم بعد تحديد التركيز والكثافة الضوئية للعنقوديات المختبرة (1×10^8 cfu/ml) وإضافة الخلاصة بدءاً من التراكيز المنخفضة وانتهاءً بالتراكيز العالية مع وجود أنبوبين شاهد: واحد دون خلاصة والثانية بوجود الخلاصة وعدم وجود الجراثيم، وتبين أن التركيز الأصغري المثبط للخلاصة هو 250 ملغ/مل.

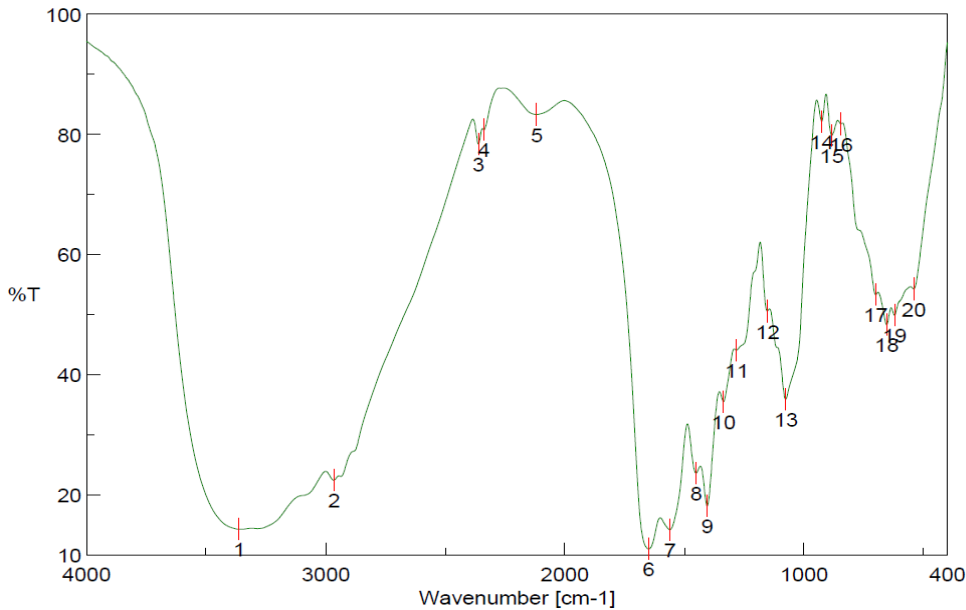
خامساً. تحليل ورحلان الخلاصات على أجهزة التحليل والطيف والفصل

Analysis and Electrophoresis of Extracts by Spectrum and Purification apparatus

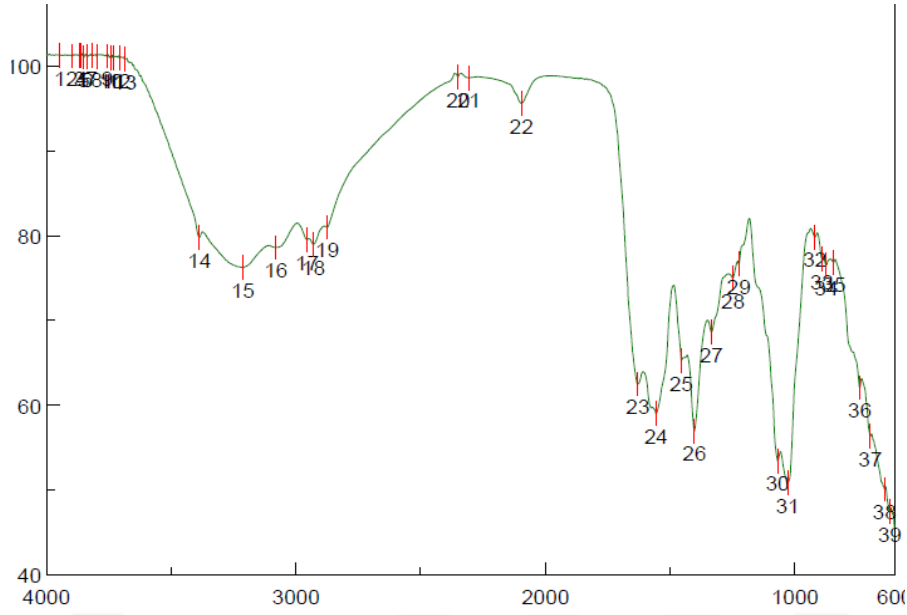
1. مسح وقراءة طيف الخلاصة المجفدة على جهاز FTIR

Reading and Scanning the Spectrum of Lyophilized Extract on FTIR

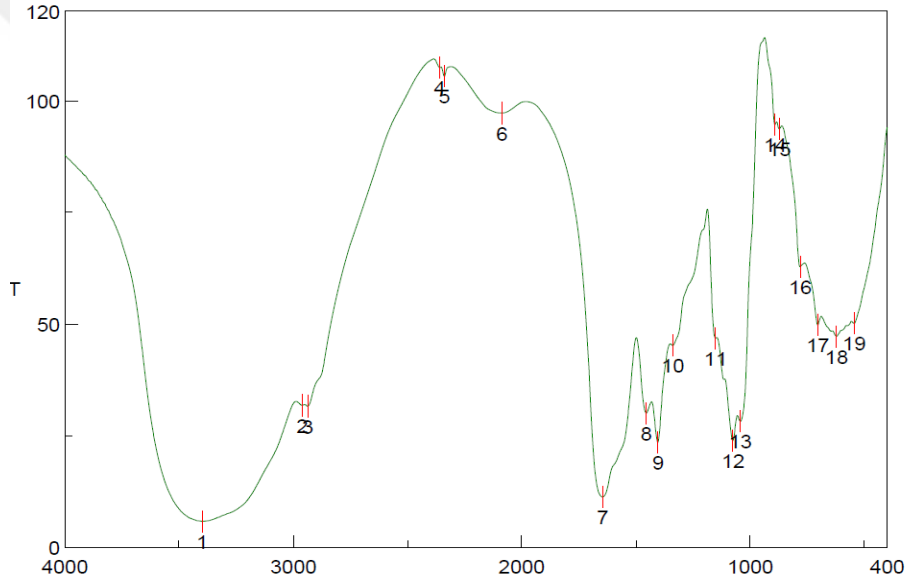
تبين الأشكال 39 و 40 و 41 مسح الطيف للخلاصات المجفدة بين 4000 - 400 سم⁻¹، وتؤكد وجود روابط غوانيدية أميدية من الامتصاص 3361 سم⁻¹، وروابط كربونيلية من الامتصاص 1694 سم⁻¹، ومجموعات كربوكسيلية من الامتصاص 3300 سم⁻¹، وروابط هيدروجينية من الامتصاص 3500 سم⁻¹، وكذلك روابط كربون-كربون من الامتصاص 1456 سم⁻¹، وهذا كله يدل على وجود بيتيدات أو روابط بيتيدية، وهذا يتفق مع دراسات مشابهة مثل دراسات (Bhatta & Kapadnis 2010, Kumar et al., 2009).



الشكل 39. نتائج طيف ومسح الخلاصات للسلاطة BSIA على جهاز FTIR.



الشكل 40. نتائج طيف ومسح الخلاصات للسلالة *BS2D* على جهاز FTIR.



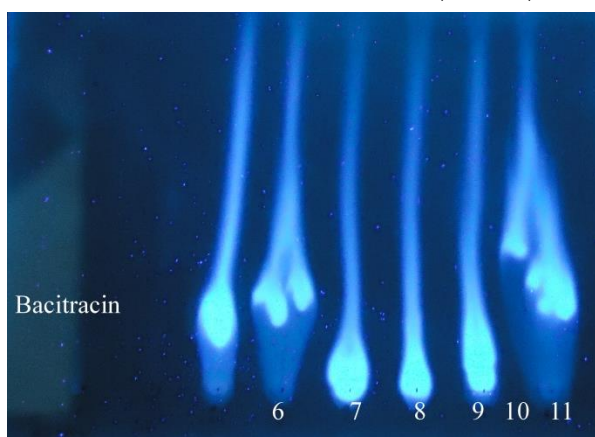
الشكل 41. نتائج طيف ومسح الخلاصات للسلالة *BS8SH* على جهاز FTIR.

2. تحديد صادين حيويين من الخلاصات المجفدة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

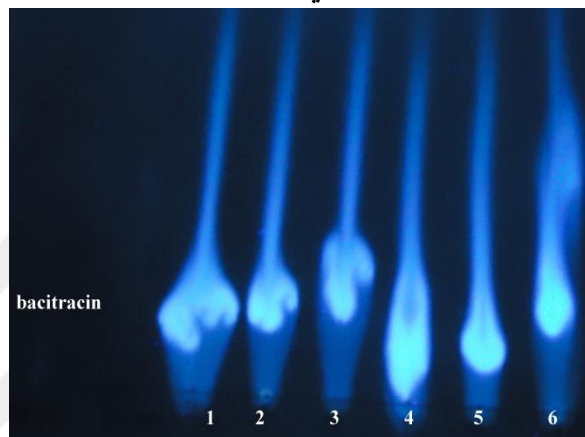
Determination of Two Antibiotics of Lyophilized Extracts by TLC

يبين الشكلان 42 و 43 نتائج تحليل ورحلان الخلاصات المجفدة على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC مع رحلان المعياري الباسيتراسين، والبوليميكسين، إذ فصلت المكونات بعد نحو 30 دقيقة وسجلت قيمة RF للصاد الحيوي الباسيتراسين 0,23، أما خلاصات السلالات فكانت قيمة RF مشابهة للمعياري إذ أعطت الخلاصة *BS1A*، *BS2D*، قيمة 0,2، والخلاصة *BS9Q* 0,24، والخلاصة *BS7SH* 0,25، والخلاصة *BS8SH* 0,3، أما الخلاصة *BS10Q* فأعطت 0,5، والخلاصة *BS4M* أعطت 0,7، ولم تظهر بقع واضحة للصاد الحيوي البوليميكسين على الصفائح، وهذا قد يعود لأسباب

عديدة منها عدم كفاءة المذيبات لهذا الصاد أو التركيز المناسب وغيرها، وبمقارنة هذه النتائج بدراسات أخرى مشابهة يتبين أنها تتفق مع بعض الدراسات وتختلف عن بعضها الآخر، فقد بلغت قيمة Rf للمركبات المفصولة على صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة 0,7 و 0,5 و 0,13 في دراسة Sadfi *et al.*, (2002)، وفي دراسة Al-Ajlani & Hasnain (2010) بلغت قيمة Rf 0,21 و 0,37 و 0,53، وفي دراسة Kumar *et al.*, (2009) كانت قيمة Rf 0,64، كما بلغت قيمة Rf 0,25 و 1 للباسيتراسين في دراسة Awais *et al.*, (2007)، وكانت قيمة Rf للمواد الفعالة المفصولة من العصوية الرقيقة 0,47 و 0,5 في دراسة Bhatta & Kapadnis (2010).



الشكل 43. فصل ورحلان الخلاصات على صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC والأرقام تدل على السلالات.

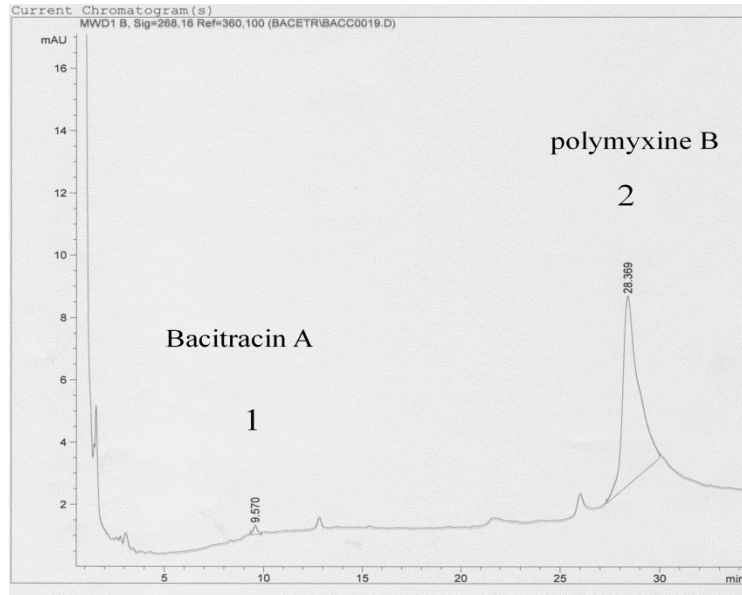


الشكل 42. فصل ورحلان الخلاصات على صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC والأرقام تدل على السلالات.

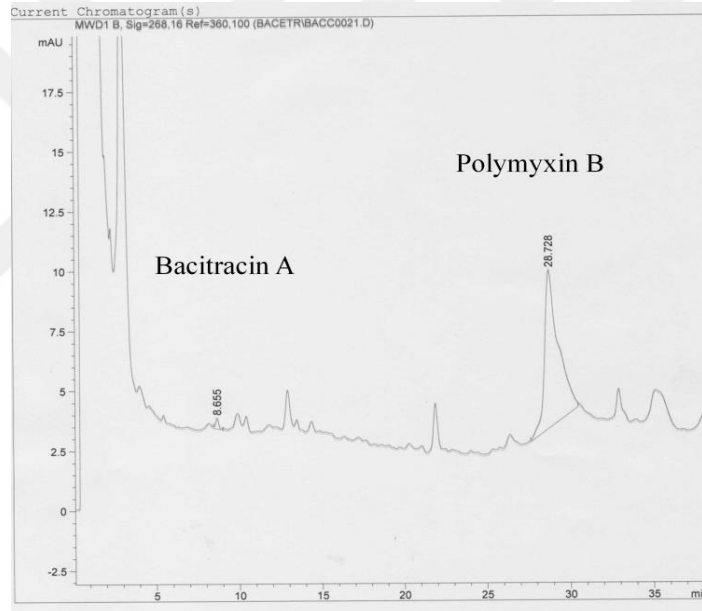
3. تحديد صادين حيويين من الخلاصات المجفدة على جهاز HPLC

Determination of Two Antibiotics of Lyophilized Extract on HPLC

يبين الشكلان 44، 45 نتائج دراسة وتحليل الخلاصات على جهاز HPLC، وتؤكد وجود الصادين الحيويين Bacitracin A و Polymyxin B، بتركيز بين 50 - 55 ميكروغراماً للصاد الحيوي للباسيتراسين، وبتركيز 112-114 ميكروغراماً للآخر، وبمقارنة هذه النتائج بدراسات مشابهة، عزل Chen *et al.*, (2007) Faheem *et al.*, البريفيسين Brevicin من العصوي *B. brevis*، وعزل Chen *et al.*, (2008) وأجرى تنقية ثلاثة مركبات ليبوبتيديدة مضادة للفطريات من العصوية الشمعية هي: الايتورين والسرفاكتين والفينجيسين، أما في دراسة Fuchs *et al.*, (2011) فأجرى عزل الصاد الحيوي إنتيانين Entianin وهو من فصيلة السبتييلين من تحت نوع العصوية الرقيقة *B. subtilis subsp. spizizenii*، وعزل Smitha & Bhat (2012) Bacteriocin BL8 من العصوي *B. licheniformis*، وعزل Li *et al.*, (2012) وأجرى تنقية خمس مركبات من الأميكوماسينات Amicoumacins من العصوية الرقيقة.



الشكل 44. نتائج تحليل الخلاصات للسلاطة *BS1A, BS2D* على جهاز HPLC.



الشكل 45. نتائج تحليل الخلاصات للسلاطة *BS7SH, BS8SH* على جهاز HPLC.

4. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للخلاصات المجفدة

The Physicochemical Properties of Lyophilized Extracts

أمكن الحصول على نحو 8 غرامات من كل سلاطة من العصوية الرقيقة، والخلاصة كانت بلون بني إلى بني مصفر، وتتحل بالماء المقطر ولونها بعد الانحلال أيضاً بني غامق إلى فاتح، وهي تتحل كذلك بالميتانول أو مزيج الميتانول والماء ولا تتحل بالإيثانول والكلوروفورم، وهي خلاصة مسامية، مبلورة، ذات رائحة مميزة (الشكل 46).



الشكل 46. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للخلاصة المجففة للعصوية الرقيقة.

سادساً. مناقشة نتائج التصادية Discussion of results of antagonism

تبين من كثير من الأبحاث القديمة والحديثة أن جراثيم جنس العصوية تُنتج كثيراً من المواد النشطة حيويًا ومنها الصادات الحيوية، فقد بين Fiddaman & Rossall (1993) أن العصوية الرقيقة تنتج بعض الصادات الحيوية التي تتميز بدور كبير في مكافحة الحيوية للفطريات؛ وبين Leifert *et al.*, (1995) أنها تنتج بعض الصادات الحيوية التي يمكن استعمالها في مكافحة الحيوية لبعض الفطريات الممرضة للنباتات؛ كما أظهر Oscáriz & Pisabarro (2000) أن الصاد الحيوي (السيرين 7 Cerein) هو ببتيد تنتجه العصوية الشمعية، ويتميز بنشاط جيد ضد بعض الجراثيم الإيجابية بصبغة غرام وليس ضد السلبية بصبغة غرام؛ وأجريت تنقية جزئية لصادات حيوية تنتجها العصوية الشمعية واستعملت ضد فطريات الفوزاريوم *Fusarium* (Sadfi *et al.*, 2002)، كما عزل Chen *et al.*, (2008) الصادات الليبوببتيدية التي تنتجها العصوية الرقيقة ووصفها وحدد إمكان دورها ونشاطها في مكافحة الحيوية ضد طيف واسع من الجراثيم الممرضة؛ وعزل Sethi *et al.*, (2013) العصوية الرقيقة من التربة ودرس تأثيرها في الزائفة الزنجارية والإشريكية المعوية، والعنقودية الذهبية. بسبب ازدياد مقاومة الجراثيم والعوامل الممرضة الأخرى للصادات الحيوية وتطورها لأسباب كثيرة، وارتفاع كلفة المعالجة للإنتانات الناتجة عن الجراثيم الممرضة يسعى الباحثون إلى إيجاد صادات حيوية جديدة من مصادرها الطبيعية مثل الفطريات والجراثيم ولاسيما الجراثيم غير الممرضة مثل بعض أنواع العصويات، من هنا اهتمت الدراسة الحالية بتأثير المزارع والخلاصات المجففة Lyophilized للعصوية الرقيقة المعزولة من التربة والمياه، في سلالات وأنواع العنقوديات المعزولة من مصادر مختلفة ومتنوعة، حيث عزلت من مختلف العينات المرضية، ومن الجلد السليم من الإنسان، وكذلك من عينات بيئية من التربة والمياه، ثم تحديد بعض مكونات هذه الخلاصات لمعرفة بعض الصادات الحيوية الموجودة فيها مقارنة بالمواد المعيارية المتوفرة، ومن المركبات التي أجري البحث والتأكد من وجودها باستعمال جهاز مطياف

الأشعة تحت الحمراء، والاستشراب السائل عالي الأداء (الكروماتوغرافيا السائلة) الببتيدات وأهمها الباسيتراسين، والبوليميكسين.

أما نتائج تأثير العصوية الرقيقة، فقد تبين أن مزارع السلالات الآتية *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* أبدت تأثيراً قوياً في معظم سلالات العنقوديات الذهبية والجلدية وغيرها؛ مما يدل على وجود مركبات وصادات حيوية نشطة تنتجها هذه الجراثيم، وعند المقارنة بتأثير الخلاصات المجفدة لهذه السلالات نفسها تبين أنها حافظت على تأثيرها بعد التجفيد في معظم الجراثيم المختبرة من العنقوديات باستثناء بعض السلالات إذ تناقص التأثير بعد التجفيد؛ وقد يعود ذلك لظروف وشروط التجفيد نفسها أو لتغير المركبات وتأثرها ببعض العوامل، أو ضياع قسم من هذه المركبات وفقدانها خلال عمليات التجفيد والنقل والتثقيل أو الترشيح.

أما السلالات الأخرى من العصوية الرقيقة *BS3K*, *BS4M*, *BS5W*, *BS6J*، وكان تأثيرها متوسطاً ولم يتغير تقريباً إلا في بعض الحالات بين تأثير المزارع وتأثير الخلاصات. وكان تأثير السلالات المعزولة من تربة قاسيون *BS9Q*, *BS10Q* ضعيفاً تقريباً في معظم الحالات تجاه العنقوديات المختبرة، ما عدا السلالة *BS10Q* إذ كان لها تأثير متوسط في 30% من العنقوديات المختبرة المعزولة من مصادر مختلفة ولاسيما المعزولة من الجلد السليم.

إن هذه الاختلافات قد تعود لاختلاف الصفات الوراثية بين نوع وآخر أو بين سلالة وأخرى، أو تعود للظروف البيئية التي تعيش فيها كل سلالة، وقد تختلف استجابتها في المختبر عن استجابتها في البيئة تجاه الجراثيم.

بعد الدراسة الجزيئية لبعض سلالات العنقودية الذهبية المعزولة من عينات مرضية تبين أنها تحمل المورثة *mecA* المرمزة لصفة المقاومة للميتيسلين التي توجد في بعض سلالات العنقودية الذهبية MRSA مثل S8 المعزولة من قيح، و S52 المعزولة من بول وكذلك S60 المعزولة من السائل الدماغي الشوكي، و S74 المعزولة من الأذن، وأيضاً السلالة S86 المعزولة من مفرزات قصبية، وتؤكد النتائج أن سلالات العصوية الرقيقة *BS1A*, *BS2D*, *BS7SH*, *BS8SH* أبدت نشاطاً قوياً ومهماً ضد هذه السلالات المقاومة من العنقودية الذهبية وبمتوسط قطر لهالة التثبيط تراوح بين 10-28 مم؛ مما يؤكد قوة وفائدة هذه الخلاصات في إمكان استعمالها تجاه نمو كثير من الجراثيم الممرضة والمقاومة والاستفادة منها في التطبيقات.

أظهرت الخلاصات المجفدة نتائج جيدة ضد كثير من العنقوديات الممرضة المعزولة من عينات متنوعة مثل السائل الدماغي الشوكي، والمفرزات القصبية، والسائل البريتواني، والشنت الدماغي البريتواني، وأيضاً سائل الجنب، إلى جانب العنقوديات المعزولة من القيح والخراجات وبعض حالات

الفقاع؛ مما يؤكد الاستفادة الكبيرة والأهمية الحيوية الفعالة لهذه الخلاصات في الصناعة والمجالات الطبية الصيدلانية وإنتاج الأدوية والصادات الحيوية في المستقبل.

وبمقارنة النتائج بما توصل إليه بعض الدراسات يتبين أنها تتفق مع بعض الدراسات وتختلف عن بعضها الآخر، إلا أن هذه الدراسة تتميز بأنها اعتمدت على طيف واسع من العنقوديات الممرضة وغيرها، واستعملت العصويات المعزولة من التربة والمياه في الدراسة نفسها، إضافة إلى أنها استعملت الخلاصات المجفدة Lyophilized extracts أما في معظم الدراسات العالمية الأخرى فاستعملت خلاصات محاليل عضوية كالهكسان والميتانول والكلوروفورم وغيرها (Bhatta & Kapadnis 2010, Kumar et al., 2009)، واستعملت الرشاحات مباشرة بعد التثقيب (Sethi et al., 2013)، من جهة أخرى فإن أغلب الجراثيم والفطريات المختبرة في دراسات وأبحاث كهذه معزولة من الأغذية، ركزت أغلب الدراسات على مجال المكافحة الحيوية (Hang et al., 2005, Cazorla et al., 2007, Kim et al., 2008, Kumar et al., 2009, Tabbene et al., 2010).

في دراسة Aslim et al., (2002) كانت نتائج تأثير سبع سلالات من العصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية معدوماً، وفي دراسة Kim et al., (2003) كان تأثير سلالة العصوية الرقيقة في العنقودية الذهبية معدوماً، وفي دراسة Motta et al., (2004) كان قطر هالة التثبيط من تأثير العصوي *Bacillus sp.* في العنقودية الذهبية بين 10 - 12 مم، كما تراوح في دراسة Ouoba et al., (2006) قطر هالة التثبيط ضد العنقودية الذهبية بين 3 - 5 مم، وفي دراسة Fernandes et al., (2007) تبين أن أقطار هالة التثبيط من العصوية الرقيقة ضد العنقودية الذهبية كانت 10,7 و 12,9 و 13,2 و 15,9 مم، أما في دراسة Faheem et al., (2007) فإن تأثير الصاد الحيوي البريفيسين المعزولة من العصوي *Bacillus brevis* AF01 في بعض السلالات من العنقودية الذهبية كان معدوماً وفي بعض السلالات بلغ قطر هالة التثبيط 7 مم، أما في دراسة Devi et al., (2008) فقطر هالة التثبيط من تأثير العصوي *B. clausii* في العنقودية الذهبية 16 مم، وفي دراسة Kuta et al., (2009) تبين أن قطر هالة التثبيط ضد العنقودية الذهبية 19 مم، وفي دراسة Muhammad et al., (2009) كان قطر هالة التثبيط تجاه العنقودية الذهبية 22 مم، أما دراسة Bhatta & Kapadnis (2010) فبينت أن قطر هالة التثبيط 25 مم، وفي دراسة Devi et al., (2010) تراوحت أقطار هالة التثبيط من خلاصة العصوية *B. licheniformis* SAB1 تجاه العنقودية الذهبية بين 4 - 6 مم، وفي دراسة Al-Ajlani & Hasnain (2010) تراوحت أقطار هالة التثبيط تجاه العنقودية الذهبية بين 6 - 10 مم، وكذلك دراسة Moshafi et al., (2011) أظهرت أن قطر هالة التثبيط تجاه العنقودية الذهبية 21 مم، وفي دراسة Sethi et al., (2013) فقطر هالة التثبيط تجاه العنقودية الذهبية 13,4 مم، أما دراسة Moore et al., (2013) فأكدت أقطار هالة التثبيط تجاه العنقودية الذهبية 28,3 و 14,6 و 20,3 و 19,7

مم، وفي دراسة Smitha & Bhat (2012) بلغ قطر هالة التثبيط ضد العنقودية الذهبية 11 مم من تأثير العصوي *B. licheniformis*، وفي دراسة Ramachandran *et al.* (2014) كانت أقطار هالة التثبيط من العسوية الرقيقة تجاه العنقودية الذهبية 0 و 14,5 مم. أما فيما يتعلق بمقارنة نتائج تأثير الخلاصات في العنقودية الجلدية: فكانت الدراسات المشابهة قليلة جداً ففي دراسة Devi *et al.* (2008) كان قطر هالة التثبيط من تأثير العصوي *B. clausii* في العنقودية الجلدية، 22 مم، وفي دراسة Moshafi *et al.* (2011) تبين أن قطر هالة التثبيط تجاه العنقودية الجلدية كان 22 و 27 مم، وفي دراسة Moore *et al.* (2013) تراوحت أقطار هالة التثبيط تجاه العنقودية *S. entermedius* بين 9 - 25 مم، وفي دراسة Ramachandran *et al.* (2014) بلغ قطر هالة التثبيط من العسوية الرقيقة تجاه العنقودية الجلدية 15,17 مم.



الاستنتاجات Conclusions

1. أعطت المزارع السائلة والخلاصات المجفدة لسلاسل العنقودية الرقيقة الآتية: *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH* تأثيراً كبيراً وفاعلاً في العنقوديات المختبرة.
2. أظهرت المزارع السائلة والخلاصات المجفدة لسلاسل العنقودية الرقيقة *BS1A, BS2D, BS7SH, BS8SH* نشاطاً تصادياً جيداً تجاه بعض سلالات العنقودية الذهبية الحاملة لمورثة المقاومة للميتيسلين *MRSA*.
3. لا توجد فروق معنوية بين تأثير سلالات العنقودية الرقيقة المعزولة من التربة والمياه في العنقوديات المختبرة.
4. حافظت الخلاصات المجفدة على صفاتها التصادية عموماً مقارنة بتأثير المزارع في كثير من سلالات العنقوديات، وفقدت بعض صفاتها التصادية في بعض السلالات الأخرى.
5. كان التركيب الكيميائي لهذه الخلاصات هو الببتيدات فقط اعتماداً على جهاز *FTIR*.
6. تحتوي الخلاصات المجفدة الصاد الحيوي الباسيتراسين بتركيز يتراوح بين 52 - 55 ميكروغراماً، وتحتوي الصاد الحيوي البوليميكسين بتركيز يتراوح بين 112 - 114 ميكروغراماً اعتماداً على نتائج التحليل والتنقية الجزئية على جهاز *HPLC*.
7. لا توجد فروق بين تأثير المزارع السائلة والخلاصات المجفدة في العنقوديات المختبرة عموماً باستثناء نحو 10% من السلالات.

التوصيات Recommendations

1. ضرورة إجراء دراسات وأبحاث على العسوية الرقيقة ولاسيما المعزولة من البيئة المحلية نظراً إلى أهمية المُستقلّبات الأمانة التي تنتجها من جهة، وإلى أهميتها الاقتصادية من جهة أخرى، وكذلك على الأنواع الأخرى من العسويات واستعمال منتجاتها في جميع المجالات والتطبيقات الاقتصادية.
2. إجراء دراسات جزيئية على العسويات وتحديد أهم المورثات التي لها الدور الرئيس في إنتاج الإنزيمات والصادات الحيوية والمركبات الحيوية الأخرى.
3. فصل وتحليل الخلاصات المفيدة وتحديد أهم المكونات والمركبات ولاسيما الدوائية منها.
4. إتمام البحوث العلمية والتجارب لدراسة تأثير الخلاصات في الفطريات الممرضة والفيروسات والطفيليات والأورام السرطانية التي تهدد حياة الإنسان.

المراجع References

- [1] أكيرمان، ج. (2012). شبكة التواصل الاجتماعي النهائية: دور البكتيريا النافعة في تقوية جهازنا المناعي وأثر المضادات الحيوية في إضعاف هذا الدور، مجلة العلوم، المجلد 28، العددان 11 و 12، ص 4 - 11.
- [2] أندرولي - بانيت - كارينتر - بلوم (2003). سيسيل أساسيات الطب الباطني Cecil Essentials of Medicine، ترجمة: زكوان ظهير القوتلي، أيمن السكري، محمد المبيض، أمجد القطيني، ط 5، دار المنجد.
- [3] آهيا، س، ن - فلود، ك - بارانجوثي، س (2003). واشنطن مانيول الدليل العلاجي في الطب الباطني The Washington Manual of Medical therapeutics، ترجمة: محمود شعبان، أحمد الأحمد، أحمد الزبيبي، أحمد زعل، أسامة المرزوك، رضا البشوات، باسل أحمد، خالد السعيد، سامر تيم، قاسم السخيطه، ط 30، دار المنجد.
- [4] بغدادي، وفاء - علي نظام (2009). الصادات الحيوية، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم.
- [5] البني، تيسير - عرفات - عواطف، السحار - أحمد (2008). الجراثيم والفيروسات الطبية، منشورات جامعة دمشق، كلية الطب البشري، جامعة دمشق.
- [6] علي نظام، عدنان - والأشقر، كمال (2013). بيولوجيا الأحياء الدقيقة، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم.
- [7] علي نظام، عدنان (2014). الميكروبيولوجيا الصناعية، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم.
- [8] فالكو، ب - بلفنغ - وولف - وينكلمان (1995). المرجع في الأمراض الجلدية، ترجمة: صالح داوود، هالة الجابر، محمد دلة، شريف السالم، عبد الرحمن القادري، وليد حناوي، سهيل دياب، سلوى الشيخ، مازن داوود، غانم رسلان، صائد كاشور، محمد نزار الدقر، عبد الحكيم عبد المعطي، هناء المسوكر، شذى زيزفون، ليديا عوض، هدى منيني، ط 1، المركز التقني المعاصر، دار ابن النفيس، دمشق.
- [9] قسومة، جمال - بريدي، محمد سامر - الحاج، ناصر - المكي، محمود - دندشي، محمد نبيل - سعيد، أيهم - حمادي، إياد - الزامل، حسين - العوا، نبوغ (2011). أمراض الأذن والأنف والحنجرة وجراحتها، منشورات جامعة دمشق، كلية الطب البشري، دمشق.
- [10] Aftab, M. N., Haq, I. U., Baig, S. (2010). optimization of different parameters for production of bacitracin in synthetic medium by *Bacillus licheniformis* mutant strain UV-MN-HN-8, Pakistan Journal of Science, Vol. 62, No. 2., 99 - 107.

- [11] **Al-Ajlani, M. M., Hasnain, S. (2010).** bacteria exhibiting antimicrobial activity; screening for antibiotics and the associated genetic studies. The Open Conference Proceedings Journal, Vol. 1, 230 – 238.
- [12] **Alef, K., Nannipieri, P. (1995).** Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, academic press Ltd.
- [13] **Ali-Nizam, A., Hussain, M. (2012).** sensitivity and resistance of main staphylococci isolated of urine samples cause UTIs at the National Hospital in Qamishly, Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies, Biological Sciences series, Vol. 34, No. 6, 221 - 232.
- [14] **Ali, M. Y., Chaouche, N. K., Dehimat, L., Bataiche, I., Ali, M. K., Cawoy, H., Thonart, Ph. (2014).** antifungal activity and bioactive compounds produced by *Bacillus mojavensis* and *Bacillus subtilis*, African Journal of Microbiology Research, Vol. 8, No. 6, 476 – 484.
- [15] **Allen, H. B. (2010).** Dermatology Terminology, 1st edition, Springer-Verlag London Limited, UK.
- [16] **Arya, D. P. (2007).** Aminoglycoside Antibiotics, 1st edition, John Wiley & Sons, Inc., U.S.A.
- [17] **Aslim, B., Sağlam, N., Beyatli, Y. (2002).** determination of some properties of Bacillus isolated from soil, Turk Journal of Biology, TÜbitak, Vol. 26, 41-48.
- [18] **Athukorala, N. M. S., Fernando, W. G. D., Rashid, K. Y. (2009).** identification of antifungal antibiotics of Bacillus species isolated from different microhabitates using polymerase chain reaction and MALDI-TOF mass spectrometry. Canadian Journal of Microbiology, Vol. 55, 1021 - 1032.
- [19] **Awais, M., Pervez A., Yaqub, A., Shah, M. M. (2010).** production of antimicrobial metabolites by *Bacillus subtilis* immobilized in polyacrylamide gel, Pakistan Journal of Zoology, Vol. 42, No. 3, 267 – 275.
- [20] **Banerjee, D., Mondal, A., Gupta, M., Guha, A. K., Ray, L. (2013).** optimization of fermentation conditions for green pigment production from *Bacillus cereus* M¹⁶ (MTCC 5521) and its pharmacological application, Letters in Applied Microbiology, Vol. 58, 25 - 30.
- [21] **Barredo, J. L. (2005).** Microbial Processes and Products, 5th edition, Humana press, New Jersey, U.S.A.
- [22] **Barton, L. L., Northup, D. E. (2011).** Microbial Ecology, 1st edition, Wiley-Blackwell publishing, U.S.A.
- [23] **Basak, S. (2013).** Infection Control, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [24] **Bauman, R. W. (2015).** Microbiology with Diseases by Body System. 4th edition, Pearson.
- [25] **Bazzoun, D., A., Harastani, H., H., Shehabi, A., A., Tokajian, S., T., (2014).** molecular typing of *Staphylococcus aureus* collected from a Major Hospital in Amman, Jordan, Journal of Infectious in Development Countries, Vol. 8, No. 4, 441 - 447.
- [26] **Benson (2001).** Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology, 8th edition, McGraw-Hills, USA.
- [27] **Bhatta, R. D., Kapadnis, P. B. (2010).** production optimization and characterization of bioactive compound against *Salmonella* from *Bacillus*

- subtilis* KBB isolated from Nepal. Scientific World Journal, Vol. 8, No. 8, 19 - 29.
- [28] **Bhunia A. K. (2008)**. Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis, Springer science business media, U.S.A.
- [29] **Bitton, G. (2005)**. Wastewater Microbiology, 3rd edition, John Wiley & Sons, Inc., USA.
- [30] **Black, J. G. (2012)**. Microbiology: Principles and Explorations, 8th edition, John Wiley & Sons, Inc., USA.
- [31] **Bobbarala, V. (2012)**. Antimicrobial Agents, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [32] **Brennan, P. O., Berry, K., Powell, C., Pusic, M. V. (2005)**. Handbook of Pediatric Emergency Medicine, 2nd edition, Taylor & Francis e-Library, BIOS Scientific Publishers Ltd.
- [33] **Brisco, M. A., Mullur, R. S. (2010)**. Washington Manual of Outpatient Internal Medicine, 1st edition, Lippincott Williams & Wilkins,
- [34] **Brooby, G. W. (2012)**. Meningitis, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [35] **Brooks, F. G., Carroll, C. K., Butel, S., J., Morse, A., S. (2007)**. Medical Microbiology, 24th edition, Lange, McGraw-Hill, USA.
- [36] **Burns, T., Breathnach, S., Cox, N., Griffiths, C. (2010)**. Rook's Textbook of Dermatology, 8th edition, Wiley-Blackwell, USA.
- [37] **Buxton, P. K. (2003)**. ABC of Dermatology, 4th edition, BMJ Publishing Group Ltd., UK.
- [38] **Cazorla, F. M., Romero, D., Garcia, A. P., Lugtenberg, B. J. J., De Vicente, A., Bloemberg, G. (2007)**. isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizoplane displaying biocontrol activity, Journal of Applied Microbiology, Vol. 103, 1950 - 1959.
- [39] **Chamberlain, N. R. (2009)**. The Big Picture: Medical Microbiology, 1st edition, McGraw-Hill, Lange, USA.
- [40] **Chan, P. D., Thomas, D. M., McKinley, E. W., Stanford, E. K. (2005)**. Outpatient and Primary Care Medicine, 1st edition, NMS, Current Clinical Strategies Publishing, USA.
- [41] **Chan, V. L., Sherman, P. M., Bourke, B. (2006)**. Bacterial Genomes and Infectious Diseases, 1st edition, Humana Press Inc., USA.
- [42] **Chaudhry, I. A. (2013)**. Common Eye infections, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [43] **Chen H., Wang L., Su C. X, Gong G. H., Wang P., Yu Z. L (2008)**. isolation and characterization of lipopeptide antibiotics produced by *Bacillus subtilis*, Letters in Applied Microbiology, vol. 47, 180 – 186.
- [44] **CLSI (2007)**. Clinical and Laboratory Standards Institute: methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria That Grow Aerobically. approved standard, 7th edition, Vol. 27, M2-M9 and M7-A7.
- [45] **Colledge, N. R., Walker, B. R., Ralston, S. H. (2010)**. Davidson's Principles & Practice of Medicine, 21st edition, Churchill Livingstone, Elsevier.
- [46] **Corradini, D. (2011)**. Handbook of HPLC, 2nd edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.

- [47] **Cornea, C. P., Grebenișan, I., Mateescu, R., Vamanu, E., Câmpenu, G. (2003).** isolation and characterization of new *Bacillus* spp. strains – useful as biocontrol agents of plant pathogens, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 8, No. 1, 1115 - 1122.
- [48] **Cowan, M. K. (2012).** *Microbiology: A Systems Approach*, 3rd edition, McGraw-Hill Companies, USA.
- [49] **Dechow, F. J. (1989).** *Separation and Purification Techniques in Biotechnology*, 1st edition, Noyes Publications, USA.
- [50] **Denyer, S. P., Hodges, N. A., Gorman, S. P. (2004).** *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 7th edition, Blackwell Science.
- [51] **Devi, P., Wahidullah, S., Rodrigues, C., Souza, L. D. (2010).** The Sponge-associated bacterium *Bacillus licheniformis* SAB1: a source of antimicrobial compounds, *Marine Drugs*, Vol. 8, 1203 -1212.
- [52] **Devi, N. K. A., Balakrishnan, K., Gopal, R., Padmavathy, S. (2008).** *Bacillus clausii* MB9 from the east coast regions of India: isolation, biochemical characterization and antimicrobial potentials, *Current Science*, Vol. 95, No. 5., 627 - 636.
- [53] **De vos, P., Garrity, G. M., Dorothy, J., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K.-H., Whitman, W. B. (2009).** *Bergey's manual of systematic bacteriology, the firmicutes*. Vol. 3. 2nd edition, Springer, U.S.A.
- [54] **Dixon, G. R., Tilston, E. L., (2010).** *Soil Microbiology and Sustainable Crop production*, 1st edition, Springer, U.K.
- [55] **Dutton, J. C., Haxell, A. M., McArthur, A. I. H., Wax, G. R. (2002).** *Peptide Antibiotics*, U.S.A.
- [56] **Duitman, E. H., Wyczawski, D., Boven, L. G., Venema, G., Kuipers, O., Hamoen, L. W. (2007).** novel methods for genetic transformation of natural *Bacillus subtilis* isolates used to study the regulation of the Mycosubtilin and Surfactin synthetases, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 73, No. 11, 3490 - 3496.
- [57] **Engelkirk, P. G., Burton, G. R. W. (2009).** *Burton's Microbiology*, 8th edition, Lippincott Williams & Wilkins.
- [58] **Faheem, F., Saeed, S., Rasool, S. A. (2007).** studies on Brevicin Af01: a bacteriocin like inhibitory substance active against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Pakistan Journal of Botany*, Vol. 39, No. 4, 1293 - 1302.
- [59] **Falcão, L. L., Silva, J. O. W., Vilarinho, B. R., Da silva, J. P., Pomella, A. W. V., Marcellino, L. H. (2014).** antimicrobials and plant growth promoting properties of the cacao endophyte *Bacillus subtilis* ALB629. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 116, 1584 – 1592.
- [60] **Fauci, S. A, Kasper, L. D., Longo, B. E., Hauser, L. S., Jameson, L., Loscalzo, J., Carolblack, D., Funder, J., Metc-alf, D., Ramires, F. A., Skorecki, K., White, J. N. (2008).** *Harrisons Principles of Internal Medicine*, 17th edition, Mc Graw Hills companies, USA.
- [61] **Fernandes, P. A. V., De arrude, I. R., Santos, A. F. A. B., De araujo, A. A., Major, A. M. S., Ximenes, E. A. (2007).** antimicrobial activity of

- Surfactants produced by *Bacillus subtilis* R14 against multidrug- resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 38, 704 - 709.
- [62] **Fiddaman P. J, Rossall S. (1993).** the production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*, Journal of Applied Bacteriology, Vol. 74, 119 - 126.
- [63] **Fischbach, F., Dunning, B. M. (2009).** A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 8th edition, Lippincott Williams & Wilkins.
- [64] **Forbes, B. A., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S. (2007).** Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, 12th edition, Mosby, Elsevier.
- [65] **Fuchs, W. S., Jaskolla, W. T., Bochmann, S., Kötter, P., Wichelhaus, T., Karas, M., Stein, T., Entian, K.-D., (2011).** Entianin a novel Subtilin-like lantibiotic from *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 15029 with high antimicrobial activity, Applied Environmental Microbiology, Vol. 77, No. 5, 1698 - 1707.
- [66] **Gardner, B. B. M. (2004).** ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural systems, Phytopathology, vol. 94, 1252 - 1258, American Phytopathological Society.
- [67] **Gawkrodger, D., J. (2003).** Dermatology An Illustrated Colour Text, 3rd edition, Churchill Livingstone.
- [68] **Geha, D. J., Uhl, J. R., Gustafro, C. A., Persing, D. H. (1994).** multiplex PCR for identification of methicillin-resistant Staphylococci in the clinical laboratory. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 32, No. 7, 1768 - 1772.
- [69] **Ghebremedhin, B., Layer, F., König, W., König, B. (2008).** genetic classification and distinguishing of Staphylococcus species based on different partial *gap*, *16S rRNA*, *hsp60*, *rpoB*, *sodA*, and *tuf* gene sequences. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 46, No. 3, 1019 - 1025.
- [70] **Ghashghaei, S., Emtiazi, G. (2013).** increasing the antibacterial activity of gentamicin in combination with extracted polyphosphate from *Bacillus megaterium*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 114, 1264 - 1272.
- [71] **Gillespie, H. S., Bamford, B. K. (2001).** Medical Microbiology and Infection at a Glance, 1st edition, Blackwell science, U.K.
- [72] **Gillespie, H. S. (1994).** Medical Microbiology Illustrated, Butterworth Heinemann.
- [73] **Glazer, A. N., Nikaido, H. (2007).** Microbial Biotechnology Fundamentals of Applied Microbiology, 2nd edition, Cambridge University Press, U.K.
- [74] **Goldman, E., Green, H. L. (2009).** Practical Handbook of Microbiology, 2nd edition, CRS press, Taylor & Francis Group.
- [75] **Goldman, L., Schafer, A. (2012).** Goldman's Cecil Medicine, 24th edition, Elsevier Saunders Inc.
- [76] **Gordillo, J. E., Dekio, I. (2012).** Atopic Dermatitis-Disease Etiology and Clinical Management, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [77] **Guilfoile, P. G. (2007).** Antibiotic-Resistant Bacteria, 1st edition, Chelsea House.
- [78] **Haddad, I. A., Wang, J., Mu, B. (2009).** identification of a biosurfactant producing strain: *Bacillus subtilis* HOB2, Protein & Peptide Letters, Vol. 16, No. 1, 7 – 13, Bentham Science publishers Ltd.
- [79] **Hammami, I., Siala, R., Jridi, M., Ktari, N., Nasri, M., Triki, M. A. (2013).** partial purification and characterization of chiIO8, a novel

- antifungal chitinase produced by *Bacillus cereus* IO8, Journal of Applied Microbiology, Vol. 115, 358 - 366.
- [80] **Hang, N. T., Oh, S. O., Kim, G. H., Hur, J. S., Koh, Y. J. (2005).** *Bacillus subtilis* S1-0210 as a biocontrol agent against *Botrytis cinerea* in Strawberries, The Plant Pathology Journal, Vol. 21, No. 1, 59 - 63
- [81] **Hardy, S. P. (2002).** Human Microbiology, 1st edition, Taylor & Francis Inc, USA.
- [82] **Harisha, S. (2007).** Biotechnology Procedures and Experiments Handbook, 1st edition, Infinity Science Press LLC, India.
- [83] **Harvey, R. A., Cornelissen, C. N., Fisher, B. D. (2013).** Microbiology Lippincott's Illustrated Reviews. 3^{ed} edition, Lippincott Williams & Wilkins. U.S.A.
- [84] **Hauser, A. R. (2013).** Antibiotic Basics for Clinicians : The ABCs of Choosing The Right Antibacterial Agent, 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
- [85] **Haward, B. J., Keiser, J. F., Smith, T. F., Weissfeld, A. S., Tilton, R. C. (1994).** Clinical and Pathogenic Microbiology, 2nd edition, Mosby.
- [86] **Henry, (2001).** Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Vol. 3, 20th edition, Soundears company.
- [87] **Hogg, S. (2005).** Essential Microbiology, 1st edition, John Wiley & sons, UK.
- [88] **Huang, X. F., Zhou, D., Guo, J., Manter, D. K., Reardon, K. F., Vivanco, J. M. (2014).** *Bacillus spp.* from rainforest soil promote plant growth under limited nitrogen conditions, Journal of Applied Microbiology, Vol. 118, 976 -988.
- [89] **Hu, Y., Miller, M. M., Derman, A. L., Ellis, B. L., Monnerat, R. G., Pogaliano, J., Aroian, R. V. (2013).** *Bacillus subtilis* strain engineered for treatment of soil-transmitted helminth diseases, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 79, No. 18, 5527 - 5532.
- [90] **Inaoka, T., Ochi, K. (2011).** scandium stimulates the production of Amylase and Bacilysin in *Bacillus subtilis*, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 77, No. 22, 8181 - 8183.
- [91] **Isenberg, H. D. (2007).** Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd edition, , ASM press Washington D. C., USA.
- [92] **Japoni, A., Alborzi, A., Rasouli, M., Pourabbas, B. (2004).** modified DNA extraction for rapid PCR detection of methicillin-resistant staphylococci, Iranian Biomedical Journal, Vol. 8, No. 3, 161 - 165.
- [93] **Jay, J. M., Loessner, M. J, Golden, D. A. (2005).** Modern Food Microbiology, 7th edition, Springer Science Business Media, U.S.A.
- [94] **Joung, K. B., Côté, J. C. (2002).** evaluation of ribosomal RNA gene restriction patterns for the classification of *Bacillus* species and related genera, Journal of Applied Microbiology, Vol. 92, 97 - 108.
- [95] **Kalia, A., Rattan, A., Chopra, P. (1999).** a method for extraction of high-quality and high-quantity genomic DNA generally applicable to pathogenic bacteria, Analytical Biochemistry, Vol. 275, 1 - 5.
- [96] **Kar, A. (2008).** Pharmaceutical Microbiology, 1st edition, New Age International (P) Ltd., Publishers, India.

- [97] **Katzung, B. G., Masters, S. B., Trevor, A. J. (2012).** Basic & Clinical Pharmacology, 12th edition, McGraw-Hill Companies, Inc., Lange, USA.
- [98] **Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, R. M., Zinkernagle, R. M. (2005).** Medical Microbiology. 10th edition, Germany, Thieme Stuttgart.
- [99] **Kazakevich, Y., Lobrutto, R. (2007).** HPLC for Pharmaceutical Scientists, 1st edition, John Wiley & Sons, Inc., USA.
- [100] **Kent, R. M., Guinane, C. M., O'Connor, P. M., Fitzgerald, G. F., Hill, C., Stanton, C., Ross, R. P. (2012).** production of the antimicrobial peptides Caseicin A and B by *Bacillus* isolates growing on sodium caseinate, Letters in Applied Microbiology, Vol. 55, 141 - 148.
- [101] **Kim, W. G., Weon, H. Y., Seok, S. J., Lee, K. H. (2008).** in vitro antagonistic characteristics of *Bacilli* isolates against *Trichoderma* spp. and three species of Mushrooms, Mycobiology, Vol. 36, No. 4, 266 - 269.
- [102] **Kim, P. I., Bai, H., Bai, D., Chae, H., Chung, S., Kim, Y., Park, R., Chi, Y. T. (2004).** purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26, Journal of Applied Microbiology, Vol. 97, 942 -949.
- [103] **Kim, H. S., Park, J., Choi, S. W., Choi, K. H., Lee, G. P., Ban, S. J., Lee, C. H., Kim, C. S. (2003).** isolation and characterization of *Bacillus* strains for biological control, The Journal of Microbiology, Vol. 41, No. 3, 196 - 201.
- [104] **Klefenze, H. (2002).** Industrial Pharmaceutical Biotechnology, 1st edition, Wiley-VCH Verlag GmbH, Germany.
- [105] **Koch, A. L. (2007).** The Bacteria: Their Origin, Structure, Function and Antibiosis, 1st edition, Springer, USA.
- [106] **Kolkman, M. A. B., Ploeg, R. V., Bertels, M., Dijk, M. V., Laan, J. V., Dijk, J. M. V., Ferrari, E. (2008).** the twin-arginine signal peptide of *Bacillus subtilis* YwbN can direct either tat- or sec-dependent secretion of different cargo proteins: secretion of active Subtilisin via the *B. subtilis* tat pathway, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 74, No. 24, 7507 - 7513.
- [107] **Koren, H., Bisesi, M. (2003).** Handbook of Environmental Health, 4th edition, Lewis Publishers an imprint of CRC Press, USA.
- [108] **Kuijk, S. V., Noll, K. S., Chikindas, M. L. (2011).** the species-specific mode of action of the antimicrobial peptide subtilosin against *Listeria monocytogenes* scott A, Letters in Applied Microbiology, Vol. 54, 54 - 58.
- [109] **Kumar, A., Saini, P., Shrivastava, J., N. (2009).** production of peptide antifungal antibiotic and biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. Indian Journal of Experimental Biology, Vol. 47, 57 – 62.
- [110] **Kurosawa, K., Hosaka, T., Tamehiro, N., Inaoka, T., Ochi, K. (2006).** improvement of α -amylase production by modulation of ribosomal component protein S12 in *Bacillus subtilis* 168, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 72, No. 1, 71 - 77.
- [111] **Kuta, A. F., Nimzing, L., Orkaa, Y. P. (2009).** screening of *Bacillus* species with potentials of antibiotics production. Applied Medical Informatics, Vol. 24, No. 1-2, 42 - 46.

- [112]Lebbadi, M., Gálvez, A., Maqueda, M., Bueno, M. M., Valdivia, E. (1994). Fungicin M4: a narrow spectrum peptide antibiotic from *Bacillus licheniformis* M-4, Journal of Applied Microbiology, Vol. 77, 49 - 53.
- [113]Leifert C., H. Li, Chidburee Siripun, Hampson S., Workman Suzanne, Sigee D., Epton H.A.S., Harbour Agnes (1995). antibiotic production and activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45, Journal of Applied Bacteriology, Vol. 78, 97 - 108.
- [114]Levy, S. B., Marshall, B., (2004). antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nature Medicine Supplement, Vol. 10, No. 12, 122 - 129.
- [115] Levis, J., Garmel, G. (2009). Clinical Emergency Medicine Casebook, 1st edition, Cambridge University Press, UK.
- [116] Li, Y., Xu, Y., Liu, L., Han, Z., Lai, P. Y., Guo, X., Zhang, X., Lin, W., Qian, P. Y. (2012). five new Amicoumacins isolated from a marine-derived bacterium *Bacillus subtilis*, Marine Drugs, Vol. 10, 319 - 328.
- [117]Lindquist, J. (2009). Isolation of *Bacillus*, Bacteriology Course, department of bacteriology, university of Wisconsin-Madison.
- [118]Locke, T., Keat, S., Walker, A., Mackinnon, R. (2012). Microbiology and Infectious Diseases on The Move, 1st edition, Hodder Arnold, a division of Hachette UK.
- [119] Longmore, M., Wilkinson, L. B., Baldwin, A., Wallin, E. (2014). Oxford Handbook of Clinical Medicine, 9th edition, Oxford University Press Inc., USA, UK.
- [120]Longo, L. D., Fauci, S. A., Kasper, L. D., Hauser, L. S., Jameson, J. L., Loscalzo, J. (2012). Harrison's Principles of Internal Medicine, 8th edition, The McGraw-Hill companies, U.S.A.
- [121]Lucas, O. A., Gilles, M. H. (2003). Short Textbook of Public Health Medicine for The Tropics, 4th edition, Hodder Arnold Group, U.K.
- [122] Lüllmann, H., Mohr, K., Hein, L., Bieger, D. (2005). Color Atlas of Pharmacology, 3rd edition, Thieme, Georg Thieme Verlag, Germany.
- [123]Madigan, M., T., Martinko, J., M., Stahl, D., A., Clark, D.,P. (2012). Brock Biology of Microorganisms, 13th edition, Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, U.S.A.
- [124]Mahboub, B., H. and Vats, M. (2013). Respiratory Disease and Infection- A new insight, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [125]Mahon, C. R., Lehman, D. C., Manuselis, G. (2015). Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th edition, Elsevier Saunders Inc.
- [126]Mallory, S. B., Bree, A., Chern, P. (2005). Illustrated Manual of Pediatric Dermatology: Diagnosis and Management, 1st edition, Taylor & Francis, UK.
- [127]Mangel, B. M., Schwiebert, L. P. (2009). Family Medicine, 5th edition, McGraw-Hill, U.S.A.
- [128] Mann, M. W., Berk, D. R., Popkin, D. L., Bayliss, S. J. (2009). Handbook of Dermatology: A Practical Manual, Blackwell publishing-John Wiley & sons, UK.
- [129]Mara, D., Horan, N. (2003). Handbook of Water and Wastewater Microbiology, 1st edition, Academic Press an Imprint of Elsevier, UK.

- [130] Marques, F., R., M. (2012). Endocarditis, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [131] Marseglia, G., L. and Caimmi, D., P. (2011). Peculiar Aspects of Rhinosinusitis, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [132] McKean, C. S., Ross, J. J., Dressler, D. D., Brotman, J. D. (2012). Principles and Practice of Hospital Medicine, 1st edition, McGraw-Hill.
- [133] Mei Kane, K. S., Lio, P. A., Stratigos, A. J., Johnson, R. A. (2009). Color Atlas & Synopsis of Pediatric Dermatology. McGraw-Hill.
- [134] Moghadam, S. O., Pourmand, M. R., Aminharati, F. (2014). biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from burn patients Iran, Journal of Infectious in Development Countries., Vol. 8, No. 12, 1511 - 1517.
- [135] Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V., Sorokulova, I. (2013). Antagonistic activity of *Bacillus* bacteria against Food-Borne Pathogens, Journal of Probiotics & Health, vol.1, No.3, 1 – 6
- [136] Morello, A. J., Mizer, E. H., Granato, A. P. (2003). Laboratory Manual and Workbook in Microbiology, 7th edition, McGraw-Hill companies.
- [137] Moshafi, H. M., Forootanfar, H., Ameri, A., Shakibaie, M., Noudeh, D. G., Razavi, M. (2011). antimicrobial activity of *Bacillus* sp. strain Fas₁ isolated from soil, Pakistan Journal Pharmaceutical Science, Vol. 24, No. 3, 269 – 275.
- [138] Motta, A. S., Olivera, F. C., Brandelli, A. (2004). screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin, Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 35, 307 - 310.
- [139] Moyen, A. L., Shelby, R., Cleveland, T. E., Tuzun, S. (2001). Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 90, 622 - 629.
- [140] Muhammad, S. A., Ahmad, S., Hameed, A. (2009). antibiotic production by thermophilic *Bacillus* specie Sat-4, Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 22, No. 3, 339 - 345.
- [141] Munimbazi, C., Bullerman, L. B. (1998). isolation and partial characterization of antifungal metabolites of *Bacillus pumilus*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 84, 959 - 968.
- [142] Nair, J., R., Singh, G., Sekar, V. (2002). isolation and characterization of a novel *Bacillus* strain from coffee phyllosphere showing antifungal activity. Journal of Applied Microbiology, Vol. 93, 772 - 780.
- [143] Nascimento, T. C., Da Saliva, V. L., Machado, A. B. F., Diniz, C. G. (2015). potential spread of multidrug-resistant coagulase-negative staphylococci through healthcare waste, Journal of Infectious in Development Countries, Vol. 9, No. 1, 029 - 034.
- [144] Nelius, T. (2013). Recent Advances in The Field of Urinary Tract Infections, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [145] Okafor, N. (2007). Modern Industrial Microbiology and Biotechnology, 1st edition, Science Publishers, Enfield, NH, USA.
- [146] Okanlawon, B. M., Ogunbanwo, S. T., Okunlola, A. O. (2010). Growth of *Bacillus cereus* isolated from some traditional condiments under different regimens, African Journal of Biotechnology, Vol. 8, No. 14, 2129 – 2135.

- [147] **Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J. L., Thonart, P. (2007).** Surfactin and Fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants, *Environmental Microbiology*, Vol. 9, No. 4, 1084 – 1090.
- [148] **Oscáriz, J. C., Pisabarro, A. G. (2000).** characterization and mechanism of action of cerein 7, a bacteriocin produced by *Bacillus cereus* Bc7, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 89, 361 - 369.
- [149] **Ouoba, I.I.L., Diawara, B., Jespersen, L., Jakobsen, M. (2006).** antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* during the fermentation of African locust bean (*parkia biglobosa*) for soumbala production, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 102, 963 – 970.
- [150] **Pana, M. (2012).** Antibiotic Resistant Bacteria – A Continuous Challenge in The New Millennium, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [151] **Paul A. E. (2007).** Soil Microbiology Ecology and Biochemistry, 3rd edition, Elsevier, academic, U.S.A.
- [152] **Pour, S. K. F., Lotfi, A. S., Ahmadian, G., Baghizadeh, A. (2015).** covalent immobilization of recombinant organophosphorus hydrolase on spores of *Bacillus subtilis*, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 118, 976 - 988.
- [153] **Prescott, M. L., Harley, P. J., Klein, A. D. (2002).** Microbiology, 5th edition, McGraw-Hill companies. U.S.A.
- [154] **Priya, T., Usharani, G. (2009).** comparative study for Biosurfactant production by using *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Botany Research International*, vol. 2, No. 4, 284 - 287.
- [155] **Quintana, V. M., Torres, N. L., Wachsman, M. B., Sinko, P. J., Castilla, V., Chikindas, M. (2014).** antiherpes simplex virus type 2 activity of antimicrobial peptide subtilisin. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 117, 1253-1259.
- [156] **Ramachandran, R., Chalasani, A. G., Lal, R., Roy, U. (2014).** a broad-spectrum antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* RLID 12.1, *The Scientific World Journal*, Vol. 2014, Hindawi Publishing Corporation.
- [157] **Resch, B. (2013).** Neonatal Bacterial Infection, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [158] **Risøen, P. A., Ronning, P., Hegna, I. K., Kolsto, A. B. (2004).** characterization of a broad range antimicrobial substance from *Bacillus cereus*, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 96, 648 – 655.
- [159] **Ritter, J. M., Lewis, L. D., Mant, T. G., Ferro, A. (2008).** A Textbook of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 5th edition, Hodder Arnold, UK.
- [160] **Romeo, T. (2008).** Bacterial Biofilms, 1st edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- [161] **Rose, R., Setlow, B., Monroe, A., Mallozzi, M., Driks, A., Setlow, P. (2007).** comparison of the properties of *Bacillus subtilis* spores made in liquid or on agar plates, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 103, 691 - 699.
- [162] **Rubin, B., K., Tamaoki, J. (2005).** antibiotics as anti-inflammatory and immunomodulatory agents, 1st edition, Birkhäuser Verlag, Germany.
- [163] **Ruiz-Garcia, R. C., Bejar, V., Chca, M. F., Liamas, I., Quesada, E. (2005).** *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant producing bacterium

- isolated from the river velez in Malaga southern Spain, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology , Vol. 55, 191 - 195, Spain.
- [164]Rycroft, R. J. G., Robertson, S. J., Wakelin, S. H. (2010). A Colour Handbook Dermatology, 2nd edition, Manson Publishing Ltd, UK.
- [165]Sadfi, N., Cherif, M., Hajlaoui, M. R., Boudabbous, A., Belanger, R. (2002). isolation and partial purification of antifungal metabolites produced by *Bacillus cereus*, Annals of Microbiology, Vol. 52, 323 - 337.
- [166]Sánchez, N. P. (2012). Atlas of Dermatology in Internal Medicine, 1st edition, springer, USA.
- [167]Schaechter, M. (2004). The Desk Encyclopedia of Microbiology, 1st edition, Elsevier academic press, USA.
- [168]Schallmey, M., Singh, A. Ward, O. P. (2004). developments in the use of Bacillus species for industrial production, Canadian Journal of Microbiology, Vol. 50, pp. 1 - 17,
- [169]Sergelidis, D., Abraham, A., Papadopoulos, T., Soultos, N., Martziou, E., Koulourida, V., Govaris, A., Pexara, A., Zdragas, A., Papa, A. (2014). isolation of methicillin-resistant Staphylococcus spp. from ready-to-eat fish products. Letters in Applied Microbiology, Vol. 59, 500 - 506.
- [170]Sethi S., Kumar, R., Gupta, S. (2013). antibiotic production by microbes isolated from soil, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Researches, Vol. 4, 2967 – 2973.
- [171]Snyder, L., R., Kirkland, J., J., Dolan, J., W. (2010). Introduction to Modern Liquid Chromatography, 3th edition, John Wiley & sons.
- [172]Smitha, S., Bhat, S. G. (2012). thermostable Bacteriocin BL8 from *Bacillus licheniformis* isolated from marine sediment. Journal of Applied Microbiology, Vol. 114, 688 - 694.
- [173]Stanbury, P. F., Whitaker, A., Hall, S. J. (2003). Principles of Fermentation Technology, 2nd edition, Butterworth-Heinemann, Elsevier Science, UK.
- [174]Staroń, A., Elisabeth, D., Mascher, T. (2011). peptide antibiotic sensing and detoxification modules of *Bacillus subtilis*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 55, No. 2, 515 - 525.
- [175]Steele, R. W. (2007). Clinical Handbook of Pediatric Infectious Disease, 3rd edition, Informa healthcare, USA.
- [176]Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions, Molecular Microbiology, Vol. 56, No. 4, 845 – 857.
- [177]Steubing M. P. (1993). Soil Bacteria, ch.6, pp 81 – 114.
- [178]Storz G. R., Aronis, H. (2000). bacterial stress responses, ASM press Washington, D. C.
- [179]Tabbene, O., Karkouch, I., Elkahoui, S., Cosette, P., Mangoni, M. L., Jouenne, T. (2010). a new antibacterial and antioxidant S07-2 compound produced by *Bacillus subtilis* B38. FEMS Microbiology Letters, Vol. 303, 176 - 182.
- [180]Tang, Y.-W., Stratton, W. C. (2006). Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology, 1st edition , Springer Science, U.S.A.

- [181]Taussig, L., M., Landau, L., I., Le Souëf, P., N., Martinez, F.,D., Morgan, W., J., Sly, P., D. (2008). Pediatric Respiratory Medicine, 2nd edition, Mosby Elsevier, USA.
- [182]Tenke, P. (2011). Urinary Tract Infections, 1st edition, Intech publishing, Croatia.
- [183]Thappa, D. M. (2009). Clinical Pediatric Dermatology, 1st edition, Elsevier, USA.
- [184]Thompson, J. M., Gündoğdu, A, Stratton, H. M., Katouli, M. (2012). antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in hospital wastewaters and sewage treatment plants with special reference to methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of Applied Microbiology, Vol. 114, 44 - 54.
- [185]Todar, K. (2011). Genus of Bacillus, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, www.textbookofbacteriology.net, Todar's Online Textbook of Bacteriology, 15 March 2012.
- [186]Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2013). Microbiology: An Introduction, 11th edition, Pearson, USA.
- [187] Toy, E. C., Patlan, J. T. (2009). Case Files Internal medicine, 3rd edition, McGraw-Hill, Lange, U.S.A.
- [188]Vandepitte, J., Verhaegen, J., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., Heuck, C. C. (2003). Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology, 2nd edition, Publications of the World Health Organization WHO, Geneva, Switzerland.
- [189]Varma, A., Abbott, L., Werner, D., Hampp, R., (2008). Plant Surface Microbiology, 2nd edition, Springer, Germany.
- [190]Violeta, O. (2011). production of biosurfactants and their use for environmental protection and horticultural crops, Doctoral thesis, University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine, Bucharest, Romania.
- [191]Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey J. S., Highton G. (2001). Industrial Microbiology an Introduction", 1st edition, Blackwell Science.
- [192]Walker, B., R., Colledge, N., R., Ralston, S., H., Penman, I., D. (2014). Davidson's Principles & Practice of Medicine. 22nd edition, Churchill Livingstone, Elsevier, USA, UK.
- [193]Wax, R., G., Lewis, K., Salyers, A., A., Taber, H., (2008). Bacterial Resistance to Antimicrobials, 2nd edition, CRC Press Taylor & Francis Group.
- [194]Weller, R., Hunter, J., Savin, J., Dahl, M. (2008). Clinical Dermatology, 4th edition, Blackwell Publishing, UK, USA.
- [195]Willey, J. M., Sherwood, L. M., Woolvertton, C. J. (2008). Prescott, Harley, Klein's Microbiology. 7th edition. McGraw-Hill, U.S.A.
- [196]Wilson, M. (2008). Bacteriology of Humans, 1st edition, Blackwell Publishing, UK, USA.
- [197]Wolff, K., Goldsmith, L. A., Katz, S. I., Gilchrest, B. A., Paller, A. S., Leffell, D. J. (2008). Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 7th edition, McGraw-Hill, USA.

- [198]Wolff, K., Johnson, R. A., Saavedra, A. P. (2013). Fitzpatrick's Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology, 7th edition, McGraw-Hill, USA.
- [199]Wolff, K., Johnson A. R., Suurmond, D. (2007). Fitzpatrick's Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology, 5th edition, McGraw-Hill medical companies, U.S.A.
- [200]Wu Z., Chengsong, Y., Guo, F., Zhang, S., Yu, X. (2013). evidence for broad-spectrum biofilm inhibition by the bacterium *Bacillus* sp. strain sw9, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 79, No. 5, 1735 – 1738.
- [201]Yuan, J., Zhang, F., Wu, Y., Zhang, J., Raza, W., Shen, Q. (2014). recovery of several cell pellet-associated antibiotics produced by *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6. Letters in Applied Microbiology, Vol. 59, 169 - 176.
- [202]Zhang, C. X., Zhao, X., Han, F., Yang, M. F., Chen, H., Chida, T., Shen, S. H. (2009). comparative proteome analysis of two antagonist *B. subtilis* strains, Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 19, No. 4, 351 - 357.
- [203]Zhu, T., Pan, Z., Domaglaski, N., Koepsel, R., Ataii, M. M., Domach, M. M. (2005). Engineering of *Bacillus subtilis* for Enhanced Total Synthesis of Folic Acid, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 71, No. 11, 7122 – 7129.