جمـــهورية الـــــعراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى-كلية التربية للعلوم الصرفة

حساسية بعض الأجناس البكتيرية متعددة المقاومة للمضادات اتجاه مستخلصات اوراق نبات الدفلى وبعض أكاسيد الجسيمات النانوية

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من الطالب

جهاد حميد رشيد العبيدي

بإشراف

أ.د عباس عبود فرحان الدليمي

شوال/ ١٤٤٧ هـ **آذار/ ٢٠٢٦ م**

الخلاصة

الانتشار المتزايد للاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية وما نتج عنه من ظهور سلالات بكتيرية تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحيوية، باتت هناك ضرورة لإيجاد بدائل علاجية مبتكرة وأكثر فعالية. أجريت الدراسة في المختبرات التعليمية في مستشفى بعقوبة التعليمي، جمعت العينات للفترة من (2024/9/23) إلى (2024/12/5) من مرضى راقدين ومراجعين في مستشفى بعقوبة التعليمي والعيادة الاستشارية في محافظة ديالى. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم فعالية مستخلصات أوراق نبات الدفلى *Nerium oleander* والجسيمات النانوية المتمثلة بأوكسيد التيتانيوم TiO_2 وأوكسيد الزنك ZnO وأوكسيد المغنيسيوم كبدائل علاجية محتملة لمقاومة البكتيريا الممرِضة متعددة المقاومة للمضادات الحيوية. شملت الدراسة جمع 191 عينة سريرية من حالات الجروح والحروق والتهاب الأذن الوسطى والتهاب المسالك البولية ومن كلا الجنسين وبأعمار تراوحت بين 15 و85 سنة. تم عزل وتشخيص البكتيريا المسببة للإصابات، ودراسة بعض خصائصها البايولوجية وعوامل الضراوة، فضلاً عن تقييم حساسيتها تجاه مجموعة من المضادات الحيوية. أظهرت نتائج عزل 175 عينة نامية أن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* كانت الأكثر انتشاراً، تلتها *Acinetobacter baumannii*، و*Staphylococcus aureus*، و*Escherichia coli*. وبينت الاختبارات البايوكيميائية قدرة معظم العزلات على إنتاج إنزيمات مرتبطة بالضراوة، ولا سيما *P. aeruginosa* التي أظهرت امتلاكها لعدة عوامل ضراوة شملت إنتاج الغشاء الحيوي وإنتاج الإنزيمات الحالّة كالإنزيم الحال للبروتين Protease والإنيزم الحال للشحوم Lipase، والقدرة على الحركة، وإفراز الأصباغ. كما أظهرت العزلات البكتيرية مستويات متفاوتة من المقاومة للمضادات الحيوية المختبرة، مع تسجيل نسب مقاومة مرتفعة خصوصاً لدى *A. baumannii* و*S. aureus*. كشف التحليل الكيميائي وGC–MS للمستخلصات عن وجود مركبات فعالة متعددة يُرجّح دورها في النشاط المضاد للبكتيريا. كما قيِّمَ التأثير التثبيطي لتراكيز متزايدة من مستخلصات أوراق نبات الدفلى المحضّرة باستخدام مذيبات الإيثانول والكلوروفورم والماء وبطريقة استخلاص حارة وباردة. أظهرت النتائج ان فعالية المستخلصات اعتمدت على نوع المذيب وطريقة الاستخلاص وتركيز المستخلص، إذ سجلت المستخلصات الإيثانولية، ولا سيما الحارة وبتركيز 200%، أعلى فعالية تثبيطية، في حين كانت المستخلصات المائية الأقل تأثيراً، وقد كان تأثير التركيز 200% أعلى فعالية تثبيطية تلاه التركيز 150% ثم 100% لجميع المستخلصات المستخدمة. كما اختبرت فعالية بعض الجسيمات النانوية تجاه العزلات البكتيرية المقاومة، إذ أظهرت النتائج محدودية تأثير التراكيز الواطئة، في حين حققت التراكيز العالية، ولا سيما بتركيز 3000 ميكروغرام/مل، تأثيراً تثبيطياً ملحوظاً. وقد أظهر أوكسيد الزنك النانوي أعلى فعالية مقارنة بأوكسيد المغنيسيوم وأوكسيد التيتانيوم.

تستنتج الدراسة ان مستخلصات أوراق نبات الدفلى، إلى جانب بعض الجسيمات النانوية، تمتلك نشاطاً مضاداً للبكتيريا الممرِضة متعددة المقاومة، قد تسهم أن تكون بدائل علاجية واعدة بعد اجراء المزيد من الاختبارات وموافقة إدارة الغذاء والدواء الامريكية قد تسهم في الحد من مشكلة مقاومة المضادات الحيوية.

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1. المقدمة Introduction

تعد البكتريا المرضية المقاومة للمضادات الحيوية المسبب الرئيس لمشاكل قطاع الرعاية الصحية، ترتفع أعداد البكتريا متعددة المقاومة لمضادات الحياة Multidrug-resistant bacteria (MDR) مع مرور الوقت والتي تهدد صحة الإنسان لقدرتها على إحداث الإصابة بالأمراض القاتلة، تنتشر هذه المشكلة بشكل شائع بين أنواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة جرام مثل *Pseudomonas aeruginosa* و*Escherichia coli* و*Acinetobacter baumannii* و *Klebsiella pneumoniae* (السالبة لصبغة جرام) فضلاً عن *Staphylococcus aureus* و*Streptococcus pneumoniae* و*Enterococcus faecalis* (الموجبة لصبغة جرام) بعدما كانت تقتصر غالبية العدوى في المستشفيات (Breijyeh وآخرون، 2020).

تستخدم البكتريا التراكيز غير القاتلة من المضاد الحيوي كإشارات تنظيمية تساعدها على تطوير مقاومتها للمضاد المستخدم، وتشكل البكتريا متعددة المقاومة للمضادات MDR التي تظهر مقاومة لمضاد واحد على الأقل في ثلاث مجاميع مختلفة من مضادات الأحياء المجهرية مصدر قلق متزايد في المستشفيات خصوصاً، فقد تفقد السيطرة على العدوى البسيطة وتحولها إلى عدوى مميتة مع مرور الوقت (Terreni وآخرون، 2021).

تسبب البكتريا المقاومة للمضادات العديد من حالات الوفاة فقد كانت بكتريا *S. aureus* المقاومة للمثيسيلين و*A. baumannii* المقاومة للكاربابينيم مسؤولة عن العديد من حالات الوفاة حول العالم ويمكن ان تتزايد هذه الحالات والتي ينتج عنها زيادة في التكاليف المبذولة للتغلب على هذه المشكلة، تمتلك البكتريا القدرة على مقاومة المضادات فطرياً أو قد تكتسبها مع مرور الوقت (Jubair وآخرون، 2021).

تعد بكتريا *P. aeruginosa* أحد العوامل الرئيسة المسببة للعدوى المكتسبة من المستشفيات، تسبب العديد من الأمراض مثل التهابات الجهاز التنفسي والجهاز البولي، تجرثم الدم، التهاب الجلد، وذلك لقدرتها على التكيف والبقاء على الأسطح الجافة، إذ تنمو حتى في ظروف نقص الأغذية وفي درجات حرارة مختلفة تتراوح من 4 إلى 42 °م، ويواجه علاج بكتريا *P. aeruginosa* صعوبة بالغة نتيجة لمقاومتها للأدوية واستعمارها للأسطح الرطبة، إذ تمتلك آليات مقاومة متعددة إما داخلية أو مكتسبة خارجياً، فضلاً على امتلاكها مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة مثل الأهداب pilli والأسواط flagella وانظمة الإفراز وإنتاجها للأغشية الحيوية (Liao وآخرون، 2022).

تكون بكتريا *E. coli* المسبب الرئيس للأمراض المعوية وقد تتواجد هذه البكتريا خارج الأمعاء في الدم والجهاز البولي وحتى الجهاز العصبي مسببة العديد من الأمراض ومن العوامل

المؤثرة على أمراضيتها هو امتلاكها العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها في حدوث الإصابة (Pakbin وآخرون، 2021).

تعد بكتريا *A. baumannii* أكثر الأنواع عزلاً من سلالات Acinetobacter spp من العينات السريرية مهددة حياة الأفراد المقيمين في المستشفيات، وتنتج معظم حالات عدوى الرعاية الصحية من بكتريا *A. baumannii* متعددة المقاومة للأدوية، إذ تستخدم هذه البكتريا آليات مقاومة متنوعة للأدوية، فضلاً عن امتلاكها عدد من عوامل الضراوة (Karampatakis وآخرون 2024). تمتلك بكتريا *S. aureus* الجدار والغشاء الخلوي فضلاً عن عوامل الضراوة مما يساعدها في البقاء وإحداث العدوى، ومما يزيد القلق تجاه هذه البكتريا هو تطويرها مقاومة للمضادات الحيوية مما يؤدي إلى زيادة تعقيد العلاج (Nikolic وMudgil، 2023).

ولمواجهة هذه المشاكل تم تطوير تقنيات مختلفة مثل تقنيات النانو والجسيمات النانوية للتغلب على البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية وتعد الجسيمات النانوية اشكال هندسية حجمها 1-100 نانومتر تستخدم في أغراض طبية مختلفة مثل المعدات الطبية وانظمة التصوير التشخيصية، وفي العلاجات، إذ تكون قادرة على القضاء على البكتريا بفعالية عالية مثل أوكسيد التيتانيوم TiO_2 وأوكسيد الزنك ZnO وغيرها من الجسيمات النانوية، فضلاً عن دورها في توصيل الأدوية، إذ تقوم بتحسين فعالية العلاج والحد من تحلل المضادات الحيوية عن طريق نقلها للمضادات الحيوية إلى موقع الإصابة (Terreni وآخرون، 2021).

تمثل النباتات مصدراً للمركبات الدوائية، إذ استعملت النباتات الطبية في مختلف دول العالم في الطب التقليدي منذ آلاف السنين انتقلت المعرفة بفوائدها بين المجتمعات عبر الأجيال، وتستعمل الأعشاب الطبية التقليدية العلاجات الدوائية الحديثة، إذ تمت دراسة الخصائص الحيوية للعديد من النباتات المستخدمة في الطب التقليدي وتوضيح مكوناتها الكيميائية النشطة حيوياً (Marrelli، 2021).

تعد الفلافونيدات والقلويدات والفينولات والزيوت العطرية والتربينات من المجاميع النشطة حيوياً في النباتات الطبية، إذ تمتلك خصائص مضادة للبكتريا، الأكسدة، الالتهابات، السرطان، والمناعة، وقد اثبتت هذه المواد فعاليتها في علاج العديد من الأمراض والوقاية منها، إذ استعملت القلويدات بعد استخلاصها من النباتات في علاج السرطان، كما وتبرز أهمية الفلافونيدات باستخدامها كمضادات أكسدة وتوفير الحماية للأعصاب. ومن خصائص هذه المواد وصفها أكثر اماناً للبيئة وذلك لأصلها الطبيعي، ويسهم اكتشاف المركبات النشطة حيوياً الجديدة في توفير اساسات لتطوير الأدوية الحديثة (Dar، وآخرون، 2023).

ينتج نبات الدفلى مواد أيض ثانوية لها استعمالات دوائية مثل القلويدات والفلافونيدات والستيرويدات ولهذا استخدم هذا النبات في الطب التقليدي على نطاق واسع، وقد تلجأ إليه شركات الأدوية للتخلص من مشاكل الآثار الجانبية للأدوية الاصطناعية ومقاومة البكتريا لهذه الأدوية (Ayouaz وآخرون، 2023).

هدفت الدراسة إلى تقدير استجابة العزلات البكتيرية لمضادات الحياة ومقارنة تأثير مستخلصات أوراق نبات الدفلى والجسيمات النانوية من خلال الخطوات التالية:

1- عزل وتشخيص البكتريا من مصادر سريرية مختلفة باستخدام الطرائق التقليدية وتأكيد التشخيص بنظام الفايتك VITEK2.

2- الكشف عن بعض عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتريا قيد الدراسة.

3- دراسة استجابة البكتيريا المعزولة تجاه مجموعة من المضادات الحيوية وتحديد المقاومة المتعددة للأدوية Multi drug resistant (MDR).

4- تأثير الجسيمات النانوية (جسيمات أوكسيد التيتانيومTiO_2NPs، جسيمات أوكسيد المغنيسيومMgONPs، جسيمات أوكسيد الزنك ZnONPs) على العزلات بكتيرية متعددة المقاومة للأدوية MDR لكل نوع من الأنواع البكتيرية الأكثر عزلاً.

5- تحليل التركيب الكيميائي لمستخلصات أوراق نبات الدفلى (المستخلص المائي الحار والبارد، مستخلص الإيثانول الحار والبارد، مستخلص الكلوروفورم الحار والبارد) باستخدام الطرائق التقليدية فضلاً عن تقنية تحليل الكروموتغرافي الغازي الممزوج بالكتلة GC-MS لتحديد المركبات الفعالة الرئيسة لمستخلصات الدراسة.

6- تحديد المذيب الافضل لتحضير المستخلصات والتركيز الأمثل من المستخلص النباتي لتثبيط نمو العزلات البكتيرية

7- اختبار المادة نانوية والتركيز الامثل لتثبيط نمو البكتريا.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2. استعراض المراجع Literatures Review

1.2. الأنواع البكتيرية قيد الدراسة Species of bacteria

1.1.2. بكتريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

تتميز بكتريا الزائفة الزنجارية *P. aeruginosa* بانتشارها الواسع لنموها وقدرتها على البقاء حية في ظروف النمو البسيطة وهي بكتريا سالبة لصبغة كرام Gram-negative هوائية اجبارية Obligate aerobic عصوية الشكل يتفاوت طول الخلية (1.5-5) مايكرومتر وقطرها (0.5-1) مايكرومتر، منتجة لإنزيمي الأوكسديز Oxidase والكاتاليز Catalase، تتواجد خلاياها بشكل مفرد أو أزواج أو على شكل سلاسل قصيرة ، لا تكون سبورات Non spore forming ،بكتريا غير مخمرة تحصل على طاقتها عن طريق أكسدة الكربوهيدرات، وإن امتلاكها العديد من عوامل الضراوة تزيد من قدرتها على الإصابة بعدوى شديدة مثل السموم التي تفرزها منها Pyocyanin وProtease وقابليتها على إنتاج Pyoverdine الذي تستخدمه للحصول على الحديد في البيئة ذات نسبة الحديد المنخفضة فضلاً عن تكوينها الغشاء الحيوي. (Diggle وWhiteley، 2020).

بكتريا *P. aeruginosa* من المسببات المرضية المكتسبة في المستشفيات، إذ تتواجد على السطوح والمعدات الطبية وتسبب العدوى لدى الأشخاص الذين يعانون من ضعف في المناعة، وتكمن خطورتها بوصفها تظهر مقاومة متزايدة للمضادات من أهمها المقاومة المتعددة للأدوية Multi drug resistant (MDR)، تمتلك الأهداب Pili والأسواط Flagella تستخدمها للحركة فضلاً عن الالتصاق بالخلايا الطلائية والإصابة بالعدوى للكائن الحي. (Reynolds وKollef، 2021). لا تخمر سكر اللاكتوز Non fermenter فتكون مستعمراتها شاحبة اللون عند نموها على وسط أكار الماكونكي MacConkey Agar، محللة للدم عند نموها على وسط أكار الدم Blood Agar، إذ يمكن رؤية مستعمراتها غامقة اللون محاطة بهالة شفافة بسبب إنتاجها لإنزيم الهيمولايسين Hemolysin، لها رائحة تشبه رائحة العنب المتخمر عند نموها على وسط الأكار المغذي Nutrient Agar، تتراوح درجة الحرارة المثلى لنموها من 25 °م إلى 37 °م فضلاً على نموها بدرجة حرارة 42 °م (Jin، 2024).

1.1.1.2. تصنيف البكتريا وتسميتها Taxonomy and Nomencalture

أول من وصف بكتريا *P. aeruginosa* هو Schoter في عام 1872 بعد ان قام بعزلها واقترح تسميتها البكتريا الزنجارية *Bacterium aeruginosa* ثم أعيد تصنيفها وتسميتها الزائفة الزنجارية *P. aeruginosa* بوساطة Migula عام 1894 (Rudra و آخرون، 2022) ،

واقترح الصيدلاني الفرنسي Carle Gessard تسميتها *Bacillus pyocyaneas* لإنتاجها صبغة Pyocyanain Pyocyanin بعد عزل البكتريا من الجروح المتقيحة ثم تم تسميتها *Pseudomonas pyocyanea* في عام 1900 ثم سميت بالمصطلح اليوناني *P. aeruginosa*، إذ يعني المقطع الأول Pseudomonas زائف والمقطع الثاني aeruginosa يعني زنجارية (Fetar، 2011). تصنيف بكتريا الزائفة الزنجارية استناداً الى مصنف العالم برجي Bergey's manual (Garrity، 2007).

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: *Pseudomonas*

Species: *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1.2. الوبائية *P. aeruginosa* Epidemiology of

تنتشر بكتريا *P. aeruginosa* بصورة واسعة في التربة والنباتات والمياه وهي بكتريا انتهازية تظهر مقاومة متعددة للمضادات الحيوية (Abebe، 2020) لها القدرة على إصابة الإنسان فضلاً عن الحيوانات والنباتات كما تعد من المسببات المرضية المهمة لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها على غزو المضيف، وهي واحدة من اهم العوامل الممرضة المعزولة من المستشفيات (M Cambos وآخرون، 2020). تسبب عدوى للأفراد الذين يعانون من ضعف الجهاز المناعي قد تكون مميتة، مثل مرضى السرطان والمصابين بحروق شديدة أو بعد العمليات الجراحية للمرضى الراقدين لفترات طويلة في المستشفيات (Gomila وآخرون، 2018).

تعدُّ *P. aeruginosa* مسبب لإصابات مكتسبة جديدة وتكون المستشفيات والمجتمعات عبارة عن مستودعات كبيرة لهذه البكتريا، إذ عُزلت من أجهزة الترطيب واحواض المياه الساخنة والتربة وذلك لتنوع مصادرها الأيضية وامتلاكها عدد من عوامل الضراوة (Wood، وآخرون، 2023a). ومما يزيد انتشارها وخطورتها هو قدرتها على مقاومة المضادات المستخدمة في علاجها والمنظفات المستخدمة في التعقيم. (Weiner-Lastinger وآخرون، 2020).

ارتفع معدل انتشار *P. aeruginosa* متعددة المقاومة للأدوية MDR وشديدة المقاومة XDR في انحاء مختلفة من العالم مثل أوروبا والصين وبعض الدول في جنوب شرق اسيا، نتيجة لعوامل عديدة المتمثلة بسوء استخدام المضادات الحيوية وضعف إجراءات مكافحة العدوى وعدم كفايتها وتطوير البكتريا لاستراتيجيات مقاومة مختلفة (Karruli وآخرون، 2023).

3.1.1.2. الأمراضية *P. aeruginosa* Pathogenicity of

تعد بكتريا *P.aeruginosa* من الممرضات الرئيسة سالبة لصبغة كرام التي تسبب العديد من الأمراض المزمنة والحادة، مما يجعلها ممرضاً خطيراً (Wood، وآخرون ، 2023b). تكون نسبة اصابتها للأشخاص الأصحاء نادرة الحدوث، لكنها تستغل ضرر الحواجز الدفاعية للمريض لامتلاكها القدرة على الالتصاق وتكوين الأغشية الحيوية وإنتاجها العديد من عوامل الضراوة التي تؤثر على الأنسجة مسببة تلفها. (Turkina وVikström، 2019). ترتبط الزائفة الزنجارية بارتفاع معدل الوفيات لقدرتها على التكيف بسهولة مع الظروف المحيطة بها، واكتسابها المقاومة السريعة للمضادات البكتيرية المستخدمة (Jurado-Marrtin وآخرون ،2021).

الإصابة بالتهاب الجروح من أسباب الوفيات الرئيسة بعد إصابات الحروق، وتسبب بكتريا الزوائف الزنجارية عدوى الجروح والحروق مما يؤدي إلى ظهور طفح جلدي وصديد أخضر مزرق وتشمل العدوى المرتبطة عادةً بالزائفة الزنجارية أيضاً الالتهاب الرئوي المرتبط بأجهزة التنفس الصناعي (Streeter وKatouli ،2016). كما يرتبط تجرثم الدم Bacteremia والتهاب المسالك البولية بالعدوى المكتسبة من المستشفيات بسبب بكتريا الزائفة الزنجارية التي تؤدي إلى ارتفاع نسبة الإصابة والوفيات (Kitagawa وآخرون ،2019).

المرضى المصابين بأمراض خبيثة أكثر عرضة للإصابة بتجرثم الدم من قبل بكتريا *P. aeruginosa* بسبب حدوث نقص في العدلات Neutrophils نتيجة لاستخدام العلاج الكيميائي (Carvalho وآخرون، 2020). وان امتلاك *P. aeruginosa* لنظام الإفراز من النوع الأول الذي يقوم بنقل الإنزيم الحال للبروتين Protease القلوي ونظام الإفراز من النوع الثاني الذي يفرز عوامل ضراوة مختلفة من أهمها السم الخارجي ToxA A اما نظام الإفراز من النوع الثالث له دور رئيس في العدوى، إذ يعمل على حقن وفرز مواد تقوض عمل الخلية المضيفة، فضلاً عن إنتاجها الأغشية الحيوية Biofilm التي توفر لها حماية من المضادات الحيوية والخلايا المناعية (Reem وآخرون، 2024).

2.1.2. بكتريا الأشريشيا القولونية *Escherichia coli*

اكتشفت لأول مرة من قبل العالم البافاري ثيودور أشريشيا عند اجراء دراساته على البكتريا المرضية لدى الأطفال الرضع كنبيتاً طبيعياً مقيم في الأمعاء لدى الأصحاء. تعيش هذه البكتريا في أمعاء الحيوانات ذات الدم الحار وتتواجد في غالبية البشر وهي تعود إلى العائلة المعوية، تلعب *E. coli* دوراً مهماً داخل الكائن الحي سواء اكان إنسان ام حيوان، على الرغم من وصفها بكتريا متعايشة تسبب أمراضاً معوية وغير معوية متنوعة مثل الإسهال والتهاب المسالك البولية (Riley وآخرون، 2020).

تسبب *E. coli* الإسهال والذي يعد سبب رئيس للوفاة في البلدان النامية ويسبب معدل وفيات متوسط في البلدان الصناعية، إذ يكون أقل حدة لكن يصيب الكثير من الناس مما يشكل عبئاً مرضياً كبيراً. (Nasrollahian وآخرون، 2024). لها القدرة على التكيف مع مختلف البيئات التي تتواجد بها والتي تشمل أمعاء المضيف، فضلاً عن البيئة الطبيعية كالماء والتربة، يساعدها على ذلك حدوث الطفرات الجينية والنقل الأفقي للجينات فضلاً عن تكوينها للأغشية الحيوية، إذ يرتبط سرطان القولون والمستقيم ارتباطاً وثيقاً بالأغشية الحيوية لبكتريا *pks E. coli* (Sadeghi وآخرون، 2024).

1.2.1.2. تصنيف البكتريا وتسميتها Taxonomy and Nomencalture

سميت من ثيودور إيشيريش بكتريا القولون المتعايشة *Bacterium coli commune* ثم أعيد تسميتها العصيات القولونية *Bacillus coli* أطلق عليها فيما بعد الأشريشيا القولونية *Escherichia coli* نسبة إلى مكتشفها. صنفت بكتريا *E. coli* ضمن العائلة المعوية استناداً الى مصنف العالم برجي (Garrity، 2007). وكالآتي:

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Enterobacteriales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: *Escherichia*

Species: *Escherichia coli*

2.2.1.2. الوبائية *E. coli* Epidemiology of

تبرز أهمية *E. coli* للباحثين في مجال التطور البيئي والوبائي، لأنها تتواجد في الأمعاء على نطاق واسع من دون أن تسبب أي أعراض مرضية لكن الإصابة تحدث عند انتقالها خارج الأمعاء تؤدي إلى حدوث عدوى انتهازية على مستوى العالم. تنمو في بيئات مختلفة وتؤثر على الإنسان والبيئة المحيطة بسبب امتلاكها اليات بقاء متطورة مما يتيح قدرتها على فتح آفاق بحثية جديدة مما يجعلها أكثر الكائنات الدقيقة دراسة (Chetri، 2025).

تعدُّ التهابات المجاري البولية من الأمراض المنتشرة بصورة شائعة، وإن إصابة المجاري البولية ببكتريا *E. coli* المصدر الرئيس للإصابة بتجرثم الدم Bacteremia، فضلاً عن وصفها مصدراً لحصول الإصابة في المستشفيات لدى الأشخاص الذين يعانون من سوء التغذية والذين لديهم مشاكل في الجهاز المناعي (Klein وHultgren، 2020). وتوجد *E. coli* المرضية في اللحوم والفواكه والخضراوات الملوثة، إذ تعد مصدر قلق رئيس لدى الدول ذات الدخل المرتفع وتكون مسؤولة عن تزايد حالات الأوبئة المنقولة بالغذاء (Mohamed وHabib 2023).

3.2.1.2. الأمراضية *E. coli* Pathogenicity of

تسبب بكتريا *E. coli* العديد من الأمراض الشديدة والمتنوعة عند انتقالها من موقعها الطبيعي إلى مواقع أخرى في الجسم تمتلك مجموعة من عوامل الضراوة التي تصيب المسالك البولية urinary tract infection (UTI) والجروح ونخاع العظم والدماغ والرئتين وجهاز الدوران (Chetri ، 2025). تنتقل بوساطة الغذاء والماء الملوثين مسببة العديد من الأمراض (Hansen وآخرون، 2025).

بكتريا *E. coli* لها القدرة على إحداث إصابات معوية Intestinal infection فتسمى الأشريشيا الممرضة المعوية intestinal pathogenic *E. coli* (IPEC)، وخارج معوية Extraintestinal infections، إذ تسمى الأشريشيا الممرضة خارج المعوية extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) للأشخاص الأصحاء، فضلاً عن الأشخاص الذين يعانون من ضعف في الجهاز المناعي فضلاً عن قابلية بعض سلالاتها إنتاج السموم التي تفرز في الدم مسببة تسمم الدم Septicemia (Dadi وآخرون، 2020). ترتبط هذه البكتريا عند تواجدها في الأمعاء بحدوث سرطان القولون والمستقيم نتيجة للسموم المفرزة منها والتي تؤثر على الخلايا (Pleguezuelos-Manzano وآخرون، 2022).

تصيب *E. coli* حديثي الولادة مسببة التهاب الأمعاء والتهاب السحايا من جهة أخرى توجد ثمان أصناف من *E. coli* المعوية حسب أمراضيتها وعوامل الضراوة التي تمتلكها

i. المنتجة لسموم الشيغا Shiga toxins *E. coli* (STEC)
ii. النزفية المعوية enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)
iii. الممرضة للأمعاء enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
iv. المتكتلة المعوية enteroaggregative *E. coli* (EAEC)
v. الملتصقة بشكل منتشر diffusely adherent *E. coli* (DAEC)
vi. الشيغيلا الغازية للأمعاء Shigella enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
vii. المنتجة للسموم المعوية enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
viii. الملتصقة الغازية adherent-invasive *E. coli* (AIEC) (Nasrollahian وآخرون، 2024)

3.1.2. بكتريا الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii*

بكتريا عصوية الشكل سالبة لصبغة جرام ظهرت خلال العقود الثلاثة الماضية كمسبب وبشكل متزايد للعدوى في مرافق الرعاية الصحية، إذ تعد من المسببات الرئيسة للإصابات المكتسبة من المستشفيات وذلك بسبب مقاومتها للجفاف والمطهرات وقدرتها على إنتاج الأغشية الحيوية تنتشر في الجهازالهضمي والجهاز البولي والجهاز التنفسي، إذ تكون مسؤولة عن الالتهاب الرئوي pneumonia تتواجد في الجلد والأنسجة الرخوة، تسبب تسمم الدم septicemia وتصيب الجهاز العصبي المركزي مسببة السحايا meningitis، كما وتعزل بكتريا *A. baumannii* من مصادر بيئة متنوعة (Whiteway وآخرون،2022).

اكتشفت على أنها بكتريا حميدة ولكنها أصبحت خطر على مستوى العالم في مجال الرعاية الصحية لامتلاكها وتطويرها لانماط شديدة مقاومة للأدوية المتعددة وبمعدلات غير متوقعة (Mukhopadhyay وآخرون، 2025). تقاوم بكتريا *A. baumannii* عملية البلعمة، وصنفت ضمن قائمة أكثر المسببات المرضية المقاومة للأدوية المتعددة MDR لهذا تعد من البكتريا ذات الأولوية للمضادات الحيوية الجديدة، ولها القدرة على إعادة العدوى، إذ تستطيع البقاء في الخلايا الظهارية للمثانة بعد علاج الإصابة (Maure وآخرون، 2023).

1.3.1.2. تصنيف البكتريا وتسميتها Taxonomy and Nomencalture

يعد بايرينك أول من سجل عن جنس Acinetobacter في أوائل القرن العشرين، إذ عزل البكتريا من التربة وزرعها على وسط غني بأسيتات الكالسيوم (Mukhopadhyay وآخرون، 2025). صنفت *A. baumannii* حسب مرجع العالم برجي (Garrity، 2007).

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Moraxellaceae

Genus: *Acinetobacter*

Species: *Acinetobacter baumannii*

2.3.1.2. الوبائية Epidemiology of *Acinetobacter baumannii*

تنتشر *A. baumannii* في كل مكان وفي جميع انحاء العالم تعد من البكتريا الممرضة الانتهازية تتواجد في البيئة وهي مسؤولة عن العدوى المكتسبة من المستشفيات والمجتمع (Whiteway وآخرون، 2022). توجد في التربة والماء والأغذية المختلفة والحيوانات والإنسان فضلاً عن بيئة المستشفيات، إذ تعزل منها بشكل متكرر، وتعدُّ المخزن الرئيس لها. (Yusuf وآخرون، 2023). تشكل 1.6% من المجموع الكلي لمسببات التهاب المجاري البولية وتكون مسؤولة عن 4% من التهاب السحايا بمعدل وفيات يصل إلى 70% لهذا تعد تهديد متزايد للمرضى الخاضعين لعمليات الجراحة العصبية (Ayoub Moubareck وHalat، 2020).

تؤثر *A. baumannii* على صحة الإنسان، إذ تشكل تهديداً عالمياً بسبب نشوء مقاومة متزايدة للمضادات الحيوية لهذا قد صُنفت *A. baumannii* المقاومة للكاربينيم من قبل منظمة الصحة العالمية من أهم الأولويات لأبحاث وتطوير المضادات الحيوية، وتمتلك القدرة على إنتاج الأغشية الحيوية التي تساعدها على البقاء لفترة طويلة على الأجهزة والأدوات الطبية مثل أجهزة التنفس الصناعي في وحدات العناية المركزة (Kyriakidis وآخرون، 2021). عزلت هذه البكتريا من الحروق والدم والجروح بنسب عالية حسب دراسة أجريت في مدينة بعقوبة، وقد أبدت العزلات مقاومة متعددة للمضادات المستخدمة بنسبة 75% ومما يزيد من خطورتها ارتفاع مقاومتها لمضادات الكاربابينيمات Carbapenems والتي تعتبر الخط الدفاعي الأخير، إذ تجاوزت نسبة المقاومة 90% (AL-Dahlaki، 2020).

3.3.1.2. الأمراضية **Pathogenicity of *Acinetobacter baumannii***

الحالات المرضية للإنسان الناتجة عن الجنس *Acinetobacter* تكون *A. baumannii* مسؤولة عن 80% من هذه الحالات التي يصعب علاجها (Vijayakumar وآخرون، 2019). برزت أهمية *A. baumanni* في مرافق الرعاية الصحية كعامل ممرض لمقاومتها الجفاف وتطوير مقاومتها للمضادات الحيوية. تشمل العدوى المكتسبة في المستشفيات وخاصة في وحدة العناية المركزة Intensive Care Unit (ICU) الالتهاب الرئوي المرتبط بأجهزة التنفس الصناعي والتهابات مجرى الدم والمواقع الجراحية المرتبطة بالقسطرة، وتسبب أيضا التهاب المجاري البولية Urinary tract infection (UTI) والتهاب السحايا Meningitis والتهاب شغاف القلب (Abhari وآخرون، 2019).

تصيب الجلد والأنسجة الرخوة لذلك الإقامة الطويلة في المستشفى تزيد من عوامل الخطر المرتبطة بحدوث عدوى *A. baumannii* التي تصيب الأشخاص الذين يعانون من ضعف الجهاز المناعي فضلاً عن الجروح المفتوحة والحروق (Whiteway وآخرون، 2022).

الأمراض التي تسببها *A. baumanni* المقاومة لمضادات الحياة من الصعب علاجها لقدرتها على تطوير مقاومة سريعة لجميع الأدوية المتاحة التي قد تحدث نتيجة النقل الأفقي للمادة الوراثية، فقد تشكل العزلات المقاومة للأدوية المتعددة MDR في بيئات محددة 70% من العزلات مما يسبب زيادة في نسبة الوفيات والاعتلال (Singh وآخرون، 2024).

4.1.2. بكتريا المكورات العنقودية الذهبية ***Staphylococcus aureus***

المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* بكتريا انتهازية تمثل نبيتاً طبيعياً على الجلد والأغشية المخاطية لكنها تستغل الفرص للتسبب بالعدوى مثل تجرثم الدم Bacteremia وعدوى الجلد والالتهاب الرئوي (Alonso وآخرون ،2022). تعد من الأحياء المجهرية الدقيقة التي تصيب الإنسان، تتواجد بشكل رئيس على الجلد وفتحات الانف الامامية لذلك لها القدرة على إصابة كل من الأصحاء في المجتمع والمرضى المقيمين في المستشفيات (Kateete وآخرون، 2020).

تكون بكتريا *S. aureus* كروية الشكل موجبة لصبغة كرام غير متحركة ولا تنتج سبورات محاطة بمحفظة موجبة للكاتاليز catalase والتي يمكن عدها صفة تشخيصية للتفريق بينها وبين المسبحيات Streptococcus يمكن تنميتها على الأوساط الزرعية بكل سهولة بدرجة حرارة 30-37 مْ تنمو على وسط أكار المانيتول الحاوي على 7.5-10% ملح كلوريد الصوديوم، وتخمر سكر المانيتول لتعطي لون أصفر يمثل الستافيلوكسانثين الذي يعمل على حماية البكتريا من البلعمة ويستخدم للتميز بينها وبين *Staphylococcus epidermidis* (Rasheed وHussein، 2021).

وتعد العدوى ببكتريا *S. aureus* شائعة تسبب معدلات وفيات عالية لقدرتها على تطوير مقاومة للأدوية تتواجد هذه البكتريا متعايشة أو مستعمرة أو كامنة أو مسببة للمرض حسب التفاعل بينها وبين المريض (Howden وآخرون، 2023).

1.4.1.2. تصنيف البكتريا وتسميتها Taxonomy and Nomenclature

اكتشفت لأول مرة من الجراح الأسكتلندي ألكسندر أوغستون عام 1880 م من صديد Pus الخراجات الجراحية، إذ وصفها بالمكورات الدقيقة ثم سميت بالمكورات العنقودية نسبةً إلى مظهرها الشبيه بالعنب، إذ تكون دائرية الشكل ومرتبة في مجاميع (Rasheed وHussein، 2021). وقد صنفت بكتريا *S. aureus* استناداً إلى مصنف العالم برجي Bergey's manual حسب (Goodfellow، 2012).

Domain: Bactreriae

Phylum: Firmicutes

Class: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *Staphylococcus aureus*

2.4.1.2. الوبائية Epidemiology of *S. aureus*

الأمراض المعدية عالمياً التي تسببها *S. aureus* تكون سبباً رئيساً للوفيات لصعوبة علاجها لانتشار قدرة هذه البكتريا على مقاومة المضادات الحيوية. في بعض الأحيان تنشأ العدوى بهذه البكتريا نتيجة الاستعمار من دون حدوث الأعراض فضلاً عن ارتفاع مقاومتها لعوامل إزالة الاستعمار (Piewngam وOtto، 2024). تسبب *S. aureus* أمراض متنوعة للإنسان منها التهاب شغاف القلب وتجرثم الدم bacteremia والتسمم الغذائي والتهابات العظام وإصابة الجروح فضلاً عن التهاب الأذن الوسطى (Keikhaie وآخرون، 2017). تصيب *S. aureus* حوالي 50% من البالغين وان 15% من السكان حاملون دائمون لهذه البكتريا داخل انوفهم الأمامية. ترتفع نسبة إصابة *S. aureus* لدى بعض الأشخاص إلى معدلات أعلى من الآخرين مثل العاملين في الرعاية الصحية

والمرضى داخل المستشفيات والذين يعانون من نقص المناعة فضلاً عن الذين يستخدمون الابر بانتظام للعلاج الوريدي ومرضى السكري والراقدين في المستشفيات، ويمكن أن تنتقل من شخص لآخر بوساطة الاتصال المباشر (Taylor وUnakal، 2021).

3.4.1.2. الأمراضية Pathogenicity of *S. aureus*

كائن مجهري يسبب أمراض شديدة تثير القلق على صحة الإنسان منها سريرية كالتهاب الجلد والأنسجة الرخوة وتسمم الدم والتهاب الشغاف وأمراض تنقل بالغذاء كالإسهال والقيء وغيرها تمتاز *S. aureus* بقدرتها العالية على إحداث الالتهابات على الرغم من وصفها نبيتاً طبيعياً normal flora، إذ تعدُّ من أكثر الأنواع التابعة للمكورات العنقودية أمراضية تفرز الإنزيمات خارج خلوية مثل Coagulase وBeta lactamase وغيرها من الإنزيمات فضلاً عن السموم الحالة للخلية ويمكنها أيضاً إفراز عوامل التصاق تساعدها على استعمار الأنسجة (Chai وآخرون، 2021). وتتراوح شدة الإصابة بالأمراض التي تسببها *S. aureus* من التهابات متوسطة للجلد إلى تسمم الدم Septicemia والالتهاب الرئوي المميت ومما يجعل علاجها معقداً هو مقاومتها للمضادات الحيوية (Gordon وآخرون، 2021). مثل المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين Methicillin resistant *S. aureus* MRSA والمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للفانكومايسين Vancomycin resistance *S. aureus* VRSA مما يؤدي إلى صعوبة علاج العدوى التي تتسبب بها هذه البكتريا (Rasheed وHussein، 2021).

2.2. عوامل الضراوة للبكتريا قيد الدراسة Virulence Factors

الضراوة العالية للبكتريا ترتبط ارتباطاً وثيقاً مع قدرتها على التسبب بالمرض لدى المضيف على الرغم من امتلاكه جهاز مناعي، ولكي يحدث المرض يجب أن تكون البكتريا قادرة على إصابة المريض أولاً، بعدها تحفز الاستجابة المناعية للجسم، وأخيراً امتلاكها عوامل ضراوة تحميها من المؤثرات الخارجية (Liu وآخرون، 2022). تمتلك بكتريا *P. aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها على غزو المضيف ومنها إفراز الصبغات مثل صبغة Pyoverdine Pyoverdine وهي نوع من حامض الحديد الذي تنتجه بكتريا *P. aeruginosa* فضلاً عن إفرازها السم الخارجي Exotoxin A والإنزيم المحلل للدم Hemolysin والإنزيمات المحللة للبروتين Proteases وهي من عوامل الضراوة المهمة في الإصابة فضلاً عن امتلاكها الأهلاب Pilli وعديد السكريات الدهني LPS الذي تنتجه البكتريا، إذ يزيد من الاستجابة الالتهابية في مكان الإصابة،

وتعمل هذه الإنزيمات والسموم على تلف النسيج الضام وضعف في الجهاز المناعي للمضيف (Yeung، وآخرون ، 2020 ؛ Ruiz-Roldan ، وآخرون ، 2020 ؛ Dave، وآخرون ،2020).

تمتلك بكتريا *E. coli* وخاصة السلالات المسببة للأمراض خارج الأمعاء العديد من عوامل الضراوة التي تمكنها من غزو الانسجة والاستعمار والتهرب من الجهاز المناعي مثل عوامل الالتصاق وتكوينها للمحفظة وافرازها للسموم فضلاً عن امتلاكها لأنظمة اقتناص الحديد siderophores لانتزاع البروتينات من المضيف (Pokharel وآخرون، 2023).

عوامل الضراوة وآليات بكتريا *S. aureus* تساعد على حدوث عدوى متنوعة وتتضمن هذه العوامل والآليات الالتصاق adhesion على الأنسجة باستخدام جزيئات الالتصاق، فضلاً عن آليات التهرب المناعي وإفرازها مجموعة من السموم التي تحلل العديد من أنواع الخلايا المناعية وغيرها (Cheung وآخرون، 2021). بينما تمتلك *A. baumannii* العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها على حدوث العدوى ومقاومة الظروف البيئية الصعبة مثل البورين porin والمحفظة capsule وعديد السكريات الدهني Lipopolysaccharide وإفرازها الإنزيمات مثل الإنزيم الحال للدهون lipase وإنزيم phospholipase، فضلاً عن تكوين الغشاء الحيوي وقدرتها على الحركة وانظمة اكتساب الحديد iron acquisition systems (Ayoub Moubareck وHalat، 2020).

1.2.2. المحفظة Capsule

تمثل المحفظة الطبقة الخارجية التي تحيط بالبكتريا فتحميها من عملية البلعمة Phagosytosis والمضادات الحيوية Antibiotics مما يمنح البكتريا صفة المقاومة ويزيد من ضراوتها ويعزز بقائها داخل الجسم (Morris وآخرون، 2019). تعدُّ المحفظة عامل من عوامل الضراوة المهمة تحتاجه للبكتريا للبقاء وهي من الاستراتيجيات التي تلجأ لها البكتريا لمقاومة الظروف الخارجية والتكيف مع البيئة المحيطة (Nucci واخرون، 2022)، إذ تمتاز الأنواع البكتيرية التي تمتلك محفظة بمقاومتها للجفاف على العكس من تلك الأنواع الفاقدة لها وتستخدم البكتريا المحفظة لإنتاج الغشاء الحيوي من خلال التصاق الخلايا البكتيرية مع بعضها، وتعمل على تثبيط عمل المتمم وتسهل عملية استيطان البكتريا على الأجسام الصلبة مما يساعد في بقائها على الأدوات الطبية الذي بدوره يؤدي إلى حدوث العدوى للأشخاص الذين يستخدمون هذه الأدوات (Kristiningrum وآخرون، 2019). تنتج المحفظة من سلالات *A. baumannii* المخاطية بكميات أكثر من السلالات الجافة وتبين أن السلالات المخاطية تظهر مقاومة أكبر للمضادات الحيوية (Hu وآخرون، 2020).

2.2.2.إنتاج الصبغات Pigment Production

تنتج بعض الأصباغ من البكتريا مثل Pyocyanin الذي ينتج من عمليات الأيض الثانوي لبكتريا *P. aeruginosa* وهو معروف بنشاطه الاحيائي الذي يتضمن خصائصه المضادة للبكتريا (Houshaymi، وآخرون، 2019). كما يعدُّ مادة سامة يسبب أمراض خطيرة لتأثيره على وظائف الأعضاء من خلال تدميره لأنسجة المضيف (Alatraktchi، وآخرون، 2020). كما تفرز *S. aureus* الستافيلوكسانثين الذي يعمل على حماية البكتريا من البلعمة (Rasheed وHussein، 2021).

3.2.2. الهيمولايسين Hemolysin

يعدُّ سماً خارجياً يحطم الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمر عن طريق تكوين ثقوب في الغشاء، يفرز من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام (Ibrahim، وآخرون، 2020). توجد أربعة أنواع من الإنزيم الحال للدم وهي Alpha hemolysin وBeta hemolysin وGamma hemolysin وDelta hemolysin (Xiao وآخرون، 2016). ويعد عامل الضراوة الرئيس الذي يفرز من قبل *E. coli* المعزولة من المسالك البولية فضلاً عن افرازه من بكتريا *P. aeruginosa* و*S. aureus* (Cobo-Simón وآخرون، 2023).

4.2.2. بروتينات الغشاء الخارجي Outer membrane proteins (OMPs)

تمثل مجموعة من البروتينات التي تصنع في السايتوبلازم وتفرز في الغلاف الخارجي المحيط بالبكتريا، إذ يحتوي هذا الغشاء على كميات كبيرة من البروتينات ترتبط به بوساطة مرافقات chaperones محيطية متنوعة، وتتوزع هذه البروتينات عشوائياً في الغلاف الخارجي، وتلعب بروتينات OMBs دوراً مهماً، إذ تتوسط عمية تبادل المواد الأيضية وإدخال المواد الغذائية للخلية البكتيرية وتسهم في تثبيت الغشاء الخارجي والتصاق البكتريا بالأسطح، فضلاً عن دورها في التحلل المائي لببتيدات مضادات الأحياء المجهرية وابعادها للمضادات الحيوية إلى خارج الخلية (Webby وآخرون، 2022).

5.2.2. الإنزيم الحال للبروتين Protease

يمتاز الإنزيم الحال للبروتين بنشاط مائي يعمل على تحليل الأواصر الببتيدية بين البروتينات، ينتج من العديد من الأحياء المجهرية مثل البكتريا والخميرة والفطريات. له أهمية في المجال الصناعي، إذ يدخل في صناعة الجلود وفي الصناعات الغذائية عند دمج الإنزيم البكتيري مع أعلاف

الأسماك ليستخدم في المعالجة الحيوية، فضلاً عن ذلك له تطبيقات عملية في قطاع الأدوية (Uddin وآخرون، 2025).

6.2.2. الإنزيم الحال للشحوم Lipase Enzyme

إنزيم يوجد في الكثير من الكائنات الحية وقد انتشر الاهتمام الكبير لاستخدام الإنزيم الحال للشحوم المنتج من الأحياء المجهرية مثل الخميرة والفطريات والبكتريا، له دور مهم في معظم الكائنات الحية، إذ يقوم بعملية هضم ونقل الدهون، وقد بدأ مؤخراً خبراء التقانة الحيوية للأحياء المجهرية تركيزهم إلى استخدام الإنزيم الحال للشحوم تجارياً، لامتلاكه قيمة صناعية كبيرة فهو يحفز عدد من التفاعلات الكيميائية في كل من البيئة المائية وغير المائية. ومن الأحياء المنتجة لهذا الإنزيم الأنواع التابعة لجنس *Pseudomonas* فضلاً عن *E. coli* (Ali وآخرون، 2023).

7.2.2. إنزيم اليوريز Urease Enzyme

إنزيم تنتجه أنواع مختلفة من البكتريا تتضمن البكتريا المرضية وغير المرضية فضلاً عن النبيت الطبيعي، يحفز هذا الإنزيم تحلل اليوريا إلى أمونيا NH_3 وحامض الكاربونيك H_2CO_3 (Kolopaking وآخرون، 2022). يكون سبباً في تكون حصوات الكلية والتهاب حويض الكلية ويرفع نسبة اليوريا في الدم مما يؤدي إلى تسمم الدم فضلاً عن زيادة قاعدية الإدرار ليساعد في تحلل كريات الدم البيض (Milo وآخرون، 2021).

8.2.2. إنزيم الكاتاليز Catalase

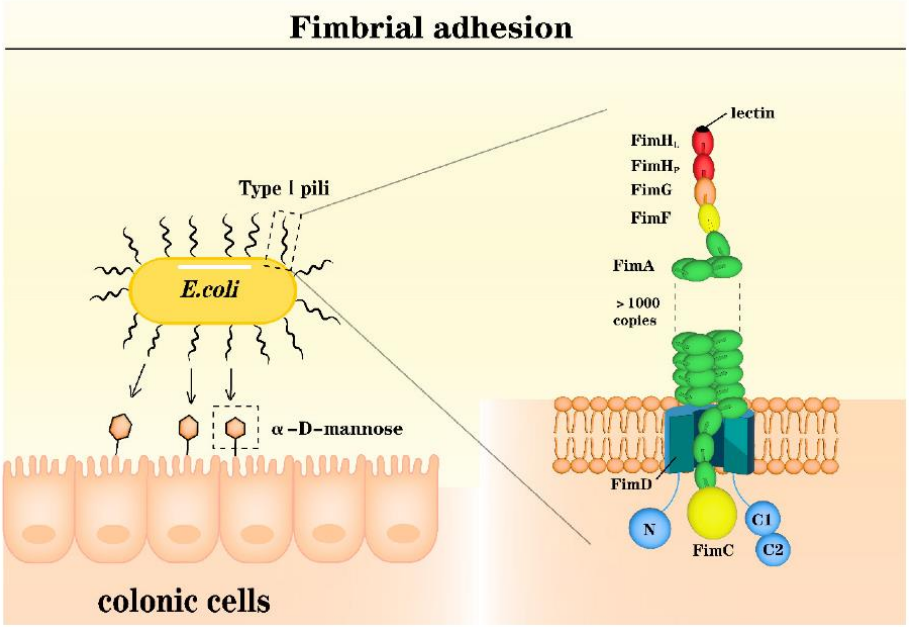
يحلل إنزيم الكتاليز بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى ماء وغاز الأوكسجين. تعدُّ كل من *E. coli* و*P. aeruginosa* من ملوثات المياه الموجبة لاختبار الكتاليز. تسبب *E.coli* تلوث المياه عن طريق البراز، أما *P. aeruginosa* فتدخل للمياه بشكل أساسي عن طريق مخلفات المستشفيات (Sharma وآخرون، 2024).

9.2.2. عوامل الالتصاق والاستيطان Adhesion and Colonization Factor

الالتصاق بخلايا المضيف تعد أولى الخطوات التي تستخدمها البكتريا لحدوث ونجاح العدوى، وتعدُّ الأهداب من العوامل الرئيسة للالتصاق بالأسطح (Hospenthal وآخرون، 2017). تنتج البكتريا بعض البروتينات السطحية التي تسهل من عملية ارتباط البكتريا بالأنسجة للمضيف مما يؤدي إلى حدوث الأمراض لدى الإنسان (Cruz وآخرون، 2021). هذه البروتينات صممت

خصيصاً لتمكين البكتريا من الارتباط بأنسجة مضيفها (Arunachalamm وآخرون، 2023). وتمتلك *A. baumanni* نظام chaperone usher pilus system الذي يطلق عليه Csu pili يساعد البكتريا على الالتصاق بالخلايا الظهارية الرئوية (Ahmad وآخرون، 2023).

تستخدم البكتريا الالتصاق بغير المحدد Nonspecific Adhesion للالتصاق بالأسطح، إذ تقترب البكتريا من السطح المطلوب عن طريق الانجذاب الكيميائي chemotaxis، ويتأثر الالتصاق غير المحدد بعدة عوامل أهمها الكراهية الجزيئية للماء للأسطح، ويمكن إزالة البكتريا الملتصقة عن طريق هذا النوع من الالتصاق بسهولة. وتتخذ البكتريا الالتصاق النوعي عن طريق استخدام أجزاء خاصة مثل الزغابات fambriae التي ترتبط بمستقبلات خاصة موجودة على السطح المطلوب ومثال على هذه الزغابات fambriae هو النوع الأول من الأهداب الذي تستخدمه *E. coli* للالتصاق كما في الشكل (2-1)، ومن عوامل الالتصاق الأخرى التي تستخدمها البكتريا هي الأسواط flagellum، وقد وجدت عوامل التصاق غير الزغابات fambriae مثل المحفظة Capsul وتحتاج جميع هذه العوامل إلى مستقبلات خاصة على سطح الخلية المضيفة (Lin وآخرون، 2024).



الشكل (2-1) الأهداب من النوع الأول Type I pilli في بكتريا *E. coli* وتتكون هذه الأهداب من وحدات فرعية مختلفة من بروتين fim بما في ذلك FimH، FimG، FimF، FimC، فضلاً عن الآلاف من FimA، تستخدم FimH مواقع الارتباط اللكتينات للارتباط بمستقبلات α-D-mannose الخاصة (Lin وآخرون، 2024)

10.2.2. الغشاء الحيوي Biofilm

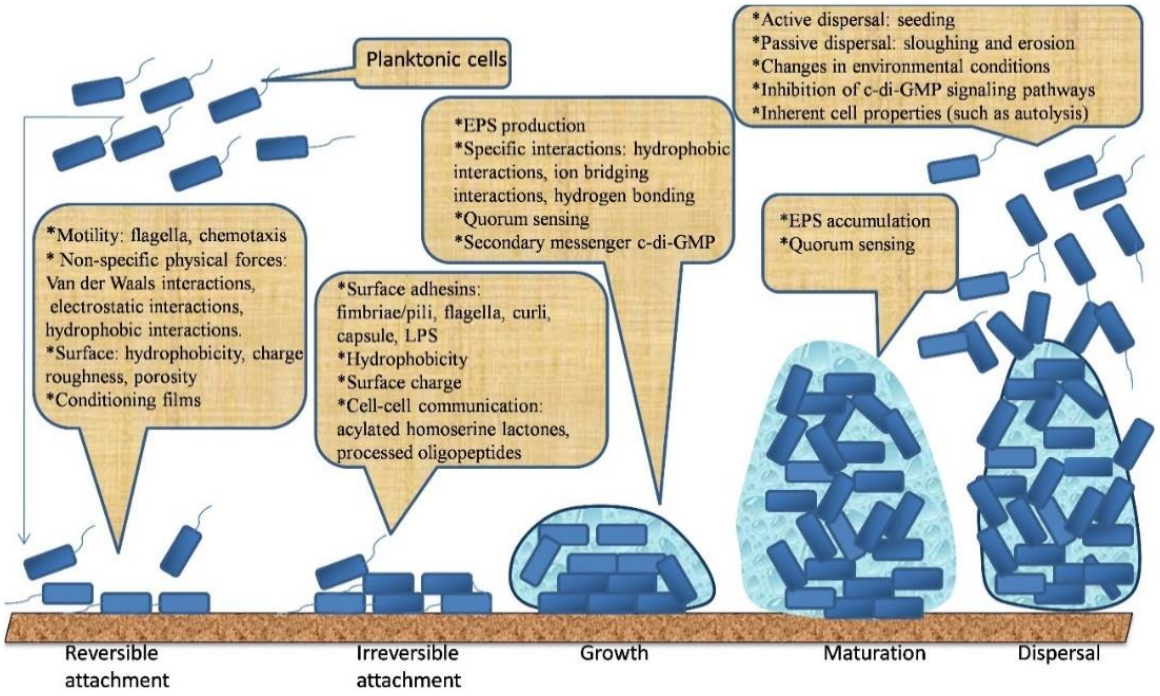
الغشاء الحيوي يمثل تجمع منظم من الخلايا البكتيرية يساعدها على الالتصاق محاطة ببوليمرات خارج خلوية تشمل سكريات، بروتينات والحمض النووي الخارج خلوي Extra cellular DNA، يعمل على حماية الخلايا من الظروف البيئية الضارة من ضمنها المضادات الحيوية والجهاز المناعي للمضيف وهو بذلك يساعدها على حدوث الإصابة (Schilcher وHorswill، 2020) ويؤدي تكوين الغشاء الحيوي إلى المقاومة الظاهرية ونمو مستعمرات صغيرة متغايرة وهما من العناصر المهمة لمقاومة المضادات (Yamani، وآخرون، 2021). ينتج الغشاء الحيوي عند الإصابة ببكتريا الزائفة الزنجارية، إذ تتكون طبقة مخاطية من البكتريا تتوزع بشكل متجانس في منطقة الإصابة مما يؤدي إلى حدوث الإصابة المزمنة (Malhotra وآخرون، 2020). يتكون الغشاء الحيوي نتيجة تجمع البكتريا على شكل مستعمرات ساكنة عالية الكثافة النمو البكتيري فيها بطيء أقل من معدل نمو البكتريا الحرة لنفس النوع مما يجعلها أكثر مقاومة للمضادات الحيوية، إذ ينمو الغشاء الحيوي بتركيز مضادات أعلى من البكتريا الحرة بألف مرة. (Trubenova وآخرون، 2022).

يعزز الغشاء الخلوي بقاء الخلية البكتيرية على الأسطح الحيوية وغير الحيوية ومقاومتها للمضادات الحيوية وحدوث الاستعمار وعدم حدوث الاستجابة المناعية، فهو يحمي البكتريا من البيئة القاسية والظروف الحامضية والقاعدية والمضادات الحيوية والأشعة فوق البنفسجية ويقلل من إنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية reactive oxygen species (ROS) لخلايا الدم البيض العدلة neutrophil فضلاً عن تقليل عملية القتل بوساطة الخلايا البلعمية (Subsomwong وآخرون، 2024).

يتمثل تكوين الأغشية الحيوية في خمس مراحل رئيسة شكل (2-2):

- مرحلة الالتصاق العكسي Reversible attachment، يمثل الالتصاق غير المحدد للبكتريا على السطوح.
- مرحلة الالتصاق غير العكسي Irreversible attachment، تستخدم فيه البكتريا الزوائد السطحية وعناصر الالتصاق مثل عديد السكريات الدهني lipopolysaccharide (LPS).
- مرحلة النمو وتصنيع المواد خارج خلوية Growth، عبارة عن مواد بوليمرية تفرز من الخلايا الساكنة.
- مرحلة اكتمال الغشاء الحيوي Maturation، عندما تنضج الأغشية الحيوية وتبدأ الخلايا بإرسال جزيئات إشارة quorum sensing للتعرف على وجود بعضها ببعض.

- مرحلة الانفصال Dispersal، تبدأ الخلايا البكتيرية بمغادرة الأغشية الحيوية وتبدأ نمط الحياة المستقل (Muhammad، وآخرون،2020).



الشكل (2-2) المراحل الرئيسة لتكوين الغشاء الحيوي (1) الالتصاق العكسي (2) الالتصاق غير العكسي (3) تصنيع المواد خارج خلوية (4) اكتمال الغشاء الحيوي (5) مرحلة الانفصال (Muhammad، وآخرون،2020)

3.2. المضادات الحيوية Antibiotic

عبارة عن مواد تستخدم ضد العدوى البكتيرية تصنف إلى فئتين حسب آلية عملها إلى قاتلة للبكتريا bactericidal تقتل البكتريا عن طريق تعطيل العمليات الحيوية للخلية أو إتلاف في هيكل الخلية بشكل لا يمكن أصلاحه، أما الفئة الثانية مثبطة للبكتريا bacteriostatic توقف نمو البكتريا من دون أن تقتلها من خلال تثبيط بناء البروتين والأحماض النووية أو مسارات أخرى (Galgano وآخرون، 2025). وتصنف المضادات الحيوية حسب مدى تأثيرها إلى مضادات واسعة الطيف تؤثر على مجموعة متنوعة من الأحياء المجهرية الموجبة والسالبة لصبغة جرام مثل مضادات الفلوروكوينولونات Fluoroquinolones ومضادات ضيقة الطيف تؤثر على أنواع قليلة من الأحياء المجهرية (Grada وBunick، 2021).

ان استخدام المضادات الحيوية المناسبة بدلاً من استخدام المضادات العشوائية أو غير المناسبة يقود إلى تقليل نسبة الوفيات وزيادة كفاءة العلاج وتقليل مدة الإقامة في المستشفى عن طريق الكشف المبكر عن الكائن الممرض (Bassetti وآخرون، 2020). تستخدم المضادات الحيوية طريقتين اساسيتين لعبور الغشاء الخارجي للبكتريا سالبة صبغة جرام، القناة الدهنية لمضادات الحياة الكارهة للماء، وبوساطة قنوات البريون للمضادات الحيوية المحبة للماء ((Zhang(A، وآخرون، 2021).

1.3.2. مضادات Aminoglycoside

تعد عائلة Aminoglycoside من العوائل الرئيسة للمضادات الحيوية، يكون مدى نشاطها واسع فهي تستخدم ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة جرام، اثبتت فعاليتها عند استخدمها في بدايتها لعلاج عدوى الأحياء المجهرية مما جعلها خط الدفاع الأول ضد الالتهابات البكتيرية. بعد ذلك حلت محلها عوائل أخرى من المضادات الحيوية مثل cephalosporins، carbapenems وfluoroquinolones وذلك بسب السمية المصاحبة لها، ومع ذلك زاد الاهتمام بمضادات Aminoglycoside مؤخراً لزيادة مقاومة البكتريا للأدوية وتهديداتها المستمرة لحدوث العدوى البكتيرية (Serna وآخرون، 2025).

يعد مضاد Amikacin من المضادات التابعة لعائلة Aminoglycoside وهو من المضادات شبه الصناعية، يتميز بوصفه مضاداً بكتيرياً واسع الطيف. يعمل على قتل البكتريا عن طريق إيقاف مرحلة الترجمة في صناعة البروتين ومن ثم إتلاف الغشاء السايتوبلازمي (Li وآخرون، 2025a).

2.3.2. مضادات البيتا لاكتام Beta lactams

تلعب مضادات البيتا لاكتام التي تتضمن الكاربينيمات Carbapeneams والسيفالوسبورينات Cephalosporins والبنسلينات Penicillins والمونوبكتامات Monobactams دوراً هاماً في علاج البكتريا، ولكن أعداداً كبيرة من *P. aeruginosa* لا تتأثر بمضادات البيتا لاكتام مما يجعل العلاج أقل فعالية ويؤدي إلى عواقب وخيمة للمرضى (Glen وLamont، 2021). يستخدم Meropenem وهو من مضادات البيتا لاكتام غالباً لعلاج العدوى بالبكتريا ذات المقاومة المتعددة للأدوية MDR (Elshamy وAboshanab، 2020).

3.3.2. مضادات الفلوروكوينولونات Fluoroquinolones

مضادات حيوية واسعة الطيف فعالة ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة جرام، وتمتاز بفعالية أعلى من quinolones. تعيق هذه المضادات عملية بناء الحامض النووي DNA، وتستخدم Fluoroquinolones في علاج عدوى البكتريا في المسالك البولية (Tewawong وآخرون، 2025). وتستهدف مضادات الكوينولونات إنزيمات التوبوايزوميريز الثاني والرابع topoisomerases II, IV (Baggio وAnanda، 2021). وتضم هذه العائلة العديد من المضادات من أهمها Ciprofloxacin الذي يعد من أكثر المضادات استخداماً لعلاج العدوى البكتيرية، إذ يمكنه بعد أن يدمج مع تراكيز من مضادات حيوية اخرى أن يقلل من مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية (Khwaza وآخرون، 2024).

4.2. مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية Resistance of bacteria to antibiotic

تمتلك بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة طبيعية للعديد من المضادات فضلاً عن قدرتها غير العادية لتطوير مقاومتها ضد المضادات الميكروبية الشائعة، وذلك عن طريق طفرات جينية كروموسومية أو من خلال اكتساب عناصر المقاومة بشكل أفقي. ومما يثير القلق هو ظهور سلالات تمتلك مقاومة متعددة للأدوية MDR، إذ تؤثر على اختيار المضاد الميكروبي النهائي والتجريبي (McCarthy،2015). بعض أنواع الزائفة الزنجارية أصبحت تمتلك مقاومة للمضادات الحيوية المستخدمة كملاذ أخير لعلاجها مما أدى إلى عدَّها متعددة المقاومة للمضادات MDR (CDS، 2022).

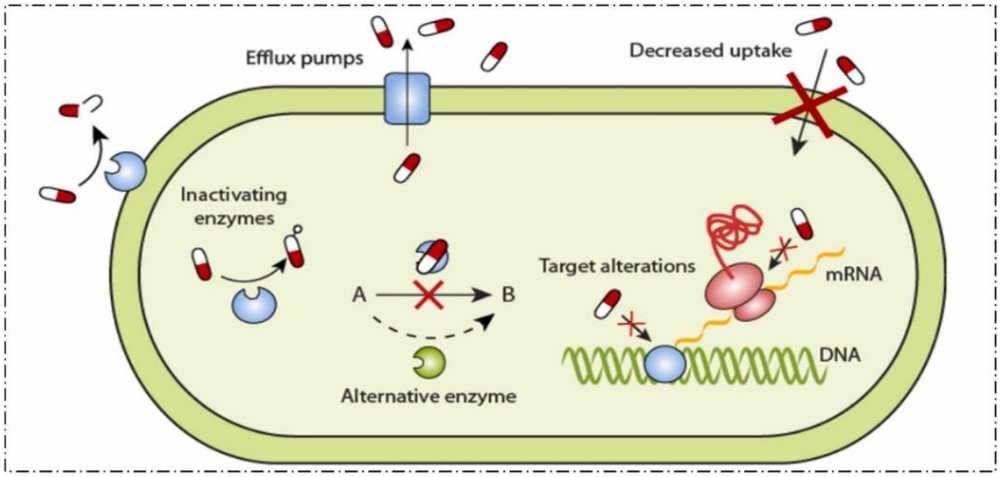
تظهر *A. baumannii* مقاومة متعددة للمضادات (MDR) فضلاً عن المقاومة الشاملة Pan drug resistance (PDR) (Gottesman وآخرون، 2021). وان عدوى *A. baumannii* المقاومة للأدوية المتعددة تتزايد بشكل مثير للقلق، ولأجل ذلك تظهر الحاجة إلى علاجات جديدة لمكافحة هذه العدوى (Sycz وآخرون، 2021).

قد يعود زيادة مقاومة المضادات الحيوية من البكتريا إلى الاستخدام العشوائي والمفرط للأدوية وصُنفتْ مقاومة المضادات الحيوية من منظمة الصحة العالمية كواحدة من أكثر التهديدات للصحة العامة (Chetri ، 2025).وقد اصبحت زيادة مقاومة المضادات الميكروبية مصدر قلق كبير بعدما ارتفع سوء الاستخدام والافراط في أخذ الأدوية أثناء وباء كورونا COVID-19 (Lucien وآخرون، 2021).نضراً لانتشار القلق من مقاومة المضادات الحيوية نشرت منظمة الصحة العالمية WHO قائمة تضم اهم مسببات الأمراض وتقسم هذه القائمة على ثلاثة أقسام أهمها مجموعة البكتريا

المقاومة للأدوية وتشمل ESKAPEE (*Enterococcus faecium*، *S. aureus*، *Klebsiella pneumoniae*، *A. baumannii*، *P.aeruginosa*، *Enterobacter species*، و *E. coli*). (WHO، 2024). وتصنف العزلات على أنها ذات مقاومة شاملة PDR، إذا كانت تقاوم كل مجاميع المضادات الحيوية المستخدمة ومن ضمنها مضادي Polymyxin وTigecyclin مما يتطلب استخدام أساليب علاجية جديدة (Kyriakidis وآخرون، 2021). تؤدي *S. aureus* المقاومة للميثيسيلين Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) إلى ارتفاع في معدل الوفيات لأنها تقاوم جميع مضادات البيتالاكتام باستثناء الجيل الجديد للسيفالوسبورينات (Budzyńska وآخرون، 2021).

5.2. آليات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics

تستخدم البكتريا آليات متنوعة لمقاومة المضادات الحيوية لضمان بقاء الأنواع البكتيرية شكل (2-3)، تشمل تعطيل أو تدمير المضاد، وتغيير موقع الهدف (Galgano وآخرون، 2025). تمتلك *P. aeruginosa* آليات متنوعة لمقاومة المضادات الحيوية ومن الآليات الرئيسة إنتاج إنزيمات بيتالاكتاميز beta lactamases، امتلاك مضخات الدفق Efflux pump مما يسهم بتقليل حساسية البكتريا لمجموعة من المضادات (Salleh وآخرون، 2025). تكون هذه الآليات إما ذاتية محمولة على الكروموسوم أو مكتسبة عن طريق النقل الأفقي بين الأنواع البكتيرية أو تكيفية تنشأ من الضغوط البيئية مثل ضغط المضادات الحيوية وتساعد هذه الآليات البكتريا للبقاء في مختلف البيئات (Elshobary وآخرون، 2025).



شكل (2-3) آليات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية (Vivekanandan وآخرون، 2025)

1.5.2. التحوير في موقع الهدف ونفاذية الغشاء الخارجي Target site modification and Permeability of the outer membrane

تعمل البكتريا على تعديل موقع الارتباط المستهدف من المضاد مما يمنعه من الارتباط بهذا الهدف ويفقده فعاليته (Kamalova، 2025). أو قد تعمل تغييرات على جدار الخلية البكتيرية أو الغشاء الخلوي فتمنع المضاد من الدخول للخلية (Vivekanandan وآخرون، 2025). ولتركيب الدهون والبروتينات في الغشاء الخارجي له تأثير بشكل كبير على تطور مقاومة المضادات الحيوية، إذ تقلل التغييرات في جدار الخلية من نفاذية المضاد إلى داخل الخلية (Zhang، وآخرون، 2021a).

2.5.2. إنتاج الإنزيمات المحللة لبعض أنواع المضادات الحيوية Production of antibiotic-degrading enzymes

تنتج بعض أنواع البكتريا إنزيمات البيتالاكتاميز beta lactamases الذي يجعلها مقاومة لمجموعة من المضادات، إذ تقوم هذه الإنزيمات بتحليل حلقة البيتا لاكتام للمضاد الحيوي مما يعطله قبل وصوله إلى بروتين ربط البنسلين penicillin-binding protein (PBP) (Paudel، وآخرون، 2021)، إذ تحطم هذه الإنزيمات مضادات كل من البنسلينات penicillins، والسيفالوسبورينات Cephalosporins، والكاربابينيم carbapenems (Vrancianu وآخرون، 2020).

استخدام مضادات الكاربابينيم أدى إلى ظهور سلالات من *E. coli* طورت آليات لمقاومة للكاربابينيم، إذ تفرز إنزيمات الكاربابينيميز التي تحلل مضادات الكاربابينيم الحيوية، وظهر في السنوات الأخيرة إنزيم ميتالو بيتا لاكتميز Metallo beta lactamase الذي يحلل جميع مضادات البيتا لاكتام beta lactam الحيوية باستثناء المونوباكتام Monobactams ولا يتأثر بمثبطات البيتا لاكتميز الجديدة مثل افيبكتام avibactam وريليبكتام relebactam (Lu وآخرون، 2025).

3.5.2. امتلاك مضخات الدفق Efflux pump

ناقلات غشائية لها دور رئيس في نشوء الأمراض البكتيرية وزيادة مقاومة البكتريا للأدوية المتعددة عن طريق طرح المواد الخارجية الداخلة للخلية مثل المضادات الحيوية والمطهرات والمنظفات، إذ تعمل المضخات على منع هذه المواد من الوصول إلى أهدافها داخل الخلية (Elshobary وآخرون، 2025). تعمل هذه المضخات على طرح المضاد خارج الخلية مما يؤدي إلى تقليل المضاد داخل الخلية (Kamalova، 2025). أفراد العائلة المعوية لها القدرة على قذف

المضاد الداخل للخلية إلى الخارج عن طريق آلية خاصة وهي آلية الضخ للخارج out pump ويساعد كل من الغشاء الخارجي والغشاء الداخلي والفسحة البريبلازمية في حدوث هذه الآلية. ومما يحفز المقاومة بهذا النظام هو التعرض المستمر من البكتريا لمجموعة مضادات الامينوكلايكوسيدات (Seukep وآخرون، 2022).

6.2. النباتات الطبية Medicinal plants

هي كل النباتات ذات التأثير العلاجي عند استخدامها من الإنسان، وتعد النباتات بأنها أول مواد استخدمها الإنسان للعلاج وما تزال تتمتع بأهميتها الكبيرة في الحفاظ على صحة الإنسان، وينتشر استخدام المستخلصات النباتية والمستحضرات العشبية والمنتجات المشتقة من النباتات الطبية في الرعاية الصحية الأولية في مختلف البلدان النامية (Cedillo-Cortezano وآخرون، 2024).

النباتات الطبية استخدمها البشر منذ عام 2600 قبل الميلاد أو لأكثر من 30,000 عام، ومن المرجح استخدم البشر منذ مئات الاف وربما ملايين السنين النباتات للعلاج أو لتخفيف أعراض المرض. يمكن للنبات ان يعدُّ من النباتات الطبية، إذا امتلك عضو أو أكثر ينتج مواد تستخدم مباشرة أو تدخل في صناعة الأدوية، مثال على ذلك الخشخاش المنوم *Papaver somniferum* الذي يستخلص منه مسكنات آلام قوية مثل الكوداين Codeine والمورفين Morphine (Davis وChoisy، 2024).

ونظراً للآثار الجانبية التي تعد أقل مقارنة بالأدوية الصناعية زادت شعبية استخدام النباتات الطبية للعلاج. فقد اتجه 75% من الناس إلى النباتات ومستخلصاتها لغرض العلاج. وان مقاومة الأدوية المتعددة والأمراض المعدية التي تسبب نصف الوفيات حول العالم الناتجة من الأنواع التابعة إلى *Staphylococcus* و*Pseudomonas* والأنواع الأخرى من الأحياء المجهرية أدت إلى أهمية اكتشاف علاجات جديدة وفعالة واقتصادية، تقضي على المسببات المرضية من دون الأضرار بالجسم (Sejal وآخرون، 2025).

مقاومة الأدوية المتعددة MDR من البكتريا أدى إلى ظهور تحديات كبيرة لتطوير علاجات فعالة للحد من انتشارها، وللنباتات الطبية دور مهم للتخلص من هذه الأحياء المقاومة لما تمتلكه من مركبات مضادة للميكروبات (Rakholiya وآخرون، 2025). استناداً إلى نتائج الدراسات الكيميائية قد تمنع المستخلصات النباتية نمو البكتريا والفطريات والطفيليات والفيروسات بآليات تختلف عن المضادات الحيوية، لهذا تبرز أهميتها الكبيرة في علاج الأحياء المجهرية (Autiero وRoviello، 2023).

7.2. نبات الدفلى Oleander plant

يتميز بأوراقه دائمة الخضرة وأزهاره النابضة بالحياة، ما يجعل الإنسان يتخذه نبات زينة شكل (2-4). وهو يعد أحد أكثر النباتات سمية يعود جنس الدفلى oleander إلى العائلة Apocynaceae وهو يضم عدة أنواع أهمها *Nerium oleander* و*hevetia peruviana* التي تحتوي على مواد سامة مثل الكلايكوسيدات التي تؤثر على القلب وتسبب توقفه مما يؤدي إلى الوفاة عند تناولها (Sacco وآخرون، 2025).

يمتلك نبات الدفلى مميزات قوية تجعله يستخدم في استراتيجيات إدارة الأمراض المتكاملة Integrated Disease Management (IDM) بسبب استخدامه كمضاد للبكتريا، لانه ينتج مركبات كيميائية فعالة تستهدف البكتريا مثل الكلايكوسيدات والقلويدات والفلافونيدات فضلاً عن الستيرويدات، إذ يدوم تأثير هذه المواد على البكتريا لمدة طويلة مما يجعله وسيلة طويلة الأمد في علاج الأمراض (Ayouaz وآخرون، 2023).

شكل (2-4) نبات الدفلى في (A) جامعة ديالى (B) الهويدر محافظة ديالى، العراق

8.2. الجذور الحرة ومضادات الأكسدة Free radicals and Antioxidants

1.8.2. الجذور الحرة Free radicals

تمثل مجموعة من الجزيئات أو الأيونات التي تحتوي على الكترونات حرة في غلافها الخارجي الأمر الذي يجعلها شديدة التفاعل وقصيرة العمر، إذ تعمل هذه الالكترونات على دفع الجذور الحرة للبحث عن الاستقرار بوساطة ارتباط هذه الالكترونات. والذي غالباً ما يسبب بدء تفاعلات متسلسلة تؤدي إلى حدوث خلل أو تلف خلوي كبير، فقد تسبب الاجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى حدوث الأمراض مثل أمراض القلب والأوعية الدموية وتلف في DNA الذي يحفز تكون الأورام السرطانية، ويحدث الالتهاب المزمن والتهاب المفاصل الروماتيدي وداء الأمعاء الالتهابي نتيجة للإجهاد التأكسدي المستمر. قد تنتج هذه الجذور داخل الجسم من خلال عمليات داخلية أو يمكن الحصول عليها من مصادر خارجية مثل الأشعة فوق البنفسجية ودخان التبغ والتلوث البيئي والتعرض للمواد الكيميائية والأدوية (Chandimali وآخرون، 2025).

2.8.2. مضادات الأكسدة Antioxidants

تعرف مضادات الأكسدة على أنها مجموعة من المركبات موجودة في الأطعمة أو جسم الإنسان حتى وإن كانت كميات صغيرة تسهم في حماية خلايا الجسم من الأضرار الناتجة عن الجزيئات الضارة المتمثلة بالجذور الحرة، إذ تعمل على ابطاء أو منع عمليات الأكسدة، وتساعد هذه القدرة الحفاظ على جودة الطعام والوقاية من ظهور الأمراض التنكسية Degenerative diseases مثل الزهايمر وباركنسون (Gulcin، 2025).

الكائنات الحية استخدمت آليات دفاعية معقدة مضادة للأكسدة لتواجه بها آثار الجذور الحرة الضارة، وتقسم مضادات الأكسدة إلى إنزيمية مثل الكاتاليز catalase وسوبر أوكسيد ديسميوتيز superoxide dismutase SOD وكلوتاثيون بيروكسيديز glutathione peroxidase والتي تعمل على معادلة أنواع الأوكسجين التفاعلية Reactive oxygen species ROS، ومضادات أكسدة غير إنزيمية تعمل على إزالة الجذور الحرة مثل فيتامين C وفيتامين E والكلوتاثيون glutathione. فضلاً عن مضادات أكسدة غذائية من مصادر نباتية مثل الفواكه والخضراوات وغيرها (Chandimali وآخرون، 2025).

9.2. مركبات الأيض الثانوية كمضادات أكسدة طبيعية Secondary Metabolites as natural antioxidants

يعرف الأيض الثانوي في النبات بانه عملية بناء وإنتاج مركبات كيميائية تؤدي وظائف معينة وفي ظل ظروف خاصة، وتعد هذه المركبات غير ضرورية لبقاء النبات (Ahanger وآخرون، 2020). تنتج معظم الأدوية من مستخلصات أو مشتقات نباتية تحتوي على مركبات أيض ثانوي ضرورية لصحة الإنسان مثل القلويدات والتربينويدات والفينولات التي تكثر في النباتات الطبية ويبرز دور هذه المركبات للنبات في حمايته من الاجهاد وتثبيط الأمراض التي تصيبه (Lv وآخرون، 2024).

1.9.2. الفينولات Phenols

الفينولات هي عبارة عن مجموعة متنوعة من مركبات الأيض الثانوية تتألف من مجموعة هيدروكسيل واحدة أو أكثر ترتبط بحلقات البنزين، وهي توجد على شكل أحادي أو بوليمرات. تستخدم هذه المواد للوقاية من العديد من الأمراض غير المعدية مثل أمراض القلب والأوعية الدموية والسكري (Li وآخرون، 2025b).

2.9.2. التانينات Tannins

تضم مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية، وهي تعد من الفينولات لها مهام حاسمة لدى النباتات تدخل في الصناعات الغذائية والأعلاف، فضلاً عن خصائصها الطبية، إذ لها دور مهم في مكافحة البكتريا والالتهابات وهي من مضادات الأكسدة. تصنف على مجموعتين رئيستين التانينات القابلة للتحلل المائي hydrolysable tannins (HTs) والتانينات المكثفة condensed tannins (CTs) (Molnar وآخرون، 2024).

3.9.2. الفلافونيدات Flavonoids

تعد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية تزيل سموم الأوكسجين وهي من مركبات الأيض الثانوي التي لها وزن جزيئي منخفض. تؤدي وظائف متنوعة للنبات منها الحماية والنقل وتسهيل ارتباط الأيونات فضلاً عن دورها في حماية النبات ضد المسببات المرضية كالبكتريا والفطريات (Patil وآخرون، 2024).

الفلافونيدات تعد ضمن مجموعة الفينولات وهي مفيدة في علاج بعض الأمراض مثل السكري وارتفاع ضغط الدم وأمراض القلب والأوعية فضلاً عن دورها في حماية الجلد من الشيخوخة (Păcularu-Burada وآخرون، 2024).

4.9.2. القلويدات Alkaloids

مركبات ينتجها النبات بالدرجة الأساس ويمكن الحصول عليها من الفطريات وبعض أنواع الحيوانات، وهي مركبات نيتروجينية لها دور في الطب التقليدي، إذ استخدمت كعلاجات عشبية لآلاف السنين. تُظهر مجموعة من الانشطة منها دفاعية ضد مسببات الأمراض كالأحياء المجهرية وخصائص مضادة للأكسدة والالتهابات والسرطان والسكري، فضلاً عن ذلك لها دور وقائي للقلب والكبد (Letchuman وآخرون، 2024).

5.9.2. الصابونيات Saponins

تضم مجموعة واسعة الانتشار من المركبات الكيميائية مثل الترايتيربينويد والستيرويدات، تعد نواتج أيض ثانوية تنتمي للكلايكوسيدات. لها أهمية تجارية في صناعة الأغذية ومستحضرات التجميل، وقد نالت اهماماً كبيراً وذلك بسبب انشطتها الاحيائية، إذ تمتلك خصائص مضادة للسرطان والكوليسترول والالتهابات والأحياء المجهرية والأوليات. تمتلك الصابونيات العديد من الآليات الفعالة التي ماتزال مجهولة (Kaur وآخرون، 2024).

6.9.2. الكلايكوسيدات Glycosides

تمثل مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية تستخلص من العديد من النباتات تستخدم في الطب التقليدي، إذ تدخل في عمليات تطوير الأدوية ولها مجموعة واسعة للاستخدام في النشاطات الصيدلانية، وتعد علاجات لأمراض مختلفة منها أمراض القلب فضلاً عن استخدامها كمضاد للأحياء المجهرية. صنفت إلى العديد من المركبات بناءً على مجاميع وسلاسل السكريات والروابط الكلايكوسيدية والاكليكونات aglycones واستناداً إلى الاكليكونات قسمت الكلايكوسيدات النباتية على ثلاثة عشر نوع مختلف من الكلايكوسيدات وهي الكحولية alcoholic والكرومون chromone والانثراكينون anthraquinone والكومارين coumarin والسيانوجين cyanogenic والفينولية phenolic والفلافونويدية Flavonoid والقلبية cardiac والصابونية saponin والستيفيول steviol والثيو thio والكانابينويد cannabinoid والايردويد iridoid (Kowsalya وآخرون، 2025).

7.9.2. الراتنجات Resins

توجد في العديد من النباتات، وتستخلص من أجزاء مختلفة في النبات. تعد مركبات كيميائية معقدة غير متبلورة ثقيلة الوزن عند مقارنتها مع الماء، وهي مواد شفافة صلبة أو شبه صلبة تمتلك ذرات كاربون كبيرة. تحتوي الراتنجات على ثلاثة مكونات مهمة الكليكوريسينات Glycoresins والراتنجات الزيتية Oleoresins وراتنجات الصمغ الزيتي Oleo-gum-resins. تستخدم لحماية النبات من الجروح فضلاً عن حمايته من الحشرات والديدان والمسببات المرضية، فضلاً عن ذلك تعد علاجات طبية تستخدم لعلاج القرحة وارتفاع ضغط الدم والسكري والحمى والسرطان والدوار والامساك والتهاب المفاصل والأكزيما وغيرها من الأمراض (Bhattacharya وآخرون، 2024).

8.9.2. الزيوت الطيارة Volatile oils

تسمى أيضاً بالزيوت العطرية، وذلك لرائحتها المميزة ووجودها بكثرة في النباتات العطرية. تعد من أكثر النواتج الأيضية الثانوية وفرة في غالبية النباتات، فضلاً عن النبات يمكن الحصول على هذه الزيوت من بعض المصادر الحيوانية وبعض الأحياء المجهرية. يمكن أن تتأثر الزيوت الطيارة بتقلبات درجات الحرارة والرطوبة فضلاً عن نوع التربة وموقع نمو النبات. تمتاز بانشطتها الحيوية للنبات فضلاً عن قدرتها العلاجية لحالات مختلفة تستعمل كمضادات أكسدة وفي علاج السرطان ومسكن للآلام ومضادة للأحياء المجهرية والالتهابات وغيرها من الحالات. لها أهمية اقتصادية، إذ تدخل في صناعة العطور فضلاً عن استخداماتها الصيدلانية المختلفة (Mohammed وآخرون، 2024).

9.9.2. الترايتيربينويد Triterpenoids

مجموعة من المركبات الطبيعية تصنع من النبات تضم أعداداً متنوعة من المركبات، ماتزال آلياتها ووظائفها الاحيائية الدقيقة غير مستكشفة. ومن انشطتها الأحيائية تعد مادة أولية للأغشية الخلوية كما تسهم في إنتاج هرمونات أساسية لنمو النبات وتطوره وهو البراسينوليدات Brassinolides (BRs) فضلاً عن وظائفها الدفاعية والعلاجية، إذ تدخل في مجالات الطب والزراعة وصناعة مستحضرات التجميل (Dong وQi، 2025).

10.9.2. التربينات Terpenes

تمثل التربينات أكبر مجموعة من المركبات الطبيعية منخفضة الوزن الجزيئي توجد تقريباً في جميع الكائنات الحية، وتعد من مركبات الأيض الثانوي التي ينتجها النبات، فقد يستخدمها كآلية

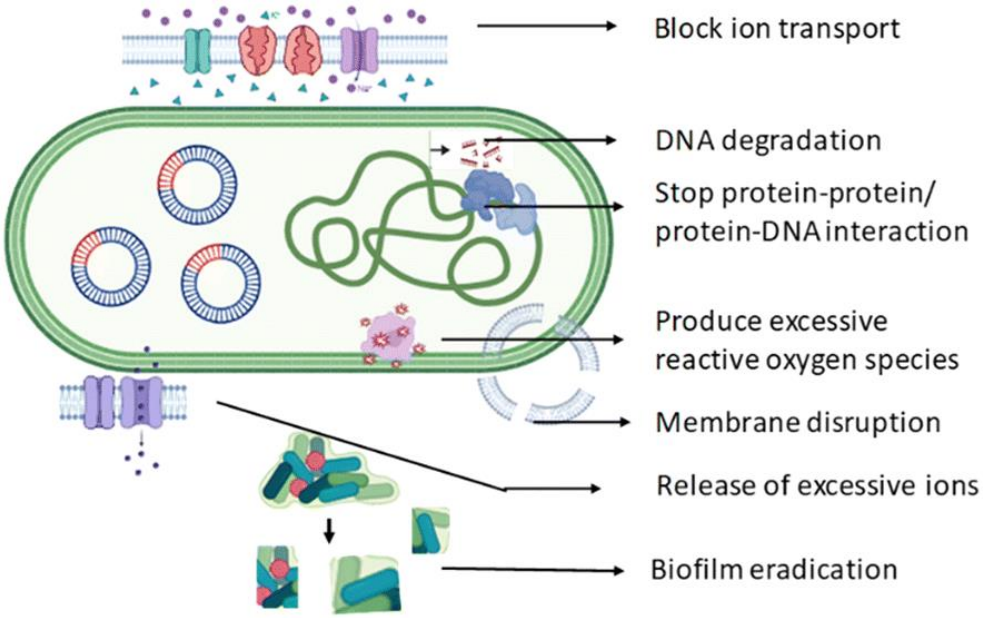
دفاع ضد الحشرات. خصائصها الاحيائية تتمثل بوصفها مضادات للأكسدة والالتهابات والأحياء المجهرية والسرطان والحساسية، وتدخل في صناعة الغذاء والدواء ومستحضرات التجميل فضلاً عن الصناعات الكيميائية فضلاً عن تأثيراتها البيئية (Câmara وآخرون، 2024).

10.2. الجسيمات النانوية Nanoparticles (NPs)

تعد الجسيمات النانوية من الآليات البديلة المستخدمة لإيصال الأدوية وتشمل هذه المواد الجزيئات الاحيائية والمواد الكربونية والمواد السليكونية فضلاً عن المعادن ومن بين أكثر المعادن شيوعاً لتوصيل الأدوية الذهب والفضة والبلاتين والبلاديوم. تأثير هذه المواد على البكتريا يكمن في زيادة نفاذية غشاء الخلية البكتيرية لضمان اختراق أكثر عدد من المضادات للبكتريا. وقد استخدمت الجسيمات النانوية مع الأدوية لمكافحة البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية، فيحدث تأثير مزدوج، إذ يكون تأثير المضادات الحيوية سريع وفعال بعد ايصالها للهدف من قبل الجسيمات النانوية، إذ تعمل على تعزيز فعالية الأدوية ومنع تكوين الغشاء الحيوي فضلاً عن تأثير الجسيمات النانوية على جدار الخلية أو الغشاء الخلوي وتعطيل وظيفته، أو قد تؤدي إلى تثبيط تكوين البروتين Protein synthesis من خلال زعزعة استقرار الرايبوسومات فضلاً عن قدرتها على الحاق الضرر بمضخات الدفق والحامض النووي DNA والإنزيمات والمايتكوندريا شكل (2-5) (Dykman وآخرون، 2025).

وتتميز هذه الجسيمات بخصائص فيزيائية وكيميائية مثل الحجم، إذ يتراوح بين 1 إلى 100 نانومتر وقد يؤثر شكلها على طريقة امتصاص الخلايا لهذه الجسيمات فضلاً عن تأثير شحنة وتركيب سطح الجسيمات على انجذابها نحو البكتريا (Mitchell وآخرون، 2021).

توفر هذه المواد الحماية للدواء وتسهل وصوله إلى المواقع المحددة وهي بذلك تعمل على تحسين فعالية العلاج. وهي على عدة أنواع فقد تكون على شكل بوليمرات أو مواد غير عضوية أو اكاسيد معدنية Metal Oxide أو دهون Lipid nanoparticles (LNPs) (Zhang وآخرون، 2021b). ظهور الحاجة للمواد النانوية يعزى إلى المشكلات الحيوية التي تواجه الأدوية المستخدمة للعلاج، ومن مميزات هذه المواد حجمها الصغير الذي يمكنها من العبور بين الخلايا ومساحتها السطحية الكبيرة مما يجعلها قادرة على توصيل المواد منخفضة الذوبان (Pandya وآخرون، 2024).



شكل (2-5) مناطق تأثير الجسيمات النانوية على البكتريا (Mondal وآخرون، 2024)

الجسيمات النانوية بأنواعها المختلفة أظهرت نجاحاً في مختلف المجالات المستخدمة، مما أدى إلى زيادة الاهتمام في التطبيقات النانوية، إذ أدخلت هذه المواد في مجالات الطب العلاجي والكيمياء الحيوية وقد تستخدم كبديل لمضادات الأحياء المجهرية ومن أهم الجسيمات النانوية اكاسيد المعادن المختلفة مثل المغنيسيوم والزنك والتيتانيوم والفضة والنحاس، إذ أدت إلى تثبيط بعض الأنواع البكتيرية وقليلاً من الفايروسات (Cai وآخرون، 2018). تشمل اكاسيد المعادن النانوية الرئيسة على أوكسيد الزنك ZnO وأوكسيد المغنيسيوم MgO وثنائي أوكسيد التيتانيوم TiO_2 وثنائي أوكسيد السليكون SiO_2 وأوكسيد النحاس CuO وأوكسيد الحديديك Fe_2O_3 (Danish وآخرون، 2020).

استخدام الجسيمات النانوية لعملية تثبيط الأحياء المجهرية وخصوصاً البكتريا تتم بآليات متنوعة عن طريق تحرير أيونات المعادن والتي تعمل على تدمير الغشاء الخلوي وتتداخل مع الحامض النووي DNA، وتسبب تراكماً لأنواع الأوكسجين التفاعلي (ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وأيونات الأوكسيد الفائق O_2^{-1} Superoxide ions فضلاً عن جذور الهيدروكسيل $OH^{\cdot}$ التي تؤدي بدورها تدمير مكونات الخلية المهمة مثل البروتينات والإنزيمات والدهون وكذلك الأحماض النووية (Singh وآخرون، 2018).

1.10.2. أوكسيد التيتانيوم النانوي (TiO_2NPs) Titanium Oxide nanoparticles

يعد أوكسيد التيتانيوم من الاكاسيد النانوية منخفضة التكلفة ذات الفعالية والاستقرار العالي وطبيعته غير السامة فيكون آمناً لكل من البيئة والاستخدام البشري، على الرغم من ذلك فإنَّ افتراض عدم سميته للبشر تعرض للشكوك من قبل وكالة الأدوية الأوربية European Medicines Agency EMA وقد تم تأييد اللوائح في عام 2021 فسحب TiO_2 كمكون غذائي، إذ يستخدم لتعزيز اللون الأبيض واحياناً النكهة (Thakur وآخرون، 2024)

تظهر قدرة TiO_2 على تراكم أنواع ROS مثل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وجذور الهيدروكسيل $OH^{\cdot}$ وأيونات الأوكسيد الفائق O_2^{-1} شديدة التفاعل والسمية للخلاية، وتسبب ضغطاً تأكسدياً عالياً يؤثر على الانظمة الحيوية مما يؤدي إلى أكسدة الدهون والبروتينات فيؤثر على الغشاء الخلوي فضلاً عن تسببه بتلف DNA وأكسدته بقايا الأحماض الامينية الحساسة في مواقع معينة مما يؤدي إلى حدوث خلل في البروتين. فضلاً على قدرة جسيمات TiO2NPS ان تسبب خللاً في المايتوكندريا عن طريق تراكم أنواع ROS داخل الخلية مما يسبب الاجهاد التأكسدي للخلية البكتيرية (Baltar وآخرون، 2025).

2.10.2. أوكسيد الزنك النانوي (ZnONPs) Zinc Oxide nanoparticles

ظهر الاهتمام بجسيمات أوكسيد الزنك النانوي ZnONPs بسبب تكلفة إنتاجها المنخفضة وسميتها الخلوية المنخفضة وتوافقها الحيوي. لهذا استخدمت في الكثير من التطبيقات منها الطبية والتكنلوجيا الاحيائية Biotechnology، فضلاً عن دخولها في العديد من المجالات البصرية والكهربائية والمعلبات الغذائية، فضلاً عن المجالات الطبية كمضادات للبكتريا والسرطان والأكسدة وتسهم في شفاء الجروح. وعلى الرغم من أن الزنك موجود في الجهاز الفسيولوجي للإنسان وقابليته للذوبان والتوافق الحيوي إلا أن استخدامه مقيد نتيجة لمخاطر المواد الكيميائية المستخدمة في تحضيره (Al-darwesh وآخرون، 2024).

تعمل جسيمات ZnONPs على قتل الخلية عن طريق تحرير أيونات الزنك Zn^{+2} الذي يتفاعل مع مكونات الخلية بعد اختراقه لجدار الخلية (Wang وآخرون، 2017). وإنتاج أنواع ROS التي تمتلك خصائص مثبطة للخلايا البكتيرية، إذ تسبب مسخ البروتين وDNA والدهون للخلية (Agarwal وآخرون، 2018).

3.10.2. أوكسيد المغنيسيوم النانوي Magnesium Oxide nanoparticles (MgONPs)

نال أوكسيد المغنيسيوم MgO اهتمام كبير نظراً لطبيعته غير السامة وما يبديه من توافق حيوي استثنائي وتطبيقاته في الطب الحيوي فضلاً على استقراره القوي في الظروف المفاجئة، وقد تم ادراجه من إدارة الغذاء والدواء الأمريكية ضمن المواد الامنة للاستهلاك البشري. وتستخدم جسيمات MgONPs على نطاق واسع في مجالات كثيرة تتضمن معالجة النفايات السامة والمطهرات الموصلات الفائقة واشباه الموصلات وبطاريات أيون الليثيوم والطلاءات العاكسة والمواد الماصة والدهانات وغيرها، وتستخدم في مجال الطب الحيوي لتخفيف الآم المعدة والحرقة وإعادة بناء العظام فضلاً عن تطبيقاته العلاجية، إذ يستخدم في الكبسولات المغلقة والضمادات وأوعية جمع الدم وغيرها. وقد اثبتت جسيمات MgONPs فعاليتها كعامل مثبط مؤثر ضد العديد من الأنواع البكتيرية الممرضة أهمها *P.* aeruginosa و *E. coli* و *S. aureus* و *A. baumannii* ، إذ تعمل على تجميع أيونات الأوكسيد الفائق O_2^{-1} التي تسبب تلف الغشاء الخلوي عن طريق تحطيم الأواصر الببتيدية Peptide linkage للغشاء وتسربها لداخل الخلية البكتيرية أو عن طريق تكوين H_2O_2 الذي بدوره يتفاعل مع DNA الخلية أو بروتيناتها مما يؤدي إلى قتلها (Gatou وآخرون، 2024).

Abstract

The increasing prevalence of indiscriminate antibiotic use and the subsequent emergence of multi-drug resistant (MDR) bacterial strains have necessitated the search for innovative and more effective therapeutic alternatives. This study was conducted at the educational laboratories of Baqubah Teaching Hospital, with samples collected between September 23, 2024, and December 5, 2024, from inpatients and outpatients at Baqubah Teaching Hospital and the consultant clinic in Diyala Governorate. The research aimed to evaluate the efficacy of *Nerium oleander* leaf extracts and nanoparticles, specifically Titanium Dioxide (TiO_2), Zinc Oxide (ZnO), and Magnesium Oxide (MgO), as potential therapeutic alternatives against MDR pathogenic bacteria. The study involved 191 clinical samples from cases of wounds, burns, otitis media, and urinary tract infections (UTIs) across both genders, with ages ranging from 15 to 85 years. Pathogenic bacteria were isolated, identified, and analyzed for their biological characteristics and virulence factors, alongside an assessment of their susceptibility to various antibiotics. Results from 175 positive cultures revealed that *Pseudomonas aeruginosa* was the most prevalent, followed by *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. Biochemical tests showed that most isolates produced virulence-related enzymes, particularly *P. aeruginosa*, which exhibited multiple factors including biofilm formation, secretion of lytic enzymes (protease and lipase), motility, and pigment production. The bacterial isolates displayed varying levels of antibiotic resistance, with high resistance rates recorded especially for *A. baumannii* and *S. aureus*. Chemical analysis and GC–MS of the extracts identified several bioactive compounds likely responsible for the antimicrobial activity. The inhibitory effects of increasing concentrations of *Nerium oleander* leaf extracts, prepared using ethanol, chloroform, and water via hot and cold extraction methods, were evaluated. Results indicated that efficacy depended on the solvent, extraction method, and concentration; hot

ethanolic extracts at 200% concentration showed the highest inhibitory activity, while aqueous extracts were the least effective, with the 200% concentration being superior to 150% and 100% across all solvents. Furthermore, the testing of nanoparticles against resistant isolates showed that while low concentrations had limited impact, high concentrations, particularly at 3000 $\mu g/mL$, achieved significant inhibition, with Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles demonstrating the highest efficacy compared to MgO and TiO_2. The study concludes that *Nerium oleander* leaf extracts, in combination with certain nanoparticles, possess potent antibacterial activity against multi-drug resistant pathogens and may serve as promising therapeutic alternatives that, following further testing and FDA approval, could contribute to mitigating the global challenge of antibiotic resistance.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University Diyala College of Education for
of Pure Sciences

Sensitivity of some multidrug resistense of bacterial genus against *Nerium olenander* leaf extracts and some nanoparticles oxides

A Thesis

Submitted To the Council of the College of Education for Pure Sciences at the University of Diyala In Partial Fulfillment of the requirements for the Master Degree in Biology

By

Jihad Hameed Rashid Hasson

supervised

Prof. Dr. Abbas A. Farhan

March\ 2026AD **Shawwal\ 1447 AH**