



## الكشف عن قابلية المسببات المرضية المعزولة من عدة القسطرة

### القلبية على انتاج الفشاء الحيوي biofilm خارج الجسم الحي

\*بتول شاكر عبد المجلاوي، هيام عبد الرضا كريم العواد، علي رحيم حنظل الهاشمي

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء، العراق

\*مستشفى الإمام الحسين (عليه السلام) التعليمي، دائرة صحة كربلاء المقدسة

تاريخ الاستلام: 1 / 4 / 2016

تاريخ قبول النشر: 31 / 3 / 2016

#### Abstract

This study was conducted for the detection of virulence of pathogens isolated from cardiac catheterization kit on the production of biofilm in vitro .the catheter tip culture Was performed for each type of catheterization test as diagnostic catheterization samples included 66 (74.16%) has given 15 (22.73%), and therapeutic catheterization samples 15 (16.85%) has given 6 (40%) infected with the samples of diagnostic catheterization and therapeutic together 8 (8.99%) has given the results of 4 (50%) infected and results showed sensitivity and specificity values for the catheter Tip culture test (96%) and (100%), respectively,

the results were explained after cultured the samples on Enriched and differential media ,that (89) patients (a common sample) gave 25 (28.09%) positive sample for bacterial culture, and two of them showed two types of bacteria were (27) isolated bacterial, bacteria diagnosed isolates was 11 (70.74%) gram positive and 15 (55.56%) gram-negative and only one isolation of yeasts 1 (3.70%), although 64 (71.91%) did not give any growth. the ability of pathological isolates were tested on biofilm production by using three different methods, (TM) Tube method , (CRA) Cong Red Agar and Microtiter Plate (MTP) has given 25 (92.6%) , 16 (58.26%) and 26 (96.29%) the isolation of producing biofilm different quantities respectively , The isolation of producing biofilm in different quantities, respectively. The results of the investigation on the composition of the biofilm The MTP test has showed sensitivity (100%) and specificity 96%, while TM test values sensitivity was (96%) and (100%) specificity and CRA test was (61.5%) sensitivity and (100%) specificity values.

The absence of local study on the ability of pathogens isolated from cardiac catheterization kit on the production of biofilm came this study

\*Search unsheathed from the first Master Researcher

#### Keywords

pathogens ,cardiac catheterization, biofilm, in vitro.

## وغسيل الكلية المزمن لدى المرضى الخارجيين [5].

ان استعمال الادوات للوصول الوعائي يرتبط بحدوث عدوى مجرى الدم داخل الاوعية الدموية، والناتجة عن الميكروبات التي تستعمر الاداة المغروزة او تلوث مجرى السائل في وقت الادخال او اثناء استخدامه [6]. ان بعض الدراسات الوبائية افترضت وجود صلة قوية والاقامة فيه ويصبح اقل حساسية للمضادات الحيوية ، وتنتج هذه البكتيريا بروتينات مرتبطة بالغشاء الحيوى في ينين الربط البكتيرى في تجويف الفم مع تطور Atherosclerosis [7]، وكذلك حدثت البكتيريا في لويحات Atherosclerosis [8]، وقد يكون الغشاء الحيوى السبب في تطور Atherosclerosis [9].

ان وجود اعداد كبيرة من البكتيريا مع تنوع كبير في مساحة صغيرة في عينة واحدة من لويحة Atherosclerosis يشير الى عدوى الغشاء الحيوى [10]، وان المضادات الحيوية الروتينية واسعة الطيف سوف تكون فعالة ضد العديد من الانواع التي تم تحديدها في البكتيريا الحرة (العوالق)، حيث ان الغشاء الحيوى يعطي تحمل للمضادات الحيوية ، وتبدى البكتيريا المرتبطة بلويحات تصلب الشرايين في الغشاء الحيوى مقاومة عالية للمضادات الحيوية [9].

ثبتت [11] أن من خلال دراسته عن مرض Atherosclerosis أن من يعانون من امراض القلب التاجية بأن الاغشية الحيوية للبكتيريا هي المسيبة لتصلب الشرايين Atherosclerosis تتكون من الاغشية الحيوية (الوظيفية)، ولاحظ الفريق ان صفات وخصائص لوحظت على جدران الشريان يجعلها تماما مناسبة لتشكيل الغشاء

الحيوي والمسؤولة عن عدم فعالية المضادات الحيوية مثل Fluorquinolones، Macroides في التجارب من بين المواد الاكثر استعمالا القسطرة (أنابيب بسيطة) تغزز من السطح الخارجي الى العضو او الشريان، فقساطرات الاوعية الدموية الوريدية الداخلية التي تستعمل بشكل رئيسي في اعطاء السوائل، الادوية، التغذية غير الموعية، نواتج الدم، بالإضافة الى مراقبة حالة الاوردة الدموية .

## 1. المقدمة:

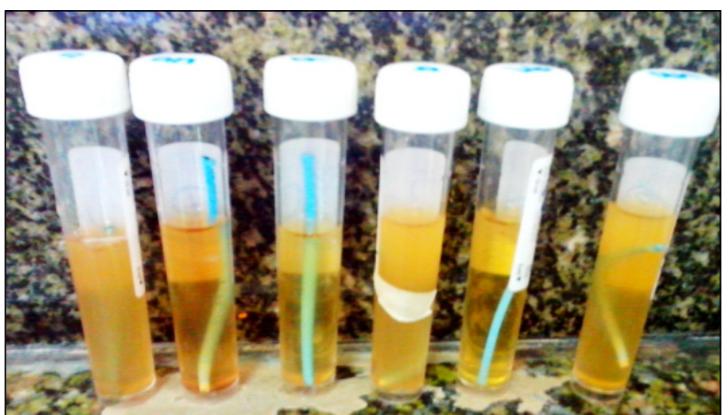
اجريت هذه الدراسة للكشف عن ضراوة المسببات المرضية المعزولة من عدة القسطرة القلبية على انتاج الغشاء biofilm خارج الجسم الحي، تم إجراء اختبار زرع طرف القسطر Catheter Tip لكل نوع من القسطرة إذ شملت عينات القسطرة التشخيصية 66 (74.16%) (22.73%) مصاب، وعينات القسطرة العلاجية 15 (16.85%) (40%) مصاب أما عينات القسطرة التشخيصية والعلاجية معا 8 (8.99%) فقد أعطت نتائج 4 (50%) مصاب، وبيّنت النتائج قيم الحساسية والنوعية لاختبار زرع طرف القسطر (96%) (100%) على التوالي،

أوضح من النتائج بعد زرع العينات على الأوساط الإغذائية والتفريقية إن (89) مريض (عينة مشتركة) أعطت (28.09%) عينة موجبة للزرع الجرثومي، وإناثان منها أظهرت نوعين من الجراثيم فكانت (27) عزلة جرثومية، شخصت العزلات الجرثومية فكانت (11) (70.74%) (55.56%) سالبة لصبغة غرام و (15) موجبة لصبغة غرام وعزلة واحدة فقط من الخمائر (1) (3.70%) وإن (64) (71.91%) لم تعطى أي نمو.

أُختبرت قابلية العزلات المرضية على إنتاج الغشاء الحيوى Biofilm وباستعمال ثلاثة طرائق مختلفة وهي طريقة الانبوبة (Tube method) (TM) واكار أحمر الكونغو (C.R.A Cong Red Agar) وصفائح المعايرة الدقيقة (Microtiter Plate (MTP) فقد أعطت 25 (92.6%) (58.26%) (16) (96.29%) (26) عزلة متنجة للغشاء الحيوى وبكميات مختلفة على التوالي. أظهرت نتائج التحرى عن تكوين الغشاء الحيوى إن إختبار MTP له قيم حساسية (100%) ونوعية (96%) أما إختبار TM كانت الحساسية (96%) والنوعية (100%) وإختبار CRA فله قيم حساسية (61.5%) ونوعية (100%). ونظرأً لعدم وجود دراسة محلية عن قابلية المسببات المرضية المعزولة من عدة القسطرة القلبية على انتاج الغشاء الحيوى biofilm جاءت هذه الدراسة .

## الكلمات المفتاحية

المسببات المرضية القسطرة القلبية، Biofilm، خارج الجسم الحي.



شكل (2): زرع طرف القسطنطين Catheter Tip culture

جدول (1): النسب المئوية لظهور المسببات المرضية من عدة القسطنطين القلبية حسب فئة العينات

Catheter Tip				
نسبة المئوية	عدد العينات الموجبة	نسبة المئوية	عدد العينات	نوع العينات
				نوع القسطنطين
% 22.73	15	% 74.16	66	تشخيصية
% 40	6	% 16.85	15	علاجية
% 50	4	% 8.99	8	تشخيصية وعلاجية معاً
% 28.09	25	% 100	89	المجموع الكلي

اظهرت نتائج الدراسة ان نسبة الاصابة ببكتيريا *S. pyogenes* و *Bacillus Spp* بنسبة (7.407%) و بنسبة (3.703%) كما موضح في الجدول (2).

*S.aureus* بنسبة (14.814%) تليها *S.Pneumoniae* و *S.epidermidis*

جدول (2): النسب المئوية لظهور المسببات المرضية المعزولة من عدة القسطنطين القلبية حسب نوع المسبب المرضي

النسبة المئوية	عدد العزلات	الأنواع الجرثومية
% 40.74	11	بكتيريا موجبة لصبغة غرام
% 55.56	15	بكتيريا سالبة لصبغة غرام
% 3.70	1	خان
% 100	27	المجموع الكلي

## التحري عن قابلية العزلات المرضية على تشكيل الغشاء

### الحيوي (Biofilm) :-

#### Tube Method (TM) :-

حضر الوسط حسب الطريقة المتبعة من قبل [14] واستخدم التقدير النوعي qualitative لتشكيل الغشاء الحيوي biofilm حسب الطريقة الموصوفة من قبل [15,16].

#### Congo Red (CRA) :-

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [17,16].

#### Agar صفائح المعايرة الدقيقة :-

#### Microtiter Plate (MTP) :-

أُستخدم الفحص الكمي quantification لتشكيل الغشاء الحيوي حسب الطريقة الموصوفة من قبل [15,14].

وقرأت النتيجة بأسخدام جهاز الاليزا ELISA reader على تقدير الكثافة الضوئية OD (Optical density) على طول موجي (570) نانومتر، وقيس الكثافة الضوئية للغشاء الحيوي biofilm حسب المعادلة الآتية:

$$\text{Mean OD (control)} - \text{Mean OD (test)} = \text{OD biofilm}$$

#### النتائج والمناقشة :-

#### Catheter Tip culture -

#### Semiquantitative Technique :-

تم أخذ (89) عينة وذلك بقطع (5) سم من طرف كل أنوب

قسطنة Catheter استعمل في إجراء العملية وزرعه في الوسط

السائل، بعدها نقلت العينات إلى المختبر وبعد انتهاء فترة الحاضنة

فحصت الأنابيب بملاحظة العكورة turbidity، حيث ان

القسطنة التشخيصية كان المصابين منهم (15) 22.73%

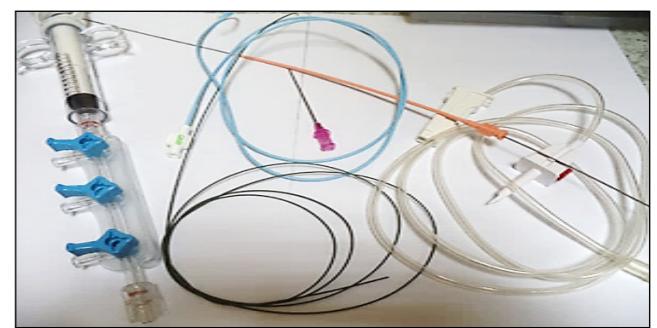
والقسطنة العلاجية كان عدد المصابين (6) 40% أما الاثنان

معاً فكان عدد المصابين (4) 50% واعتبرت هذه الطريقة

طريقة تأكيدية للطريقة السابقة الشكل (2) جدول (1)

## المواد وطرائق العمل :

جمعت العينات من شعبة قسطنة القلب والشريان في مستشفى الإمام الحسين (عليه السلام) التعليمي في محافظة كربلاء المقدسة، إذا شملت عينات الدراسة (89) مريض من مرضى القسطنة القلبية وبنوعها القسطنة التشخيصية Catheter Diagnostic Catheter والقسطنة العلاجية Therapeutic Catheter والقسطنة التشخيصية والعلاجية معاً ولكلا الجنسين وبأعمار تراوحت من (29 - 75) سنة شكل (1).



شكل (1): يمثل عدة القسطنة القلبية

أُبعت طريقة زرع طرف القسطنطين Catheter Tip Culture الموصوفة من قبل [13] مع التحري، وتسمي لنذه الطريقة تقنية شبه كمية Semiquantitative tech-

nique، تم جمع (89) عينة وذلك بقطع (15) سم من طرف القسطنطين العلوي بعد خروجه مباشرة من الشريان Artery وتقسيمه إلى ثلاثة أجزاء، طول كل قطعة (5) سم بواسطة

مقص معقم ووضعت كل قطعة في أنبوبة حاوية على مركب نقيع القلب والدماغ BHI broth وكان ذلك في صالة القسطنة وبجانب المريض، نقلت إلى المختبر وحضنت

بظروف هوائية ولا هوائية وبتوفر  $CO_2$  وملدة (24 - 48) ساعة وبدرجة حرارة (37) م، وبعد ملاحظة عكورة النمو

زرعت على وسطي الدم الأساس Blood agar ووسط الجلكتيت Choclate agar بطريقة التخطيط على الوسط

الصلب وحضنت بنفس الظروف أعلاه.

كرام والبكتيريا اللاهوائية، فضلاً عن البكتيريا السالبة لصيغة كرام غالباً ما تكون مقاومة للمضادات الحيوية نتيجة عدم نفاذية غشاءها الخارجي لمعظم المضادات الحيوية، وكذلك ان ارتفاع نسبة الاصابة بتجرثيم الدم قد يكون نتيجة تكرار الحقن بالوريد لأغراض العلاج واعطاء السوائل منعاً للجفاف [27].

سجلت النتائج ظهور عزلة واحدة من الميبيضات *C. albicans* بنسبة 3.703%， ان سبب ظهور هذا النوع من الميبيضات هو قدرتها على التحول الشكلي-*Dimor-phism* الذي يمكنها من التحول من شكل الخميرة الى الشكل الخطي وبالعكس عند اصابتها للإنسان والحيوان، وكذلك امتلاكها العديد من عوامل الضراوة منها قدرته على انتاج انزيم *Phospholipase* الذي يحلل الدهون المفسرة وكذلك مقاومة درجات الحرارة العالية، فضلاً عن مقاومتها للمضادات الفطرية [28].

حيث اظهرت نتائج اختبار زرع طرف القسطنطيني *Kelbsiella spp*، لاسيما المرضي الراقدين في المستشفيات الى مدة طول بقاء المريض في المستشفى وكثرة استعمال بعض الاجهزه الطبية تعدادهم عوامل انتشار الاصابة والمقاومة ما تسبب في ظهور انواع اخرى مثل *Klebsiella oxytoca* والتي تمتلك مقاومة عالية للمضادات الحيوية [23].

بينما حصلت دراسة [30] في البرازيل على قيم الحساسية والنوعية (100%) و(68.4%) والكائنات المعزولة هي *Aci-Paeruginosa* و *S.aureus* و *S.epidermidis* و *Candida spp* و *netobacter bavmannii* استخدم هذه الطريقة شبه الكمية لتقدير العدوى المرتبطة بقسطرة الاوردة المركزية والتي يمكن ان تستعمل كمؤشر لتجرثيم الدم، بينما حصلت الدراسة المجردة من قبل [31] على قيم حساسية (92%) ونوعية (83%).

صيغة *P.mirabilis* E.coli و *P.aeruginosa* بنسبة (7.407%)، وكانت الاقل نسبة ظهور هي بكتيريا *P.fluorescence* و *Pantoea* و *Aeromons hydrophila* و *Salmonella spp* و *Serratia* و *Enterobacter* و *Cloacae* و *marcescens* بنسبة (3.703%).

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان بكتيريا *K. pneumoniae* في صدارة المسبيات البكتيرية السالبة لصيغة غرام، وايضاً هذا يتفق مع ما ذكره [22]، واعزى سبب الاصابة بهذه البكتيريا الى امتلاكها المحفظة التي تعطيها القابلية على مقاومة عملية البلعمة *Phagocytosis* التي تقوم بها دفاعات المضيف للتخلص من هذه البكتيريا مما يساعد على البقاء في مجرى الدم مدة اطول فضلاً عن مقاومتها للمضادات الحيوية.

تمتلك صفة المقاومة للمضادات الحيوية بين عزلات *Kelbsiella spp*، لاسيما المرضي الراقدين في المستشفيات الى مدة طول بقاء المريض في المستشفى وكثرة استعمال بعض الاجهزه الطبية تعدادهم عوامل انتشار الاصابة والمقاومة ما تسبب في ظهور انواع اخرى مثل *Klebsiella oxytoca* والتي تمتلك مقاومة عالية للمضادات الحيوية [23].

اما بكتيريا *P.aeruginosa* تعد الشانى من المسبيات البكتيرية السالبة وهذه الجرثومة امكانية الانتقال عن طريق ايدي الكادر الطبي والمريض [24]، ولوحظ من نتائج هذه الدراسة ان اغلب العزلات البكتيرية السالبة لصيغة كرام هي تابعة للعائلة المغوية *Enterobacteriaceae*، اذ يمكن لهذه الانواع النفاذ الى مجرى الدم عبر بطانة الامعاء [25]. كما اوضح [26] ان البكتيريا السالبة لصيغة كرام تكون كمئوية عبورها اسهل من عملية عبور البكتيريا الموجبة لصيغة على قيم حساسية (92%) ونوعية (83%).

جدول (3): نسبة الاصابة بالبكتيريا والخمائر المعزولة من عينات مرضى القسطرة القلبية :

نوع الجراثيم	عدد العزلات	النسبة المئوية %
<i>Bacillus spp.</i>	2	7.407 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	14.814 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	7.407 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	7.407 %
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	3.703 %
<i>Escherichia coli</i>	2	7.407 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	11.111 %
<i>Proteus mirabilis</i>	2	7.407 %
<i>Pseudomonas fluorescence</i>	1	3.703 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	7.407 %
<i>Pantoea spp</i>	1	3.703 %
<i>Salmonella spp</i>	1	3.703 %
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	3.703 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	3.703 %
<i>Serratia marcescens</i>	1	3.703 %
<i>Candida albicans</i>	1	3.703 %
المجموع	27	100 %

وقد جاءت هذه النتيجة مقاربة لما ذكره [18] ، ان سبب ارتفاع نسبة الاصابة بتجرثيم الدم بالبكتيريا العنقودية قد يعود كما بينت النتائج ان المسبب الثاني لتجرثيم الدم من لقابية البكتيريا على مقاومة المضادات الحيوية بالإضافة الى *S. Pneumoniae* البكتيريا الموجبة لصيغة كرام هي بكتيريا حيث بلغت نسبتها (7.407%) ، وأشار [21] ان هذه انتشار هذه البكتيريا بشكل واسع في المحيط البيئي الخارجي وبيئة المستشفيات [19]، بينما اوضحت دراسة [20] ان ان ارتفاع نسبة الاصابة ببكتيريا السالبة لصيغة غرام اذ كانت النوع الشائع في اصابات تجرثيم الدم هو *S. Pneumoniae* وقد يعود الى اختلاف الظروف البيئية والمناخية والصحية في بكتيريا *K. pneumoniae* K. اعلى نسبة في حدوث الاصابة

جدول (6): قابلية البكتيريا والخمائر المعزولة من مرضي القسطرة القلبية على تشكيل الغشاء الحيوى **Biofilm** بطريقة الانبوبة (TM)

Strong	Moderate	Weak	Absent	المسبب المرضي	ت
-	+	-	-	<i>Bacillus spp</i>	A1
+	-	-	-	<i>Bacillus spp</i>	A2
+	-	-	-	<i>S. aureus</i>	A3
+	-	-	-	<i>S. aureus</i>	A4
-	+	-	-	<i>S. aureus</i>	A5
+	-	-	-	<i>S. aureus</i>	A6
-	+	-	-	<i>S. epidermidis</i>	A7
+	-	-	-	<i>S. epidermidis</i>	A8
-	+	-	-	<i>S. pneumonia</i>	A9
-	-	+	-	<i>S. pneumonia</i>	A10
-	+	-	-	<i>S. pyogenes</i>	A11
+	-	-	-	<i>E. coli</i>	A12
+	-	-	-	<i>E. coli</i>	A13
+	-	-	-	<i>K. pneumoniae</i>	A14
+	-	-	-	<i>K. pneumoniae</i>	A15
-	-	-	-	<i>K. pneumoniae</i>	A16
-	+	-	-	<i>P. mirabilis</i>	A17
+	-	-	-	<i>P. mirabilis</i>	A18
-	-	-	-	<i>P. fluorescence</i>	A19
+	-	-	-	<i>P. aeruginosa</i>	A20
+	-	-	-	<i>P. aeruginosa</i>	A21
-	-	-	-	<i>Pantoea spp</i>	A22
-	+	-	-	<i>Salmonella spp</i>	A23
-	+	-	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>	A24
+	+	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	A25
-	+	-	-	<i>Serratia marcescens</i>	A26
+	-	-	-	<i>C. albicans</i>	A27
(51.85%)14	(37.01%)10	(3.70%)1	(0%)0	المجموع الكلي	
				(92.6%) 25	

Weak : متحركة ضعيفة للغشاء الحيوى

Strong : متحركة قوية للغشاء الحيوى

Absent : غير متحركة للغشاء الحيوى

Moderate : متحركة متوسطة للغشاء الحيوى

شار [13] بأن قسطرات الاوردة المحيطية بطريقة Api Candida والتأكد من التشخيص باستخدام

زرع طرف القسطار يعد مؤشر لخطر تجرثم الدم، اعتبرت

هذه الطريقة كعامل وبرهان لتشخيص العدوى المرتبطة

بالقسطرة [32]، وذلك إستاداً إلى الدراسات المفيدة من قبل

[32] المؤكدة من قبل [33]، بينما حصل [30] لاختبار

طرف القسطرة Catheter Tip على قيم حساسية (100%)

ونوعية (68.4%)، ولا يلاحظ [34] ان النوعية للتقنية شبه

الكلمية كانت (76%).

1. طريقة الانبوبة (TM) :-

شملت هذه الدراسة اختبار العزلات المرضية بهذه

الطريقة والتي تسمى بطريقة كريستنسين التقليدية [15]

وتعتبر كمعيار للطريقه شبه الكلمية تلتصق بالسطح الخارجي للقسطرة، وبينت

الدراسات ان الطريقة شبه الكلمية قادرة على تمييز تجرثم الدم المرتبط بالقسطرة وتعتبر حساسة وموثوقة [36].

ان هذه الطريقة شبه الكلمية موصى بها بشكل كبير وهو

اختبار سهل وسريع ويتم اجراءه بشكل دوري في مختبرات

الاحياء المجهرية السريرية في البرازيل كما هو مشار من قبل

[35]، وهذا الاختبار يشير الى الحساسية العالية والاصابة المرتبطة بالقسطرة وهي طريقة اكثر استعمالاً بسبب البساطة

والكلفة المنخفضة.

اذ ان نتائج الاختبارات المظهرية والمجهرية والكيموحيوية

جاءت مطابقة لما ورد في انظمة التصنيف المعتمدة من قبل

(39,38,37)

وتم تأكيد التشخيص باستخدام نظام التشخيص

system لزيادة تأكيد التشخيص كونه يضم عدداً من

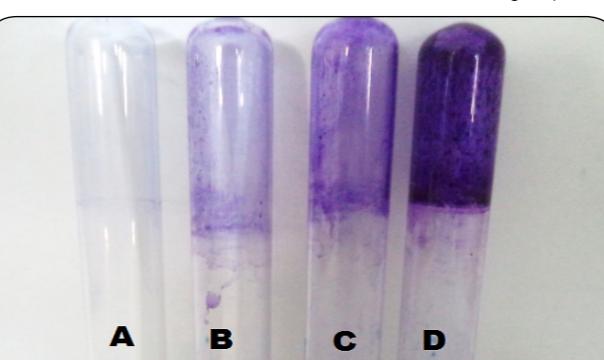
الاختبارات الكيموحيوية المهمة، اذ استخدم نظام

Api E و 20 API Strep Staph، التي تمتاز بالسهولة

والسرعة والدقة لتأكيد التشخيص الكيموحيوي.

اما الخمائر *C. albicans* فقد شخصت من خلال النمو

على وسط الساپرويد دكستوز اكار growth on SDA



A / غير متحركة للغشاء الحيوى B / متحركة ضعف

C / متحركة متوسط D / متحركة قوي

شكل (3): قابلية البكتيريا المرضية على انتاج الغشاء الحيوى بطريقة TM.

-	-	<i>E. coli</i>	A13
+	+	<i>K. pneumoniae</i>	A14
+	+	<i>K. pneumoniae</i>	A15
+	-	<i>K. pneumoniae</i>	A16
-	-	<i>Proteus mirabilis</i>	A17
+	-	<i>Proteus mirabilis</i>	A18
-	-	<i>P. fluorescens</i>	A19
+	+	<i>P. aeruginosa</i>	A20
+	+	<i>P. aeruginosa</i>	A21
-	-	<i>Pantoea</i> spp	A22
-	-	<i>Salmonella</i> spp	A23
-	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>	A24
+	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	A25
-	-	<i>Serratia marcescens</i>	A26
+	+	<i>C. albicans</i>	A27
١٦٪ (٥٨,٦٦)	١١٪ (٤٠.٧٤)	المجموع	

(+) نتيجة موجبة      (-) نتيجة سالبة

تم الكشف عن العزلات المرضية بطرق مختلفة، حيث ان صنفت العزلات المرضية وفقا لإنجها للغشاء الحيوى طريقة (TM) و (CRA) هي اكثر طريقة نوعية وموثوقة وفق المعاير المنصوص عليها من قبل [43] على النحو التالي اقل من (0.120) غير منتجة للغشاء الحيوى و 0.120- للكشف عن الكائنات المجهرية المنتجة للغشاء الحيوى و تستخدم كطريقة فحص عامة للكشف عن انتاج الاخير في (0.240) متجة ضعيفة او متوسطة للغشاء الحيوى واكثر من (0.240) متجة قوية للغشاء الحيوى او حسب الغشاء المختبرات [42].

3. صفائح المعايرة الدقيقة (Microtiter Plate (MTP): اختبرت قابلية العزلات المرضية على انتاج الغشاء الحيوى وواسطة الاختبار الكمي بصفائح المعايرة الدقيقة- Microtiter Plate وذلك لتأكيد الفحوصات السابقة باستخدام ههاز الاليزا و معتمدة على قياسات الكثافة الضوئية- Opti-cal density على طول موجي 570 نانوميتر .

وهذا يؤكد ماتوصلت اليه [40]، عند استعمالها المجهر اليه [17]، اظهرت نتائج طريقة اكار احمر الكونغو زيادة عدد الحالات الموجبة بزيادة زمن الحضن وهذه النتيجة جاءت بالاتفاق مع [41] حيث أثبتوا ان اطول وقت للحضن يعطي فرصة اكبر لهذه العزلة لإنتاج الصبغة كما في الشكل (4) الجدول (7).



شكل (4): قابلية البكتيريا المرضية على انتاج الغشاء الحيوى بطريقة C.R.A

جدول (7): قابلية البكتيريا والخمائر المعزولة من مرض القسطرة القلبية على تشكيل Biofilm بطريقة اكار احمر الكونغو

Agar method (CRA)		
المسبب المرضي	٤٨ ساعة	٤٤ ساعة
<i>Bacillus</i> spp	+	-
<i>Bacillus</i> spp	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-
<i>S. aureus</i>	+	-
<i>S. epidermidis</i>	+	+
<i>S. epidermidis</i>	+	+
<i>S. pneumonia</i>	-	-
<i>S. pneumonia</i>	-	-
<i>S. pyogenes</i>	-	-
<i>E. coli</i>	+	+

إن طريقة MTP ذات حساسية عالية وطريقة محددة مقاومة للمضادات الحيوية مثل الاختراق المقيد للمضادات الحيوية داخل الغشاء الحيوى [42].

أوضحت نتائج الدراسة الحالية ان الكائنات الحية الدقيقة المعزولة من القسطرة القلبية الاكثر شيوعا في تكوين الغشاء الحيوى هي *K.pneumoniae* و *P.aeroginsosa* و *E.coli* و *S.aureus* و *S.epidermidis* جاءت بالاتفاق مع دراسة [50]، على تشكيل الغشاء الحيوى على قسطرة الاوعية المركزية، هذه الكائنات الحية الدقيقة تنشأ من الفلورا الدقيقة بجلد المريض، الفلورا الدقيقة للعاملين في مجال الرعاية الصحية، حيث تتمكن من الوصول الى الاوعية الدموية عن طريق الهجرة من الجلد على مركز القسطرة او المنفذ، لاحظ ان تكون الغشاء الحيوى بواسطة طريقة الانبوب [45, 46].

أقترح [47] بأن طريقة TM بسيطة وموثوقة للكشف يعتمد على حجم وموقع تشكيل الغشاء الحيوى على القسطرة والذى يتكون على المدى القصير خلال اقل من عشرة ايام، اما تشكيل الغشاء الحيوى على القسطرة على المدى الطويل يحدث خلال [30] يوم، وان الغشاء الحيوى المتكون اكثرا انتشارا على التجويف الداخلى للقسطرة، وان لطبيعة السائل المدار من خلال قسطرة الاوعية المركزية لها تأثير على النمو الميكروي، وكذلك عدد الكائنات الحية على القسطرة يرتبط بحدوث عدوى مجرى الدم في المريض [52].

اظهرت نتائج التحرى عن تكوين الغشاء الحيوى ان اختبار MTP له قيم حساسية (100%) ونوعية (96%) اما اختبار TM فكانت الحساسية (96.5%) ونوعية (100%) واختبار CRA فله قيم حساسية (61.5%) ونوعية (100%).

ما تقدم نلاحظ ان نتائجنا اعلاه تشابهت مع نتائج (16) الذي اظهر ان طريقة MTP لها قيم حساسية (96.2%) ونوعية (94.5%) اما طريقة TM كانت حساسيتها (77.9%) ونوعية (96%) وطريقة CRA تمتلك قيم حساسية (7.6%) ونوعية (97.2%)، اي ان اختبار الانبوبة اجريت في الهند للكشف عن انتاج البكتيريا للغشاء الحيوى بطرائق مختلفة، حيث ان البكتيريا المنتجة للغشاء الحيوى مسؤولة عن العديد من الاصابات الشديدة، وهذه تظهر

جدول (8): قيم الامتصاصية لاختبار المسبيات المرضية على تشكيل **Biofilm** بطريقة صفائح المعايرة الدقيقة (MTP) **Microtiter plate** :

السبب المرضي	ت	Mean $\pm$ Sd	OD Biofilm
.Bacillus spp	A1	0.90 $\pm$ 0.07	0.82
.Bacillus spp	A2	1.61 $\pm$ 0.16	1.53
<i>S. aureus</i>	A3	1.60 $\pm$ 0.31	1.52
<i>S. aureus</i>	A4	1.51 $\pm$ 0.30	1.43
<i>S. aureus</i>	A5	1.48 $\pm$ 0.12	1.40
<i>S. aureus</i>	A6	1.47 $\pm$ 0.19	1.39
<i>S. epidermidis</i>	A7	1.58 $\pm$ 0.02	1.50
<i>S. epidermidis</i>	A8	1.61 $\pm$ 0.06	1.53
<i>S. pneumonia</i>	A9	0.89 $\pm$ 0.02	0.81
<i>S. pneumonia</i>	A10	0.65 $\pm$ 0.16	0.57
<i>S. pyogenes</i>	A11	0.95 $\pm$ 0.21	0.87
<i>E. coli</i>	A12	1.55 $\pm$ 0.10	1.47
<i>E. coli</i>	A13	1.47 $\pm$ 0.10	1.39
<i>K. pneumoniae</i>	A14	1.56 $\pm$ 0.07	1.48
<i>K. pneumoniae</i>	A15	1.44 $\pm$ 0.01	1.36
<i>K. pneumoniae</i>	A16	1.44 $\pm$ 0.08	1.36
<i>P. mirabilis</i>	A17	1.00 $\pm$ 0.03	0.92
<i>P. mirabilis</i>	A18	1.67 $\pm$ 0.06	1.59
<i>P. fluorescence</i>	A19	0.19 $\pm$ 0.01	0.11
<i>P. aeruginosa</i>	A20	1.88 $\pm$ 0.37	1.80
<i>P. aeruginosa</i>	A21	1.74 $\pm$ 0.06	1.66
<i>Pantoea spp</i>	A22	0.72 $\pm$ 0.18	0.64
<i>Salmonella spp</i>	A23	0.99 $\pm$ 0.07	0.91
<i>Aeromonas hydrophila</i>	A24	1.00 $\pm$ 0.05	0.92
<i>Enterobacter cloacae</i>	A25	1.77 $\pm$ 0.06	1.68
<i>Serratia marcescens</i>	A26	1.38 $\pm$ 0.09	1.30
<i>C. albicans</i>	A27	1.32 $\pm$ 0.32	1.24

0.080 = الكونترول

0.120 > OD غير متوجه للغشاء الحيوى

0.240 – 0.012 متوجه ضعيفة او متوسطة للغشاء الحيوى

0.240 > OD متوجه قوية للغشاء الحيوى

Stoodley, P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends Microbiol.*, 13: 34-40. (2005).

[5] Mermel, L.A.; Farr, B.M.; Sherertz, R.J.; Raad, I.I.; O Grady, N. & Harris, J.S. Guideline for the management of intravascular catheter-related infectious. *Clinical Infectious Disease.* ;32:1249-1272. (2001).

[6] Maki, D.G.; Kluger, D.M. & Crnich C.J. The risk of bloodstream infection in adults with different intravascular devices: a systematic review of 200 published prospective studies. *Mayo Clinic Proceedings.*, 132:391-402. (2006).

[7] Nagata, E.; de Toledo, A. & Oho, T. Invasion of human aortic endothelial cells by oral viridans group streptococci and induction of inflammatory cytokine production. *Mol. Oral. Microbiol.*, 26: 78-88. (2011).

[8] Koren, O.; Spor, A.; Felin, J.; Fak, F.; Stombaugh, J.; Tremaroli, V.; Behre, C.; Knight, R.; Fagerberg, B.; Ley, R. & Bäckhed, F. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 108: 4592-4598. (2011).

[9] Wolcott, R.D.; Rhoads, D.D.; Bennett, M.E.; Wolcott, B.M.; Gogokhia, L.; Costerton, J. & Dowd, S.E. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. *J. Wound Care.*, 19: 45-53. (2010).

الاستنتاجات: أستنتجت الدراسة بأن الغشاء الحيوي المتكون بوساطة المسبيات المرضية المعزولة من زرع طرف القسطار كانت هي احدى مسبيات مرض تصلب الشريان، وثبتت بأن طريقة MTP للكشف عن المسبيات المرضية المكونة للغشاء الحيوي كانت هي الأفضل.

**Blood Culture** التوصيات : اجراء اختبار زرع الدم قبل اجراء عملية القسطرة ومعالجة المريض، اجراء المزيد من الدراسات الجزيئية والوراثية للكشف عن تكوين الغشاء الحيوي بوقت مبكر لسهولة معالجته ومعرفة اسباب تكوينه لكونه احد اسباب عوامل الضرر.

## References

- Cucarella, C. ; Tormo, M.A. ; Ubed, C. ; Trotonda, M.P. ; Monzon, M. ; Peris, C. ; Amorena, B. ; Lasas, I. and Penades, J.R. Role of Biofilm-Associated Protein Bap in the Pathogenesis of Bovine Staphylococcus aureus. *Infect. Immun.* 72(4) : 2177-2158. (2004).
- Goad, M.E.P. & Goad D.L. Biomedical devices and biomaterials. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA, eds. *Handbook of Toxicologic Pathology*. San Diego, SF: Acad.Press Har. Scie. and Technol .,459-477. (2002).
- Lichter, J.A.;Van Vliet, K.J.&Rubner, M.F. Design of antibacterial surfaces and interfaces: polyelectrolyte multilayers as a multifunctional platform. *Macromolecules* ;42:8573-8586. (2009).
- Fux, C.A.; Costerton, J.W.; Stewart, P.S. &

TM ارتبطت بشكل جيد مع اختبار صفائح المعايرة الدقيقة MTP، وان TMP يمكن ان تكون بمثابة اداة كمية يمكن الاعتماد عليها لتحديد القابلية على تكوين الغشاء الحيوي . على مدى السنوات القليلة الماضية تعد اجناس ال *Candida* من بين عوامل مسبيات المرض المهمة لعدوى المستشفيات، معظم القسطرة مرتبطة بتسمم الدم المتسبة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة التي تغزو الجروح داخل الجلد خلال ادخال القسطرة او بعد ادخالها، وتحدث هذه العدوى بسبب القدرة على تكوين الغشاء الحيوي والتي يعد كعامل ضرورة لحدوث مرض *Candidiasis*، ان الاغشية الحيوية الفطرية تحاول ان تحافظ على مكانها المناسب باعتبارها متعايشة ومرضية للبشر وهي من خلال المرب من الاليات المناعية للمضييف، ومقاومة المضادات الفطرية وتحمل ضغوط المنافسة مع الكائنات الاخرى، ونتيجة لذلك الالتهابات المتعلقة بالغشاء الحيوي والتي يصعب علاجها .  
تشمل القسطرة داخل الاوعية الدموية المستقرة عامل خطر يقترن بعدوى *Candida* المكتسبة بالمستشفيات، فأن هذه الاجهزة تصبح مستعمرة من قبل *Candida* التي تكون الغشاء الحيوي وان *Candida albicans* من الدم تمتلك اليات اخرى من انتاج الغشاء الحيوي لانشاء الالتهابات بجرى الدم [54]، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [10]، التي اجريت في امريكا الذي اظهر ان التائج الجزيئية للمحتوى الجيني كان موجود في جميع لوبيات هذه الكائنات المستعمرة مؤشر على انها تراكيب لتشكيل الغشاء الحيوي داخل التصلب والانسجة المرتبطة بها حيث وجدت بكتيريا *P.aeuroginosa* في عينات لوبيحة الشريان .

وكان العديد من الانواع التي تم تحديدها تتفق مع مصدر البكتيريا الفموي (عن طريق الفم)، وهذه النتائج تؤكdan

- Nogales, C. & Martín, E. Catheter-related bacteremia and fungemia. Reliability of two methods for catheter culture. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 15:575-8. (1992).
- [30] Storti, A. ; Manzato, A. J. ; Pizzolitto, A. C. & Pizzolitto, E. L. Assessment of central venous catheter – associated infections using semi- quantitative or quantitative culture methods . *Journal of Basic Applied Pharmaceutical Sciences* ., 27(3) :213-220. (2006).
- [31] Collignon, P.J.; Soni, N.; Pearson, I.Y.; Woods, W.P.; Munro, R.; Sorrell, T.C. Is semi-quantitative culture of central vein catheter tips useful in the diagnosis of catheter-associated bacteraemia? *J. Clin. Microbiol.* 24:532-5. (1986).
- [32] Raad, I.I. & Bodey, G.P. Infectious complications of indwelling vascular catheters. *Clin. Infect. Dis.*, 15:197-210. (1992).
- [33] Bouza, E.; Muñoz, P.; López-Rodrígues, J.; Jesús Pérez ,M.; Rincón, C.; Martín Rabadán, P.; Sánchez, C.& Bastida, E. A needleless closed system device (CLAVE) protects from intravascular catheter tip and hub. *J. Hosp. Infect.*, 54:279-87. (2003).
- [34] Bouza, E.; San Juan, R.; Muñoz, P.; Pascau, J.; Voss, A.& Desco, M. Cooperative Group of the European Study on Nosocomial Infections (ESGNI). A European perspective on intravascular catheter-related infections: report on the microbiology workload, aetiology and antimicrobial [22] Levey, I.; Leibovici, L.; Druker, M.; Samra, Z.; Konisberger. H. & Ashkenazi, S. Aprospective study of gram-negative bacteremia in children. *Pediatr infect. Dis.* J., 15:117-122. (1996).
- [23] Sidjabat, H.; Nimmo, G.R.; Walsh, T.R.; Binotto, E.; Htin, A.; Hayashi, Y.; Li, J.; Nation, R.L.; George, N.& Patterson, D.L. Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* due to the New Delhi Metallo-β-lactamase. *Clin. Infect. Dis.* 52(4):481-4. (2011).
- [24] Nordbring, F. *Pseudomonas* clinical problems related to virulence factors and development of resistance. *Arch. Intern. Med.*, 142: 2010-2011. (1982).
- [25] Naaber, P.; Smidt, I.; Tamme, k.; Liigant, A.; Tapfer, H.; MikelSaar, M. & Talvik, R. Translocation of indigenous microflora in an experimental model of Sepsis. *J. Med. Microbiol.*; 49:431-439. (2000).
- [26] Jawetz, E.; Melnick, J. L. & Adeberg, E. A. Review of medical microbiology. 21st ed London altose: lange medical publications. (1998).
- [27] Hossain, M.I.; Kabir, A. K. M. I.; Khan, W. A. & Fuchs, G. J. *Acinetobacter* bacteraemia in patients with diarrheal disease. *Epidemiol. Infect.*, 120:139-142. (1998).
- [28] Ellis ,D.H. Clinical mycology, the human opportunistic mycosis ,Gillingham printers ,Pty .Ltd . Asturalia. (1994).
- [29] Gutiérrez, J.; Leon, C.; Matamoros, R.; slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* ,37:317-326. (1982).
- [16] Mathur, T.; Singhal, S.; Khan, S.; Upadhyay, D.J.; Fatma, T.& Rattan ,A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: an evaluation of three different screening methods. *Indian. J. Med. Microbiol*; 24(1):25-9. (2006).
- [17] Freeman, D.J.; Falkiner, F.R. & Keane, C.T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J.Clin.Pathol.*,42:872-874. (1989).
- [18] Akbar, D. H.; Mushtaq, M. A.; El-Tahawi, A. T. & Bahnasy,A. A. *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Saudi. Medical. J.*, 21: 171-174. (2000).
- [19] Mukoyor, M.; Mabiza, E. & Gould, I. M. Staphylococcal bacteraemia in Zimbabwe 1983. *J. Infect.*,10: 233-235. (1985).
- [20] Enwere, G.; Biney, E.; Cheung, Y. B.; Zaman, S. M.; Okoko, B.; Oluwalana, C.; Vaughan, A. & Cutts, F. T. Epidemiologic and clinical characteristics of community-acquired invasive bacterial infections in children aged 2-29 months in The Gambia. *Pediatr. Infect. Dis.J.*; 25(8):700-705. (2006).
- [21] French, G. L.; Cheng, A. F. B.; Dnthe, R. & Cockram, C. S. Septiceamia in Hong Kong. *J. Ant. Chemotherapy*. 25:115-125. (1990).
- [10] Wolcott, R.D.; Wolcott ,J.J.; Palacio, C.& Rodriguez, S. A Possible Role of Bacterial Biofilm in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *J. Bacteriol. Parasitol.* 3:127. (2012).
- [11] Ott, S.J.; El Mokhtari, N.E.; Musfeldt ,M.; Hellmig, S.; Freitag, S.; Rehman, A.; Kühbacher, T.; Nikolaus, S.; Nam-solleck, P.; Blaut, M.; Hampe, J.; Sahly, H.; Reinecke, A.; Haake, N.; Günther, R.; Krüger, D.; Lins, M.; Herrmann, G.; Fölsch, U.R.; Simon, R.& Schreiber, S. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease. *Circulation* ., 113:929-37. (2006).
- [12] Katz, J.T.; Shannon, R.P. Bacteria and coronary atheroma: more fingerprints but no smoking gun. *Circulation* .,113:920-2. (2006).
- [13] Maki, D.G.; Weise, C.E.& Sarafin, H.W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N. Engl .J .Med.*, 296:1305-9. (1977).
- [14] Mireles, J;R.; Toguchi, A.a& Harshey, R.M. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. *J Bacteriol.*,183: 5848-54. (2001).
- [15] Christensen , G.D.; Simpson, W.A.; Bisno, A.L. and Beachey, E.H. Adherence of

relationship between luminal colonization and duration of placement. *J. Infect. Dis.*, 168:400-7. (1993).

[52] Anaissie, E.; Samonis, G.; Kontoyiannis, D.; Costerton, J.; Sabharwal, U.; Bodey, G. Role of catheter colonization and infrequent hematogenous seeding in catheter-related infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 14:135-7. (1995).

[53] Baillie, G.S. & Douglas, L.J. Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. *J. Med. Microbiol.*, 48(7): 671-679. (1999).

[54] Vinitha, M. & Mamata, B. Biofilm as Virulence Marker in *Candida* Isolated from Blood. *World Journal of Medical Sciences.*, 2 (1): 46-48. (2007).

[55] Castillo, D.M.; Sánchez-Beltrán, M.C.; Castellanos, J.E.; Sanz, I.; Mayorga-Fayad, I. Detection of specific periodontal microorganisms from bacteraemia samples after periodontal therapy using molecular-based diagnostics. *J Clin Periodontol* 38: 418-427. (2011).

[56] Delbos, S.; Alsac, J.M.; Journe, C.; Louedec, L. & Castier, Y.; Mallet, M.; Ruimy, R.; Rossignol, P.; Bouchard, P.; Michel, J.; Meilhac, O. *Porphyromonas gingivalis* Participates in Pathogenesis of Human Abdominal Aortic Aneurysm by Neutrophil Activation. Proof of Concept in Rats. *PLOS One* 6: 18679. (2011).

[57] Scannapieco, F.A. Periodontal inflam-

devices. *J Clin. Microbiol.*, 22:996-1006. (1985).

[46] Costerton, J.W.; Cheng, K.J.; Geesey, G.G.; Ladd, T.I.; Nickel, J.C.; Dasgupta, M. & Marrie, T.J. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.*, 41:435-64. (1987).

[47] Gokce, G.; Cerikcioglu, N. & Yagci, A. Acid proteinase, phospholipase, and biofilm production of *Candida* species isolated from blood cultures. *Mycopathologia*, 164(6):265-269. (2007).

[48] Knobloch, J. K.; Horstkotte, M. A. ; Rohde, H. & Mack, D. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med. Microbiol. and Immunol.*, 191 (2): 101-106. (2002).

[49] Iknur, D. ; Nuri, k. & Yasemin, O. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in clinical candida isolates . *Afr. J . Microbiol. Res.* ,4(24): 2763-2768. (2010).

[50] Elliott, T.S.J.; Moss, H.A.; Tebbs, S.E.; Wilson, I.C.; Bonser, R.S. Graham, T.R.; Burke, L.B. & Faroqui, M.H. Novel approach to investigate a source of microbial contamination of central venous catheters. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 16:210-3. (1997).

[51] Raad, I.; Costerton, W.; Sabharwal, U.; Sacilowski, M.; Anaissie, W. & Bodey, G. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative

Carolin,N. & Costerton, J.W. Bacterial Adherence to Biomaterial and Tissue The Significance of Its Role in clinical sepsis. *The journal of Bone and Joint Surgery.*, 67 :264-237. (1985).

[41] Oliveira, M.; Nunes, S.F.; Carneiro, C.; Bexiga R.; Bernardo, F.; & Vilela, C.L. Time course of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *J.Veterinary Microbiology*, 124: (1-2), P187-191. (2007).

[42] Rewatkar, A.R. & Wadher, B.J. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm formation methods . *IOSR J.Pharm. and Biolog. Sci.* , 8(5) : 36-40. (2013).

[43] Bose, S.; Khodke, M.; Basak, S.; & Mallick, S. K. Detection Of Biofilm Producing *Staphylococci*: Need Of The Hour. *J.of Clin.1 & Diag. Res.*, 3(6):1915 – 1920. (2009).

[44] Oliveira, A. & Cunha, M. L. Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative staphylococci. *BMC Res. Notes.* 3: 260. (2010).

[45] Christensen, G.D.; Simpson, W.A.; Younger, J.A.; Baddour, L.M.; Barrett, F.F. & Melton, D.M. Adherence of coagulase negative *Staphylococci* to plastic tissue cultures:a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical

susceptibility (ESGNI-005 Study). *Clin. Microbiol. Infect.*; 10:838-42. (2004).

[35] Fätkenheuer, G.; Buchleidt, D.; Cornely, O.A.; Fuhr, H.G.; Karthaus, M.; Kisro, J.; Leithäuser, M.; Salwender, H.; Südhoff, T.; Szelényi, H. & Weissinger, F. Central venous catheter (CVC)-related infections in neutropenic patients. Guidelines of the infectious diseases working party (AGI-HO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann. Hematol.*, 82:149-57. (2003).

[36] Blot, F.; Schmidt, E.; Nitenberg, G.; Tancrede, C.; Leclercq, B.; Laplanche, A. & Andremont, A. Earlier positivity of central venous versus peripheral blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J. Clin. Microbiol.*, 36:105-9. (1998).

[37] MacFaddin, J. F. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria* 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA. (2000).

[38] Forbes, B.A. ; Daniel, F.S. & Alice, S.W. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* . 12th ed. ,Mosby Elsevier company . USA . formulations. *Lett. Appl. Microbiol.*, 45: 330-335. (2007).

[39] Jawetz, M. A. ; Brooks, G.F.; Butel, J.S. & Morse, S.A. *Medical microbiology*. 25th ed., Lang medical, McGraw-Hill, USA. (2010).

[40] Gristina, A.G.; Winston-Salem, M.D.;

## أختبار فعالية العسل المضادة للأكسدة وتأثيره في عملية البلعمة

سارة سعيد حسن، هيثام عبد الرضا كريم العواد

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء، العراق

تاریخ الاستلام: 6 / 1 / 2016

تاریخ قبول النشر: 12 / 3 / 2016

### Abstract

The present study aimed to know the anti-oxidants effectiveness of honey and the output of free radicals and the damage caused by them and knowing its effect on the process of phagocytosis in vitro, it was used (120) male of the White Rats were divided randomly into two groups, The first group of (30) rats considered to set the control and the second group of (90) rats were the develop of oxidative stress have by dosage with hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) concentration of (0.5%) with drinking water for (30) days, After that, Estimate the levels of each of enzyme Super Oxide Dismutase (SOD1) and Glutathione (GSH) In the blood serum of the rats by estimating levels of technology ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). The results showed a significant increase in the concentration rates of the enzyme Super Oxide Dismutase which value (0.40) pg/ml compared to control amounting to (0.22) pg/ml, while there was a significant decrease in the concentration of the Glutathione where value (0.53) pg/ml compared to control amounting to (1.34) pg/ml.

After that was isolated (30) rats of a group of rats which dosage by hydrogen peroxide considered a positive control group, The remaining group of (60) rats were divided depending on body weight into six groups each group of (10) rat where dosage the first four groups with different concentrations of honey (25%, 50%, 75%, 100%) at a dose of (500) mg/kg of weight body while the fifth group dosage combination of honey a concentration of (50%) with vitamin C as for the sixth group dosage at a dose of (200) mg/kg of body weight of vitamin C for (14) days. The results showed reduced levels of SOD1 and the high level of GSH significant in animal groups that dosage different concentrations of honey and vitamin C as compared to the positive control, and Through this study it was assess extent to effect of honey on the phagocytosis process against *Staphylococcus aureus*. The results showed that the blood sample honey treated showed an increase in the percentage of phagocytosis compared to the negative control sample, The presented results of the study were conclude that honey has antioxidant effect in rats exposed to oxidative stress induced hydrogen peroxide and stimulates the phagocytosis.

\*Search unsheathed from the first Master Researcher

### Keywords

Honey , Antioxidant , Phagocytosis.

enhances invasion of human gingival epithelial and aortic endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 54: 349-355. (2008).

[60] Bernard, B. ; Lanter, K. S.; David, G. D.Bacteria Present in Carotid Arterial Plaques Are Found as Biofilm Deposits Which May Contribute to Enhanced Risk of Plaque Rupture . 5 ( 3 ) 6-14. (2014).

mation: from gingivitis to systemic disease. *Compend. Contin. Educ. Dent.*, 25: 16-25. (2004).

- [58] Morozumi, T.; Kubota, T.; Abe, D.; Shimizu, T.; Komatsu, Y. & Yoshie H. Effects of irrigation with an antiseptic and oral administration of azithromycin on bactemia caused by scaling and root planing. *J Periodontol* 81: 1555-1563. (2010).
- [59] Saito, A.; Inagaki, S.; Kimizuka, R.; Okuda, K.; Hosaka, Y.; Nakagawa, T. & Ishihara, K.. *Fusobac-terium nucleatum*