الفعالية المضادة لمجموعة من الزيوت الأساسية تجاه بعض الأنواع الجرثومية متعددة المقاومة للصادات الحيوية المعزولة من مرضى الإنتانات الدموية في مشفى الأطفال الجامعي بدمشق

باسم بطاح*

(الإيداع: 27 نيسان 2024، القبول: 27 حزيران 2024)

الملخص:

تشكل زيادة المقاومة الجرثومية للصادات الحيوية المستخدمة حالياً مشكلة أساسية تهدد الصحة العامة و تستمر بالانتشار بسرعة حول العالم جاعلة الصادات الحيوية الفعالة سابقاً غير مجدية التطبيق حالياً في العلاج كما تعد ظاهرة المقاومة تجاه الصادات الحيوية المسؤول الأساسي عن فشل العلاجات الحالية ضد الإنتانات الجرثومية. بالتالي، هناك حاجة عاجلة لإيجاد علاجات بديلة و التي يمكن أن تكون واعدة للقضاء على حالات المقاومة أو زيادة فعالية الصادات الحيوية المستعملة حالياً. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم الفعالية المضادة للجراثيم لمجموعة من الزيوت الأساسية خارج جسم الكائن الحي.

تم استخلاص الزيوت الأساسية المدروسة بطريقة التقطير بالبخار steam distillation لمجموعة من الأجزاء الهوائية لكل من النباتات التالية (الزعتر البري *Thymus syriacus* ، إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ، القرفة *Cinnamomum zeylanicum* ، القرنفل *Syzygium aromaticum* ، البرتقال *citrus sinensis*)، و من ثم تم تقييم الفعالية المضادة للجراثيم للزيوت الأساسية المستخلصة تجاه بعض الأنواع الجرثومية المعزولة من الدم متعددة المقاومة (الكلِبْسيلَّةُ الرِّئَوِيَّة *Klebsiella pneumoniae* ، الزَّائِفَةُ الزِّنْجارِيَّة *Pseudomonsa aeruginosa*، العِقْدِيَّةُ الرِّئَوِيَّة *Streptococcus pneumoniae*) باستعمال طريقة الانتشار من الحفر في الآغار على وسط صلب.

أظهرت نتائج الدراسة بأن زيت الزعتر البري و زيت القرنفل يمتلكان الفعالية الأقوى كمضاد جرثومي ضد للسلالات الجرثومية المدروسة بتركيز 25 %. أما زيت إكليل الجبل فقد أبدى فعالية أقل عند استعمال نفس التركيز 25%،بينما أظهر كل من زيت القرفة فعالية أقل، كانت شبه غائبة عند ذات التركيز .

تملك بعض الزيوت الأساسية تأثيرات ملحوظة مضادة للجراثيم فائقة المقاومة للصادات الحيوية، والتي من الممكن أن تكون كعلاجات بديلة واعدة في مواجهة الإنتانات الجرثومية . هنالك حاجة لمزيد من الدراسة لتقييم فعالية هذه الزيوت ضد مكروبات أخرى بالإضافة لتحديد التراكيز الفعالة من هذه الزيوت و إجراء دراسات السمية الخلوية و دراسات الفعالية داخل جسم الكائن الحي.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ، الفعالية المضادة للجراثيم، سلالات مقاومة .

* قسم الكيمياء الحيوية و الأحياء الدقيقة \ كلية الصيدلة \جامعة انطاكية السورية الخاصة

The antibacterial activity of a group of essential oils against some MDR bacterial strains isolated from blood infection patients at pediatric university hospital in Damascus.

Basem Battah *

(Received: 27 April 2024, Accepted: 27 June 2024)

Abstract :

The increasing of antibiotic resistance cases has become a serious problem threats public health and continuously spread worldwide rendering the previously effective antibiotic inactive. Also, the antibiotic resistance phenomenon considered as a main responsible for the therapeutic failure in the recently bacterial infection treatments. Therefore, there is an urgent need to find alternative treatments which may be promising to eradicate resistance cases or increasing the activity of antibiotic recently being used.

Essential oil extraction using steam distillation methods for the aerial parts of the following plants (*Thymus syriacus*, *Rosmarinus officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* ,*Syzygium aromaticum, citrus sinensis*). The antibacterial activity of these essential oils was evaluated against clinically isolated multi-drug resistant strains (*Klebsiella pneumonia* ، *Pseudomonsa aeruginos* ،*Streptococcus pneumonia*) by using disk diffusion methods.

The results showed that *Thymus syriacus* and *Syzygium aromaticum* essential oil had the strongest activity as antibacterial against bacterial strains being studied at 25% concentration. While *Rosmarinus officinalis* essential oil showed lower activity at 25% concentration. While *Cinnamomum zeylanicum* essential oil showed no activity at the same concentration.

Some essential oil have a significant effect against multi – drug resistant bacteria and could be considered as alternative promising therapy against bacterial infection. More studied are needed to evaluate the essential oil activity against other microorganisms and determination the effective concentration of these essential oils, studying its toxicity and its activity *in vivo* .

Key words: Essential oils, antibacterial activity, resistant strains,

*department of biochemistry and microbiology / faculty of pharmacy /Antioch Syrian private university

المقدمة :

تثير حساسية السلالات الجرثومية _المسببة للإنتانات الجرثومية بشكل عام_ للصادات الحيوية المستعملة للعلاج اهتمام المختصين في المجال الطبي وفي مجال العلوم والمكروبيولوجيا، وذلك لاختلاف كفاءة هذه الصادات الحيوية حسب مكان استعمالها ومدة الاستعمال، كذلك اكتساب الجراثيم وخاصة سالبة الغرام آليات عديدة لمقاومة هذه الصادات الحيوية. مما ساهم في الانتشار الواسع للسلالات الجرثومية المقاومة للصادات الحيوية حتى تحولت عالمياً في السنوات الأخيرة إلى مشكلة أساسية في المراكز الصحية لاسيما شعب العناية المشددة. لذلك فإن التحديد الدقيق للعوامل الممرضة، وتحديد مدى مقاومتها أو حساسيتها للصادات الحيوية المتوفرة هو أمر حاسم وضروري خاصة في مجال الإنتانات الجرثومية المكتسبة التي تهدد حياة مختلف الفئات العمرية، ويبقى معدل انتشاره أعلى في فئات كبار السن وحديثي الولادة لضعف الجهاز المناعي لديهم. تعد الإنتانات الدموية المكتسبة لدى حديثي الولادة هي الأكثر الخصوصية وحساسية خاصة لدى الخدج وناقصي الوزن، وذلك لعدة أسباب منها ضعف الاستجابة المناعية لدى الولدان. وكونها قد تأتي متوضعة في أعضاء أخرى، مسببة لإنتانات عديدة مثل إنتان السحايا أو التهاب الرئة [2، 1]. والعامل الأهم هو الآثار السلبية التي تتركها الصادات الحيوية المستعملة بشكل كبير في علاج هذه الإنتانات على صحة الأطفال لاسيما الصادات واسعة الطيف، حيث تعد الاسهالات من أول الآثار الجانبية للصادات الحيوية، كذلك فقد تسبب أضرار على المعدة، والكلى، والكبد، والسمع، إضافة إلى الآثار الجانبية على الجملة العصبية والدماغ. منها السمية العصبية التي يسببها السيفالوسبورين مثل (الجيل الأول سيفازولين، الجيل الثاني سيفوروكسيم). هذه السمية تتراوح بين اعتلال الدماغ والصرع غير متشنج الوضع [3]، قد يؤدي بعضها إلى اعتلال الأعصاب الحسية التي غالباً تبدأ في الأطراف السفلية [4,5,6].

مما دفع الأبحاث العالمية في السنوات الأخيرة إلى البحث عن بدائل آمنة على الصحة و ذات مصادر طبيعية متجددة وبالتالي يؤثر تطبيقها بشكل كبير في الخفض من استمرار انتشار السلالات الجرثومية فائقة المقاومة نتيجة الاستعمال غير المضبوط للصادات الحيوية، احتلت المملكة النباتية في هذا الإطار المرتبة الأولى نظراً لغناء الغطاء النباتي العالمي، وقد سجلت الكثير من النباتات بمكوناتها المختلفة فعالية عالية المستوى تجاه الجراثيم فائقة المقاومة الصادية بأنواعها إيجابية وسالبة الغرام .

من هنا انطلقت هذه الدراسة كتجربة أولية لإيجاد بدائل نباتية لعلاج عدوى إنتان الدم المكتسب الجرثومي، كونها تشكل التحدي الأول العالمي للقطاعات الطبية في السنوات الأخيرة لاسيما عند الأطفال ناقصي المناعة (الوليد –الخديج) في شعب العناية المشددة في القطاعات الطبية العالمية والمحلية بسبب الانتشار الكبير للجراثيم فائقة المقاومة الصادية تجاه أغلب الصادات الحيوية المعتمدة عالمياً .

الهدف من الدراسة:

تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية لمجموعة من الزيوت الأساسية تجاه بعض الجراثيم المعزولة سريرياً متعددة المقاومة للصادات الحيوية المسببة للإنتانات الدموية المكتسبة عند الخديج والوليد.

المراجعة النظرية :

تُعرف العدوى المكتسبة من المستشفى: Hospital-acquired infection (HAI) على أنها العدوى التي يكتسبها المريض أثناء إقامته في المستشفى لسببٍ آخر غير تلك العدوى، كذلك هي تشمل العدوى المهنية بين موظفي المرفق الصحي [7,8]. وعادة ما تتطور هذه العدوى لدى المريض بعد 48 ساعة أو أكثر من القبول [9].

سجلت الإنتانات المكتسبة نسب انتشار عالمية متقدمة في السنوات الأخيرة، حيث قدر أن حوالي 1.7 مليون إصابة حول العالم مرتبطة بالإنتانات المكتسبة [10]، ففي إيران كانت نسبة الإصابة بالإنتان المكتسب 27% من نسبة الإنتانات الدموية [4]، وسجلت نسبة (30% و 25.3% و36.6%) في كل من اليونان واليابان ومصر على

التوالي[2,11,12,13]. أما في سورية فقد سجلت ارتفاعا ملحوظا في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق بقسم الخديج والوليد حيث بلغت نسبة حديثي الولادة المشخص لديهم إنتان الدم المكتسب بعد قبولهم في المشفى 43.5% لعام (2006 ([14]، في حين بلغت هذه النسبة في مستشفى الأسد الجامعي باللاذقية 36.36%[15,16] .

يندرج ضمن الآثار السلبية للصادات الحيوية اكتساب السلالات الجرثومية المسببة للإنتانات الدموية مقاومة شبه تامة تجاهها حيث أثبتت أغلب الدراسات العالمية والمحلية أن الجراثيم سالبة الغرام تبدي مقاومة أكبر تجاه الصادات الحيوية من إيجابيات الغرام، تجسدت هذه المقاومة العالية في أنواع Klebseilla pneumoniae، Escherichia coli، تجاه السيفالوسبورين من الجيل الثالث (19%–64.1%)، بينت الدراسات المحلية أيضاً أن جراثيم الكليبسيلا sp . Klebsiella المعزولة من مستشفى الأطفال بدمشق أبدت مقاومة تجاه الصادات (تريميتوبريم+سلفا، بيبراسيللين+تازوباكتام، أميكاسين، وسيبروفلوكساسين)[14]، كان التحدي الأخير في مشكلة إنتان الدم المكتسب هو الارتفاع العالمي لانتشار سلالات الجراثيم إيجابيات الغرام فائقة المقاومة في أغلب أنحاء العالم فقد بين الباحث قزح2006 من خلال دراسته في شعبة الوليد والخديج بدمشق أن أجناس العنقوديات أبدت مقاومة أعلى من العقديات لأغلب الصادات الحيوية المستعملة للعلاج عادة في ذات الشعبة مثل البنسللين الذي أبدت العنقوديات مقاومة 100% في حين بلغت مقاومة العقديات 55.8%، أما في دراسة الباحث المصري كشك عام 2014، فقد أبدت الجراثيم إيجابية الغرام مقاومة تجاه مجموعة واسعة من الصادات الحيوية أهمها الصاد الأميكاسين، ولم تبدي أي مقاومة اتجاه الفانكوميسين، في حين كانت مقاومة جنس المكورات المعوية .sp Enterococcus100% تجاه الأموكسيلين في إحدى مشافي الهند[14,17,18,19,20,21,22]. انطلاقاً من هذه المشكلات المتعلقة باستعمال الصادات الحيوية عالمياً ازداد الاهتمام بإيجاد بدائل أقل خطر على الصحة العامة ونظراً لغناء الغطاء النباتي لاسيما النباتات ذات التاريخ الطبي، حيث يعرف النبات الطبي بأنه النبات الذي يحتوي على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع وله القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض فقد تناولت كثير من الدراسات تأثير المستخلصات النباتية على نمو الجراثيم وبالتالي إمكانية استعمالها في علاج بعض الأمراض الناتجة عنها ، فعلى الصعيد المحلي والعربي والعالمي أجريت عدة دراسات حول تأثير المستخلصات النباتية على مجموعة من الأحياء الدقيقة من مسببات الأمراض المختلفة (الفطرية والجرثومية)، وقد أكدت الدراسات المحلية والعالمية على حقيقة الفعالية الكبيرة لطيف واسع من النباتات تجاه معالجة الأمراض الفطرية والجرثومية لاسيما فائقة المقاومة ، هذا وقد توجهنا في هذه الدراسة والتي تتناول تأثير مستخلصات مجموعة من الزيوت الأساسية على نمو أنواع مختلفة من الجراثيم سالبة وإيجابية الغرام المعزولة من عينات سريرية لدى أطفال مصابين بالإنتانات الدموية المكتسبة في شعبة العناية المشددة في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق وقد تم انتخاب هذه النباتات الطبية لتوفرها بكثرة في البيئة السورية المحلية وقلة الدراسات المحلية حول فعاليتها المباشرة كبدائل لمكافحة الجراثيم فائقة المقاومة المسببة للعدوى المكتسب [29، 31 ، 36].

طرائق البحث ومواده:

1– عينات الدراسة:

تم جمع 50 عينة دم (2–3 مل وذلك حسب عمر ووزن الطفل) من حديثي الولادة المصابين بإنتان الدم المكتسب (الخديج Premature وهو الرضيع الذي ولد قبل الأسبوع 37، الوليد أي الرضيع المولود في الوقت الطبيعي للحمل بعد 40 أسبوع). بمستشفى الأطفال الجامعي في دمشق خلال الفترة الواقعة بين شهري آب وكانون الأول من عام 2023. تم تأكيد الإصابة بالإنتان المكتسب من خلال متابعة القصة المرضية.

معايير الاستبعاد:

1– الأطفال المصابون بالإنتان الدموي الباكر (العدوى من الأم).

2– الأطفال المصابون بالإنتان الدموي المكتسب من خارج المستشفى.

3– تم استبعاد الأطفال الخاضعين للعلاج الصادي التجريبي سابقاً.

2– عزل وتشخيص السلالات الجرثومية من العينات السريرية :

تم التركيز على ثلاث أنواع جرثومية في هذه الدراسة و هي جراثيم الكليبسلة الرئوية Klebsiella pneumoniae والزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa، وتم اعتماد هذين النوعين من سلبيات الغرام كونها تمثل أكثر الجراثيم سالبة الغرام شيوعاً وتسبيباً للعدوى، كما تم البحث عن العقدية الرؤية Streptococcus pneumoniae كونها أبدت في السنوات الأخيرة مساهمة واضحة في إنتان الدم والتهاب السحايا في الوقت الذي أبدت به مقاومة للبنسلين وللصادات الحيوية من صنف بيتا لاكتام محلياً وعالمياً، من ناحية أخرى ندرة الدراسات المحلية حول هذا النوع وحقيقة مقاومته الصادية على الرغم من نسب انتشاره ومساهمته القليلة في مجال الإنتانات المكتسبة. تم عزل السلالات الجرثومية المسببة للإصابة من دم حديثي الولادة المصابين بإنتان الدم المكتسب. حيث تم حضن 2 مل من الدم في 5مل من وسط نتريت بروث (Tmmedia, India). ثم بعد ذلك تمت الزراعة على وسط شوكولا آغار (Tmmedia, India) كوسط منمي تم اصطفاء الجراثيم السالبة والموجبة الغرام على أوساط انتقائية هي آغار الدم ووسط ماكونكي ووسط EMB (Tmmedia, India) [23].

3– التوصيف المورفولوجي والحيوي الكيميائي للجراثيم المعزولة:

تم كمرحلة أولى تحديد الصفات المورفولوجية للمستعمرات الجرثومية النامية من حيث اللون والقوام واللمعة والشكل والكثافة، وتحديد صفات الخلية الجرثومية من خلال: تفاعل تلوين غرام (إيجابية الغرام أم سلبية)، شكل الخلية، حجم الخلية، تم تحديد هوية الجراثيم بالاعتماد على عدد من الاختبارات الحيوية الكيميائية المميزة لسلبيات الغرام وإيجابيات الغرام[38].

4–دراسة المقاومة الصادية للسلالات المعزولة:

تمت دراسة حساسية السلالات المعزولة تجاه عدد من الصادات الحيوية منها ما يستعمل عادة في علاج إنتان الدم في المستشفيات، ذلك باتباع طريقة النشر على الأوساط الصلبة باستعمال أقراص مشربة بتراكيز عيارية من الصاد الحيوي بحسب طرقة كيربي– باور (Bioanalyse). تم تنشيط المستعمرات الجرثومية على وسط Blood agar لمدة 24 ساعة عند الدرجة 37 درجة مئوية. بعد ذلك، تم أخذ 5 مل من مصل فيزيولوجي لتقاس درجة العكارة الجرثومية عند 0.5 مكفرلند باستعمال جهاز مكفرلند (BioMerieux_ France)، يتبع ذلك الزراعة على أوساط مولر هنتون (BioMerieux SA, France) ، ثم يقاس قطر الهالة المتشكلة حول قرص الصاد بعد الحضن لمدة 24 ساعة. تم **<u>إجراء ثلاث مكررات</u> لكل عزلة جرثومية باستخدام أربع صادات حيوية هي: Ampicillin، وGentamycin، وAmikacin، وVancomycin [24، 39].**

<u>5</u>– اختبار الفعالية المضادة الزيوت الأساسية تجاه الأنواع الجرثومية :

1– العينات النباتية :

جُمعت العينات النباتية العائدة لمجموعة من النباتات المحلية والمدخلة، من مناطق مختلفة من مدينة دمشق وريفها، منها يعد جزء من فلورا سورية الطبيعية (أكليل الجبل – الزعتر البري– اليانسون) [25] ، حيث تم الجمع خلال شهر أيار في مرحلة الأزهار، في ذات الوقت تم اعتماد مجموعة من النباتات المدخلة إلى سورية (القرفة – القرنفل) وذلك لاعتمادها الكبير في المجتمع السوري من النواحي الغذائية والطبية. الجدول 1

الجدول رقم (1): يوضح المعلومات التصنيفية للنباتات المعتمدة في الدراسة (الاسم العلمي – الفصيلة – المنطقة الجغرافية)

الاسم اللاتيني	الاسم العلمي	الفصيلة	المنطقة الجغرافية
Thymus syriacus	الزعتر البري	الشفوية *Lamiaceae*	أقاليم شرقي البحر الأبيض المتوسط وبشكل رئيسي سورية ولبنان والأردن
Rosmarinus officinalis	أكليل الجبل	*الشفوية Lamiaceae*	أقاليم شرقي البحر الأبيض المتوسط وشمالي افريقيا ودول جنوبي أوروبا
Syzygium aromaticum	القرنفل	*الآسية Myrtaceae*	المناطق الاستوائية مثل اندونيسيا وجنوب الفيليبين
Cinnamomum zeylanicum	القرفة	*الغارية Lauraceae*	موطنها سريلانكا لكن أيضًا تزرع في جنوب شرق آسيا، وأمريكا الجنوبية والهند الغربية.
citrus sinensis	البرتقال	*السذابية Rutaceae*	تعد البرازيل هي الدولة الأولى في إنتاج البرتقال في العالم وتليها الولايات المتحدة ثم المكسيك ثم الهند والصين وإسبانيا وإيطاليا ثم إيران ومصر وباكستان.

2- استخلاص الزيوت الأساسية :

تم استخدام الأجزاء الجافة (ثمار – أوراق – لحاء) جدول 2، بالنسبة للنباتات البرية المجموعة تم تجفيف الأوراق أو الثمار في الظل لمدة أسبوع عند درجة حرارة الغرفة 25 درجة مئوية. تم استخلاص الزيت العطري باستخدام طريقة التقطير بالبخار stem distillation باستعمال جهاز كلافينجر للحصول على الزيت العطري أو الأساسي [26]. تم فصل باقي خليط الخواص من الزيت والماء بواسطة الكلوروفورم، ثم تم تبخير الكلوروفورم بالتبخير الدوراني وتم جمع الزيت العطري. ومن ثم تسجيل نسبة المردود الزيتي من مجمل الوزن الجاف للجزء النباتي المستخدم الجدول2.

الجدول رقم 2: يوضح (الجزء النباتي المعتمد – طريقة الاستخلاص – المردود الزيتي) للنباتات المعتمدة في الدراسة .

النبات	الجزء النباتي	طريقة الاستخلاص	المردود من الزيت
Thymus syriacus\ الزعتر السوري	الأوراق	الجرف بالبخار	1.5% من وزن الأوراق الجافة
Rosmarinus officinalis\ أكليل الجبل	الأوراق	الجرف بالبخار	1.8% من وزن الأوراق الجافة
Syzygium aromaticum\ القرنفل	الثمار	الجرف بالبخار	15.5% من وزن الثمار الجافة
Cinnamomum zeylanicum\ القرفة	لحاء الشجر	الجرف بالبخار	3.5 % من وزن الأعواد الجافة
citrus sinensis\ البرتقال	قشور	الجرف بالبخار	1.4 % من وزن القشور

3- اختبار الفعالية المضادة للزيوت العطرية :

تم تحديد الفعالية المضادة للزيوت العطرية الجدول2 على وسط صلب باعتماد طريقة الآبار. حيث تم صب وسط مولر-هينتون آغار (BiomerieuxFrance) في طبق بتري معقم (9 سم) وتركه حتى التصلب والتأكد من عقامة الأوساط بالحضن ل24 ساعة ومن ثم تم نشر المستحلب الجرثومي العائد للجراثيم الثلاثة سابقة الذكر على التوالي، وبعد مرور 15 دقيقة تم صنع حفر بقطر 6 مم باستخدام أسطوانة معقمة من الستانليس ستيل ومن ملئ الحفرة بـ 100 ميكرولتر من كل زيت أساسي بتراكيز (100، 50، 25، 5،10%) . حيث تم حفظ الأطباق في البراد على درجة

حرارة 4+ لحوالي 2 ساعة لضمان امتصاص الزيت ضمن الوسط ثم احتضان اللوحات عند 37 درجة مئوية لمدة 24 [27] .

النتائج :

1- نتائج عزل وتشخيص الأجناس الجرثومية :

تمت زراعة العينات باستخدام مجموعة من الأوساط الزرعية وهي أوساط عامة ومعقدة وأوساط اصطفائية وتفريقية. تم تميز الأنواع الجرثومية الثلاثة من العينات الدموية السريرية ، ومن ثم تأكيد النوع الجرثومي باتباع الخطوات التشخيصية المخبرية سابقة الذكر الجدول3 .

الجدول رقم (3) : يوضح نتائج الزراعة الجرثومية على الأوساط ونتائج الاختبارات الحيوية الكيميائية .

الاختبار	*Klebseilla pneumoniae*	*Streptococcus pneumoniae*	*Pseudomonas aureginosa*
MaConky	مخاطية بشدة ، كبيرة الحجم، تخمر جزئي	–	مستعمرات دائرية منتظمة، غير مخمرة
EMB	مخاطية بشدة، مستعمرات كبيرة لماعة بنفسجية،	–	مستعمرات دائرية منتظمة، شفافة غير مخمرة
King B	–	–	مستعمرات خضراء اللون ، رائحة تشبه رائحة اللوز
الكاتلاز	+	–	+
الأوكسيداز	–	–	+
كليغلر	تخمير السكر + انطلاق غاز انقلاب الوسط إلى الأصفر	–	عدم تخمير أو انطلاق غاز بقاء اللون الأحمر للوسط
انحلال الدم	–	جزئي من النمط ألفا	جزئي من النمط ألفا
تخمر المانتيول	–	–	–
Gram test	–Grعصيات ضخمة ذات محفظة	+Gr مكورات مصطفة بشكل ثنائيات تشبه لهب المشعة	–Gr عصيات عشوائية التوضع

2- نتائج دراسة حساسية السلالات الجرثومية المعزولة للصادات الحيوية:

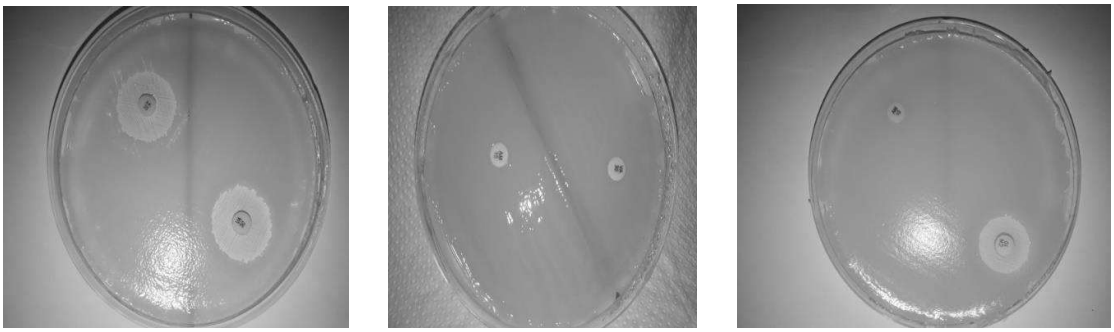
بينت نتائج دراسة حساسية للأنواع الجرثومية المعزولة للصادات الحيوية، أن أنواع Klebseilla pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aureginosa ، قد أبدت مقاومة صادية بدرجات متفاوتة تجاه الصادات الحيوية المدروسة الجدول 4. حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة أنAmikacin هو الصاد الحيوي الأكثر فعّالية بالتأثير على كلا الجنسيين الجرثوميين الكليبسلا الرئوية والزائفة الزنجارية، بأقطار هالات (أقراص كربي باور) تراوحت بين (30–13مم) سم، وأقطار هالات تثبيط بين (13–10مم) تجاه الصاد Vancomycin . بالمقابل كان الصادان الحيويان

Ampicillin, Gentamycinالأقل فعّالية بين الصادات المستعملة، حيث تراوح قطر هالة التثبيط بين(10–0م) [40،28] ، و بالتالي جميع هذه السلالات مقاومة على ثلاثة صادات حيوية على الأقل و بالتالي حيث يمكن اعتبارها سلالات متعددة المقاومة على الصادات [29].

الجدول4. يوضح تصنيف حساسية الأنواع الجرثومية الثلاثة تجاه الصادات الحيوية المتبعة في هذه الدراسة .

	Vancomycin	Ampicillin	Amikacin	Gentamycin
Klebseilla pneumonia	**R**	**R**	**S**	**R**
Pseudomonas areuginosa	**R**	**R**	**S**	**R**
Streptococcua pneumpnia	**R**	**R**	**R**	**R**

R: resistant, S: sensitive



الشكل 1. يوضح حساسية الأجناس الجرثومية المدروسة تجاه الصادات الحيوية

3- نتائج فعالية الزيوت الأساسية تجاه الأجناس الجرثومية :

بينت نتائج التطبيق المباشر للزيوت العطرية على الأنواع الجرثومية الثلاثة وبتراكيز (5،10،25،50،100%)، تفاوت في الاستجابة من حيث النوع الزيتي المطبق بشكل واضح، وتقارب في الاستجابة الجرثومية بين الأنواع الثلاثة، حيث سجل الزيت العطري لأكليل الجبل والزعتر البري أقطار هالات فعالية تراوحت بين فعالية تامة إلى25مم الجدول 5 و 6، من ثم يأتي الزيت العطري للقرفة حيث كانت الفعالية الأكبر تجاه الكليبسلا الرئوية بفعالية تامة وبفعالية أقل تجاه العقدية الرئوية 55 مم والزائفة الزنجارية 40 مم، بينما الزيت العطري للقرنفل تراوحت القياسات بين (15–20مم) الجدول 7، وبذلك تعد هذه الزيوت هي الأكثر فعالية وخاصة تجاه الكليبسلا الرئوية وبدرجة أقل تجاه العقدية الرئوية، في حيت كانت الزائفة الزنجارية الأقل تأثراً، جدول8.

الجدول رقم 5، يبين نتائج اختبار فعالية الزيت الأساسي للزعتر البري على الأنواع الجرثومية الثلاثة على الوسط الصلب .

Concentration of *Thymus syriacus* essential oil	*Stre. pneumoniae*	*Pseud. aeruginosa*	*Kle.peumoniae*
100%	55mm	80mm	--------
50%	30mm	35mm	50mm
25%	45mm	30mm	40mm
10%	20mm	++++++	15mm
5%	++++++	++++++	++++++

(– فعالية تامة، + نمو جرثومي تام عدم فعالية)

الجدول رقم 6، يبين نتائج اختبار فعالية أكليل الجبل على الأنواع الجرثومية الثلاثة على الوسط الصلب .

Concentration of Rosmarinus officinalis essential oil	*Stre. pneumoniae*	*Pseud. aeruginosa*	*Kle.peumoniae*
100%	90mm	25mm	60mm
50%	20mm	18mm	20mm
25%	14mm	15mm	15mm
10%	++++	++++++	15mm
5%	++++++	++++++	++++++

(– فعالية تامة، + نمو جرثومي تام عدم فعالية)

الجدول رقم 7، يبين نتائج اختبار فعالية القرنفل على الأنواع الجرثومية الثلاثة على الوسط الصلب.

Concentration of *Syzygium aromaticum* essential oil	*Stre. pneumoniae*	*Pseud. aeruginosa*	*Kle.peumoniae*
100%	17mm	20mm	15mm
50%	25mm	20mm	20mm
25%	20mm	30mm	20mm
10%	++++++	++++++	+++++
5%	++++++	++++++	++++++

(– فعالية تامة، + نمو جرثومي تام عدم فعالية)

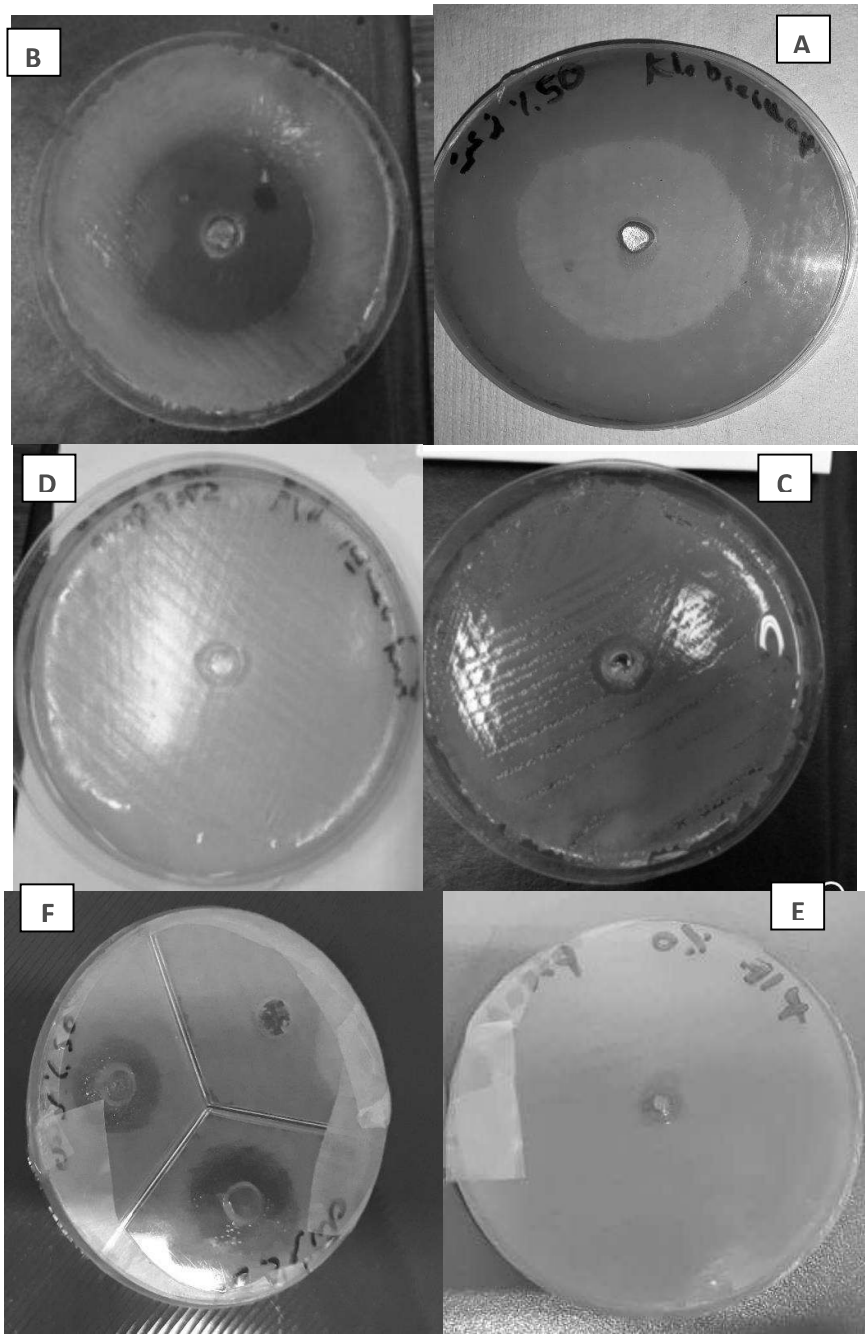
الجدول رقم8، يبين نتائج اختبار الفعالية لزيت قشور البرتقال والقرفة على الأنواع الجرثومية الثلاثة على وسط صلب

.

Essential oils	*Cinnamomum zeylanicum*					*citrus sinensis*				
Bacteria	%100	%50	25%	%10	%5	%100	%50	25%	%10	%5
Pseu.areuginosa	40mm	45mm	45mm	35mm	++++	10mm	14 mm	13mm	10mm	+++++
Strep. Pneumpnia	55mm	50mm	45mm	20mm	++++	15mm	18mm	10mm	+++++	+++++
Kl.pneumonia	----	----	-----	55mm	++++	10mm	12mm	6mm	+++++	+++++

(– فعالية تامة، + نمو جرثومي تام عدم فعالية)

كما يتضح من الجداول السابقة التي تبين قياس أقطار هالات الفعالية الخاصة بكل زيت عطري تجاه الأنواع الجرثومية الثلاثة بأن الفعالية الأكبر كانت واضحة ابتداءً لتركيز 100% وصلاً للتركيز 25%، في حين نلاحظ بأن التركيز 10% لدى (أكليل الجبل والزعتر البري والقرنفل)، أعطى فعالية متوسطة تجاه كل من الكليبسلا الرئوية والعقدية الرئوية و فعالية تامة تجاه الزائفة الزنجارية الشكل2.



الشكل رقم (2): يوضح بعض نتائج اختبار فعالية الزيوت النباتية المطبقة على الأنواع الجرثومية الثلاثة بالزرع على وسط صلب:

A, Klebseilla Pneumonia (50%, *Thymus syriacus), B, Klebseilla pneumonia (25%, Thymus syriacus), C,Klebseilla pneumonia (5%, Thymus syriacus), D, Streptococcus pneumonia (100% , Thymus syriacus), E, Pseudomonas areuginosa (50%, 25%, Syzygium aromaticum), F, Pseudomonas areuginosa (5%, Rosmarinus officinalis).*

المناقشة:

توجهت هذه الدراسة الأولية إلى دراسة أمكانية تطبيق الزيوت الأساسية العائدة لمجموعة من النباتات المحلية والمدخلة في سورية كبدائل طبيعية لعلاج عدوى إنتان الدم المكتسب الناتجة عن جراثيم فائقة المقاومة من سالبات وإيجابيات الغرام، وبينت النتائج أن هذه الزيوت الأساسية أعطت فعالية مقبولة تجاه ثلاثة أنواع جرثومية تعد من أكثر مسببات العدوى المكتسبة شيوعاً عالمياً . وبفعالية متقاربة بين الزيت العطري للزعتر البري وإكليل الجبل والقرفة ومن ثم القرنفل وأخيراً زيت البرتقال. هذه النتائج المحلية الأولية توافقت مع الدراسات العالمية في سياق مشابه لاختبار فعالية بعض الزيوت الأساسية النباتية مباشرة كبدائل علاجية تجاه الجراثيم فائقة المقاومة المعزولة سريرياً، بما يخص فعالية الزيت العطري للزعتر أكدت نتائج هذه الدراسة أن الكليبسلا الرئوية كانت الأكثر تحسساً ومن ثم العقدية الرؤية وأخيراً الزائفة . وبشكل مماثل في الهند كان الزيت العطري للزعتر البري أكثر فعالية تجاه الكليبسلا الرئوية ثم الزائفة، [30]. ومحلياً توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة أجريت عام 2013 وكان الزيت العطري للزعتر من نوع Thymus syriacus فعال تجاه مجموعة من الجراثيم سالبة الغرام فائقة المقاومة والمعزولة من البيئة المحلية وكانت الكليبسلا الرئوية الأكثر تحسساً تجاه هذا الزيت ومن ثم الزائفة الزنجارية [31].جاءت نتائج الفعالية المضادة لباقي الزيوت الأساسية بنسب متقاربة أيضاً من (أكليل الجبل والقرفة والقرنفل)، مع التأكيد هنا بأن زيت القرفة أثبت فعالية تامة تجاه الكليبسلا الرئوية بالتراكيز الأولى (100%، 50%و 25%)، بينما جاءت العقدية الرئوية في المرتبة الثانية ومن ثم الزائفة الزنجارية وكانت الأخيرة هي أيضاً الأقل تأثراً تجاه الزيت العطري لأكليل الجبل في دراسة أجريت في المغرب [32]. ليأتي بعدها زيت القرفة بفاعلية واضحة تجاه الأنواع الثلاثة في التراكيز العالية فقط (100–50%)، في الوقت الذي أثبت هذا الزيت على فعالية شبه تامة تجاه طيف واسع من الجراثيم سالبة الغرام وإيجابية الغرام من بينها العقدية الرئوية والكليبسلا والزائفة الرنجارية في تركيا ولكن الفارق كان بأن الدراسة التركية قامت باختبار الفعالية المضادة للزيت على سلالات جرثومية عيارية [33] ، من الضروري هنا أن نتوقف عند نتائج اختبار فعالية الزيوت جميعها تجاه العقدية الرئوية، خاصة بأن العقدية الرئوية Streptococcus pneumonia . لاتزال الدارسات المحلية تجاه قليلة جداً خاصة بما يتعلق بحقيقة مقاومة هذا النوع للصادات الحوية على الرغم من أن الدراسات العالمية أكدت منذ عام 2011 بأن العقدية الرئوية استطاعت تسجيل مقاومة تامة للبنسلين والصادات الحيوية من صنف البتا لاكتام و مساهمة عالمية في إنتان الدم والسحايا والرئة [34].

خلال هذه الدراسة تبين أن استجابة العقدية الرئوية المعزولة سريرياً لجميع الزيوت الأساسية المطبقة كانت أقل من الكليبسلا الرئوية وبمرتبة ثانية بعد الزائفة الزنجارية وقد أبدت بذات الوقت حساسية منخفضة جداً إلى مقاومة تامة تجاه الصادات الحيوية المدروسة، في زنجيبار كانت العقدية الرئوية أكثر حساسية تجاه المستخلص الإيتانولي للأكليل الجبل [35]. بالنظر للزيوت العطرية الأخرى المطبقة في هذه الدراسة يأتي زيت القرنفل في المرتبة الرابعة من حيث الفعالية الواضحة على الرغم من أن اللزوجة الشديدة للزيت كان لها أثر كبير في انتشاره بشكل واضح ضمن الأوساط الصلبة ولذلك نجد أن تأثيره كان أوضح في التراكيز الأقل للزيت وربما يكون هنا لطريقة الاستخلاص والتخصير أهمية في التطبيق المخبري وبذات الترتيب كانت الكليبسلا الأكثر تأثراً ومن ثم العقدية الرئوية ومن ثم الزائفة ، وفي دراسة هامة أجريت في الهند كان للزيت العطري للقرنفل أهمية كبيرة في علاج إنتان المجاري البولية الناتجة عن سالبات الغرام ولاسيما المتقلبة الاعتيادية Proteus vulgaris[36]. احتل زيت قشور البرتقال المرتبة الخامسة من حيث الفعالية المضادة وبنتائج متقاربة جداً بين الأنواع الجرثومية الثلاثة تراوحت بين (15–30 ملم) وبشكل متناسب مع نتائج اختبارات فعالية الزيوت السابقة حيث احتلت أيضاً الكليبسلا الرئوية المرتبة الثانية من حيث الحساسية ومن ثم العقدية وأخيراً الزائفة، وبما يخص زيت قشور البرتقال هناك الكثير من الدراسات العالمية الحديثة التي تناولت مختلف التطبيقات الميكروبيولوجية الممكنة لهذا الزيت وخاصة النواحي الطبية منها. في الهند تم اختبار فعالية قشور ذات النوع من قشور البرتقال المطبق في هذه الدراسة

تجاه الكليبسلا الرئوية وبنتائج مماثلة كانت الفعالية المضادة منخفضة جداً بأقطار هالات (0–1.4 ملم) ، أيضاً في الهند بدراسة أجريت على الجراثيم إيجابية الغرام من العصيات اللبنية Lactobasillus sp. والعقدية Streptococcus sp. المعزولة سريرياً ، فائقة المقاومة الصادية لم تبدي قشور زيت البرتقال لذات النوع فعالية مضادة قوية تجاه هذه الجراثيم أي أن وكما ذكرت هذه الدراسة الزيت المستخلص من قشور البرتقال لا يبدي فعالية مضادة قوية للجراثيم سالبة أو إيجابية الغرام [37]. و انطلاقاً منه فأن نتائج هذه الدراسة وبالمقارنة مع نتائج الدراسات العالمية سابقة الذكر أظهرت بأن مستخلص الزيوت الأساسية لمجموعة النباتات المدروسة في المختبر كان لها نشاط ميكروبي ملفت للانتباه تراوح بين فعالية تامة ومتوسطة وضعيفة إلى زيوت عديم الفعالية (قشور البرتقال)، تجاه أحد أشد الأنواع الجرثومية مقاومة عالمياً، مما يستدعي إجراء مزيد من الدراسات المخبرية على هذه الزيوت للوصول إلى أمكانية تطبيقها في الجسم الحي لمكافحة عدوى الإنتان الجرثومي المكتسب مشفوياً، وبالتالي إيجاد مضاد جرثومي جديد يكون أكثر فعالية دوائياً وأقل خطورة على الصحة العامة مع ضرورة التطبيق الصحيح لها بعد تحديد الجرعات الدقيقة المضادة منها، و إجراء دراسات السمية لتحديد السلامة الحيوية لها في حال تطبيقها سريراً كبدائل دوائية مستقبلية .

الاستنتاجات :

– أكدت هذه الدراسة من خلال اختبار الحساسية الصادية على المقاومة شبه التامة للأنواع الجرثومية (الكلِبْسيلَّةُ الرِّئَوِيَّة Klebsiella pneumonia ، الزَّائِفَةُ الزِّنْجارِيَّة Pseudomonsa aeruginos، العِقْدِيَّةُ الرِّئَوِيَّة Streptococcus pneumonia) تجاه أشيع الصادات الحيوية استعمالاً لعلاج العدوى المكتسبة.

– امتلاك الزيوت الأساسية المدروسة فعالية ملحوظة مضادة للجراثيم فائقة المقاومة للصادات الحيوية، والتي من الممكن أن تكون كعلاجات بديلة واعدة في مواجهة الإنتانات الجرثومية .

التوصيات :

– الحاجة لمزيد من الدراسة لتقييم فعالية هذه الزيوت ضد مكروبات أخرى بالإضافة لتحديد التراكيز الفعالة من هذه الزيوت و إجراء دراسات السمية الخلوية و دراسات الفعالية داخل جسم الكائن الحي.

– توسيع نطاق هذه الدراسة حتى تشمل مسببات أمراض مختلفة من الأنواع الجرثومية والفطرية والطفيلية.

المراجعReferences

-1Satar, M. and F. Ozlu, 2012. Neonatal sepsis: a continuing disease burden. Turk J Pediatr, 54(5): p. 449-57.

-2Salamati, P., et al., 2006. Neonatal nosocomial infections in Bahrami Children Hospital. Indian J Pediatr, 73(3): p. 197-200

-3Grill MF, M.R., 2008.Cephalosporin-induced neurotoxicity: clinical manifestations, potential pathogenic mechanisms, and the role of electroencephalographic monitoring. SAGE Journals, 42(12): p. 1843-50.

-4Seung-Hun Song , K.S.K., 2008. Antibiotic prophylaxis in pediatric urology. Indian J Urol, 24: p. 145–149. .

.5Corragio MJ, G.T., 1989. Roscelli JD., Nitrofurantoin toxicity in children. Pediatr Infect Dis J, 8: p. 163.

.6Marie F. Grill, R.K.M., 2011. Neurotoxic effects associated with antibiotic use: management considerations. British Journal of Clinical Pharmacology,72(3): p. 381-393.

.7Tabatabaei, S.M., Pour,F Behmanesh, Osmani, S., 2015. Epidemiology of Hospital-Acquired Infections and Related Anti-Microbial Resistance Patterns in a Tertiary-Care Teaching Hospital in Zahedan. Int J Infect,2(4): p. 1-6.

.8Askarian, M., M. Yadollahi, and O. Assadian, 2012. Point prevalence and risk factors of hospital acquired infections in a cluster of university-affiliated hospitals in Shiraz, Iran. J Infect Public Health, 5(2): p. 169-76.

.9Kliegman, B., Jensos,Stanton , 2008. Nelson Texbook of Pediatrics. Vol. 18th ed: p.109-202.

.10gov/HAI/surveillance., C.f.D.C.a.P.H.C., Healthcare-associated Infections. 2015: Available from: http://www.cdc.

.11Nanou Ch, P.I., Liosis G, Tsoumakas K, Saroglou G., 2015. Risk Factors for Nosocomial Infections in Neonatal Intensive Care Units (NICU). Health Science Journal . 9(29): p. 1-6.

.12Babazono, A., et al., 2008. Risk factors for nosocomial infection in the neonatal intensive care unit by the Japanese Nosocomial Infection Surveillance (JANIS). Acta Med Okayama. 62(4): p. 261-8.

.13Kishk, R.M., et al., 2014. Pattern of Blood Stream Infections within Neonatal Intensive Care Unit, Suez Canal University Hospital, Ismailia, Egypt. Int J Microbiol, 2014: p. 276873.

14. .جهاد قزح،2006. خمج دمشق الدم عند حديثي الولادة في مشفى الأطفال جامعة دمشق ، مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية ، 22(1) p. 20..

.15chamberlain., N.R., 2005. Medical Microbiology: The Big Picture (LANGE The Big Picture) 1st Edition ed, Medicine & Health Sciences. p79-90, p100-123, p327-353

16. محمد خالد العيسو،2010 . الجراثيم المسببة للإنتانات المكتسبة في المشفى في وحدة العناية المشددة بالوليد و الخديج في مشفى الأطفال الجامعي، مجلة جامعة دمشق كلية الطب _ p. 1-103 .

.17Sanjay D Rathod, P.V.B., Parimal H Pate, Jayshri D Pethani,Lata R Pate.,2014. acteriologica Analysis and pesistance pattern amone various culture isolates from neonatal septicemia at tertiaeg care hospital Ahmedabad. J Microbiol,10.(11)

.18 Venkatesh M, F.E., Ruth A Luna , Versalovic J., 2011. Molecular microbiological methods in the diagnosis of neonatal sepsis. Expert Rev Anti Infect Ther.8(9):p137-148.

.19Eman M.Rabie Shehab El-Din, M.M.A.E.-S., Mohamed Reda Bassiouny, Ramadan Hassan, 2015. Epidemiology of Neonatal Sepsis and Implicated Pathogens. Hindawi Publishing Corporation, 3(7): p. 11.

.20Alicia I. Hidron , J.R.E., Jean Patel , Teresa C. Horan, 2007. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data

Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. Infection Control & Hospital Epidemiology, 29(11): p. 996-1011.

.21Szabo, D., et al., 2005. Mechanisms of resistance of bacteria causing ventilator-associated pneumonia. Clin Chest Med, 26(1): p. 75-9.

.22Xian-Zhi Li, H.N.,2010. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. NIH Public Access Author Manuscript , 69(12): p. 1555–1623.

. 23F. M. Russell, S. S. N. Biribo, G. Selvaraj, F. Oppedisano, S. Warren, A. Seduadua, E. K. Mulholland, and J. R, 2006. Carapetis1. As a Bacterial Culture Medium, Citrated Sheep Blood Agar Is a Practical Alternative to Citrated Human Blood Agar in Laboratories of Developing Countries. J Clin Mic.Sep;44(9): 3346–3351.

.24Jorgensen JH, Ferraro MJ, 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clin Infect Dis, 1;49(11):1749-1755.

. 25Mouterde, S.J. P, 1986. Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie. Beyrouth- Liban, II:P. 57-69.

.26Frew Teshale, K.Narendiran, Surafel M.Beyan, N.R Srinivasan, 2022. Extraction of essential oil from rosemary leaves: optimization by response surface methodology and mathematical modeling . Applied Food Research , 22(2):1-6.

. 27G. A. Helal1, M. M. Sarhan1, A. N. K. Abu Shahla2 and E. K. Abou El-Khair, 2006.Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against Microorganisms Deteriorating Fruit Juices. Mycobiology; 34(4): 219-229.

.28Jan Hudzicki, 2016. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Clinical Microbiology, P:1-23.

. 29Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL, 2012.Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect;18(3):268-81 .

.30Praveen Dahiya., Sharmishtha Purkayastha, 2012. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Against Multi-drug Resistant Bacteria from Clinical Isolates, Indian J Pharm Sci; 74(5):434-450.

. 31Al-Mariri, A. et al., 2013. Antibacterial Activity of Thymus Syriacus BoissEssential Oil and Its Components against Some Syrian Gram-Negative Bacteria Isolates, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Atomic Energy Commission, Damascus, Syria;Department of Chemistry, Atomic Energy Commission, Damascus, Syria, Iran J Med Sci Supplement ; Vol 38 No 2.

. 32Bendeddouche, M.S. et al., 2011. Essential Oil Analysis and Antibacterial Activity of Rosmarinus tournefortii from Algeria. Natural Product Communications Vol. 6 (10):23-28.

.33Mehmet Unlu ., Emel Ergene., Gulhan Vardar Unlu., Hulya Sivas Zeytinoglu., Nilufer Vural. Composition, 2010. antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from Cinnamomum zeylanicum Blume (Lauraceae). Food Chem Toxicol;48(11):3274-80

. 34Werner C Albrich , Dominique L Monnet, Stephan Harbarth,2004. Antibiotic selection pressure and resistance in Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes. Emerg Infect;10(3):514-7

.35S Akroum., 2021. Anti-microbial activity of Rosmarinus officinalis and Zingiber officinale extracts on the species of the genus Candida and on Streptococcus pneumonia. Ann Pharm Fr;79(1):62-69.

.36Faujdar, S.S. et al., 2020. Antibacterial activity of Syzygium aromaticum (clove) against uropathogens producing ESBL, MBL, and AmpC betalactamase: Are we close to getting a new antibacterial agent?. Journal of Family Medicine and Primary Care;9:180-6.

.37 Sapna B. Shetty,Prabu Mahin-Syed-Ismail, Shaji Varghese, Bibin Thomas-George, Pathinettam Kandathil- Thajuraj, Deepak Baby, Shaista Haleem, Sreeja Sreedhar, and Darshan Devang-Divakar, 2016. Antimicrobial effects of Citrus sinensis peel extracts against dental caries bacteria: An in vitro study. J Clin Exp Den.; 8(1): 71–77.

.38Bulbul Roy, Trisha Das, Sayan Bhattacharyya, 2013. Overview on Old and New Biochemical Test for Bacterial Identification. Scholastic Microbiology;1(1): 23-28.

.39Jae-Hoon Ko, Jin Yang Baek , Kyong Ran Peck , Sun Young Cho , Young Eun Ha , So Hyun Kim , Hee Jae Huh, Nam Yong Lee , Cheol-In Kang , Doo Ryeon Chung , Jae-Hoon Song. 2017. Discrepant susceptibility to gentamicin despite amikacin resistance in Klebsiella pneumoniae by VITEK 2 represents false susceptibility associated with the armA 16S rRNA methylase gene. J Med Microbiol;66(10): 1448-1450.

. 40E J Young, C M Sewell, M A Koza, J E Clarridge, Antibiotic resistance patterns during aminoglycoside restriction. Clinical Trial;290(6): 223-227.