Faculty of Pharmacy

Damanhour University

Faculty of Pharmacy

Department of Microbiology and Immunology

A nanotechnology based microbiological study on the effect of some herbal essential oils against common enterobacteriaceae

Thesis submitted to the Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Damanhour University

In partial fulfillment of requirements for the degree of

Doctor of Philosophy
In
Pharmaceutical sciences
(Microbiology and Immunology)

By

Ibrahim Ashraf Ibrahim Mohamed Abdelwahab

M.Sc. of Public Health Sciences in Microbiology, High Institute of Public Health, Alexandria University (2017)
B. Pharm. Sci. Faculty of pharmacy, Pharos University In Alexandria (2013)

(2020)

P.U.A. Library
Central Medical Library (P)
Faculty of
Serial No: 769
Classification: 616,97

الملخص العربي

هذه الدراسة أجريت ما بين نوفمبر من عام ٢٠١٧ الى أبريل ٢٠١٩ خلال ثمانية عشر شهرا. في هذه الدراسة مجموعه من مائة من العزلات السريرية المختلفة. تم الحصول عليها من مختلف المستشفيات مثل مستشفى ابو حمص المركزي (عشرون عينة)، مستشفى الحميات بالإسكندرية (ثلاثون عينة)، مستشفى أبو قير المركزي (عشرون عينة) ومختبر مستشفى مبرة العصافرة (ثلاثون عينة). تم جمع العزلات التي تم الحصول عليها من البول وهم سبعون عينة ومن البلغم وهم ثلاثون عينة. تليها التحديد الدقيق واختبار للمضادات الحيوية اختبار باستخدام نظام الفيتيك. ثم تم الكشف عن جينات الغشاء الحيوى المسؤولة عن الإمراضية بواسطة تفاعل سلسلة البوليميراز. وأيضا تم فحص نشاط الزيوت العطرية، جزيئاتها النانوية الدهنية وجزيئاتها النانوية بالشيتوزان ضد العزلات عن طريق تحديد التركيز المثبط الأدنى لنموها بواسطة مرق التخفيف الدقيق متبوعة باختبار تثبيط الأغشية الحيوية والتعبير الجيني الغشاء الحيوى بواسطة تفاعل البلمرة الكمى المتسلسل مقارنة بالعزلات البكتيرية غير المعالجة.

لذلك، ومن ثم فإن الهدف من هذة الدراسة هو دراسة تاثير زيوت الروزمارى والجنزبيل النانونية الحجم كمضادات للميكروبات ومضادات الغشاء الحيوى على العزلات السريرية من *الإشريكية القولونية* و*الكليبسيلة الرئوية*.

وكشفت الدراسة عن النتائج التالية:

بعد تأكيد من قبل اختبار البيوكيميائية كشفت أن سبعون كانوا من *الإشريكية القولونية* وثلاثون من فصائل *الكليبسيلة* تم تحديدها. وتم أيضا إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للميكروبات وكشفت أن جميع عزلات فصائل *الكليبسيلة* و*الإشريكية القولونية* كانت مقاومة لبيتا لاكتاماز الواسعة الطيف مع تفاوت درجة مقاومة لبقية اختبار المضادات الحيوية.

تصنيف البيوفيليم أشار إلى أن مائة بالمائة من الثلاثون عزلة من فصائل *الكليبسيلة* كانت قوية الغشاء الحيوى مقابل اثنان وتسعة من عشرة بالمائة من اثنان عزلة من *الإشريكية القولونية* كانت قوية الغشاء الحيوى والباقي ما بين ضعيفة الغشاء الحيوى بنسبة أربع وعشرون وثلاثة من عشرة بالمائة اى سبعة عشرة عزلة أو معتدلة الغشاء الحيوى بنسبة اثنان وثلاثون وتسعة من عشرة بالمائة اى ثلاثة وعشرون عزلة وعديمة الغشاء الحيوى بنسبة أربعون بالمائة اى ثمانية وعشرون عزلة محسوبة على أساس طريقة التكثيفِ البَصَريّ البكتيرية الغشاء الحيوى. ١٣ مقاومة الغشاء الحيوى من *الإشريكية القولونية* و تم اختبار فصائل *الكليبسيلة* و تأكدت بنظام الفيتيك وثبت أنهما *الإشريكية القولونية* و*الكليبسيلة الرئوية*. و من ثم تم الكشف عن جينات الغشاء الحيوى المسؤولة عن الإمراضية بواسطة تفاعل سلسلة البوليميراز .

تم توصيف إعداد الجزيئات النانوية ويشمل حجم الجسيمات، جهد الزيتا ومؤشر توزيع متعدد التشتت وكانت الجزيئات النانوية الدهنية أكبر بكثير من أحجام الجسيمات من النانوية المعدة من جزيئات الشيتوزان. عند زيادة تركيز الشيتوزان من نصف بالمائة إلى واحد بالمائة من الجسيمات النانونية تزداد احجامها. الشيتوزان هو بوليمر حيوي كاتيوني غير متفرع، وبالتالي، فإن جميع الجسيمات النانوية المجهزة بالشيتوزان تحمل شحنات إيجابية على العكس من ذلك، الجزيئات النانوية الدهنية كانت مشحونة سلبا. ومع ذلك، جهد الزيتا أشار أكثر استقرارا في صياغة الجزيئات النانوية الدهنية لأن جزيئاتها تطرد بعضهم البعض بسبب قوة الشحنات السالبة. كانت هناك شحنات أضعف حول جزيئات النانو بالشيتوزان للحفاظ على التجميع في المستقبل لذلك، تم النظر في زيادة استقرار الشحنة عن طريق التجفيف بالتجميد. وعلاوة على ذلك، كان لدى الجزيئات النانوية الدهنية انحراف أحادي للجسيمات النانوية أكثر من الجسيمات النانوية بالشيتوزان التي كان لديها مؤشر توزيع متعدد التشتت أعلى مما يشير إلى المزيد من الجسيمات المشتتة غير المتجانسة. عندما زاد إعداد الجزيئات النانوية الدهنية، أصبحت غير متجانسة مع زيادة كل من حجم الجسيمات ومؤشر توزيع متعدد التشتت. ثم أظهرت كفاءة التغليف لكل الجزيئات النانوية الدهنية وجزيئات الشيتوزان ارتفاع بنسبة اعلى من تسعون بالمائة وتصل الى الأعلى بنسبة تسعة وتسعون وخمسة وعشرون في المائة بالمائة بتركيز نصف بالمائة لجزيئات النانو لزيت العطري الجنزبيل بالشيتوزان.

تم اختبار الزيوت وجزيئاتها النانونية على العزلات البكتيرية وأوضحت النتائج أن النسبة المئوية للتركيز المثبط الأدنى انخفض في الزيوت المختبرة في التركيب باستخدام جزيئاتها النانوية الدهنية حوالي خمسون بالمائة عند مقارنتها بانخفاض أعلى عند استخدام جزيئات النانوية بالشيتوزان وقد بلغت ثمانية وسبعون ونصف بالمائة. وأشار مقياس اختبار مان ويتني إلى أن التركيز المثبط الأدنى كان أقل بالنسبة الشيتوزان (المتوسط يساوى مائة وستة وخمسون) من الجزيئات النانوية الدهنية (المتوسط يساوى ستمائة وخمسة وعشرون)، وكان معدل مقياس مان ويتني أربعة وثمانون ونصف من عشرة والاحتمالية اقل من واحد من مائة.

تم استخدام تركيزات مختلفة اقل من التركيز المثبط الأدنى من ثلاثة ارباع الى ربع لاختبار تثبيط الغشاء الحيوى *للإشريكية القولونية* و أظهرت المقارنة بين الزيت وحده وبالاتحاد مع الشيتوزان انخفاض كبير في تشكيل الغشاء الحيوى بواسطة تركيبة الشيتوزان وأيضا لوحظ *الكليبسيلة الرئوية* لها انخفاض كبير في تثبيط الغشاء الحيوى بواسطة تركيبة الشيتوزان و تم اختيار تركيز النصف كتركيز وسطى لاختبار البلمرة المتسلسل الكمي.

ثم تم تقييم قدرة الزيوت وجزيئات النانوية بالشيتوزان الخاصة بها على تثبيط التعبير عن جين الالتصاق الغشاء الحيوى في عزلات *الكليبسيلة الرئوية* بواسطة تفاعل البلمرة الكمى المتسلسل وكشفت نتائجها عن تثبيط كامل بنسبة مائة بالمائة للتعبير الجيني الغشاء الحيوى عند مقارنتها بالعزلات الغير معالجة.

الاستنتاجات والتوصيات

من نتائج هذه الدراسة يمكن استخلاص:

الزيت العطري الروزمارى والزيت العطري الجنزبيل وجزيناتها النانوية الدهنية وجزيناتها النانوية بالشيتوزان كان لهم تأثير مثبط على العزلات من *الإشريكية القولونية* و *الكليبسيلة الرئوية*. وقد اظهرت الجسيمات النانوية بالشيتوزان المتحدة بالزيت العطري أعلى نشاط مضاد للميكروبات ومضاد للبيوفيليم الذي يمكن استخدامه كبدائل للمضادات الحيوية لتعزيز الصحة وتقليل ظهور مقاومة المضادات الحيوية.

ولذلك من اهم التوصيات إجراء المزيد من الدراسات المتعلقة بزيت الزنجبيل ، وزيت الروزمارى وتركيباته النانوية لتحديد التوافر الأحيائي للمركبات النشطة والجرعات والسمية قبل استخدامها كعوامل علاجية *للاشريكية القولونية* و *الكليبسيلة الرئوية*