الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

عزل وتشخيص بكتريا *Pantoea* المسببة لخمج المسالك البولية المقاومة لبعض المضادات الحيوية ودراسة الفعالية التآزرية لبعض الزيوت الطبيعية والغذاء الملكي في زيادة حساسيتها

محمد شاكر محمود العاني[1] ، ليث مصلح نجيب النعيمي[2]

[1] مستشفى العامرية العام ، وزارة الصحة ، رمادي ، العراق

[2] كلية العلوم ، جامعة الانبار ، رمادي ، العراق

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية: بكتريا *Pantoea* + مقاومة المضادات الحيوية + تآزر + الغذاء الملكي + المواد الطبيعية

الاسم: محمد شاكر محمود العاني

البريد الاليكتروني:

رقم الهاتف:

الملخص

تضمنت الدراسة جمع (210) عينة من عينات الإدرار الوسطي للمرضى الذين تم التأكد من إصابتهم باخماج المسالك البولية وذلك بإجراء فحص الادرار العام، والمراجعين لمستشفى العامرية العام ومستشفى الرمادي التعليمي ومستشفى الفلوجة التعليمي للفترة ما بين تشرين الأول/2017 ولغاية كانون الثاني/2018 .

اظهرت نتائج التشخيص وجود عزلة واحدة بنسبة 2.5% من مجموع (40) عزلة بكتيرية، وتم تشخيص تلك العزلة في ظروف هوائية طبقاً للفحص المجهري والصفات الزرعية على وسط اكار الدم الأساس ، ووسط الماكونكي ، فضلاً عن الاختبارات الكيموحيوية ، وتم تأكيد التشخيص باستخدام نظام التشخيص الحديث VITEK2 .

أجري اختبار الحساسية باستخدام طريقة الانتشار حول الأقراص وأظهرت نتائج الاختبار أنها مقاومة لأغلب المضادات الحيوية وخصوصاً (Gentamicin ، Amikacin ، Trimethoprim-Sulfamethoxazol ، Ceftriaxone ، Nitrofurantion) وكذلك دُرست الفعالية التآزرية للمواد الطبيعية المستخدمة (زيت السمسم، زيت الزيتون، والغذاء الملكي) بنفس الطريقة وذلك باضافة 10 ul من المادة الطبيعية المعقمة بالبسترة، إذ أظهرت النتائج زيادة الفعالية لبعض المضادات وخصوصاً Amikacin وكذلك Ciprofloxacin، لذا يمكن الاستنتاج بأن لزيت السمسم والغذاء الملكي فعالية تآزرية في زيادة فعالية بعض المضادات الحيوية تجاه بكتريا *Pantoea* .

المقدمة

بكتريا *Pantoea* عصوية الشكل سالبة لصبغة كرام تعود للعائلة المعوية Enterobacteriaceae ، ولقد تم فصلها مؤخرًا عن الجنس Enterobacter ، يشمل هذا الجنس يشمل 20 نوعاً متماثلاً من النمط الظاهري ، تكون متحركة ومخمرة لسكر اللاكتوز [1].

إن تصنيف بكتريا *Pantoea* في السابق معقد للغاية، حيث صنفت بعض أنواع المجموعة الأولى على أنها *Bacillus agglomerans* [2] ، و *Enterobacter agglomerans* [2]، ومع تطور البحوث توسع تحديد أنواع *Pantoea* الجديدة بشكل كبير خلال السنوات القليلة الماضية، إذ إن بكتريا *Pantoea* ترتبط ارتباطاً وثيقاً بـ *Tatumella* and *Erwinia* [4,3].

يعتبر النوع *Pantoea agglomerans* هو أكثر الأنواع شيوعاً المعزولة من الإنسان وممرض انتهازي مرتبط بالقسطرة الملوثة والصدمات المخترقة، ولقد كان يعرف سابقاً بـ *Erwinia herbicola* أو *Enterobacter agglomerans* [6,5].

جدول 1 : المستويات الخاصة لتصنيف بكتريا *Pantoea*.

Formal Rank	Example
Kingdom	Prokaryotae
Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacteria
Order	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Genus	***Pantoea***

في العادة تكون متواجدة في البيئة كالتربة والمياه والخضروات والبذور، وكذلك النبات الممرض [9,8,7] ، أما في السنوات الأخيرة فقد أظهرت الدراسات إن أنواع *Pantoea* بإمكانها أن تسبب مجموعة متنوعة وعديدة من الأمراض للإنسان [1]، حيث تشير الدراسات التي أجريت إلى أن *Pantoea* تم عزلها من العديد من المواقع المتنوعة في جسم الإنسان، بما في ذلك الدم، والمسالك البولية والدمامل، والعدوى بالجروح، والصفاق البريتوني، والتهاب المفاصل [10].

تم الإبلاغ عن زيادة معنوية في عدوى المستشفيات في وحدات مختلفة مثل قسم العناية المركزة والحروق وغسيل الكلى والأورام، وهذا يؤدي إلى الإنتان كمتلازمة معقدة ومتعددة العوامل التي يمكن أن تتطور إلى ظروف خطيرة مختلفة، مثل الإنتان الحاد أو الصدمة الإنتانية [11]، ووجد Boszczowski وآخرون [12] تفشي النوع *Pantoea agglomerans* في المستشفيات للمرضى الذين عولجوا مع غسيل الكلى، وان الرأي الذي تم اقتراحه لدخول البكتريا إلى جسم المريض من خلال تلوث الأدوات الطبية، أو عن طريق التغذية الوريدية (عن طريق الوريد)، أو استنشاق الغبار العضوي، أو الجروح المعرضة للمواد العضوية، أو الفترة المحيطة بالولادة [14,13].

أما Nadarasah و Stavrinides [15]، فقد قاما بعزل بكتريا *P. agglomerans* من مرضى الفشل الكلوي وكذلك المرضى المصابين بالتهابات المسالك البولية، وأيضاً استنتجوا أن بكتريا *Pantaoea calida* ، كانت من العوامل الشائعة المرتبطة بمرضى إلتهاب المسالك البولية، وبينوا كذلك أنه في الحالات التي يتم فيها التأكيد للعزلة السريرية بأنها بكتريا *Pantoea*، فإنها تنتمي إلى مجموعات متعددة من الأنواع، بما في ذلك *P. septica*, *P. calida*, *P. brenneri*, *P. eucalypti and P.agglomerans*.

وإن لبكتريا *Pantoea* صفة المقاومة المتعددة للأدوية (Multi-drug resistant)، ولديها القدرة على إنتاج إنزيم β-lactamase الذي أعطى البكتريا مقاومة عالية للعديد من مضادات β-lactam [16]، ومعظم البكتريا لديها القدرة على إنتاج BioFilm التي تعتبر عامل ضراوة مهم يساعد في الثبات البكتيري ويمنع تأثير المضادات الحيوية [17].

يعد تطور مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية وكذلك نشوء سلالات جديدة من أهم العوامل المسببة للمرض، فتشكل مصدر قلق كبير للمجتمع وأيضاً للصحة العامة. وتعتمد القدرة على العلاج الفعال ضد المرض من خلال تطوير أدوية جديدة [18].

لقد أصبح الإهتمام في الوقت الحالي وبشكل متزايد بالمواد الطبيعية والنباتات الطبية وذلك بسبب فعاليتها العالية وكونها أكثر أماناً لقلة تأثيراتها الجانبية وكذلك لكلفتها الرخيصة وتوفرها وسهولة الحصول عليها ، وإن دراسة المستخلصات النباتية تعد مهمة وذلك لإثبات ميكانيكية عملها وفعاليتها وكذلك معرفة مدى تأثيرها السمي، إذ إن منظمة الصحة العالمية WHO قد وافقت على إستخدام النباتات الطبية في علاج الأمراض المختلفة [19]، وأظهرت منظمة الصحة أن نسبة 80% من سكان العالم (معظمهم من البلدان النامية) لايزالون يعتمدون على الطب التقليدي في علاج الأمراض الشائعة [20].

وقد بين Khan [21] أن الكثير من المواد الكيميائية النباتية تمتلك تأثير كابح على مجموعة كبيرة من الأحياء الحية الدقيقة والتي تم استخدامها كأدوية مثل القلويدات، الصابونين، الفلافونيدات وكذلك البوليفينول.

تمتاز النباتات الطبية بإحتوائها على مركبات فعالة حياتياً (Bioactive)، وقد كثفت البحوث والدراسات في السنوات الأخيرة حول الزيوت النباتية وذلك لكونها مضادات ميكروبية، وأغلب مكونات الزيوت التي تمت دراستها كانت لها فعالية ضد ميكروبية: وأهم المركبات الأساسية لمعظم الزيوت النباتية هي: Carvacrol، Eugenol، Linalool، Thymol فقد تبين أن هذه المركبات تمتلك طيفاً واسعاً من الفعالية ضد الميكروبات، فمنها ما هو مثبط لنمو البكتريا ومنها ما هو قاتل بحسب التركيز المستخدم. وإن آلية عمل هذه المركبات غير واضحة ولكن هنالك دراسات تشير بكون هذه المركبات تدخل الخلية وتتداخل مع عملية الأيض الخلوي (Cellular Metabolism)، بينما دراسات اخرى أشارت بأن الفينولات ومنها (Carvacrol and Eugenol)، تزعزع (Disturb) الغشاء الخلوي وبذلك تصل للموقع الفعال في الإنزيم [22].

توجد عدة طرق لاستخلاص الزيوت ومنها: الإستخلاص بالمذيبات (Solvent extraction)، واستخدام الـ Soxhlet، والتقطير (hydrodistillation) وكذلك التقطير بالبخار (Steam distillation)[23].

يعد زيت السمسم من أهم الزيوت المستعملة وذلك لاحتوائه على الأحماض الدهنية (المشبعة وغير المشبعة)، وتعمل الأحماض الدهنية الغير مشبعة على تقليل الأكسدة، بالإضافة على إحتواء الزيت على المركبات الفلافونيدية وهي (Sesamol , Sesamolin, Sesamin)، والتي لديها خصائص مضادة للأكسدة، وتساهم في إحتفاظ زيت السمسم بخواصه الطبيعية ولفترة طويلة بدون أكسدة، وأيضا إنها تقوم بتحفيز عمل Vitamin E [24].

وأظهرت الأبحاث أن لزيت الزيتون فعالية مهمة إذ ان مركبات زيت الزيتون الفينولية لها خصائص مضادة للميكروبات، وبشكل خاص أظهرت مركبات الفينول (oleuropein، hydroxytyrosol , tyrosol) نشاطاً قوياً مضاداً للميكروبات ضد عدة سلالات من البكتريا المسؤولة عن إلتهاب الأمعاء والتهابات الجهاز التنفسي والمسالك البولية [26,25].

من جانب آخر أظهرت بعض البحوث أن للغذاء الملكي تأثيراً مضاد للبكتريا أعلى من باقي منتجات النحل، وأكثر الكائنات الحية التي اختبرت حساسيتها وتم تسجيلها هي *S. aureus* ، يليها *E.coli* [27].

أظهر (royalisin) وفي الآونة الأخيرة، وهو بروتين مضاد قوي للجراثيم في الغذاء الملكي، تثبيط النمو الانتقائي ضد البكتيريا الموجبة

لصبغة كرام، (*Lactobacilus helveticus* ، *Clostridium* ، *Corynebacterium*، *Leucnostoc*، *Stafilococcus*، *Streptococcus*) ، بتراكيز فعالة أقل من 1 ميكرومتر [28].

وقد بيّنت الدراسات التي أجريت على الغذاء الملكي الخام أنه بسبب خواصه المضادة للميكروبات بإمكانها أن تمنع النمو لعدة أنواع من الميكروبات، ومن ضمنها بكتريا Methicillin resistant *Staph. Aureus* (MRSA) . إضافة لذلك، فإن التأثير التآزري لخلط الغذاء الملكي مع منتجات أخرى مثل العسل، يحسن وبشكل ملحوظ النشاط المضاد للبكتريا ضد مسببات الأمراض الخطرة مثل *Staph. aureus* ، *Pseudo. aeruginosa* . [30,29]

العكبر في الغذاء الملكي له دور في تثبيط النمو البكتيري، كما أن له تأثير تآزري مع المضادات الحياتية في علاج الإلتهابات ويقلل أيضاً من مقاومة الجدران للخلايا البكتيرية تجاه المضادات الحياتية [31].

الهدف من الدراسة

بسبب كون أخماج المسالك البولية مرض ممكن أن ينتشر بين جميع الأفراد والأعمار، وأيضاً لكون التشخيص الصحيح والسريع يُعد خطوة مهمة في طريق العلاج والشفاء، تم القيام بهذه الدراسة والتي هدفت إلى عزل وتشخيص بكتريا *Pantoea* المسببة لأخماج المسالك البولية من المرضى المصابين باخماج المسالك البولية وكذلك دراسة الفعالية التآزرية لبعض المواد الطبيعية مع المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

عينات البول جمعت بحسب طريقة Cheesbrough [32]، في أوعية خاصة و معقمة من المراجعين لمستشفى العامرية العام ومستشفى الرمادي التعليمي ومستشفى الفلوجة التعليمي والذين ثبت لديهم وجود خمج المسالك البولية من خلال الفحص الأولي والمتضمن مشاهدة الخلايا القيحية (Pus cells) في الإدرار، لتأكيد الإصابة بخمج المجاري البولية، ثم نقلت مباشرةً الى المختبر وتحت ظروف مبردة لغرض زرعها وتشخيصها للمدة ما بين تشرين الأول/2017 ولغاية كانون الثاني/2018 .

عزل وتشخيص بكتريا *Pantoea*

التشخيص بالطرائق التقليدية

العزلات البكتيرية شخصت اعتماداً على كل من الصفات الزرعية ، والمجهرية، والاختبارات الكيموحيوية، واعتماداً على ما ورد في Goldman and Lorrence [33] وكما يأتي :-

- الصفات الزرعية والفحص المجهري

تم دراسة كل من الصفات الزرعية والمجهرية للمستعمرات النامية على الأوساط الزرعية المختلفة، حيث لوحظ شكل المستعمرات وحجمها وإرتفاعها وشكل حوافها ولونها ورائحتها وقوامها وقابليتها على تخمير بعض السكريات، وكذلك إنتاجها لإنزيم الـ Hemolysin على وسط أكار الدم، وحضرت مسحات على الشرائح الزجاجية لمستعمرات البكتريا النامية على الأوساط الزرعية، وصبغت بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر الضوئي، لملاحظة شكل الخلايا البكتيرية وترتيبها وأيضاً مدى إستجابتها لصبغة كرام.

- الاختبارات الكيموحيوية

إن هذه الاختبارات أجريت بحسب الطريقة التي بينها Macfaddin [34] وأيضاً Brooks [35].

اختبار انزيم الاوكسيديز Oxidase test ، واختبار انزيم الكاتاليز Catalase test ، واختبار المثيل الاحمر Methyl red test ، واختبار فوكس – بروسكاور Voges-Proskauer test ، واختبار الاندول Indol production test ، واختبار النمو على وسط حديد ثلاثي السكر Triple sugar iron agar TSI ، واختبار استهلاك السترات Citrate utilization tes ، واختبار الحركة Motility test ، و اختبار انزيم اليوريز Urease Production test، و الكشف عن تخمر سكر اللاكتوز Detection of lactose fermentation.

التشخيص بالطرائق الحديثة

استخدمت عدة التشخيص VITEK 2، وذلك لزيادة التأكد من عملية تشخيص العزلات إلى مستوى النوع ويتطلب في هذا النظام تحضير عالق بكتيري من العينات المزروعة، ويوضع هذا العالق في انبوب اللقاح inoculum tube، حيث ينتقل هذا العالق آلياً إلى البطاقة والتي تتضمن 64 اختباراً كيموحيوياً حيث تحضن هذه البطاقة في ظروف مُسيطر عليها حرارياً. يتم قياس تغيرات اللون في البطاقة التي تنتج من الفعالية الأيضية للبكتريا بشكل متقطع (كل 15 دقيقة) بواسطة مقياس شدة الضوء Densitometer. بعد ذلك يتم تحليل المعلومات وخزنها وطباعتها آلياً [36].

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test

استخدمت عدد من المضادات الحياتية تجاه البكتريا وذلك بإتباع طريقة الانتشار بالأقراص Disc diffusion method بالاعتماد على طريقة [37]، إذ نقلت (3-5) مستعمرات للعزلات النقية إلى أنابيب معقمة حاوية على 5 مل من المحلول الملحي الفسلجي ورجت الأنابيب جيداً، بعدها جرى تعديل العكورة بمقارنتها مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية رقم 0.5، إذ إن عكورة هذه الأنبوبة تمثل عدداً تقريبياً ($10x1.5^{8}$) خلية/مل، ثم غمرت ماسحة قطنية معقمة بالعالق البكتيري، وأزيل الفائض من العالق بتدوير الماسحة Swab على الجدران الداخلية للأنبوبة، ثم نشر المعلق البكتيري على وسط مولر هنتون ، وتركت الأطباق لمدة 3-5 دقائق لتتشرب بالعالق إلى أن تجف تماماً، وبعدها ثبتت أقراص المضادات الحياتية باستعمال ملقط معقم، ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة وتم قياس قطر منطقة التثبيط لكل قرص، بعد ذلك اعتبرت البكتريا مقاومة إذا وصل قطر التثبيط حسب ما مؤشر في المواصفات القياسية الواردة في (CLSI 2013) .

اختبار التداخل بين المواد الطبيعية والمضادات الحياتية Testing of interference between natural materials and antibiotics

أجري اختبار التداخل للعزلات البكتيرية، وذلك بنقل (3-5) مستعمرات للعزلات النقية إلى أنابيب معقمة حاوية على 5 مل من المحلول الملحي الفسلجي ورجت الأنابيب جيداً، بعدها جرى تعديل العكورة بمقارنتها مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية رقم 0.5، إذ إن عكورة هذه الأنبوبة تمثل عدداً تقريبياً ($10x1.5^{8}$) خلية/مل، ثم غمرت ماسحة قطنية معقمة بالعالق البكتيري، وأزيل الفائض من العالق بتدوير الماسحة Swab على الجدران الداخلية للأنبوبة، ثم نشر المعلق البكتيري على وسط مولر هنتون، وتركت الأطباق لمدة 3-5 دقائق لتتشرب بالعالق إلى أن تجف تماماً، وبعدها ثبتت أقراص المضادات الحياتية باستخدام ملقط معقم، وثم وضع فوقه 10ul من زيت السمسم المعقم بالبسترة، وبعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م ولمدة 18-24 ساعة وتم قياس قطر منطقة التثبيط للمضاد مع زيت السمسم. وكررت نفس طريقة المعاملة مع زيت الزيتون وكذلك الغذاء الملكي كلٌ على حده.

التحليل الإحصائي The Statistical analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي بإستخدام برنامج Statistical package of social sciences-Version-22 (SPSS)، وفقاً للتصميم العشوائي وذلك لمعرفة وجود فرق معنوي أم لا، عند مستوى احتمالية أقل من 0.05 ($P<0.05$)، لدراسة تأثير التداخل لكل من المواد الطبيعية مع المضادات الحيوية المستخدمة تجاه البكتريا المستخدمة في الدراسة ودورها في تقليل مقاومتها.

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج عزل وتشخيص بكتريا *Pantoea spp.*، بنسبة (2.5%) من العدد الكلي للعزلات وبواقع عزلة واحدة، وهي بكتريا سالبة لصبغة كرام، ظهرت المستعمرات على وسط الماكونكي دائرية، متوسطة الحجم، ملساء، مخمرة للاكتوز بشكل بطيء الشكل (A). بينما على وسط أكار الدم تنتج مستعمرات ناعمة ومحدبة ومستديرة وغير محللة للدم عادةً مستعمرات صفراء اللون أو صفراء شاحبة مائلة إلى الإحمرار الشكل (B).

(B) (A)

شكل (1) بكتريا *Pantoea spp.* على الأوساط الزرعية (A) وسط اكار الماكونكي (B) وسط اكار الدم

وكانت العزلة موجبة لاختبار إنزيم الكاتاليز والسترات والحركة، وسالبة لاختبار الإندول و H2S.

وإن جميع هذه النتائج المورفولوجية والكيموحيوية كانت متطابقة مع Macfaddin [34] و Collee [38].

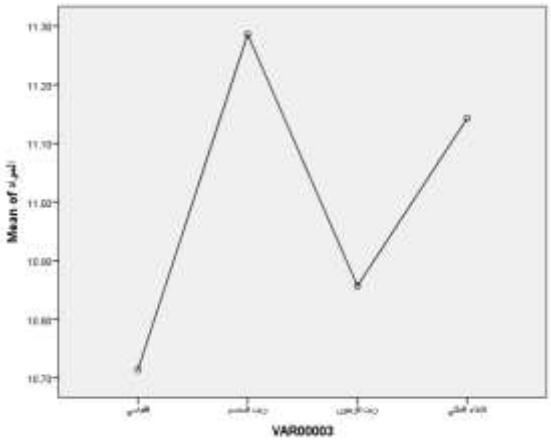
تتفق نتائج الدراسة الحالية تقريباً تتفق مع ما جاء به Nadarasah و Stavrinides [15] اللذين عزلوا *P.agglomerans* من مرضى الفشل الكلوي وكذلك المرضى المصابين بالتهابات المسالك البولية.

أبدت عزلة بكتريا *Pantoea* مقاومة لبعض المضادات الحيوية، إذ أظهرت النتائج بأن العزلة كانت مقاومة لأغلب المضادات المستخدمة (Gentamicin، Amikacin، Trimethoprim-Sulfamethoxazole ، Ceftriaxone، Nitrofurantion) ماعدا نوعين من المضادات (Ciprofloxacin ، Amoxicillin / Clavulanic acid) فقد كانت حساسيتهما قليلة تجاه العزلة البكتيرية.

أظهرت نتائج التداخل للمضادات مع المواد الطبيعية المستخدمة وجود فروق معنوية في أغلب المضادات، إذ أظهرت نتائج التداخل تجاه المضاد Ciprofloxacin وجود فروق معنوية خصوصاً زيادة الفعالية بالتآزر مع الغذاء الملكي، إذ ازداد قطر التثبيط للمضاد قيد الدراسة بعد تآزره مع الغذاء الملكي بالمقارنة مع القياسي من (25 ملم) الى (30ملم)، أما بالنسبة لتداخل المضاد Ciprofloxacin مع كل من زيت السمسم وزيت الزيتون فكانت الزيادة لقطر التثبيط بالمقارنة مع القياسي من (25 ملم) الى (29 ملم) على التوالي، بينما أظهرت نتائج التداخل مع المضاد Amikacin زيادة في الفعالية من (15 ملم) الى (17 ملم) بالمقارنة مع القياسي عند تآزره مع زيت السمسم، وكما موضح في الجدول 2.

جدول 2 : تداخل المواد الطبيعية مع المضادات الحياتية

اسم المادة الطبيعية	AK	NI	AUG	CRO	CIP	GM	TM
القياسي	15	10	18	0	25	7	0
زيت السمسم	17	8	18	0	29	7	0
زيت الزيتون	14	8	17	0	29	8	0
الغذاء الملكي	16	9	15	0	30	8	0



شكل 2 : مخطط بياني لتداخل المواد الطبيعية مقارنة بالقياسي

عزلت بكتريا *Pantoea* لأول مرة من حالات بيئية مختلفة، من الماء والتربة والخضراوات [9,8,7] وفي السنوات الأخيرة أظهرت هذه العزلة فعالية مرضية كمسبب لبعض الأمراض[1].

وعلى هذا الأساس لم تكن هذه العزلة شائعة في محافظة الانبار في مستشفى العامرية العام كعزلة مسببة لإلتهاب المجاري البولية وبالتالي كانت نسبة عزلها واطئة (2.5%) بالمقارنة مع ما وجدته Mayyada and Layla [39] .

المصادر

1- Walterson, A. M. and Stavrinides, J. (2015). "*Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae .

2- Beijerinck MW. Die Bakterien der Papilionaceenknollchen. *Botanische Zeitung* 1888; 46:725–804.

3- Brady, C.; Cleenwerck, I. and Venter, S; (2010). Emended description of the genus *Pantoea*, description of four species from hu- man clinical samples, *Pantoea septica* sp. nov., *Pantoea eucrina* sp. nov., *Pantoea brenneri* sp. nov. and *Pantoea conspicua* sp. nov., and transfer of *Pectobacterium cypripedii* (Hori 1911) Brenner et al. 1973 emend. Hauben et al. 1998 to the genus as *Pantoea cypripedii* comb. nov. *Int J Syst Evol Micr* a;60: 2430–40.

4- Brady, C.L.; Venter, S.N. , Cleenwerck, I,. *et al.* (2010b). Transfer of *Pantoea cit-rea*, *Pantoea punctata* and *Pantoea terrea* to the genus *Tatumella* emend. as *Tatumella citrea* comb. *nov., Tatumella punctata comb. nov* and *Tatumella terrea* comb. nov and description of *Tatumella morbirosei* sp nov. *Int J Syst Evol* Micr;60: 484–94.

5- Delétoile, A.; Decré, D.; Courant, S.; Passet, V.; Audo, J.; Grimont, P.; Arlet, G. and Brisse, S. (2009). "Phylogeny and Identification of Pantoea Species and Typing of Pantoea agglomerans Strains by Multilocus Gene Sequencing". Journal of Clinical Microbiology. 47 (2): 300–310. doi:10.1128/JCM.01916-08. ISSN 0095-1137. PMC 2643697. PMID 19052179.

6- Donnenberg, M. (2015). "Enterobacteriaceae". Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th Edition. pp. 2503–2517.e5. ISBN 978-1-4557-4801-3.

7- De Maayer, P.; Chan, W.; Rubagotti, E.; Venter, N.; Toth, I.; Birch, P. and Coutinho, T. (2014). Analysis of the *Pantoea ananatis* pan-genome reveals factors underlying its ability to colonize and interact with plant, insect and vertebrate hosts. *BMC Genomics*, 15, 404 .

8- Sheibani-Tezerji, R.; Naveed, M.; Jehl, M.; Sessitsch, A.; Rattei, T. and Mitter, B. (2015). The genomes of closely related *Pantoea ananatis* maize seed endophytes having different effects on the host plant differ in secretion system genes and mobile genetic elements, Frontiers in Microbiology, 6, 440.

9- Ma, Y.; Yin, Y.; Rong, C.; Chen, S.; Liu, Y.; Wang, S. and Xu, F. (2016). *Pantoea pleuroti* sp. nov., isolated from the fruiting bodies of Pleurotus eryngii. Curr Microbiol; 72(2): 207–212.

10- Dutkiewicz J.; Mackiewicz, B.; Lemieszek, M. K.; Golec, M. and Milanowski, J. (2016). Pantoea agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants, Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 23(2), 197–205.

11- Liberto M.C.; Matera, G.; Puccio, R.; Russo, T. Lo.; Colosimo, E. and Focà, E. (2009). Six cases of sepsis caused by *Pantoea agglomerans* in a teaching hospital, New Microbiol, 32(1), 119-123.

12- Boszczowski I.; J Nóbrega de A. J.; E J Peixoto de M.; M Pinheiro Freire.; Guimarães, T. and Chaves, C. E. (2012). Nosocomial outbreak of *Pantoea agglomerans* bacteraemia associated with contaminated anticoagulant citrate dextrose solution: new name, old bug?, Journal of Hospital Infection, 80(3), 255-258.

13- Ferrantino, M.; Navaneethan, S. and Sloand, J. (2008). *Pantoea agglomer- ans*: an unusual inciting agent in peritonitis. *Perit Dial Int* ;28:428–30.

14- Lee, N.; Chung, I. and Park, J. (2010). A case of *Pantoea* endophthalmitis. *Korean J Opthalmol*; 24:318–21.

15- Nadarasah G. and Stavrinides J. (2014). Quantitative evaluation of the host- colonizing

capabilities of the enteric bacterium *Pantoea* using plant and insect hosts. *Microbiology* ;160:602–15.
16- De Maayer P.; Chan, W.; Blom, J.; Venter, S. N.; Duffy, B.; Theo, H.; Smits, M. and Coutinho, T. A. (2012). The large universal *Pantoea* plasmid LPP-1 plays a major role in biological and ecological diversification, BMC Genomics , 13, 625 .
17- Chowdhury M. R. (2015). Bacterial persistence: molecular mechanisms, biofilm, pathogenicity and eradication, International Journal of PharmTech Research,, 8(2), 204-212.
18- Frey, FM., and Ryan, M.(2010). Antimicrobial Activity of Traditional Medicinal Plants used by Haudenosaunee Peoples of New York State . BMC Complem Altern Med; 10:64 .
19- Shukle, R.; Sharma, S.B.; Puri, D.; Pabhu, K.M. and Urthy, P.S. (2000). Medicinal plants fortreatment of diabetes mellitus .Indian J. Clin. Biochem. 15:196-177.
20- Shagal, M.H.; Kubmarawa, D.; and Alim, H. (2012). Preliminary phytochemical investigation and antimicrobial evaluation of roots, stem-bark and leaves extracts of Diospyros mespiliformis. International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics. 2(1): 011-015.
21- Khan, A.M.; Qureshi, R.A.; Gillani, S.A. and Ullah, F. (2011). Antimicrobial activity of selected medicinal plants of Margalla Hills, Islamabad, Pakistan. Journal of Medicinal Plants Research. 5(18), 4665-4670.
22- Kalemba, D. and Kunicke, A. (2003). Antibacterial and antifungal Properties of Essential Oils. Current Medicinal Chemistry. 10:813-829.
23- De Barros, N. A. de.; Rocha, R. R.; De Assis, A. von. R. and Mendes, M. F. (2013). Extraction of Basil Oil (*Ocimum basilicum* L.) using supercritical fluid. III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia).
24- Sankar, D.; Sambandam, G.; Rao, R. and Pugalendi, K.V. (2005). Modulation of blood pressure, lipid pro fi les and redox status in hypertensive patients taking different edible oils. Clin Chim Acta.355: 97-104.
25- Battinelli L., Danielle C., Cristiani M., Bisignano G., Saija A. and Mazzanti G. (2006). In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea eurpaea* L. fruit. *Phytomedicine* ;13:558-563.
26- Medina, E.; de Castro, A.; Romero, C. and Brenes, M. (2006). Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem. 54* , 4954–4961.
27- Abd-Alla, M.S.; Mishref, A. and Ghazi, I.M. (1995). Antimicrobial potency of royal jelly collected from queen cells at different larvae ages. *An- nals. Agric. Sci.*, *40*(2), 597-608.
28- Attalla, K.M.; Owayss, A.A. and Mohanny, K.M. (2007). Antibacterial activi- ties of bee venom, propolis, and royal jelly produced by three honey bee, *Apismellifera* L., hybrids reared in the same environ-mental conditions. *Annals. Agric. Sci*., *45*(2), 895-902.
29- Boukraa, L. (2008). Additive Activity of Royal Jelly and Honey against *Pseudomonas aeruginosa*. Altern. Med. Rev., 13(4), 330-333.
30- Boukraa, L.; Meslem, A.; Benhanifia, M. and Hammoudi, S.M. (2009). Syner- gistic effect of starch and royal jelly against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. J. Altern. Complement Med., 15(7), 755-757.
31- Ratcliffe, N.A.; Mello, C.B.; Garcia, E.S.; Butt, T.M. and Azambuja، P. (2011). Insect natural products and processes: new treatments for human disease, *Insect Biochemist. Molec. Biol*., *41,* 747-769.
32- Cheesbrough, M. (2012). District Laboratory Practice in Tropical Countries. Second edition update (part 2), Cambridge university press: India.
33- Goldman, E. and Lorrence, H. G. (2009). Practical Handbook of Microbiology. Second edition. Printed in the United States of America.
34- Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lawrence, M.C.; Lippincott, W. and Wilkins (ed). United States of America.
35- Brooks, G.F.; Carroll, K.C.; Butel, J.S.; Mores, S.A. and Mietzner, T.A. (2013). Jawetz, Melnich and Adelbergs Medical Microbiology. 25th ed. thr McGraw-Hill companies,United states of American.
36- Harvey, R.A.; Cornelissen, C.N. and Fisher, B.D. (2013). Lippincott's Illustrated Review Microbiology. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins Wolters Kluwer business. USA.
37- Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherries, J. C. and Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility Tests by A Standarized Single Disk Method. Am. J. Clin. Path. 45:493-496.
38- Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A.(1996). Practical Medical Microbiology. 14th ed . Churchill Livingstone - New York.
39- Mayyada F.D. and Layla S. (2016). "Prevelance and antibiotic susceptibility patterns of *Pantoea* spp. isolated form clinical andenvironmental sources in Iraq". International Journal of ChemTech Research. Vol., No. 08,430-437 .

Abstract

This study included the collection of 210 samples of Mid-stream urine samples of the patients who were confirmed to be infected with urinary tract infections by conducting a general urine examination and the patients of AL-Amriya General Hospital, Ramadi Teaching Hospital and Fallujah Teaching Hospital for the period between 2017 and January 2018.

The results of the diagnosis showed a single isolation of 2.5% of the total of 40 bacterial isolates. This isolation was diagnosed in aerobic conditions according to the microscopic examination and Culture characteristics on blood agar base and Mac Conkey agar as well as the biochemical tests, Diagnosis was confirmed using the modern diagnostic system VITEK2.

Sensitivity test was conducted using the method of spreading around the disks and test results showed that they are resistant to most antibiotics, especially (Gentamicin, Amikacin, Trimethoprim-Sulfamethoxazol, Ceftriaxone, Nitrofurantion). The synergistic efficacy of the natural substances used (sesame oil, olive oil, and royal Jelly) was studied in the same way. With the addition of 10 ul of the natural substance sterilized by pasteurization, as the results showed increased effectiveness of some antibiotics, especially Amikacin as well as Ciprofloxacin, so it can be concluded that sesame oil and royal Jelly synergistic effectiveness in increasing the effectiveness of some antibiotics against *Pantoea*.