



التأثير البيولوجي للأسبرين المحضر معمليا على بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبكتيريا *Escherichia coli*

زينب محمد أبوسلسلة
جامعة مصراته كلية التربية،
قسم الكيمياء، ليبيا

أسماء محمد الدنفور
جامعة مصراته كلية التربية،
قسم الأحياء، ليبيا

منال رمضان شعيب
جامعة مصراته كلية التربية
قسم الأحياء، ليبيا

زينب عبد الوهاب السويح
جامعة مصراته كلية التربية،
قسم الكيمياء، ليبيا

سناء مفتاح الاميل
جامعة مصراته كلية التربية،
قسم الكيمياء، ليبيا

أمينة سليمان الهدمي
جامعة مصراته كلية التربية،
قسم الكيمياء، ليبيا

الملخص

تم تحضير الأسبرين معمليا والتأكد من صحة الناتج عن طريق إجراء التجارب التأكيديّة و استخدام طيف IR، ومن تم أجريت الاختبارات البيولوجية للتركيز المختلفة للأسبرين المحضر على بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبكتيريا *Escherichia coli* قيد الدراسة، والمقاومة للمضادات الحيوية لمعرفة حساسية البكتيريا لتلك التركيز، حيث أظهرت النتائج أن التأثير البيولوجي للأسبرين منعدم على البكتيريا بنوعها عند التركيز الأقل من $10 \mu\text{g/ml}$ ، ويزداد تأثير الأسبرين طرديا كلما زاد التركيز، كما أن تأثير الأسبرين على بكتيريا موجبة الجرام المتمثلة في بكتيريا *Staphylococcus aureus* أعلى من تأثيره على بكتيريا سالبة الجرام المتمثلة في بكتيريا *Escherichia coli* عند جميع تراكيز الأسبرين المستخدمة في هذه الدراسة.

استلمت الورقة بتاريخ 2021/3/28، وقبلت بتاريخ 2021/7/27، ونشرت بتاريخ 2021/7/31
الكلمات المفتاحية: أسبرين
محضر معمليا- IR Spectrum
- بكتيريا
-*Staphylococcus aureus*
بكتيريا *Escherichia coli*
منطقة تثبيط النمو.

المقدمة

تعد صفة المقاومة للمضادات الحيوية التي تمتلكها البكتيريا احدى اهم المشاكل الصحية والاقتصادية في العالم، الأمر الذي دفع الباحثين الى التحري عن مضادات جديدة للتغلب على السلالات البكتيرية المقاومة اذ تؤدي الإصابة بالبكتيريا المقاومة الى طول مدة العلاج وزيادة خطورة الإصابة، صفة المقاومة هذه تكون اما فطرية او مكتسبة، ان السبب الرئيسي لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية الواسعة الطيف نتيجة الاستعمال المفرط لهذه المضادات الحيوية و التي تمثل خطرا كبيرا على الصحة العامة لأنها مقاومة لمختلف مجاميع المضادات الحيوية [4-7].

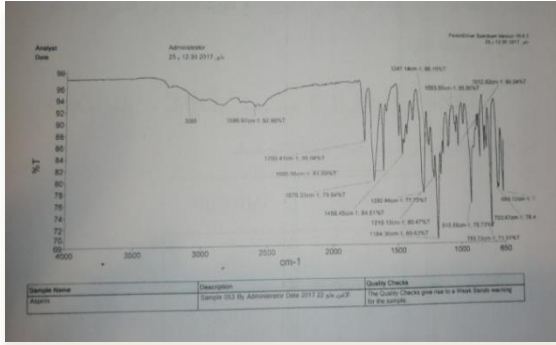
لقد اثبتت العديد من الدراسات مدى قابلية الأدوية غير المضادة الحيوية nonantibiotic drugs، المستخدمة لمعالجة الأمراض غير الميكروبية noninfectious diseases في إظهار نشاط قاتل للبكتيريا untibacterial activity. ويعتبر الاسبرين احد هذه الأدوية التي اظهرت نتائج بيولوجية مثبته للنمو الميكروبي. تم استخدام العديد من العقاقير المضادة للبكتيريا لعلاج الأمراض التي تسببها كالتسمم الغذائي و الالتهاب الرئوي والعدوى المعوية، ولكن الاستهلاك المفرط لهذه الأدوية

الأسبرين (Aspirin) أو Acetylsalicylic acid، هو إستر يتبع أدوية الساليسيلات، ويعتبر واحداً من أكثر الأدوية استعمالاً في العالم ومن أشهر الأدوية المستخدمة لعلاج أعراض الحمى والالام الرئوية، كما يستخدم لتجنب الجلطات المسببة لنوبات القلبية بالإضافة إلى استخدامه كمضاد للالتهاب باعتباره أحد مضادات الالتهاب الغير الستيرويدية التي تعمل على تثبيط أنزيمات الأكسدة الحلقية المسؤولة على إفراز مادة Prostaglandins الشبيهة بالهرمونات التي تسبب الالتهاب و الألم ، كما لها عدة وظائف حيوية في الجسم منها محافظتها على الأغشية الهضمية من أحماض المعدة. أثبتت الدراسات أن تناول الأسبرين بانتظام يقلل من الإصابة بالخرف بنسبة 55% كما يقلل من الإصابة بالنوبات القلبية بنسبة 44% ووجد أيضا أنه يخفض من معدل الإصابة بسرطان القولون والمستقيم [1-3].

الاختبارات التأكيديّة Testing

لتأكد من صحة الناتج المتحصل عليه من الأسبرين قيست درجة انصهاره بواسطة طريقة الأنبوبة الشعرية حيث كانت 134-136°C .

كما تم إضافة أيون الحديد الثلاثي المذاب في وسط حمضي، ولوحظ عدم تغير لون المحلول دليل على عدم وجود بقايا من حمض الساليسليك في الناتج المتكون مما يؤكد نقاوة الناتج المتحصل عليها، كما تم تأكيد النتيجة عن طريق استخدام جهاز الأشعة تحت الحمراء (IR) شكل2.



شكل 2- طيف IR للأسبرين المحضر.

يتميز هذا الطيف باحتوائه على حزمة امتصاص عريضة وضعيفة ضمن المدى 2586-3085 سم⁻¹ تعود لإمتطاط الرابطة (CSP₂-H) (CSP₃-H) , كما يمتلك حزمة امتصاص حادة ضمن المدى (1750-1679) تعود إلى امتطاط الرابطة (C=O) , ومن جهة أخرى يمتلك حزمة قوية عند (1605 سم⁻¹) تعود إلى امتطاط الرابطة (C=C) التابعة للحلقة الأروماتية , ويحتوي أيضا على حزمة امتصاص حادة قوية ضمن المدى (1247-1292 سم⁻¹) , تعود لإمتطاط الرابطة C-O.

تحضير التراكيز المختلفة للأسبيرين

حضرت المحاليل المستخدمة في هذه الدراسة بطريقة التخفيف المتسلسل serial dilution من المحلول القياسي 100.000 stock solution µg/ml في مذيب Dimethyl sulfoxide (DMSO)، حيث تم تحضير التراكيز 2-4-6-8-10-100-200-400-600-800-1000-10.000 µg/ml [22].

ثانيا: طرق العمل

جمع العينات

أخذت العينات الخاصة بالدراسة من مختبر مستشفى مصراة للطوارئ و مختبر مصراة المركزي والتي ترجع إلى عينات للمرضى المترددين عليهما لنوعين من البكتريا هما بكتريا *Staphylococcus aureus* وبكتريا *Escherichia coli* التي أظهرت مقاومة للمضادات الحيوية لنوعين أو أكثر بعدد 30 عينة لكل نوع، بالفحص حيث وضع رقم خاص لكل عينة.

تم إجراء تقنيات الزرع المختلفة على الأوساط الغذائية، وإجراء الفحص المجهرى بعد عملية الصبغ، وإجراء الاختبارات الكيموحيوية على العينات للتأكد من نوعي البكتريا، حيث تم إجراء جميع الفحوصات وتقنيات الزرع والاختبارات التأكيديّة الخاصة بالدراسة [19]، بمعمل التحليل الآلي بقسم الكيمياء ومعمل قسم الأحياء بكلية التربية جامعة مصراة.

وتعاطي جرعات غير مناسبة أو بالقدر المطلوب على فترات غير منتظمة أدى إلى تطور مقاومة البكتيريا لهذه الأدوية مما قلل من فعاليتها لذلك تطوير العوامل المضادة للميكروبات يعتبر أولوية في الأونة الأخيرة، أجريت العديد من البحوث لإمكانية استخدام الأسبرين كمضاد للميكروبات لإثبات أن للأسبرين ومعداته تأثيرا على عدة أنواع من البكتيريا والفطريات باستخدام عدة تراكيز [8-12].

من بين هذه الجهود تظهر اختبار الادوية غير المضادة الحيوية لتجربتها داخل المعامل على أنواع مختلفة من الميكروبات لاكتشاف مدى فعاليتها كمضاد ميكروبي , ويعد الأسبيرين احد هذه الأدوية المستخدمة منذ القدم وبما انه امن للاستعمال البشري ومستخد بكثرة جاءت فكرة تجربته على نوعين من البكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* الأكثر شيوعا وتسببا للأمراض [13, 14]. وقد اكتشف مؤخرا في دراسة تمت داخل المعمل على عوائل الكائنات الحية antitonic cultures planctonic لاسبيرين فعالية بيولوجية ضد الطحالب والبكتيريا [16] والفيروسات [17].

نظرا لأهمية بكتريا *Staph.aureus* وبكتريا *E. coli* الطبية ومقاومتها للمضادات الحيوية والاستخدام الواسع للاسبيرين جاءت هذه الدراسة بهدف التعرف على التأثير البيولوجي للاسبيرين المحضر معمليا بتراكيز مختلفة على *Staphylococcus aureus* وبكتريا *Escherichia coli*.

المواد وطرق العمل

-المواد المستخدمة في الكشف على البكتريا

*الأصباغ Stains:

تم استعمال صبغة الجرام (Gram stain) للعينات المعزولة باستخدام الطريقة الكلاسيكية [18, 19].

*الكواشف والاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في التعرف على البكتيريا:

Kovak -Oxidase reagent (bio-merieux, France)
reagent (bio-merieux, France)

API 20E -Coagulase Test -Catalase test-
(biomerieux, France) [19].

*أوساط الزرع Culture Media

تم تحضير الأوساط الغذائية حسب مواصفات الشركة المصنعة لها و حسب نوع الوسط المستخدم وهي Blood Agar-MacConkey Agar -Blood Agar-Mannitol agar [19].

تحضير الأسبيرين Aspirin synthesis

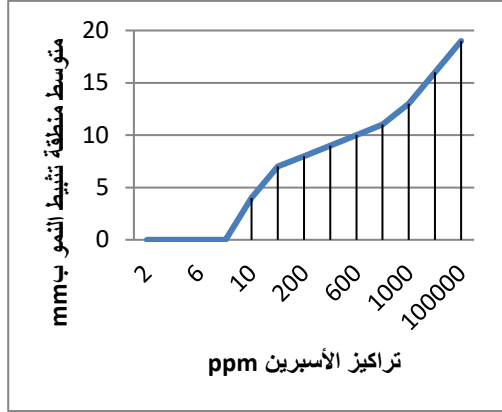
حضر مركب الأسبرين من تفاعل مجموعة الهيدروكسيل لحمض الساليسليك مع انهيدريدالخليك في وسط حمضي , لينتج الاستر المقابل [20, 21].

طريقة تحضير الاسبيرين

وضع 3.5g من حمض الساليسليك في كأس سعته 50 ml ثم أضيف إليه 6 ml من انهيدريدالخليك، ورج الخليط جيدا، ثم اضيف للمزيج السابق 3 قطرات من حمض الفسفوريك المركز، ثم سخن محتويات الدورق على حمام مائي درجة حرارته 80 لمدة 15 دقائق، رشح الراسب المتكون ثم أعيدت بلورته باستخدام الإيثانول، وزنت بلورات الأسبرين الناتجة فكانت 2.5g [20].

اختبار الحساسية Sensitivity Test

استخدمت طريقة Kirby & Bauer sensitivity test وهي طريقة القرص المنتشر (Disk diffusion method) والتي استخدمت بشكل واسع في أنحاء العالم كطريقة قياسية في المختبرات بعد إقرارها من العديد من المنظمات في العالم كمنظمة الغذاء والدواء في أمريكا Food and Drug Administration (FDA) [19, 23, 24]. تم اختبار حساسية البكتريا *Staph. aureus* و *E. coli*، ومدى فاعلية الأسبرين عليها بعد التأكد من نوع البكتريا، باستخدام طريقة القرص المنتشر، حيث تم تشييع أقراص أوراق الترشيح المعقمة بمحلول مادة الأسبرين المحضرة بتركيز مختلفة لإجراء اختبارات الحساسية لكل تركيز على حدى، حيث تم مزج 3ملل من 0.9 % Normal saline في انبوبة اختبار لتحضير المعلق البكتيري ليتم مقارنته مع عكارة MckFarland 0.5% وبواسطة الماسحة القطنية التي شيعت بالمعلق البكتيري ووزعت البكتريا قيد الدراسة على وسط Muler-Hinton agar، ثم تركت الأطباق لمدة 10 دقائق لتجف ثم وزعت أقراص أوراق الترشيح المشبعة بمحلول الأسبرين بتركيز مختلفة، ووضعت أقراص ورق ترشيح معقمة كسيطرة (Control)، وحضنت لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية، ثم تم قياس منطقة التثبيط بواسطة المسطرة بالسنتيمترات، ومدى فاعلية مادة الأسبرين على البكتريا قيد الدراسة [25-28]

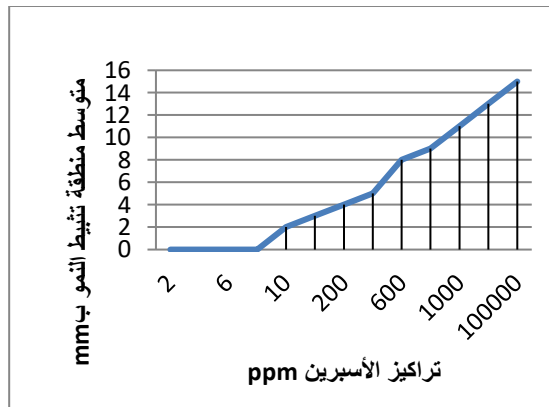


شكل 1- متوسط منطقة تثبيط النمو ب mm لتراكيز الأسبرين µg/ml على بكتريا *Staph. Aureus*.

أوضحت هذه الدراسة أن متوسط منطقة تثبيط النمو في *E. coli* عند التراكيز المدروسة (جدول 2، شكل 2) كالتالي:

جدول 2- تأثير تراكيز الأسبرين على بكتريا *E. coli*.

التركيز µg/ml	متوسط منطقة تثبيط النمو لبكتريا <i>E. coli</i> (mm)
0	0
2	0
4	0
6	0
8	0
10	2
100	3
200	4
400	5
600	8
800	9
1000	11
10000	13
100000	15



شكل 2- متوسط منطقة تثبيط النمو ب mm لتراكيز الأسبرين g/µl على بكتريا *E. coli*.

النتائج

تم دراسة 13 تركيز من الأسبرين على بكتريا *Staph. aureus* و بكتريا *E. coli*، وجد أنه لا يوجد أي تأثير على البكتريا المدروسة عند التراكيز 2، 4، 6، 8 µg/ml، وأظهرت الدراسة أن هناك تأثير لتراكيز الأسبرين من 10-100000 µg/ml على نمو البكتريا قيد الدراسة بنوعها، حيث كان متوسط منطقة تثبيط النمو في *Staph. aureus* عند التراكيز المدروسة (جدول 1، شكل 1) كالتالي:

جدول 1- تأثير تراكيز الأسبرين على بكتريا *Staph. aureus*.

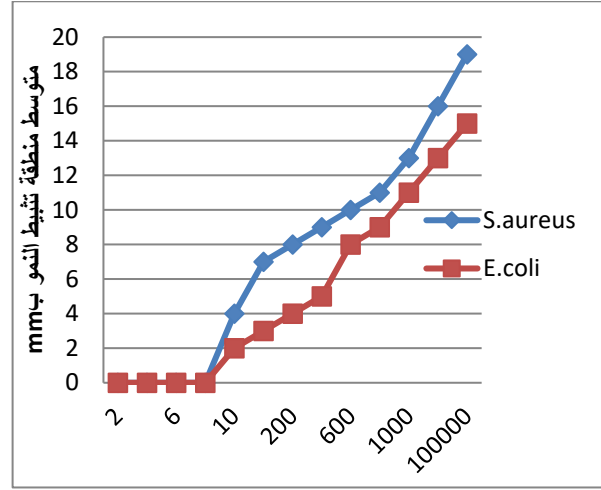
التركيز µg/ml	متوسط منطقة تثبيط النمو لبكتريا <i>Staph. aureus</i> (mm)
0	0
2	0
4	0
6	0
8	0
10	4
100	7
200	8
400	9
600	10
800	11
1000	13
10000	16
100000	19

بسلاطاتها المختلفة التي تقاوم المضادات بمختلف أنواعها وتركيزاتها، حيث وجد في دراسة Chan EWL et al. 2017 ، ودراسة Velosoet al. 2015 أن للأسبرين تأثير قاتل على بكتريا *Staph. aureus* حتى في داخل الجسم ولذلك استخدم الأسبرين في علاج الالتهابات التي تسببها هذا النوع من البكتيريا [12, 30-32].

Abstract

Aspirin has synthesized and characterized using infrared spectral, melting point and chemical testing. Antibacterial screening was performed for different concentrations of prepared aspirin on *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* bacteria under study, which found to be an antibiotic resistance. The results showed that the biological effect of aspirin is non-existent on both types of bacteria at concentrations less than 10 µg/ml. The inhibitory effect of aspirin increases directly with the increase in concentrations, the inhibitory effect of aspirin on Gram-positive bacteria represented in *Staphylococcus aureus* is higher than its effect on Gram-negative bacteria, which represented in *Escherichia coli*, at all aspirin concentrations used in this study.

أن متوسط منطقة تثبيط النمو للبكتريا المدروسة بنوعها يتناسب طرديا مع زيادة تركيز الأسبرين، وأن تأثير الأسبرين على البكتريا موجبة الجرام المتمثلة ببكتريا *Staph. aureus* أعلى من تأثيره على بكتريا سالبة الجرام والمتمثلة ببكتريا *E. coli* (شكل 3).



شكل 3- مقارنة تأثير الأسبرين على بكتريا *Staph. aureus* و بكتريا *E. coli*

المراجع

- السعدي، زهران حميد علوان. وورنا مجاهد عبد الله الشويخ (2019)، الكشف المظهري والجزيئي عن أنظمة التدفق المعزولة من البكتيريا القولونية في إصابات المسالك البولية في كلية التربية للعلوم الصرفة إبن الهيثم قسم علوم الحياة، 2019 جامعة بغداد.
- Gawad, W.E., Helmy, O. M., Tawakkol, W. M. and Hashem, A. M. 2018 , *Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation, And Phylogenetic Grouping of Uropathogenic Escherichia coli Isolates in Egypt: The Role of Efflux Pump Mediated Resistance*. JUNDISHAPUR JOURNAL OF MICROBIOLOGY. 11(2): p. 1-7
- Polse, R.F.Y., S. Y. and Assafi, M. S. (2016). , *Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Uropathogenic E. coli Among People in Zakho, Iraq*. Int J Res Med Sci. 4(4): p. 1219-1223
- عمارة، هاني. (2010)، السموم والمخدرات بين العلم و الخيال، الطبعة الأولى، دار زهران الأردن.
- David A. Drew, S.M.C., Katherine K. Gilpin, Melanie Parziale, Emily Pond, Madeline M. Schuck, Kathleen Stewart, Meaghan Flagg, Crystal A. Rawlings, Vadim Backman, Peter .J. Carolan, Daniel C. Chung, Francis P Colizzo III, Matthew Freedman, Manish Gala, John J. Garber, Curtis Huttenhower, Dmitriy Kedrin, Hamed Khalili, Douglas S.

المناقشة

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن التأثير البيولوجي للأسبرين منعدم على البكتريا قيد الدراسة *Staph. aureus* و *E. coli* عند التراكيز 2، 4، 6، 8 µg/ml، وهذا يتفق مع دراسة Mohammed et al. 2004 حيث درس تأثير تراكيز الأسبرين من 0 إلى 1000 µg/ml، حيث وجد في دراسته أنه لا يوجد أي تأثير للأسبرين حتى تركيز 10 µg/ml [29].

وجدت الدراسة الحالية أن هناك تأثير لتراكيز الأسبرين من 10-100000 µg/ml على نمو البكتريا قيد الدراسة بنوعها *Staph. aureus* و *E. coli*، وهذا يتفق مع دراسة Mohammed et al. 2004، حيث كان للأسبرين تأثير على منطقة تثبيط النمو بعد تركيز 10 µg/ml مباشرة [29].

أوضحت هذه الدراسة أن متوسط منطقة تثبيط النمو للبكتريا المدروسة بنوعها يتناسب طرديا مع زيادة تركيز الأسبرين وهذا يتوافق مع دراسة Wang, Wong, Dailidene, et al 2004، ودراسة ZainabNgaini and Ho Mohammed et al. 2017، ودراسة Boon Kui. 2017، حيث وجد أنه مع زيادة تركيز الأسبرين زادت منطقة تثبيط النمو على أنواع البكتريا التي استخدمت في الدراسة والتي من ضمنها بكتريا *Staph. aureus* و *E. coli* ولهذا يقترح استخدامه في محاربة عدوى المستشفيات المتمثلة في بكتريا *Staph. aureus* و *E. coli* بسلاطاتيهما المختلفة التي تقاوم المضادات. حيث أوضحت دراسة ZainabNgaini and Ho Boon Kui. 2017 [10, 16, 29]

تأثير الأسبرين على البكتريا موجبة الجرام المتمثلة ببكتريا *Staph. aureus* أعلى من تأثيره على بكتريا سالبة الجرام والمتمثلة ببكتريا *E. coli* في الدراسة الحالية عند جميع التراكيز قيد الدراسة، وهذا يتفق مع دراسة ZainabNgaini and Ho Boon Kui. 2017، ودراسة Chan EWL et al. 2017 [10, 30].

للأسبرين تأثير عالي على البكتريا *Staph. aureus* حتى عند التراكيز المنخفضة وهذا يتفق مع دراستي Velosoet al. 2015؛ ولهذا يستخدم في محاربة عدوى المستشفيات المتمثلة في بكتريا *Staph. aureus*

- Stepanović, S., D. Vuković, M. Jesić, and L. Ranin, 2004. *Influence of acetylsalicylic acid (aspirin) on biofilm production by Candida species*. J Chemother. **16**(2): p. 134-8 .15
- Wang, W.H., W.M. Wong, D. Dailidienė, D.E. Berg, Q. Gu, K.C. Lai, S.K. Lam, and B.C. Wong, 2003. *Aspirin inhibits the growth of Helicobacter pylori and enhances its susceptibility to antimicrobial agents*. Gut. **52**(4): p. 490-5 .16
- Mazur, I., W.J. Wurzer, C. Ehrhardt, S. Pleschka, P. Puthavathana, T. Silberzahn, T. Wolff, O. Planz, and S. Ludwig, 2007. *Acetylsalicylic acid (ASA) blocks influenza virus propagation via its NF-kappaB-inhibiting activity*. Cell Microbiol. **9**(7): p. 1683-94 .17
- Lenette, E.H., and American Society for Microbiology., *Manual of Clinical Microbiology*. 1985, Washington, D.C. : ., for Microbiology American Society .18
- شعيب, منال رمضان, الطاهر مصطفى الحبيبي, و محمد سعيد المحيشي. 2009, *الالتهابات المهبلية البكتيرية للمترددات على عيادات أمراض النساء واستجابتها للمضادات الحيوية*, قسم الأحياء, علم الحيوان, جامعة مصراته: كلية العلوم. .19
- الفلاح, محمد فرج, عبد السلام على الميهوب و حلمى حسن الحسيني. 2001, *الكيمياء العضوية العملية*, ليبيا: دار الكتاب الوطنية, جامعة قارونس. .20
- Lawal, A., and Obaleye, J. A. 2006. *Synthesis, characterization and antibacterial activity of aspirin and paracetamol metal complexes* Nigerian society for experimental biology .BIOKEMISTRI . **19**(1): p. 9-15 .21
- Zhou, Y., G. Wang, Y. Li, Y. Liu, Y. Song, WenshuaiZheng, N. Zhang, X. Hu, S. Yan, and JihuiJia, 2012. *In Vitro Interactions between Aspirin and Amphotericin B against Planktonic Cells and Biofilm Cells of albicans and C. parapsilosis*. , in *Candida Department of Microbiology and Key Laboratory for Experimental Teratology of Chinese Ministry of Education, School of Medicine*, Shandong University, Jinan: .People's Republic of China .22
- M. L., and Grange J. Collins C. H., Patricia M, *Microbiological Methods 7th edition*. 1995: Butter Worth Heinemann .Publications .23
- Kwon, Sanford D. Markowitz, Ginger L. Milne, Norman S. Nishioka, James M. Richter, Hemant K. Roy, Kyle Staller, Molin T. Chan ASPirin Wang and Andrew, 2017 *Intervention for the REDuction of colorectal cancer risk (ASPIRED): a study protocol for a randomized controlled trial*. Trials. **18**(1): .p. 50 .16
- Awtry, E., and Loscalzo, J. , *Aspirin*. .Circulation **101**, 2000: p. 1206–1218 .6
- Thorat, M. A., Bosetti, C., Brown, ., Cuzick, J P. H., Burn, J., Cook, N. R., Ford, L. G., Jacobs, E. J., Jankowski, J. A., La Vecchia, C., Law, M., Meyskens, F., Rothwell, P. M., Senn, H. J., and Umar, A. 2015 , *Estimates of benefits and harms of prophylactic use of aspirin in the general population*. official journal of the European Society for Medical .Oncology. **26**(1): p. 47–57 .7
- Jawetz, E., Melnick, J. A. and Adelberg, E. A, 2016. *Review of Medical Microbiology* .McGraw-Hill education, (27thed): p. 851 .8
- الشبيب, شهاب, and أسفار, علم الأحياء الدقيقة المعوية, النظري والتطبيقي. 1998, عمان – الأردن: مكتبة الثقافة للنشر والتوزيع. .9
- Ngaini, Z. and H.B. Kui, 2017 *SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF AZO AND ASPIRINAZO DERIVATIVES (Sintesis dan Aktiviti Antibakteria Terhadap Azodan Terbitan Azo-Aspirin)*. Malaysian Journal of Analytical Sciences . **21** (5): p. 1183-1194 .10
- Warner, T.D., Nylander, S. and Whatling, C, 2011 *Anti-platelet therapy: cyclooxygenase inhibition and the use of aspirin with particular regard to dual anti-platelet therapy*. British Journal of Clinical .Pharmacology, : p. 1365 – 2125 .11
- Hannachi, N., G. Habib, and L. Camoin-Jau, 2019 *Aspirin Effect on Staphylococcus aureus-Platelet Interactions During (Infectious Endocarditis)*. Front Med., **6**(217) .12
- Y., Paitan. 2018 *Current Trends in Antimicrobial Resistance of Escherichia coli*. Curr Top Microbiol Immunol, . **416**: p. 181-211 .13
- John, J., Jr., *The treatment of resistant staphylococcal infections*. F1000Res, 1000. .(26)9 .14

- Balows A.,2003 *Manual of clinical microbiology* 8ed. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. Vol. 2, Washington. 2113 .24
- المشيني, يوسف.إبراهيم .1990, علم الأحياء الدقيقة الطبي والتشخيصي الجزء الثاني,, عمان – الأردن: دار المستقبل للنشر والتوزيع. .25
- Bauer, A.W., W.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck,1966. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk Technol. method.* Tech Bull Regist Med .36(3): p. 49-52 .26
- Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J., and Shadomy H. J.,1985 *Manual of Clinical Microbiology.* 4 ed, Washington D.C: American Society For Microbiology .27
- .1997Chernecky C . C. and Berger J . .B., *diagnostics Laboratory Tests and procedures.* 2 ed: w . B Saunders .Publication .28
- Alem, M.A. and L.J.2004. Douglas, *Effects of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms and planktonic cells of Candida albicans.* p. : (1)48 .Antimicrob Agents Chemother, .41-7 .29
- Chan, E.W.L., Z.Y. Yee, I. Raja, and J.K.Y. Yap,2017. *Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* J Glob Antimicrob .Resist. **10**: p. 70-74 .30
- Veloso, T.R., Y.A. Que, A. Chaouch, M. Giddey, J. Vouillamoz, V. Rousson, P. Moreillon, and J.M. Entenza,2015. *Prophylaxis of experimental endocarditis with antiplatelet and antithrombin agents: a role for long-term prevention of infective endocarditis in humans?* J Infect Dis. .211(1): p. 72-9 .31
- Eisen, D.P. and E.S. McBryde,2015. *An Association Between Aspirin Use in Human Cases of Infective Endocarditis and Reduced Systemic Embolism Is Shown in Observational Studies.* J Meta-analysis of Infect Dis. Aug 15;212(4):673-4. doi: .10.1093/infdis/jiv131. Epub 2015 Mar 9 .32