

دراسة التأثير البيولوجي لتراكيز مختلفة من حمض السالسليك على بكتيريا اشريشيا كولاي وبكتيريا استيفيلوكوكس اوريس

منال رمضان شعيب

قسم الأحياء- كلية التربية- جامعة مصراتة- ليبيا

manar.elelm@gmail.com

أسماء محمد الدنفور

قسم الأحياء- كلية التربية- جامعة مصراتة- ليبيا

amohamedmohamedalid@gmail.com

زينب عبد الوهاب السويح

قسم الكيمياء- كلية التربية- جامعة مصراتة- ليبيا

zaswayeh@gmail.com

الملخص:

تستطيع البكتيريا أن تكون مقاومة للعديد من المضادات الحيوية، وفي وقت قريب سوف تكون المضادات الحيوية المتداولة غير قادرة على القضاء على العديد من أنواع البكتيريا. لذلك فإن اكتشاف مضادات حيوية جديدة أصبح الآن من أولويات الكيميائيين ومختري الأدوية والعقاقير. أجريت الاختبارات البيولوجية للتراكيز المختلفة لحمض السالسليك على بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبكتيريا *Escherichia coli* قيد الدراسة والمقاومة للمضادات الحيوية لمعرفة حساسية البكتيريا لتلك التراكيز، حيث أظهرت النتائج أن التأثير البيولوجي لحمض السالسليك منعدم على البكتيريا بنوعيهما عند التراكيز الأقل من $10 \mu\text{g/ml}$ ، ويزداد تأثير حمض السالسليك طرديا كلما زاد التركيز، كما أن تأثير حمض السالسليك على بكتيريا موجبة الجرام المتمثلة في بكتيريا *Staphylococcus aureus* أعلى من تأثيره على بكتيريا سالبة الجرام المتمثلة في بكتيريا *Escherichia coli* عند جميع تراكيز حمض السالسليك المستخدمة في هذه الدراسة.

الكلمات المفتاحية: حمض السالسليك -التأثير البيولوجي - بكتيريا *Staphylococcus aureus* -

بكتيريا *Escherichia coli* - منطقة تثبيط النمو.

Antibacterial activity of selected concentration of Salicylic acid against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Manal Ramadan Shaib

Biology Department- College of Education- Misurata University- Libya

Asma Mohamed Danfour

Biology Department- College of Education- Misurata University- Libya

Zaineb Aswayeh

Chemistry Department- College of Education- Misurata University- Libya

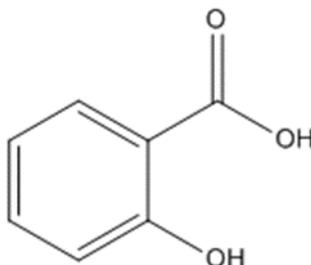
Abstract:

Biological tests were performed for different concentrations of Salicylic acid on *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* bacteria, classified as antibiotic resistance. To find out the sensitivity of bacteria to those concentrations, as the results showed that the biological effect of Salicylic acid is non-existent on both types of bacteria at concentrations less than 10 µg/ml. The effect of Salicylic acid increases directly with the increase in concentrations, the effect of Salicylic acid on Gram-positive bacteria represented in *Staphylococcus aureus* is higher than its effect on Gram-negative bacteria, which represented in *Escherichia coli*, at all Salicylic acid concentrations used in this study .

Key words: salicylic acid – Biological effect – *Staphylococcus aureus* - *Escherichia coli* – inhibition zone .

المقدمة:

يعتبر حمض الساليساليك (SA) salicylic acid أول مستخلص نباتي طبيعي، وهو مركب كيميائي بسيط جدا ينتمي إلى طائفة الأحماض الكربوكسيلية يحتوي على حلقة اروماتية ومجموعة كربونيل ومجموعة هيدروكسيل. وزنه الجزيئي 138.122 g/mol وصيغته الجزيئية (C7H6O3) وهو مادة صلبة بيضاء اللون درجة انصهاره 158.6°، ويرجع تاريخ اكتشاف حمض الساليساليك عندما لاحظ القدماء أن لحاء شجر الصفصاف الأبيض يزيل آلام الحمى المصاحبة لمرض الملاريا وعند استخلاص المادة الفعالة Salicin وجد أنها تتحول إلى حمض الساليساليك في الجسم (Jack, 1997; Weissmann,) (1991).



شكل (1) الصيغة البنائية لحمض الساليساليك

يعتبر حمض الساليساليك أحد مضادات الالتهاب غير الستيرويدية -Non-Steroidal Anti-Inflammatory drugs NSAID. وهو يندرج تحت طائفة الساليسلات ويعمل على تثبيط التخليق الحيوي لأنزيمات الأكسدة الحلقية المسؤولة على إفراز مادة Prostaglandins الشبيهة بالهرمونات المسؤولة عن ظهور أعراض الاحمرار والانتفاخ وارتفاع الحرارة بعد الإصابة (Mahmud & Rosen, 2019; Smith, Ford-Hutchinson, Walker, & Slack, 1979). يعتبر حمض الساليساليك احد نواتج استقلاب الاسبيرين (acetyl salicylic acid) الذي بدوره يتحول إلى SA في بلازما الدم والكبد والجهاز الهضمي بواسطة أنزيم الاستراز (Davison, 1971). هناك العديد من الاستخدامات لحمض الساليساليك طبيا وتجاريا. فقد وجد أن حمض الساليساليك والاستيل ساليساليك اسد يعملان على منع الإصابة بسرطان القولون، وأيضا هما يملكان خصائص وقائية ضد سرطانات الثدي والرئتين (Oh, Qian, Brenner, & Lemasters, 2003). كما انه مستخدم كمادة حافظة للمواد الغذائية (Fang, Fu, Tao, Liu, & Cui, 2020)، وهو أحد عوامل التقشير المستخدمة حديثا للوجه وعلاج موضعي لحب الشباب (In Jae, Dong Ju, Dong Hyun, Yoon, & Lee, 2018)، وله العديد من الاستخدامات الطبية عند تركيز مختلفة تتراوح من 0.5% -50% كما هو موضح في (جدول 1) (Adamczak, Ożarowski, & Karpiński, 2019; Arif, 2015; Lee & Kim, 2003).

جدول (1) يوضح استخدامات حمض الساليسليك عند نسب مختلفة

الاستخدام	تركيز الساليسالك اسد
علاج موضعي لحب الشباب (منتجات العناية بالجلد - منظفات - لوشن - محاليل)	10-0.5 %
علاج الصدفية - جلد السمكة	6-3 %
الوارت - مسمار القدم Warts-Corns	40-5 %
علاج تصبغان وحروق الوجهة	50 %
مقشرات كيميائية سطحية للوجه	30-20 %
Superficial chemical Peeling of the face	

يعد الانتشار الواسع لمقاومة العقاقير (MDR (multiple drug resisten) من قبل البكتيريا سالبة الجرام مثل بكتيريا اشريشيا كولاي (*Escherichia coli* (E. coli) وبكتيريا موجبة الجرام مثل بكتيريا الستافيلوكوكس اوريوس (*Staphylococcus aureus*); *S. aureus*) من أهم التحديات التي تواجه مكتشفي الأدوية وتجربهم على البحث عن بدائل للمضادات الحيوية القديمة. مؤخرا هناك تسارع مهول في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية المستعملة وذلك يعزي لعدة أسباب منها الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية دون الرجوع إلى الوصفات طبية، وأيضا بسبب قلت أنواع المضادات الحيوية المستخدمة، والبطء الشديد في إنتاج مضادات حيوية جديدة (Bhagirath AY, 2019;) (Cerceo, Deitelzweig, Sherman, & Amin, 2016).

تعد صفة المقاومة للمضادات الحيوية التي تمتلكها البكتيريا إحدى أهم المشاكل الصحية والاقتصادية في العالم، الأمر الذي دفع الباحثين إلى التحري عن مضادات جديدة للتغلب على السلالات البكتيرية المقاومة إذ تؤدي الإصابة بالبكتيريا المقاومة إلى طول مدة العلاج وزيادة خطورة الإصابة. صفة المقاومة هذه تكون إما تكون فطرية أو مكتسبة، إن السبب الرئيسي لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية الواسعة الطيف نتيجة الاستعمال المفرط لهذه المضادات الحيوية والتي تمثل خطرا كبيرا على الصحة العامة لأنها مقاومة لمختلف مجاميع المضادات الحيوية (Gawad, 2018; Polse, 2016; السعدي & الشويخ، 2019).

في ظل تسارع وتيرة ظهور سلالات بكتيرية مقاومة للمضادات الحيوية بشكل شبه كامل أو كامل، تتظافر الجهود وتنشط الجهات العاملة في الصحة المحلية والعالمية بشكل كبير في الآونة الأخيرة لوضع حلول من شأنها الحفاظ على المنجز البشري الكبير المتمثل في المضادات الحيوية والتي من خلالها استطاع الإنسان إنقاذ أرواح ملايين من البشر، قامت منظمة الصحة العالمية في عام 2017 بنشر قائمة مكونة من 12 بكتيريا تمثل خطر كبير لقدرتها العالية على مقاومة المضادات الحيوية (Cederlund, 1993; Hendrickson D.A. E.H. Balows A., 1985; Kapoor, 2017; الشويخ، 2016).

لقد أثبتت 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*. تم دراسة التأثير البيولوجي لحمض الساليسالك على كلا نوعين البكتيريا تحت الدراسة وتم تأكيد أن لحمض الساليسالك تأثير قاتل للبكتيريا (J. Monte, A. C.) (Abreu, A. Borges, L. C. Simões, & M. Simões, 2014). كما تمت دراسته كبوليمر مستخدم في إنتاج الأقمشة اللدائنية *Viscose fabric* المضادة للميكروبات وقد اثبتت فعاليته البيولوجية ضد بكتيريا الاشريشيا كولاى (Kantouch, El-Sayed, Salama, El-) (Kheir, & Mowafi, 2013)، بالإضافة إلى دراسته كمضاد فطري على فطر البنسيلينيوم وفطر *Magnaporthe grisea* (da Rocha Neto, Maraschin, & Di Piero, 2015; Daw, Zhang, & Wang, 2008). كما أوضحت بعض الدراسات ان ل SA تأثير مؤكسد وسام للمخلوقات البحرية عند تراكيز عالية منه وعند pH منخفضة للمياه البحرية (Doi & Horie, 2010; Bruno Nunes, 2019; B. Nunes et al., 2015; Zivna et al., 2015). وهناك العديد من الدراسات التي تطرقت إلى استخدام حمض الساليسالك كمضاد ميكروبي ولكن أحيانا يصعب المقارنة بسبب استخدام طرق بيولوجية مختلفة أو استخدام تراكيز وقيم pH مختلفة (Adamczak et al., 2019; Fang et al., 2020; Kokoska, Kloucek,) (Leuner, & Novy, 2019; Pannu et al., 2011; Rodríguez-López, Rincón-Fontán, Vecino, Cruz, & Moldes, 2022).

نظرا للاستخدام الواسع لحمض الساليسالك وبما انه امن للاستعمال البشري ومستخدم بكثرة جاءت فكرة تجربته على نوعين من البكتيريا هما *Staphylococcus aureus* وبكتريا *Escherichia coli* الأكثر شيوعا وتسببا للأمراض (John, 1000; Paitan, 2018). الهدف من هذه الورقة البحثية هو دراسة التأثير البيولوجي لتراكيز مختلفة من حمض الساليسالك على بكتيريا اشريشيا كولاي وبكتيريا استيفيلوكوكس اورييس.

المواد وطرق العمل:

أولا: - المواد:

-المواد المستخدمة في الكشف على البكتريا:

*الأصباغ Stains:

تم استعمال صبغة الجرام (Gram stain) للعينات المعزولة باستخدام الطريقة الكلاسيكية (Lennette, 1985؛ شعيب، الحقبلي، & المحيشي، 2009).

*الكواشف والاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في التعرف على البكتيريا:

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

Catalase test-- Coagulase Test- API 20E (biomerieux, France)
(شعيب et al., 2009).

*أوساط الزرع Culture Media

تم تحضير الأوساط الغذائية حسب مواصفات الشركة المصنعة لها وحسب نوع الوسط المستخدم وهي MacConkey Agar-Blood Agar-Mannitol agar-Nutrient Agar-Muler-Hinton agar (شعيب et al., 2009).

تحضير التراكيز المختلفة لحمض الساليسالك:

تم الحصول على حمض الساليسالك من شركة Riedel-deHaen بنسبة نقاوة 99.9%. حضرت المحاليل المستخدمة في هذه الدراسة بطريقة التخفيف المتسلسل serial dilution من المحلول القياسي stock solution 100.000 g/ml في مذيب (Dimethyl Sulfoxid (DMSO

حيث تم تحضير التراكيز 2-4-6-8-10-100-200-400-600-800-1000-10.000-
100.000 μg/ml.

ثانياً: طرق العمل:

جمع العينات:

أخذت العينات الخاصة بالدراسة من مختبر مستشفى مصراتة للطواري ومختبر مصراتة المركزي والتي ترجع إلى عينات للمرضى المتوردين 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 (شعيب 2009، et al.)، بمعمل التحليل الآلي بقسم الكيمياء ومعمل قسم الأحياء بكلية التربية جامعة مصراتة

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 (Balows A., 2003; Collins) (FDH)Food and Drug Administration C. H., Patricia M. L., & Grange J. M, 1995; Hudzicki, 2009; Zhou et al., 2012؛ شعيب 2009، et al.).

تم اختبار حساسية البكتريا *Staph.aureus* و *E. coli*، ومدى فاعلية حمض الساليساليك عليها بعد التأكد من نوع البكتريا، باستخدام طريقة القرص المنتشر، حيث تم تشبيح اقراص اوراق الترشيح المعقمة بمحلول مادة حمض الساليساليك المحضرة بتراكيز 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 0.5% MckFarland وبواسطة المساحة القطنية التي شبت بالمعلق البكتيري

ووزعت البكتريا قيد الدراسة على وسط Muler-Hinton agar، ثم تركت الأطباق لمدة 10 دقائق لتجف ثم وزعت أقراص اوراق الترشيح المشبعة بمحلول حمض الساليسيليك بتراكيز مختلفة، ووضعت اقراص ورق ترشيح معقمة ومشبعة بمذيب DMSO كسيطرة (Control)، وحضنت لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية، ثم تم قياس منطقة التثبيط بواسطة المسطرة بالسنتيمترات، ومدى فاعلية مادة حمض الساليسيليك على البكتريا قيد الدراسة (Bauer, Kirby, Sherris, & Turck, 1966; Chernecky C . C. & Berger J . B., 1997; Lennette E. H., & Balows A., Hausler W. J., & Shadomy H. J., 1985). (1990).

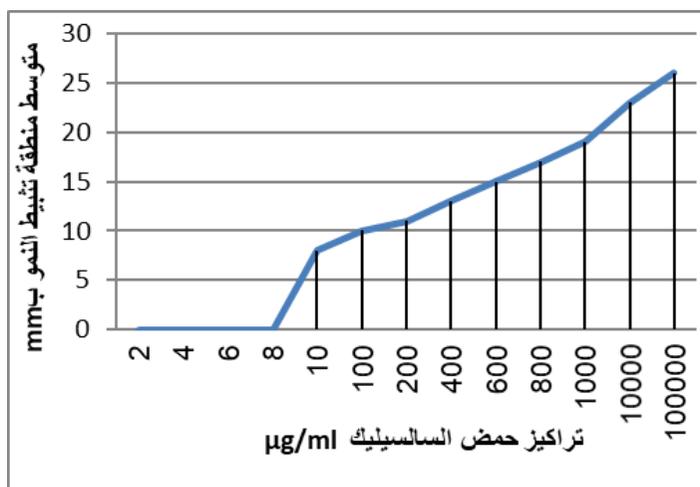
النتائج:

تم دراسة 13 تركيز من حمض الساليسيليك على بكتريا Staph. aureus و بكتريا E. coli، وجد أنه لا يوجد أي تأثير على البكتريا المدروسة عند التراكيز 2، 4، 6، 8 g/ml، و أظهرت الدراسة أن هناك تأثير لتراكيز حمض الساليسيليك من 10-100000 g/ml على نمو البكتريا قيد الدراسة بنوعها، حيث كان متوسط منطقة تثبيط النمو في Staph. aureus عند التركيز المدروسة (جدول2، شكل2) كالتالي:

جدول2- تأثير تراكيز حمض الساليسيليك على بكتريا Staph. aureus.

التركيز µg/ml	متوسط منطقة تثبيط النمو لبكتريا Staph. Aureus (mm)
0	0
2	0
4	0
6	0
8	0
10	8
100	10
200	11

13	400
15	600
17	800
19	1000
23	10000
26	100000



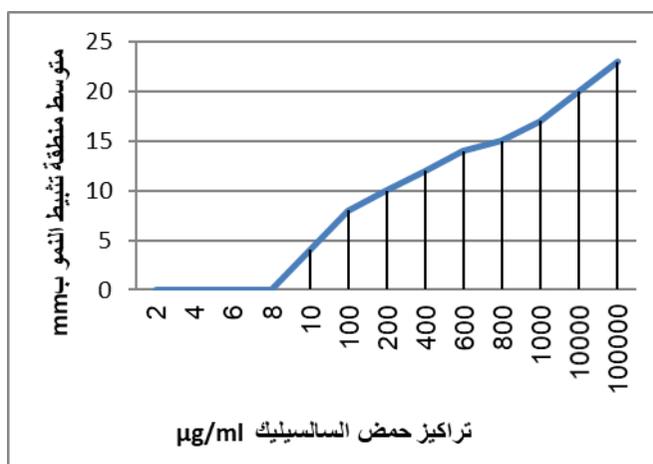
شكل (2) متوسط منطقة تثبيط النمو بـ mm لتراكيز حمض الساليسيليك µg/ml على بكتريا *Staph. Aureus*

Aureus

جدول 3- تأثير تراكيز حمض الساليسيليك على بكتريا *E. coli*.

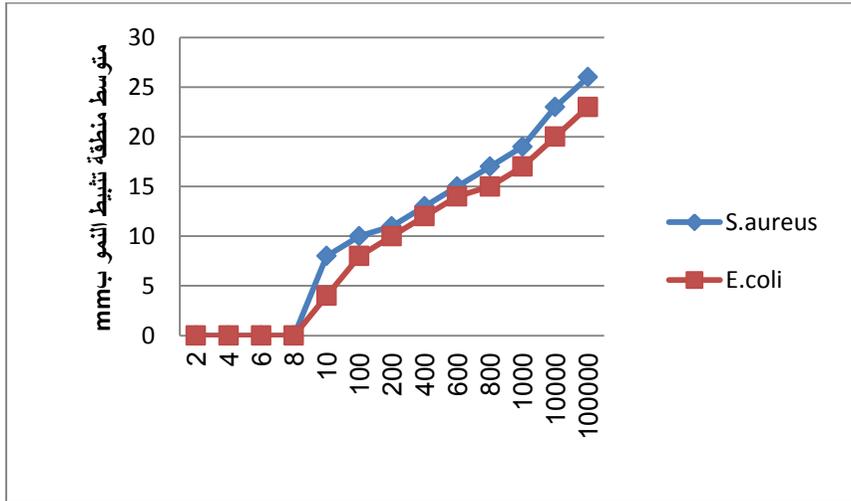
التركيز µg/ml	متوسط منطقة تثبيط النمو لبكتريا <i>E. coli</i> (mm)
0	0
2	0
4	0
6	0

0	8
4	10
8	100
10	200
12	400
14	600
15	800
17	1000
20	10000
23	100000



شكل (3) متوسط منطقة تثبيط النمو بـ mm لتراكيز حمض الساليسيليك µg/ml على بكتريا *E.coli*

أن متوسط منطقة تثبيط النمو للبكتريا المدروسة بنوعيهما يتناسب طرديا مع زيادة حمض الساليسيليك، وأن تأثير حمض الساليسيليك على البكتريا موجبة الجرام المتمثلة ببكتريا *Staph. Aureus* أعلى من تأثيره على بكتريا سالبة الجرام والمتمثلة ببكتريا *E.coli* (شكل3).



شكل (3) مقارنة تأثير حمض الساليسيليك على بكتريا *Staph.aureus* وبكتريا *E.coli*.

المناقشة:

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن التأثير البيولوجي لحمض الساليسيليك منعدم على البكتريا قيد الدراسة *Staph. aureus* و *E. coli* عند التراكيز 2، 4، 6، 8، g/ml وهذا يتفق مع دراسة Mohammed et al 2004. حيث درس تأثير تراكيز حمض الساليسيليك من 0 إلى 1000 g/ml، حيث وجد في دراسته أنه لا يوجد أي تأثير لحمض الساليسيليك حتى تركيز 10 g/ml (Douglas, 2004).

وجدت الدراسة الحالية أن هناك تأثير للتراكيز حمض الساليسيليك من 10-100000 g/ml على نمو البكتريا قيد الدراسة بنوعيهما *Staph.aureus* و *E. coli*، وهذا يتفق مع دراسة 2004 Mohammed et al، حيث كان لحمض الساليسيليك تأثير على منطقة تثبيط النمو بعد تركيز 10 g/ml مباشرة (Douglas, 2004).

أوضحت هذه الدراسة أن متوسط منطقة تثبيط النمو للبكتريا المدروسة بنوعيتها يتناسب طرديا مع زيادة تركيز حمض الساليسيليك وهذا يتوافق مع دراسة Wang, Wong, Dailidienne, et al عام 2003، ودراسة Mohammed et al 2004، ودراسة Zainab Ngaini and Ho 2003، ودراسة Boon Kui. 2017، حيث وجد أنه مع زيادة حمض الساليسيليك 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 بسلاسلتيهما المختلفة التي تقاوم المضادات. حيث أوضحت دراسة Zainab Ngaini and Ho 2003، ودراسة Pappano et al. 1985 أن لحمض الساليسيليك تأثير قاتل على كلا نوعي البكتريا (Pappano et al., 2004; Ngaini & Kui, 2017; Douglas, 2004; Monte et al., 2003; Wang et al., 1985). كما أن نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة E. coli Planktonic Cells التي تمت على خلايا مختلطة من كلا نوعين البكتيريا تحت الدراسة حتى تركيز 5000 g/ml (Joana 18 mm Monte, Ana C. Abreu, Anabela Borges, Lúcia Chaves Simões, & Manuel Simões, 2014). تأثير حمض الساليسيليك 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 Zainab Ngaini and Ho Boon Kui. 2017، ودراسة Chan EWL et al. 2017 (Chan, Yee, Raja, & Yap, 2017; Ngaini & Kui, 2017). لحمض الساليسيليك تأثير عالي على البكتريا Staph. aureus حتى عند التراكيز المنخفضة وهذا يتفق مع دراستي Adamczak et al. 2019؛ ولهذا يستخدم في محاربة عدوى المستشفيات المتمثلة في بكتريا Staph. aureus بسلاسلتيها المختلفة التي تقاوم المضادات بمختلف أنواعها وتركيزاتها، حيث وجد في دراسة Chan EWL et al. 2017، 2015 أن لحمض الساليسيليك تأثير قاتل على بكتريا Staph. aureus حتى في داخل الجسم والجري البولي (Adamczak et al., 2019; Chan et al., 2017).

وفي دراسات أخرى أجريت على عدد من المرضى الذين يعانون من حب الشباب، الذي تكون فيه بكتيريا الستافيلوكوكس اوريس هي إحدى أنواع البكتيريا الأساسية المعزولة (MOON et al., 2012)، تم في هذه الدراسات استخدام حمض الساليسليك وأدوية أخرى حيث أثبتت أن لهذا الحمض قدره عاليه على إيقاف نشاط كلا نوعين البكتيريا قيد الدراسة منفردا أو عند خلطه مع أدوية أخرى. وفي دراسة et al. Blaskovich 2019 التي لخصت أن اقل تركيز قاتل Minimum Inhibition Concentration (MIC) MIC E. coli = 16000 µg/mL and MIC S. aureus 32000–64000 µg/mL وهو ما يتوافق مع الدراسة الحالية التي اطهرت أن التركيز الفعال والقاتل يبدأ عند (Blaskovich, Elliott, Kavanagh, عند 100000 µg/mL (Blaskovich, Elliott, Kavanagh, عند 100000 µg/mL (Blaskovich, Elliott, Kavanagh, عند 100000 µg/mL Ramu, & Cooper, 2019; Pannu et al., 2011) كما ان بعض المقالات العلمية دعمت فكرة ان حمض الساليسليك يقلل من النشاطية البيولوجية لبعض المضادات الحيوية (Hartog, Menashe, Kler, & Yaron, 2010; Price, Lee, & Gustafson, 2000; Riordan et al., 2007).

المراجع:

- السعدي، ز. ح. ع.، & الشويخ، ر. م. ع. هـ. (2019). الكشف المظهري والجزيئي عن انظمة التدفق المعزولة من البكتيريا القولونية في اصابات المسالك البولية جامعة بغداد.
- الشويخ، ر. م. ع. ا. (2016). المضادات الحيوية و استعمالاتها. الاردن: دار دجلة.
- المشيني، & ، ي. إ. (1990). علم الأحياء الدقيقة الطبي والتشخيصي الجزء الثاني. عمان - الأردن: دار المستقبل للنشر والتوزيع.
- شعيب، م. ر.، الحقبى، ا. م.، & المحيشي، م. س. (2009). الالتهابات المهبلية البكتيرية للمترددات على عيادات أمراض النساء واستجابتها للمضادات الحيوية. جامعة مصراتة، كلية العلوم.
- Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpiński, T. M. (2019).
- Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. J Clin Med, 9 .(1)
- Arif, T. (2015). salicylic acid as peeling agent: a comprehensive review. Clin Cosmet Investig Dermatol(8), 455-461 .
- Balows A. (2003). Manual of clinical microbiology (8 ed. Vol. 2). Washington.

-
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Tech Bull Regist Med Technol*, 36(3), 49-52 .
- Bhagirath AY, L. Y., Patidar R et al. . (2019). Two component regulatory systems and antibiotic resistance in Gram-negative pathogens. *Int J Mol Sci*(20), 1781 .
- Blaskovich, M. A. T., Elliott, A. G., Kavanagh, A. M., Ramu, S., & Cooper, M. A. (2019). In vitro Antimicrobial Activity of Acne Drugs Against Skin-Associated Bacteria. [Research Support, Non-U S Gov't]. *Sci Rep*, 9(1), 019-50746 .
- Cederlund, H. M., P.A. . (1993). Antibacterial activities of non-antibiotic drugs. *J Antimicrob Chemother*, 32, 355–356 .
- Cerceo, E., Deitelzweig, S. B., Sherman, B. M., & Amin, A. N. (2016).
- Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections in the Hospital Setting: Overview, Implications for Clinical Practice, and Emerging Treatment Options. [Review]. *Microb Drug Resist*, 22(5), 412-431 .
- Chan, E. W. L., Yee, Z. Y., Raja, I., & Yap, J. K. Y. (2017). Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. [Research Support, Non-U S Gov't]. *J Glob Antimicrob Resist*, 10, 70-74 .
- Chernecky C . C., & Berger J . B. (1997). *Laboratory Tests and diagnostics procedures* (2 ed.): w . B Saunders Publication.
- Collins C. H., Patricia M. L., & Grange J. M. (1995). *Microbiological Methods* 7th edition: Butter Worth Heinemann Publications.
- da Rocha Neto, A. C., Maraschin, M., & Di Piero, R. M. (2015). Antifungal activity of salicylic acid against *Penicillium expansum* and its possible mechanisms of action. [Research Support, Non-U S Gov't]. *Int J Food Microbiol*, 215, 64-70 .
- Davison, C. (1971). Salicylate metabolism in man. [Review]. *Ann N Y Acad Sci*, 179, 249-268 .
- Daw, B. D., Zhang, L. H., & Wang, Z. Z. (2008). Salicylic acid enhances antifungal resistance to *Magnaporthe grisea* in rice plants. *Australasian Plant Pathology*, 37(6), 637-644. doi: 10.1071/ap08054
- Doi, H., & Horie, T. (2010). Salicylic acid-induced hepatotoxicity triggered by oxidative stress. [Research Support, Non-U S Gov't]. *Chem Biol Interact*, 183(3), 363-368 .

-
- Douglas, M. A. S. A. L. J. (2004). Effects of Aspirin and Other Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Biofilms and Planktonic Cells of *Candida albicans*. . **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, 48(1), 41-47 .
- Fang, Y., Fu, J., Tao, C., Liu, P., & Cui, B. (2020). Mechanical properties and antibacterial activities of novel starch-based composite films incorporated with salicylic acid. *Int J Biol Macromol*, 155, 1350-1358 .
- Gawad, W. E., Helmy, O. M., Tawakkol, W. M. & 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), 1-7 .
- Hartog, E., Menashe, O., Kler, E., & Yaron, S. (2010). Salicylate reduces the antimicrobial activity of ciprofloxacin against extracellular *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, but not against *Salmonella* in macrophages. [Research Support, Non-U S Gov't]. *J Antimicrob Chemother*, 65(5), 888-896 .
- Hendrickson D.A. E.H. Balows A., H. W. J. S. H. J. (1985). Reagents and stains. In: Lennette. American society for Microbiology, Washington., *Manual of Clinical Microbiology*(4), 1093-1107 .
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American society for Microbiology, Tuesday, 08 December .
- In Jae, J., Dong Ju, H., Dong Hyun, K., Yoon, M. S., & Lee, H. J. (2018). - Comparative study of buffered 50% glycolic acid (pH 3.0) + 0.5% salicylic acid solution vs Jessner's solution in patients with acne vulgaris. [Comparative Study Randomized Controlled Trial]. *J Cosmet Dermatol*, 17(5), 797-801 .
- Jack, D. B. (1997). One hundred years of aspirin. [Historical Article]. *Lancet*, 350(9075), 437-439 .
- John, J., Jr. (1000). The treatment of resistant staphylococcal infections. [Review]. *F1000Res*, 26 .(9)
- Kantouch, A., El-Sayed, A. A., Salama, M., El-Kheir, A. A., & Mowafi, S. (2013). Salicylic acid and some of its derivatives as antibacterial agents for viscose fabric. *Int J Biol Macromol*, 62, 603-607 .
- Kapoor, J., Saigal, S. & Elongavan, A. (2017). Action and Resistance Mechanisms of Antibiotics: A Guide for Clinicians. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.*, 33(3), 300-305 .

- Kokoska, L., Kloucek, P., Leuner, O., & Novy, P. (2019). Plant-Derived Products as Antibacterial and Antifungal Agents in Human Health Care. [Review]. *Curr Med Chem*, 26(29), 5501-5541 .
- Lee, H. S., & Kim, I. H. (2003). Salicylic acid peels for the treatment of acne vulgaris in Asian patients. [Clinical Trial]. *Dermatol Surg*, 29(12), 1196-1199 .
- Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J., & Shadomy H. J. (1985). *Manual of Clinical Microbiology* (4 ed.). Washington D.C: American Society For Microbiology.
- Lennette, E. H., & American Society for Microbiology. (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology.
- Mahmud, S., & Rosen, N. (2019). History of NSAID Use in the Treatment of Headaches Pre and Post-industrial Revolution in the United States: The Rise and Fall of Antipyrine, Salicylic Acid, and Acetanilide. [Historical Article Review]. *Curr Pain Headache Rep*, 23(1), 019-0744 .
- Monte, J., Abreu, A. C., Borges, A., Simões, L. C., & Simões, M. (2014). Antimicrobial Activity of Selected Phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and Their Biofilms. *Pathogens*, 3(2), 473-498 .
- Monte, J., Abreu, A. C., Borges, A., Simões, L. C., & Simões, M. (2014). Antimicrobial Activity of Selected Phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and Their Biofilms. *pathogens*, 3, 473-498. doi: 10.3390
- MOON, S. H., ROH, H. S., KIM, Y. H., KIM, J. E., KO, J. Y., & RO, Y. S. (2012). Antibiotic resistance of microbial strains isolated from Korean acne patients. *Journal of Dermatology*, 39, 1-5. doi: 10.1111
- Ngaini, Z., & Kui, H. B. (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), 1183-1194. doi: <https://doi.org/10.17576/mjas-2017-2105-23>.
- Nunes, B. (2019). Acute ecotoxicological effects of salicylic acid on the Polychaeta species *Hediste diversicolor*: evidences of low to moderate pro-oxidative effects. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(8), 7873-7882. doi: 10.1007/s11356-018-04085-y
- Nunes, B., Campos, J. C., Gomes, R., Braga, M. R., Ramos, A. S., Antunes, S. C., & Correia, A. T. (2015). Ecotoxicological effects of salicylic acid in

the freshwater fish *Salmo trutta fario*: antioxidant mechanisms and histological alterations. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 667-678. doi: 10.1007/s11356-014-3337-2

-Oh, K. W., Qian, T., Brenner, D. A., & Lemasters, J. J. (2003). Salicylate enhances necrosis and apoptosis mediated by the mitochondrial permeability transition. [Research Support, U S Gov't, P H S]. *Toxicol Sci*, 73(1), 44-52 .

-Paitan, Y. (2018). Current Trends in Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*. [Review]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 416, 181-211 .

- Pannu, J., McCarthy, A., Martin, A., Hamouda, T., Ciotti, S., Ma, L., . . .

- Baker, J. R., Jr. (2011). In vitro antibacterial activity of NB-003 against *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Chemother*, 55(9), 4211-4217 .

- Pappano, N. B., Puig de Centorbi, O., Debattista, N. B., Calleri de Milan, C., Borkowski, E. J., & Ferretti, F. H. (1985). [Kinetics of the bacteriostatic activity of natural and synthetic chalcones on a strain of *Staphylococcus aureus*]. [Comparative Study English Abstract Research Support, Non-U S Gov't]. *Rev Argent Microbiol*, 17(1), 27-32 .

- Polse, R. F. Y., S. Y. and Assafi, M. S. (2016). (2016). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Uropathogenic *E. coli* Among People in Zakho, Iraq. *Int J Res Med Sci*, 4(4), 1219-1223 .

- Price, C. T., Lee, I. R., & Gustafson, J. E. (2000). The effects of salicylate on bacteria. [Research Support, Non-U S Gov't Review]. *Int J Biochem Cell Biol*, 32(10), 1029-1043 .

- Riordan, J. T., Muthaiyan, A., Van Voorhies, W., Price, C. T., Graham, J. E., Wilkinson, B. J., & Gustafson, J. E. (2007). Response of *Staphylococcus aureus* to salicylate challenge. [Research Support, N I H, Extramural]. *J Bacteriol*, 189(1), 220-227 .

- Rodríguez-López, L., Rincón-Fontán, M., Vecino, X., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2022). Study of biosurfactant extract from corn steep water as a potential ingredient in antiacne formulations. *J Dermatolog Treat*, 33(1), 393-400 .

- Smith, M. J. H., Ford-Hutchinson, A. W., Walker, J. R., & Slack, J. A. (1979). Aspirin, salicylate and prostaglandins. *Agents and Actions*, 9(5), 483-487. doi: 10.1007/bf 01968116

Wang, W. H., Wong, W. M., Dailidienne, D., Berg, D. E., Gu, Q., Lai, K. C., .

- Wong, B. C. (2003). Aspirin inhibits the growth of *Helicobacter pylori* and enhances its susceptibility to antimicrobial agents. [Research Support, Non-U S Gov't Research Support, U S Gov't, P H S]. *Gut*, 52(4), 490-495 .

-
- Weissmann, G. (1991). Aspirin. [Comparative Study Historical Article]. Sci Am, 264(1), 84-90 .
- Zhou, Y., Wang, G., Li, Y., Liu, Y., Song, Y., WenshuaiZheng, . . . JihuiJia. (2012). In Vitro Interactions between Aspirin and Amphotericin B against Planktonic Cells and Biofilm Cells of *Candida albicans* and *C. parapsilosis*. . Shandong University, Jinan, People's Republic of China .
- Zivna, D., Sehonova, P., Plhalova, L., Marsalek, P., Blahova, J., Prokes, M., . . . Svobodova, Z. (2015). Effect of salicylic acid on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). [Research Support, Non-U S Gov't]. Environ Toxicol Pharmacol, 40(1), 319-325 .