وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية– قسم علوم الحياة

عنوان البحث

تقييم كفاءة زيوت ومستخلصات نبات اكليل الجبل كمثبطات حيوية ضد بعض البكتريا العزلة من حالات سريرية

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة كلية التربية – جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

اعداد الطالبة

تمارة على جاسم جلاوي

باشراف

ا. م.

علي عبد الرحيم الناشي

2019

اهداء

اهدي ثمرة جهدي هذا الى الذين لولاهم لما اكملته....

سر نجاحي ونور دربي .... ابي

الى نبع المحبة والحنان والوفاء واغلى ما املك

الى من اشتاق الى رؤيتها ... والدتي الحبيبة..

الى من احن واشتاق اليهم دائماً....

الى من هم عزوتي وسندي في الحياة... اخوتي

الى من ساهم في انجاز هذا العمل المتواضع

الشكر والتقدير

الحمد لله الذي لا يبلغ مدحه القائلون، ولا يحصي نعماؤه العادون ، ولا يؤدي حقه المجتهدون ، الذي لا يدركه بعد الهمم، ولا يناله غوص الفطن ، الذي ليس لصفته حد محدود، ولا نعت موجود ، ولا وقت معدود ، ولا اجل ممدود..

وصلى الله على خيرته من خلقه محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين...

وبعد.....

لا يسعنا بعد الانتهاء من اعداد هذا البحث الا ان نتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان الى الاستاذ الفاضل ...

أ.م. علي عبد الرحيم الناشي

الذي تفضل بالاشراف على هذا البحث حيث قدم لنا كل النصح والارشاد طيلة فترة الاعداد فله الشكر والتقدير...

كما اتقدم بالشكر والتقدير الى كل اساتذتنا الاعزاء والى كل من ساهم في اعداد هذا البحث...

تقييم كفاءة زيوت ومستخلصات نبات اكليل الجبل كمثبطات حيوية ضد بعض البكتريا المعزولة من حالات سريرية.

الخلاصة (Abstract):

شملت هذه الدراسة معرفة الدور التثبيطي للمستخلصات المائية والكحولية والزيوت الثابتة لنبات اكليل الجبل *Rosemarinus* لست من البكتريا المعزولة من حالات سريرية هي *Escheridia coli, Aeromonas hydrophila, Staphylecoccas homoniss, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Streptococaus mitis* واظهرت معظم الجراثيم المختبرة حساسية للمستخلصات وزيوتها ولكن بمعدلات مختلفة مع تفوق المستخلصات الكحولية مقارنة مع المائية وتراوحت اقطار التثبيط الجرثومي بفعل المستخلصات المائية والكحولية عند التركيز العالي 200 ملغم/مل بين (7–19) و (8–20) ملمتر على التوالي.

كانت اكثر الجراثيم حساسية للمستخلص المائي *Str.mitis* والكحولي *Staph.homonis* اذ بلغت اقطار تثبيطها (19 و20) ملمتر على التوالي عند التركيز 200 ملغم/مل كما تراوحت قيم الـ (MIC) بين (60و92) و (25و70) ملغم/مل للمستخلص المائي والكحولي على التوالي, وسجلت بكتريا *Stri.mitis* ادنى قيم الـMIC للمستخلصين المائي والكحولي اذ بلغت (60, 25) ملغم/مل على التوالي.

كانت فعالية المستخلصات المائية والكحولية مقاربة في كثير من تأثيراتها لفعالية المضادين (AM) و(VA) الذي انحصرت حدود اقطار تثبيطهما للبكتريا بحدود (10, 20) و (7–22) ملمتر على التوالي.

سجل زيت اكليل الجبل تثبيطاً متميزاً تجاه الجراثيم وبفعالية اعلى مما احدثته المستخلصات المائية والكحولية اذ تراوحت اقطار التثبيط الجرثومي بين (13–28) ملمتر عند التركيز العالي 100% وكانت فعالية الزيت منافساً قوياً لفعالية المضاد (OFX) في تثبيط الجراثيم المختبرة اذ

تراوحت اقطار التثبيط البكتيري بفعل هذا المضاد بين (22–28) ملمتر, كانت اكثر الجراثيم حساسية للزيت *Staph.homonis* اذ بلغ قطر تثبيطها 28 ملمتر والـMIC 8% اما اكثرها مقاومة للزيت فهي *S.marcescens* اذ بلغ قطر تثبيطها 13ملمتر عند التركيز 100% في حين سجل الـMIC 32% لهذه البكتريا.

كانت المستخلصات المائية والكحولية غنية بمركبات كيميائية طبية اذ تواجدت مركبات الفلافونيدات, الكلايكوسيدات, الصابونيات, الفينولات, التانينات في كل من المستخلص المائي والكحولي بينما اقتصر تواجد التربينات والراتنجات على المستخلص الكحولي فقط في حين كان تواجد الكوربينات مقتصراً على المستخلص المائي.

المقدمة Introduction

نبات اكليل الجبل *Rosmarinas officinalis* هو نبات عشبي يعود الى العائلة الشفوية *Labiatae*, دائم الخضرة له افرع متعددة ورائحة عطرية مميزة موطنه جنوب اوروبا يستخدم لعلاج الالتهابات التي تسببها البكتريا والفطريات والابتدائيات (شوفاليه,2003).

تعود قدرة مستخلصات اكليل الجبل المثبطة للاحياء المجهرية الى احتوائها على العديد من المركبات الطبية الفعالة في قتل وكبح المايكروبات مثل الكلايكوسيدات, القلويدات, الفلافونات, التانينات, الراتنجات, الصابونيات والفينولات, كما تتميز بكبح نمو طيف واسع من الاحياء المجهرية (عبد , 2011).

اكليل الجبل من النباتات الطبية التي تحتوي على مركبات مختلفة لها دور في حماية النبات من الامراض وفي نفس الوقت تتميز بفعالية مضادة للاحياء الدقيقة سواء كانت بكتريا او فطريات او احياء اخرى وهذه النباتات ذات مستخلصات مؤثرة على المايكروبات وان فعاليتها المؤثرة تعتمد على نوعية الكائنات الدقيقة المستعملة في الدراسة ودرجة ذوبان المركب الفعال المستعمل للاختبار والطرائق المستعملة لتقييم نشاط المركبات الفعالة الطبيعية (*Cehktos* ,2007; *Bassam,et.al*,2005).

يحتوي نبات اكليل الجبل على زيت طيار وعلى مواد الكافيين والبارفين والسينيول فضلاً عن الكافور وتربنتين ومكونات اخرى منشطة للاعصاب كما يحتوي على مواد منشطة للجسم ومرممة للانسجة المعطوبة خاصة مادة (*Restorative*) كما ثبت بأحتواء مستخلصاته على المركب Diosmin المضاد لهشاشة العظام وتنشيط وحماية الاوعية الدموية وهناك مركبات طبية مضادة للالتهابات ومثبطة للنمو المايكروبي (يحيى 2003;*Santoyo,et.al*,2005) .

توصل ابراهيم واخرون (2009) ان المستخلصين المائي والزيتي لنبات اكليل الجبل كان مثبطاً لنمو مجموعة من البكتريا المرضية وهي *Staphylococcus ,Salmonella typhe*,

Candida والخميرة *Aeromonas hydrophila ,Klebsiella pneumoniae ,aureus* *atbicalls* وكان المستخلص الزيتي هو الاكثر فعالية مقارنة مع المائي.

استهدفت الدراسة التي قام بها احمد واخرون (2009) تقييم كفاءة المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط تسعة انواع من البكتريا المرضية والانتهازية الموجبة والسالبة لصيغة كرام وقد تثبطت جميع الجراثيم المختبرة ولكن بنسب متفاوتة وكان التأثير المثبط على الجراثيم السالبة اكثر فعالية مقارنة مع الجراثيم الموجبة لصبغة كرام.

استعمل مستخلص اوراق واغصان نبات اكليل الجبل في تحضير العديد من مستحضرات التجميل والعطور وغسول الشعر ومضادات القشرة كما ثبت تأثيره المثبط والقاتل للعديد من البكتريا والفطريات والفايروسات خاصة في اصابات الجروح, وتناول النبات يساعد على تهدئة الجهاز الهضمي وتحسين عملية الهضم وتخفيف الالتهابات الناتجة من الاصابة بالرشح والانفلونزا والحساسية وتخفيف التشنجات وآلام الروماتيزم (*Miresmailli,et.al,*2006) .

وجد *Abu-shababa* واخرون (2004) ان المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل كان مؤثراً في البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام وتعود فعالية هذا المستخلص في تثبيطه للميكروبات الى احتوائه على مواد اهمها الفلافونات والدباغيات والصابونيات وان هذه المركبات الطبية تمتلك فعالية مضادة لمجموعة كبيرة من الاحياء المجهرية ومنها البكتريا والفطريات.

ونظراً لاحتواء نبات اكليل الجبل على مركبات طبية مضادة للاحياء المجهرية فقد صممت هذه الدراسة لتستهدف تجريب مستخلصات وزيوت هذا النبات ودراسة قدرتها المضادة للجراثيم المعزولة من حالات سريرية والتي يمكن ان تكون بدائل عن الادوية التي قاومتها كثير من الجراثيم نتيجة الاستعمال الواسع للمضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل Material and Methods

جمع عينات البكتريا وتشخيصها:

اختبرت العزلات البكتيرية التالية :

Aeromonas hydrophila ,Escherichia coli, Streptococcus mitis ,Pseudomonas aeruginosa ,Serratia marcescens ,Staphilococcus hominis,

والتي عزلت من حالات سريرية مختلفة للمراجعين لمختبر الاحياء المجهرية الطبي في مستشفى الديوانية العام خلال شهر كانون الاول 2018 وذلك لاختبار فعالية مستخلصات وزيوت نبات اكليل الجبل تجاه البكتريا المعزولة من مناطق مختلفة في جسم الانسان, اعيد تصنيفها بالاعتماد على الخصائص المزرعية والمجهرية والبايوكيميائية وحسب الطرائق التي اوردها (*Jawetz,et.al*,1998).

جمع عينات نبات اكليل الجبل وتحضير المستخلصات والزيوت :-

جمعت عينات نبات اكليل الجبل من محلات الاعشاب في مدينة الديوانية, وبعد تنظيفها طحنت وحولت الى مسحوق ناعم ثم تم وضعها في قنانٍ زجاجية نظيفة وحفظت في الثلاجة بدرجة 4م لحين استعمالها في التجارب.

لتحضير المستخلص المائي وزن 100 غم من المسحوق الناعم في دورق مخروطي واضيف له 500 مل ماء مقطر وترك منقوعاً لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة مع المزج المستمر بواسطة محرك مغناطيسي, ثم يُعرَض الخليط الى طرد مركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة , فيؤخذ الراشح ويُهمل الراسب اذ يمرر الراشح خلال ورقة ترشيح (*Whatman* No.1) بعدها يُبخر بجهاز المبخر الدوار بدرجة 40م^{0} لحين الحصول على سائل كثيف اذ يجري تجفيفه في الحاضنة بدرجة 37م^{0} خلال (3-4) ايام ثم يُحفظ المسحوق في الثلاجة لحين الاستعمال (*Anessiny and perez*,1993).

كما حضر المستخلص الكحولي بنفس الطريقة التي حضر فيه المائي ولكن استبدل الماء المقطر بالكحول الاثيلي 98% (*Marzouk,et.al*,2011).

حضر المحلول القياسي الخزين (*Stock solution*) وذلك بأذابة 1 غم من المادة الفعالة الجافة في 5 مل من الماء المقطر المعقم وهذا هو المحلول الخزين الذي تركيزه 200 ملغم/مل واستعمل

الماء المقطر في معاملات السيطرة , عقمت المستخلصات بأمرارها من خلال مرشح جرثومي وبقطر 0,4 مايكرون.

جرى استخلاص الزيت بتقنية التقطير المائي Water distillation طبقاً للطريقة التي اوردها (*Curelier,et.al*,1996) باستعمال جهاز *Clevenger* وذلك بأخذه 50 غم من المسحوق النباتي الناعم واضيف اليه 500 مل من الماء واستمر التقطير لمدة 2,5 ساعة للحصول على اكبر كمية من الزيت النباتي في دورق زجاجي اذ تكون طبقة الزيت في الاعلى حيث تعزل في قنانٍ ذات غطاء محكم وتحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال.

اتبعت الطريقة التي اوردها (*Voravuthikanchia,et.al*,2004) في الكشف النوعي الكيميائي عن المركبات الطبية التي تظهر قدرة تثبيطية فعالة تجاه البكتريا المختبرة والتي شملت الفلافونات, القلويدات, الكلايكوسيدات, التربينات, الصابونيات, الفينولات, التاتينات.

تأثير المستخلصات النباتية والزيوت في النمو الجرثومي:

استعملت طريقة الانتشار في الاكار (*Agar diffusion method*) بواسطة الاقراص لقياس حساسية البكتريا تجاه المستخلصات النباتية وبتركيز (25, 50, 75, 100, 150, 200) ملغم/مل والزيت بتركيز (15%, 30%, 45%, 60%, 75%, 100%) وحسب الطريقة التي اوردها (*Celichker*,2007) اذ تم تنشيط الجراثيم المستعملة في التضاد على الوسط الاغنائي خلاصة الدماغ والقلب (*Brain – heart broth*) واستعمل الوسط الزرعي *Meller– Henton agar* كوسط لاختبار الفعالية المضادة للبكتريا المتسببة بها المستخلصات والزيوت, حيث اضيف 0,1 مل من اللقاح البكتيري الى سطح الوسط الاكاري المحضر وينشر بالتساوي على سطح الوسط بواسطة ناشر معقم, وتترك الاطباق المزروعة لمدة عشر دقائق لكي تجف وبمعدل ثلاث مكررات لكل نموذج.

حضرت اقراص من ورق الترشيح قطرها 4 ملم وتنقع في المستخلص لمدة 10 دقائق وبعدها ترفع من المستخلص وتوزع على الاطباق الملقحة بالبكتريا وتم حضن الاطباق بدرجة 37م ولمدة 24 ساعة وبعد الحضن , حسب قطر منطقة التثبيط (Inhibitron zons) بالملمتر واستعمل قرص معامل بالماء المقطر المعقم كسيطرة (هادي,2007).

حدد التركيز المثبط الادنى (MIC) لمستخلصات نبات اكليل الجبل وفقاً للطريقة التي اوردها(*Atlas*,1995) , اذ اضيف 0,8 من وسط الدماغ والقلب السائل الى انابيب اختبار معقمة ثم يضاف مقدار 0,1 من المستخلص او الزيت الى كل انبوبة ماعدا انبوبة السيطرة فيضاف له نفس الحجم من المحلول الفسلجي وتلقح انابيب الاختبار بمقدار 0,1 مل من اللقاح الجرثومي المقارب لكثافة انبوبة ماكغرلاند ($1,5x10^8$) خلية/مل , ثم يتم رج الانابيب جيداً وتحضن بدرجة 37م لمدة 24 ساعة , تسجل النتائج على اساس ملاحظة العكارة وكذلك يمكن نشر اللقاح البكتيري على وسط مولر-هنتول الصلب وتحضن بنفس الظروف وتسجل النتائج على اساس وجود المستعمرات او عدم وجودها.

حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية:

استعملت المضادات الحيوية التالية وهي : *Ampicillin*(10 ملغم) ,*Vancomycin* (30ملغم) و*Ofloxacin* (5 ملغم) ودرس تأثيرها المضاد للجراثيم المستعملة في الدراسة بطريقة الانتشار بالاقراص *Disck diffusion* حسب الطريقة التي اوردها *Maroi and kaba* ,1996 , اذ زرعت بكتريا على وسط مولر هنتون الصلب وخفف اللقاح البكتيري ضمن محددات انبوبة ماكغولاند ($1,5x10^8$ خلية/مل) ونشر هذا المعلق البكتيري بمقدار 0,1 مل على الوسط الاكاري بواسطة مسحة قطنية معقمة , اما اقراص المضادات الحياتية فثبتت على سطح الاكار مع الضغط عليها قليلاً وبمعدل 4 اقراص لكل طبق , حضنت الاطباق المزروعة بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة ثم قيست اقطار مناطق التثبيط بوحدة الملمتر.

التحليل الاحصائي:-

حللت النتائج احصائياً بأستعمال اختبار الانحراف المعياري لحساب الاخطاء التجريبية للقيم المحسوبة طبقاً للطريقة التي اوردها الراوي (1992).

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج كما في الجدول (1) تأثر الجراثيم المعزولة من حالات سريرية بالمستخلصات المائية لنبات اكليل الجبل وبمديات متباينة حسب النوع البكتيري وكانت بكتريا *Str.mitis* هي الاكثر تثبيطاً اذ بلغت اقطار تثبيطها (10, 13, 16, 19) ملمتر عند التراكيز (75 , 100, 150, 200) ملغم/مل على التوالي تليها *Staph.homonis* اذ بلغت اقطار تثبيطها (5, 8, 11, 16) ملمتر على التوالي ايضاً بينما سجلت *P. aeruginosa* القيم الادنى للتثبيط اذ بلغت اقطار التثبيط (4, 5, 7) ملمتر في التراكيز (100, 150, 200) ملغم/مل على التوالي , وفي مجال التركيز المثبط الادنى (MIC) سجلت *P. aeruginosa* اعلى القيم 94ملغم/مل تليها *A.hydrophila* 92ملغم/مل بينما التركيز (MIC) الاقل قيمة كان لكل من *Str.mitis* و*Staph.homonis* اذ بلغ (60 , 65) ملغم/مل على التوالي مما يشير الى ان هاتين الجرثومتين الاكثر حساسية للمستخلص المائي, ذكرت الدراسة التي اوردها ابراهيم واخرون (2009) الى قدرة المستخلصات المائية والزيتية لنبات اكليل الجبل .

جدول (1) تقييم فعالية المستخلص المائي لنبات اكليل الجبل في تثبيط النمو للبكتريا المعزولة من حالات سريرية

MIC (ملغم/مل)	*AM (10mg)	قطر منطقة التثبيط (ملمتر)						الجراثيم المختبرية
		تركيز المستخلص المائي (ملغم /مل)						
		200	150	100	75	50	25	
70 4.51±	13 1.55±	12* 1.02±	10 0.68±	7 0.91±	4 0.02±	0	0	*Escherichia Coli*
92 3.40±	10 1.32±	8 0.30±	7 0.62±	5 0.07±	0	0	0	*Aeromonas hydrophila*
65 2.81±	21 1.50±	16 1.31±	11 0.6±	8 0.05±	5 0.043±	0	0	*Staphylococcus homonis*
71 3.32±	10 0.8±	9 0.11±	7 0.11±	6 0.15±	4 0.01±	0	0	*Serratia marcescens*
94 4.14±	14 1.7±	7 0.21±	5 0.12±	4 0.04±	0	0	0	*Pseudomonas aeruginosa*
60 2.11±	20 1.65±	19 1.31±	16 1.60±	13 1.42±	10 1.28±	0	0	*Streptococcus mitis*

* AM = *Ampicillin* ** ± يشير الى الخطأ القياسي

في تثبيط نمو عدد من الجراثيم المرضية من ضمنها *K.pneumoniae , Strh.aurous* A.*hydrophila* و *E.coli* اذ تراوحت اقطار التثبيط بين (9–12) ملمتر عند التركيز 200ملغم/مل وعزوا هذه الفعالية الى احتواء هذه المستخلصات على مواد مضادة للجراثيم بآلية فسلجية انتقائية.

يبين الجدول (2) فعالية المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط النمو البكتيري وقد تميزت كل من بكتريا *Staph.homonis* و *Str.mitis* بأنهما الاكثر حساسية للمستخلص الكحولي اذ بلغت اقطار تثبيطهما (20, 18) ملمتر عند التركيز 200ملغم/مل على التوالي كما

لوحظ ان لهما اقل قيمة من (MIC) اذ بلغ (21, 25) ملغم/مل على التوالي ايضاً, في حين كانتا كل من*S.marcescens* و *P.aeruginosa* الاكثر مقاومة للمستخلص اذ بلغت اقطار تثبيطهما (8, 10) ملمتر على التوالي عند التركيز 200ملغم/مل وسجل الـMIC (70, 62) ملغم/مل على التوالي وهي اعلى القيم للتركيز المثبط الادنى.

جدول (2) تقييم فعالية المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط النمو للبكتريا المعزولة من حالات سريرية

الجراثيم المختبرية	قطر منطقة التثبيط (ملمتر) تركيز المستخلص المكحولي (ملغم /مل) 25	50	75	100	150	200	VA* (30mg)	MIC (ملغم/مل)
Escherichia Coli	0	2 0.03±	6 0.09±	8 0.23±	11 0.44±	15 0.75±	13 1.66±	48 3.55±**
Aeromonas hydrophila	0	5 0.02±	7 0.04±	8 0.11±	10 0.51±	13 0.88±	9 0.67±	50 2.82±
Staphylococcus homonis	3 0.01±	6 0.02±	10 0.99±	13 0.42±	17 1.80±	20 1.54±	20 2.04±	21 2.20±
Serratia marcescens	0	0	5 0.33±	6 0.01±	7 0.081±	8 0.36±	7 0.06±	70 5.41±
Pseudomonas aeruginosa	0	0	5 0.05±	7 0.06±	8 0.55±	10 0.44±	15 0.88±	62 3.91±
Streptococcus mitis	3 0.02±	5 0.10±	8 0.72±	11 0.81±	15 1.65±	18 1.22±	22 1.40±	25 2.70±

VA = *Vancanycin* *

وقد اشارت دراسات عديدة الى كفاءة المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام منها دراسة احمد واخرون (2009) التي شملت مجموعة انواع من البكتريا منها *E.coli* , *B.anthracis*, *K.pneumoniae* , *Staph.aureus* , *S.typhimuriam* وقد تراوحت اقطار التثبيط بين (6–17) ملمتر وكانت فعالة على جميع الجراثيم المختبرة وبتأثير معنوي.

كما يبدو من النتائج في الجدول (1و2) ان فعالية المستخلص الكحولي هي الاعلى مقارنة مع المائي في معظم المعاملات وهذا يعود الى ان بعض المواد الفعالة المثبطة للمايكروبات تتميز بقابلية ذوبانها في الكحول اكثر من ذوبانها في الماء وهذا ما اكده Genena واخرون (2008) حيث توصل الى ان الاستخلاص بالكحول يوفر مركبات فعالة مثبطة ذائبة في الكحول دون ذوبانها في الماء مما يزداد عدد المركبات الفعالة الذائبة في الكحول وبالتالي تزداد عمليات التأثير التثبيطي.

جدول رقم (3) تقييم فعالية زيت اكليل الجبل في تنشيط النمو للبكتريا المعزولة من حالات سريرية

MIC (%)	OFX* (5mg)	قطر منطقة التثبيط (ملمتر) تركيز الزيت (%)						الجراثيم المختبرية
		100	75	60	45	30	15	
**10 0.44±	27 2.28±	23 2.41±	18 1.77±	15 1.51±	13 2.09±	10 1.46±	5 0.06±	*Escherichia Coli*
25 3.95±	23 2.37±	18 1.35±	15 1.43±	14 0.85±	11 0.73±	8 0.58±	0	*Aeromonas hydrophila*
8 0.062±	25 2.78±	28 2.20±	23 2.01±	20 2.61±	16 1.11±	12 1.34±	0	*Staphylococcus homonis*
32 3.33±	22 1.15±	13 0.75±	12 0.66±	9 0.04±	8 1.0±	5 0.08±	0	*Serratia marcescens*
28 2.17±	24 2.52±	15 1.64±	13 1.64±	11 0.45±	10 0.31±	7 0.08±	0	*Pseudomonas aeruginosa*
14 1.83±	28 3.43±	18 1.88±	16 2.23±	14 0.32±	11 0.94±	7 0.06±	4 0.05±	*Streptococcus mitis*

OFX = Ofloxacin*

يشير الجدول (3) الى التأثير التثبيطي لزيوت نبات اكليل الجبل للبكتريا المعزولة من حالات سريرية وظهر ان الفعالية تزداد مع زيادة التركيز كما ان الجراثيم المختبرة تباينت في تأثرها بالزيوت حسب النوع.

وظهر ان اكثر الجراثيم تثبيطاً كل من *Staph.homonis* و*E.Coli* اذ بلغت اقطار تثبيطهما (28, 23) ملمتر عند التركيز 100% على التوالي وكانت التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) لهما قد بلغت (8% , 10%) على التوالي ايضاً في حين كانت اكثر البكتريا مقاومة *S.marcesCense* و *P.aeruginosa* اذ انخفضت اقطار تثبيطهما الى (13, 15) ملمتر على التوالي وارتفاع الـ (MIC) الى(32% و28%) على التوالي ايضاً يبدو ان المستخلص الزيتي لنبات اكليل الجبل اكثر كفاءة في تثبيط الجراثيم مقارنة مع المستخلصات الاخرى وهذا ما اكده *Perez–fons* واخرون (2006) اذ كشفوا

جدول رقم (4) الكشف الاولي عن المواد الفعالة في مستخلصات نبات اكليل الجبل

المواد الفعالة	نوع الكاشف المستعمل ودليله	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي
الفلافونيدات *Flavonoids*	كحول اثيلي +KOH (ظهور اللون الاصفر)	+	+
القلويدات *Alkaloids*	كشف حامض البكريك (ظهور راسب اصفر)	−	−
الكلايكوسيدات *Glycosides*	كاشف بندكت (ظهور راسب احمر)	+	+
التربينات *Terpennoid*	حامض الخليك اللامائي (ظهور اللون البني)	−	+
الصابونيات *Saponoids*	كلوريد الزئبقيك (ظهور راسب ابيض)	+	+
الفينولات *Phenols*	استعمال كاشف كلوريد الحديدك 1% (ظهور راسب اخضر)	+	+
التانينات *Tanins*	كشف خلات الرصاص 1% (ظهور راسب اصفر فاتح)	+	+
الراتنجات	ايثانول 95+ماء محمض (ظهور عكارة)	−	+
الكورمينات	ورق ترشيح مشبع لـNaoH مع اشعة U.V. (ظهور لون ازرق مخضر)	+	−

عن وجود مركبات فعالة في المستخلص الزيتي خاصة الفلافونات والتانينات والقلويدات التي تمتلك طيفاً واسعاً من التأثير التثبيطي على البكتريا, كما ان الفعالية التثبيطية تعزى ايضاً الى فعل الفينولات والتي تعمل على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الفسلجية الحساسة بتداخلها غير المخصص مع البروتينات مما يؤدي الى مسخ البروتين وبالتالي توقف النمو المايكروبي.

وعند مقارنة المستخلصات المائية مع المضاد (AM) والكحولية مع المضاد (VA) والزيتية مع المضاد (OFX) كما في الجداول (1 , 2, 3) يبدو ان هذه المستخلصات في معظم المعاملات كانت منافسة لهذه المضادات في ان تكون بديلاً عنها في حالات كثيرة وهذا ما اشارت اليه دراسة احمد واخرون (2009) حيث توصلوا في فحص الحساسية لانواع مختلفة من البكتريا تجاه عدد من المضادات الحيوية ومقارنتها مع مستخلصات اكليل الجبل واظهرت نتائجهم ان المستخلصات النباتية كانت منافساً قوياً للمضادات الحيوية في كفاءة التثبيط الجرثومي.

يظهر في الجدول (4) المركبات الطبية الفعالة التي كشف عن تواجدها في المستخلصات المائية والكحولية لنبات اكليل الجبل , فكانت مركبات الفلافونيدات , الكلايكوسيدات , الصابونيدات , الفينولات , التانينات تواجدت في المستخلصات المائية والكحولية على حد سواء بينما اقتصر تواجد التربينات والراتنجات على المستخلصات الكحولية فقط في حين اقتصر تواجد الكورمينات على المستخلصات المائية فقط بينما خلت جميع المستخلصات من القلويدات.

وتعود فعالية مستخلصات نبات اكليل الجبل في تثبيط المايكروبات الى احتوائه على هذه المركبات الفعالة وهذا ما اشار اليه *Almela* واخرون (2006) حيث ذكروا ان تواجد الكلايكوسيدات, الفينولات, التانينات, الكورمينات وثنائي التربينات ومركبات اخرى لها فعالية قاتلة للاحياء المجهرية وذلك من خلال تحلل الـDNA وتحطيم الغشاء الحيوي او تتداخل مع سلسلة الانزيمات المسؤولة عن العمليات الفسلجية الضرورية لنمو الكائن المجهري كما تحطم ما يوجد من بروتينات ودهون ضمن الخلية المايكروبية.

يمكن الاستنتاج ضمن معطيات هذه الدراسة ان لمستخلصات نبات اكليل الجبل دوراً في السيطرة الاحياء الدقيقة وان الزيت هو الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا وضمن تطلعات مستقبلية يمكن ان تكون بديلاً عن مضادات الحياة ويمكن اضافتها الى الغذاء ايضاً لعدم سميتها لانها تعمل على تحسين عملية الهضم وتخفيف الالتهابات وازالة التشنجات وازالة الام الروماتيزم ومقوية ومنشطة للاعصاب.

وينصح بأستعمال مذيبات عضوية مختلفة لاستخلاص المواد الفعالة لان نوع المستخلص له الاثر الكبير في تباين انواع وكمية المواد الفعالة المعزولة ومدى تأثيرها على قابلية المستخلصات في تثبيط النمو المايكروبي.

المصادر العربية

- ابراهيم, عروبة محمد سعيد؛ عبد مجيد محمود وعبد المنعم, علاء الدين (2009) تقييم فعالية المستخلص المائي والزيتي لبنات اكليل الجبل *Rosmerinus officinalis* في تثبيط بعض الاحياء المجهرية المرضية , المجلة الطبية البيطرية العراقية, 33 (2) 36–40, جامعة الموصل.
- احمد, وفاء عبد الاله؛ عباس, صباح ميسون وغالب, ميثاق (2009) دراسة مقارنة للدور التثبيطي للمستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل والمضادات الحيوية ضد بعض انواع البكتريا المجلة العراقية للعلوم البيطرية, 23 (2):551–554, جامعة الموصل.
- الراوي, خاشع محمود (1992) المدخل الى الاحصاء, جامعة الموصل, الطبعة الثانية, وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- شوفالييه, اندرو (2003) الطب البديل, التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية, ترجمة عمر الايوبي, اكاديمية انترناشيونال, بيروت, لبنان.
- عبد, مجيد محمود (2011) تأثير المستخلص الزيتي والمائي لنبات اكليل الجبل كمادة حافظة للحلوم المثرومة, المجلة الطبية البيطرية العراقية,35 (2):15–21 .
- هادي, سالي محفوظ (2007) الفعالية التثبيطية للزيوت الطيارة لنبات اكليل الجبل Rosmarinus officinalis في بعض الاحياء المجهرية الممرضة, رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة بغداد.
- يحيى, توفيق الحاج (2003) النبات والطب البديل, الدار العربية للعلوم, مطبعة المتوسط, بيروت, لبنان.

المصادر الاجنبية

1-Abu-shanab,B.; Adwan ,G.;Abu-safiya ,D.; and Adwan, k.(2004) Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. Turk.J.Bio.,28:99-102.

2- Atlas, R.M.(1995) Principles of Microbiology. Mosby. Berlin-Bosten, London, New York.

3- Almela,L.; Sanchez-Munoz, B. and Fernandez-Lopez, J.A(2006) Liquid chromatographic- mas Spectrometricanalysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. J.Chromatogr .A., 112 (1): 221-229.

4- Anessiny, G. and perez, C.(1993) Screening of plants used agreen line. Folk Medicine for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol.39: 119-128.

5- Bassam ,A., Ghaleb ,A ., Daud , S. and Moad , A. (2005) Antibacterial activity of Rhus Coriaria. Extracts growing in Palstine. J. of Islamic University of Gaza. 13 (2): 147-155.

6- Celiktas , O.Y. (2007) Animicrobial activity of methanol extrocts of essential oils of Rosemarinus officinalis , depending of location and seasonal .viriation, Food Chem. Bornova-1Zmir. 100: 553-555

7-Cuvelier, M.E; Rechard, H. and Berset , C .;.(1996) Antioxidative activity and phenolic Composition of pilot- plant and commercial extracts of sage and rosemary. J.AM.Oil Chem Soc73:645-65.

8-Genema, A.K.; Hens, H.; Junior, A.S. and Souza, S.M. (2008) Rosemarinus officinalis- astudy of Composition, antioxidant and antimicrobial activities of exracts obtained with supercritical carbon dioxid .Cienc. Techrol Aliment.238: 463-69.

9- Jawetz, E .; Melnick, J.L . and Adelberg , A. (1998) Review of Medical Microbiology. 12th .ed .Middle east edition , Beriut Labonan.

120- Marzouk, B. ; Mastouri. ; Fenina, N. and Aouni , M (2011) Comparative evaluation of the antimicrobial activity of citraullus colocyn this immature fruit and seed organic extracts. African Journal of Biology. 10 (10) : 2130-2134.

11-Miresmailli,S.; Brad bury, R.and Isman, M.B.(2006) Comparative toxicity of Rosmarinus officinalis essential oil and blends of its major constituents against Tetranychus urtica on two different host plants. Pest .Manag. Sci.62 (4): 366-371.

12-Muroi, H. and Kuba ,I .(1996) Antimicrobial activity anancardiac acid and totarol , alone in combination with methicillin against methicillin-restant staphylococcus aureus. J.Appl.Bacteriol. 80:387-394.

13-Perez-fons, L.; Aranda, F.J. and Guillen , J.(2006) Rosemary diterpenes affect lipid poly morphism and Fluidity in phospho lipid membranes, Arch Biochem, Biophys, 453(2): 224-236.

14- Santyo, S.; Cavero, S.; Jaime, L. ; Ibaanez, E, and Reglero (2005) Chemical Composion and antimicrobial activity of Resmarinus officinalis essential oil obtained via supercritical fluid extraction .J .Food prot. , 68(4): 790-795.

15-Voravuthikunchia , S.; Lortheeranuwat, A.; Jeeju ,W. and Supawita, T. (2004) Effective medical plants at against Enterohasmorrhagic Escherichia coli 0157: 117.J.of Ethnopharmacology. 94: 49-54.