تقييم الفعالية البيولوجية لنباتي السرو والعطرة المنتشرين في سورية على بعض العوامل الممرضة

طالبة الماجستير: دينا علي
قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية – كلية الصيدلة – جامعة حمص
الدكتور المشرف: د.هاني سكاف

الملخص:

تحتل النباتات الطبية حيزاً مهماً في الطب الشعبي والطب الحديث في علاج الأمراض المختلفة، إذ لا يزال حوالي 80% من الناس يفضلون استخدام الأدوية العشبية حسب منظمة الصحة العالمية، ومن النباتات الواسعة الانتشار في الجمهورية العربية السورية والمستخدمة بكثرة لفوائدها العلاجية والطبيّة السرو *Cupressus sempervirens* والعطرة *Pelargonium graveolens*. بحثت الدراسة الحالية في تحضير خلاصات من أوراق نباتي السرو والعطرة باستخدام الإيتانول وخلات الإيتل بطريقة الأمواج فوق الصوتية ودراسة فعاليتها المضادة للجراثيم والفطور باستخدام طريقة الانتشار من الآبار Well diffusion method، وتحديد التركيز المثبط الأدنى بطريقة التمديد المضاعف Microdilution تجاه المكورات العنقودية المذهبة *Staphylococcus aureus* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والإيشريكية القولونية *Escherichia coli* والمبيضات البيض *Candida albicans*. أظهرت نتائج الدراسة أن الإيتانول هو المذيب الأفضل في استخلاص المواد المضادة للأحياء الدقيقة من هذين النباتين، ويزداد قطر منطقة التثبيط في جميع الحالات مع زيادة التركيز، وأن المكورات العنقودية المذهبة كانت الأكثر حساسية اتجاه الخلاصة الإيتانولية لنباتي السرو والعطرة بقطر تثبيط [17 mm] .

الكلمات المفتاحية: السرو – العطرة – مضاد جراثيم – مضاد فطور – تركيز أدنى مثبط.

Abstract:

Medicinal plants occupy an important place in folk medicine and modern medicine in the treatment of various diseases, according to the World Health Organization (WHO) as about 80% of people still prefer to use herbal medicines and among the widespread plants in the Syrian Arab Republic and widely used for their therapeutic and medicinal benefits are *Cupressus sempervirens* and *Pelargonium graveolens*. The present study investigated the preparation of extracts of *C.sempervirens* and *P.graveolens* leaves using ethanol and ethyl acetate by ultrasonic method and studying their antibacterial and antifungal effectiveness using the Well diffusion method, and determining the minimum inhibitory concentration (MIC) by the method of microdilution against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The results of the study showed that ethanol is the best solvent for extracting antimicrobial substances from these two plants, and the diameter of the inhibition zone increases in all cases with increasing concentration, and that S.aureus was the most sensitive to the ethanolic extract of *C.sempervirens* and *P.graveolens* plants with an inhibition diameter (17 mm).

Keywords: *Cupressus Sempervirens* – *Pelargonium Graveolens* – antibacterial – antifungal – minimum inhibitory concentration.

المقدمة Introduction:

تلعب النباتات الطبيّة دوراً كبيراً في علاج الكثير من الأمراض بسبب احتوائها على العديد من المكونات الفعّالة طبيّاً (1)، إذ لجأ الناس إلى استخدامها لسهولة الحصول عليها وقلة تكلفتها وتجنباً للآثار الجانبية الناجمة عن استخدام الأدوية الكيميائية. يمكن تعريف النباتات الطبيّة بأنها تلك النباتات التي تمتلك في جزء منها أو في جميع أجزائها تأثيراً فيزيولوجيّاً على جسم الإنسان أو الحيوان، كما أن لها تأثيراً في الكائنات الحية التي تتطفل على جسم الإنسان أوالحيوان (2).

تعد المقاومة الجرثوميّة للصادات الحيويّة إحدى أهم التحديات التي تواجه المختصين في المجال الطبي (2)، وهذا ما دفع الباحثين إلى البحث عن بدائل ومنها النباتات الطبية الغنية بالمكونات الفعالة لاسيما تلك التي تملك فعالية مضادة للأحياء الدقيقة (3)، وهذا ما ذكره المحيميد في دراسة أجراها على نباتي البابونج وإكليل الجبل حيث قام بدراسة الفعالية الميكروبيولوجية لهذين النباتين وتحديد التركيز الأدنى المثبط (Minimum Inhibitory Concentration (MIC (4).

ومن النباتات المستخدمة على نحوٍ شائع لفوائدها الطبيّة:

السرو Cupressus sempervirens: نبات عطري دائم الخضرة ينتمي إلى العائلة السروية Cupressaceae، يعرف باسم السرو الإيطالي والسرو المتوسطي حيث يعود موطنه الأصلي إلى حوض البحر الأبيض المتوسط ثم انتشر ليشمل شمال افريقيا وآسيا (ايران، فلسطين، الأردن، سورية، تركيا) جنوب أوروبا (اليونان وإيطاليا) وأميركا الشمالية (5).

يعتبر شجر تزييني يصل ارتفاعه إلى 30 متراً، مخروطي الشكل أغصانه مستوية صغيرة متدلية، تنتج شجرة السرو براعم جانبية تنمو غالباً باتجاه مصدر الضوء، البراعم مغطاة بأوراق خضراء داكنة صغيرة يتراوح طولها بين (2–5mm) تشبه الحراشف متقابلة مرصوصة في تجمعات كثيفة، أزهاره وحيدة الجنس أحادية المسكن، تتحول الأزهار إلى مخاريط بيضوية أو مستطيلة الشكل يتغير لونها من الأخضر إلى البني عند النضج تحوي بداخلها بذور صغيرة مجنحة (6)، أوراق السرو موضحة في الشكل [1].

الشكل 1: أوراق نبات السرو

يحتوي على مجموعة واسعة من المركبات النشطة بيولوجياً كالفلافونوئيدات والفينولات والقلويدات والصابونينات (7)، كما يحتوي على زيت عطري أهم مكوناته α–بيرين و الميرسين (8)، يمتلك نبات السرو تأثير مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات، مضاد للفيروسات، مضاد للطفيليات، مضاد للأكسدة، كما أن له دور موسع للأوعية إذ يستخدم في علاج البواسير.

تم تصنيف كل من النباتين من قبل الدكتورة نجوى عفاص (كلية الزراعة – جامعة حمص)، يصنف نبات السرو (9) وفق الجدول [1] :

الجدول 1 : تصنيف نبات السرو

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionata
Superdivision	Spermatophyta
Division	Coniferophyta

Class	Pinopsida
Order	Pinales
Family	Cupressaceae
Genus	Cupressus
species	Cupressus sempervirens

العطرة *Pelargonium graveolens*: نبات طبي عطري ينتمي إلى العائلة الغرنوقية Geraniaceae، مستوطن في جنوب افريقيا تم ادخاله إلى حوض البحر المتوسط في نهاية القرن الثامن عشر كما انتشر في أوروبا، تعرف باسم عطرشية أو العطرة لأنها تتميز برائحة عطرية قوية.

يعتبر نبات شجيري دائم الخضرة يصل ارتفاعه إلى 1.3 m، يمتلك ساق مستقيمة شديدة التفرع مشعرة عشبية في صغرها تتحول إلى خشبية مع التقدم في العمر، الأوراق خضراء فاتحة مفصصة متناوبة ذات شقوق عميقة مخملية الملمس ناعمة كونها مغطاة بشعيرات غدية مفرزة للزيت العطري الذي تعزى إليه الرائحة العطرية القوية، الأزهار وردية اللون خماسية البتلات بشكل تجمعات عنقودية خيمية تتميز كونها أحادية التناظر جانبية التناظر وهذا ما يميزها عن باقي أنواع البيلاغرونيوم (11)(10)، أوراق العطرة موضحة في الشكل [2]:

الشكل 2: أوراق نبات العطرة

تستخدم العطرة في علاج الأمراض المختلفة نظراً لخصائصها المضادة للالتهاب والطفيليات والمضادة للأكسدة (12)، فضلاً عن استخدامها كمسكن وخافض للسكر (13)، ترتبط الجوانب العلاجية القيّمة للعطرة بوجود الفلافونوئيدات والكومارينات والتانيانات (14)، والزيت العطري بما يحتويه من سيترونيلول وجيرانول ولينالول (15).

يصنف نبات العطرة (16) وفق الجدول [2]:

الجدول 2 : تصنيف نبات العطرة

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyte
Class	Magnoliopsida
Order	Geraniales
Family	Geraniacea
Genus	Pelargonium
species	Pelargonium graveolens

الكائنات الحية الدقيقة المدروسة:

العنقوديات المذهبة ***Staphylococcus aureus*** : جراثيم كروية الشكل، إيجابية غرام، تنتمي إلى عائلة Micrococcacea، لا تسبب العنقوديات المذهبة عدوى على الجلد السليم لكن في حال دخولها مجرى الدم أو الأنسجة الداخلية فتسبب الكثير من الالتهابات الخطيرة فهي من أهم الجراثيم

المسببة للعدوى المكتسبة في المستشفيات. لا يزال علاج مثل هذه الجراثيم صعب بسبب ظهور سلالات مقاومة للأدوية مثل المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) (17).

الإيشريكية القولونية *Escherichia coli*: جراثيم عصوية الشكل، سلبية الغرام، تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae، تتواجد في الجهاز الهضمي وتشكل 80% من الفلورا الطبيعية للإنسان لكنها ممرضة للجهاز البولي فهي من أهم مسببات الإسهال الحاد في العالم كما أنها يمكن أن تسبب العديد من الأخماج كانتان الدم والتهاب السحايا الوليدي (18). ونظراً لإمراضية هذه الجراثيم فقد قامت الباحثة عريس بدراسة تأثير ثمار نبات الشبت على هذه الجراثيم (19).

الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*: جراثيم عصوية الشكل، سلبية الغرام، من العوامل المسببة للأمراض الإنتهازية تصيب غالباً الشعب الهوائية، المسالك البولية وتسبب التهابات الدم فهي من أهم العوامل المسببة للأمراض الإنتهازية وتعتبر من أكثر الجراثيم الملوثة للمعدات الطبية (20).

المبيضات البيض *Candida albicans*: فطور خمائرية كروية الشكل، توجد بشكل طبيعي على الجلد إلا أنها تتحول إلى ممرضة عند الأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة، والمصابين بالسكري والذين يستخدمون المضادات الحيوية فهي تنافس البكتيريا التي تعيش بشكل طبيعي في الجسم. أثبتت الدراسات أن 96% من العدوى الفطرية الانتهازية سببها المبيضات البيض (21).

أهمية البحث Importance:

أدى الاستخدام العشوائي للصادات الحيوية إلى ظهور سلالات جرثومية مقاومة وهذا ما دفعنا إلى البحث عن مواد جديدة مضادة للميكروبات، ونظراً لتوجه العالم نحو المملكة النباتية كونها مصدر غني جداً بالمواد الفعّالة فقد تم اللجوء إلى النباتات الطبية وفي بحثنا هذا تم اختيار نباتي السرو والعطرة لما لهما من فعالية مضادة للميكروبات و لكثرة انتشارهما في المنطقة وقلة تكاليف زراعتهما.

هدف البحث Aim of the Study:

- دراسة فعالية الخلاصات الإيتانولية وخلات الإيتيل لأوراق نباتي السرو والعطرة المضادة للميكروبات تجاه المكورات العنقودية المذهبة والزائفة الزنجارية والاشريكية القولونية والمبيضات البيض.
- تحديد التركير الأدنى المثبط لهذه الخلاصات.

المواد والطرائق Methods and Materials:

1) المواد المستخدمة وبلد المنشأ والشركة المصنعة:

الجدول 3: المواد المستخدمة وبلد المنشأ والشركة المصنعة

اسم المادة	بلد المنشأ والشركة المصنعة
ماء مقطر Distilled water	
إيتانول Ethanol	(Eurolab) ,UK
خلات الايتيل Ethyl acetate	(Eurolab) ,UK
وسط موللر_هينتون آغار Muellur Hinton Agar	(HiMedia) ,India
وسط دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar	(HiMedia) ,India
أملاح التترازوليوم 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride (TTC)	(Merck) ,Germany
محلول ثنائي ميتيل سلفوكسيد (DMSO) Dimethyl Sulfoxide Solution	(Roth) ,Germany

2) السلالات الجرثومية والفطرية و أماكن الحصول عليها:

الجدول4: السلالات الجرثومية والفطرية و أماكن الحصول عليها

السلالات الجرثومية والفطرية	الاختصار	أماكن الحصول عليها
Staphylococcus aureus ATCC 6538	*S.aur*	كلية الصيدلة/ جامعة البعث
Escherichia coli ATCC 8739	*E.coli*	كلية الصيدلة/ جامعة البعث
Pseudomonas aeruginosa ATCC 902	*P.aeru*	كلية الصيدلة/ جامعة البعث
Candida albicans ATCC 10231	*C.alb*	كلية الصيدلة/ جامعة البعث

3) الأجهزة المستخدمة في البحث والشركة المصنعة:

الجدول 5: الأجهزة المستخدمة في البحث والشركة المصنعة

الجهاز	الشركة المصنعة
ميزان حساس Sensitive balance	Sartorius TE214, Germany
حوض الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic	Germany (Hwashin Technology)
جهاز المبخر الدوّار	Switzerland

Rotary evaporator	(Heidolph Instruments)
جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer	Japan (Shimadzu)
حاضنة جرثومية Incubator	Germany (Mammert)
الصاد الموصد Autoclave	JSR-JSAK-100

4) الأدوات المستخدمة:

- عبوات عقيمة وماسحات قطنية عقيمة وأطباق بتري وملقط.
- ورق ترشيح ورق بارافيلم.
- أنابيب سعة 1.5 mL (أنابيب إبندروف)، أنابيب سعة 15 mL.
- صفائح ميكروية و ميكروبيبيت.
- أدوات زجاجية مخبرية (دوارق حجمية_ أرلينات).

5) الطرائق :

1. جمع النباتات وتحضيرها:

تم جمع أوراق نباتي السرو والعطرة من الريف الغربي في مدينة حمص في فصل الخريف، في ساعات الصباح الباكر مع مراعاة كون النبات كامل النمو وفي بيئة طبيعية خالية من التسميد. جرى شطف الأوراق بالماء، ثم تركت لتجف في الظل، وبعد الجفاف التام تم طحنها بوساطة مطحنة كهربائية حتى الحصول على مسحوق ناعم ومتجانس، وتم الاحتفاظ به لحين الاستخلاص.

2. تحضير الخلاصات النباتية:

استُخلص 20 gr من مسحوق الأوراق المجففة لكلا النباتين على حدى ب 200 mL من مذيب الاستخلاص المختار (الايتانول – خلّات الايتيل) باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة ساعتين، ثم تركت للتعطين بدرجة حرارة الغرفة لمدة ثلاثة أيام، وبعد الترشيح استخدمت سلفات الصوديوم اللامائية للتخلص من بقايا الماء الموجود في الخلاصة، ثم جرى التخلص من المذيب وتركيز الخلاصة باستخدام جهاز المبخّر الدوار عند درجة حرارة 50C°، تم الاحتفاظ بالخلاصات في البراد 4C°+ لحين الاستخدام.

3. الجراثيم والفطور المستخدمة:

تم الحصول على الجراثيم والفطور المستخدمة من مخبر أبحاث الأحياء الدقيقة في كلية الصيدلة في جامعة البعث وهي: المكورات العنقودية المذهبة *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 كمثال عن الجراثيم ايجابية الغرام، الزائفة الزنجارية *Escherichia coli* ATCC 8739، الايشريكية القولونية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 902 كمثال عن الجراثيم سلبية الغرام، المبيضات البيض *Candida albicans* ATCC 10231 كمثال عن الفطور.

4. تحضير أوساط الزرع الجرثومية والفطرية Media :

استُخدم وسط موللر–هينتون آغار Mueller Hinton Agar (MHA) للزرع الجرثومي، ووسط بطاطا دكستروز آغار Potato Dextrose Agar (PDA) للزرع الفطري، حيث حُضرت الأوساط حسب توصيات المصنع، وتم تعقيمها بجهاز الصاد الموصد، ننتظر لتبرد وتصبح درجة حرارتها تقريباً 40C° ثم نصبّها في أطباق بتري قياس 9 cm بسماكة 3 mm.

5. دراسة الفعالية المضادة للجراثيم والفطور:

تم القيام بحل 50 mg من الخلاصة الجافة ب 1 mL من محل DMSO 10% ، ثم تم عمل تمديد آخر ب 1 mL من المحل أي التراكيز التي تمت دراستها هي (25 mg/mL–50).

اعتُمدت طريقة الانتشار من الآبار Well diffution method، حيث حُضّرالمعلق الميكروبي وفق لمعياري عكره 0.5 ماكفرلاند لتكون الامتصاصية {0.8_1.6} عند طول الموجة 625nm، فُرش بواسطة ماسحة قطنية معقمة على كل الطبق، ثم أُحدثت 5 آبار باستخدام ثاقبة معقمة، ووضعت الخلاصات الأربعة في الآبار وفق (1–إيتانولية للعطرة –2– خلّاتية للعطرة –3–ايتانولية للسرو–4–خلّاتية للسرو) بحجم 100µL في كل حفرة، والحفرة الأخيرة تم ملئها بمحل الخلاصة المستخدم DMSO 10% كشاهد سلبي، كما تم استخدام صاد حيوي كشاهد إيجابي حسب نوع الجرثوم (المكورات العنقودية المذهبة–الزائفة الزنجارية–الإيشريكية القولونية) هو بالترتيب (لينزوليد _ أميكاسين _ جيتمايسين)، لم نستطيع الحصول على شاهد إيجابي مضاد فطور، ثم تم الحضن لمدة 20 ساعة عند درجة الحرارة 37C° بالنسبة للجراثيم و25C° بالنسبة للفطور، ثم قيست هالات عدم النمو المتشكلة حول الآبار(22).

6. تحديد التركيز الأدنى المثبط للخلاصة (MIC) باستخدام طريقة Microdilution:

تم بحسب توصيات معهد المعايير السريرية والمخبرية Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) و اللجنة الأوروبية لدراسة حساسية الصادات الحيوية the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)، حيث تم ملء جميع الحفر بالمرق المغدي، ثم تم تحضير المعلق الميكروبي وفق لمعياري عكره 0.5ماكفرلاند لتكون الامتصاصية {0.8_1.6} عند طول الموجة 625nm، تم ملء جميع الحفر بهذا المعلق باستثناء أول عمود ليكون شاهد سلبي، ثم تم ملء جميع الحفر بتمديدات تسلسلية للخلاصات النباتية باستثناء آخر عمود ليكود شاهد ايجابي، تم حضنها لمدة 24 ساعة، ولزيادة وضوح النتائج المشوشة بلون الخلاصات لم نعتمد على اختبار العكر العياني فقط فقد تم إضافة أملاح أزرق التترازوليوم 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride (TTC) (وذلك بعد حل 10mg ب 10mL ماء مقطر ووضع 20µL في كل حفرة وحضنها لمدة 30 دقيقة في درجة

حرارة 37C°) والتي تعطي لون أزرق في حال وجود نمو ميكروبي بسبب تفاعلها مع مستقلبات الكائنات الحية الدقيقة، ثم تم تحديد MIC باعتباره أقل تركيز لم يحصل فيه نمو ميكروبي.

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

دراسة الفعالية المضادة للجراثيم والفطور:

تم حضن الأطباق ليلة كاملة بدرجة حرارة 37C° بالنسبة للجراثيم و25C° بالنسبة للفطور، كانت النتائج كما هو موضح في الجدولين [4,5]، التي تبين تأثير خلاصة السرو والعطرة بالمحلين المستخدمين على الميكروبات.

الجدول 6: نتائج تأثير الخلاصات الإيتانولية والخلاتية للسرو في الميكروبات المدروسة

	قطر هالة التثبيط مقدّرة mm					
		50 mg/mL		25 mg/mL		
الميكروب/الخلاصة	EOH	EA	EOH	EA	DMSO	A
S.aur	13	10	17	14	–	37
P.aeru	13	–	16	–	–	15
E.coli	12	–	14	–	–	18
C.alb	8	–	10	–	–	

** EOH: ethanol; EA: ethyl acetate; A: Antibiotic*

الجدول 7: نتائج تأثير الخلاصات الإيتانولية والخلّاتية للعطرة في الميكروبات المدروسة

	قطر هالة التثبيط مقدّرة mm					
		50 mg/mL		25 mg/mL		
الميكروب/الخلاصة	EOH	EA	EOH	EA	DMSO	A
S.aur	15	11	17	15	–	37

15	–	–	16	–	12	***P.aeru***
18	–	–	16	–	13	***E.coli***
	–	–	13	–	10	***C.alb***

** EOH: ethanol; EA: ethyl acetate A; Antibiotic*

أظهرت الخلاصات الأربعة السابقة التي تم اختبارها درجات متفاوتة من الأنشطة المضادة للميكروبات.

أبدت الخلاصة الإيتانولية للسرو فعالية تجاه كل الميكروبات المدروسة، ولم تبد الخلاصة الخلاتية أي فعالية تجاه الزائفة الزنجارية و الإيشريكية القولونية والمبيضات البيض. كانت الخلاصة الإيتانولية أكثر فعالية على العنقوديات المذهبة (13–17mm) بتركيز (25 mg/mL–50) على التوالي، تليها الزائفة الزنجارية الإيشريكية القولونية وأقلها فعالية على المبيضات البيض (10– 8mm) بتركيز (25 mg/mL–50) .

أبدت الخلاصة الإيتانولية للعطرة فعالية تجاه كل الميكروبات المدروسة، في حين لم تبد الخلاصة الخلاتية أي فعالية تجاه الزائفة الزنجارية و الإيشريكية القولونية والمبيضات البيض. كانت الخلاصة الإيتانولية أكثر فعالية على العنقوديات المذهبة (15–17mm) بتركيز (25 mg/mL–50) على التوالي، وأقلها فعالية على المبيضات البيض (10–13mm) بتركيز (25 mg/mL–50). لم تظهر هالة تثبيط حول المحل الممدد DMSO، كانت هالات التثبيط حول الصادات الحيوية المستخدمة (لينزوليد _ أميكاسين _ جيتمايسين) هي (18_15_37mm) على التوالي، لم نستطيع الحصول على شاهد إيجابي مضاد للفطور.

أظهرت خلاصة السرو فعالية تجاه الجراثيم إيجابية الغرام أكبر منها في الجراثيم سلبية الغرام، وهذا يوافق دراسة مشابهة على خلاصات السرو التي أظهرت فعالية تجاه المكورات العنقودية المذهبة أكثر من غيرها من الميكروبات المدروسة (23)، وهذا يوافق دراسة أجريت على الزيت العطري لنبات السرو في دمشق حيث كانت فعالية الزيت على العنقودية المذهبة أكثر من الزائفة الزنجارية، وغير فعالة على الإيشريكة القولونية (24)، وأيضاً كانت العطرة أكثر فعالية على الجراثيم إيجابية غرام منها في سلبية غرام وهذا يشابه دراسة أجريت على نبات العطرة (12)، ويختلف مع دراسة

أجريت في دمشق على الزيت العطري لنبات العطرة حيث كانت الزائفة الزنجارية هي الأكثر حساسية (25).

قد أظهرت الخلاصة الإيتانولية للسرو والعطرة أكبر هالة تثبيط تجاه العنقودية المذهبة والزائفة الزنجارية على التوالي، في حين لم تبدِ الخلاصة الخلاتية للسرو والعطرة أي فعالية تجاه الزائفة الزنجارية بتركيز 25 mg/mL، وكذلك كانت أكبر هالة تثبيط تجاه الإيشريكية القولونية والمبيضات البيض عند الخلاصة الإيتانولية للسرو والعطرة، في حين لم تبدِ الخلاصة الخلّاتية للعطرة أي فعالية تجاه الاشريكية والمبيضات بالتراكيز المستخدمة، لم تظهر هالة تثبيط حول المحل الممدد DMSO، كانت هالات التثبيط حول الشاهد الايجابي المستخدم (لينزوليد _ أميكاسين _ جيتمايسين) هو بالترتيب (37mm_15_18)، لم نستطيع الحصول على شاهد ايجابي مضاد للفطور.

تتأثر الفعالية المضادة للجراثيم للمركبات النباتية بألفة هذه المكونات للماء أو للدسم وبمكونات الجدار الخلوية للجرثوم (26)، في الدراسة الحالية قد تحوي الخلاصة ايتانولية والخلاتية لنباتي السرو والعطرة على مكونات فينولية بشكل كبير وهذه المكونات معروفة بقدرتها على تخريب الجدار الخلوي الجرثومي (27) (26)، وهذا مايفسر زيادة الفعالية في الجراثيم ايجابية الغرام، وهذا يختلف مع دراسة أجريت في دمشق على الزيت العطري لنبات العطرة حيث كانت الزائفة الزنجارية هي الأكثر حساسية (25)، يفسر ذلك بأن الزيت المستخدم قد يحوي موادة مضادة للميكروب تختلف عن الموجودة في الخلاصة التي حصلنا عليها وبالتالي اختلاف التأثير.

تحديد التركيز الأدنى المثبط للخلاصة (MIC) باستخدام طريقة Microdilution:

تم حضن الصفيحة الميكروية ليلة كاملة، وكانت النتائج كما هو موضح في الجدول [6]:

الجدول 8: نتائج MIC للخلاصات الإيتانولية والخلّاتية للسرو والعطرة في الميكروبات المدروسة

	MIC (mg/mL)			
	الإيتانولية		**الخلّاتية**	
الميكروب/الخلاصة	**سرو**	**عطرة**	**سرو**	**عطرة**

12.5	25	3.125	6.25	***S.aur***
50	100	6.25	12.5	***P.aeru***
50	100	6.25	12.5	***E.coli***
50	200	12.5	12.5	***C.alb***

أبدت الخلاصات النباتية فعالية على جراثيم العنقودية المذهبة والزائفة الزنجارية والإيشريكية القولونية وفطور المبيضات البيض، بعد إعادة التجربة ثلاث مرات وأخذ المتوسط الحسابي، كان أقل MICتجاه العنقودية المذهبة والزائفة الزنجارية و الإيشريكية القولونية عند الخلاصة الإيتانولية للعطرة بتراكيز (6.25_6.25_3.125 mg/mL) على التوالي، وأقل MIC تجاه المبيضات البيض كان للخلاصة الإيتانولية للسرو والعطرة بتركيز (12.5 mg/mL)، حيث ظهرت الآبار المملوءة بالجراثيم والتي لم تتأثر بالخلاصات النباتية بلون أزرق بعد وضع أملاح التترازوليوم عليها وتركها لمدة 30 دقيقة في الحاضنة.

الاستنتاجات:

1. وفق النتائج الحالية نجد أن الإيتانول هو المذيب الأفضل في استخلاص المواد المضادة للميكروبات من نباتي السرو والعطرة.
2. تزداد منطقة التثبيط في جميع الحالات مع زيادة التركيز.
3. كانت المكورات العنقودية المذهبة الأكثر حساسية تجاه الخلاصة الإيتانولية لنباتي السرو والعطرة.

التوصيات:

1. متابعة الدراسات حول فعالية الخلاصات المحضرة من أجزاء مختلفة من نباتي السرو والعطرة تجاه نفس السلالات الميكروبيولوجية المستخدمة.
2. دراسة فعالية أوراق نباتي السرو والعطرة على سلالات ميكروبيولوجية أخرى.

3. محاولة عزل المكونات الفعالة من النباتين وتحديد بنيتها.
4. دراسة إمكانية استخدام الخلاصة الإيتانولية لنباتي السرو والعطرة كمادة حافظة في الأشكال الصيدلانية وإجراء الفحوص اللازمة لها.

المراجع:

1. G. G. Yebpella, H. M. M. Adeyemi, C. Hammuel, A. M. Magomya, A. S. Agbaji and E, Okonkwo M. Phtyochemical screening and comparative study of antimicrobial activity of Aloe vera various extracts. Afr J Microbiol. 2011;5(10):1182– 1187,.
2. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL, Sumpradit N et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. Lancet Infect Dis. 2013;13(12):1057–98.
3. Salmerón-Manzano E, Garrido-Cardenas JA MAF. Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. Int J Env Res Public Heal. 2020;17(10):3376.
4. Mohemmed M Al. Evaluation of the preservative efficacy of chamomile and rosemary extracts in skin preparations using challenge tests. Al-Baath Univ J. 45(3):87–116.
5. A guide to medicinal plants in north Africa. C. sempervirens. IUCN Cent Mediterr Coop. 2005;106.
6. t. Louis, Missouri and Cambridge M. Flora of China Editorial Committee. 2015; Available from: http://www.mendeley.com/research/8c922f02-a678-3588-9e16-0547be817287/

7. AE AS. Medical importance of Cupressus sempervirens- A review. IOSR J Pharm. 2016;6(6):66-76.

8. Orhan, I. E., & Tumen I. Potential of Cupressus sempervirens (Mediterranean Cypress) in Health. Mediterr Diet,. 2015;639–647.

9. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.17105. Available from:

10. Miller, D M. . The taxonomy of Pelargonium species and cultivars, their origins and growth in the wild. Geranium and Pelargonium. Taylor &Francis. 2002;59-89.

11. BenHasouna, A and Hamadi N. Phytochemical compostion and antimicroalactivites of the essential oil and oraganic extracts from pelargonium gravedens growing in Tunisia. 2012;11-167.

12. Dimitrova, M., Mihaylova, D., Popova, A., Alexieva, J., Sapundzhieva, T., & Fidan H. Phenolic profile, antibacterial and antioxidant activity of Pelargonium graveolens leaves' extracts.

13. Al-Aghawan W. Study the Hypoglycemic Effect of Pelargonium Odoratissimum in Diabetic Rats In Comparison With Oral Hypoglycemic Agents. Damascus Univ J. 2014;30(1).

14. M M. " Pelargonium An Herb Socity of America Guide. Ed, Siktb R Pub, THA. 2006;

15. NBenHasouna, A and Hamadi N. "Phytochemical compostion and antimicroalactivites of the essential oil and oraganic extracts from pelargonium gravedens growing in Tunisia. 2012;11-167.

16. Miller, D M. The taxonomy of Pelargonium species and cultivars, their origins and growth in the wild. Geranium Pelarg.

17. Unakal TATCG. Staphylococcus aureus Infection. StatPearls [Internet]. 2023;

18. Questions and Answers | E. coli | CDC'.

19. Arees T. Evaluation of the antimicrobial activity against Escherichia coliforthe oil extract of Anethum graveolens seeds. Al-Baath Univ J. 2024;46(4).

20. Pseudomonas aeruginosa Infection | HAI | CDC'. organisms/pseudomonas.html.

21. Nweze IEM and EI. The use of nanoparticles as alternative therapeutic agents against Candida infections: an up-to-date overview and future perspectives. World J Microbiol Biotechno. 2020;36(11):163,.

22. Balouiri M, Sadiki M IS. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. J Pharm Anal. 2016;(2):71–9.

23. Afsharzadeh M., Naderinasab M., Najaran Z.T., Barzin M. E. . In vitro antimicrobial activities of some Iranian conifers. Iran J Pharm Res. 2013;12:63–74.

24. Mohamad Jawad Khubeiz1* GM and BZ. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Cupressus sempervirens L. Leaves in Syria. 2016;8(4):281–6.

25. I. ABB and HA. Study of Chemical Composition and Anti-Bacterial Effect of the Volatile Oil of Geranium Plant Widely

Spread in Damascus. Fac Pharmacy, Damascus Univ SyriaFaculty Pharmacy, Damascus Univ Syria. 2019;

26. Blando F, Russo R, Negro C, De Bellis L FS. Antimicrobial and Antibiofilm Activity against Staphylococcus aureus of Opuntia ficus-indica (L.) Mill. Cladode Polyphenolic Extr Antioxidants. 2016;2;8(5):117.

27. Hikal, W. M., Hissein, A. H., Said-Ahl, A. and Miroslava K. Review of Antimicrobial Activities of Cactus (Opuntia ficus-indica). Asian J Res Biosci. 2021;3(2):49-56.