

التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية في نمو بعض الجراثيم المعزولة من إصابات تنفسية

نغم محمد عيال الجبوري

ميسون صباح عباس

إنعام جاسم لفته الجبوري

وحدة الأمراض المشتركة /كلية الطب البيطري- جامعة بغداد

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية على سبع مستخلصات نباتية للفلفل الأسود (*Piper nigrum*) و بذور الكرفس (*Apium graveolens*) و الكبابية (*Piper cubeba*) والكافور (*Cinnamomum camphora*) والممر (*Commiphora mol mol*) و بذور الحلبة (*Trigonella foenum-graecum*) و بذور الحبة الحمراء (*Lepidium sativum*). تم اختبار فعالية المستخلصات الكحولية لهذه النباتات في تثبيط نمو بعض عزلات البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والمعزولة من الإصابات التنفسية وهي: *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus pneumoniae* و *Micrococcus antarcticus* و *Corynebacterium* spp. و المكورات السحائية *Neisseria meningitidis* و Coagulase- negative و *Staphylococci* (CNS) و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella oxytoca* و *K. pneumoniae* و *Escherichia coli*. كذلك جرى دراسة حساسية البكتيريا لـ 10 أنواع من المضادات الحيوية هي: Tobramycin (TOB) و Ceftazidime (CAZ) و Vancomycin (VA) و Ampicillin (AM) و Ofloxacin (OFX) و Cloxacillin و Amoxicillin/Clavulanic acid (CTX). أعطى مستخلص الكبابية أعلى النتائج مقارنة بالمستخلصات الأخرى سواء ضد البكتيريا السالبة أو الموجبة لصبغة كرام. كانت بكتيريا *K. oxytoca* أكثر حساسية لمستخلص الحبة الحمراء وتلاه كل من الممر والحلبة، أما *K. pneumoniae* فكانت حساسة للكبابية و يليه الكافور. فيما يخص *P. aeruginosa* فكانت حساسة للكبابية وتلاه الممر، وكانت *N. meningitidis* حساسة لكل من الكبابية والحلبة. سجلت *E. coli* أعلى حساسية للفلفل الأسود والكبابية، وسجل الكبابية والحبة الحمراء أفضل النتائج ضد *S. aureus* كذلك الحال في *M. antarcticus*، كذلك أعطت الكبابية أعلى نتيجة مع *S. pneumoniae* و CNS و *Corynebacterium*. فيما يتعلق بالمضادات الحيوية التجارية، فقد كانت البكتيريا السالبة لصبغة كرام مقاومة للعديد منها، ولكن جميعها حساسة لـ TOB، إذ سجلت كل من *P. aeruginosa* و *K. pneumoniae* و *K. oxytoca* مقاومة لـ 7 مضادات، وكانت الأولى والثانية أكثر حساسية لـ OFX و CAZ. سجلت *K. oxytoca* حساسيتها للمضادات E و T. سجلت *N. meningitidis* حساسيتها لـ VA و E. أما البكتيريا الموجبة لصبغة كرام، فقد سجلت كل من *S. aureus* و *S. pneumoniae* مقاومة للعديد من المضادات الحيوية. وكلاهما كانتا حساستين لـ VA و OFX. وأعطت *Corynebacterium* حساسية لأربعة مضادات هي: TOB و VA و OFX و KF.

The inhibitory effect of some medical plants on the growth of some bacterial isolates from respiratory infections

Al-Jebouri, A.J

Abbas, M.S.

Eaal, N.M.

Accepted –October – 2010

Summary

This study was carried out to evaluate seven types of herbs being: black pepper seeds (*Piper nigrum*), celery seeds (*Apium graveolens*), cubeb seeds (*Piper cubeba*), camphor seeds (*Cinnamomum camphora*), myrrh (*Commiphora mol mol*), fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) and seeds of *Lepidium sativum*. The antibacterial activity of alcoholic extracts of these plants was performed on gram- positive and gram- negative bacteria isolated from human respiratory tract infections including : *S. aureus* , *S. pneumoniae*, *M. antarcticus*, *Corynebacterium* spp. and coagulase- negative *Staphylococci* (CNS). Gram –negative bacteria included: *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* and *N. meningitidis*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. We studied the bacterial sensitivity to 10 antibiotics: Tobramycin (TOB), Ceftazidime (CAZ), Vancomycin (VA), Ampicillin (AM), Ofloxacin (OFX), Cloxacillin (CX), Cefalothin (KF), Erythromycin (E), Oxytetracycline (T), Amoxicillin/Clavulanic acid (CTX). Cubeba essential oil was superior in inhibiting all the examined bacteria compared with other plants. *K. oxytoca* was most sensitive to *Lepidium sativum* seeds extract followed by myrrh and fenugreek, while *K. pneumoniae* was most sensitive to cubeba

and camphora. Cubeba followed by myrrh pi spp. was resistant to 5 antibiotics and sensitive to 4 which were: TOB, VA, OFX and KF.

Key Words: medical plant, respiratory infections piper cubeba, apium graneolens.,

المقدمة

تسبب جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* العديد من الإصابات القححية سواء بالإنسان أو الحيوان، فهي توجد بمثابة فلورا طبيعية بالقناة التنفسية العليا، كذلك الحال في *K. pneumoniae* فهي توجد في القناة التنفسية لـ 5% من الأشخاص الطبيعيين وباستطاعتها أن تسبب تصلب تنخري نزفي شديد في ال عة لقشخ رئة (Extensive hemorrhagic necrotizing consolidation) فضلا عن أنها تسبب أخماجاً مكتسبة في المستشفى (Hospital-acquired infection) (1)، كذلك الحال في جراثيم *E. coli* و الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* فتنتشر بصورة واسعة في البيئة وتسبب ذات الرئة المكتسب بالمستشفى (Nosocomial pneumonia). إن كل من *S. pneumoniae* و *N. meningitidis* و *M. antarcticus* وغيرها بإمكانها أن تسبب إصابات تنفسية (2). هناك حاجة ماسة ومستمرة للكشف عن مضادات ميكروبية جديدة ذات تراكيب كيميائية متنوعة واليات عمل قيمة لأن هناك زيادة في حدوث أمراض معدية متكررة وجديدة والسبب الكبير الآخر هو تطور المقاومة للمضادات الحيوية المستعملة بصورة مستمرة. وفي الوقت الحالي لجأ العلماء إلى إجراء أبحاث جديدة للنباتات للتغلب على مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية والحصول على علاجات طبيعية لتقوية المناعة، ان النباتات لها القدرة على تصنيع مركبات كنواتج ابيضية ثانوية تتواجد في البذور والاوراق أو في الجذور. ومن هذه المركبات ما يكون لها دور من الناحية الطبية، فمثلا الفلفل الأسود والكبابه استعمالا بصورة شائعة في وجبات الطعام والطب الشعبي كونها تضيف نكهة ورائحة للأطعمة اضافة الى كونها مواد حاظظة وذات قيمة طبية (3,4). يحتوي الفلفل الأسود على مركب Catechol pyrogallol وهو مركب سام للمكروبات (5)، حيث أن المستخلص المائي والكحولي للفلفل الأسود ذو فعالية مضادة للمكروبات وللسرطان (6)، والمستخلص المثيلي للفلفل الأسود والكبابه ذو فعالية للأكسدة لأحتوائهما على مركبات Coumarin anthocyanin لمضادات أكسدة والتي تستخدم لعلاج أمراض معقدة كداء السكر والالزهايمر والسرطان (7). تعد الكبابه مضاد لفطري *Aspergillus fumigatus* و *A. niger* (8)، لذا أستخدمت الزيوت الطيارة Citral للكبابه في حفظ الأغذية (9)، كما تحتوي الكبابه على مركب O- benzylcubeben الذي له فعالية تثبيطية وقاتلة لفطر *Candida albicans* (10). سجل المسلمون الأوائل العديد من الاستعمالات الطبية ل Oleo- gum resin المستخرج من نبات المر المر *C. mol* فقد أستعمل لعلاج الجروح واضطرابات الأمعاء والاسهال والسعال فضلا عن علاج التهاب اللثة وعلاج الديدان الكبدية (Fascioliasis)، ومن فوائده أيضا علاج الطفيليات المعوية ومنها البلهارزيا وتقوية الاسنان وعلاج لسعة الأفعى وأيضاً لمنع انتشار الموات (Gangrene) في الأجزاء المصابة من الجسم (11 و12). أظهر التحليل الكيميائي Phytochemical للمستخلصات المثيلية (Methanolic extract) لنبات المر العائدة لعائلة Lauraceae وجود المركبات الفينولية (Phenols)، و القلويات، والصابونين (Saponines)، ووجدت بدرجة أقل في المستخلصات الكحولية الايثيلية (Ethyl acetate) ومستخلصات الايثر (13). يحتوي الكرفس الذي ينتمي إلى عائلة Apiaceae على لوتيولن (Luteolin) وكيرستين (Quercetin) وفلافونيدات (Flavonoids) ومضادات أكسدة (14). وقد أستعمل الكرفس لعلاج ارتفاع ضغط الدم ومنق للجسم من السموم المسببة للسرطان وخاصة دخان السجائر (15). قارن (16) مستخلصات الكرفس مختبريا وحقليا مع بعض المبيدات المستخدمة تجاريا ووجد أن مستخلص الهكسان أعطى فعالية مبيدية للبعوض وأن المستخلص الايثانولي وفر حماية مدتها 2-5 ساعات ضد أنثى بعوض *Ades aegypti* وأنه لا يسبب أي تحرش أو حروق عند استعماله على الجلد. يوجد نبات الحلبة في الطبيعة وهو نبات طبي معروف بخصائصه فهو يقلل نسبة السكر بالدم ومضاد ميكروبي ومضاد للالتهاب ومضاد للتقيؤ ومضاد جرثومي وتعود الحلبة إلى عائلة Papilionaceae، فهي تحتوي على اللستين Lecithin و الكولين Choline الذي يساعد في إذابة الكولسترول والمواد الدهنية، ويحوي معادن وفيتامين ب المركب (B-complex)، وحديد، وفوسفات، و PABA (Para Amino Benzoic Acid)، وفيتامين A و D، ويحوي أيضا نيورين Neurin، و بايوتين Biotin، و Trimethylamine الذي يحفز الشهية (17). تحتوي بذور الحبة الحمراء العائدة لعائلة Brassicaceae على مركبات كيميائية عدة منها الفاتوكوفيرول (α -tocopherol) وحامض الاسكوريك (Ascorbic acid)، و Benzyl- isothiocyanate، و بيتاستوستيرول (β -sitosterol)، واليود، ونياسين، وحامض لينولك (Linoleic acid) والفلافونويدات والكومارين وكلايكوسيدات الكبريت والتريبنات الثلاثية وستيرول (18, 19). وتستخدم الحبة الحمراء لعلاج ارتفاع ضغط الدم وأمراض الكلى (20)، وأشار (21) أن المستخلص المائي والكحولي له تأثير مدر في الجردان. ينتمي الكافور الى الع ائلة الفلفلية، يستخدم في مجال الطب البيطري كمسكن ومطهر، أما في الانسان يستخدم في علاج الروماتيزم والامراض التنفسية وهبوط الدورة الدموية، الا أن الجرعة العالية تكون قاتلة وتنتقل عبر المشيمة مما يسبب تسمم الجنين (22)، ويحتوي على مركب Cinnamaldehyd وهو مركب قوي

يستخدم كمطهر وغسول فموي (23). من كل ما تقدم تهدف الدراسة الحالية إلى إيجاد بدائل للمضادات الحيوية من المستخلصات النباتية والتي يمكن استعمالها كمواد مثبطة للبكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام المعزولة من مرضى الإصابات التنفسية والمقاومة للعديد من المضادات الحيوية وبالتالي إيجاد علاجات بديلة آمنة ورخيصة وكفوءة بالوقت نفسه.

المواد وطرائق العمل

- 1- النباتات المستخدمة: اختبرت حساسية الأنواع البكتيرية لسبع مستخلصات نباتية للفلفل الأسود، والكرفس، والكبابية، والكافور، والمر، والحلبة، والحبة الحمراء، إذ جرى الحصول على تلك النباتات من الأسواق المحلية لمدينة بغداد.
- 2- تحضير المستخلصات النباتية: حضرت المستخلصات النباتية حسب طريقة (24) كآلاتي: جرى طحن البذور كل على حدة بصورة ناعمة ووضعت في قنار زجاجية نظيفة، وبعد ذلك أخذ 100 غم من المسحوق النباتي الجاف وتم وضعه في دورق مخروطي سعة 1000 مل، وأضيف له 500 مل كحول أثيلي بتركيز 70% وترك منقوعاً لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، بعد ذلك رسب المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة ورشح باستخدام ورق الترشيح Whatman No.1، وبخر المحلول بجهاز المبخر الدوار Rotary vacuum evaporator بدرجة حرارة 40°م لحين الحصول على شكل كثيف إذ جفف في الحاضنة بدرجة 37°م خلال 3-4 يوماً وحفظ المسحوق الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال، وحضر محلول خزين (Stock solution) من المستخلص النباتي بإذابة كل 1 غم في 5 مل ماء مقطر معقم بتركيز 200 ملغم/ مل وجرى قياس الأس الهيدروجيني له، ورشح المحلول باستعمال ورق Whatman membrane filter قياس 4.5µm ، جرى تشبع أقراص من ورق الترشيح بالمستخلص الكحولي للنباتات المختلفة.
- 3- المضادات الحيوية: تضمنت المضادات الحيوية في هذه الدراسة 10 أنواع هي: Tobramycin (TOB 10 µg), Ceftazidime (CAZ 30 µg), Vancomycin (VA 30 µg), Ampicillin (AM 10 mcg/disc), Ofloxacin (OFX 5 µg), Cloxacillin (CX 1 µg), Cefalothin (KF 30 µg), Erythromycin (E 15 µg), Oxytetracycline (T 30 µg), Amoxicillin/ clavulanic acid (CTX 30 µg).
- 4- العترة الجرثومية: جرى دراسة حساسية بعض العترة الجرثومية المعزولة من مرضى الإصابات التنفسية في مستشفى اليرموك التعليمي/ بغداد ، للمضادات الحيوية وبعض المستخلصات النباتية. إذ درست 10 أنواع من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام بواقع 26 عزلة، وهي كآلاتي: البكتيريا السالبة لصبغة كرام: *K. oxytoca* (عزلة واحدة) و *K. pneumoniae* (عزلة) و *P. aeruginosa* (6 عزلات) و *N. meningitidis* (عزلة) و *E. coli* (عزلتان). البكتيريا الموجبة لصبغة كرام شملت: *S. aureus* (6 عزلات) و *S. pneumoniae* (6 عزلات) و *M. antarcticus* (عزلة) و *Corynebacterium* spp. (عزلة) و *Coagulase- negative Staphylococci* (عزلة).
- 5- إجراء فحص الحساسية: أتبعنا طريقة Disk Diffusion Method (25). أخذت 4-5 مستعمرات مفردة نقية من سطح أكار الدم بواسطة ناقل جرثومي loop معقم ووضعت في أنبوب اختبار يحوي 4 مل من وسط المرق المغذي (Nutrient broth) ورج جيداً بحيث يكون عتمة مقارنة لأنبوب ماكفرلاند (MacFarland tube) رقم 0.5 الذي يحوي 1×10^8 CFU/ ml (أستخدم هذا العدد لجميع العزلات المدروسة). جرى بعد مرور 1-2 ساعة زرع أطباق بتري تحوي وسط Mueller Hinton agar بالعالق البكتيري الذي حضر ، زرع سطح الأكار بواسطة مسحة قطنية (Cotton swab) معقمة بعد أن جرى التخلص من الكميات الزائدة من العالق البكتيري بضغط المسحة القطنية بقوة بجدران أنبوب الاختبار من الداخل، وبعدها جرى تخطيط الأكار من جميع الجهات لكي تنتوزع الكمية بالتساوي، وأستخدم طبقان لكل عترة جرثومية وتركت الأطباق لتجف لمدة 15-30 دقيقة. بعد ذلك وضعت أقراص المضادات الحيوية بواسطة ملقط معقم على سطح الأكار المزروع. أستخدم 4 أقراص لكل طبق بينها مسافات متباعدة متساوية بين القرص والآخر وحضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة 37°م لمدة 18-24 ساعة. أتبعنا الطريقة نفسها للمستخلصات النباتية، إذ أستخدمت أوراق ترشيح قصت بحجم 5 ملم وشبعت بالمستخلصات النباتية المختلفة بتركيز 200 ميكروغرام/ مل. جرى قياس قطر منطقة التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية وأقراص المستخلصات النباتية بالمليمتر بواسطة المسطرة الاعتيادية.

النتائج

يبين الجدول (1) معدلات أقطار تثبيط نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام بالمستخلصات النباتية، حيث أظهرت جميع العزلات المدروسة حساسيتها تجاه مستخلص الكبابية بمعدلات تراوحت بين 10 – 12.4 ملم بالمقارنة مع المستخلصات الأخرى. كانت الحبة السوداء والحلبة والمر الأفضل بين المستخلصات الأخرى في تثبيط نمو *K. oxytoca* بأقطار تثبيط 20 و 12 و 12 على التوالي.

الجدول (1): معدلات أقطار تثبيط المستخلصات النباتية بالملم تجاه البكتريا السالبة لصبغة كرام

معدلات أقطار تثبيط المستخلصات (بالملم)							البكتريا
الحبة الحمراء	الحلبة	المر	الكافور	الكلابية	الكرفس	الفلفل الأسود	
20	12	12	6	10	5	5	<i>K. oxytoca</i>
5	5	5	9	11	5	5	<i>K. pneumonia</i>
7.9	6.7	8.3	7.4	12.4	5.7	5.9	<i>P. aeruginosa</i>
5	10	5	5	10	6	5	<i>N. meningitidis</i>
5	5	5	5.5	10	5.5	10	<i>E. coli</i>

كانت جميع العزلات البكتيرية الموجبة لصبغة كرام حساسة لمستخلص الكبابية، الذي سجل معدلات بلغت 12 ملم في كل من *S. aureus* و *S. pneumoniae*، و سجل معدل 13 ملم في *M. antarcticus* و 15 ملم في كل من CNS و *Corynebacterium*، كما موضح في (الجدول 2).

الجدول (2): معدلات أقطار تثبيط المستخلصات النباتية بالملم تجاه البكتريا الموجبة لصبغة كرام

معدلات أقطار تثبيط المستخلصات (بالملم)							البكتريا
الحبة الحمراء	الحلبة	المر	الكافور	الكلابية	الكرفس	الفلفل الأسود	
12.5	10	8.75	11.25	12	5.5	6	<i>S. aureus</i>
6.16	7	6.16	8.5	12	6.66	5.5	<i>S.pneumoniae</i>
5	5	5	6	15	5	5	CNS
15	6	6	10	13	10	5	<i>M. antarcticus</i>
5	5	5	8	15	5	5	<i>Corynebacterium</i>

يبين الجدول (3) معدلات أقطار تثبيط 10 من المضادات الحيوية لنمو خمسة أنواع بكتيرية، إذ كان المضاد الحيوي TOB فعالا تجاه جميع العزلات، أما المضاد OFX فكان مثبطا لنمو معظم العزلات باستثناء عزلة *K. oxytoca*.

الجدول (3): معدلات أقطار تثبيط المضادات الحيوية بالملم تجاه البكتريا السالبة لصبغة كرام

Antibiotic	Mean Zones of Inhibition of Antibiotics (mm)				
	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>E. coli</i>
TOB	15 S	25 S	21.5 S	40 S	18 S
CAZ	- R	24 S	22.6 S	-R	19 R
VA	- R	- R	- R	23 S	- R
AM	- R	- R	- R	-R	- R
OFX	8 R	30 S	23 S	19 S	23.5 S
CX	- R	- R	- R	-R	- R
KF	- R	- R	- R	-R	- R
E	25 S	- R	- R	25 S	- R
T	19 S	11 R	- R	11 R	16.5 Int
AMC	- R	- R	- R	14 Mod. S.	- R

R: resistant; S: sensitive; Int.: intermediate; Mod. S: moderately susceptible.

يبين الجدول (4) معدلات أقطار تثبيط 10 من المضادات الحيوية لنمو خمسة أنواع بكتيرية موجبة لصبغة كرام ، فكان كل من VA و OFX مثبط لنم و جميع العزلات ، أما المضاد TOB فثبط نمو بعض العزلات باستثناء *S. pneumoniae* و *S. aureus*.

جدول (4) : معدلات أقطار تثبيط المضادات الحيوية بالملم تجاه البكتريا الموجبة لصبغة كرام

Mean Zones of Inhibition of Antibiotics (mm)					
Antibiotic	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	CNS	<i>M. antarcticus</i>	<i>Corynebacterium</i>
TOB	10.6 R	7.6 R	17 S	16 S	16 S
CAZ	- R	- R	- R	23 S	- R
VA	17.3 S	19.16 S	33 S	28 S	17 S
AM	8.3 R	18.16 R	22 R	40 S	20 R
OFX	18.16 S	18.8 S	24 S	31 S	18 S
CX	9 R	- R	15 S	27 S	- R
KF	6.6 R	9.8 R	- R	40 S	21 S
E	9.4 R	18.2 Int.	N	N	18 Int.
T	15.75 Int.	9.8 R	N	N	10 R
AMC	- R	6 R	N	N	9 R

N: not used; R: resistant; S: sensitive; CNS: coagulase- negative *Staphylococci*; Int.: intermediate.

المناقشة

أعطت خلاصة بذور الكبابية أفضل النتائج مقارنة بمستخلصات النباتات الأخرى سواء تثبيط البكتريا السالبة أو الموجبة لصبغة كرام ، إذ تراوحت أقطار التثبيط بين 10 - 12.4 ملم في البكتريا السالبة الكرام ، كان أعلى قطر تثبيط في *P. aeruginosa* . إما البكتريا الموجبة لصبغة كرام ، فسجلت أقطار تثبيط أكبر من البكتريا السالبة الكرام ، إذ بلغ 12 ملم في كل من *S. pneumoniae* و *S. aureus* و 13 ملم في *M. antarcticus* ، وسجل أعلى قطر تثبيط في الودديات و CNS . كانت نتائجنا أفضل من تلك التي حصل عليها (26) الذي استخدم ثلاثة أنواع من المستخلصات هي: كحول الميثانول ، و الهكسان (n-hexane) ، و dichloromethane (DCM) لدراسة الكفاية التثبيطية للكبابية تجاه *Bacillus subtilis* ، و *B. cereus* ، و *E. coli* ، و الاشيريكية القولونية المقاومة للأميسلين (*Ampicillin resistant E. coli*) ، و الزوائف الزنجارية و المكورات العنقودية الذهبية و *Salmonella Typhi* ، لم تظهر المستخلصات أي فاعلية تثبيطية لنمو كل من *B. subtilis* و *E. coli* و تلك المقاومة للأميسلين ، بينما ثبت مستخلص الهكسان و DCM نمو كل من *B. cereus* و *P. aeruginosa* و *S. aureus* بأقطار تثبيط 12 و 10 و 17 ملم على التوالي للمستخلص الأول ، و أقطار تثبيط 23 و 8 و 16 ملم بالترتيب للمستخلص الثاني. بينما المستخلص الكحولي المثلي كان كفوءا تجاه *B. cereus* (11 ملم) و *P. aeruginosa* (8 ملم). عند دراسة الكفاءة الفاعلية التثبيطية للحبة الحمراء تجاه *K. oxytoca* أظهرت الحبة الحمراء فاعلية عالية (20 ملم) ، و قطر تثبيط 7.9 ملم في *P. aeruginosa* ، و أعطت نتائج قيمة في كل من *S. aureus* و *M. antarcticus* . أشار (27) إلى أن المستخلص المائي و الكحولي المثلي لبذور الحبة الحمراء لم تظهر أي نتيجة تذكر عند اختبار فاعليتها تجاه *E. coli* و *K. pneumoniae* و جراثيم أخرى و هذا يتفق مع دراستنا و مع ما ذكره (18) إذ لم يعط المستخلص المثلي للحبة الحمراء أي نتيجة في الجراثيم المدروسة و هي *S. aureus* و *S. epidermidis* . و قد علل الباحث أعلاه النتائج السلبية بأن المركبات الفعالة قد تكون موجودة بكميات غير كافية في المستخلصات الخام لإعطاء فاعلية بالجرع المستخدمة ، و حتى إذا كانت المادة الفعالة موجودة بكميات عالية فربما تكون هناك مكونات أخرى تظهر تأثيرات مضادة (antagonistic) للتأثير الايجابي للعوامل الفعالة بيولوجيا ، أو قد تكون المستخلصات فعالة ضد أنواع جرثومية أخرى غير مستخدمة بالدراسة الحالية. أن المستخلص المثلي للكرفس له تأثير مثبط لجرثومة *E. coli* عند استخدامه بتركيز عال ، و لم يظهر أي فاعلية تجاه جرثومتي *P. aeruginosa* و *K. pneumoniae* (28) . و يتفق هذا مع ما حصلنا عليه إذ لم يظهر المستخلص الكحولي الاثلي للكرفس أي قطر تثبيط تجاه الجراثيم المدروسة سوى تأثيره المثبط (10 ملم) تجاه *M. antarcticus* . أما الباحث (29) فأشار إلى أن المستخلص المثلي للكرفس كان فعالا ضد عترة واحدة فقط للاشيريكية القولونية (PTCC No. 1330) *E. coli* . بقطر تثبيط (12 ملم). أشار (30) إلى أن زيت الكافور له فاعلية مثبطة لنمو الفطريات و يلعب دورا مهما بامتلاكه تأثير معاكس للتثبيط (counter irritant) و قد سجل قطر تثبيط 19 ملم تجاه المكورات العنقودية الذهبية و هو أعلى مما سجلناه ، بينما لم يسجل أي نتيجة تذكر تجاه كل من *E. coli* و *P. aeruginosa* و *Klebsiella spp.* . و ذكر (31) عند دراسته حساسية *E. coli* المعزولة من الأغذية تجاه المستخلصات النباتية ، و وجد أن الكافور لم يعط أي فاعلية تذكر عند استخدامه بتركيز مختلفة. أشار (32) في دراسته إلى أن زيت الكافور سجل معدل تثبيط 8.5 ملم تجاه *K. pneumoniae* و معدلات تثبيط 8.8 ملم و 10 ملم تجاه *E. coli* و *P. aeruginosa* على التوالي و هي أعلى مما سجلناه ، في حين لم يسجل أي قطر تثبيط تجاه *S. aureus* على النقيض من دراستنا.

استخدمت التريبنات المستخلصة من نبات المر كمثبط لنمو *S. aureus* (33). وجد حديثاً أن المر يمتلك فعاليات مضادة تجاه بعض عتر *S. aureus* و *S. enterica* و *K. pneumoniae* وسجل المر نتائج مقارنة لتلك التي حصلنا عليها فيما يتعلق بـ *S. aureus* حينما استخلصت زيوت المر بالكحول الايثيلي، وقطر تثبيط أعلى منه بقليل حينما أستعمل كحول مثيلي للاستخلاص (13). أظهر مستخلص المر نتائج جيدة في دراستنا بمعدل تثبيط بلغ 12ملم و 8.3ملم تجاه *K. oxytoca* و *P. aeruginosa* بالترتيب، وقطر تثبيط 8.75 ملم في الـ *S. aureus*. بسبب الاستعمال الواسع لبذور الفلفل الأسود في معالجة أمراض مختلفة فقد درست فعاليته في أبحاث عدة ومنها أن له دور مضاد للجراثيم المسببة لفساد اللحوم، وأن مادة البيرين هي المركب الفعال المضاد للبكتريا الموجودة في الفلفل الأسود (34). أن المستخلص الكحولي والمائي للفلفل الأسود له فعالية تثبيطية ضد بكتريا الـ *S. aureus* المقاومة للبنسلين G (35)، كما سجل (36) ان المستخلص المائي للفلفل الأسود له تأثير قوي ضد جراثيم الـ *S. aureus* وبقطر تثبيط 23 ملم، اما في الدراسة التي أجراها (37) وجد فعالية مستخلصاته تجاه *S. aureus* و *E. coli* و *S. Typhi* ، فعند استعمال مستخلص كحولي 100% للفلفل الأسود لم يسجل قطر تثبيط في *S. aureus* وكذلك الحال في *E. coli* على خلاف ما سجلته الأخيرة (10 ملم) في دراستنا إذ كانت أكثر حساسية للفلفل الأسود مقارنة بالجراثيم الأخرى المدروسة، و لم نسجل نتيجة جيدة فيما يخص *P. aeruginosa* على النقيض لما سجله الباحث أعلاه، إذ بلغ قطر التثبيط 17ملم. ذكر (38) أن *Piper guineense* الذي يشار إليه بصورة واسعة بالفلفل الأسود الأفريقي أو Ashanti pepper هو يشبه كثيرا الفلفل الأسود *P. nigrum* الذي يعد الفلفل الحقيقي والذي يحضر منه الفلفل الأسود والأبيض. سجل المستخلص الكحولي الايثيلي لـ *P. guineense* نتائج مشابهة لـ *P. nigrum* المستخدم في دراستنا من حيث قطر تثبيط *E. coli* الذي وصل إلى 10ملم لكلاهما.

أظهر مستخلص بذور الحلبة فعالية تجاه *K. oxytoca* بقطر تثبيط 12ملم و 10ملم ضد كل من *N. meningitidis* و *S. aureus*، وقطر تثبيط 7ملم تجاه *S. pneumoniae*، لكنه لم يظهر نتائج ايجابية في الجراثيم الأخرى. أشار (29) إلى أن المستخلص الكحولي المثيلي لبذور الحلبة كان فعالا بقطر تثبيط 18 ملم تجاه عترة واحدة فقط (PTCC No.1330) لجرثومة *E. coli* ، لكنه لم يسجل نتيجة تجاه عترة (PTCC No. 1338) للجرثومة نفسها. ذكر (1) أن المستخلص المثيلي لبذور الحلبة أعطى قطر تثبيط 9 ملم تجاه كل من *K. pneumoniae* (PTCC No. 1053) و *Bordetella bronchiseptica* (PTCC No. 1025) ولم يعط نتائج ايجابية تجاه كل من *M. luteus* و *Serratia marcescens*. أشار (39) إلى أن زيت الحلبة أظهر تثبيطا قويا تجاه *S. aureus* و *P. aeruginosa* وفطر *A. niger* و *A. fumigatus*، فبذور الحلبة غنية بالمركبات الكيميائية فهي تحتوي على لايسين وبروتينات غنية بالحامض الاميني التربتوفان واللياف Mucilaginous ومكونات كيميائية أخرى مثل الصابونين والكومارين و Fenugreekine وحامض النيكوتين (Nicotinic acid) و Sapogenine و Phytic acid و Scopoletin و Trigonelline التي يعتقد أنها السبب في العديد من تأثيراته العلاجية، إذ أن الفينولات معروف أن لها خصائص مضادة للبكتريا من خلال إعاقه قوة حركة البروتون (PMF) مسببة بذلك تسرب المكونات داخل الخلية وتثبيط الأنزيمات ونقل الإلكترون وعملية Oxidative phosphorylation وتلجط المكونات السائتوبلازمية (40). وأشار الباحث نفسه أن خلاصة الحلبة أظهرت فعالية عالية مضادة لجرثومة *Helicobacter pylori* وان هذه الفعالية قد تكون بسبب وجود Scopoletin وهو عبارة عن فينول، والكومارين المشتق من حامض Coumaric acid. مما تقدم ومن خلال وجود اختلاف وتوافق مع نتائج أخرى ومن الصعوبة المقارنة هناك عوامل عدة تؤثر على النتيجة منها العوامل البيئية التي نرى بها النبات ونوع المستخلص والطريقة المثالية للاستخلاص وطريقة الاختبار المستخدمة لتقييم المستخلص (41).

عند مقارنة المستخلصات النباتية المختلفة مع المضادات الحيوية القياسية، وجدنا عند دراسة حساسية *K. oxytoca* فقد أعطت الحبة الحمراء معدل قطر تثبيط 20ملم وهو أعلى من قطر تثبيط المضاد الحيوي Oxytetracycline الذي بلغ 19ملم. فيما يخص *K. pneumoniae* كان معدل قطر تثبيط الكبابية 11ملم مساويا أيضا لـ Oxytetracycline. قاربت نتائج كل من الكبابية والحلبة لنتائج قطر تثبيط Oxytetracycline عند دراسة حساسية *N. meningitidis*. أما فيما يتعلق بالبكتريا الموجبة لصبغة كرام، فعند دراسة حساسية المكورات العنقودية الذهبية وجد أن الحبة الحمراء أعطت قطر تثبيط 12.5ملم و الكبابية 12ملم، أما الكافور فكان 11.25ملم وكل هؤلاء المستخلصات كانت أعلى من قطر تثبيط Tobramycin الذي بلغ 10.6ملم. سجلت CNS قطر تثبيط كبير تجاه الكبابية 15 ملم الذي يعادل قطر تثبيط CX. وتقارب قطري تثبيط كل من الحبة الحمراء و Tobramycin (15 و 16 ملم على التوالي) في بكتريا *M. antarcticus*. وفيما يخص الودديات، فقد تقاربت نتائج الكبابية مع المضاد الحيوي Tobramycin. مما تقدم تبين لنا أن المستخلصات النباتية كانت فعالة تجاه العديد من أنواع البكتريا المدروسة لذا ننصح بإجراء دراسات موسعة حول النباتات الطبية ومحاولة استخلاصها بأكثر من نوع من المستخلصات ومقارنة المستخلص المائي والكحولي الايثيلي وغيرها من المستخلصات لكل منها لغرض استعمالها كعلاجات بديلة للمضادات الحيوية.

المصادر

- 1- Bonjar GHS (2004a). Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchiseptica* . Asian J Plant Sciences, 3 (1): 82- 86.
- 2- Winn WC Allen SD Janda WM Koneman EW Procop GW Schreckenberger PC and Woods GL (2006). Koneman 's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott William 's and Wilkins Company, Philadelphia.
- 3- DeSouza EL Stamford TL and Lima EO (2005). Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation system. Braz Arch Biol Technol. 48(4): 1516-8913.
- 4- عجينة، صبا جعفر؛ هندي، مازن جميل؛ و إبراهيم، عبد الغني (2007). تأثير مستخلصات الزيوت العطرية لبعض النباتات في نمو الأعفان . وقائع المؤتمر العلمي الثاني لعلوم الطب البيطري. كلية الطب البيطري- جامعة بغداد للمدة من 20- 21 تشرين الثاني 2007.
- 5- Cowan MM (1999). Plant products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol. Rev. 564-582.
- 6- Aqil F Ahmed I Mehmood Z (2006). Antioxidant & free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. Turk J Biol. 30: 177-183.
- 7- Khalaf NA Shakya A K AL- Othman EL- Agbar Z. and Farah H (2008) . Antioxidant activity of some common plants. Turk J Biol. 32: 51-55.
- 8- Balacs T(1991). Research reports (Fungal inhibition). Int J Aromatherapy. 3:30.
- 9- Balacs T(1992). Research reports (Fungal inhibition). Int J Aromatherapy. 4:31.
- 10- Silva ML Coimbra HS Pereira ALima TC (2007). Evaluation of piper cubeba extract, (-)-cubebin & its semi-synthetic derivatives against oral pathogens. PTR. Phtotherapy research. 21: 420-422.
- 11- Khan A (2006). Aloe and Myrrh: modern day analysis of two ancient herbs. Tariq Magazine. 11(2): 36-37.
- 12- Sarah M (2004). Myrrh: magi, medicine & mortality. Pharmaceutical. J. 273: 919-921.
- 13- Abdallah EM Khalid AS and Ibrahim N (2009). Antibacterial activity of oleo - gum resins of *Commiphora molmol* and *Boswellia papyrifera* against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Scientific Research and Essays. 4(4): 351- 356.
- 14- Kolarovic J Popovic M Mikov M Mitic R and Gvozdenovic L (2009). Protactive effects of celery juice in treatments with Doxorubicin. Molecules, 14: 1627- 1638.
- 15- السرميطي، رشا (2008). صيدلية الأعشاب. شبكة النظم العربية.
- 16- Tuetun B Choochote W Kanjanapothi D and Pitasawat B (2005). Repellent properties of celery, *Apium graveolens*, compared with commercial repellents, against mosquitoes under laboratory & field conditions. Trop. Med. & Int. Health. 10(11): 1190-1198.
- 17- Khan FU Durrani FR Sultan A Khan RU and Naz S (2009). Effect of Fenugreek (*Trigonella foenum- graecum*) seed extract on visceral organs of broiler chicks. ARP. J. Agricult Biolo Sci. 4, No.1.
- 18- Parekh J and Chanda S (2008). Antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of 34 Indian medicinal plants against some *Staphylococcus* spp. Turk J Biol. 32: 63- 71.

- 19- Radwan HM El –Missiry MM Al- Said WM and Ismail AS (2007). Investigation of the glucosinolates of *Lepidium sativum* growing in Egypt and their biological activity. Res Med Sci. 2(2): 127- 132.
- 20- Jouad H Haloui M and Elhilaly J(2001). Ethobotanical Survy of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cariac and renal diseases in the North center region of Morocco (EeZ- Boulemane). J. Ethopharmacol. 77: 175- 182.
- 21- Patel U Kulkarni M Undal V and Bhosale A (2009). Evaluation of Diuretic activity of aqueous and methanol extracts of *Lepidium sativum* garden cress (Cruciferae) in Rats Trop. J Pharmaceutical Res. 8: 215- 219.
- 22- Committee For Veterinary Medicinal Products, Camphora (use in veterinary homeopathy). 1999.
- 23- Wallace JR (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Pro. Nutr. Soc. 63: 621- 629.
- 24- Anessiny G and Perez C (1993). Screening of plants used a green line. Folk medicine for antimicrobial activity. J Ethnopharmacol. 39: 119-128.
- 25- Harley JP and Prescott LM (2002). Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed. The Mc Grow-Hill Companies. USA.
- 26- Chitnis R Abichandani M Nigam P Nahar L and Sarker SD (2007). Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Piper cubeba* (*Piperaceae*). Ars. Pharm. 48 (4): 343 - 350.
- 27-Parekh J. and Chanda S (2007). In vitro screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of various Indian plant species against selected pathogens from Enterobacteriaceae. African J Microbiol. Res.1 (6): 92- 99.
- 28- Akroum S Satta D and Lalaoui, K. (2009) . Antimicrobial, antioxidant, Cytotoxic activities and phytochemical screening of some Algerian plants. Europ J Sci Res. 32 (2): 289 - 295.
- 29- Bonjar GHS (2004 b). Screening for antibacterial properties of some Indian plants against two strains of *Escherichia coli* . Asian J Sci. 3(3): 310 – 314.
- 30- Vidya, T. J. and Vidya, P. (2000). Antimicrobial activity of Scavon Vet. Cream. The Veterinarian. (2000): (24), August, 16.
- 31- Lee J Lee J Lim J Sim S and Park D (2008). Antibacterial effects of S-(-)-tulipalin B isolated from *Spiraea thunbergii* Sieb on *Escherichia coli* , a major food borne pathogenic microorganism . J. Med plants Res .2 (3): 59- 65.
- 32- Prabuseenivasan S Jayakumar M and Ignacimuthu S (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and alternative medicine. 6: 39.
- 33- Rahman MM Garvey M and Gibson S (2008).Antibacterial terpenes from the Oleo-resin of Commiphora molmol.Phytotherapy Research. Aug.11.
- 34- Outara B Simard RE and Holley RA (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilge organisms. Int J food. Microb. 37: 155- 162.
- 35- Perez C and Anesini C (1994). Antibacterial activity of alimentary plants against *Staphylococcus aureus* growth. Am. J Chin. Med. 22: 169- 174.
- 36- Masood N Chaudhry A and Tariq P (2006). Bactericidal activity of Black pepper, Bay leaf, Aniseed and Coriander against oral isolates. Pak J Pharm Sci. 19(3): 214- 218.

- 37- Abdel Gadir WS Mohamed F and Bakhiet MO (2007). Antibacterial activity of *Tamarindus indica* fruit and *Piper nigrum* seeds. Res J Microbiol. 2(11): 824- 830.
- 38- Nwinyi OC Chinedu NS Ajani OO Ikpo CO and Ogunniran KO (2009). Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. African J Food Sci. 3(3): 77- 81.
- 39- Wagh P Rai M Deshmukh SK and Durate MCT (2007) .Bio- activity of oils of *Trigonella foenum - graecum* and *Pongamia pinnata*. African J Biotech. 6(13): 1592- 1596.
- 40- Randhir R Lin YT and Shetty K (2004). Phenolics, their antioxidant and antibacterial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors .Asia Pac J Clin Nutr. 13 (3): 295- 307.
- 41- Nostro A Germano MP and Marino A (2000). Plant antimicrobial activity. Lett. Microbiol. 30(1): 379- 384.