التأثير التثبيطي لمستخلصات نباتي الدردار واليوكالبتوس والتآزر بين مكوناتها الفعالة والمضادات الحيوية في جرثومتي Staphylococcus aureus و Salmonella typhimurium المعزولتين من حالات التسمم الغذائي

خضر داؤد سليمان فاطمة إبراهيم سلطان الدليمي

قسم علوم الحياة / كلية التربية
جامعة الموصل

الاستلام 05 / 07 / 2007
القبول 03 / 10 / 2007

SUMMARY

In this study, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* were isolated and identified from patients suffering from food poisoning, (250) samples showed positive bacterial growth (96.1%). After the biochemical tests were done, (60) isolates (41.4%) showed Staph. aureus and (85) isolates (58.6%) showed *S. typhimurium*.

After detecting the inhibitors effect of plant extracts and active components on the bacteria under study, the aqueous, ethanolic, chloroform and acetone extracts of Slippery elm bark have also good inhibitory effects against *Staph. aureus* while then benzene extract is not effective. The aqueous, ethanolic and acetone extracts have clearly inhibitory effects on *S. typhimurium*. The isolated phenolic acid compounds from Slippery elm have highly inhibitory effect against *Staph. aureus* while they are less effective against *S. typhimurium*. The eucalyptus leaves extracts and the isolated essential oils showed to be good inhibitors against *Staph. aureus* while *S. typhimurium* is not affected.

The minimum inhibitory concentration (MIC) of plant extracts under study and the separated active components were also identified. In addition, the antibiotic sensitivity of both types of bacteria with the presence of the active components was also tested. The results showed

that active components have synergistic effect against *Staph. aureus* but antagonistic effect against *S. typhimurium*.

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالة عزل وتـشخيص جرثـومتي *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium* من الأشخاص المصابين بالتسمم الغذائي Food poisoning إذ جمعت (260) عينة براز وقئ، أعطت (250) عينـة نمـوا بكتيريـا موجبـا أي بنـسبة (96.1%) ضمت (60) عزلة تمثل *Staph. aureus* أي بنـسبة (41.4%) و (85) عزلـة تمثل جرثومة *S. typhimurium* بنسبة (58.6%) من المجموع الكلي للعينات.

وبعد التحري عن التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية والمواد الفعالة في الجرثـومتين قيد الدراسة، أظهرت النتـائج تـأثيرا تثبيطيـا جيـدا للمستخلـصات المائيـة والايثانوليـة والكلوروفورمية والاسيتونية من لحاء الدردار ضد جرثومة *Staph. aureus* في حـين لـم يؤثر المستخلص البنزين في هذه الجرثومة، وقد أعطى كل من المستخلص المائي والايثانولي والاسيتوني تأثيرا تثبيطيا واضحاً في جرثومة *S. typhimurium* بينمـا لـم تعطـي بقيـة المستخلصات أي تأثير ضد الجرثومة. أما مستخلص خلات الاثيل الحاوي علـى حامـضي الساليسليك والكاليك فقد أظهرت تأثيرا تثبيطيا عاليا في جرثومة *Staph. aureus* ، في حين أبدت جرثومة *S. typhimureum* حساسية ضعيفة نسبيا تجاه الحوامض الفينولية المفصولة.

أما مستخلصات أوراق اليوكالبتوس والزيت الأساس المفصول فقـد أظهـرت فعاليـة تثبيطية ضد جرثومـة *Staph. aureus* ، بينمـا لـم تتـأثر جرثومـة *S. typhimurium* بمستخلصات أوراق اليوكالبتوس.

واظهر اختبار تحديد التركيز المثبط الأدنـى Minimum Inhibitory Concentration ان مستخلص خلات الاثيل الحاوي على حامض الساليسليك والكالـك كـان مـساويا (0.03) ملغم/سم^3 في جرثومة *Staph. aureus* و (0.06) ملغم/سم^3 في جرثومـة *S. typhimureum* في حين كان الـ MIC للزيت الأساسي المفصول من اليوكالبتوس (0.00028) ملغم/سم^3 في جرثومة *S. typhimurium* .

كما وتم اختبار حساسية الجرثومتين للمضادات الحيوية المستخدمة قيد الدراسة بوجـود المواد الفعالة وتبين ان جرثومة *Staph. aureus* زادت في حساسيتها للمـضادات الحيويـة بوجود المواد الفعالة أي حصول حالة تآزر Synergism في حين قلت حـساسية جرثومـة *S. typhimurium* للمـضادات الحيويـة بوجـود المـواد الفعالـة أي حـدوث تـضادية Antagonism.

المقدمة

يعد مرض التسمم الغذائي Food poisoning من الأمراض واسعة الانتشار ومن المسببات الرئيسية لحالات الوفيات في العالم والتسمم الغذائي عبارة عن التهاب معدي معوي حاد A cute gastroenteritis يحدث بصورة مفاجئة ولفترة قصيرة ناجم عن استهلاك الأغذية الملوثة، إذ يحدث التسمم الغذائي من خلال استهلاك الأغذية التي تحتوي على جراثيم أو فطريات أو فايروسات أو طفيليات أو سموم كيميائية توجد في الأغذية قبل استهلاكها من قبل الإنسان أو تناول بعض أنواع النباتات السامة مثل الفطر والجزر الوحشي (1).

تعتبر المكورات العنقودية الذهبية *Staph. aureus* والمطثيات الوشيقية *Clostridium botulinum* و *Bacillus cereus* و *Salmonella* من الأحياء المجهرية الرئيسية المسببة لحالات التسمم الغذائي.

وقد وجد بان جنس السالمونيلا من أهم المجاميع الجرثومة الممرضة والأكثر تكرارا في عزلها من حالات التسمم الغذائي في معظم دول العالم المتقدمة إذ تنتقل عبر الغذاء مما ينتج عنها زيادة في عدد الأشخاص المصابين بالتسمم الغذائي فضلا عن زيادة في عدد الوفيات في كل سنة (2).

أبدت الجراثيم مقاومة تجاه المضادات الحيوية فضلا عن الأعراض الجانبية المتسببة عن المضادات الحيوية، إذ ثبت ان التعاطي المفرط للمضادات يؤدي إلى حصول حالات إسهال وفرط الحساسية وهذه من أهم الأسباب التي دفعت العلماء والباحثين إلى التوجه نحو دراسة النباتات الطبية في الحقبة الأخيرة (3).

أثبتت العديد من الدراسات ان النباتات تحتوي على المكونات الفعالة التي لها تأثيرا مضادا على الأحياء المجهرية، إذ ان النباتات غنية بالعديد من المركبات الحيوية مثل القلويدات Alkaloids والعفصيات Tannins والزيوت الطيارة Volatile oils والفينولات Phenols والصابونيات Saponins والفلافونويدات Flavonoids والكلايكوسيدات Glycosides وغيرها والتي لها فعالية مضادة للأحياء المجهرية (4).

يعود نبات الدردار *Ulmus rubra* إلى عائلة Ulmaceae أما الاسم الانكليزي فهو Slippery Elm والدردار شجرة معمرة. ان لحاء شجرة الدردار غني بالمواد الفعالة بايولوجيا فهو يمتاز باحتوائه Tannins بنسبة 3% من الأحماض الفينولية أحادية وثلاثية الكاربوكسيل ومركبات فينولية متمثلة بالحوامض مثل حامض السالسيليك Salicylic acid وحوامض أخرى منها Capric acid و Caprylic acid و Decanoic acid ان المكون الرئيسي لماء الدردار هو السائل الصمغي المكون من galactose و 3-methyl galactose

و rhamnose وبقايا galacurnoic acid والكالسيوم والفناديوم والزنك كذلك يحتوي على تراكيز عالية من المواد المضادة للتأكسد وتشمل Beta-sitosterol و Ftaronoids التي تشمل Pronthocyanidins (5).

يعود اليوكالبتوس *Eucalptus microtheca* إلى عائلة Myrtaceae وهي شجرة كبيرة الحجم مستديمة الخضرة تنتشر في جميع أنحاء العالم وفي العراق تحتوي شجرة اليوكالبتوس على تانينات وفلافونويدات وتربينات وزيوت طيارة الحاوية على مادة السينيول Ceneole الذي يسمى يوكالبتول Eucalyptol بنسبة تصل إلى (80%) من الزيت وهذه المادة يعزى إليها المفعول الطبي للزيت فضلا عن ذلك يحتوي الزيت على الفلافونيدات منها ألفا-بتين وفيلاندرين وتربينول وسترونيللات وغيرها.

تعد المركبات الفينولية من أكثر المركبات الثانوية تركيزا في النبات وتأتي بالمرتبة الأولى بعد مركبات الايض الأولية وهي مواد مضادة للأحياء المجهرية ومضادة للأكسدة (6).

المواد وطرائق العمل

جمع وتصنيف النباتات المستخدمة في الدراسة

تم جمع لحاء نبات الدردار *Ulmus rubra* من الأسواق المحلية في مدينة الموصل أما أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus microtheca* فقد جمعت من حدائق جامعة الموصل وتم التحقق من تصنيفها في معشب كلية العلوم / جامعة الموصل.

نظفت النباتات مما علق بها من أتربة وشوائب أخرى بغسلها بالماء المقطر وتجفيفها في ظروف ظلام على أوراق ترشيح مع مراعاة ملاحظة عدم تعفنها أو إصابتها بالأمراض الفايروسية أو الفطرية ثم جمعت في أكياس ورقية جافة وخزنت في ظروف خالية من الرطوبة لحين استخدامها.

العزلات الجرثومية

جمعت (260) عينة (براز وقئ) مأخوذة من الأشخاص الذين لديهم أعراض التسمم الغذائي Food poisoning والذين راجعوا العيادة الاستشارية في كل من مستشفى الخنساء للولادة والأطفال ومستشفى ابن سينا التعليمي ومستشفى الزهراوي التعليمي ومستشفى السلام العام في مدينة الموصل وبأعمار مختلفة ومن كلا الجنسين وعلى مدى (6) اشهر ابتدءا من شهر تموز 2005 ولغاية شهر كانون الأول 2005 .

أخذت العينات باستخدام ممسحات قطنية معقمة Cotton swabs إذ تم نقل جزء من البراز أو القئ إلى قناني معقمة حاوية على (5) مل من وسط مرق نقيع المخ والقلب

Brain heart infusion broth كوسط ناقل للعينات لحين جلبها إلى المختبر وبفترة زمنية لا تتعدى الساعتين. وقد اعتمد على الصفات المزرعيـة والفحـص المجهـري والاختبـارات الكيموحيوية لتشخيص العزلات.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Sensitivity of antibiotics test

اجري اختبار الحساسية لـ (10) أنواع من المضادات الحيوية المجهـزة مـن شـركة (Oxoid) والشركة العامة للأدوية والمستحضرات الطبية/سامراء وكما في الجـدول (1). إذ اتبعت طريقة Bauer وآخرون (7).

الجدول (1): أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وتركيزها (مايكروغرام/قرص)

المضاد الحيوي	المختصر	التركيز
Gentamycin	GN	10µg/disc
Ampicillin	AP	10µg/disc
Amoxicillin	AX	25µg/disc
Chloramphenicol	CM	30µg/disc
Tetracyclin	TE	30µg/disc
Streptomycin	Sm	10µg/disc
Vancomycin	Vm	30µg/disc
Erythromycin	Er	15µg/disc
Trimethoprim	Tm	5µg/disc
Nalidixic acid	NA	30µg/disc

تحضير المستخلصات النباتية

1. تحضير المستخلصات المائية Preparation of aqueous extract

اعتمدت طريقة Riose وآخرين (8) في تحضير المستخلص المائي، إذ سحقت عينـة النبات بواسطة جهاز طحن كهربائي ووزن (40) غم من المسحوق النبـاتي Plant powder ومزج مع (160) سم^3 من الماء المقطر المعقم بنسبة (4:1) وزن: حجم ثم مـزج النمـوذج باستخدام جهاز سحق Blender ورشح المستخلص باستخدام قطع من الشاش ثم رشح ثانيـة بواسطة جهاز التفريغ Vacuum للتخلص من الأجزاء غير المسحوقة. جفـف المـستخلص بالتبريد تحت ضغط مخلخل بواسطة جهـاز التجفيـد Lyophilizer المجهـز مـن شـركة (Edwards) وعقم المستخلص بعد الحصول عليه باستخدام المرشحات الغشائية.

2. تحضير المستخلصات الكحولية الخام Preparation of crude alcoholic extracts

اتبعت طريقة Grand وآخرين (9) في تحضير المستخلص الايثانولي المحـورة عـن الطريقة الأساسية للباحث Verporte وآخرين (10) وذلك بمزج (100) غم مـن المـسحوق النباتي في (400) سم^3 من كحول الايثانول بتركيز (95%) وتـم الـتخلص مـن الايثـانول باستخدام جهاز المبخر الدوار ومن ثم عقم المستخلص بطريقة البسترة بدرجة (62) °م مـدة 10 دقائق.

استخلاص المكونات الفعالة

1. فصل بعض المركبات الفينولية من لحاء الدردار بواسطة التحال الحامضي

بالاعتماد على طريقة الباحث Harborne وآخرين (11) وباستخدام (200) مـل مـن حامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز (2) مولاري بوصفه مذيبا (2) غم من المـستخلص الكحولي للحاء الدردار إذ يتم تسخين المزيج في حمام مائي بدرجـة (90-100) °م ولمـدة نصف ساعة مع التحريك، يبرد المزيج بعد ذلك ويضاف له (100 سم^3 × 2) خلات الاثيـل ويفصل بواسطة قمع الفصل، نلاحظ تكون طبقتين تؤخذ الطبقة العليا (خلات الاثيـل) التـي تحتوي على الحوامض الفينولية الحرة ثم تركز بجهاز المبخر الدوار للحصول على مستخلص خلات الاثيل، تحفظ بعد ذلك بالثلاجة لحين استخدامها في الدراسة لاحقاً.

الكشف عن حامض الساليسيلك Salicylic acid والكاليـك Gallic acid للحـاء الـدردار باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography (TLC)

يتم الكشف عن حامض الساليسيلك والكاليك باستخدام تقنيـة كروماتوغرافيـا الطبقـة الرقيقة (TLC) باستخدام صفائح هلام السيليكا Silica gel المجهز مـن شـركة (Merck) وبسمك (0.25) ملم بالأبعاد (20 × 20) سم، يتم تحميل الألواح بعينـة الـسيطرة القياسـية المتوفرة لحامض الساليسلك للمقارنة مع عينة مستخلص خلات الاثيل وعلى هيئة بقـع علـى امتداد خط وهمي حدد كنقطة بداية وذلك باستخدام الأنبوبة الشعرية Capillary tube ووضع اللوح داخل الوعاء Tank الحاوي على نظام المحلـول Solvent system المتكـون مـن (ethyl acetate:benzene) وبنسبة (V/V 9:11) بشكل عمودي بحيث يكون طرف اللوح الحاوي على البقعة ملامسا لنظام المحلول، إذ تغطى الحاوية بالغطاء الخاص وتترك في درجة حرارة المختبر لحين اكتمال صعود محلول الفصل مسافة لا تقل عن (13) سم وبعدها يرفـع اللوح من الحاوية ويترك أفقيا لمدة (5) دقائق في ظروف المختبر ليجف. بعدها تـم إظهـار

البقع بواسطة رش اللوح بالكاشف المتكون من (Vanillin-HCl) والمحضر بإذابة (1)غم من Vanillin مع (10) مل من(10%) HCl ثم بعد ان يجف اللوح يرش بالامونيا (11).

التشخيص الوصفي لحامض السالسيلك والكاليك بقياس سرعة الجريان Rate of flow (Rf)

قيست سرعة جريان المادة Rate of flow على لوح (TLC) على أساس ان المسافة التي قطعتها العينة مقسومة على المسافة التي قطعها محلول الفصل تساوي سرعة جريان المادة وكما في المعادلة الآتية:

$$\text{معدل سرعة جريان المادة} = \frac{\text{المسافة التي قطعتها العينة من نقطة البداية}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب من نقطة البداية}}$$

تشخيص المجاميع الوظيفية لبعض المركبات الفينولية المفصولة من لحاء الدردار باستخدام تقنية طيف الأشعة تحت الحمراء (IR)

تم تشخيص المجاميع الوظيفية لحامض الساليسيلك والكاليك ذو الطبيعة الفينولية من المستخلص خلات الاثيل للحاء الدردار باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) وباستخدام الجهاز Infrared Spectrophotometer Model Tensor 27 Bruker Co, Germany.

2. استخلاص الزيت الأساسي من نبات اليوكالبتوس

Extraction of essential oils from Eucalyptus

تم الاعتماد على طريقة الباحث El-Kady وآخرين (12) وذلك باستخدام جهاز التقطير البخاري Steam distillation apparatus إذ تم مزج (100) غم من المسحوق النباتي المطحون جيدا لأوراق اليوكالبتوس مع (2) لتر من الماء المقطر في دورق سعته (2.5) لتر والبدء بالفصل بالتقطير البخاري وبعد جمع الزيت الذي كان مذابا بالماء المقطر تم فصله عن الماء بواسطة الايثر في قمع الفصل وتم الحصول على الزيت بعد تبخير الايثر.

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة

اعتمدت طريقة الباحث Bauer وآخرين (7) إذ نقل (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي المخفف إلى وسط الاكار المغذي Nutrient agar ونشر على سطح الوسط على نحو متجانس وحضنت مدة (30) دقيقة وبدرجة حرارة (37) °م لغرض التشرب. في هذه الأثناء تعد الأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة إذ تحضر أقراص من ورق ترشيح نوع (Watmann No. 1) وبقطر (6) ملم وبإضافة (0.1) سم^3 من كل تركيز (200، 100، 50، 12.5، 6.25، 3.125) ملغم/سم^3 من المستخلصات والمكونات الفعالة إلى قنينة حاوية لـ (10) أقراص معقمة (13) ثم تثبت الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة

بواسطة ملقط معقم على وسط الاكار المغذي وتحضن بدرجة حرارة (37) °م مدة (14-16) ساعة. تقاس منطقة التثبيط أو حزام التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة وتسجل النتائج (14).

تحديد التركيز المثبط الأدنى

Determination of minimum inhibitory concentration (MIC)

حدد التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية والمواد الفعالة المفصولة وذلك باستخدام اختبار العكارة، إذ حضرت التراكيز (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25، 3.125) ملغم/سم^3 من كل مستخلص والمكونات الفعالة وأضيف (0.1) سم^3 من كل تركيز إلى أنبوبة حاوية لـ (4.8) سم^3 من المرق المغذي المعقم ولقح بـ (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي بتركيز (10^8) خلية/سم^3 وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة (37) °م مدة (14-18) ساعة ثم قيست العكارة باستخدام جهاز المطياف الضوئي وبالمقارنة مع عينة السيطرة المكونة من (9.8) سم^3 من المرق المغذي و (0.1) سم^3 من المذيب المستخدم لإذابة المستخلص أو المكونات الفعالة و (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي بتركيز (10^8) خلية/سم^3 (15).

اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المكونات الفعالة

تم اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المكونات الفعالة بالاعتماد على طريقة الباحثين Pyun و Shin (16) إذ تم استخدام ثلاثة أنواع من المضادات الحيوية Gentamycin (10 µg) و Tetracycline (30 µg) و Amoxicillin (25 µg) . تم نقل (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي المخفف إلى وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ونشر على سطح الوسط بشكل متجانس باستخدام ممسحة قطنية معقمة Cotton swab تحضن لمدة (30) دقيقة وفي درجة حرارة (37) °م لغرض التشرب. يتم في هذا الوقت تشبيع أقراص المضادات الحيوية المجهزة من شركة (Oxoid) بالمكونات الفعالة المفصولة من النباتات قيد الدراسة وبتركيز (200) ملغم/سم^3. أما بالنسبة لزيت اليوكالبتوس فقد شبعت أقراص المضادات الحيوية بتركيز (0.2) سم^3/سم^3 من الزيت كلا على حدا. بعد ذلك يتم تثبيت قرص مشبع بالمكونات الفعالة لوحده بتركيز (200) ملغم/سم^3 وبجانبه قرص المضاد الحيوي لوحده والقرص الثالث عبارة عن احد أقراص المضادات الحيوية الثلاثة Gn و TE و Am شبعت بالمكونات الفعالة المفصولة وبتركيز (200) ملغم/سم^3 ووضعت في طبق واحد بواسطة ملقط معقم على وسط الاكار المغذي وبمعدل ثلاثة مكررات وتحضن بدرجة (37) °م ولمدة (14-16) ساعة. يتم قياس منطقة التثبيط أو حزام التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة وتسجل النتائج (17).

النتائج والمناقشة

جاءت نتائج الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية مطابقة لما ورد في أنظمة التصنيف المعتمدة (18)، إذ أعطت (250) عينة نموا بكتيريا أي بنسبة (96.1%) ووجد ان (85) عزلة كانت تمثل جرثومة *S. typhimurium* بنسبة (58.6%) و (60) عزلة كانت تمثل جرثومة *Staph. aureus* بنسبة (41.4%) وقد أهملت العزلات التي لا تمثل الجرثومتين المذكورتين قيد الدراسة.

أما فيما يتعلق باختبار الحساسية للمضادات الحيوية فقد أظهرت جرثومة *Staph. aureus* مقاومة مطلقة للمضاد الحيوي Nalidixic acid وبنسبة (100%). أما فيما يخص المضادات الحيوية Gentamycin و Ampicillin و Chloramphenicol و Amoxicillin و Tetracyclin فقد أبدت الجرثومة *Staph. aureus* حساسية بنسبة (100%) تجاه هذه المضادات، وكانت حساسيتها للمضادات الحيوية Trimethoprim و Vancomycin و Erythromycin و Streptomycin بنسبة (90%) و (80%) و (70%) و (65%) على التوالي.

لقد أبدت جرثومة *S. typhimurium* مقاومة بنسبة (100%) للمضادات الحيوية Tetracyclin و Ampicillin و Vancomycin و Erythromycin و Nalidixic acid في حين أظهرت الجرثومة حساسية لكل من المضادات الحيوية Trimethoprim بنسبة (90%) و Chloramphenicol بنسبة (85%) و Amoxicillin بنسبة (80%) و Gentamycin بنسبة (76%) و Streptomycin بنسبة (60%).

اعتمد في تحديد تأثير المستخلصات النباتية ومقارنتها بالمضادات الحيوية حسب ما ورد في توصيات منظمة الصحة العالمية (19)، إذ انتخبنا ثلاثة مضادات حيوية أبدت الجراثيم حساسية تجاهها وهي Amoxicillin و Chloramphenicol و Gentamycin .

1. الدردار *Slippery Elm*

اظهر المستخلص المائي للحاء الدردار تأثيراً تثبيطياً ضد جرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة، أما فيما يخص جرثومة *S. typhimurium* فقد أظهرت حساسية معتدلة مقارنة بالمضادات الحيوية نفسها.

أما المستخلص الايثانولي للحاء الدردار فقد اظهر تأثيرا جيدا ضد جرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية أعلاه، أما جرثومة *S. typhimurium* فقد اظهر

المستخلص الايثانولي تأثيرا تثبيطيا جيدا مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxicillin وتأثيرا عاليا مقارنة بالمضادين Gentamycin و Tetracyclin .

أبدى المستخلص الايثر البترولي للحاء الدردار فعالية تثبيطية عالية في جرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية المذكورة بينما لم يظهر المستخلص الايثر البترولي تأثيرا واضحا في جرثومة *S. typhimurium* .

لم يكن للمستخلص البنزيني أي تأثيرا تثبيطيا في الجرثوميتين قيد الدراسة وقد يرجع ذلك لعدم قدره البنزين على إذابة المكونات الفعالة الموجودة في النبات.

اظهر المستخلص الكلوروفورمي للحاء الدردار تأثيرا تثبيطيا جيدا ضد جرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة بينما لم يظهر المستخلص الكلورفورمي أي تأثير ضد جرثومة *S. typhimurium* .

لقد اظهر المستخلص الاسيتوني للحاء الدردار تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد جرثومة *Staph. aureus* وتأثيرا تثبيطيا جيدا ضد جرثومة *S. typhimurium* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة كما موضح في الجدول (2)، وقد يرجع السبب في ذلك إلى قدرة الاسيتون على إذابة اغلب المواد الفعالة الموجودة في النبات والمؤثرة في نمو الجراثيم أو قد يعزى سبب ذلك إلى احتواء الدردار على المواد التانينية والاحماض الفينولية التي لها قابلية الذوبان في الماء والكحول وبصورة أكثر في الاسيتون (20).

لقد جاءت النتائج أعلاه مطابقة للعديد من الدراسات إذ اثبت الباحثان Raymond and Kemp (21) وجود مواد فعالة في نبات *Ulmus grabra* العائد للعائلة Ulmacene مؤثرة بايولوجيا في الفطريات كما قام نفس الباحث بفصل (8) مركبات ذات طبيعة فينولية من المستخلص الكحولي للحاء هذا النبات بتقنية TLC ، إذ قام بتحديد المركبات الفعالة واستخدام التحليل الطيفي لقياس كميات المركبات الموجودة وتم تعيين الفعالية المضادة للفطريات.

وفي دراسة قام بها الباحث Valle وآخرين (22) بين فيها التأثير التثبيطي لنبات *Ulmus campestris* ضد عدد من الفطريات إذ أظهرت المستخلصات المفصولة من هذا النبات فعلا تثبيطيا جيدا ضد الفطريات.

وفي دراسة للباحثين Youn و Noh (23) تم اختبار الفعالية البايولوجية لمستخلصات (15) نباتا طبيا من ضمنها *Ulmus macrocarpa* ضد *Eimeria tenella* التي تصيب كتاكيت فروج الدجاج بعمر يوم واحد إذ عولجت هذه الكتاكيت بمستخلصات النباتات المستخدمة في الدراسة.

أما الأحماض الفينولية المفصولة من نبات الدردار فقد اظهر مستخلص خلات الاثيل الحاوي على حامضي الساليسيلك والكاليك تأثيرا تثبيطيا عاليا في جرثومة *Staph. aureus*

في حين كان التأثير معتدلا في جرثومة *S. typhimurium* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة كما موضح في الجدول (2) والصورة (2).

لقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه الباحث Farag وجماعته (24) إلى ان المركبات الفينولية وبضمنها حامض الساليسيلك تمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد الجراثيم *E. coli* و *Bacillus cereus* و *Klebsiella pneumonia* والفطر *Aspergillus flavus* و *A. parasitieus* وقد أظهرت الدراسة ان هذا الحامض منع النمو عند تركيز (0.3 mg/ml).

كما بين الباحثان Al-Jadi و Mohd (25) ان الفعالية التثبيطية للعسل الماليزي *Malaysian honey* تعود إلى وجود العديد من المركبات والاحماض الفينولية بما فيها حامض الساليسيلك وليس بسبب التركيز العالي لنسبة السكريات.

اشار El-Kady وآخرين (12) ان التأثير المضاد لحامض الساليسيلك والكاليك المفصولين يعود إلى وجود الحلقة الاروماتية الحاوية على مجموعة (OH) الفينولية القطبية الفعالة التي تمتلك قابلية التفاعل والارتباط بواسطة أواصر هيدروجينية مع المجاميع الفعالة للأنزيمات المساعدة Coenzymes وهذا ما قد ينطبق على النتائج التي تم التوصل إليها.

وربما ترجع الفعالية البايولوجية للدردار إلى احتوائه على المركبات الفينولية وهذا ما أكده العديد من الباحثين، إذ قام العديد من الباحثين بدراسة المكونات الكيميائية الفعالة داخل الدردار واثبتوا احتواء النبات نسبة 3% من أحماض التانيك Tannic acid التي تتكون بدورها من Gallic acid والسكريات المتعددة كذلك يحتوي النبات على حامض الساليسيلك كما اثبتوا ان لهذين الحامضين فعالية مضادة للجراثيم والفطريات إذ يستخدم الدردار في معالجة الالتهابات الجلدية والتهابات المجاري البولية والتقرحات والبثرات وفي شفاء الحروق(26).

2. اليوكالبتوس Eucalyptus

لقد تقارب تأثير المستخلص المائي مع المستخلص الايثانولي إذ كان تأثيرهما جيدا مقارنة بالمضاد الحيوية Gentamycin وتأثيرا عاليا مقارنة بالمضادين الحيويين Amoxicillin و Tetracyclin ضد جرثومة *Staph. aureus* وكما موضح في الجدول (2) والصورة (3). لقد اظهر مستخلص الايثر البترولي فعالية تثبيطية عالية ضد جرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة.

أما المستخلص البنزين فقد اظهر تأثيرا تثبيطيا جيدا مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية الثلاثة بينما اظهر المستخلص الكلوروفورمي تأثيرا تثبيطيا معتدلا مقارنة بالمضادات Gentamycin وتأثيرا جيدا مقارنة بالمضادين الحيويين Amoxicillin و Tetracyclin لقد

أبدى المستخلص الاسيتوني من أوراق اليوكالبتوس فعالية تثبيطية عالية ضد جرثومة *Staph. aureus* كما موضح في الصورة (4) مقارنة بالمضادات الحيوية أعلاه وقد يعزى السبب في ذلك إلى ان المواد المؤثرة في نمو الجراثيم قد تكون ذائبة في الاسيتون أكثر من باقي المذيبات الأخرى.

أما فيما يتعلق بالزيت الأساسي المفصول من أوراق اليوكالبتوس فقد اظهر تأثيرا تثبيطيا معتدلا مقارنة بالمضاد الحيوي Gentamycin وتأثيرا تثبيطيا جيدا مقارنة بالمضادين الحيويين Amoxicillin و Tetracyclin .

تبين من خلال النتائج أعلاه ان الفعالية التثبيطية لزيت اليوكالبتوس كان اقل من الفعالية التثبيطية لكل من المستخلص المائي والايثانولي والايثر البترولي والاسيتوني ضد جرثومة *Staph. aureus* وهذا يدل على وجود الزيت الأساسي من أوراق اليوكالبتوس مع باقي المركبات الفعالة الأخرى يزيد من مفعول الثاني وبالتالي يؤدي إلى زيادة الفعالية البايولوجية Synergism أكثر مما لو استخدم مفردا.

وبالرجوع إلى الجدول (2) تبين ان جرثومة *S. typhimurium* أظهرت مقاومة بشكل تام وبنسبة (100%) تجاه المستخلصات المائية والايثانولية والعضوية والزيت الأساسي المفصول من أوراق اليوكالبتوس وهذا يتفق مع دراسة Sadia وآخرين (27) الذين اثبتوا ان أوراق اليوكالبتوس كانت ذات تأثير ضعيف ضد جرثومة *S. typhi* . وربما يعود السبب في ذلك إلى قلة نفاذ جدار الجرثومة للمواد الفعالة لما تمتلكه من طبيعة دهنية غير نفاذة للمواد المضادة (28).

لقد اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل إليه الباحث Oyedeji وآخرين (6) الذي درس التأثير التثبيطي للمادة الفعالة Eucaber المستخلص من Eucalyptus في جرثومة *E. coli*.

كما درس الباحث Tandon وآخرين (29) التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي من أوراق اليوكالبتوس من نوع *Eucalyptus citriodara* وبين التأثير المضاد للجراثيم.

أما الباحث Ponce وآخرين (30) فقد بين الفعل التثبيطي للزيت الأساسي المفصول من (9) نباتات طبية من بينها *Eucalyptus globules* ضد عدة أنواع من الميكروبات.

وفي دراسة أجراها الباحثان Wilkinson و Cavanagh (31) أوضحا فيها التأثير التثبيطي للزيوت الأساسية المفصولة من أنواع اليوكالبتوس *Eucalyptus spp* وشجرة الشاي *Melalenca alternifolia* ضد خمسة أنواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام منها *Staph. aureus* و *S. typhimurium* وخميرة الـ *Candida albicans* إذ تأثرت جميع الأنواع الجرثومية بالزيت الأساسي المفصول من أنواع اليوكالبتوس باستثناء *Ps. aeruginosa* السالبة لصبغة كرام، إذ قاومت تأثير الزيت الأساسي المفصول وهذا مطابق

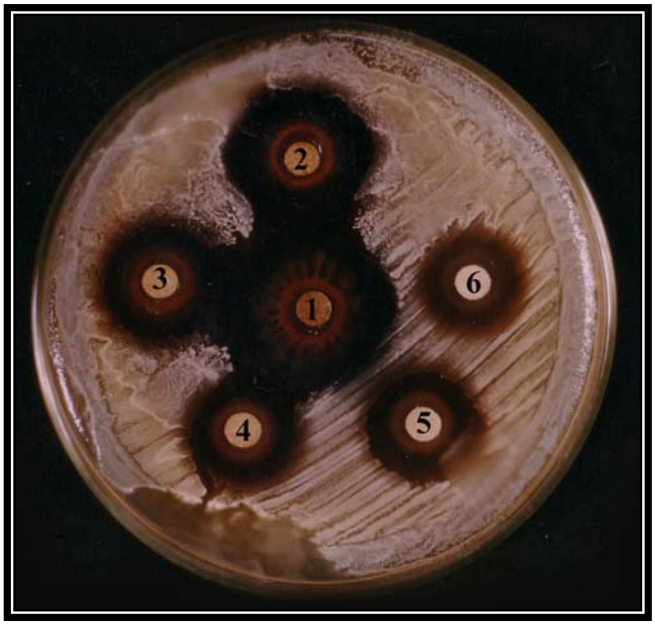
لما توصلت إليه الدراسة الحالية إذ لم يكن للزيت الأساسي المفصول من اليوكالبتوس أي تأثير مثبط ضد جرثومة *S. typhimurium* السالبة لصبغة كرام.

الجدول (2): الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية وبعض مكوناتها الفعالة المفصولة في جرثومتي *Staph. aureus* و*S. typhimurium* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية

(تركيز المستخلص 200 ملغم/سم^3)

نوع المعاملة		الجراثيم	
		Staph. aureus	*S. typhimurium*
المستخلص المائي من لحاء الدردار		1.2±17.3	1±12
المستخلص الايثانولي من لحاء الدردار		1.3±19	1±15
المستخلص الايثرالبترولي من لحاء الدردار		1.7±20	-
المستخلص البنزيني من لحاء الدرادر		-	-
المستخلص الكلوروفورمي من لحاء الدردار		1±18	-
المستخلص الاسيتوني من لحاء الدردار		2.02±26.1	1±14
مستخلص خلات الاثيل من لحاء الدردار الحـاوي على (Salicylic Acid, Gallic Acid)		2±21.3	1±11
المستخلص المائي من أوراق اليوكالبتوس		0.7±19.3	-
المستخلص الايثانولي من أوراق اليوكالبتوس		1.5±20.5	-
المستخلص الايثرالبترولي من أوراق اليوكالبتوس		2.1±21.5	-
المستخلص البنزيني من أوراق اليوكالبتوس		1±18.6	-
المستخلص الكلوروفورمي من أوراق اليوكالبتوس		0.5±17.5	-
المستخلص الاسيتوني من أوراق اليوكالبتوس		1.3±24	-
الزيت الأساس من أوراق اليوكالبتوس		1.8±18	-
Gentamycin	المقارنة	3.4±19	1±13
Amoxicillin		1±16	0.0±15
Tetracyclin		0.0±17	0.0±0

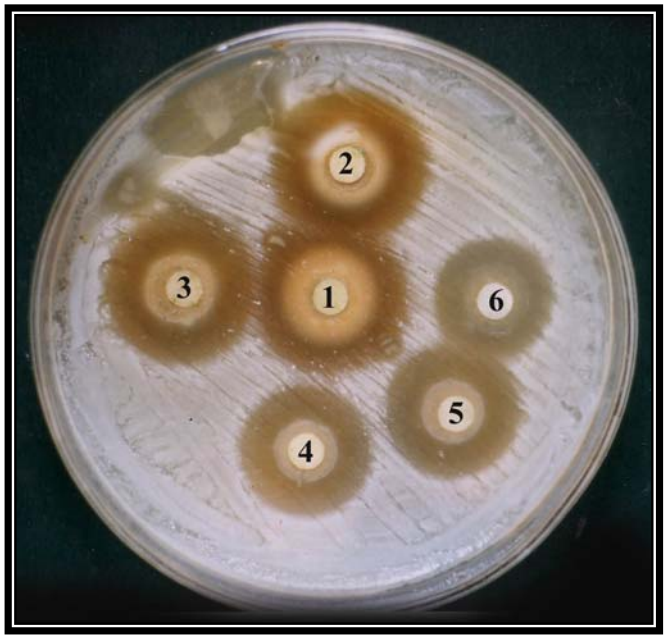
- (-) تشير إلى عدم وجود فعالية تثبيطية .
- الأرقام بعد الإشارة (±) تمثل الخطأ التجريبي .
- قطر القرص (6)ملم .
- معدل قطر التثبيط لثلاث عزلات لكل جرثومة .
- قطر دائرة التثبيط اكبر من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (تثبيط عال) .
- قطر دائرة التثبيط مساوٍ لقطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (تثبيط جيد).
- قطر دائرة التثبيط اقل من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (6-12)ملم حساسية معتدلة (MS).
- قطر دائرة التثبيط للمستخلص اقل من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة بأكثر من(12)ملم مقاومة(R).



الصورة (1) تأثير المستخلص الاسيتوني من لحاء الدرادر بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus* 1 (200 ملغم/سم^3) ، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3)، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3)

الصورة (2) تأثير مستخلص خلات الاثيل الحاوي على حامضي Gallic Acid وSalicylic Acid من لحاء الدردار بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus* 1 (200 ملغم/سم^3) ، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3)، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3)

الصورة (3) تأثير المستخلص الايثانولي من أوراق اليوكالبتوس بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus* 1 (200 ملغم/سم^3) ، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3)، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3)



الصورة (4) تأثير المستخلص الاسيتوني من أوراق اليوكالبتوس بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus* 1 (200 ملغم/سم^3) ، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3)، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3)

الكشف عن الفينولات المفصولة من نبات الدردار باستخدام تقنية الفـصل بكروماتوغرافيـا الطبقة الرقيقة Thin-layer chromatography (TLC)

وعند إجراء تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) ظهرت ثلاثة بقـع ذات لـون ازرق عند رشها بكاشف (Vanillin-HCl) plus NH_3 aq. وكان معدل سـرعة الجريـان (Rf) للبقعة الأولى مساويا لـ (0.80) وهـي مقاربـة لـسرعة جريـان المـادة القياسـية Salicylic acid .

أما البقعة الثانية فكان معدل سرعة الجريان (Rf) لها مساويا لـ (0.42) وهي مقاربـة لسرعة جريان المادة القياسية Gallic acid أما البقعة الثالثة فكانت بـ (Rf = 0.88) وهـي مجهولة وكما موضح في الجدول (3) والصورة (5).

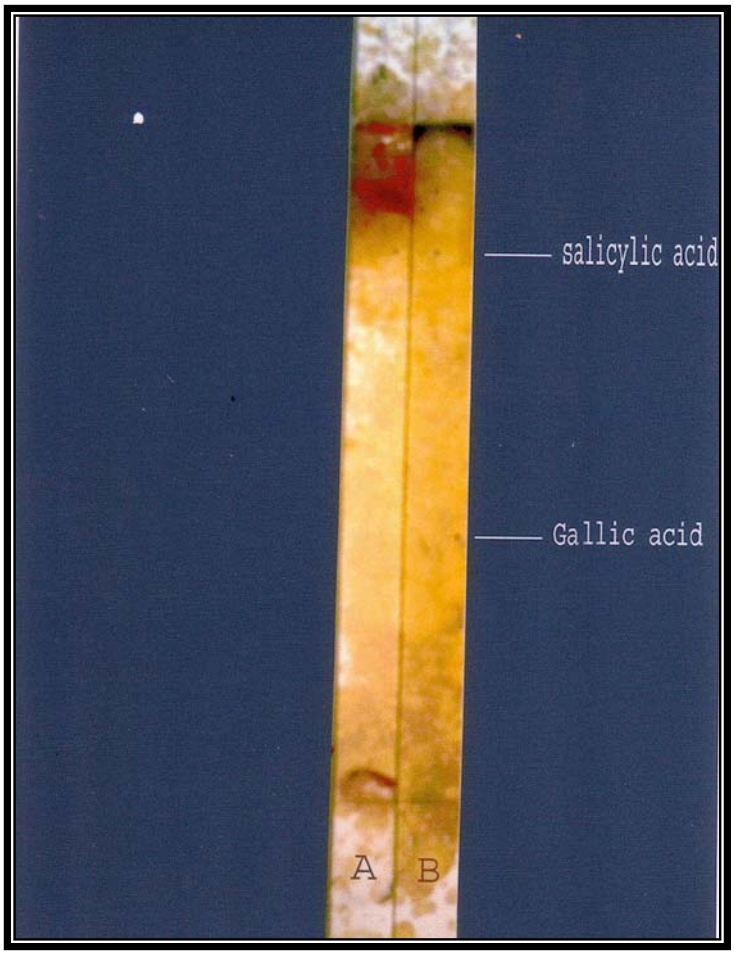
كما وتم تشخيص المجاميع الوظيفية لبعض المركبات الفينولية المفـصولة مـن لحـاء الدردار بواسطة تقنية IR إذ اظهر قياس طيف الأشعة تحت الحمراء IR لمستخلص خـلات الاثيل من لحاء الدردار ان التركيب الكيمياوي لهذه المركبات يحوي مجاميع الهيدروكسيل كما في حالة Salicylic acid فظهر منحن مقعر بين ($3250\text{-}3600\ cm^{-1}$) وبشكل عريض يعود إلى مجموعة الهيدروكسيل (OH) المرتبط بمجموعة الكاربونيل.

كذلك ظهرت مجموعة (C=O) عند امتصاص ($1713\ cm^{-1}$) والذي يعود إلى حامض الكاليك Gallic acid . أما الآصرة المزدوجة (C=C) للحلقة الاروماتيـة فظهـرت عنـد امتصاصات ($1373\text{-}1615\ cm^{-1}$) وكما موضح في الشكل (1).

الجدول (3): قيم الـ Rf لحامضي الساليسياك والكاليك المفصول من لحاء الدردار باستخدام المذيب (Ethylacetate: Benzene 9:11 V/V) في تقنية (T.L.C)

الحوامض الفينولية	Rf المقاسة	Rf القياسية
Salicylic Acid	0.80	0.82
Gallic Acid	0.42	0.40
●	0.88	●

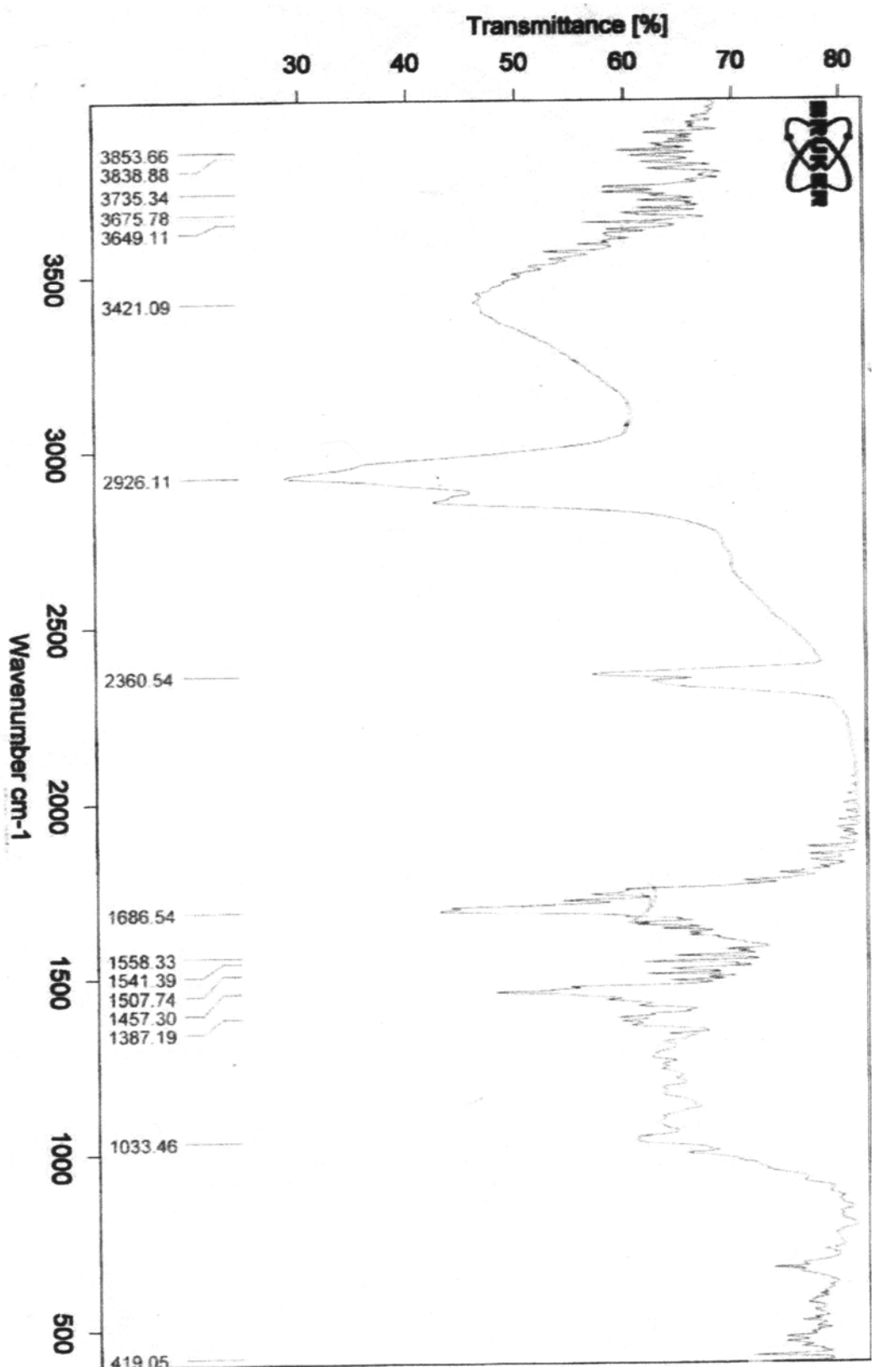
● مركبات مجهولة لافتقار النموذج القياسي لها مع Rf المقارنة



الصورة (5) البقع الظاهرة لحامضي Gallic Acid وSalicylic Acid من مستخلص خلات الاثيل من لحاء ادردار وعينة النموذج القياسية لـ Salicylic Acid باستخدام تقنية (T.L.C)

A عينة النموذج القياسية لـ Salicylic Acid

B بقعتي حامضي الساليسيلك والكاليك



الشكل (2) طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للجزء المفصول بالكروماتوغرافيا العمودية باستخدام عمود هلام السليكا والذي يحتوي على المجاميع الفعالة لـ (Limonene, α-pinene, β-pinene)

اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المواد الفعالة

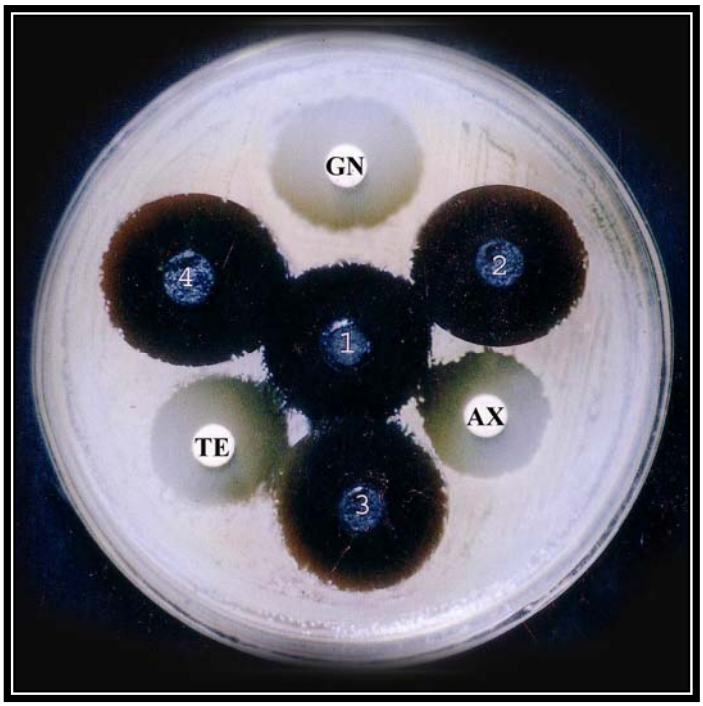
أجريت هذه التجربة لمعرفة حساسية الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة للمضادات الحيوية بوجود المكونات الفعالة المفصولة من النباتات قيد الدراسة إذ تم انتخاب ثلاث مضادات حيوية Amoxicillin 25 µg/disc و Gentamycin µg/disc و Tetracyclin µg/disc .

1. مستخلص خلات الاثيل الحاوي على حامضي Salicylic acid and Gallic acid من لحاء الدردار والمضادات الحيوية

يلاحظ من الجدول (4) والصورة (6) زيادة في التأثير التثبيطي عند دمج مستخلص خلات الاثيل الحاوي على المواد الفعالة Salicylic acid and Gallic acid مع المضادات الحيوية الثلاثة ضد جرثومة *Staph. aureus* وبنتيجة أعلى مما لو استخدم المستخلص لوحده والمضاد لوحده وهذا يفسر ظاهرة التآزر Synergism أي ان المركبات الفينولية المتمثلة بحامضي الساليسيلك والكاليك زادت من تأثير المضادات الحيوية.

أما بالنسبة لجرثومة *S. typhimurium* فعند دمج المضادات الحيوية الثلاثة مع مستخلص خلات الاثيل الحاوية على حامض الساليسيلك والكاليك قل التأثير التثبيطي مما لو استخدم المستخلص والمضاد كلا على حدا وهذا ما يسمى بـ Antagonism أي احدهما يقلل من تأثير الآخر فالذي حصل هنا ان المواد الفعالة الموجودة في مستخلص خلات الاثيل من لحاء الدردار قلل من التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية عند دمجها معا.

وبمقارنة النتائج التي تم التوصل إليها لكل من الجرثومتين *Staph. aureus* و *S. typhimurium* وللمستخلص الحاوي على المواد الفعالة Salicylic acid و Gallic acid من لحاء الدردار يلاحظ ان هناك اختلافا واضحا إذ عمل المستخلص المندمج مع المضادات الحيوية المدروسة في زيادة التثبيط لجرثومة *Staph. aureus* أي حصول حالة تآزر ولكن العكس حصل عند استخدامها لجرثومة *S. typhimurium* إذ قلت حساسية الجرثومة للمضادات الحيوية بوجود المواد الفعالة أي حصول حالة تضاد Antagonism وهذا ربما يعود إلى اختلاف الجرثومتين عن بعضهما في الصفات التركيبية في الجدار وكذلك الفسلجية أو طبيعة المادة الفعالة وقوة تأثيرها إذا ما اندمجت مع المضادات الحيوية وعلاقتها بجدار الخلية الجرثومية.



الصورة (6) تأثير مستخلص خلات الاثيل الحاوي على حامضي Gallic Acid وSalicylic Acid من لحاء لدردار المتآزر مع المضادات الحيوية الجنتامايسين (GN) ، اموكسيلين (AX) ، تتراسايكلين (TE) في جرثومة *Staph. aureus*

1 مستخلص خلات الاثيل من لحاء لدردار الحاوي على حامضي Gallic Acid وSalicylic Acid (200 ملغم/سم^3) لوحده .

2 مستخلص خلات الاثيل من لحاء لدردار (200 ملغم/سم^3) + GN

3 مستخلص خلات الاثيل من لحاء لدردار (200 ملغم/سم^3) + AX

4 مستخلص خلات الاثيل من لحاء لدردار (200 ملغم/سم^3) + TE

10µg/ disc ← GN

25µg/ disc ← AX

30µg/ disc ← TE

2. الزيت الأساسي لليوكالبتوس والمضادات الحيوية

يلاحظ من الجدول (4) والصورة (7) ان زيت اليوكالبتوس قد اثر بقطر تثبيطي (18) ملم لوحده وبتركيز (0.2) سم^3/سم^3 في جرثومة *Staph. aureus* وكان تأثير المضاد الحيوي (GN) بتركيز µg/disk (10) في جرثومة *Staph. aureus* بقطر تثبيط (19) ملم لوحده وعند الدمج بينهما أصبح قطر دائرة التثبيط (25) ملم.

أما عند دمج زيت اليوكالبتوس (0.2) سم^3/سم^3 مع المضاد الحيوي 25 µg/disk (Ax) كان قطر دائرة التثبيط بحدود (22) ملم في جرثومة *Staph. aureus* وهذا التثبيط أعلى لو استخدم الزيت لوحده والمضاد لوحده.

فضلا عن ذلك فان (TE) أعطى تأثيراً تثبيطياً بحدود (17) ملم في جرثومة *Staph. aureus* وبتركيز µg/disk (30) وعند دمجه مع زيت اليوكالبتوس ذو قطر التثبيط (18) ملم وبتركيز (0.2) سم^3/سم^3 أعطى قطر تثبيط أعلى من الزيت لوحده والمضاد لوحده وبحدود (23) ملم.

ومن هنا يمكن القول ان المركبات الفعالة الموجودة في الزيت الطيار المفصول من نبات اليوكالبتوس قد زادت من كفاءة تأثير المضادات الحيوية المستخدمة قيد الدراسة ضد جرثومة *Staph. aureus* مما لو استخدمت لوحدها وهذا ما يسمى بـ Synergism .

لقد اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل إليه الباحثان Pyun و Shin (16) إذ تضمنت الدراسة خلط العقار الطبي Ketoconazole (KE) مع زيت الثوم *Allium sativium* وكذلك زيت الالسين مع Ketoconazole وملاحظة التأثير البايولوجي على ثلاثة أنواع من الفطريات، إذ تبين ان الفعالية البايولوجية زادت بشكل ملحوظ عند دمج العقار مع الزيت مما لو استخدم الزيت لوحده والعقار لوحده كلا على حدا.

كما جاءت نتائج الدراسة الحالية مطابقة لما توصل إليه الباحث سليمان (16) الذي بين الفعل التآزري ما بين عدد من المضادات الحيوية والـ Thymol الموجود في الزعتر *Thymus vulgaris* ضد ثلاثة أنواع من الجراثيم *Staph. aureus* التي زادت في حساسيتها للمضادات الحيوية بوجود الـ Thymol المفصول.

ان الغاية المرجوة من هذه التجربة هي معرفة التأثير التآزري Synergism الحاصل بين المضادات الحيوية والمكونات الفعالة المفصولة من النباتات قيد الدراسة إذ تبين من خلال إجراء هذه التجربة ان التآزر ما بين المواد الفعالة المفصولة من النباتات والمضادات الحيوية يزيد من التأثير التثبيطي ضد الجراثيم في بعض الأحيان كما في جرثومة *Staph. aureus* أو قد لا يضفي شيئا أو يقلل من التأثير ضد الجراثيم كما هو الحال في جرثومة *S. typhimurium* وهذا ما أكده الباحثون Rhec و Kim (17) و Nascimento وآخرون(14) .

الجدول (4): اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المواد الفعالة

(قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

مستخلصات المواد الفعالة والمضادات الحيوية			الجراثيم	
			Staph. aureus	*S. typhimurium*
1	Extract1		1±16 a	1±17 a
	Extract 1+GN		1±23 b	1±12 b
	Extract 1+AX		1±20 c	1±14 a
	Extract 1+TE		1±20 c	-
2	زيت اليوكالبتوس		1.8±18 a	-
	Essential oils +GN		1±25 a	-
	Essential oils +AX		1±22 b	-
	Essential oils +TE		1±23 b	-
	المقارنة control	GN	3.4±19 a	1+13 b
		AX	1±16 a	0+15 a
		TE	0±17 a	-

- Extract1 : جزء المستخلص الايثانولي للمريمية بعد الفصل بالعمود الكروماتوغرافي الحاوي على (Camphor, Furfural) بتركيز (200) ملغم/سم^3
- Essential oils : الزيت الأساسي من أوراق اليوكالبتوس بتركيز (0.2) سم^3/سم^3
- GN : Gentamycin (10) µg/disc
- AX : Amoxicillin (25) µg/disc
- TE : Tetracyclin (30) µg/disc
- (-) : تشير إلى عدم وجود فعالية تثبيطية

الصورة (7) تأثير الزيت الأساسي من اليوكالبتوس المتآزر مع المضادات الحيوية الجنتاميسين (GN) ، اموكسيلين (AX) ، تتراسايكلين (TE) في جرثومة *Staph aureus*

1 الزيت الأساسي لليوكالبتوس (0.2 سم^3/سم^3)

2 الزيت الأساسي لليوكالبتوس (0.2 سم^3/سم^3) + GN

3 الزيت الأساسي لليوكالبتوس (0.2 سم^3/سم^3) + AX

4 الزيت الأساسي لليوكالبتوس (0.2 سم^3/سم^3) + TE

30µg/ disc ← TE ، 25µg/ disc ← AX ، 10µg/ disc ← GN

المصـادر

1. Gilbert R.J. and Humphrey T.J., Food borne bacterial gastroenteritis. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infection. 9th ed., Edited by Collier L., Balows A. and Sussman M., Oxford Univ. Press., (1998).
2. Humphrey T.J., Threlfall E.J. and Cruickshank J.G., Salmoellosis. In: Palmer S.R., Soulsby. Lord Simpson D.I.H. (Eds). Zoonoses Oxford Medical Publication, Oxford Univ. Press, Oxford, (1998).
3. Carson C.F. and Riley T.V., Non-antibiotic therapies for infections diseases. Commun. Dis. Intell., 27: 143-146, (2003).
4. Oran S.A. and Raies A., Antimicrobial activity of Globular Arabica Jaub and Spach Globular alypum L. (Globulariaceae). Dirasat Pure Sci., 27(1): 71-73, (2000).
5. Kathi J. and Kemper M.D., Slippery Elm (Ulmus rubra or U. fulva). http://www.mcp.edu/herbal/default/htm., (1999).
6. Oyedeji A.O., Ekundayo O., Olawore O.N., Adeniyi B.A. and Koenig W.A., Antimicrobial activity of the essential oils of five Eucalyptus species growing in Nigeria Fitoterapia. 70: 526-528, (1999).
7. Bauer W., Kirbay W.A.A., Sherris J.I. and Turk M., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496, (1966).
8. Riose J.L., Recio M.C. and Villar A., Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. J. Ethnopharmacology, 21: 139-152, (1987).
9. Grand A., Woundergen P.A., Verporte R. and Pousset J.L., Anti-infections phytotherapies of tree-svannah Senegal (West Africa). II-antimicrobial activity of 33 species. J. Ethnopharmacology, 22: 25-31, (1988).
10. Verporte R., Tginastoi A., Vandoorn H. and Svendsen A.B., Medicinal plant of Surinam, 1-antimicrobial activity of some medicinal plants. J. Ethnopharmacology, 5: 221-226, (1982).
11. Harborne J.B., Phytochemical Methods. Chapman and Hall Ltd., New York, USA, (1973).
12. El-Kady I.A., Al-Maraghy S.S. and Mohammed E.M., Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. Qatar Univ. Sci. J., 13(1): 63-69, (1993).

13. Rahman M. and Gul S., Antibacterial activity of hydrodistilled essential oils of Psammageton canescens N.O. umbelliferae. J. Biotechnology, 1(1): 55-60, (2002).

14. Nascimento G.F., Locatelli J., Freitas P.C. and Silva G.L., Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. J. Microbiol., 31: 247-256, (2000).

15. Iwalokun B.A., Gbenle G.O., Adewole T.A. and Akinsinde K.A., Shigellocidal properties of three Nigerian medicinal plants. Ocimum gratissimum, Terminalia avicennoidcs and Momordia Balsamina. J. Health Popul. Nutri., 19(4): 331-335, (2001).

16. Pyun M.S. and Shin S., Antifungal effects of the volatile oils from Allium plants against Trichophyton species and synergism of the oils with ketoconazole. Phytomedicine, 13: 394-400, (2006).

17. Rhee G.J. and Kim E.H., Activities of ketonic fraction from leptospermum scoparum alone and synergism in combination with some antibiotics against various combination with some antibiotics against bacterial strains and fungi. Yakhak Hoeji, 43: 716-728, (1999).

18. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schrechenberg P.C. and Winn W.C., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J.B. Lippincott Com., Philadelphia, New York, (1997).

19. Vandepitte J., Engback K., Piot P. and Heuk C., Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization, Geneva, (1991).

20. Tyler V.E., Brady L.R. and Robbers J.E., Pharmacognosy. 9th ed., Philadelphia, Lea and Febiger, Goo Washington Squore Philadelphia, USA, (2002).

21. Raymond S. and Kemp S., Sesquiterpene phytoalexins from Ulmus glabra. Phytochemistry, 23(2): 383-385, (1984).

22. Valle T., Jose L. and Jose M., Antifungal activity of scopoletin and its differential accumulation in Ulmus pumila and Ulmus campestris cell suspension cultures infected with Ophiostoma ulmi. Sporesplant Sci., 125: 79-101, (1997).

23. Youn H.J. and Noh J.W., Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against Eimeria tenella. Veter. Parasitol., 96: 257-263, (2001).

24. Farag S.E., Aziz N.H., Mousa L.A. and Abo-Zaid M.A., Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. J. Microbios., 93(374): 43-54, (1998).

25. Al-Jadi A.M. and Mohd K.Y., Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian-honey with antibacterial properties. Turk J. Med. Sci., 33: 229-236, (2002).

26. Luo W., Aug C., Schmitt T. and Betz J., Determination of Salicin and related compounds in botanical dietary supplements by liquid chromatography with fluorescence detection. J. AOAC, 81: 757-762, (1998).

27. Sadiq M.A.M., Abs A.A. and Sulayman K.D., Antimicrobial effect of some Iraqi plant. J. Edu. and Sci., 6: 83-98, (1989).

28. Goodman L.S. and Gillman S., The pharmacological Basis of Therapeutics. 5th ed., MacMillan Publishing com., Inc., New York, (1985).

29. Tandon S.K., Chandra S., Gupta S. and Jawahar L., Pharmacological effects of alcoholic extract of Eucalyptus citrodora leaves. J. Indian Veter., 72(7): 762-764, (1995).

30. Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C. and Roura S.I., Antimicrobial activity of essential oils on the native microplora of organic swiss chard, Lebensmwiss. U. Technol., 36: 679-684, (2003).

31. Wilkinson J.M. and Caranagh H.M., Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. Phytother. Res., 19(7): 643, (2005).