تقييم فعالية مستخلصات العكبر Propolis المضادة لبعض انواع البكتريا المرضية *

نجم عبد الله جمعة الزبيدي najm_alzubaidy@yahoo.com
فاطمة عمران يوسف fatima89_ omran@yahoo.com
قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى، العراق

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في مدينة بعقوبة، بهدف معرفة التأثير التثبيطي لمستخلصات العكبر Propolis على النمو البكتيري لثلاث من العزلات البكتيرية، شملت بكتريا *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus* و*Pseudomonas aeruginosa*، تضمنت الدراسة تحضير ثلاثة انواع من المستخلصات هي المستخلص الكحولي والمستخلصين المائي الحار والبارد وبالتراكيز 10، 20، 50، 100 ملغم مل$^{-1}$، باستعمال طريقة الحفر بالأكار، تم مقارنة نتائج التثبيط لمستخلصات العكبر مع الفعالية التثبيطية لسبعة من المضادات الحيوية وهي: Nalidixic acid وAmoxicillin وCiprofloxacin وCefotaxime وAmikacin وTrimethoprim وAmpicillin باستعمال اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، أظهرت نتائج الدراسة ان العكبر ثبط نمو عزلات بكتريا *Staph. aureus* بقطر تثبيط بلغ 17.19 ملم ثم تليها بكتريا *E. coli* بقطر تثبيط بلغ 15.02 ملم ثم بكتريا *Ps. aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 14.61 ملم.

الكلمات المفتاحية: العكبر، تثبيط، *E.coli*، *Staphylococcus aureus*، *Seudomonas aeruginosa*.

المقدمة

كلمة Propolis اصلها اغريقي اطلقها ارسطو، معناها دفاع المدينة، فمعنى (Pro) دفاع و(Polis) معناه مدينة، ويسمى باللغة العربية العكبر، او غراء النحل (bee glue) وقد يدعى وسخ الكواب، وهو عبارة عن مادة صلبة راتنجية تنتج بوساطة حشرة النحل *Apis mellifera* من مختلف انواع النباتات والاشجار، لاسيما اشجار الصنوبر وخشب الحور لسد الفتحات والثقوب الموجودة في خلية النحل، ذلك لمنع دخول مختلف انواع الممرضات الى داخل الخلية (Burdock، 1998). العكبر (Propolis) مادة معقدة التركيب بوصفها خليط من مواد متعددة (اكثر من 200 مركب) تحتوي بصورة عامة على 50% راتنجات (Resins) و30% شمع (Wax) و10% دهون اساسية (essential oils) و5% حبوب لقاح (Pollen) و5% مركبات عضوية مختلفة مثل السكريات والفيتامينات والاحماض الامينية (Bankova وآخرون، 2000 ؛ Pietta وآخرون، 2002).

استخدم العكبر في الحضارات القديمة المصرية والاغريقية لعلاج الاصابات الجلدية وتقرحات الفم، ومازال حتى اليوم يستخدم في العلاج ومستحضرات التجميل (Kosalic وآخرون، 2005). ان مشكلة مقاومة غالبية الانواع الجرثومية للمضادات الحيوية تعد من اهم المشاكل التي ادت بالباحثين الى ايجاد بديل لهذه المضادات بهدف التغلب على الامراض الجرثومية وايجاد فرص اخرى لاكتشاف علاجات اكثر فعالية في علاج الاصابات الجرثومية، فضلاً عن ان غالبية المضادات الحيوية المستخدمة لها اضرار جانبية كثيرة وعديدة بجانب اثمانها الباهظة، وان الاستمرار في استخدامها لفترة طويلة يؤدي الى تناقص فعاليتها المضادة، وبالمقابل تؤدي الى زيادة مقاومة الجراثيم لفعل هذه المركبات،هذه كلها ادت بالمختصين الى

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

ايجاد بدائل اخرى اكثر فعالية وذات اثار جانبية قليلة في مواجهة الاصابات البكتيرية (حدادين، 1999؛ Digrak وآخرون، 2001).

من هنا جاءت محاولات عديدة في مجال استكشاف الاهمية الطبية للعكبر ومستخلصاته في العزلات البكتيرية، لتوافره محلياً وبأسعار رخيصة.

المواد وطرائق البحث

جمع العينات وتحضيرها

العكبر

جمعت عينات العكبر خلال شهر تشرين الثاني سنة 2014 من فرع النحالين في محافظة ديالى، إذ تم غسل عينات العكبر بالماء الاعتيادي ثم بالماء المقطر لغرض التخلص من الاتربة العالقة به، وترك في الظل ليجف بدرجة حرارة الغرفة مع التقليب المستمر لمنع حدوث التعفن، ثم طحن بوساطة مطحنة كهربائية، وحفظ المسحوق الناتج في عبوات جافة ومعتمة بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال (الخفاجي، 2000).

تحضير المستخلصات

المستخلص المائي البارد

تم وزن 10 غم من المسحوق الجاف وأضيف الى 100 مل ماء مقطر معقم لكي يتم الحصول على المستخلص المائي، تركت في الحاضنة الهزازة لمدة 24 ساعة بدرجة 35 م°، رشح المستخلص بورق ترشيح Whatman NO.1. عرض الراشح للانتباذ بقوة 2500 دورة دقيقة$^{-1}$ لمدة 10 دقائق بجهاز الطرد المركزي Centrifuge. بعدها عرض الراشح المتبقي للتبخير باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة 40–50 م° ثم جفف المتبقي كليا بوساطة الفرن الكهربائي (Oven) بدرجة حرارة 40 م°، كررت العملية مرات عدة لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص. وضع المستخلص الناتج في قناني معتمة وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال (Parekh وChanda، 2006).

المستخلص المائي الحار

اتبعت طريقة Anesini وPerz (1993) وذلك بوزن 10غم من مسحوق الجاف، اضيف له 100 مل من الماء المقطر المغلي وتركت لمدة 30 دقيقة ثم رشح بوساطة ورق ترشيح Whatman No.1، عرض الراشح للانتباذ بقوة 2500 دورة دقيقة$^{-1}$ لمدة 10 دقائق بجهاز الطرد المركزي Centrifuge. بعدها عرض الراشح المتبقي للتبخير باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة 40–50 م°، ثم بخر المتبقي كليا بوساطة الفرن الكهربائي (Oven) بدرجة حرارة 40 م° للحصول على المسحوق الجاف للمستخلص، كررت العملية مرات عدة لغرض الحصول على كمية كافية منه، ووضع الناتج في قناني معتمة وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال.

المستخلص الكحولي

اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي البارد نفسها ماعدا استخدم الكحول الاثيلي بتركيز 95% بدلا من الماء المقطر كما ذكره Rhajaoui وآخرون (2001).

المحلول الاساس الخزين

حضر المحلول الاساس الخزين Stock solution بإذابة 1 غم لكل من المستخلص المائي البارد والحار والكحولي المحفوظ في الثلاجة في 10 مل من الماء المقطر ليصبح تركيز المحلول 100ملغم

مل-1، وعقمت المحاليل المركزة بتمريرها في وحدات الترشيح الدقيق (Millipore Filter unit) الحاوية على ورق ترشيح ذي قطر 0.22 مايكروميترا، ثم حضرت من المحلول المركز اربعة تراكيز لكل مستخلص، والمستخدمة في الاختبارات الميكروبية وهي 10، 20، 50، 100 ملغم مل-1 (العوادي، 1993).

فحص الحساسية للمضادات الحيوية

استعملت طريقة Bauer–Kirby القياسية المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية في اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية (Vandepitte وآخرون، 1991).

1- نقلت 2-5 مستعمرات بكتيرية نقية من عمر 24 ساعة الى انبوبة اختبار معقمة تحوي على محلول الملح الفسيولوجي Normal saline لعمل العالق البكتيري. حضن العالق بدرجة حرارة 37 م° لمدة بضع ساعات تمت مقارنة العكورة مع محلول ثابت العكورة القياسي (Macfarland NO. 0.5) الذي يجب ان يكون مقارباً الى 1.5 X 10^8 خلية مل-1.

2- بوساطة مسحة قطنية معقمة نقلت 0.1 مل من العالق البكتيري، اذ تم نشر العالق على الاطباق الحاوية على وسط مولر هنتون الصلب، ثم تركت الاطباق لتجف لبضع دقائق بدرجة حرارة الغرفة.

3- حضرت اقراص المضادات الحيوية، ووضعت على الاطباق مع مراعاة ترتيبها بابعاد متساوية مع تعقيم الملقط المستخدم في كل مرة وعملت ثلاث مكررات.

4- حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة مباشرة بعد وضع الاقراص على الوسط.

5- تم قياس اقطار التثبيط للمضادات الحيوية وهي المساحة الخالية من النمو الجرثومي حول الاقراص لكل قرص بالملميتر باستعمال مسطرة قياسية، ومقارنة النتائج مع تلك المذكورة في الجداول القياسية (NCCLs، 2007).

فحص تأثير مستخلصات العكبر في فعالية البكتريا الاختبارية

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر Well Diffusion Assay method وذلك بحسب ما أشار العكيلي (2002) وهي كالاتي:

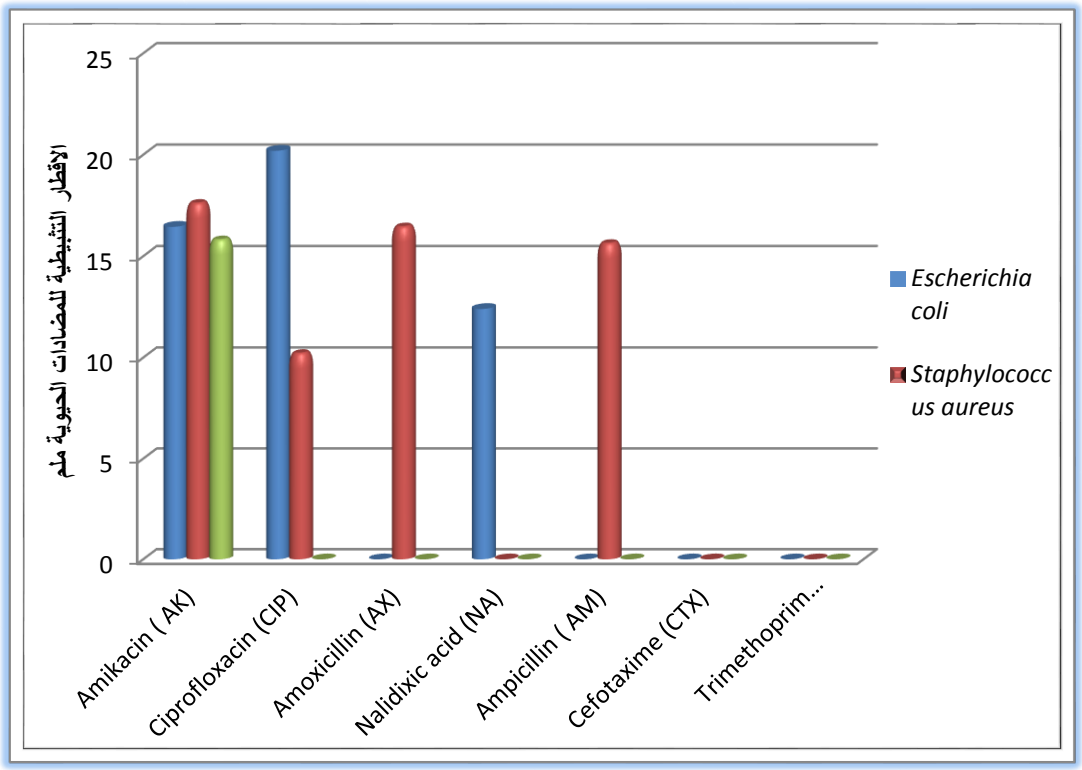
تم تحضير العالق الجرثومي بأخذ عدد من المستعمرات البكتيرية بالناقل المعدني (Loop) ووضعها في انابيب حاوية على وسط نقيع القلب والدماغ (BHI) السائل لغرض تنشيط البكتريا، حضنت الانابيب لمدة 18 ساعة، وتمت مقارنة العالق البكتيري مع محلول ماكفرلاند القياسي الذي يعتمد على درجة تعكر العالق الجرثومي بحساب عدد الجراثيم المتوقعة لكل 1 مل من العالق اذ يفضل ان يكون العدد الجرثومي مقارباً الى 1.5 x 10^8 خلية مل-1، بعدها نشر العالق الجرثومي على الاطباق الحاوية على وسط مولر هنتون أكار بوساطة المسحة المعقمة (Sterile Swab) وباتجاهات عدة، يترك الطبق لفترة قصيرة حتى يجف، عمل حفرة بقطر5 ملم في الوسط المزروع باستخدام الثاقب الفليني المعقم، وضعت التراكيز للمستخلصات العكبر (المائية والكحولية) المحضرة مسبقاً وهي 10، 20، 50، 100 ملغم مل-1 في الحفر، اضيف مقدار 0.1 مل من التراكيز السابقة الذكر لكل حفرة وبالتسلسل وعملت أطباق السيطرة المتمثلة بإضافة ماء مقطر للمستخلصات المائية ووضع الكحول بتركيز 95% للمستخلصات الكحولية ، عملت ثلاث مكررات لكل طبق، بعدها حضنت الاطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة في الحاضنة، حددت فعالية كل تركيز من المستخلصات العكبر بقياس قطر التثبيط لكل مستخلص بوساطة مسطرة قياسية، مقارنة اقطار التثبيط لكل من مستخلصات العكبر (المائية والكحولية) مع أقطار التثبيط للمضادات الحيوية المستخدمة لانواع البكتريا المرضية قيد الدراسة.

التحليل الاحصائي

حللت نتائج التجربة بحسب البرنامج الإحصائي (SPSS) لاستخراج اقل فرق معنوي بين المعاملات LSD عند مستوى احتمالية 0.05 (الراوي، 1984).

النتائج والمناقشة

بينت النتائج في الشكل 1 ان بكتريا *E. coli* أظهرت مقاومة عالية لكل من المضادات Cefotaxime وAmpicillin وAmoxicillin وTrimethoprim وكان قطر التثبيط صفر لكل الأنواع، إذ تتفق نتيجة الدراسة الحالية مع عبدالكاظم (2008) وArias وآخرون (2000)، إذ كانت المقاومة 100%، من جانب اخر فان الدراسة الحالية أظهرت حساسية بكتريا *E.coli* لمضادات Ciprofloxacin وAmikacin وNalidixic acid فقد بلغ قطر التثبيط 20.2 و16.45 و12.4 ملم على التوالي وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Chaudhari (2004) و Bashir (2007). اما بكتريا *S. aureus* فقد أظهرت اعلى مقاومة للمضادات Cefotaxime وTrimethoprim وNalidixic acid، إذ بلغ قطر التثبيط صفر وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل إليه المولى (2005)، اما المضاد Amikacin فقد بلغ قطر التثبيط له 17.60 ملم وهذا يتفق مع محمود (1992)، اما المضاد Ciprofloxacin فقد بلغ قطر التثبيط له 10.2 ملم وهذا يتفق مع الجبوري (2001) إذ بلغ قطر التثبيط 14.2 ملم، اما المضادات Amoxicillin وAmpicillin فقد بلغ قطر التثبيط لهما 16.88 و15.62 ملم على التوالي. اما بكتريا *P. aeruginosa* فقد أظهرت مقاومة عالية لكل من المضادات Cefotaxime وAmpicilli وAmoxicillin وTrimethoprim و Nalidixic acid وCiprofloxacin إذ بلغ قطر التثبيط صفر هذا يتفق مع الموسوي (2004) وAbdullah وآخرون (2010) ؛ العبيدي (2002) إذ بلغت المقاومة 100%، اما المضاد Amikacin فقد بلغ قطر التثبيط له 15.80 ملم وهذا يتفق مع Goossens (2003).



الشكل 1. تأثير المضادات الحيوية في العزلات البكتيرية المدروسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر تجاه بكتريا *E. coli*

بينت النتائج في الجدول 1 ان العكبر يعطي تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد بكتريا *E. coli*، فقد أظهر المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية عالية يليه مستخلص الماء الحار ثم مستخلص الماء البارد. وأظهر المستخلص الكحولي تأثيراً تثبيطياً عالياً عند التركيز 100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيطي بلغ 25.63 ملم ويعود السبب الى قابلية المواد الفعالة للذوبان في المذيبات العضوية (زنكنة، 2004)، اما عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ فقد كان قطر التثبيط لذات المستخلص 13.57 ملم، ذلك لاحتواء المستخلص الكحولي على اغلب المواد الفعالة، إذ يحتوي على الصابونين والقلويدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والفلافونيدات والفينولات والتانينات التي نسبها المئوية بلغت 17.15 و16.66 و15.57 و13.04 و11.27 و10.66 و10.04% على التوالي، إذ أن الصابونين له قابلية تثبيطية ضد البكتريا المرضية فهو يعمل على تثبيط عمل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلهِ غير المخصص مع البروتينات مما يؤدي الى عدم قدرتها على الاستمرار (Mills وآخرون، 2006).

أظهرت النتائج في جدول 1 أيضا أن الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي الحار جاءت بالمرتبة الثانية بعد المستخلص الكحولي، إذ بينت النتائج ان المستخلص المائي الحار اعطى نسبة تثبيط عند التركيز 100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيط بلغ 18.7 ملم، اما التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ فقد اعطى المستخلص المائي الحار قطر تثبيط 11.5 ملم، وذلك لاحتواء مستخلص الماء الحار على نسب اقل من المواد الفعالة مقارنةً بالمستخلص الكحولي، إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والقلويدات والتانينات والصابونين التي نسبها المئوية بلغت 16.83 و15.74 و12.43 و12.24 و9.1 و8.9 و8.3% على التوالي، اذ ان الفينولات تعمل على مسخ البروتين في البكتريا وايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (السلامي، 2000).

الجدول 1. الاقطار التثبيطية لمستخلصات العكبر تجاه بكتريا *E. coli* (ملم)

النبات	طريقة الاستخلاص	التركيز (ملغم مل$^{-1}$)				النبات×طريقة الاستخلاص
		10	20	50	100	
العكبر	كحول	13.57	16.37	19.88	25.63	18.86
	الماء الحار	11.50	12.60	14.70	18.70	14.37
	الماء البارد	10.40	10.80	11.60	14.60	11.85
$LSD_{0.05}$		2.73				1.45
النبات × التركيز	العكبر	11.82	13.25	15.39	19.64	15.02
$LSD_{0.05}$		1.68				1.45
طريقة الاستخلاص × التركيز	كحول	12.44	14.89	17.83	22.63	16.95
	الماء الحار	10.46	11.39	13.88	17.10	13.20
	الماء البارد	8.19	9.29	10.12	12.47	10.02
$LSD_{0.05}$		1.45				1.68
متوسط التركيز		10.36	11.85	13.94	17.40	13.39
$LSD_{0.05}$		1.68				

اما المستخلص المائي البارد فقد اعطى اقل نسبة تثبيط إذ بينت النتائج ان المستخلص المائي البارد عند التركيزين 10،100 ملغم مل$^{-1}$ أعطيا قطري تثبيط 14.6 و10.4 ملم على التوالي، يعزى سبب ذلك الى أن بعض المواد الفعالة لا تذوب بشكل جيد في الماء وإنما تذوب بصورة جيدة بالمذيبات العضوية حسب ما ذكره (Abu-shanab وآخرون، 2004)، إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والتانينات والصابونين والقلويدات التي نسبها المئوية بلغت 14.73 و12.24 و10.67

و9.54 و9.1 و6.2 و5.1% على التوالي، الفلافونيدات لها القابلية على النفاذ خلال الجدار الخلوي للبكتريا، اذ تعد مواد كيميائية مؤكسدة ذات مفعول سام للأحياءالمجهرية.

الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر تجاه بكتريا *Staph. auerus*

بينت النتائج في جدول 2 ان العكبر يعطي تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد بكتريا *S. auerus*، فقد أظهر المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية عالية يليه مستخلص الماء الحار ثم مستخلص الماء البارد. وأظهر المستخلص الكحولي تأثيراً تثبيطياً عالياً عند التركيز 100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيطي بلغ 27.76 ملم ويعود السبب الى قابلية المواد الفعالة للذوبان في المذيبات العضوية (زنكنة، 2004) اما عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ فقد كان قطر التثبيط لذات المستخلص 14.53 ملم، ذلك لاحتواء المستخلص الكحولي على اغلب المواد الفعالة، إذ يحتوي على الصابونين والقلويدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والفلافونيدات والفينولات والتانينات التي نسبها المئوية بلغت 17.15 و16.66 و15.57 و13.04 و11.27 و 10.66 و10.04% على التوالي، إذ أن الصابونين له قابلية تثبيطية ضد البكتريا المرضية، إذ يعمل على تثبيط عمل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلهُ غير المخصص مع البروتينات مما يؤدي الى عدم قدرتها على الاستمرار (Mills وآخرون، 2006).

الجدول 2. الاقطار التثبيطية لمستخلصات العكبر اتجاه بكتريا *Staphylococcus aureu* (ملم)

النبات	طريقة الاستخلاص	التركيز (ملغم. مل$^{-1}$)				النبات × طريقة الاستخلاص
		10	20	50	100	
العكبر	كحول	14.53	16.54	20.58	27.76	19.85
	الماء الحار	13.90	14.80	17.86	22.87	17.35
	الماء البارد	10.20	12.40	15.20	19.67	14.36
$LSD_{0.05}$		3.15				2.60
النبات × التركيز	العكبر	12.87	14.58	17.88	23.43	17.19
$LSD_{0.05}$		2.60				3.00
طريقة الاستخلاص × التركيز	كحول	13.70	15.84	18.66	24.39	18.15
	الماء الحار	12.16	12.99	15.30	19.24	14.92
	الماء البارد	9.29	10.66	12.92	16.14	12.25
$LSD_{0.05}$		3.15				3.00
متوسط التركيز		11.71	13.16	15.62	19.92	15.10
$LSD_{0.05}$		3.00				

أظهرت النتائج في جدول 2 بأن الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي الحار جاءت بالمرتبة الثانية بعد المستخلص الكحولي، إذ بينت النتائج ان المستخلص المائي الحار اعطى نسبة تثبيط عند التركيز100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيط بلغ 22.87 ملم، اما التركيز10 ملغم مل$^{-1}$ فقد اعطى المستخلص المائي الحار قطر تثبيط 13.90 ملم، وذلك لاحتواء مستخلص الماء الحارعلى نسب اقل من المواد الفعالة مقارنةً بالمستخلص الكحولي إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والقلويدات والتانينات والصابونين التي نسبها المئوية بلغت 16.83 و15.74 و12.43 و12.24 و9.1 و8.9 و8.3% على التوالي، اذ ان الفينولات تعمل على مسخ البروتين في البكتريا وايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (السلامي، 2000).

اما المستخلص المائي البارد فقد اعطى أقل نسبة تثبيط إذ بينت النتائج ان المستخلص المائي البارد عند التركيزين 100،10 ملغم مل$^{-1}$ أعطيا قطري تثبيط 19.67، 10.2 ملم على التوالي و يُعزى سبب ذلك الى أن بعض المواد الفعالة لا تذوب بشكل جيد في الماء وإنما تذوب بصورة جيدة بالمذيبات العضوية بحسب ما ذكره Abu-Shanab وآخرون (2004) إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والتانينات والصابونين والقلويدات التي نسبها المئوية بلغت 14.73 و12.24 و10.67 و9.54 و9.1 و 6.2 و5.1% على التوالي، اذ ان الفينولات تعمل على مسخ البروتين في البكتريا وايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (السلامي، 2000).

الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية والمائية للعكبر تجـاه بكتريا *Pseudomonu aeruginosa*

بينت النتائج في الجدول 3 ان العكبر يعطي تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد بكتريا *P. aeruginosa*، فقد أظهر المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية عالية يليه مستخلص الماء الحار ثم مستخلص الماء البارد. وأظهر المستخلص الكحولي تأثيراً تثبيطياً عالياً عند التركيز 100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيطي بلغ 24.75 ملم ويعود السبب الى قابلية المواد الفعالة للذوبان في المذيبات العضوية (زنكنة، 2004) اما عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ فقد كان قطر التثبيط لذات المستخلص 12.88 ملم، ذلك لاحتواء المستخلص الكحولي على اغلب المواد الفعالة إذ يحتوي على الصابونين والقلويدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والفلافونيدات والفينولات والتانينات التي نسبها المئوية بلغت 17.15 و16.66 و15.57 و13.04 و11.27 و10.66 و 10.04% على التوالي، إذ أن الصابونين له قابلية تثبيطية ضد البكتريا المرضية، إذ يعمل على تثبيط عمل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلهِ غير المخصص مع البروتينات مما يؤدي الى عدم قدرتها على الاستمرار (Mills وآخرون، 2006).

الجدول 3. الاقطار التثبيطية لمستخلصات العكبر اتجاه بكتريا *Pseudomonus. aeruginosa* (ملم)

النبات	طريقة الاستخلاص	التركيز (ملغم مل$^{-1}$)				النبات × طريقة الاستخلاص
		10	20	50	100	
العكبر	كحول	12.88	14.77	17.29	24.75	17.42
	الماء الحار	11.35	12.99	14.50	19.43	13.06
	الماء البارد	10.10	11.60	13.80	17.90	13.35
$LSD_{0.05}$		2.71				1.82
النبات × التركيز	العكبر	11.44	13.12	15.19	18.69	14.61
$LSD_{0.05}$		2.81				1.82
طريقة الاستخلاص × التركيز	كحول	11.99	12.95	16.15	21.22	15.58
	الماء الحار	9.88	11.27	13.01	15.44	12.40
	الماء البارد	8.63	9.60	11.26	13.93	10.85
$LSD_{0.05}$		2.10				2.81
متوسط التركيز		10.17	11.27	13.47	16.86	12.94
LSD0.05		2.71				

أظهرت النتائج في الجدول 3 ايضاً الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي الحار جاءت بالمرتبة الثانية بعد المستخلص الكحولي، إذ بينت النتائج ان المستخلص المائي الحار اعطى نسبة تثبيط عند التركيز 100 ملغم مل$^{-1}$ بقطر تثبيط بلغ 19.43 ملم، اما التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ فقد اعطى المستخلص المائي الحار قطر تثبيط 11.35 ملم، وذلك لاحتواء مستخلص الماء الحار على نسب اقل من المواد الفعالة مقارنةً بالمستخلص

الكحولي إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والقلويدات والتانينات والصابونين التي نسبها المئوية بلغت 16.83 و15.74 و12.43 و12.24 و9.1 و8.9 و8.3% على التوالي، اذ ان الفينولات تعمل على مسخ البروتين في البكتريا وايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (السلامي، 2000).

اما المستخلص المائي البارد فقد اعطى أقل نسبة تثبيط إذ بينت النتائج ان إنه عند التركيزين 10،100 ملغم مل$^{-1}$ أعطيا قطري تثبيط 17.9، 10.1 ملم على التوالي ويُعزى سبب ذلك ربما الى أن بعض المواد الفعالة لا تذوب بشكل جيد في الماء وإنما تذوب بصورة جيدة بالمذيبات العضوية بحسب ما ذكره Abu-Shanab وآخرون (2004) إذ يحتوي على الفينولات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة والتانينات والصابونين والقلويدات التي نسبها المئوية بلغت 14.73 و12.24 و10.67 و9.54 و9.1 و6.2 و5.1% على التوالي، اذ ان الفينولات تعمل على مسخ البروتين في البكتريا وايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية وبالتالي عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (السلامي، 2000).

يُعزى التأثير المثبط للعكبر الى أثره الفعال في تثبيط انقسام الخلية وتأثيره على وظيفة كل من السايتوبلازم وغشاء الخلية مؤدياً الى انكماش جدار الخلية، كما ويعمل العكبر على تحلل البكتريا وتثبيط تصنيع البروتين من خلال تثبيط إنزيم RNA–polymerase (Orsi وآخرون، 2005).

مقارنة التأثير التثبيطي لطرائق الاستخلاص المستخدمة في الدراسة

في الدراسة الحالية تم أخذ ثلاثة أنواع من المذيبات لإجراء الاستخلاص وهي الكحول الاثيلي بتركيز 95% والماء المقطر الحار والماء المقطر البارد، وذلك لبيان الفرق في تأثيرها كما ذكر هميم (2002) بأن فعالية المستخلصات تختلف باختلاف المذيب، وبعد فحص تأثير طرائق الاستخلاص للعكبر في البكتريا قيد الدراسة، وجد ان المستخلص الكحولي افضل المذيبات ثم يليه المستخلص المائي الحار، ثم المستخلص المائي البارد، قد يعود سبب تباين الفعالية التثبيطية للمستخلصات الى نوع المذيب الاقرب في تفكيك المواد الفعالة، اوالى التركيب الكيميائي للعكبر، او الى نسبة تركيز المواد الفعالة في العكبر، او الى طبيعة أغشية الاحياء المجهرية وطبيعة نفاذية المواد خلالها (Parekh وChanda، 2006). هذه النتيجة جاءت مقاربة لما توصل اليه Jombo وEnenebeaku (2008) الذي بين ان المستخلص الكحولي أظهر فاعلية تثبيطية عالية اذ جاء بالمرتبة الاولى، ثم يليه المستخلص المائي الحار، ثم المستخلص المائي البارد.

مقارنة التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية مع التأثير التثبيطي لمستخلص العكبر الكحولي في العزلات البكتيرية المرضية

عند مقارنة التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية مع التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية للعكبر اتجاه بكتريا *E.coli* و*S. aureus* و*P. Aeruginosa* لوحظ ان المضاد Ciprofloxacin ثبط بكتريا *E. coli* بقطر تثبيط بلغ 20.2 ملم بينما المستخلص الكحولي للعكبر بتركيز 100 مغلم مل$^{-1}$ ثبط بكتريا *E. coli* بقطر تثبيط بلغ 25.63 ملم، اما المضاد Amikacin فقد ثبط بكتريا *S. aureus* بقطر تثبيط بلغ 17.60 ملم، بينما المستخلص الكحولي للعكبر بتركيز 100 مغلم مل$^{-1}$ فقد ثبط بكتريا *S. aureus* بقطر تثبيط بلغ 27.76 ملم، اما المضاد Amikacin فقد ثبط بكتريا *P. aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 15.80 ملم، بينما المستخلص الكحولي للعكبر بتركيز100 مغلم مل$^{-1}$ فقد ثبط بكتريا *P. aeruginosa* بقطر تثبيط بلغ 24.75 ملم. لذلك نستنتج ان المستخلصات الكحولية للعكبر لها قدرة تثبيطية عالية أعلى من القدرة التثبيطية للمضادات الحيوية ضد البكتريا المرضية قيد الدراسة لذلك نستطيع ان نستغني عن المضادات الحيوية ونستخدم بدلها مستخلصات العكبر التي هي احسن تثبيط واقل تأثيرات جانبية وآمن بيئياً، كذلك فإن لهذه المستخلصات القدرة على تثبيط او قتل طيف واسع من الجراثيم وعدم الاختصار على انواع محددة

كما هو الحال في المضادات الحيوية لامتلاك هذه المستخلصات مركبات فعالة لها القابلية على الانتشار في الانسجة والنفاذ بكفاءة عالية والقدرة على اختراق الجدار الخلوي للبكتريا وتثبيط نموها، من جهة اخرى لا تتولد مقاومة تجاهها كما في المضادات الحيوية فضلاً عن سهولة الحصول عليها ورخص ثمنها (النعيمي، 2012).

المصادر

الجبوري، خلود كريم حسن. 2001. دراسة عن البكتريا المقاومة للمضادات الحياتية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب المجاري البولية. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد.

الخفاجي، باسمة ربيع احمد. 2000. تأثير مستخلصات نباتات سم الفراخ والمريمية والصفصاف على نمو بعض الفطريات الجلدية. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

السلامي، نبراس يحيى عبدالله. 2000. دراسة تأثير مستخلص نباتي الياس *Myrtus commun* والثوم *Allium stavium* في بكتريا *Pseudomonas*. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة بغداد.

العبيدي، سوسن شوكت عبد عبد الله. 2002. دراسة الالتصاق والتلازن الدموي وعوامل الضراوة الاخرى لبعض افراد العائلة المعوية والزائفة الزنجارية المسببة لالتهاب السبيل البولي. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

العكيلي، عدنان حنون عباس. 2002. دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتريا اصابات الحروق. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

العوادي، سلوى صابر. 1993. دراسة الفاعلية المضادة لنمو الجراثيم. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

الموسوي، يعقوب عبد الواحد صالح. 2004. التحري عن البكتريا السالبة لصبغة غرام والخمائر كمسببات للتسمم الدموي في الاطفال وحديثي الولادة. رسالة ماجستير. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

المولى، حسن فيصل حسين. 2005. تأثير بعض المستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة في جرثومتي *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* المعزولتين من خمج الاذن الخارجية للانسان. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل.

النعيمي، حنان عدنان شاكر. 2012. تقيم الفعالية السمية والتثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لبعض النباتات على نمو الجراثيم المرضية المعزولة من حالات الاسهال. المجلة الطبية البيطرية العراقية. 36(1): 25-32.

الراوي، خاشع محمود. 1984. الاحصاء الحياتي. مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل.

حدادين، موفق. 1999. الأعشاب الطبية. مجلة الدواء العربي. المجلد1: ص5.

زنكنة، شكرية علي محمد كريم. 2004. تأثير مستخلصات عدد من النباتات على نمو انواع البكتريا المرضية. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة الانبار.

عبد الكاظم، لمياء سليم وشيرين شحدة محمود وسهاد عدنان احمد. 2008. دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو بعض انواع البكتريا المرضية. المجلة العراقية للتقانات الحياتية. 7(1): 38-50.

محمود، بشرى محمد. 1992. دراسة وبائية لبعض انواع الجراثيم الهوائية المرضية المعزولة من مرضى راقدين في احدى مستشفيات بغداد. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد.

هميم، سعد سلمان. 2002. فعالية بعض المستخلصات النباتية ضد الممرضات الشائعة في أخماج الجلد الجرثومية. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة البصرة.

Abdullah, R. M., S. F. Samaan and A. M. Al-Shwaikh, 2010. Study the effect of antibiotic combination of beta-lactam and aminoglycoside with another group of antibiotics and their synergism effect. *Journal of Arab Board of Health Specializations*. 11(1).

Abu-Shanab, B., G. Adwan, D. Abu-Safiya. N. Jarrar and K. Adwan. 2004. Antibacterial activity of some plant extract unitized in popular medicine in plant. *Turk. J. Bio*. 28: 99-105.

Anesini, C and C. Perz. 1993. Screening of plamts used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. of Ethnol. Pharmacology*. 39(2): 119-120.

Arias, C. A., P. Courvalin and P. E. Reynolds. 2000. Vanc cluster of antibiotic *E. Coli*–resistant. BM. Antimicrobial. Agent. *Chemother*. (6): 166-170.

Bankova, V. S., S. L. Castro and M. C. Marcucci. 2000. Propolis recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*. 31: 3-15.

Bashir, A., T. Y. Mujahid and N. Jehan. 2007. Antibiotic resistant profile isolation and Characterization of clinical isolation of Staphylococci and *E. coli* from patient with community acquired skin infection. *J. pharm. Sci*. 20: 299-304.

Burdock, G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee Propolis. *Food Chem. Toxicol*. 36: 347–363.

Chadhari, S. Surry A Wanshi, P. Ambardekar, S. Chinchwadkar and Kinare, A. 2004. Safety profile of ciprofloxacin used for Neonatal Septicemia. *Indian Pediatric*, 41: 1246.

Digrak, M. M. Hakki and A. Icim. 2001. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medical plants. *J. of Pharmacet. Bio*. 93(5): 345-350.

Goossens, H. 2003. Susceptibility of multidrug–resistant pseudomonas aeruginosa in intensive care units: result from the European mystic study group. *Clin. Micro. Infect.* 9(9): 980.

Jombo, G. t. and M. N. O. Enenebeaku. 2008. Antibacterial profile of fermented seed extract of Ricinus communia flndincs from preliminary analysis Nigerian. *J. of Physiological Sci*. 23 1-2: 55-59.

Kosalic, I., S. Pepeljnjak, M. Bakmaz and S. V. Knezevic. 2005. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. *Acta Pharma*. 55: 423-430.

Mills Edward, Jean–Jacques Duguoa, Dan Perri and Gideon Koren. 2006. Herbal Medicines in pregnancy and lactation. An Evidence–Based Approach. London and New York.

Parekh, J and S. Chanda. 2006. In vitro antimicrobial activities of extract of Launaea procumbens Rox B. (labiateae). Vitis vinifera L. (Vitaceae). *African Journal Biomedical Research*. 9: 89–93.

Pietta, P. G., C. Gardana and A. M. Pietta. 2002. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*. 73(suppl 1): 7–20.

Rhajaoui, M., H. Oumzil, M. Faid, M. Lyagoubi, M. Elyachioui and A. Benjouad. 2001. Antibacterial activity of Moroccan propolis extracts. *Science letters*. 3(3). (Research Article).

Vandepitte, J., K. Engback P. Piot and C. C. Heuck, 1991. Basic Laboretory procedures in clinical Bacteriology. WHO. Geneva Organizations publications.

EVATUATION OF PROPOLIS EXTRACTS AGAINST PATHOGENIC BACTERIA

Najim Abdullah Jumaa
najm_alzubaidy@yahoo.com

Fatima Imran Yusuf
fatima89_omran@yahoo.com

Department of Biology- Education College for pure sciences - Diyala University, Iraq

ABSTRACT

This study was conducted in Baqubah city, the period from November to April (2014-2015) in order to find out the inhibitory effect of plant extracts of Propolis on bacterial growth for three of the bacterial isolates included *Staphylococcus aureus, E. coli, Pseudomonas aeruginosa*, The study included preparing three types of extracts, alcoholic extract, hot aqueous and cold extract, with concentrations 10, 20, 50, 100 mg ml^{-1}, by using drilling method balakar were compared to results of inhibition with extracts by inhibition activation for seven antibiotics (Nalidixic acid, Amoxicillin, Ciprofloxacin, Cefotaxime, Amikacin, Trimethoprim, Ampicillin) by using sensitive test for antibiotics. The study results showed that propolis inhibition of *Staph. aureus* bacteria at the rate of 17.19 mm then *E-coli* bacteria at the rate of 15.02 mm then *Ps. aeruginosi* at the rate of 14.61 mm.

Key words: propolis, inhibition, E. *coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*.