



دراسة التأثير التآزري للمستخلص الايثانولي و الميثانولي لأوراق نبات الشيح والهجليج مع المضادات الحيوية علي بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*.

دلال يونس و عبدالقادر الزين

قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا

الكلمات المفتاحية:

Artemisia Balanites
K. pneumoniae, *S. aureus*
المستخلص الايثانولي و الميثانولي
تفاعل التآزري

الملخص

تم في هذا البحث دراسة العلاقة التفاعلية بين المستخلص الايثانولي والميثانولي لأوراق نبات الشيح والهجليج *Artemisia Balanites* بتركيز 100% وبعض المضادات الحيوية شائعة الاستخدام في تأثيرها علي نمط مقاومته لبكتيريا *K. pneumoniae* و *S. aureus*. وأظهرت النتائج أن المستخلص (الايثانولي و الميثانولي) لأوراق نبات الشيح كان ذو تفاعل تآزري مع المضادات الحيوية (CTX30-AUG30) علي البكتيريا *Staphylococcus aureus*. وكانت نتائج التفاعل تعادلية مع باقي مضادات الحيوية.

Study the interaction between antibiotics and the alcoholic and methanolic extract of *Artemisia balanites* leaves on *Klebsiella pneumoniae*. A. *Staphylococcus*

Dalal Younis Muslims, Abdul Qader Al-Senussi Al-Zein

Department of Botany, College of Science, Sebha University, Libya

Keywords:

S. aureus, *K. pneumoniae*
Artemisia balanites
Methanolic and Itanolic extract
a cooperative relationship

ABSTRACT

In this research , the interaction between the ethanolic and methanolic extract of *Artemisia* and heglig leaves at a concentration of 100% and some commonly used antibiotics was studied in there effect on its resistance to *K. pneumoniae* and *S. aureus* bacteria .Antibiotics (CTX30 - AUG30) on the bacteria *K. pneumoniae* and *S. aureus* .the results of the interaction were neutral with the rest of the antibiotics.

المقدمة

[2] تعتبر البكتيريا من الكائنات الحية الدقيقة التي تتكون من خلية واحدة فقط تعيش بأعداد كبيرة في كل البيئات على سطح الأرض. تفتقر البكتيريا إلى النواة المحاطة بالغشاء وغيرها من التراكيب الداخلية. يتم تصنيف البكتيريا إلى قسمين *Autorophs*: تعني "المغذيات الذاتية" والبكتيريا *Heterotrophs* تعني المغذيات غير الذاتية، وتحتوي الخلية البكتيرية علي الجسم الأساسي والكتيس الخلوي وجدار الخلية والحمض النووي منقوص الأكسجين والغشاء البلازمي. وهناك أشكال رئيسية للبكتيريا: كروية الشكل وتسمي مكورة- شكل القضيب وتسمي العصوية - حلزونية تسمي الملتويات. [3] ولقد أستخدمت المستخلصات النباتية كبداية في حماية الإنسان من العديد من الأمراض الضارة التي تؤدي بحياته. تدخل النباتات الطبية في صناعة

عرف الإنسان منذ وجوده على سطح الأرض أسلوب العلاج بالأعشاب والنباتات الطبيعية بالفطرة والتجارب الذاتية، إذ كانت جميع الأمراض والألام تعالج بالأعشاب وبالرغم من التقدم العلمي والتكنولوجي لصناعة الأدوية الطبية الكيميائية التي لها تأثيرات فعالة وسريعة في كثير من الأمراض [1]. تعتبر الفطريات من الكائنات الحية حقيقة النواة إذ يوجد مايقارب 50000 نوع من الفطريات تعيش في الطبيعة منها 80 نوعا من الأعفان والخمائر تسبب أمراضا عديدة للإنسان والحيوان علي حد سواء [1]. وتعرف الأمراض التي تسببها الفطريات بالأخماج الفطرية *Mycosis* والتي هي عادة اخماج مزمنة لكون الفطريات تنمو بشكل بطئ وتضم الأخماج السطحية والجهازية والانتهازية التي تصيب عادة الأشخاص الضعاف مناعيا.

*Corresponding author:

E-mail addresses: Dala.abdalslm@sebhau.edu.ly, (A. A. Al-Zein) Elzen59@yahoo.co.uk

Article History : Received 12 March 2023 - Received in revised form 27 May 2023 - Accepted 17 June 2023

العينات النباتية المختبرة في الدراسة

تم الحصول على النباتات والأعشاب الطبية والأجزاء المستهدفة (الشيخ والهجليج) من داخل مدينة سبها، وتم نقلها إلى معشبة علم النبات/ كلية العلوم/ جامعة سبها، لغرض التعرف عليه وتصنيفه. تم تنضيف النباتات من الشوائب والأتربة، وغُسلت. بعدها تم التجفيف في الظل بعيداً عن الرطوبة وفي مكان جيد التهوية في درجة حرارة الغرفة ولمدة ثلاث أسابيع ثم طُحنت المادة النباتية الجافة بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق من الأجزاء المراد استخدامها. بعدها حُفظ المسحوق في قارورات زجاجية محكمة الإغلاق ونظيفة مع إستبعادها عن الضوء والحرارة، ووضعت في الثلاجة بدرجة حرارة (4) إلى حين الاستخدام

تحضير المستخلصات النباتية المستخدمة في الدراسة:

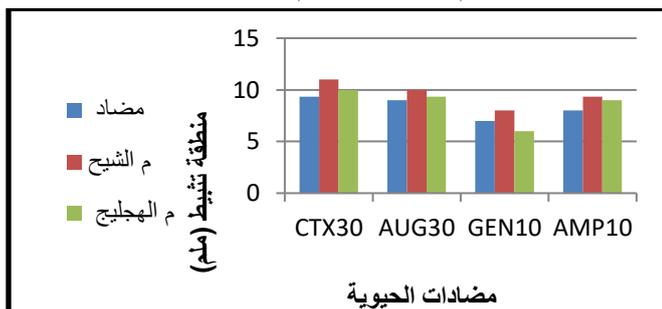
تم أخذ 10غم من مسحوق الشيخ والهجليج أضيف إليه ما مقداره (100مل) من الايثانول أو ميتانول بوضع في الحاضنة الهزازة لمدة 48 ساعة و30 دقيقة على حرارة 35م° بعدها وضع في الثلاجة على درجة 4م° ووضَّح المزيج بواسطة ثلاث طبقات من الشاش المعقم لغرض فصل العوالق الكبيرة ثم أُجري الترشيح النهائي باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة (300دورة/دقيقة) جُهِز منه التراكيز التالية: (25 -50 -75 -100) ملغم/مل. [5]

التحليل الإحصائي Statistical analysis :

أجري التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام البرنامج الإحصائي (SAS, spp. (2004) في التحليل الإحصائي للبيانات لدراسة تأثير المضادات الحيوية والمستخلصات النباتية والتراكيز المعاملة المدروسة في نسبة التثبيط وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام إختيار أقل فرق معنوي. Least Significant Difference (L.S.D.) لمقارنة المتوسطات. [6]

النتائج والمناقشة:

تأثير المستخلص الميثانولي للشيخ والهجليج مع المضادات الحيوية ضد *Staphylococcus aureus* من خلال نتائج شكل (1) تبين ان هناك فروق ذات دلالة احصائية بين متوسطات مستخلصات و المضادات الحيوية (GEN10 -CTX30) المستخدمة لمستخلص الشيخ و الهجليج ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* حيث بلغت القيمة الاحتمالية ($\alpha=0.00$) ومن خلال نتائج نلاحظ أن مستخلص الشيخ عند تركيز 100 قد أعطي أكثر تأثير بمتوسط أقطار مناطق تثبيط 13.00 ± 0.57 مم. وتبين من خلال النتائج أن مستخلص الهجليج كان أقل فاعيلة من الشيخ بمتوسط أقطار منطقة تثبيط 12.33 ± 0.57 مم. 9.33 ± 0.57 مم. علي التوالي. والمضادات الحيوية (GEN10 -CTX30) أعطت أقل تأثير من المستخلصات بمناطق تثبيط 9.33 ± 0.00 مم. 7.33 ± 0.00 مم.



الشكل (1) يوضح تأثير المستخلص الميثانولي للشيخ و الهجليج مع مضادات

الأدوية والعقاقير الطبية التي تستخدم في علاج الكثير من الأمراض الفطرية والبكتيرية وغيرها من الإستخدامات الطبية. نبات الشيخ أو البعتران اسمه العلمي (*Artemisia herba -alba Assa*) وهي نباتات عشبية برية معمرة من الفصيلة النجمية تنانئه الفلقة. أما جنس الشيخ فأنواعه عديدة منتشرة في معظم أنحاء العالم، منها البرية والطبية أوراقها لها رائحة عطرية ويستعمل في الطب ويجب مراعاة عدم المبالغة في الإستخدام بسبب مادة السانتونين السامة إذا أستخدم بكثرة أو بصورة مستمرة. ويعد مهم لصحة الإنسان ويستخدم منذ القدم كعلاج فعال في التخلص من الطفيليات والالتهابات البكتيرية والفيروسية ومن جهة أخرى قد أثبتت الدراسات أن نبات الشيخ له فعالية كبيرة في الطب البديل. [4] نبات الهجليج الاسم العلمي *aegyptiaca Delile (L) Balanites* وهو جنس من النباتات يتبع الفصيلة الرطرية من رتبة الرطريديات، طائفية تنانئه الفلقة، إستعمالاته عديدة أستعمل قديما في الطب الشعبي المصري والهندي لمعالجة العديد من الحالات المرضية، وتعتبر شجرة الهجليج نبات ذو فوائد متعددة وقد لعب دور كبير قديما في العلاج والطب لإحتوائها علي العناصر الفعالة ومواد مهمة [4]

هدفت الدراسة إلى تشخيص أنواع من بكتيريا تم عزلها من عينات سريرية مختلفة، وهي: *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* و اجري إختبار التأثير التآزري لمستخلصي نباتي الشيخ والهجليج مع المضادات الحيوية على البكتيريا المدروسة.

المواد وطرق العمل

النباتات المستخدمة في الدراسة:

أستعملت في هذه الدراسة الأوراق فقط لكل من: الشيخ - *Artemisia herba alba Assa*

والهجليج (بلح الصحراء) *Balanites aegyptiaca (L) Delile*.

البكتيريا المستخدمة في الدراسة:

البكتيريا هي: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*.

المذيبات المستخدمة في الدراسة:

أستخدم في هذه الدراسة مذيب الميثانول Methanol(CH₃,OH) و الايثانول Ethanol (C₂H₅OH) والماء (H₂O) Water ،

المضادات المستخدمة في الدراسة:

Gentamicin (GEN10) -Ampicillin (Amp10)

Amoxycillin (AUG30) – Cefoxitin (CTX30)

الأوساط الزراعية المستخدمة

Mueller –Hinton agar-Nutrient agar-Maconkey agar-Blood agar
Corn meal agar
تحضير الأوساط الزراعية:- تم تحضير الأوساط اعتماد على تعليمات الشركات المنتجة.

جمع العينات:

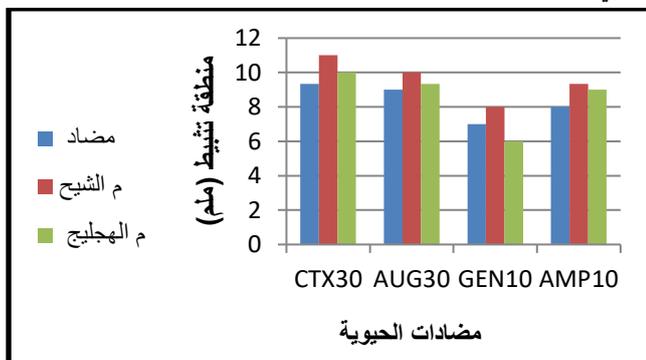
جمعت العينات في الفترة من: 21 أكتوبر 2021 لغاية 9 فبراير 2022 تضمنت علي 100 مسحة مهبلية عشوائية من النساء المترددات على مستشفى سبها الطبي يشتمن من التهابات في منطقة المهبل بصفة عامة وذلك بأخذ مسحة من منطقة المهبل وزراعتها علي أوساط غذائية تتمثل في Blood agar ووسط Maconkey agar، ثم حُضنت على درجة حرارة 37م°، ورُقبت الأطباق بشكل دوري، وفحصت بعد 24-48 ساعة تحت المجهر.

ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*

تأثير المستخلص الكحولي للشاي والهجليج مع المضادات الحيوية ضد

بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

نلاحظ من خلال نتائج الشكل (4) أن مستخلص الشاي عند تركيز 100 مع المضادات الحيوية قد أعطت اعلي فاعلية بمتوسط قطر منطقة تثبيط 13.00 ± 0.57 مم. للمضاد CTX30 واقل تأثير بمتوسط قطر منطقة تثبيط 9.33 ± 0.57 مم. للمضاد GEN10 ضد بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* كما هو مبين بالشكل (4). وتبين أن مستخلص الهجليج عند تركيز 100 مع المضاد الحيوي (CTX30) أعطت اعلي تأثير عند متوسط قطر منطقة تثبيط 12.33 ± 0.57 مم. والمضاد (GEN10) أعطت اقل تأثير عند متوسط قطر منطقة تثبيط 9.00 ± 0.57 مم. وكما أعطت المضادات الحيوية (CTX30 - GEN10 - AMP10) أقل تأثير من المستخلصات المختارة في الدراسة، بمتوسطات أقطار مناطق تثبيط 11.00 ± 0.00 مم. 10.33 ± 0.00 مم. 8.00 ± 0.00 مم. 7.33 ± 0.00 مم. وتبين وجود فروق معنوية.



الشكل (4) تأثير المستخلص الكحولي للشاي والهجليج مع مضادات الحيوية ضد بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

المناقشة:

اختبار التآزري بين المستخلصات الشاي والهجليج و المضادات الحيوية لبكتيريا *Staphylococcus aureus - Klebsiella pneumoniae*

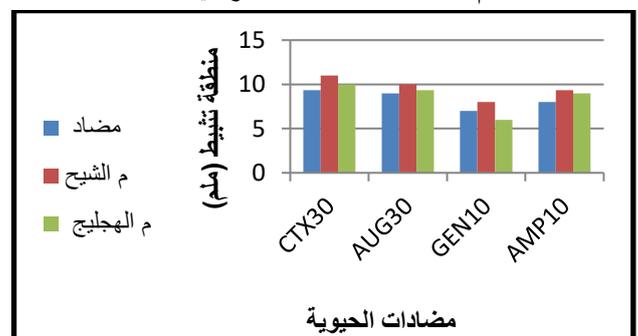
اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع أغلب الدراسات المحلية والعالمية التي أجراها الباحث [7] الذي وجد أن مستخلص زيت الشاي أعطي فعلاً تآزري مع المضادات الحيوية تجاه البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام وفي عام 2011 أجرى الباحثون دراسات متماثلة أثبتت فيها قدرة الزيت المستخلص من أوراق الهجليج في قتل أنواع البكتيريا والفطريات [8] وأكدت العديد من الدراسات أن المركبات النباتية لها تأثيراً تآزرياً مع المضادات الحيوية حتى ضد بعض الأنواع المقاومة للمضادات الحيوية وهذه الفعالية توصف أحياناً بأنها فعالية تحويرية أو تعديلية للمقاومة. فالمركبات النباتية تغير من نسبة تدفق المضاد إلى داخل الخلية إذ أن المقاومة البكتيرية لأغلب المضادات الحيوية تأتي عملية طرح المضاد أو تغريقة خارج الخلية Antibiotic efflux والعمليّة المسيطر عليها وراثياً وأنظمة الطرح هذه عبارة عن بروتينات غير متخصصة بنوع معين من الأدوية بإمكانها تمييز واضح للظيف أوسع من المواد الكيميائية غير مرغوبة، بدون تغير أو تحطيم للمركب [9].

الحيوية ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*

تأثير المستخلص الميثانولي للشاي والهجليج مع المضادات الحيوية ضد

بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

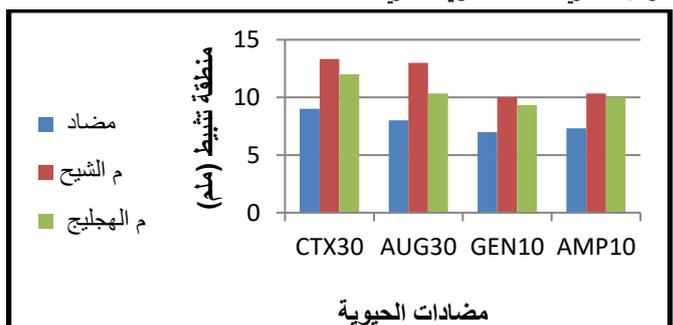
بينت نتائج الشكل (2) أن هناك فروق معنوية بين مستخلص نبات الشاي والهجليج وبين المضادات الحيوية (GEN10 - AMP10 - AUG30 - CTX30) عند مستوي معنوية ($\alpha=0.05$) حيث بلغت القيمة الاحتمالية ($\alpha=0.00$). ونلاحظ أن مستخلص الشاي عند تركيز 100 قد اظهر أعلى فاعلية مع المضاد CTX30 بمتوسط قطر منطقة تثبيط 13.33 ± 0.57 مم. والمضاد GEN10 بمتوسط قطر منطقة تثبيط 10.00 ± 0.57 مم. كما هو مبين بالشكل (2). وبينما أعطى مستخلص الهجليج اقل فاعلية عند المضادات الحيوية بمتوسط أقطار مناطق تثبيط 13.00 ± 0.57 مم. 9.33 ± 0.57 مم. على التوالي وأما المضادات الحيوية فقد أعطت أقل فاعلية من المستخلصات بمتوسط أقطار 11.00 ± 0.00 مم للمضاد CTX30 7.33 ± 0.00 مم للمضاد GEN10 ب. كما هو مبين بالشكل (2).



الشكل (2) تأثير المستخلص الميثانولي للشاي والهجليج مع مضادات الحيوية ضد بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

تأثير المستخلص الكحولي للشاي والهجليج مع المضادات الحيوية ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*

نلاحظ من خلال الشكل (3) أن مستخلص الشاي عند تركيز 100 أعطي أكثر فاعلية عند المضاد (CTX30) بمتوسط قطر منطقة تثبيط 13.33 ± 0.57 مم. ويلها المضاد AMP10 اقل فاعلية حيث بلغت متوسط قطر منطقة التثبيط 10.00 ± 0.57 مم. كما هو مبين بالشكل (3). ونلاحظ أن مستخلص الهجليج عند تركيز 100 مع المضادات الحيوية (AUG30 - GEN10 - AMP10 - CTX30) كان قد أعطى اقل فاعلية بمتوسطات أقطار مناطق تثبيط 12.00 ± 0.57 مم. 10.33 ± 0.57 مم. 10.00 ± 0.57 مم. 9.33 ± 0.57 مم. في حين أن المضادات الحيوية أعطت أقل تأثير من المستخلصات كما هو مبين بالشكل (3) بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوي معنوية ($\alpha=0.05$).



الشكل (3) تأثير المستخلص الكحولي للشاي والهجليج مع مضادات الحيوية

[2]- Tortora .G.J . funke. B. R & Case .ch .l(2015) Microbiology Anintraction 7th. Benjamin Cummings. Sanfrancisco. Boston Now York.

[3]- السعدي .زينب شهاب, فيصل حسن.عبدا لكريم عمر(2005).عزل وتشخيص الجراثيم المسببة لاختلاج السيل التنفسي في مدينة تكريت وتحديد مقاومته للمضادات الحيوية .مجلة تكريت للعلوم .مجاد(10)العدد(1).

[4]- Batanouny. K.H(1999)Wild medicinal plants.

[5]- Bianchi, Alberto, Alessandra Zambonelli and Aldo Zechini D'Aulerio and Franco Bellesia (2011). Ultrastructural Studies of the Effects of *Allium sativum* Phytopathogenic fungi in vitro. 1242 Plant Disease / Vol. 81 No. 11 Page 1-6.

[6]- الراوي, خاشع محمود و خلف الله, عبد العزيز محمد(2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية, جامعة الموصل, دار الكتب للنشر.

[7]- Javad Asili (2015) Chemical Composition and in Vitro Efficacy of Essential oil of seven Artemisia Species Against Esbl producing. journal of essential oil bearing plants. 37-41

[8]- الشويخ رنا مجاهد عبدا لله (2010) تأثير مستخلص المائي والكحولي لنبات الهجليج والمضادات الحيوية علي بعض أنواع البكتيريا المسببة للإسهال. مجلة ابن الهيثم للعلوم التطبيقية مج 23.ع.3.

[9]- Bassole.i .H.N.& juliani .H . R (2012) Essential oils in combination and their antimicrobial properties .Molecules .17:n3989-4006.

[10]- Salman .M. T. Khan .R .A.& Shukal .I. (2008).Antimicrobial activity of *Nigella sativa* .L .Seed oil against multi drug resistant bacteria from clinical isolates Natural product Radiance 4 (1)10-14.

وقد وجد في دراسات حديثة أن بعض النباتات تنتج مواد مثبطة لعمل المضخات فضلا عن المركب الفعال مما يسهل دخول المادة الفعالة إلى داخل البكتريا الموجبة والسالبة حتي مع وجود تلك الأنظمة الدفاعية وهناك أدلة على إمكانية إستخدام المستخلصات النباتية لزيادة حساسية البكتريا للمضادات الحيوية خاصة المقاومة له [10].



(ب)الهجليج

(أ)الشيح

اختبار التآزري بين المستخلصات الشيح و الهجليج و المضادات الحيوية لبكتيريا *Staphylococcus aureus - Klebsiella pneumonia* المراجع

[1]- Jawetz. Melnick& Adelberg is Microbiology.26thedition (2014).