

دراسة فعالية التطبيق السطحي للمستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس

Lawsonia inermis L. والحناء و *Eucalyptus camaldulensis*

(henna) والصبان *Aloe vera* بمعالجة الإطابات التجريبية لجلد الدجاج

ببكتريا *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضادات.

شروق أسعد عبد الأمير

حيدر مهدي حمزة الشريفي

جامعة الفرات الأوسط التقنية/ المعهد التقني بابل - قسم التحليلات المرضية

Elmi_co_2013@yahoo.com

hidermh@yahoo.com

الخلاصة:

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص ٥٢ عزلة لبكتريا *S. aureus* مقاومة لمختلف المضادات الموصوفة (اعتماداً على فحص الحساسية للمضادات بالدراسة) من عينات جلد الدجاج لغرض إستخدامها بتجارب الزجاج والحي (بالإصابة التجريبية لجلد الدجاج) ليتم تقييم فعالية المستخلصات المائية لأوراق ثلاث نباتات طبية شائعة هي (اليوكالبتوس، الحناء والصبان)، فضلاً عن الفحص النسيجي المرضي لتقييم عملية تطور الإنتام وشفاء الجرح بجلد الدجاج في (٣ أسابيع).

حضرت المستخلصات المائية للأوراق على وفق الطرق القياسية، وحضرت (٥) تراكيز لكل منها وحفظت بالثلاجة. بالزجاج تم دراسة الفعالية التثبيطية لتراكيز هذه المستخلصات، حدد التركيزات المثبطة الأدنى MIC والقاتل الأدنى MBC، بعدها تم إحداث الإصابة التجريبية بجلد الدجاج بالبكتريا (بالحي)، ولوحظت العلامات السريرية وتطور الإنتام وشفاء الجرح بالجلد في مدة (٣ أسابيع).

أعلى مقاومة لمضاد Ampicillin بنسبة ٨٨,٥%، يليه Oxacillin ٥٩,٦% والأقل للـ Gentamycin ٧,٧%. أظهرت نتائج التحليل الكيميائي الضوئي إحتواء النباتات لأغلب المواد الأساسية التي تم الكشف عنها، إذ إفتقد اليوكالبتوس للقلويدات، كلسريدات، كاربوهيدرات وكومارينات، الحناء للقلويدات، صابونيات وبيبتيدات والصبان للتانينات والصابونيات، وأن الفعالية ضد البكتيريا ترجع لإحتوائها على تلك المواد الفعالة.

بالزجاج تزايدت أقطار مناطق التثبيط طردياً مع زيادة تركيز المستخلص النباتي، وأعطت المستخلصات المائية مناطق تثبيط نمو أكبر مما بالسيطرة. كانت قيم MIC و MBC أعلى بالصبان، يليه الحناء والأقل باليوكالبتوس. بالحي كان تأثير تراكيز المستخلصات (خاصة العالي) فعالاً وأحدث تحسن بكل العلامات المرضية المؤشرة، وأظهر الفحص النسيجي للجرح المعالج بتركيز عال إنتام سريع مع نسيج متقرن سميك وفرط تكاثر طبقة البشرة وتليف غزير ونمو واضح للأوعية الدموية مقارنة بسيطرة المضاد، مما يؤكد أهمية إستخدامها كبديل فعال وآمن بعلاج إصابات السطحية المعندة للمضادات بالدجاج.

الكلمات المفتاحية: للمستخلص المائي للأوراق، اليوكالبتوس، الحناء، الصبان، الإصابة التجريبية، المكورات العنقودية الذهبية، جلد الدجاج.

Study efficacy of Topical Application of *Eucalyptus Camaldulensis*, *Lawsonia inermis* L. (henna) and *Aloe Vera* aqueous Leaf Extracts in Treat Antibiotic Resistant *Staphylococcus Aureus* Experimental Infection of Chicken's Skin

Abstract:

The study included isolate and diagnose 52 isolates of *S. aureus* bacteria resistant to various described antibiotics described (based on antimicrobial sensitivity test) of chicken skin samples for use in vitro and in vivo experiments (experimental chicken skin injury). The effectiveness of aqueous extracts of three common medicinal plants (*Eucalyptus*, Henna and *Aloe vera*), in addition to

histopathological examination to evaluate the development of healing and healing of the chicken's skin wound during (3 weeks).

Leaf aqueous extracts prepared according to standard methods, in (5) concentrations of each and stored in the refrigerator. In vitro was studied to inhibit the concentration of these extracts. The lowest inhibitory MIC and the lowest killer concentrations MBC were studied. The experimental infection was caused by the chicken skin with bacteria. The pathologic signs were observed and the wound was healed and cured within (3 weeks).

The highest resistance was in Ampicillin (88.5%), Oxacillin (59.6%) and Gentamycin (7.7%). The results of Phyto-chemical analysis showed that plants contain most of the essential substances that have been detected. *Eucalyptus* is missing Alkaloids, Glycerides, Carbohydrates and Comarenes, **Henna** for Alkaloids, Saponens, Peptides and *Aloe vera* for Tannins and Saponens. The effectiveness against bacteria is due to their containment of these active substances.

In vitro, diameters of the inhibition zones were increased directly with increased concentration of the plant extract, and the aqueous extracts gave growth inhibitory regions greater than control. The values of MIC and MBC were higher in *Aloe vera*, Henna and less in *Eucalyptus*. The histopathological examination of the wound (**in vivo**) treated with high concentration showed rapid healing with thick corneal tissue, excessive epidermal layer proliferating, extensive fibrosis and clear vascular growth compared with antibiotic control, which supported the importance of using it as an effective and safe alternative to treat the hard treated superficial infections of chicken's skin.

Key words: Leaf aqueous extract, *Eucalyptus*, *Lawsonia inermis*, *Aloe vera*, experimental infection, *Staphylococcus aureus*, chicken skin.

المقدمة Introduction:

تسبب العديد من البكتيريا أمراضاً معدية كالمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، وهي ممرض إنتهازي وتحدث إصابات مختلفة بضمنها الإصابات الجلدية، تعالج بمضادات البنسلينات لكن أصبح ذلك صعباً نتيجة لتطورها مقاومة ضد أغلب المضادات الشائعة، وأصبحت تلك مشكلة بالعالم في المستشفيات وبالثروة الحيوانية كالدواجن. وتسبب بكتيريا *Methicillin resistant S. aureus (MRSA)* مشكلة صحية كبيرة فهي مسؤولة عن الإصابات صعبة المعالجة بالإنسان والحيوان كونها تحمل مقاومة متعددة لمجموعة كبيرة من المضادات الحيوية التي تحوي حلقة بيتالاکتام وتشمل (بنسلينات وسيفالوسبورينات)، إنتشرت بأمريكا عام ١٩٨١ وتنتج انزيمات بيتا لاکتاميز β -lactamase تحطم حلقة البيتا لاکتام بالمضادات فتكون مقاومة للمثسلين *Methicillin* وعدد من المضادات لأكثر من ٥٠ سنة وتتطور المقاومة عند تعرض المرضى للمضادات أو إصابات المستشفى والمجتمع أو بالحيوانات كالدواجن (Wilson, 2008). وهي ممرض إنتهازي *Opportunistic pathogen* تسبب إصابات خطيرة عند حدوث خلل بدفاعات جسم المريض تؤدي بحياته. وإن زيادة مقاومتها للمضادات أصبحت مشكلة حقيقية بانحاء العالم وزادت خطورتها تبعاً لذلك مسببة أخطر الإصابات، إذ سببت وفيات كثيرة فضلاً عن تأثير سمومها لاسيما تلك الحالة للدم *Hemolysis* وبعض سلالاتها تنتج سمّاً يحدث متلازمة الصدمة السمية *Toxic shock syndrome* و *(TSST) toxin*. وتنتج انزيم *Hyaluronidase* المحطم لحامض الهيالارونيك المكون للانسجة الرابطة، وإنزيم *Fibrinolysin* المحلل للألياف و *Gelatinase* المحلل للجيلاتين و *Protease* المحلل للبروتين الخلوي و *Lipase* المحلل للدهون فيمكنها الانتشار بالانسجة الدهنية للجلد وما تحته (Gillespie et al., 2006).

سلالاتها ذات المحفظة المتكونة من متعدد السكريد السطحي *Surface polysaccharide* تعد عامل التصاق *adhesion* مهم. زادت بالسنوات الأخيرة الإصابات المرتبطة بالمستشفيات والمشاركة بين الإنسان والحيوان وتظهر سلالاتها حالياً مقاومة لأكثر من ٢٠ مضاداً حيوياً بضمنها المطهرات *antiseptics* نتيجة فرط الإستعمالها غير المراقب والعشوائي.

إتجهت البحوث مؤخراً لعلاج أمراض كثيرة بإستعمال الأدوية ذات الأصل النباتي لأن أغلب الأدوية المصنعة رغم فعاليتها العالية ورخص ثمنها وكثرة إنتاجها إلا أنها ذات آثار جانبية خطيرة وطرورت البكتريا مقاومة ضدها. وعلى وفق دراسة أجرتها منظمة الصحة العالمية WHO فإن ٩١ دولة تستعمل النباتات الطبية التي يصل عددها الى ٢٠,٠٠٠ نوعاً. مما دعا الكثير من العلماء للعودة للطبيعة وتجريب العلاجات البديلة وتقييم كفاءة المستخلصات النباتية العديمة الآثار الجانبية لكن بطيئة الشفاء ضد أنواع الميكروبات الممرضة وبضمنها بكتريا *S. aureus* لإثبات فعاليتها الوظيفية وإجراء دراسات دوائية لتصنيع دواء بديل أكثر فعالية ضدها وعلاج إصاباتهما، لإنتشار زراعة النباتات أعلاة بالعراق وإحتوائها على مواد فعالة طبيياً (القحطاني، ٢٠٠٩).

وأجريت دراسات إستخدام مستخلصات النباتات كعامل مضاد للبكتريا المسببة لإصابات الجروح وعوامل مساعدة بشفاء والتئام الجروح بدراسات داخل وخارج الجسم الحي. إستخدمت النباتات لعلاج أغلب الحالات المرضية منها الإصابات الجلدية بالإنسان والحيوان لإمتلاكها مواد فعالة وسلامتها طبيياً وسهولة الحصول عليها وقلة تأثيراتها الجانبية مقارنة بالمضادات (Benzie and Wachtel-Galor, 2011)، (Barnes et al., 2007).



صبار



حناء



اليوكالبتوس

اليوكالبتوس *Eucalyptus spp.* أشجار كبيرة معمرة دائمة الخضرة إرتفاعها ٣٠م تعود للعائلة Myrtaceae التي تحوي ٥٠٠ نوعاً تستخدم لأغراض تجارية، صناعية وطبية. وتعرف بأسماء خطأ الكينا ببلاد الشام، الكافور بمصر والسعودية والبان بالسودان.

الحناء *Lawsonia inermis L. (henna)* شجيرة مستديمة الخضرة تنتمي للعائلة الحنائية Lythraceae، تزرع بالمناطق الحارة وشبه الحارة شديدة التفرع القائم المتميز باللون الأحمر البني طولها ٣م، أوراقها بسيطة رمحية أو بيضوية الشكل طولها ٢-٤سم جالسة جلدية الملمس ذات حافة ملساء لونها أخضر داكن. أزهارها صغيرة طرفية لونها أحمر خفيف أو أبيض مصفر، تؤخذ منها قطفتان للأوراق الخضراء. إستخدمت مستخلصات أوراقها منذ آلاف السنين للعلاج لفعالها ضد ميكروبي، ولأغراض جمالية لتخضيب الشعر والأيدي والأرجل وعلاج الأمراض الجلدية كالحروق والجروح وإيقاف الإلتهابات، ولم تسجل أي سمية لمستخلصاتها على الإنسان والحيوان. تحوي مواد كلايكوسيدية أهمها Lawsonone (4-hydroxy-1, 4-naphthoquinone) المسؤولة عن تأثيرها الأحيائي الطبي وعن الصبغة واللون البني المسود ونسبتها بالأوراق ٨٨% الموسوي وآخرون (٢٠٠٩) و Al-Kakei (٢٠١١).

الصبار (Aloe vera (Cactus) ينتمي للفصيلة الصبارية الزنبقية Liliaceae، يعيش بالبيئة الصحراوية وينتج ثمار التين الشوكي، طبيياً يشرب كعصير أو الهلام كدهان ملطف وواقى لبشرة الجلد من أشعة الشمس، ويساعد أيضاً بسرعة إلتئام الجروح ويحفز الخلايا المسؤولة عن شفاء، وعلاج الأمراض الجلدية كونه يجعل الجلد طرياً فيمدّه بالأوكسجين وتدفق الدم مع تمدد الشعيرات الدموية، إذ يمتصه الجلد (٤ مرات) أسرع من الماء. مطهر ومضاد حيوي قاتل للجراثيم يبطل الإلتهاب أو يمنعه. ورغم أن الكثيرين بحثوا تأثير المستخلصات بشفاء الجروح السطحية لكن القليل درسوا ذلك بالدجاج، لذا هدفت الدراسة الحالية لإختبار فعالية المستخلصات المائية لأوراق ثلاث نباتات طبية شائعة هي اليوكالبتوس، الحناء والصبار ضد الإصابة التجريبية لجلد الدجاج بالمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضادات.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

١- جمع العينات النباتية:

صنفت نباتات الدراسة بحسب كتب النباتات والأعشاب الطبية، إذ تم شراء مطحون جديد لأوراق الحناء من السوق المحلية بمدينة بابل، وجمعت كمية كافية من الأوراق الغضة لنبات اليوكالبتوس غسلت بالماء وعقمت مسبقاً وتركت لتجف بالمختبر بعدها طحنت بمطحنة كهربائية، بالنسبة لأوراق الصبار الغضة أزيل الغلاف الخارجي بسكين حادة وجمعت العصارة الهلامية بوعاء نظيف وحفظ بالتلاجة بدرجة ٤°م لحين الإستخدام.

٢- طريقة إستخلاص وتحضير المستخلصات المائية Aqueous extracts للنباتات:

أ- مستخلص أوراق اليوكالبتوس والحناء: إعدمت طريقة المنصور (١٩٩٥) والمحورة عن Harborne (١٩٨٤) والتي ذكرها حسوني وآخرون (٢٠١٣) بتحضير المستخلصات المائية الباردة. بالنسبة للأوراق المطحونة لليوكالبتوس والحناء أنيب ٥٠غم من المسحوق في ٥٠٠ مل ماء مقطر معقم بارد بدورق سعة ١٠٠٠ مل (التر) وخلط المنقوع بالرجاج الزجاجي لمدة ١٥ دقيقة، بعدها ترك لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم رشح بطبقتين من الشاش (التول) للتخلص من الشوائب، بعدها إستخدم ورق ترشيح بقطر ٢٢،٠٠ μm وجمع الراشح بأوعية زجاجية ونقل لجهاز طرد مركزي بسرعة ٢٠٠٠ دورة/دقيقة rpm للحصول على الرائق واهمال الراسب، بعدها جفف بالفرن بدرجة ٤٠°م لأيام حتى يجف كاملاً، جمع المسحوق ووزن بالميزان الحساس وعبئ بأوعية معتمة معقمة وحفظ بالتلاجة بدرجة ٤°م لحين إستعماله لتحضير التراكيز منه.

ب- مستخلص أوراق الصبار: مزجت العصارة جيداً بإضافة ١٠٠ مل ماء مقطر وتركت لمدة ٢٤ ساعة، رشح العالق بورق ترشيح أو بطبقتين من الشاش (التول) وحفظ الراشح بالتلاجة بدرجة ٤°م لتحضير التراكيز منه.

ت- الكشف الكيمياوي العام للنباتات قيد الدراسة: تم التعرف على قيمة pH للمستخلص المائي لأوراق النباتات بحسب الطريقة الواردة في مجيد (٢٠١٠) بمزج ١٠غم مسحوق جاف مع ٣٠مل ماء مقطر بواسطة مازج مغناطيسي Magnetic stirrer لمدة ١٠ دقائق ثم قيس pH بإستعمال أوراق زهرة الشمس للتموس وجهاز pH-meter وأجريت بعض الإختبارات الكيميائية لتحديد المجاميع والمكونات الفعالة بالمستخلص كالكشف عن: الكلايكوسيدات، الفينولات، التانينات، الراتنجات، الصابونيات، الكومارينات، الفلافونات والقلويدات.

٣- بكتريا الإختبار: تم الحصول على ٥٢ عزلة نقية من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* المقاومة للمضادات من عينات جلد دجاج اللحم (الشواء) *Broiler chickens* المستحصل من بعض حقول الدواجن بمحافظة بابل، أجري التشخيص الأولي بمختبر الأحياء المجهرية لقسم صحة المجتمع بالمعهد التقني/ بابل بتميتها على وسط الأكار المغذي *Nutrient agar (NA)*، أيضاً إجراء فحوص شكلية (مظهرية) للمستعمرات والخلايا مجهرياً، وأكد تشخيصها بالفحوص الكيموحيوية بضمنها إختباري الإنزيم الحال للدم *Haemolysin* والمخثر لبلازما الدم *Coagulase* ووسط *Mannitol salt agar (MSA)*، وحضر اللقاح البكتيري بأخذ عدة مستعمرات صغيرة متفرقة من مزرعة فتية ونقلت بعروة *loop* لإنبوية إختبار معقمة تحوي ١٠ مل ماء مقطر مزج جيداً وطبق مباشرة على الجرح المحدث بالدجاج لإحداث إصابة تجريبية.

أ- جمع عينات البكتريا: بإستخدام مسحات فظنية *swabs* معقمة من بيئة الدواجن نقلت للمختبر بإستخدام وسط نقيع الدماغ والقلب *Brain-heart infusion broth*، ثم حضنت المزارع بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة.

ب- الزرع والتشخيص: زرعت العينات على وسط أكار الدم *Blood agar* بعدها أعيد زرعها على وسط *MSA*، فظهرت مستعمرات منفردة دائرية بقطر ٢-٣ ملم، ملساء غير شفافة محدبة قليلاً صفراء- ذهبية، وزرعت على *NA* وحفظت بالثلاجة بدرجة ٤°م لإستخدامها بالإختبارات التشخيصية، إذ شخّصت بالإعتماد على الصفات المظهرية الزرعية والفحص المجهرى والكيموحيوية وإختبار الحساسية للمضادات.

ث- فحص الحساسية للمضادات الحيوية *Antibiotic susceptibility testing*: أختبرت ٨ مضادات حيوية موصوفة لبكتريا *S. aureus* لإنتخاب العزلات المقاومة لإستخدامها بالدراسة الحالية، ولمعرفة الأكثر تأثيراً منها والذي إختير كسيطرة للمضاد *Control* بالدراسة (*Ampicillin*) لمقارنة تأثير المستخلصات النباتية بالدراسة.

ج- تحضير معلق البكتريا *Bacterial suspension*: لتلقيح سطح الوسط المغذي بالطبق وإحداث الإصابة التجريبية.

٤- إختبار التركيز المثبط الأدنى *MIC* والتركيز القاتل الأدنى *MBC* للمستخلصات: إعتمدت الطريقة الموصوفة في مجيد (٢٠١٠) بإستخدام مجموعة تراكيز مضاعفة (ملغم/مل) بعد مزج كل تركيز للمستخلص مع الوسط الذائب تركت الأطباق لتتصلب ثم لقت بالبكتريا بطريقة النشر من مزارع نشطة مزروعة على وسط مولر الصلب وحدد أقل تركيز مثبط من عدم وجود هالة حول القرص المشبع بالمستخلص إستخدمت أطباق تحوي الوسط بدون مستخلص كسيطرة سجل التركيز الذي تثبط النمو الظاهري للبكتريا بالأطباق وأختير أدنى تركيز مثبط منها، وأقل تركيز قاتل بإعادة زرع الأنابيب التي لم تظهر نمو أو نمو ضعيف وذلك بسحب ١,٠ مل من العالق ونشرة على سطح الطبق وحضنة بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة بعدها سجلت الأطباق التي لم تظهر نمواً.

٥- طريقة نشر الحفر على وسط الأكار المغذي *Agar well-diffusion method*: إستخدم قاطع أو ثاقب فليني بقطر ٥ ملم لعمل الحفر بوسط أكار *Muller-Hinton agar* الملقح بنشر معلق البكتريا بتركيز ٨-١٠ خلية/ملم × ١,٥ مقارنة مع أنابيب ماكفرلاند، وإستخدمت لمعرفة القدرة التنشيطية للمستخلص تجاه عزلة البكتريا، إذ وضع ٠,٥ مل من تركيز المستخلص بالحفرة، حضنت الأطباق بدرجة حرارة

٣٧م لمدة ٢٤ ساعة وبتلات مكررات لكل تركيز، استخدمت المسطرة لقراءة النتائج وحساب قطر منطقة التثبيط الخالية من النمو بالملم مطروحاً منه قطر الحفرة.

٦- طريقة إحداث الإصابة التجريبية **Experimental infection** البكتيرية لجلد الدجاج: بحسب طريقة الخياط وآخرون (٢٠٠٨) أزيل الريش الناعم لمنطقة أعلى الظهر لطيور دجاج الشواء (اللحم) باليد والملقط لتنظيف الجلد وتعريته دون الإضرار به وعقم بمطهر سطحي، بعدها استخدم مشروط جراحي معقم وحاد لإحداث جروح وخدوش قياسية بطول (١-٢سم) بالمنطقة وبكل طائر، ومباشرة لقحت منطقة الجرح بمعلق مخفف لعزلة *S.aureus* المقاومة للمضادات. وبعد الإصابة طبقت تراكيز المستخلصات المائية للنباتات الثلاثة بجرعة ١٥٠ ملغم/كغم وزن جسم يومياً ولمدة (١-٣) إسبوع على الجروح المصابة وبتلات مكررات لكل منها.

٧- التحليل الإحصائي **Statistical analysis**: استخدم أقل فرق معنوي LSD، واستخرجت النسب المئوية Percentages (%) ببعض النتائج.

النتائج والمناقشة **Results and Discussions**:

يبين جدول (١) عدد ونسب عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات المستعملة بالدراسة بحسب نوع المضاد وتركيزه، أعطى مضاد Ampicillin مقاومة عالية بنسبة ٨٨,٥% ومعتدلة لـ Oxacillin ٥٩,٦% وواطئة للـ Gentamycin ٧,٧%، وهذا يتفق مع شحادة وآخرون (٢٠١١) و Al-Edany وآخرون (٢٠١٣)، عليه أختيرت المضادات العاملة جزئياً ضد عزلات البكتريا *S.aureus* المقاومة لتكون سيطرة للمقارنة مع تأثير تراكيز المستخلصات المستخدمة بالدراسة.

جدول (١): عدد ونسب عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات المستعملة بالدراسة بحسب نوع المضاد

العزلات المقاومة		التركيز µg	الرمز	المضادات
%	عدد			
٥٩,٦	٣١	١	OC	Oxacillin
١١,٥	٦	١٥	E	Erythromycin
٧,٧	٤	١٠	GM	Gentamycin
١٥,٤	٨	٢	CD	Clindamycin
٩,٦	٥	٣٠	VA	Vancomycin
٨٨,٥	٤٦	٢٥	AM	Ampicillin
٢١,٢	١١	٣٠	TE	Tetracycline
١١,٥	٦	٣٠	C	Chloramphenicol

يبين جدول (٢) نتائج إختبارات التحليل الكيمائي- الضوئي Phyto-chemical analysis لأوراق النباتات المستخدمة بالدراسة، بالنسبة للمستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس يحتوي تراكيز مختلفة من المواد المبينة بالجدول عدا القلويدات، الكلسريدات، الكاربوهيدرات والكومارينات وهذا يتفق مع Rasheed وآخرون (٢٠١٠) وحسوني وآخرون (٢٠١٣) والنعمي وآخرون (٢٠٠٨). مستخلص أوراق الحناء لا يحتوي القلويدات، الصابونيات والبيتيدات وهذا يتفق مع Al-Edany وآخرون (٢٠١٣) ومجيد (٢٠١٠). ومستخلص أوراق الصبار لا يحتوي التانينات والصابونيات فقط وهذا يتفق مع Ibrahim (٢٠١٢) و Abdul-Samad وآخرون (٢٠٠٨) و Marie وآخرون (٢٠٠٥). مختلف تراكيز المستخلصات المائية لنباتات الدراسة أعطت

مجلة جامعة بابل / العلوم الحرفية والتطبيقية والعلوم الهندسية / المجلد (٢٦)، العدد (٢٠٨:٢٠٩)

مناطق تثبيط أكبر مما بمجموعة السيطرة بأغلب الأطباق ويشاهد أيضاً بالصورة، وهذا يؤكد الحساسية العالية لهذة البكتريا تجاهها بالزجاج.

يبين الجدول (٣) تأثير تراكيز المستخلصات المائية النباتية على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات ومجموعة السيطرة. تزايدت أقطار تثبيط النمو البكتيري طردياً مع زيادة تركيز المستخلص بجميع النباتات وكذلك مجموعة السيطرة، وهذا يتفق مع Al-Muhna (٢٠١٠) وحبیب وآخرون (٢٠٠٧) باليوكالبتوس و Al-Kakei (٢٠١١) بالحناء وشهاب (٢٠١٠) و Jawad (٢٠١٤) بالصبار.

بالحناء تعود كفاءة المركب الفلافونويدي بقتل البكتريا والفطريات لإحتوائها مجاميع كربوكسيل (COOH) ومجموعة أو أكثر من الهيدروكسيل (OH) مما يزيد تركيز الشحنة السالبة بالمركب وتصبح أكثر فعالية بترسيب بروتينات الجدار الخلوي فتزيد قدرتها التثبيطية. وتعمل مجاميع OH على تكوين أواصر هيدروجينية مع بروتينات الجدار الخلوي فتحطمة، وتستطيع الإرتباط بأواصر هيدروجينية مع الإنزيمات المساعدة فتعمل على ترسيب البروتينات لتثبط البكتريا، كما تعمل كمضادات للإلتهابات والحساسية، إذ تثبط الإلتهابات البكتيرية بتقليل اطلاق الوسائط الإلتهابية وتزيد ثباتية الغشاء الخلوي، ويمكنها أيضاً إقتناص الجذور الحرة وبذلك تملك فعالية ضد تأكسدية antioxidant فتزيد عملها المضاد للإلتهابات. وبذلك تعالج الإلتهابات وتخفف الإستجابة المناعية خلال تثبيطها لمنظمات الإنزيمات المهمة كما تثبط الجزيئات المحفزة لبدء الإلتهابات Prostaglandins الموسوي وآخرون (٢٠٠٩).

جدول (٢): نتائج إختبارات التحليل الكيميائي - الضوئي لتركيب مستخلصات أوراق النباتات المستخدمة

الإختبارات	اليوكالبتوس	الحناء	الصبار
قلويدات	-	-	+
فلافونويدات	+	+	+
ستيرويدات	+	+	+
تربينويدات	+	+	+
تانيينات	+	+	-
فينولات	+	+	+
صابونيات	+	-	-
كلسريدات	-	+	+
كاربوهيدرات	-	+	+
مضادات كوينون	+	+	+
كومارينات	-	+	+
ببتيدات	+	-	+

جدول (٣): تأثير تراكيز المستخلصات المائية النباتية على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات ومجموعة السيطرة.

تركيز المستخلص	اليوكالبتوس	الحناء	الصبار	سيطرة المضاد
10%	15.0 ± 0.0	19.0 ± 0.5	20.0 ± 0.5	16.0 ± 0.0
20%	18.3 ± 0.7	19.6 ± 0.8	21.0 ± 0.2	17.3 ± 0.7
30%	20.0 ± 0.5	21.0 ± 0.5	22.0 ± 0.2	18.0 ± 0.5
40%	22.0 ± 0.5	22.0 ± 0.5	23.0 ± 0.5	20.0 ± 0.5
50%	23.0 ± 0.1	22.0 ± 0.4	23.0 ± 0.5	21.0 ± 0.1
متوسط القطر	19.66 ± 0.54	20.6 ± 0.54	21.8 ± 0.38	18.46 ± 0.36

يبين الجدول (٤) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لتأثير المستخلصات المائية النباتية على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات بالطبق، أعطى مستخلص الصبار أعلى القيم بكليهما، يليه الحناء والأقل لليوكالبتوس، وهذا يتفق مع النعيمي وآخرون (٢٠٠٨) وحبيب وآخرون (٢٠٠٧) لليوكالبتوس، Al-Kurashy وآخرون (٢٠١١) وحموشي ومحمود (٢٠٠٨) للحناء، الخياط وآخرون (٢٠٠٨) للصبار.

جدول (٤): قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لتأثير المستخلصات المائية النباتية على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات بالطبق.

المستخلص	قيم MIC ملغم/ قرص	قيم MBC ملغم/ قرص
اليوكالبتوس	18.3 ± 0.7	20.0 ± 0.5
الحناء	19.6 ± 0.8	21.0 ± 0.5
الصبار	22.0 ± 0.2	22.0 ± 0.2

تبين الصورة (١) مقارنة أقطار مناطق تثبيط المستخلصات المائية النباتية والسيطرة على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات بالطبق بأعلى تركيز (٥٠%). كانت النتائج عالية مقارنة وأكملت إمكانية الإستفادة من مستخلصات النباتات المدروسة ضد بكتريا *S.aureus* المقاومة للمضادات وهذا يتفق مع الربيعي (٢٠١٦) و Salman, 2014 وآخرون و Al-jeboury (٢٠١٣) وجعاز وعودة (٢٠١٠) وحبيب وآخرون (٢٠٠٧) لليوكالبتوس، الموسوي وآخرون (٢٠٠٩) وحموشي ومحمود (٢٠٠٨) للحناء وشهاب (٢٠١٢) للصبار.



صورة (١): مقارنة أقطار مناطق تثبيط المستخلصات المائية النباتية والسيطرة على عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات بالطبق بأعلى تركيز (٥٠%).

يبين الجدول (٥) متابعة تطور مجموعة العلامات المرضية في (٣ أسابيع) لتأثير تراكيز المستخلصات المائية والسيطرة على بكتريا *S.aureus* المقاومة للمضادات بالإصابة التجريبية لجلد الدجاج. تبدأ إستجابة شفاء الجرح الطبيعية بالأذى القابل للشفاء، بتلامس الصفائح Platelets مع الكولاجين Collagen وتجمعها لتحرير عوامل التخثر Clotting factors فيترسب الليفين بمكان الضرر ليكون سدادة Clot فعالة، بعدها تصل الخلايا الإلتهابية مع الصفائح بموضع الضرر فتعطي إشارات Cytokines أو عوامل النمو. الأرومات الليفية Fibroblasts هي المسؤولة عن ترسيب الكولاجين (بروتين عالي الوفرة بالحيوانات) المهم لإصلاح ضرر نسيج الجلد، بالنسيج الطبيعي يعطي قوة وإندماج وتركيب وبعد تضرر النسيج فإنه يلعب دوراً بإصلاح وإعادة التركيب التشريحي والوظيفة (Sawad, 2006).

تباينت النتائج لكل مستخلص لكنها كانت جيدة ولم يكن لتراكيز المستخلصات النباتية أكلة أي آثار جانبية عكسية بالدجاج، وهذا يتفق مع النعيمي وآخرون (٢٠٠٨) لليوكالبتوس. أظهر مستخلص الحناء فعالية ضد البكتريا بالجرح، وهذا يتفق مع Tawfik, 2015 وآخرون بالخيول العربية و Mehna and Kadhum, 2011 بالفئران.

بتطبيق مستخلص الصبار يسرع تقلص وإكماش الجرح وإغلاقه بخفض المساحة السطحية وإعادة تجديد أنسجته، وزاد عدد الخلايا البلعمية Macrophages وهجرة الخلايا الليفية وإعادة تجديد الكولاجين وتكوين النسيج الندبي مقارنة بالسيطرة. يؤدي زيادة نسبة الشفاء وقلة المدة اللازمة لإلتئام الجروح (بعد ١١ يوماً للمعالجة فقط) وأعطى نتائج جيدة مقارنة بالسيطرة، تعزى لإحتوائه سكريات متعددة تزيد نشاط الكولاجين وتحت تقلص الجرح، وهذا يتفق مع Jawad, 2014 بالجرذان المصابة بالسكر المحدث و Sawad, 2006 بالأرانب.

خلال عملية شفاء الجرح تنفذ الخلايا الطلائية وتهاجر من حافاته وتغطي حالاً بالجلد الجديد اعتماداً على تجهيز أو كسجين كاف (Jawad, 2014 و Ibrahim 2012 بالدجاج و Abdul-Samad, 2008 وآخرون بالأرانب و Marie, 2005 وآخرون). تبين التأثير الفعال لتراكيز مستخلصات النباتات المدروسة ضد بكتريا *S.aureus* المقاومة طوال مدة الدراسة.

وتبين تفوق أعلى تركيز بجميع المستخلصات بكل العلامات المرضية المؤشرة، إذ أظهر المستخلص المائي المطبق بكل تركيز عدم وجود نزف أو تورم حافات الجرح أو شفاء مع نمو شديد للنسيج الطلائي وإنعدام تكوين الخراج وتشكل نسيج الندبة منذ الإِسبوع الأول للمعالجة بالمستخلصات. وأظهر الفحص النسيجي للجرح المعالج بالتركيز العالي للمستخلصات النباتية إلتئام سريع مع نسيج متقرن سميك وفرط تكاثر طبقة البشرة وتليف غزير ونمو واضح للأوعية الدموية مقارنة بسيطرة المضاد.

التوصيات Conclusions:

- ١- البكتريا المقاومة للمضادات بالإصابات صعبة المعالجة والتي ظهرت حديثاً مثلما بينت الدراسة الحالية تعطي تطلع لتجريب مركبات طبيعية جديدة فعالة وواعدة ضدها.
- ٢- تراكيز المستخلصات المستخدمة بالدراسة كانت آمنة وبدون تأثيرات جانبية لاسيما وأنها طبقت خارجياً للإصابات السطحية المحدثة بالحيوان، ويمكن دراسة تطبيقها الداخلي بتجريبها للحيوانات المخبرية.
- ٣- مقارنة تأثير مجموعة من النباتات الأخرى الموصوفة ذات التأثير الإيجابي بعلاج الإصابات السطحية وبطريقة البحث الحالي نفسة لإختيار الأفضل من بينها ومقارنته بسيطرة المضاد.

المصادر References:

جعاز، إيتسام ثامر و عودة، وجدان نادر، ٢٠١٠، دراسة القدرة التثبيطية لدم المشيمة والحبل السري والمستخلص المائي لنباتي اليوكالبتوس والسماق تجاة بكتريا MRSA، مجلة جامعة كربلاء العلمية، (١)٨: ٣٢٣-٣٣٣.

حبيب، سهير عبد الكريم؛ مرزة، ثامر خضير والصراف، عباس جواد، ٢٠٠٧، تأثير مستخلص أوراق نبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* L. في جرثومة *S.aureus* خارج الجسم الحي، مجلة جامعة بابل للعلوم، ٢(١٤): ١١٨-١٢٦.

حسوني، عادل عبيد؛ هادي، عهد عبد علي و صكر، سيلان حسين، ٢٠١٣، تأثير المضاد الميكروبي لأوراق نبات اليوكالبتوس *E.camaldulensis* الطازج المركز على بكتريا *S.aureus*، مجلة الفرات للعلوم الزراعية، ٥(٣): ١٧١-١٧٨.

حموشي، رواء محمود ومحمود، عبد الرزاق خضر، ٢٠٠٨، التأثير التثبيطي لأوراق نبات الحناء *Lowsonia inermis* على أفراد النوع *S.aureus* المعزولة من أخماج جلدية مختلفة، مجلة علوم الرافدين، ١٩(٣): ١-١٩.

الخياط، علي عزيز؛ كافي، لبنى أحمد وفهمي زينة منذر أحمد، ٢٠٠٨، تأثير هلام وورقة الصبار على إنتام الجروح وتأثيره كمضاد جرثومي. المجلة الطبية البيطرية العراقية، ٣٢(٢): ٤٦-٥٩.

الربيعي، قيصر نعمة مظلوم، ٢٠١٦، التأثير المشترك للمضادات الحياتية والمستخلصات النباتية في حيوية بعض أنواع البكتريا، مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية، ٦(٢٤): ١٥١١-١٥٢٠.

شحادة، هشام عطا؛ عثمان، سوسن حسن و عزيز، فتوة منور، ٢٠١١، دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية على الأنواع البكتيرية المعزولة من مصابين بذات الرئة، مجلة بغداد للعلوم، ٨(٢): ٢٤٨-٢٥٤.

شهاب، زينة هاشم، ٢٠١٢، تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج، الصبار والحلبة في نمو بكتريا *S.aureus* المعزولة من الجروح، مجلة كلية التربية الأساسية، ٧٥: ٧١٩-٧٢٨.

القحطاني، جابر بن سالم، موسوعة جابر لطب الأعشاب، ٢٠٠٩، ط١، ج٤، مكتبة العبيكان، ٤٢٩ص. مجيد، شيما حميد، ٢٠١٠، دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات الحناء *Lowsonia inermis* تجاة بعض العزلات البكتيرية، مجلة كلية التربية الأساسية، ٦٦: ٨٥٩-٨٦٦.

الموسوي، عبد الأمير عبد الله، الكنعان، لؤي حسين و حميد، باسم جاسم، ٢٠٠٩، الفعالية ضد ميكروبية لمستخلصات نبات الحناء *Lowsonia inermis* L.، مجلة أبحاث البصرة (العلمية)، ٣٥(٣): ١٦-٢٣.

النعمي، حنان عدنان، الثويني، أمنة نعمة والطحان، فريد جميل، ٢٠٠٨، تقييم فعالية المستخلصين المائي والكحولي لأوراق اليوكالبتوس *E.camaldulensis* في تثبيط نمو البكتريا المرضية الموجبة لصبغة كرام المعزولة من مرضى مصابون بالتهاب البلعوم واللوزتين، المجلة العراقية للعلوم، ٤٩(٢): ٨٢-٨٩.

Abudl-Samad, M.A., Kadhun, M.A., Hamza, B.S. and Hamed, 2008, The effect of *Aloe vera* acetone extract on wound contraction and re-epithelialization on full thickness excisional wound in female rabbits, Al-Qadisiya J. Vet. Med. Sci., 7(2): 44-49.

- Al-Edany, A.A., Khudaier, B.Y. and Jaber, N.N. ,2013, Antibacterial activity of *Lowsonia inermis* L. leave extracts on *S.aureus* isolates. Bas. J. Vet. Res., 12(2): 256-266.
- Al-jeboury, G.H.,2013, In vitro antibacterial activity of *E.microtheca* & *Cinnamomum zeylanicum* crude extracts against *P. aeruginosa* isolates. Med. J. Babylon, 10(4):784-793.
- Al-Kakei, S.N.H.,2011, Antibacterial activity of henna plant *Lowsonia inermis* on gram negative bacteria. Al-Mustansiriyah J. Sci., 22(7): 15-20.
- Al-Kurashy, H. M. K.; Al-Windy, S.A. and Al-Buhadilly, A. K., 2011, Evaluation the antibacterial activity of *Lowsonia inermis*: In vitro study. Iraqi J. Sci., 52(1): 16-19.
- Al-Muhna, B.M., 2010, Study of the inhibitory effect of *Thymus vulgaris* & *E.camaldulensis* on in vitro growth of *L. monocytogenes*. Kufa J. Vet. Med. Sci., 1(1):18-27.
- Barnes, J.; Anderson, L.A. and Phillipson, J.D., Herbal Medicine, 3rd ed., 2007, Pharmaceutical press, 721p.
- Benzie, I.F.F. and Wachtel-Galor, S., Herbal Medicine: Biomolecular and clinical aspects, 2011, 2nd ed., CRC press, 488p.
- Gillespie, S.H. and Hawkey, P.M., Principles and Practice of Clinical Bacteriology, 2006, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd., 618p.
- Ibrahim, O.M.S., 2012, Evaluation of antibacterial activity of *Capparis spinosa* (Al-Kabara) and *Aloe vera* extracts against isolates bacterial skin wound infections in vitro and in vivo, Kufa J. Vet. Med. Sci., 3(2):23-35.
- Jawad, R.A.M., 2014, The antimicrobial and wound healing effect of *Aloe vera* in induced diabetic Rats. Al-Qadisiya J. Vet. Med. Sci., 13(1): 7-14.
- Marie,K.N.; Al-Khateeb, H.E. and Al-Waiz, M., 2005, Topical preparations from the Iraqi plant *Aloe vera* and their activity in skin infections, AJPS, 2(1): 7-15.
- Mehna, B.M.M. and Kadhum, E.A., 2011, Effect of *Lowsonia inermis* extract on the pathological changes of skin infection by *Strep. pyogenes* in laboratory Mice, Al-Qadisiya J. Vet. Med. Sci., 10(1): 45-53.
- Rasheed, E.M.; Ridah, H.M. & Zboon, K., 2010, Study of chemical composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* & *E. spathulata* hook extracts. J. Thi-Qar Sci., 2(2): 74-83.
- Salman, E.D.; Al-Saedi, A.J.H.; Al-Kazzaz, A.Gh.M. and Yahya, S.S., 2014, The effect of aqueous extract and essential oils of the leaves of *E.incrassate* on β -lactam resistant *S.aureus*. Ibn Al-Haitham J. Pure & Appl. Sci., 27(1)76-82.
- Sawad, A.A., 2006, Topical activity of *Aloe vera* extract on excision wound healing of skin in Rabbits, Bas. J. Vet. Res., 5(2): 160-169.
- Tawfik, A.I.; Hamza, A.S. and Munahi, A.K., 2015, The effect of henna (*Lowsonia inermis*) on the wound healing of local Arabian horses, J. Kerbala Univ., 31(1) Scientific.
- Wilson, M., Bacteriology of humans: An ecological perspective, 2008, Blackwell publishing Ltd., 364p.

جدول (٥): متابعة تطور مجموعة العلامات المرضية خلال (٣ أسابيع) لتأثير تراكيز المستخلصات المائية والسيطرة على بكتريا *S.aureus* المقاومة للمضادات بالإصابة التجريبية لجلد الدجاج.

الفترة	العلامات المرضية	اليوكالبتوس					الحناء					الصبار					سيطرة المضاد	
		٥٠	٤٠	٣٠	٢٠	١٠	٥٠	٤٠	٣٠	٢٠	١٠	٥٠	٤٠	٣٠	٢٠	١٠		
٧	A	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+++	
	B	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	++	
	C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	D	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++
	E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++
١٤	A	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	++	
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
	D	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	E	+	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	F	++	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	++	++
٢١	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

-A إنتفاخ Swallown
 -B نزف Bleeding
 -C جفاف Dryness
 -D تكوين خراج Abscess formation
 -E تكوين الطلانية Epithelialization
 -F تكوين النسيج Scar
 - لم يحدث تأثير + قليل ++ متوسط +++ عالي