

## دراسة مقارنة للدور التثبيطي للمستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل والمضادات الحيوية ضد بعض انواع البكتريا

وفاء عبد الاله أحمد، ميسون صباح عباس و ميثاق غالب

وحدة الأمراض المشتركة، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق

### الخلاصة

استهدفت هذه الدراسة معرفة الدور التثبيطي للمستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل *Rosemarinus* لبعض انواع الجراثيم حيث حضر المستخلص الكحولي بتركيز 200 ملغم/مل وتمت دراسة قابليته في تثبيط نمو تسع انواع من البكتريا وهي: *Listeria Bacillus anthracis* (Sterne strain) *Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli*, *Br. Melitensis*, *Brucella abortus monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae* *Salmonella typhimurium*, كل نوع من البكتريا قيد الدراسة على طبق من الوسط الزراعي الصلب Mueller Henton ثم اضيفت اقراص من ورق الترشيح المشبعة بالمستخلص الكحولي لاكليل الجبل. تمت دراسة القابلية التثبيطية من خلال قياس قطر الهالة الشفافة الناتجة عن تثبيط النمو البكتيري، وقد اظهرت النتائج ان المستخلص الكحولي لاكليل الجبل كان اكثر تأثيراً على جرثومة *L. monocytogenes* تليها *Br.melitensis* و *S.aureus* وتليها *S.typhimurium* و *B.anthraxis* (Sterne strain) تليها *Br.abortus* و *E.coli* و *P.aeruginosa* و *K.pneumoniae* كما اجري فحص الحساسية لانواع الجراثيم المذكورة للمضادات الحيوية الآتية: Ampicillin (AM10mg), Vancomycin (VA30mg), Cefalothin (KF30mg), Ceftazidime (CAZ30mg), Tobramycin (TOB5mg), Ofloxacin (OFX5mg), Cloxacillin (CX1mg), Cefaclor (CEC30mg) وتمت مقارنة نتائج حساسية العزلات المستعملة للمستخلص الكحولي لاكليل الجبل مع نتائج حساسيتها للمضادات الحيوية المذكورة وقد بينت النتائج ان المضاد الحيوي Ofloxacin كان الاكثر تثبيطاً لجميع العزلات المستعملة حيث اظهرت الجراثيم حساسية عالية له مقارنة ببقية المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة، بينما كان المضاد الحيوي Cloxacillin اقل تأثيراً على العزلات قيد الدراسة.

### Comparative study for the inhibitory effect of alcoholic extract of rosemarinus and antibiotics on some bacteria

W. A. Ahmed, M. S. Abbas and M. G. Abid

Zoonotic Disease Unit, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

#### Abstract

This study was conducted to investigate the inhibitory role of alcoholic extract of *Rosemarinus* on some bacterial species: *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracis* (Sterne strain), *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. These strains were cultured on Mueller Henton agar then filter paper was saturated with alcoholic extract of *Rosemarinus* at concentration 200 mg/ml were added, the inhibitory zone were measured. The results revealed that the inhibitory effect of alcoholic extract was more effective on *L. monocytogenes* then *Br. melitensis*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *B. anthracis* (Sterne strain), *Br. abortus*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, and *K. pneumoniae* respectively. Also susceptibility test of these strains for some antibiotics, which were Ampicillin (AM10mg), Vancomycin (VA30mg), Cefalothin (KF30mg), Ceftazidime (CAZ30mg), Tobramycin (TOB5mg), Ofloxacin (OFX5mg), Cloxacillin (CX1mg), and Cefaclor (CEC30mg) were compared with the susceptibility of these isolates for alcoholic extract of *Rosemarinus*. The results revealed that ofloxacin was more effective against all bacteria used in the current study, while cloxacillin had less effect on these bacteria.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

## المقدمة

المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة وجمع المحلول ثم رشح باستخدام ورق الترشيح Rotary Whatman No.1 وبخر المحلول بجهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator بدرجة حرارة 40 م° لحين الحصول على سائل كثيف حيث تم تجفيفه في الحاضنة بدرجة 37 م° خلال 3-4 أيام ثم حفظ المسحوق في الثلاجة لحين الاستعمال (6).

حضر محلول خزين Stock solution من المستخلص النباتي بإذابة (1 غم في 5 مل ماء مقطر معقم)، رشح المحلول باستخدام ورقة ترشيح Whatman membrane filter 0.45µm وبتركيز 200 ملغم/مل وتم قياس الاس الهيدروجيني له وتم تشييع اقراص ورق الترشيح بالمستخلص الكحولي لأكليل الجبل.

## المضادات الحيوية

استعملت المضادات الحيوية ودرست حساسيتها على البكتريا المستخدمة في الدراسة وشملت المضادات الاتية Ampicillin, Vancomycin, Cephalothin, Cefazidime, Tobramycin, Ofloxacin, Cloxacillin, Cefaclor.

## البكتريا المستعملة

تم استعمال تسع عزلات مشخصة ومفحوصة في مختبر الاحياء المجهرية / وحدة الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد. وشملت *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis* (Sterne strain), *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus*.

## الفعالية التثبيطية

استعملت اطباق معقمة تحتوي على الوسط الزراعي الصلب Muller Henton agar وجرى الزرع بصورة كثيفة باستخدام مسحات قطنية وزرع كل طبق بنوع من البكتريا المستعملة في الدراسة وبعدها أضيفت اقراص ورق الترشيح المشبعة بالمستخلص الكحولي لأكليل الجبل وبتركيز 200 ملغم/مل ثم حضنت الاطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة وبعدها تم ملاحظة قطر التثبيط وقياس الهالة الشفافة الناتجة عن تثبيط النمو البكتيري.

## النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج بان للمستخلص الكحولي لأكليل الجبل الاثر التثبيطي على معظم انواع البكتريا حيث اوضح الشكل 1 بان جرثومة *L.monocytogenes* كانت هي الاكثر تثبيطاً من قبل المستخلص الكحولي لأكليل الجبل تليها *Br.melitensis* و *S.aureus* وتليها *S.typhimurium* و *B.anthraxis* (Sterne strain) تليها *Br.abortus* و *E.coli* و *P.aeruginosa* و *K.pneumoniae*.

ينتمي نبات اكليل الجبل *Rosemarium* للعائلة الشفوية Labiatae التي غالباً ما تسمى بعائلة النعناع Mint Family (1). وبعد نبات اكليل الجبل غنياً بالزيوت الطيارة التي تكسبه طعماً ورائحة مميزين ويمتلك العديد من الاستعمالات الطبية وغير الطبية (2). وتستعمل الزيوت الموجودة في هذا النبات في تثبيط الاحياء المجهرية الممرضة (3,4).

يحتوي نبات اكليل الجبل على زيت طيار ومادة الكامفين والباينين والسينيول ونوع من الكامفور مع تربنتين ومواد أخرى منشطة للاعصاب، كما ويحتوي على مواد مقوية ومرممة ومعيدة للنشاط في اجهزة الجسم جميعها Restorative وفيه فلافونويد Diosmin معروف بفعاليته المضادة لهشاشة الاوعية الدموية الشعرية (5). وأشارت (6) الى فعالية المستخلص الايثانولي لنبات اكليل الجبل تجاه البكتريا *B.cereus* كما وجد (7) و (8) ان للزيت العطري لأكليل الجبل تأثيراً مثبطاً لنمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *S.aureus* و *B.subtilis* و البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *E.coli* و *P.aeruginosa*.

كما ان العلاج بالمضادات الحيوية قد يكون عامل الخطر الرئيسي للاصابة بالجراثيم المقاومة للمضادات وقد يؤدي هذا الى تفشي الاصابة وزيادة شدتها، فقد سجلت اندلاعات مرضية خطيرة في بلدان العالم سببها الانماط المقاومة للمضادات الحيوية اذ ان صفة المقاومة للمضادات الحيوية هذه ادت الى زيادة ضراوة السالمونيلا (9).

ان صفة المقاومة للمضادات الحيوية يشفر لها بواسطة جينات محمولة على البلازميدات يتم اكتسابها نتيجة لكثرة استعمال المضادات الحيوية سواء في الطب البيطري او الطب البشري (10). لذا استهدفت دراستنا معرفة الدور التثبيطي للمستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل لبعض انواع البكتريا لأهمية المستخلصات الطبيعية للسيطرة على الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية والتي اصبح تشكل خطراً كبيراً على الصحة العامة.

## المواد وطرائق العمل

أجري البحث في مختبر وحدة الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد.

## أكليل الجبل

تم الحصول على نبات اكليل الجبل من الاسواق الشعبية السورية وطحن بصورة ناعمة ووضع في قناني زجاجية نظيفة وبعد ذلك تم تحضير المستخلص الكحولي حيث أخذ 100 غم من المسحوق النباتي الجاف وتم وضعه في دورق مخروطي سعة 1000 مل واضيف له 500 مل كحول اثيلي بتركيز 70% وترك منقوعاً لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبعد ذلك رسب

واوضح الجدول 1 بأن المضاد الحيوي Ofloxacin كان الأكثر تثبيطاً على جميع البكتريا المستعملة حيث اظهرت البكتريا حساسية عالية له مقارنة ببقية المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة، بينما كان للمضاد الحيوي Cloxacillin تأثيراً اقل على البكتريا المستعملة. بينت نتائج الدراسة بان المستخلص الكحولي لاكليل الجبل له الاثر التثبيطي الواضح على معظم انواع البكتريا المستعملة. وقد كانت جرثومة *L. monocytogenes* الأكثر تاثراً بالمستخلص الكحولي مقارنة بالانواع الاخرى المستعملة قيد الدراسة وقد يعزى سبب عدم تأثير المستخلص الكحولي في نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام الى امتلاكها طبقة من الغشاء الخارجي

Outer membrane المكونة من Lipopolysaccharide التي تجعل نفاذية المواد اقل قياساً بالبكتريا الموجبة لصبغة كرام (11). وجد (12) بان المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل تاتير مثبط لجرثومة *S.aureus* والتي تسبب تلف الاغذية وهذا يتفق مع ما توصلنا اليه في دراستنا. وقد اشار (13) الى تاتير المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وهذا يتفق مع نتائج دراستنا. قد تعود فعالية المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط الاحياء المجهرية الى احتوائه على مركبات: الدباغيات والفلافونويدات والصابونينات وان لهذه المركبات فعالية تثبيطية لمجموعة كبيرة من الاحياء المجهرية ومنها البكتريا والفطريات (14).

جدول (1) يوضح تاتير المضادات الحيوية على العزلات المستخدمة في الدراسة.

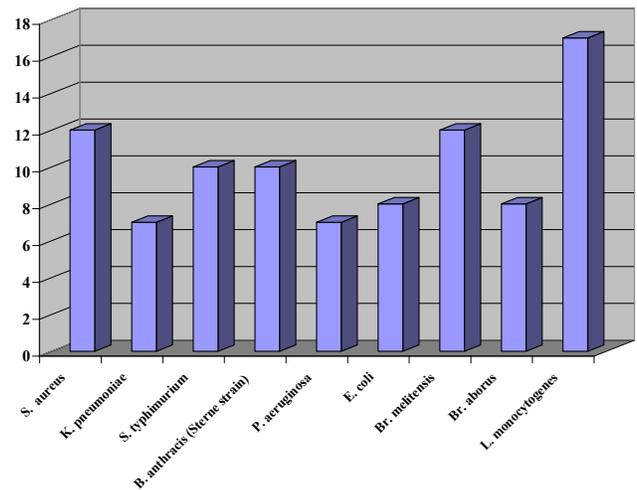
Bacteria	AM 10 mg	VA 30 mg	KF 30 mg	CAZ 30 mg	TOB 5 mg	OFX 5 mg	CX 1 mg	CEC 30 mg
<i>L.monocytogenes</i>	9	17	-	-	20	23	6	9
<i>Br. aborus</i>	10	22	-	17	-	29	-	-
<i>Br. melitensis</i>	17	19	20	10	9	26	11	16
<i>E. coli</i>	13	28	20	20	17	28	21	15
<i>P. aeruginosa</i>	15	17	19	26	20	25	-	16
<i>B. anthracis</i> (Sterne strain)	28	11	23	-	19	28	15	17
<i>S. typhimurium</i>	22	7	13	26	17	29	6	19
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	30	-	-
<i>S. aureus</i>	22	17	18	12	21	26	-	18

AM= Apicillin, VA=Vancomycin, KF=Cephalothin, CAZ= Ceftazidime, TOB= Tobramycin, OFX= Ofloxacin, CX= Cloxacillin, CEC= Cefaclor.

وهذا يتفق مع ما ذكره (12) بأن للمستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل تاتيراً مثبطاً لجرثومة *S.aureus* والتي تسبب تلف الاغذية.

بينما اشار (13) الى تاتير المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهذا يتفق مع نتائج دراستنا. كما اشار (15) الى تاتير مستخلص اكليل الجبل على الجراثيم الموجبة لصبغة كرام *S.aureus* و *B.cereus* وكذلك على الجراثيم السالبة لصبغة كرام *E.coli* و *P.aeruginosa* ولكن تاتيره على الجراثيم السالبة اكثر منه على الجراثيم الموجبة لصبغة كرام؛ بينما ذكر (17) ان تاتير المستخلص الكحولي لاكليل الجبل تاتيراً تثبيطياً على الجراثيم الموجبة لصبغة كرام *S.aureus* و *B.cereus* اكثر منه على السالبة لصبغة كرام *E.coli* و *P.aeruginosa*.

فيما اشار (16) و (18) الى ان المستخلص اكليل الجبل يصبح اكثر فعالية مع زيادة وقت الاستخلاص وخاصة على *S.aureus* وعلى النقيض من ذلك يصبح اقل فعالية على جرثومة *B.cereus* مع زيادة وقت الاستخلاص.



شكل 1: تاتير المستخلص الكحولي لاكليل الجبل في قطر منطقة التثبيط (مم) للانواع البكتيرية المستخدمة في البحث. اظهرت النتائج بان للمستخلص المستخدم تاتيراً مثبطاً لجرثومة *S.aureus* اذ كان ترتيبها الثالث قبل *S.typhimurium*

8. Rezzoug SA, Boutekdjiret C, Allaf K. Optimization of operating conditions of Rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. Journal of Food Engineering La Rochelle/Algiers, Vol. 71, 2005;pp:9-17.
9. Anderson WH, Wilson CR, Remero GP. Relative productivity from selected food types. J Assoc Office Annual Chain. 1979;62:320-326.
10. Richmond MH, Linton KB. The use of tetracycline in the community and its possible relation to the excretion of tetracycline-resistant bacteria. J NT. Microb Chemother. 1980;6:33-41.
١١. هادي سالي محفوظ. الفعالية التثبيطية للزيوت الطيارة لنبات اكليل الجبل *Rosemarinus officinalis* في بعض الاحياء المجهرية الممرضة. رسالة ماجستير - كلية العلوم - جامعة بغداد ٢٠٠٧.
12. Muroi H, Kuba I. Antimicrobial activity anacardiac acid and totarol, alone and in combination with methicillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Appl Bacteriol. 1996;80:387-394.
13. Abu-Shanab H, Adwan G, Abu-Safiya D, Adwan K. Antibacterial activities of some plants extracts utilized in popular medicine in Palestine. Turk J Biol. 2004;28:99-102.
14. Ellof JN. Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? J. Ethnopharmacol. 1998;60:1-6.
15. Weckesser S. Screening of plant extracts for antimicrobial yeasts with dermatological relevance. Phytomed. 2007;pp:508-516.
16. Genena AK, Hense H, Junior AS, Souza SM. Rosemary (*Rosemarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. Cienc Tecnol Aliment. 2008;28:463-469.
17. Celiktas OY. Antimicrobial activities of methanol extracts of essential oils of *Rosemarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chem. Bornova – Izmir / Eskisehir, Vol. 100, 2007, pp:553-559.
18. Gachkar, L. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosemarinus officinalis* essential oils. Food Chem. Tehran, Vol. 102, 2007,pp:898-904.

وقد تعود فعالية المستخلص الكحولي لنبات اكليل الجبل في تثبيط الاحياء المجهرية الى احتوائه على مركبات الدباغيات والفلافونويدات والصابونينات ولهذه المركبات فعالية تثبيطية لمجموعة كبيرة من الاحياء المجهرية ومنها البكتريا والفطريات (14).

نستنتج من خلال نتائج دراستنا ان الاعشاب الطبيعية ممكن ان تكون مصدراً لمنتجات قادرة على السيطرة على الجراثيم المقاومة للمضادات ولها اهمية كبيرة لتطوير ادوية مؤثرة وأمنة وزهيدة الثمن.

#### المصادر

1. Willis LJC. "A Dictionary of Flowering Plants and Ferns" 8<sup>th</sup> Ed. Cambridge, the University Press. 1973.
2. Fadel HH, El-Massry KF. *Rosemarinus officinalis* L.: effect of drying on the volatile oil of fresh leaves and antioxidant activity of their extracts. J. Essential Oil Bearing Plants. 2000;3:5-19.
3. Youn J, Lee KH, Won J. Beneficial effects of rosemarinic acid on suppression of collagen induced arthritis. J Reumatol. 2003;7:30-45.
4. Pyevich D, Bongenschutz MP. Herbal diuretic and lithium toxicity. J Psychiatry. 2001;158:200.
٥. يحيى، توفيق الحاج. النبات والطب البديل. الدار العربية للعلوم. مطبعة المتوسط، بيروت-لبنان، ٢٠٠٣، ص: ١٥٦.
6. Anessiny G, Perez C. Screening of plants used a green line. Folk Medicine for Antimicrobial Activity. J Ethnopharmacol. 1993;39:119-128.
7. Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Senorans FJ, Reglero G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosemarinus officinalis* L.: Essential oil obtained via supercritical fluid extraction. J Food Prot. 2005;68:790-795.