مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

الفعالية المضادة لمستخلص نبات الميس *Celtis australis* تجاه بعض الجراثيم الممرضة

أميمة ناصر*
ريم سلامة **
بتول مصطفى الموسى ***

(تاريخ الإيداع ٢٧ / ٥ / ٢٠٢٠ . قُبل للنشر ٢ / ٨ / ٢٠٢١)

الملخص

اختُبرت فعالية مستخلص أوراق نبات الميس ***Celtis australis*** المضادة للعصيات القولونية *Escherichia coli* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* تم الحصول عليها من مشفى الأسد الجامعي في اللاذقية ، بطريقة الانتشار بوساطة الأقراص.

أظهرت النتائج أن المستخلص الإيتانولي يمتلك فعالية مضادة تجاه الجرثومين المدروسين، حيث أعطت الخلاصة الإيتانولية عند التركيز ٢٠٠ ملغ/مل أفضل النتائج، وكانت *Staphy. aureus* الأشد حساسية بقطر حلقة تثبيط ١٨ ملم، بينما أعطت *E.coli* قطر حلقة تثبيط بلغ ٩,٦ ملم ، وبنسبة أكبر من تأثير الصاد الحيوي Ceftazedem.

تشير الدراسة أن المستخلص الإيتانولي لأوراق نبات الميس ***C. australis*** يمتلك فعالية مضادة تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة ، وبذلك يمكن أن تكون مصدراً للصادات الحيوية الطبيعية في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: نبات الميس، خلاصة إيتانولية، جراثيم ممرضة، العصيات القولونية، المكورات العنقودية الذهبية.

* أستاذ مساعد في المعهد العالي لبحوث البيئة في جامعة تشرين.
** مدرس في كلية الصيدلة في جامعة تشرين.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير)

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

Anti-efficacy of *Celtis australis* extract against some pathogenic bacteria

Omiema Nasser*
Reem Salama**
Batoul Almosa***

(Received 27 / 5 / 2020 . Accepted 2 / 8 / 2021)

ABSTRACT

The anti-efficacy of *Celtis australis* leaf extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, isolated from the laboratory of Al-Assad University Hospital in Lattakia, was tested by a tablet-mediated diffusion method. 200 mg/ml the best results, was *Staph. aureus*, the most sensitive, had an inhibition ring diameter of 18 mm, while *E. coli* had an inhibition ring diameter of 9.6 mm, with a greater effect of the antibiotic Ceftazedem. The study indicates that the ethanolic extract of *C. australis* leaves possesses antagonist activity against the tested pathogenic bacteria, and thus could be a source of natural antibiotics in the future.

Key words: Celtis australis, ethanolic extract pathogenic bacteria, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus.*

* Assistant Professor in Higher Institute for Environmental Research in Tishreen University
,** Doctor in the Faculaty of Pharmacy in Tishreen University
*** Master student

مقدمة:

تطور استخدام النباتات الطبية في الآونة الأخيرة لتصبح واحدة من أهم الوسائل الوقائية وكذلك العلاجية، إذ تستخدم في علاج العديد من الأمراض حول العالم بسبب احتوائها على مركبات حيوية فعالة ضد الجراثيم الممرضة، وتعد مصدراً جديداً لإنتاج عوامل يمكن أن تعمل كبدائل للصادات الحيوية في علاج الأمراض الجرثومية المقاومة لها. إن فعالية المستخلصات النباتية تجاه الجراثيم الممرضة هي من الحقائق الموثقة بشكل جيد، إذ إن مركباتها الفعالة يمكن أن توفر الوقاية من الإصابة بالأمراض الجرثومية (Giweli *et al.*, 2013; Lai *et al.*, 2012) ، والاستخلاص هو فصل مركبات عضوية بعضها فعال طبياً من أنسجة نباتية أو حيوانية عن المكونات الخاملة، باستخدام مذيبات انتقائية وفق إجراءات نظامية، حيث تنتشر المذيبات أثناء الاستخلاص إلى داخل المادة النباتية الصلبة وتذيب مركباتها بقطبية متماثلة (Tiwari *et al.*,2011).

تكمن القيمة الطبية لهذه النباتات باحتوائها على مركبات حيوية (مستقلبات ثانوية) تحدث نشاط فيزيولوجي واضح في جسم الإنسان، ومن هذه المركبات الفعالة حيوياً Phenols، quinine، tannins ، coumarines، flavonols، flavone، flavonoids polyphenols، terpenoids، essential oils alkaloids ، (Mohamedi and atik, 2011; Hassan *et al.*, 2009). وذلك لامتلاكها خواص مضادة للتشنج والسرطان والفطريات بالإضافة إلى خواصها كصادات جرثومية، إذ أنها تمتلك قدرة مثبط النمو كبيرة لأنواع جرثومية مختلفة، حيث تسلك سلوك الصادات الحيوية التجارية في قدرتها على إحداث خلل أو توقف لبعض المسارات الاستقلابية في الخلية الجرثومية (الرجب،٢٠٠٧، Tiwari *et al.*, 2011; Kiarostami *et al.*,2010) وقد تفكك الغشاء السيتوبلاسمي وتجعله أكثر نفاذاً، وتزعزع القوة المحركة للبروتون Proton Motive Force (PMF)، وتدفق الالكترونات، والنقل الفعال، وتخثر محتوى الخلية (Cowan, 1999)، كما يمكن أن تسبب الإخلال بوظيفة بعض الأنزيمات المهمة

والضرورية للخلية الجرثومية مثل أنزيم ATPase المعروف بتوضعه ضمن الغشاء السيتوبلاسمي، إما بالارتباط بالمواقع الفعالة للأنزيم، وإما تبديل طبيعة الأنزيم وفقدانه فعاليته، أو تمنع المداد عن تلك الأنزيمات (Aliakbarlu and Shameli, 2013; Tavassoli and Djomeh, 2011; Al-Zubaydi *et al.*, 2009) تعد العوامل الممرضة المقاومة للصادات الحيوية مشكلةً صحيةً عامةً منتشرة حول العالم، إذ إن قلة إيجاد مركبات جديدة صادة للجراثيم بشكل مترافق مع سوء استخدامها أدى إلى ظهور الأحياء الدقيقة المقاومة للعديد من الصادات الحيوية، أنها أصبحت تشكل تحد يواجه علاج الأمراض، وزيادة مرتفعة بتكلفة العلاج، وهذا مايؤدي لانتشار إصابات شائعة غير قابلة للعلاج وحتى قاتلة.(Giweli *et al.*, 2013; Lai *et al.*, 2012; Zohra and Atik, 2011)

كما لاتخلو هذه الأدوية الكيميائية من العناصر ذات التأثيرات الجانبية السلبية على صحة الإنسان، عند استخدامها كعلاج للالتهابات الجرثومية، وغالباً ما تؤدي الى مضاعفات ثانوية على المدى الطويل (Friedman *et al.*,2002). يعد استخدام المركبات النباتية الطبيعية ذات الخواص الصادة للجراثيم والخالية من المواد الكيميائية السامة التي تمتلك التأثير العلاجي ذاته وبتأثيرات جانبية أقل، من الطرائق الملائمة للحصول على أدوية جديدة فعالة تجاه الجراثيم المتعددة

المقاومة، ولإزالة المشكلات الشائعة للآثار الجانبية للصادات الحيوية، إذ تبين أن أكثر من 60% من العوامل الصادة للجراثيم المستخدمة بالعلاج هي من أصل طبيعي ونظراً لما تتميز به منطقة حوض البحر المتوسط من تنوع حيوي نباتي متكيف مع الظروف المناخية والجغرافية الخاصة بهذا النظام البيئي، شرع الباحثون بدراسة هذه الثروات الطبيعية للتقصي عن فعاليتها الصادة للجراثيم (Lai *et al.*,2012)، إذ أن عدد من الأبحاث التي تناولت النباتات الطبية في هذه المنطقة مثل الزعتر الشائع (*Thymus vulgaris* L.)، النعنع المائي (*Mentha aquatic* L.)، الميرمية الطبية (*Salvia officinalis*)، الأوكاليبتوس الكروي (*Eucalyptus globules*) بالإضافة إلى الثوم (*Allium sativum* L.) والبصل (*Allium cepa* L.) (Al-Zubaydi *et al.*, 2009)، والطيون الدبق (*Inula viscosa* L.)(زينب وعيسى، 2015)، وبعض أنواع من الحزازيات الحقيقية (خطاب، الأعرج وزينب، 2012) محدود نسبياً.

وصف نبات الميس *Celtis australis*

ينتمي النوع *Celtis australis* إلى الجنس *Celtis* والفصيلة القنبية *Cannabaceae* ورتبة *Rosales*، (Sytsma *et al.* 2002)، تعد شجرة الميس من الأشجار الكبيرة التي يمكن أن يصل طولها إلى(٣٥) م، وهي شجرة معمرة ذات ساق مستقيمة وقلف أملس رمادي، وأوراق متساقطة ذات تاج كروي، وهي متطاولة أو بيضوية حادة (حسب موقع الشجرة وارتفاعها عن سطح البحر وكميات الرطوبة) مسننة معنقة ذات أوبار، ولاسيما على الوجه السفلي لونها أخضر باهت وبطول يتراوح بين (٥-١٥) سم، وتتحول إلى الأصفر الشاحب قبل التساقط في فصل الخريف.

تظهر الأزهار في فصل الربيع بذات الوقت مع الأوراق وهي ثنائية الجنس أحادية المسكن، أما الثمار لها شكل ثمرة الكرز صغيرة وذات عرض (١) سم معلقة بعناقيد قصيرة، لونها قبل النضج أخضر ثم يتحول إلى اللون الأصفر ثم المحمر القاتم، ثم تتحول إلى اللون الأسود باكتمال النضج، وهي ذات لب سكري قابلة للاستهلاك وخاصة بالنسبة للطيور، تنتشر هذه الشجرة في جنوب أوربا بكثرة، وغرب آسيا، ووسط تركيا، كما تنتشر في الجمهورية العربية السورية في قلعة المرقب والزبداني وصيدنايا وعين الخضرة على أطراف دمشق وبانياس (Spitaler *et al.* 2009; Zehrmann *et al.* 2010; Sommavilla *et al.*2012). ثمارها ذات طعم حلو المذاق سائغ وصحي (Herrera.1987). ، تستخدم هذه الشجرة كنبات زينة لعمرها الطويل ولقدرتها على مقاومة تلوث الهواء، كما أن ثمار هذه الشجرة حلوة الطعم ويمكن استخدامها للأكل بشكلها النيئ والمطبوخ. تستخدم الأوراق والثمار كعوامل مقبضة، ومسكنة للألم، ولعلاج آلام المعدة في الطب الشعبي، كما يستخدم مغلي كل من الأوراق والثمار في علاج انقطاع الحيض، والحيض الغزير والنزف المرافق والمغص، ولتقبيض الأغشية المخاطية في حالات الإسهال الحاد والقرحة المعدية. (Chevallier 1996).

أهمية البحث:

يعد تطوير الجراثيم الممرضة لمقاومة متزايدة تجاه العديد من الصادات الحيوية مشكلة حقيقية للإنسان، تبعاً إضافة للقائمة التي تم نشرها عام ٢٠١٧م- من قبل منظمة الصحة العالمية بشأن "الممرضات التي تحظى

بالأولوية" والمقاومة للصادات الحيوية – والتي تضم (١٢) عائلة من الجراثيم التي تشكل أكبر خطر على صحة الإنسان، ومنها المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيلين، وجراثيم *Escherichia coli*، لذلك سيتم في هذه الدراسة التركيز على إيجاد بدائل علاجية ضد هذه الجراثيم الممرضة باستخدام إحدى النباتات الطبية المنتشرة في البيئة السورية، وهي شجرة الميس كونها تشكل مادة خام للكثير من المستحضرات الدوائية المعاصرة، واختبار فعالية المستخلص العضوي لهذا النبات الذي يمتلك التأثير الصاد الأقوى لهذه الجراثيم.

أهداف البحث:

١- استخلاص المواد الفعالة من أوراق نبات الميس *Celtis australis* باستخدام الإيتانول.

٢- دراسة فعالية المستخلص الإيتانولي لكل من أوراق وثمار نبات الميس على *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*.

مواد البحث وطرائقه

1.عزل الجراثيم

تمّ عزل الجراثيم الممرضة من عينات مرضية تم الحصول عليهامن مختبر مشفى الأسد الجامعي في اللاذقية، واستُخدمت لهذا الغرض الأوساط المغذية العامة والنوعية والانتقائية اللازمة، تم تصنيف الجراثيم المعزولة من العينات المرضية تبعاً لنتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية، وباستخدام تقانة الصفيحة Analytical Profile Index API Staph, API 20،وبالاعتماد على دليل بيرجي (Cappuccino *et al*. 1996;Garrity *et al*. , 2004; Garrity *et al*. , 2005, Rabello *et al*.,2005;COWAN, 1974)

2. الاعتيان:

جمعت العينات النباتية لنبات الميس من الأشجار المنتشرة في حدائق جامعة تشرين خلال العام (٢٠١٩)م، لتحضير المستخلص العضوي حسب طريقة (Prusinowska and Smigielski, 2014)، وذلك في أكياس من البولي إيتلين، ونقلت إلى المختبر لتنظف وتجفف. وتوصف وتدرس باستخدام المجهر الضوئي والمكبرة الضوئية وبالاعتماد على المراجع التصنيفية (أطلس التنوع الحيوي، ٢٠٠٢). (Prusinowska and Smigielski, 2014; Boulos, 2002; Cronquist, 1981; Naomi, 1978; Davis, 1978)

3. تحضير الخلاصات النباتية:

تم غسل وتنظيف النبات بعد جمعه، وجففت في الهواء الطلق والظل لعدة أيام، وقد تم اتباع هذه الطريقة للتجفيف، لأنها تعد عادة الطريقة الأفضل للمحافظة على المركبات الفعالة في المستخلصات دون تخرب، وذلك مقارنة بطرائق أخرى لتجفيف العينات النباتية، ثم طحنت بطاحونة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم، بهدف زيادة

سطح تماس المادة النباتية مع المذيبات العضوية. (Gurjar *et al.*, 2012; Handa *et al.*, 2008) تم استخدام النسبة (١٠:١) (وزن: حجم) (١٠مسحوق نبات الميس: ١٠٠ مل من المذيب العضوي المستخدم وهو الإيتانول، وغطيت الحوجلات بشكل كامل بورق الألمنيوم، لمنع التعرض للضوء تجنباً لتفكك بعض المركبات الحساسة للضوء، ثم حركت الحوجلات على هزاز بمعدل ١٠٠ هزة/الدقيقة لمدة ٧٢ ساعة، ثم رشحت المستخلصات النباتية باستخدام أوراق ترشيح من نوع Watman No.1 قطرها 15سم، لفصل المادة النباتية بالكامل عن المذيب، أخذت الرشاحة السائلة وبخر المذيب في مبخر دوار بالدرجة C° (39)، إذ استمرت عملية الاستخلاص إلى أن أصبح المذيب المستخدم الذي يخرج من الثمبل عديم اللون، وبعدها ركزت الخلاصات بالاستخراج بالتَّخْلِية باستخدام مبخر التخلية الدوار Rotary Evaporator Vaccum بدرجة حرارة لا تزيد على 40 درجة مئوية، وعند تبخير المذيب المستخدم في الاستخلاص بكامله، لوحظ تشكل طبقة ثخينة من الخلاصة، أي تم الحصول على خلاصة عجينية لينة متماسكة، ووضعت المستخلصات ضمن عبوات عاتمة محكمة الإغلاق، ثم جففت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية حتى ثبات الوزن (Tiwari *et al.*, 2011; Pirbalouti *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2010)

4. فعالية المستخلصات العضوية تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة:

اختبرت فعالية المستخلصات العضوية بطريقة التشريب لأوراق الترشيح باستخدام وسط مولر – هنتون آغار Mueller Hinton agar(MHA) (Matuschek *et al.*, 2014; Biemer, 1973) حُضِّر من الخلاصة 0.5غ في ٢,٥ مل من Dimethyl sulfoxide (DMSO) والحصول على تركيز ٢٠٠ ملغ/مل، وحُضِّر من الخلاصة 0.5غ في ١,٢٥ مل من (DMSO) والحصول على تركيز ٤٠٠ ملغ/ل، ثم شربت أقراص ورقية قطرها ٥ مم بمقدار 20ميكرون من كل تركيز، واستخدمت أقراص مشربة بمقدار 20 ميكرون من DMSO (كشاهد سلبي). حُضِّر معلق جرثومي لكل نوع من الجراثيم الممرضة بأخذ مستعمرات مزروعة على وسط Nutrient agar عمرها ٢٤ ساعة، وضعت في محلول فيزيولوجي لإعطاء عكاره ٠,٥ McFarland، ثم أضيف 0.5 مل من كل معلق جرثومي إلى طبق يحتوي على٢٠ مل من وسط MHA، وفرش بماسحة قطنية معقمة تركت الأطباق لمدة ١٥ دقيقة في حرارة الغرفة، ثم وضعت الأقراص المشربة بالمستخلص العضوي وأقراص الشاهد السلبي فوق سطح الوسط الزراعي بواسطة ملقط معقم، ومن ثم وضعت في حاضنة حرارتها 37 درجة مئوية لمدة ٤٨ ساعة.

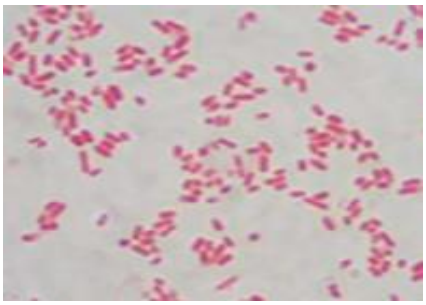
تمت قراءة النتائج بعد انتهاء فترة الحضن بقياس أقطار حلقات تثبيط النمو بواسطة مسطرة ميليمترية, نفذت التجربة بواقع ثلاثة مكررات (Pirbalouti *et al.*, 2010; Klancnik *et al.*, 2010; Matuschek *et al.*, 2014)

النتائج والمناقشة

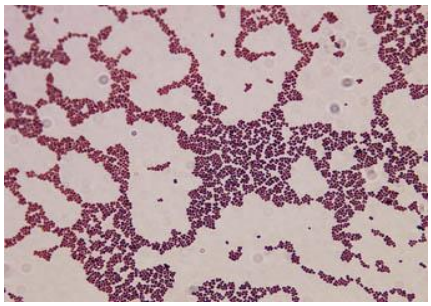
١-نتائج الزرع الجرثومي والفحص المجهري:

بينت النتائج ظهور جراثيم العينات المرضية على الأوساط المغذية الانتقائية والنوعية، بعد ذلك وبهدف تنمية الجراثيم عليها تم اعتماد تلوينها بطريقة صبغة غرام، حيث تبين أن العزلة الجرثومية الأولى (A) هي عبارة عن

عصيات سالبة لصبغة غرام، والعزلة الجرثومية الثانية (B) هي مكورات عنقودية إيجابية صبغة غرام، كما هو موضح في الصورة (١).



العزلة الجرثومية A



العزلة الجرثوميةB

الصورة (1). التلوين بصبغة غرام للعزلتين الجرثوميتين

بعد التأكد من نقاوة المستعمرات سالبة صبغة غرام تم انتقاء مستعمرات مفردة وحلها بمحلول PBS 1x حسب عكارة Mcfarland 2 ثم أجري لها اختبارات بيوكيميائية باستخدام تقانة الصفيحة وظهرت النتائج كما هو موضح في الجدولين (١)، كما تم إجراء الاختبارات البيوكيميائية بنفس الطريقة للعزلات الجرثومية موجبة صبغة غرام، (Green *et al.*, Caio *et al.*, 2014 ;2017)، كما هو موضح في الجدول (٢).

الجدول (١) الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (A)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Motility	Catalase	Oxidase	Arginine	Ornithine	Nitrate	Mr	Vp	Indol	H2s	Acetate	Citrate
+	+	–	–	–	+	–	–	+	–	+	–
Tartrate	Esculine	Gelatine	Urea	Phy–	Arabinos	Cellebios	Dulcitol	Glycerol	Glucose	Inositol	Lactose
–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	+
Maltose	Mannitol	Mannos	Raffinos	Sorbitol	Sucrose	Trehalos	Xylose	Fructose			
–	+	–	–	+	–		–	–			

الجدول (2) الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (B)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Motility	Catalase	Oxidase	Arginine	Ornithine	Nitrate	Mr	Vp	Indol	H2s	Acetate	Citrate
–	+	–	+	–	+	+	+	–			+
Tartrat	Esculine	Gelatine	Urea	Phy–alan	Arabinose	Cellebiose	Dulcitol	Glycerol	Glucose	Inositol	Lactose
		+	+		–	–		–	+	–	–
Maltos	Mannitol	Mannos	Raffinose	Sorbitol	Sucrose	Trehalose	Xylose	Fructose	Hemol		
+	+	+	–		+	+	–	–	–		

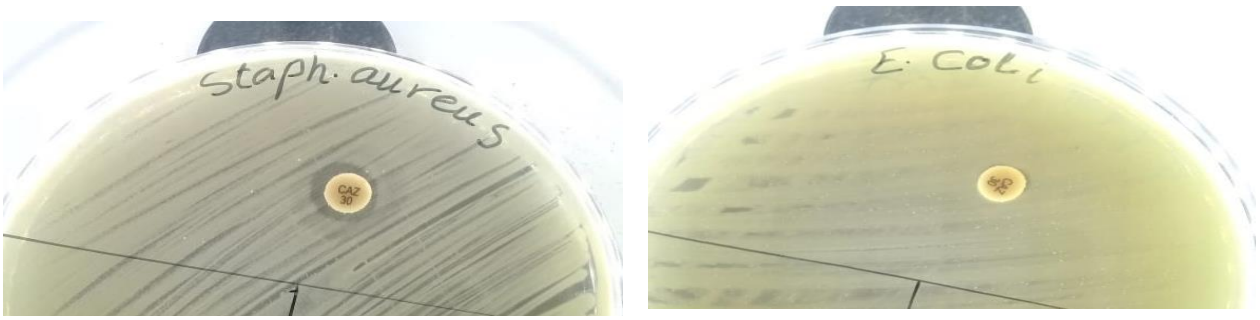
حسب معطيات نتائج الزرع الجرثومي والتلوين والفحص المجهري واختبارات API، تم تنميط سلبيات غرام كعصيات قولونية وتنميطها تبعاً لاختبارات API، وبذلك توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة)ش(2012 ,Ash *et al.* التي تؤكد السبب الرئيس لالتهابات الجهاز البولي الحادة والمزمنة ,فهي جراثيم انتهازية إذ تعد مسؤولة عن حوالي % (90) من التهابات المجاري البولية.

تنميط إيجابيات غرام كمكورات عنقودية ذهبية، وبذلك توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Badri, 2014) التي سجلت انتشار هذه الجرثومة داخل أقسام المشفى، وخاصة أقسام الجراحة، كما توافقت مع نتائج (Singh

(*et al.*, 2014 وتسببها للعديد من الأمراض الجرثومية كالتهاب الجروح والحروق، والدمامل، والتهاب الشغاف، وذات العظم والسمحاق والنقي، وذات الرئة، وانتان الدم، وذات السحايا، والتهاب المجاري البولية.

3- نتائج تحسس الجراثيم الممرضة المختبرة للصاد الحيوي Ceftazedem

اختبرت حساسية الجراثيم الممرضة المعزولة تجاه الصاد الحيوي سيفتازيديم Ceftazedem ، وذلك وفق الجمعية الأوربية لاختبار حساسية مضادات المكروبات European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Eucast, 2020)، وذلك لمقارنة فعالية الخلاصة النباتية مع فعالية هذا الصاد ولإظهار فعالية نبات الميس تجاه هذه الجراثيم، إذ بلغ قطر حلقة تثبيط Levofloxacin لنمو جراثيم *Staph. aureus* القيمة (٨) ملم، وكان أكبر من قطر حلقة تثبيط الصاد ذاته لجراثيم *E. coli* والذي بلغ القيمة (٠) ملم ، كما هو موضح في الصورة(٢).



الشكل(٢) الفعالية التثبيطية للصاد الحيوي سيفتازيديم Ceftazedem تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة

5.3.نتائج فعالية المستخلص العضوي لنبات *C. australis* تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة

بينت النتائج الموضحة في الجدول (3) حدوث تأثير مثبط للنمو الجرثومي للخلاصة الإيتانولية بتركيز (٢٠٠)ملغ/مل لأوراق نبات *C. australis* تجاه العزلتين الجرثوميتين المختبرتين، إذ بلغ متوسط قطر تثبيط الخلاصة الإيتانولية (١٨)ملم، عند التركيز(٢٠٠) ملغ/مل على العزلة الجرثومية *Staph.aureus*، وهو أكبر من متوسط قطر تثبيط الخلاصة الإيتانولية على العزلة الجرثومية *E. coli* عند التركيز ذاته، والذي بلغ القيمة (٩,٦) ملم ، وذلك بعد مرور (٤٨) ساعة على الحضن.

الجدول (3) متوسط أقطار حلقات تثبيط النمو الجرثومي الناتجة عن (٢٠٠)ملغ/مل من الخلاصة الإيتانولية لنبات *C. australis*

الجراثيم الممرضة المختبرة قطر حلقة التثبيط(ملم)	*E. coli*			***Staphy. aureus***		
بعد ٢٤ ساعة من الحضن	١٠	9	٨	13	١٥	١٤
المتوسط بعد ٢٤ ساعة	٩			١٤		
بعد ٤٨ ساعة من الحضن	١١	١٠	٨	١٨	١٧	١٩
المتوسط بعد ٤٨ ساعة	٩,٦			١٨		

تعزى الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الإيتانولية لأوراق نبات الميس إلى وجود المستقلبات الثانوية مثل التربينات triterpens والفلافونيدات flavonoids والغليكوزيد glegozide والمركبات الفينولية phenolicبحسب (Sommavilla *et al*., 2012; Zehrmann *et al*., 2010 ; Spitaler *et al*., 2009)

تفوقت نتائج هذه الدراسة على نتائج Showkat (2012) من حيث تثبيط الخلاصة العضوية لأوراق نبات الميس التي فيها متوسط قطر تثبيط الخلاصة (١٠,٥)ملم، عند التركيز(٢٠٠) ملغ/مل على العزلة الجرثومية *Staph.aureus*.

يمكن تفسير اختلاف مقاومة الجراثيم للخلاصة الإيتانولية لنبات الميس في هذه الدراسة إلى اختلاف المركبات الفعالة في الخلاصة النباتية كماً ونوعاً عن تلك في الدراسة السابقة، وقد ويعود هذا بدوره إلى تأثير العوامل البيئية المختلفة، وإلى تاريخ ومكان جمع النبات وتربة المنطقة وموقع أخذ العينة الجرثومية، واختلاف طريقة الاستخلاص المستخدمة في التجربة (Baloch and Ranjbar, 2014).

كما بينت نتائج هذه الدراسة أن الجراثيم إيجابية صبغة غرام أكثر حساسية للخلاصة الإيتانولية لنبات الميس من الجراثيم سالبة صبغة غرام، وهذه النتيجة مطابقة لنتائج العديد من الباحثين

(Aliakbarlu and Shamel 2013; Yazdi *et al*., 2013; Pirbalouti *et al*., 2012)

وتعزى مقاومة العزلات الجرثومية سالبة صبغة غرام إلى تركيب جدارها الخلوي، والذي غالباً ما يكون غير نفوذ للمركبات المحبة للدسم، بالمقابل فإن غياب هذا الحاجز الكتيم عند الجراثيم إيجابية صبغة غرام يسمح للمركبات الكارهة للماء بأن تكون على تماس مباشر مع طبقتي الغشاء السيتوبلاسمي حيث تمارس تأثيرها، مسببةً إما زيادة في النفوذية الغشائية للأيونات وارتشاح المكونات الخلوية الحيوية الداخلية، أو تلف الجمل الأنزيمية الجرثومية الموجودة في الفراغ البلاسمي الخارجي. (Douhri *et al*., 2017;Ouibrahim *et al*., 2013; Shahla 2012; Dorman and Deans 2000)

الاستنتاجات والتوصيات:

١- تمتلك الخلاصة الإيتانولية لنبات الميس *C. australis* خاصية مثبطة لنمو *Staphy. aureus* و *E. coli* تفوق تأثير الصاد الحيوي Ceftazedem.

٢- كانت حساسية *Staph.aureus* للخلاصة الإيتانولية لنبات *C. australis* أعلى حساسية من *E. coli*.

٣-تم عزل وتنميط الإشيريكية القولونية *Escherichia coli* , والمكورات العنقودية الذهبية(C) *Staphylococcus aureus* من العينات المرضية المختبرة في مشفى تشرين الجامعي نتيجة عمليات الزرع والتلوين والاختبارات البيوكيميائية، واختبار (API)

٤-دراسة تأثير العوامل البيئية والتغيرات الفصلية على محتوى نبات الميس *C. australis* من المركبات الفعالة طبياً، وتحديد الظروف المثلى لتحقيق أعلى مردود.

٥-دراسة تأثير نبات الميس*C. australis* على جراثيم ممرضة أخرى.

المراجع:

١-الرجب، أشواق ك؛ طالب، حميد. (٢٠٠٧). تأثير بعض مستخلصات زهرة البابونج *Anthemis nobilis* على بعض الممرضات البكتيرية الجلدية في الإنسان ، مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة، المجلد ٢، العدد الأول، ١-٨.

٢-أطلس التنوع الحيوي :الأحياء النباتية(وزارة الدولة لشؤن البيئة) مرفق البيئة العالمي (GEF) برنامج الأمم المتحدة الألماني167 , 2002 (UNDB).

٣-خطاب، آسيا؛ الأعرج، بسام؛ زينب، اسمهان. (٢٠١٢). استجابة الجراثيم الممرضة لخلاصات نوعين من الحزازيات الحقيقية في محمية العرشاني، رسالة ماجستير، قسم النبات، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

4-ALIAKBARLU, J.; SHAMELI, F. (2013). In Vitro Antioxidant and Antibacterial Properties and Total Phenolic Contents of Essential Oils from Thymus vulgaris, T. kotschyanus, Ziziphora tenuior and Z. Clinopodioides. Turkish Journal of Biochemistry– Turk J Biochem, Vol. 38, No. 4, 425-431.

5-AL-ZUBAYDI, S. R.; AL-HMDANY, M. A.; RAESAN, S.J. (2009). Antibactrial Effect of some Medicinal Plant Extracts against some Pathogenic Bacterial Strains. The 2nd Kurdistan Conference on Biological Sciences J. Duhok Univ., Vol.12, P.244-249.

6-ASH, S.K.; CHAKRABORTY, S.P.; MANDAL, D.; ROY, S.(2012). Isolation and Characterization of Multi Drug Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* from Urine Sample of Urinary Tract Infected Patients. International Journal of Life Science & Pharma Research, Vol. 2, No. 1, P. 25-39.

7-BALOCH, M.; RANJBAR, R.(2014). Evaluation of Antimicrobial Effects of Three Medicinal Plants in South of Iran against the *Staphylococcus aureus*, Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli. Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 3, P. 32-37.

8-BIEMER, J., J. (1973), Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method, Annals of Clinical & Laboratory Science, Vol. 3, NO. 2, 135-140.

9-BOULUS, L. (2002). Flora of Egypt volume three (Verbenaceae –Compositae), APH adara Publishing Cairo Egypt, 373.

10-CHEVALLIER, A. (1996). The encyclopedia of medicinal plants: a practical reference guide to over 550 key herbs and their medicinal uses. Dorling Kindersley, London.

11- CAPPUCCINO, JAMES AND SHERMAN, Natalie. (1996). Microbiology: a laboratory manual 5th.

12-CAIO FERNANDO DE OLIVEIRA; THIAGO GALVÃO DA SILVA PAIM; KELI CRISTINE REITER; ALEXANDRE RIEGER; AND PEDRO ALVES D'AZEVEDO. (2014). Evluation of Four Different and Extraction Methods in Coagulase-Negative *Staphylococci* Clinical Isolates. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. Jan-Feb.Vol. 56, No.1, 29–33.

13-COWAN, S. T. (1974). Manual for the Identification of Medical Bacteria**,** 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press. London.

14-COWAN, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. J.Clin. Microbiol. Rev. Vol. 12, P. 564-582.

15-COSTA, M., C. MORLA, AND H. SAINZ, EDS. (1998). Los bosques Ibericos. Editorial Planeta, Barcelona.

16-CRONQUIST, A. (1981) An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, 53. (Usado con permiso de la editorial, Sistema de Clasificación de Cronquist),16,1.

17-DAVIS, D.Sc. (1978). Flora of Turkey University of Edinburgh at the University press. Vol. 6, P. 825.

18-DAS, K.; TIWARI, R.K.S.; SHRIVASTAVA, D.K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 4, No. 2, P. 104-111.

19-DEMIR, F., H. DOG˘AN, M. OZCAN, AND H. HACISEFEROG˘ULLARI. (2002). Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L.). J. Food Eng. 54:241–247.

20-DOUHRI,H ; RAISSOUNI,I ; AMAJOUD,N ; BELMEHDI,N ; TAZI,S ; ABRINI,J AND DOUHRI,B. (2017). Antibacterial effect of ethanolic extracts of Moroccan plant against Escherichia coli. Journal of Materials and Environmental Sciences. Vol8, issue12, 4408-4414.

21-DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.(2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. Vol. 88, 2000, P. 308-316.

22-European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2020*; Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*.

23-FRIEDMAN,M.; HENIKA,P.R.; MANDRELL,R.E. (2002). Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of their Isolated Constituents against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, and Salmonella enteric. Journal of Food Protection, Vol.65, P.1545-1560.

24-GIWELI, A.A.; DZAMIC, M.A.; SOKOVIC, M.; RISTIC, S.M.; JANACKOVIC, P.; MARIN, D.P.(2013). The Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of Salvia fruticose Growing Wild in Libya. Arch. Biol. Sci., Belgrade, Vol.65, No.1, P.321-329.

25-GARRITY G. M.; BELL J. A. and LILBURN T. G**.** Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition, Springer, New York Berlin-Heidelberg, 2004, 401.

26-GARRITY G. M.; BRENNER D. J.; KRIEG N.R.; STALEY J. T. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, USA, 2nd Edition, Vol. 2, 2005, P. 1-1135.

27-GURJAR, M.S.; ALI, S.; AKHTAR, M.; SINGH, K.S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. Agricultural Sciences, Vol. 3, No. 3, P. 425-433.

28-GREEN MR; SAMBRO J. (2017). Isolating DNA from Gram-Negative Bacteria. Cold Spring Harb Protoc. Jan .Vol. 3, 1.

29-Herrera, C. M. 1987. Vertebrate-dispersed plants of the Iberian Peninsula: a study of fruit characteristics. Ecol. Monogr. 57:305. doi:10.2307/2937089.

30-HANDA, S.S; KHANUJA, S.P.S.; LONGO, G.; RAKESH, D.D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology, Trieste, P. 21-25.

31-KIAROSTAMI, KH. MOHSENI, R.; SABOORA, A.(2010). Biochemical changes of Rosmarinus officinalis under salt stress. Journal of Stress Physiology& Biochemistry, Vol. 6, P.114-122.

32-KLANCNIK, A.; PISKERNIK, S.; JERSEK, B.; MOZINA, S.S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. Journal of Microbiological Methods, Vol. 81, P. 121–126.

33-LAI,B.; TEIXEIRA, G.; MOREIRA, I.; CORREIA,I. A.; DUARTE, A.; MADUREIRA,M.A.(2012). Evaluation of the antimicrobial activity in species of a Portuguese (Montado) ecosystem against multidrug resistant pathogens. Journal of Medicinal Plants Research, Vol.6, No.12, P.2381-2387.

34-MATUSCHEK, E.; BROWN, D., F.; & KAHLMETER, G. 2014, Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories, Clinical Microbiology and Infection, Vol. 20, NO.4, 255-266.

35-MOHAMMEDI, Z. and ATIK, F. (2011). Impact of Solvent Extraction Type on Total Polyphenols Content and Biological Activity from Tamarix aphulla (L.) Karst. International Journal of Pharma and Bio Sciences.Vol. 2, P. 609-615.

36-NAOMI, F-D. (1978). Flora palaestina (Ericaceae To Compositae) part three. Text. P. 481.

37-OUIBRAHIM, A.; TLILI-AIT-KAKI, Y.; BENNADJA, S.; AMROUNI, S.; DJAHOUDI, G.A.; DJEBAR, R.M.(2013). Evaluation of antibacterial activity of Laurus nobilis L., *Rosmarinus officinalis* L. and Ocimum basilicum L. from Northeast of Algeria. African Journal of Microbiology Research, Vol. 7, No. 42, P. 4968-4973.

38-PIRBALOUTI, G.A.; AMIRKHOSRAVI, A.; BORDBAR, F.; HAMEDI, B. (2013). Diversity in the chemical composition of essential oils of Ziziphora tenuior as a potential source of pulegone. Chemija, Vol. 2, P. 234-239.

39-PIRBALOUTI, A.G.; MALEKPOOR, F.; ENTESHARI, S.; YOUSEFI, M.; MOMTAZ, H.; HAMEDI, B. (2010). Antibacterial Activity of Some Folklore Medicinal Plants Used by Bakhtiari Tribal in Southwest Iran. International Journal of Biology, Vol. 2, No. 2, P. 55-63.

40-PRUSINOWSKA, R. & SMIGIELSKI , K., B. 2014, Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (Lavandula angustifolia L). A review, Herba polonica, Vol. 60, NO. 2, 56-66.

41-RABELLO RF, SOU ZA CRV, DUARTE RS, LOPES RMM, TEIXERIA LM,CASTRO. (2005). ACD. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. J dairy Sci. Vol. 88, 3211 – 3219.

42-SINGH, G.K.; BOPANNA, B.D.; RINDHE, G. MOLECULAR characterization of *Staphylococcus aureus* - human pathogen from clinical samples by RAPD markers. Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci, Vol. 3, No. 2, 2014, P. 349-354.

43-SOMMAVILLA, V., D. HAIDACHER-GASSER, M. SGARBOSSA, AND C. ZIDORN. (2012). Seasonal variation in phenolics in leaves of *Celtis australis* (Cannabaceae). Biochem. Syst. Ecol.41:110–114.

44-SPITALER, R., S. GURSCHLER, E. ELLMERER, B. SCHUBERT, M.SGARBOSSA, AND C. ZIDORN. (2009). Flavonoids from *Celtis australis* (Cannabaceae). Biochem. Syst. Ecol. 37:120–121.

45-SHOWKAT AHMAD, RAJENDRA. SHARMA, SURABHI MAHAJAN, ANKUR GUPTA. (2012) . Antibacterial Activity Of Celtis Australis By Invitro Study. Internationale Pharmaceutica Sciencia**,** Vol. 3, P. 22-39.

46-SYTSMA, K. J., J. MORAWETZ, J. C. PIRES, M. NEPOKROEFF, E. CONTI, M. ZJHRA, ET AL. (2002). Urticalean rosids: circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on rbcL, trnL-F, and ndhF sequences. Am. J. Bot. 89:1531–1546.

47-TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Sciencia**,** Vol. 1, P. 98-106.

48-TAVASSOLI, S. and DJOMEH, Z.E. (2011). Total Phernols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary Rosmarinus officinalis L. Global Veterinaria, Vol.7, 337-341.

49-YAZDI, F. T.; MORTAZAVI, A.; KOOCHEKI, A.; AFSHARIAN, S. BEHBAHANI, B. A. (2013). Antimicrobial properties of plant extracts of Thymus vulgaris L., Ziziphora tenuior L. and Mentha Spicata L., against important foodborne pathogens in vitro. Scientific Journal of Microbiology, Vol. 2, No. 2, P. 23-30.

50-ZEHRMANN, N., C. ZIDORN, AND M. GANZERA. (2010). Analysis of rare flavonoid c-glycosides in *Celtis australis* L. by micellar electrokinetic chromatography. J. Pharm. Biomed. Anal. 51:1165–1168.

51-ZOHRA, M. and ATIK, F. (2011). Antibacterial activity of essential oils from Cistus ladaniferus L. and Lavandula stoechas L. International Journal of PharmTech Researc, Vol. 3, No.1, P.484-487.