دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلص نبات الشمرا Foeniculum Vulgare على العزلتين الجرثوميتين Bacillus cereus وKlebsiell pneumoniae

د.اميمة ناصر*

د.نزار معلا**

ديانا علي***

(تاريخ الإيداع 11/ 2/ 2021– تاريخ النشر 3/ 10/ 2021)

□ ملخّص □

تمت دراسة الفعالية الحيوية لمستخلصات أوراق نبات الشمرا *Foeniculum vulgare* المضادة لبعض أنواع الجراثيم الممرضة المعزولة من مختبر مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية .

جمعت عينة نبات الشمرا من منطقة الصنوبر في شهر حزيران لعام 2020، اعتمدت منها خلاصات كحولية (إيتانولية وأسيتونية)، وتم دراسة تأثير تلك الخلاصات على الجراثيم المعزولة من مخبر مشفى تشرين الجامعي باللاذقية خلال شهري تشرين الأول وتشرين الثاني، بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص. أظهرت النتائج تأثر العزلة الجرثومية A *(Bacillus cereus)* بالخلاصة الأسيتونية بقطر تثبيط (9.16) ملم عند التركيز 10 ملغ/مل و(10) ملم عند التركيز 20 ملغ/مل، بينما لم تبدي أي حساسية للخلاصة الإيتانولية، وتأثرت العزلة الجرثومية B (*klebsiella pneumonia*) بالخلاصة الأسيتونية بقطر تتثبيط (8.33) ملم عند التركيز 10 ملغ/مل و (8.66) ملم عند التركيز 20 ملغ/مل. ولم تؤثر الخلاصة الإيتانولية عند التركيزين (10−20)ملغ/مل على الجراثيم المعزولة *B.cereus* و *K.pneumoniae* .

أظهرت الخلاصة الأسيتونية فعالية أكبر من الخلاصة الإيتانولية عند التراكيز المستخدمة ذاتها تجاه الأنواع الجرثومية الممرضة المختبرة، وبذلك يمكن أن تكون مصدراً للصادات الحيوية الطبيعية في المستقبل بديلاً عن الصادات الكيميائية

الكلمات المفتاحية : نبات الشمرا Foeniculum Vulgare، خلاصة إيتانول، خلاصة أسيتون، Bacillus Cereus، Klebsiella pneumonia، طريقة الانتشار بواسطة الأقراص.

*استاذ مساعد،قسم الوقاية البيئية،المعهد العالي للبحوث البيئية،المعهد العالي للبحوث البيئية،جامعة تشرين،سوريا.

**مدرس،قسم المحاصيل الحقلية،كلية الزراعة، جامعة تشرين،سوريا.

***طالبة دراسات عليا(ماجستير)، قسم الوقاية البيئية،المعهد العالي للبحوث البيئية،المعهد العالي للبحوث البيئية،جامعة تشرين،سوريا

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (5) العدد (5) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (5) No. (5) 2021

Study the biological activity of *Foeniculum vulgare* extract on *Bacillus cesreus* and *Klebsiella pnumoniae*

Omaima Nasser*

Nizar maalla**

Diana ali***

(Received 11/2 /2021.Accepted 3/10/2021)

□ABSTRACT □

The biological activity of fennel leaf extracts Foeniculum vulgare against some types of pathogenic bacteria isolated from the laboratory of Tishreen University Hospital in .Lattakia was studied.

A sample of the fennel plant was collected from the pine region in June of the year 2020, from which alcoholic extracts (ethanol and acetone) were used, and the effect of these extracts on bacteria isolated from the laboratory of Tishreen University Hospital in Lattakia was studied during the months of October and November, by the method of dispersal by discs. The results showed that the bacterial isolate A Bacillus cereus was affected by the acetone extract with a diameter of inhibition of 9.16 mm at the concentration of 10 mg/ml and 10 mm at the concentration of 20 mg/ml, while it did not show any sensitivity to the ethanolic extract, and the bacterial isolate was affected by B klebsiella pneumonia)) The acetone extract has a inhibition diameter of (8.33) .mm at a concentration of 10 mg/ml and (8.66) mm at a concentration of 20 mg/ml

The ethanolic extract at concentrations (20-10) mg/ml did not affect B.cereus and .K.pneumoniae isolates

The acetone extract showed greater effectiveness than the ethanolic extract at the same concentrations used against the tested pathogenic bacterial species, and thus it could be .a source of natural antibiotics in the future instead of chemical ones

Key words: *Foeniculum vulgare*, ethanol extract, acetone extract, *Bacillus* Cereus, *Klebsiella pneumonia*, method of dispersal by tablets.

---

*Assistant professor–environmental protection department–higher institute of environmenta research ،university of tishreen–syria.

** Teacher–field crops department–faculty of agriculture– university of tishreen–syria.

***Masters graduate student–environmental protection department–higher institute of environmenta research university of tishreen–syria

مقدمة:

تعد الأمراض الجرثومية المعدية من الأسباب رئيسة التي تؤدي إلى زيادة معدل الوفيات في العالم (Madigan.,2015)، كما يعد العلاج الكيميائي المستند إلى إنتاج الصادات الحيوية اعتماداً على أحياء دقيقة هو الطريق الرئيس لعلاج هذه الأمراض (Cowan.,1999)، وفي الوقت الحاضر دفعت الآثار الجانبية المرتبطة بالسمية والحساسية والمقاومة التي طورتها الجراثيم تجاه الصادات الشائعة، بالإضافة إلى الكلفة المرتفعة الباحثون في أرجاء العالم للبحث عن أدوية جديدة لاستخدامها كبديل للعقاقير الكيميائية والصادات الحيوية في معالجة الأمراض(Abubakar.,2009)، كما أنه حسب مركز مراقبة وضبط الأمراض CDC ، يتم رصد ٢ مليون خمج سنوياً مكتسب من المستشفيات وهذا عائد للإفراط في استخدام الصادات الحيوية التي تؤدي لزيادة نسبة الجراثيم الممرضة المقاومة للعلاج بالصادات الحيوية

(Hiramatsu., 1997; Thomson & Bonomo., 2005; Rice., 2006; Appelbaum., 2007)

بدأ البحث عن المواد الفعالة المضادة للجراثيم من مصادر جديدة طبيعية من النباتات الطبية التي تنتج الكثير من المواد الفعالة الطبيعية، التي استخدمت منذ آلاف السنوات في الحياة اليومية في الطب الشعبي لمعالجة الأمراض في معظم أنحاء العالم

(Nair*et al.,* 2005; Tepsorn., 2009; Husein., 2010; Smadi & Hamed., 2011)

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 فعالة ضد الممرضات الحيوية البشرية المختلفة، وتعد مصادراً جديدة 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 تمنع أو تؤخر الأمراض الجرثومية Giweli *et al*., 2013; Lai *et al*., (2012).

حيث تنتج النباتات الطبية والعطرية الكثير من المواد الفعالة بيولوجياً التي تؤثر في الجراثيم، وتثبط نمو الممرضات الجرثومية المقاومة للعلاج بالصادات الحيوية (Oskay *et al*., 2009)، وقد احتلت النباتات الطبية حديثاً وخاصة العطرية منها مكانة مهمة في الإنتاج الزراعي والصناعي من حيث احتوائها على المواد الفعالة التي تدخل في تصنيع بعض الأدوية المهمة (السلامي، 2000) ، التي يتم الحصول عليها بواسطة الاستخلاص وهو عبارة عن 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) قادرة على إحداث نشاط فيزيولوجي واضح على جسم الإنسان ومنها:

polyphenols ,quinines , tannins ,coumarines ,flavonols ,flavone,flavonoids , terpenoids

, Phenols, essential oils ,alkaloids (Mohamedi and atik., 2011; Hassan *et al.*, 2009).

لأنها تعمل كمضادات للتشنج والسرطان والفطريات بالإضافة إلى خواصها كصادات جرثومية، مثبطة لأنواع جرثومية مختلفة، حيث تسلك سلوك الصادات الحيوية التجارية في قدرتها على إحداث خلل أو توقف لبعض المسارات الاستقلابية في الخلية الجرثومية

(الرجب,2010 ;2007 Kiarostami *et al*، Tiwari *et al.*, 2011)، وتنتشر النباتات العطرية في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط (Hassiotis and Lazari., 2010) وأهمها نبات الشمرا المنتشر في جنوب أوروبا ومنطقة البحر المتوسط، وكذلك في الساحل السوري.

ينتمي نبات الشمرا إلى الفصيلة الخيمية Apiaceae وهو نبات عشبي يمتلك أوراق خضراء ريشية مع أزهار صفراء، يصل نموها إلى ارتفاع 2.5 متر، والأوراق إلى 40 سم، والثمرة عبارة عن بذرة جافة يبلغ طولها (4–10) ميلي متر.

يعد نبات الشمرا نبات طبي وعطري يستخدم على نطاق واسع في الجهاز الهضمي وكمدر للبول وحالات الربو ومرض السكري، حيث يساعد على تخفيض مستوى الكوليسترول في الدم، القلق و الاكتئاب و تستخدم بذوره لتنقية الدم، وتحسين البصر، كما له تأثير مضاد للالتهابات.

أثبتت العديد من التجارب الدوائية قدرة نبات الشمرا على إظهار أنشطة مضادة للجراثيم والفطريات ومضاد أكسدة، كما يتم استخدام عجينة الأوراق في علاج قرحة الفم وآلام الكبد وأمراض الكلى، ويستخدم في حالة نزيف الجهاز التنفسي العلوي، ومضاد تخثر.(Kooti., 2015)

مواد البحث وطرائقه :

1. جمع عينات نبات الشمرا:

جمعت عينات نبات الشمرا من منطقة الصنوبر خلال شهر حزيران 2020، فصلت الأوراق الخضراء السليمة والأوراق المتوضعة على الأغصان، نظفت وغسلت مباشرة لإزالة المواد العالقة عليها، ثم جففت في الظل في درجة حرارة المختبر (20–23) درجة مئوية مدة تزيد عن 12 يوم كما هو موضح في الشكل(1)

.(Nair *et al.*, 2005)

الشكل(1): (A) نبات الشمرا *Foeniculum vulgare* في الحقل، (B) نبات الشمرا بعد التجفيف

2. تحضير مستخلصات أوراق نبات الشمرا :

- **المستخلصات العضوية :**

طحنت الأوراق الجافة لنبات الشمرا يدوياً حتى أصبحت بشكل مسحوق، نقع 10 غرام من مسحوق المادة النباتية في حوجلة سعة 500 مل وأضيف إليها 250 مل من المحلات العضوية الإيتانول والأسيتون كل على حدى لمدة 6 ساعات متواصلة على جهاز (سوكسيليه) بطريقة الاستخلاص المستمر، واستمرت عملية الاستخلاص إلى أن أصبح المذيب المستخدم الذي يخرج عديم اللون، ثم جففت الخلاصات بواسطة جهاز المبخر الدوار تحت ضغط منخفض للتخلص من المذيب العضوي بعد معايرة حرارة الجهاز إلى 37 درجة مئوية كما يظهر في الشكل().

لوحظ تشكل طبقة ثخينة من الخلاصة، حيث أخذت هذه الطبقة ووضعت في زجاجات معقمة محكمة الإغلاق، وجففت بالآزوت السائل لمنع حدوث عملية الأكسدة ضمنها، ثم حفظت في الثلاجة إلى حين استخدامها.

الشكل(2): (A) وضع الشمرا والمذيب العضوي في جهاز السوكسليه، (B) نقع الشمرا في حوجلة الجهاز

3. عزل الجراثيم الممرضة :

عزلت الجراثيم الممرضة من عينات مرضية مأخوذة من مختبر مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية.

استخدمت العديد من الأوساط المغذية لزراعة وتنقية الجراثيم من العينات المرضية مثل وسط Macconky Agar، Endo Agar، Eosin methylene blue ، وسط *Bacillus* Agar ، وسط الأغار المغذي والمرق المغذي. (Apha., 2000)

تم تصنيف الجراثيم المعزولة من العينات المرضية بعد إجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية اللازمة: (الأوكسيداز، الإندول، السترات، الحركة، اليوريا، الكاتالاز، إطلاق غاز كبريت الهيدروجين، إرجاع النترات، نزع الكربوكسيل من الحموض الأمينية، تحلل الجيلاتين والنشاء، أحمر الميتيل).

تم إجراء اختبار التحسس على الجراثيم المعزولة واختبرت مقاومتها تجاه صاد حيوي قياسي السيبروفلوكساسين (Ciprofloxacine) بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص، وحددت الحساسية والمقاومة لها وفقاً لمعايير (Nccls.,2004)

بعد قياس أقطار حلقات عدم النمو بواسطة مسطرة ميلمترية على وسط Mueller Hinton Agar (Bauer *et al*., 1966; Bauker and Kehoe., 1995).

4. اختبار فعالية المستخلصات الكحولية لأوراق نبات الشمرا تجاه الجراثيم الممرضة المعزولة:

أجري اختبار لمستخلصات أوراق نبات الشمرا تجاه بعض الجراثيم الممرضة المعزولة بطريقة الانتشار بوساطة الأقراص.

أذيبت المستخلصات العضوية الجافة في محلول ثنائي ميتيل السلفوكسيد (DMSO) بتراكيز مختلفة لكل مذيب، حيث أذيبت الخلاصة الإيتانولية بتركيزين (10–20) ملغ/مل، وأذيبت الخلاصة الأسيتونية بتركيزين (10–20) ملغ/مل، ثم شربت أقراص ترشيح قطرها 6 ملم بمقدار 20 ميكرومتر، وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر (23–25) درجة مئوية، وقد تم استخدام أقراص ترشيح مشربة للمستخلصات العضوية.

حضر معلق جرثومي لكل نوع من الجراثيم الممرضة المعزولة، وذلك بأخذ مسحة جرثومية من Nutrient agar عمرها 24 ساعة وتم نقلها إلى وسط Nutrient Broth، وضعها بالحاضنة بعد مرور 24 ساعة تم نقل 0.5 مل من الوسط السائل، وفرشت فوق سطح Mueller Hinton agar بماسحة قطنية، حيث بعد 15 دقيقة وزعت الأقراص المشربة بالمستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي بملقط معقم، وحضنت الأطباق في الحاضنة على الدرجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.

تم تسجيل أقطار التثبيط (منطقة منع النمو) بعد انتهاء الحضن باستخدام مسطرة ميلمترية، ونُفذت كل تجربة بواقع ثلاث مكررات .

النتائج والمناقشة:

a) نتائج عزل وتوصيف الجراثيم المختبرة المعزولة:

عزلت الجراثيم وتم الكشف عن هويتها اعتماداً على خصائص النمو في الأوساط المغذية الانتقائية والنوعية مثل الأغار المغذي، Macconky Agar ، وسط *Bacillus* Agar و العزل الانتقائي بزراعة الجراثيم على الأوساط الانتقائية كوسط EMB ووسط (Macconky Agar،*Bacillus* Agar) ، حيث حققت العزلة الجرثومية A والعزلة الجرثومية B نمو واضح على الأوساط المستخدمة، والتلوين والفحص المجهري الذي حدد:

العزلة الجرثومية A : هي عصيات موجبة غرام

العزلة الجرثومية B : هي عصيات سالبة غرام، كما يبدو في الجدول رقم(1)

الجدول(1): اختبار نمو العزلات الجرثومية على الأوساط الزرعية

رقم العينة	النمو على وسط **EMB**	النمو على وسط **MSA**	النمو على وسط **SS**	النمو على وسط **Macconkey**	النمو على وسط **LB**	شكل المستعمرات	تلوين غرام
B	+	-	+	+	كبيرة مخاطية	عصيات	-
A	-	**Pink**	-	-	كبيرة جافة	عصيات	+

وتبعاً لمعطيات اختبارات تخمير السكريات على الصفيحة حيث حضنت بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24ساعة وتمت مراقبة النتائج للتأكد من عملية التخمير، الجدول(2) والجدول (3)

الجدول (2): نتائج الاختبارات البيوكيمائية للعزلة الجرثومية B

Motility	-	VP	+	Indole	-	Maltose	+
Pigment	-	Acetate	+	Arabinose	+	Mannitol	+
Oxidase	-	Citrate	+	Cellobiose	+	Mannose	+
Catalase	+	Tartrate	+	Dulcitol	-	Raffinose	+
Arginine	-	Esculine	+	Glycerol	+	Sorbitol	+
Ornithine	-	Gelatine	-	Glucose	+	Sucrose	+
Nitrate	+	Urea	+	Inositol	+	Trehalose	+
MR	+	P.alanine	-	Lactose	+	Xylose	+
Klebsiella pneumonia							

الجدول(3): نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية A

Gram-positive staining	+	Catalase	+	VP	+	Mannitol	-
Motility	+	Oxidase	-	Arabinose	-	Mannose	
Growth on usual media	+	Urea	+	Cellobiose	+	Maltose	+
Hemolysis	+	Arginine	+	Fructose	+	Raffinose	-
Anaerobic growth	+	Ornithine	-	Glucose	+	Sorbitol	-
Esculin	+	Indole	-	Glycerol	+	Sucrose	+
Gelatin	+	Citrate	+	Inositol	-	Trehalose	+
Starch	+	Nitrate	+	Lactose	-	Xylose	-
Bacillus cereus							

لقد بينت النتائج التي أجريت للعزلات الجرثومية المدروسة في كل من الجداول (3,2,1) اعتماداً على الاختبارات البيوكيميائية وتخمير السكريات والتلوين بغرام أن العزلتين الجرثوميتين هما :

العزلة الجرثومية A : *Bacillus cereus* جراثيم عصوية موجبة غرام

والعزلة الجرثومية B : *Klebsiella pneumonia* جراثيم عصوية سالبة غرام

b) نتائج فعالية المستخلصات الكحولية لأوراق نبات الشمرا تجاه العزلات الجرثومية

***Klebsiella pneumonia* و *Bacillus cereus* :**

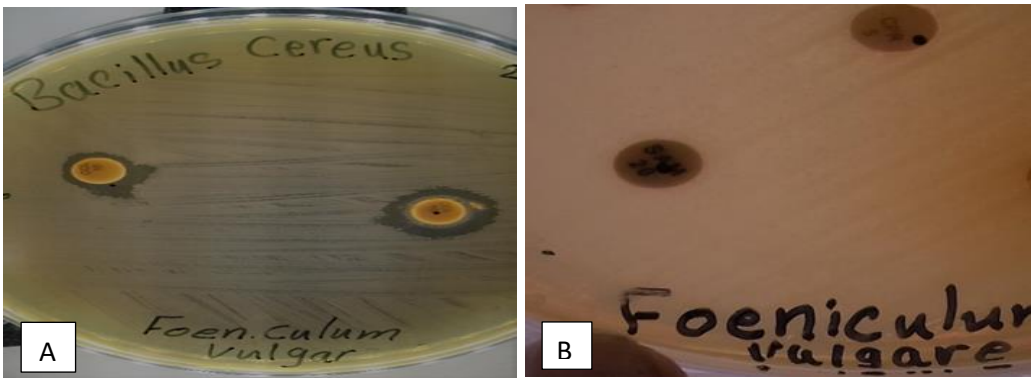
بينت النتائج في الشكل (3) حدوث تأثير تثبيطي للخلاصة الأسيتونية بتركيز (10−20)ملغ/مل لنبات الشمرا تجاه العزلتين الجرثوميتين المختبرتين، إذ بلغ متوسط قطر هالة تثبيط الخلاصة الأسيتونية على جراثيم *B.cereus* (9.16)ملم عند التركيز 10ملغ/مل بينما بلغ متوسط قطر هالة التثبيط لنفس الخلاصة (10) ملم عند التركيز 20 ملغ/مل وهي أكبر من متوسط قطر تثبيط الخلاصة الأسيتونية على جراثيم *K. pneumonia* عند التركيز ذاته حيث بلغ قطر التثبيط 8.33 ملم عند التركيز 10 ملغ/مل، بينما بلغ قطر هالة التثبيط 8,66 ملم عند التركيز 20ملغ/مل، وذلك بعد مرور 24 ساعة على الحضن ، كما في الشكل().

وعلى العكس في نفس الشكل(3) بينت النتائج عدم حدوث تأثير تثبيطي للخلاصة الإيتانولية عند نفس التراكيز (10_20) ملغ/مل أي أن الجراثيم المختبرة كانت مقاومة للخلاصة الإيتانولية، وقد يفسر ذلك بسبب التراكيز المنخفضة من هذه الخلاصة، واختلاف المركبات الفعالة في الخلاصة النباتية الناتجة عن الاستخلاص بالمذيب العضوي الإيتانول (AL−Hadid., 2017).

لقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع نتائج (Anita Dua *et al.,* 2013) من حيث تثبيط الخلاصة الأسيتونية لنبات الشمرا لنمو جراثيم *B. cereus* عند التركيز 30 ملغ/مل بقطر تثبيط 29 ملم، وفي هذه الدراسة تم تثبيط *B.cereus* عند التركيز 10ملغ/مل بقطر تثبيط 9.16 ملم، حيث نجد أن فعالية الخلاصة الأسيتونية لنبات الشمرا المضاد للجراثيم قد تعزى إلى وجود المستقلبات الثانوية القلوئيدات والفلافونيدات والتانينات بحسب دراسة (Daljit s Arora.,2009) التي أكدت فيها على وجود هذه المركبات في الخلاصة الأسيتونية لهذا النبات.

توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Ritu Mahajan.,2013) من ناحية تثبيط النمو لجراثيم *B. cereus* وذلك بقطر تثبيط 9 ملم عند التركيز 10 ملغ/مل وفي هذه الدراسة بلغ قطر التثبيط 9.16 ملم عند التركيز 10 ملغ/مل، وقد يعزى ذلك لطبيعة المادة الفعالة في النبات، واختلاف مناطق جمع العينة النباتية وتاريخ جمعها وتربة المنطقة وتأثير العوامل البيئية المختلفة.

إن الخلاصة الأسيتونية لأوراق نبات الشمرا ذات فعالية أكبر من الخلاصة الإيتانولية على الجراثيم ذاتها المختبرة وبنفس التراكيز، وقد يعزى ذلك إلى نوع المواد الفعالة المستخلصة من كل عينة بالنسبة للمذيبين خلال عملية الاستخلاص، مع العلم أن قطبية الإيتانول أعلى من قطبية الأسيتون إلا أن التراكيز المنخفضة من الخلاصة الإيتانولية لم تبدي نتيجة إيجابية .(Arora., 2009).



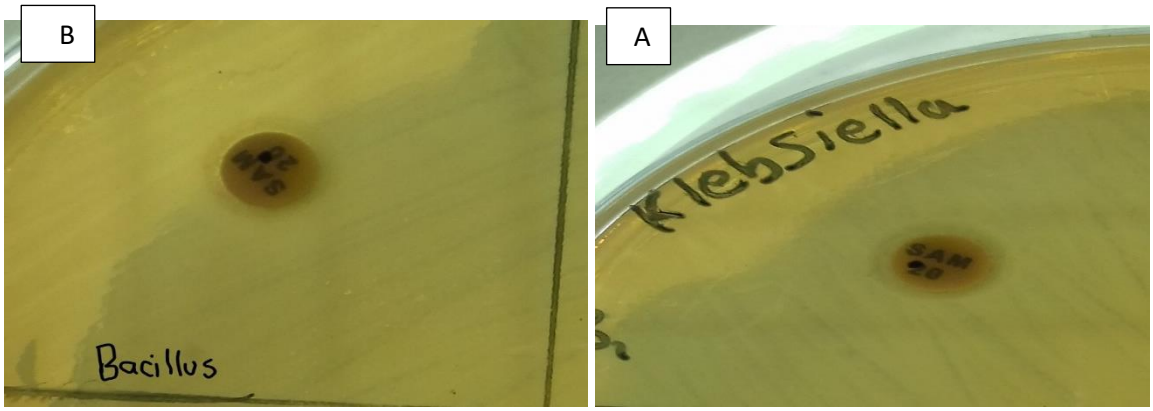
الشكل (3) :(A) حلقات تثبيط النمو لجراثيم *B.cereus* بتأثير الخلاصة الأسيتونية

(B) عدم حدوث تثبيط لنمو جراثيم *K.pneumonia* بواسطة الخلاصة الإيتانولية

c) نتائج تحسس الجراثيم الممرضة المختبرة للصاد الحيوي Ciprofloxacine:

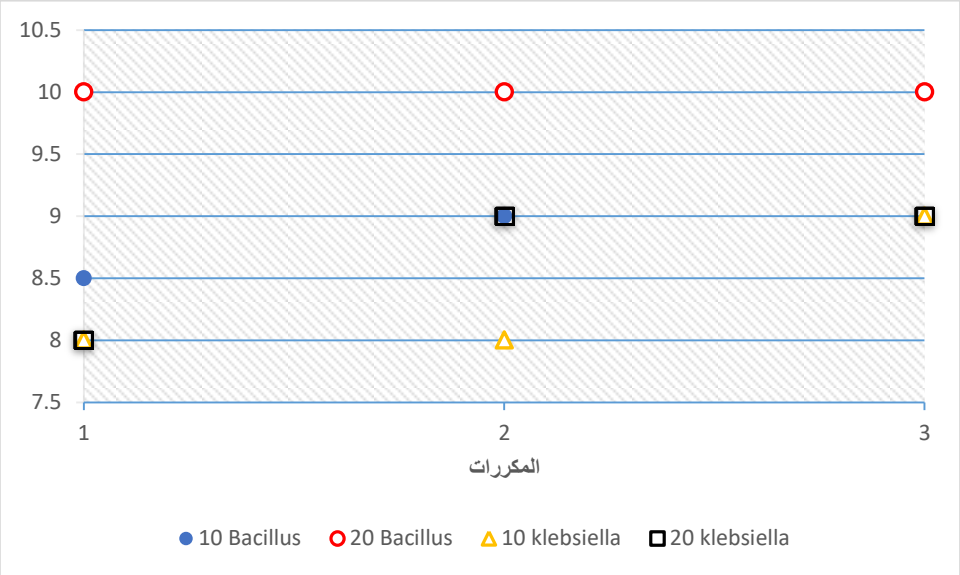
اختبرت حساسية الجراثيم *K.pneumonia* و *B.cereus* تجاه الصاد الحيوي CIP (كشاهد إيجابي) والمستخدم لعلاج الإنتانات الناجمة عن هذه الأنواع في الإنسان وذلك لمقارنة فعالية الخلاصات مع فعالية هذا الصاد ولإظهار فعالية نبات الشمرا الطبي تجاه هذه الجراثيم، إذ بلغ قطر حلقة تثبيط CIP لجراثيم *B.*cereus القيمة 7 ملم، وكانت النتيجة متقاربة من قطر حلقة تثبيط الصاد ذاته لجراثيم *K.pneumonia* والذي بلغ القيمة 7.5ملم، كما يظهر ذلك التأثير في الشكل رقم(4).

بينت النتائج أن فعالية مستخلص نبات الشمرا تجاه الجرثومين المختبرين أكبر من فعالية الصاد الحيوي المدروس، وبذلك يكون مستخلص الشمرا تفوق على الصاد الحيوي CIP (kaur., 2009).



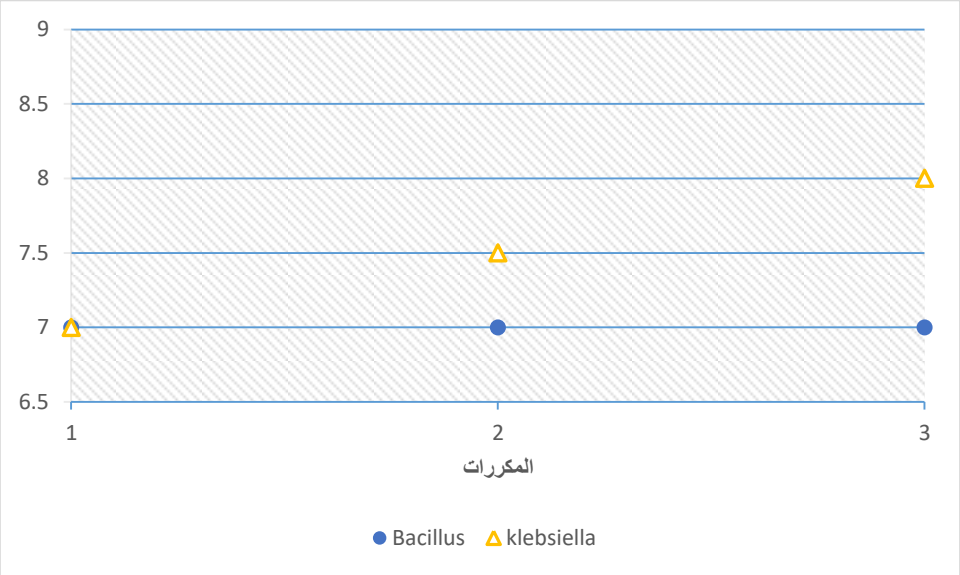
الشكل (4) : (A) تأثير الصاد الحيوي على جراثيم *K.pneumoniae* (B) تأثير الصاد الحيوي على جراثيم *B.cereus*

- **يبين الشكل التالي التراكيز لكلا السلالتين الجرثوميتين *Bacillus cereus* و *klebsiella pneumoniae* والمكررات الناتجة بعد 24 ساعة:**



الشكل (5): تراكيز العزلات الجرثومية والمكررات الناتجة بعد 24 ساعة

- **يبين الشكل التالي المكررات الناتجة بعد ٢٤ ساعة باستخدام الصاد الحيوي (cip) للسلالتين الجرثوميتين Bacillus cereus و klebsiella pneumoniae**



الشكل(6): مكررات الصاد الحيوي على العزلات الجرثومية

التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS

أولاً: استخدام تحليل T-TEST عند مقارنة كل تركيزين لنفس العزلة الجرثومية معاً:

تم استخدام تحليل T-TEST بسبب وجود مجموعتين (تركيزين) فقط نريد المقارنة بينهما لكل عزلة جرثومية.

1) المقارنة بين التراكيز بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلة الجرثومية Bacillus cereus:

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	20 Bacillus	10.0000	3	.00000	.00000
	10 Bacillus	9.1667	3	.76376	.44096

الشكل(7):المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للعزلة الجرثومية Bacillus

Paired Samples Test

		Paired Differences					T	Df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	20 Bacillus -10 Bacillus	.83333	.76376	.44096	-1.06396-	2.73062	1.890	2	.199

الشكل(8):اختبار T-test للعزلة الجرثومية Bacillus بعد 24 ساعة

يبين الجدول الأول أنّ قيمة المتوسط الحسابي للتركيز 20ملغ/مل بلغت (10) ملم، وبلغت قيمة المتوسط الحسابي للتركيز 10ملغ/مل (9.16)ملم، كما يبين الجدول الثاني أنّ قيمة احتمال الدلالة Sig.=0.199 وهي أكبر من مستوى الدلالة 0.05، وبالتالي لا يوجد فرق دال إحصائياً بين التركيزين بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلة الجرثومية *Bacillus cereus*.

2) المقارنة بين التراكيز بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلة الجرثومية *klebsiella pneumoniae*

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	20 klebsiella	8.6667	3	.57735	.33333
	10 klebsiella	8.3333	3	.57735	.33333

الشكل(9): المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للعزلة الجرثومية *Klebsiella*

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	Df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	20 klebsiella – 10 klebsiella	.33333	.57735	.33333	-1.10088-	1.76755	1.000	2	.423

الشكل(10): اختبار T-test للعزلة *Klebsiella* بعد 24 ساعة

يبين الجدول الأول أنّ قيمة المتوسط الحسابي للتركيز 20ملغ/مل بلغت (8.66)ملم، وبلغت قيمة المتوسط الحسابي للتركيز 10ملغ/مل (8.33)ملم، كما يبين الجدول الثاني أنّ قيمة احتمال الدلالة Sig.=0.423 وهي أكبر من مستوى الدلالة 0.05، وبالتالي لا يوجد فرق دال إحصائياً بين التركيزين بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلة الجرثومية *klebsiella pneumoniae*.

ثانياً: استخدام تحليل ANOVA :

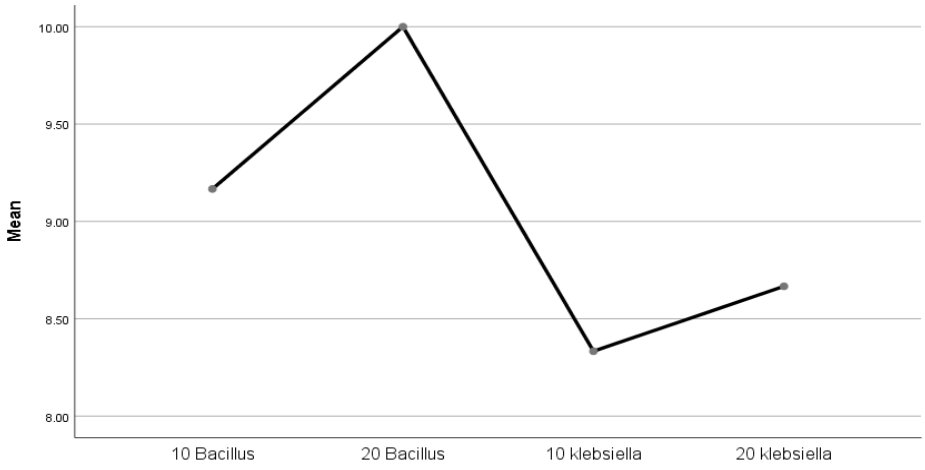
تم استخدام تحليل ANOVA بسبب وجود ثلاث مجموعات أو أكثر نريد المقارنة فيما بينها.

٣) استخدام تحليل ANOVA للمقارنة بين التراكيز بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلتين الجرثوميتين

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
10 Bacillus	3	9.1667	.76376	.44096
20 Bacillus	3	10.0000	.00000	.00000
10 klebsiella	3	8.3333	.57735	.33333
20 klebsiella	3	8.6667	.57735	.33333
Total	12	9.0417	.81068	.23402

الشكل(11):المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للعزلتين الجرثوميتين



الشكل(12): مخطط بياني يوضح متوسطات أقطار تثبيط النمو للعزلتين الجرثوميتين

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.729	3	1.576	5.044	.030
Within Groups	2.500	8	.312		
Total	7.229	11			

الشكل(13): اختبار anova للعزلتين الجرثوميتين بعد 24 ساعة

Multiple Comparisons

	(I) Groups	(J) Groups	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
LSD	10 Bacillus	20 Bacillus	-.83333-	.45644	.105
		10 klebsiella	.83333	.45644	.105
		20 klebsiella	.50000	.45644	.305
	20 Bacillus	10 Bacillus	.83333	.45644	.105
		10 klebsiella	1.66667*	.45644	.006
		20 klebsiella	1.33333*	.45644	.019
	10 klebsiella	10 Bacillus	-.83333-	.45644	.105
		20 Bacillus	-1.66667-*	.45644	.006
		20 klebsiella	-.33333-	.45644	.486
	20 klebsiella	10 Bacillus	-.50000-	.45644	.305
		20 Bacillus	-1.33333-*	.45644	.019
		10 klebsiella	.33333	.45644	.486

الشكل (14): اختبار المقارنات المتعددة للعزلتين الجرثوميتين وعند التركيزين (20,10)ملغ/مل

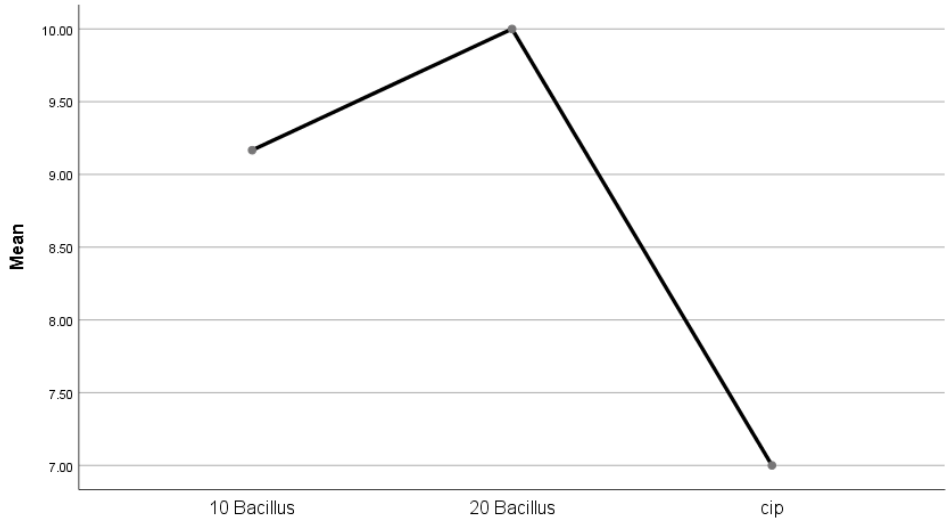
يبين جدول اختبار ANOVA أنّ قيمة احتمال الدلالة Sig.=0.030 وهي أصغر من مستوى الدلالة 0.05، وبالتالي يوجد فرق دال إحصائياً بين التراكيز (20,10) ملغ/مل للعزلتين الجرثوميتين بعد 24 ساعة. وبعد تطبيق اختبار LSD فإن الفروق الدالة هي بسبب الفرق بين التركيزين 10ملغ/مل للعزلة *Bacillus* و10 ملغ/مل للعزلة *klebsiella*، والتركيزين 20ملغ/مل للعزلة *Bacillus* و20ملغ/مل للعزلة *klebsiella*.

4) المقارنة بين التراكيز بعد 24 ساعة بالنسبة للعزلة الجرثومية *Bacillus cereus* والصاد الحيوي (cip)

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
10 Bacillus	3	9.1667	.76376	.44096
20 Bacillus	3	10.0000	.00000	.00000
Cip	3	7.0000	.00000	.00000
Total	9	8.7222	1.39443	.46481

الشكل(15): المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للعزلة *Bacillus*



الشكل(16): مخطط بياني يوضح متوسطات أقطار تثبيط النمو للعزلة الجرثومية *Bacillus* بعد 24 ساعة

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.389	2	7.194	37.000	.000
Within Groups	1.167	6	.194		
Total	15.556	8			

الشكل(17): اختبار anova للعزلتين الجرثوميتين بعد24 ساعة

Multiple Comparisons

LSD

(I) Groups	(J) Groups	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
10 Bacillus	20 Bacillus	-.83333-	.36004	.060
	Cip	2.16667*	.36004	.001
20 Bacillus	10 Bacillus	.83333	.36004	.060
	Cip	3.00000*	.36004	.000
Cip	10 Bacillus	-2.16667-*	.36004	.001
	20 Bacillus	-3.00000-*	.36004	.000

الشكل (18): اختبار المقارنات المتعددة للعزلة *Bacillus* والصاد الحيوي cip عند التركيزين (20,10)ملغ/مل

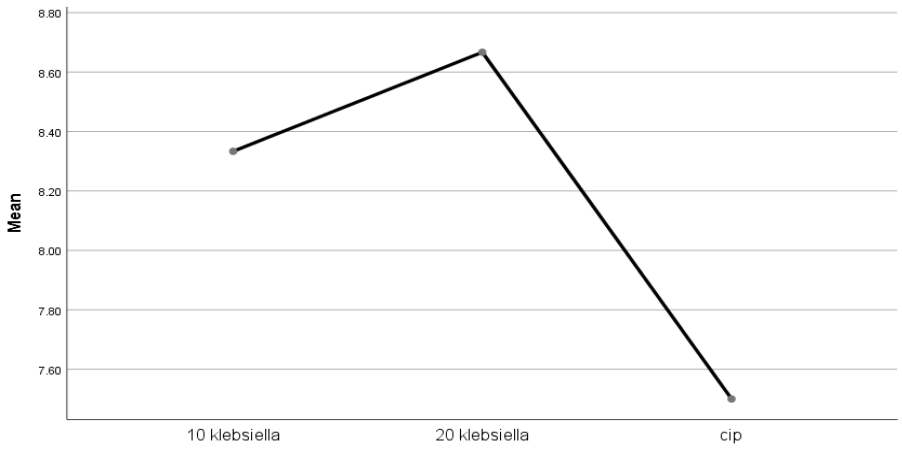
يبين جدول اختبار ANOVA أنّ قيمة احتمال الدلالة Sig.=0.000 وهي أصغر من مستوى الدلالة 0.05، وبالتالي يوجد فرق دال إحصائياً بين التراكيز (20,10) ملغ/مل للعزلة الجرثومية *Bacillus cereus* بعد 24 ساعة. وبعد تطبيق اختبار LSD فإن الفروق الدالة هي بسبب الفرق بين التركيز 10ملغ/مل للعزلة *Bacillus* والصاد الحيوي (cip)، والتركيز 20ملغ/مل للعزلة *Bacillus* والصاد الحيوي (cip).

5) المقارنة بين التراكيز بعد 24 ساعة بالنسبة للسلالة الجرثومية *klebsiella pneumoniae* والصاد الحيوي (cip)

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
10 klebsiella	3	8.3333	.57735	.33333
20 klebsiella	3	8.6667	.57735	.33333
Cip	3	7.5000	.50000	.28868
Total	9	8.1667	.70711	.23570

الشكل(19): المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للعزلة *Klebsiella*



الشكل(20): مخطط بياني يوضح متوسطات أقطار تثبيط النمو للعزلة *Klebsiella* والصاد الحيوي عند التركيزين (20,10) ملغ/مل

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.167	2	1.083	3.545	.096
Within Groups	1.833	6	.306		
Total	4.000	8			

الشكل(21): اختبار anova للعزلتين الجرثوميتين بعد 24 ساعة

Multiple Comparisons

LSD

(I) Groups	(J) Groups	Mean Difference (I−J)	Std. Error	Sig.
10 klebsiella	20 klebsiella	−.33333−	.45134	.488
	cip	.83333	.45134	.114
20 klebsiella	10 klebsiella	.33333	.45134	.488
	cip	1.16667*	.45134	.041
Cip	10 klebsiella	−.83333−	.45134	.114
	20 klebsiella	−1.16667−*	.45134	.041

الشكل (22): اختبار المقارنات المتعددة للعزلة *klebsiella* والصاد الحيوي cip عند التركيزين (20,10)ملغ/مل

يبين جدول اختبار ANOVA أنّ قيمة احتمال الدلالة Sig.=0.096 وهي أكبر من مستوى الدلالة 0.05 ، وبالتالي لا يوجد فرق دال إحصائياً بين التراكيز (20,10)ملغ/مل للعزلة الجرثومية *Bacillus cereus* بعد 24 ساعة.

ولكن بعد تطبيق اختبار LSD وجدنا فرق دال إحصائياً بين التركيز 20ملغ/مل للعزلة *klebsiella* والصاد الحيوي (cip).

الاستنتاجات :

a) تم عزل وتنميط الجراثيم *Klebsiella pneumonia* و *Bacillus cereus* من العينات المرضية المختبرة في مستشفى تشرين الجامعي نتيجة عمليات الزرع والتلوين والاختبارات البيوكيميائية.

b) أظهر التركيز 20 ملغ/مل للخلاصة الأسيتونية لنبات الشمرا *F.vulgare* فعالية تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة *Klebsiella pneumonia* و *Bacillus* cereus بينما لم يكن للخلاصة الإيتانولية فعالية مضادة لهذه الجراثيم المعزولة.

c) أظهر المستخلص الأسيتوني لأوراق الشمرا فعالية أكبر من فعالية الصاد الحيوي السيبروفلوكساسين على العزلة الجرثومية *k.pneumoniae* عند التركيز 20 ملغ/مل بقطر تثبيط 8.66 ملم .

التوصيات :

a) دراسة تأثير كل مركب بمفرده من المستخلص النباتي لنبات الشمرا تجاه الجراثيم الممرضة لتحديد المادة الفعالة .

b) دراسة التأثير المحتمل لهذه النباتات في الأنواع الجرثومية الأخرى وبشكل خاص تلك المقاومة للصادات الحيوية.

c) دراسة تأثير العوامل البيئية والتغيرات الفصلية على محتوى النبات من المركبات الفعالة طبياً وتحديد الظروف المثلى لتحقيق أعلى مردود .

المراجع :

Sattley,*Matthew and Madigan,Michael*.(2015).Microbiology.DOI**.**

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

Abubakar, E. M. M. (2009). *Antibacterial activity of crude extracts of Euphorbia hirta against some bacteria associated with enteric infections*. Journal of Medicinal Plants Research, 3(7), 498-505.

Hiramatsu K. Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycinJapan. (1996). Am. J. Infect. Control, Vol. 25, 1997, p. 405-408.

Thomson J. M. and Bonomo R. A. (2005). The *threat of antibiotic resistance in Gram negative pathogenic bacteria:* -lactams in peril J. mib. Vol. 8, , p. 518-524.

Rice L. B. *Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. Am*. J. infect. control, Vol. 34, N°. 5. (2006), p. 11-19.

Appelbaum P. C. (2007). Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). International Journal of Antimicrobial Agents, Vol. 30, p. 398-408.

Nair R.; Kalariya T.; Chanda S. *Antibacterial Activity of Some Selected Indian Medicinal Flora. Turk.* J. Biol. Vol. 29, (2005), 41-47.

APHA, AWWA and WEF, 2000. *Standard Methods for Examination of water and wastewater.* 20th edition. American public health association, inc, Baltimore, m.d.USA.

Bauer, Kirby, Sherris, Turck.(1966). *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. American journal of clinical pathology, 45-4, 493-496.

Barker, G. A.; Kehoe, E., 1995. *Assessment of disc diffusion methods for susceptibility testing of Aeromonas salmonicida*. Aquaculture, Vol. 134, P. 1-8.

Tepsorn R. (2009). *Antimicrobial Activity of Thai Traditional Medicinal Plants Extract Incorporated Alginate-Tapioca Starch Based Edible Films against Food Related Bacteria Including Foodborne Pathogens*. Phd thesis. University of Hohenheim, Thailand, 1-370.

Husein A. I. A. *Modification of Biologically Active Compounds from Selected Medicinal Plants in Palestine. Thesis for Ph.D*. Degree. An-Najah National University, Nablus, Palestine. (2010), pp. 1-149.

Smadi I. D. and Hamed O. (2011). *Studies Toward Isolation and Identification of Bioactive Substances From Medicinal Plants.* Degree of Master of Science in Chemistry, Faculty of Graduate Studies, An- Najah National University, Palestine.

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.

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 Researc*h, Vol.6, No.12, P.2381-2387.

Oskay M; Oskay D. and Kalyoncu F. *Activity of Some Plant Extracts Against Multi-Drug Resistant Human Pathogens*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. Vol. 8, N°. 4, (2009). pp. 293-300.

السلامي، نبراس يحيى عبد الله. (2000). *دراسة تأثير مستخلصات نباتي الآس Myrtus communis L. والثوم Allium sativum في بكتريا Pseudomonas aeruginosa خارج وداخل الجسم الحي*. رسالة ماجستير، جامعة الكوفة، 2000,106 .

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.

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.

Hassan.A. Rahman, S., Deeba, F.; Mahmud, S. (2009). *Antimicrobial Activity of some Plant Extracts having Hepatoprotective Effects. Journal of Medicinal Plants Researc*h, Vol.3, No.1, P.20-23.

الرجب، أشواق ك؛ طالب، حميد. (2007). *تأثير بعض مستخلصات زهرة البابونج Anthemis nobilis على بعض الممرضات البكتيرية الجلدية في الإنسان* ، مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة، المجلد 2، العدد الأول، 1-8.

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.

Hassiotis C. N. and Lazari D. M. (2010). Decomposition process in the Mediterranean region. Chemical compounds and essential oil degradation from *Myrtus communis*. International Biodeterioration & Biodegradation, journal homepage: www.elsevier.com/locate/ibiod, pp. 1-7.

Kooti W, Moradi M, Ali-akbari S, Sharafi-ahvazi N, Asadisamani M, Mill F. *Therapeutic and pharmacological potential of Foeniculum vulgare Mill* : a review. J HerbMed Pharmacol. 2015;4(1):1–9.

NCCLS. (2004). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Fourteenth informational supplement*. Vol. 24, No. 1.

AL_Hadid, Khaldoun. (2017). Quantitatative analysis of antimicrobial activity of *Foeniculum Vulgare*. POJ(Plant Omics Journal) ,10(1), 28_36.

Dua, Anita and Gary, Gaurav and Mahajan, Ritu.(2013).Polyphenols, flavonoids and antimicrobial properties of methanolic extract of fennel (*Foeniculum Vulgare* Miller).European Journal of Experimental Biology, 3(4),203_208.

Kaur,Gurinder and Arora,Daljit.(2009).*Antibacterial and phytochemical screening of Anethum graveolens,Foeniculum Vulgare and trachyspermum ammi*. BMC complementary and Alternative medicine 9(30),1472_6882.

Dua, Anita and Gary, Gaurav and Mahajan, Ritu.(2013).Polyphenols, flavonoids and antimicrobial properties of methanolic extract of fennel *(Foeniculum Vulgare Miller*).European Journal of Experimental Biology, 3(4),203_208.