مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٨) العدد (١) ٢٠٢٤

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (8) No. (1) 2024

دراسة فعالية المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *Plantago major* في تثبيط نمو بعض الجراثيم الجلدية الممرضة للإنسان

أميمة ناصر [*]

عماد الحداد [**]

باسل الأعرج [***]

(تاريخ الإيداع ٤/١٢/ ٢٠٢٣ – تاريخ النشر٢٣/٢/ ٢٠٢٤)

□ ملخّص □

تمّت دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *Plantago major* بعد الاستخلاص بوساطة Soxhlet في تثبيط نمو ثلاث عزلات جرثومية مأخوذة من مسحات جلدية في مستشفى تشرين الجامعي في اللاذقية، وذلك بالاعتماد على قياس التركيز المثبط الأصغري Minimum Inhibitory Concentration (MIC)، والتركيز الأصغري القاتل للجراثيم Minimum Bactericidal Concentration (MBC).

بينت النتائج تساوي قيم MBC مع قيم MIC للمستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* ضد جميع الجراثيم الجلدية المعزولة، حيث بلغت قيمة MBC ضد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* 90 mg/ml، وضد جراثيم الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*، وضد جراثيم المكورات العقدية القيحية *Streptococcus pyogenes* 60 mg/ml.

وبينت الدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات أقطار هالة التثبيط للمستخلص الأسيتوني عند تطبيق المستخلص بتراكيز مختلفة، وسجلت أعلى قيمة هالة تثبيط ضد جراثيم *Stre.pyogens*، وأقل قطر هالة تثبيط ضد جراثيم *P.aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية: جراثيم جلدية، المستخلص الأسيتوني ,*Plantago major*, Soxhlet, MBC, MIC

[*]أستاذ – المعهد العالي لبحوث البيئة، قسم الوقاية البيئية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

[**]أستاذ – كلية الصيدلة، جامعة البعث، حمص، سورية.

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٨) العدد (١) ٢٠٢٤

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (8) No. (1) 2024

Effectiveness evaluation of acetone extract of *Plantago major* leaves in inhibiting the growth of some human skin bacterial pathogens

Omiema Nasser[*]
Imad Alhaddad[**]
Bassel Alaaraj[***]

(Received 4/12/2023.Accepted 23/2/2024)

□ABSTRACT □

Study of the antibacterial activity of *Plantago major* leaves after extraction with Soxhlet in inhibiting the growth of three bacterial isolates taken from a skin swab at Tishreen University Hospital in Lattakia. MIC and MBC were measured. The results showed that the MBC values were equal to the MIC values for the acetone extract of *P.major* leaves against all isolated skin bacteria, where the MBC was 90 mg/ml for *Staphylococcus aureus*, and it was 60 mg/ml against *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pyogenes*.

The study showed that there were statistically significant differences between the average diameters of the inhibition zone of the acetone extract when the extract was applied at different concentrations. The highest value of the inhibition zone was recorded against *Stre.pyogens* and the lowest diameter of the inhibition zone was recorded against *P.aeruginosa*.

Keywords: Acetone extract, MBC, MIC, *Plantago major*, Skin bacteria, Soxhlet.

[*]Professor, Higher Institute for Environmental Research, Department of Environment Prevention, Tishreen University, Latakia, Syria.

**Professor, Faculty of Pharmacy, Albaath University, Homs, Syria.

***Postgraduate Student, Higher Institute for Environmental Research, Department of Environment Prevention, Tishreen University, Latakia, Syria.

المقدمة:

ينتمي لسان الحمل الكبير *Plantago major* إلى عائلة Plantaginaceae، وهو نبات معمر يصل ارتفاعه إلى ١٥ سم، حسب مناطق النمو والتوزع الجغرافي، أوراقه بيضوية الشكل ذات عروق طولية متوازية عددها (٥-٩)، عارية ذات حواف مسننة غير منتظمة، الأزهار صغيرة الحجم، خضراء إلى بنية اللون، تتوضع على أشواك طويلة غير متشعبة (Fægri, 1970; Fitter, 1977) ، أظهرت الأبحاث أن أول انتشار له في شمال أوروبا كان بالتوازي مع انتشار الزراعات البدائية في العصر الحجري منذ ما يقرب من ٤٠٠٠ عام (Jonsson, 1983)، ثم انتشر من أوروبا إلى جميع أنحاء العالم.

وصفه الطبيب اليوناني ديوسقوريدس منذ القرن الأول في كتابه "المواد الطبية"، كما استخدمت أوراقه لعلاج عضات الكلاب (Roca, 1972)، وتبيّن أن خلطه مع العسل يساعد في علاج الجروح، كتب عنه الدنماركي Henrik Harpestreng أنه يشفي كل شيء ممزق (Nielsen, 1969)، وصف أيضا *P.major* في كتاب "Flora Danica" بقلم سيمون باولي عام ١٦٤٨ كعلاج فعال للغاية في شفاء الجروح، وفي ذلك الوقت كان استخدامه شائعاً جداً حتى عند الأطفال حيث يتم نزع عروق الأوراق، ثم يطبق على الجرح صباحاً ومساءً، وكان يكفي تطبيق العصارة لعلاج الجروح السطحية (Brøndegaard, 1987)، شاع استخدامه أيضاً زمن شكسبير وذكره في مسرحيته الشهيرة روميو وجولييت.

دفعت خواصه المضادة للالتهاب والقاتلة للجراثيم (Najafian *et al.*, 2018)، العديد من الباحثين لبحث وتقييم تأثيره المضاد للجراثيم (Adom *et al.*, 2017)، حيث تملك المستخلصات المختلفة للأجزاء الهوائية لنبات *P.major* فعالية واضحة مضادة للجراثيم (Velasco *et al.*, 2006)، فكان لعديد السكاريد البكتين المعزول من أوراق النبات تأثير ضد *Streptococcus pneumoniae* (Hetland *et al.*, 2000) ، وفي دراسة أجريت في تركيا تبيّن أن للمستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* فاعلية ضد مجموعات مختلفة من الجراثيم (Özkan *et al.*, 2012).

يعد الجلد جزءاً لا يتجزأ من جهاز المناعة، فهو خط الدفاع الأول ضد الجراثيم الجلدية، لذلك فإن أحد أكثر الأسباب شيوعاً لعدوى الجلد والأنسجة الرخوة ينطوي على اختراق هذا الحاجز.

يسبب اختراق جراثيم مثل المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ، والمكورات العقدية المقيحة *Streptococcus pyogenes* أمراض جلدية مختلفة مثل القوباء والحمرة، وقد تسبب جراثيم الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* عند مضعفي المناعة التهابات في الأدمة العميقة والدهون تحت الجلد (Ibrahim *et al.*, 2015).

أهمية البحث وأهدافه:

انطلاقاً من الأهمية الحيوية لنبات *P.major* وللتخفيف من خطر الاستخدام العشوائي للصادات الحيوية تأتي هذه الدراسة لتقييم فعالية المستخلص الأسيتوني لنبات *P.major* في تثبيط نمو بعض الجراثيم الجلدية الممرضة للإنسان ضمن المختبر، وبالتالي تحري إمكانية الحصول على منتجات علاجية طبيعية.

ويهدف البحث إلى تقييم فعاليّة المستخلص الأسيتوني لنبات لسان الحمل *P.major* في تثبيط نمو بعض الجراثيم الجلديّة الممرضة للإنسان وذلك من خلال:

عزل وتنميط بعض الجراثيم الجلدية الممرضة الواردة إلى مشفى تشرين الجامعي.

دراسة فعالية المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* على نمو بعض الجراثيم الجلدية المعزولة.

مواد البحث وطرائقه:

١-جمع العينات النباتية:

جمعت عينات نبات *Plantago major* من الحدائق ومنصفات الطرق الرئيسة في مناطق مختلفة من محافظة اللاذقية بين شهري نيسان وأيار من عام ٢٠٢٢، قطفت الأوراق الخضراء، ووضعت في أكياس من البولي ايتلين، ثم نقلت إلى المختبر، حيث نظفت من الأتربة وغسلت وتركت لتجف في الظل، صنف النبات وفق (Haddad & Issa, 2010).

٢-تحضير المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *Plantago major*:

تم سحق ٢٠ غ من الأوراق الجافة لنبات *Plantago major* بواسطة مدقة وهاون ثم تم الاستخلاص بـ Soxhlet باستخدام ٢٠٠ مل من الأسيتون النقي ٩٩%، وبدرجة حرارة لا تتجاوز حد الغليان، واستمرت عملية الاستخلاص حتى ضمان الحصول على أعلى مردود للمادة الفعالة من العينة، بعد ذلك استخدم جهاز المبخر الدوار للتخلص من المذيب، والحصول على خلاصة جافة مددت بـ ٥ مل من محل DMSO، ثم حفظت في أوعية زجاجية معتمة، وبدرجة ^{0}C 20- لحين الاستخدام (Özkan *et al.*, 2012).

٣-عزل الجراثيم الجلدية الممرضة:

عزلت الجراثيم من مسحات جلدية مأخوذة في مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية، أمكن تصنيف الجراثيم المعزولة بعد زراعتها على الأوساط العامة الجامدة، والسائلة، النوعية، والتفريقية. وإجراء كامل الاختبارات الحيوية الكيميائية، ومجموعة التشخيص التحليلي Analytical Profile Index (API) اللازمة، والاعتماد على دليل برجي، ودراسة خصائصها الشكلية، والمزرعية (Bosi *et al.*, 2016; Garrity, 2005; Masoud *et al.*, 2011).

٤-تحضير المعلق الجرثومي:

أُخذ ٢-٣ مستعمرة (عمرها لا يتجاوز ١٨ساعة) بوساطة إبرة الزرع، ووُضعت في أنبوب معقم يحوي كلويد الصوديوم حتى الحصول على عكارة توافق 0.5 McFarland، ويكون التعداد الجرثومي عند تلك العكارة يساوي تقريباً (1×10^{8}CFU/ml) (Kowalska & Dudek, 2021).

٥-التركيز المثبط الأصغري (MIC):

هو أقل تركيز من المادة المختبرة القادر على تثبيط نمو الخلايا الجرثومية، وتم تحديده بطريقة التمديد بأنابيب المرق (Macro-dilution Method)، حيث حضرت سلسلة من خمس تمديدات للمستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* في أنابيب تحوي مرق مولر هنتون (180-90-45-22.5- 11.25 mg/ml)، ثم إضافة ١٠٠ ميكرو ليتر من المعلق الجرثومي لجراثيم *Staph.aureus* (Islambulchilar *et al.*, 2011).

وبنفس الطريقة تم تحضير سلسلتين من التراكيز (240-120-60-30-15 mg/ml)، واضافة المعلق الجرثومي لجراثيم *Stre.pyogenes, P.aeruginosa* لكل سلسلة، ثم تحدد قيمة التركيز المثبط

الأصغري (MIC) بعد الحضن ضمن الحاضنة بدرجة٣٧ درجة مئوية، ولمدة ٢٤ ساعة بالاعتماد على تحديد العكارة بالمقارنة مع أنبوب الوسط كشاهد سلبي (Islambulchilar *et al.*, 2011).

٦-التركيز الأصغري القاتل للجراثيم (MBC):

هو التركيز الذي يخفف الكثافة الجرثومية إلى الصفر، وهو مساوي لـ (MIC) أو أعلى منه، ويتم تحديده على أطباق أغار سواء بطريقة انتشار القرص Disk diffusion method أو انتشار الآبار Well diffusion method (Sykes & Rankin, 2013)، وحدد هنا بطريقة انتشار القرص حيث فرشت الجراثيم المدروسة على وسط مولر هنتون أغار بواسطة قضيب زجاجي معقم باللهب، ثمّ شربت أقراص يبلغ قطرها 6mm بالتراكيز المختبرة من المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major*، وطبقت بواسطة ملقط معقم ضمن أطباق البتري مع مراعاة وجود مسافة كافية بين الأقراص المطبقة، حتى لايحدث تداخل بين هالات التثبيط، ثم تحضن بالحاضنة بدرجة حراة ٣٧ درجة مئوية، ولمدة ٢٤ ساعة، وتقرأ قيمة التركيز الأصغري القاتل للجراثيم MBC، على أنّها أقل قيمة تركيز أحدثت قطر هالة تثبيط بعد الزرع.

٧-الدراسة الإحصائية:

حسب المتوسط الحسابي Mean لثلاث مكررات، والانحراف المعياري Standard deviation لمتوسط أقطار هالة تثبيط المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major*، وتم إجراء اختبار فرق التباين (one-way Anova) عند مستوى معنوية $P<0.01$ لتحديد فيما إذا كانت الفروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات أقطار هالة التثبيط عند تغيير تركيز المستخلص الأسيتوني المطبق على الجراثيم المعزولة.

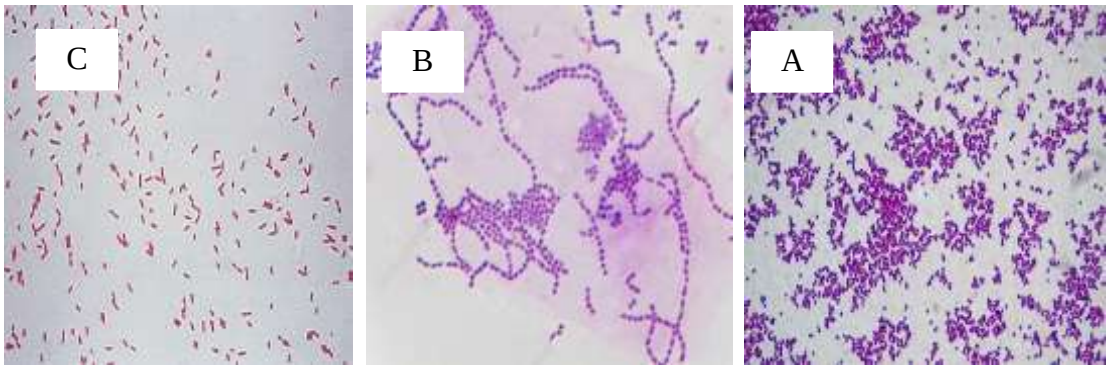
تمّت الاستعانة ببرنامج Minitab 16 لإجراء الاختبار الإحصائي، وبرنامج Microsoft Excel 2019 للرسم البياني.

النتائج والمناقشة:

١- نتائج عزل وتنميط الجراثيم:

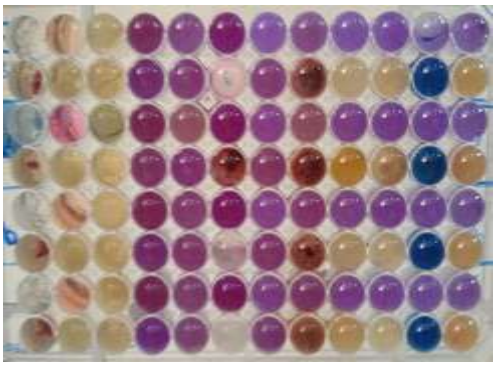
تم عزل ثلاث عزلات جرثومية من المسحات الجلدية المختبرة، وتنميتها على الأوساط المغذية العامة الانتقائية والنوعية، مثل وسط مولر هنتون Muller Hinton Agar/Broth (MHA,MHB)، وسط شابمان Chapman Agar، وسط أيوزين أزرق الميتلين EMB، وسط Cetrimed agar، ثم تلوينها بصبغة غرام وإجراء الإختبارات البيوكيميائية اللازمة، مثل اختبار المخثراز Coagulase، اختبار الكاتلاز Catalase Test، اختبار الأوكسيداز Oxidase Test.

أظهرت النتائج أن العزلة الجرثومية A هي جراثيم إيجابية غرام، كروية الشكل، غير متحركة، وتأخذ المستعمرات شكل العناقيد، تغير لون وسط شابمان من اللون الوردي إلى اللون الأصفر، إيجابية الكاتلاز، والعزلة الجرثومية B هي جراثيم إيجابية غرام، كروية الشكل، غير متحركة، وتأخذ المستعمرات شكل سلاسل، تكسر الكريات الحمراء في وسط أغار الدم فهي حالة للدم من نمط β، وهي جراثيم سلبية الكاتلاز، أمّا العزلة الجرثومية C فهي جراثيم سالبة غرام، عصوية الشكل متحركة، وتنمو على وسط أزرق الميتلين بشكل مستعمرات وردية أو شفافة، وتأخذ اللون الأخضر على وسط Cetrimed Agar، وهي جراثيم إيجابية الأوكسيداز الشكل (١).



الشكل (١): العزلات الجرثومية بتلوين غرام

تم عزل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staph.aureus* من المسحات الجلدية، وتنميطها تبعاً لاختبارات الصفيحة API، كما هو موضح الشكل (٢)، وبذلك توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Parlet وآخرون (Parlet *et al.*, 2019) باعتبار جراثيم المكورات العنقودية الذهبية هي المسبب الرئيس لعدد كبير من الأمراض الجلدية.

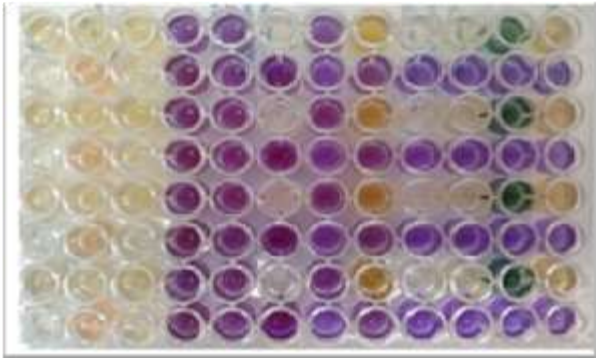


الشكل (2): صفيحة الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (A)

تم عزل جراثيم المكورات العقدية القيحية *Stre.pyogens* من المسحات الجلدية، وتنميطها وفق اختبار الصفيحة API الشكل (3) وبذلك توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Johansson *et al.*, 2010) باعتبار جراثيم *Stre.pyogens* مسبب لمرض الحمرة وغيرها من الأمراض الجلدية.

الشكل (٣): صفيحة الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (B)

كذلك تم عزل جراثيم الزائفة الزنجارية في المسحات الجلدية وتنميطها وفق اختبار الصفيحة API الشكل (٤) وهذا يتوافق مع نتائج (Serra *et al.*, 2015) باعتبار جراثيم الزائفة الزنجارية عامل مسبب للأمراض الجلدية وخصوصاً عند المرضى مضعفي المناعة.



الشكل (4): صفيحة الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (C)

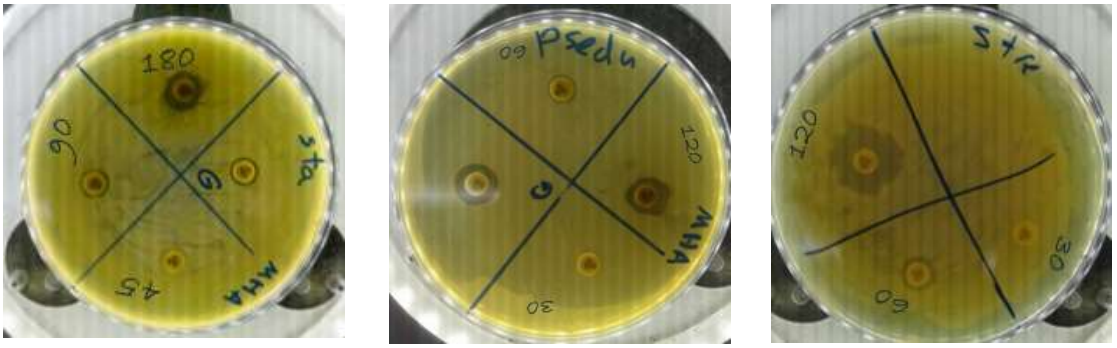
٢- نتائج قياس التركيز المثبط الأصغري (MIC) والتركيز الأصغري القاتل (MBC):

تم تحديد قيم MIC للخلاصة الأسيتونية بطريقة التمديد بأنابيب المرق (Macro-dilution Method) الشكل (٥) بواقع ٣ مكررات، حيث كانت قيم MIC ضد جراثيم *Staph.aureus* هي 90mg/ml ، ولجراثيم *Stre.pyogenes*, *P.aeruginosa* هي 60 mg/ml.

أظهر المستخلص الأسيتوني أعلى قيم MIC ضد *Staph.aureus* وهذا قد يكون ناتجاً عن مقاومة العزلات الجرثومية المعزولة للمستخلصات النباتية (Tchana *et al.*, 2014).

تم التأكد من النتائج عن طريق قياس التركيز الأصغري القاتل للجراثيم (MBC) بطريقة انتشار القرص، حيث شربت ثلاث أقراص بثلاث تراكيز للمستخلص الأسيتوني لأوراق *P.major* مأخوذة من السلسلة المحضرة لقياس التركيز المثبط الأصغري، وهي التركيز المثبط الأصغري MIC الخاص بكل جرثومة وتركيز أعلى وتركيز أدنى من نفس السلسلة كما هو واضح في الشكل (٦)، حيث لوحظ تساوي قيم التركيز الأصغري القاتل للجراثيم (MBC) مع قيم التركيز المثبط الأصغري (MIC) للمستخلص الأسيتوني ضد جميع الجراثيم الجلدية المعزولة.

الشكل(٥): تحديد MIC بطريقة التمديد بأنابيب المرق (Macro-dilution Method).



الشكل(٦): فعالية المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* على الجراثيم المعزولة بطريقة انتشار القرص.

تؤكد نتائج هذه الدراسة الفعالية التثبيطية التي يملكها المستخلص الأسيتوني لأوراق *P.major* ضد جميع الجراثيم المعزولة وتتوافق مع نتائج الدراسات السابقة التي تؤكد فعالية مستخلصات *P.major* كمضاد جرثومي (Karima *et al.*, 2015)، حيث أظهرت دراسة جرت في ماليزيا أن المستخلصين الإيثانولي والميثانولي (100–200mg/ml) ذوا تأثير واضح مثبط للجراثيم (Sharifa *et al.*, 2008).

في حين بينت هذه الدراسة أن المستخلص الأسيتوني يملك فعالية مضادة للجراثيم بتركيز أقل وهذا يمكن أن يُعزى إلى أنّ الأسيتون قادر على استخلاص أكبر كمية من المواد الفعالة القاتلة للجراثيم (Njume *et al.*, 2011).

تم حساب أقطار هالات تثبيط المستخلص الأسيتوني لنبات *P.major* كمتوسط حسابي لثلاث مكررات ± الانحراف المعياري كما موضح في الجدول (١).

الجدول (١): متوسط أقطار هالات تثبيط المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* ضد الجراثيم المعزولة.

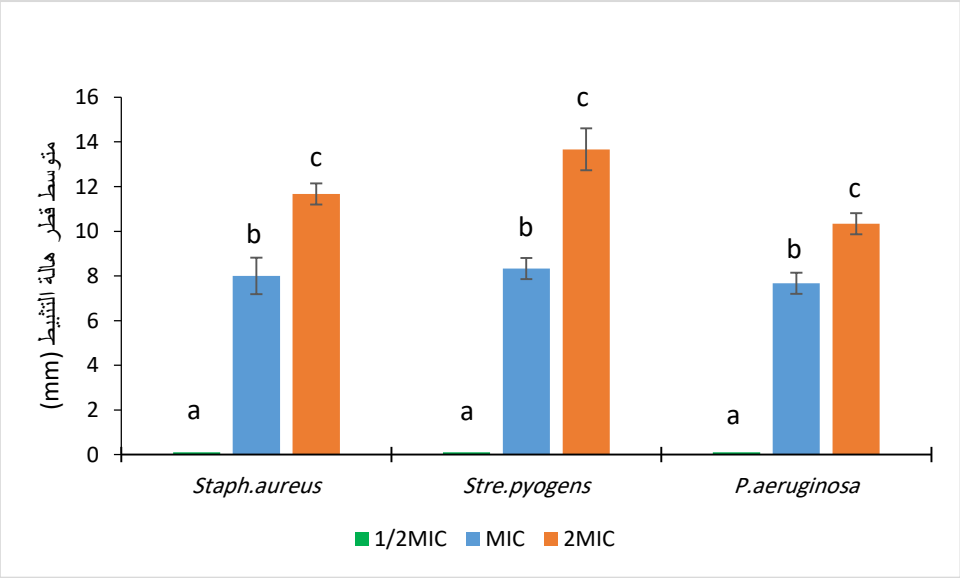
العزلات الجرثومية	التركيز (mg/ml)	متوسط قطر هالة التثبيط بعد ٢٤ h (mm)			المتوسط الحسابي ±الانحراف المعياري (*)
		I	II	III	
Staph.aureus	45	0	0	0	0±0[a]
	90	8	9	7	8±0.81[b]
	180	12	12	11	11.6±0.47[c]
Stre.pyogens	30	0	0	0	0±0[a]
	60	9	8	8	8.3±0.47[b]
	120	13	15	13	13.3±0.94[c]
P.aeruginosa	30	0	0	0	0±0[a]
	60	8	7	8	7.6±0.47[b]
	120	10	11	10	10.3±0.33[c]

(*): تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية P<0.01.

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول (١) والشكل (٦) تأثير المستخلص الأسيتوني المثبط للجراثيم المعزولة، وكانت أكبر قيمة لمتوسط قطر هالة التثبيط هي ضد جراثيم *Stre.pyogens* وعند تركيز 120 mg/ml، وهذا يتفق مع نتائج دراسات سابقة أظهرت أن خلاصات *P.major* تملك تأثيراً قاتلاً على مجموعة مختلفة من الجراثيم موجبة غرام (Karima *et al.*, 2015)، حيث يعتبر الجدار الخلوي للجراثيم موجبة صبغة غرام أقل تعقيداً من الجراثيم سالبة الصبغة ويحتوي على أحماض أمينية أقل، وهذا ما يسمح للخلاصات النباتية بالنفاذ (Silhavy *et al.*, 2010).

وأظهرت الدراسة أنّ أصغر قيمة لمتوسط قطر هالة التثبيط ضد جراثيم *P.aeruginosa* وعند تركيز 60 mg/ml، وهذا قد يعود أيضا للاختلاف في طبيعة الجدار الخلوي حيث تملك الجراثيم سالبة صبغة الغرام نسبة أعلى من المواد الدهنية والأحماض الأمينية من الجراثيم موجبة الصبغة (Silhavy *et al.*, 2010)، إن تأثير الخلاصة الأسيتونية لنبات *P.major* القاتل لجراثيم *P.aeruginosa* في هذه الدراسة يتفق مع ما

خلصت إليه دراسة سابقة جرت في كازخستان وأظهرت فعاليّة الخلاصة الأسيتونية لنبات *P.major* ضد جراثيم الزائفة الزنجارية (Zhakipbekov *et al.*, 2023).



الشكل (٧): متوسط أقطار هالات التثبيط مع الانحراف المعياري للمستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* على الجراثيم المعزولة (تشير الأحرف المختلفة إلى وجود فرق معنوي عند 1%)

بينت نتائج الدراسة الإحصائية الموضحة بالشكل (٧) وجود فروق معنوية بين متوسطات أقطار هالات التثبيط عند تطبيق التراكيز المختلفة على كل الأنواع الجرثومية المختبرة، وأنّ متوسط قطر هالة التثبيط كان أعلى عند التراكيز المرتفعة، حسب الاختبار الإحصائي (one-way Anova) وعند مستوى معنوية $P<0.01$.

الاستنتاجات

تم عزل الجراثيم الأتية وتنميطها: المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، والمكورات العقدية القيحية *Streptococcus pyogens*، وعصيات الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* من العينات المرضية المختبرة في مشفى تشرين الجامعي.

يمتلك المستخلص الأسيتوني لأوراق نبات *P.major* قدرة تثبيطية واضحة تجاه جميع الجراثيم الجلدية المعزولة والمستخدمة في الدراسة.

تساوت قيم كل من التركيز الأصغري القاتل (MBC) مع قيم التركيز المثبط الأصغري (MIC) للمستخلص الأسيتوني ضد جراثيم *Staph.aureus* ، وبلغت 90 mg/ml ، وأمّا ضد جراثيم *P.aeroginosa,Stre.pyogens* فكانت 60 mg/ml.

كانت أكبر قيمة لمتوسط قطر هالة التثبيط هي ضد جراثيم *Stre.pyogens* وبلغت 13.3±0.94 mm وأصغر قيمة لمتوسط قطر هالة التثبيط هي ضد جراثيم *P.aeruginosa* وبلغت 7.6±0.47 mm.

بينت نتائج الدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات أقطار هالات التثبيط عند تطبيق التراكيز المختلفة بعد إجراء الاختبار الإحصائي (one-way Anova) وعند مستوى معنوية $P<0.01$.

التوصيات:

إجراء المزيد من الدراسات على نبات *P.major* ودراسة توزعه وإنتشاره وتركيبه الكيميائي.

عزل وتحديد بعض المركبات الفعالة في نبات *P.major* التي تلعب دوراً مضاداً للجراثيم.

المراجع

Adom, M. B., Taher, M., Mutalabisin, M. F., Amri, M. S., Abdul Kudos, M. B., Wan Sulaiman, M. W. A., Sengupta, P., and Susanti, D. (2017). *Chemical constituents and medical benefits of Plantago major*. In Biomedicine and Pharmacotherapy, 96(1), 348–360.

Bosi, E., Monk, J. M., Aziz, R. K., Fondi, M., Nizet, V., and Palsson, B. (2016). *Comparative genome-scale modelling of Staphylococcus aureus strains identifies strain-specific metabolic capabilities linked to pathogenicity*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 113(26), 3801–3809.

Brøndegaard, V. J. (1987). *Folk og Flora*. Rosenkilde and Bagger, p339.

Fægri, K. (1970). *Norges Planter: Blomster og Trær i Naturen*, p334.

Fitter, A. H. (1977). *Flora Europaea Vol. 4*, edited by T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, and D. A. Webb. p534.

Garrity, M.; J. B. R. K. T. S. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd Edition), Springer, p1256.

Haddad, D., and Issa, A. (2010). *Taxonomical Study of Plantago L. Genus (Plantaginaceae) in Lattakia-Syria*. In Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies-Biological Sciences Series,32(5), 97-114.

Hetland, G., Samuelsen, A. B., Loslash Vik, M., Paulsen, B. S., Aaberge, I. S., Groeng, E. C., and Michaelsen, T. E. (2000). *Protective effect of Plantago major L. pectin polysaccharide against systemic Streptococcus pneumoniae infection in mice*. Scandinavian Journal of Immunology, 52(4), 348–355.

Ibrahim, F., Khan, T., and Pujalte, G. G. A. (2015). *Bacterial Skin Infections*. *In Primary Care - Clinics in Office Practice*, 42(4), 485–499.

Islambulchilar, M., Sattari, M. R., Sardashti, M., and Lotfipour, F. (2011). *Effect of Taurine on the antimicrobial efficiency of gentamicin.* Advanced Pharmaceutical Bulletin, 1(2), 69–74.

Johansson, L., Thulin, P., Low, D. E., and Norrby-Teglund, A. (2010). *Getting under the skin: The immunopathogenesis of streptococcus pyogenes deep tissue infections.* Clinical Infectious Diseases, 51(1), 58–65.

Jonsson, S. (1983). *Blomsterbroken. Markens Urter, Lyng og Traer*. Teknologisk Forlag. p331.

Karima, S., Farida, S., and Mihoub, Z. M. (2015*). Antioxidant and antimicrobial activities of Plantago major*. Int J Pharm Pharm Sci, 7(5), 58–64.

Kowalska, Krochmal. B., and Dudek, Wicher. R. (2021). *The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance.* Pathogens, 10(2), 1–21.

Masoud, W., Takamiya, M., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., and Jakobsen, M. (2011). *Characterization of bacterial populations in Danish raw milk cheeses made with different starter cultures by denaturating gradient gel electrophoresis and pyrosequencing.* International Dairy Journal, 21(3), 142–148.

Najafian, Y., Hamedi, S. S., Kaboli Farshchi, M., and Feyzabadi, Z. (2018*). Plantago major in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review*. Electronic Physician, 10(2), 6390–6399.

Nielsen, H. (1969). *Lægeplanter og trolddomsurter*. Politiken. p280.

Njume, C., Afolayan, A. J., Samie, A., and Ndip, R. N. (2011). *Inhibitory and Bactericidal Potential of Crude Acetone Extracts of Combretum molle (Combretaceae) on Drug-resistant Strains of Helicobacter pylori.* Journal of Health, Population, and Nutrition, 29(5), 438.

Özkan, O., Metiner, K., and AK, S. (2012). *Antibacterial Effects of Ethanol and Acetone Extract of Plantago major L. on Gram Positive and Gram Negative Bacteria*. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi.18(3), 503-505.

Parlet, C. P., Brown, M. M., and Horswill, A. R. (2019). *Commensal Staphylococci Influence Staphylococcus aureus Skin Colonization and Disease*. Trends in Microbiology, 27(6), 497–507.

Roca, Garcia. H. (1972). *Weeds: a link with the past*. Arnoldia , 30(1), 23–24.

Serra, R., Grande, R., Butrico, L., Rossi, A., Settimio, U. F., Caroleo, B., Amato, B., Gallelli, L., and De Franciscis, S. (2015). *Chronic wound infections: the role of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus*. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 13(5), 605–613.

Sharifa, A. A., Neoh, Y. L., Iswadi, M. I., Osman, K., Halim, M., Mohamed, J., Azman, A. B., and Hing, H. (2008). *Effects of Methanol, Ethanol and Aqueous Extract of Plantago major on Gram Positive Bacteria, Gram Negative Bacteria and Yeast*. Ann Microsc, 8, 42–44.

Silhavy, T. J., Kahne, D., and Walker, S. (2010). *The bacterial cell envelope*. In Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2(5),414.

Sykes, J. E., and Rankin, S. C. (2013). *Isolation and identification of aerobic and anaerobic bacteria.* Canine and Feline Infectious Diseases, 17–28.

Tchana, M. E. S., Fankam, A. G., Mbaveng, A. T., Nkwengoua, E. T., Seukep, J. A., Tchouani, F. K., Nyassé, B., and Kuete, V. (2014). *Activities of selected medicinal plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria in Cameroon*. African Health Sciences, 14(1), 167–172.

Velasco, Lezama. R., Tapia, Aguilar. R., Román, Ramos. R., Vega, Avila. E., and Pérez, Gutiérrez. M. S. (2006). *Effect of Plantago major on cell proliferation in vitro*. Journal of Ethnopharmacology, 103(1), 36–42.

Zhakipbekov, K., Turgumbayeva, A., Issayeva, R., Kipchakbayeva, A., Kadyrbayeva, G., Tleubayeva, M., Akhayeva, T., Tastambek, K., Sainova, G., Serikbayeva, E., Tolenova, K., Makhatova, B., Anarbayeva, R., Shimirova, Z., and Tileuberdi, Y. (2023). *Antimicrobial and Other Biomedical Properties of Extracts from Plantago major, Plantaginaceae*. In Pharmaceuticals, 16(8),1092-2113.