الكشف عن الفعالية المضادة لمستخلصات نبات السبحبح *Melia azedarach* L. في نمو بعض الأنواع الجرثومية المعزولة من الحروق والجروح الخمجية

بسام حسين أيوب الجميلي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٠ / ١٠ / ٢٠٠٩ ، تاريخ القبول: ١٨ / ١ / ٢٠١٠)

الملخص

ينتمي السبحبح Melia azedarach L. إلى فصيلة Meliaceae وهو من النباتات الطبية الذي يتميز باستخدامات كثيرة في الطب الشعبي التقليدي ، فبعض الزيوت المستخرجة من بذورها تتميز بخاصيتها المضادة للبكتريا ، كما أن لمستخلصاتها المختلفة تأثيرات مضادة للبكتريا والفطريات والفيروسات ، ومن هنا استهدفت الدراسة الحالية إلى كشف واستبيان الفعالية المضادة لنمو الميكروبات في مستخلصات قلف وبذور نبات السبحبح ، اشتملت الدراسة ثلاثة أنواع بكتيرية هي *Staphylococcus epidermidis* ، *Staphylococcus aureus* ضمن البكتريا الموجبة لصبغة كرام وجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* ضمن البكتريا السالبة لصبغة كرام ، وجميعها معزولة من حالات الحروق والجروح الخمجية ، وتم تشخيصها بالاختبارات البيوكيمياوية وحفظت بموائل الاكار عند (٤) °م .حضرت المستخلصات النباتية باستخدام الاستخلاص المتكرر بالمذيبات (خلات الأثيلي ، الميثانول ، الكلوروفورم) . أظهرت النتائج أن مستخلص خلات الأثيلي لقلف السيقان كان له تأثير تثبيطي في جميع الأنواع الجرثومية وكان أعلى تأثير تثبيطي له في جرثومة *St. epidermidis* التي أظهرت حساسية أعلى لمختلف المستخلصات مقارنة بالنوعين الآخرين فقد بلغ قطر التثبيط (٣١) ملم مع التركيز الأعلى (٢٠٠) ملغم / مل . يليه المستخلص الميثانولي للقلف الذي أظهر تأثيرا تثبيطيا أعلى من مستخلصات البذور ، أما بالنسبة لمستخلصات البذور فقد كان للمستخلص الكلوروفورمي أعلى تأثير تثبيطي من بين مستخلصات البذور يليه مستخلص خلات الأثيلي ، في حين كان المستخلص الميثانولي للبذور الأقل تأثيرا من بين المستخلصات المدروسة ، كما تم تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى والتي اختلفت تبعا لاختلاف المستخلصات وتركيزها والجراثيم المعاملة بها . وبينت الدراسة أيضا أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام أظهرت حساسية أكثر للمستخلصات المختلفة للسبحبح مقارنة بالبكتريا السالبة لصبغة كرام .

المقدمة

لقد استهل الأنواع النباتية في علاج الأمراض التي تصيب الإنسان بمختلف أشكاله منذ بزوغ الحضارات على وجه الأرض ، إلا أن هذه المجتمعات البدائية قد افتقرت إلى المعرفة العلمية الكافية لاقتفاء أثر الأهمية الطبية لهذه الأنواع النباتية للإنسان والكائنات الأخرى ، إلى أن استطاع العلم بفضل التقنيات الحديثة من بيان وكشف التأثيرات النافعة للمركبات النباتية بجانب إمكانية تصنيعها [١ ، ١٥] ، لقد أدى استخدام المضادات الحيوية المصنعة في العقود الماضية إلى مشاكل كثيرة أدت إلى تلاشي استخدام المركبات الطبيعية في العلاج ، فازدادت تبعا إلى ذلك ظهور سلالات بكتيرية مقاومة بسبب الاستخدام العشوائي لهذه المضادات بجانب آثارها الجانبية الضارة وكلفتها العالية ، كل هذه الأسباب يجعلنا ننوه على أهمية تزايد المشكلة المتفاقمة من ذلك مما دفع مصانع وشركات الأدوية إلى إيجاد بدائل جديدة غير مكتشفة من قبل مثل مضادات البكتريا والعلاجات التي لها آثار جانبية أقل [١٥،٣] .

تشير التقارير إلى أن النباتات الراقية هي مصادر معتمدة لبزوغ مضادات جديدة غير معروفة مسبقا وهذا ما أثبتته الدراسات التي جرت في السنوات الماضية والتي أكدت وجود العديد من المركبات المضادة لنمو الميكروبات في النباتات مثل الفينولات ومركبات النتروجين والتانينات وغيرها كثير [١] . وأخيرا فقد أدى الطلب المتزايد للمنتجات الثانوية للنباتات إلى حدوث قفزة نوعية في حجم المنتجات والمركبات المتداولة بين دول العالم بما فيها المركبات المضادة للميكروبات ، إذ كانت قبل ذلك تستهلك بدون المعرفة الطبية بفعاليتها العلاجية إلى أن توسع البحث العلمي وازداد التحري عن المصادر الطبيعية ، وبذلك عد المملكة النباتية مصدرا خزينا لاينضب من المركبات الفعالة التي لا يقدر بثمن من خلال كونها مزيج من المواد مؤلفة مع بعضها البعض جسم النبات وازدادت الأهمية أكثر عندما استخدمت في علاج الأمراض المختلفة [٢٠،١١] .

ينتمي السبحبح *Melia azedarach* إلى فصيلة Meliaceae ويسمى أيضا بالتوت الصيني Chinaberry أو الأرز الأبيض White cedar ، يتواجد بشكل أشجار عريضة أو شجيرات غالبا ما يبدو بشكل المظلة ، سريعة النمو تتساقط أوراقها سنويا Deciduous ولكنها عادة تكون قصيرة الحياة [٧،٦] . الأوراق لماعة ثنائية القنابات خضراء داكنة ومتبادلة ، أما الثمار فتنشأ على محاور قصيرة فتكون بيضاء لحمية ما بين آذار إلى نهاية حزيران ثم تصبح صلبة صفراء في أشهر أيلول وحتى مطلع الشتاء ، تضم بداخلها نوية واحدة مخططة وصلدة حاوية على خمسة بذور ملساء[١١] . القلف البالغة تكون بنية ومخططة سطحيا أما القلف اليافعة تكون رمادية فاتحة تتعرج بمرور الزمن ، الأزهار أرجوانية تظهر بشكل خشبي متميز [٧] . وتمتاز بعطر نموذجي حاد [١٥].

يشمل التوزيع الجغرافي لهذه الأشجار مناطق واسعة من العالم فهي شائعة جدا في الهند وأستراليا ويتواجد أيضا بكثرة في جزر الهاواي والمناطق المدارية وشبه المدارية من القارة الأمريكية والآسيوية والأفريقية [٧] . أما في العراق يتواجد هذا النبات في الأقاليم الشمالية بشكل شجيرات وتزرع أيضا من أجل الزينة والظل [١٦] .

يستخدم هذا النبات في الطب الشعبي ولم يتوفر دليل على سميته في اللبائن بالرغم من كون الثمار هي أكثر الأجزاء سمية إلا أن هذا لا يمنع من استخدامه في العلاج [٣] . للسبحبح استخدامات كثيرة جدا لا يمكن حصرها إلا أن الاستخدامات الشائعة جدا هي علاج الجذام والرعاف والحصبة الألمانية وفقدان الشهية والحمى وحمى الملاريا ، ويمكن تناولها

بشكل معلق لعلاج ديدان الأمعاء ولمعالجة أمراض القلب وأوعيته وفي علاج السكري والتقرحات الجلدية المختلفة وأمراض الفم والكبد واضطرابات المرارة وفي علاج الجروح المزمنة وعلاج الربو ، أما خارجيا فيمكن استخدامها في علاج الآفات الجلدية من خلال إضافة خلاصات الأوراق إلى المراهم الجلدية لاحتوائها على مادة الأزيدراختين المنفرة للحشرات azaderachtine [١،١٥] . كما يستخدم المستخلصات المختلفة للسبحبح كقاتل للطفيليات وكمثبط لإنزيم asetylcolinestarase وكمضاد للسرطان والزكام والضغط وفي علاج الآفات الجلدية . يستخدم مستخلص السبحبح بفضل محتواه من المركبات الفعالة كمضاد للحشرات والبكتريا والفيروسات والفطريات والديدان ، وقد أثبتت الدراسات الحديثة أن السبحبح مضاد لطفيليات الإجهاض *Toxoplazma gondii* [٢٢،٦،١٠] . ويتميز هذا النبات بأن له خاصية مضادة للروماتزم من خلال تقليل فرط التحسس وكمضاد للالتهابات [١٦] . وفي كوريا تحديدا يستخدم خلاصة السبحبح في علاج الإصابات البكتيرية والفطرية وفي مكافحة الابتدائيات التي تصيب الأقنية التناسلية [١٠]. ومن أهم المواد الفعالة الموجودة في السبحبح هو الباكاينين Rutin , Quercitin , Bakaynin و Bakalacton (6,β-hydroxy - 4 - stigastem -3- ono) ، الأوراق غنية بمادة الأزيدراختين التي يمكن استخدامها كمضاد حشري وفي تعفير الملابس [١٥،١] . كما تحوي الأوراق على مادة 1- Cinnamoyl – 3,11- dihydroxymeliacarpin [١٩] .

ويتواجد مواد عضوية أخرى كثيرة في السبحبح مثل Kulinone, Fraxinellone و Tosendanin إلا أنه لا يعرف لحد الآن فعالية ووظيفة هذه المركبات [١٠] . أما الثمار فيحتوي على المواد melianone, melianol, melianoninol و meliandiol [١٣] . أما البذور فغنية بالمادة mimibidin بالإضافة إلى التانينات والفينولات والقلويدات والفلافونات والسابونين ومركب dihydrochalcone [٢٠] .

ومما يجذر ذكره هو أن مركبات limonoides الموجودة في السبحبح يعتبر تربينات ثلاثية المثيل تتميز بأن لها تأثيرات مهمة في الكائنات الحية من خلال كونها مضاد للبكتريا والفطريات ، أما خاصيتها الأهم في الطب هي كونها مضاد للخلايا السرطانية [٢] .

وبناءا على ما تقدم فقد استهدفت الدراسة الحالية إلى الكشف عن الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات السبحبح في بعض أنواع البكتريا التي عزلت من الحروق والجروح الخمجية .

المواد وطرائق العمل

١. جمع العينات الجرثومية وتهيئة المزارع Specimens Collection and Cultures Preparation

جمعت العينات البكتيرية التي جرت الدراسة عليها من مختبرات مستشفى تكريت العام وجميعها معزولة من حالات الحروق المختلفة والجروح الخمجية باستخدام مسحات قطنية معقمة على سطح وسط أكار الماكونكي باعتباره وسط انتخابي يمكن من خلاله تمييز البكتريا النامية إلى مجموعتي (G^- , G^+) ، ثم نقلت العينات إلى المختبر لأجل تشخيصها باستخدام الفحص ألمجهري والمظهري وتم التأكد من أنواعها باستخدام الاختبارات البيوكيمياوية المختلفة ومن ثم لقح موائل الاكار بالعزلات الجرثومية بشكل نقي وحفظت النماذج بشكل محكم عند درجة (٤)°م لحين استخدامها في البحث [١٨].

٢. تحضير اللقاحات البكتيرية Bacterial Inocula Preparation

نقل لقاح مقداره حملة لوب من كل عزلة جرثومية إلى قناني حاوية على وسط المرق المغذي المعقم وبشكل منفصل ثم حضنت القناني بدرجة (٣٧)°م في حاضنة هزازة لمدة (٢٤) ساعة. ثم خفف النماذج باستخدام طريقة التخفيف المتسلسل وذلك لتقدير أعداد الخلايا البكتيرية لكل (١) مل من المحلول المخفف الحاوي على الخلايا الجرثومية ، واستمرت عملية التخفيف إلى أن أصبح أعداد الخلايا تقريبا (10^5) خلية / مل بالمقارنة مع محلول ماكفرلاند القياسي [١٤] .

٣. جمع العينات النباتية Plant Specimens Collection

تم الحصول عل قلف السيقان وبذور نبات السبحبح من حدائق جامعة تكريت وأخرى جمعت من بساتين مدينة تلعفر للفترة من مطلع وحتى نهاية شهر أيار ، غسل العينات بالماء الجاري ثم جفف بالهواء وبعدها تركت في غرفة مظلمة ذات تهوية جيدة لحين جفافها . أما البذور فقد تم الحصول عليها بفصل البذور عن باقي أجزاء الثمرة يدويا .

٤. تحضير المستخلصات النباتية Plant Extracts Preparation

اعتمدت الطريقة المتبعة في كل من [٥،١] في تحضير وإعداد المستخلصات النباتية المستخدمة بالدراسة وتتلخص الطريقة باستخدام المذيبات العضوية المعتمدة (خلات الأثيل ، الميثانول ، الكلوروفورم) في عملية الاستخلاص وبشكل متكرر باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporatorتحت ضغط مخلخل لحين الحصول على المستخلصات الخاصة من كل عينة وحفظت النماذج تحت التبريد بدرجة (٤)°م .

٥. إعداد وتهيئة تخافيف المستخلصات النباتية المدروسة وتعقيمها

تم إعداد التخافيف الخاصة بالمستخلصات النباتية قيد البحث مستخلصات (خلات الأثيلي ، الميثانولي ، الكلوروفورمي) بإذابة (١) غم من كل مستخلص خام محضر سابقا في (٥) مل من مذيب DMSO (Dimethyl Sulphoxide) للحصول على تركيز قياسي (٢٠٠) ملغم / مل واعتمد هذا التركيز في تحضير التخافيف اللاحقة المستخدمة في البحث والتي هي (١٠٠ ، ٥٠ ، ٢٥، ١٢,٥) ملم / مل ومن ثم عقمت التخافيف من خلال تمريرها في مرشحات Millipore filter membrane بقطر µm(٠,٠٤٥) وحفظ النماذج في قناني معقمة بشكل محكم بدرجة (٤)°م لحين استخدامها [١٩] .

6 .اختبار فعالية المستخلصات النباتية في الجراثيم المدروسة باستخدام طريقة الانتشار من ثقب

Agar Well Diffusion Method

أجري اختبار فعالية المستخلصات النباتية المختلفة وذلك بفرش ما مقداره (٠,١) مل من العالق الجرثومي المحضر في الفقرة (١) من المواد وطرائق العمل والحاوي على (10^5) خلية / مل تقريبا على سطح وسط الأكار المغذي المحضر من إذابة (٢,٨) غم من الوسط في (١٠٠) مل من الماء المقطر باستخدام مسحة قطنية معقمة مع تدوير الطبق بزاوية (٦٠)°م تقريبا لضمان الفرش الكامل على سطح الوسط ومن ثم ثقب الوسط الغذائي باستخدام ثاقبة فلين معقمة بقطر (٥) ملم وعلى أبعاد منتظمة بعدها

أضيف ما مقداره (٠,١) مل من كل تخفيف نباتي محضر في الفقرة (٥) أعلاه في الحفرة أو الثقب الخاص به ووضع عليه رقم التركيز . ترك الأطباق بعد ذلك ليستقر مدة ساعة واحدة في ظروف المختبر ، ثم حضن الأطباق بدرجة (٣٧)°م لمدة (٢٤) ساعة بعدها قيست أقطار التثبيط الظاهرة باستخدام وحدة القياس المليمتر [١٩] .

٧. تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimum Inhibitory Concentration Determination (MIC)

تم إجراء اختبار MIC بجانب اختبار الانتشار من ثقب الأكار وذلك بإضافة ما مقداره (٠,١) مل من كل تخفيف من تخافيف المستخلصات المحضر في الفقرة (٥) من المواد وطرائق العمل المدروسة إلى قناني حاوية على (٩,٩) مل من العالق الجرثومي الحاوي على (١٠^٥) خلية / مل والمحضر سابقا وبذلك أصبح تراكيز المستخلصات النباتية المختلفة (٢,٠ ، ١,٠ ، ٠,٥ ، ٠,٢٥ ، ٠,٠١٢٥)ملغم / مل . حضنت القناني في درجة (٣٧)°م لمدة (٢٤) ساعة ، بعدها تم تحديد التركيز المثبط الأدنى باستخدام جهاز المطياف الضوئي من نوع CECIL CE 1011 (1000 SERIES) والمجهز من شركة CAMBRIDGE الإنكليزية . بالمقارنة مع عينة السيطرة القياسية المؤلفة من (٩,٨) مل من المرق المغذي الحاوي على (٠,١) مل من المستخلص النباتي المخفف .

٨. تحديد التركيز الأدنى القاتل Minimum Bactericidal Concentration Determination

لتحديد التركيز الأدنى القاتل فقد تم إعادة زرع الأنابيب التي لم يظهر فيها نمو والأنابيب التي ظهرت فيها نمو قليل في أثناء تحديد التركيز المثبط الأدنى وذلك لمعرفة مدى وجود البكتريا الحية فيها ، إذ زرع ما مقداره (٠,١) مل من كل أنبوب حاوي على المستخلص النباتي المخفف بطريقة الصب بالأطباق ثم حضنت بدرجة (٣٧)°م لمدة (٢٤) ساعة وأعتبر الطبق الملقح بأدنى تخفيف من المستخلص النباتي المدروس والخالي من النمو البكتيري هو التركيز القاتل وباستخدام وسط الأكار المغذي .

٩. التحليل الإحصائي Statistical Analysis

أستخدم طريقة تحليل التباين (ANOVA) واختبار دنكن متعدد المدى لحساب المتوسطات بين النتائج واختبار المعنوية في البيانات المستحصلة .

النتائج Results

١. الفعالية التثبيطية لمستخلصات قلف سيقان السبحبح في الجراثيم قيد البحث :

أظهر مستخلص خلات الأثيلي لقلف سيقان السبحبح تأثيرا تثبيطيا عاليا في جميع الأنواع الجرثومية المدروسة مقارنة مع جميع المضادات الحيوية Cefotaxime , Cloxacillin , Cephalixin والمستخدمة كعينات مقارنة في البحث ، وكان أعلى تأثير لهذا المستخلص في جرثومة *St. epidermidis* مع التركيز (٢٠٠) ملغم / مل إذ بلغ قطر دائرة التثبيط (٣١) ملم وهو أعلى تثبيط أظهره هذا المستخلص من بين المستخلصات المدروسة ، كما كان تأثيره في جرثومتي *Ps. aeruginosa* و *St. aureus* أعلى من تأثير باقي المستخلصات في الجرثومتين نفسيهما . وقد تناسب تأثيره طرديا مع التركيز مع وجد فروق معنوية بين متوسطات أقطار التثبيط عند مستوى معنوية ($P<0.05$) وكما مبين في الجدول (١) :

الجدول (١) التأثير التثبيطي لمستخلص خلات الأثيلي لقلف سيقان السبحبح بتراكيز مختلفة بالمقارنة مع المضادات الحيوية في الجراثيم المدروسة (أقطار التثبيط مقاسة بالملم) .

تركيز المستخلص النباتي مقاس بالملغم / مل		الأنواع الجرثومية المدروسة		
		Staphylococcus aureus	*Staphylococcus epidermidis*	*Pseudomonas aeruginosa*
٢٠٠		٢٨d	٣١ b	٢٥ab
١٠٠		١٩ab	٢١a	١٧bc
٥٠		١١bc	١٣cd	٩a
٢٥		٢,٠b	٨,٠bc	٠,٠a
١٢,٥		٠,٠a	٠,٠ad	٠,٠b
المضادات الحيوية	CF (3)mcg	١٩c	٢٢ab	٢٠ab
	CX (1) mcg	٢٠b	٢١c	١٧c
	CPh (30)mcg	١٩cd	٢١b	١٨cd

- CPh=Cephalixin , CX=Cloxacillin , CF=Cefotaxime
- الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($P<0.05$) .
- قطر دائرة المستخلص أكبر من قطر المضاد يعد تثبيط عالي .
- قطر دائرة المستخلص مساوي لقطر المضاد يعد تثبيط جيد .
- قطر دائرة المستخلص أقل من قطر المضاد ب (٦-١٢) ملم تثبيط معتدل
- معدل أقطار التثبيط حسب باستخدام ثلاث مكررات

في حين أظهر المستخلص الميثانولي تأثيرا تثبيطيا عاليا أيضا مع جميع المضادات الحيوية وكان أعلى تأثير له في جرثومة *St. epidermidis* مع التركيز (٢٠٠) ملغم / مل اذ بلغ قطر التثبيط (٢٧) ملم وتناسب تأثيره طرديا مع التركيز مع وجود فروق معنوية بين متوسطات أقطار التثبيط عند مستوى معنوية ($P<0.05$) ، وكان تأثير هذا المستخلص أعلى من تأثير مستخلصات البذور وفي جميع الأنواع الجرثومية المدروسة وكما موضح في الجدول (٢) :

الجدول (٢) التأثير التثبيطي للمستخلص الميثانولي لقلف سيقان السبحبح بتراكيز مختلفة في الجراثيم المدروسة بالمقارنة مع المضادات الحيوية (أقطار التثبيط مقاسة بالملم) .

تركيز المستخلص النباتي مقاس بالملغم / مل		الأنواع الجرثومية المدروسة		
		St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
٢٠٠		٢٢c	٢٧a	٢٠a
١٠٠		١٣c	١٩d	١٢d
٥٠		٧,٥cd	١٠bc	٧,٠bc
٢٥		٠,٠ab	٠,٠b	٠,٠ab
١٢,٥		٠,٠	٠,٠	٠,٠
CF (3)mcg	المضادات الحيوية	١٩c	٢٢ab	٢٠ab
CX (1) mcg		٢٠b	٢١c	١٧c
CPh (30)mcg		١٩cd	٢١b	١٨cd

أما فيما يخص المستخلص الكلوروفورمي فلم يظهر أي تأثير تثبيطي في أي نوع من الأنواع الجرثومية المدروسة وربما يرجع ذلك إلى عدم وجود أو ذوبان المركبات المضادة فيه .

٢. الفعالية التثبيطية لمستخلصات بذور السبحبح في الجراثيم قيد البحث:

أظهر مستخلص خلات الأثيلي للبذور تأثيرا تثبيطيا عاليا في جرثومتي *St. aureus* و *St. epidermidis* مقارنة مع جميع المضادات الحيوية في حسن أن جرثومة الزوائف الزنجارية *Ps. aeruginosa* قد أظهرت حساسية عالية بالمقارنة مع المضادين الحيويين Cloxacillin و Cephalixin وحساسية جيدة مقارنة مع المضاد الحيوي Cefotaxim وكان أقل تأثير لهذا المستخلص في هذه الجرثومة الأخيرة وتناسب تأثيره طرديا مع التركيز ووجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($P<0.05$) بين متوسطات أقطار التثبيط وكما في الجدول (٣) .

الجدول (٣) التأثير التثبيطي لمستخلص خلات الأثيلي لبذور السبحبح بتراكيز مختلفة في الجراثيم المدروسة بالمقارنة مع المضادات الحيوية (أقطار التثبيط مقاسه بالملم) .

تركيز المستخلص النباتي مقاس بالملغم / مل		الأنواع الجرثومية المدروسة		
		St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
٢٠٠		٢١b	٢٢,٥d	١٩b
١٠٠		١٦c	١٧bc	١٣d
٥٠		١١ab	١١ab	٨,٥d
٢٥		٧,٥a	٧,٠cd	٠,٠cd
١٢,٥		٠,٠b	٠,٠bc	٠,٠a
CF (3)mcg	المضادات الحيوية	١٩c	٢٢ab	٢٠ab
CX (1) mcg		٢٠b	٢١c	١٧c
CPh (30)mcg		١٩cd	٢١b	١٨cd

بالنسبة للمستخلص الميثانولي للبذور فقد كان تأثيره عاليا في جرثومة *Ps. aeruginosa* بالمقارنة مع الضادين الحيويين Cloxacillin و Cefalixin ، وتأثيرا تثبيطيا جيدا بالمقرنة مع المضاد الحيوي Cefotaxim . أما جرثومتا *St. aureus* و *St. epidermidis* فقد أظهرت حساسية جيدة مقارنة مع جميع المضادات الحيوية القياسية . وكان أقل تأثير لهذا المستخلص في جرثومة *St. aureus* ،في الوقت نفسه كان تأثير هذا المستخلص أقل من تأثير مستخلص خلات الأثيلي للبذور في جرثومتي *St. aureus* و *St. epidermidis* . كما تناسب تأثيره طرديا مع التركيز ووجود فروق معنوية بين متوسطات أقطار التثبيط عند مستوى معنوية ($P<0.05$) كما مبين في الجدول (٤) .

الجدول (٤) التأثير التثبيطي للمستخلص الميثانولي لبذور السبحبح بتراكيز مختلفة في الجراثيم المدروسة بالمقارنة مع المضادات الحيوية (أقطار التثبيط مقاسه بالملم) .

تركيز المستخلص النباتي مقاس بالملغم / مل	الأنواع الجرثومية المدروسة		
	St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
٢٠٠	١٩d	٢١a	٢٠b
١٠٠	١٥a	١٥a	١٥ab
٥٠	١٠cd	١٠ab	١١a

٢٥		٠,٠b	٠,٠d	٧,٠bc
١٢,٥		٠,٠	٠,٠	٠,٠
المضادات الحيوية	CF (3)mcg	١٩c	٢٢ab	٢٠ab
	CX (1) mcg	٢٠b	٢١c	١٧c
	CPh (30)mcg	١٩cd	٢١b	١٨cd

بينما أظهر المستخلص الكلوروفورمي للبذور تأثيرا تثبيطيا عاليا أيضا في جميع الأنواع البكتيرية مقارنة مع جميع المضادات الحيوية القياسية وكان تأثيره التثبيطي في جرثومة *St. epidermidis* مشابها تماما لتأثير مستخلص خلات الأثيلي للبذور إلا أن هذا التأثير كان أعلى من تأثير المستخلص الميثانولي ، وتناسب أيضا مع التركيز ووجود فروق معنوية عند مستوى ($P<0.05$) بين متوسطات أقطار التثبيط كما مبين بالجدول(٥) .

الجدول (٥) التأثير التثبيطي للمستخلص الميثانولي لبذور السبحبح بتراكيز مختلفة في الجراثيم المدروسة بالمقارنة مع المضادات الحيوية (أقطار التثبيط مقاسه بالملم) .

تركيز المستخلص النباتي مقاس بالملغم / مل		الأنواع الجرثومية المدروسة		
		St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
٢٠٠		١٩d	٢١a	٢٠b
١٠٠		١٥a	١٥a	١٥ab
٥٠		١٠cd	١٠ab	١١a
٢٥		٠,٠b	٠,٠d	٧,٠bc
١٢,٥		٠,٠	٠,٠	٠,٠
المضادات الحيوية	CF (3)mcg	١٩c	٢٢ab	٢٠ab
	CX (1) mcg	٢٠b	٢١c	١٧c
	CPh (30)mcg	١٩cd	٢١b	١٨cd

وفيما يتعلق بالتركيز المثبط الأدنى فقد تم تسجيل النتائج بعد فحص القناني الملقحة وظهرت كما مبين في الجدول (٦) أدناه :

الجدول (٦) التركيز المثبط الأدنى(MIC) للمستخلصات المختلفة لنبات السبحبح في الجراثيم المعزولة من الحروق والجروح الخمجية (التراكيز مقاسة بالملغم / مل) .

نوع المستخلص النباتي المستخدم التركيز (ملغم / مل)	التركيز المثبط الأدنى لمستخلصات السبحبح المختلفة في الأنواع الجرثومية المدروسة		
	St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
مستخلص خلات الأثيلي لقلف السيقان	٠,٢٥	٠,٢٥	٠,٥
المستخلص الميثانولي لقلف السيقان	٠,٥	٠,٥	٠,٥
مستخلص خلات الأثيلي للبذور	٠,٢٥	٠,٢٥	٠,٥
المستخلص الميثانولي للبذور	٠,٥	٠,٢٥	٠,٢٥
المستخلص الكلوروفورمي للبذور	٠,٢٥	٠,٢٥	٠,٥

- التراكيز المثبطة الأدنى حسب باستخدام ثلاث مكررات لكل نوع جرثومي .

وبالنسبة للتركيز القاتل الأدنى (MBC) فقد أستحصلت النتائج بعد إعادة زرع ما مقداره (٠,١) مل من كل أنبوبة ظهرت فيها نمو قليل جدا وكذلك التي لم تظهر فيها نمو في أثناء تحديد التركيز المثبط الأدنى بطريقة صب الأطباق فظهرت النتائج وكما مبين في الجدول (٧) .

الجدول (٧) التركيز القاتل الأدنى(MBC) لمستخلصات السبحبح في الجراثيم المعزولة من الحروق والجروح الخمجية (التراكيز مقاسة بالملغم / مل) .

نوع المستخلص النباتي المستخدم التركيز (ملغم / مل)	التركيز القاتل الأدنى لمستخلصات السبحبح المختلفة في الأنواع الجرثومية المدروسة		
	St. aureus	*St. epidermidis*	*Ps. aeruginosa*
مستخلص خلات الأثيلي لقلف السيقان	١,٠	٠,٥	١,٠
المستخلص الميثانولي لقلف السيقان	١,٠	١,٠	١,٠
مستخلص خلات الأثيلي للبذور	١,٠	٠,٥	٢,٠

المستخلص الميثانولي للبذور	٢,٠	٠,٥	١,٠
المستخلص الكلوروفورمي للبذور	٢,٠	٠,٥	٢,٠

- التراكيز القاتلة الأدنى تم حسابها باستخدام ثلاث مكررات لكل نوع جرثومي .

المناقشة

إن مسألة وجود المركبات الفعالة المضادة للبكتريا هي حقيقة لا يمكن تجاهلها. وتمثل هذه النباتات المصدر الأساسي والمجهز للمركبات التي قد توحي إلى اكتشاف عقارات جديدة مشابهة لتلك الموجودة فيها مما يساهم بفاعلية عالية في علاج وإدامة صحة الإنسان .[٢٠] .

يتضح من خلال النتائج المسجلة أن أعلى تأثير تثبيطي كان مع مستخلص خلات الأثيلي للقلف في الجراثيم المدروسة ، في حين كان أعلى تأثير لمستخلصات البذور مع المستخلص الكلوروفورمي ، وربما يرجع ذلك الى قابلية ذوبان المركبات المضادة الفعالة في هذين المذيبين ، أو قد يكون المواد المذابة هي الزيوت أو التانينات أو الفينولات والتي تتميز بفعاليتها المضادة للميكروبات ، إذ أن عملية الاستخلاص تعتمد أساسا على نوعية وخواص المذيب المستخدم في عملية الاستخلاص وطبيعة المركبات الذائبة والمفصولة [٢٠] . كما يعتقد بأن الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات السبحبح يعود إلى احتوائها على وفرة من مركبات التربينات ثلاثية المثيل [٢] . أو قد يعود الفعالية التثبيطية إلى احتواء المستخلصات النباتية إلى الفلافونات والقلويدات التي تتميز بخاصيتها المضادة لنمو البكتريا [١٣و ٤] .

لقد تبين من النتائج أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام *St. aureus* و *St. epidermidis* كانت أكثر حساسية من البكتريا السالبة لصبغة كرام *Ps. aeruginosa* ، فقد يعزى ذلك إلى كون طبقة الميورين Murine الموجودة في الغشاء الخارجي من جدران خلايا البكتريا السالبة لصبة كرام تمنع نفوذ ومرور المواد الفعالة المضادة من خلالها بكفاءة عالية إلى داخل الخلية ، وطبقا لذلك فان المواد الفعالة ربما يكون قد ثبط في أثناء مرورها ونفاذها خلال جدران جرثومة الزوائف الزنجارية . أما بالنسبة لسبب اختلاف حساسية جرثومتا *St. aureus* و *St. epidermidis* فيعتقد أن سببه هو اختلاف حساسية الجراثيم للمركبات النباتية باختلاف السلالات ، ولقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات سابقة [١،٣،٨،١٢،١٥،١٧،٢٠،٢١] والتي أثبتت امتلاك مستخلصات خلات الأثيلي والميثانولي والكلوروفورمي تأثيرا تثبيطيا في الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، فضلا عن الفطريات والفيروسات والطفيليات .

إن ما يجدر ذكره هو أن المستخلصات النباتية التي تؤثر بتراكيزها الواطئة في الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية كجرثومتا المكورات العنقودية الذهبية *St. aureus* والزوائف الزنجارية *Ps. aeruginosa* تعد مهمة جدا من الناحية الطبية وذلك لأن الفعالية السمية في هذه النباتات تقل أيضا تبعا لذلك .

ومن جهة أخرى فقد اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع النتائج التي توصل إليها [١١] التي أثبتت عدم امتلاك مستخلصات نبات السبحبح فعالية تثبيطية في بعض الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام بضمنها جرثومتا *St. aureus* و *Ps. aeruginosa* .

المصادر

1- Abdul Viqar, Kh.; Athr, Kh. And Indu, Sh. (2008). In Vitro Antibacterial Potential of *Melia azedarzch* Crud Leaf Extracts Against some Human Pathogenic Bacterial Strains . J. Ethnobotanical Leaflets , 12:439-445.

2- Bagge, David. (2000). Limonoids: Pesticide to Antibacterial Applications Activity from Secondary Metabolites of the Rutaceae and Meliaceae . Colorado State University , Fort Collins , Colorado , USA.

3- Carpinella, M.C.; Ferrer, M.H.; Rollá, M.R. and Palacios. (2006). Bactericide Activity of Extracts from Different Plant Structure of *Melia azedarach* L. , J. Molecular Medicinal Chemistry , 11:10-11.

4- Draughon, F.A.(2004). Use of Botanicals as Biopreservatives in Food technology . 58(2):20-28.

5- Harborn, J.B. (1973). Phytochemical Methods. Aguide to Modren Technology of Plant Analysis , Topman and Hall Ltd , Tokyk , Japan .

6- Hassanein, N.M.; Abou Zaid, M.A.; Youssef, K.A. and Mohmod, D.A. (2008) Efficacy of Leaf Extracts of Neem (*Azadirachta indica*) and Chinaberry (*Melia azedarach*) Against Early Blight and Wilt Diseases of Tomato , Australian Journal of Basic and Applied Sciences , 2(3):763-772 .

7- Kellow, J. (1994). *Melia azedarach* (White Cedar). Landscape Plant Manual. Vol. (1). Burnley College, Australia .

8- Khan, AV.; Parveen, G.A.; Alam, M.M. and Singh, VK. (2002). Ethnomedicinal Uses of Neem in Rural Area of Ultra Pradesh, India. Ethnomed. and Pharmacog. II Rec Prog. In Med. Plants PP. 7:319-329 , (Sci. Tech. Pub. USA) .

9- Khan, MR.; Kilhara, M. and Omoloso, AD. (2001). Antimicrobial Activity of *Horsfieldia helwigii* and *Melia azedarach* , Fitotropia , 72(4):423-427 .

10- Lee, Y.S.; Chng, I.B.; Chio, W.H.; Cho, Y.J.; Chu, J.P.; Miu, B.I. and Shin, E.H. (2007). Inhibitory Effects of *Melia azedarach* L. Extracts on the Growth of *Trichomonas vaginalis* – Ultra Structural Changes of *Trichomonas vaginalis* by *Melia azedarach* L., J. Protozool . Res. 17:16-24 .

11- Mahato, R.B. and Chaudhary, R.P. (2005). Ethnomedicinal Study and Antibacterial Activity of Selected Plants of Palpa District, Nepal, Scientific World . Vol. 3(3): 26-31 .

12- Matu, E.N. and Van Standen, J. (2003). Antimicrobial and Anti – Inflamatory Activity of Some Plants Used for Medicinal Purpose in Kenya . J. Ethnopharmacol. , 87:35-41 .

13- Neweze, E.T.; Qkafor, J.I. and Nioku, O. (2004). Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of *Trema guineensis* (Schumm and Thorn) and *Murinda lucida* Benth Used in Nigeria HerbalMedicinal Practice , J. Biol. Res. Biotechno. , 2 (1):39-48 .

14- Owais, M.; Sharad, K.S.; Shebhaz, A. and Saleemuddin, M. (2005). Antibacterial Efficacy of *Withania sominifera* an Indigenous Medicinal Plant Against Expeimental Murine Salmonellosis . J. Phytomedicine, 12:229-235 .
15- Ramya, S.; Jepacharamohan, P.J.; Alaguchamy, N.; Kalayanasundaran, M. and Jayakamararaj ,R. (2009). In Vitro Antibacterial Prospective of Crud Leaf Extracts of *Melia azedarach* Linn. Against Selected Bacterial Strains , Ethnobotanical Leaflets , 13:254-258 .
16- Rhaymah, M.SH. (2006). Anti Complementary Activity of Aqueous Extracts of Fruits of *Melia azedarach* and *Contoneaster prostratae* In Rats. J. Animal and Veterinary Advances .5 (3): 197-199
17- Saleem, R.R.; Rizwana, A.; Muhammad, S.; Farzana, A. and Sayed Iqbal, Z. (2008). Effect of Cream Containing *Melia azedarach* Flowers on Skin Diseases in Children. Phytomedicine International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology .10:1-10.
18. Sherman, N. and Cappuccino, J. (2002). "Microbiolgy" A Laboratory Manual. 6th. Ed. Benjamin Cumming , New York , USA .
19- Srinivasa, D.; Nathan, S.; Suresh, T. and Perumasamy, O. (2001). Antimicrobial Activity of Certain Indian Medicinal Plants Used in Folkloric Medicine . J. Ethnopharmacol. 74:217-220 .
20- Suresh, K.; Deepa, P.; Harisaranraj, R. and Vaira, A. (2008). Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leafves of *Carica papaya* L. , Cyanedon L. Pres. , *Euphorbia hirata* L., *Melia azedarach* L. and *Psidium guajava* L. . J. Ethnobotanical Leaflets , 12:1184-1191 .
21- Tortora, G.J.; Funk, B.R. and Case, C.L. (2001). Microbiology: An Introduction .San Francisco: Benjamin Cummings .
22- Vishnakata, AC.R. (2008). *Melia azedarach*: A phytopharmacological Review. Pharmacognosy Network World Wide , 2 (3):173-179 .

Discovery of An Antimicrobial Activity of *Melia azedarach* L. Extracts on Some Kinds of the Germs Isolated From Burns and Infectious Wounds .

Bassam Hussein Auoyb Al-Jumeily

Biology Department , College of Science , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

(Received 20 / 10 / 2009 , Accepted 18 / 1 / 2010)

Abstract

Melia azedarach L. is below to the family Meliaceae and used as medicinal plants which have been widely used in traditional folk medicine . Seeds oil have an antibacterial activity .So as different extracts have an antibacterial , antifungal , and antiviral activity . So that the present study aimed to detect and evaluate the antibacterial activity of bark and seeds extracts of Chinaberry . The study contained three species of bacteria which were *Staphylococcus aureus* , *Staphylococcus epidermidis* (Gram positive) and *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negative) , all were isolated from burns and infectious wounds . Results show that ethyl acetate extract of bark of stem was having an inhibitory effect in all kinds of germs so, highest inhibition was in *Staph. epidermidis* , which appeared high sensitivity for different extract by comparintly with two species of bacteria . So the inhibition zone was (31) mm with the highest concentration (200)mg / ml , followed by methanolic extract of bark which showed an inhibitory effect higher than from seeds extracts , while for seed extracts , chloroformic extract have showed an highest effect among seed extracts . Followed by ethyl acetate extract while the methanolic extract of seeds have showed littlest effect among studied extracts . Also minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration have been determined which differs according to difference of extracts and its concentrations and processed germs up it . Also the present study have showed that G^+ bacteria have appeared to be more sensitive than for Chinaberry extracts comparing with G^- .