تأثير مستخلصي نبات القرنفل والنعناع المنزلي على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من مرضى التهاب اللثة

م.م. سعاد خيري عبد الوهاب
كلية التربية / الرازي ، جامعة ديالى

الخلاصة

لقد تم اختبار نوعين من النباتات الطبية (القرنفل والنعناع المنزلي) وتقييم مدى فعاليتهما على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* .

أظهرت الدراسة ان تركيز المستخلص المائي (50%) كان الأكثر فعالية من التراكيز (40% ، 30% ، 20%) ، اذ كانت أقطار التثبيط (12.155± 3.919) ملم و(9.755 ± 3.365) ملم بالنسبة لنباتي القرنفل والنعناع المنزلي على التوالي .

وعند المقارنة بين مستخلص نبات القرنفل ومستخلص نبات النعناع المنزلي وجد ان مستخلص نبات القرنفل كان افضل من مستخلص نبات النعناع المنزلي عند تركيز (20 %) اما عند تركيز (50%) فقد اظهر مستخلص نبات القرنفل فروق عالية المعنوية في حين اظهر مستخلص نبات النعناع المنزلي فروق معنوية عند نفس التركيز .

الكلمات المفتاحية: نبات القرنفل, نبات النعناع, بكتريا المكورات العنقودية

المقدمة

تحتل النباتات الطبية مكانة مميزة في الوقت الراهن في الإنتاج الزراعي والصناعي سواء في الدول المنتجة لها أو من قبل منظمة الصحة العالمية نظراً لكونها تشكل بديلاً فعالاً للأدوية المستعملة حاليا. [1] . ويعرف النبات الطبي بأنه أي نبات أو أي جزء منه يسهم في حفظ الصحة في الأجسام السليمة ودرء المرض عن الأجسام السقيمة [2] .

تحتوي النباتات أو أجزاء منها على مواد كيمياوية ذات فائدة وأهمية كبرى لتأثيرها الفسلجي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان وتتكون هذه المواد كنواتج ثانوية من عمليات الايض داخل النباتات وتسمى بالمنتجات الطبية أو المركبات العرضية ، وتبعاً لفعاليتها العلاجية لكثير من الأمراض وإزالة أعراضها وقابليتها على الشفاء السريع أطلق على هذه المنتجات المواد الفعالة [3] .

استعملت العديد من مستخلصات النباتات والوصفات العشبية لعلاج حالات مستعصية العلاج بالمضادات الحيوية ومنها مستخلص نبات الثوم والبصل والياس وغيرها [1] .

أوضحت بعض الدراسات أن للنباتات مثل القرنفل والنعناع المنزلي أهمية في الطب العشبي [2] . وفي هذه الدراسة تم اختيار نوعين من النباتات الطبية وتحديد درجة تاثيرهما على بكتريا *Staphylococcus aureus* وهما :

1- القرنفل *Eugenia caryophllata*

هو عبارة عن أشجار صغيرة ، مخروطية الشكل ، دائمة الخضرة ، من العائلة الآسية ، تتحول البراعم الطرية إلى لون بني بعد التجفيف وهي عبارة عن براعم زهرية غير متفتحة . للقرنفل رائحة نفاذة وكثيراً ما يستعمل كمطهر موضعي في حالات وجع الأسنان ويدخل في صناعة معاجين الأسنان وغسول الفم أما زيت القرنفل الذي يحصل عليه بالتقطير فيستفاد منه طبياً كمساعد على الهضم ولخاصيته المطهرة ولفعاليته المضادة للتشنج [4] .

وتحتوي الازهار على المواد التالية Methyl salicylate , Benzyl benzoate, Benzyl salicylate , Eugenal pheyl ethyl alcohol [5] .

2- النعناع المنزلي *Mentha viridis*

يعود جنس النعناع الى العائلة الشفوية وجنس النعناع يحتوي على أكثر من 25 نوع من النباتات . يعد نبات النعناع من النباتات المهمة جدا لفائدته الغذائية والعلاجية واستعمل كمطيب للأغذية وكعلاج للإمراض [6] . تنمو أنواع النعناع المختلفة تحت ظروف مناخية متشابهة وفي درجة حرارة تتراوح بين (20 – 35) م°. يمتاز النعناع المنزلي بأنه من النباتات المتوسطة النمو ومحدودة التفريع القائم ، يصل ارتفاعه إلى 50 سم. الأوراق قلبية أو مستطيلة الشكل طولها يتراوح بين (3 – 5) سم وعرضها (1 – 2,5) سم جالسة الوضع وحافتها مسننة تسنناً غير متساوي الحجم ، لونها اخضر والأزهار صغيرة جدا وذات لون احمر أو ارجواني [7] . لزيت النعناع بعض الخواص المطهرة وكذلك يدخل في تحضير معاجين الأسنان وصناعة الصابون [8] .

أظهرت الزيوت الطيارة لعدد من النباتات ومنها النعناع فعالية تثبيطية عالية على بكتريا *S. aureus* [9] ونظرا للصفات المذكورة أعلاه جاءت هذه الدراسة لغرض توظيف مستخلصات هذين النباتين في المجال الطبي وامكانية استعمالهما ضد بكتريا *S. aureus* التي تصيب مناطق مختلفة من جسم الانسان ومن ضمنها الفم وباستخدام تراكيز متعددة لهذين النباتين وخصوصا بعد تزايد علامات الخطر التي تمثلت بمقاومة هذه البكتريا ضد بعض العقاقير والمضادات الحيوية .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات وعزل البكتريا :

جمعت (50) مسحة من المرضى المصابين بالتهاب اللثة والمراجعين للمركز التخصصي للأسنان في محافظة ديالى للفترة من شباط / 2009 لغاية حزيران /2009 . وباستخدام مسحات قطنية معقمة Sterile cotton swabs مرطبة بمحلول الملح الفسلجي. ثم نقلت العينات إلى المختبر وزرعت على أطباق حاوية على أوساط زرعية شملت وسطي أكار الدم الصلب و واكار الماكونكي بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق هوائيا بدرجة حرارة (37) م° لمدة(24) ساعة .حفظت الأطباق بدرجة حرارة (4) م° لحين استخدامها في الاختبارات التشخيصية.

تشخيص العزلات البكتيرية :

- التشخيص المجهري

صبغت جميع العزلات بصبغة كرام وتم تثبيت الصفات المجهرية للبكتريا من حيث الشكل والاصطباغ بصبغة كرام وشكل تجمع الخلايا .

- التشخيص الزرعي

تمت ملاحظة الصفات الزرعية للمستعمرات النامية على الاوساط الزرعية التالية :

وسط اكار الدم

تمت ملاحظة الصفات الشكلية للمستعمرات النامية والكشف عن امكانية البكتريا على انتاج انزيم الهيمولايسين من خلال نوع التحلل .

وسط اكار الماكونكي

يتم الكشف عن البكتريا السالبة لصبغة كرام بامكانية نموها على وسط اكار الماكونكي ويعد هذا الوسط تفريقيا لدراسة الصفات الشكلية لمستعمراتها ولتفريق البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز عن غير المخمرة لسكر اللاكتوز (تظهر البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز حمراء او وردية على سطح الوسط اما اذا كانت غير مخمرة لسكر اللاكتوز فتكون بألوان شفافة)

- التشخيص الكيموحيوي

- اختبار الكتاليز Catalase test

تم نقل جزء من المستعمرات النامية على شريحة زجاجية نظيفة اضيف لها قطرة او قطرتين من محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (3 %) يكون الفحص موجبا عند ظهور فقاعات غازية نتيجة لتحرير غاز الاوكسجين دلالة على ان البكتريا عائدة الى جنس المكورات العنقودية [10].

- اختبار الاوكسيديز Oxidaes test

وضعت عدة قطرات من كاشف الاوكسديز على ورقة ترشيح. نشر على ورق الترشيح جزء من المستعمرة بواسطة عود خشبي معقم عند تحول لون المستمرة الى اللون البنفسجي الغامق يكون الفحص ايجابي [11].

-اختبار تخمر سكر المانتول Mannitol test

استخدم وسط غراء المانتول الملحي لغرض التاكد من ان العزلة تعود للعنقوديات الذهبية وتمييزها عن العنقوديات البشروية من خلال قدرة الاولى على تخمر سكر المانتول مسببة تغير لون الوسط من الاحمر الى الاصفر [11].

-اختبار تخثر البلازما Plasma coagulase test

استخدم الفحص لتييز سلالات المكورات العنقودية المنتجة لهذا الانزيم عن غير المنتجةمنها وحسب طريقتي الشريحةSlide coagulase test والانبوبTube coagulase test[11].

استخلاص النباتات

جهزت العينات النباتية لعمل المستخلصات المائية من الاسواق المحلية وقد شخصت هذه العينات في معشب جامعة بغداد / كلية العلوم / قسم علوم الحياة .

طحنت العينات النباتية المجهزة للاستخلاص باستخدام طاحونة كهربائية نوع (Moulinex) . تم اخذ (50) غرام من المسحوق وأضيف الى (500) مللتر ماء مقطر مغلي بدرجة حرارة (100) م° وضع المحلول في الحاضنة الهزازة لمدة (30) دقيقة على حرارة (35) م° بعدها رشح المزيج بواسطة ثلاث طبقات من قماش الشاش لفصل العوالق الكبيرة . وضع الرائق في جهاز الطرد المركزي وبسرعة (3000 دورة / دقيقة) لمدة (15) دقيقة. اخذ المستخلص وتم تحضير التراكيز المتسلسلة (20% ، 30% ، 40%، 50 %) من تخفيف التركيز الكامل[12] . تم التأكد من عدم تلوث المستخلص وذلك بزرع (0.1) مللتر منه على وسط الاكار المغذي وحضن لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة(37) م° [10].

اختبار فعالية المستخلصات النباتية لنباتي القرنفل والنعناع المنزلي على البكتريا المعزولة :

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر لملاحظة تأثير المستخلص على نمو الأحياء المجهرية تم نقل (0.1) مل من المعلق الجرثومي بعمر (24) ساعة وقورنت عكرة النمو بمحلول ثابت العكرة القياسي (مكفرلاند) ونشر على وسط مولر هنتون اكار .عملت حفر على سطح الوسط المزروع باستخدام الثاقب الفليني (Cork borer) المعقم وضعت بعدها تراكيز مختلفة (20% ، 30 %، 40 % ، 50%) بمقدار (50) مايكرولتر في كل حفرة مع عمل حفرة سيطرة حاوية على ماء مقطر معقم حضنت الأطباق لمدة (24) ساعة وبدرجة جرارة (37) م° وبمعدل ثلاث مرات لكل عزلة . حددت فعالية المستخلص بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة بالملمتر وتم حساب المعدل للمكررات الثلاثة [13].

النتائج والمناقشة

بعد اجراء الفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية تبين ان من مجموع العينات المعزولة من المرضى والبالغة 50 كانت 15 عينة فقط تعود الى بكتريا *S. aureus* .و بينت النتائج للمستخلص المائي الحار لنبات القرنفل وجود فروقات عالية المعنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) على بكتريا *S. aureus* ،اذ كانت أقطار التثبيط عالية تراوحت بين (2.73 ± 2.82) ملميتر عند التركيز 20 %، و(12.155 ± 3.919) ملميتر عند التركيز 50 % أي كانت هناك فرق معنوي بين أعلى وأوطأ تركيز.مما يتضح ان التركيز 50 % كان الاكثر فعالية من التراكيز (20% ، 30% ، 40%) كما هو مبين في جدول 1 وهذه النتائج تتفق مع الدراسات الاخرى التي وجدت انه كلما زاد التركيز كلما كان التاثير اكثر على هذه البكتريا [14،15].

ان استجابة بكتريا *S. aureus* لتأثير المستخلص قد يعود سببه الى المواد الفعالة الموجودة في نبات القرنفل مما يودي الى تقليل نسبة البكتريا في اللعاب واللويحات البكتيرية تحت اللثوية .

جدول 1. تأثير تراكيز مستخلص نبات القرنفل على *S. aureus* .

تركيز مستخلص نبات النعناع	المتوسطات	S.D	L.S.D
% 20	2.733	2.823	1.337
% 30	6.266	2.535	
% 40	8.977	3.401	
% 50	12.155	3.919	

اما المستخلص المائي الحار لنبات النعناع المنزلي فقد أظهرت النتائج وجود فروق معنوي عالي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) على بكتريا *S. aureus* ،اذ كانت أقطار التثبيط عالية تراوحت بين (2.688 ± 2.108) ملميتر عند التركيز 20 %، و(9.755 ±3.365) ملميتر عند التركيز 50 % أي كانت هناك فرق معنوي بين أعلى وأوطأ تركيز.مما يتضح ان التركيز 50 % كان الأكثر فعالية من التراكيز (20% ، 30% ، 40%) كما هو مبين في الجدول 2 وهذه النتائج تتفق مع الدراسات الأخرى التي وجدت انه كلما زاد التركيز كلما كان التأثير أكثر على هذه البكتريا [16 ,17, 18].وقد اظهرت هذه الدراسات ان الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية يعود الى المكونات الكيميائية والمعادن الموجودة فيها والتي تتداخل مع العمليات الايضية ومع نمو البكتريا وبالتالي تعمل على تحطيم هذه البكتريا [17] .

جدول 2. تأثير تراكيز مستخلص النعناع المنزلي على *S. aureus* .

تركيز مستخلص نبات النعناع	المتوسطات	S.D	L.S.D
% 20	2.688	2.108	1.165
% 30	4.577	2.444	
% 40	7.333	3.104	
% 50	9.755	3.365	

وعند المقارنة مابين المستخلص المائي الحار لنبات القرنفل والمستخلص المائي الحار لنبات النعناع المنزلي نلاحظ في الجدول 3 ان مستخلص نبات القرنفل تغلب على نبات النعناع المنزلي عند تركيز 20 % حيث ان نبات النعناع المنزلي لم يظهر أي فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) على بكتريا *S. aureus* ، اذ تراوحت أقطار التثبيط بين (2.68 ± 2.02) ملميتر عند التركيز 20 %، في حين اظهر نبات القرنفل فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) على بكتريا *S. aureus* اذ كانت اقطار التثبيط تتراوح بين (2.72 ± 2.81) ملميتر عند التركيز 20 % .

اما عند التركيز 50 % بالنسبة لمستخلص نبات القرنفل اظهر فرق معنوي عالي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) على بكتريا *S. aureus* ،اذ كانت أقطار التثبيط عالية تراوحت بين (12.12 ± 3.91) ملميتر في حين اظهر نبات النعناع المنزلي عند نفس التركيز فرق معنوي اذ تراوحت أقطار التثبيط بين (9.72 ±3.36) ملميتر .

جدول 3 تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص نباتي النعناع والقرنفل على العزلات البكتيرية .

المعاملات	المتوسطات	S.D	L.S.D
مستخلص نبات النعناع بتركيز (20%)	2.68	2.02	2.17
مستخلص نبات النعناع بتركيز (30%)	4.57	2.43	
مستخلص نبات النعناع بتركيز (40%)	7.33	3.10	
مستخلص نبات النعناع بتركيز (50%)	9.72	3.36	
مستخلص نبات القرنفل بتركيز (20%)	2.72	2.81	
مستخلص نبات القرنفل بتركيز (30%)	6.26	2.49	
مستخلص نبات القرنفل بتركيز (40%)	8.97	3.40	
مستخلص نبات القرنفل بتركيز (50%)	12.12	3.91	

المصادر

1. السلامي ، نبراس يحيى عبدالله . (2006) . دراسة تاثير مستخلصات نباتي الياس *Myrtus communis L* والثوم Allium sativum في بكتريا Psedomonas aeruginosa خارج وداخل الجسم الحي . رسالة ماجستير . كلية التربية للبنات . جامعة الكوفة .
2. الجبوري ، علي عواد والراوي ، محمد عبدالله . (1993) . علم الادوية الطبيعية . جامعة بغداد .
3. العزاوي ، احمد حربي ابراهيم . (2006) . دراسة كيميائية لمستخلصات نبات الريحان وتقييم فعاليتها على بعض الأحياء المجهرية المرضية . رسالة ماجستير . معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا . جامعة بغداد .
4. الكاتب ، يوسف محمد .(2000) . تصنيف النباتات البذرية . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .
5. مجيد ، سامي هاشم ومحود ، مهند جميل . (1988) . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي . مجلس البحث العلمي . مركز بحوث علوم الحياة .
6. الخفاجي ، الاء علي مطرود (2005) . تاثير مستخلصات نبات اليوكالبتوس Eucalyptus camaldulensis ونبات النعناع Menthavirdis على البكتريا المصاحبة لالتهابات الجهاز التنفسي العلوي في الاطفال . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .
7. الشحات ، نصر ابو زيد . (1984) . النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية . دار العربية للنشر والوزيع .
8. المنظمة العربية للتنمية الزراعية . (1988) . النباتات الطبية والعطرية السامة في الوطن العربي . الخرطوم .
9. Al-Ani, A.B.J.; Nadir, M.T. and Al-Khazraij, N.K. (1996) .The antimicrobial activity of volatile oils isolated from some Iraqi plant. J. Al-Anbar Unin., (1) :82-86.
10. الربيعي ، زيد شاكر ناجي (2000) تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتي الحنظل *Citrullus olocynthis* وعنب الذيب *Solanum nigrum* في نمو بعض البكتريا المعزولة من اخماج الحروق. رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .
11. Cruickshank, R. ; Duguid, J.P. ; Marmion, B.P. and Swain, R.H. (1975) . Medical Microbiology .12thed. Churchill Livingston. London .
12. محمد ، بان طه . 1995 . تأثير مستخلص نبات الحامول *Cuscuta spp* في أنبات ونمو بعض الانواع النباتية . رسالة ماجستير .كلية العلوم . جامعة بابل .
13. Vignol, G.M. ; Suriani, F. ; Holgado, A.P. and Oliver, G. (1993) . Antibacterial activity of *Lactobacillus* strains Isolated from dry fermented sausages . J. APP. Bac. 75:344-349 .
14. Watanabe, E. ; J.M.G. Tanomaru ; A.P. Nascimento ; F. Matoba-Junior ; M. Tanomaru-Filho . and I.Y. Ito. (2008) . Determination Of the maximum inhibitory dilution of

cetylpyridinium chloride-based mouthwashes against *Staphylococcus aureus* : Anin vitro study. J. Appl. Oral. Sci., 16(4):275-279 .

15. W.H.H. Azinta, Z. Zainal-Abidin, E. Aznan and M. N. Razi. (2009). The effectiveness of chlorhexidine, Hexethdine and Eugenia caryophyllus Extracts in Commercialized oral Rinses to Reduce Dental plaque microbes. Research Journal of Biological Sci., 4(6) :716-719.
16. Yasmin, Hasina; Md. Abulkaisar ; Md. Moklesur Rahman Sarker ; Mohammed Shafikur Rahman and Mohammad A.Rashid . (2009) . Preliminary Anti-bacterial activity of some Indigenous plants of Bangladesh. J. Pharm. Sci. 8(1):61-65.
17. Padmini, E.; Valarmathi, A. and Usha Rani, M.(2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis.* Asian J. Exp. Biol. Sci. ,1 (4):772-781.
18. Keskin, D. and Toroglu, S. (2011). Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices. J. Environ. Biol.32: 251-256.

EFFECT OF TWO PLANT EXTRACTS OF *Eugenia caryophllata* AND *Mentha viridis* AGAINST *Staphylococcus aureus* ISOLATEED FROM GUM INFAMMATION PATIENTS

Suaad K.Abd Al-Wahab (M.Sc.)

Al-Razi College of education

ABSTRACT

Two types of medical plants(*Eugenia caryophllata* and *Mentha viridis*) extract were chosen to evaluate the range of their activity on *Staphylococcus aureus* isolated from patients with peridontitis .

The study revealsthat the concentration 50% is more active than (20% , 30%, and 40%) . The inhibition diameter (3.919 ± 12.155) mm due to *Eugenia caryophllata* and *Eugenia caryophllata* measurement respectively .

In comparison between the extraction of *Eugenia caryophllata* plant and *Mentha viridis* plant, it was found that *Eugenia caryophllata* plant extraction more at (20%) concentration. Whereas at the concentration of (50%) *Eugenia caryophllata* plant extraction shows very significant difference, *Mentha viridis* plant extraction shows significant difference at the same concentration .

Key words: *Eugenia caryophllata*, *Eugenia caryophllata, Staphylococcus aureus*