رقم الترتيب:.....
رقم التسلسل:.....

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح – ورقلة –

كلية الرياضيات و علوم المادة

قسم الكيمياء

أطروحة التخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء

تخصص : كيمياء عضوية

من اعداد الطالب : بن ساسي حمزة

تحت عنوان :

" دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات مختلفة لنبتتي الرتم و الدرين "

Etude de la bioactivé des différents extraits de deux plantes, Retama raetam (Forssk.) Webb et Aristida pungens (Desf.) DeWinter

نوقشت يوم: 2018/11/19

اللجنة المناقشة :

أ.د/ لوناس علي	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة قاصدي مربـــاح - ورقلـــــة-	رئيساً
أ.د/ دادة موسى بلخير	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة غرداية -غردايـــــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ شاوش قاسم نور الدين	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة منتوري - قسنطينـــــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ صالحي نسرين	أستاذة محاضرة - أ- بجامعة قاصدي مرباح - ورقـلة-	ممتحنةً
أ.د/ ديبي عمار	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة الحاج لخضر - باتنـــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ صخري لخضر	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة قاصدي مربـــاح - ورقلـــــة-	مقرراً

2019 / 2018

رقم الترتيب:.....
رقم التسلسل:.....

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح – ورقلة –

كلية الرياضيات و علوم المادة

قسم الكيمياء

أطروحة التخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء

تخصص : كيمياء عضوية

من اعداد الطالب : بن ساسي حمزة

تحت عنوان :

" دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات مختلفة لنبتتي الرتم و الدرين "

Etude de la bioactivé des différents extraits de deux plantes, Retama raetam (Forssk.) Webb et Aristida pungens (Desf.) DeWinter

نوقشت يوم: 2018/11/19

اللجنة المناقشة :

أ.د/ لوناس علي	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة قاصدي مربـــاح - ورقلـــــة-	رئيساً
أ.د/ دادة موسى بلخير	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة غرداية -غردايـــــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ شاوش قاسم نور الدين	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة منتوري - قسنطينـــــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ صالحي نسرين	أستاذة محاضرة - أ- بجامعة قاصدي مرباح - ورقـلة-	ممتحنةً
أ.د/ ديبي عمار	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة الحاج لخضر - باتنـــــــــة-	ممتحناً
أ.د/ صخري لخضر	أستاذ تعليم عالٍ بجامعة قاصدي مربـــاح - ورقلـــــة-	مقرراً

2019 / 2018

الإِهدَاء

إلى أمي نور عيني، حفظها الله و رعاها.

إلى أبي، عافاه الله و هداه.

إلى إخوتي سفيان، أسامة، وليد، منصف.

إلى أخواتي نادية، رميصة.

إلى رفيقي عثماني عبد العالي.

إلى أستاذي الفاضل صخري لخضر.

إلى كل من قدم لي يد العون لإنجاز هذا العمل.

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة جهدي.

تَشَكُّرَات

أشكر الله العلي القدير على توفيقي لإنجاز هذا العمل.

أتقدم بالشكر الجزيل و الإمتنان لأستاذي الفاضل صخري لخضر أستاذ التعليم العالي بجامعة قاصدي مرباح - ورقلة- ، الذي تشرفت بإنجاز هذا العمل تحت إشرافه، فكان نعم المشرف بفضل توجيهاته القيّمة.

و الشكر موصول إلى لجنة المناقشة على تقبلهم مناقشة و إثراء هذا العمل.

كما أشكر كل من ساهم في هذا العمل من قريب أو بعيد، وأخص بالذكر الدكتورة بن كينة حليمة، مستشفى العقيد شعباني -المنيعة-

الملخص

تمت دراسة الفعالية التثبيطية لنوعين من النباتات الطبية الواسعة الانتشار في صحراء شمال افريقيا وهما : نبات الرتم *Retama raetam (Forssk.) Webb*
و نبات الدرين *Aristida pungens (Desf.) DeWinter*

وفق مرحلتين :

- **المرحلة الأولى :**

استخلصت المواد الفعالة للنبتتين باستخدام مذيبات عضوية (الميثانول ، ثنائي ايثيل ايثر و خلات الايثيل)، وتم اختبارها على أربع أنواع من البكتيريا المسببة لعدد من أمراض المسالك البولية وهي :
(*S. aureus* ، *P. mirabilis* ، *Salmonella* ، *E. coli*) ، وهذا باستخدام طريقة اختبار الأقراص (*Disc diffusion test*) بتراكيز مختلفة، حيث كانت النتائج كالتالي :

- من خلال نتائج الكشف الأولي التمهيدي لسيقان نبات الرتم، تبين أنه يحتوي على مواد فعالة تتمثل في : الكومارينات، الغلايكوسيدات، التانينات، الزيوت الطيارة، الصابونيات، التربينات، وكذا القلويدات و الفينولات اللذان يعدّان من المواد المضادة للبكتيريا والمسؤولة عن الفعالية المضادة للأحياء المهجرية ، بالإضافة إلى الفلافويدات التى تعدُّ من المواد المضادة للأكسدة.
- من خلال نتائج الكشف الأولي التمهيدي لأوراق نبات الدرين، تبين أنه يحتوي على نفس المواد في نبات الرتم، باستثناء القلويدات و الزيوت الطيارة.
- مستخلصات سيقان نبات الرتم، ذات تأثير فعال في تثبيط نمو تلك الجراثيم خارج جسم الكائن الحي باستثناء بكتيريا *P. mirabilis*. أبدى المستخلص الكحولي أعلى معدل قطر تثبيط على بكتيريا *Salmonella* **(*16mm*)** ، عند التركيز (*100mg/ml*).
- لا فعل تثبيطيا لمستخلصات أوراق نبات الدرين على البكتيريا المدروسة باستثناء الفعل التثبيطي البسيط للمستخلص الميثانولي على بكتيريا الـ *E. coli* ، حيث بلغ **(*8mm*)** .

- **المرحلة الثانية :**

درست الفعالية التثبيطية لمستخلصات النبتتين بتركيز *100mg/ml* ، بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Gentamicin*،*Vancomycin*،*Cefazolin*) ، ذات التأثير الفعال على البكتيريا المدروسة، حيث أظهرت النتائج أن :

- الفعل التشاركي لمستخلصات سيقان نبات الرتم أظهر فعلا تآزريا على جميع البكتيريا المدروسة، باستثناء بكتيريا *Salmonella*. كان أكبر فعل تثبيطي للتآزرمن طرف المستخلص الميثانولي مع المضاد الحيوي *Gentamicin* على بكتيريا الـ *P. mirabilis*، إذ ساهم في زيادة الفعالية التثبيطية للـ *Gentamicin* بنسبة ***8.31%*.**
- الفعل التشاركي لمستخلصات أوراق نبات الدرين مع المضادات الحيوية لم يبد أي فعل تآزري محسوس.

الكلمات المفتاحية: نبات الرتم، نبات الدرين، مذيبات عضوية، المضادات الحيوية، البكتيريا، التآزر.

Abstract

We studied two types of widespread medicinal plants in the North African desert, namely: plant of *Retama raetam (Forssk.) Webb*.

and plant of *Aristida pungens (Desf.) DeWinter*

According of two stages:

- The first stage :

Extracted active substances for the two plants by using organic solvents (*methanol, diethyl ether and ethyl acetate*), were tested it on four types of bacteria that cause a number of diseases of the urinary tract which is: (*E. coli, Salmonella, S. aureus, P. mirabilis*). By using disc test method (*test disc diffusion*) at different concentrations, where the results showed:

• The results of the initial chemical detection primer of *Retama* plant stalks, showing that it contains an active ingredients are: Coumarins, Glycosides, tannins, volatile oils, Saponins, terpenes and also alkaloids and phenols which are responsible of the inhibition activity on bacteria , as well as Flavonoids which is one of antioxidants.

• The results of the initial chemical detection primer of *Aristida leaves* plant, showing that it contains the same material in *Retama* plant, with the exception of alkaloids and volatile oils.

• The extracts of *Retama stalks* plant, showed significant inhibition on the growth of these bacteria outside the organism body, with exception of *P. mirabilis*.

The alcoholic extract of *Retama stalks* plant showed the highest inhibition diameter zone on *Salmonella* **(*16mm*)**, when the concentration is (*100mg/ml*).

• No inhibition act showed by extracts *Aristida Leaves* on the studied bacteria except simple extract inhibitory action methanol on the bacteria E.coli, which amounted to **(*8 mm*)**.

-The second stage :

The results of studied extracts inhibitory effectiveness of the two plants concentration *100mg/ml*, with partnership with antibiotics (*Cefazolin, Vancomycin, Gentamicin*), on the bacteria studied, showed :

• The participatory act of *Retama stalks* extracts showed *synergistic* with all bacteria studied, except *Salmonella*. The largest act of inhibitory extracted with methanol by the antibiotic *Gentamicin* on the bacteria *P. mirabilis*, as it increase of inhibitory Hits *Gentamicin* increased by ***8.31%***.

• The participatory act of *Aristida leaves* extracts with antibiotics did not appear any act synergistically imperceptible.

Keywords: Retama plant, Aristida plant, organic solvents, antibiotics, bacteria

Résumé

Nous avons étudié deux types de plantes médicinales répandues dans le désert nord-africain, à savoir : *Retama raetam (Forssk.) Webb*. et
Aristida pungens (Desf.) DeWinter

Selon deux étapes:

- La première étape:

On extrait les substances actives pour les deux sites en utilisant des solvants organiques (*méthanol, éther diéthylique et d'acétate d'éthyle*), a été testé sur quatre types de bactéries qui provoquent un certain nombre de maladies des voies urinaires, qui est: (*E. coli, Salmonella, S . aureus, P. mirabilis*). En utilisant la méthode d'essai du disque (*test de diffusion sur disque*) à des concentrations différentes, où les résultats ont montré que:

• Les résultats de l'amorce de détection chimique initiale des tiges de *Retama*, montrant qu'il contient un des ingrédients actifs sont les suivants: coumarines, des glycosides, des tanins, des huiles volatiles, des saponines, des terpènes, ainsi que les alcaloïdes et les phénols qui sont responsables de l'activité d'inhibition sur les bactéries, ainsi que des flavonoïdes qui est l'un des anti-oxydants.

• Les résultats de l'amorce de détection chimique initiale de *Aristida feuilles*, montrant qu'il contient le même matériel dans *Retama*, à l'exception des alcaloïdes et des huiles volatiles.

• Les extraits de *Retama tiges*, ont montré une inhibition *significative* de la croissance de ces bactéries en dehors du corps de l'organisme, à l'exception de *P. mirabilis*.

L'extrait alcoolique de les extraits de *Retama tiges* a montré la zone la plus élevée d'un diamètre d'inhibition de *Salmonella* **(*16 mm*)** lorsque la concentration est de (*100 mg /ml*).

• Aucune inhibition acte montré par des extraits *Feuilles Aristida* sur les bactéries étudiées, sauf action simple méthanol extrait inhibiteur sur les bactéries *E. coli*, qui se sont élevées à **(*8 mm*)**.

-La Deuxième étape:

Les résultats des extraits étudiés de l'efficacité inhibitrice des deux usines de concentration *100mg / ml*, avec un partenariat avec des antibiotiques (*Cefazolin, vancomycine, gentamicine*), sur les bactéries étudiées, ont montré:

• L'acte participatif de *Retama tiges* extraits a montré en *synergie* avec toutes les bactéries étudiées, à l'exception de Salmonella. Le plus grand acte de inhibitrice extrait avec du méthanol par l'antibiotique gentamicine sur les bactéries *P. mirabilis*, car elle augmente de hits inhibitrices *Gentamicine* a augmenté de ***8,31%***.

• L'acte participatif de *Aristida* laisse des extraits avec des antibiotiques ne semblent pas tout acte synergétique imperceptible.

Mots-clés: Retama plantes, Aristida plantes, les solvants organiques, les antibiotiques, les bactéries

الفهرس

العنوان **الصفحة**

مقدمة.....1

خطة العمل.....2

الفصل الأول : عموميات حول النباتات الطبية

I. النباتات الطبية.....4

1.I. تعريف النباتات الطبية.....4

2.I. دراسة النباتات الطبية.....4

1.2.I. المواد الفعالة *Active ingredient* 4

1.1.2.I. الغلايكوسيدات *Glycosides* 4

2.1.2.I. الفينولات *Phenols*.....5

3.1.2.I. الكومارينات *Coumarins*.....6

4.1.2.I. الفلافونويدات *Flavonoids*.....6

5.1.2.I. الستيرويدات *Steroids*.....7

6.1.2.I. التنينات (العفصيات) *Tannins*.....8

7.1.2.I. الصابونيات *Saponins*.....8

8.1.2.I. القلويدات *Alkaloids*.....9

9.1.2.I. التربينات *Terpenes*.....10

10.1.2.I. الزيوت الطيارة *Volatile oils* 11

11.1.2.I. الراتنجات (الأصماغ) *Resins*.....12

الفصل الثاني : العينتان النباتيتان المدروستان

II. العينتان النباتيتان المدروستان.....13

1.II. البطاقة التعريفية لنبات الرتم.....13

2.1.II. الفصيلة البقولية (*Fabaceae*).....13
3.1.II. التصنيف 13
4.1.II. وصف النبتة.....14
5.1.II. الإنتشار الجغرافي.....14
6.1.II. الإستعمالات.....14
2.II. البطاقة التعريفية لنبات الدرين.....17
1.2.II. الفصيلة النجيلية.....17
2.2.II. الفصيلة النجيلية (*Gramineae*).....17
3.2.II. وصف النبتة 18
4.2.II. الإنتشار الجغرافي.....18
5.2.II. الأهمية.....18
6.2.II. الإستعمالات.....18

الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا

III. عموميات حول البكتيريا..... 21
1.III. لمحة تاريخية.....21
2.III. تعريف البكتيريا.....21
1.2.III. مكونات البكتيريا..... 21
1.1.2.III. الأجزاء الرئيسية.....21
2.1.2.III. الأجزاء الإضافية.....22
2.2.III. تصنيف البكتيريا.....24
3.III. الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة.....25
1.3.III. بكتيريا *Escherichia coli*.....25
2.3.III. بكتيريا السالمونيلا *Salmonella*.....26
3.3.III. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*.....27
4.3.III. بكتيريا *Proteus mirabilis* 28

الفصل الرابع : عموميات حول المضادات الحيوية

IV. المضادات الحيوية.....29
1.IV. نبذة تاريخية.....29
2.IV.ماهو التضاد الحيوي؟.....31
1.2.IV. المضاد الحيوي.....31
1.1.2.IV. أنواع المضادات الحيوية.....31
3.IV. قياس نشاط المضادات الحيوية (*Measuring Antibiotic activity*)…..34
1.3.IV. الطرق القياسية لتحديد تأثير نشاط المضاد الحيوي.....34
4.IV. تأثير دمج المضادات الحيوية.....37
1.4.IV. فائدة إعطاء دوائين بالتآزر *Synergy* (المشاركة *Combination*).....37
2.4.IV. إضافة مضادين أو أكثر لبعضهم.....37
3.4.IV. نشاط المجموعة التعاونية للمضادات الحيوية.....39
5.IV. طرق إعطاء المضادات.....39
1.5.IV. استعمال المضادات الحيوية علاجيا في الإصابة الظاهرة.....40
1.1.5.IV. التشخيص الدقيق للمريض.....40
2.1.5.IV. اختيار المضاد الحيوي المناسب.....40
3.1.5.IV. تحديد مقادير الجرعة الدوائية.....41
4.1.5.IV. طريق إعطاء المضاد.....41
5.1.5.IV. مراقبة المعالجة بالمضاد الحيوي.....43
6.1.5.IV. مدة بقاء المضاد الحيوي أو زمن ايقافها.....43
2.5.IV. إعطاء المضادات وقائياً.....44
1.2.5.IV. في المجال الطبي.....44
2.2.5.IV. في المجال الجراحي.....44
3.2.5.IV. الجراحة النظيفة.....44
4.2.5.IV. الجراحة النظيفة الملوثة.....45
5.2.5.IV. الجراحة الملوثة.....45
6.IV. المسح الكشفي عن المضادات الحيوية.....45
1.6.IV. تعريفه.....45

2.6.IV. خطواته.....45

الفصل الأخير : دراسة النبتتين

V. دراسة النبتتين.....46
1.V. خطة الدراسة.....46
2.V. الجزء العملي.....47
1.2.V. تحضير النبتتين.....47
2.2.V. الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في مسحوقي النبتتين.....47
3.2.V. دراسة تأثير مستخلصات النبتتين بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا.....50
1.3.2.V. طريقة الانتشار في أطباق الآغار.....50
2.3.2.V. اِختبار حساسية البكتيريا المعزولة.....51
3.3.2.V. تحضيرالتراكيز المختلفة من المستخلصات النباتية لدراسة فعاليتها البيولوجية.....51
4.3.2.V. الزرع و الحضن.....53
4.2.V. دراسة تأثير مستخلصات النبات في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية 53
3.V. النتائج و المناقشة.....53
1.3.V. مناقشة نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في النبتتين.....55
2.3.V. مناقشة نتائج حساسية البكتيريا المعزولة.....55
3.3.V. مناقشة نتائج تحضير المستخلصات.....56
4.3.V. مناقشة نتائج تأثير مستخلصات النبتتين الرتم بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا.....56
5.3.V. مناقشة نتائج تأثير مستخلصات النبتتين في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية 59
** طريقة مساحة انتشار البكتيريا أو المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ % (*BAO*).....61
6.3.V. مناقشة منحنيات مقارنة تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة بالبكتيريا.....64

V.6.3. مناقشة منحنيات مقارنة تأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة بالبكتيريا.....73

V.4. الخلاصة.....82

الخاتمة.....83

المراجع.....84

الملحق.....90

المنشورات العلمية.....94

قائمة الأشكال

الشكل **الصفحة**

الفصل الأول : عموميات حول النباتات الطبية

شكل (1). *Digitoxin*.....5

شكل (2). فينول *Phenol*.....6

شكل (3). كومارين *Coumarin*.....6

شكل (4). فلافونيد *Flavonoid*.....7

شكل (5). ستيرويد *Steroid*.....7

شكل (6). صابونين *Saponin*.....8

شكل (7).*Tanin Gallique*.....9

شكل (8). بعض أنواع القلويدات.....10

شكل (9). إيزوبرين *Isoprene*.....10

شكل (10). بعض الزيوت الطيارة.....11

شكل (11). بوليستيرين سلفونات صوديوم.....12

الفصل الثاني : العينتان النباتيتان المدروستان

شكل (12). رسم تخطيطي لنبات الرتم.....15

شكل (13). صورة لنبات الرتم في بيئته الصحراوية.....16

شكل (14). صورة لأزهار نبات الرتم.....16

شكل (15). صورة لثمار نبات الرتم.....16

شكل (16). رسم تخطيطي لنبات الدرين.....19

شكل (17). صورة لنبات الدرين في بيئته الصحراوية.....20

شكل (18). صورة لأزهار نبات الدرين.....20
شكل (19). صورة لبذور نبات الدرين.....20

الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا

شكل (20). بنية البكتيريا.....24
شكل (21). بكتيريا *Escherichia coli* *تحت المجهر الإلكتروني*.....26
شكل (22). بكتيريا *Salmonella* تحت المجهر الإلكتروني.....27
شكل (23). بكتيريا *Staphylococcus aureus* *تحت المجهر الإلكتروني*.....28
شكل (24). بكتيريا *Proteus mirabilis* *تحت المجهر الإلكتروني*.....28

الفصل الرابع : عموميات حول المضادات الحيوية

شكل (25). الشكل المجهري لفطر بنيسليوم.....29
شكل (26). الصيغة الكيميائية البنسلين.....30
شكل (27). بعض اكتشافات المضادات الحيوية.....30
شكل (28). تعريف التضاد الحيوي.....31
شكل (29). أهم ما يميز المضادات الحيوية في العلاج.....32
شكل (30). الشروط المتحكمة في عمل المضاد الحيوي.....33
شكل (31). تأثيرات المضاد الحيوي على البكتيريا.....33
شكل (32). اختبار الأقراص *disc test*.....35
شكل (33). التأثيرات التشاركية لإضافة مضادين حيويين أو أكثر.....38

الفصل الأخير : دراسة النبتتين

شكل (34). مخطط تحضير التراكيز المختلفة من المستخلصات النباتية.....52
شكل (35). فريديلين Friedelin 54
شكل (36). ليبويل Lupeol.....54

شكل (37). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط بكتيريا *Escherichia coli*.....58

شكل (38). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط بكتيريا *Salmonella*.....58

شكل (39). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط بكتيريا *Staphylococcus aureus*.....58

شكل (40). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli* 65

شكل (41). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella* ……67

شكل (42). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *S. aureus* 69

شكل (43). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات في المساحة المشغولة ببكتيريا *P. mirabilis* 71

شكل (44). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في مساحة انتشار بكتيريا *E. coli* 74

شكل (45). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella* ……76

شكل (46). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *S. aureus*.....78

شكل (47). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات في المساحة المشغولة ببكتيريا *P. mirabilis* 80

الملحق

شكل (48). فعالية مستخلصات سيقان نبات الرتم بتركيز *100 mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Antibio.*) على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة.....90

شكل (49). فعالية المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكترية المدروسة على نبات الرتم.....91

شكل (50). فعالية مستخلصات أوراق نبات الدرين بتركيز *100 mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Antibio.*) على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة.....92

شكل (51). فعالية المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكترية المدروسة على نبات الدرين.....93

شكل (52). فعالية مستخلصات أوراق نبات الدرين بتركيز *100 mg/ml* على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكترية المدروسة.....93

قائمة الجداول

الجدول **الصفحة**

الفصل الأول : عموميات حول النباتات الطبية

جدول (1). تقسيم التربينات.....11

الفصل الثاني : العينتان النباتيتان المدروستان

جدول (2). تصنيف نبات الرتم.....13

جدول (3). تصنيف نبات الدرين.....17

الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا

الفصل الرابع : عموميات حول المضادات الحيوية

جدول (4). التأثيرات التشاركية لإضافة مضادين حيويين أو أكثر.....38

جدول (5). أنواع و آليات عمل المجموعات التعاونية للمضادات الحيوية.....39

جدول (6).انتشار المضادات في الأنسجة.....42

جدول (7). بيئات نمو البكتيريا و الفطريات.....45

الفصل الأخير : دراسة النبتتين

جدول (8). المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، رمزها، تركيزها و فعاليتها.....51

جدول (9). نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في نبات الرتم.....54

جدول (10). تأثير المضادات الحيوية و *DMSO* في قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة.....55

جدول (11). تأثير مستخلصات نبات الرتم في قطر منطقة التثبيط (*mm*) لبعض أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان 57

جدول (12). تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* في قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة.....59

جدول (13). فعالية مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة.....60

جدول (14). تأثير المضادات الحيوية و *DMSO* في المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (*%*).....62

جدول (15). تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* في المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (*%*).....63

جدول (16). فعالية مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية على المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (*%*).....63

جدول (17). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*.....66

جدول (18). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*.....68

جدول (19). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *S. aureus* 70

جدول (20). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *P. mirabilis* 72

جدول (21). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*.....75

جدول (22). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*.....77

جدول (23). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *S. aureus*.....79

جدول (24). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *P. mirabilis*.....81

المُقَدِّمَـــة

مقدمة

في السنوات الأخيرة ازداد الإهتمام باستخدام الأعشاب الطبية في العالم، كما ازداد التركيز علي دراسة تأثيرها في علاج الكثير من الأمراض، خاصة الأمراض البكتيرية الشائعة مثل الإلتهابات المعوية والرئوية وغيرها.

إن معظم الإصابات الجرثومية تعالج بالمضادات الحيوية، والتي ازداد إنتاجها خلال العقود الثلاثة الأخيرة، إلا أن تلك الكائنات المجهرية تعمل على مقاومة تلك المضادات بعد فترات من الزمن وبالتالي تقل فعاليتها، ولحل هذه المشكلة لابد من تطوير المضادات الحيوية على فترات من الزمن بإضافة مواد فعالة جديدة تكون لها فعالية للقضاء على تلك الكائنات الممرضة. النباتات الطبية إحدى مصادر تلك المواد، فعلى سبيل المثال في أمريكا اللاتينية أُختبر *122* نباتا طبيا، اثني عشر منها كان لها تأثير مثبط ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* وعشرة أنواع كان لها تأثيرمثبط ضد بكتيريا *E. coli* .[1]

كلما زاد التنوع الجغرافي، زاد تنوع الغطاء النباتي و منه تنوع النباتات المستعملة طبيا من طرف السكان المحليين. الصحراء الجزائرية تزخر بالعديد من النباتات المعروفة من طرف سكانها بأثرها العلاجي، ونظرا للتنوع الواسع لهذه النباتات، فقد وقع اختيارنا في هذه الدراسة على نوعين منها :

(**الرّتم** *Retama retam (Forssk.) Webb* و **الدْرين** *Aristida pungens (Desf.) DeWinter*)

وهذا للأسباب التالية :

- تواجدهما على مدار أيام السنة.
- انتشارهما الواسع في صحراء شمال إفريقيا مما يعني أنهما مجديان صناعيا.
- جدواهما الطبية، حيث لطالما استعمالهما البدو و سكان المنطقة لعلاج عدة أعراض مَرضيّة.

استهدفت هذه الدراسة تحديد تأثير بعض مستخلصات هاتين النبتتين على تثبيط النمو البكتيري، و كذا تحديد فعلهما عند ادخالهما في تطوير بعض المضادات الحيوية.

خطة العمل

قسمت الدراسة إلى جزئين تُوِّجَا بخلاصة عامة:

I - الجزء النظري.

يحتوي على أربعة فصول.

الفصل الأول: عموميات حول النباتات الطبية.

الفصل الثاني : العينتان النباتيتان المدروستان.

الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا.

الفصل الرابع : عموميات حول المضادات الحيوية.

II - الجزء العملي. (اتبعت نفس الخطوات بالنسبة لكل نبتة)

- **تحضير النبتة :**

أي الجزء المستعمل طبيا في الوسط الشعبي:

السيقان : بالنسبة لنبات الرتم.

الأوراق: بالنسبة لنبات الدرين.

- **الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في النبتة:**

بعد تحضير النبتة للدراسة، نقوم أولا بالكشف عن المواد الفعالة فيها، حيث استخدمت طرق معتمدة للكشف عن أهم المواد الفعالة في المساحيق الجافة و الطرية للنبات.

- **دراسة تأثير مستخلصات النبتة بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا:**

في هذه المرحلة، نكشف عن تأثير المستخلصات في تثبيط نمو بعض أنواع البكتيريا المسببة لأمراض المسالك البولية، كما نحدد التركيز الأكثر تثبيطا للبكتيريا بالنسبة لكل مستخلص.

- **دراسة تأثير مستخلصات النبتة في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية:**

في هذا القسم من الدراسة، نكشف على المشاركات المُجدية بين المستخلصات و المضادات الحيوية في تثبيط البكتيريا.

- **عرض النتائج و مناقشتها.**
- **خلاصة:** كل نبتة على حدة.

III - الخاتمة.

و فيها حوصلة شاملة للنتائج المحصل عليها، و كذا أهم التوصيات.

الفَصلُ الأَوَّل :

عُمُومِيَّاتٌ حَولَ النَّبَاتَاتِ الطِبيَّة

I. عموميات حول النباتات الطبية

عادة ما يكون استخدام النباتات الطبية لأغراض علاجية شائعا لدى سكان منطقة نمو هذه النباتات، وهذا ما يعرف بالطب الشعبي. [1] [2]

1.I. تعريف النباتات الطبية:

عرف العالم *Dragendroff* كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا بأنه نبات طبي[3] .
بمعنى أن النبات الطبي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه على مادة كيميائية فعالة واحدة أو أكثر و بتراكيز منخفضة أو مرتفعة، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو التقليل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية أو في صورة عشب نباتي طازج، مجفف أو مستخلص جزئيا.

2.I. دراسة النباتات الطبية:

عادة الاستعمال التقليدي (الطب الشعبي) هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطات الفيزيولوجية أو الطبية لأي دواء نباتي الأصل [4] ، وعليه فإن أول عمل يقوم به الباحث هو استخلاص وتنقية المواد الفعالة التى يحتويها النبات، ومن ثم يقوم بدراسة خواص هذه المواد وصفاتها الكيميائية، بالإضافة لإجراء بحوث معمقة حول تأثيراتها السمية والعلاجية وكذا الجرعات المسوح بها ودواعي استعمالاتها من عدمه.

1.2.I. المواد الفعالة *Active ingredient* :

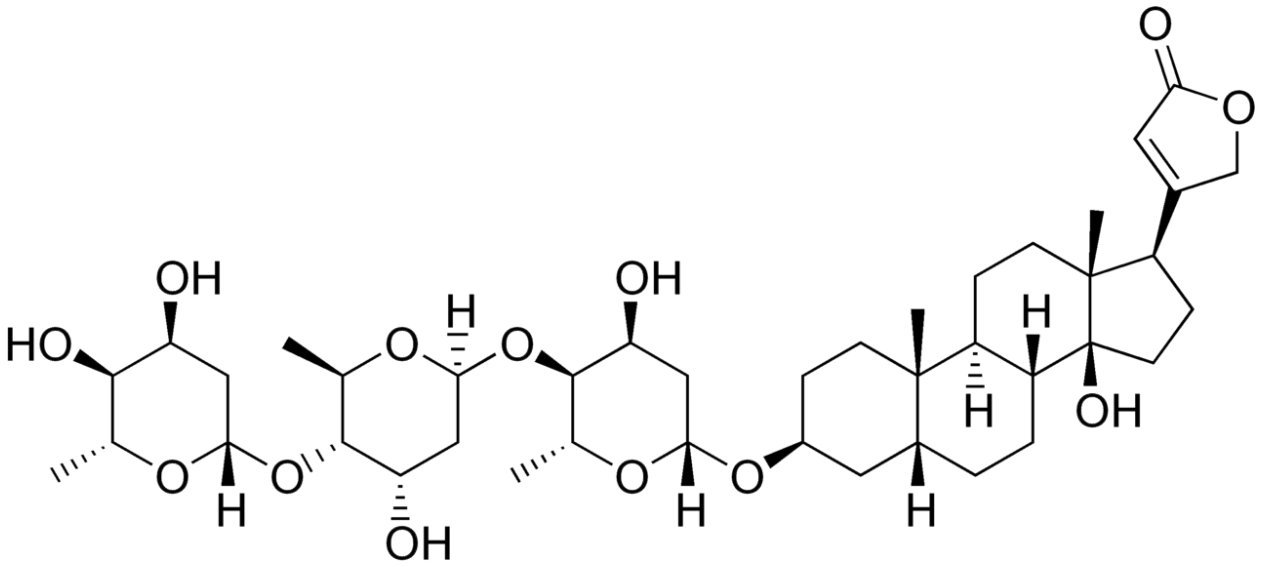
المواد الفعالة هي المركبات النباتية التى لديها فعالية حيوية في شفاء بعض الأمراض أو الحد منها، و أهمها:

1.1.2.I. الغلايكوسيدات *Glycosides*:

الغليكوزيدات مركبات عضوية تتكون من جزئين أحدهما سكري (*Glycon*) و الآخر لاسكري (*Aglycon*) ، تتحلل بواسطة الأحماض أو إنزيمات خاصة لتُشكل نوعا أو أكثر من نوع من السكر المختزل إضافة إلى المواد غير السكرية، و لها خصائص عامة : صلبة متبلورة أو غير متبلورة و عديمة اللون، تذوب في الماء أو الكحول (كما هو الحال بالنسبة للميثانول والمستعمل في الاستخلاص) و بشكل عام، فهي شحيحة الذوبان في المذيبات العضوية،

و غير قابلة للتطاير. [5]

تقسم الغليكوسيدات على أساس الجزء غير السكري فمنها الغليكوسيدات الستيرويدية و هي مهمة في تقوية القلب و تنظيم ضرباته و انقباض عضلاته، من أهمها غليكوزيدات حلقة اللاكتون الخماسية (*Digitoxin*) ، و يعمل على زيادة فعل الدورة الدموية. والجيتالين (*Gitalin*).



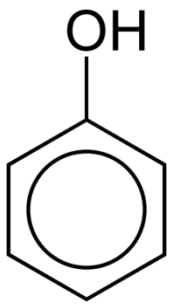
شكل (1). *Digitoxin*

2.1.2.I. الفينولات *Phenols*:

الفينولات هي صنف من المركبات الكيميائية العضوية، تتألف بنيوياً من ارتباط مجموعة هيدروكسيل وظيفية بشكل مباشر مع هيدروكربون عطري. ينسب اسم الفينولات إلى أبسط هذه المركبات وهو الفينول C_6H_5OH . يمكن أن تكون الفينولات بسيطة، كما يمكن أن تكون متعددة حسب عدد وحدات الفينول في الجزيء. [6]

توجد الفينولات في الطبيعة على هيئة عدة مركبّات، كما يتم الحصول عليها صناعياً. [7]

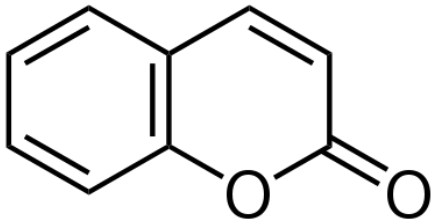
تستخدم الفينولات في المحاليل المطهرة لأرضيات المستشفيات والمنازل، لقدرته الفائقة على قتل الجراثيم والبكتيريا، كما يدخل كمذيب في صناعة المواد الطبية والكريمات مثل المواد المضادة لتمزق الجلد بسبب الجفاف والبرد.



شكل (2). فينول Phenol

I.3.1.2. الكومارينات *Coumarins* :

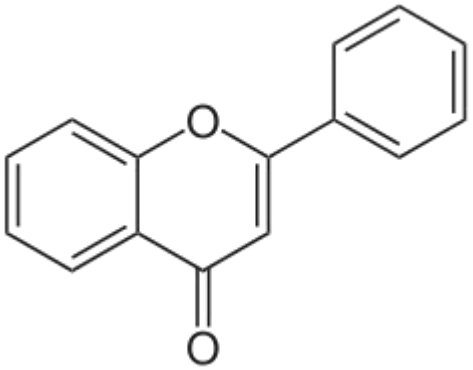
هي مركبات كيميائية عطرية من فئة " *benzopyrone* " الكيميائية. تستخدم في صناعة العطور منذ عام 1882م، كما تستعمل كمضادات لتخثر الدم. [46]



شكل (3). كومارين *Coumarin*

I.4.1.2. الفلافونويدات *Flavonoids* :

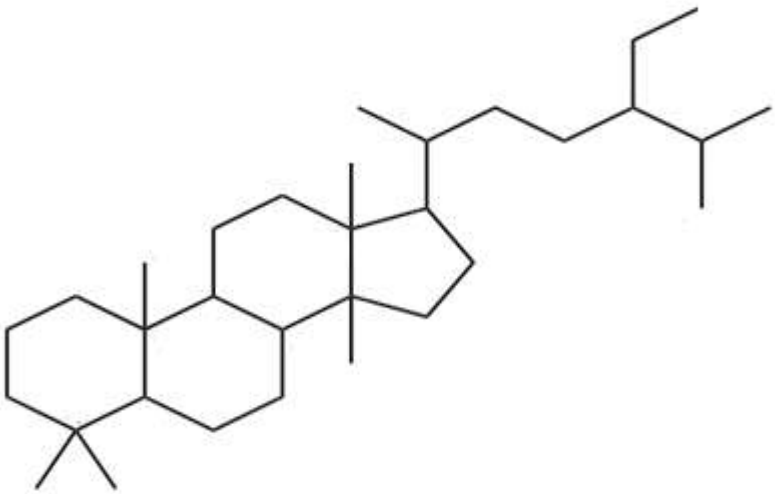
هي صبغات بيولوجية نباتية متواجدة في أجزاء كثيرة من النبات، وتحتوي في هيكلها الأساسي على 15 ذرة كربون موزعة على ثلاث حلقات تدعى بالفلافون، والذي يعتبر المركب الأم للفلافونيدات *Flavone* . اشتقت كلمة فلافونويد من الكلمة اللاتينية *flavus* والتي تعني اللون الأصفر، فهي المسؤولة عن اللون الأصفرالمميز للأزهار و الثمار و أحيانا الأوراق. [8]



شكل (4). فلافونيد *Flavonoid*

I.5.1.2. الستيرويدات *Steroids*:

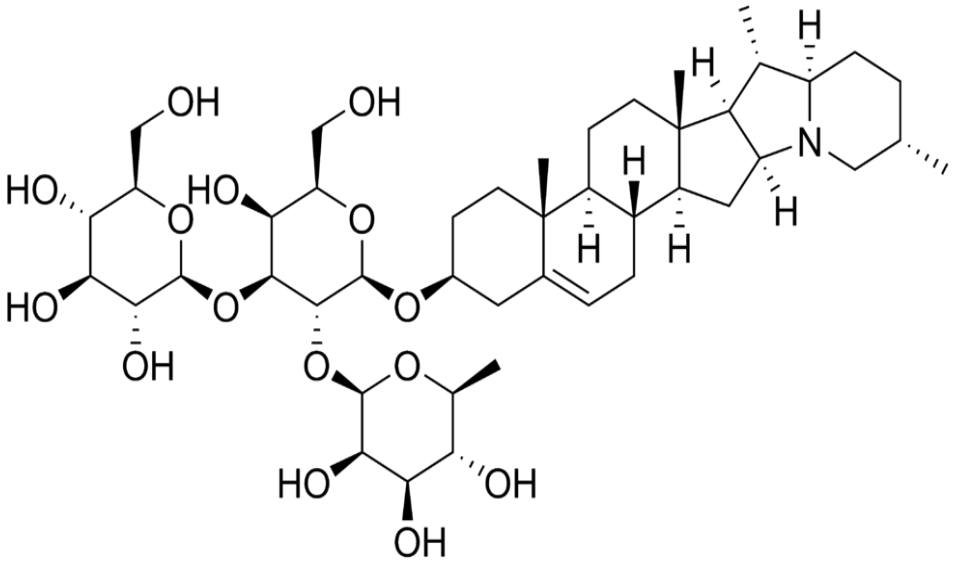
هو مركب عضوي حلقي. والستيروید هو نوع من المركبات العضوية التي تحتوي على ترتيبات محددة من أربع حلقات التي انضمت إلى بعضها البعض، ومن الأمثلة عليها الكوليسترول، والهرمونات الجنسية واستراديول التستوستيرون، وديكساميثازون و كذا العقاقير المضادة للالتهابات. [9]



شكل (5). ستيروید *Steroid*

6.1.2.I. الصابونيات *Saponins*:

وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غلوكوزيدية، ويتعدد السكر ليصل من 2 إلى 10، وعليه فالصابونيات ذات وزن جزئي عال وعند حلمهتها، تحرر سكرا أو عدة سكريات، وقد إشتق إسمها من الكلمة اليونانية sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لمدة طويلة. [10]



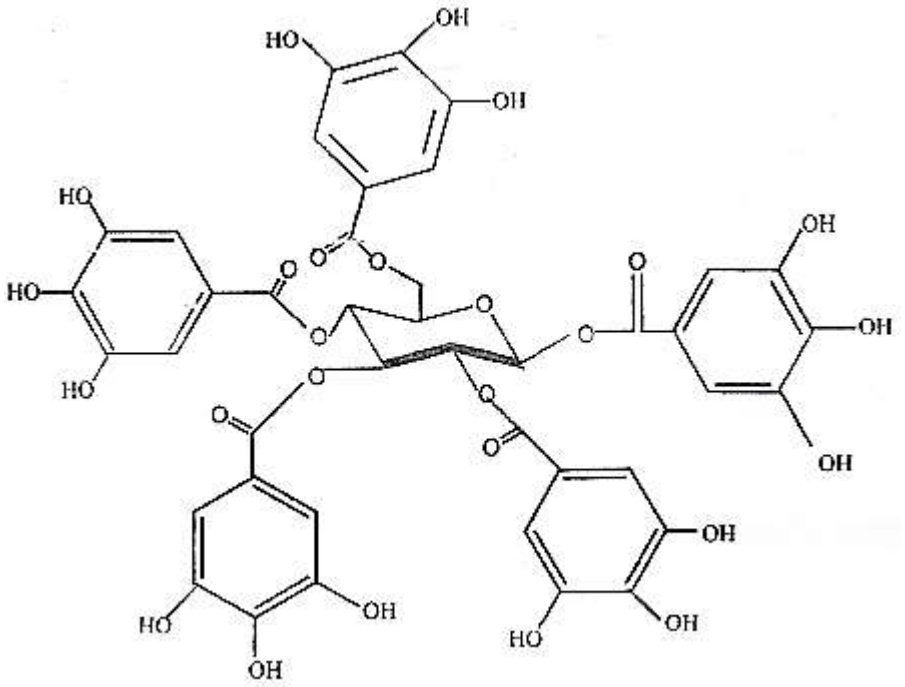
شكل (6). صابونين

7.1.2.I. التنينات(العفصيات) *Tannins*:

هي مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومذاق غير مستساغ و تـأثير قـابض، ذات أوزان جزيئيـة كبيـرة بـين *500* و *3000*، تستعمل لعلاج الإلتهاب في الحلق وذلك بغرغرتها وللإلتهاب في الفم أو اللثة بمضمضتها، و تدخل في تركيب الأدوية المعالجة للإسهال، و لها إستخدامات في الصناعة إذ تعتبر موادا دابغة للجلود بتحوليها الجلود الطرية إلى جلود قاسية غير قابلة للتعفن. تعزى خاصية دباغة الجلود هذه، لخلق الروابط بين جزيئات من العفص من جهة وألياف الجيلاتين في الجلد من جهة أخرى. [11]

تمكن المجموعات الهيدروكسيلية في العفص من تشكيل جزيئات كثيرة مثل البروتينات والكربوهيدرات.

يعد الوزن الجزيئي ودرجة البلمرة للعفص العاملين البارزين في تحديد قابليته للذوبان في الماء، لذا عادة ما يتم استخراج بعض مركبات العفص بواسطة المحل الأسيتون أو الماء أو الميثانول.

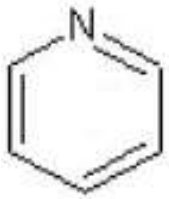


شكل (7). ***Tanin Gallique***

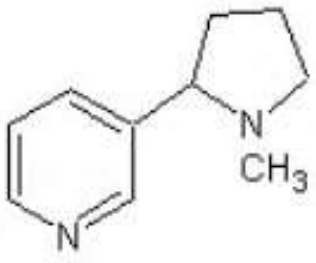
I.2.1.8. القلويدات ***Alkaloids*:**

أدخل مصطلح قلويد في *1818*م من طرف العالم (*Meissner*)، وهذه الكلمة تطلق على كل مركب عضوي قاعدي له الصفات القلوية، ومنها اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد، وهي القاعدة النباتية، وهذا راجع إلى قواعد نتروجينية معقدة التركيب الكيميائي. [12] القلويدات مركبات شحيحة الذوبان في الكلوروفورم، و عادة ما تكون عديمة اللون تتبلور في درجة حرارة الغرفة، كما يمكن أن تتواجد في الحالة السائلة مثل النيكوتين. تعد الأحماض الأمينية المادة الأساسية لتخليقها داخل النبات، كما تعتبر النباتات ذات الفلقتين الأكثر غنا بها.

تعد القلويدات نواتج ثانوية تكمن أهميتها في استخدامها من طرف النباتات، كوسائل للدفاع كطرد الحشرات و إيقاف نمو البكتيريا، إضافة إلى أنها مخازن لبناء البروتينات، هذا بالنسبة للنبات، و كذلك تعد مهمة في الطب، فهي تستخدم للتخدير وغيرها.



Pyridine



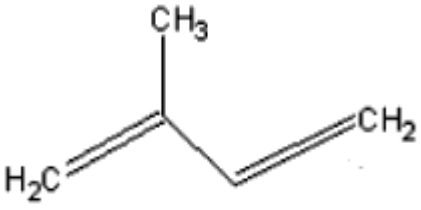
Nicotine

شكل (8). بعض أنواع القلويدات

I.9.1.2. التربينات *Terpenes* :

هي عبارة عن تجمع للمركبات الهيدروكربونية، ذات الوحدة البنائية: الايزوبرين *Isoprene* (C_5H_8). [13]

ودلت الدراسات البحثية أن للتربينات تأثيرات طبية كمخففة للحمى، و خافضة للسكر في الدم، وطاردة للديدان، ومجففة للجروح، كما وجد أن للتربينات دور مهم في التلقيح و ذلك عند انطلاقها في الجو.



شكل (9). إيزوبرين *Isoprene*

وقد قسمت التربينات حسب الجدول التالي :

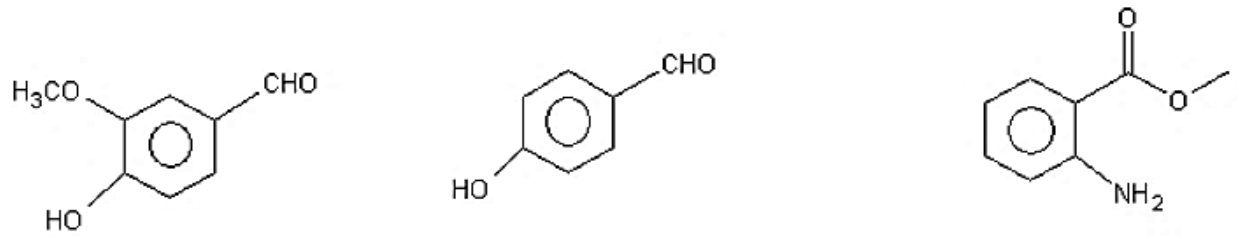
جدول (1). تقسيم التربينات

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الإيزوبرين
10	أحادي التربين *Monoterpenes*	2
15	سيسكوتربين *Sesquiterpenes*	3
20	ثنائي التربين *Diterpenes*	4
30	ثلاثي التربين *Triterpenes*	6
40	رباعي التربين *Tetraterpenes*	8
أكثر من 40	متعدد التربين *Polyterpenes*	أكثر من 8

I.10.1.2. الزيوت الطيارة *Volatile oils*:

هي مستخلصات زيتية سهلة التطاير، يتم الحصول عليها من النباتات، تمثل الزيوت العطرية المواد الرئيسية المسؤولة عن الرائحة المميزة للنباتات، وهذه المكونات الطيارة لها القدرة على التبخر والتطاير تحت الظروف العادية، وتتميز الزيوت العطرية بسهولة فصلها عن الأعضاء النباتية الحاملة لها بواسطة طرق التقطير والاستخلاص المختلفة. [13]

ثبت أن للزيوت العطرية مفعولا قويا مضادا للبكتيريا والجراثيم، كما أنها تعتبر مطهرا قويا وقاتلا للجراثيم، ومزيلا للمرض والعدوى.



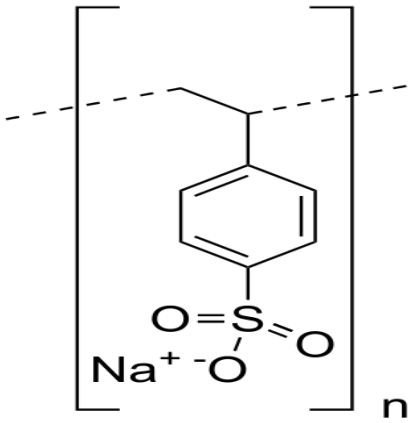
شكل (10). بعض الزيوت الطيارة

I.11.1.2. الراتنجات (الأصماغ) *Resins* :

هي عبارة عن مواد ذات تركيب كيميائي معقد، تنتج من أكسدة أنواع مختلفة من الزيوت العطرية، وتسيل على سطح قلف الأشجار حيث تتجمد عند تعرضها للهواء. وهي غيرقابلة للذوبان في الماء، بل تذوب في الكحول والمذيبات العضوية الأخرى. [14]

تتكون معظم هذه الراتنجات من البوليسترين المتشابك.

ومن فوائد الراتنجات أن لها صفات مطهرة و معقمة للمياه.



شكل (11). بوليستيرين سلفونات صوديوم

الفَصلُ الثَّانِي :

العَيِّنَتَان النَّبَاتِيتَان

المَدرُوسَتَان

II. العينتان النباتيتان المدروستان

- نبات الرتم (*Retama raetam (Forssk.) Webb*)
- نبات الدرين (*Aristida pungens (Desf.) DeWinter*)

1.II. البطاقة التعريفية لنبات الرتم

2.1.II. الفصيلة البقولية (*Fabaceae*):

الفصيلة البُقُولِيَّة أو القَرْنِيَّة [15] هي فصيلة نبات من صف ثنائيات الفلقة، تضمّ حوالي *730* جنساً وأكثر من *19400* نوع. تعد هذه الفصيلة من أهم الفصائل النباتية وأكثرها ثراء من حيث التنوع نظراً لكونها ذات قيمةٍ غذائيةٍ عاليةٍ للإنسان و الحيوان، ويشتق الاسم من القرن الذي يحتوي حبوباً ثنائية الفلقة، كما تتميز النباتات البقولية بتثبيت النيتروجين الجوي من خلال شراكة تعايشية مع البكتيريا المستجذرة، وبذلك فنباتات هذه الفصيلة تساهم في زيادة خصوبة التربة إضافة إلى إنتاجها من المادة الجافة، وبفضل هذه الخاصية يمكن لنباتات الفصيلة البقولية أن تستعمل كسماد أخضر.

3.1.II. التصنيف: يصنف نبات الرتم وفق الجدول الآتي:

جدول (2). تصنيف نبات الرتم

النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الشعبة	البذريات
الشعيبة	مستورات البذور
الصف	ثنائيات الفلقة
الرتبة	الفوليات
الفصيلة	البقولية
الجنس	الرتم
النوع	الشائع

II.1.4. وصف النبتة:

الاسم العربي: الرتم
الأسم العلمي: *Retama raetam (Forssk.) Webb*

الرتم واحدته رتمة وهو نوع من الشجيرات الصحراوية من العائلة القرنية، يصل إرتفاعها إلى حوالي المترين، يتميز بلونه الأخضر، ليس له شوك، ويخشى الرطوبة العالية جدا، كما يتحمل التباين الشديد في درجات الحرارة.

لديه المقدرة على تحمل الجفاف، حيث تمتد جذورة داخل التربة للحصول على الماء، بينما تقوم الفروع بالتقليل من حجم سطحها الذي يتعرض لحرارة الهواء.

- **الأوراق:**

من مميزات هذه الشجرة أن أوراقها صغيرة سريعة التساقط لتقليل عملية النتح، حيث يكتفي بالتمثيل الضوئي بواسطة الفروع والسيقان.

- **الأغصان و السيقان:**

له أغصان طويلة بعضها يرتفع بمقدار قامة الإنسان بعضها صغيرة و لينة، تتخلى عنها الشجرة في فترات الجفاف فتراها تكسو الارض تحتها. الشكل (13).

- **الأزهار:**

يتميز بزهور بيضاء طولها من *10-8mm*. الشكل (14)، تظهر في أواخر الشتاء وبداية الربيع.

- **البذور:**

له بذور ملمومة خضراء في حجم الخرزة. الشكل (15).

II.1.5. الإنتشار الجغرافي:

ينتشر في شمال افريقيا والشرق الأوسط، حيث ينمو في الشعاب والأودية و المناطق الصحراوية، و هو من بين النباتات الأصلية في وسط و جنوب الجزائر، له دور كبير في الحفاظ على التوازن البيئي و مقاومة التصحر.

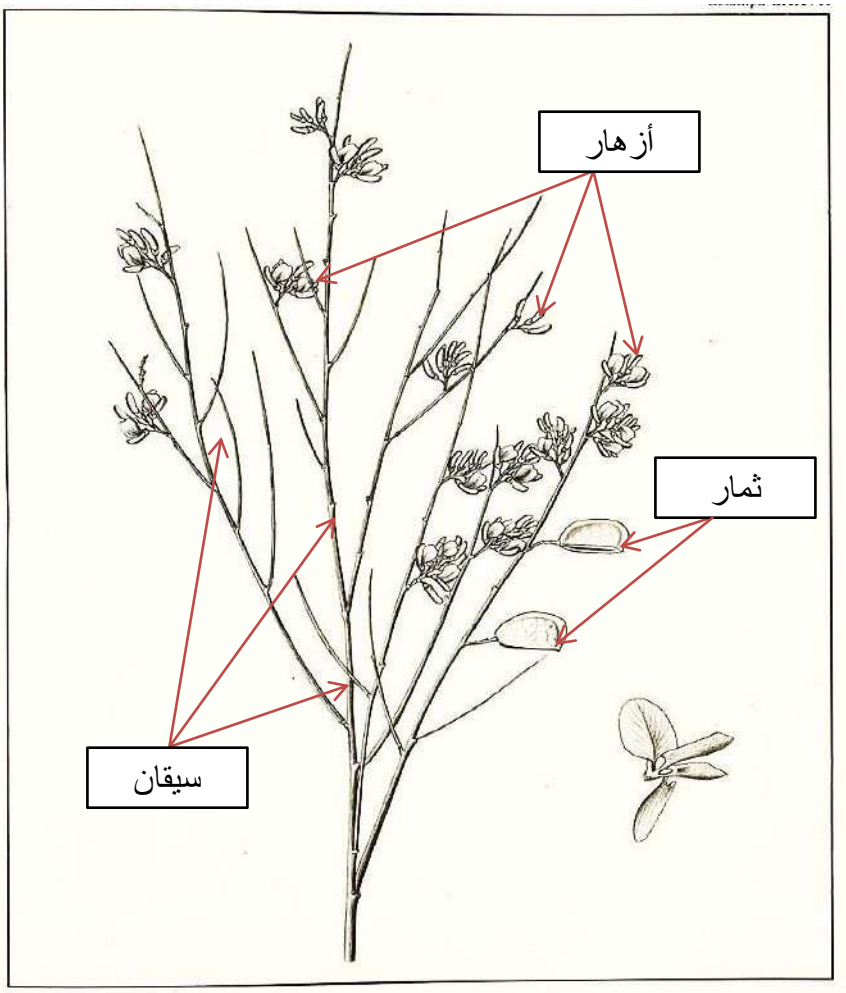
II.1.6. الإستعمالات:

أ- **العلاجية :** يستعمل من طرف سكان المنطقة في:

- علاج الحساسية، ولعلاج الجروح [16] [17]، حيث يدهن المكان المصاب بمغلي السيقان، كذلك يستعمل لوقف النزيف، وذلك بأن تطحن السيقان الجافة ثم تغربل ويرش منها على المكان المصاب عند الحاجة .
- مدرّ قوي للبول حيث ينبه إنتاج البول ومن ثم يضاد احتباس السوائل.
- كما يصنع من الرتم نوع من أنواع العسل الأسود، يمتاز بالرائحة الزكية و القوية، و لا يتجمد أو يتبلور، ويساعد على الشفاء والوقاية من الكثير من الأمراض، إذا اضيف إلى نصف كوب من الماء الدافئ و تم شربه كل يوم على الريق.

ب- إستعمالات أخرى:

لاترعاه المواشي إلا ثماره و بذوره، و الجاف منه يستخدم كحطب، و حطبه من النوع الجيد و المحبب في منطقة المنيعة.



شكل (12). رسم تخطيطي لنبات الرتم

شكل (13). صورة لنبات الرتم في بيئته الصحراوية

شكل (14). صورة لأزهار نبات الرتم

شكل (15). صورة لثمار نبات الرتم

II.2. البطاقة التعريفية لنبات الدرين

II.2.1. الفصيلة النجيلية (*Gramineae*):

هي فصيلة نباتية تتبع رتبة القبئيات من طائفة الأحاديات الفلقة [18] ، الفصيلة النجيلية هي إحدى أشهر الفصائل في أحاديات الفلقة من النباتات المزهرة. هناك نحو *600* جنس في هذه الفصيلة وحوالي *10000* نوع، من بينها أهم المحاصيل الزراعية مثل القمح والأرز والذرة والشعير والشوفان والدخن والذرة البيضاء، كما تحوي هذه الفصيلة الكثير من محاصيل الأعلاف ونباتات المروج العشبية.

II.2.2. التصنيف : يصنف نبات الدرين وفق الجدول الآتي:

جدول (3). تصنيف نبات الدرين

النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الشعبة	حقيقيات الأوراق
الشعيبة	البذريات
الصف	أحاديات الفلقة
الرتبة	القبئيات
الفصيلة	النجيلية
الجنس	غفة
النوع	الشائع

II.3.2. وصف النبتة:

الاسم العربي: الدرين
الأسم العلمي: *Aristida pungens (Desf.) DeWiter*

من أهم الأعشاب البرية المنتجة للحبوب التي تنمو في الصحراء الإفريقية [53] [54] [53]، و يمكن أن ينمو نبات الدرين على الكثبان الرملية، لكنه غالباً ما يلاحظ في الأودية الصحراوية التي تتجمع فيها مياه الأمطار، و نبات الدرين نبات معمر ذو جذور قوية متعمقة في التربة، ينمو في وسط و جنوب الجزائر، كما ينتشر كذلك في تشاد، و يمكن لهذا النبات أن ينمو في مناطق لا تزيد معدلات الأمطار فيها عن 70 ميليمترا فقط [19].

- **الأوراق:**

تتميز نباتات هذه الفصيلة، بأوراقها الرمحية الطويلة [47]. الشكل (17).

- **الأزهار:**

تتألف الزهرة في نباتات هذه الفصيلة من ثلاث أسدية ومبيض واحد يعلوه ميسم ذو فرعين تجتمع الأزهار على شكل سنبلة بسيطة أو مركبة، الشكل (18)، تظهر في أواخر الشتاء وبداية الربيع[54].

- **البذور:**

له بذور خضراء تشبه إلى حد كبير حبة القمح. الشكل (19)، تُعرف بغناها بالمدّخرات السكرية، حيث تحتفظ بهذه المدخرات على شكل مواد نشوية.

II.4.2. الإنتشار الجغرافي:

ينتشر في شمال افريقيا والشرق الأوسط [55]، مصر[56]، سوريا [57]، الولايات المتحدة الأمريكية[58] و أستراليا[59] حيث ينمو في الشعاب والأودية و المناطق الصحراوية، و هو من بين النباتات الأصلية في منطقة المنيعة جنوب الجزائر[60] [61] ، له أيضا دور كبير في الحفاظ على التوازن البيئي و مقاومة التصحر[62].

II.5.2. الأهمية:

بالرغم من أن هذا النبات ما زال يعتبر من النباتات البرية، فإنه نبات شديد الأهمية لأنه نبات معمر منتج للحبوب بدون الحاجة إلى زراعته، وهو نبات شديد المقاومة للجفاف حيث ينتشر في مناطق ذات أمطار شحيحة [63].

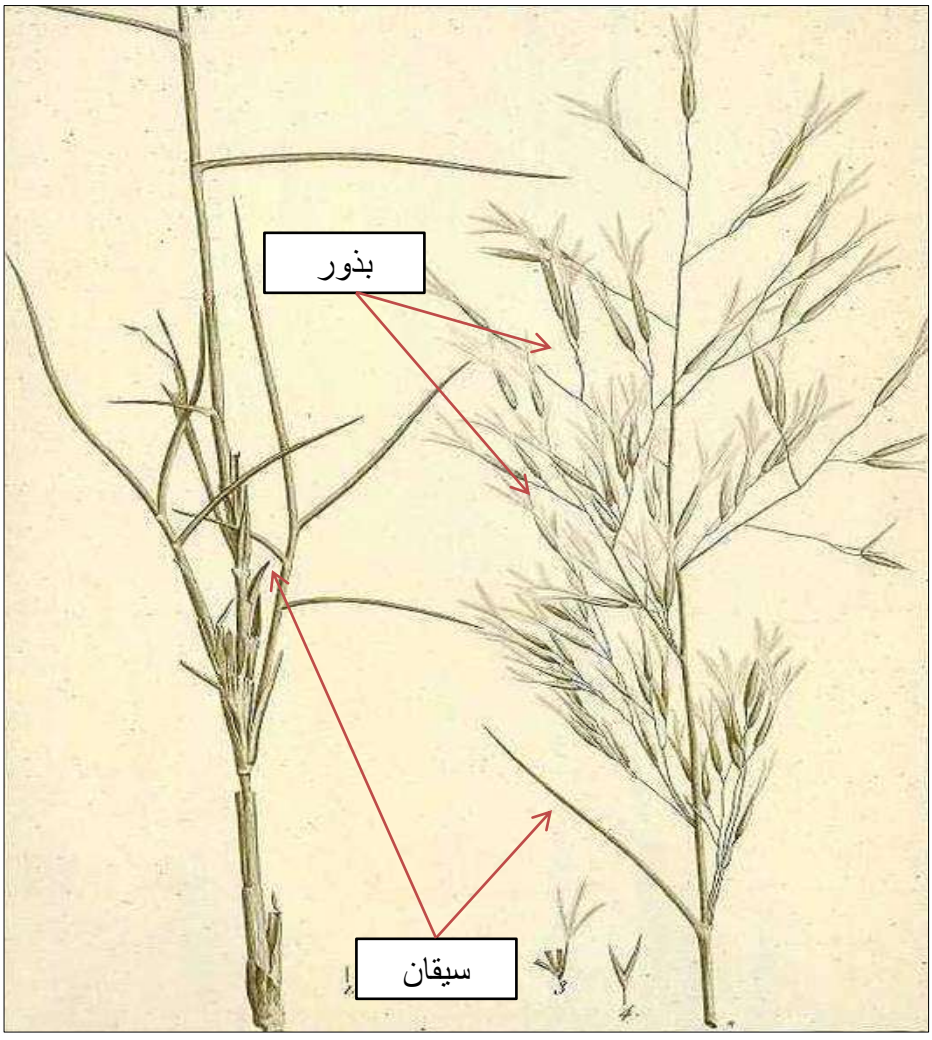
II.6.2. الإستعمالات:

أ- **العلاجية :** يستعمل من طرف سكان المنطقة في :

- علاج لفقر الدم [16] [17] ، حيث يشرب المريض من مغلي منقوع أوراقه.
- كما تستعمل بذوره و التي تدعى محليا بـ " اللّول " كغذاء على غرار القمح حيث تطحن و تعجن ثم تحضر كخبز[64].
- يشتهر الخبز المحضر من بذور الدرين بأنه مغذي كما أنه معالج فعال لأمراض الهضم.

ب- إستعمالات أخرى :

أوراق نبات الدرين و بذوره تعتبر علف جيد للمواشي.



شكل (16). رسم تخطيطي لنبات الدرين

شكل (17). صورة لنبات الدرين في بيئته الصحراوية

شكل (18). صورة لأزهار نبات الدرين

شكل (19). صورة لبذور نبات الدرين

الفَصلُ الثَّالِثُ :

عُمُومِيَّاتٌ حَولَ البَكتِيرِيَا

III. عموميات حول البكتيريا

1.III. لمحة تاريخية:

يعزى الفضل في اكتشاف البكتيريا عام *1872* م، إلى العالم الفرنسي لويس باستور، الذي ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات المجهرية، التي يمكن أن توجد في السوائل خاصة اللبن. أما أول من اكتشف علاقة البكتيريا بالأمراض فهو العالم الألماني روبرت كوخ، الذي أسس علم الجراثيم عام *1876*م، ويقدر علماء الميكروبيولوجيا أن ما بين *95-99%* من البكتيريا الموجودة على كوكب الأرض غير معروفة جيدا، ويتوقعون اكتشاف المزيد منها عبر السنين.

2.III. تعريف البكتيريا:

تعرف البكتيريا بأنها كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية، تتحرك وتتكاثر وتتأقلم وفق الوسط المحيط بها. بعض أنواع البكتيريا نافعة ومفيدة للإنسان، وبعضها ضار ومسبب للأمراض[20].

1.2.III. مكونات البكتيريا:

تتميز ببساطة التركيب اذ تتركب الخلية البكتيرية مما يلي:

1.1.2.III. الأجزاء الرئيسية:

- **الجدار الخلوي:**

هو جدار سميك يتكون من طبقتين في البكتيريا موجبة صبغة الغرام، وثلاث طبقات في البكتيريا سالبة صبغة الغرام، ومن المكونات الأساسية له: البروتينات البسيطة، السكريات والدهون، له وظائف عديدة منها:

- إعطاء البكتيريا الشكل المميز.

- المساهمة في عملية الانقسام وحماية مكوناتها.

- نقل مختلف المواد إلى داخل الخلية وإلى الوسط الخارجي، و هو الذي يحدد نوع صبغة البكتيريا، كما يحوي السم الداخلي للبكتيريا [20].

- **الغشاء البلازمي:**

هو غشاء رقيق يقع تحت جدار الخلية من يتكون من: الدهون الفوسفاتية (*35 %*)، البروتينات التي ترتبط معها (*65%*)، يمتاز بخاصية النفاذية، أي يسمح بمرور الماء وبعض المواد الغذائية اللازمة للنمو والنشاط، وظيفته القيام ببعض العمليات الحيوية مثل:

انتاج الطاقة من تحطيم المواد السكرية، المشاركة في التنفس، و في عملية الانقسام الخلوي وهو مركز الإنزيمات [21].

- **السيتوبلازم:**

يتكون من مواد بروتينية وإنزيمات ذائبة في الماء أو معلقة فيه، بالإضافة لمحتويات الطاقة مثل : احتياطي متعدد السكريات لتخليق البروتين إلى ريبوزومات، ليبيدات ومتعدد الفوسفات.

في مركز السيتوبلازم نجد نيكليويد يحتوي على جزيئة واحدة من *DNA* دائري، بالإضافة إلى جزيئات صغيرة من *DNA* الدائري تسمى البلازميدات، هذه المكونات الأخيرة تشكل جهاز الوراثة البكتيري. ويمكن تقسيم مادة الخلية في السيتوبلازم إلى ثلاث اقسام :

- مادة سيتوبلازمية حبيبية الشكل و غنية بمادة الـ *DNA*.
- منطقة كروماتينية غنية بمادة الـ *DNA*.
- الجزء السائل الذي يتحوي على المواد الغذائية الذائبة [20] [21] .

- **النواة:**

لا تحتوي الخلية البكتيرية على نواة مثل: أنوية النباتات و الحيوانات الراقية، فهي بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يتواجد في مركز الخلية، ليست محاطة بغشاء نووي، لا تحتوي على نويات أو سائل نووي، وظيفتها هي السيطرة على جميع العمليات الحيوية للخلية [20] [21].

III.2.1.2. الأجزاء الإضافية:

*** المحفظة الكبسولة:**

هي عبارة عن طبقة هلامية خارجية، تكون غلافا حول الخلية، وتغطي الجدار الخلوي وتتكون من السكريات المتعددة، ولقد أثبتت الدراسات أن المحفظة يمكن أن تفقدها البكتيريا دون أن تموت، كما أنها لا توجد في جميع أنواع البكتيريا. من وظائف المحفظة حماية الخلية

البكتيرية من مهاجمة الفيروسات، و منع إلتصاقها بالخلايا البلعمية، كما تعمل على حمايتها من الظروف البيئية غير المناسبة كالجفاف [20] [21].

*** الأسواط:**

هي زوائد خيطية رفيعة وطويلة، مكونة من البروتين، ذات أبعاد: $6\text{-}15\ \mu m$ و طول $12\text{-}30\ nm$ ، وهي مسؤولة عن حركة البكتيريا، فالخلية التي تحتوي على أسواط هي خلية متحركة، والخلية التي تفتقد إلى الأسواط هي خلية غير متحركة، ومن خلال توزّع هذه الأسواط يمكن تقسيم البكتيريا إلى مايلي [20]:

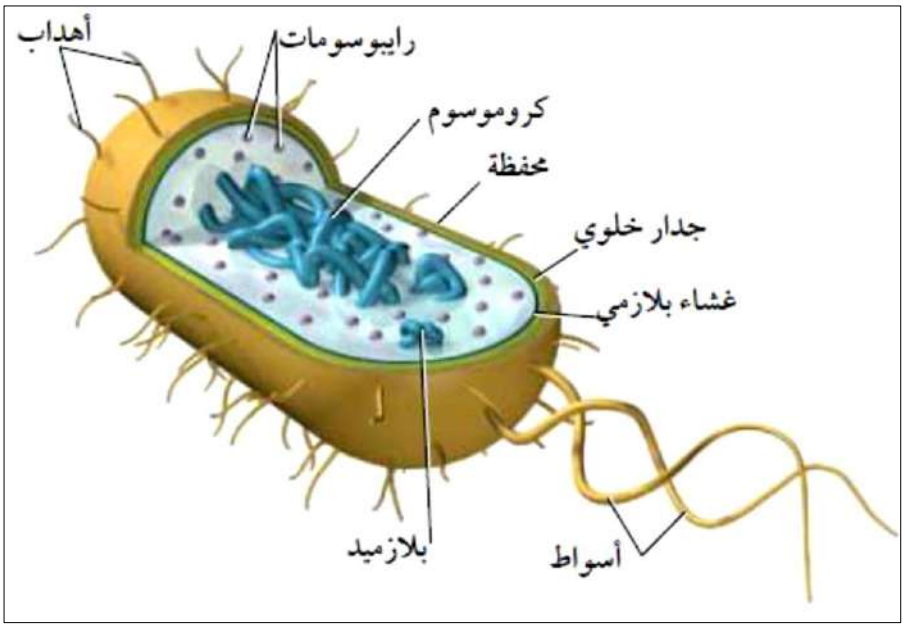
- بكتيريا وحيدة السوط، يخرج سوط واحد من أحد أطراف الخلية.
- بكتيريا سوطية الطرف، تخرج مجموعة من الأسواط من أحد أطراف الخلية.
- بكتيريا سوطية الطرفين، تخرج مجموعة من الأسواط أو سوط واحد من كلا الطرفين.
- بكتيريا محيطة الأسواط، تخرج الأسواط من جميع أطراف الخلية.

*** الأهداب:**

هي زوائد دقيقة وقصيرة جدا تحيط الخلية من جميع جهاتها، تتواجد في البكتيريا المتحركة وغير المتحركة، تسمى أيضا بالشعيرات، عددها كبير جدا، يقدر بالمئات وظيفتها التثبيت على أسطح الخلايا وهي المسؤولة عن ضراوة البكتيريا [20] [21].

***الجراثيم الداخلية أو الأبواغ:**

هي عبارة عن أجسام بيضوية الشكل، صغيرة الحجم، تتكون عند بعض أنواع البكتيريا عند تعرضها لظروف بيئية قاسية (درجة حرارة عالية، الضغط الأسموزي المرتفع، البرودة الشديدة، المواد الكيماوية)، تتكون الجرثومة الداخلية بانكماش السيتوبلازم داخل الخلية، متخذا شكل كروي أو بيضوي ثم تحاط بجدار سميك، تتخذ موضعا في وسط الخلية أو في الطرف على حسب نوع البكتيريا، فتظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف، ثم تمتص الماء وتنتفخ يتشقق جدار الجرثومة ويخرج منه المحتويات الداخلية لتنمو فيه خلية جديدة مثل: الجمرة الخبيثة [20].



شكل (20). بنية البكتيريا

III.2.2. تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على إعتبار عدة معايير[23]:

أ- من حيث توزيع أسواطها

فيمكن تقسيمها إلى:

1– بكتيريا وحيدة السوط.

2– بكتيريا متعددة الأسواط: متجمعة عند طرف واحد.

3– بكتيريا متعددة الأسواط: موزعة على كل الخلية.

ب- من حيث الشكل:

1- البكتيريا (*Bacilli*): هي التي تأخذ خلاياها شكل عصويات صغيرة تحت المجهر.

2- البكتيريا الكروية (*Cocci*): هي التي تأخذ خلاياها شكل كريات صغيرة.

3- البكتيريا الحلزونية (*Spiral*): هي التي تأخذ خلاياها شكل حلزوني.

4- البكتيريا الواوية (*Vibrio*): هي التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

جـ- من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

1- بكتيريا هوائية (*Aerobic*): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.

2- بكتيريا لا هوائية (*Anaerobic*): هي البكتيريا التي تعيش فقط ، في غياب الهواء الجوي.

3- بكتيريا لا هوائية إختيارية (*Facultative Anaerobic*): هي البكتيريا التى يمكنها العيش و النمو في وجود الهواء الجوي أو عدمه .

د- من حيث التغذية:

1– بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو .

2- بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد النيئة كالسكر .

هـ- من حيث طريقة التلوين (صبغة الغرام):

يوضح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية غرام (*GRAM*) نسبة للعالم *J.GRAM* المكتشفة سنة *1884*م، واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

1- بكتيريا موجبة الغرام (*gram positive*): عند تلوينها تمتص اللون، وتظهر أرجوانية .

2- بكتيريا سالبة الغرام (*gram negative*): تحرر صبغة حمراء، ويظهر جدار خلية البكتيريا موجبة الغرام، أسمك من جدار خلية البكتيريا سالبة الغرام (*gram negative*).

III.3. الأنواع البكتيرية المستعملة في الدراسة:

III.3.1. بكتيريا *Escherichia coli*:

هي بكتيريا عصوية (على شكل عصا)، سالبة الغرام، اختيارية الهواء، تندرج ضمن

عائلة الأمعائيات، ذات أبعاد من 1 إلى 3 ميكرومتر، توجد عادة في أمعاء الثدييات بما في ذلك البشر، معظمها ليس مسببا للأمراض، تلعب دورا هاماً في الأمعاء [24]، ولكن بعض السلالات

أكثر ضراوة، تسبب الالتهابات المعوية، والتهابات الأعضاء التناسلية أو البولية و كذا الإسهال الحاد القاتل[23].

تتكاثر بسرعة كبيرة للغاية عند درجة حرارة الجسم (*37℃*)، تشكل سلاسل و تتحرك بواسطة الأسواط.

دلّت الدراسات أنه يمكن للإشيريشيا اختراق الخلايا البطانية المكونة للحاجز الدموي الدماغي في الأطفال حديثي الولادة عبر الأوعية الدموية الدقيقة، مسببة التهاب السحايا الذي يعتبر السبب الرئيس في المرض ووفاة الأطفال.

شكل (21). بكتيريا *Escherichia coli* *تحت المجهر الالكتروني*

III.2.3. بكتيريا السالمونيلا *Salmonella*:

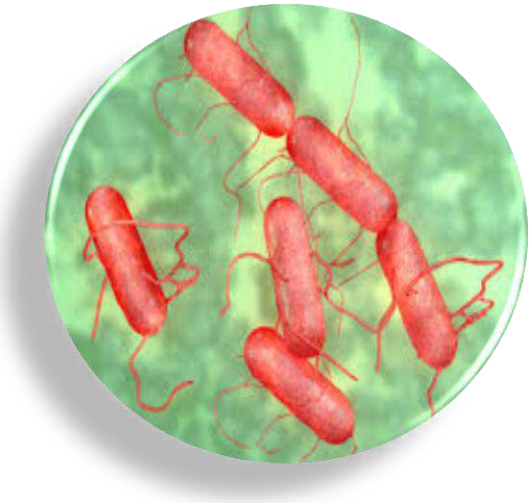
هي عصيات هوائية سالبة الغرام متحركة تنتمي إلى العائلة المعوية، تم عزلها في عام *1880*م من قبل *S .Erberth , J. Carl* ، وتنمو في وجود أو عدم وجود الأوكسجين، كما تنمو أقل قليلا من تلك التى تحت النتروجين، تسبب أمراضا متعددة للجهاز الذي تستقر فيه كأنسجة الأمعاء الدقيقة والكبد والطحال [25].

هذه البكتيريا أكثر شيوعا في البلدان النامية ذات النظم الصحية السيئة لعدم وجود المضادات

الحيوية، كأفريقيا وآسيا وأميركا الجنوبية و جنوب آسيا. تصل عدد الإصابات هذه البكتيريا في العالم حوالي *20* مليون حالة سنويا، يموت منها *200* ألف حالة [26].

و يمكنها البقاء على قيد الحياة لعدة أيام في البيئة، ولا سيما في مجال المياه في درجة حرارة الغرفة، فهي تنمو بشكل أفضل بين *35* و *37* درجة مئوية ولكن يمكن أن تنمو ما بين *7* و *45* درجة مئوية، وهي تنمو من خلال مجموعة ودرجة الحموضة من *3.8* إلى *9.5* .

للتعقيم يجب أن تفوق درجة الحرارة *70* درجة مئوية لمدة دقيقة أو أقل.



شكل (22). بكتيريا *Salmonella* *تحت المجهر الالكتروني*

3.3.III. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*:

المكورات العنقودية الذهبية هي نوع من البكتيريا إيجابية الغرام، تنتمي إلى جنس المكورات العنقودية، سميت بذلك لأنها تبدو وكأنها قذيفة، ترتبط في مجموعات على شكل عنقود العنب قطرها حوالي *01* ميكرومتر، غير متحركة، لا هوائية اختياريا، تنمو بالتنفس الهوائي أو بالتخمر، إذ تُخمر العديد من الكاربوهيدرات ببطئ منتجة حمض اللاكتيك.

تم اكتشاف المكورات من طرف باستور وكوخ في *1877*م – *1878* م[27] [28].

على الرغم من أنها كثيرا ما وجدت في البشر، إلا أنها تعد من البكتيريا المسببة للأمراض، إذ يمكن أن تسبب التهابات الجلد أو التهاب الأذن الوسطى، كما يمكن أن تؤدي إلى تسمم الدم، وهي أيضا مسؤولة عن عدوى المستشفيات، والتسمم الغذائي، مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية في بعض الأحيان تعد مشكلة كبيرة لعلاج المرضى، حيث دلّت الإحصائيات أن حالات العدوى في العالم تصل من *1 %* إلى *5%* ، و العدوى في المستشفيات تصل إلى *30%*.

شكل (23). بكتيريا *Staphylococcus aureus* تحت المجهر الالكتروني

III.4.3. بكتيريا *Proteus mirabilis* :

هي بكتيريا لا هوائية سالبة الغرام، كثيرة التنقل، وتعيش عند البشر عادة في الأمعاء والمسالك البولية والكلى، و في بعض الأحيان تستعمر الجلد والغشاء المخاطي للفم[29].

وهي ثاني أكبر مسبب لمرض التهاب المسالك البولية بعد *Escherichia coli* هذه الأنواع البكتيرية يمكنها التأقلم مع المضادات الحيوية [30].

شكل (24). بكتيريا *Proteus mirabilis* تحت المجهر الالكتروني

الفَصلُ الرَّابِعُ :

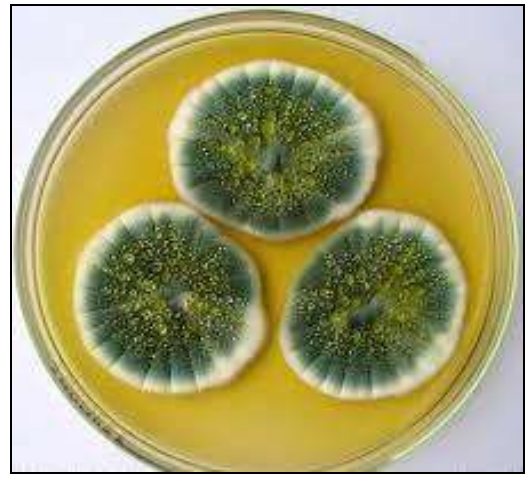
عُمُومِيَاتٌ حَولَ المُضَادَّاتِ الحَيَوِيَّة

IV. المضادات الحيوية

1.IV. نبذة تاريخية:

على مدى أكثر من *2500* عام، ظل الناس يعالجون بعض الأخماج الجلدية باستعمال الفطريات العفنية، التي تكون المضادات الحيوية [31] ، غير أن الدراسة العلمية الحديثة لهذه المواد لم تبدأ إلا في أواخر القرن التاسع عشر الميلادي، في ذلك الوقت اكتشف الكيميائي الفرنسي لويس باستور، أن البكتيريا تنشر الأمراض المعدية، ثم طور عالم البكتيريا الألماني روبرت كوخ طرق فصل وتحضير مختلف أنواع البكتيريا، و تعرّف كوخ أيضًا على بكتيريا معيّنة تسبب أمراضًا معيّنة.

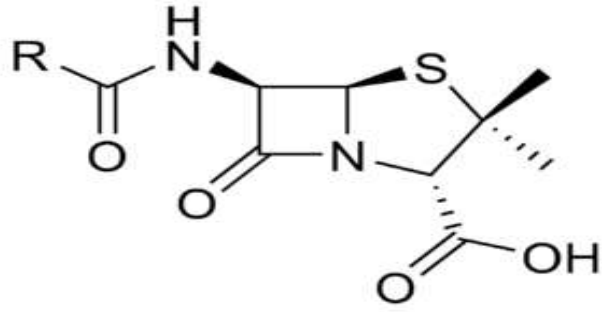
بدأ العلماء بعد ذلك في العمل على إيجاد أدوية لها القدرة على تدمير الأحياء المجهرية الممرضة، ولكن ثبت أن المواد التي أنتجوها إما عديمة الفاعلية أو ضارة، وجاء الكشف العلمي التاريخي عام *1928*م [32] ، حينما لاحظ عالم البكتيريا البريطاني ألكسندر فليمنج، أن فطرًا عفنيًا من جنس بنيسليوم ينتج مادة تدمر البكتيريا، أطلق على هذه المادة اسم البنسلّين، تعرف فليمنج على إمكانية استعمال البنسلين في علاج المرض، ولكن صعوبة استخلاصه من الفطر العفني، حالت دون إجراء المزيد من التجارب.



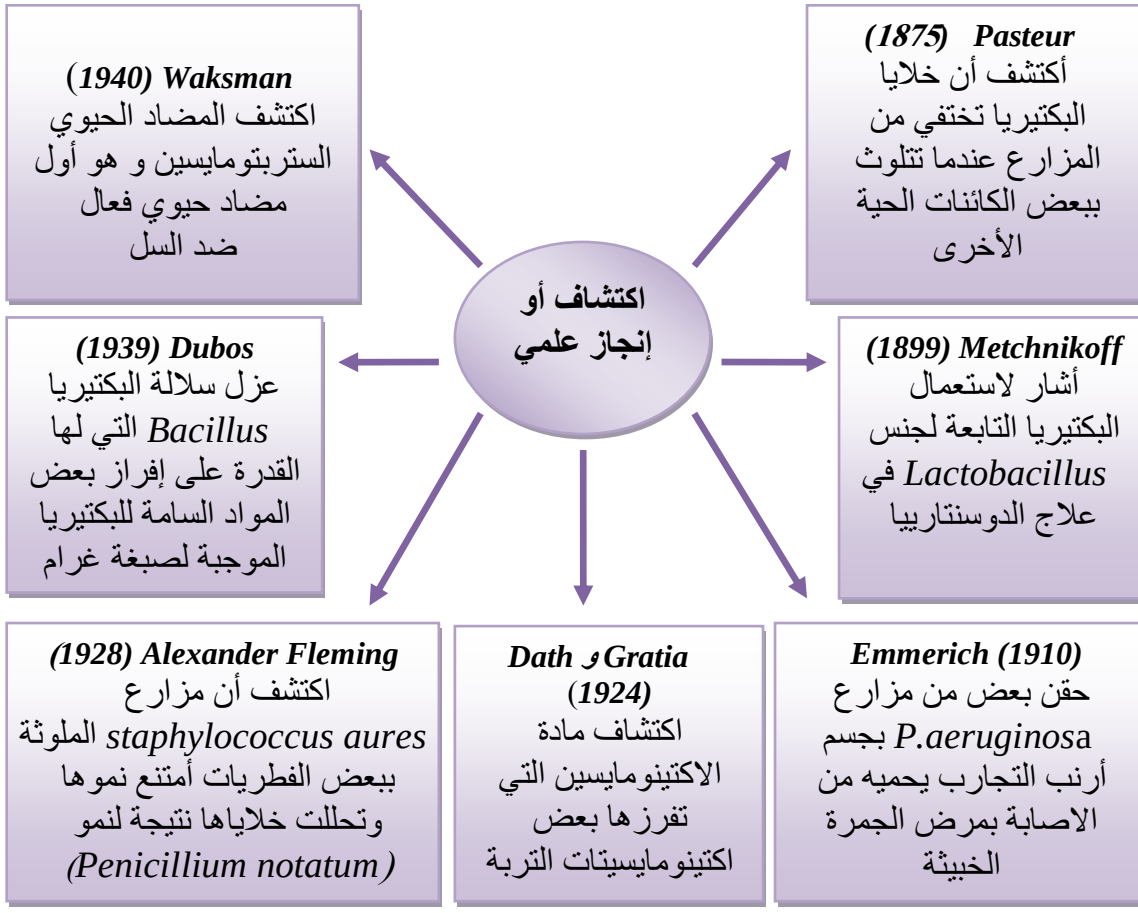
شكل (25). الشكل المجهري لفطر بنيسليوم.

في أواخر الثلاثينيات استحدث العالمان البريطانيان، إيرنست تشين وهوارد فلوري، طريقة لاستخلاص وتنقية كميات قليلة من البنسلين، وفي عام *1941*م، تحقق أول علاج طبي ناجح بالبنسلين، حينما تناول الدواء رجل شرطة بريطاني، كان يعاني

من حالة تسمم بكتيري في الدم، وفي عام *1943* م [33]، تم اكتشاف نوع من عفن البنسلين، يعطي إنتاجًا وفيرًا، ومن ثم زاد إنتاج البنسلين زيادة كبيرة [34].

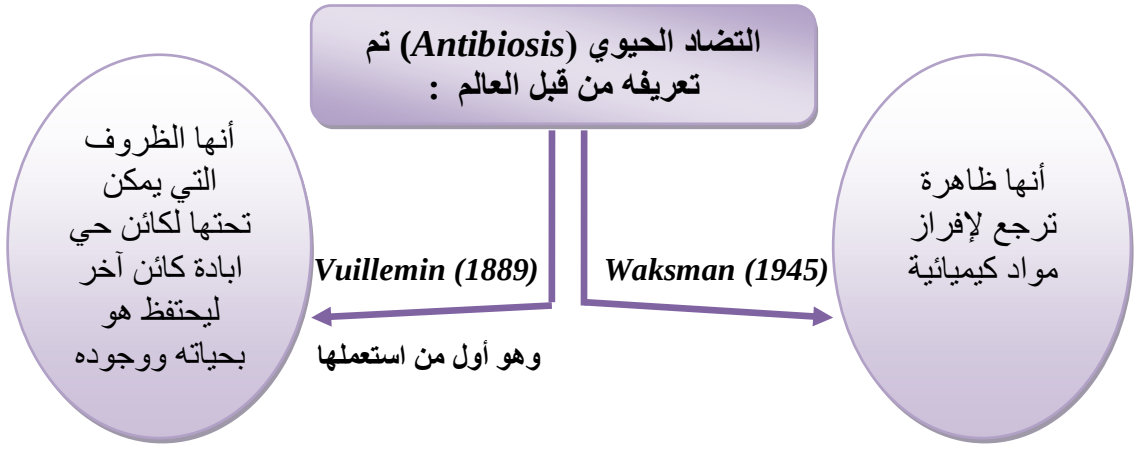


شكل (26). الصيغة الكيميائية للبنسلين



شكل (27). بعض اكتشافات المضادات الحيوية

2.IV. ماهو التضاد الحيوي؟:



شكل (28). تعريف التضاد الحيوي

1.2.IV. المضاد الحيوي:

هو عبارة عن مادة أو مركب يعمل على قتل أو تثبيط نمو الجراثيم.

تنتمي المضادات الحيوية إلى مجموعة أوسع من المركبات المضادة للأحياء الدقيقة، وتستخدم لعلاج الأخماج التي تسببها الكائنات الحية الدقيقة، بما في ذلك الفطريات والطفيليات. المضادات الحيوية هي مركبات تعمل على قتل أو إيقاف نمو البكتيريا وذلك من غير أن تسبب سمية تذكر للإنسان أو الحيوان. [35]

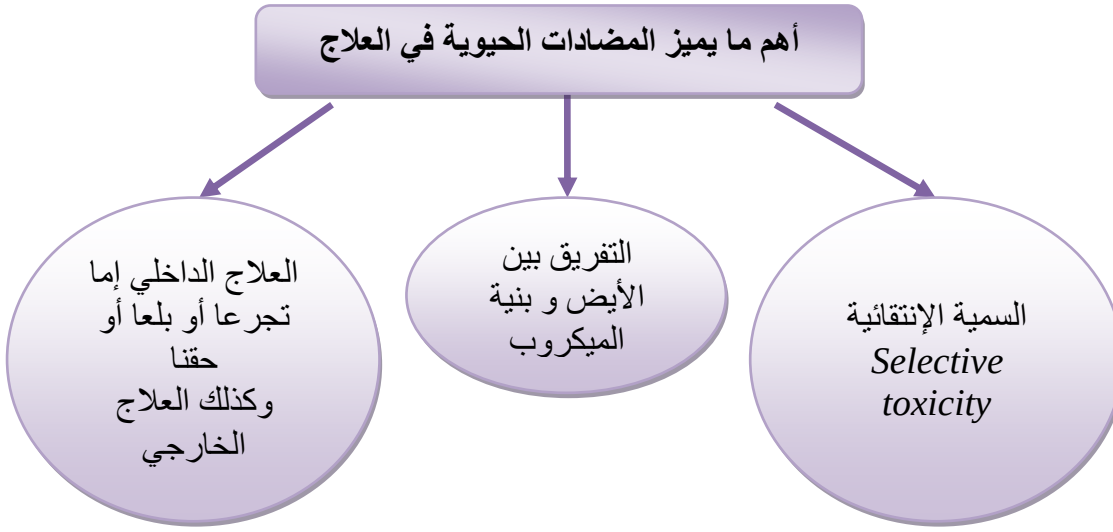
أول من أطلق مصطلح *Antibiotic* أو المضاد الحيوي هو العالم الأوكراني سلمان واكسمان حين اكتشف المضاد *Streptomycin* [74]، وقد حاز على جائزة نوبل في علم وظائف الأعضاء .

في السابق كان مصطلح *Antibiotic* أو المضاد الحيوي يستخدم للدلالة على المواد ذات المصدر الطبيعي، لكن هذا المصطلح أصبح أشمل من ذلك ليشمل الصناعي والطبيعي وشبه الطبيعي.

1.1.2.IV. أنواع المضادات الحيوية:

أ- المضادات الحيوية من حيث مصادرها:

- ❖ مواد كيمائية عضوية طبيعية بواسطة البكتيريا والفطريات.
- ❖ مواد كيمائية مصنعة.
- ❖ مواد كيمائية شبه مصنعة.



شكل (29).أهم ما يميز المضادات الحيوية في العلاج

ب- شروط تسمية المضادات الحيوية:

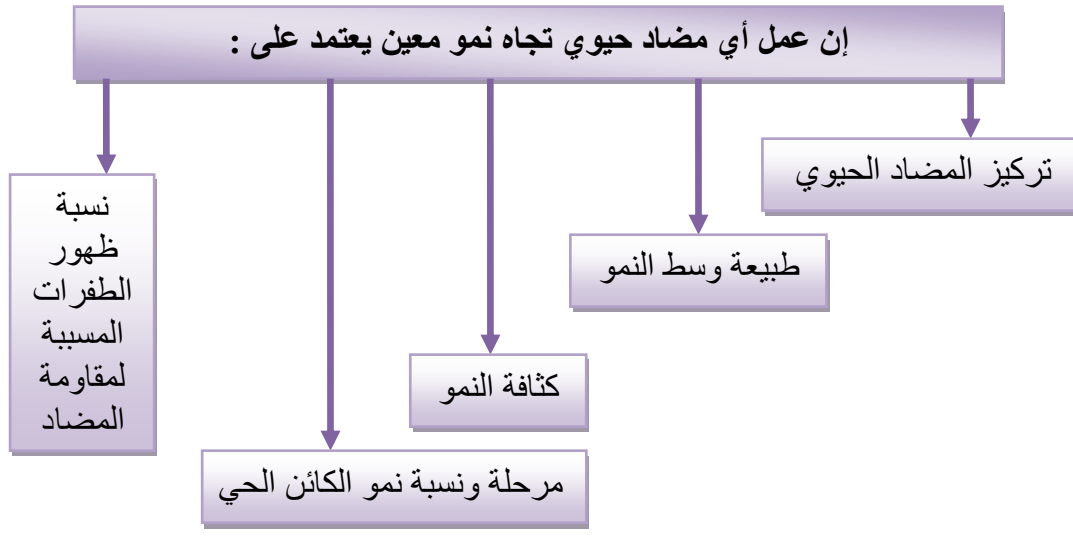
- ❖ أن يكون الاسم سهل.
- ❖ أن يعكس التركيب الكيميائي له.
- ❖ يمكن اشتقاق الاسم من المصدر البكتيري.
- ❖ استخدام مقطعا ذا نهاية تمثل اسم المضاد.
- ❖ اعطاء اسم يعكس الآلية التي يعمل بها.

ج- صفات الجودة في المضاد الحيوي:

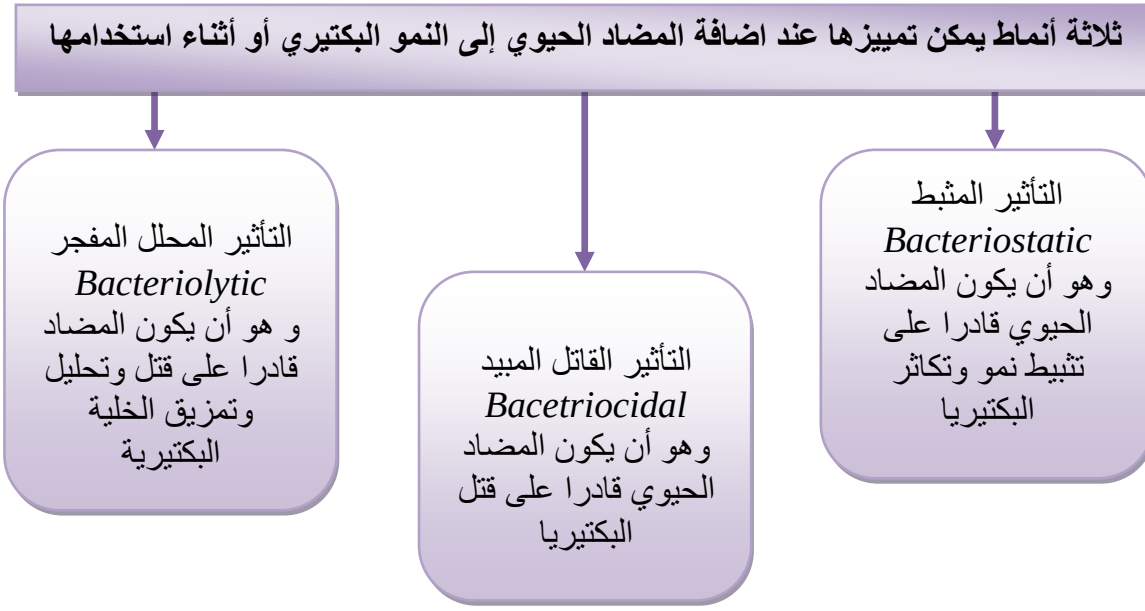
1) قدرته على إبادة عدد من الميكروبات.
2) غيرسام وخالي من الأعراض الجانبية.
3) أن لا يسبب الحساسية.
4) سرعة الانتشار والوصول إلى مكان العدوى.
5) أن يكون مستقرا كيميائيا.
6) لا يقضي على البكتيريا الصديقة في جسم الإنسان.
7) أن يكون رخيص وسهل الإنتاج.

د- عند الكشف عن نشاط المضاد الحيوي يجب معرفة تأثير ونشاط المضاد الحيوي بطريقتن:

1- هل ينتج مضاد حيوي أو هل المادة المعزولة لها عمل مضاد.
2- معرفة حساسية الميكروبات اتجاه المضاد الحيوي.



شكل (30). الشروط المتحكمة في عمل المضاد الحيوي



شكل (31). تأثيرات المضاد الحيوي على البكتيريا

3.IV. قياس نشاط المضادات الحيوية (*Measuring Antibiotic Activity*):

1.3.IV. الطرق القياسية لتحديد تأثير نشاط المضاد الحيوي:

1- الطرق التقنية (*Technological Methods*):

وهي التي تعتمد على استخدام التقنيات المتطورة، وتستخدم في حال طلب سرعة التشخيص أو عدم قدرة الطرق الميكروبيولوجية [36]، ومن هذه الطرق :

- قياس العكارة *Turbidimetry*.
- قياس الكدر *Nephelometry*.
- قياس النشاط الإنزيمي *Enzyme Activity Method*.
- قياس إنتاج CO_2.

2- الطرق الميكروبيولوجية *Microbiogical Methods*

هي الطرق التي تعتمد على زرع البكتيريا في البيئات الصناعية لتحديد نشاط المضاد الحيوي، ومنها:

أ- اختبار الحساسية *Sensitivity Test*:

ويتم باختبار الانتشار في أطباق الآجار *plate diffusion test* ويتم بطريقتين :

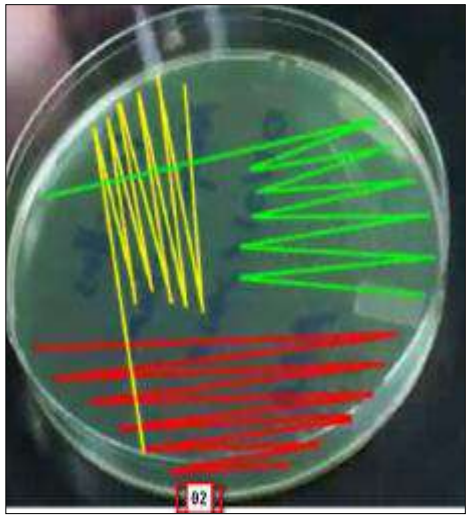
1- **اختبار الأقراص *Disc Test*:**

و هي الطريقة المتبعة في دراستنا، حيث تتم بفرد كمية ثابتة من البكتيريا على سطح الآغار، ومن ثم توضع أقراص مضادات ذات تركيز معلوم، وتحضن مقلوبة لمدة *24* ساعة و بدرجة 37^0C.

وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، و يكون الوسط المستعمل صلبا، من أهم الأوساط و أكثرها تداولا الوسط الجيلوزي مثل وسط ميلار هينتون *Muller Hinton*.

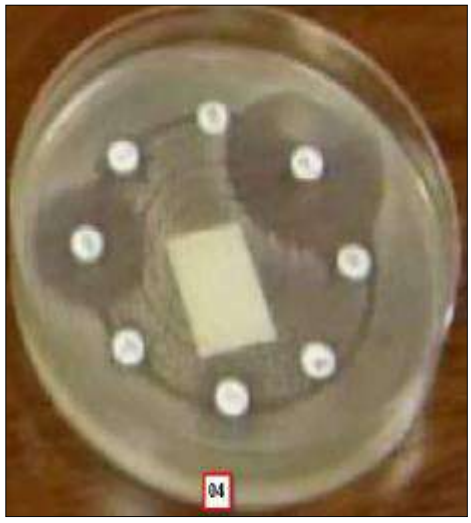
يحضر الوسط الجيلوزي بصبه في علب بيتري، من ثم تزرع البكتيريا على الوسط بطبقة متجانسة و تترك لتجف، و بعد ذلك توضع أقراص الاختبار المشبعة بالتراكيز المختلفة من المضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته، تؤخذ العينة بعد ذلك للحاضنة و تحضن العينة مقلوبة لمدة *24* ساعة وبدرجة *37* درجة مئوية.

إن معرفة حساسية البكتيريا تتم بقياس قطر طبقة الكبت بعد إخراج العينة.



2.1. زرع البكتيريا

3. وضع الأقراص



4. قياس قطر التثبيط

شكل(32). اختبار الأقراص *Disc Test*

2- **اختبار التخطيط الشعاعي *Streak Test*:**

يتم بتخطيط كمية ثابتة من البكتيريا على سطح الآغار بشكل شعاعي، مع وضع قرص ذو تركيز معلوم في منتصف الطبق وتحضن مقلوبة لمدة *24* ساعة وبدرجة 37^0C.

ب- أقل تركيز مثبط (*MIC*):

وهو أقل تركيز من المضاد قادر على تثبيط النمو. ولقياس *MIC* :

1- اختبار التخفيف المتسلسل للمرق *Serial Dilution Test*: ويتم بتلقيح أنابيب المرق المغذي بقدر معلوم من البكتيريا وتحضن لمدة *18 - 24* ساعة عند 37^0C وأول أنبوبة يتم ملاحظتها بالعين المجردة لا يوجد بها نمو هي الـ *MIC*.

3- **اختبار التخفيف المتسلسل للآغار *Agar Dilution Test*** : يشبه اختبار المرق لكن هنا نستخدم الآغار بسبب العكارة التي تسببها بعض العوامل المضادة بسبب عدم ذوبانها بشكل تام.

ج- أقل تركيز قاتل *Minimum Bacteriocidal Concentration*:

وفيها يكون أقل تركيز في المضاد قادراً على قتل النمو البكتيري .

وقياس الـ *MBC* يتم بفرد بيئات غير معكرة أي أنها فوق نقطة *MIC* بواقع *0.1ml* وتحضن *24* ساعة عند 37^0C، وبعد التحضين يتم ملاحظة الطبق الذي لايظهر فيه نمو الطبق الذي يعكس قيمة الـ *MBC* .

د- الظروف القياسية لمقارنة المضادات الحيوية:

الـ *MIC* و *MBC* تختلف باختلاف:

- ❖ المضاد الحيوي.
- ❖ كمية البكتيريا المختبرة.
- ❖ تركيب بيئة التنمية.
- ❖ وقت وظروف الحضن (درجة الحرارة والتهوية و الـ *pH*).

ملاحظة : من الممكن مقارنة نشاط المضادات الحيوية عند تساوي الظروف القياسية المذكورة أعلاه.

4.IV. تأثير دمج المضادات الحيوية:

في العديد من الحالات يستلزم إعطاء مضادين أو أكثر، حيث يعمل على تعدد الآليات، فمثلاً البنسلين و الأمينوغليكوزيد (الجنتاميسين) لهما تأثير تآزري لأن البنسلين يخرب الجدار الخلوي بقدر يسمح بدخول الأمينوغليكوزيد، أما التأثير التضادي أو المناهض فهو قليل بين المضادات مثل استخدام البنسلين *G* بالمشاركة مع التراسيكلين في إلتهاب السحايا، فنجد أن التضاد يحدث لأن التراسيكلين يثبط نمو البكتيريا، و بالتالي يمنع التأثير القاتل للبنسلين *G* الذي لا يقتل إلا البكتيريا النامية فقط.

1.4.IV. فائدة إعطاء دوائين بالتآزر *Synergy* (المشاركة *Combination*):

1- معالجة الإصابات الخطيرة قبل معرفة هوية الميكروب.
1- توسيع طيف التأثير.
2- الوقاية من ظهور بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية[37].
3- التأثيرعلى حدة التأثيرات الجانبية.
4- المفعول التآزري يقلل مدة العلاج بها.
5- الحصول على تأثير مبيد و قاتل أشد.
6- تحقيق التأثير التآزري اتجاه ميكروبات معينة.

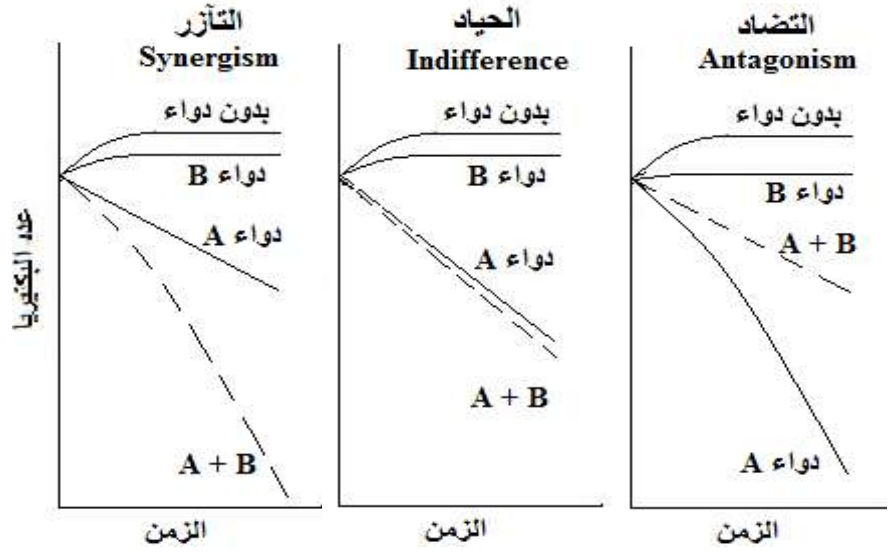
2.4.IV. إضافة مضادين أو أكثر لبعضهم:

هو حالة تحدث عندما تؤثر مادة ما (غالباً ما تكون دواء آخر) على فعالية دواء ما عندما يتم إدخال الدوائين معاً إلى الجسم، هذا الفعل من الممكن أن يكون تآزر(عندما يزداد تأثير الدواء) ، أو يكون مُناهضا/ مُتعاكسا (عندما يتناقص تأثير الدواء) أو تأثير محايد، كما أن التداخل من الممكن أن يحصل مع الطعام، أو مع النباتات الطبية أو الأعشاب، مثلا: الأشخاص الذين يتناولون مضادات الاكتئاب (مثبطات الـ *MAO*) أي مؤكسد الأمينات الأحادية، لا يجب أن يتناولوا الطعام الحاوي على التيرامين لأنه يسبب نوبة فرط الضغط، لذلك نستطيع أن ندرك أهمية دراسة التدخلات الدوائية في مهنة الطب، مثال آخر لو كان مريض ما يأخذ دوائين و أحدهما يؤدي إلى زيادة تأثير الآخر، من الممكن أن يحصل المريض على جرعة زائدة، هذا التداخل أيضاً من الممكن أن يزيد من التأثيرات الجانبية لأحد الدوائين من جهة، و من جهة أخرى، إذا تناقص عمل الدواء، فإنه سيؤدي إلى إيقاف التأثير العلاجي، بسبب أن جرعة الدواء أصبحت تحت المعدل المطلوب. على الرغم مما ذكر سابقاً، فإننا أحياناً نُفضل وجود

تداخلات دوائية (مشاركات) ، للحصول على تأثير علاجي أفضل [38] ، على سبيل المثال، فإن استخدام الكودايين مع الباراسيتامول يزيد من تسكين الألم، أو جمع حمض الكلافولانيك مع الأموكسيسيلين يزيد من فرص التغلب على مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي.

جدول (4). التأثيرات التشاركية لإضافة مضادين حيويين أو أكثر

نوع التأثير	طريقة حدوث التأثير
1- التأثير الحيادي *Indifference*	يحدث إذا كان نشاط مجموعة من المضادات الحيوية المتشاركة مساوٍ تقريباً للمضاد الحيوي الأكثر نشاطاً في المجموعة المكونة للمضادات الحيوية.
2- التأثير التضادي *Antagonism*	يحدث إذا كان نشاط مجموعة من المضادات الحيوية المتشاركة أقل من المضاد الحيوي الأكثر نشاطاً في المجموعة المكونة للمضادات.
3- التأثير التآزري *Synergism*	يحدث إذا كان النشاط الجديد أعلى من مجموع تأثيري كل منهما على حدة.



شكل (33). التأثيرات التشاركية لإضافة مضادين حيويين أو أكثر

3.4.IV. نشاط المجموعة التعاونية للمضادات الحيوية: إن نشاط المجموعة التعاونية للمضادات الحيوية يعتمد على الخصائص الذاتية من حيث:

1- التأثير القاتل للبكتيريا *bactericidal*.

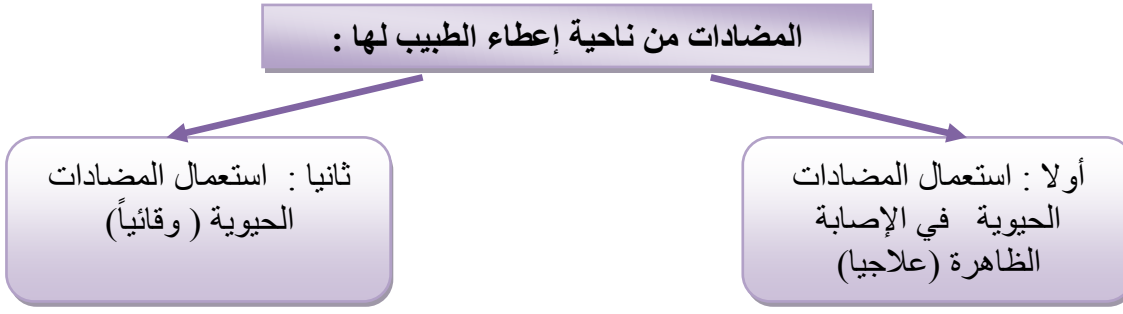
2- التأثير المثبط للبكتيريا *bacteriostatic*.

وعلى ماذكر أعلاه فإن المضادات تقسم إلى أربع مجموعات:

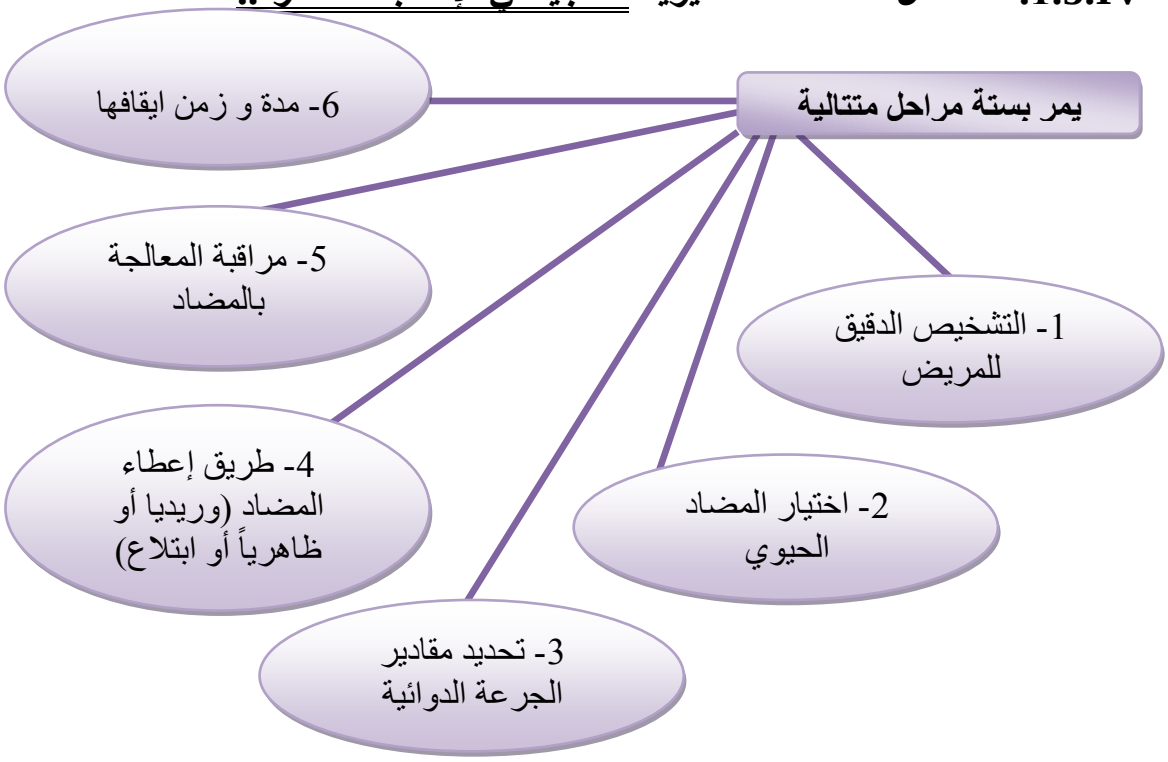
جدول (5). أنواع و آليات عمل المجموعات التعاونية للمضادات الحيوية

المجموعة	آلية العمل	الأمثلة
المجموعة الأولى	*Bactericidal* متخصصة في قتل الميكروبات والميكروبات غير المتكاثرة (الهاجعة *Resting*)	*Streptomycin Sisomicin Neomycins*
المجموعة الثانية	متخصصة لقتل الميكروبات المتكاثرة *Proliferating*	*Penicillins Bacitracin Fosfomycin*
المجموعة الثالثة	مثبطة لنمو الميكروبات ولكنها بالتراكيز العالية تكون قاتلة *Bactericidal*	*Tetracyclines Carbomycin Novobiocin*
المجموعة الرابعة	تعمل فقط على التثبيط دون القتل	*D-Cycloserine Capreomycn Viomycin*

5.IV. طرق إعطاء المضادات:



IV.1.5. استعمال المضادات الحيوية علاجيا في الإصابة الظاهرة..



IV.1.1.5. التشخيص الدقيق للمريض:

* قرار المعالجة يجب أن يكون منطقياً ومسوغاً .
* لا تُبيح سمية بعض المضادات تعريض المريض لخطر لا فائدة منه .
* يجب أن يكون إتخاذ القرار من قبل الطبيب لوصف المعالجة بالمضادات مستندا على معلومات من الفحص السريري، وفحص الإصابة البكتيرية عبر تشخيص دقيق ، فعلى سبيل المثال : ظهور الحمى (ارتفاع درجة الحرارة) لا يعني الاصابة البكتيرية بصورة حتمية.

IV.2.1.5. اختيار المضاد الحيوي المناسب:

و يعتمد على خمس معطيات[39].

أ- نوع البكتريا المسببة للإصابة (يتم بإجراء الاختبارات المخبرية وقد تم ذكرها سابقا):

حيث أنه إذا كانت هذه الاختبارات سلبية، فيجب اجراء تشخيص استناداً على شدة تأثير البكتيريا في احداث الإصابة.

يتم اختيار المضادات استناداً على تشخيص الإصابة البكتيرية المؤكدة أو الترجيحية على أقل تقدير.

ب- حساسية النوع البكتيري للمضاد الحيوي:

وذلك عن طريق إجراء اختبارات الحساسية، وإذا لم تُجر هذه الاختبارات أو بانتظار ظهور نتائجها، حينها يتم اختيار مضاد حيوي استناداً إلى معرفة طيف التأثير لهذا المضاد، وإلى معرفة المقاومة الطبيعية والمقاومة المكتسبة لمختلف الفئات البكتيرية.

جـ- موضع الإصابة:

يكون الاختيار من بين فعالية المضادات الحيوية، تلك التي بحكم خصائص حركتها الدوائية تستطيع أن تصل إلى بؤرة الإصابة بتركيز كان يفوق التركيز الأدنى المثبط للبكتيريا .

د- حالة المريض:

قد لا تسمح حالة المريض باستعمال بعض المضادات الفعالة، نظراً لبعض خصائصها السمية أو الاخطار السمية التي يمكن أن تتفاقم، نتيجة اصابة المريض بقصور في جهاز من أجهزته، مثل أن يكون مصاباً بقصور كلوي أو آفة كبدية أو غير ذلك.

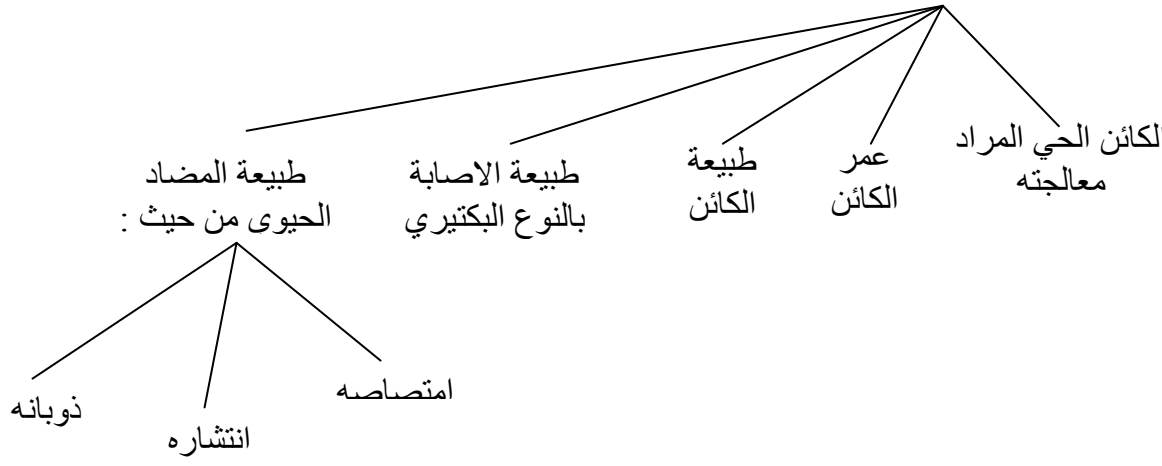
IV.1.5.3. تحديد مقادير الجرعة الدوائية:

- ✓ المقدار على عدة جرعات أثناء اليوم.
- ✓ عدد المرات على حسب سرعة طرح المضاد.

IV.1.5.4. طريق إعطاء المضاد:

- ✓ إما وريديا أو ظاهريا أو عن طريق الإبتلاع.

أ- طرق إعطاء المضاد الحيوي تختلف باختلاف



ب- انتشار المضادات في الأنسجة:

يختلف انتشارها اختلافاً كبيراً، ويرجع ذلك إلى نوع المضاد الحيوي.
الجدول أدناه يلخص انتشارها:

جدول (6).انتشار المضادات في الأنسجة

التخصص أو أماكن الانتشار	المضاد الحيوي
المضادات ذات التركيز الشديد في البول	البتالكتام والأمينوغليكوزيدات والكوليستين وكذلك الكينولونات والضاميدان والكورتيمكازول والنيتروفورات .
المضادات ذات التركيز الشديد في الصفراء	الميتامبيسلين والكلورامفينكول والترامكلينات والرينامبسينات والايكوزامينات والكوتريموكسترول
المضادات ذات الانتشار اللمفاوي	الكلورامغنيكول والكتريموكسازول
المضادات التي تنتشر داخل الخلايا	التتراسيكلينات والكلورامفينكول والرينامبسين والكوتريموكازول والفلوروكينولونات
المضادات التي تنتشر في الأنسجة	التتراسيكلينات والكلورامفينكول والكوليدات واللكتمينات بيتا والكوتريموكوزول والفلوروكينسولونات
المضادات التي تنتشر في السائل الدماغي الشوكي	الأمبيسلين وسيفالومبورينات (الجيل الثالث) والكلورامنيتيكول والفسفوميسين والكوتريموكازول والفلورو كينولونات
المضادات التي تنتشر في النسيج العظمي	المكروليدات والسيزجستين والرينامبيسين والبيتالكتام والامينوغليكوزيدات والفلوروكينولونات

IV.5.1.5. مراقبة المعالجة بالمضاد الحيوي:

تقضي الأخطار السمية للمضادات، القيام بمراقبة شديدة وخاصة في حالة اصابة المريض بقصور كلوي أو كبدي، لذلك تجرى المراقبة السريرية بتحري العلامات الأولى للأعراض الجانبية الخاصة بالمضادات التي تم انتقاؤها للمعالجة، ومن هذه العلامات :

1- الدوار.
2- ظهور يرقان خفيف (الصفار).
3- الأمراض السمعية.
4- الطفح الجلدي.

- **اختبارات حصرية تتيح الكشف على العلامات الأولى :**

1- تعداد كريات الدم البيضاء ونوعها.
2- معايرة البول.
3- معايرة ناقلات الأمين *Transaminases*.

خلاصة:

إن تكرار معايرة المضادات في المصل يساعد كثيراً في إحكام المقادير الدوائية للذين يعانون مثلا من القصور الكلوي.

IV.6.1.5. مدة بقاء المضاد الحيوي أو زمن ايقافها:

تختلف على حسب:

1- شدة الاصابة
2- طبيعة الاصابة.

- **يكون إعطاء المضاد الحيوي على جرعة واحدة على حسب الحالات التالية:**

1- السيلان البني.
2- الاصابة البولية المنخفضة.

- **يكون إعطاء المضاد الحيوي على عدة جراعات من *4-6* اسابيع على حسب:**

1- التهاب الشغاف *Endocarditic* (إصابة العضلة القلبية أو غشاءها الداخلي).

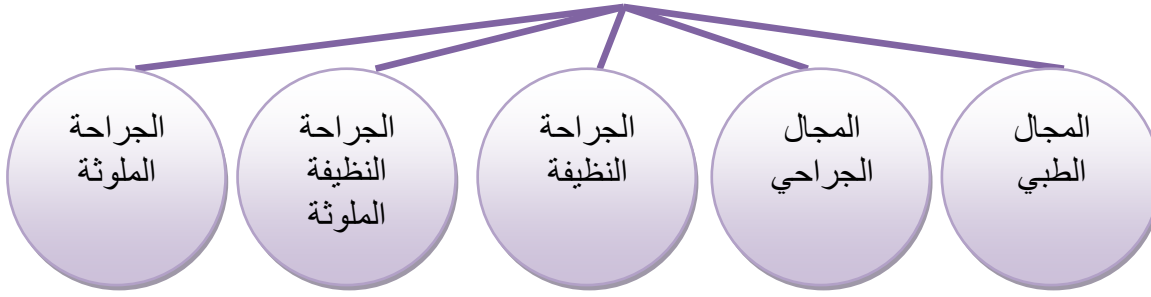
والزيادة في إعطاء عدد الجرعات في:

1- اصابات *Staphylococcus* .
2- الاصابات العظمية المفصلية للعصيات *Brucella* .

ملاحظة: يجب أن توقف المعالجة بالمضادات الحيوية دفعة واحدة أي دون تخفيض المقادير تخفيضاً تدريجياً .

2.5.IV. إعطاء المضادات وقائياً.

من ضمن العلامات المستخدمة في إعطاء المضادات وقائياً في مجالات مختلفة [40].



1.2.5.IV. في المجال الطبي:

* يستخدم في المجال الطبي للوقاية من البكتريا الممرضة مثل *Streptococcus*.
* يستخدم في المجال الطبي لوقاية المصابين من جراء الآفة القلبية البكترية التي تصيب شغاف القلب.
* وكذلك الوقاية من التهاب السحايا المخي و النخاعي للمريض، من المضادات المستخدمة : الريفامبيسين أو البنسلين أو الارثروميسين.

2.2.5.IV. في المجال الجراحي:

* الهدف منه منع البكتيريا من تلويث ساحة العمل الجراحي أثناء إجراء العمليات.
* منع البكتيريا من تلويث الساحة الخارجة عن مساحة العمل الجراحي، لأنها قد تسبب إصابة ثانوية أو موضعية.
* للتقليل من نسبة حدوث اصابات معينة، مثل الجراحة الهضمية أو ما بعد العملية.

3.2.5.IV. الجراحة النظيفة:

ملاحظة : لا يعطى علاج وقائي بالمضادات إلا في حالة وضع أعضاء صناعية في الجراحة القلبية الوعائية والنظيفة.

من المضادات المستخدمة في الجراحة النظيفة: سيفالوسبورينات – البنسيلينات.

4.2.5.IV. الجراحة النظيفة الملوثة:

تجرى هذه الجراحة على (المرارة، المعدة، السبيل البولي، الجراحة النسائية: الولادة وغيرها).

ومن المضادات المستخدمة: البنسلين ذو الطيف الواسع أو السفالوسبورينات.

5.2.5.IV. الجراحة الملوثة:

تجرى على (القولون، المستقيم، الزائدة).

ومن المضادات المستخدمة: الأمينوغليكوزيد والمترونيدازول.

6.IV. المسح الكشفي عن المضادات الحيوية:

1.6.IV. تعريفه: اختبار نشاط المضادات الحيوية والكائنات التي تنتجها، واختبار فعاليتها في المختبر على الحيوان، للتمهيد لتصنيعها وتسويقها طبياً [41].

2.6.IV. خطواته:

أولاً. عزل الميكروبات من مصادرها الطبيعية:

* إن الظروف الطبيعية لاكتشاف مضاد حيوي جديد هو اكتشاف للكائن الذي ينتجه.
* أغلب ما يدرس من الكائنات المنتجة للمضادات الحيوية بشكل كبير هي البكتيريا و والفطريات.
* يعتمد اختبار بيئة زراعية صناعية على نوع الميكروب المراد عزله.

جدول (7). بيئات نمو البكتيريا و الفطريات

البكتيريا	أ. تحتاج إلى بيئات معقدة وغنية. ب. درجة حموضة . جـ. *pH* لابد أن تبدو بدرجة قاعدية لكي تمنع نمو الفطريات.
الفطريات	أ. تحتاج إلى بيئات معقدة وغنية. ب. درجة حموضة . جـ. *pH* لابد أن تبدو بدرجة قاعدية لكي تمنع نمو الفطريات.

الفَصلُ الأَخِيرُ:

دِرَاسَةُ النَّبتَتَين

V. دراسة النبتتين

1.V. خطة الدراسة:

قسمت الدراسة إلى *03* أجزاء: * الجزء العملي .

* النتائج و المناقشة.

* الخلاصة.

❖ **الجزء العملي:** و تتم فيه الدراسة العملية للنبتتين، و قسمت الى أربعة مراحل:

✓ **تحضير النبتتين:**

الجزء المستعمل طبيا في الوسط الشعبي هما: السيقان بالنسبة لنبات الرتم، والأوراق بالنسبة لنبات الدرين.

✓ **الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في الجزء المدروس من النبتتين:**

بعد تحضير النبتتين للدراسة، نقوم أولا بالكشف عن المواد الفعالة فيهما.

✓ **دراسة تأثير مستخلصات النبتتين بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا:**

في هذه المرحلة، نكشف عن تأثير المستخلصات في تثبيط نمو بعض أنواع البكتيريا المسببة لأمراض المسالك البولية، كما نحدد التركيز الأكثر تثبيطا للبكتيريا بالنسبة لكل مستخلص.

✓ **دراسة تأثير مستخلصات النبتتين في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية:**

في هذا الجزء، نأخذ التركيز الأكثر تأثيرا لكل مستخلص و نضيفه لبعض المضادات الحيوية كل على حدة، و من ثم نحدد فعالية و جدوى كل إضافة.

❖ **النتائج و المناقشة :** تم في هذا القسم عرض نتائج الجزء العملي و مناقشتها.
❖ **الخلاصة :** و تأتي تتويجا للنتائج المحصل عليها.

2.V. الجزء العملي:

1.2.V. تحضير النبتتين:

- **جمع النبتة و تجفيفها:**

تم جمع سيقان نبات الرتم و أوراق نبات الدرين من البرية مباشرة و دون وسيط، يوم *10 أفريل 2015* من منطقة "مَرّوقات" (40 كم جنوب مركز مدينة المنيعة).

يكون التجفيف في الظل ويعتمد على بسط النبتين لتشكلا طبقة رقيقة تضمن دخول الهواء، و يتم تقليب النبتتين من حين لآخر لضمان التجفيف الجيد و منع تخمرهما في حالة الرطوبة العالية. بعد التجفيف، وضعت النبتتين كل على حدة في خلاط كهربائي من نوع *Panasonic* ليتم طحنهما لمدة *20* دقيقة للحصول على مسحوقي سيقان نبات الرتم و أوراق نبات الدرين.

حصلنا على مسحوقين: * مسحوق الرتم (أخضر غامق ذو رائحة تشبه رائحة الحناء).[47]

* مسحوق الدرين (مسحوق أخضر فاتح مائل للصفرة).

2.2.V. الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في مسحوقي النبتتين:

استخدمت طرق معتمدة للكشف عن أهم المواد الفعالة في المساحيق الجافة و الطرية للنبات.

- **الكشف عن الغلايكوسيدات (*Glycosides*):**

أجري الفحص بإضافة *2ml* من كاشف بندكت إلى *1mg* من المسحوق النباتي الموضوع في أنبوبة اختبار ثم رج المحلول جيدا ووضع في حمام مائي مغلي مدة 5 دقائق، ثم تركت الأنبوبة لتبرد.

دل ظهور راسب أحمر على وجود الغلايكوسيدات.[42]

- **طريقة تحضير كاشف بندكت:**

أ- يُذاب *10g* من ملح الصوديوم الثلاثي لـحمض الستريك مع *8g* من كربونات الصوديوم في *50ml* من الماء المقطر الساخن.

ب- يُذاب *1g* من كبريتات النحاس في *10ml* من الماء المقطر.

يضاف ب إلى أ بالتدريج مع التحريك واذا لم يكن المحلول رائقا يُرشّح.

- **الكشف عن الفينولات (*Phenols*):**

تم الكشف عنها باستعمال محلول كلوريد الحديديك (*Ferric Chloride*) الذي حُضّر بإذابة كلوريد الحديديك في الماء المقطر بنسبة *1%*.

يعطي هذا الكاشف لونا أخضرا أو أزرقا عند إضافته إلى كمية المسحوق النباتي الموجودة في زجاجة السعة الحاوية للمركبات الفينولية.[45]

- **الكشف عن القلويدات (*Alkaloids*):**

لإجراء هذا الكشف استخدمت طريقتان، وبعدها تمت مقارنة النتائج :

1- كاشف ماركيز الذي يعطي اللون الرمادي دليل على وجود القلويدات.[44]

- **طريقة تحضير كاشف ماركيز:**

تتم بإضافة *100ml* من حمض الكبريتيك المركز (*95-98%*) إلى *5ml* من الفورمالديهايد (*40%*).

2- كاشف ماير الذي يعطي راسبا أبيضا دليل على وجود القلويدات أيضا.

- **طريقة تحضير كاشف ماير:**

أ- يذاب *1.58g* من كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ في *60ml* من الماء المقطر.
ب- يذاب *5g* من يوديد البوتاسيوم *KI* في *10ml* من الماء المقطر.

يمزج المحلولان أ و ب قبل الكشف مباشرة و ُيكمل الحجم إلى *100ml* بالماء المقطر.

- **الكشف عن التربينات (*Terpenes*) و الستيرويدات (*Stroids*):**

أضيف قليل من الكلوروفورم إلى *1mg* من المسحوق النباتي بعدها أضيفت إليه قطرة من الأسيتيل اللامائي (*Acetic Anhydrate*) ، و قطرة من حامض الكبريتيك المركز، إذا ظهر لون بني فهذا دليل على احتواء المسحوق النباتي على تربين، و إذا ترك المزيج لمدة و ظهر اللون الأزرق داكن دل ذلك أن المسحوق النباتي حاوي على الستيرويدات.[45]

- **الكشف عن الراتنجات (*Resins*):**

اتبعت الطريقة الواردة في [46] للكشف عن الراتنجات :

أخذ *10ml* من المسحوق النباتي و أضيف له *20ml* من الماء المقطر المحمض بحمض كلور الماء (*HCl*) *4%* ، قرأت النتيجة الموجبة من خلال ظهور العكارة.

- **الكشف عن الصابونيات (*Saponins*):**

اتبعت الطريقة الواردة في [46] و كما يأتي :

- حضر محلول مائي للمسحوق النباتي (*1g* من النبات الجاف في *10ml* من الماء المقطر) في أنبوبة اختبار ثم رج بشدة، لحين ظهور رغوة كثيفة تبقى عدة دقائق دلالة على وجود الصابونين.
- بإضافة (*3ml - 1ml*) من محلول كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ بتركيز*1%* إلى *5mg* من المسحوق النباتي، يُعد ظهور الراسب الأبيض دليلا على ايجابية الفحص.

- **الكشف عن التانينات (*Tannins*):**

اتبعت الطريقة الواردة في [46] للكشف عن التانينات :

تم الكشف بغلي *10g* من المسحوق النباتي في *50ml* من الماء المقطر، ثم رشح المحلول و ترك ليبرد. بعد ذلك أضيف له *1%* محلول كلوريد الحديديك، إذ يدل ظهور الأخضر المُزرق دلالة على وجود التانينات.

- **الكشف عن الفلافونات (*Flavons*):**

اعتمدت الطريقة الواردة في [65] للكشف عن الفلافونات، فقد حضر محلول الكشف بإضافة *10ml* من الكحول الإيثيلي بتركيز *50%* إلى *10ml* من محلول كلوريد البوتاسيوم (*KOH*) و بتركيز *50%* أيضا، و عند مزج كميات متساوية من هذا المحلول و المستخلص النباتي، يدل ظهور اللون الأصفر على وجود الفلافونات.

- **الكشف عن الكومارينات (*Coumarins*):**

اعتمدت الطريقة الواردة في [66] [67] للكشف عن الكومارينات، و هي كما يلي :

وضع القليل من المسحوق النباتي في أنبوب اختبار (*1g* من النبات الجاف في *10ml* من الماء المقطر)، و غطيت الأنابيب بأوراق ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم

(*NaOH*) المخفف، ووضع الأنبوب في حمام مائي مغلي لبضع دقائق، ثم بعد ذلك عرضت أوراق الترشيح إلى مصدر للأشعة فوق البنفسجية، إذ يدل ظهور لون أصفر مخضر براق على وجود الكومارين.

- **الكشف عن الزيوت الطيارة (*Volatile Oils*):**

اعتمدت طريقة الكشف عن الزيوت الأساسية كما ورد في [69] ، إذ أخذ *10ml* من المستخلص النباتي ورشح، بعد ذلك شبعت بها أوراق ترشيح و عرضت للأشعة فوق البنفسجية، دل ظهور اللون الوردي البراق على وجود الزيوت الطيارة.

V.3.2. دراسة تأثير مستخلصات النبتتين بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا:

اتبعت طريقة الانتشار في أطباق الآغار (اختبار الأقراص). شكل (28) ، وهي الطريقة الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية.

V.3.2.1. طريقة الانتشار في أطباق الآغار:

يحضر الوسط الجيلوزي مولر هنتون (*Muller Hinton*) بصبه في علب بيتري ذات قطر *80mm*، ومن تم تزرع البكتيريا في الوسط بطبقة متجانسة وتترك لتجف، وبعد ذلك توضع الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة من المستخلص النباتي المراد اختبار فعاليته، تأخذ العينة بعد ذلك للحاضنة و تحضن بدرجة 37^0C لمدة *24* ساعة، ثم تقاس منطقة التثبيط (*Inhibition Zone*) بواسطة قدم قنوية أو مسطرة.

أ - **تحضير الأقراص :** نقُص ورقة الترشيح *Whatman No. 1* على شكل أقراص ذات قطر*05mm*.

ب - تحضير الوسط الزراعي: وسط *Muller Hinton* من انتاج معهد باستور - الجزائر-

جـ - تحضير المعلق البكتيري: نأخذ في كل مرة جذمة من البكتيريا ونضعها في علب بيتري ونتركها تجف لمدة *05* دقائق في الفرن تحت درجة حرارة 37^0C .

- **العينات البكتيرية :** تم أخذ عينات بكتيرية معزولة ومشخصة من قبل مختبرات مستشفى العقيد شعباني – المنيعة - ، حيث تم أخذ 04 عزلات بكتيرية (*E. coli ATCC25922* ، *Salmonella sp* ، *Proteus mirabilis*، و*S. aureus ATCC25923*) .

V.2.3.2. اِختبار حساسية البكتيريا المعزولة:

- اِختُبرت حساسية البكتيريا المعزولة ومقاومتها إزاء بعض المضادات الحيوية و المذيب *Dimethyl sulfoxide (DMSO 5 %)* بطريقة اختبار الأقراص، وحددت الحساسية والمقاومة وفقاً لمعايير (*NCCLS* (*2004*) [48] [49] [50]، بعد قياس أقطار حلقات عدم النمو بواسطة قدم قنوية أو مسطرة ميليمترية على وسط. *Mueller Hinton*.
- المضادات الحيوية المستخدمة مع تركيزها في الأقراص، موضحة في الجدول (10) ، إنتاج شركة *Liofilchem* الإيطالية.

جدول (8). المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، رمزها، تركيزها و فعاليتها

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز (*mcg*)	الفعالية
Cefazolin	*CZ*	*30*	البكتيريا سالبة الغرام والمكورات موجبة الغرام
Vancomycin	*VA*	*30*	البكتيريا موجبة الغرام
Gentamicin	*CN*	*10*	البكتيريا موجبة وسالبة الغرام

V.3.3.2. تحضير التراكيز المختلفة من المستخلصات النباتية لدراسة فعاليتها البيولوجية:

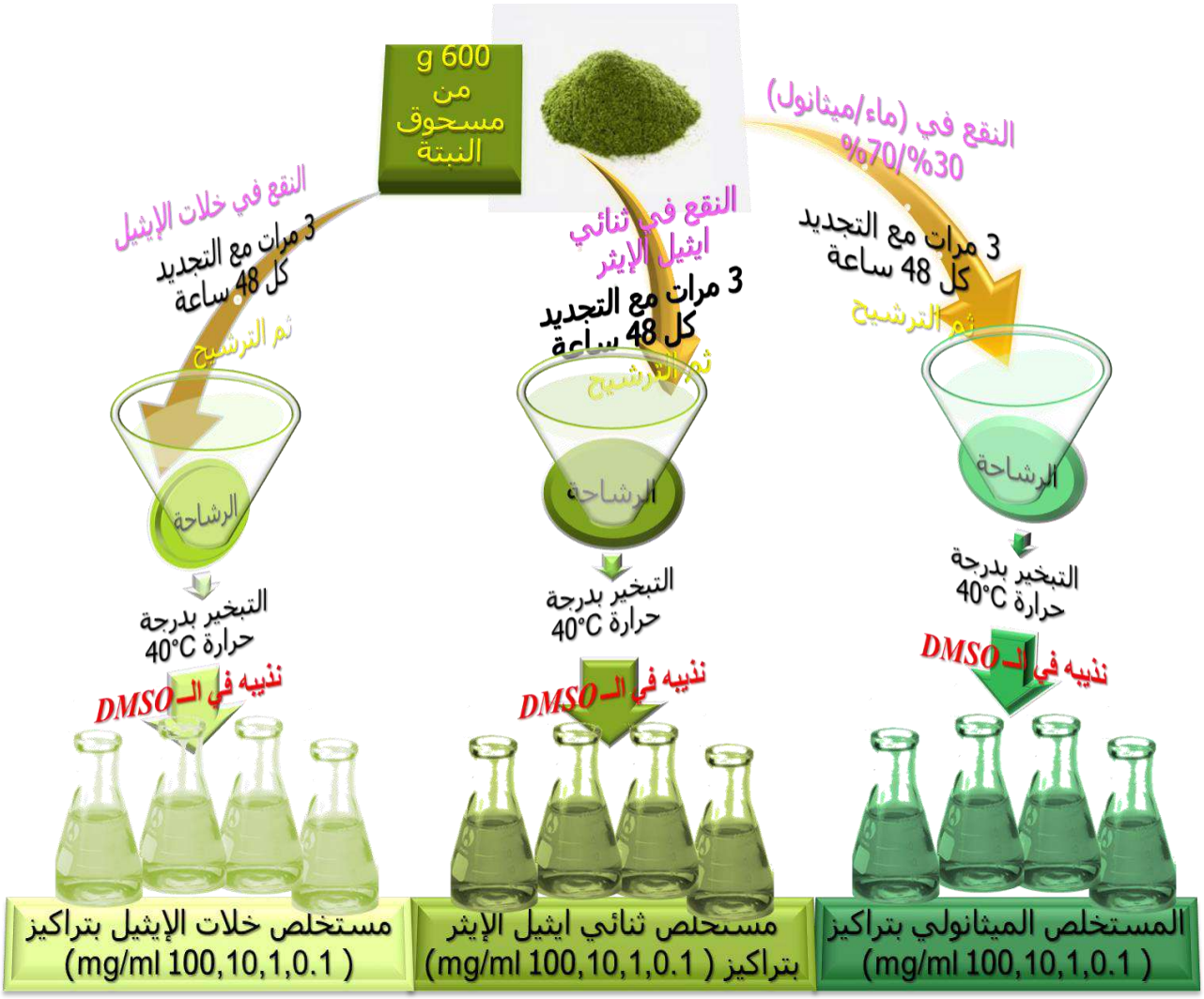
- **تحضير المستخلصات (الكحولي، ثنائي ايثيل ايثر، خلات ايثيل) للنبتتين:**

نزن *600g* من مسحوقي النبتتين المحضران سابقا كل على حدى، ثم نقسمها لـ *03* أقسام متساوية حيث نضيف للقسم الأول *200ml* من الماء المقطر/ ميثانول *95% (30 % / 70%)*، القسم الثاني *200ml* ثنائي ايثيل ايثر، والقسم الأخير *200ml* خلات ايثيل .

- وضعت كل من المحاليل الثلاث لكل مستخلص على محرك مغناطيسي حراري *Hotplate Stirrer* (*Magnetic*) لمدة *48 ساعة* بدرجة حرارة *50^0C-45* ، وكررت العملية ثلاث مرات لضمان الاستخلاص التام، ثم تم التخلص من الرواسب بترشيحها باستعمال ورق ترشيح *Whatman No. 1* ، وجففت الرشاحات باستعمال جهاز المبخر الدوار بدرجة حرارة *40^0C* ، ثم وضعت المستخلصات المحصل عليها في قناني معقمة وحفظت في الثلاجة على درجة *05^0C* .

- لغرض تحضير محاليل المستخلصات النباتية بتراكيز مختلفة، نعمل بالعلاقة :
التركيز (mg/ml) = الكتلة (mg) / الحجم (ml).

نأخذ $100mg$ من مسحوق كل مستخلص (الكحولي، ثنائي ايثيل ايثر، خلات ايثيل) ونذيبه في $01ml$ من $DMSO$، فأصبح لدينا محلول بتركيز $100mg/ml$، بالمثل في تحضير باقي التراكيز mg/ml $(10، 1، 0.1)$.



شكل(34). مخطط تحضير التراكيز المختلفة من المستخلصات النباتية

4.3.2.V. الزرع و الحضن:

نبلل الأقراص بالتراكيز المختلفة من المستخلصات النباتية، ثم نقوم بتوزيع الأقراص في علب البيتري المحضرة سابقا مع ترك مسافات مناسبة بين الأقراص في كل علبة، نضعها في الفرن للحضن تحت درجة حرارة 37^0C و لمدة 24 ساعة [68] ومن ثم نقيس أقطار حلقات التثبيط بواسطة مسطرة أو قدم قنوية.

4.2.V. دراسة تأثير مستخلصات النبات في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية:

درست الفعالية التثبيطية لمستخلصات النبتتين (الميثانولي، ثنائي ايثيل ايثر وخلات الايثيل) بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Cefazolin*، *Vancomycin*، *Gentamicin*) ذات التأثير الفعال على البكتيريا المدروسة.

اتبعت نفس طريقة الدراسة السابقة (الانتشار في أطباق الآغار) ، إلاّ أننا هذه المرة قمنا بتشبيع أقراص المضادات الحيوية بمستخلصات النبتتين بالتراكيز الأكثر فعالية قبل القيام بزرعها في علب البيتري المحضرة سابقا.

3.V. النتائج و المناقشة:

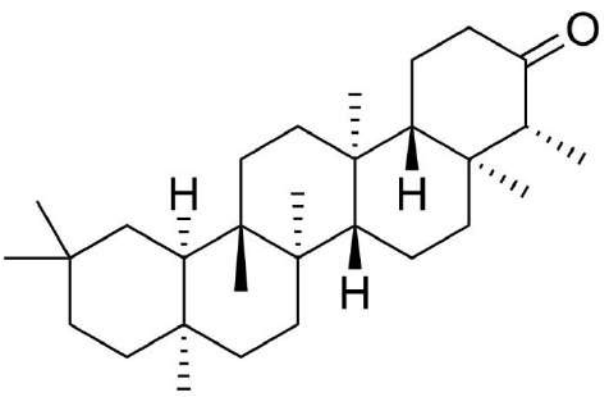
1.3.V. مناقشة نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في النبتتين:

أظهرت نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي (جدول (11)) ، أن :

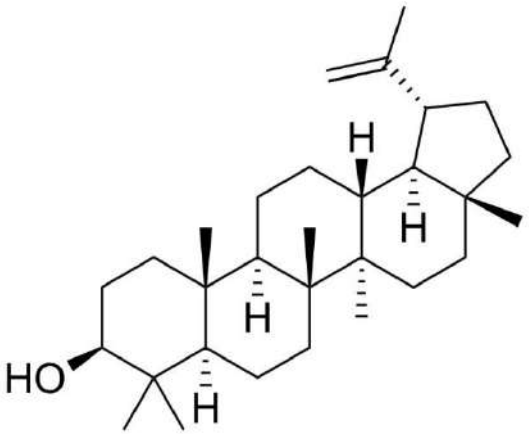
- نبات الرتم يحتوي على العديد من المكونات الفعالة : الكومارينات، التانينات، الصابونيات، التربينات وكذا الفينولات و والقلويدات و الزيوت الطيارة التي تعد من المواد المضادة للبكتيريا والمسؤولة عن الفعالية المضادة للأحياء المهجرية [51] ، كما يحتوي على الفلافونيدات بأنواعها ومنها الغلايكوسيدية المضادة للأكسدة. أما الرائحة العطرية المميزة للرتم يمكن أن تعزى إلى احتواء الرتم على الزيوت الطيارة *Volatile oils* [52].
- نبات الدرين يحتوي على العديد من المكونات الفعالة : الكومارينات، التانينات، التربينات، و الفينولات مع عدم وجود للقلويدات و الزيوت الطيارة، اللذينِ يعدان من المواد المضادة للبكتيريا والمسؤولة عن الفعالية المضادة للأحياء المهجرية [51] .

تحتوي أوراق نبات الدرين أيضا، على الفلافونيدات التى تعد من المواد المضادة للأكسدة، بالإضافة إلى الفينولات والصابونيات [52].

ملاحظة: تجدر الإشارة الى أنه قد تم فصل مركبين عضويين من مستخلص خلات الايثيل من طرف السيدة بوحجرة كلثوم [71] و هما الفريديلين *Friedelin* [72] و الليبويل *Lupeol* [73].



شكل (35). فريديلين Friedelin



شكل (36). ليبويل Lupeol

جدول (9). نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في نبات الرتم

المادة الفعالة	نتيجة الكشف على نبات الرتم	نتيجة الكشف على نبات الدرين
الغلايكوسيدات (*Glycosides*)	+	+
الفينولات (*Phenols*)	+	+
القلويدات (*Alkaloides*)	+	-
التربينات (*Terpenes*)	+	+
الستيرويدات (*Stroids*)	+	+
الراتنجات (*Resins*)	+	+
الصابونيات (*Saponins*)	+	+

التانينات (*Tannins*)	+	+
الفلافونات (*Flavones*)	+	+
الكومارينات (*Coumarins*)	+	+
الزيوت الطيارة (*Volatile Oils*)	+	-

(+) : موجودة (-) : غير موجودة

2.3.V. مناقشة نتائج حساسية البكتيريا المعزولة:

من خلال اختبار حساسية البكتيريا المعزولة ومقاومتها إزاء المضادات الحيوية و المذيب *Dimethyl sulfoxide (DMSO 5 %)* بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص، و وفقاً لمعايير (*2004,NCCLS*) [48] [49] [50]، تبين أن كل البكتيريا المستخدمة في الدراسة حساسة، الجدول (12).

كما أن المذيب *DMSO* لم يبد أية فعالية مع جميع العزلات البكتيرية المدروسة. جدول (12)

جدول (10). تأثير المضادات الحيوية و *DMSO* في قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة

البكتيريا / المضاد الحيوي	*E. coli	*E. coli	*Salmon.	*Salmon.	*S. aureus	*S. aureus	*P. mirabilis	*P. mirabilis
	قطر منطقة التثبيط (*mm*)							
Cefazolin	*17*	*16*	*26*	*26*	*23*	*26*	*24*	*25*
Vancomycin	-	-	-	-	*15*	*22*	-	-
Gentamicin	*24*	*24*	*24*	*24*	*19*	*27*	*12*	*23*
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-

(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم () البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين

V.3.3. مناقشة نتائج تحضير المستخلصات:

تميزت مستخلصات نبات الرتم بالقوام اللزج واللون الاخضر الغامق، حيث يعزى القوام اللزج إلى احتواء السيقان على مواد مخاطية وهلام نباتي وأصماغ، ويعزى ظهور اللون الأخضر إلى الكلوروفيل [51] .

فيما تميزت مستخلصات نبات الدرين بالقوام اللزج واللون الاخضر الفاتح، حيث يعزى القوام اللزج إلى احتواء الأوراق على مواد مخاطية وأصماغ، ويعزى ظهور اللون الاخضر إلى الكلوروفيل أيضا [51].

V.4.3. مناقشة نتائج تأثير مستخلصات النبتتين بتراكيز مختلفة في تثبيط نمو البكتيريا:

1. مستخلصات نبات الرتم:

- أظهرت النتائج (الجدول(13)) أن جميع أنواع البكتيريا المدروسة كانت حساسة لمستخلصات نبات الرتم باستثناء بكتيريا *Proteus mirabilis* .
- هناك تناسب طردي بين تركيز المستخلص و قطر منطقة التثبيط.
- يكون تثبيط البكتيريا في أعلى مستوى بالنسبة لكل مستخلص عند أعلى تركيز (*100mg/ml*).
- النتائج في الجدول (13)، تبين أن أعلى تأثير تثبيطي كان من المستخلص الكحولي على بكتيريا *Salmonella* إذ بلغ *16mm*، وأن أقل تأثير كان عند التركيز *0.1mg/ml* من المستخلص الكحولي، أيضا عند البكتيريا *Escherichia coli* اذ بلغ *08mm*.
- نلاحظ التباين الواضح لعامل المذيب المستعمل في الإستخلاص في التأثير التثبيطي على نمو البكتيريا، حيث نلاحظ أنها أعطت فعالية عالية مع المستخلص الميثانولي فمستخلص ثنائي ايثيل ايثر و أخيرا مستخلص خلات الايثيل.
- إن زيادة فعالية المستخلص الكحولي لنبات الرتم، قد تعود إلى تأثير المستخلص على نفاذية غشاء الخلية وعمل الخلية البكتيرية، كما تعزى فعالية مستخلصات نبات الرتم عامة، إلى وجود مركبات القلويدات و الفينولات، و كذا الزيوت الطيارة التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غرام.

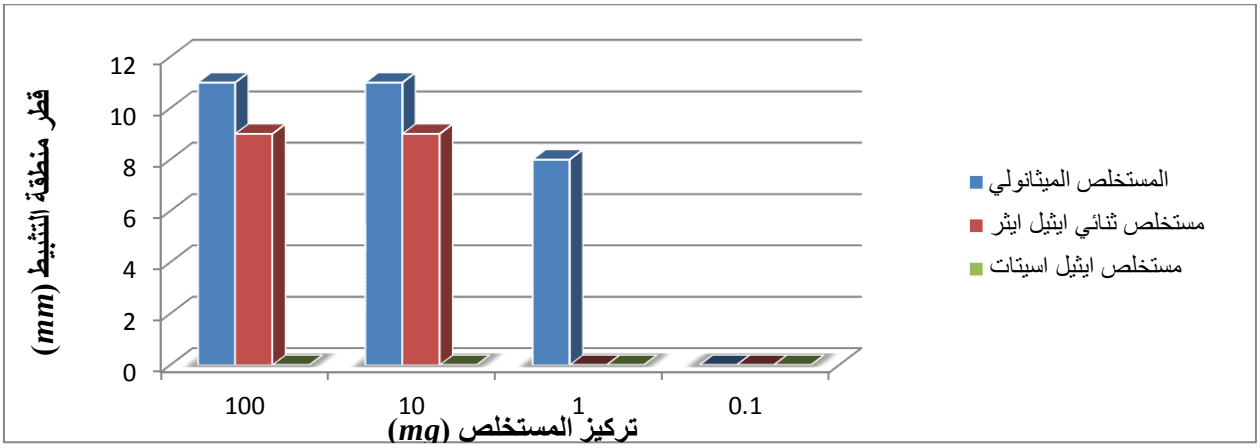
2. مستخلصات نبات الدرين:

- أظهرت النتائج أن لا تأثير فعالا لمستخلصات أوراق نبات الدرين (وهذا راجع لعدم احتواء أوراق النبات على القلويدات و الزيوت الطيارة التي تثبط نمو البكتيريا) ، بإستثناء الفعالية الضعيفة التى أبداها المستخلص الميثانولي على بكتيريا الـــ *E. coli* ، حيث بلغ قطر التثبيط *6mm* التي تعزى لإحتواء الأوراق على الفينولات [51].

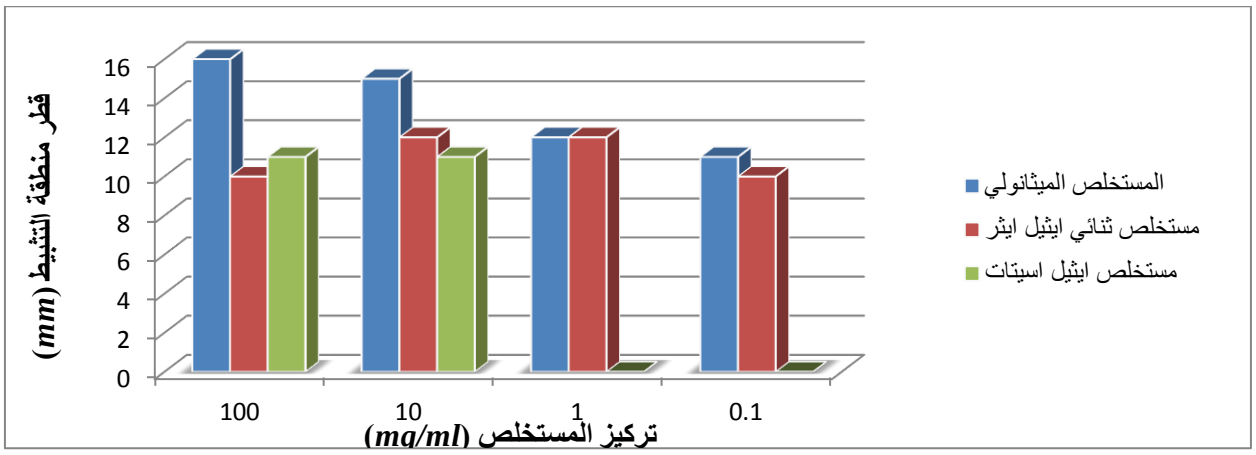
جدول(11). تأثير مستخلصات النبتتين في قطر منطقة التثبيط (*mm*) لبعض أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان

البكتيريا / المستخلص و تركيزه		*E. coli	E. coli	*Salmon.	Salmon.	*S. aureus	S. aureus	*P. mirabilis	P. mirabilis
		قطر منطقة التثبيط (*mm*)							
تركيز المستخلص الميثانولي (*mg/ml*)	100	11	6	16	-	12	-	-	-
	10	11	-	15	-	11	-	-	-
	1	8	-	12	-	10	-	-	-
	0.1	-	-	11	-	-	-	-	-
تركيز مستخلص ثنائي ايثيل ايثر (*mg/ml*)	100	9	-	10	-	12	-	-	-
	10	9	-	12	-	-	-	-	-
	1	-	-	12	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	10	-	-	-	-	-
تركيز مستخلص خلات الايثيل (*mg/ml*)	100	-	-	11	-	11	-	-	-
	10	-	-	11	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-

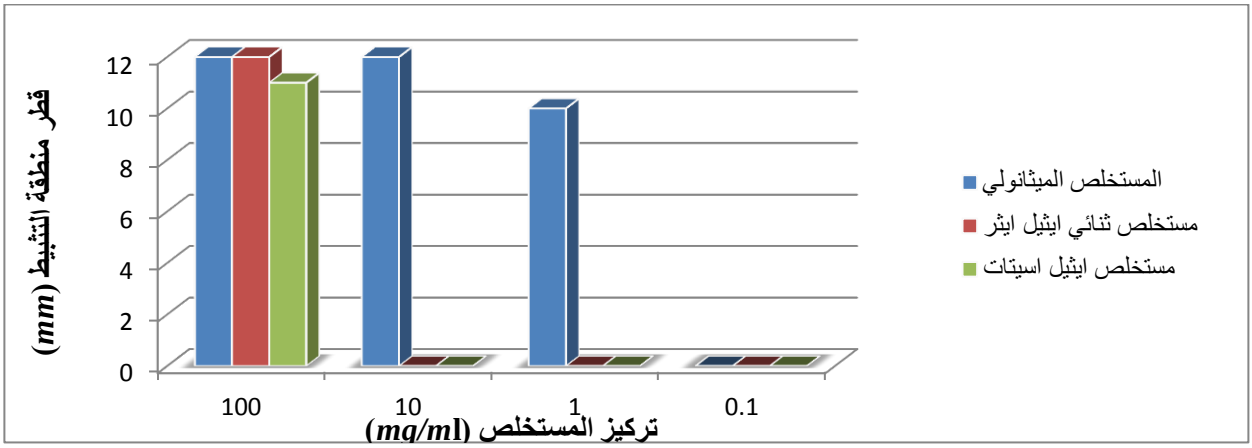
(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم () البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين



شكل(37). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط *Escherichia coli*



شكل(38). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط *Salmonella*



شكل(39). مخطط تأثير اختلاف تراكيز مستخلصات نبات الرتم في معدل أقطار تثبيط *Staphylococcus aureus*

V.5.3. مناقشة تأثير مستخلصات النبتتين في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية:

1. بالنسبة لمستخلصات نبات الرتم، و من خلال الأشكال (37) ،(38) ، (39) ، نلاحظ أن المستخلصات تكون في أوج فاعليتها عند التركيز الأعلى (*100mg/ml*) ، و عليه قمنا باختياره في دراسة هذه المرحلة.
2. أما بالنسبة لمستخلصات نبات الدرين فكما هو ملاحظ في الجدول (13)، فالفعالية الوحيدة كانت من المستخلص الميثانولي بتركيز (*100mg/ml*).

جدول(12). تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* في قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة

البكتيريا / المستخلص	*E. coli*	*Salmonella*	*S. aureus*	*P. mirabilis*
	قطر منطقة التثبيط (*mm*)			
الميثانولي	*11*	*16*	*12*	-
ثنائي ايثيل ايثر	*9*	*10*	*12*	-
خلات الايثيل	-	*11*	*11*	-

جاءت نتائج تأثير مستخلصات النبتتين في تثبيط نمو البكتيريا بالمشاركة مع بعض المضادات الحيوية، كما هو موضح في الجدول (15).

1. بالنسبة لمستخلصات نبات الرتم:

- عند مشاركة مستخلصات سيقان نبات الرتم مع المضادات الحيوية، فإنها أبدت فعلا تثبيطيا إزاء جميع البكتيريا السالبة والموجبة الغرام.
- أعلى فعل تثبيطي لهذا التشارك كان من مستخلص خلات الإيثيل مع (*CZ 30mcg*) على بكتيريا *S. aureus*، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط *28mm* ، أما أدنى فعل تثبيطي فكان من مستخلص خلات الإيثيل مع (*VA 30mcg*) على بكتيريا *P. mirabilis*، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط *7mm* .
- بالإضافة إلى أن هذا التشارك قد أعطى فعالية كبيرة للـ (*VA 30 mcg*) على البكتيريا المقاومة له (*E. coli* و *Proteus mirabilis*)، و هذا مع مستخلصي ثنائي ايثيل ايثر و خلات الايثيل.

2. بالنسبة لمستخلصات نبات الدرين:

- عند مشاركة مستخلصات أوراق الدرين مع المضادات الحيوية، فإنها أبدت فعلا تثبيطيا إزاء جميع البكتيريا السالبة والموجبة الغرام.
- أعلى فعل تثبيطي لهذا التشارك كان من مستخلص ثنائي ايثيل ايثر مع (*CN 10mcg*) على بكتيريا *S. aureus*، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط *26mm* ، أما أدنى فعل تثبيطي فكان من المستخلص الميثانولي مع (*VA 30mcg*) على بكتيريا *E. coli*، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط *8mm* .
- بالإضافة إلى أن هذا التشارك قد أعطى فعالية لا بأس بها للـ (*VA 30 mcg*) على البكتيريا المقاومة له، (*E.coli* و *Proteus mirabilis*)، و هذا مع المستخلص الميثانولي.

جدول(13). فعالية مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط (*mm*) للأنواع البكتيرية المدروسة

البكتيريا / المستخلص و المضاد	**E. coli*	*E. coli*	**Salmon.*	*Salmon.*	**S. aureus*	*S. aureus*	**P. mirabilis*	*P. mirabilis*
	قطر منطقة التثبيط (*mm*)							
E1 & CZ (30mcg)	*18*	*17*	*25*	*23*	*27*	*23*	*17*	*21*
E1 & VA (30mcg)	*-*	*8*	*-*	*-*	*-*	*20*	*9*	*8*
E1 & CN (10mcg)	*10*	*24*	*24*	*18*	*22*	*25*	*26*	*22*
E2 & CZ (30mcg)	*16*	*16*	*24*	*25*	*26*	*25*	*17*	*22*
E2 & VA (30mcg)	*8*	*-*	*-*	*-*	*20*	*21*	*8*	*-*
E2 & CN (10mcg)	*9*	*24*	*20*	*19*	*19*	*26*	*17*	*20*
E3 & CZ (30mcg)	*18*	*16*	*25*	*24*	*28*	*22*	*19*	*21*
E3 & VA (30mcg)	*8*	*-*	*-*	*-*	*19*	*20*	*7*	*-*
E3 & CN (10mcg)	*8*	*22*	*22*	*20*	*24*	*26*	*24*	*19*

(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم () البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين

E1*:** المستخلص الميثانولي , ***E2*:** مستخلص ثنائي ايثيل ايثر ,E3*:** مستخلص خلات الايثيل

لغرض معرفة نوع التأثير الناتج من مشاركة المستخلصات النباتية مع المضادات الحيوية، اعتمدنا على طريقة جديدة كليا، هي كالتالي :

**** طريقة المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ %(*BAO*) *Bacterial Area Occupied*:**

تعتمد هذه الطريقة بصفة أساسية، على حساب المساحة المشغولة بالبكتيريا قبل و بعد اضافة الأقراص المشبعة (سواءا بالمستخلص النباتي أو بالمضاد الحيوي أو بهما معا).

***مزايا الطريقة الجديدة (*BAO*):**

1- من خلالها نستطيع رسم منحنيات المساحة المشغولة بالبكتيريا بدلالة الزمن، والتى تُمكننا بدقة من معرفة نوع تأثير مشاركة المستخلص النباتي مع المضاد الحيوي (تأثير تضادي، تأثير حيادي، تأثير تآزري).

2- هذه الطريقة أيضا تمكننا بدقّة من تحديد مقدار تأثير المشاركة (المضاد الحيوي مع المستخلص النباتي) على قدرة المضاد الحيوي التثبيطية بالـ % ، وفق القانون التالي:

$$Y = (BAO)_{ae} - (BAO)_{a}$$

حيث:

Y: مقدار تأثير المشاركة على قدرة المضاد الحيوي التثبيطية بالـ % ، و يمكن أن تكون النتيجة إما سالبة أو موجبة، فالقيمة السالبة دليل على انخفاض الفعالية التثبيطية للمضاد الحيوي، و العكس صحيح.

$(BAO)_{ae}$: المساحة التى شغلتها البكتيريا بعد اضافة قرص المشاركة (المشبع بالمضاد الحيوي و المستخلص النباتي) بالـ %.

$(BAO)_{a}$: : المساحة التى شغلتها البكتيريا بعد اضافة قرص المضاد الحيوي بالـ %.

*** طريقة حساب المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ % (*BAO*):**

$$\left.\begin{array}{l} A \longrightarrow 100\% \\ A' \longrightarrow X\,\% \end{array}\right\} \Rightarrow X = 100\cancel{\pi}.R'^2/\cancel{\pi}.R^2 = 100R'^2/R^2$$

حيث :

R : نصف قطر علبة البيتري المنتشرة بها البكتيريا $(R = 40mm)$.

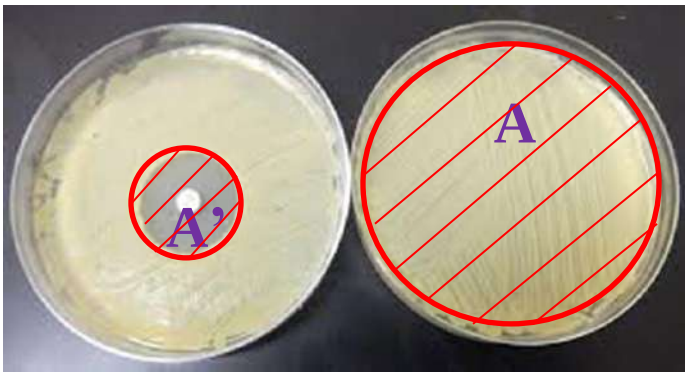
R': نصف قطرمنطقة تثبيط البكتيريا.

A : مساحة علبة البيتري $(A = \pi . R^2)$ ، وهي نفسها المساحة المشغولة بالبكتيريا قبل اضافة المستخلص أو المضاد الحيوي.

A': مساحة منطقة التثبيط $(A' = \pi . R'^2)$.

X: مساحة منطقة التثبيط بالـ $\%$.

(BAO): المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ $\%$ $((BAO) = 100\% - X)$.



و عليه تصبح الجداول (12) ، (14) ، (15) على التوالي:

جدول(14). تأثير المضادات الحيوية و *DMSO* في المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (%)

البكتيريا / المضاد الحيوي	*E. coli	E. coli	*Salmon.	Salmon.	*S. aureus	S. aureus	*P .mirabilis	P .mirabilis
	المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ % (BAO)							
Cefazolin	95.48	96	89.44	89.44	91.73	89.44	91	90.23
Vancomycin	100	100	100	100	96.48	92.44	100	100
Gentamicin	91	91	91	91	94.36	88.61	97.75	91.73
DMSO	100	100	100	100	100	100	100	100

(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم () البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين

جدول(15). تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* في المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (%)

البكتيريا / المستخلص	*E. coli	E. coli	*Salmon.	Salmon.	*S. aureus	S. aureus	*P. mirabilis	P. mirabilis
	المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ % (BAO)							
الميثانولي	98.11	99.44	96	100	97.75	100	100	100
ثنائي ايثيل ايثر	98.73	100	98.44	100	97.75	100	100	100
خلات الايثيل	100	100	98.11	100	98.11	100	100	100

(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم　　　　() البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين

جدول(16). فعالية مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية على المساحة المشغولة بالأنواع البكتيرية المدروسة (%)

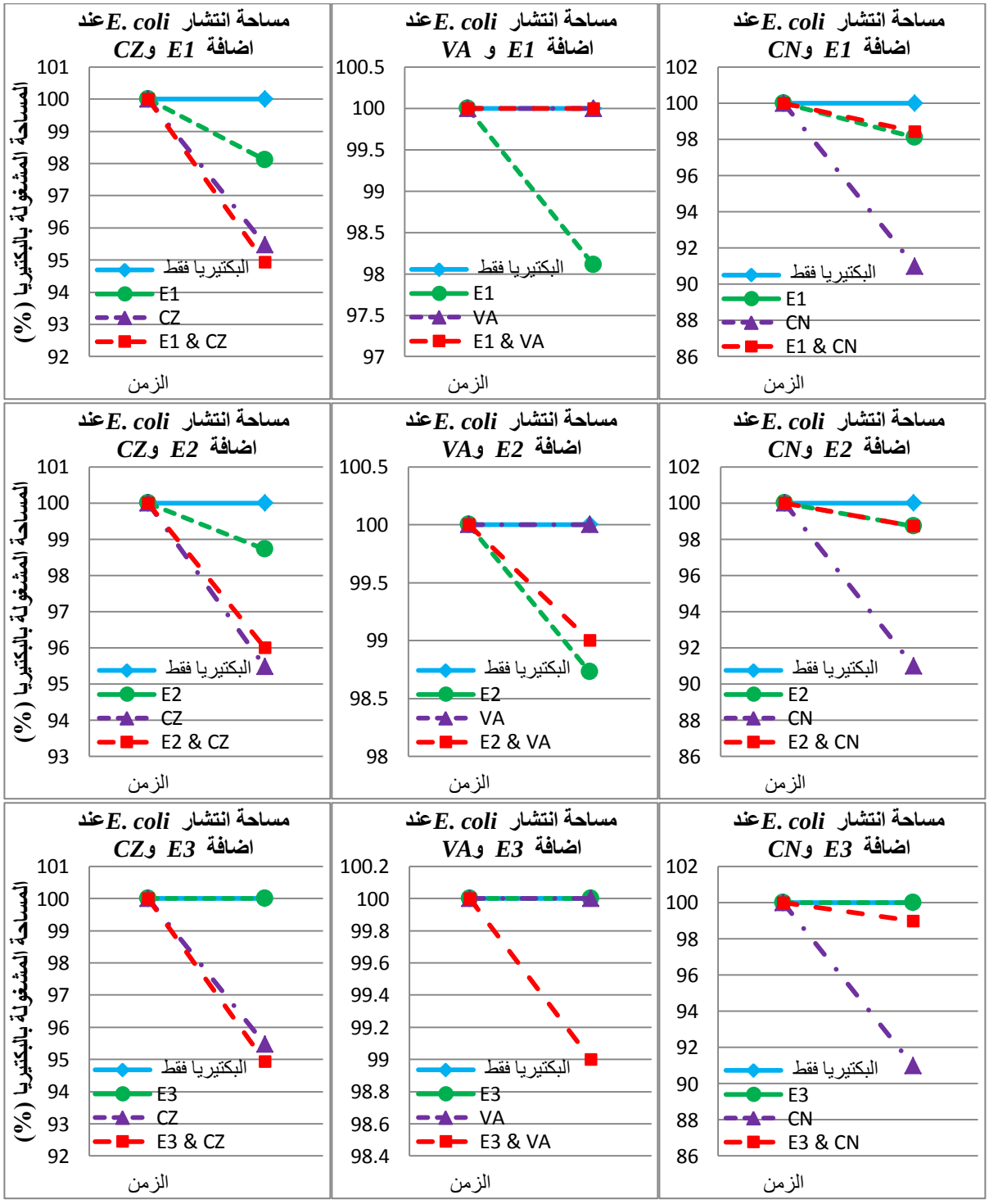
البكتيريا / المستخلص و المضاد	*E. coli	E. coli	*Salmon.	Salmon.	*S. aureus	S. aureus	*P. mirabilis	P. mirabilis
	المساحة المشغولة بالبكتيريا بالـ % (BAO)							
E1 & CZ (30mcg)	94.94	95.48	90.23	91.73	88.61	91.73	95.48	93.11
E1 & VA (30mcg)	100	99	100	100	100	93.75	98.73	99
E1 & CN (10mcg)	98.44	91	91	94.94	92.44	90.23	89.44	92.44
E2 & CZ (30mcg)	96	96	91	90.23	89.44	90.23	95.48	92.44
E2 & VA (30mcg)	99	100	100	100	93.75	93.11	99	100
E2 & CN (10mcg)	98.73	91	93.75	94.36	94.36	89.44	95.48	93.75
E3 & CZ (30mcg)	94.94	96	90.23	91	87.75	92.44	94.36	93.11
E3 & VA (30mcg)	99	100	100	100	94.36	93.75	99.23	100
E3 & CN (10mcg)	99	92.44	92.44	93.75	91	89.44	91	93.36

(*) البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الرتم　　　　() البكتيريا المستخدمة مع مستخلصات نبات الدرين

E1: المستخلص الميثانولي , ***E2:*** مستخلص ثنائي ايثيل ايثر, ***E3:*** مستخلص خلات الايثيل

- من خلال الجداول (16) ، (17) ، (18) ، قمنا برسم منحنيات المساحة المشغولة بالبكتيريا بدلالة الزمن، حيث :
  - الزمن يمثل زمن الحضن (*24 ساعة*).
  - و لأجل الحصول على صورة كاملة و مقارِنة، أضفنا منحنيات تأثير المستخلص و المضاد الحيوي كل على حدة. الجدول (16)، الجدول (17).
  - كما أضفنا منحنى خاص بمساحة انتشار البكتيريا لوحدها بدون مستخلص أو مضاد حيوي، طبعا تكون المساحة ثابتة و هي *100 %* ، والهدف منه هو اظهار مدى تأثير كل من المستخلص، المضاد الحيوي، و كذا المشاركة بينهما في المساحة المشغولة بالبكتيريا و بالتالي عددها.

V.6.3. مناقشة منحنيات مقارنة تأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة بالبكتيريا



شكل(40). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*

من خلال الشكل (40) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا *E. coli* ، فإنها أعطت عدة تأثيرات تشاركية موضحة في الجدول أدناه:

جدول(17). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*

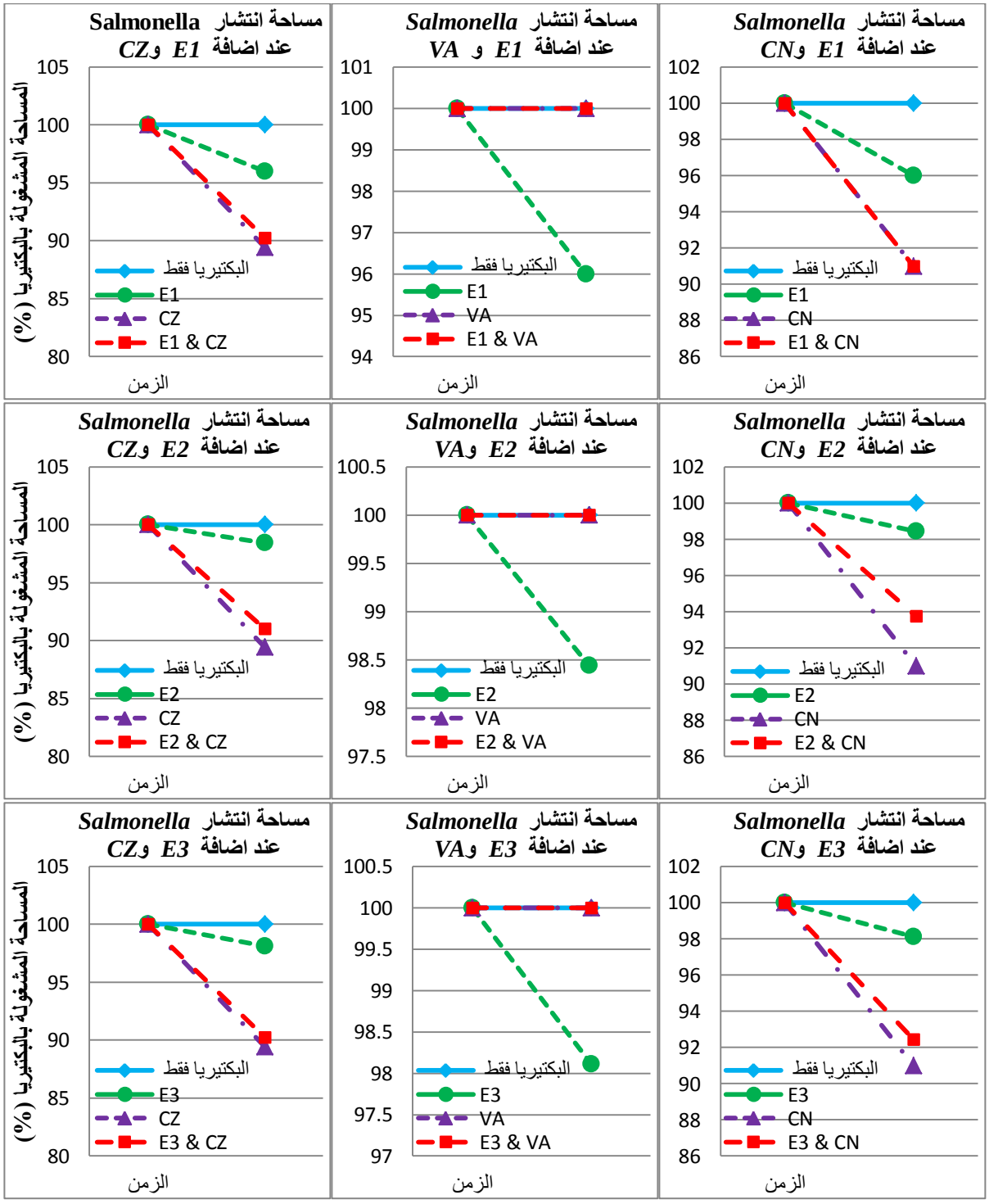
تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *VA* بقاء فعالية الـ *VA* على حالها	/	المستخلص الميثانولي مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%0.54***
المستخلص الميثانولي مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%7.44***	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%0.54***
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%0.52***	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***%1***
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***%1***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%7.73***	/	/
مستخلص خلات الإيثيل مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%8***	/	/

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا الـ *E. coli*، فإنها أبدت تأثيرات تضادية (*Antagonism*) ، حيادية (*Indifference*) و تآزرية (*Synergism*) :
- أكثر التأثيرات التآزرية فعالية:

✓ مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع الـ *VA* ، حيث خفّض المساحة المشغولة بالبكتيريا من 100 % إلى 99 %. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـنسبة ***%1*** .

✓ مستخلص خلات الايثيل مع الـ *VA*، حيث خفض المساحة المشغولة بالبكتيريا *%100*
إلى 99 %. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـنسبة ***%1*** .

- كما يلاحظ أنه بعد اضافة مستخلصي ثنائي ايثيل الايثر و خلات الايثيل للـ *VA* كل على حدة، فإنهما أعطيا لهذا الأخير القدرة على تثبيط نمو *E. coli* رغم أنها سالبة الغرام.



شكل(41). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*

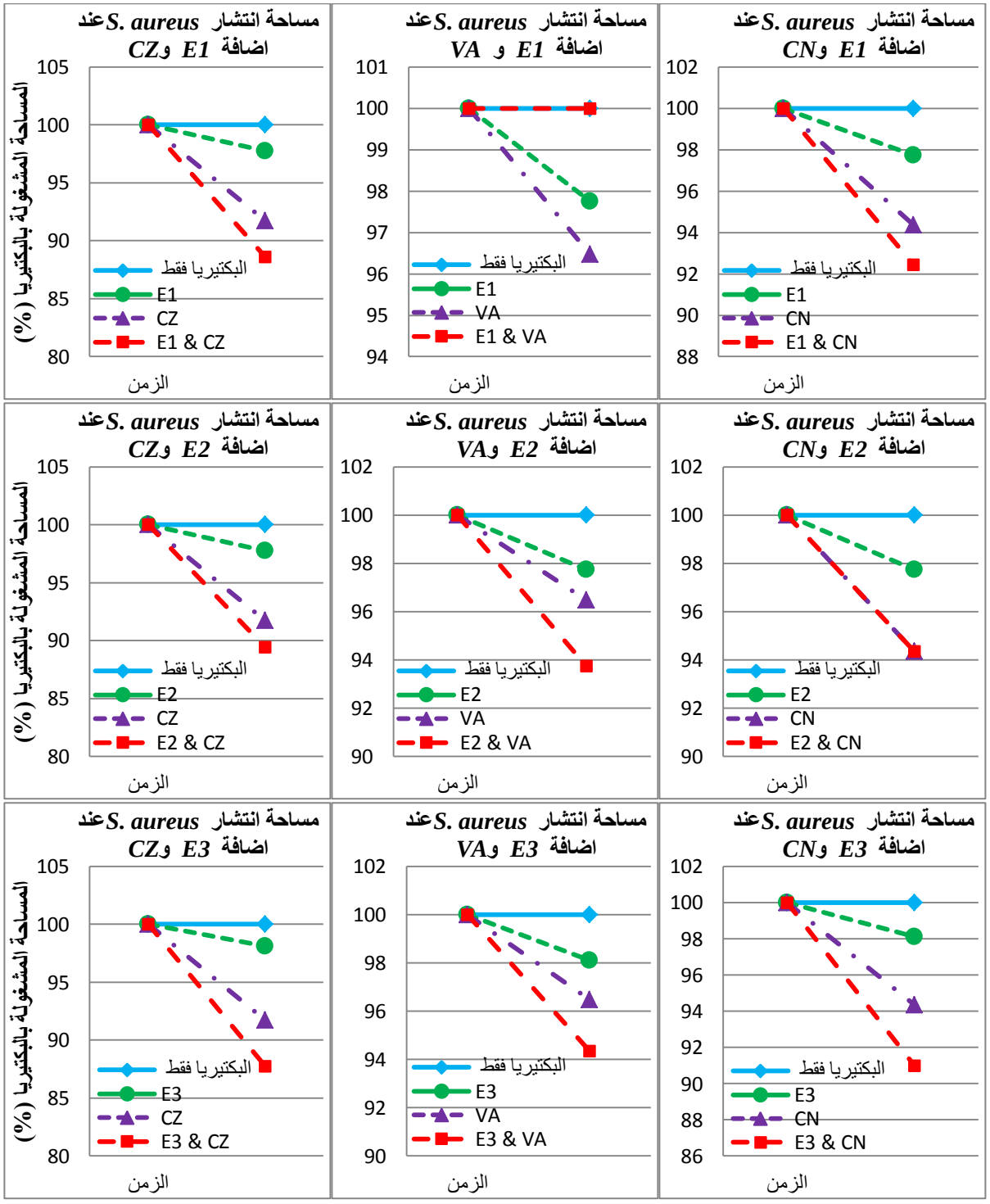
من خلال المنحنيات (41) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا *Salmonella* فإنها اعطت إما تأثيرات تضادية أو حيادية موضحة في الجدول أدناه:

جدول(18). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *CZ* انخفاض فعالية *CZ* بنسبة ***%0.79***	المستخلص الميثانولي مع *CN* بقاء فعالية *CN* على حالها	/
المستخلص الميثانولي مع *VA* بقاء فعالية *VA* على حالها	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* انخفاض فعالية *CZ* بنسبة ***%1.56***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* بقاء فعالية *VA* على حالها	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية *CN* بنسبة ***%2.75***	/	/
مستخلص خلات الإيثيل مع *CZ* انخفاض فعالية *CZ* بنسبة ***%0.79***	/	/
مستخلص خلات الإيثيل مع *VA* بقاء فعالية *VA* على حالها	/	/
مستخلص خلات الإيثيل مع *CN* انخفاض فعالية *CN* بنسبة ***%1.44***	/	/

- مع أن كل المستخلصات تبدي فعالية جيدة اتجاه بكتيريا الـ *Salmonella* ، إلا أنها عند مشاركتها مع المضادات الحيوية، فإنها لا تبدي فعلا تآزريا كما كان متوقعا منها، بل تبدي الفعلين، الآخرين التضادي و الحيادي.



شكل(42). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Staphylococcus aureus*

من خلال المنحنيات (42) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا الـ *S. aureus*، فإن أغلب التأثيرات المسجلة تآزرية.
- أكثر التأثيرات التآزية فعالية:

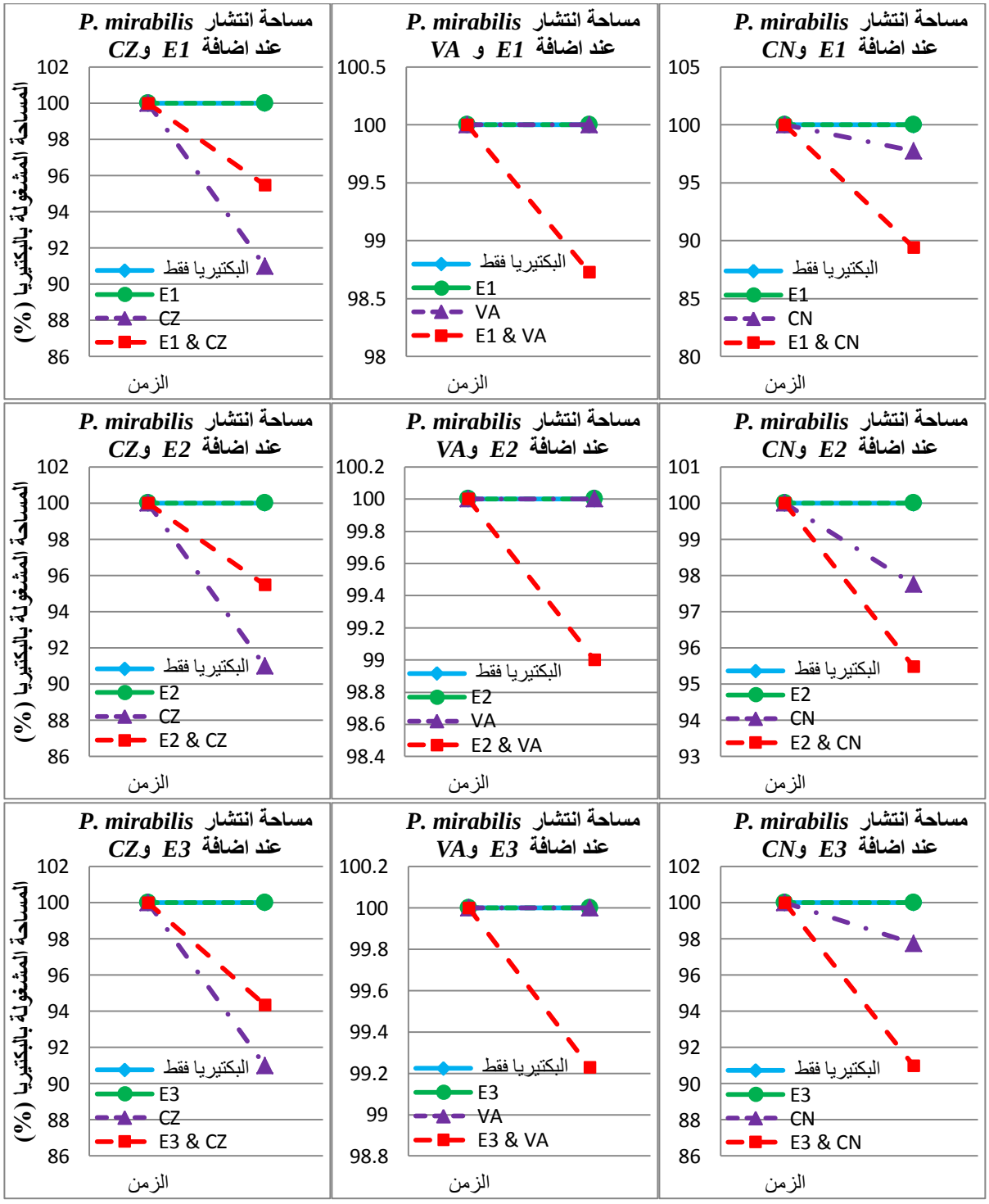
✓ مستخلص خلات الايثيل مع الـ *CZ*، حيث خفض المساحة المشغولة بالبكتيريا من *91.73 %* إلى *87.75 %*. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *CN* بـنسبة ***3.98%*.**

و أقلها فعالية هو تآزر:

✓ المستخلص الميثانولي مع الـ *CN*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا *94.36 %* إلى *92.44 %*. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *CN* بـ ***1.92%*.**

جدول(19). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Staphylococcus aureus*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *VA* انخفاض فعالية الـ *VA* بنسبة ***3.52%***	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* بقاء فعالية الـ *CN* على حالها	المستخلص الميثانولي مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CZ* بنسبة ***3.12%***
/	/	المستخلص الميثانولي مع *CN* ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***1.92%***
/	/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CZ* بنسبة ***2.29%***
/	/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***2.73%***
/	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***3.98%***
/	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***2.12%***
/	/	مستخلص خلات الإيثيل مع CN ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***3.36%***



شكل(43). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات في المساحة المشغولة ببكتيريا *Proteus mirabilis*

من خلال المنحنيات (43) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا الـ *P. mirabilis*، فإنها أبدت تأثيرات تآزرية و تضادية (*Antagonism*) .

التأثيرات التآزرية : حيث كان أكثرها فعالية:

✓ المستخلص الميثانولي مع الـ *CN*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا من *97.75%* إلى *89.44%*. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـنسبة ***8.31%*.**

و أقلها فعالية هو تآزر:

✓ مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع الـ *VA*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا *97.75%* إلى *95.48%*. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـ ***1%*.**

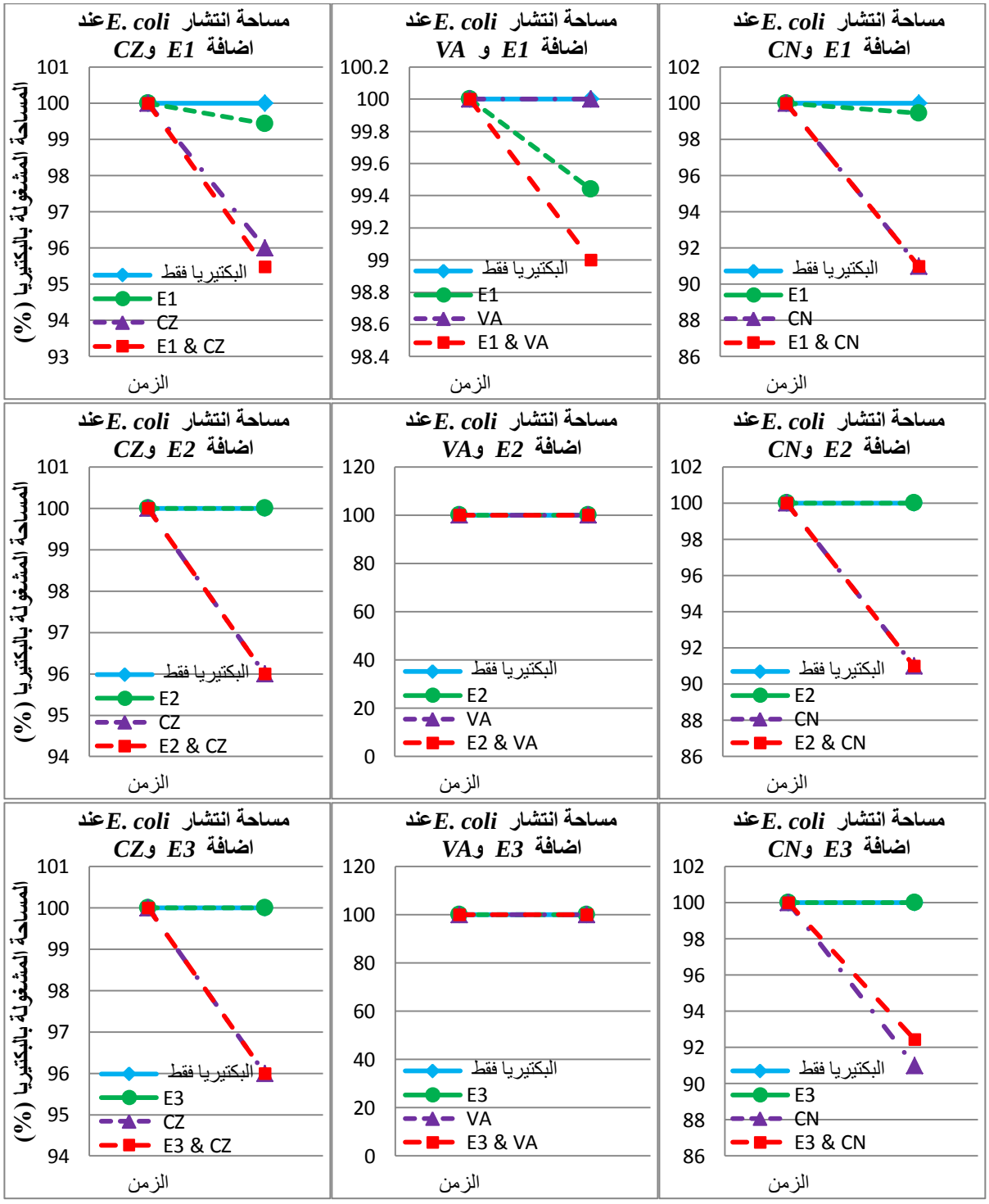
✓ كما يلاحظ أنه بعد اضافة المستخلصات الثلاث للـ *VA* كل على حدة، فإنهم أعطوا لهذا الأخير القدرة على تثبيط نمو *Proteus mirabilis* رغم أنها سالبة الغرام.

جدول(20). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الرتم بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Proteus mirabilis*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***4.48%***	/	المستخلص الميثانولي مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***1.27%***
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع CZ انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***4.48%***	/	المستخلص الميثانولي مع *CN* ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***8.31%***
مستخلص خلات الإيثيل مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***3.36%***	/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***1%***
/	/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***2.27%***
/	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***0.77%***
/	/	مستخلص خلات الإيثيل مع *CN* ارتفاع فعالية الـ *CN* بنسبة ***6.75%***

- مع أن كل المستخلصات لا تبدي أي فعالية اتجاه بكتيريا الـ *Proteus mirabilis* ، إلا أنها عند مشاركتها مع المضادات الحيوية، فإنها لا تبدي فعلا حياديا كما كان متوقعا منها، بل تبدي الفعلين الآخرين فقط **(التضادي و التآزري).**

V.7.3. مناقشة منحنيات مقارنة تأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة بالبكتيريا



شكل(44). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*

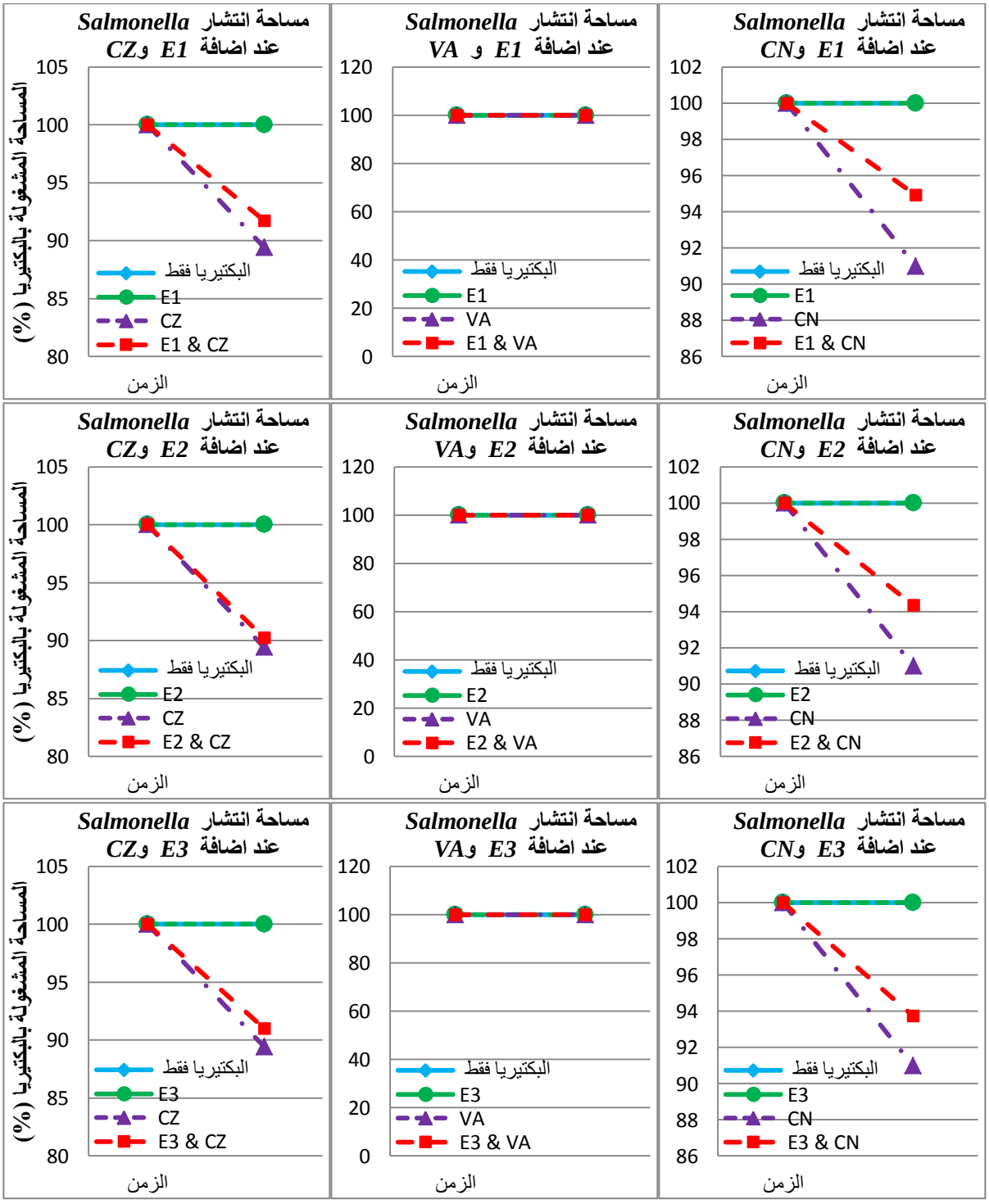
من خلال المخططات (44) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا الـ *E. coli*، فإن أغلبها أبدى تأثيرات حيادية (*Indifference*) ، باستثناء فعل تضادي واحد ، و فعلين تآزريين (*Synergism*) طفيفين لـ :
  - ✓ المستخلص الميثانولي مع الـ *CZ*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا من *96 %* إلى *95.48 %*، أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *CZ* بـنسبة ***0.52%*.**
  - ✓ المستخلص الميثانولي مع الـ *VA*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا *100%* إلى *99 %*، أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـنسبة ***1%*.**

النتائج موضحة فالجدول أدناه:

جدول(21). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *E. coli*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
مستخلص خلات الايثيل مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***1.44%***	المستخلص الميثانولي مع *CN* بقاء فعالية *CN* على حالها	المستخلص الميثانولي مع *CZ* ارتفاع فعالية الـ *CZ* بنسبة ***0.52%***
/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* بقاء فعالية *CZ* على حالها	المستخلص الميثانولي مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***1%***
/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* بقاء فعالية *VA* على حالها	/
/	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* بقاء فعالية *CN* على حالها	/
/	مستخلص خلات الايثيل مع *CZ* بقاء فعالية *CZ* على حالها	/
/	مستخلص خلات الايثيل مع *VA* بقاء فعالية *VA* على حالها	/



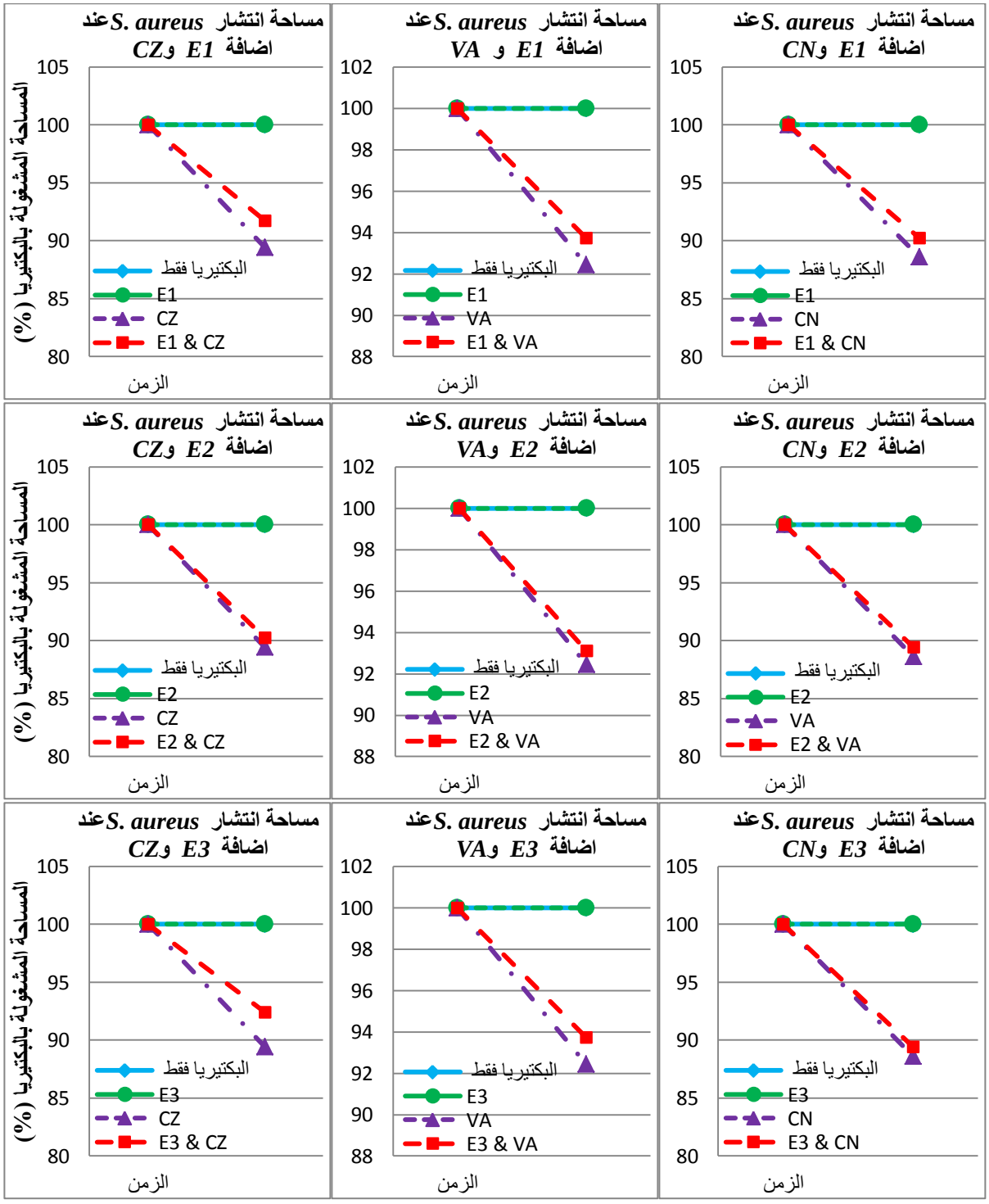
شكل(45). منحنيات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*

من خلال المخططات (45) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا *Salmonella* ،فإنها اعطت تأثيرات تضادية (*Antagonism*) وحيادية (*Indifference*) فقط.
- مع أن كل المستخلصات لا تبدي أي فعالية اتجاه بكتيريا الـ *Proteus mirabilis*، إلا أنها عند مشاركتها مع المضادات الحيوية، فإن أغلبها لا تبدي فعلا حياديا فقط، كما هو متوقع منها، بل تبدي الفعل التضادي أيضا.

جدول(22). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Salmonella*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%2.29***	المستخلص الميثانولي مع *VA* بقاء فعالية *VA* كما هي	/
المستخلص الميثانولي مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%3.94***	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* بقاء فعالية *VA* كما هي	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%0.79***	مستخلص خلات الايثيل مع *VA* بقاء فعالية *VA* كما هي	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%3.36***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%1.56***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%2.75***	/	/



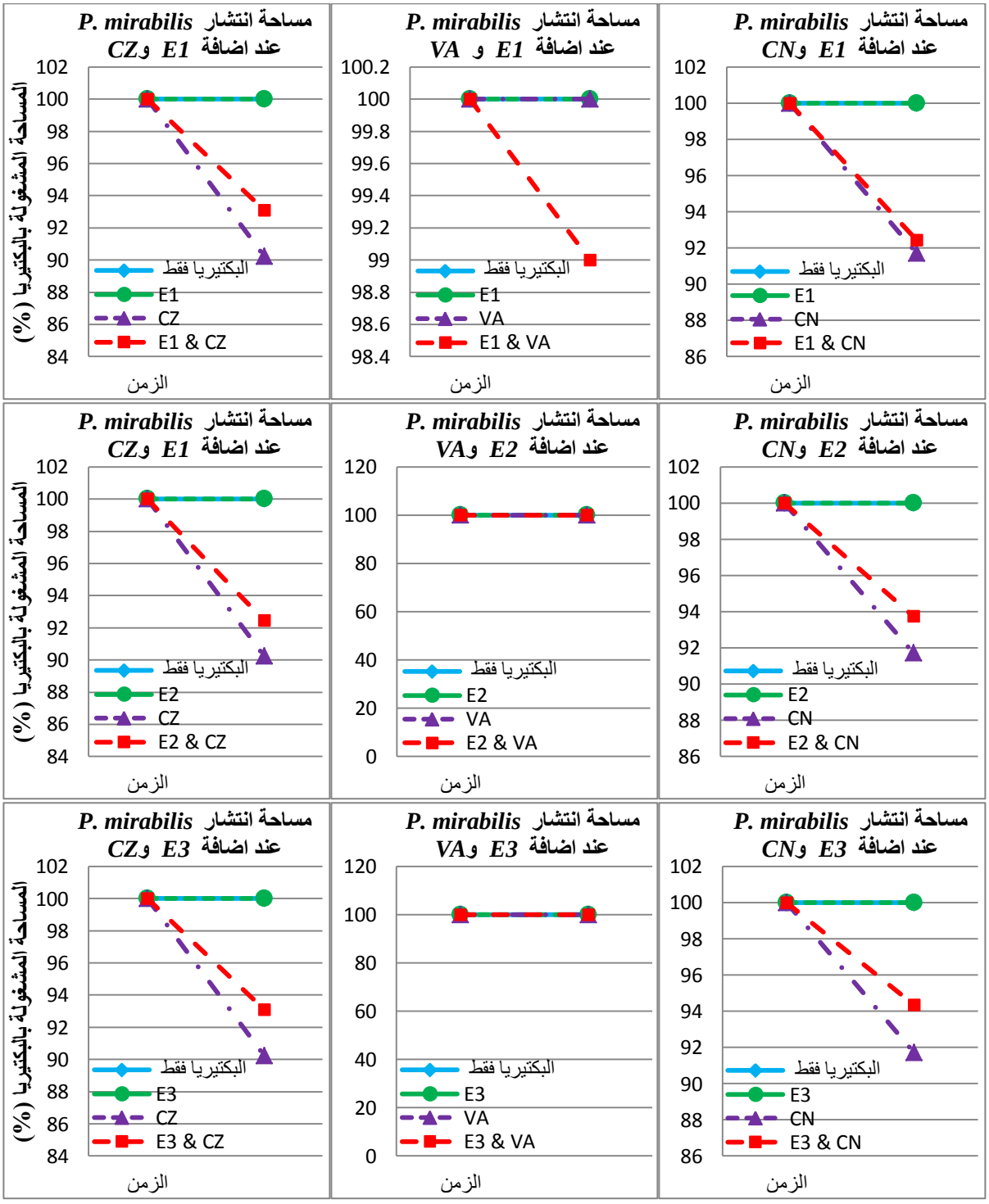
شكل(46). مخططات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Staphylococcus aureus*

من خلال المخططات (46) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا *S. aureus* فإنها جميعها أظهرت تأثيرات تضادية، و لم تبد أي فعل حيادي أو تآزري.
- مع أن كل المستخلصات لا تبدي أي فعالية اتجاه بكتيريا الـ *S. aureus*، إلا أنها عند مشاركتها مع المضادات الحيوية، فإنها لا تبدي فعلا حياديا كما كان متوقعا منها، بل تبدي الفعل التضادي فقط.

جدول(23). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Staphylococcus aureus*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%2.29***	/	/
المستخلص الميثانولي مع *VA* انخفاض فعالية الـ *VA* بنسبة ***%1.31***	/	/
المستخلص الميثانولي مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%1.62***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%0.79***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* انخفاض فعالية الـ *VA* بنسبة ***%0.67***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%0.83***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***%3***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *VA* انخفاض فعالية الـ *VA* بنسبة ***%1.31***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***%0.83***	/	/



شكل(47). مخططات مقارنة لتأثير مستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات في المساحة المشغولة ببكتيريا *P. mirabilis*

من خلال المخططات (47) نلاحظ أن:

- عند اضافة المضادات الحيوية مع المستخلصات على بكيتريا الـ *P. mirabilis*، فإنها أبدت جميعها تأثيرات تضادية و حيادية، باستثناء الفعل التآزري (*Synergism*) لـ :
  - ✓ المستخلص الميثانولي مع الـ *VA*، حيث خفض مساحة تواجد البكتيريا *100%* مع الـ *VA* لوحده إلى *99 %*. أي ارتفعت الفعالية التثبيطية للـ *VA* بـ ***1 %***.

النتائج موضحة فالجدول أدناه: النتائج موضحة فالجدول أدناه:

جدول(24). التأثيرات التشاركية لمستخلصات نبات الدرين بتركيز *100mg/ml* مع المضادات الحيوية في المساحة المشغولة ببكتيريا *Proteus mirabilis*

تأثير تضادي (*Antagonism*)	تأثير حيادي (*Indifference*)	تأثير تآزري (*Synergism*)
المستخلص الميثانولي مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***2.88%***	مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *VA* بقاء فعالية *VA* كما هي	المستخلص الميثانولي مع *VA* ارتفاع فعالية الـ *VA* بنسبة ***1%***
المستخلص الميثانولي مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***0.71%***	مستخلص خلات الايثيل مع *VA* بقاء فعالية *VA* كما هي	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***2.21%***	/	/
مستخلص ثنائي ايثيل الايثر مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***2.02%***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *CZ* انخفاض فعالية الـ *CZ* بنسبة ***2.88%***	/	/
مستخلص خلات الايثيل مع *CN* انخفاض فعالية الـ *CN* بنسبة ***2.63%***	/	/

- مع أن كل المستخلصات لا تبدي أي فعالية اتجاه بكتيريا الـ *Proteus mirabilis*، إلا أنها عند مشاركتها مع المضادات الحيوية، فإنها لا تبدي فعلا حياديا فقط كما كان متوقعا منها، بل تبدي الفعلين الآخرين أيضا (التضادي و التآزري).

4.V. الخلاصة:

من خلال هذه الدراسة تبين أنه:

1- بالنسبة لنبات الرتم:

هناك علاقة طردية بين تركيز مستخلص سيقان النبات و فعاليته التثبيطية على البكتيريا، بحيث كلما زاد تركيز المستخلص النباتي، زادت فعاليته التثبيطية على البكتيريا و العكس صحيح، بإستثناء بكتيريا *P. mirabilis* ، التى لا تبدي أي استجابة (قطر التثبيط = *0mm*) مهما كان تركيز المستخلص. جدول (13).

نظرا لاحتواء مستخلصات سيقان نبات الرتم على مركبات فعالة تثبيطيا فإنه يمكن أن يكون لها دور مهم في الحصول على المواد الفعالة إزاء بعض الأحياء الدقيقة كأنواع كـ *Staphylococcus* فضلاً عن بكتيريا *Escherichia coli*، و *Salmonella*.

كان أكبر فعل تثبيطي من طرف المستخلص الميثانولي على بكتيريا *Salmonella*، إذ بلغ *16mm* .جدول (14).

الفعل التشاركي للمستخلصات أظهر فعلا تآزريا على جميع البكتيريا المدروسة باستثناء بكتيريا *Salmonella* ، حيث كان أكبر فعل تثبيطي للتآزرمن طرف المستخلص الميثانولي مع المضاد الحيوي *CN* على بكتيريا الـ *P. mirabilis*، إذ ساهم في زيادة الفعالية التثبيطية للـ *CN* بنسبة ***8.31 %.***

2- بالنسبة لنبات الدرين:

نظرا لإفتقار أوراق نبات الدرين للقلويدات و الزيوت الطيارة فكان فعلها التثبيطي على البكتيريا المدروسة محدودا جدا.

- لا فعل تثبيطيا لمستخلصات أوراق نبات الدرين على البكتيريا المدروسة باستثناء الفعل التثبيطي البسيط للمستخلص الميثانولي على بكتيريا الـ *E. coli*، حيث بلغ *6mm*.
- حتى بمشاركتها مع المضادات الحيوية فإنها لم تبد أي فعل تآزري محسوس.

و عليه لا يمكن اعتبار مستخلصات أوراق نبات الدرين كمضادات حيوية للبكتيريا المدروسة.

الخَاتِمَـــــة

الخاتمة

بعد استعراض نتائج هذه الدراسة و تحليلها، خَلُصنا إلى أن:

1- نبات الرتم:

- ❖ أظهرت مستخلصات سيقان نبات الرتم فعالية تثبيطية مهمة على نمو البكتيريا المدروسة، باستثناء بكتيريا الـ *P. mirabilis*.
- ❖ تعزى فعالية مستخلصات سيقان نبات الرتم إلى احتوائها على مركبات القلويدات و الفينولات و كذا الزيوت الطيارة التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غرام.
- ❖ الفعل التشاركي للمستخلصات مع المضادات الحيوية، أظهر فعلا تآزريا على جميع البكتيريا المدروسة باستثناء بكتيريا *Salmonella*.
- ❖ الفعل التشاركي للمستخلصات مع الـ VA، أعطى القدرة لهذا الأخير على تثبيط نمو *E. coli* و *P. mirabilis* رغم أنهما من البكتيريا سالبة الغرام.

انطلاقاً من هذه النتائج، لابد من القيام بإجراء دراسة أوسع عن هذه المستخلصات وتحديد كمية المركبات الكيميائية، وكذا دراسة سُمّيتها على الكائن الحي، وذلك للاستفادة منها في معالجة الإنتانات الالتهابية و الأخماج الناتجة عن الإصابة بهذه البكتيريا الممرضة مستقبلاً.

و عليه فإنه يمكن الاستفادة من هذا النبات بعد فصل مركباته الفعالة كمواد مضادة للبكتيريا، مع إمكانية الاستفادة منه عن طريق إدخاله في تطوير المضادات الحيوية.

2- نبات الدرين:

- ❖ على عكس نبات الرتم، لم تُبد مستخلصات أوراق نبات الدرين أي فعالية تثبيطية على نمو البكتيريا المدروسة، باستثناء الفعالية الطفيفة للمستخلص الميثانولي على بكتيريا الـ *E. coli* .
- ❖ تعزى عدم فعالية مستخلصات أوراق نبات الدرين إلى افتقارها للمركبات ذات الفعالية التثبيطية على الجراثيم (القلويدات و الزيوت الطيارة).
- ❖ الفعل التشاركي للمستخلصات مع المضادات الحيوية، أيضا لم يظهر فعلا تآزريا يُذكَرعلى جميع البكتيريا المدروسة.

و عليه فإنه لا يمكن الاستفادة من هذا النبات، سواءا لوحده أو بالمشاركة مع المضادات الحيوية، على الأقل في تثبيط البكتيريا المدروسة.

المَرَاجِـــع

المراجع بالعربية:

[2] - د. حليمي عبد القادر، النباتات الطبية، وزارة الفلاحة، الجزائر، 1997.

[3] - ميثاق الجبر، بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات و البوليكاريا و تقييم الفعالية البيولوجية، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة منتوري قسنطينة، 2010.

[27] - م. نائرعبد الباري و م.م. ياسر عادل جبار، عزل وتشخيص جرثومة المكورات من الاشخاص المصابين بأمراض معوية و تنفسية في محافظة المثنى و فحص المقاومة الميكروبية اتجاه المضادات الحياتية، مجلة أوروك للأبحاث العلمية المجلد (4) العدد (1) كانون الثاني2011.

[42] - الشيخلي، محمد عبد الستار، العزاوي، فريال حسن وفياض، حسن (1993). الكيمياء التحليلية، الجامعة المستنصرية ص 323-320.

[46] - الشامي، سامي أغا. (1982). دراسة بعض الصفات الوراثية والسمية لأزهار القيصوم. رسالة ماجستير- كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

[54] - العابد، كوثر فؤاد (2008). النشاط المضاد للبكتيريا والمضاد للكانديدا في الزيوت الطيارة لبعض النباتات الطبية في المملكة العربية السعودية. علم الأحياء الدقيقة، *Bacillus, aureus* , S. *Escherichia coli* خارج جسم الكائن الحي. رسالة ماجستير- كلية التربية - جامعة الرياض.

○ المراجع بالأجنبية:

[1]- Gislene. G. F. ;Nascimento. ;Juliana. L. ;Freitas. ;Giuliana. S. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on Antibiotic resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, 31:247- 256. [5]- F. P. Schäfer (Ed.), Dye Lasers, 3rd Ed. (Springer-Verlag, Berlin, 1990).

[4]- "Plant Resins: Chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany", by Jean Langenheim, Timber Press, Portland, OR. 2003.

[5]- Brito-Arias, Marco (2007). Synthesis and Characterization of Glycosides. Springer. ISBN 978-0-387-26251-2.

[6]- Amorati, R; Valgimigli, L. (2012). "Modulation of the antioxidant activity of phenols by non-covalent interactions". Org Biomol Chem. 10 (21): 4147–58. doi:10.1039/c2ob25174d. PMID 22505046.

[7]- Leal, L. K. A. M.; A. A. G. Ferreira; G. A. Bezerra; F. J. A. Matos; G. S. B. Viana (May 2000). "Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study". Journal of Ethnopharmacology. 70 (2): 151–159. doi:10.1016/S0378-8741(99)00165-8. ISSN 0378-8741. PMID 10771205. Retrieved 2010-06-26.

[8]- McNaught, Alan D; Wilkinson, Andrew; IUPAC (1997), "IUPAC Compendium of Chemical Terminology", Flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) (2 ed.), Oxford: Blackwell Scientific doi:10.1351/goldbook.F02424.

[9]- Bode HB, Zeggel B, Silakowski B, Wenzel SC, Reichenbach H, Müller R (Jan 2003). "Steroid biosynthesis in prokaryotes: identification of myxobacterial steroids and cloning of the first bacterial 2,3(S)-oxidosqualene cyclase from the myxobacterium Stigmatella aurantiaca". Molecular Microbiology. 47 (2): 471–81. doi:10.1046/j.1365-2958.2003.03309.x. PMID 12519197.

[10]- Hostettmann, K.; A. Marston (1995). Saponins. Cambridge: Cambridge University Press. p. 3ff. ISBN 0-521-32970-1. OCLC 29670810.

[11]- Bate-Smith and Swain (1962). "Flavonoid compounds". In Florkin M.; Mason H. S. Comparative biochemistry. III. New York: Academic Press. pp. 75–809.

[12]- Qiu S, Sun H, Zhang AH, Xu HY, Yan GL, Han Y, Wang XJ (2014). "Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives". Chin J Nat Med. 12 (6): 401–406. doi:10.1016/S1875-5364(14)60063-7. PMID 24969519.

[13]- Martin, Diane M.; Gershenzon, Jonathan; Bohlmann, Jörg (July 2003). "Induction of Volatile Terpene Biosynthesis and Diurnal Emission by Methyl

Jasmonate in Foliage of Norway Spruce". Plant Physiology. 132 (3): 1586–1599. doi:10.1104/pp.103.021196. Retrieved 1 November 2014.

[14]- "Plant Resins: Chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany", by Jean Langenheim, Timber Press, Portland, OR. 2003.

[15]- Gislene. G. F. ;Nascimento. ;Juliana. L. ;Freitas. ;Giuliana. S. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on Antibiotic resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, 31:247- 256.

[16]- Grosvenor P., Supriono A., Gray D., 1995 - Medicinal plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: Antibacterial and antifungal activity. Journal of Ethnopharmacology, 45: 97–111.

[17]- Ishrak.K.;Ahmed.D.2000.The effecincy of random versus ethno- directed research in the evaluation of sinai medicinal plants for bioactive compounds. J. of Ethnopharmacology, 71:365-376.

[18]- Bassam .A, Ghaleb.A, Dauod.S, Kamel.A, Moad.A.2005. Antibacter- Aial activity of Rhus Coriaria. extracts growing in Palestine. journal of The Islamic University of Gaza, (Natural Sciences Ser Series), 13(2): 147-155.

[19]-National Research Council (1996-02-14). "Wild Grains". Lost Crops of Africa: Volume I: Grains. Lost Crops of Africa. 1. National Academies Press. p. 260. ISBN 978-0-309-04990-0. Retrieved 2008-08-01.

[20]- Fredrickson JK, Zachara JM, Balkwill DL, Kennedy D, Li SM, Kostandarithes HM, Daly MJ, Romine MF, Brockman FJ (2004). "Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state". Applied and Environmental Microbiology 70 (7): 4230–41. doi:10.1128/AEM.70.7.4230-4241.2004. PMC 444790. PMID 15240306.

[21]- Berg JM, Tymoczko JL Stryer L (2002). Molecular Cell Biology (5th). WH Freeman. ISBN 0-7167-4955-6. [13]- The Food Safety File: Staphylococcus aureus Edition 2008.

[22]- Bardy S.L., Ng S.Y., Jarrell K.F. (2003). "Prokaryotic motility structures". Microbiology 149 (Pt 2): 295–304. doi:10.1099/mic.0.25948-0. PMID 12624192.

[23]- Ana Carolina de Mello Santos, Ana Carolina Matos Zidko, A virulência de scherichia coli patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro, M u n d O d a S a ú d e, São Paulo: 2009;33(4):392-400.

[24]- Silvia Michanie, Escherichia coli O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne, Énfasis Alimentos Año IX, Nº3 Julio-Agosto, 2003.

[25]- Xiao-Lian Zhang, Victor Tunje Jeza and Qin Pan, Salmonella Typhi: from a Human Pathogen to a Vaccine Vector, Received Nov 25, 2007. Accepted Feb 24, 2008.

[26]- Riti Sha ran Sanjay Chhibber, Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan et al . BMC Infectious Diseases 2011, 11:204.
[28]- The Food Safety File: Staphylococcus aureus Edition 2008.
[29]- Proteus mirabilis and Urinary Tract Infection.
[30]- Gonzalez, Gus; et al. "Proteus Infections Medication". Medscape. Retrieved 30 October 2015.
[31]- History of Antibiotics | Steps of the Scientific Method, Research and Experiments. "Experiment-Resources.com"
[32]- Methicillin Resistan Staphylococcus aureus, Last Updated: January 2011.
[33]- "Penicillium chrysogenum (aka P. notatum), the natural source for the wonder drug penicillin, the first antibiotic". Tom Volk's Fungus of the Month for November 2003.
[34]- John D. Roberts. "Biographical Memoirs: John Clark Sheehan". The National Academy Press ,E. J. Corey.
[35]- Pearson, Carol (28 February 2007). "Antibiotic Resistance Fast-Growing Problem Worldwide". Voice Of America. Archived from the original on 2 December 2008. Retrieved 29 December 2008.
[36]- SA Waksman (1947). "What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance?". Mycologia 39 (5): 565–569. doi:10.2307/3755196. JSTOR 3755196. PMID 20264541.
[37]- Steenhuysen, Julie (18 April 2013). "Drug pipeline for worst superbugs 'on life support': report". Reuters. Retrieved 23 June 2013. - John D. Roberts. "Biographical Memoirs: John Clark Sheehan". The National Academy Press ,E. J. Corey.
[38]- María Soledad Fernández Alfonso, Mariano Ruiz Gayo. Fundamentos de Farmacología Básica y Clínica. Published by Steve Bob Billy Joe, 2005; page 232. ISBN 84-8004-689-9.
[39]- Stynes, T. Tetraphase Pharma's Eravacycline Gets Qualified-Infectious-Disease-Product Status. Wall Street J. Monday, 15 July 2013.
[40]- Robert Berkow (ed.) The Merck Manual of Medical Information - Home Edition. Pocket (September 1999), ISBN 0-671-02727-1.
[41]- Splete, Heidi; Kerri Wachter (March 2006). "Liver toxicity reported with Ketek". Internal Medicine News.
[43]- Winberg, J .(1990); urinary tract Infections in children curr. opin. nf. Dis., 3: 55-61.
[44]- Harbone, J. (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall. London.

[45]- Al-Abid, M.R., (1985). Zurrzusamme mse turungder Abschla B membrane in Phoenix dactylifera. Wurzburg University. Wuzzburg, F.R. of Germany, 153-140.

[47]- Havsteen.B.H ,The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & therapeutics, 2002. 96(2-3): p. 67-202.

[48]- 136-139 Worshiper, Kausar Fouad, Anti-bacterial activity and anti-Candida in the volatile oils of some medicinal plants in Saudi Arabia-microbiology, neighborhoods, aureus Bacillus, Escherichia coli outside the body of the organism. Majester Thesis, Faculty of Education, University of Riyadh (2008).

[49]- Handa, Sukhder S.; Decpak Mundkinajeddu, G. V. R. Joseph; Shecla J. and Gajendra N.(1999). Indian Herbal pharmacopoeia Vol. II, Ajoint p ublication of Regional Research Laboratory and Indian Drug M anufacturers Association. India. Pp . 137 – 145 .

[50]- Rushton, H.G. (1997). Urinary tract infections in children. Epidemiology, Evaluation and management. Pediatr . Uro , 44 (5) 1133- 1169.

[51]- Strffon , R .A .(1974): Urinary tract infection problem in diagnosis and management . Med . Clin . North Am; 58(3) :545 – 553.

[52]- Maire R., 1953- Flore de l'algérie du nord 2. Monocotylédone, graminée sf. Pvoidae. Le chevalier éd. Paris, pp: 12-13.

[53]- Guintzburger C., 1986. Seasonal variation in abone-grand. Annuel and perennial of management, 39 : 348-353.

[55]- El Rhaffari L., Zaid A., 2002 Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée.

[56]- Bouzidi S., 1988 Contribution à l'étude cytogénétique de deux espéces de graminées vivaces dans les hautes plateaux Algériens : Aristida pungens L., Mémoire de D.E.S, I.S.N, Ora, pp : 3.

[57]- Quezel, P., Santa. P., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des regions désertiques méridionales. Tome 2, éd. CNRS, France, pp :1170.

[58]- Zohari M., 1973. Geobotanical fondation of Middle East. Stuttgart: Guster Fisher Verlag, 2: 739.

[59]- Danin A., 1991. Plant adaptation in desert dunes. Jornal of arid environment 21: 193-212.

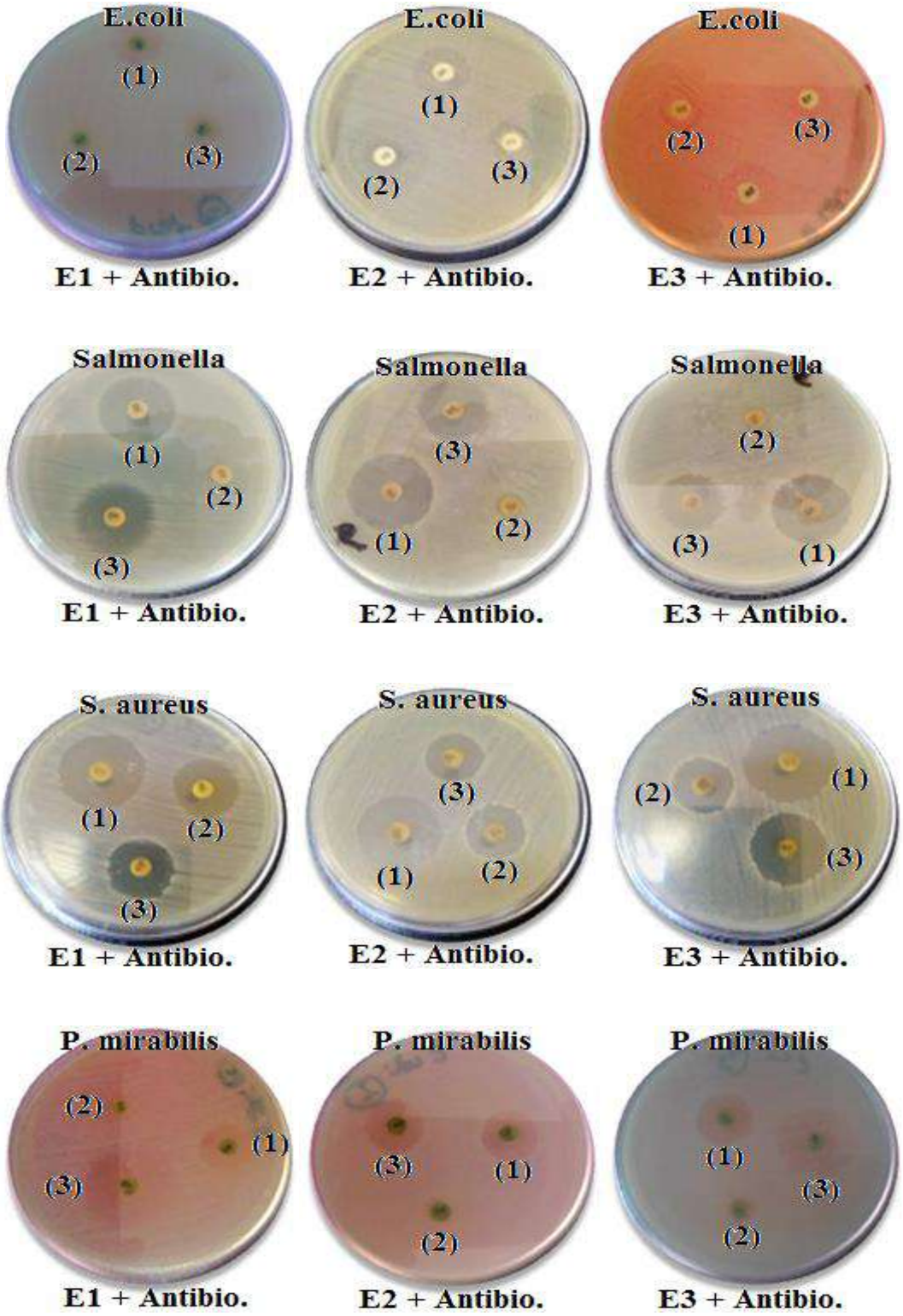
[60]- Vestal A.G., 1971. Foothills vegetation in Colorado front range, Bot. Gaz. 64: 353-385.

[61]- Mott J.J., 1972. Germination studies on some annuals species from an arid region of western Australia J. of Ecology, 60: 293-304.

[62]- Schneel, R., 1977. Flore et vegetation de l'Afrique Tropicale, Tome 2. Ed. Gauthier-villars, Paris, pp: 375-378.

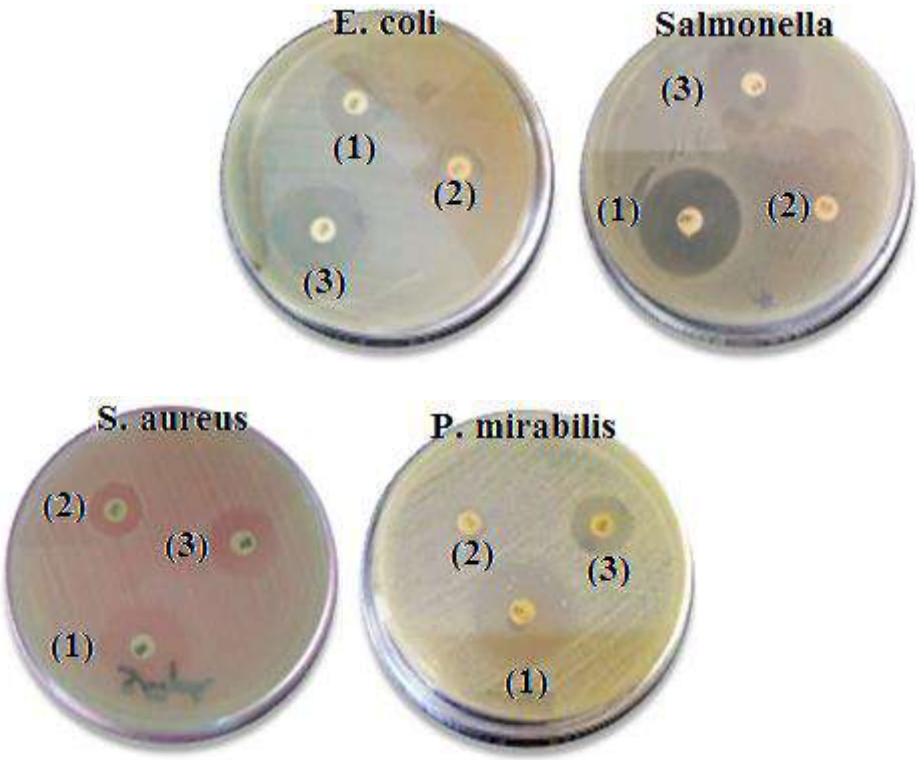
[63]- Bourreil, PP., 1962. Etude anatomique du limne des innovations de l'Aristida de l'Afrique du nord et de Sahara, Botanique Saharienne, 6, Univ. Alger, pp : 202.
[64]- Bellakhdar J., 1997 : La pharmacopée Marocaine traditionnelle Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Paris, pp : 764-769.
[65]- Toutain G., 1979, Eléments d'agronomie saharienne de la recherche au développement. Paris, pp : 277-279.
[66]- Chehma A., Gaour A., Samadi A., Faye B., 2002. Productivité fourragére des parcours camelins en Algérie cas des paturages à base de 'Drinn' Aristida pungens. Blida.
[67]- Oguyemi AO. In : Sofowora A. ed. Prodeedings of a Conference on African Medicinal plants. Ife-Ife : Univ Ife, 1979. 20-22.
[68]- Geisman, T. A., Chemistry of Havonoids compounds. Macmillan Co. New York. 1962.90-101.
[69]- Mukundam, B., Shagufa, A., and Swarnamoni, D. A., Asian J Pharm Bio res., 2012. 2(3) : 183.
[70]- Swarnamoni, D., Mukundam, B., and Shagufa, A., Asian Pharm Clin Res., 2013.6.
[71]- Bouhadjera Keltoum, Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes Oudneya africana R.Br. et Aristida pungens L. Thése Doctorat, Univ. De Telemcene.
[72]- Medicinal Plants In the Republic of Korea. Natural Products research institute (Seoul National University). p. 187.
[73]- Stork, Gilbert; Uyeo, Shoichiro; Wakamatsu, T.; Grieco, P; Labovitz, J. (1971). "Total synthesis of lupeol". Journal of the American Chemical Society. 93 (19): 4945.
[74]- Zhu M, Burman WJ, Jaresko GS, Berning SE, Jelliffe RW, Peloquin CA (October 2001).

المُلحَـــق



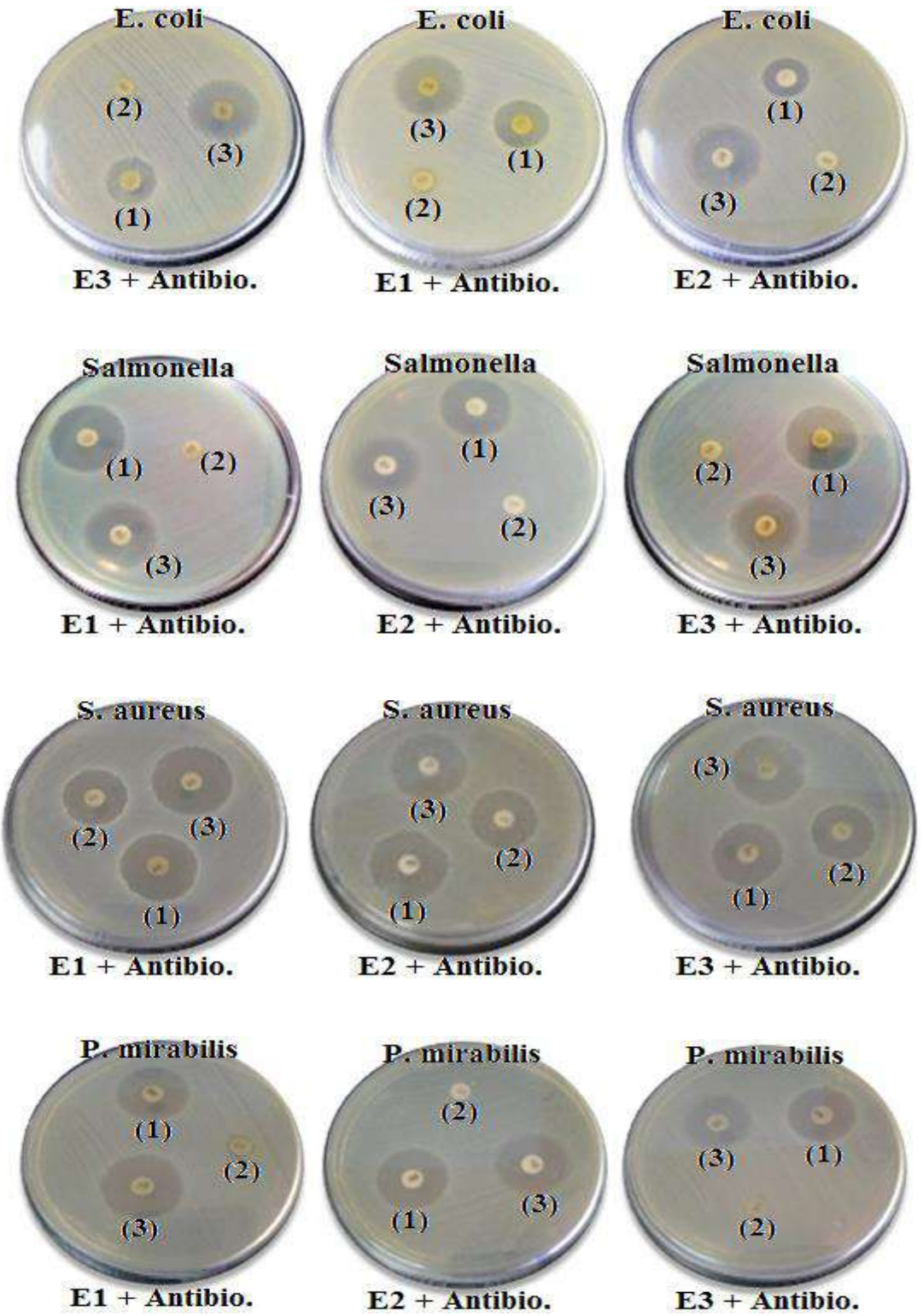
(1): *CZ 30mcg* **, (2):** *VA 30mcg* **, (3):** *CN 10mcg*

شكل (48). فعالية مستخلصات سيقان نبات الرتم بتركيز *100 mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Antibio.*) على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة



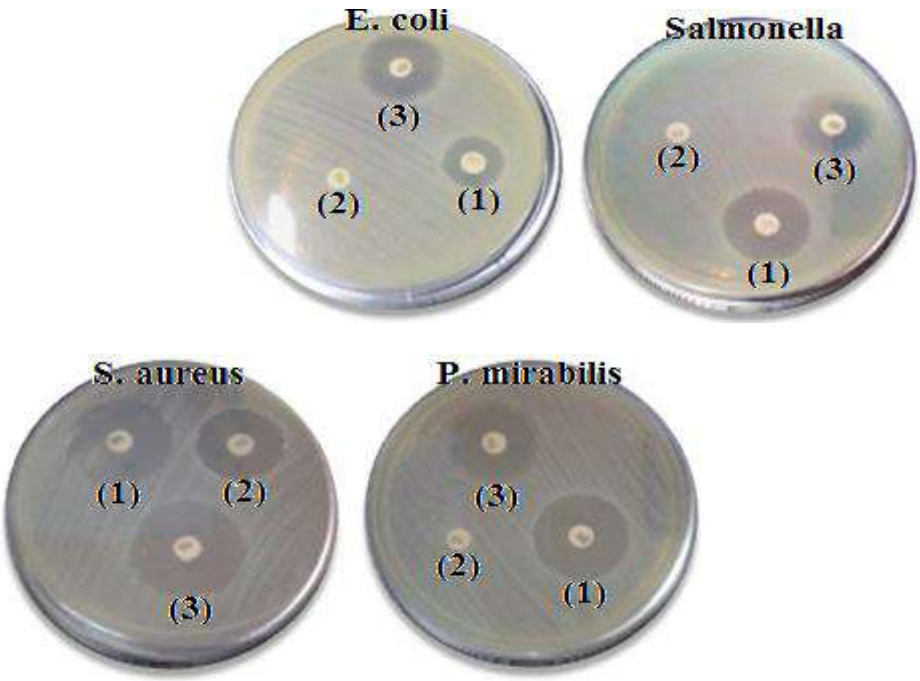
(1): *CZ 30mcg* **, (2):** *VA 30mcg* **, (3):** *CN 10mcg*

شكل (49). فعالية المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة على نبات الرتم



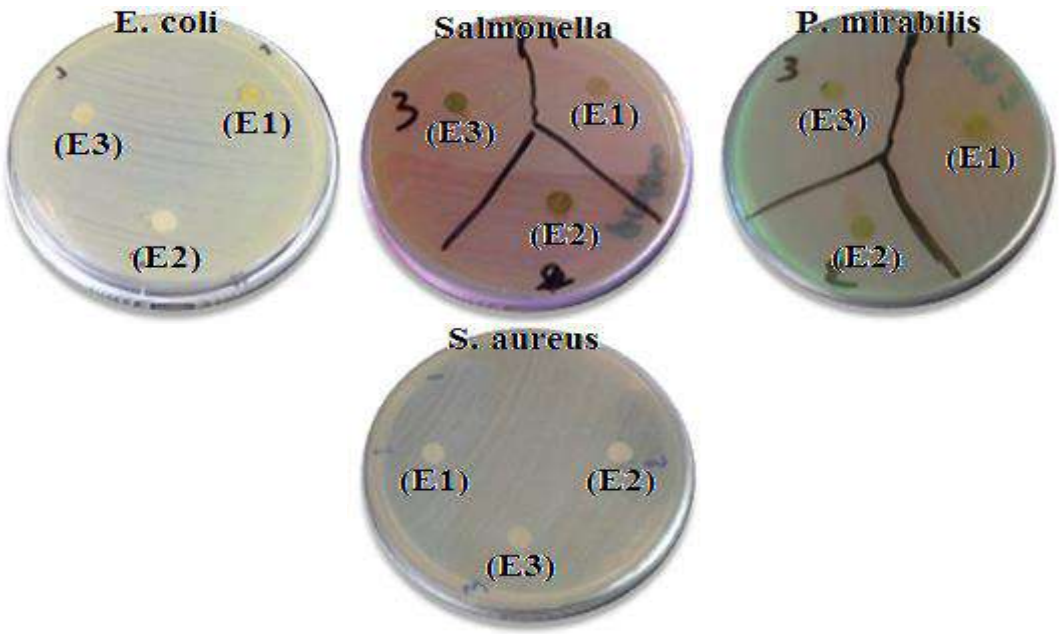
(1): *CZ 30mcg* , **(2):** *VA 30mcg* , **(3):** *CN 10mcg*

شكل (50). فعالية مستخلصات أوراق نبات الدرين بتركيز *100 mg/ml* بالمشاركة مع المضادات الحيوية (*Antibio.*) على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة



(1): *CZ 30mcg* **, (2):** *VA 30mcg* **, (3):** *CN 10mcg*

شكل (51). فعالية المضادات الحيوية على قطر منطقة التثبيط للأنواع البكتيرية المدروسة على نبات الدرين



(E1) : المستخلص الميثانولي, **(E2) :** مستخلص ثنائي ايثيل ايثر, **(E3) :** مستخلص خلات الايثيل

شكل (52). فعالية مستخلصات أوراق نبات الدرين بتركيز *100 mg/ml* على قطر منطقة التثبيط للأنواع ابكتيرية المدروسة

المَنشُورَاتُ العِلمِيَّة

Est. 1984

ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY
An International Open Free Access, Peer Reviewed Research Journal

www.orientjchem.org

ISSN: 0970-020 X
CODEN: OJCHEG
2016, Vol. 32, No. (1):
Pg. 313-319

A Qualitative Phytochemical Analysis and a Comparative Study of the Antibacterial Activity of *Retama stalks* (*raetam*)

HAMZA BENSACI, LAKHDAR SEKHRI*, ABDELAALI ATMANI and AHMED TABCHOUCHE

Laboratoire De Dynamique Interaction et Réactivité des Systèmes, Process Engineering Department, Faculty of Applied Sciences, University Kasdi Merbah, Ouargla 30000, Algeria.
*Corresponding author E-mail: sekhril@yahoo.fr

http://dx.doi.org/10.13005/ojc/320135

(Received: December 31, 2015; Accepted: March 05, 2016)

ABSTRACT

The present work is aimed mainly to investigate and compare the antibacterial activities of methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts of ***Retama*** on *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus* using well diffusion method. The results of study showed a significant effect on all bacterial species except *Proteus mirabilis*. The preliminary test of *Retama* constituents revealed the presence of active material : Resins, Volatile oils, Coumarins, Terpenes, Phenols, Tannins, Alkaloids, Saponins, Cardiac glycosides, and Flavons.The highest Inhibition rate of *Salmonella* is 16 mm at the concentration 100 mg/ml, while the lowest inhibition rate was 8 mm for *Escherichia coli* at concentration 1 mg/ ml in methanolic extract. The results obtained in the present study suggest that the *Retama* stalks (broom broom) can be used in treating diseases caused by the tested organisms. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in the selected plants responsible for the antimicrobial activity.

Key words : phytochemical analysis, Retama, *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis and Staphylococcus aureus*, antibacterial activity.

INTRODUCTION

The urinary tract infection is the most common bacterial diseases in children, as it ranks second in terms of spreading infection after respiratory tract.[1-4] The urinary tract infection comes usually from attacking microorganisms urinary system that are mostly negative gram bacteria, from digestive system, as most of the infections at urinary system caused by bacteria intestinal Enter bacteria cease including *Bacillus* colon *Escherichia coli*, which occupies a leading position among the races of this family.[5] As well as other pathogens include *Staphylococcus aureus* and *Streptococci* and sometimes as types fungus Candida fungal.[6]

The virulence of bacteria attacking and vulnerability to the host of fundamental importance

in the occurrence and development of the infection, which relies on a series of interactions between pathogen and host. The infection of the urinary tract occurs as a result of excessive growth of the bacteria with high virulence in the urinary tract and then the displacement of these bacteria to the bladder, and may include the urethra injury, ureters and bladder and kidney.[7,8] Most bacterial infections are treated with antibiotics, but at present time the natural herbal treatments (folk medicine) has spread dramatically without resorting to drugs and synthetic materials.

Therefore, we have chosen the study of medicinal *Retama* plant (broom plant), a desert plant, it reaches a height of more than 2 meters. It has small leaves, rapid falling (precipitation), to reduce the transpiration process; flowers butterfly shaped white Color and cup pink color purple, oval-shaped fruits contain one seed. Moreover we have chosen to study the stalks and flowers of this medicinal plant because of the availability of year-round and represents the most of the plant size. This plant used in the treatment of allergies, stopping the bleeding and to treat the wounds. However, due to the appearance of new strains of the bacteria and the weakness of chemotherapeutics and antibiotic resistance exhibited by pathogens has led to the screening of several medicinal plants for their potential antimicrobial activity.[8-10] An increasing number of reports dealing with the assessment of antimicrobial effects of different extracts of various medicinal plants are frequently available.[11-15]

The aim of this study was to evaluate the activity of aqueous and alcoholic, diethyl ether and ethyl acetate extracts against several Gram-positive and Gram-negative bacterial strains in vitro.

MATERIALS AND METHODS

Fresh plant/plant parts : *Retama* plant was collected randomly from the El Meniaa desert- Ghardaia Algeria in November 2013. The medicinal plant was deposited at Laboratory of Dynamic Interaction and Reactivate des Systems, Department of Process engineering, Faculty of Applied Sciences, University of Kasdi Merbah-Ouargla. Fresh stalks *plant* material was washed under running tap water, air dried under dark and then homogenized to fine Powder and stored in closed container away from light and moisture.

Preliminary Phytochemical Analysis

Qualitative Phytochemical analysis of the stalks plant powder was determined as follows:

Resins (200 mg plant material in 10 ml distilled water, filtered) ; a 10 ml filtrate + 4% HCl, the appearance of turbidity indicated the presence of *Resins*. *Volatile oils* (200 mg plant material in 10 ml distilled water, filtered), then a filter paper saturated by the filtrate and exposed to the UV rays, bright rose color indicated the presence of Volatile oils.[15] *Coumarins* : In a test tube was placed 1g in 10 ml of distilled water, then covered with filter paper after being soaked in a diluted solution of NaOH. The test tube was placed in boil water bath for a few minutes and then exposed to UV rays, yellow-green indicated the presence of Coumarins.[17] *Terpenes* (Liebermann- Burchard reaction : 200 mg plant material in 10 ml chloroform, filtered) ; a 2 ml acetic anhydride + conc. H_2SO_4. Blue-green ring indicated the presence of Terpenes.[18] *Phenols* (200 mg plant material in 10 ml distilled water, filtered) ; a 2 ml filtrate + 2 ml $FeCl_3$, blue-Green precipitate indicated the presence of Phenols.[18] *Tannins* (200 mg plant material in 10 ml distilled water, filtered) ; a 2 ml filtrate + 2 ml $FeCl_3$, blue-black precipitate indicated the presence of Tannins. *Alkaloids* (200 mg plant material in 10 ml methanol, filtered) ; a 2 ml filtrate + 1% HCl + steam, 1 ml filtrate + 6 drops of Mayor's reagents/Wagner's reagent/Dragendroff reagent, creamish precipitate/ brownish-red precipitate/orange precipitate indicated the presence of respective alkaloids.[20] *Saponins* (frothing test : 0.5 ml filtrate + 5 ml distilled water) ; frothing persistence indicated the presence of Saponins. *Cardiac glycosides* (Keller-Kilani test : a 2 ml filtrate + 1 ml glacial acetic acid + Fe Cl_3 + conc. H_2SO_4) ; green-blue color indicated the presence of cardiac glycosides. *Steroids* (Liebermann-Burchard reaction : 200 mg plant material in 10 ml chloroform, filtered) ; a 2 ml acetic anhydride + conc. H_2SO_4. Blue-green ring indicated the presence of steroids. *Flavonoids* (200 mg plant material in 10 ml ethanol, filtered) ; a 2 ml filtrate + conc. HCl + magnesium ribbon, pink-tomato red color indicated the presence of flavonoids.[21] *Flavones* : 10 ml of solution of plant powder in ethanol (50%) was added to 10 ml of KOH solution (50%), and then equal amounts of this

Solution and extracted plant were mixed, yellow color, indicated the presence of Flavones.[22]

Extraction of plant material

Each extract was prepared by soaking 200 g of the plant powder in a mixture of EtOH/H_2O (70/30) evaporated under reduced pressure. The second extract was prepared by soaking 200 g in diethyl ether, and the third extract was prepared by soaking 200g in ethyl acetate. Each of the resulting extracts was diluted with distilled water and left overnight. The ethanolic filtrates were subjected to extraction by various solvents with increasing polarity (petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and butanol). All organic phases were separated and evaporated. The resulting residue was stored at 4°C.

Microorganisms

All bacterial standard strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* and *Salmonella* were obtained from Colonel Chaabani Hospital, El Meniaa, W. Ghardaia. ALGERIA.

Preparation of the bacterial culture media

3.7 of Mueller Hilton agar was mixed with hot distilled water and autoclaved at 121°C and 2 atm for 15 minutes. After autoclaving it was allowed to cool to 45°C in a water bath. Then the medium was poured into sterilized petri dishes with a uniform depth of approximately 5 mm.[20]

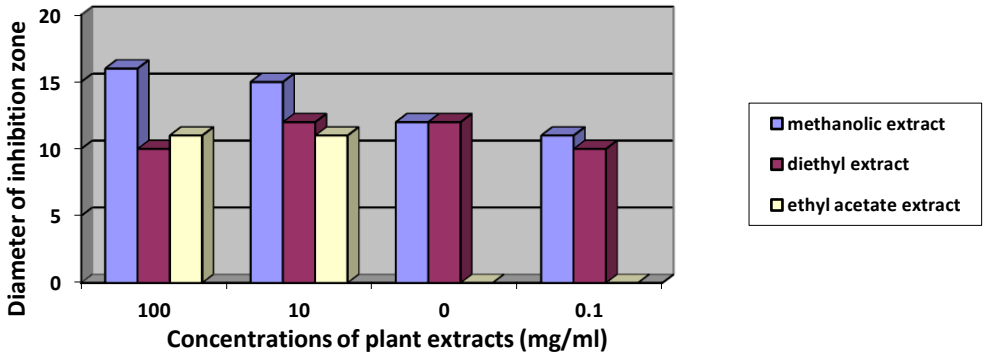


Fig.1: The influence of three extract concentration of *Retama* plant *vs.* the inhibition diameter on Salmonella

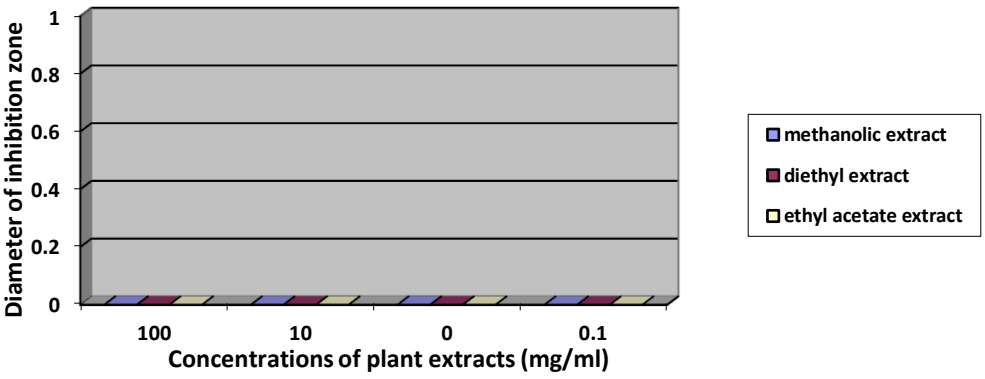


Fig.2: The influence of three extracts concentration of *Retama* plant *vs.* the inhibition diameter on Proteus mirabilis

Preparation of plant extract impregnated discs

Whatman N°1 filter paper was used to prepare discs of 6 mm in diameter. They were sterilized by autoclaving and then dried during the autoclaving cycle. The discs were then impregnated with extract of the plants.[23]

Disc diffusion method

Disc diffusion method for antimicrobial susceptibility test was carried out according to the standard method by Kirby-Bauer to assess the presence of antibacterial activities of plant extracts.[22] A bacterial suspension adjusted to 0.5 McFarland standard ($1.5x10^8$ CFU/ml) was used to inoculate Mueller Hinton agar plates evenly using a sterile swab. The discs impregnated with the plant extracts were placed individually on the Mueller Hinton agar surface. The discs were spaced far enough to avoid both reflection waves from the edges of the petri discs and overlapping rings of inhibition. The plate was then incubated at 37°C for 18 hours in inverted position to look for zones of inhibition. Zones of inhibitions produced by the sensitive organisms were demarcated by a circular area of clearing around the plant extract impregnated discs. The diameter of the zone of inhibition through the center of the disc was measured to the nearest millimeter. The resulting residue of all extracts stored at 4°C were tested at concentrations of 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} and 10^{-4} g/ml and were prepared in DMSO.

RESULTS AND DISCUSSION

The preliminary phytochemical analysis of the crude powder of *Retama* plant collected showed that the stalk of Retama plant contains many active ingredients: *Coumarins, tannins, volatile oils, Terpenes and alkaloids*, one of the

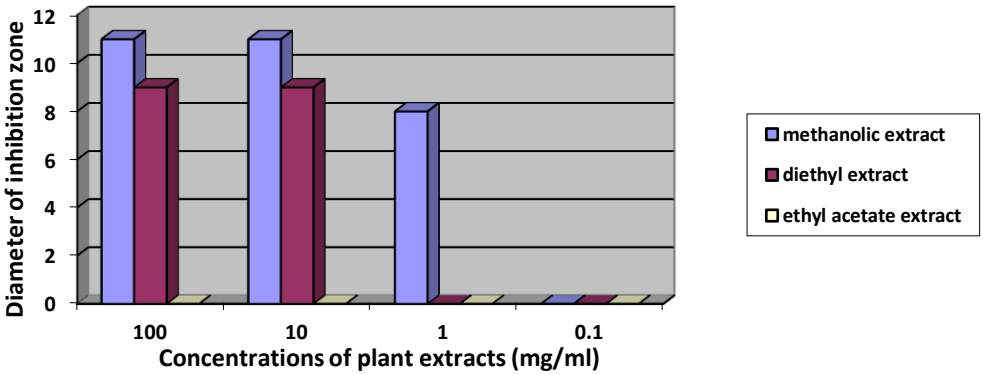


Fig.4: The influence of three extract concentration of *Retama* plant *vs.* the inhibition diameter on Staphylococcus aureus

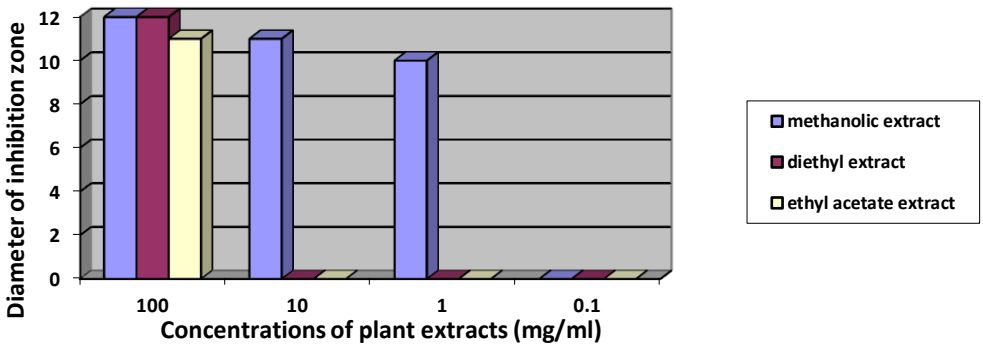


Fig. 3: The influence of three extract concentration of *Retama* plant *vs* the inhibition diameter on Escherichia coli

Table 1 : Antibacterial activity of methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts of screened plant

Bacteria strains	Type of gram	Concentration of ethyl acetate extracts (g/ml)				Concentration of Diethyl ether extracts (g/ml)				Concentration of methanolic extract (g/ml)			
		10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
		Diameter of inhibition zone (mm)				Diameter of inhibition zone (mm)				Diameter of inhibition zone (mm)			
Salmonella	-	0	0	11	11	10	12	12	10	11	12	15	16
Porteuse mirabilis	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Escherichia coli	-	0	0	0	0	0	0	9	9	0	8	11	11
Staphylococcos aureus	+	0	0	0	11	0	0	0	12	0	10	11	12

Antioxidants of the bacteria responsible for the effect of microbes, also contains flavonoids including glycosides antioxidant and phenols and saponins. As for the nature of the extracts were characterized by strength viscous dark green color and aromatic smell, due to the emergence of green chlorophyll pigment and material xanthine. The aromatic smell of *Retama* plant can be attributed to the volatile oils, also contains vegetarian jelly and glues.[24]

Results for antibacterial activity as obtained with *Retama plant* revealed that the three different extracts tested in vitro by agar disc diffusion against 4 bacterial species. **Table 1** : summarizes the microbial growth inhibition of tested extracts of this plant that showed significant bacterial activity against all the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*) except *Proteus mirabilis* where the maximum activity was recorded against *Salmonella* and a maximum inhibition diameter of 16 mm with the methanolic extract at concentration 10^{-1} g/ml. On the other hand the three extracts were ineffective against *Proteus mirabilis*.

Moreover the ethyl acetate extract showed no effect against *Escherichia coli, Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus* at different concentrations. Moderate inhibition was recorded with the methanol extracts at 10^{-3} against *Escherichia coli*. As far as the concentration of 10^{-4} is concerned the three extracts exhibits no actions against *Escherichia coli, Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus*. However moderate effects against *Salmonella* are recorded at this concentration. Figures-1, 2, 3, and 4 showed the influence of the extract concentration on the growth of the bacteria tested.

The increase in the effect of the alcoholic extract of the *Retama* plant may be due to the extract effect on the permeability of the cell membrane and the function of the bacterial cell. The activity of the extracts of this plant can be attributed to the presence of phenolic compounds that have inhibitory efficacy on the positive and negative gram bacteria.

Generally, the three extracts of this plant are more or less effective towards the tested bacteria and methanolic extracts are more potent compared to ethyl acetate and Diethyl ether extracts.

CONCLUSION

This study underscored the antimicrobial activity of one chenopodiaceous species namely: *Retama* using three different solvents : Diethyl ether, Ethyl acetate, and Methanol with increasing polarity against four bacteria strains. This medicinal plant averred to be effective against three types of gram negative bacteria: *Escherichia coli, Salmonella, and Proteus mirabilis* and one type of gram positive *Staphylococcus aureus*. The results partially justify the claimed uses of the selected plant in the traditional system of medicine to treat various Infectious diseases caused by the microbes. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in the selected plant responsible for the antimicrobial activity.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are thankful to the staff of microbiological laboratory, Colonel Chaabani Hospital, El Meniaa, W. Ghardaia. ALGERIA, for their assistance and providing the necessary facilities to carry out this work.

REFERENCES

1. Chakra borty , P., *Urinary tract infection: Text book of microbiology st. ed–new central book agency, Calcutta*, India, **1996**.; 577 -581
2. Funfstuck, R., Smith, J. W., Tschape, H. and Stein, G., pathogentic aspects of uncomplicated urinary tract infections*, recont advances. clin. Neph,* **1997**. 47(1):13-18
3. Lettgen, B., Urinary tract infections in childhood old and aspects. *klin. pediatr;* **1993**.205 (5): 325- 331
4. Strffon, R . A., Urinary tract infection problem in diagnosis and management . *Med . Clin . North Am*, **1974**. 58(3) :545 – 553.,
5. Egorove , N. S., *Antibiotics scientific Approach .Mirpublis hers Moscow. Antimicrob – chemoth* (1985).
6. Rushton, H. G., Urinary tract infections in children, *Epidemiology, Evaluation and management . Pediatr . Uro ,* **1997**. 44 (5) : 1133- 1169
7. Nickel, J. C., Costerton, J.W., Mcleam, R. J. and Alson, M., Bacterialbio films, Influence on the pathogenesis, diaqnoses and treatment of Urinary tract infection, *J-Antimicrob – chemoth.* (1994).
8. Winberg , J., urinary tract Infections in children curr., *opin . Inf. Dis*., **1990**.3: 55-61.
9. Colombo, M. L., Bosisio, E., *Pharmacological activities of Cheldonium majus L (Papaveraceae). Pharmacol Res.,* **1996**.33 : 127,
10. Iwu, M.W., Ducan, A. R., and Okunji, C. O., *New antimicrobials of plant origin. In ; Janick J. ed. Perspectives on new Crops and new Uses. Alexandria, VA ; ASHS Press,* 457 (1999).
11. Benkeblia, N., *Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (allium cepa) and garlic (Allium stivum). Lebensm-Wiss u-Technol,* **2004**. 37 : 263,
12. Babamer, Zohra Y., Sekhri, L., Al-Jaber, Hala I., Al-Qudah, Mahmoud A., and Abu Zarga, Musa H. *Journal of Asian Natural Products Researc*h, **2012**. 1,
13. Ashakkumar, R., and Ramaswamy, M. J., *Chem Bio Physci Sec*., **2013**. 3(2) : 1279
14. Bindu. J., Anjali. K., and Vibhor K.j., *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical research,* **2011**. 2(1) : 437
15. Mukundam, B., Shagufa, A., and Swarnamoni, D. A., *Asian J Pharm Bio res.,* **2012**. 2(3) : 183
16. Babamer Zohra Y., Sekhri, L., Al-Jaber, Hala I., Al-Qudah, Mahmoud A., and Abu Zarga, Musa H. *Journal of Asian Natural Products Researc*h, **2012**. 1-7,
17. Geisman, T. A., *Chemistry of Havonoids compounds.* Macmillan Co. New York. **1962**.90-101
18. Al-Abid, M. R., Zurrzusamme mse turungder Abschla B membrane in Phoenix dactylifera. Wurzburg University. Wurzburg, F. R. of Germany, **1985**.153-140
19. Winberg, J., *Urinary tract infections in children curr. Opin. Inf. Dis.,* **1990**. 3 : 55-61
20. Harbone, J. (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall. London.

21. Oguyemi AO. In : Sofowora A. ed. Prodeedings of a Conference on African Medicinal plants. Ife-Ife : Univ Ife, **1979**. 20-22
22. Harbone, J. B., (1984). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of p lant analysis. 2nd ed., Chapman and Hall. London. P: 288.
23. Swarnamoni, D., Mukundam, B., and Shagufa, A., *Asian Pharm Clin Res*., **2013**.6 (4) : 136-139
24. Worshiper, Kausar Fouad, Anti-bacterial activity and anti-Candida in the volatile oils of some medicinal plants in Saudi Arabia-microbiology, neighborhoods, *aureus Bacillus, Escherichia coli* outside the body of the organism. *Majester Thesis*, Faculty of Education, University of Riyadh (2008).

ISSN: 0975-8585

Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences

A Comparative study of the antibacterial Activity of Retama stalks (raetam) ; its synergic effect with some of standard antimicrobials.

Hamza Bensaci[1], Lakhdar Sekhri[1]*, Abdelali Atmani[1], Halima Benkina[2], and Bilal Khaled[1].

[1]Laboratoire de Dynamique Interaction et Réactivité des Systèmes, Process Engineering Department, Faculty of Applied Sciences, University Kasdi Merbah, Ouargla 30000, Algeria.
[2] Colonel Chaabani Hospital, El-Meniaa W. Ghardaia. Algeria.

ABSTRACT

The present work is aimed mainly to investigate and compare the antibacterial activities of methanol, diethyl ether and ethyl acetate extracts of ***Retama*** stalks, and their synergic effect with some standard antibiotics on *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus* using well diffusion method. Results for antibacterial activity as obtained with *Retama plant* revealed that the three different extracts tested showed significant bacterial activity against all the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*) except *Proteus mirabilis* where the maximum activity was recorded against
Salmonella and a maximum inhibition diameter of 16 mm with the methanol extract at concentration 10^{-1} g/ml. As far as the synergic effect is concerned the combination of methanol extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN; ether extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN ; ethyl acetate with E2 & CZ; E2 & VA. were most active and showed high synergic effect. The results obtained in the present study suggest that the *Retama* stalks can be used in treating diseases caused by the tested organisms. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in the selected plants responsible for the antimicrobial activity.

Keywords: phytochemical analysis, Retama plant, *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis and Staphylococcus aureus*, antibacterial activity, synergic effect.

Corresponding author

ISSN: 0975-8585

INTRODUCTION

In recent years there has been a flood of papers describing the synthesis of new antibacterial compounds and isolation of some natural products and study of their biological antimicrobial activities [1-7]. The urinary tract infection is the most common bacterial diseases in children, as it ranks second in terms of spreading infection after respiratory tract [8-13]. The urinary tract infection comes usually from attacking microorganisms urinary system that are mostly negative gram bacteria, from digestive system, as most of the infections at urinary system caused by bacteria intestinal Enterobacteriaceae including *Bacillus* colon *Escherichia coli*, which occupies a leading position among the races of this family [12]. As well as other pathogens include *Staphylococcus aureus* and *Streptococci* and sometimes as types fungus Candida fungal [14].

Most bacterial infections are treated with antibiotics, but at present time the natural herbal treatments (folk medicine) has spread dramatically without resorting to drugs and synthetic materials. However, due to the appearance of new strains of the bacteria and the weakness of chemotherapeutics and antibiotic resistance exhibited by pathogens has led to the screening of several medicinal plants for their potential antimicrobial activity [15-17]. An increasing number of reports dealing with the assessment of antimicrobial effects of different extracts of various medicinal plants are frequently available [18-23].

Therefore, we have decided to study the medicinal plant *Retama,* since the literature contains little information in its use as antimicrobial activity. Moreover we have chosen to study the stalks and flowers of this medicinal plant because of the availability of year-round and represents the most of the plant size. Retama is a desert plant; it reaches a high of more than 2 meters. It has small leaves, rapid falling (precipitation), to reduce the transpiration process; flowers butterfly shaped white color and cup pink color purple, oval-shaped fruits contain one seed [24]. This plant used in the treatment of allergies, stopping the bleeding and to treat the wounds [1,18].

The aim of this study was to evaluate the activity of aqueous and alcoholic, diethyl ether and ethyl acetate extracts; its synergic effect with some of standard antimicrobs against several Gram-positive and Gram-negative bacterial strains in vitro.

EXPERIMENTAL

Materials and methods

Fresh plant/plant parts: *Retama* plant was collected randomly from the El-Meniaa desert W. Ghardaia, south of Algeria in April 2015. The medicinal plant was deposited at Laboratory of Dynamic Interaction and Reactivity des Systems, Department of Process engineering, Faculty of Applied Sciences, University of Kasdi Merbah-Ouargla. Fresh stalks *plant* material was washed under running tap water, air dried under dark and then homogenized to fine powder using an electrical mixer "Panasonic Type" for 20 minutes, and stored in closed container away from light and moisture.

Preliminary Phytochemical Analysis

We recently reported that the preliminary phytochemical analysis of the crude powder of *Retama* plant collected showed that the stalks of *Retama* plant contains many active ingredients : *Coumarins, tannins, volatile oils, Terpenes and alkaloids*, one of the antioxidants of the bacteria responsible for the effect of microbes, also contains *flavonoids* including *glycosides* antioxidant, *phenols* and *saponins.* As for the nature of the extracts were characterized by strength viscous dark green color and aromatic smell, due to the emergence of green chlorophyll pigment and material xanthine. The aromatic smell of *Retama* plant can be attributed to the volatile oils also contains vegetarian jelly and glues [1].

Extraction of plant material

Each extract was prepared by soaking 200 g of the plant powder in a mixture of MeOH/H_2O (70/30) evaporated under reduced pressure. The second extract was prepared by soaking 200 g in diethyl ether, and the third extract was prepared by soaking 200g in ethyl acetate. Each of the resulting extracts was diluted with

distilled water and left overnight. The ethanolic filtrates were subjected to extraction by various solvents with increasing polarity. All organic phases were separated and evaporated. The resulting residue was stored at 4°C.

Microorganisms

All bacterial standard strains: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* and *Salmonella* were obtained from Colonel Chaabani Hospital, El-Meniaa, W. Ghardaia. ALGERIA.

Preparation of the bacterial culture media

3.7g of Mueller Hilton agar were mixed with hot distilled water and autoclaved at 121°C and 2 atm for 15 minutes. After autoclaving, it was allowed to cool to 45°C in a water bath. Then the medium was poured into sterilized Petri dishes with a uniform depth of approximately 5 mm [25].

Preparation of plant extract impregnated discs

Whatman N°1 filter paper was used to prepare discs of 6 mm in diameter. They were sterilized by autoclaving and then dried during the autoclaving cycle. The discs were then impregnated with extract of the plants [26].

Disc diffusion method

Disc diffusion method for antimicrobial susceptibility test was carried out according to the standard method by Kirby-Bauer to assess the presence of antibacterial activities of plant extracts [27]. A bacterial suspension adjusted to 0.5 McFarland standard ($1.5x10^8$ CFU/ml) was used to inoculate Mueller Hinton agar plates evenly using a sterile swab. The discs impregnated with the plant extracts were placed individually on the Mueller Hinton agar surface. The discs were spaced far enough to avoid both reflection waves from the edges of the Petri discs and overlapping rings of inhibition. The plate was then incubated at 37°C for 18 hours in inverted position to look for zones of inhibition. Zones of inhibitions produced by the sensitive organisms were demarcated by a circular area of clearing around the plant extract impregnated discs. The diameter of the zone of inhibition through the center of the disc was measured to the nearest millimeter. The resulting residue of all extracts stored at 4°C were tested at concentrations 10^{-1} g/ml and were prepared in DMSO.

Standard ant microbes

All standard antimicrobs: Cefazolin (CZ), Vancomycin (VA) and Gentamicin (CN) were obtained from Italian company "*Liofilchem.*"

RESULTS

Two standard antimicrobs: Cefazolin (CZ), and Gentamicin (CN) exhibited a positive effect against all tested bacterial strains: Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis. On the other hand Vancomycin (VA) was ineffective against Escherichia coli, Salmonella, and Proteus mirabilis. Moreover the solvent DMSO showed no effect against all tested bacterial strains. Table 1. and Table-2 summarized the microbial growth inhibition of these standard antibiotics.

Table 1: Conc. of some standard antibiotics with their antibacterial activity

Antibiotic	Conc.	Antibacterial activity
Cefazolin	30 mcg	Gram positive and negative bacteria
Vancomycin	30 mcg	Gram positive bacteria
Gentamicin	10 mcg	Gram positive and negative bacteria

Cefazolin: CZ; Vancomycin: VA; Gentamicin: CN

ISSN: 0975-8585

Table 2: Antibacterial activity of some and DMSO

Bacteria / Antibiotic	E.coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Proteus mirabilis
Cefazolin	17	26	23	24
Vancomycin	-	-	15	-
Gentamicin	24	24	19	12
DMSO	-	-	-	-

Results for antibacterial activity as obtained with *Retama plant* revealed that the three different extracts tested (Methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts) in vitro by agar disc diffusion against 4 bacterial species: Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis. Table 3 : summarizes the microbial growth inhibition of tested extracts of this plant that showed significant bacterial activity against all the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*) except *Proteus mirabilis* where the maximum activity was recorded against *Salmonella* and a maximum inhibition diameter of 16 mm with the methanolic extract at concentration 10^{-1} g/ml. On the other hand the three extracts were ineffective against *Proteus mirabilis*.

Table 3: Antibacterial activity of methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts of screened plant Retama.

Bacteria / Extract	E.coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Proteus mirabilis
Methanol	11	16	12	-
Diethyl ether	09	16	12	-
Ethyl acetate	-	11	11	-

The resulting residue of all extracts stored at 4°C were tested at concentrations of 100 mg/ml were prepared in DMSO.

As far as the synergic effect is concerned the combination of Ethanolic extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were most active and showed high synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus. Moreover, the maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CN against Proteus mirabilis, whereas E1 & VA showed no synergic effect against Escherichia coli, and Salmonella. The combinations of diethyl ether extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were also most active and showed significant synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E2 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus, whereas E2 & VA showed no synergic effect Salmonella. Similar results were recorded with E2 & CZ; E2 & VA. Table-4 Summarizes the microbial growth inhibition of *Retama* & standard antimicrobics.

Table 4: Microbial growth inhibition of *Retama* & standard antimicrobics.

Bacteria / Extract & antibiotic	E.coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Proteus mirabilis
E1 & (CZ 30 mcg)	18	25	27	17
E1 & (VA 30 mcg)	-	-	20	09
E1 & (CN 10 mcg)	10	24	22	26
----------	----------	----------	----------	----------
E2 & (CZ 30 mcg)	16	25	26	17
E2 & (VA 30 mcg)	08	-	20	08
E2 & (CN 10 mcg)	09	24	19	17
----------	----------	----------	----------	----------
E3 & (CZ 30 mcg)	18	25	28	19
E3 & (VA 30 mcg)	08	-	19	07
E3 & (CN 10 mcg)	08	22	24	24

E1: methanolic extract, **E2:** Diethyl ether extract, **E3:** Ethyl acetate extract

ISSN: 0975-8585

The diameters of inhibition zone (mm) of *Retama* extracts and tested antibiotics on the bacterial species: Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis are summarized in Fig.1, Fig. 2, Fig. 3, and Fig. 4.

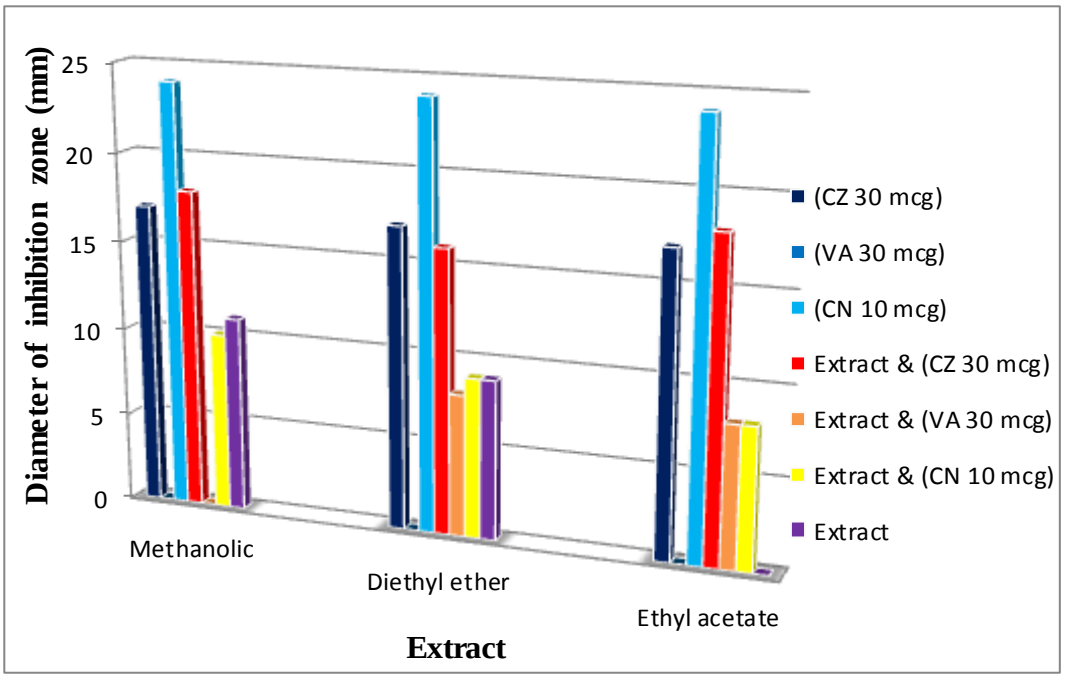


Figure 1: The diameters of inhibition zone (mm) of *Retama* extract and tested antibiotics on E.coli.

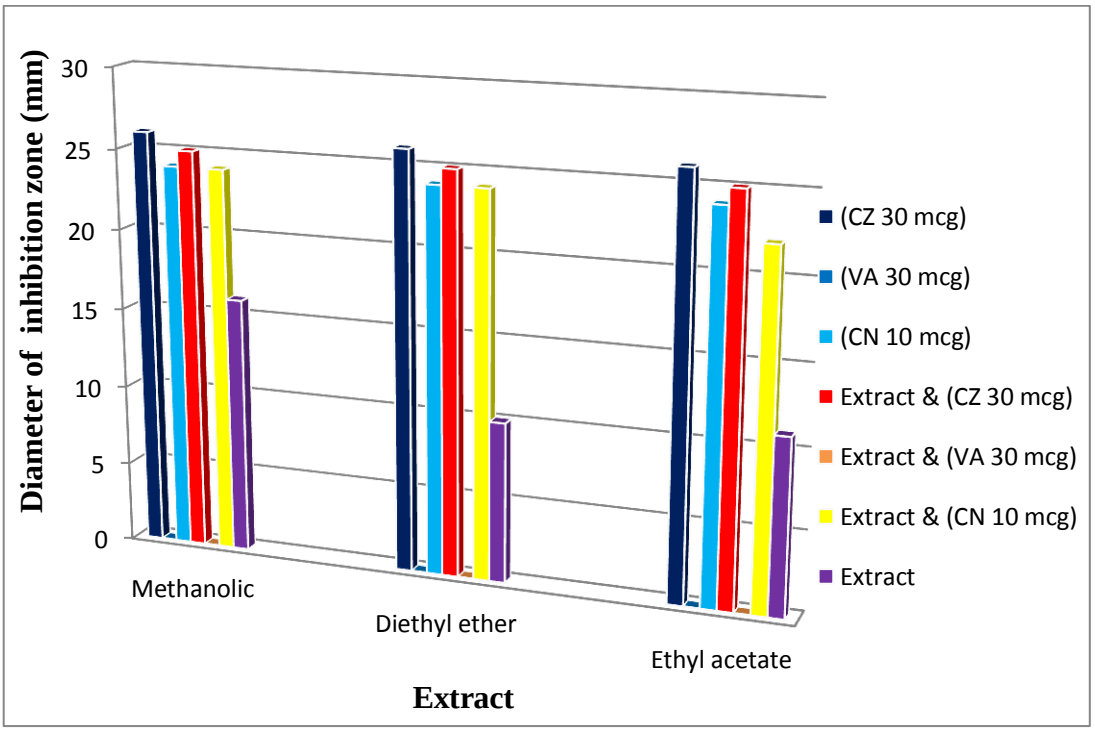


Figure 2: The diameters of inhibition zone (mm) of *Retama* extract and tested antibiotics on *Salmonella.*

ISSN: 0975-8585

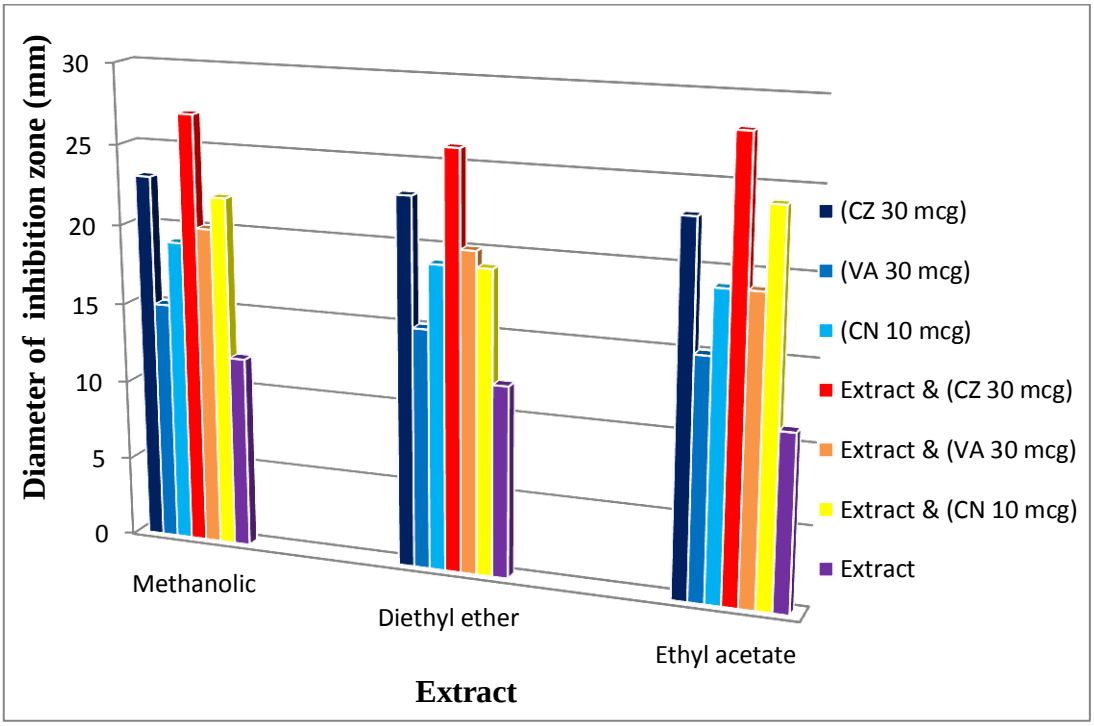


Figure 3: The diameters of inhibition zone (mm) of *Retama* extract and tested antibiotics on *Staphylococcus aureus*.

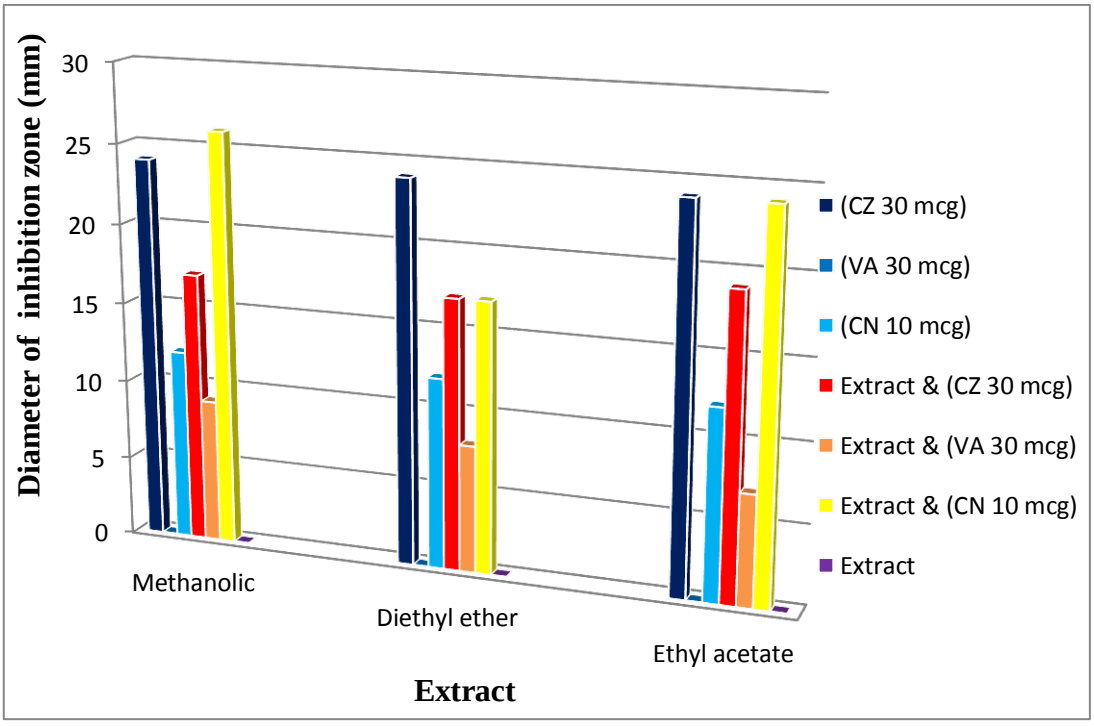


Figure 4: The diameters of inhibition zone (mm) of *Retama* extract and tested antibiotics on *Proteus mirabilis*.

DISCUSSION

As far as the synergic effect is concerned the combination of methanol extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were most active and showed high synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus. Moreover, the maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CN against Proteus mirabilis, whereas E1 & VA showed no synergic effect against Escherichia coli, and Salmonella. The high polarity of MeOH/H_2O extracts, increase the ability of extracting the largest quantities of the active substances such as phenols flavonoids [19, 28]. Therefore this high activity of these plants can be attributed to the presence of phenolic compounds and flavonoids that have inhibitory effect on the positive and negative gram bacteria.

The combinations of diethyl ether extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were also most active and showed significant synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E2 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus, whereas E2 & VA showed no synergic effect Salmonella. Similar results were recorded with E2 & CZ; E2 & VA. These significant effects may be due to the extract effect on the permeability of the cell membrane and the function of the bacterial cell [29].

CONCLUSION

This study underscored the antimicrobial activity of one Chenopodiaceae species namely: *Retama* using three different solvents: Diethyl ether, Ethyl acetate, and Methanol with increasing polarity against four bacteria strains. This medicinal plant averred to be effective against three types of gram negative bacteria: *Escherichia coli, Salmonella, and Proteus mirabilis* and one type of gram positive *Staphylococcus aureus*. The results partially justify the claimed uses of the selected plant in the traditional system of medicine to treat various infectious diseases caused by the microbes. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in the selected plant responsible for the antimicrobial activity.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research (MHESR). The authors are thankful to the staff of microbiological laboratory, Colonel Chaabani Hospital, EL-Meniaa, W. Ghardaia. ALGERIA, Mr. Abdelhamid Abdelhakim, Lakhdar Bensaci, University Kasdi Merbah- Ouargla, Mebrouk Slimani, University of El-Djelfa, Algeria. For their assistance and providing the necessary facilities to carry out this work.

ISSN: 0975-8585

REFERENCES

[1] Bensaci H, Sekhri L, Atmani A, Ahmed Tabchouche A. Oriental J Chem 2016; 32 (1): 1-7.
[2] Bassam A, Ghaleb A, Dauod S, Kamel A, Moad A. J Islamic University of Gaza (Natural Sciences Series). 2005; 13(2):147-155.
[3] Sekhri L, Kadri ML, Chaoula S, Snigra M. Biomed Pharmacol J 2008; 1 (2): 257-264.
[4] Babarbi E, Haffas M, Guerri M, Sekhri L. Biomed Pharmacol J 2010; 3 (2), 277-282.
[5] Thirupathaiah Y T, Venkateshwar RG. Biomed Pharmacol J 2008; 1 (2): 331-339.
[6] Singh K, Gautam J, Jain AK, Mishra PK. Oriental J Chem 2007; 23 (2) : 641-650.
[7] Suresh KS, Rajesh R, Siddiqui, AA. Oriental J Chem 2006; 22 (3) : 641-648.
[8] Chakra BP. Urinary tract infection: Text book of microbiology St. Ed–new central book agency, Calcutta, India, P. (1996); 577-581.
[9] Funfstuck R, Smith JW, Tschape H, Stein G. Clin Neph 1997; 47(1):13-18.
[10] Lettgen B. klin Pediatr 1993; 205 (5): 325- 331.
[11] Strffon RA. Med Clin North Am 1974; 58(3): 545 – 553.
[12] Egorove NS. Antimicrob chemoth 1985.
[13] Rushton HG. Pediatr Urol 1997; 44 (5): 1133- 1169.
[14] Rushton HG. Pediatr Urol 1997; 44 (5): 1133- 1169.
[15] El-Hilaly J, Hmammouchi M, Lyoussi B. J Ethnopharmacol 2003; 86 (1): 149–158.
[16] NCCLS Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, 2004.
[17] NCCLS Antifungal susceptibility testing; committee report. NCCLS document M20-CR. NCCLS, Villanova, 1985.
[18] Ishrak K, Ahmed D. J Ethnopharmacol 2000; 71 (1): 365-376.
[19] Benkeblia N. Lebensm-Wiss u-Technol 2004; 37: 263-271.
[20] Babamer Zohra Y, Sekhri L, Al-Jaber, HI, Al-Qudah MA, Abu Zarga MH. Journal of Asian Natural Products Research 2012; 1-7.
[21] Ashakkumar R, Ramaswamy MJ. Chem Bio Physci Sec 2013; 3(2): 1279-1286.
[22] Bindu J, Anjali K, Vibhor Kj. Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical research 2011; 2(1): 437-442.
[23] Atmani A, Sekhri L. Biomed Pharmacol J 2016; 9 (1): 1-8.
[24] Mukundam B, Shagufa A, Swarnamoni DA. Asian J Pharm Bio Res 2012; 2(3): 183-188.
[25] Harbone JB. Phytochemical methods. Chapman and Hall. London, 1973, 1-8.
[26] Swarnamoni D, Mukundam B, Shagufa A. Asian Pharm Clin Res 2013; 6 (4): 136-139.
[27] Harbone JB. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of p lant analysis. 2nd ed., Chapman and Hall. London, 1984, PP: 288-305.
[28] Allaoui A, Cherity A, Al-Gharabli S, Gherraf N, Chebouat E, Dadamoussa B, Al-Lahhm A. Res J Pharm Biol Chem Sci 2014;(5): 85-89.
[29] Al-Abed, KF. Antibacterial activity in the volatile oils of some medicinal plants in Saudi Arabia. Microbiology, aureus, Bacillus, Escherichia coli, outside the body of the organism. Magister Thesis, Faculty of Education, University of Riyadh, 2008.

ISSN: 0975-833X

Available online at http://www.journalcra.com

International Journal of Current Research
Vol. 8, Issue, 10, pp.39672-39680, October, 2016

INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT RESEARCH

RESEARCH ARTICLE

A COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *ARISTIDA PUNGENS DESF LEAVES*; ITS SYNERGIC EFFECT WITH SOME OF STANDARD ANTIMICROBS

[1]Hamza Bensaci, [1,*]Lakhdar Sekhri, [1]Mohamed Khaled Bachki, [2]Halima Benkina and [1]Abdelali Atmani

[1]Dynamics Laboratory Interactions and Reactivity of Systems, Process Engineering Department, Faculty of Applied Sciences, University Kasdi Merbah, Ouargla 30000, Algeria
[2]Colonel Chaabani Hospital, El-Meniaa W. Ghardaia, Algeria

ARTICLE INFO

Article History:
Received 20th July, 2016
Received in revised form
15th August, 2016
Accepted 08th September, 2016
Published online 30th October, 2016

Key words:

Aristida Pungens Desf,
Phytochemical Analysis, Anemia,
Salmonella, Antibacterial Activity,
Synergic Effect.

ABSTRACT

The present work is aimed mainly to investigate and compare the antibacterial activities of methanol, diethyl ether and ethyl acetate extracts of *Aristida pungens Desf. leaves*, and their synergic effect with some standard antibiotics on *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus* using well diffusion method. Results for antibacterial activity as obtained with *Aristida pungens Desf* plant revealed that the three different extracts tested showed weak bacterial activity against all the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*). The addition of all extracts to each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN on the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*) showed either indifference or antagonism effects except the synergic effect of methanol extract on *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* with VA decreased respectively the area diffusion of bacteria from 100% to 99%. The results partially do not justify the claimed uses of the selected plant in the traditional system of medicine to treat various infectious diseases caused by the microbes. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in order to justify the claimed uses such as the treatment of anemia in the natural herbal treatments (folk medicine).

Copyright © 2016, Hamza Bensaci et al. *This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.*

Citation: Hamza Bensaci, Lakhdar Sekhri, Mohamed Khaled Bachki, Halima Benkina and Abdelali Atmani, 2016. "A Comparative study of the antibacterial Activity of *Aristida pungens Desf leaves*; Its synergic effect with some of standard antimicrobs", *International Journal of Current Research*, 8, (10), 39672-39680.

INTRODUCTION

The use of medicinal plants increased significantly in the pharmaceutical fields and many researchers have focused their research on the study of those plants which are spread around the world. Medicinal plants are used for several therapeutic purposes, including diarrhea, fever, colds and other diseases (Gislene *et al*., 2000; El-Hilaly *et al*., 2003). Most bacterial infections are treated with antibiotics, but at present time the natural herbal treatments (folk medicine) has spread dramatically without resorting to drugs and synthetic materials. However, due to the appearance of new strains of the bacteria and the weakness of chemotherapeutics and antibiotic resistance exhibited by pathogens has led to the screening of several medicinal plants for their potential antimicrobial activity (NCCLS, 2004; NCCLS, 1985; Ishrak *et al*., 2000).

****Corresponding author: Lakhdar Sekhri,***
Dynamics Laboratory Interactions and Reactivity of Systems, Process Engineering Department, Faculty of Applied Sciences, University Kasdi Merbah, Ouargla 30000, Algeria.

In recent years there has been a flood of papers describing the synthesis of new antibacterial compounds and isolation of some natural products and study of their biological antimicrobial activities (Bensaci *et al*., 2016; Bassam *et al*., 2005; Sekhri *et al*., 2008; Babarbi *et al*., 2010; Thirupathaiah *et al*., 2008; Singh *et al*., 2007; Suresh Kumar *et al*., 2006). An increasing number of reports dealing with the assessment of antimicrobial effects of different extracts of various medicinal plants are frequently available (Chakra borty, 1996; Benkeblia, 2004; Babamer Zohra *et al*., 2012; Ashakkumar and Ramaswamy, 2013; Bindu *et al*., 2011; Quezel and Santa 1962). The urinary tract infection is the most common bacterial diseases in children, as it ranks second in terms of spreading infection after respiratory tract (Funfstuck *et al*., 1997; Lettgen, 1993; Strffon, 1974; Egorove, 1985; Rushton, 1997; Egorove, 1985). The urinary tract infection comes usually from attacking microorganisms urinary system that are mostly negative gram bacteria, from digestive system, as most of the infections at urinary system caused by bacteria intestinal Enterobacteriaceae including *Bacillus* colon *Escherichia coli*, which occupies a leading position among the races of this family (Rushton,

1997). As well as other pathogens include *Staphylococcus aureus* and *Streptococci* and sometimes as types fungus Candida fungal (Rushton, 1997). Therefore, we have chosen to study the leaves of medicinal plant, *Aristida pungens Desf*, a desert plant, because of the availability of year-round and represent the most of the plant size. This plant used in the treatment of anemia and some infectious diseases caused by the microbes in south of Algeria; its seeds used for manufacture of a type of bread, and the leaves are used as feed for livestock. The aim of this study was to evaluate the activity of aqueous and alcoholic, diethyl ether and ethyl acetate extracts; its synergic effect with some of standard antimicrobs against several Gram-positive and Gram-negative bacterial strains in vitro.

Experimental

MATERIALS AND METHODS

Fresh plant/plant parts: ***Aristida pungens Desf. l*** plant was collected randomly from the El-Meniaa desert W. Ghardaia, south of Algeria in April 2016. The medicinal plant was deposited at Laboratoire de Dynamique Interaction et Réactivité des Systèmes, Department of Process engeneering, Faculty of Applied Sciences, University of Kasdi Merbah-Ouargla. Fresh stalks *plant* material was washed under running tap water, air dried under dark and then homogenized to fine powder using an electrical mixer "Panasonic Type" for 20 minutes, and stored in closed container away from light and moisture.

Preliminary Phytochemical Analysis

The preliminary phytochemical analysis of the crude powder of ***Aristida pungens Desf. l*** plant collected showed that this plant contains many active ingredients : *Coumarins, tannins,*and *terpenes*, one of the antioxidants of the bacteria responsible for the effect of microbs, also contains *flavonoids* including *glycosides* antioxidant, *phenols* and *saponins.* As for the nature of the extracts were characterized by clear viscous dark green color, due to the emergence of green chlorophyll pigment and material xanthine, also contains vegetarian jelly and glues (Singh *et al*., 2007).

Extraction of plant material

Each extract was prepared by soaking 200 g of the plant powder in a mixture of MeOH/H_2O (70/30) evaporated under reduced pressure. The second extract was prepared by soaking 200 g in diethyl ether, and the third extract was prepared by soaking 200g in ethyl acetate. Each of the resulting extracts was diluted with distilled water and left overnight. The methanol filtrates were subjected to extraction by various solvents with increasing polarity. All organic phases were separated and evaporated. The resulting residue was stored at 4°C.

Microorganisms

All bacterial standard strains: *Escherichia coli sp6504752*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* and *Salmonella* were obtained from Colonel Chaabani Hospital, El-Meniaa, W. Ghardaia. ALGERIA.

Preparation of the bacterial culture media

3.7 of Muller Hilton agar were mixed with hot distilled water and autoclaved at 121°C and 2 atm for 15 minutes. After autoclaving, it was allowed to cool to 45°C in a water bath. Then the medium was poured into sterilized Petri dishes with a uniform depth of approximately 5 mm (Harbone, 1973).

Preparation of plant extract impregnated discs

Whatman N°1 filter paper was used to prepare discs of 5 mm in diameter. They were sterilized by autoclaving and then dried during the autoclaving cycle. The discs were then impregnated with extract of the plants (Swarnamoni, 2013).

Disc diffusion method

Disc diffusion method for antimicrobial susceptibility test was carried out according to the standard method by Kirby-Bauer to assess the presence of antibacterial activities of plant extracts (Harbone, 1984). A bacterial suspension adjusted to 0.5 McFarland standard ($1.5x10^8$ CFU/ml) was used to inoculate Mueller Hinton agar plates evenly using a sterile swab. The discs impregnated with the plant extracts were placed individually on the Mueller Hinton agar surface. The discs were spaced far enough to avoid both reflection waves from the edges of the Petri discs and overlapping rings of inhibition. The plate was then incubated at 37°C for 18 hours in inverted position to look for zones of inhibition. Zones of inhibitions produced by the sensitive organisms were demarcated by a circular area of clearing around the plant extract impregnated discs. The diameter of the zone of inhibition through the center of the disc was measured to the nearest millimeter. The resulting residue of all extracts stored at 4°C was tested at concentrations 10^{-1} g/ml and were prepared in DMSO.

Standard antimicrobs

All standard antimicrobs: Cefazolin (CZ), Vancomycin (VA) and Gentamicin (CN) were obtained from Italian company "*Liofilchem."*

RESULTS AND DISCUSSION

Two standard antimicrobs: Cefazolin (CZ), and Gentamicin (CN) exhibited a positive effect against all tested bacterial strains: Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis. On the other hand Vancomycin (VA) was ineffective against Escherichia coli, Salmonella, and Proteus mirabilis. Moreover the solvent DMSO showed no effect against all tested bacterial strains. Table 1 and Table-2 summarized the microbial growth inhibition of these standard antibiotics.

Results for antibacterial activity as obtained with *Aristida pungens Desf.* revealed that the three different extracts tested (Methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts) in vitro by agar disc diffusion were ineffective against 4 bacterial species: Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis. The maximum antibacterial activity was recorded with methanol extract against Escherichia coli with an inhibition diameter of 06 mm at concentration 100 mg/ml g/ml. Table 3: summarizes the microbial growth inhibition of tested extracts of this plant.

Table 1. Conc. of some standard antibiotics with their antibacterial activity

Antibiotic	Conc.	Antibacterial activity
Cefazolin	30 mcg	Gram positive and negative bacteria
Vancomycin	30 mcg	Gram positive bacteria
Gentamicin	10 mcg	Gram positive and negative bacteria

Cefazolin: CZ; Vancomycin: VA; Gentamicin: CN

Table 2. Antibacterial activity of some standard antibiotics and DMSO

Bacteria / Antibiotic	*E. coli*	*Salmonella*	*Staphylococcus aureus*	*Proteus mirabilis*
Cefazolin	16	26	26	25
Vancomycin	-	-	22	-
Gentamicin	24	24	27	23
DMSO	-	-	-	-

Table 3. Antibacterial activity of methanolic, diethyl ether and ethyl acetate extracts of screened *Aristida pungens Desf.* Plant

Bacteria / Extract	*E. coli*	*Salmonella*	*Staphylococcus aureus*	*Proteus mirabilis*
Methanol	06	-	-	-
Diethyl ether	-	-	-	-
Ethyl acetate	-	-	-	-

Table 4. Summarizes the microbial growth inhibition of *Aristida pungens Desf.* & standard antimicrobics

Bacteria / Extract and antimicrob	*E. coli*	*Salmonella*	*Staphylococcus aureus*	*Proteus mirabilis*
E1 & (CZ 30 mcg)	17	23	23	21
E1 & (CN 30 mcg)	08	-	20	08
E1 & (CN 10 mcg)	24	18	25	22
E1 & (CZ 30 mcg)	16	25	25	22
E1 & (VA 30 mcg)	-	-	21	-
E1 & (CN 10 mcg)	24	19	26	20
E1 & (CZ 30 mcg)	16	24	22	21
E1 & (VA30 mcg)	-	-	20	-
E1 & (CZ 10 mcg)	22	20	26	19

E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

Table 5. The effect of combination between *Aristida pungens Desf.* Extract & standard antimicrobics on E. coli.

Synergism effect	Indifference effect	Antagonism effect
E1 with CZ CN effect increase 0.52%	E1 with CN CN effect still 0%	E3 with CN CN effect reduce 1.44%
E1 with VA VA effect increase 1%	E2 with CZ CZ effect still 0%	
	E2 with VA VA effect still 0%	
	E2 with CN CN effect still 0%	
	E3 with CZ CZ effect still 0%	
	E3 with VA VA effect still 0%	

E1: Methanol extract, **E2:** Diethyl ether extract, **E3:** Ethyl acetate extract

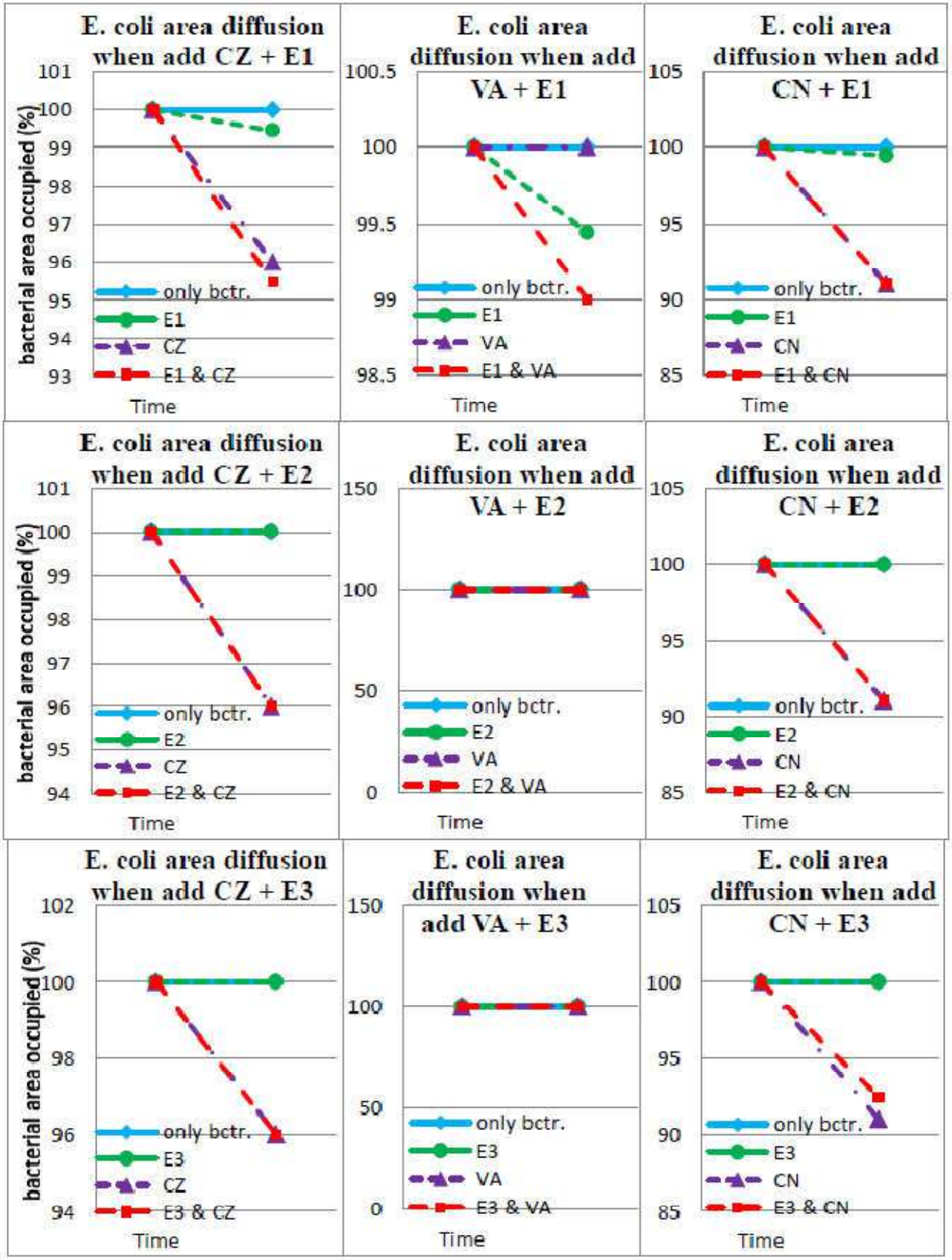
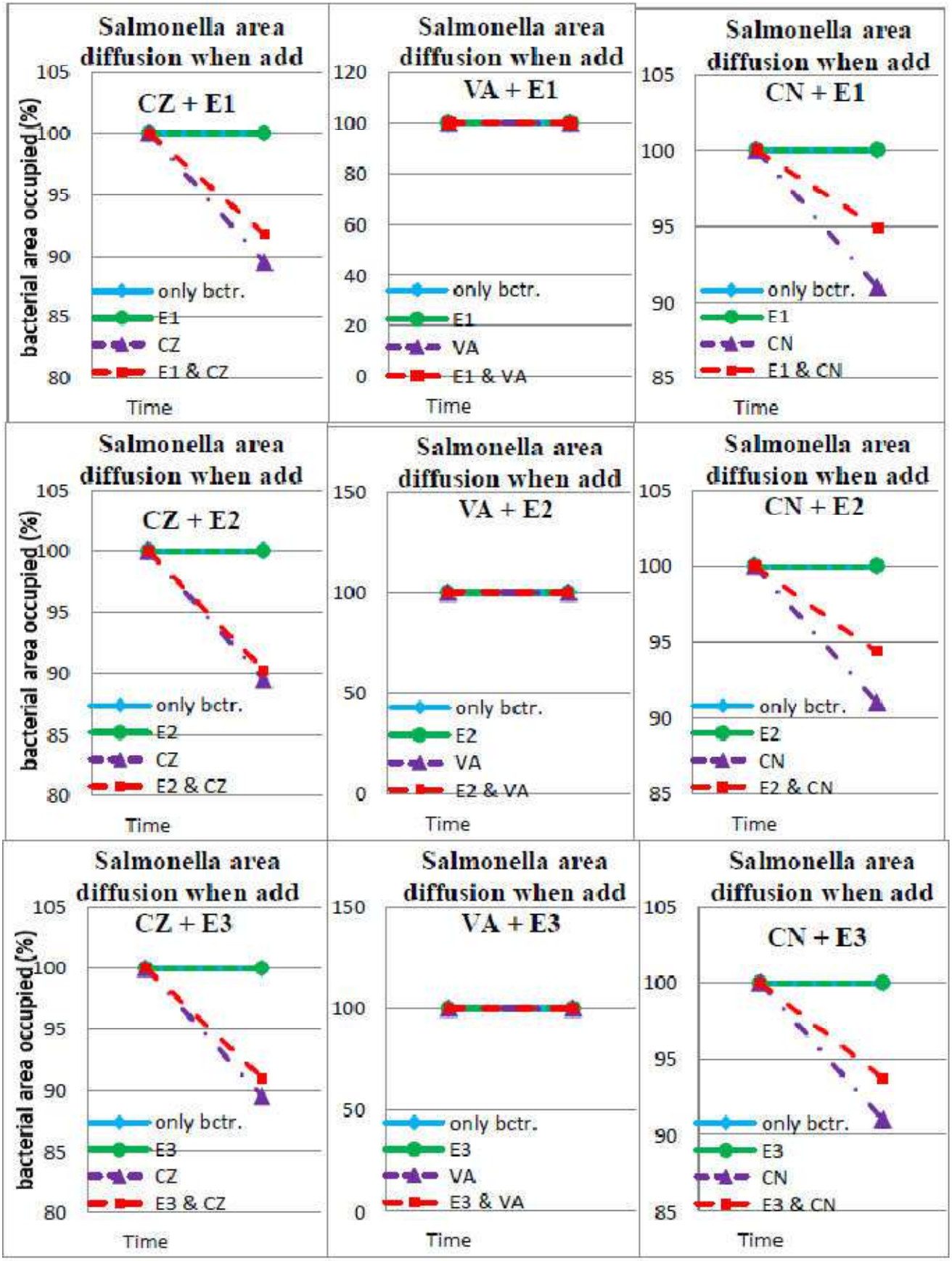
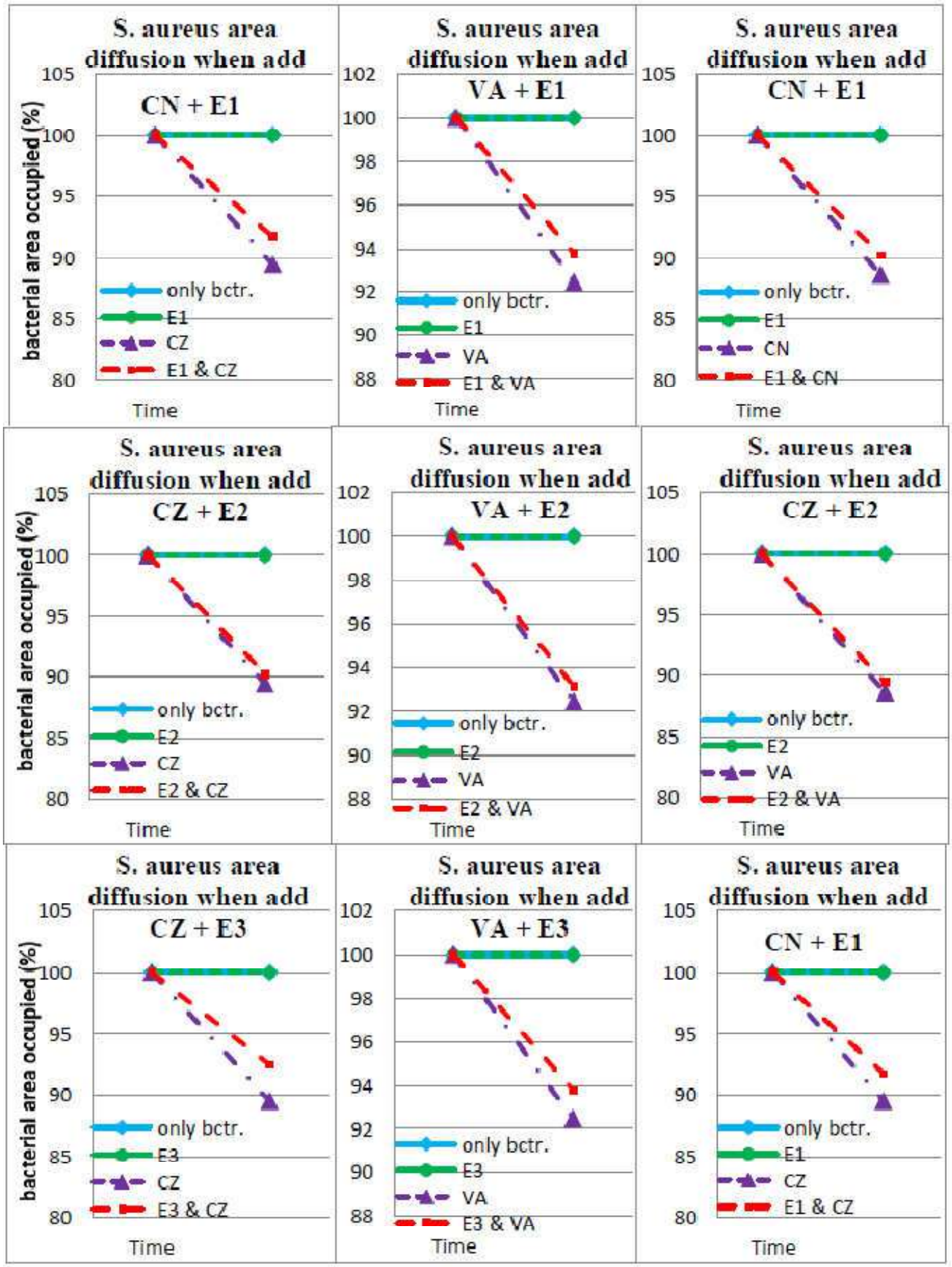


Fig.1. The bacterial area occupied (%) of *Aristida pungens Desf* extracts and tested antibiotics on *Escherichia coli.*



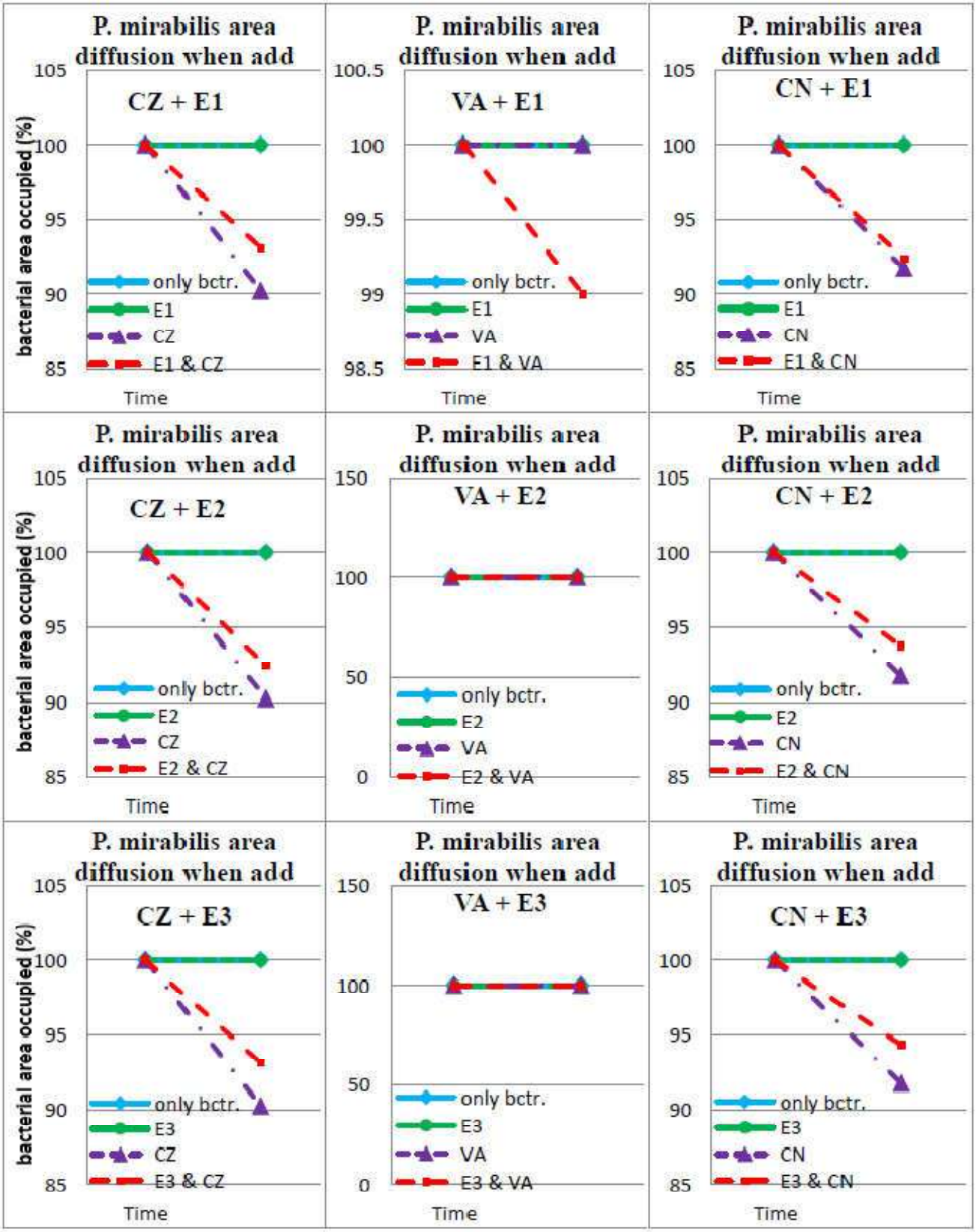
E1: Methanol extract, **E2:** Diethyl ether extract, **E3:** Ethyl acetate extract

Fig.2. The bacterial area occupied (%) of *Aristida pungens Desf.* extracts and tested antibiotics on *Salmonella*



E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

Fig.3. The bacterial area occupied (%) of *Aristida pungens Desf.* extracts and tested antibiotics on *Staphylococcus aureus*



E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

Fig.4. The bacterial area occupied (%) of *Aristida pungens Desf.* extracts and tested antibiotics on *Proteus mirabilis*

Table 6. The effect of combination between *Aristida pungens Desf.* Extract & standard antimicrobics on Salmonella

Synergism effect	Indifference effect	Antagonism effect
	E1 with VA VA effect still 0%	E1 with CZ CZ effect reduce 2.29%
	E2 with VA VA effect still 0%	E1 with CN CN effect reduce 3.94%
	E2 with VA VA effect still 0%	E2 with CZ CZ effect reduce 0.79%
		E2 with CN CN effect reduce 3.36%
		E2 with CZ CZ effect reduce 1.56%
		E3 with CN CN effect reduce 2.75%

E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

Table 7. The effect of combination between *Aristida pungens Desf.* Extract & standard antimicrobics on S. aureus

Synergism effect	Indifference effect	Antagonism effect
		E1 with CZ CZ effect reduce 2.29%
		E1 with VA CN effect reduce 1.31%
		E1 with CN CZ effect reduce 1.62%
		E2 with CZ CZ effect reduce 0.79%
		E2 with VA VA effect reduce 0.67%
		E2 with CN CN effect reduce 0.83%
		E3 with CZ CZ effect reduce 3%
		E3 with VA VA effect reduce 1.31%
		E3 with CN CN effect reduce 0.83%

E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

Table 8. The effect of combination between *Aristida pungens Desf.* Extract & standard antimicrobics on P. mirabilis

Synergism effect	Indifference effect	Antagonism effect
E1 with VA VA effect increase 1%	E2 with VA VA effect still 0%	E1 with CZ CZ effect reduce 2.88%
	E3 with VA VA effect still 0%	E1 with CN CN effect reduce 0.71%
		E2 with CZ CZ effect reduce 2.21%
		E2 with CN CN effect reduce 2.02%
		E3 with CZ CZ effect reduce 2.88%
		E3 with CN CN effect reduce 2.63%

E1: Methanol extract, E2: Diethyl ether extract, E3: Ethyl acetate extract

The resulting residue of all extracts stored at 4°C were tested at concentrations of 100 mg/ml were prepared in DMSO .As far as the synergic effect is concerned the combination of methanol extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were most active and showed high synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus. Moreover, the maximum antibacterial activity was recorded with E1 & CN against Proteus mirabilis, whereas E1 & VA showed no synergic effect against Escherichia coli, and Salmonella. The combinations of diethyl ether extract with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN were also most active and showed no synergic effect. The maximum antibacterial activity was recorded with E2 & CZ against Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus, whereas E2 & VA showed no synergic effect Salmonella. Similar results were recorded with E2 & CZ; E2 & VA. Table-4 Summarizes the microbial growth inhibition of *Aristida* & standard antimicrobics. From the Table-4, and for figuring the effect of combination between standard antimicrobics and *Aristida pungens Desf.* extracts, we drew Fig.1, Fig. 2, Fig. 3, and Fig. 4. The bacterial area occupied (%) of *Aristida pungens Desf.* extracts and tested antibiotics on the bacterial species: Escherichia coli, salmonella, Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis are summarized in Fig.1, Fig. 2, Fig. 3, and Fig. 4. As far as the synergic effect is concerned the combination of all extracts with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN against Escherichia coli, showed indifference effects except:

- the synergic effect of methanol extract with CZ which decreased the area diffusion of bacteria from 96% to
- the synergic effect of methanol extract with VA which decreased the area diffusion of bacteria from 100% to 99%, (increase VA effect to 1%) as shown in Fig.1.

The addition of all extracts with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN on *Salmonella* gave either indifference or antagonism effects as shown in Fig. 2. The addition of all extracts with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN on *S. Aureus* were most active and showed either indifference or antagonism effects as shown in Fig. 3. The addition of all extracts with each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN on *Proteus mirabilis* showed either indifference or antagonism effects except the synergic effect of methanol extract with VA which decreased the aria diffusion of bacteria from 100 to 99% as shown in Fig. 4. Generally, the three different extracts of this plant are ineffective towards the tested bacteria and methanol/H_2O extracts are more potent compared to ethyl acetate and ether extracts. This weak effect may be due to the extract effect on the permeability of the cell membrane and the function of the bacterial cell (Al-Abed, 2008).

Conclusion

This study underscored the antimicrobial activity of one chenopodiaceae species namely: *Aristida pungens Desf.* extracts using three different solvents: Diethyl ether, Ethyl acetate, and Methanol with increasing polarity against four bacteria strains. This medicinal plant averred to be ineffective against three types of gram negative bacteria: *Escherichia coli, Salmonella, and Proteus mirabilis* and one type of gram positive *Staphylococcus aureus*. The addition of all extracts to each of the standard antimicrobics, CZ, VA, and CN on the bacteria tested (*Escherichia coli, Salmonella, and Staphylococcus aureus*) showed either indifference or

antagonism effects except the synergic effect of methanol extract on *Proteus mirabilis* and Escherichia coli:

- The synergic effect of methanol extract with CZ on *E. Coli* which decreased the area diffusion of bacteria from 96% to 95.48%, (increase CZ effect to 0.52%) as shown in Fig. 1.
- The synergic effect of methanol extract with VA on *E. Coli* which decreased the area diffusion of bacteria from 100% to 99%, (increase VA effect to 1%) as shown in Fig. 1.
- The synergic effect of methanol extract with VA on *P. Mirabilis* which decreased the area diffusion of bacteria from 100% to 99%, (increase CZ effect to 1%) as shown in Fig. 4.

The results partially do not justify the claimed uses of the selected plant in the traditional system of medicine to treat various infectious diseases caused by the microbes. Further chemical and pharmacological investigations may be carried out to isolate and identify the chemical constituents in order to justify the claimed uses in the traditional system of medicine, the treatment of anemia.

Acknowledgment

This work was supported by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research (MHESR). The authors are thankful to the staff of microbiological laboratory, Oumia Ounissa Hospital, EL-Ouadi, ALGERIA; Dr. Abir Bedjouti, Mr. Mebrouk Slimani, University of El-Djelfa, Algeria; Abdelaaziz Salima for their assistance and providing the necessary facilities to carry out this work.

REFERENCES

Al-Abed, K. F. 2008. Antibacterial activity in the volatile oils of some medicinal plants in Saudi Arabia. Microbiology, aureus, Bacillus, Escherichia coli, outside the body of the organism. Magister Thesis, Faculty of Education, University of Riyadh; Faculty of Education, University of Riyadh.

Allaoui, A., Cherity, A., Al-Gharabli, S., Gherraf, N., Chebouat, E., Dadamoussa, B., A. Al-Lahhm A. 2014. *Research Journal of pharmaceutical and Biological and Chemical Sciences,* 2014, 5 (5), 85-89.

Ashakkumar, R. and Ramaswamy, M. J. 2013. *Chem Bio Physci Sec.,* 3(2), 1279.

Babamer Zohra Y., Sekhri, L., Al-Jaber, Hala I., Al-Qudah, Mahmoud A. and Abu Zarga, Musa H. 2012. *Journal of asian Natural Products Research,* 1-7.

Babarbi, E., Haffas, M., Guerri, M. and Sekhri, L. 2010. *Biomedical & Pharmacology Journal,* 2010, 3 (2), 277-282.

Bassam, A., Ghaleb, A., Dauod, S., Kamel, A. and Moad, A. 2005. Antibacter- Aial activity of Rhus Coriaria, *Journal of the Islamic University of Gaza*, (Natural Sciences series), 13(2), 147-155.

Benkeblia, N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (allium cepa) and garlic (Allium stivum). *Lebensm-Wiss u-Technol*, 37, 263-270.

Bensaci, H., Sekhri, L., Atmani, A. and Ahmed Tabchouche, A. 2016. *Oriental Journal of Chemistry,* 32 (1), 1-7.

Bindu, J., Anjali, K. and Vibhor, K.J. 2011. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research,* 2(1), 437.

Chakra borty, P., 1996. *Urinary tract infection: Text book of microbiology st. Ed–new Central Book Agency, Calcutta*, India, P; 577 -581.

Egorove , N. S., *Antibiotics scientific Approach. Mirpublis hers Moscow. Antimicrob – chemoth* (1985).

Egorove, N. S. 1985. *Antibiotics scientific Approach .Mirpublis hers Moscow. Antimicrob – chemoth*.

El-Hilaly, J., Hmammouchi, M. and Lyoussi, B. 2003. Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco), *J. Ethnopharm.* 86, 149–158.

Funfstuck, R., Smith, J. W., Tschape, H. and Stein, G. 1993. pathogentic aspects of uncomplicated urinary tract infections*, recont advances. clin. Neph,* 1997, 47(1), 13-18.

Gislene, G. F., Nascimento, Juliana, L., Freitas and Giuliana, S. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on Antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology,* 31, 247- 256.

Harbone, J. 1973. Phytochemical methods. Chapman and Hall. London.

Harbone, J. B. 1984. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of p lant analysis. 2nd ed., Chapman and Hall. London. P: 288.

Ishrak, K. and Ahmed, D. 2000. The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. *J. of Ethnopharmacology,* 71, 365-376.

Lettgen, B., Urinary tract infections in childhood old and aspects. *Klin. Pediatr;* 205 (5), 325- 33.

NCCLS, 1985. Antifungal susceptibility testing; committee report. NCCLS document M20-CR. NCCLS, Villanova.

NCCLS, 2004. Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne.

Quezel, P. and Santa, S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, édition du centre national de la recherche scientifique.

Rushton, H. G. 1997. Urinary tract infections in children, *Epidemiology, Evaluation and management . Pediatr. Uro.,* 44 (5), 1133- 1169.

Rushton, H. G. 1997. Urinary tract infections in children, *Epidemiology, Evaluation and management. Pediat. Uro.,* 44 (5), 1133- 1169.

Rushton, H. G., Urinary tract infections in children, *Epidemiology, Evaluation and management. Pediatr. Uro ,* 1997, 44 (5), 1133- 1169.

Sekhri, L., Kadri, M. L., Chaoula, S. and Snigra, M. 2008. *Biomedical & Pharmacology Journal,* 1 (2), 257-264.

Singh, K., Gautam, J., Jain, A. K. and Mishra, P. K. 2007. *Oriental Journal of Chemistry,* 23 (2), 641-650.

Strffon, R. A. 1974. Urinary tract infection problem in diagnosis and management. *Med. Clin. North Am.*, 58(3), 545 – 553.

Suresh Kumar, S., Rajesh, R. and Siddiqui, Annes A. 2006. *Oriental Journal of Chemistry,* 22 (3), 641-649.

Swarnamoni, D., Mukundam, B. and Shagufa, A. 2013. *Asian Pharm Clin Res*., 6 (4), 136-139.

Thirupathaiah, Yoshihisha Takaishi and Venkateshwar Rao, G., *Biomedical & Pharmacology Journal,* 2008, 1 (2), 331-338.

****