

## دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات البردقوش ضد بكتريا الكوليرا والسالمونيلا

سؤدد عبد الاله السامرائي\*  
 ايمن حسين عباس\*  
 هشام محمود عبد الكريم\*  
 كفاح احمد جاسم\*\*  
 شيماء سعدي عبود\*  
 سهاد دعير سليم\*

استلام البحث 18، تشرين الثاني، 2012  
 قبول النشر 8، ايلول، 2013

## الخلاصة :

تم الحصول على خمس عزلات بكتيرية مختلفة (*Vibrio cholera (ogawa)* ، *Vibrio cholera (Inaba)* ، *Salmonella typhi* ، *Salmonella paratyphi* ، *Salmonella typhimurium* من مختبر الصحة العامة المركزي ، وقد اجري فحص الحساسية لهذه العزلات بطريقتي تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) ، التركيز القاتل الادنى (MBC) وطريقة الحفر (Wells) للمستخلص المائي السائل لنبات البردقوش (*Marjoram*) . بينت النتائج ان قيمة (MIC) تساوي 100 ملغرام/ملتر لكل من ضربي بكتريا الكوليرا *Ogawa* و *Inaba* وقيمة (MBC) 200 ملغم / ملتر ، اما قطر منطقة التثبيط للضرب *Ogawa* كان 13 ملمتر و *Inaba* 9 ملمتر بتركيز 100 ملغم / ملتر . اما بالنسبة لبكتريا السالمونيلا بانواعها الثلاثة فلم تظهر اي تأثير حتى بتركيز 200 ملغم / ملتر ولم تظهر اي منطقة تثبيط للمستخلص المائي .

الكلمات المفتاحية : البردقوش ، مستخلصات ، بكتريا مرضية .

## المقدمة:

نبات البردقوش او المردقوش او ريحان داود [1] ، هو نبات عشبي كثير الاغصان ينبسط على سطح الارض وله اوراق مستديرة عليه زغب وله رائحة طيبة جداً ، يصل ارتفاعه بنحو 50 – 60 سم [2] ، ويعرف علمياً باسم *Origanum vulgare* ، ويعد من النباتات الفصيحة الشفوية ، ويستعمل جميع اجزاء النبات وخاصة الاوراق حيث ان مغلي اوراق المردقوش يساعد على مكافحة امراض الصدر مثل الحساسية الربو والسعال وضيق التنفس وازالة الصداع ونوبات الشقيقة والحصبة ، او بوصفه مضاداً للمغص والتشنجات في الامعاء ويعالج الاسهال ومدرر للبول ويفتت الحصى والزمل ويمكن استعماله لتسريع التئام الجروح وازالة الالام الروماتيزمية [3] . واكد الباحثون استعمال البردقوش كمادة حافظة للحوم المحلية بسبب قابليته التضادية للمايكروبات [4] ، وتضاف اوراقه الى الاغذية لتمنع المرارة والتلف [5] ، ان القابلية التضادية للاكسدة والتضادية المايكروبية تعود الى احتوائه على مركب حامض الروزمارينك بالاضافة الى الزيوت الطيارة [6] . ان الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن التأثير المضاد للمستخلص المائي لاوراق نبات البردقوش في بكتريا الكوليرا والسالمونيلا المسببة للتسمم الغذائي والاسهال .

## المواد وطرائق العمل:

## اولاً - جمع العينات والمواد

أ- جمع النباتات : تم الحصول على نبات البردقوش بشكل اوراق جافة من السوق المحلية ، وطحننت بشكل مسحوق بالمطحنة الكهربائية ، وحفظت في حاوية نظيفة لحين الاستعمال .  
 ب- جمع العزلات البكتيرية : تم الحصول على خمس عزلات بكتيرية ومشخصة في مختبر الصحة العامة المركزي وتشمل ضربي بكتريا الكوليرا *Vibrio cholera (ogawa)* و *Vibrio cholera (Inaba)* وثلاث انواع من جنس السالمونيلا وهي *Salmonella typhi* ، *Salmonella paratyphi* ، *Salmonella typhimurium* .

## ثانياً - تحضير المستخلص المائي السائل :

اضيف 20 غم من مسحوق الاوراق لكل 100 مللتر ماء مقطر (وزن / حجم) ووضعت بجهاز Soxhlet لمدة نصف ساعة بدرجة 100 م . اخذ الراشح واهمل الراشب ورشح الراشح بورق ترشيح واتمان رقم 1 ويطلق عليه المستخلص المائي السائل ويستعمل لغرض اجراء التجارب خارج الخلية (*Invitro*) ، تم حفظ المستخلص بطريقتين التجفيد والتجميد [7].

\* دائرة بحوث المواد / وزارة العلوم والتكنولوجيا

\*\* مختبر الصحة المركزي / وزارة الصحة

ثالثاً - فحص حساسية البكتريا للمستخلص المائي السائل خارج الجسم الحي (Invitro) :  
أ- طريقة تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى :

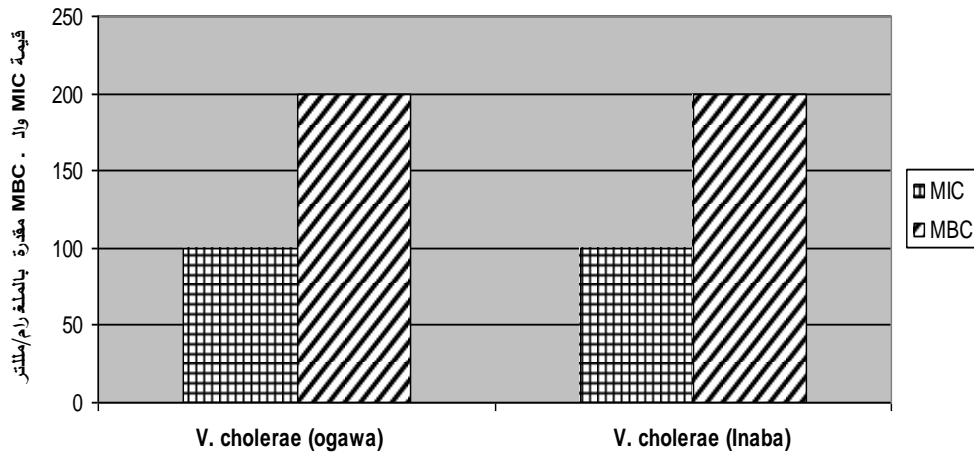
Minimum Inhibitory Concentration-)  
(MIC  
(Minimum Bacteriocidal )  
(Concentration-MBC

ب- طريقة الحفر :  
استعملت ثاقبة فلينية معقمة بقطر 6 ملمتر لعمل حفرة وتم وضع 0.1 مللتر من المستخلص المائي للنبات بتركيز 100 ملغم / مللتر ضربي بكتريا الكوليرا و 200 ملغم / مللتر للأنواع الثلاثة لجنس السالمونيلا ، وحفرة السيطرة تحوي 0.1 مللتر ماء مقطر معقم . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ثم تم قياس قطر منطقة التثبيط حول الحفرة بالملمتر [9] .

تم اجراء سلسلة من التخفيف النصفية من التركيز الاصلي للمستخلص المائي والذي يساوي 20% (200 ملغم / مللتر) باستعمال انابيب اختبار معقمة وباستعمال المرق المغذي (Nutrient broth) لبكتريا السالمونيلا و المرق المغذي TCBS لبكتريا الكوليرا ، تراوحت قيم التخفيف (6.25 ، 12.5 ، 25 ، 50 ، 100 ملغم / مللتر) على التوالي لقت جميع الانابيب بمقدار 0.1 مللتر من عالق بكتري يحوي  $10^6$  خلية / مللتر . قرئت النتائج بعد 24 ساعة بدرجة حرارة 37°م لملاحظة العكورة (Turbidity) بالعين المجردة بعد مقارنتهما بانموذج السيطرة الاولى وهي عبارة عن مرق مغذي ملقح بالبكتريا فقط والسيطرة الثانية عبارة عن مرق مغذي مع المستخلص النباتي السائل بدون بكتريا ، وتحددت قيمة MIC ، ثم نقل مقدار 0.1 مللتر من جميع الانابيب التي تكون خالية من العكورة الى وسط زرع صلب مثل

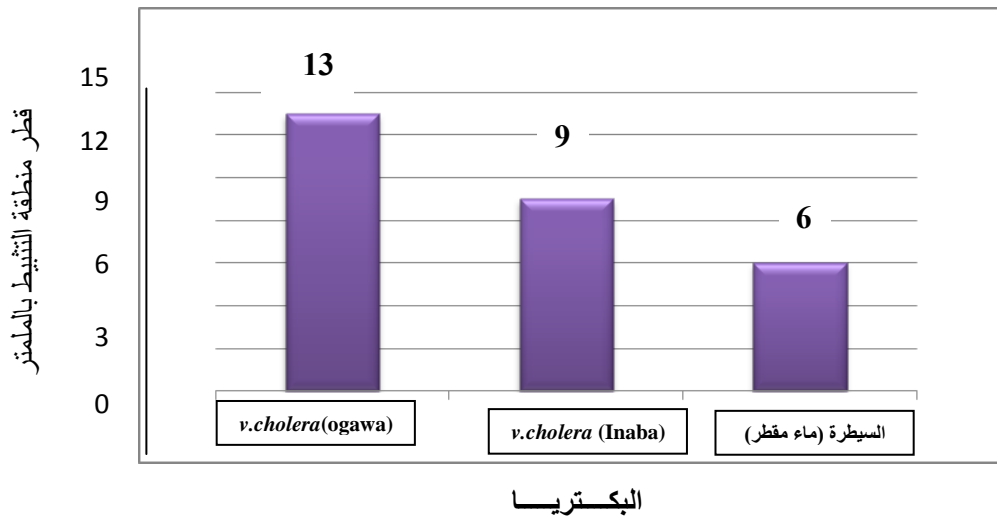
### النتائج والمناقشة :

بينت النتائج ان قيمة MIC و MBC لكلا ضربي بكتريا الكوليرا 100 ملغم / مللتر، 200 ملغم / مللتر على التوالي ، كما موضح في الشكل (1) اما الشكل (2) فيوضح قطر منطقة التثبيط بالمليمتر باستعمال تركيز ثابت من المستخلص المائي (100 ملغم / مللتر)، حيث اظهرت النتائج بان منطقة التثبيط لضربي بكتريا الكوليرا Ogawa و Inaba هما 13 و 9 ملمتر على التوالي ، وهي دلالة على



ضربي بكتريا الكوليرا

شكل (1) يمثل قيم الـ MIC و MBC مقدرتا بالمليغرام / ملليلتر للمستخلص المائي للبردقوش ضد ضربي بكتريا الكوليرا



شكل (2) يمثل قطر منطقة التثبيط بالملمتر باستعمال تركيز ثابت من المستخلص المائي (100 ملغم /ملتر) لنبات البردقوش ضد ضربي بكتريا الكوليرا

Bacillus وهذه النتيجة تؤكد ان البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل Bacillus حساسة للمستخلص اكثر من البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *E. coli* [12].

وبدراسة اخرى اجريت حول التأثير المثبط للمستخلص المائي والكحولي للبردقوش ضد انواع مختلفة من البكتريا والفطريات عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حول الحفر حيث وجد ان المستخلص المائي والكحولي يمتلك فعالية تثبيطية ضد البكتريا والفطريات المختلفة ، وقد اعطى التركيز 100 ملغم / ملتر اعلى قطر منطقة تثبيط (تساوي 10 ملمتر) للمستخلص الكحولي ضد بكتريا *E. coli* و 11 ملمتر للمستخلص المائي ضد البكتريا نفسها و 10 ملمتر للمستخلص المائي والكحولي ضد بكتريا Bacillus [4]. وهذه النتائج تتقارب مع نتائجنا .

كما درس تأثير المستخلص الزيتي لنبات البردقوش لملاحظة التأثير المضاد له ضد بكتريا *Vibrio parahaemolyticus* وكانت قيمة (MIC) تساوي 0.125 % على الوسط المغذي Nutrient agar [13].

وفي دراسة اخرى وجد ان زيت البردقوش اعطى تثبيطاً واضحاً ضد بكتريا *Salmonella typhimurium* بقيمة 20 ملمتر لقطر منطقة التثبيط [14] ، وفي دراسات اخرى اظهر زيت الزعتر والبردقوش فعالية تثبيطية وانه فعال ضد ستة انواع من البكتريا العسوية Bacillus لذلك استعمل لحفظ الغذاء من التلف المايكروبي [15].

وقد تم تحليل الزيوت الطيارة في البردقوش فوجد انها تساوي 98% من المكونات الكلية مثل زيت Thymol و Carvacrol و Carvone فضلا عن

وجود تفاوت بسيط بين الضربين في الاستجابة للحساسية التضادية للمستخلص ، في حين ان قيمة MIC و MBC للضربين متساويان ، والسبب هو اختلاف في طريقة العمل حيث ان طريقة MIC تعتمد على ملاحظة العكورة بينما طريقة الحفر تعتمد على مناطق التثبيط وبوضوح .

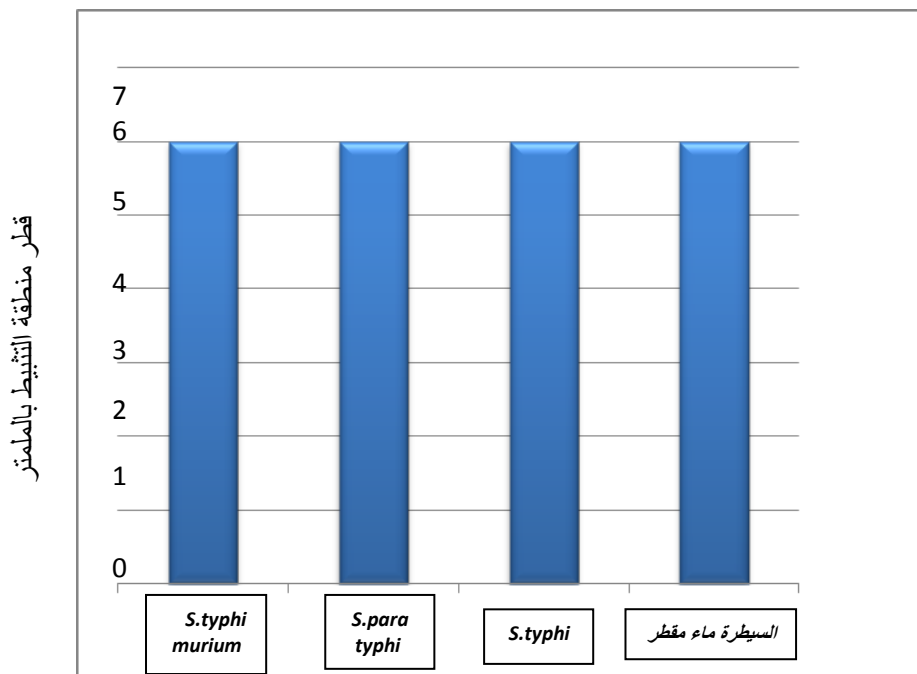
اما بكتريا السامونيلا بانواعها الثلاث فلم تتأثر بالمستخلص المائي حتى عند استعمال تركيز 200 ملغم /ملتر مع ملاحظة ان النتائج قورنت بالسيطرة وهي الحفرة التي تحوي ماء مقطر معقم فقط ، اي عدم وجود اي منطقة تثبيط حول الحفرة . كما موضح في الشكل (3) والنتيجة تؤكد ان بكتريا السامونيلا مقاومة للمستخلص اكثر من بكتريا الكوليرا عند تركيز 200 ملغم /ملتر .

لقد تم اختيار البكتريا المسببة للتسمم الغذائي والاسهال وتمثلت ببكتريا الكوليرا والسالمونيلا بانواعها الثلاث لما لها من اهمية كبيرة كونها تعد في مقدمة الامراض التي تصيب الانسان وتؤدي الى الوفاة احياناً [10] ، وكانت اسباب فكرة العودة الى النباتات الطبية بعد ظهور الادوية المصنعة والاستعمال العشوائي والخطأ لها والذي ادى الى ظهور سلالات مقاومة من الاحياء المجهرية [11] ، لذلك استعمل الباحثون عدة تقنيات لبيان تأثير

المستخلص النباتي على الاحياء المجهرية واستخدمت طرائق استخلاص مختلفة مثل دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1% و 5% ضد بكتريا *Bacillus subtilis* , *E. coli* وان هذا المستخلص اعطى تثبيطاً واضحاً على الوسط الزرعي Trypton soya Yeast extract حيث اعطى منطقة تثبيط تساوي 13 ملمتر لبكتريا *E. coli* و 16 ملمتر لبكتريا

K و E والمنغنيز والحديد والكالسيوم والالياف وتبرتوفان [6] ويتضح من نتائج دراستنا والبحوث الاخرى ان لكلا المستخلصين المائي والزيتي اهمية طبية لذلك ينصح الباحثون بتناوله يوميا كاشاي .

مكونات اخرى مثل Gallic acid و Flavonoids وقد اعطت الزيوت الطيارة فعالية مضادة لطفييلي الملاريا والمستخلص المائي اعطى فعالية عالية مضادة للاكسدة [16] ، كما يحتوي البردقوش على مكونات غذائية مهمة مثل فيتامين



انواع بكتريا السالمونيلا

شكل (3) يمثل منطقة التثبيط حول الحفرة مقدراً بالمليمتر لكل من انواع بكتريا السالمونيلا الثلاث بتركيز 200 ملغم/مليمتر (قطر الحفرة 6 مليمتر)

- Rose, J. 2006. Oregano and thyme- name changes and Therapeutics. Jeanne Rose. HEBAL. 5:15 .
- Lagouri,V. and Boskou , D. 1996 Nutrient antioxidant in oregano . Int . J.Food Sci. Vol47 (6) : 493-497 .
- Anesini, C. and Perez, C. 1993. Screening of plants used in Argentine folk medicines for antimicrobial activity, J. of Ethno pharmacology. 39:112-119.
- Baron, E.J. and Finegold, S.M. 1990. Diagnostic Microbiolgy. Mosby company U.S.A 8<sup>th</sup> ed., p:120.
- Balows, A. and Wandepitte, J. 1987 . Bench- level procedure

#### المصادر :

- عقيل ، محسن . 2001. صيدلية العطار من مجربات ابن البيطار ، دار المحجة البيضاء ، الطبعة الاولى ، بيروت -لبنان ، ص : 611 .
- رسول ، يوسف بن عمر بن علي . 2004. المعتمد في الادوية المفردة ، مكتبة جزيرة الورد ، الطبعة الاولى ، المنصورة - مصر ، ص : 450 .
- شعبان ، محمد جهاد . 2010 . الطب والحياة ، دار المعرفة ، الطبعة الثانية ، بيروت - لبنان ، ص: 289-290 .
- Mohamad, N., Yasmien, Sh. And Nohair, G. 2011. Antimicrobial activity of water and ethanolic Marjoram (*Origanum marjorana* L.) extract . The 6<sup>th</sup> Arab and 3<sup>rd</sup> International Annual Scientific Conference.Cairo.

- and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. International of Food Microbiology . 111:6-11.
14. Ausra, S. ; Petras , R. V. ; Renata ,B. and Antanas , S. 2006 . Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and Marjoram oils . Journal of essential oil . 1:60-65 .
15. Ozcan , M. M. ; Sagdic , O. 2006 . Inhibitory effects of spice, essential oils on the growth of *Bacillus* species. Journal of Medicinal Food. 9(3): 418-421
16. El. Babilli , F. ; Bouagla , j. ; Souchard, JP and Bertrand , C. 2011 . Chemical analysis and evaluation of its Oregano . J. Food . Sci, Vol 76 (3) :512
- manual on basic bacteriology W.H.O.. part 1 , p:45.
10. الشهابي ، عاصم عطا . 1998 . المايكروبات المعدية للإنسان ، مركز الكتب الاردني ، الطبعة الاولى ، عمان الاردن ، ص: 233 .
11. محمود ، مهند جميل . 1980 . الاعشاب الطبية ، مجلة العلوم ، 6 : 70-48 .
12. AL-Turki, A. I. ; El- Ziney, M. G. and Abdel – Salam , A. M. 2008. Chemical and antibacterial character-rizeation of aqueous extract of oregano , marjoram , sage and Licorice and their application in milk and Labneh. International Journal of Food , agriculture and environment . 6(1):39-44.
13. Yano, Yutaka; Satomi, Masataka and Oikawa, Hiroshi. 2006. Antimicrobial effect of species

## Effect of aqueous extract from Marjoram against *Salmonella* and cholera bacteria

*Suadad A. Al-Samaraie* \*

*Eman H. Abaas* \*

*Shaymaa S. Abud*\*

*Hesham M. Abdul-Karim*\*

*Kefah A. Jasem*\*\*

*Suhad D. Saleem*\*

\* Material Research Directorate / Ministry of Science and Technology .P.o box 765 , Baghdad – Iraq .

\*\* Central Health Laboratory / Ministry of Health

### Abstract:

Five different bacterial isolates [ *Vibrio cholera* (Ogawa) , *Vibrio cholera* (Inaba) , *Salmonella typhi* , *Salmonella paratyphi* and *Salmonella typhimurium* ] were obtained from the Central Health Laboratory . Both sensitivity tests (MIC , MBC and wells method ) against these bacteria were performed by using the aqueous of leaves extract of Marjoram plant. The results cleared that the values of MIC for *Vibrio cholera* serotypes Ogawa and Inaba were 100 mg/ml , while the value of MBC was 200 mg/ml. The value of the Inhibition zone at 100 mg /ml concentration for both Ogawa and Inaba were 13 mm and 9 mm respectively. Our results showed that the three types of *Salmonella* didn't show any inhibition zone at 200 mg/ml .