

الفعالية الحياتية لزيت الاوريكنوم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

Bioactivity of *Origanum* oil on *Staphylococcus aureus*

خلود وهيب السامرائي

علاء عباس فاضل

عادل عبيد حسوني

الكلية التقنية/ المسيب

*مركز بحوث التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين

المستخلص

أثبتت الدراسات الحديثة ان الزيوت النباتية تمتلك خواص ذات فعالية حياتية مضادة للميكروبات , وزيت الاوريكنيوم احد هذه الزيوت الذي يمتاز بطيف واسع من الفعالية المضادة للميكروبات إذ يحتوي على مستوى عالي من المشتقات الفينولية وهذا الزيت تم الحصول عليه بصورة تجارية (باودر) . علماً ان هذا الزيت يستخلص من نبات *Origanum vulgare* وهو نبات ينمو في المناطق الجبلية لحوض البحر المتوسط خصوصاً في جبال تركيا وتم تحضير محلول خزين Stock solution من زيت الاوريكنيوم وبعدها تم تحضير التراكيز الاخرى المستخدمة في التجربة (0.5 , 0.25 , 0.125) ملغم/ مل ، ثم نفذت الدراسة لتحديد الفعالية الحياتية لزيت الاوريكنيوم مع بكتريا المكورات العنقودية الذهبية كذلك تم تحضير التخفيف الخاصة بالتركيز المثبط الأدنى (MIC) باستخدام تراكيز تمثلت بـ (10/1 ، 20/1 ، 30/1 ، 40/1 ، 50/1) مايكروغرام/ مل . وقد وجد ان التركيز 0.25 ملغم/ مل هو التركيز المثبط لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية من خلال تحديد منطقة التثبيط (Hz) Inhibition zone أما التركيز المثبط الأدنى (MIC) فكان التركيز 30/1 . وقد أوضحت الدراسة ان زيت الاوريكنوم كان قاتلاً (Bactericidal) لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية .

Abstract

The studies revealed that plants oil possesses Antimicrobial properties, the origanum oil organized by a broad spectrum of antimicrobial activity. This oil extract from the *Origanum vulgare* found in Mediterranean Mountain especially in Turkey. Biological activities were studied to determine the effect of origanum oil on *Staphylococcus aureus* the result revealed that origanum oil were significantly inhibited the growth of the selected bacteria. The study showed that origanum oil has Bactericidal of effect. The inhibition zone (Hz) was determinant by using different concentration from oil as (0.5, 0.25, 0.125)mg/ml . Minimal inhibitory concentration (MIC) of oil was estimated by using different concentration as (1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50) µg/mL, the MIC of bacteria was 1/30.

المقدمة

الاصابات الناتجة من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية [4, 5, 6]. وفي الاونة الاخيرة اوضحت الدراسات بان هذه البكتريا اصبحت تبدي مقاومة للمضاد الحيوي الفانكوميسين، لذلك بدأ المتخصصين بهذا المجال البحث عن علاجات بديلة للتغلب على مقاومة البكتريا ومن هذه الاستراتيجيات استخدام مضادات حيائية طبيعية لغرض علاج الإصابات المتسببة عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وهذه المضادات قد يكون لها فعالية واسعة ضد البكتريا المدروسة في البحث.

أهداف البحث

1. إن الغرض من الدراسة هو تحديد كفاءة وفعالية زيت الاوريكنوم في معالجة الاصابات المرضية الناتجة من غزو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية لانسجة الجسم المختلفة من خلال استخدام تراكيز مختلفة من الزيت وحساب قطر منطقة التثبيط (Hz) في وسط الاكار المغذي.
2. تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) للزيت في نمو البكتريا.

المواد وطرائق العمل

على عكورة مساوية لانبوبة ماكفرلاند رقم (0.5) المستخدم في اجراء اختبار الحساسية واديمت المزارع البكتيرية بعمل مستنبت Subculture جديد كل اسبوعين من وسط الاكار المستخدم وبالظروف المثالية للزرع. تم اجراء الفحوصات الكيموحيائية والتأكد من نقاوة العزلة البكتيرية المستخدمة في البحث.

التراكيز المستخدمة في البحث

تم تحضير محلول خزين (Stock solution) من زيت الاوريكنوم وحضرت منه التراكيز المطلوبة الاخرى لاجراء اختبار الفعالية التضادية للزيت وتحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى [7].

اختبار الفعالية التضادية لزيت الاوريكنوم

اتبعت طريقة الانتشار في الاكار (Agar dilution method) بوساطة الحفر [8] لغرض اختبار حساسية البكتريا لزيت الاوريكنوم إذ تضمنت الطريقة مايلي :-

ان المقاومة المايكروبية للمضادات الحياتية خصوصاً من قبل بكتريا الـ *Staphylococcus aureus* تعتبر المشكلة الرئيسية التي تهدد الصحة العامة للمجتمعات. فقد وجد ان هذه البكتريا ذات مقاومة شديدة للعديد من المضادات الحياتية مثل الـ Methicillin [1, 2]، وقام الباحثين باستخدام عدة استراتيجيات لغرض السيطرة على مقاومة هذه البكتريا [3] من خلال استخدام علاجات اخرى مثل الفانكوميسين Vancomycin الذي اثبت كفاءة عالية في معالجة

1. إن الغرض من الدراسة هو تحديد كفاءة وفعالية زيت الاوريكنوم في معالجة الاصابات المرضية الناتجة من غزو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية لانسجة الجسم المختلفة من خلال استخدام تراكيز مختلفة من الزيت وحساب قطر منطقة التثبيط (Hz) في وسط الاكار المغذي.
2. تحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) للزيت في نمو البكتريا.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على زيت الاوريكنوم بصورة جاهزة (باودر) حيث تم تحضير محلول خزين (Stock solution) (0.5) ملغم/ مل حسب تعليمات الشركة المجهزة ثم تحضير التراكيز الاخرى المستخدمة في التجربة (0.25, 0.125) ملغم/ مل لغرض حساب منطقة التثبيط وكذلك تم تحضير تراكيز (10/1، 20/1، 30/1، 40/1، 50/1) مايكروغرام/ مل لغرض حساب التركيز المثبط الأدنى.

تم الحصول على 20 عزلة بكتيرية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية من مستشفى الاسكندرية العام ونميت على وسط Muller hinton agar وكذلك الوسط المغذي Brain heart infusion لغرض تنشيطها إذ تم حضنها لمدة 18 - 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م. ثم نقلت 3-4 مستعمرات الى انابيب اختبار تحوي 5 مل من المرق المغذي (Nutrient broth) وحضن لمدة 18 - 24 ساعة بدرجة 37 م بعدها عدل العالق البكتيري بوساطة محلول الملح الفسيولوجي للحصول

- تحضير تراكيز مختلفة من الزيت (0.5, 0.25, 0.125) ملغم/مل .
- حضرت اطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الزرعي الصلب مولر هنتون (Muller hinton agar) وزرعت بالعالق البكتيري بواسطة مسحة قطنية معقمة بعدها تم عمل حفرة واحدة بقطر 8 ملم بواسطة الثاقب الفليني المعقم (Cork borer) .
- اضيفت كمية مقدارها 0.2 مل من كل تركيز من الزيت في الحفرة وتركت الاطباق في التلاجة لمدة ساعة واحدة لغرض انتشار المحلول في الوسط الزرعي [9] .
- نقلت الأطباق إلى الحاضنة بدرجة 37م لمدة 18 - 24 ساعة ثم قرأت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط (Hz) لكل تركيز بواسطة المسطرة [10] .
- تحديد قيمة التراكيز المثبط الادنى**
- استخدمت طريقة التخفيف في الانبوبة (Tube dilution method) [11] لغرض تحديد اقل تركيز تثبيطي لزيت الاوريكنوم وتضمنت الطريقة مايلي:

النتائج والمناقشة

يتضح من الجدول (1) تأثير زيت الاوريكنوم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية مقدراً بقياس قطر منطقة التثبيط (Inhibition zone) . إذ أظهر الزيت تأثيراً تثبيطياً واسعاً على نمو بكتريا الـ *Staph aureus* فبلغ قطر التثبيط 25mm عند أعلى تركيز مستخدم 0.5 ملغم/مل و 15mm عند التركيز 0.25 ملغم/مل في حين لم يظهر التركيز 0.125 ملغم/مل

جدول (1) تأثير زيت الاوريكنوم بتراكيز مختلفة على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

موقف لنمو البكتريا Bacteristatic	موقف لنمو البكتريا Bactericidal	منطقة التثبيط Inhibition zone (mm)	التركيز Concentration mg/ml	No.
-	+	25	0.5	1
-	+	15	0.25	2
-	-	-	0.125	3

- عدم وجود تأثير
+ وجود تأثير

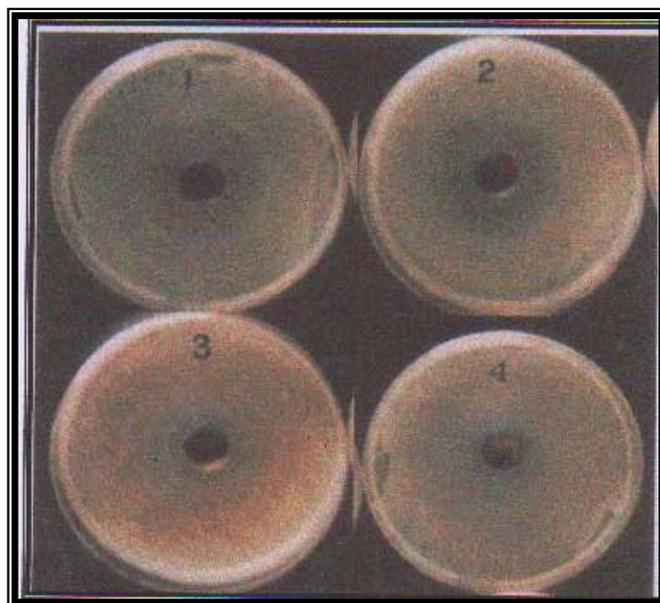
تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى (MIC) لزيت الاوريكنوم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية . فقد اظهر التركيز (30/1) هو التركيز المثبط الادنى للبكتريا المدروسة .

Minimal inhibitory concentration (MIC) تم تعيين التركيز المثبط الادنى (MIC) حسب طريقة التخفيف في الانبوبة (11) ويبين الجدول (2) قيمة

جدول (2) قيم التركيز المثبط الادنى لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph aureus* .

Staph. aureus	Concentration µg/ml	No.
-	1/10	1
-	1/20	2
+	1/30	3
+	1/40	4
+	1/50	5

- عدم وجود نمو
+ وجود نمو



1 = 0.5 mg/ml
2 = 0.25 mg/ml
3 = 0.125 mg/ml
4 = standard

شكل (1) يوضح تأثير زيت الاوريكنوم بتراكيز مختلفة على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

ان زيت الاوريكنوم هو المادة الطبيعية التي يمكن ان يكون لها القدرة على قتل او تثبيط البكتريا في الوسط الزراعي .

لذلك فأن النتيجة المحصلة لدينا هي ان تأثير زيت الاوريكنوم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية جدير بالاهتمام لما لهذه البكتريا من مقاومة للعديد من المضادات الحيوية الشائعة ولما لها من تأثيرات وخيمة على الانسان والحيوان .

3. اجراء الاختبارات على الحيوانات المخبرية ومعرفة مدى صلاحية استعمال هذا الزيت لمعالجة الاصابات البكتيرية المتسببة عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية .

4. من الممكن اجراء وتطوير البحوث والدراسات العميقة والشاملة على زيت الاوريكنوم للوصول إلى نتائج نستطيع من خلالها جعله كمادة علاجية ذات فائدة ملموسة وتطبيقه في المجال الطبي .

- Staphylococcus aureus*: perspectives on measures needed for control. Ann. Intern. Med , 124: 329- 334, (1996).
5. Waldvogel W: New resistance in *Staphylococcus aureus*. N. Eng. J. Med , 340:556-557,(1999).
6. Burnie J, Matthews R, Jiman-Fatami A, Gottardello P, Hodgetts S, and D'arcy S: Analysis of 42 cases of septicemia caused by an epidemic strain of methicillin- resistant *staphylococcus aureus*: evidence of resistance to vancomycin.
7. Mitscher, L. A , R. Leu, M.S. Bathala , M. N, WU. Beal, J.L. and R. White.

إن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staph.aureus* لها قابلية شديدة على احداث الاصابات في المرضى الراقدين بالمستشفيات وحصول الامراض المختلفة لما لهذه البكتريا من قدرة على مقاومة العديد من المضادات الحيوية الشائعة [13] حيث وجد ان لها القابلية على تطوير آليات معينة لمقاومة المضادات الحيوية [2 ، 9] لذلك بدأ المختصون يبحثون عن بدائل علاجية لغرض التغلب على مقاومة هذه البكتريا ومن خلال هذا البحث وجد

الاستنتاجات

1. ان لزيت الاوريكنوم تأثيراً تثبيطياً واضحاً على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية ويزداد هذا التأثير مع زيادة التركيز حيث كانت العلاقة طردية بين تركيز وحلقة التثبيط .

2. من الممكن استعمال هذا الزيت بإعتباره مادة طبيعية غير سامة كمادة دوائية لمعالجة الامراض التي تسببها البكتريا المدروسة بعد معرفة الآلية التي يسلكها للتأثير على هذه البكتريا .

المصادر

1. US Congress, Office of Technology Assessment. Impacts of antibiotic resistant bacteria. OTA- H- 629. Washington DC: US Government Printing Office, (1995).
2. Ayliffe GA: The progressive intercontinental spreads of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin.Infect. Dis . (Suppl 1), 24: 574-579, (1997).
3. Cunha BA: Strategies to control antibiotic resistance. Semin. Respir. Infect, 17:250-258,(2002).
4. Edmond MB, Wenzel RP, and Pasculle AW: Vancomycin-resistant

11. National commite for clinical laboratory standards . Approved standard. M7- A3, Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, Villanova . (1993) .
12. Piddoock, L. J. V. (1990). Technique, used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria, J. Appl. Bacterial, 68: 307-318. (1990) .
13. Carson CF, Cookson BD, Farrelly HD, Riley TV: Susceptibility of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J Antimicrobial Chemotherapy, 35:421-424, (1995) .
- Antimicrobial agents from higher plants, Loydia , 35 : 157 – 166. (1972).
8. Egorove , N. S. Antibiotics a scientific approach, Mirpublishers. Moscow. (1985).
9. Hernandez, M, R. Lopez, R.M.Abonal , V. Darias , and A. Arias . Antimicrobial activity of *Visnca ocanera* leaf extract , J .Ethnopharmacology , 41 : 115- 119 (1994)
10. Saxena, G, S. Farmer , Hancock , R.E.W and G.H.N. Tomers . Antimicrobial compounds from *Alnus rubra* , Int . J . of pharmacognosy , 33 : 33 – 36 . (1995).