REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : *Sciences Biologiques*

Option : *Microbiologie appliquée*

THEME

تقييم فعالية المستخلصات الميثانولية لبعض الأنواع النباتية المحلية ضد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

من إعداد الطلبة :

- ***شويحة عبدالقادر***
- ***جابري محمد***
- ***ميزات رقية***

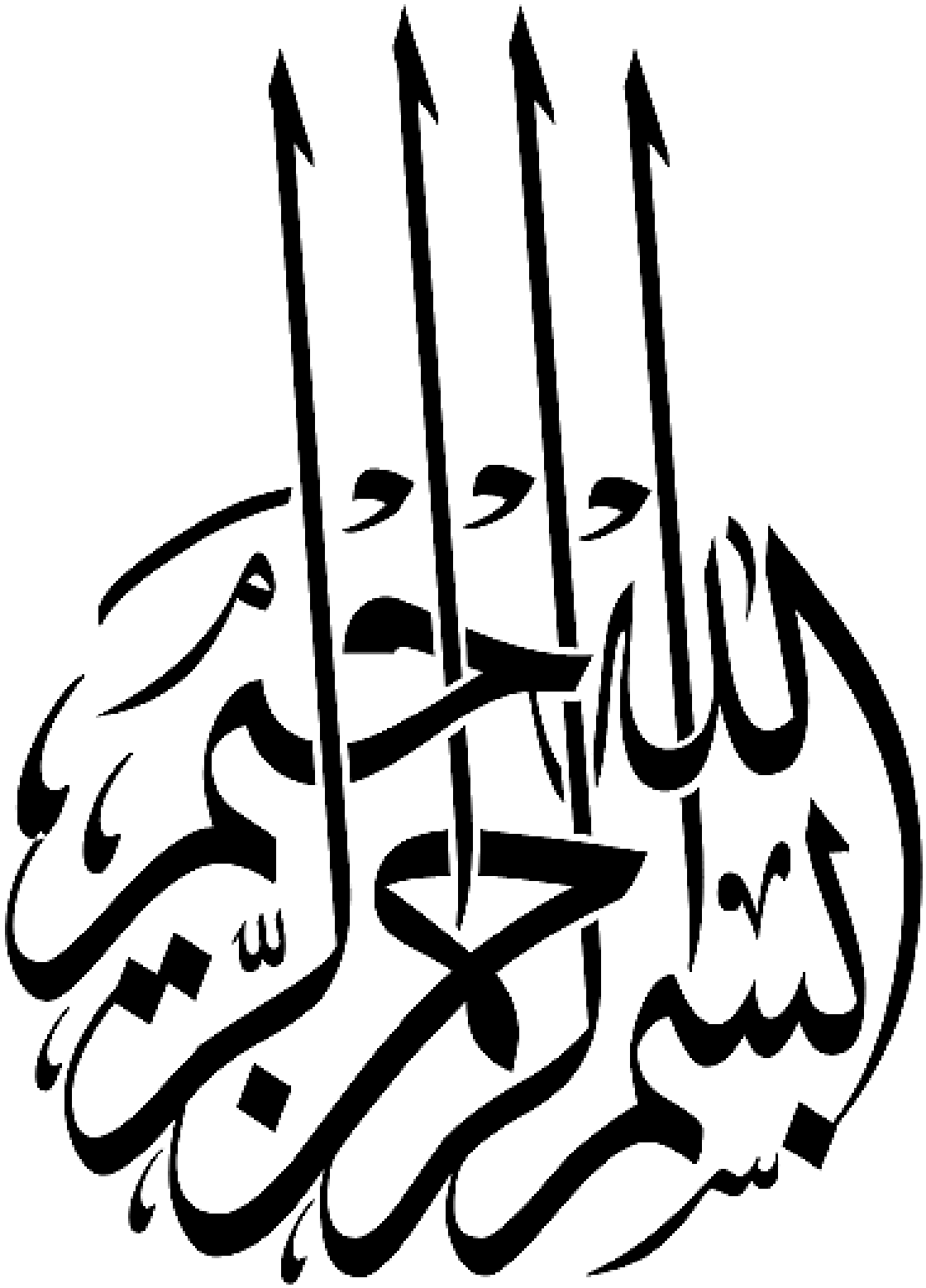
تحت إشراف الأستاذين:

- ***الطيب برمضان***
- ***كمال كرانتر***

لجنة المناقشة

بوبريمة يوسف	أستاذ جامعة عمار ثليجي بالأغواط	رئيسا
زروقي الحسين	أستاذ جامعة عمار ثليجي بالأغواط	ممتحنا
برمضان الطيب	أستاذ بالمدرسة العليا للأساتذة بالأغواط	مشرفا
كرانتر كمال	أستاذ جامعة عمار ثليجي بالأغواط	مشرفا

السنة الجامعية 2021 -2022


بسم الله الرحمن الرحيم

إهداء

أهدي محبتي قبل عملي ....

إلى كل من قدم روحه في سبيل الله وفي سبيل أن نتنفس حرية وكرامة شهداء الجزائر الأبية رحمهم الله جميعا.

إلى جنة الله في أرضه ... والدتي الحبيبة أمدها الله بالصحة والعافية ورزقها زيارة بيته الحرام.

إلى كل من أخلص المحبة والنصح ، لمن بادرنا بالإبتسامة، لمن دعمني وشجعني، لمن لهم فضل علينا لا يرده إلا الدعاء لهم بالبركة في العمر و الصحة و المال والأهل.

إلى كلُ مخلص من أبناء وطني الحبيب.

عبدالقادر

إهداء

بسم الله الرحمن الرحيم و الصلاة و السلام على أشرف المرسلين سيدنا و نبينا محمد و على آله و صحبه أجمعين

أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع

إلى من فضلها علي عظيم، إلى من ضحت من أجلي و بذلت ما تملك في سبيل إسعادي و راحتي على الدوام ... أمي الحبيبة

إلى صاحب السيرة العطرة، و الوجه البشوش، و الفكر الثاقب المستنير فلقد كان له الفضل بعد الله سبحانه و تعالى في وصولي إلى هذه المرحلة ....أبي الحبيب

إلى زوجة أبي و أمي الثانية إلى إخوتي و أخواتي إلى أقربائي إلى أصدقائي و إخواني و أحبابي و زملائي في البحث و الدراسة إلى أساتذتي و أخص بالذكر أستاذ برمضان الطيب و الأستاذ كمال كرانتر فطالما كانا خير أستاذين و لهما كل الفضل في إتمام هذا البحث. إلى كل من ذكرت و من لم أذكر و كل من له فضل علي أهدي الجميع هذا البحث....

محمد

إهداء

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله

ومن وفى أما بعد:

الحمد لله الذي وفقنا لتثمين هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية بمذكرتنا

هذه ثمرة الجهد والنجاح بفضله تعالى مهداة إلى الوالدين الكريمين

حفظهما الله وادامهما نورا لدربي .

الى العائلة الكريمة التي ساعدتني ولا تزال إخوة وأخوات

إلى رفيقات المشوار اللاتي قاسمني لحظاته رعاهم الله ووفقهم.

إلى كل من كان لهم اثر على حياتي، والى كل من أحبهم قلبي ونسيم

قلمي.

رُقية

تشكرات

"فَتَبَسَّمَ ضَاحِكًا مِّن قَوْلِهَا وَقَالَ رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ الصَّالِحِينَ" سورة النمل الآية 19

الحمد لله على عطائه، الحمد لله على رزقه، الحمد لله على آلائه، الحمد لله على نعمائه، الحمد لله حمد الشاكرين والشكر لله شكر الحامدين.

الشكر لمن سهر على تربيتنا وتعليمنا رغم كل الصعاب رزقهم الله صحبة الانبياء و الشهداء والصالحين في عليين.

الشكر لمن علمنا منذ نعومة أظافرنا في الكتاتيب و الإبتدائية ثم المتوسطة والثانوية وأخيرا في الجامعة فردا فردا كُل بإسمه وصفته، جعلها الله لكم ذخرا في الدنيا والآخرة.

الشكر لكل من رافقنا في عملنا هذا يستلزم الواجب ذكرهم كُل بإسمه: الأستاذ الطيب "برمضان الطيب" والاستاذ الكريم "كمال كرانتر" و الأستاذ العزيز " صيلع عبدالقادر" ، دون أن ننسى لجنة المناقشة التي سهرت على تقييم العمل وتنقيحه ثم توجيهنا لإخراجه بأفضل شكل.

الشكر للمدرسة العليا للأساتذة على الترخيص لإتمام العمل في فضائها والشكر لمهندسي المخابر في جامعة عمار ثليجي على دعمهم المطلق في عملنا.

الشكر لكل زملائنا الطلبة المتميزين على دعمهم لنا أثناء التحضير للإمتحانات والحاضرين للمناقشة لتشجيعنا ومشاركتنا فرحتنا.

الملخص باللغة العربية

يندرج بحثنا هذا في إطار تثمين بعض الأنواع النباتية الطبية المحلية المستعملة في التداوي الشعبي والتغذية اليومية، وذلك من خلال محاولة إختبار تأثير المستخلصات الطبيعية بشكل فردي أو خليط حيث اخترنا الأنواع الآتية: الشيح، الزعتر، الشهيبة، العرعار، الزعيترة، الدقفت، إكليل الجبل. على تثبيط نمو أو قتل أحد الأنواع البكتيرية الخطيرة *Pseudomonas aeruginosa* .

وذلك بشكل مستخلصات ميثانولية خامة فردية ومستخلصات ميثانولية في شكل خليط لكل الأنواع، حيث كان مردود الإستخلاص في مجال من 14.5 % لنبات الشيح إلى 32.8 % لدى نبات الشهيبة، أما الخليط فكان له مردود أكبر من جميع المستخلصات الفردية وقدر بـ 33.3 % تم العمل على معرفة أقطار هالة التثبيط للسلالة المستخدمة والتي ظهرت نتائجها بأعلى قطر يقدر بـ 18 ملم لنبات الدقفت وأقل قطر 7 ملم لنبات الشهيبة أما الخليط فكان بقطر 12 ملم .

استُخدِمت المستخلصات ذات الهالة التثبيطية الجيدة والمهمة في معرفة التركيز الأدنى المثبط CMI والتركيز الأدنى القاتل CMB فتبين أن أحسن الأنواع يتمثل في نبات الدقفت حيث قيمة CMI الخاصة به كانت 1.5 ملغ/مل وهو مايوافق الخليط، كما يثبت المعامل CMB/CMI أن كل المستخلصات مبيدة للبكتيريا بما فيها الخليط.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية والعطرية، الطب الشعبي، *Pseudomonas aeruginosa* ، قطر التثبيط ، CMI، CMB

الملخص باللغة الإنجليزية

this work is deemed as a Hub from a Study's Hubs for valorize and show the importance of local Algerian Plants of various medicinal and aromatic Types, and These Types were chosen based on their popular using in the Traditional medicine and healthy Foods, where We chose the following mentioned Types:

Artemisia herba alba (Al chih), *Thymus* (Al zaatar), *Artemisia absinthium* (AL chaiba), *Common juniper* (Al arar), *Thymus Serpyllum* (Al zaaytra), *Artemesia campestris* (Al dakfat), *Rosemary* (Eklil Eljabal).

In a Form of individual raw methanolic Extracts and methanolic Extracts in mixture form for all Species. the yield of the extract ranged from 14.5% for Artemisia herba alba to 32.8% for Artemisia absinthium, and that the mixture had a higher yield than all of the individual extracts and that it was estimated 33.3%.

the Work has been done to know the diameters of the inhibiting corona of the bacterial strain Pseudomonas aeruginosa. the Results of which appeared with the highest diameter of 18 mm for *Artemesia campestris* (Al dakfat) and the lowest diameter of 7 mm for *Artemisia absinthium* (AL chaiba) while the mixture was with a diameter of 12 mm.

The Extracts with good inhibitory Aura and important for knowing the minimum inhibitory Concentration CMI and the minimum lethal Concentration were used CMB, It was found that the best species is Dikfitt Plant (*Artemesia campestris*), where its CMI value was 1.5 mg/ml , which corresponds to the mixture.as proved "The CMB/CMI" that all extracts are lethal, including the mixture.

Keywords: medicinal and aromatic Plants, Traditional Medicine, *Pseudomonas aeruginosa*, CMI, CMB

الملخص باللغة الفرنسية

Ce travail est considéré comme l'un des axes d'étude de valorisation, et de mise en valeur de l'importance des plantes locales algériennes de divers' types médicinaux et aromatiques: *Artemisia herba alba* ، *Thymus vulgaris* ، *Artemisia Absinthium* ، *Juniperus communis* ، *Thymus algeriensis* ، *Rosmarinus Officinalis* ، *Artemisia compestris.*

Sous forme d'extraits méthanoliques bruts individuels et des extraits méthanoliques sous forme de mélange, le rendement de l'extrait se situait dans une fourchette de 14,5 % pour l'Artemisia herba alba à 32,8 % pour Artemisia absinthium , et que le mélange avait un rendement supérieur à tous les extraits individuels et à qu'estim était 33 , 3%

des travaux ont été menés pour connaître les diamètres du halo d'inhibition de la souche bactérienne Pseudomonas aeruginosa, dont les résultats sont apparus avec le diamètre le plus élevé de 18 mm pour *Artemisia compestris* et le diamètre le plus bas de 7 mm pour *Artemisia absinthium* , alors que le mélange était d'un diamètre de 12 mm .

Les extraits avec une bonne et importante aura inhibitrice ont été utilisés pour connaître la concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale létale CMB. Il a été constaté que la meilleure espèce est la plante *Artemisia compestris*, où sa valeur CMI était de 1,5 mg/ml, ce qui correspond au mélange, et les laboratoires CMB/CMI prouvent que tous les extraits bactéricides, y compris le mélange.

Mots clés : Plantes médicinales et aromatiques, médecine traditionnelle, *Pseudomonas aeruginosa*, diamètre d'inhibition, CMI, CMB .

الفہرس

الفهرس

الإهداء
تشكرات
الملخص
الفهرس
قائمة الجداول والصور
قائمة الأشكال
قائمة الإختصارات
مقدمة 1

الجانب النظري

الفصل الأول: عموميات حول النباتات الطبية و طرق الإستخلاص
1) تعريف النباتات الطبية والعطرية 4
2) مجالات تطبيق النباتات الطبية والعطرية 4
3) العناصر الفعالة في النبات الطبي 5
4) المواد النباتية المستعملة في الدراسة 11
5) مستخلصات النباتات الطبية 13
الفصل الثاني: عموميات حول البكتيريا و مقاومتها للمضادات الحيوية
1) تعريف الكائنات الحية المجهرية 17
2) تعريف البكتيريا 17
3) خصائص البكتيريا 17
4) معايير التصنيف الكلاسيكي للبكتيريا 18
5) آليات مقاومة المضادات الحيوية الشائعة في البكتيريا 21
6) تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا 24
7) السلالة البكتيرية المستعملة 25

الجانب العملي

الفصل الثالث: طرائق ووسائل العمل

I. المواد المخبرية
1) المواد الكيميائية والأجهزة 30
2) المواد النباتية 31
3) البكتيريا 31
II. الطرق
1) العينات النباتية 31
2) محطات الدراسة 31
3) إختيار العينات النباتية 31
4) تحضير المستخلصات 32
5) حساب كتلة كل مستخلص 34
6) حساب مردود الإستخلاص 34
7) تحديد النشاط المضاد للبكتيريا بإستخدام تقنية Aromatogramme 34
8) تحديد تأثير المضادات الحيوية على السلالة المدروسة Antibiogramme 36
9) تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI 36
10) تحديد التركيز الأدنى القاتل CMB 38

الفصل الرابع: النتائج والمناقشة

1) مردود المستخلصات 40
2) النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية 42
3) مقاومة سلالة *Pseudomonas* aeruginosa للمضادات الحيوية 45
4) تحديد قيم التركيز الأدنى المثبط CMI للمستخلصات النباتية 47
5) تحديد CMB لكل مستخلص نباتي 51
6) حساب المعامل CMB/CMI 54
الخلاصة 55
المصادر والمراجع
الملاحق

قائمة الأشكال

الصفحة

الشكل1 : الغلوسيدات الستيرويدية Digitoxin 5

الشكل 2 بعض أنواع القلويدات 6

الشكل 3: فينول Phenol 7

الشكل 4 فلافونويد Flavonoid 8

الشكل 5 بعض مكونات الزيوت الطيارة 9

الشكل 6: التانينات Tanine Galique 9

الشكل 7 :بوليستيرينسلفونات الصوديوم 10

الشكل 8: استراتيجيات مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا 22

الشكل 9: *Pseudomonas aeruginosa* 25

الشكل 10: خريطة ولاية الأغواط – الجزائر 31

الشكل 11: صور الأعشاب الطبية المستخدمة 32

الشكل 12: صور الأدوات المستخدمة في الحصول على المسحوق 32

الشكل 13: المزيج المتحصل عليه 33

الشكل 14: المذيب العضوي "ميثانول" 33

الشكل 15: عملية الترشيح 33

الشكل 16: حساب كتلة المستخلصات الجافة 34

الشكل 17: تحضير الوسط المغذي الصلب GN 34

الشكل 18: تقنية الإنتشار في الوسط الصلب 35

الشكل 19: جهاز قياس أقطار التثبيط 35

الشكل 20: جهاز الخلط الحراري 36

الشكل 21: أنابيب التراكيز المخففة 36

الشكل 22: جهاز قياس الإمتصاصية مع العينات المحضرة للقياس 37

الشكل 23: تقنية Ensemencement en masse 38

الشكل 24: أعمدة بيانية توضح مردود الإستخلاص لجميع النباتات وللمزيج 40

الشكل 25: هالة تثبيط كل مستخلص 43
الشكل 26: أعمدة بيانية توضح قطر التثبيط لجميع النباتات وللمزيج 43
الشكل 27: هالة تثبيط كل مضاد حيوي 46
الشكل 28: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الشيح 1 52
الشكل 29: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات العرعار 4 52
الشكل 30: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الزعيترة 5 53
الشكل 31: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الدقفت 6 53
الشكل 32: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات أزير الجبل 7 54
الشكل 33: نمو البكتيريا في وجود مستخلص خليط النباتات 8 54

قائمة الجداول

الصفحة

الجدول 01: يوضح النباتات الطبية المستعملة 11

الجدول 02: المواد الكيميائية والأجهزة المستخدمة 30

الجدول 03: كتلة كل مستخلص 34

الجدول 04: رموز وأسماء المضادات الحيوية المستعملة 36

الجدول05: محتوى كل أنبوب اختبار 37

الجدول 06: مردود الإستخلاص عند كل نبات طبي مستعمل وللمزيج 40

الجدول 07: المجالات المرجعية لتأثير المستخلصات النباتية على نمو البكتيريا 42

الجدول 08: قطر تثبيط كل مستخلص 43

الجدول 09: يوضح أنواع المضادات الحيوية المستعملة 46

الجدول 10: المجالات المرجعية لتأثير مختلف المضادات الحيوية على نمو *Pseudomonas aeruginosa* 47

الجدول 11: يوضح قيم التراكيز المستعملة و قيم CMI المستخرجة 48

الجدول 12: يوضح المعامل CMB/CMI 55

قائمة الرموز والإختصارات

الإختصار	المعنى
(WHO)	منظمة الصحة العالمية
ADN	الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين
Aromatogramme	تقنية زرع الاقراص على وسط صلب
Antibiogramme	تقنية زرع أقراص المضاد الحيوي على وسط صلب
DMSO	ثنائي ميثيل السلفوكسيد
ورق Whatman	ورق يستخدم للترشيح و يسمح بإنتشار السوائل بسهولة
CMI	التركيز الادنى المثبط
CMB	التركيز الادنى القاتل
BN	وسط مغذي بسيط "سائل"
GN	آغار مغذي "صلب"
UFC	وحدة عد المستعمرات البكتيرية
Ensemencement en masse	الزرع على شكل كتلة
Ensemencement en surface	الزرع على السطح

مقدمة

مقدمة:

أدى اكتشاف وتطور واستعمال المضادات الحيوية إلى انخفاض مخاطر الصحة العمومية الناتجة عن الإصابة بالأنواع البكتيرية، غير أن كثيرًا من المضادات الحيوية فقدت فعاليتها بسبب زيادة مقاومة السلالات البكتيرية وهذا من خلال تغير التعبير عن المورثات المقاومة (1995 ,Service؛ 1994، Davies)، بالإضافة إلى ذلك كانت لها آثار جانبية والتي تعود بالضرر على العائل مثل فرط التحسس واستجابات الحساسية وكبح المناعة (Wilkinson, 1998)، لذلك كانت الحاجة إلى تطوير أدوية بديلة من أجل معالجة الأمراض التي تسببها الأنواع البكتيرية المقاومة لها والتي لها محاكاة مع المركبات الطبيعية المستخلصة من النباتات الطبية.

وقد ظهرت بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* كممرض خطير خلال العقدين الماضيين حيث تحدث ما بين 10٪ و 20٪ من الإصابات في المستشفيات. تنتشر عدوى *Pseudomonas* بشكل خاص بين المرضى الذين يعانون من جروح الحروق، التليف الكيسي، سرطان الدم الحاد، زرع الأعضاء وإدمان المخدرات عن طريق الوريد.

تشمل أخطر أنواع العدوى إلتهاب الأذن الخارجية الخبيث، إلتهاب باطن المقلة، إلتهاب الشغاف "صمامات القلب"، إلتهاب السحايا، الإلتهاب الرئوي وتسمم الدم. وترتبط احتمالية الشفاء من عدوى الزائفة بمدى تطور الإصابة (Gerald P et al .,1983)

تعتبر النباتات الطبية محل اهتمام وفضول الإنسان على مر العصور، إذ كانت ولا زالت تمثل مصدرا طبيعيا للمعالجة سواء على شكل مستحضرات تقليدية أو مواد فعالة نقية، وذلك لعلاج الإصابات الناتجة عن العدوى بالأحياء الدقيقة أو الأمراض الناتجة عن الإجهاد التأكسدي مثل الالتهاب، والتي تعزى إلى غنى هذه النباتات بالمركبات الفينولية والفلافونويدات والزيوت الاساسية والتي تمثل مستقلبات ثانوية ناتجة عن الأيض الثانوي وتتميز بكثرة انتشارها وتنوعها في العديد من عائلات المملكة النباتية والتي لها نشاط بيولوجي وصيدلاني واسع(Bravo 1998).

إن العلاج بالنباتات الطبية يقوم على أساس النتائج التجريبية منذ آلاف السنين، حيث أفادت منظمة الصحة العالمية (WHO) أن حوالي 80 % من سكان العالم خاصة في البلدان المتقدمة

يعتمدون على الأدوية المشتقة من النباتات من أجل استخدامها في الرعاية الصحية (2006، Gurib-Fakim)

تبين أنَ ما يقارب ثلث سكان الولايات المتحدة الأمريكية في بداية التسعينات كانو يستعملون على الأقل علاجا تقليديا واحدا (Eisenberg.,1993 et al) كما أنفق العديد من الأوربيين في سنة 1995 مبلغ بقيمة 35 مليار فرنك على مواد صيدلانية نباتية الأصل (Frenso, Villar del., 1998)

رغم تطور النظام الصحي في العصر الحديث إلا أن مكانة التداوي بالنباتات الطبية لاتزال محفوظة وهذا ما يبرر استغلالل ما يقارب 35 ألف نوع من النباتات. (الزردومي سليمان،2015)

لوحظ أن استعمال النباتات الطبية إلى جانب وسائل تقليدية أخرى في العلاج في تزايد وانتشار مستمرين ويعود ذلك إلى الإعتراف بقيمة الأنظمة الطبية التقليدية، لإعتبار أن مستخلصات النباتات الطبية تتميز عن الأدوية الكيميائية بانخفاض تكلفتها وقلة تأثيراتها الجانبية، بالإضافة إلى كونها طبيعية وذات فعالية علاجية عالية.

بما أن الدول المتقدمة تولي الإهتمام بالنباتات الطبية، فإن دول العالم الثالث التي تفتقر إلى صناعة دوائية متطورة لابد لها من تنظيم وإثراء برامج بحث متعددة الاختصاصات تهدف لاستعمال هذا المصدر الطبيعي كعلاج لكثير من الأمراض البشرية.

يندرج بحثنا هذا في إطار تثمين بعض الأنواع النباتية الطبية المحلية المستعملة في التداوي الشعبي والتغذية اليومية، وذلك من خلال محاولة إختبار تأثير المستخلصات الطبيعية بشكل فردي أو خليط على تثبيط نمو أو قتل أحد الأنواع البكتيرية الخطيرة ولهدف دراسة الأثر والفعالية ضد ضد سلالة خطيرة على الإنسان مخبريا نجيب عما يلي:

- هل هناك فعالية ضد البكتيريا للمستخلصات الميثانولية المدروسة؟
- هل توجد فعالية ضد البكتيريا لخليط هذه المستخلصات ؟
- ماهي الفروق بين مجموعة المستخلصات النباتية المدروسة ؟

تشمل المذكرة على جزأين: جزء نظري وجزء تطبيقي.

الجزء النظري :

يتضمن فصلين نتناول في الفصل الأول عموميات حول النباتات الطبية المستعملة في الدراسة وطرق الإستخلاص والمركبات الفعالة في هذه المستخلصات، أما في الفصل الثاني فنذكر عموميات حول البكتيريا المدروسة وقدرتها على مقاومة المضادات الحيوية .

الجزء التطبيقي:

خصص لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* لثماني مستخلصات ميثانولية نباتية ويتضمن فصلين:

خصص فصل منهما للوسائل والطرائق المستخدمة ثم فصل لمناقشة النتائج المتحصل عليها، نختم المذكرة بخاتمة وقائمة المراجع المستعملة.

الفصل الأول

عموميات حول النباتات الطبية وطرق الإستخلاص

I. معطيات سابقة حول النباتات الطبية والعطرية

1- تعريف النباتات الطبية والعطرية :

استعملت النباتات منذ ظهور الإنسان لتأمين غذائه وصحته، فأصبحت الأنواع المستخدمة في الطب التقليدي لأغراض علاجية تدخل في مجموعة النباتات الطبية وهذا لفعاليتها العالية تجاه مختلف الأمراض البشرية. إذ أن استخدام هذه المجموعة يكون بأحد أو كل أجزائها النباتية حيث أن التحليل الفيتوكيميائي لمستخلصات هذه النباتات أهلها علميا لإستعمالها كمصادر لكثير من المواد الفعالة فمنها ما تم التعرف عليه كيميائيا وبنيويا ومنها مايزال مجهولا (Joy.,1998).

إن النبات الطبي هو مصطلح يُعنى به كل ما هو ذو أصل نباتي ويحتوي في تركيبته مواد لها القدرة الفيزيولوجية على شفاء مرض معين أو تقليل الإصابة به (الزردومي سليمان،2015)،

وتحتوي المملكة النباتية على عدة عائلات بها أنواع نباتية تكون طبية وعطرية، إذ أن الأنواع العطرية هي النباتات التي تحرر مواد زيتية ذات رائحة مميزة تعرف بالزيوت الطيارة حيث

تتواجد في جزء واحد أو أكثر من النبات كالجذر،الساق ،الأوراق ،الأزهار والثمار...الخ، وتعود الرائحة المميزة إلى المحتوى المتنوع من المركبات الكيميائية المعقدة المكونة لها مثل التربينات (Joy.,1998).

2- مجالات تطبيق النباتات الطبية والعطرية:

تعتبر النباتات من أهم مصادر الأدوية ومن بين250 ألف نوع نباتي تم إحصائه في

العالم، يتم إستخدام أكثر من 80 ألف نوع في العلاج الطبي(Jain.,2016) ووفقًا لتقرير منظمة الصحة العالمية (WHO) ، فإن أكثر من 80% من سكان العالم يعتمدون بشكل مباشر على الأشكال التقليدية للطب، ويقدر أن حوالي 40% من الصناعات الدوائية تعتمد في الغالب على النباتات الطبية فقط (Tariq et al.,2017).

والتي لها عدة إستعمالات منها:

- الصناعات الدوائية: مثل مستحضرات التجميل، الأدوية، الموادالكيميائية الدقيقة والمواد الخام الصناعية(Refaz Ahmad Dar.,2017) .
- المنتجات الغذائية: على سبيل المثال الثوم Allium sativum والتي لها تأثيرات طبية على حماية الإنسان والحيوان من السموم الطبيعية(Decaux,2002)، وقد أدركت منظمة الصحة العالمية أهمية الطب التقليدي ووضعت استراتيجيات ومبادئ توجيهية ومعايير

للأدوية النباتية، وزراعة وتجهيز النباتات الطبية وتصنيع الأدوية العشبية، وذلك بتطبيق تقنيات الصناعة الزراعية(WHO.,1993).

3- العناصر الفعالة في النبات الطبي:

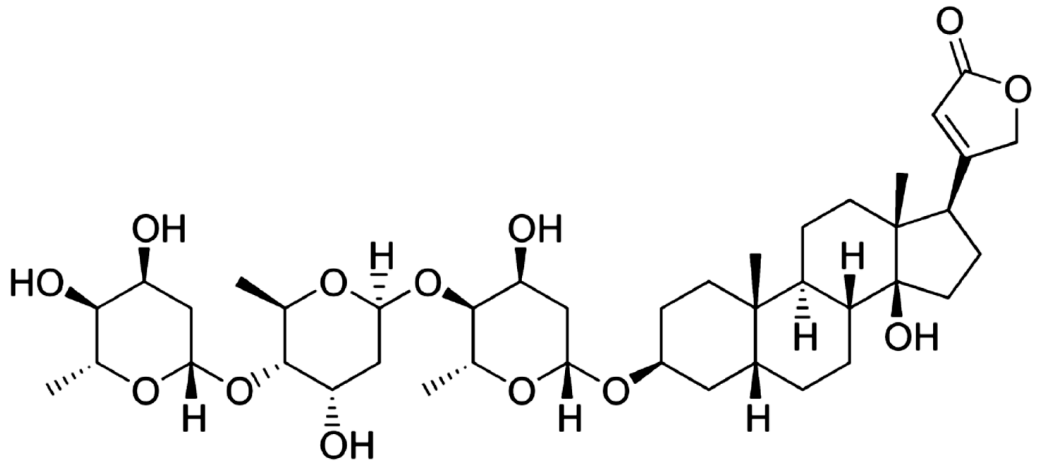
تحتوي الأجزاء النباتية على مجاميع كيميائية يطلق عليها اسم مركبات الأيض الثانوي و التي تعد مصدرا أساسيا للأدوية والمواد المضافة للأغذية والمنكهات والمواد الصناعية الأخرى.والمادة الفعالة هي منتج نهائي أو مواد خام والتي يُعزى إليها التأثير الدوائي لأي مرض من الأمراض (جابر بن سالم موسى القحطاني، 2008)، ونذكر من بين أهم مركبات الأيض الثانوي:

3-1/ الغلايكوسيداتGlycosides :

موجودة في النباتات بكثرة حيث تشارك في مختلف الوظائف بما في ذلك: - التنظيم الهرموني ، الدفاع عن العضوية و البناء الحيوي.

تتحلل هذه المركبات بفعل الأحماض أو الإنزيمات الخاصة كما تاوب في الماء أو الكحول.

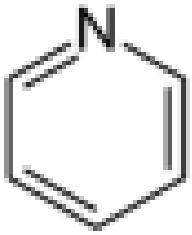
تتكون من جزأين: سكري ويسمى غليكونGlycon غالبا مايكون سكر العنب، وآخر غير سكري يسمى أغليكون Aglycon أو جينينGenin وهو الجزء الفعال منها دوائيا. تقسم على أساس الجزء غير السكري فمنها الغلايكوسيدات الستيرويدية وهي مهمة في تقوية القلب وتنظيم ضرباته وانقباض عضلاته كمايعمل على تنشيط الدورة الدموية. (Claire et al.,2005)

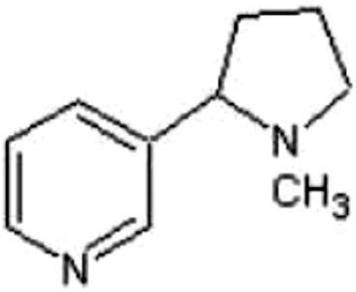


الشكل1 : الغلوسيدات الستيرويدية Digitoxin (بن ساسي حمزة،2018)

3-2/ القلويداتAlkaloids :

هي مواد نيتروجينية عضوية قاعدية تعد الأحماض الأمينية المادة الأساسية لتخليقها داخل النباتات، كما تعتبر النباتات ذات الفلقتين الأكثر غنى بها (بن ساسي حمزة،2018) . هي مركبات شحيحة الذوبان في الكلوروفورم وعادة ما تكون عديمة اللون وتتبلور في درجة حرارة الغرفة، كما يمكن أن تتواجد في الحالة السائلة مثل النيكوتين وتعد بمثابة عامل دفاعي لحماية النباتات من أذى الحشرات ورعي الحيوانات كما توقف النمو البكتيري إضافة إلى أنها مخزون احتياطي للعناصر التي قد يحتاجها النبات في أطوار نموه المختلفة أو عند نقصها في التربة وأهمها النيتروجين.
تتصف بتأثيرها المباشر على الجهاز العصبي المركزي مثل مركبات الأفيون، النيكوتين والبيريدين وتستخدم كمزيل للاحتقان وعلاج انخفاض ضغط الدم المصاحب للتخدير . (جابر بن سالم موسى القحطاني، 2008: J. Dong, et al,2010) .





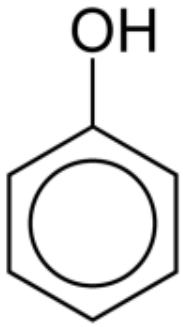
Nicotine	**Pyridine**

الشكل 2 بعض أنواع القلويدات (بن ساسي حمزة،2018)

3-3/ الفينولات Phenols :

سميت نسبة إلى أبسط مركب فيها وهو الفينول C_6H_5OH (الشكل 3) وهي صنف من المركبات الكيميائية العضوية التي تتألف بنيويا من ارتباط مجموعة هيدروكسيل وظيفية بشكل مباشر مع هيدروكربون عطري، تنقسم إلى فينولات بسيطة ومتعددة وذلك حسب عدد وحدات الفينول في الجزيء، توجد في الطبيعة على هيئة مركبات كما يمكن الحصول عليها صناعيا

(بن ساسي حمزة،2018) تتميز بالرائحة والنكهة القويتين، تعد من أهم مكونات العطور وتستعمل كمطهرات لقدرتها الفائقة على قتل الجراثيم والبكتيريا كما تدخل كمذيب في صناعة المواد الطبية والكريمات مثل المواد المضادة لتمزق الجلد بسبب الجفاف والبرد، بعضها له تأثير مخدر موضعي وبعضها الأخر طارد للريح .(بن ساسي حمزة،2018)

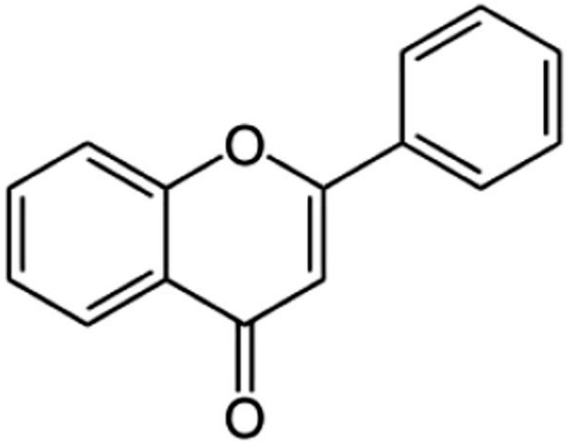


الشكل 3: فينول Phenol (بن ساسي حمزة،2018)

3-4/ الفلافونويدات Flavonoids :

تشتق من الكلمة اللاتينية Flavus والتي تعني اللون الأصفر (بن ساسي حمزة،2018) ، تمثل مركبات طبيعية تحتل قسما كبيرا من نواتج الأيض الثانوي وهي صبغات نباتية تتواجد في الجزء الهوائي للنبتة خاصة في الأوراق والأزهار وتعطيها خاصية تلوين مميزة، تحتوي في هيكلها الأساسي على 15 ذرة كربون موزعة على ثلاث حلقات تدعى بالفلافون (الشكل 4) (ميثاق الجبر،2010) تذوب الفلافونويدات في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) لأنها ذات صفة حمضية ضعيفة أما الفلافونويدات التي لها مجموعات أكبر من هيدروكسيل الحرة أو السكر فتذوب في مذيبات قطبية مثل الميثانول، الإيثانول، الأستون والماء في حين أن الفلافونويدات التي لها عدد أكبر من مجموعات ميثوكسيل فإنها تذوب في الإيثر و الكلوروفورم (لموى رضوان،2010: بن ساسي حمزة،2018) ولها قدرة التثبت على بعض البروتينات والإنزيمات وتتدخل في المراحل المختلفة للتطور وخاصة عند التلقيح بالنسبة للنبات بفضل غناها بالمجاميع الفينولية حيث تلعب دورا هاما في سلاسل الأكسدة الإرجاعية بفضل تركيبها المتعدد الفينولي إذ يظهر سلوكها في الترابط المعقد للمعادن الداخلة في تفاعل الأكسدة، وهي غير سامة للإنسان لكن تأثيرها يكون بطيئا

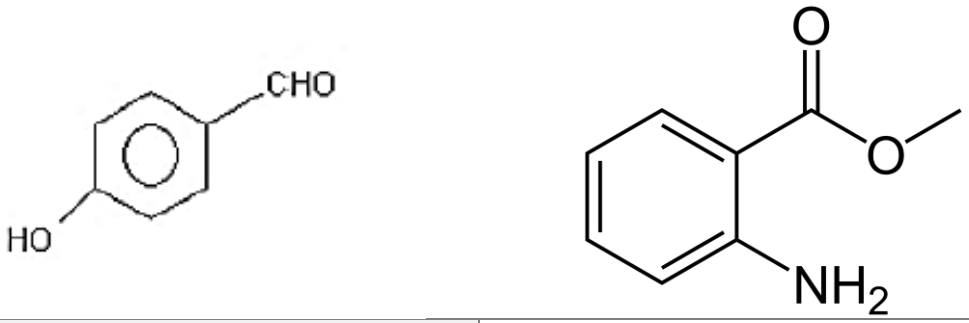
ويتلخص هذا التأثير في أنها مضادة للتشنج، السرطان، الحساسية، تسمم الكبد بالإضافة إلى فعاليتها المضادة للفيروسات والبكتيريا(عباس بن مرعاش،2012: ميثاق الجبر 2010)



الشكل 4 فلافونويد Flavonoid (بن ساسي حمزة،2018)

3-5/ الزيوت الطيارة Volatile oils :

هي عبارة عن مستخلصات زيتية سهلة التطاير عند تعرضها للهواء، لها طعم مستساغ ورائحة عطرية قوية، توجد داخل الأنسجة النباتية في أماكن تخزين خاصة مثل الشعيرات الغدية في العائلة الشفوية أو القنوات الزيتية في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية في العائلة السذبية، تمتاز بسهولة فصلها عن الأنسجة النباتية بواسطة طرق التقطير والاستخلاص المختلفة وقد تكون كل أجزاء النبات مصدرا للزيت الطيار أو في أجزاء منه فقط، لا تذوب في الماء ولكنها تذوب في المركبات العضوية كالكحول، الإيثر، الأستون والكلوروفورم (ميثاق الجبر،2010) . تستخدم على نطاق واسع كطاردة للغازات أومطهرة وتعمل على تورد البشرة واحمرارها بالإضافة إلى مفعولها المضاد للبكتيريا والجراثيم (بن ساسي حمزة،2018)

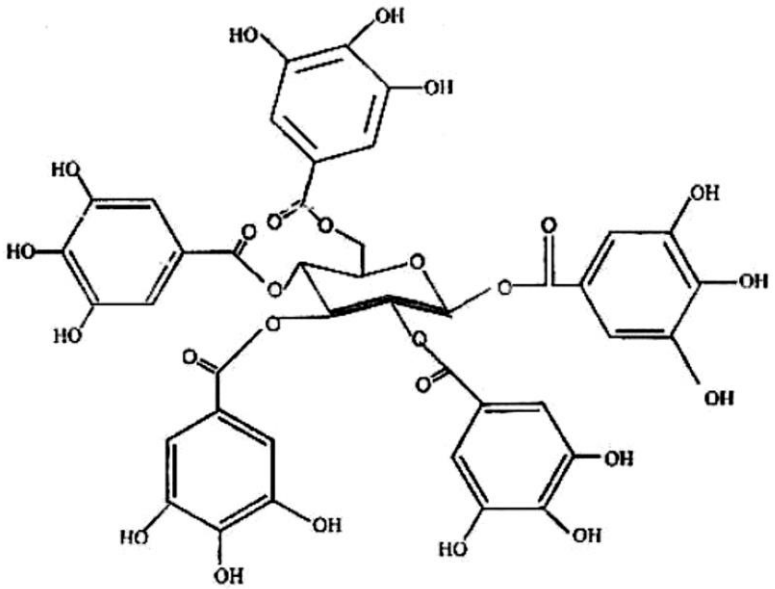


Vanillin	methyl Anthranilate

الشكل 5 بعض مكونات الزيوت الطيارة (بن ساسي حمزة،2018)

3-6/ التانينات Tanins :

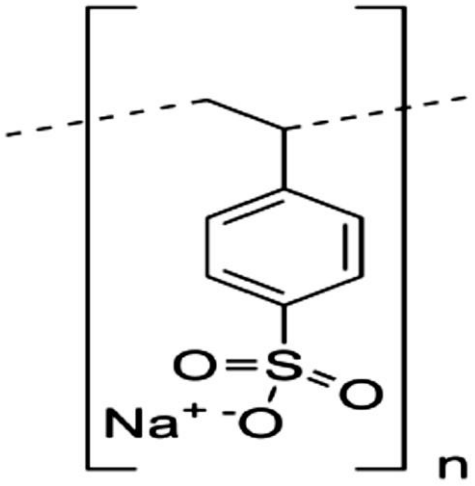
هي مركبات معقدة عديدة الفينول ذات أوزان جزيئية كبيرة، توجد بشكل رئيسي في لحاء النباتات وجذورها وأحيانا في الأوراق وقد توجد في الثمار غير الناضجة ولكنها تختفي تماما عند نضجها (الشكل 6) إذ تدخل في تركيب أدوية لمعالجة الإسهال، الالتهاب، الجروح والحروق، تستخدم صناعيا كمواد دابغة للجلود كما تشكل أحد مصادر الطاقة التي يحتاجها النبات لإتمام عملية الأيض حيث تتمتع بخواص مطهرة حيث تقي النبات من الأمراض البكتيرية، الفطرية والفيروسية وتتحدد قابلية ذوبانها في الماء بوزنها ودرجة بلمرتها وعادة ما يستخدم الأستون أو الماء أو الميثانول لاستخراج مركباتها (بن ساسي حمزة ،2018)



الشكل 6: Tanine Galique (بن ساسي حمزة،2018)

3-7/ الراتنجات Resin :

هي مواد ذات تركيب كيميائي معقد تتكون من كربون وأكسجين وهيدروجين وتنتج عن أكسدة أنواع مختلفة من الزيوت العطرية وتفرز في قنوات أو فجوات داخل النبات، يطلق عليها في كثير من الأحيان اسم الصموغ ، من فوائدها أنها مطهرة ومعقمة للمياه(المنظمة العربية للتنمية الزراعية،1988: بن ساسي حمزة،2018)



الشكل 7 :بوليستيرينسلفونات الصوديوم (بن ساسي حمزة،2018)

4- المواد النباتية المستعملة في الدراسة

الجدول 01: يوضح النباتات الطبية المستعملة

رقم المستخلص	العائلة النباتية	الاسم العلمي	الإسم العربي	الأسماء الشعبية	الوصف	الصورة
7	(شفوية) (*Lamiacées*)	*Rosmarinus Officinalis*	إكليل الجبل	حصى البان، وندى البحر، والروزماري، وحشيشة العرب، وإكليل النفساء، وعشب البوصلة، واليازير، والأزير.....	شجيرة طولها من 0.5 إلى 2 متر.	
2		*Thymus vulgaris*	الزعتر	سعتر أو صعتر	شجيرة كثيفة منتصبة ، يصل ارتفاعها إلى 40 سم ، مع سيقان متفرعة بشدة ، خشبية وملتوية عند القاعدة.	
5		*Thymus algeriensis*	الزعيترة	-	نبات صغير طوله بين(5-15)سم	

1	(Astéracées) (النجمية)	*Artemisia herba alba*	الشيح	لبعيثران، الشويلاء، حبق الراعي، شيح عذارى، عشبة النار، عُشبة الأقحوان، الشعيرية، الأفسنتين الصيني، الأفسنتين السويسرية، الأبسينثي هيربا، الشيح الشائع، الزنجبيل الأخضر أو الشيح الكبير.	نبات عشبي ذو سيقان خشبية متفرعة ومتفرعة بطول 30 إلى 50 سم	
3		*Artemisia Absinthium*	الشهيبة	الأبسَنت، أو الدمْسيسة، أو الشيح الرّومي، أو الخُترُق، أو شيح ابن سينا، أو شجرة مريم، أو شيبة العجوز، أو الشُوَيلاء.	شبه شجيرة صغيرة تنمو إلى ارتفاع ما بين 60 و 120 سم	
6		*Artemisia compestris*	الدقفت	الشعال، تگوفت، القفت، الشيح الحقلي	نبات شجيري معمر؛ الساق ناعمة اسطوانية تتفرع قرب سطح التربة	
4	(*Cupressacées*)	*Juniperus*	العرعار	–	لأشجار القصيرة إلى متوسطة الطول	

5- مستخلصات النباتات الطبية

5-1/ تعريفها:

هي المواد الكيميائية الفعالة الموجودة في النباتات وغالبا ما تكون من منتجات الأيض الثانوية أو على شكل مستخلصات مائية، كحولية، زيوت، مساحيق أو غيرها (محمد علي السهو،2020).

5-2/ بعض طرق الإستخلاص:

5-2-1/ الاستخلاص التقليدي بالمذيبات:

تعتبر طريقة الاستخلاص بالمذيبات التقليدية أكثر الطرق استخدامًا لاستخراج المركبات الفينولية، تستخلص هذه المركبات بعد تجفيف وطحن الأجزاء النباتية. وتعتبر المحاليل الكحولية هي أكثر المذيبات استعمالا ويكون النبات إما رطب أم جاف، لكن يستحسن استغلال النبات مجففا وذلك تفاديا للتفاعلات الإنزيمية التي قد تحدث تغيرات على المركبات المستخلصة. تنقع الأجزاء النباتية في المحلول المناسب لمدة لا تقل عن يوم واحد مع التحريك من حين إلى آخر بعدها يرشح ويتم تركيز المستخلص (الرشاحة) تحت ضغط منخفض حتى الجفاف وتعاد العملية عدة مرات إلى غاية التأكد من استخلاص أغلب المركبات الطبيعية. لتحسين هذه الطريقة يعتبر نوع وتركيز المذيب العضوي ودرجة الحرارة ومدة الاستخلاص وعدد دورات الاستخلاص مهمة جدا.

5-2-2/ طرق حديثة للاستخلاص بالمذيبات التقليدية:

تطورت تقنيات الاستخلاص فأصبحت ملاءمة للبيئة ومستخدمة لطاقة أقل واقتصادية لكمية المذيبات ومنتجة لمردود أعلى، هذه الطرق نذكرها كالآتي:

a) **الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية Ultrasonic assisted extraction:**

يعتبر استخدام الموجات فوق الصوتية تقنية ناشئة لاستخلاص المركبات الطبيعية. فغالبا ما يتم استخلاص هذه المركبات بالطريقة التقليدية التي تستغرق عدة ساعات. يسمح استخدام الموجات فوق الصوتية بتوفير الوقت في غضون دقائق ويعطي درجة نقاء أكبر للمنتوج النهائي، تؤثر

الموجات فوق الصوتية على مكونات المادة النباتية فتغير في خواصها الفيزيائية والكيميائية وتنشأ بها تجاويف مما يسهل في تحرير المركبات القابلة للاستخلاص عن طريق تخريب جدران الخلايا النباتية. يعتبر اختيار المذيب المناسب ودرجة الحرارة ومدة الاستخلاص والتردد وقوة الموجات فوق الصوتية عوامل مساعدة في زيادة كفاءة استخلاص المركبات الفينولية (Wang and Weller, 2006; Chemat and Khan, 2011).

b) الاستخلاص باستعمال جهاز الميكروويف Microwave assisted extraction:

تعمل هذه التقنية على سرعة تمزيق جدران الخلايا النباتية بزيادة سريعة في الضغط ودرجة الحرارة الداخلية. أثناء المعالجة بجهاز الميكروويف، فإن الحرارة تتسبب في تكسير الروابط الهيدروجينية الضعيفة للجزيئات، ويزداد الضغط داخل المادة النباتية مما يغير من الخصائص الفيزيائية للأنسجة البيولوجية، ثم تؤدي إلى زيادة مساميتها ودخول أحسن للمذيب وتسهيل استخلاص المركبات الفينولية، تعتبر نوعية المذيب وطاقة الميكروويف ومدة الاستخلاص عوامل هامة في نتائج الاستخلاص بجهاز الميكروويف (Inoue et al., 2010 ; Mandal et al., 2007)

c) الاستخلاص بواسطة السائل المضغوط Pressurized fluid extraction:

تعمل هذه التقنية بتطبيق درجات حرارة وضغط مرتفعين، تسمحان بزيادة إنتشار المذيب في المادة النباتية وزيادة إستخلاص الفلافونويدات. أثناء الاستخلاص تمتلىء الجيوب الهوائية في الأنسجة النباتية بالمذيب وبالضغط يخرج الهواء المسدود في الفراغات، فيتسبب في تلف غشاء الخلايا النباتية. تسبب هذه التقنية توتر شحنات الجزيئات وتكسير الروابط الكارهة للماء وتخريب البروتينات، مما يجعل الأغشية الخلوية أقل إنتقائية ويسهل استخلاص وخروج المركبات. من إيجابيات هذه التقنية أنها موفرة لكمية المذيب المستعمل ومقللة من أكسدة الفلافونويدات في غياب للأكسجين والضوء، لكنها تؤدي إلى تدهور بعض المركبات بسبب الحرارة المرتفعة (Routray and Orsat, 2012 ; Corrales et al., 2008)

d) الاستخلاص بالمياه دون الحرجة Subcritical water extraction:

تجرى هذه تقنية باستخدام الماء الساخن عند درجة حرارة تتراوح بين 100 و374 درجة مئوية تحت ضغط عالٍ من أجل الحفاظ على الحالة السائلة (نقطة الماء الحرجة: 22.4 ميجا باسكال و 374 درجة مئوية)، في مثل درجات الحرارة هذه يفقد الماء قطبيته، مما يسمح له بالعمل كمذيب لكل من المركبات القطبية وغير القطبية وجميع مركبات الفلافونويدات (Prasad et al.,2010).

e) الاستخلاص بواسطة ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج Supercritical CO2 extraction:

تتم هذه الطريقة باستخدام ثاني أوكسيد الكربون في درجة حرارة منخفضة مع غياب الضوء والأوكسجين. هذه التقنية تسمح بتجنب التحلل الحراري للمركبات الحساسة. ترتبط كفاءة هذه التقنية بدرجة الحرارة والضغط وتدفق ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج ووجود المذيب وفترة الاستخلاص (Diaaz-Reinoso et al.,2006).

يمكن أن يتم استخلاص المركبات الفينولية بمزج طريقتين أو أكثر من التقنيات السابقة، مما سمح بزيادة كفاءة ومردودية المستخلص (Shirsatha et al.,2012).

الفصل الثاني

البكتيريا و مقاومتها للمضادات الحيوية

معطيات سابقة حول الأحياء الدقيقة:

1-تعريف الكائنات الحية المجهرية:

تشمل الكائنات الحية المجهرية مجموعة متباينة من الكائنات تضم البكتيريا، الفطريات، الطحالب، الأوليات الحيوانية و الفيروسات. تتواجد في كل الأنظمة البيئية حيث عزلت من الينابيع الحارة ومن أعماق المحيطات ومن المناطق المتجمدة و من سطح و داخل جسم الإنسان...إلخ. تشكل 50% من الكربون و 70% من الآزوت الحيويين بالأرض (Michael and Burton, 2011).

2-تعريف البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة الحجم، مجهرية، تتواجد في كل مكان "الهواء، الماء، على جسم الإنسان، داخل مسالكه الهضمية و جهازه التنفسي" تستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من تغيرات درجة الحرارة أو غيرها من الظروف البيئية القاسية، و عند تحسن الظروف البيئية ترجع إلى نشاطها وحيويتها (د.محمد عبد المحسن معارج، 1995).

3- خصائص البكتيريا:

- البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح قدها بين 0.3-2 ميكرون.
- كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى.
- تتميز ببساطة التركيب فهي تتكون من:

- جدار و غشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا ADN و لا يحتوي على بروتين الهيستون، و قد يحتوي على واحد أو أكثر من جزيئلت ADN على شكل دوائر صغيرة نسمى البلازميدات و الرايبوزومات مع بعض الأجسام التخزينية.
- تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس، متماسك، متمم للبكتيريا، و هو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الإضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة.وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف الخلية تدعى capsule.

- درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37-45°م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة.(Pr. Emile de Lavergne, Jean-Claude Burdin, 1973)

4-معايير التصنيف الكلاسيكي للبكتيريا:

4-1/ من حيث توزيع الأسواط:(Courvalin.P.1992)

يمكن تقسيمها إلى :

- بكتيرا وحيدة السوط.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة: متجمعة عند طرف واحد.
- بكتيريا دات أسواط عديدة: موزعة على كل الخلية.

4-2/ من حيث الشكل:

- البكتيريا العصوية Bacilli: التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.
- البكتيريا الكروية Cocci: التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.
- البكتيريا الحلزونية Spiral: التي تأخذ الشكل الحلزوني.
- البكتيريا الواوية Vibrio : التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

4-3/ من حيث الوسط الذي تعيش فيه: (Courvalin .P. 1992)

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع :

- بكتيريا هوائية Aerobic: و هي التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي
- بكثيريا لاهوائية Anaerobic: و هي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء.
- بكتيريا لاهوائية إختيارية Anaerobic facultative: و هي البكتيريا التي يمكنها العيش و النمو، في ظل وجود الهواء أو غيابه.

4-4/ من حيث التغذية:(Courvalin .P. 1992)

- بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل الكربونمن تحليل المواد الذائبة كالسكر.

4-5/ من حيث طريقة التلوين GRAM:(Jorgensen. J.H., Ferraro .M. J. 1998)

يمكن توضيح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية GRAM نسبة للعالم J.GRAM المكتشفة سنة 1884، و استنبط نوعين من خلال هذه الطريقة:

- بكتيريا Gram positive: و يرمز لها بالرمز +GRAM عند تلوينها تمتص اللون و تظهر أرجوانية.
- بكتيريا Gram négative: و يرمز لها بالرمز -GRAM تحرر صبغ و تظهر باللون الوردي.
- يظهر جدار خلية البكتيريا موجبة الغرام (Gram positive) أسمك من جدار خلية البكتيريا سالبة الغرام (Gram négative) .

4-6/ من حيث الأثر على الإنسان:

1- البكتيريا النافعة Bactéries bénéfiques:

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في أمعاء الإنسان، تساعده في هضم الطعام، و تفرز موادا مفيدة للجسم، مثل الفيتامينات، و تعمل على تدمير البكتيريا الضارة. و هناك أنواع أخرى من البكتيريا تعيش في التربة، و تلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ تقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء، ليكون بمثابة عنصر أولي، يستطيع من خلاله النبات أن يكوَن البروتين، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، و كذا المواد العضوية المعقدة، و تحويلها إلى صور بسيطة تستفيد منها التربة و النبات و الحيوان. كما تستخدم البكتيريا في بعض الصناعات، كصناعة بعض منتجات الألبان و بعض الأدوية.

حديثا تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث (Robert-Dernmet. S. 1995)

2- البكتيريا الإنتهازية Bactéries opportunistes:

هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان دون أن تسبب له أي أضرار صحية، إلا أنها عند انخفاض مناعة جسمه لأي سبب من الأسباب، تقوم بمهاجمة الجسم، متحولة بذلك إلى بكتيريا ضارة. تسبب هذه الأنواع من البكتيريا العديد من الأمراض، و أكثرها شيوعا: إلتهاب الحلق و إلتهاب اللوزتين. (Robert-Dernmet. S. 1995)

3- البكتيريا الضارة Bactéries pathogènes:

كل بكتيريا تهاجم الإنسان، وتسبب له الأمراض و المشاكل الصحية،هي بكتيريا ضارة.

من بين الأمراض التي تسببها البكتيريا: السل ، الكوليرا، التيفوئيد، السعال الديكي، و الزهري و السيلان.(Robert-Dernmet. S. 1995)

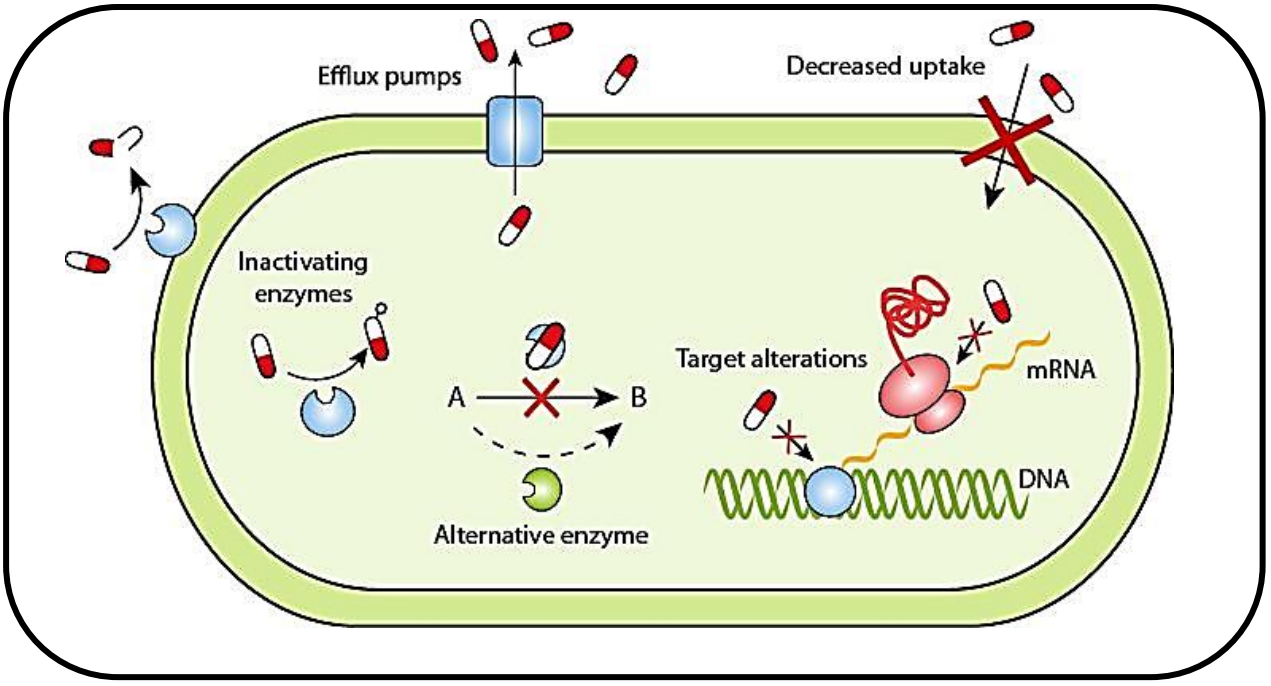
5- آليات مقاومة المضادات الحيوية الشائعة في البكتيريا

تعطل المضادات الحيوية الهياكل أو العمليات الأساسية في البكتيريا .وهذا بدوره إما يقتل البكتيريا أو يمنعها من التكاثر وقد طورت البكتيريا بدورها العديد من آليات مقاومة المضادات الحيوية لتَحمُل تأثير المضادات الحيوية حيث هناك طريقتان رئيسيتان لتتحمل تأثيرات المضادات الحيوية هما:

أ- الطريقة الاولى: وقف المضاد الحيوي من الوصول إلى هدفه من خلال:

- ضخ المضاد الحيوي من الخلية البكتيرية: يمكن أن تنتج البكتيريا مضخات توضع في غشاءها أو جدارها الخلوي، هذه المضخات المزعومة شائعة جدًا في البكتيريا ويمكن أن تنقل مجموعة متنوعة من المركبات مثل جزيئات الإشارة والمغذيات و يمكن لبعض هذه المضخات أيضًا نقل المضادات الحيوية من البكتيريا ، وبهذه الطريقة تقلل من تركيز المضاد الحيوي داخل الخلية البكتيرية ففي بعض الحالات يمكن للطفرات في الحمض النووي البكتيري أن تجعل البكتيريا تنتج المزيد من مضخة معينة ، والتي بدورها تزيد المقاومة.
- تقليل نفاذية الغشاء المحيط بالخلية البكتيرية: تغيرات معينة في الغشاء البكتيري تجعل المرور خلاله أكثر صعوبة و بهذه الطريقة يدخل القليل من المضادات الحيوية إلى البكتيريا.

- هدم المضاد الحيوي: هناك إنزيمات بكتيرية يمكنها تعطيل نشاط المضادات الحيوية وأحد الأمثلة على ذلك هو β-lactamase الذي يدمر المكون النشط لحلقة β-lactam من البنسلين ، وهو مضاد حيوي مهم للغاية لعلاج الالتهابات البشرية ففي السنوات اللاحقة أصبحت البكتيريا التي تنتج إنزيم بيتا لاكتامازات ممتدة الطيف ، والتي تسمى البكتيريا المنتجة لـ ESBL ، مُشكلة كبيرة .يمكن أن تحلل مجموعة واسعة من المضادات الحيوية بيتا لاكتام ، وأحيانًا تكون أيضًا الملاذ الأخير للأدوية المتاحة للعدوى بهذه البكتيريا.
- تعديل المضاد الحيوي : يمكن أن تنتج البكتيريا أحيانًا إنزيمات قادرة على إضافة مجموعات كيميائية مختلفة إلى المضادات الحيوية وهذا بدوره يمنع الارتباط بين المضاد الحيوي وهدفه في الخلية البكتيرية (Martínez,JL et Baquero,F,2014;Walsh.c,2000).



الشكل 8: استراتيجيات مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا.

ب- تعديل أو تجاوز هدف المضاد الحيوي من خلال:

- تمويه الهدف: يمكن للتغييرات في تكوين أو بنية الهدف في البكتيريا (الناتجة عن طفرات في الحمض النووي البكتيري) أن توقف المضاد الحيوي عن التفاعل مع الهدف و بدلاً من ذلك ، يمكن للبكتيريا أن تضيف مجموعات كيميائية مختلفة إلى البنية المستهدفة ، وبهذه الطريقة تحميها من المضاد الحيوي.
- التعبير عن البروتينات البديلة: بعض البكتيريا قادرة على إنتاج بروتينات بديلة يمكن استخدامها بدلاً من تلك التي يثبطها المضاد الحيوي، على سبيل المثال يمكن أن تكتسب بكتيريا Staphylococcus aureus جين المقاومة mecA وتنتج بروتينًا جديدًا مرتبطًا بالبنسلين .هذه البروتينات ضرورية لتخليق جدار الخلية البكتيرية وهي أهداف للمضادات الحيوية β-lactam. البروتين المرتبط بالبنسلين الجديد له صلة منخفضة بالمضادات الحيوية بيتا لاكتام وبالتالي فهو مقاوم للأدوية ، وتبقى البكتيريا على قيد الحياة .هذا النوع من المقاومة هو الأساس فيMRSA المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين .
- هدف إعادة البرمجة: يمكن للبكتيريا أحيانًا أن تنتج نوعًا مختلفًا من البنية التي تحتاجها و على سبيل المثال، تصنع البكتيريا المقاومة للفانكومايسين جدارًا خلويًا مختلفًا مقارنةً بالبكتيريا الحساسة .المضاد الحيوي غير قادر على التفاعل مع هذا النوع من جدار الخلية.

بعض البكتيريا مقاومة بشكل طبيعي لبعض المضادات الحيوية على سبيل المثال نفرض أن مضادًا حيويًا يدمر جدار الخلية للبكتيريا، إذا لم يكن للبكتيريا جدار خلوي ، فلن يكون للمضاد الحيوي أي تأثير، هذه الظاهرة تسمى المقاومة الجوهرية و عندما تتطور مقاومة البكتيريا التي كانت في السابق عرضة للمضادات الحيوية ، فإنها تسمى المقاومة المكتسبة

.(Martínez,JL et Baquero,F,2014;Walsh.c,2000)

6-تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب أو كبحه، و قد يكون مفعول المضاد الحيوي على الغلاف الخارجي للميكروب Paroi cellulaire، أو الغلاف الداخلي Membrane cellulaire ، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين Synthèses des protéines.

(Guerin-Faublée. V., Carret .C. 1999)

6-1/ العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا:

حيث يقوم المضاد الحيوي بوقف تركيب الجدار الخلوي ، و ذلك بتثبيط إنزيم Transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب Peptidoglycane ومنه يوقف نمو و عمل البكتيريا و يمكن أن يشمل ذلك تدميرها (Guerin-Faublée. V., Carret .C. 1999).

❖ نذكر بعض الأمثلة عن هاته المضادات الحيوية:

البنسيلين Pénicilline ، سيفلوسبورين Céphalosporine ، فانكوميسين Vancomycine ، سيكلوسبيرين Cyclosporine

6-2/ العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

إن المضاد الحيوي له خواص سطحية تمكنه من تخريب عمل نفادية الغشاء الداخلي(زيادة غير طبيعية)، و يسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا، مثل؛ Polymyxines Lipopeptides cycliques (Guerin-Faublée . V., Carret .C. 1999)

6-3/ العمل على تثبيط نمو ال ADN:

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN ، حيث يقوم بتثبيط النمو الأيضي ل ADN البكتيريا (Guerin-Faublée. V., Carret .C. 1999) .

7-السلالة البكتيرية المستعملة:

البكتيريا التي خضعت لهذه الدراسة هي *Pseudomonas aeruginosa* وقد تم القيام باختبار تأثير بعض المستخلصات النباتية على هذا الجنس من البكتيريا لأنه من بين أكثر الأنواع البكتيرية المسببة لكثير من الأمراض التي تصيب الإنسان.

7-1/ البنية المورفولوجية:

هي عصيات سالبة الجرام ، هوائية صارمة تستخدم الأوكسجين كمستقبل نهائي للإلكترون ، مستقيمة أو منحنية قليلا قطرها يتراوح ما بين 0.5 إلى 1 ميكرومتر، غير مشكلة للأبواغ، قادرة على الحركة بفضل وجود بعض الأسواط القطبية (لديها سوط واحد أو أكثر)، تعيش في حرارة تتراوح ما بين (4-45°C) (Palleroni et Moore,2004)، بعضها يستخدم الهيدروجين كمصدر للطاقة،لا تحتاج عوامل نمو لتتكاثر كما يمكن أن تستخدم مصادر كثيرة للكربون(Salifou et al.,2013).

7-2/ التصنيف العلمي:

المملكة: Bacteria

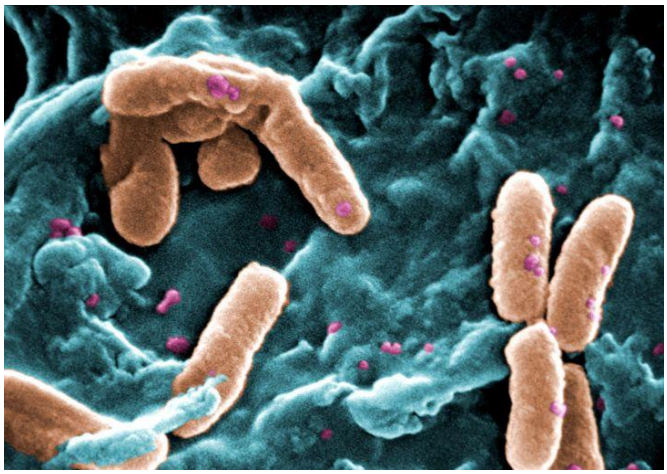
الشعبة Gammaproteobacteria

الرتبة: Pseudomonadales

العائلة: Pseudomonaceae

الجنس: Pseudomonas

النوع: *Pseudomonas aeruginosa*



الشكل 9: *P. aeruginosa* بالمجهر الإلكتروني

7-3/ أماكن تواجدها:

تتواجد هذه البكتيريا في التربة، المياه، النباتات، الجلد، و معظم البيئات سواء الطبيعية أو الإصطناعية ، و تتواجد في جميع أنحاء العالم، تزدهر هذه البكتيريا في الأجواء الطبيعية، بل أيضا في الأجواء قليلة الأوكسيجين، و في البيئة الحيوانية تتغذى على مجموعة واسعة من المواد العضوية (S. Mans, S. Canouet ,2008).

7-4/ مقاومتها للمضادات الحيوية:

Pseudomonas aeruginosa لها مقاومة طبيعية للمضادات الحيوية بسبب نفاذية جدار الخلية المنخفضة، كما أن لديها القدرة الذاتية أو المكتسبة للتعبير الجيني عن العديد من آليات مقاومة المضادات الحيوية "بيتالاكتماز ،مضخة التدفق، عدم نفاذية الغشاء" (Mehdi et al.,2014)

7-5/ الأمراض التي تسببها هذه البكتيريا:

- الإلتهابات الرئوية في المستشفيات، الإلتهابات الجلدية، البولية، إلتهابات العين، تجرثم الدم (Bodey et al.,1993).
- من أعراض أمراضها تعفن الدم، و إن كان انتشارها يحدث في أجهزة الجسم الحيوية مثل الرئتين أو المسالك البولية أو الكليتين ويمكن أن تكون قاتلة نظرا لكونها تتغذى على السطوح الرطبة.
- تعتبر من مسببات طفح الحمام الحار الجلدي، و هي أيضا قادرة على تحليل المواد الهيدروكربونية و قد استخدمت لتكسير القطران و النفط عند حدوث تسرب في النفط

(Cryz S., et al, 1984).

- تعتبر السبب الأكثر شيوعا لإلتهابات جروح الحروق للأذن الخارجية (إلتهاب الأذن الخارجية)، يمكن للزائفة أن تنتشر عن طريق المعدات الطبية الملوثة و التي لم تحصل على تنظيف صحيح أو عن طريق أيدي العاملين في مجال الرعاية الصحية (De Kievit,D. et al , 2001)، كما يمكن للزائفة أن تسبب في الإلتهابات الرئوية المكتسبة من المجتمع، فضلا عن الإلتهابات الرئوية

المرتبطة بالتنفس الصناعي، حيث أنها واحدة من أكثر العوامل المسببة المعزولة في العديد من الدراسات (Poole, K. 2001) (Rada B, Lekstrom K, Damian S, Dupuy C, 2008).

- مرضى التليف الكيسي مهيئون للإصابة بالزائفة الزنجارية في الرئتين، و بما أن هذه البكتيريا تحب البيئات الرطبة، مثل أحواض المياه الساخنة و حمامات السباحة، فالزائفة الزنجارية قد تكون سبب شائع لطفح الحمام الساخن (إلتهاب الجلد) وإلتهاب الأذن الخارجية "أذن السباح" الناتج عن قلة الاهتمام المناسب و الدوري لنوعية المياه (De Kievit,D. et al , 2001)

تقنيات الدراسة:

❖ **تقنية Aromatogramme:**

هي تقنية تم إنشاؤها في عام 1973 بواسطة GIRAULT، بناءً على تقنية المضاد الحيوي (Antibiogramme)، والتي تساعد على قياس القوة المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية في المختبر (RENOUL H-A. Le Docteur Valnet, 2014)(DA SILVA F. 2010).

❖ **المبدأ مشابه لمبدأ المضاد الحيوي:**

يتم زرع بكتيريا ممرضة معينة في أجار وتوضع هناك أقراص من ورق وتمان مبللة بالمستخلص النباتي، بعد الحضانة تتم ملاحظة هالات التثبيط، والتي يقياس قطرها لتحديد القوة المضادة للبكتيريا لكل مستخلص نباتي.(RENOUL H-A. Le Docteur Valnet, 2014).

❖ **تقنية Antibiogramme:** (BEN HAJ K. A., KHEDHER. M; 2010)

هي تقنية مخبرية تقيس قدرة المضاد الحيوي على تثبيط نمو البكتيريا "في المختبر". ولذلك فهو يوفر معلومات أساسية عن مدى حساسية العوامل البكتيريا الممرضة للمضاد الحيوي. هناك عدة طرق لإجراء هذا الإختبارمنها:

- تقنيات في وسط سائل (في أنبوب ، في صفيحة ميكروسكوبية).
- تقنية الاجار الصلب(الزرع).

❖ **تعريف CMI:**

يُعرَّف CMI على أنه أقل تركيز للمضادات الحيوية المثبطة من 18 إلى 24 ساعة ، يثبط تكاثر البكتيريا . (BERCHE P, et al ;1981)

❖ **تعريف CMB:**

يُعرَّف CMB بأنه أدنى تركيز لتدمير المضادات الحيوية للبكتيريا ، بعد 18ساعة من التلامس عند درجة حرارة 37° درجة مئوية . . (BERCHE P, et al ;1981)

الفصل الثالث

مواد وطرائق العمل

I. المواد المخبرية

1. المواد الكيميائية والأجهزة

من أجل دراسة التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية نحتاج إلى وسائل وأجهزة لضمان إجراء هذا البحث وهي :

الجدول 02: المواد الكيميائية والأجهزة المستخدمة

1	ورق واتمان Whatman
2	الأوساط المغذية
3	الحمام المائي لإذابة الأوساط المغذية الصلبة
4	الملقط
5	الحاضنة
6	جهاز الأوتوكلاف أو فرن التعقيم
7	محلول DMSO
8	الميثانول
9	الماء المقطر
10	جهاز قياس الكثافة الضوئية
11	أنابيب الإختبار
12	أطباق بتري
13	ميزان
14	ثلاجة
15	طاحونة أعشاب
16	خلاط كهربائي
17	قمع الفصل
18	ماصات دقيقة بأحجام مختلفة
19	ماصات باستور
20	غربال 200 ميكرومتر

المواد النباتية :

تتمثل في سبعة أنواع مختلفة هي : الشيح *Artemisia herba alba* ، الزعتر *Thymus vulgaris* ، الشهيبة *Artemisia Absinthium* ، العرعار *Juniperus communis*، الزعيترة *Thymus algeriensis* ، الدقفت *Artemisia compestris*، إكليل الجبل *Rosmarinus Officinalis* .

البكتيريا:

تتمثل في النوع: ***Pseudomonas aeruginosa***

المرجع: معزولة

المصدر: مستشفى 240 سرير الأغواط

II. الطرق

a) العينات النباتية

تم الحصول على عينات نباتية جافة وسليمة للأجزاء الهوائية مقطوفة خلال الفترات الزهرية لحياة النبات وهذا بمساعدة العشابين وقطفها من منطقة الأغواط ، تعرضت العينات للتجفيف في ظروف تيار هوائي جاف تحت الظل من أجل تجفيفها.

b) محطات الدراسة:

قُطفت العينات من بيئات محلية "الأغواط" ، تمتاز بطابق بيومناخي شبه جاف ونسبة تساقط قليلة .

الشكل 10: ولاية الأغواط - الجزائر

c) إختيار العينات النباتية :

كان الاختيار حسب ما هو متداول لدى العشابين وكثرة الإستعمال المنزلي.

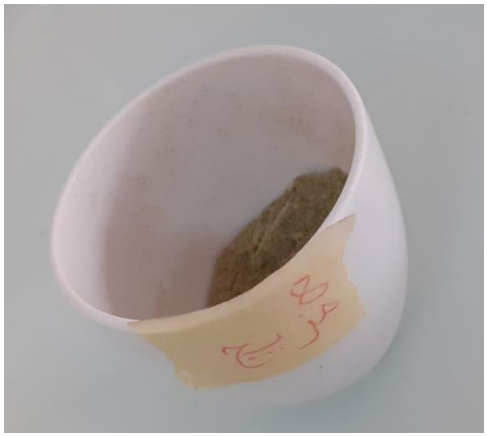
d) تحضير المستخلصات :

تم استخدام طريقة الإستخلاص بالمذيبات العضوية: Extraction par solvant organique

حيث قمنا بسحق كل نوع نباتي في آلة طحن ، للحصول على مسحوق قَدُ حبيباته 200 ميكرومتر (الغربلة)

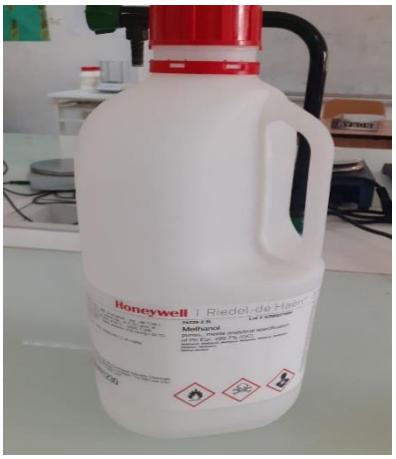
الشكل 11: صور الأعشاب الطبية المستخدمة

الشكل 12: صور الأدوات المستخدمة في الحصول على المسحوق



الشكل 13: المزيج المتحصل عليه

- أخذنا 1غرام من مسحوق كل نوع نباتي (من 1 الى 7) المختارة للدراسة .
- لتحضير الخليط (المستخلص 8) تم وزن كميات متساوية من كل مسحوق نباتي وقمنا بخلطها جيدا، ثم أخذنا 1 غرام من المزيج.



الشكل 14: المذيب العضوي "ميثانول"

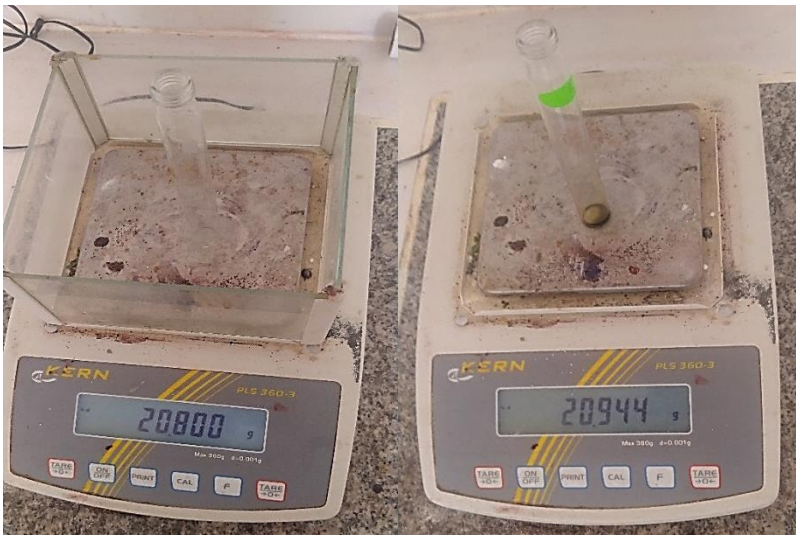
- يضاف إلى كل مسحوق (من 1إلى8) حجم 10مل من محلول الميثانول.
- يترك لمدة 72 ساعة في الظل وحرارة جو المخبر.
- ترشح المستخلصات في أنابيب إختبار ثم تجفف (فتح غطاء الأنبوب) لمعرفة مردود الإستخلاص بالنسبة لواحد غرام من النبتة .
- نضيف إلى المستخلصات الجافة 2 مل من مذيب DMSO
- قمنا بإستبدال المذيب "ميثانول" بالمذيب DMSO كون الميثانول له تأثير على نمو البكتيريا عكس المذيب DMSO .

الشكل 15: عملية الترشيح

e) حساب كتلة كل مستخلص

الجدول 03: كتلة كل مستخلص

المستخلصات	الكتلة mg
1	145
2	228
3	328
4	194
5	294
6	291
7	281
8	333



الشكل 16: حساب كتلة المستخلصات الجافة

f) حساب مردود الاستخلاص:

من أجل حساب مردود كل مستخلص نستخدم العلاقة التالية:

(كتلة المستخلص / كتلة النبات)*100

g) تحديد النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام تقنية Aromatogramme

1) تم تحضير وسط الزرع الصلب GN بإذابة 8 غرام من المسحوق في 1 لتر من الماء المقطر مع التسخين والخلط ثم يوضع في قنية زجاجية يتم تعقيمه قبل الإستعمال.

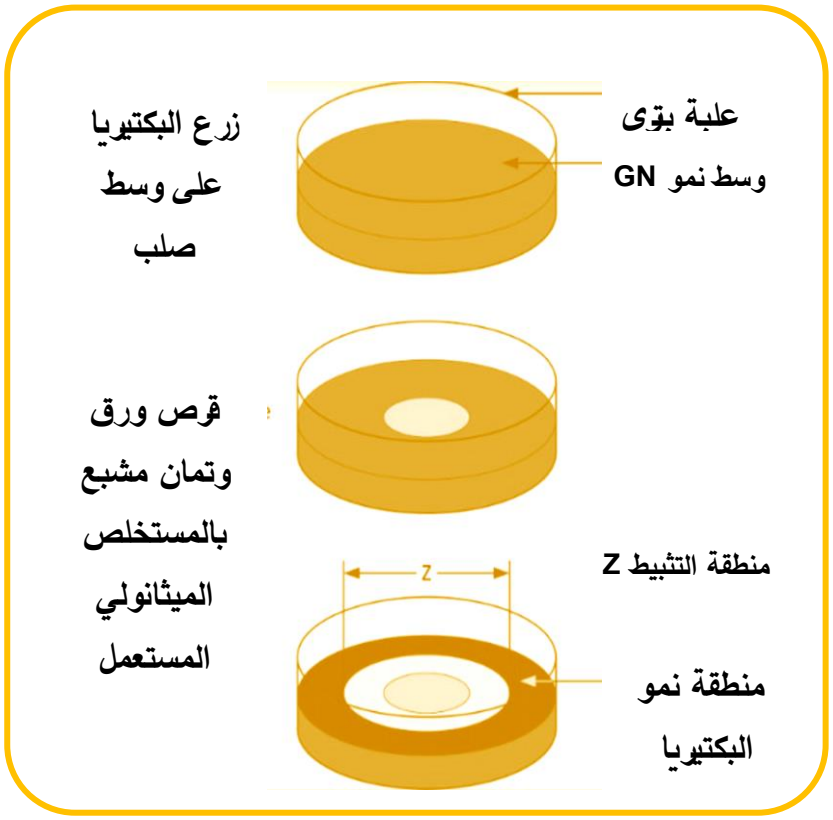
2) نفرغ الـ GN داخل علب بتري وتترك لتبرد.

3) نقوم بزرع البكتيريا في علب بتري

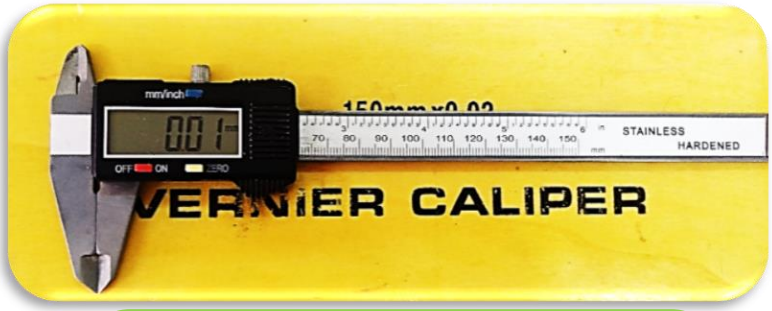
الشكل 17: تحضير الوسط المغذي الصلب GN

4) نوزع 8 أقراص ورق Whatman في محيط العلبة و قرص واحد في المركز (مثال في الشكل)

5) نضع حجم 10 ميكرولتر من كل مستخلص في الأقراص (من 1 إلى 8) و تم وضع نفس الحجم من المذيب DMSO في القرص المركزي.



الشكل 18: تقنية الإنتشار في الوسط الصلب



الشكل 19: جهاز قياس أقطار التثبيط

6) بعد 24 ساعة نقوم بقياس أقطار الإنتشار وقراءتها وفق المجال المرجعي.

h) تحديد تأثير المضادات الحيوية على السلالة المدروسة Antibiogramme :

تم هذا باستخدام 6 أنواع من المضادات الحيوية (R. BONNET, F.et al.,2012)، حيث وضعنا أقراص المضادات الحيوية في علب بتري المحضرة سابقا وقرائتها وفق قيم مرجعية خاصة بالسلالة البكتيرية المدروسة.

الجدول 04: رموز وأسماء المضادات الحيوية المستعملة

رمز المضاد الحيوي	IPM 10	TCC 75/10	CAZ	AZM 15	PRL 100	RIF 30
الإسم الكامل	إميبينيم سيلاستاتين Imipenem Cilastatin	تتراسيكلين Tetracycline	الأنهيدراز الكربوني anhydrase Carbonic	الأزيثرومايسين Azithromycin	بيبيراسيلين Piperacillin	ريفاميسين Rifampicin

i) تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI :

- تحضير وسط النمو السائل BN بإذابة 23 غرام في 1 لتر من الماء المقطر مع التسخين والخلط ، نضع كل 5 مل منه في أنبوب إختبار.
- تعقيم الأنابيب قبل الإستعمال.
- تحضير الشاهد لمختلف التجارب
- استخدمنا 4 أنابيب لكل مستخلص بتراكيز مختلفة

الشكل 20: جهاز الخلط الحراري

الشكل 21: أنابيب التراكيز المخففة

- في كل انبوب نضع 5 مل من BN و 10^8 من البكتيريا المستخدمة و المستخلصات بتراكيز مختلفة كما يوضحه الجدول التالي:

الجدول05: محتوى كل أنبوب اختبار

الأنابيب / المحتوى	الشاهد	1	2	3	4
BN مل	5	5	5	5	5
EX ملغ/مل	-	**3**	**2**	**1,5**	**0,75**
B ميكرولتر	10^8	10^8	10^8	10^8	10^8

بعد 24 ساعة نقوم بقياس شدة الامتصاصية "DO" بجهاز Spectrophotométre.

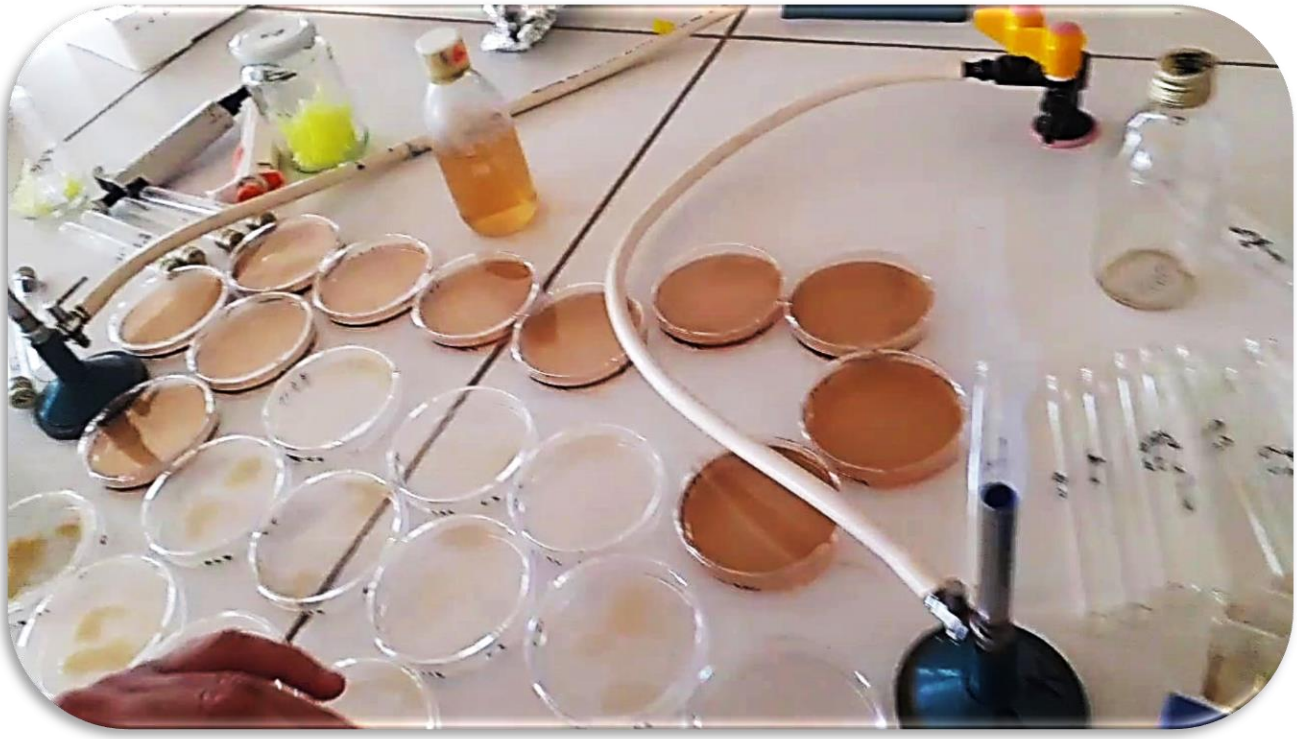
عند تسجيل هذه القيم نقوم بمقارنتها مع شدة الإمتصاصية في الوسط الشاهد والمقدرة بـ:

10^8UFC/ml ⟵ 01 " نانومتر""

الشكل 22: جهاز قياس الإمتصاصية مع العينات المحضرة للقياس

j) تحديد التركيز الأدنى القاتل CMB

- نأخذ أنبوب CMI لكل مستخلص .
- نزرع كل منها في الـ GN بتقنية Ensemencement en masse .
- نلاحظ النتائج بعد 24 ساعة .



الشكل 23: تقنية Ensemencement en masse

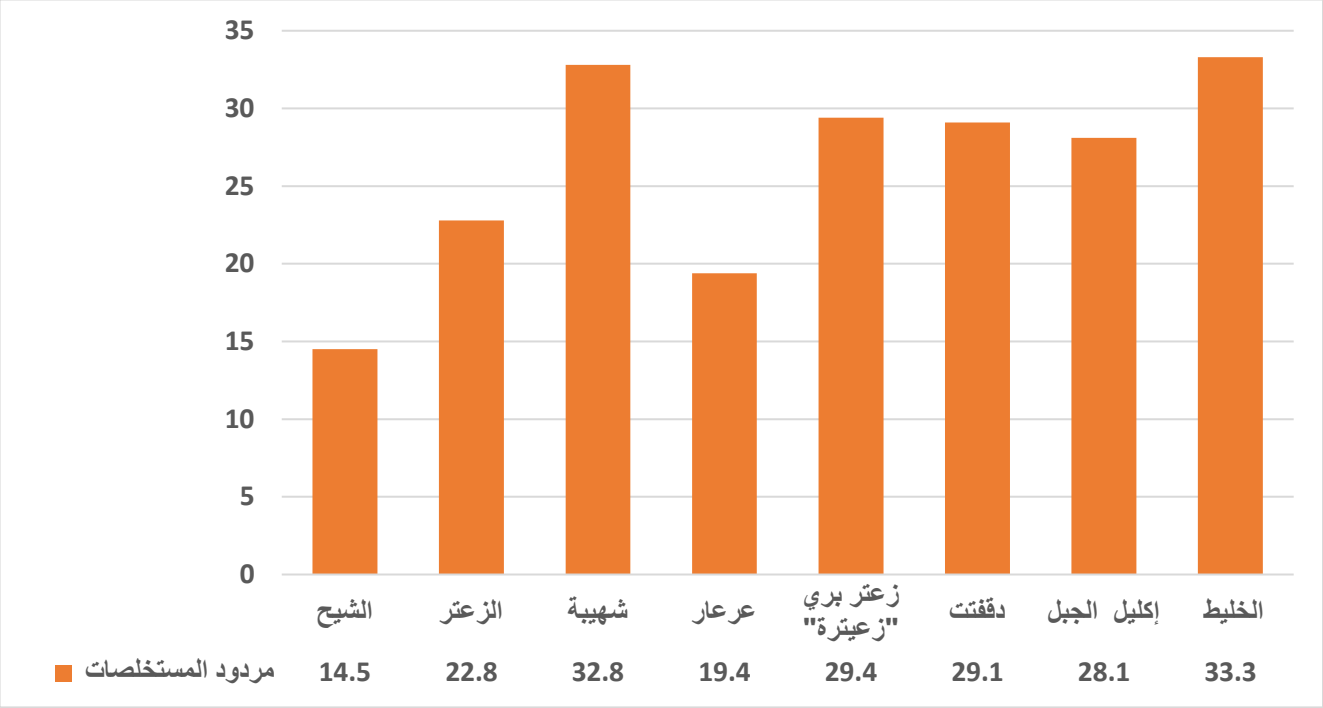
الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

1- مردود المستخلصات :

الجدول 06: مردود الاستخلاص عند كل نبات طبي مستعمل وللمزيج

المستخلص	1	2	3	4	5	6	7	8
النبات	الشيح	الزعتر	الشهيبة	العرعار	الزعيترة	الدقفت	أزير الجبل	خليط الأعشاب
مردود الإستخلاص	14,5%	22,8%	32,8%	19,4%	29,4%	29,1%	28,1%	33,3%



الشكل 24: أعمدة بيانية توضح مردود الإستخلاص لكل نبتة وللخليط

المناقشة:

من خلال قيم الموضحة في الجدول 06 والشكل 24 أعلاه لمردود الاستخلاص بمحلول الميثانول، فإننا نلاحظ ما يلي:

- مردود المستخلصات الفردية محصور بين أعلى قيمة 32.8% عند العينة النباتية 3 " الشهيبة" وأقلها قيمة لدى العينة 1 " الشيح" بـ 14.5%
- هناك تباين في مردود الإستخلاص عند أنواع الجنس الواحد مثلا: الشيح 14.5 % – الشهيبة 32.8 % الدقفت 29.1 % وهذا الإختلاف يعود لعوامل كثيرة داخلية وخارجية.

- مردود مستخلص الخليط (العمود 8) هو ذو قيمة اعلى من بقية المستخلصات الفردية بقيمة 33.3% ، هذا يدل على محلول الميثانول استخرج المحتوى الكلي لخليط العينات السبعة.

بمقارنة نتائجنا بدراسات سابقة نجد:

- بالنسبة لمستخلص نبتة الشيح فإن دراسة (Charif et Louizini, 2016) أعطت قيم 18.8% للمستخلص الميثانولي أكبر من القيمة التي تحصلنا عليها 14.5%
- أعمال (Ghouar et Sabeg, 2018) على عينات نبات الدقفت A.compestris، ولها قيمة 6.36-15.68% لعينات المستخلصات الميثانولية لمحطات أم البواقي وبوسعادة على التوالي أقل بكثير من القيمة التي تحصلنا عليها 29.1%

كل هذه الإختلافات تعود للأسباب الآتية:

- مردود المستخلصات الخامة النباتية يختلف حسب عدة عوامل مثل: نوع المذيب، درجة الحموضة، درجة الحرارة، فترة الاستخلاص، محتوى ومكونات العينة (Quy Diem Do et al, 2014)، وأن محتوى من المستخلص الخام الميثانولي هو عبارة عن مركبات الفينولات الكلية والفلافونويدات وكذلك مواد طبيعية أخرى (BÉKRO et al, 2007 ; Kebièche et al, 2011).
- الاختلافات في مردود الاستخلاص تعود لعوامل مختلفة، داخلية كالخصائص الوراثية للنبات وخارجية مثل الأصل الجغرافي، ظروف التخزين، الحصاد ومدته، طرق المعالجة وعمليات الاستخراج المطبقة.
- تعتمد إنتاجية الاستخلاص على نوع المذيب المستخدم ووقت الاستخلاص ودرجة الحرارة ونسبة العينة / المذيب بالإضافة إلى التركيب الكيميائي والخصائص الفيزيائية للعينات.
- العائد من الاستخراج الميثانولي أعلى نسبيًا من الاستخراج المائي، تستخدم المذيبات القطبية بشكل متكرر لاستخلاص البوليفينول من مصفوفة نباتية، أنسب هذه المذيبات هي الخلائط المائية (الساخنة أو الباردة) التي تحتوي على الإيثانول أو الميثانول أو الأسيتون أو أسيتات الإيثيل، تم استخدام الميثانول والإيثانول على نطاق واسع لاستخراج مركبات مضادات الأكسدة من نباتات مختلفة (Sultana et al., 2009)

- يعتبر زمن 72 ساعة بإستخدام مذيب الميثانول كاف لإستخلاص محتوى النبات (Khettaf et al., 2016)، لكنه قد يؤثر سلبا على محصول الاستخراج وهذا وفقًا لـ (Rhazi et al ، 2015)، بتسببه في تقليل إنتاجية المستخلص وهذا بسبب تحلل بعض المواد الطبيعية مثل الفينولات الكلية.
- ينتج طحن العينات مساحيق بجزيئات غير متجانسة وأصغر حجمًا، مما يسمح بتلامس السطح بشكل أفضل مع مذيبات الاستخلاص، هذه الطريقة مهمة لأنه لكي يكون الاستخراج فعالاً يجب أن يتلامس المذيب مع حجم جسيمات المسحوق لأقل من 0.5 مم وهو مثالي لاستخراج فعال (Azwanida, 2015)

2-الفعالية ضد البكتيريا:

تعتبر المركبات الطبيعية مهمة في حياة البشر لاستعمالاتها اليومية في الطب الشعبي ولفعاليتها البيولوجية والحيوية ضد نمو الكائنات الدقيقة الممرضة. نقوم في هذا الجزء بالبحث عن مدى أثر المستخلصات الميثانولية للنباتات الطبية المستخدمة على نمو البكتيريا الممرضة *Pseudomonas aeruginosa*. بعد قيامنا بالعمل المخبري الميكروبيولوجي قمنا بقراءة النتائج عن طريق قياس أقطار التثبيط، والتي تمثلها هالة واضحة تشكلت حول كل قرص مشبع المستخلصات الميثانولية.

يتم التعبير عن نتائج فعالية المستخلصات الميثانولية وفقًا لمستويات نشاط البكتيريا حسب قطر هالة التثبيط بالملمتر المعبر عنها بالحرف D وهي كالآتي(Ponce et *al*., 2003 ; Li et al., 2019):

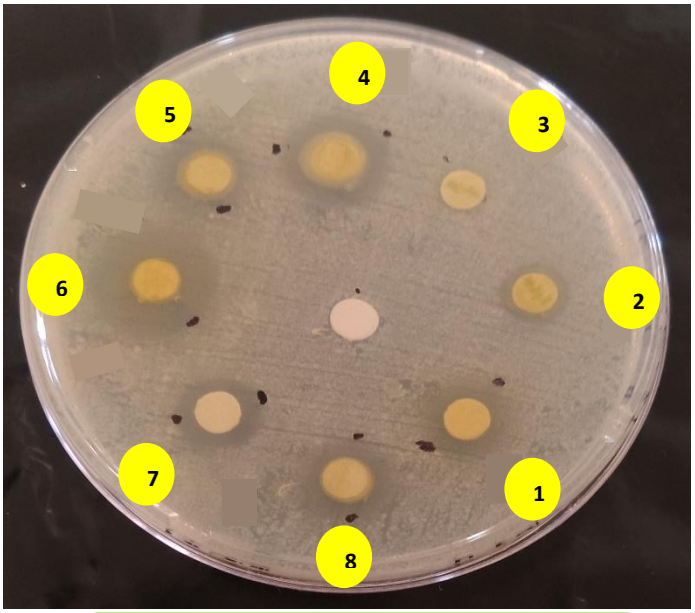
الجدول 07: المجالات المرجعية لتأثير المستخلصات النباتية على نمو البكتيريا

المجال	D < 8	14 >D >8	19 >D >15	D >2
الملاحظة	مقاومة	حساسة	حساسة للغاية	بالغ الحساسية

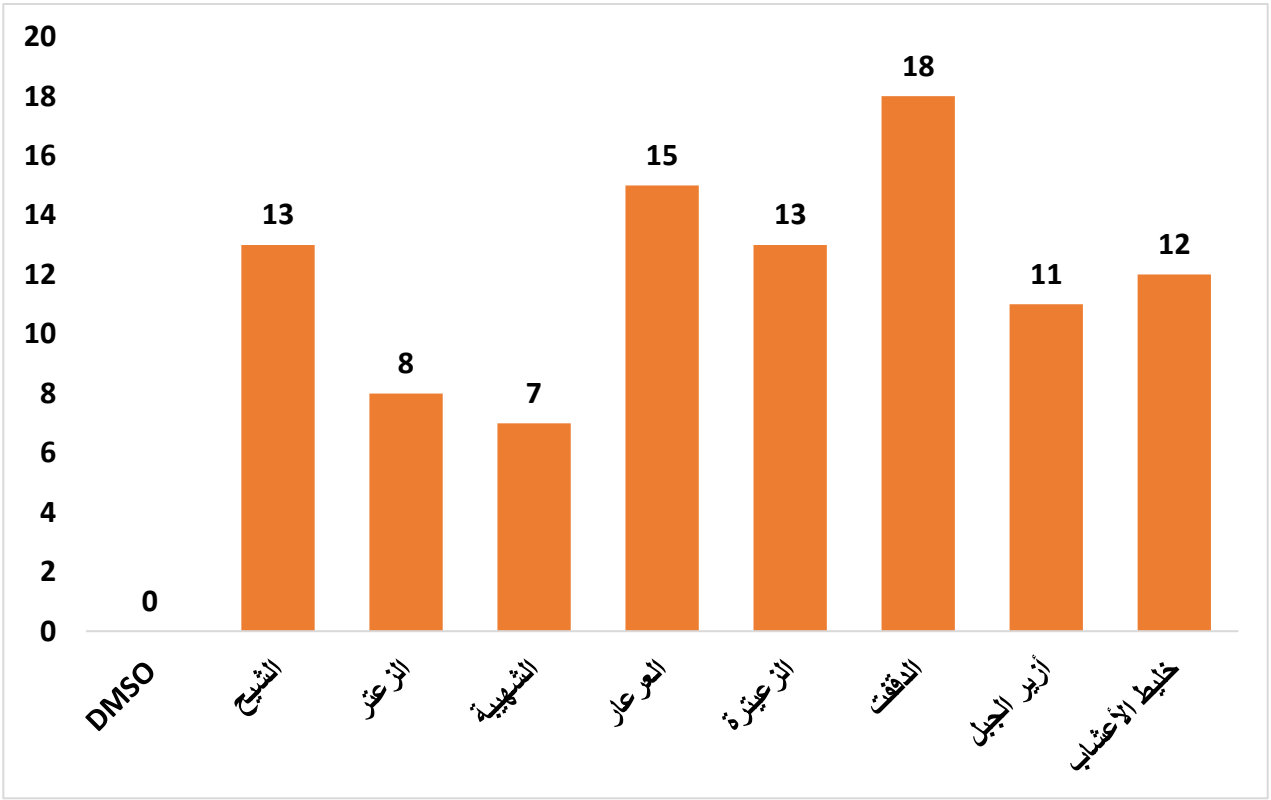
قمنا بوضع 10 ميكرولتر من كل مستخلص في قرص (ورق Whatman) من 1 إلى 8 و في القرص المركزي تم وضع 10 ميكرولتر من المذيب DMSO.

الجدول 08: قطر تثبيط كل مستخلص

قطر التثبيط بملم لـ *P. aeruginosa*	
–	DMSO
13	1- الشيح
8	2- الزعتر
7	3- الشهيبة
15	4- العرعار
13	5- الزعيترة
18	6- الدقفت
11	7- أزير الجبل
12	8- خليط الأعشاب



الشكل 25: هالة تثبيط كل مستخلص



الشكل 26: أعمدة بيانية توضح قطر التثبيط لجميع النباتات وللمزيج

المناقشة:

بعد قياس هالة تثبيط كل من المستخلصات السبعة والخليط تم تمثيلها بشكل منحنى بياني حيث يبين مايلي:

- مجال التثبيط كان محصور بين أكبر قيمة للمستخلص 6 وهو لنبات الدقفت بهالة تقدر بـ 18 ملم وأقل قيمة كانت للمستخلص 3 وهو نبات الشهيبة بهالة تقدر بـ 7 ملم
- المستخلصين 2 و3 للنباتين الزعتر والشهيبة على التوالي كان لهما تأثيرا ضعيفا في التراكيز المستعملة حيث أبدت البكتيريا مقاومة لهما، فأعمال (DÜLGER, BAŞARAN وجماعته،1999) على مجموعة من البكتيريا بما فيها نوع سلالة *Pseudomonas* بعدة مستخلصات من الأستون وكلوروفورم وأسيتات الأيثيل والإيثانول كانت النشاطية معدومة الهالة وأظهرت البكتيريا مقاومة شديدة. أما أعمال(Kordali ورفقائه 2005) والذين عملوا على عدة أنواع من Artemisia من بينها نبات الشهيبة A. absinthium وعلى مجموعة كبيرة من البكتيريا بما فيها عدة سلالات من *P. aeruginosa* فكانت هالة التثبيط غير مهمة في المجال 9-13 ملم. كما أن أعمال(Al-Bayati 2008) للمستخلصات الميثانولية والزيوت الأساسية على سلالات بكتيرية من بينها *P. aeruginosa* والتي أبدت مقاومة مهمة.
- المستخلصين 4 و 6 للنباتين العرعار والدقفت على التوالي لهما تأثير كبير جدا، حيث أبدت البكتيريا حساسية للغاية لهما حسب نفس المرجع وهذا يدل على قدرة تثبيطية عالية
- المستخلصات 1،5،7،8 للخليط، إكليل الجبل، الزعيترة والشيح على التوالي لها تأثير على البكتيريا حيث أبدت البكتيريا حساسية لهم، هناك توافق مع أعمال(Ayad وجماعته، 2022) حول أثر المستخلصات الفينولية، المثانولية، الإيثانولية والأسيتونية لنوع Artemisia herba-alba تظهر أنه كلما زاد التركيز قلت هالة التثبيط (8-13 ملم)

- المستخلص 8 الذي يمثل خليط الأعشاب كانت هالة التثبيط لديه 12 ملم وهي أقل بكثير من هالة تثبيط إحدى مكوناته مثل الدقفت الذي كانت هالة تثبيطه تقدر بـ 18 ملم وهذا يدل على وجود تأثير لنواتج الإستخلاص فخليط المستخلص قد يكون سبب إنخفاض وإنعدام فعالية التثبيط والتي تعود لمحتوى المركبات المانعة أو المثبطة لنمو بعض الأحياء المجهرية ولكن قسما منها قد يفقد قدرته التثبيطية خلال طرق الإستخلاص أو خزن المستخلص إضافة إلى إنخفاض هذه الفعالية أصلا في بعض المستخلصات النباتية أو خلال تفاعلات معينة، كما أن طريقة تحضير المستخلصات النباتية ومقدار تركيزيها يعتبر من العوامل المهمة والمؤثرة في الفعل التثبيطي في مستخلص (قيثار رشيد مجيد وصباح مالك حبيب الشطي، 2002).

3- مقاومة سلالة *Pseudomonas aeruginosa* للمضادات الحيوية

تم إختبار 6 أنواع مختلفة من المضادات الحيوية وكانت النتائج كالتالي:

الشكل 27: هالة تثبيط كل مضاد حيوي

الجدول 09: يوضح أنواع المضادات الحيوية المستعملة

رمز المضاد الحيوي	IPM 10	TCC 75/10	CAZ	AZM 15	PRL 100	RIF 30
الإسم الكامل	إميبينيم سيلاستاتين Imipenem Cilastatin	تتراسيكلين Tetracycline	الأنهيدراز الكربوني anhydrase Carbonic	الأزيثروميسين Azithromycin	بيبيراسيلين Piperacillin	ريفاميسين Rifampicin
قطر التثبيط	46,16	14,9	15,7	8,54	8,24	19,33
حساسية *P. aeruginosa*	حساسة للغاية	مقاومة	مقاومة	مقاومة	مقاومة	حساسة

المناقشة:

من خلال الجدول يتبين أن فعالية المضادات الحيوية ضد نمو بكتيريا الزائفة الزنجارية مهمة جدا حيث أنها تكون مقاومة إلى حساسة للغاية وهذا يتوافق مع المعيار الدولي لهالة التثبيط والموضح في الجدول الآتي : (R. BONNET, F.et al.,2012)

الجدول 10: المجالات المرجعية لتأثير مختلف المضادات الحيوية على نمو Pseudomonas aeruginosa

4. 2. *Pseudomonas aeruginosa*

4.2.1. Antibiotiques à tester (Tableau VIII)

Pseudomonas aeruginosa	
Liste standard	Liste complémentaire
Ticarcilline	Ticarcilline/ac. clavulanique
Pipéracilline	Pipéracilline/tazobactam
Ceftazidime	Céfépime
Imipénème	Doripénème
Méropénème	Nétilmicine
Aztréonam	Lévofloxacine
Gentamicine Tobramycine Amikacine	Sulfamides
	Fosfomycine
Ciprofloxacine	Rifampicine
Colistine	

4.2.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau IX)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L) S	R	Diamètres critiques (mm) S	R	Remarques
Ticarcilline Ticarcilline/ac. clavulanique Pipéracilline Pipéracilline/tazobactam	75 µg 75/10 µg 75 µg 75/10 µg	**≤ 16** **≤ 16/2** **≤ 16** **≤ 16/4**	**> 16** **> 16/2** **> 16** **> 16/4**	≥ 22 ≥ 22 ≥ 18 ≥ 19	< 22 < 22 < 18 < 19	Cf. règle (1).
Imipénème Méropénème Doripénème	10 µg 10 µg 10 µg	**≤ 4** **≤ 2** **≤ 1**	**> 8** **> 8** **> 4**	≥ 22 ≥ 22 ≥ 24	< 17 < 15 < 19	Une résistance isolée aux carbapénèmes correspond à une imperméabilité sélective associée à une hydrolyse par la céphalosporinase hyperproduite de l'espèce. Cette résistance n'est pas croisée avec les autres bêta-lactamines.
Aztréonam	30 µg	**≤ 1**	**> 16**	≥ 27	< 19	Cf. règle (2).
Ceftazidime Céfépime Cefpirome	30 µg 30 µg 30 µg	**≤ 8** **≤ 8** ≤ 8	**> 8** **> 8** > 8	≥ 19 ≥ 19 ≥ 19	< 19 < 19 < 19	Cf. règles (1) et (2).

Tableau IX (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L) S	R	Diamètres critiques (mm) S	R	Remarques
Tobramycine Amikacine Gentamicine Nétilmicine	10 µg 30 µg 15 µg (10 UI) 30 µg	**≤ 4** **≤ 8** **≤ 4** **≤ 4**	**> 4** **> 16** **> 4** **> 4**	≥ 16 ≥ 17 ≥ 16 ≥ 19	< 16 < 15 < 16 < 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	**> 4**			En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine en milieu liquide en cas d'utilisation thérapeutique (souche multirésistante). Interprétation valable pour polymyxine B.
Ciprofloxacine	5 µg	**≤ 0,5**	**> 1**	≥ 25	< 22	
Lévofloxacine	5 µg	**≤ 1**	**> 2**	≥ 20	< 17	Valable en cas d'utilisation à la posologie maximale
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.

Règles de lecture interprétative

Abréviations : TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; PIP, pipéracilline ; PTZ, pipéracilline + tazobactam ; AZL, azlocilline ; IPM, imipénème ; ATM, aztréonam ; CFZ, céfopérazone ; CPO, cefpirome ; FEP, céfépime ; CAZ, ceftazidime.
Les concentrations critiques définies correspondent à l'utilisation des doses maximales indiquées dans le RCP.

(1). Un résultat TIC ^{S} TCC $^{I/R}$ est en relation avec une céphalosporinase inductible ; il n'y a pas lieu de changer la catégorisation de la ticarcilline.

(2). Une synergie entre TCC et ATM et/ou CAZ et/ou FEP et/ou CPO permet la détection de certaines bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

4- تحديد قيم التركيز الأدنى المثبط CMI للمستخلصات النباتية :

لدينا :

0.1 نانومتر ← **10^8UFC/ml**

توضح هذه العلاقة التقدير الكمي للمستعمرات البكتيرية في الأنبوب عند الإمتصاصية 620 نانومتر

بعد حضن الأنابيب لحوالي 18 ساعة في 37C° تحصلنا على قيم "شدة الإمتصاصية" التالية :

الجدول 11: يوضح قيم التراكيز المستعملة و قيم CMI المستخرجة

		تراكيز المستخلصات الميثانولية ملغ/مل			
المستخلصات	الشاهد	0,75	1.5	2	3
الشيح	1.5	1,09	0.521	0.106	0.107
العرعار	1.5	1,02	0.740	0.105	0.104
الزعيترة	1.5	1,40	0.517	0.220	0.104
الدقفت	1.5	1,19	0.106	0.104	0.102
أزير الجبل	1.5	1,32	0.204	0.106	0.109
الخليط	1.5	1,07	0.108	0.107	0.106

المناقشة:

- تم إلغاء المستخلصين 2 و 3 نظرا لضعف تأثيرهما حسب القيم المرجعية، وقد يعزى سبب عدم الحساسية في أن تراكيزها غير كافية لإحداث التأثير المطلوب وقد يرجع لإنخفاض تراكيز المراد الفعالة إذ أن حساسية البكتيريا تزداد بزيادة التراكيز.
- يوضح الجدول أعلاه قيم الإمتصاصية الضوئية لنمو أو تثبيط نشاطية البكتيريا وإنقساماتها الخلوية تحت تأثير المستخلصات الميثانولية لنباتات الدراسة، تظهر كل القيم أنها أقل من

الإمتصاصية المرجعية للشاهد (1.5 نانومتر) وأنها تتناقص بتزايد تراكيز المستخلصات المستخدمة.

- إن إمتصاصية الأنابيب المستعملة كانت بعد حوالى 18 ساعة وهذا إنطلاقا من أول قياس في الزمن 0 المقدر بـ 0.1 نانومتر والتي يبنى عليها تحديد نقطة التركيز الأدنى المثبط للنمو (CMI) ، والتي ظهرت كالآتي حسب كل مستخلص:

- قيمة الإمتصاصية ظهرت مقاربة للشاهد عند أقل تركيز وهي واضحة جدا بالنسبة لمستخلص الزعيترة وأزير الجبل 1.40 و 1.32 على التوالي.
- قيم (CMI) عند كل المستخلصات ماعدا مستخلص الزعيترة كانت متمثلة في المجال من 1.5 إلى 2 ملغ/مل.
- قيمة (CMI) للخليط مماثلة لقيمة (CMI) لنبتة الدقفت (1.5 ملغ/مل) والذي يمكن أن يتدخل بنسبة كبيرة في فعالية مستخلص الخليط.
- قيم (CMI) تختلف بين أنواع نفس الجنس مثلما هو واضح بين نوعي الشيح والدقفت، وكذا الزعيترة وأزير الجبل وهذا يدل على إختلاف المحتوى الفيتوكيميائي للمستخلصات لدى نفس الجنس وهذا ماكان واضحا في نتائج المردود والنشاطية في تقنية الإنتشار في القرص الصلب.

إن مقارنة نتائجنا الموضحة في الجدول11 مع نتائج أعمال سابقة من حيث قيم التثبيط الأدنى CMI وCMB تكون كالآتي حسب النوع المدروس:

- بالنسبة لنوع الدقفت A. compestris فقد عمل (Bnouham et al 2002) على مجموعة من النباتات الطبية المغربية في معالجة داء السكري، حيث كان عملة على معاينة تأثر مجموعة من السلالات البكتيرية من بينها P.aerugenosa حيث كانت قيمة 0.5 مغ/ملل ممثلة لحدود CMI

•درس (Naili et al. 2010) النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات الدقفت على العديد من السلالات من *Staphylococcus aureus* و

Escherichia coli و *Pseudomonas aeruginosa* ، فأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هذا المستخلص له تأثير مثبط على جميع البكتيريا المدروسة. وفي الاختبارات الكيميائية النباتية لـ A. campestris.، أظهر الباحث على وجود مركبات الفلافونويد الفينولات الكلية والصابونين ومادة العفص.

- يمثل المستخلص الميثانولي قيمة إنتاج 14.5% لنبات الشيح وهي مقاربة جدا لأعمال (Bilal et Abdelatif 2016) حيث كشفت اختباراتهما الكيميائية النباتية عن وجود الصابونين و الفلافونويدات و التانينات و التربينويدات كما أظهرت نتائج هذه الدراسة قدرة عالية للمستخلصات القطبية المضادة للجراثيم (خاصة الميثانويك) وسعة أضعف للمستخلصات غير القطبية، وافقت نتائجنا أن مستخلص الشيح Artemisia herba alba لها تأثير مثبط كبير بـ CMI 2مغ/ملل على *Pseudomonas aeruginosa* وهذا وافق أعمال (Bilal et Abdelatif 2016).

- بعد حضانة وسط الاسترزاع (18 ساعة عند 37 درجة مئوية) ، كل قرص محاط بمنطقة تثبيط نمو البكتيريا: يتوقف تكاثر الكائنات الحية الدقيقة حيث يوجد تركيز أعلى من المضادات الحيوية أو المستخلصات النباتية في أجار. .يتم قياس قطر تثبيط نمو البكتيريا حيث يتم استنتاج القيمة التقريبية لـ MIC للعامل المضاد للميكروبات مقابل السلالة المدروسة (Toudert, 2011) ، حيث نتائجنا لهالة التثبيط (13 ملم) ليست بالبعيدة لنتائج (Bilal et Abdelatif 2016) بقيمة 17 ملم.

- بالنسبة لنوع الدراسة العرعار *Juniperus communis* والتي أظهرت نتائج CMI موافقة لنوع الشيح، كما أن نتائج التحليل الكمي للمركبات الفلافونويدية والفينولات الكلية مهمة القيمة أما التشاطية ضد البكتيرية ضد مجموعة من السلالات من بينها *P. aeruginosa* ذات فعالية جيدة وخاصة للأجزاء الورقية للنبتة (Mahmutović et al., 2017).

- بالنسبة للزعيترة وأزير الجبل فهما بقيم CMI مهمة فجنس Thymus ذو أهمية بالغة في النشاطية ضد البكتيرية فالدراسة التي قام بها (Rezzoug et al. 2019) على نوع أزير الجبل للمستخلصات الإيثانولية أن قيم CMI للبكتيريا P. aeruginosa عالية بالنسبة لسلالات التجربة، كما أن نتائجه أظهرت تساوي مع مستخلصات الزيت الأساسي.

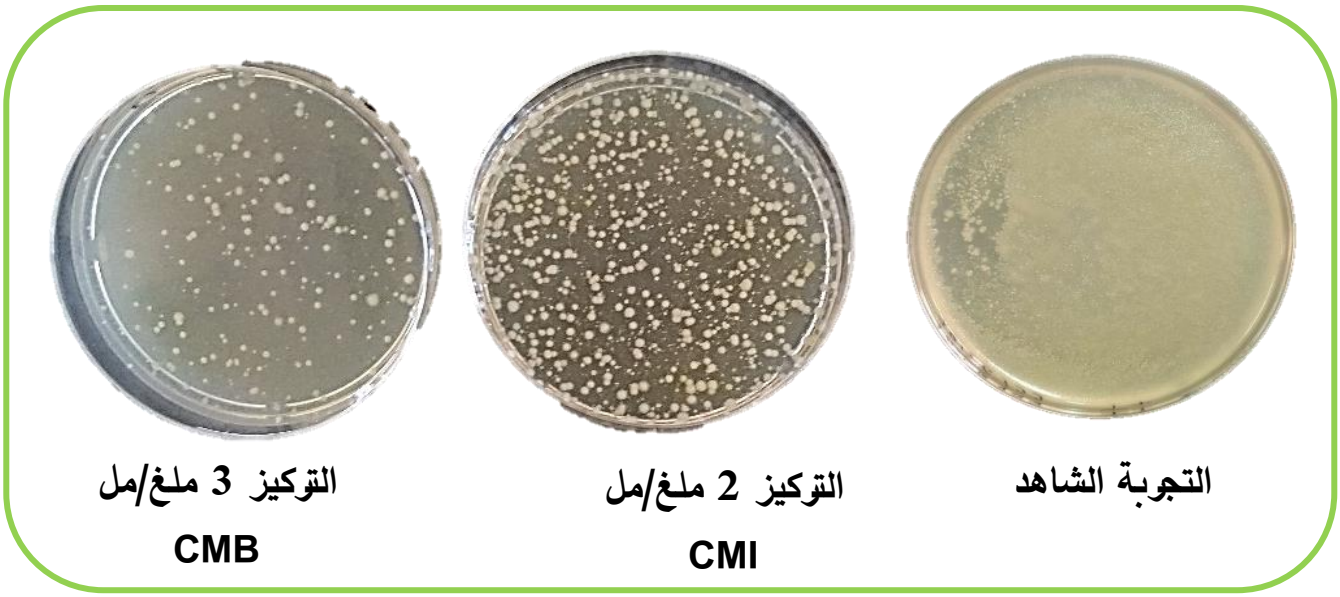
- بينت أعمال (Messaoudi et al. 2019) على نوع الزعيترة T. algeriensis أن مسافة هالة التثبيط مقدرة بـ 16.5 ملم وهي مقاربة لقيم هالة التثبيط لدراستنا13 ملم، كما تكون متقاربة مع التركيز الأدنى للتثبيط لنتائجنا، وهذا مبين مع أعمال ,.Sökmen et al) (2004 حيث بين أن CMI لنوع Thymus spathulifolius للمستخلصات الميثانولية تقدر بـ 500 ملغ/مل مع منطقة تثبيط 12 ملم، مع كمية هامة من الفينولات الكلية.
- قد لا تكون الفعالية المثلى للمستخلص ناتجة عن مكون نشط رئيسي، ولكن قد تعود للعمل المشترك (التآزر) لمركبات مختلفة في أصل هذا المستخلص .عند فصلهم ، يصبحون غير نشطين بشكل فردي ويتم تفسير ذلك من خلال حقيقة أن النباتات تنتج مجموعة متنوعة هائلة من الجزيئات الصغيرة المضادة للميكروبات مع مجموعة واسعة من الهياكل (Fertout-Mouri et al.؛2016 ،Benyagoub et al.,2016)
- من خلال التآزر بين خليط المركبات الفينولية الموجودة في نفس المستخلص والتي لا تعتمد فقط على تركيزها ولكن أيضًا على هيكلها (Zbadi et al., 2018) فربما يرجع ذلك إلى وجود مواد ذات قطبية منخفضة في المستخلصات الميثانولية الممنوحة لهذا النشاط والتي يمكن أن تعمل بالتآزر مع المواد القابلة للذوبان في الماء.
- إن الارتباطات الإيجابية التي تم إستنتاجها بين إجمالي الفينولات والفلافونويدات في مستخلصات المرحلة الخضرية وكذلك البروتينات وإجمالي السكريات في مستخلصات مرحلة التزهير وحساسية السلالات المسببة للأمراض ستعزى إلى التأثير الفردي و / أو التآزري للأنشطة البيولوجية يتم تحقيقها من خلال مزج هذه المركبات الفردية في خليط (Tiwari et al., 2009)

5- تحديد CMB لكل مستخلص

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 1 لنبات الشيح

الشكل 28: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الشيح 1

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 4

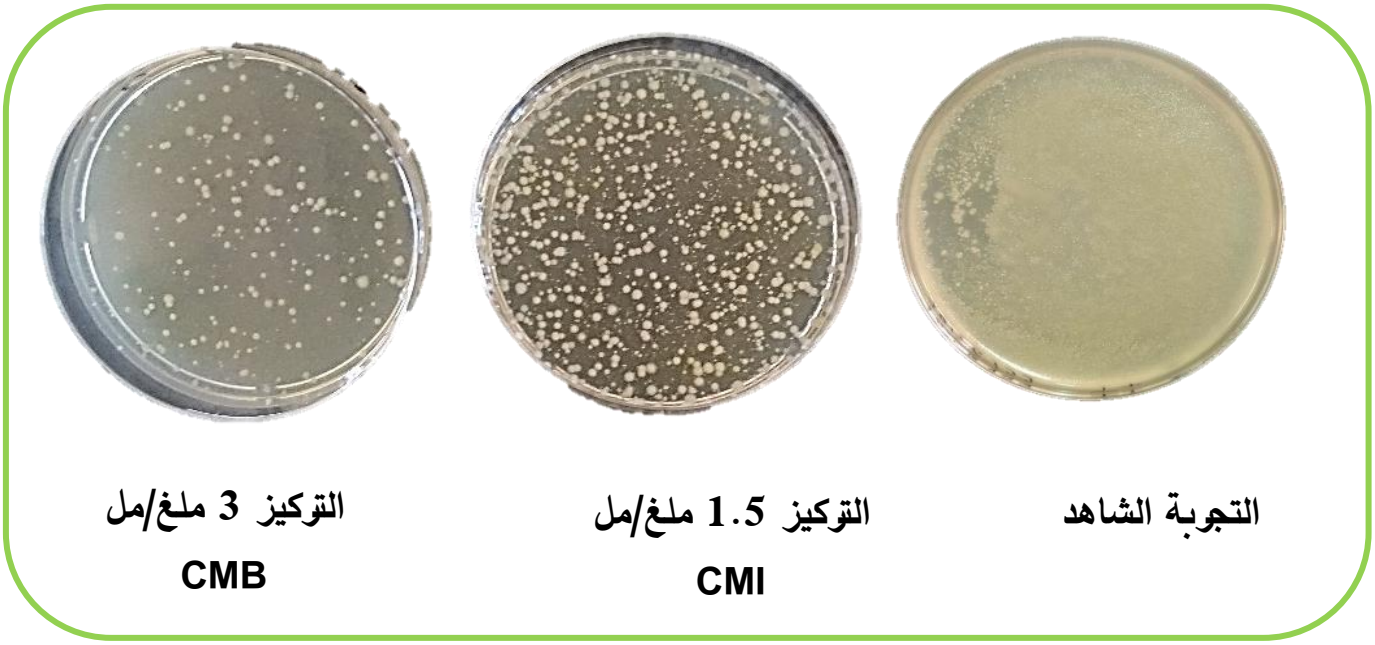


الشكل 29: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات العرعار 4

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 5

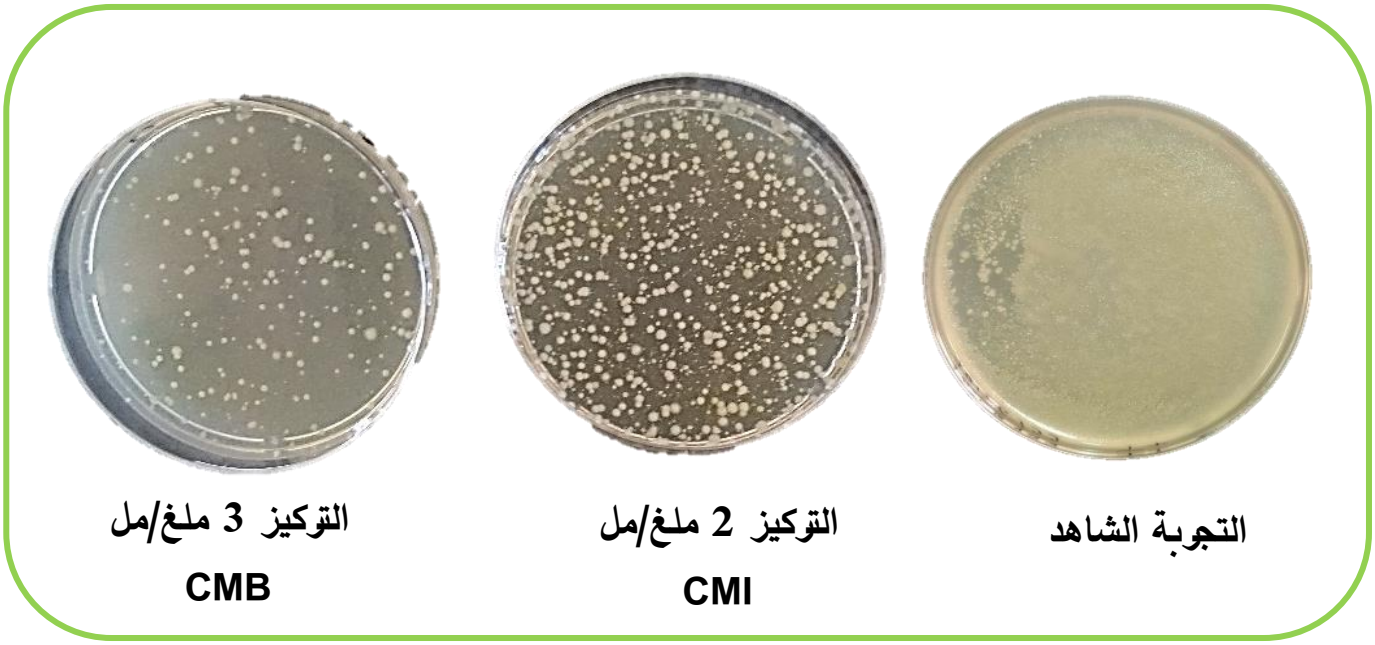
الشكل 30: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الزعيترة 5

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 6



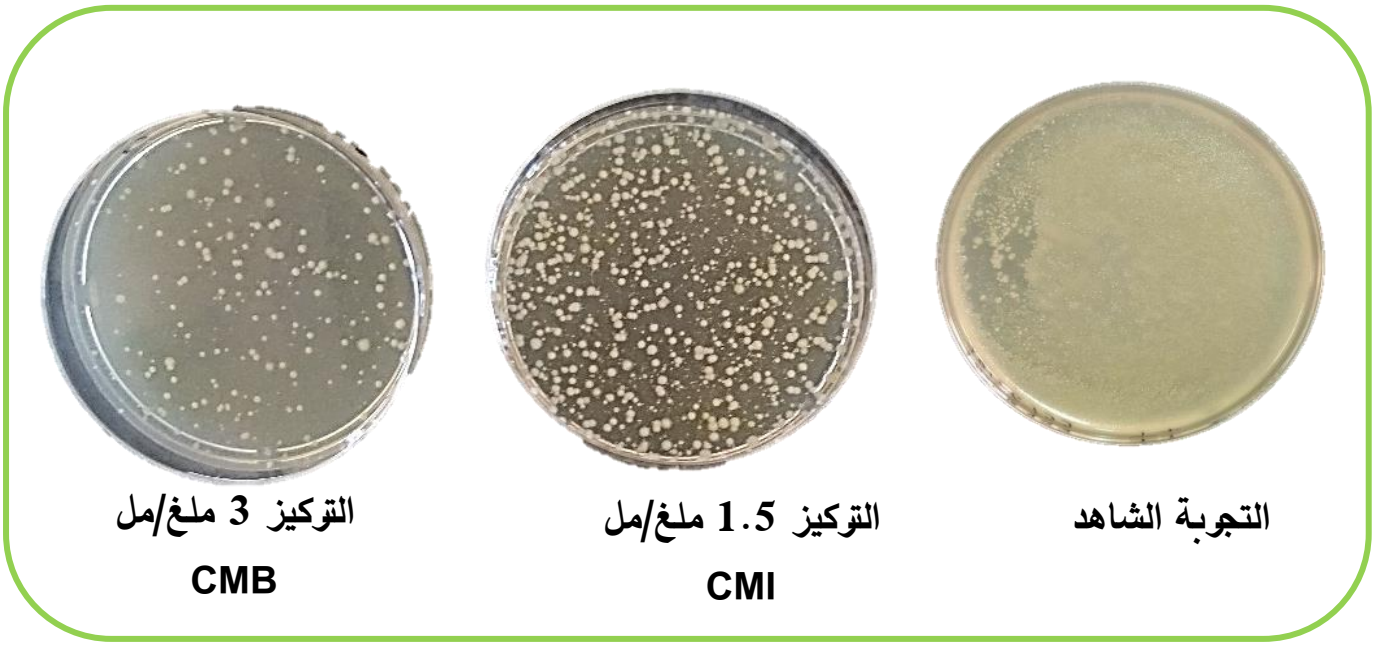
الشكل 31: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات الدقفت 6

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 7



الشكل 32: نمو البكتيريا في وجود مستخلص نبات أزير الجبل 7

التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلص 8



الشكل 33: نمو البكتيريا في وجود مستخلص خليط النباتات 8

6- حساب المعامل CMB/CMI:

علاقة التثبيط بالقتل تكون حسب المعامل الآتي:

إذا تحققت المتراجحة CMB/CMI > 4 تكون المستخلصات مثبطة bactériostatique.

إذا تحققت المتراجحة CMB/CMI ≤ 4 تكون المستخلصات قاتلة bactéricide .

الجدول 12: يوضح المعامل CMB/CMI

	1	4	5	6	7	8
CMB	3	3	3	3	3	3
CMI	2	2	3	1.5	2	1.5
CMB/CMI	1.5	1.5	1	2	1.5	2

المناقشة:

- إن تحليل الجدول أعلاه والصور الفوتوغرافية الموضحة تظهر كلها بقيم أقل من 4 لكل المستخلصات الفردية والخليط وهذه نتيجة تبين أن قيم CMI وCMB متقاربة جدا حتى أنه أن تركيز القتل يساوي تركيز التثبيط وهو مؤشر جيد يدل على أن كل المستخلصات المدروسة لها فعالية عالية وقدرة على إبادة البكتيريا bactericide .
- المستخلص 5 لنبات الزعيترة له أفضل معامل CMB/CMI يساوي 1 وهو يدل على التركيز المثبط هو نفسه التركيز القاتل

الخاتمة

خاتمة :

تعتبر دراسة النباتات المحلية من أهم الأعمال التي يجب الإهتمام بها من حيث معرفة مكوناتها الفيتوكيميائية وفعاليتها البيولوجية الحيوية، ولهذا فإن دراستنا جزء من هذا الهدف، فلقد تم إختيار مجموعة من الأنواع النباتية الشائعة الإستعمال في بيوتنا كعلاج أو في التغذية، حيث ثم اقتناؤها من طرف عشابين وعارفين لها خلال فترات إزهارها من مناطقنا القريبة وذات المناخ المتشابه شبه الجاف قليل التساقط.

تمكنا من خلال هذه الدراسة بشقيها النظري والتطبيقي من تحقيق الأهداف المسطرة والمتمثلة في تقييم فعالية المستخلصات الميثانولية بشكل فردي أو خليط ضد السلالة البكتيرية المدروسة حيث وجدنا:

- مردود الإستخلاص كان بقيم مهمة عند جميع المستخلصات حيث يتراوح ما بين 14.5 % لدى نبات الشيح إلى 32.8 % لدى نبات الشهيبة، أما الخليط فكان له مردود أكبر من جميع المستخلصات الفردية وقدر بـ 33.3 % ثم تم الاهتمام بمعرفة هالة التثبيط في وسط صلب لسلالة *Pseudomonas aeruginosa* والتي تعتبر من الأنواع الخطيرة على صحة الإنسان والحيوان، حيث كانت القيم في مجال واسع من الحساسية عند مستخلص نوع أزير الجبل 11 ملم إلى شديدة الحساسية لدى نوع الدقفت 18 ملم.
- هناك فرق في مردود الإستخلاص بين جميع الأنواع المدروسة وحتى التي تنتمي لنفس الجنس.
- لا توجد علاقة بين مردود الإستخلاص وقطر هالة التثبيط ، حيث تتعلق هذه الأخيرة بالمحتوى الكلي للمستخلصات.

- أن المسح المرجعي لمجموعات الأيض الثانوي للفينولات الكلية والتانيات والفلافونويدات والصابونينات سمح لنا بتفسير سبب القيم المذكورة سابقا والتي تتطابق مع بعض المقالات العلمية حول النوع والجنس والعائلة النباتية.
- قيم التركيز الدنيا CMI عند المستخلصات الميثانولية كانت تتراوح ما بين 1.5 و 3 ملغ/مل أما قيم التركيز القاتل CMB تبين لنا أنها قريبة القيمة لـ CMI حتى أن معامل المتراجحة CMI/CMB يقارب 1 ، أي أن كل المستخلصات مبيدة للبكتيريا المستعملة.

هذه المذكرة هي بداية لمعرفة الفعالية الفردية والجماعية للمستخلصات النباتية، وقد فتحت المجال من أجل تكملتها مستقبلا من حيث :

- ✓ التحليل الكمي والنوعي لمحتوى المستخلصات الفردية ومحتوى الخليط .
- ✓ تثمين الفعالية ضد التأكسدية لمجموعة من الإختبارات مثل إختيار التقاط الجذور الحرة DPPH .
- ✓ ربط العلاقة بين الفعالية ضد البكتيرية والمحتوى النوعي والكمي للمستخلصات .
- ✓ الإسهام في الحصول على خليط نباتي مناسب للفعالية الحيوية من حيث عدد النوع النباتي والمقادير المستخدمة، ثم ربط ما هو مطبق ميدانيا في الطب التقليدي مع النتائج المخبرية.
- ✓ تجربة المستخلصات المدروسة على الفطريات السامة .

المصادر والمراجع

المراجع باللغة العربية

1. أ.د.جابر بن سالم موسى القحطاني،موسوعة جابر لطب الأعشاب الجزء الأول،مكتبة العبيكان للنشر، الرياض، 2008 ، 717 ص.
2. أ.د.جازي بنت إبراهيم العفالق،الشامل في الكيمياء العملية،دار العبيكان، 287 ص.
3. أ.د.مظفر أحمد الموصلي، النباتات السامة واستخدام مكوناتها في صناعة الأدوية، دار الكتب العربية العلمية بيروت، لبنان، ص416
4. بن ساسي حمزة،دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات مختلفة لنبتتي الرتم والدرين،مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتورا علوم في الكيمياء،جامعة قاصدي مرباح ورقلة،الجزائر، 2018 ، 147 ص.
5. حميدي نور الدين، الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا نبات (Zygophyllaceae) (FagoniaLongispina)من الجنوب الغربي للجزائر،مذكرة لنيل شهادة الدكتورا في الكيمياء،جامعة أبي بكر بلقايد تلمسان،الجزائر،2015،155ص
6. د. منيب طاهر سلمان،استخدام المذيبات العضوية في استخلاص وتقدير نسبة الزيوت الأساسية والمستخلصات الأخرى لأعمار مختلفة من أوراق اليوكالبتوسcamadulensis Eucalyptus، المعهد التقني كركوك،12ص.
7. د.عبده عمران محمد ابراهيم،النباتات الطبية والعطرية واستخداماتها الطبية،المركز القومي للبحوث ، 18 – 9 ص.
8. د.محمد عبد المحسن معارج (1995) ؛وراثة الأحياء الدقيقة. شركة الشهاب للنشر و التوزيع.ص؛ 18–20.
9. الزردومي سليمان، دراسة تشريحية ودراسة النشاطية ضد البكتيرية وضد التأكسدية لزيتها الأساسي، مذكرة لنيل شهادة الماجيسترفي بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات، جامعة فرحات عباس سطيف،الجزائر،2015،74ص.
10. طارق اسماعيل كاخيا، مدخل الى تكنولوجيا الزيوت والدهون والصناعات القائمة عليها، 2006، 415 ص.
11. عباس بن مرعاش،دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة Convolvulus supinus coss & kral (Convolaceae)، مذكرة لنيل شهادة الماجيستر في الكيمياء،جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 2012 ، 136 ص .
12. قيثار رشيد مجيد وصباح مالك حبيب الشطي، تأثير الفعالية التضادية لبعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الأحياء الدقيقة 2002
13. لموى رضوان،فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي لمستخلص البوتانولي لنبات Haloxylon scoparium Chenopodoaceae،مذكرة لنيل شهادة الماجيستر في العلوم خصص كيمياء العضوية،جامعة منتوري قسنطينة،الجزائر، 2010، 122 ص.
14. محمد سليم علي أشتية،رنا ماجد جاموس،النباتات في الطب العربي الفلسطيني التقليدي،مركز أبحاث التنوع الحيوي والبيئة ،فلسطين ،2008،351ص.
15. مخدمي نور الهدى،استعمال المستخلصات المائية لنبت pituranthas chloranthas و Matricariapubcsce كمعطرات طبيعية للجبن *أمير*ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيوتها العطرية، مذكرة لنيل شهادة الماجستيرفي البيولوجيا،جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر،2014،140ص
16. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة أكساد،أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي،جامعة الدول العربية ،دمشق، 2012 ،633 ص.

17. المنظمة العربية للتنمية الزراعية،النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي،جامعة الدول العربية ،السودان، 481، 1988ص.

18. ميثاق الجبر،بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Catha edulis من العائلة Celastraceae ونبات البوليكاريا من العائلة) (Asteraceae وتقييم الفاعلية البيولوجية، مذكرة لنيل شهادة دكتوراه علوم في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،2010 ، 142 ص.

المراجع باللغة الأجنبية

1. Al-Bayati, Firas A. "Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts." Journal of ethnopharmacology 116.3 (2008): 403-406.
2. Ayad, Noura, et al. "Biological activities of phenolic extracts from *Artemisia herba-alba* Asso grown in western Algeria." European Journal of Biological Research 12.1 (2022): 46-61.
3. BEN HAJ K. A., KHEDHER M. Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uropathogenes à l'hôpital universitaire Tahar sfar de Mahdia, revue tunisienne d'infectiologie ; 2010 ; 4(2) : 57-61
4. Benyagoub E, Boulanouar A, Souid Ahmed M, Nebbou N, Bouloufa A, Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gomme arabique d'Acacia tortilis(Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 2016; 85:237-252
5. BERCHE P.,GAILLAURD J.L., SIMONET M., Bacteriologie,edition FLAMARION et C,1981 PARIS.p :595,596.
6. Bilal, D. J. A. B. A. L. L. A. H., & Abdelali, T. A. L. B. I. (2016). Etude de certaines activités biologiques des composés phénoliques extraits à partir *d'Artemisia herba halba* de la région de Tébessa (Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).
7. Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., & Ziyyat, A. (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. International Journal of Diabetes and Metabolism, 10(1), 33-50.
8. Charif N. et Louizini I., (2016) L'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux *d'Artemisia herba alba*, Master Microbiologie Appliquée, Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou.

9. Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, *18*(4), 813-835.
10. Claire M.M. Gachon, M. L. −Meurinne and P. Saindrenan, Plant secondary metabolism glycosyltransferases: the emerging functional analysis, Institut de Biotechnologie des Plantes, TRENDS in Plant Science,2005,10(11), 543−549.
11. Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., & Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *9*(1), 85-91.
12. Courvalin .P.(1992). Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes. ASM News. 58:368−375
13. DA SILVA F. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse de doctorat en pharmacie. Nancy1 Université Henri Poincaré, Nancy1(Faculté de Pharmacie), 2010, 150 p
14. Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 1994;264 (5157): 375−382.
15. Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Supercritical CO2 extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *54*(7), 2441-2469.
16. DÜLGER, BAŞARAN, et al. "Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium L.*" Turkish Journal of Biology 23.3 (1999): 377−384.
17. Eisenberg DM, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR and Delbanco TL.
18. Fertout−Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium L.* du mont de Tessala (Algérie occidentale). Antibacterial activity of four extracts of *Teucrium polium L.* of Tessala mount (western Algeria). Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège.
19. Gerald P. Bodey, Ricardo Bolivar, Victor Fainstein, Leena Jadeja Reviews of Infectious Diseases, Volume 5, Issue 2, March 1983, Pages 279–313,
20. Ghouar M. et Sabeg K., (2018) Étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*, Master Biochimie des Molécules bioactives et leurs applications, Université L'arbi ben Mhidi Oum El bouaghi.
21. Gurib−Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med 2006; 27: 1−93.
22. Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, K., Onishi, K., & Azuma, J. I. (2010). Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, *123*(2), 542-547.

23. J. Dong, G. Wan, Z. Liang, Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activitiesof secondary metabolic and antioxidative enzymes in Salvia miltiorrhiza cell culture, Journal of Biotechnology, 2010, 148(3), 99-104.
24. Jain, D. S. (2016). Medicinal Plants. National Book Trust. New Delhi, India.PP: 229.
25. Jorgensen. J.H., Ferraro .M. J. (1998). Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. Clin. Infect. Dis. 26: 973-980
26. Joy, P. P.(1998). Aromatic Plants. Kerala. India: Odakkali Asamannoor.PP: 611.
27. Kordali, Saban, et al. "Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium, A. dracunculus, Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils." Journal of agricultural and food chemistry 53.24 (2005): 9452-9458.
28. Mahmutović, I., Dahija, S., Bešta-Gajević, R., & Karalija, E. BIOLOŠKA AKTIVNOST EKSTRAKATA VRSTE *Juniperus communis L*. BIOLOGICAL ACTIVITY OF Juniperus communis L. EXTRACTS. 2017.
29. Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy reviews*, *1*(1), 7-18.
30. Martínez, J. L. & Baquero, F. Emergence and spread of antibiotic resistance: setting a parameter space. Ups. J. Med. Sci. 119, 68–77 (2014).
31. Messaoudi, M., Benreguieg, M., Merah, M., & Messaoudi, Z. A. (2019). Antibacterial effects of *Thymus algeriensis* extracts on some pathogenic bacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, *41*, 48548.
32. Michael J. L. and Burton E. P. (2011). A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. 4th Edition, Morton Publishing Company, USA. P 256.
33. Naili, M. B., Alghazeer, R. O., Saleh, N. A., & Al-Najjar, A. Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and Ziziphus lotus (Rhamnacea). *Arabian Journal of Chemistry*, *3*(2), 79-84.
34. phytomedicine turning medicinal plants into drugs". Eds. Ahmad I, Aqil F, Owais M.
35. Pr. Emile de Lavergne, Jean-Claude Burdin(1973): Les Bactéries.3éme éd.,Paris . P 11-14.
36. Prasad, K. N., Hao, J., Shi, J., Liu, T., Li, J., Wei, X., ... & Jiang, Y. (2009). Antioxidant and anticancer activities of high pressure-assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *Innovative food science & emerging technologies*, *10*(4), 413-419
37. R. BONNET, F. CARON, J.D. CAVALLO, H. CHARDON, C. CHIDIAC, P. COURVALIN, H. DRUGEON, L. DUBREUIL, V. JARLIER, F. JEHL, T. LAMBERT, R. LECLERCQ, M.H. NICOLAS-CHANOINE, P. PLESIAT, M.C. PLOY, C. QUENTIN, C.J. SOUSSY, E. VARON,

P. WEBER. COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE RECOMMANDATIONS 2012 (EDITION DE JANVIER 2012)

38. Refaz Ahmad Dar, M. S. (2017). General overview of medicinal plants: A review. The Journal of Phytopharmacology. PP: 349.
39. RENOUL H-A. Le Docteur Valnet, le soin par la nature. Approche historique d'une démarche thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Nantes : Université de Nantes (UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques), 2014, 114 p.
40. Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Kilinçarslan, Ö., Mammadov, R., & Bardaweel, S. K. (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum L.* and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC complementary and alternative medicine*, *19*(1), 1-10.
41. Robert-Dernmet. S. (1995). Antibiotique et antibiogrammes .Décarie Vigot, Montréal. p 322
42. Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, *5*(2), 409-424.
43. Service RF. Antibiotics that resist resistance. Science 1995; 270 (5237): 724-727.
44. Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., & Gogate, P. R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *53*, 10-23.
45. Sökmen, A., Gulluce, M., Askin Akpulat, H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., … Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic Thymus spathulifolius. Food Control, 15(8), 627-634.
46. Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, *57*(14), 5987-6000.
47. Toudert N., Etude phytochimique et evaluation de quelques activites biologiques de *Ampelodesma mauritanica* , These de doctorat, Universite Badji Mokhtar, Annaba, 2011
48. Unconventional medicine in the United States: Prevalence, costs, and patterns of use. N Engl J Med. 1993; 328: 246-252.
49. Villar del Fresno AM. Pharmacognosy of the future. Fitoterapia 1998; 69 (55): 7-8.
50. Walsh, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature 406, 775–781 (2000
51. Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, *17*(6), 300-312.
52. WHO.(1993)- Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines. Manila .
53. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (Weinheim) 2006; chap: 8, PP: 157-169.

54. Wilkinson JM. Methods for testing the antimicrobial activity of extracts in: "Modern
55. Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. Médecine thérapeutique, 24(2), 134-141.

المواقع الإلكترونية

1. Disponible en ligne :

http://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/fichiers/download/b48ff0cc-3f6f-44fe-8ada-4823eb16d811.

2. http://www.khayma.com/nabatat/plant%20preparation.htm
3. https://agronomie.info/fr/
4. https://www.microscopemaster.com/images/PIXNIO-41782-725x509.jpg