دراسة العكبر الليبي كمضاد بكتيري طبيعي

بسمه عبد الرحمن الصلابي و سليمة مفتاح النعيري

قسم تقنية الأدوية ـ كلية التقنية الطبية –مصراتة

E-mail: basma62008@yahoo.com

الملخص Abstract:

العكبر (propolis) من منتجات النحل الطبيعية ، وهو مادة صمغية له عدة استعمالات هامة في خلية النحل، وحسب الدراسات العلمية المتعددة السابقة للعكبر تأثيرات علاجية عديدة منها :

Antimicrobial activity, Antitumor activity, Neuroprotective activity, inflammatory activity , Cardioprotective activity , Anticancer activity.

ومن خلال هذه الدراسة التي جاءت بعنوان دراسة فعالية العكبر الليبي كمضاد بكتيري طبيعي،تم عمل الخلاصة المائية للكبر الليبي بتركيز 0.2 %، ودراسة تأثيرها التثبيطي بمقدار 60μ على بعض أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام، حيث استخدمت طريقة الانتشار حول الحفر agar well diffusion method في قياس الفعالية البيولوجية للمستخلص المائي للعكبر الليبي ضد نمو بعض أنواع البكتيريا وهي :

Staphylococcus (G+ve) , *Klebsiella* (G-ve) , *Streptococcus* (G+ve) , *Pseudomonas aeroginosa* (G-ve) , *Proteus* (G-ve) , and *Escherichia coli* (*G-ve*).

حيث كانت نتائج القطر التثبيطي للمستخلص المائي للعكبر الليبي على البكتيريا التي سبق ذكرها على التوالي هي :- (43mm , 42mm , 34mm , 31mm , 23mm , 19mm)

وأثبتت هذه الدراسة مدى الفاعلية العالية لخلاصة العكبر الليبي على بعض الأحياء المجهرية المعزولة الموجبة والسالبة لصبغة جرام.

الكلمات المفتاحية : Propolis, Anti bacterial, Flavonoids complex

المقدمة Introduction:

العكبر (Propolis) عبارة عن مادة صلبة راتنجية تنتجها حشرة النحل من مختلف أنواع النباتات والأشجار، لاسيما أشجار الصنوبر وخشب الحور، لسد الثقوب الموجودة في خلية النحل ، وذلك لمنع دخول مختلف أنواع الممرضات إلى داخل الخلية [28]. ولقد استخدم العكبر لأغراض طبية يعود تاريخها إلى 300 سنة قبل الميلاد ، وعلى نطاق واسع في الطب الشعبي في الشرق والغرب لعدة قرون ؛ وقد أثبت العلماء أن العكبر يمتلك مجموعة واسعة من التأثيرات البيولوجية: -

Antiinflammatory, Anticancer, Antifungal, Anti bacterial) وغيرها من التأثيرات العلاجية (Antitumors, Hepatoprotective Antioxidant , للعكبر لاحتوائه على :- (flavanones, flavons, flavonols, dihydroflavonols,؛) ، حيث إن المركبات الفينولية هي أحماض السينامك و أستراتها [19].

كذالك هناك دراسات تشير إلى حدوث أثار جانبية عند استخدام العكبر حيث يحوى مركبات تسبب السمية لاحتوائه في تركيبه الكيميائي مادة 1.1Dimethyl caffeate التي تسبب الحساسية ، ولقد تبين بأنها ليس مركبا واحدا ، وإنما هو خليط من :-

Benzyl caffeate (1%). 3.methyl.2. butenyl caffeate (52.2%) . 2.methyl.2.butenyl caffeate (4.3 %). Phenetyl caffeate (7.9 %). Caffeic acid (1.3 %). . 3.methyl.3.butentyl caffeate (28.3%) .[1]

لقد أصبح استخدام منتجات النحل علما قائما بحد ذاته ، حيث اتجه العلماء والباحثون للقيام بالكثير من الدراسات ، والأبحاث لاكتشاف فوائد العكبر ؛ وهو احد المواد المتوفرة في إطارات شمع النحل ، التي تناولتها أوساط البحث العلمي بدراسات علمية تفوق توقعات الكثيرين.

الهدف من الدراسة Objective of the study:

دراسة مدى تأثير العكبر الليبي كمضاد حيوي طبيعي على بعض أنواع البكتيريا وهي : -

Escherichia coli .
Klebsiella .
Proteus .
Staphylococcus aureus.
Streptococcus .
Pseudomonas aeroginosa

الدراسات السابقة Previous studies:

أوضحت دراسة سابقة التأثيرات العلاجية للعكبر، وأفادت بأنه مؤثر وفعال في علاج المشاكل المتنوعة للعديد من الأمراض قدرها 31 مرضا، منها على سبيل المثال :- Antibacterial حيث إنه ذو فاعلية موضعية و جهازية ، كما في البنسلين الطبيعي.

كما له خواص مضادة للفطريات والفيروسات (Antifungel و Antivires)، لذلك يستخدم في حالة التهاب الأمعاء الناتج عن التسمم، وأثبتت الدراسة بأن العكبر له خاصية تثبيط للخلايا السرطانية ، كما في حالات التهابات البروستاتا، والجهاز المناعي، وله تأثير مضاد للحساسية الحساسية، وله تأثير في حالات تصلب الشرايين وعلاج زيادة الدهون، وعلاج مضاعفات السكر، وفي علاج كسر العظام، كما يفيد في بناء الأنسجة الجديدة في حالة الجروح، و أيضا في حالات التهاب الأنف، والجيوب الأنفية، وحساسية الصدر[18].

في دراسة عام 2015م تم استخلاص نوعين من Flavonoids للعكبر هما:- Flavone/Flavonol (FF) ، Flavanone/Dihydroflavonols (FD) ؛ حيث أظهرت

نتائج البحث أن الاستخلاص بالإيثانول 70% في مدة زمنية 96 ساعة، أعطت أعلى كمية من Flavonoids وتم تنقية (FF) و (FD) واشتملت خطوات التنقية على الاستخلاص بالإيثانول 95% في كروماتوغرافيا الإدمصاص باستخدام الهلام Sephadex LH-20، حيث بلغت كمية الاستخلاص النهائية للفلافونيدات19.31% ؛ كما قامت الدراسة بتقييم الفاعلية التثبيطية لمستخلص العكبر الإيثانولي ضد بعض أنواع البكتيريا المسببة لتسوس الأسنان، التي شملت ثمانية أنواع من بكتيريا *Streptococcus* ، و كذلك *Candeda albians* أثبتت أن العكبر له مفعول تثبيطي قوي ضد الأحياء المجهرية المذكورة ؛ و درس أيضا الفعل التآزري لمستخلص العكبر مع المضاد الحيوي Chlorohexidine(CHX) ، ضد نوعين من البكتيريا *Streptococcus* ، واتضح أن التأثير التثبيطي للعكبر ازداد عند إضافة المضاد الحيوي (21mm_21.5mm_24mm)، باستخدام التراكيز (0.01 -0.1 -0.2)% من المضاد على التوالي ؛ كما لوحظ نفس التأثير عند دراسة الفعل التآزري للعكبر مع مضاد CHX ضد بكتيريا *S.salivarius* [3].

أجرت الباحثة د. مرزة حمزة هادي دراسة تفريقية لتأثير العلاجي للمستخلص الكحولي للعكبر والحبة السوداء ونبات القرفة ضد الفطر الممرض *Rhizoctania solani* ؛ أظهرت نتائج الدراسة أن قطر تثبيط المستخلص الكحولي للعكبر قد بلغ (8.5mm) ، و قطر التثبيط للحبة السوداء (5.30mm) ، بينما قطر التثبيط لنبات القرفة (5mm) ؛ وهذا يثبت و يبين المدى القوي للتأثير العلاجي الفعال لمستخلص العكبر لتثبيط الفطر مقارنة بالحبة السوداء ونبات القرفة [4].

كما أجرت دراسة سابقة سنة 2008 م ، فعالية المستخلص الكحولي للعكبر ضد فطر *Fusarium oxysporum* ، حيث كانت النتائج ذات الكفاءة التثبيطية العالية لهذا المستخلص بتركيز (5mg/ml) ، بتثبيط النمو الفطري كليا على الأوساط الغذائية (PDA) ، بينما استخدم التركيزان (1.25mg/ml_2.5mg/ml)، ولوحظ التفاوت في التأثير بنسب وصلت إلى 83.3% و73.75% على التوالي ؛ كما أظهرت نتائج هذه الدراسة أيضا قدرة المستخلص الكحولي للعكبر عند تركيز(5mg/ml) عند رشه على ثمار الخيار المصابة بالفطر لمنع تطور الإصابة بالمرض ، ولوحظ الوقاية الجيدة بشكل ملفت خاصة عند الرش بمستخلص الكحولي للعكبر قبل 24 و 48 ساعة من التلقيح بالفطر لكامل النبات ، حيث تتفاوت قدرة المستخلص المرشوش بداية من (24-48) ساعة من التلقيح بالفطر على منع حدوث الإصابة إذ أظهرت النتائج نمو بطئ للفطر[2].

أثبتت الدراسة السابقة التأثير العلاجي للعكبر ضد بعض الفطريات ، تم الحصول عليها من الإفرازات المهبلية المسببة للأمراض النسائية ؛ حيث قامت بدراسة تفريقية بين فاعلية العكبر وكل من :- , ketokunazol ,Ethraconazol ,voriconazole ,Fluconazole) meuconazol , amfotheracine - B).

وتم تحديد تركيز مثبط الحد الأدنى (MIC) وفقا لطريقة microdilution القياسية ، وأظهرت نتائج هذا البحث بأن مقاومة الفطر للمضادات تكون أكبر من المستخلص الكحولي للعكبر، أي أن فاعلية العكبر عالية ضد الفطريات المعزولة المسببة للمرض مقارنة بمضادات الفطريات [8][15].

كما قامت دراسة سابقة أجريت سنة 2014 م، بحل العكبر الخام مع النشاط البكتيري في تجويف الفم ، وقبل إعداد تقنية العزل الكهربائي لألياف العكبر، حيث تم تمييز قطر الألياف وتشكلها عن طريق المجهر الإلكتروني ، كما أوضحت الدراسة أيضا فاعلية ألياف العكبر Electrospun-PVP النشاط المضاد للبكتيريا أفضل من خلال الحد من التصاق البكتيريا على سطح الأسنان ، بالمقارنة مع بعض منتجات غسول الفم التجارية ، وأشارت هذه النتائج إلى إمكانية الألياف

Electrospun لاستخدامها كغسول للفم ، والحد من نشاط البكتيريا الممرضة في تجويف الفم [5].

أوضحت الباحثتان (Tahira and Akhlaq.,2012) أن العكبر يستخدم على نطاق واسع في الأطعمة والمشروبات لكونه يحسن صحة الإنسان لأنه يحوي 300 نوعا من المركبات الطبيعية ، مثل : Amino, Lipids Qumarin, Quinone, Aldehyde, Polyphenols التي لها خصائص دوائية ك Antitumor Anti inflammatory, Antioxidant, Antimicrobial Anti carcinogenic, ، وكذلك فعالية هذه المركبات لعلاج أمراض القلب والأعصاب ، كما اتضح من خلال الدراسة أن التركيب الكيميائي للعكبر يختلف تبعا للمناطق الجغرافية النباتية، ووقت الجمع الموسمي للعكبر، وهو أكثر المصادر وفيرة من مادة Polyphenols ، التى تتكون من : (Flavonoid and Phenolic acid) التى لها دور حيوي في حماية الخلايا العصبية من Oxidation وInflammation المرتبطة بالشيخوخة والأمراض المزمنة المرتبطة بالعمر[11].

كما أظهرت دراسة سابقة بأن استخدام العكبر على نطاق واسع في صناعة المستحضرات الصيدلانية كمكمل غذائي، وبينت الخصائص العلاجية للعكبر في الوقاية والعلاج لأنواع مختلفة من الأمراض؛ وقامت الدراسة بالبحث الببلوجرافي شاملا ، وقد تم تنفيذ الخصائص والمعايير المستخدمة لتقييم نوعيته، والآثار التي قد تكون محتملة وغير المباشرة له؛ واتضح بأن فعاليته عالية ك Anti microbial, Anti inflammatory, Anti oxidant [13].

أثبتت دراسات سابقة بأن العكبر له خصائص طبية في تقوية جهاز المناعة Immune system ومضاد للأورام Antitumor's ، هذه التأثيرات تعتمد على حسب تركيز مادة الفلافونيد في تركيب الكيميائي للعكبر ومصادره النباتية، أي مراعاة التأثير الموسمي على تكوينها وخصائصها البيولوجية ؛ حيث تمت دراسة آثاره على إنتاج الأجسام المضادة ، وعلى خلايا مختلفة في الجهاز المناعي في التجارب المعملية، وأظهرت الفحوصات تغيرات لعمل العكبر على النسيج الضام البريتونى في الفئران، وقد اتضح عمله على النشاط المتحلل من الخلايا القاتلة الطبيعية ضد الخلايا السرطانية، وعلى إنتاج الأجسام المضادة ؛ كما أُثبت أن العكبر له أثار مثبطة على Lymph proliferation ، التي قد تكون مرتبطة إلى خاصيته المضادة للالتهابات [23]، وهذه الدراسة تفتح منظورا جديدا على الخصائص العكبر البيولوجية ولاسيما فيما يتعلق بالجهاز المناعي .

وفي دراسة سابقة أثبت أن المكملات الغذائية الغنية بمركبات Polyphenolic ، تلعب دورا هاما في الوقاية الكيماوية من سرطان البروستاتا ؛ والعكبر هو الصدر الطبيعي لذلك المركب .

والهدف من هذه الدراسة مقارنة بين للخلايا السامة ومضادات الأكسدة بنشاطها ك Antitumor لمستخلص العكبر الإثانولي، أجريت ذلك في المختبر مع دواء العلاج الكيميائي مثل دوكسوروبيسين DOX، وآثار الجمع بينهما ضد سرطان البروستاتا البشرية PC3 :
(خط الخلايا السرطانية) ومستويات IC50 الخلوية مع العكبر .

في الختام فينولات العكبر وحدها أو بالاشتراك مع DOX،في كل الجرعات المستخدمة هنا أظهر أكبر تأثير كمضاد للأكسدة، أنتيبروليفرتيف، وأثاره المترتبة لخطوط خلايا PC3 بالمقارنة مع العلاج مع DOX أو وحده ،ويمكن اعتبار العكبر كمرشح واعد ، والعلاج الكيميائي لسرطان البروستاتا [22].

في دراسة سابقة أوضحت بأن العكبر مادة حافظة مبتكرة، ومكمل غذائي منشطا بيولوجيا، ونظرا لنكهته المُرَّه ومذاقه القابض،لا يكاد مقبولا من قبل المستهلكين .

وكان الهدف من هذه الدراسة الحصول على المنتجات الغذائية المستساغة من العسل والعكبر المضاد للجراثيم، وكذلك للأكسدة و للالتهابات ، و بالمقارنة مع المنتجات الغذائية التي تحوى العسل فقط ، تم إضافة (0.1 ، 3.0 ، 5.0) %، مقتطفات عكبرية لينة معظمها مجموعة الفينول،

ومركبات الفلافونويد ، وABTS المجموعتين المتطرفتين الراديكالية والهيدروكسيل الحرة إلى العسل، وتزداد الأنشطة المضادة للالتهابات كلما زاد تركيز العكبر، وأظهر نشاط العسل في المنتجات الغذائية جنبا إلى جنب مع العكبر، مما جعلت له آثارا تآزرية ، ونتائج أكثر فاعلية من تلك المنتجات التي تحوى العسل فقط ، لذلك فالعسل المضاف مع كميات صغيرة من مقتطفات العكبر يعطي نتائج واعدة لمنتجات الأغذية الوظيفية للجسم [27].

هدف هذه الدراسة إلى تحديد التركيب الكيميائي للعكبر في المختبر الآثار المضادة للميكروبات العكبر الأسترالي ؛ وقد تم جمع عينات عكبر باستخدام إطارات من البلاستيك وخلايا النحل متعددة في موقعين في شرق استراليا ، تم تحليل مقتطفات المثانولية العكبر بواسطة التحليل الطيفي اللوني السائل ، بواسطة التحليل الطيفي اللوني مع الكشف عن الأشعة فوق البنفسجية وفائقة ارتفاع ضغط السائل اللوني (UHPLC – UV) عالية الدقة ، جنبا إلى جنب مع قياس الطيف الكتلي و اللوني للغاز (HR-MS / MS)، وقياس الطيف الكتلي (GC-MS) ؛ أثبتت الدراسة الفرق الكبير من مقطتفات العكبر من كل موقع جمعه [20].

قامت دراسة سابقة بتجربة فعالية العكبر ك Anti varroa (Varroa " حثة الفاروا ") ؛ عبارة عن حشرة اكتشفت أول مرة في إندونيسيا سنة 1904 م ، وهي تسبب في تلف عدد كبير من خلايا النحل مما يؤدى خسارة الخلية بأكملها، حيث توصلت إلي تأثير المستخلص الكحولي 70% للعكبر ضد Varroa وتم تحقيق الإجراءات الميمتة على الفاروا المدمر، حيث أن معدل القضاء على الفاروا يعتمد على طريقة استخلاص العكبر و تركيزه و وقت رشه على الخلايا المصابة لخلية النحل، و أوضحت الدراسة بأن تأثير المستخلص الكحولي يكون شديد السمية بتركيز 10% أدي إلي موت الفاروا بنسبة 100% بعد فترة وجيزة من رشه 5 ثوان ، وبينت بأن مستخلص العكبر هو Anti varroa ذو فعالية طبيعية فائقة [14].

كما أشارت الدراسات السابقة إلى إمكانية استعمال مستخلص العكبر في الصيدلة الصناعية كغلاف للكبسولات لزيادة تحرر metronedazol المضاد للميكروبات [9].

الخواص الفيزيائية للعكبر Physical properties of propolis

اللون: العكبر هو عبارة عن مادة ذبقة ذات لون بني مع كل تدريجات الألوان الممكنة بين الأصفر والأسود، و في الغالب يميل لونه للاحمرار أو الاخضرار، وأن الاختلاف في اللون هو انعكاس لمدى التباين في مصدر جمع العكبر ، كما في الصورة (5) .

الرائحة: رائحة العكبر عطرية قوية تجمع بين الروائح المميزة لكل من الراتنج والشمع والعسل والفانيليا ، يأخذ العكبر الحور رائحة واضحة ومميزة جداً تماثل رائحة براعم تلك الأشجار .

الطعم: طعمه يجمع بين المر والحلو نوعا ما [25].

صورة(1) الخلاصة الكحولية للعكبر

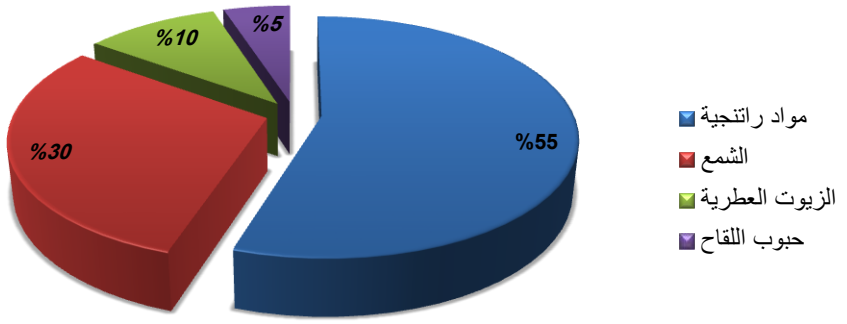
الخواص الكيميائية للعكبر Chemical properties of propolis:

قوامه شبيه بقوام العلكة فقوامه يتغير حسب درجات الحرارة ، فهو صلب وسهل التفتت على درجات الحرارة المنخفضة أقل من 10 درجات مئوية ، ويلين قوامه مع الحرارة ، إلى أن يصبح طرياً ولاصقاً عند درجة الحرارة $30C^{O}$ ، ويصبح سائلاً عندما تقترب الحرارة إلى $56C^{O}$.

** العكبر يمكن أن ينحل جزئياً بالكحول ، وبصعوبة يمكن حله بالماء [16].

التركيب الكيميائي للعكبر Chemical composition of propolis:

يحوي العكبر موادا راتنجية وفينولات، و زيوتا عطرية، و شمعا، ويعتمد التركيب الكيميائي للعكبر على المنطقة الجغرافية والغطاء النباتي ، ويعتمد أيضا على موسم جمعه ؛ ولقد تم تحديد أكثر من 300 مركب كيميائي في عينات العكبر المختلفة ، وكان لعينات العكبر لكل دولة أو منطقة التركيب الكيميائي الخاص فيها [7]. وبصفه عامة حسب منشأ العكبر يحوي 55% موادا راتنجية ، 30% شمعا ، 10% زيوتا عطرية طيارة ، وحوالي 5% حبوب لقاح [17].



شكل(1) التركيب الكيميائي العام للعكبر

** وقد أجرى العديد من الباحثين دراسة مكونات العكبر ومعظمها فلافونيدات ، وأهمها :-

I. أحماض عضوية: Organic acids [12].
II. الدهيدات عطرية: Aromatic aldehyles [10].
III. فلافونيدات: Flavonoids [21].
IV. مواد معدنية: Metal materials [26].
V. فيتامينات: Vitamin's[24].
VI. مكونات مختلفة أخرى : Various other components [6].

الجزء العملي Microbiology Laboratory Manual:

المواد و طرق العمل Materials and methods:

المواد والأدوات المستخدمة :

مستخلص العكبر المائي aqueous propolis extract (APE) _ Alcohol _ ورق ترشيح Filter Paper _ أنواع من البكتيريا _ أطباق بتري Petri dishes _ ماسح قطني Cotton Swap - آلة الحفر للوسط _ إبرة تلقيح loop _ ماسح قطني Cotton Swap _ جهاز تعقيم Autoclave _ حاضنة Incubator – سرنجة Syringe 3ml _ ميزان حساس Sensitive Blance – دورق مخروطي Conical flask سعته 100 ml _ أوساط لزراعة البكتيريا (Macconkey Agar , Mueller-Hinton Agar) _ غطاء ورقي Paper Film _ أنابيب اختبار Test tube _ Normal salin _ قلم Marker pen .

طرق العمل Methods

كيفية عمل المستخلص المائي للعكبر الليبي :-

أخذنا 10mg من العكبر الليبي الخام ، وتم وضعه في دورق سعته 100 ml، وإضافة الماء المقطر لإكمال الحجم إلى 50 ml ، وغلق الدورق ب paper film ، ويترك لمدة 10 ساعات مع الرج على فترات إلى ثلاثة أيام على الأقل وتكرر هذه العملية حتى إذابة العكبر بشكل تام ، وترشيح المستخلص للحصول على مستخلص العكبر المائي النقي .

وتحصلنا على الخلاصة المائية للعكبر الليبي بنسبة 0.2 % في 50 ml.

صورة(2) ترشيح المستخلص المائي للعكبر الليبي.

صورة(3) يوضح مستخلص العكبر المائي النقي.

طريقة تحضير الأوساط لزراعة البكتيريا Macconkey Agar **

تم أخذ 26mg من مسحوق (*Maccnkey Agar*) ، مع 500 ml من الماء المقطر في دورق مخروطي ، وبعد إذابته ، يتم وضعه في قنينة زجاجية وغلقها ، ويتم الرج جيدا و توضع داخل جهاز التعقيم عند درجة حرارة $121C^{o}$ لمدة 20 min ، وبعد إخراجها تترك لتبرد قليلا ؛ وبعد ذلك يسكب المحلول في أطباق بترية ، وتترك الأوساط لتجف وتتصلب.

****Mueller Hinton:**

يتم أخذ 19 جراما من مسحوق *(Mueller Hinton)* مع 500 مل من الماء المقطر في دورق مخروطي ، وتتم إذابته جيدا ، ويوضع في قنينة زجاجية محكمة الإغلاق ، و يوضع في جهاز

التعقيم عند درجة حرارة $121C^{o}$ لمدة 20 دقيقه ، ثم يبرد قليلا ، ويتم سكبه في الأطباق البتريه ، وتترك حتى تجف وتتصلب .

الصور التالية توضح المواد وطرق تحضير الأوساط الغذائية البكتيرية عمليا :-

صورة (4) مساحيق الأوساط البكتيرية.

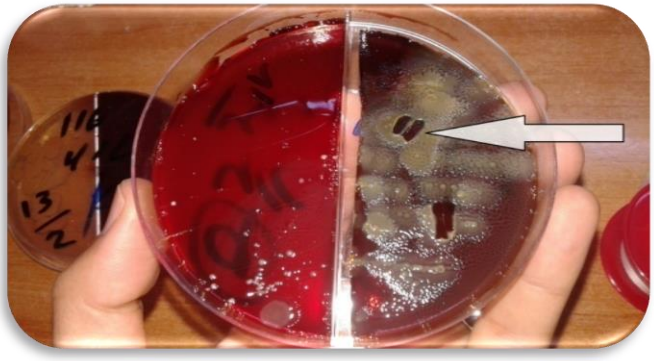
صورة (5) جهاز التعقيم.

صورة (6) الأوساط الذائبة بعد التعقيم.

صورة (7) سكب الأوساط في الأطباق البترية.

طريقة تحضير المعلق البكتيري : -

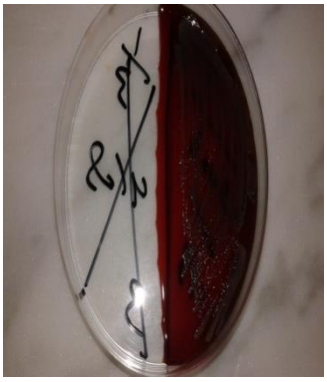
يتم أخذ أطباق بكتيرية مزروعة من المختبر الطبي ، ويتم أخذ عينة من كل مستعمرة أو مستعمرتين منفصلة ونامية بواسطة إبرة تلقيح loop ، وتوضع في أنابيب اختبار تحوى 2 ml من محلول فسيولوجي متعادل ، وتوضع الأنابيب في الحاضنة لمدة 4 ساعات لإنتاج معلق متوسط العُكُرة ؛ ليتم زرعها بواسطة Cotton Swap على الأطباق المجهزة سابقا .



صورة(8) يوضح أخذ مستعمرة بكتيرية مزروعة علي وسط Blood agar.

طريقة زرع البكتيريا Bacteriology Culture و وضع المستخلص :-

بعد جفاف وتصلب الأطباق المحضرة تم عمل حفرة Wells في الوسط الزراعي في المنتصف ، ومن تم زراعة 6 أنواع من الأحياء المجهرية المعزولة ، التي تم الحصول عليها من المختبر الموضحة في الأشكال التالية:-

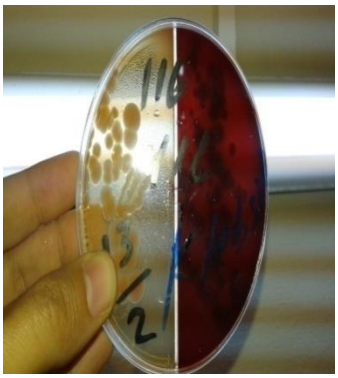


صورة (9) *Pseudomonas* علي وسط Choklate agar

صورة (10) *Streptococcus* علي وسط Blood agar

صورة (11) *Staphylococcus* علي وسط Macconkey agar

صورة (12) *Klebsiella* علي وسط Blood agar



صورة (13) *Escherichia coli* علي وسط Choklate agar

صورة (14) *Proteus* علي وسط Macconke agar

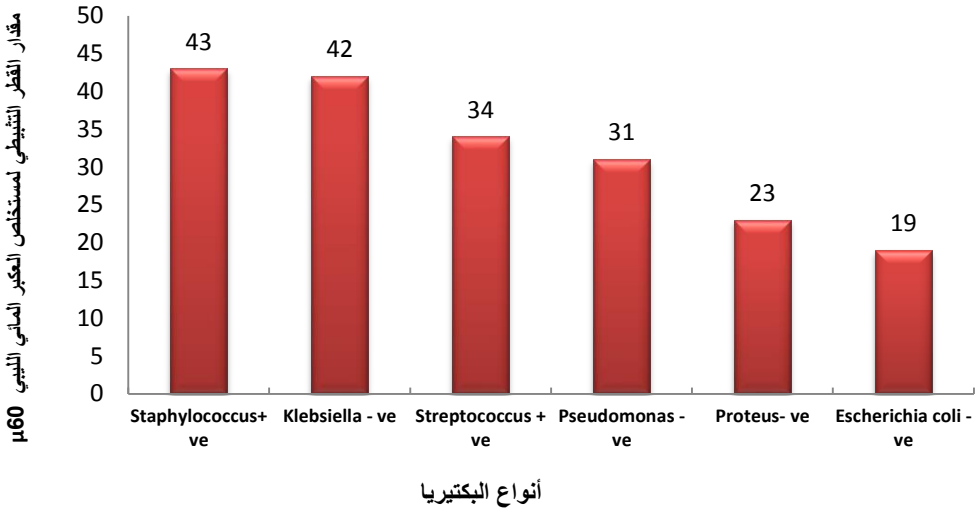
وتم زراعة أنواع البكتيريا المعزولة على الوسط الخاص بها المحضر مسبقا ، وتتم عملية الزرع بواسطة Cotton Swab ليغطي كل جزء من سطح الوسط بالنمو البكتيري ، ثم يؤخذ سرنجة 3 مل ويحقن مستخلص العكبر في الحفرة ،حيث كان بمقدار 0.3 مل، ثم توضع الأطباق في حاضنة لمدة 24 ساعة .

النتائج والمناقشة Results and discussion:

تم استخدام طريقة الانتشار حول الحفر agar well diffusion method في قياس الفعالية البيولوجية للمستخلص المائي للعكبر الليبي ضد نمو بعض أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام، إذ كان تأثير تركيز المستخلص المائي للعكبر المحضر مسبقا بتركيز 0.2 % حيث أن عمق الحفرة أخذ 0.3ml من الخلاصة بمقدار 0.06mg أي مايعادل 60µ وكانت النتائج كالتالي :-

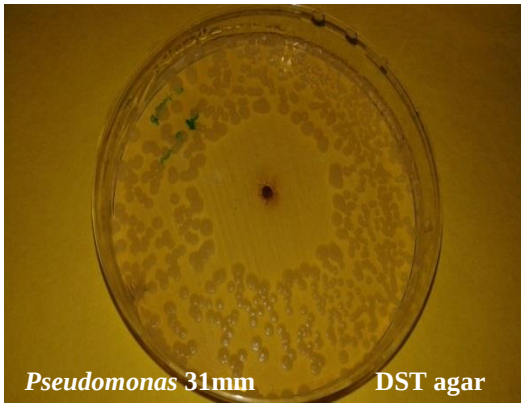
جدول(1) يوضح تأثير المستخلص المائي للعكبر الليبي على بعض أنواع البكتيريا

اسم البكتيريا	القطر التثبيطي لمستخلص المائي العكبر الليبي بتركيز 0.2% ، بمقدار 60µ
Pseudomonas	31 mm
Klebsiella	42 mm
Streptococcus	34 mm
Staphylococcus	43 mm
Proteus	23 mm
Escherichia coli	19 mm

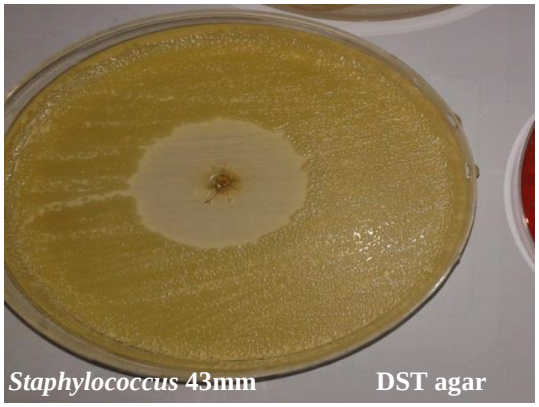


شكل(2) يوضح التأثير التثبيطي لمستخلص المائي للعكبر الليبي علي بعض أنواع الأحياء المجهرية.

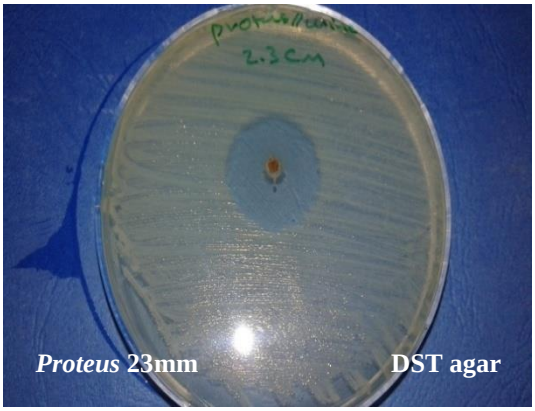
كمية Bio Flavonoids complex بالتركيز العالي و الفعال في المستخلص المائي للعكبر الليبي بنسبة 0.2 % لها تأثير قاتل ضد الجراثيم الممرضة، حيث تختلف باختلاف مكان الاقتطاف حسب الدراسات السابقة سالفة الذكر، وهذه النتائج تحتاج إلى وقت طويل من الدراسات لمعرفة السبب في تأثيرها التثبيطي، و تأثيرها الغير مثبط ومعرفة كيفية عمل الخلاصة المائية للعكبر الليبي في قتل البكتيريا الممرضة .



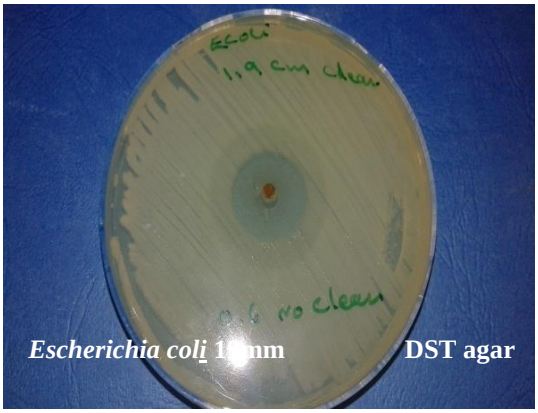
صورة (20) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.



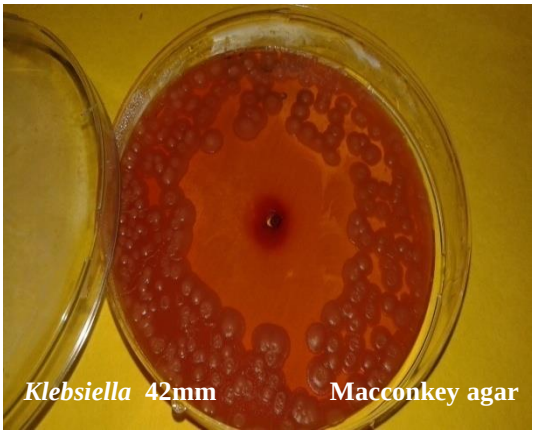
صورة (21) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.



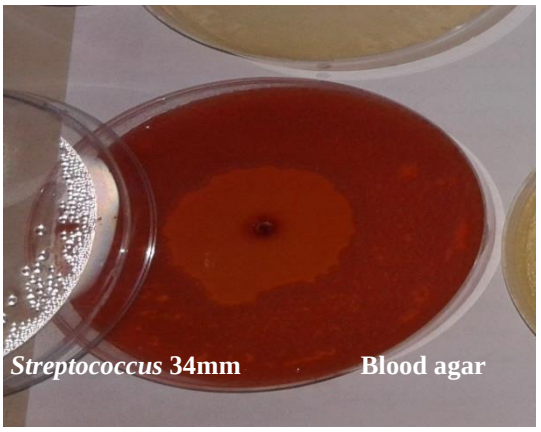
صورة (22) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.



صورة (23) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.



صورة (24) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.



صورة (25) يوضح قطر التثبيطي للمستخلص.

التوصيات Recommendations:

- دراسة واستخلاص الفلافونيدات من العكبر الليبي لإمكانية الحصول على أعلا فاعلية كمضاد للأحياء المجهرية .
- دراسة الحد الأدنى أو الأعلى لتركيز للعكبر الليبي الذي يحدث تأثيرا علاجيا فعالا .
- دراسة التأثيرات وتحديد الحد الأدنى لتركيز العكبر الليبي الذي يسبب السمية .
- تشجيع الصناعة المحلية واستعمال العكبر الليبي في الصيدلة الصناعية كغلاف للكبسولات الدوائية المناسبة ، وتصنيع منه المراهم والكريمات والشرابات والمحاليل والقطرات الطبية .
- دراسة تفريقية بين العكبر الليبي و مقتطفات عكبريه من دول أخرى سواء كان في الوطن العربي أو في القارات الأخرى من حيث الفاعلية والتراكيب الكيميائية .
- دراسة تأثير العكبر الليبي كمضاد للأورام.

المراجع References:

1- المحمدي علي (2014): تحديد بعض مكونات العكبر (البروبوليس propolis) المنتج في منطقة الباحة باستخدام طرق الكروماتوغرافيا ، رسالة ماجستير، ص: 21 .
2- دويش أحمد ، قاسم مهند ،حسن زيد (2008): دراسة الفاعلية التضادية للمستخلص الكحولي للعكبر propolis ضد الفطر Fusarium oxysporum ،.الجامعة المستنصرية ، كلية العلوم ، قسم علوم الحياة ، dialа,jour (31) .
3- عبد الكاظم علي ،حسين ميس (2015): استخلاص وتنقية الفلافونيدات من البروبوليس وتقييم فعاليتها ضد بعض أنواع الأحياء المجهرية المرافقة لتسوس الأسنان ،. مجلة جامعة بابل ،قسم العلوم التطبيقية ،العدد (1)،المجلد (23).
4- هادي مرزة (2011): دراسة تأثير المستخلص الكحولي لكل من البروبوليس و الحبة السوداء ونبات القرفة ضد الفطر Rhizoctania solani Kuhn ،. مجلة الفرات ،. العلوم الزراعية ،العدد (3) ،المجلد (1):104-112.
5- Asawahame, C., Sutjarittangtham, K., Eitssayeam, S., Tragoolpua, Y., Sirithunyalug, B., & Sirithunyalug, J. (2015). Antibacterial activity and inhibition of adherence of Streptococcus mutans by propolis electro spun fibers. *AAPS PharmSciTech*, *16*(1), 182-191.
6- Ahn, M. R., Kunimasa, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., Kaji, K., Uto, Y., ... & Ohta, T. (2009). Correlation between anti angiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Molecular nutrition & food research*, *53*(5), 643-651.
7- Crişan, I., Zaharia, C. N., Popovici, F., Jucu, V., Belu, O., Dascălu, C., ... & Petrescu, A. (1994). Natural propolis extract Nivcrisol in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. *Romanian journal of virology*, *46*(3-4), 115-133.
8- Dota, K. F. D., Consolaro, M. E. L., Svidzinski, T. I. E., & Bruschi, M. L. (2011). Antifungal activity of Brazilian propolis microparticles against yeasts isolated from vulvovaginal candidiasis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2011*.
9- de Toledo, L. A., Rosseto, H. C., Ravani, L., Cortesi, R., & Bruschi, M. L. (2015). Waste material of propolis as a film forming agent intended to modify the metronidazole release: preparation and characterization. *Current drug delivery*.
10- De Vecchi, E., & Drago, L. (2007). [Propolis' antimicrobial activity: what's new?]. *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*,*15*(1), 7-15.
11- Farooqui, T., & Farooqui, A. A. (2012). Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Front Biosci (Elite Ed)*, *4*, 779-793.
12- Farooqui, A. A. (2009). *Hot topics in neural membrane lipidology*. Springer Science & Business Media.
13- Farré, R., Frasquet, I., & Sánchez, A. (2004). El própolis y la salud.
14- 14- Garedew, A., Schmolz, E., & Lamprecht, I. (2003). Microcalorimetric and respirometric investigation of the effect of temperature on the antiVarroa action of the natural bee product-propolis. *Thermochimica Acta*, *399*(1), 171-180.
15- Hung, A., Peng, C., & Shimanuki, H. (2000). Nucleotide sequence variations in Kashmir bee virus isolated from Apis mellifera L. and Varroa jacobsoni Oud.*Apidologie*, *31*(1), 17-23.

16- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International dairy journal*, *16*(9), 945-960.
17- Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Park, Y. K., & Bowen, W. H. (2002). Effects of compounds found in propolis on Streptococcus mutans growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *46*(5), 1302-1309.
18- Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., & Świerczek-Zięba, G. (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, *19*(1), 78-101.
19- 19- Martos I, Cossentini M, Ferreres F, TomasBarberan FA. Flavonoid composition of Tunisian honeys and propolis. J.Agric Food Chem 1997;45(8):2824-2829.
20- Massaro, C. F., Simpson, J. B., Powell, D., & Brooks, P. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of honeybee (Apis mellifera ligustica) propolis from subtropical eastern Australia. *The* Science of Nature, 102(11-12), 1-11.
21- P Molan.(2001). Why honey is effective as a medicine. Part 2.The scientific explanation of its effects. *Bee World*, 82,22–40 .
22- Salim, E. I., Abd, E. M. A., Farara, K. M., & Maria, D. S. (2014). Anti tumoral and Antioxidant Potential of Egyptian Propolis Against the PC3 Prostate Cancer Cell Line. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, *16*(17), 7641-7651.
23- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of ethno pharmacology*, *113*(1), 1-14.
24- S Surveswaron, YZ Cai, H Carke, M Sun. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plant. *Food Chem*, 102, 938-53 (2007).
25- Suntiparapop k, prapaiopong p, chantawannakul p .(2012). chemical and biological properties of hony from yhia stingless bee (tetrragonula leaviceps). J apicult res.;51(1):45-52.doi:10.3896/IBRA.1.51.1.06
26- V Bankova.(2005). Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM*, 2, 29–32 .
27- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*, *73*(9), R117-R124.
28- Wu P, Ye L.(2000). Determination of effective components in propolis. Wei Sheng Yan Jiu;29(2):123-124.