

دراسة تأثير بعض الزيوت العطرية المختارة وتركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية المختارة في تثبيط نمو البكتيريا المعزولة من جروح مرضى السكري

هون الحسين سالم *

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الزينونة، ترهونة، ليبيا

Study of the effect of selected essential oils and hydrogel formulations equipped with selected essential oils in inhibiting the growth of bacteria isolated from the wounds of diabetic patients

Hun Alhussain Salem *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Azzaytuna University, Libya

*Corresponding author: alhussainahmede@gmail.com

Received: September 15, 2024

Accepted: October 20, 2024

Published: November 08, 2024

المخلص

تهدف الدراسة إلى تقييم تأثير كل من الزيوت العطرية وتركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية على البكتيريا المعزولة من الجروح المزمنة لمرضى السكري. حيث تمت دراسة تأثير الزيوت العطرية لكل من نبات القرنفل *Eugenia caryophyllus* ونبات إكليل الجبل *Rosmarinu officinalis*، ونبات القرفة السيلانية *Cinnamomum Zeylanicum*، وشجرة الشاي *Melaleuca alternifolia*. على نمو البكتيريا المعزولة من الجروح المزمنة لمرضى السكري في مدينة ترهونة. استخلصت الزيوت العطرية من النباتات المدروسة بطريقة التقطير البخار، وتم استخدام هذه الزيوت بتركيزات تتراوح بين 1% و100%. كما تم استخدام تركيبات الهيدروجيل المزودة بنسب مختلفة من الزيوت العطرية، لتثبيط نمو كل من: *E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*. التي تم عزلها من جروح مرضى السكري، وتنميتها على بيئة مغذية صلبة في أطباق بتري. قد تم التعبير عن مقدرة الزيت في تثبيط نمو البكتيريا بواسطة قياس نصف قطر الهالة المتكونة حول منطقة إضافة الزيت العطري. لاحظت الدراسة أن تفاوت مقدرة الزيوت العطرية على تثبيط نمو البكتيريا المعزولة اختلف باختلاف نوعية الزيت العطري، ونوع البكتيريا المدروسة، كما أظهرت الدراسة أن أكثر الزيوت مقدرة على تثبيط نمو البكتيريا كان زيت القرنفل حيث استطاع تثبيط نمو جميع أنواع البكتيريا المعزولة من جروح مرضى السكر، مقارنة بزيت القرفة، وزيت شجرة الشاي، وزيت إكليل الجبل. أظهرت مركبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية تأثيراً كبيراً على البكتيريا المختبرة حتى في التراكيز المنخفضة للزيوت، مما أكد أن الهيدروجيل المستخدم كان نظاماً مناسباً لتوصيل الدواء في علاج جروح مرضى السكري المزمنة، حيث كانت النتائج مشجعة على الرغم من الحاجة إلى دراسة سريرية لتحديد التأثيرات السامة المحتملة لهذه الزيوت.

الكلمات المفتاحية: هيدروجيل، زيت عطري، جروح مرضى السكري.

Abstract:

The study aims to evaluate the effect of essential oils and hydrogel formulations with essential oils on bacteria isolated from chronic wounds of diabetic patients. The effect of essential oils of clove (*Eugenia caryophyllus*) rosemary (*Cinnamomum zeylanicum*) Ceylon cinnamon (*Rosmarinus officinalis*) and tea tree (*Melaleuca alternifolia*) on the growth of bacteria isolated from chronic wounds of diabetic patients in Tarhuna city was studied. essential oils were extracted from the studied plants using the steam distillation method, and these oils were used in concentrations ranging between 1 % and 100%.

Hydrogel formulations with different proportions of essential oils were also used to inhibit to growth of all *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* that were isolated from wounds of diabetic patients, and *aeruginosa* and their growth on a solid nutrient environment in petri dishes. the ability of the oil to inhibit bacterial growth of isolated bacteria differed depending on the quality of the essential oil and the type of bacteria studied, the study also

showed that the oil most capable of inhibiting the growth of bacteria was clove oil, as it was able to inhibit the growth of all types of bacteria isolated from the wounds of diabetics compared to clove oil. Cinnamon, tea tree oil and rosemary oil. Hydrogel compounds with essential oils showed a significant effect on the tested bacteria even at low concentrations of oils, which confirmed that the hydrogel used was a suitable drug delivery system in the treatment of chronic wounds, as the results were encouraging despite the need for a clinical study to determine the potentially toxic effects of this oil.

Keywords: hydrogel; essential oil; diabetic wounds.

المقدمة

مرض السكري يعد من الامراض التي تعيق الخطوات الطبيعية لعملية التئام الجروح، حيث تظهر العديد من الدراسات النسيجية للمرضى وجود التهاب طويل الأمد في جروح مرضى السكري (Daferera, Ziogas, & Polissiou, 2003, p.39). مما يؤدي الى تأخير في تكوين النسيج الحبيبي الناضج وانخفاض موازي في قوة شد الجروح لدى مرضى السكري من النوع 2، على وجه الخصوص، وهو الأكثر انتشارا لدى المرضى الأكبر سناً. (McLennan, Yue, & Twigg, 2006, p.8) الذين تؤثر عليهم التغيرات الجلدية المرتبطة بالعمر سلباً على عملية شفائهم، وتشمل المضاعفات الناتجة من مرض السكري نقص التروية والاعتلال العصبي، مما يؤدي إلى تقرح الأطراف (Jeffrey, 1999, p.17).

تصاب جروح مرضى السكري بالعدوى بسهولة، بسبب ضعف الدورة الدموية في الجرح (WHO, 2011)، وتعد سبباً رئيسياً لدخول المستشفى، كما أنها مسؤولة عن أكثر من نصف حالات بتر الأطراف عند المرضى (Boulton, Meneses, & Ennis, 1999, p.7).

يتم فقدان ساق كل 30 ثانية حول العالم، بسبب مرض السكري، ولوحظ أن مرضى السكري أكثر عرضة لبتير الساق بنسبة 40 مرة مقارنة بغير المصابين، ونسبة 85% من حالات البتر تبدأ بقرح في القدم، كما يبلغ معدل الوفيات بعد عملية البتر من 11% الى 40% بعد عام واحد، ومن 20% الى 50% بعد 3 سنوات، ومن 39% الى 68% بعد 5 سنوات. (Fincke, Miller, & Turpin, 2010, p.192).

استخدمت الادوية التجارية المضادة للميكروبات بشكل شائع كعلاج لمسببات الالتهاب، ومع ذلك أدى الاستخدام المفرط لهذه الادوية إلى ظهور مقاومة البكتيريا لها مما أدى الى فقدان التأثير المضاد لهذه الادوية. لهذا سعت العديد من الدراسات لعلاج جروح مرضى السكري باستخدام مواد امنة وغير كيميائية (Smith-Palmer, 1998). هناك العديد من النباتات الطبية تنتج مجموعة من المركبات المضادة للميكروبات والتي من المتوقع ان تكون فعالة ضد الميكروبات المقاومة للمضادات الحيوية، حيث تم استخدام النباتات التي لها تاريخ طويل في الطب الشعبي وعلى مر السنين تم دمجها في الطب البديل، ومن أنواع النباتات التي لها خصائص علاجية حيث تمتلك عناصر ثانوية مختلفة مثل glycosides, saponins, flavonoids, steroids, tannins, alkaloids, terpenes التي يجب استخدامها كمكافحة البكتيرية المسببة لالتهاب الجروح.

وتكمن الية تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا المعزولة من جروح مرضى السكر، من خلال تدخل المركبات النشطة للزيوت العطرية مع طبقة الفسفوليبيد في غشاء الخلية البكتيريا مما يؤدي الى زيادة النفاذية وفقدان البكتيرية لمكوناتها الخلوية

(Rawat, 2012). كما تسبب الزيوت العطرية في انقطاع أنظمة الانزيمات المختلفة بما في ذلك تلك التي تشارك في إنتاج الطاقة الخلوية وتركيب المكونات الهيكلية والمادة الوراثية (Randhir, 2004). كما أن الاختلافات في القدرة التثبيطية يعود الى الاختلافات بين نوعية الزيوت فيما بينها، إضافة للنوعية الميكروبية المدروسة (Lee, 2008).

وجد الباحثون ان الزيوت العطرية تعزز من نمو الخلايا الليفية، وهي من الخلايا المهمة في التئام الجروح (Idson & Lazarus, 1991, p.534).

كما دلت الدراسات على ان زيت القرفة يمتلك تأثيراً فعالاً مضاداً للبكتيريا مثل *E. coli*, *S. aureus* (Smith-Palmer, 1998)، وذلك لاحتوائه على مركب الدهيد القرفة (Cinnamaldehyde) ومركب Eugenol للذين يعدان من أهم المركبات المضادة للبكتيريا (Bullerman-1977)، و أوضح (Tassou-1995) ان زيت القرفة الطيار يصبح اكثر ألفة للدهون مع انخفاض الحموضة، حيث يحلل غشاء الخلية البكتيريا بشكل أفضل مما يرفع من قدرته التثبيطية في نمو البكتيريا، كما اكدت عدة دراسات على قدرة زيت القرنفل على تثبيط بكتيريا *E. coli* (وحتيت وزملائه -2013). يعود الأثر التثبيطي لزيت القرنفل الى وجود المركبات الفينولية المعروفة بفاعليتها تجاه البكتيريا (Bhattacharrya- 2007, Alma-2011). يستخدم أكليل الجبل سواء كان على شكل مغلي نباتي، او مستخلص الزيت العطري كمقو ومنبه وقابض ومضاد للاكتئاب ومسكن، حيث يحتوي على الفلافونات، إضافة الى مشتقات حمض الكافيينك (Thomson-2000) كما يمتلك زيت اكليل الجبل القدرة على تثبيط نمو البكتيريا (ياسين وزملاؤه، 2012) يعتبر التطبيق الموضعي للأدوية هو علاج مرغوب فيه، حيث يتم تقليل الجرعة وتوجيهها الى منطقة معينة في الجسم، مثل الاغشية المخاطية، و الجلد، يعد الهيدروجيل الذي هو عبارة عن شبكة من سلاسل محبة للماء توجد بشكل غروي وتتمتع بدرجة مختلفة من المرونة تشبه الى حد كبير الانسجة الطبيعية، وذلك بسبب محتواها المائي الكبير

(Hoare & Kohane, 2008) ذو قدرة عالية على امتصاص الماء حيث تم استخدامه في تضميد الجروح وتوصيل الادوية (Islam, Rodriguez-Hornedo, Ciotti, & Ackermann, 2004).

اهداف الدراسة:

- 1- دراسة التأثير المثبط للزيوت العطرية المختارة على نمو البكتيريا المسؤولة عن التهاب الجروح المزمنة لدى مرضى السكري.
- 2- صياغة تركيبات الهيدروجيل كنظام لتوصيل الزيوت العطرية بشكل أسرع لعلاج جروح مرضى السكري.

المواد وطريقة العمل:

الحالات المرضية

أجريت هذه الدراسة على مصابين بجروح مزمنة لمرضى السكري والمتدددين على مركز علاج السكر والغدد الصماء بمدينة ترهونة خلال الفترة من 1 يناير الى 2 ابريل 2023م وبعد الحصول على الموافقة من قبل المصابين تم أخذ مسحات من المصابين، وقد تفاوتت شدة الإصابة فبعضها كان عميق والبعض الآخر كان سطحياً، واختلقت أماكن الإصابة فبعضها في الأطراف العلوية والبعض الآخر في الأطراف السفلية، وتم جمع المعلومات السريرية كالجنس والعمر ومستوى الجلوكوز في الدم.

المواد المستخدمة في الدراسة:

الزيوت العطرية للنباتات المدروسة

استخدمت الزيوت العطرية للنباتات المدروسة، والتي توجد في الجدول رقم (1).

جدول (1): قائمة الزيوت العطرية المختارة مع استخدامها الطبي.

الاسم الشائع	الاسم العلمي للنبات (العائلة)	الاستخدام الطبي
1 زيت القرفة	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Lauraceae)	منشط للدورة الدموية، مطهر للجروح (Chaudhry & Tariq, 2006).
2 زيت القرنفل	<i>Eugenia caryophyllus</i> (Myrtaceae)	مسكن للألم، ومطهر (Burt, 2004).
3 زيت اكليل الجبل	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Labiatae)	منشط للدورة الدموية (Burt, 2004).
4 زيت شجرة الشاي	<i>Melaleuca alternifolia</i> (Myrtaceae)	مضاد للميكروبات، مطهر، مقوي مناعي (Chandira et a , 2010).

المواد الكيميائية المستخدمة

المواد الكيميائية التي استخدمت في هذه الدراسة، توجد في الجدول رقم (2) مع مصدر كل منها.

جدول (2): قائمة المواد الكيميائية واطراف الزرع المستخدمة.

المادة	المصدر
1 Ethyl acetate	Oxoid
2 Ethanol	Oxoid
3 Mueller-Hinton broth	Oxoid
4 Mueller-Hinton agar	Oxoid
5 Nutrient agar	Oxoid
6 Nutrient broth	Oxoid
7 Carbopol Ultrez 21	LAM, INC Brecksville Road Cleveland USA
8 Glycerin	Loba Chemie Pvt.Ltd.107, Wodehouse Road, Mumbai, India
9 Triethylamine (TEA)	Merck, Germany

طريقة العمل

عزل البكتيريا من الجروح المزمنة لمرضى السكري

نزعت الضمادة من جروح مرضى السكري بمشك معقم ونظفت بمحلول ملحي معقم، وأخذت العينات بواسطة مسحات قطنية معقمة، وذلك بتدويرها على مكان الإصابة من عمق الجرح ثم حضنت في وسط Nutrient broth على درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة، وزعت على وسط Mueller-Hinton agar على درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة، ثم حفظت مزارع البكتيريا التي اختيرت للدراسة وهي (*E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*) في أوساط الزرع طول فترة الدراسة

استخلاص الزيوت العطرية من النباتات المدروسة

استخلصت الزيوت العطرية من أوراق نبات الكليل الجبل المجفف، وأوراق شجرة الشاي المجفف، وحبوب القرنفل، والقرفة الجافة، (تم شراؤها من السوق المحلية ولا يعرف متى تم جمعها) بتطبيق طريقة التقطير بالبخار (AOAC, 2000)، طحنت كمية من المادة النباتية المراد استخلاص الزيت منها، ووضعت في حوالة الاستخلاص، ثم غمرت بالماء المقطر وسخنَت العينة لدرجة الغليان لمدة ساعتين، بعد ذلك تم الحصول على الزيت العطري في أنبوب خاص ضمن الجهاز، وحفظت الزيوت العطرية في درجة حرارة 4°م.

اختبار فعالية الزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا

اتبعت طريقة الانتشار في الاكار Agar diffusion method (Shivhare, Jain, Mathur, Bhusari, & Roy, 2009, p.285)، باستخدام مزرعة مدتها 18 ساعة عند درجة حرارة 37°م في 10 مل من Mueller-Hinton broth. تم ضبط الزراعات الى ما يقارب colony forming units/ml (10^8 CFU/ml) بمحلول ملحي معقم كما هو مذكور في الجدول رقم 3. بعد ذلك، تم توزيع 500 ميكرو لتر من المعلقات على الاطباق التي تحتوي على Mueller-Hinton agar باستخدام قطعة قطن معقمة من اجل الحصول على نمو بكتيري موحد على كل من اطباق التحكم والاختبار، تم تخفيف الزيوت العطرية باستخدام Ethyl acetate، والذي تم اختياره كمذيب لا يحتوي على أي نشاط مضاد للبكتيريا بخلاف المذيبات الأخرى، ويعتبر أقل سمية من المذيبات التي تحتوي على الهالوجين أو البنزين، وهو مذيب متطاير بدرجة كافية لأزالته بسرعة عن طريق التجفيف في درجة حرارة الغرفة.

الجدول رقم (3) محلول ماكفرلاند القياسي McFarland Standard.

الرقم	0.5	1	2	3	4
كلوريد الباريوم (1.0 مل)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
حمض الكبريتيك (1.0 مل)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
كثافة الخلية	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0
النفاذية (%)	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
الامتصاص	0.132	0.25 7	0.45 1	0.582	0.669

توضع في أطباق بتري المعقمة 50 مل من كل الزيوت المدروسة بتركيز مختلفة (1، 10، 20، 50، 75، 100%) على سطح الاكار الملقح بالبكتيريا، ثم يوضع قرص ورقي مبلل بخلات الايسيتات Ethyl acetate على طبق بتري المصنف للتحكم لاثبات عدم وجود تأثير مضاد للبكتيريا من قبل المذيب، تغلق أطباق بتري المصنفة للاختبار لتجنب أي تبخر لعينات الاختبار، ثم تحفظ في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة لتسمح للزيوت بالانتشار. بعد ذلك، توضع في الحاضنة على درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة، ويتم قياس منطقة التثبيط Inhibition Zone باستخدام الفلجار (Bell, 1997).

تحضير الهيدروجيل

تم إذابة Carbopol Ultrez 21 بلطف في ماء نقي في دورق، باستخدام محرك اوتوماتيكي بسرعة 200 دورة في الدقيقة

(WiseStir HS-30D; Witeg Labortechnik GmbH, Korea). يضاف الجلسرين (5% w/w) Glycerin الى الخليط، ثم تخلط لمدة 30 دقيقة حتى يصبح الخليط متجانس، يتم تخليط الايثانول مع الزيوت العطرية وتضاف الى الخليط، وتضاف كمية مناسبة quantity surveyor (q.s.) من Triethylamine (TEA) مع التحريك بلطف للوصول إلى درجة الحموضة المناسبة (pH 6.8 ± 0.2).

تخزن المستحضرات لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة حتى تستقر (Hoffman, 1987). ثم تفحص تركيبات الهيدروجيل كالتالي:

الفحص البصري

تم فحص التركيبات ومعرفة خصائصها الفيزيائية عن طريق الفحص البصري للون والشفافية. تحديد درجة الحموضة تم قياس درجة الحموضة في تركيبات الهيدروجيل باستخدام مقياس الأس الهيدروجيني الرقمي.

جدول (4) مكونات تركيبات الهيدروجيل العشبية.

F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	رمز التركيبات
0.5	1	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	Carbopol, Ultrez 21 (% w/v)
-	-	-	1	2	3	-	-	-	-	-	-	3	زيت القرفة Cinnamon oil (% v/v)
-	-	-	-	-	-	1	2	3	-	-	-	3	زيت اكليل الجبل Clove oil (% v/v)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3	3	زيت شجرة الشاي Tea tree oil (% v/v)
-	-	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	Glycerol (% v/v)
-	-	-	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	Ethanol (% v/v)
q.s.	Triethanolamine												
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	ماء مقطر Distilled water (ml)

اختبار تأثير تركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا

تم إجراء الاختبار بالكمية المثلى للهيدروجيل بعد أسبوعين من التحضير، بواسطة العد الكلي لأطباق الاكار (Ross, El-Keltawi, & Megalla, 1980, p.201) بطريقة الصب لزراعة مخففة لسلسلة من عينات تركيبات الهيدروجيل، حيث تم العد على الاكار المغذي (NA) ثم وضعت في الحاضنة في درجة حرارة 37°م لمدة 48 ساعة لنمو البكتيريا، وتم حساب المستعمرات البكتيرية كوحدة متشكلة لكل غرام من الهيدروجيل (Cfu/g) Colony forming unit.

النتائج والمناقشة

النتائج

تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا

تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا، تم تقييمه من الناحية النوعية والكمية من خلال وجود أو عدم وجود مناطق تثبيط لثلاثة أنواع بكتيريا ملخصة في الجدول (5-7). أظهرت النتائج للزيوت العطرية المختارة نشاطاً مضاداً للبكتيريا بأحجام متفاوتة، تم اخذ منطقة التثبيط التي تبلغ قطرها 7 مم وما فوق كنتيجة إيجابية بشكل عام، كانت معظم البكتيريا المختبرة حساسة لتراكيز الزيوت العطرية المختلفة.

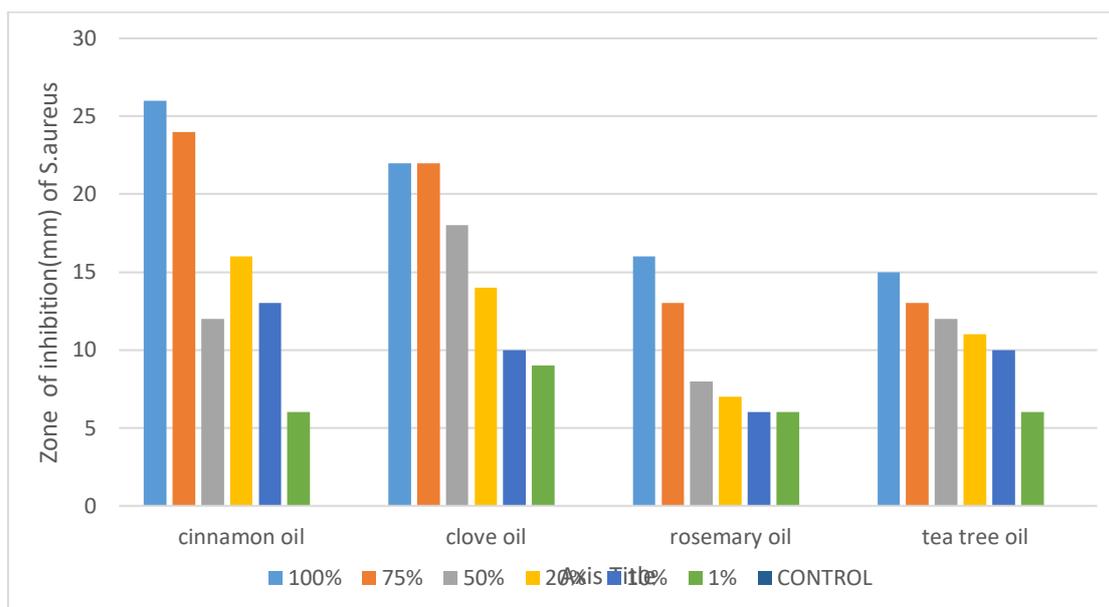
تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus*

يظهر الجدول (5) تأثير كلا من زيت القرفة، وزيت القرنفل، وزيت اكليل الجبل، وزيت شجرة الشاي في تثبيط نمو *S. aureus*. اظهر زيت القرفة التأثير الأعلى في تثبيط نمو *S. aureus* مع منطقة تثبيط بلغت 26 مم يليها زيت القرنفل بمنطقة تثبيط 22 مم، بينما زيت اكليل الجبل وزيت شجرة الشاي اظهر أقل فعالية في تثبيط نمو *S. aureus* مع منطقة تثبيط 15 مم و 16 مم على التوالي مع الانخفاض التدريجي لتراكيز الزيوت، ينخفض النشاط وتقل منطقة التثبيط أيضاً، كما هو موضح في الجدول (5) والشكل (1).

تم إجراء التحكم في التركيز لهذه الزيوت باستخدام (ethyl acetate) التي لم يكن لها أي تأثير مثبط للبكتيرية كما هو متوقع.

جدول 5: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا S.aureus باستخدام زيوت كل من القرنفل – القرفة - إكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1،10،20،50،75،100%) بطريقة الانتشار القرصي.

Concentration of essential oils	100%	75%	50%	20%	10%	1%	Control
Cinnamon oil	26 mm	24 mm	12 mm	16 mm	13 mm	6 mm	-
Clove oil	22 mm	22 mm	18 mm	14 mm	10 mm	9 mm	-
Rosemary oil	16 mm	13 mm	8 mm	7 mm	6 mm	6 mm	-
Tea tree oil	15 mm	15 mm	12 mm	11 mm	10 mm	6 mm	-



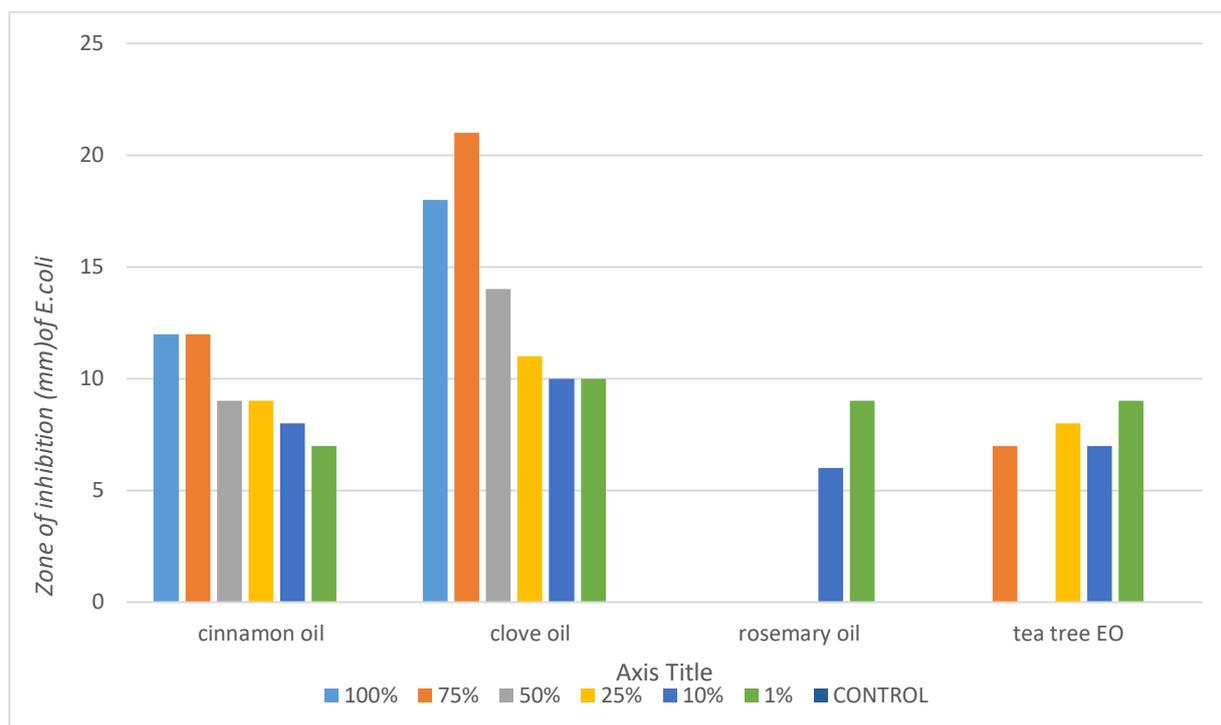
الشكل 1: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا S.aureus باستخدام زيوت كل من القرنفل - القرفة - اكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1،10،20،50،75،100%) بطريقة الانتشار القرصي.

تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا *Escherichia coli*

يظهر الجدول (6) والشكل (2) تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو بكتيريا *E. coli*، أن زيت القرنفل (75%) أظهر أعلى تأثير في تثبيط نمو *E. coli* مع منطقة تثبيط (21مم)، وهو أعلى من تأثير الزيت النقي (100%) الذي أظهر منطقة تثبيط (18 مم)، وأظهر زيت القرفة نشاطاً اقل ف تثبيط نمو *E. coli*، مع منطقة تثبيط (12مم) في تركيز (100%) و(75%) وانخفض تأثير الزيت تدريجياً مع انخفاض تركيزه، لم يلاحظ أي تأثير لزيت اكليل الجبل بتركيز (100%)، (75%) في تثبيط نمو *E. coli* بالمقابل زيت شجرة الشاي يظهر نشاطاً منخفضاً بشكل عام. كانت بكتيرية الـ *E. coli* أكثر مقاومة للزيوت العطرية على العكس من *S. aureus*.

جدول 6: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا E.coli باستخدام زيوت كل من القرنفل - القرفة - اكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1،10،20،50،75،100%) بطريقة الانتشار القرصي.

Concentration of essential oils	100%	75%	50%	25%	10%	1%	Control
Cinnamon oil	12 mm	12 mm	9 mm	9 mm	8 mm	7 mm	-
Clove oil	18 mm	21 mm	14 mm	11 mm	10 mm	10 mm	-
Rosemary oil	-	-	-	-	6 mm	9 mm	-
Tea tree oil	-	7 mm	-	8 mm	7 mm	9 mm	-

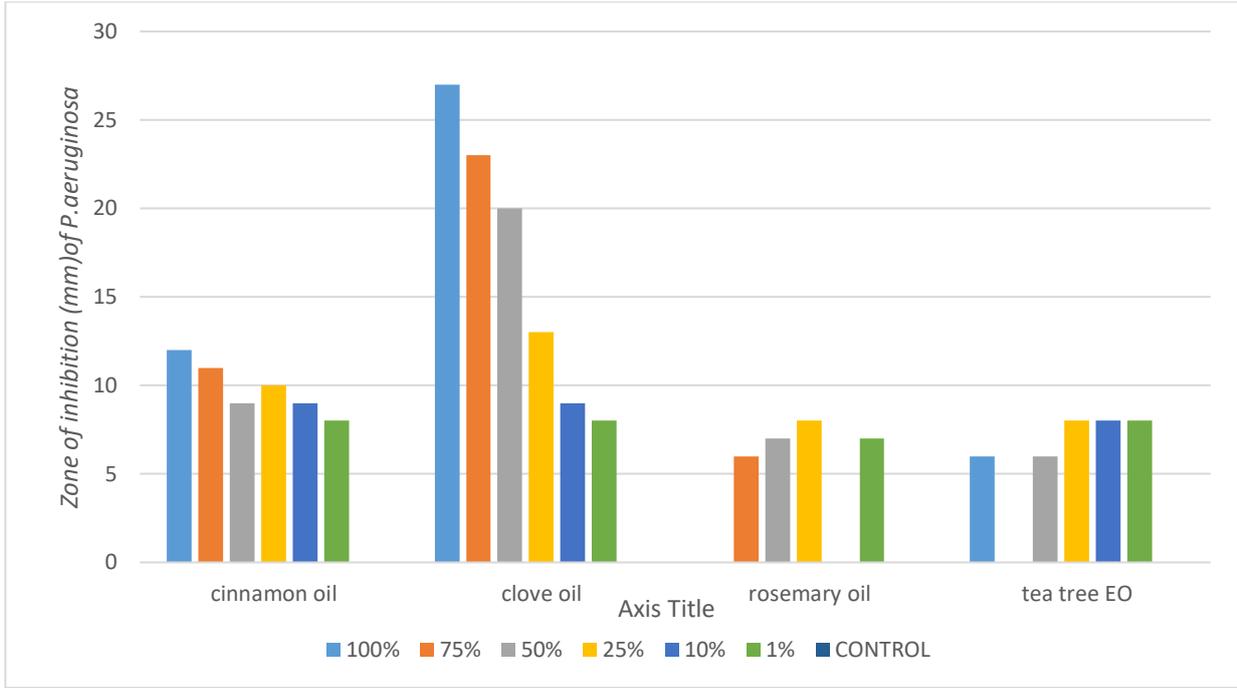


الشكل 2: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا *E. coli* باستخدام زيوت كل من القرنفل - القرفة - إكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1، 10، 20، 50، 75، 100%) بطريقة الانتشار القرصي.

تأثير الزيوت العطرية في تثبيط نمو لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* يظهر الجدول (7) والشكل (3) ان زيت القرنفل بتركيز (100%) له أعلى تأثير في تثبيط نمو *P. aeruginosa* مع منطقة تثبيط (27 مم)، مقارنة بزيت القرفة بتركيز (100%) مع منطقة تثبيط (12 مم) حيث أظهر زيت القرنفل نشاطاً مضاداً للبكتيرية حتى في التراكيز المنخفضة، ومع ذلك تبين أن كل من زيت إكليل الجبل و زيت شجرة الشاي لها نشاطاً منخفضاً ضد *P. aeruginosa*.

جدول 7: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا *P. aeruginosa* باستخدام زيوت كل من القرنفل - القرفة- إكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1، 10، 20، 50، 75، 100%) بطريقة الانتشار القرصي.

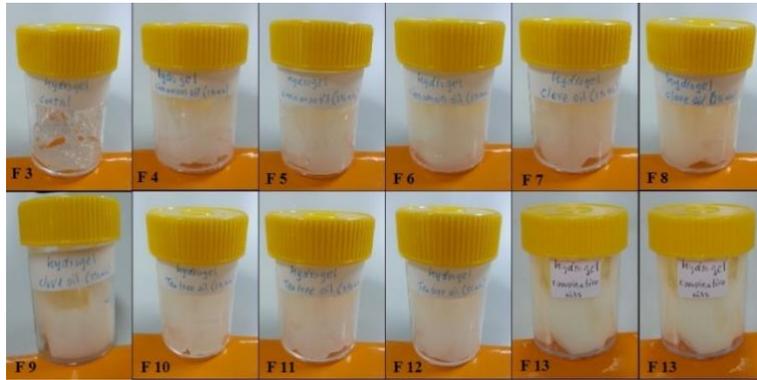
Concentration of essential oils	100%	75%	50%	25%	10%	1%	Control
Cinnamon oil	12 mm	11 mm	9 mm	10 mm	9 mm	8 mm	-
Clove oil	27 mm	23 mm	20 mm	13 mm	9 mm	8 mm	-
Rosemary oil	-	6 mm	7 mm	8 mm	-	7 mm	-
Tea tree oil	6 mm	-	6 mm	8 mm	8 mm	8 mm	-



الشكل 3: منطقة التثبيط (mm) لبكتيريا *P. aeruginosa* باستخدام زيوت كل من القرنفل - القرفة - اكليل الجبل - وشجرة الشاي بتركيزات مختلفة (1، 10، 20، 50، 75، 100%) بطريقة الانتشار القرصي.

تركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية

تم تحضير تركيبات الهيدروجيل أولاً بزيت واحد في كل تركيبة، ثم تم تحضير تركيبات الهيدروجيل المزودة بجميع الزيوت المختارة، فكانت جميعها متجانسة، ذات لون ابيض داكن، لها رائحة مميزة من الزيوت العطرية التي تحتوي عليها، ذات درجة حموضة (6.7 ± 0.5)، كما انها لا تظهر أي تهيج للجلد كالأحمرار او الحكة او الطفح.



الشكل 4: تركيبات الهيدروجيل المحملة بالزيوت العطرية (F3 to F13).

تأثير تركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا *Staphylococcus aureus*

يوضح الجدول (8) و الشكل (4) ان تركيبة F9 التي تحتوي على زيت القرفة (3%) لها اكبر تأثير ضد *S. aureus* مع منطقة تثبيط (12مم) متبوعة بزيت القرنفل (3%) مع منطقة تثبيط (10 مم). ومع ذلك، فان الصيغة F13 أظهرت وجود تأثير اكبر ضد *S. aureus* مع منطقة تثبيط (20mm)، في حين لم يلاحظ أي تأثير مثبت لنمو *S. aureus* في مجموعة التحكم F3، وكذلك التركيبات المزودة بنسبة 1% من الزيوت العطرية لكل من F4 و F7، F10.

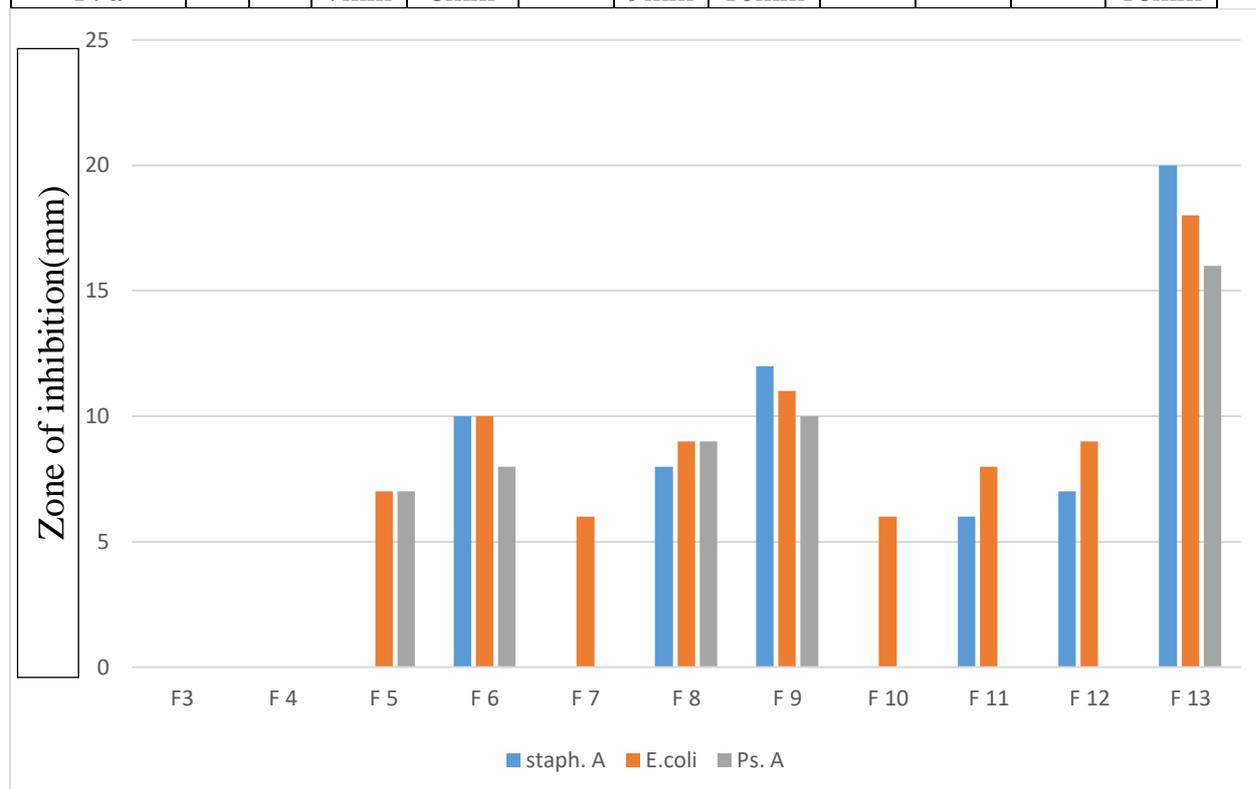
تأثير تركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية في تثبيط نمو البكتيريا *Escherichia coli*

بشكل عام، كانت *E. coli* أقل حساسية للتركيبات المزودة بزيت القرفة، حيث لوحظ التأثير الأعلى في F9 مع منطقة تثبيط (11مم)، متبوعة F6 مع منطقة تثبيط (10مم)، كما تظهر التركيبات المزودة بزيت شجرة الشاي افضل تأثيراً ضد *E. coli* مع منطقة تثبيط (9 مم)، في F12 ومع ذلك، اطهرت F13 تأثير افضل ضد *E. coli* مع منطقة تثبيط (20مم)، ولم يلاحظ أي تثبيط في F3.

تأثير تركيبات الهيدروجيل المزودة بالزيوت العطرية في تثبيط نمو بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* كانت *P. aeruginosa* هي الأقل حساسية بين البكتيريا المختبرة فهي أظهرت مقاومة كاملة لجميع التركيبات المزودة بزيت شجرة الشاي، حيث لوحظ أعلى تأثير في تركيبة F9 مع منطقة تثبيط (10mm)، تليها F8. وكذلك F13 أظهرت تأثير على *P. aeruginosa* مع منطقة تثبيط (16mm).

الجدول 8: منطقة تثبيط *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* باستخدام تركيبات الهيدروجيل المحملة بالزيوت العطرية (F3 إلى F13) بطريقة الانتشار القرصي.

Formulation Code	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13
St. a	--	--	--	10mm	--	8mm	12mm	--	6mm	7mm	20mm
E.coli	--	--	7mm	10mm	6mm	9mm	11mm	6mm	8mm	9mm	18mm
P. a	--	--	7mm	8mm	--	9mm	10mm	--	--	--	16mm



الشكل 5: منطقة تثبيط *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* باستخدام تركيبات كاربوبول الهيدروجيل المحملة بالزيوت العطرية (F3 إلى F13) بطريقة الانتشار القرصي.

المناقشة

تم استخدام الزيوت العطرية منذ الاف السنين في حفظ الأغذية والأدوية (Ouattara, Simard, Holey, Piette, & Begin, 1997, p.155) النباتية مثل الشاي، القرفة، القرنفل كمطهرات موضعية لما لها من خصائص مضادة للميكروبات (Yousef & Tawil, 1980, p.698). كما تبين أن الزيوت العطرية مثل القرفة والقرنفل تمتلك مضادات قوية للميكروبات (Shivhare, Jain, Mathur, Bhusari, & Roy, 2009, p.285). هناك خاصية مهمة من خواص الزيوت العطرية والمكونات المتعلقة بها وهي عدم قابليتها للذوبان في الماء، مما مكنها من تقسيم الدهون في غشاء الخلية البكتيرية ويجعلها أكثر قابلية للاختراق، فيؤدي ذلك إلى خروج الايونات والجزيئات من الخلية مما يؤدي إلى موت الخلية (Das, Dang, & Machale 2010, p.112). حيث تم تأكيد هذه النتائج في الدراسة الحالية، إذ أظهرت الدراسة أن جميع الزيوت العطرية المختارة تثبط نمو البكتيريا بدرجات متفاوتة في الفعالية، حيث أظهرت زيوت كل من القرنفل، القرفة، وشجرة الشاي نشاطاً قوياً ضد الأنواع البكتيرية المختارة، في حين أظهرت بعض الدراسات أن نشاط زيت اكليل الجبل لم يظهر نشاط موازي لزيت القرنفل والقرفة، كما أفادت بعض الدراسات السابقة أن أفضل نشاط مضاد للميكروبات هو لزيت شجرة الشاي من بين الزيوت المختارة كان زيت القرنفل الأكثر فعالية كعامل مثبط في نمو لبكتيريا. في هذه الدراسة وجد أن زيت القرنفل وزيت القرفة تكاد تكون بنفس القدر من الفعالية ضد

E. coli, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*. تم تحضير جميع تركيبات الهيدروجيل باستخدام بوليميرات الكربوبول والتي لها تاريخ طويل في الاستخدام الآمن والفعال في المراهم والكريمات والمستحضرات الموضعية، والتي تم دعمها من خلال تحميلها بزيت عطرية ذات أس هيدروجيني في النطاق الطبيعي للجلد وكانت غير مهيجة، ولا تسبب أي حساسية عند الاستخدام المتكرر لها. (Knobloch, Weigand, Weis, Schwarm, & Vogenschow, 1986, p.429) تم اعتبار الصيغة F13 كتركيبية مزودة بأكثر من زيت، من النتائج التي لها النشاط الأكبر في تثبيط نمو البكتيريا، من التركيبات المزودة بزيت مفردة، مثل زيوت كل من القرفة، و شجرة الشاي، حيث تظهر منطقة التثبيط ان الدواء يكون أفضل في التركيبة F13 بتركيز 3% من كل من زيوت القرنفل، و القرفة، وزيت شجرة الشاي، بتركيز 50% باستثناء زيت القرنفل ضد *P. aeruginosa* كما هو موضح في الشكل (7)

الخاتمة

في هذه الدراسة، وجدنا أن الزيوت العطرية مثل زيت كل من القرفة، والقرنفل، واكليل الجبل، وشجرة الشاي لها نشاط مثبط في نمو البكتيريا، يظهر زيت القرنفل أعلى تأثير في تثبيط نمو كلا من *E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*، يليه زيت القرفة بتأثير أقل قليلاً، مقارنة بزيت إكليل الجبل، وزيت شجرة الشاي. (القرنفل < شجرة الشاي < القرفة < اكليل الجبل) وعلى الرغم من تأثير جميع البكتيريا، إلا أنه من *S. aureus*، هي الأكثر حساسية اتجاه زيت القرنفل والقرفة، من *E. coli* و *P. aeruginosa*. أظهر الهيدروجيل المزود بالزيوت العطرية نشاطاً مضاداً للبكتيريا حتى في التراكيز المنخفضة من الزيوت، مما يؤكد قدرة الهيدروجيل كنظام جيد لتوصيل الأدوية وعلاج الجروح، كما أظهرت تركيبة الهيدروجيل المزودة بتركيز 3% من زيوت كل من القرفة، القرنفل، شجرة الشاي، واكليل الجبل أفضل نشاط مضاد للبكتيريا المختبرة، ويمكن استخدامها للسيطرة على جروح السكري المزمنة وعلاجها. وعلى الرغم من ذلك هناك حاجة لدراسات وتجارب سريرية إضافية على الجسم الحي، لتقييم إمكانية استخدام هذه التركيبات كعوامل مضاد للبكتيريا في علاج الجروح المزمنة لمرضى السكري.

بناء على نتائج هذه الدراسة تم اقتراح التوصيات التالية: **التوصيات**

- يجب البحث على فعالية وخصائص أجزاء أخرى من هذه النباتات مثل الجذور، الزهور.
- دراسة فعالية هذه التركيبة على الفطريات.
- يجب دراسة سمية هذه الزيوت النباتية في حال استخدامها في حفظ الأغذية.
- اجراء المزيد من التحاليل للزيوت العطرية لعزل المواد المضادة لنمو البكتيريا.

المراجع

1. حنيت، رشيد، حمادي، كاظم، ومحمد محسن، توفيق.2013. عزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجنول من الزيت الطيار لنبات القرنفل ودراسة فعاليته ضد بكتيرية. مجلة أبحاث البصرة.139:39-152.
2. ياسين، نور، إسماعيل، محمد ظاهر، وشماخ، عصام 2012. تحديد التركيز المثبط الأدنى للزيت العطري لنبات اكليل الجبل. المجلة العربية للعلوم الصحية 4(8):49-55.
3. Bell, R.G. (1997). Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. Journal of Applied Microbiology. Vol 82(3), 292-230.
4. Bhattacharyya, P, N and D.K., Jha 2011.Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a subsurface aspergillus strain tsf 146, International Journal of applied Biology and pharmaceutical technology,2;133-143.
5. Boulton, A., Meneses, P., & Ennis, W. (1999). Diabetic Foot Ulcers: A Framework for Prevention and Care. Wound repair and regeneration. SAGE Journals. 7 (1), 7-16.
6. Bullerman, L.B.,Y.,Lien, and S.A.,Seier. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oil. Journal of Food Science 42,1107-109.
7. Burt, SA. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology. Vol 94, 223-253.
8. Chandira, RM., Pasupathi, A., Pradeep., Bhowmik, D., Chiranjib, B., Jayakar, K.K., Tripathi, KP., & Sampath Kumar. (2010). Design, Development and Formulation of Antiacne Dermatological Gel. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. Vol 2, 401-414.
9. Chaudhry, N.S.A., & Tariq, P. (2006). Antimicrobial activity of Cinnamomum cassia against diverse microbial flora with its nutritional and medicinal impacts. Pakistan Journal of Botany. Vol 38, 169-174.
10. Daferera, DJ., Ziogas, BN., & Polissiou, MG. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp*, And *Clavibacter michiganensis subsp. michigansis* Crop. Journal of Plant Pathology. 22, 39-44.
11. Das, K., Dang, R., & Machale, M.U. (2010). Formulation and evaluation of herbal gel containing stevia leaves extract. Iranian Journal of Dermatology. Vol 8(44), 112-118.

12. Fincke, BG., Miller, DR., & Turpin, R. A. (2010). Classification of diabetic foot infections using ICD-9-CM codes: application to a large computerized medical database. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 10, 192
13. Hoare, T. R., & Kohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymers Journal*. Vol 49, 1993-2007.
14. Hoffman, D.L. (1987). *The Herb User's Guide*. Wellingborough, UK. Thorsons Publishing Group.
15. Idson, L., & Lazarus, J. (1991). Semisolids in the theory and practice of industrial pharmacy. *International Journal of Innovative Drug Discovery*. 534-563.
16. Islam, M.T., Rodriguez-Hornedo, N., Ciotti, S., & Ackermann, C. (2004). Rheological characterization of topical Carbomer gels neutralized to different pH. *Journal of Developing Drugs*. Vol 21, 1192-1199.
17. Jeffrey, IW. (1999). Management of Diabetes in the Elderly *Clinical Diabetes*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2, 17-18.
18. Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H.M., & Vogenschow, H. (1986). Action of terpenoids on energy metabolism. In *Progress in Essential Oil Research*. *Journal of Essential Oil Research*. Vol 15, 429-445.
19. Lee, J., Lim, S., Sim, and D., Park. 2008. Antibacterial effects of S-tulipalin B isolated from spiraea thunbergii against Escherichia coli a major food borne pathogenic microorganism. *J. Med Plants Res*. 2.(3):59-65.
20. McLennan, S., Yue, DK., & Twigg, SM. (2006). Molecular aspects of wound healing in diabetes. *ScopeMed International Medical Journal Management System*. 14(1), 8-13.
21. Ouattara, B., Simard, RE., Holey, RA., Piette, GJP., & Begin, A. (1997). Antimicrobial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Internet Journal of Food Safety*. Vol 37, 155-162.
22. Randhir, R., Y. T., Lin, and K. Shetty. 2004. Phenolics their antioxidant phytochemical elicitors. *Asia Pac. J. Clin. Nutr*. 13(3);295-307.
23. Rawat, S. (2012). Wound healing Agents from Medicinal Plants: A Review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1910-S1917.
24. Ross, S.A., El-Keltawi, N.E., & Megalla, S.E. (1980). Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Fitoterapia*. Vol 51, 201-205.
25. Shivhare, U.D., Jain, K.B., Mathur, V.B., Bhusari K.P., & Roy, A.A. (2009). Formulation, development and evaluation of diclofenac sodium gel using water soluble polyacrylamide polymer. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. Vol 4, 285-290.
26. Smith-Palmer, A., J., Stewart, and L., Fyfe. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oil and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26;118-122.
27. Tassou, C.C., E.H., Drosinos, and G., J.E., Nychas. 1995. Effects of essential oil from mint on Salmonella enteritidis in model food systems at 4. *Journal of Applied Bacteriology*. 78:593-600.
28. Thomson, C. 2000. *PDR for herbal medicine* Second Edition, the information standard for complementary medicine. 645-646.
29. Yousef, R.T., & Tawil, G.G. (1980). Antimicrobial activity of volatile oils. *Die Pharmazie*. Vol 35, 698-701.