مجلة بغداد للعلوم مجلد 7(1) 2009

الفعالية البايولوجية التثبيطية لمستخلص الخام لعكبر النحل (Propolis) تجاه بعض الاحياء المجهرية الممرضة

*أقبال رزوق حنا**

تاريخ قبول النشر 1 /3 /2010

الخلاصة

درست الفعالية التثبيطية لعكبر النحل (البروبولس) تجاه بعض الاحياء المجهرية (***Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Eschericha coli, Klebsiella pneumoniae, Bacillus cereus , Staphylococcus epidermidis*** **and** ***Candida albicans*** , و المستخلص بطريقتين بوساطة الكحول الاثيلي 70% و95%, والمنتج من منأشئ مختلفة من العراق (أربيل , بغداد) وومقارنتها مع تلك المعزولة من ايران , أظهرت النتائج ان الاستخلاص بالكحول الاثيلي 95% كان الاكفأ , وان طريقة الاستخلاص بالحضن لفترة خمسة أيام في حاضنة رجاجة وبدرجة حرارة 37 مْ أعطى فعالية تثبيطية عالية لمستخلص العكبر الخام وبدرجات متباينة حسب المنشأ , وأظهر المستخلص الخام للعكبر تعاضد وتآزر مع بعض المضادات الحيوية في تثبيط الاحياء المجهرية الممرضة .

الكلمات المفتاحيه: عكبر النحل

المقدمة :

العكبر أو البروبولس أو صمغ النحل أو غراء النحل مادة معروفة منذ آلاف السنين, استعملها الفراعنة في التحنيط واستعملها الاغريق في العلاج . كان أرسطو أول من كتب عن العكبر وأول من سماه " البروبولس" ومعناها "سور المدينة" , فالنحل البري يستعمل العكبر لاحكام مداخل خليته وسد الشقوق لمنع الحشرات والقوارض وكذلك الهواء البارد من دخول الخلية [1]. ويمكن تعريف العكبر بأنه مادة راتنجية بلسمية دبقة ذات لون بني غامق أو مخضر, رائحته عطرية مقبولة وطعمه مر, يجمع النحل موادها من الاشجار وغبار الطلع وغيرهما, ويصنع منها هذه المادة التي يستعملها أيضاً لتعقيم ممرات الخلية وتحنيط جثث الدخلاء التي لايسطيع اخراجها من الخلية.

يختلف التركيب الكيميائي باختلاف نوع النبات التي تتغذى علية النحلة, وكذلك الموسم الذي يجمع فيه , و اختلاف الظروف البيئية من بلد الى اخر [1،2] , كذلك أوضحت بعض الدراسات من ان العكبر من المركبات المضادة للاكسدة (antioxidant) ومضاد للسرطان (anticancer) ومضاد للالتهابات (anti-inflammatory) ومضاد للفطريات (antifungal) ومضاد للبكتيريا (antibacterial)و يعمل على علاج القرحه , وأثبت من قبل العديد من الباحثين الفعالية التثبيطية لانواع عديده من العكبر المنتج في دول مختلفة مثل تركيا, ايران, وبعض الدول الاوربية والبرازيل والارجنتين ولكن بشكل محدود وعلي نطاق ضيق [2].كذلك ممكن أستعماله في مجال الصناعات الغذائية أذ يُعد العكبر من المركبات المضادة للاكسدة[3].

وفي د راسات لاحقة قام بها الباحثين في الصين وجدوا ان مستخلص العكبر يعمل على تثبيط نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus* [4] التي تسبب مشاكل خطيرة في تلوث الحروق, والجروح بعد العمليات ,وحالات التسمم الدموي والالتهابات الرئوية نتيجة ظهور عزلات لهذه البكتيريا مقاومه للمضادات الحيوية , وأثبتت بعض الدراسات الاوربية بان مستخلص الكحولي للعكبر يعمل بالتعاضد مع نوعين من المضادات الحيوية (cloxacillin،streptomycin) في تثبيط *Staphylococcus aureus* وأجناس آخرى من البكتيريا [5].

أدى الاستخدام الخاطئ للمضادات الحيوية الى ظهور صفة المقاومة للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة ,وأن صفة المقاومة تنتقل بين الاحياء المجهرية , فلهذا كان الهدف هو أيجاد بدائل طبيعية لتلك المضادات مثل العكبر الذي له تأثير كبير في تثبيط البكتيريا الموجبة والسالبة لملون غرام وبدون أن تظهر أي سلالة مقاومة عند استخدام تراكيز مختلفة من المركب [6] ,فضلا عن تأثيره الفعال ضد الخمائر والفطريات التي يستعصي علاجها في أغلب الاحيان .

لهذا تهدف الدراسة الحالية الى تقييم الفعالية البايولوجية التثبيطية لعينات العكبر المختلفة المأخوذة من موقعين من العراق(اربيل و بغداد)ومقارنة الفعالية التثبيطية مع نماذج مأخوذة من ايران . كذلك أثبات الفعل التآزري للعكبر مع

جامعة بغداد/كلية العلو م /قسم التقنيات الاحيائية

بعض المضادات الحيوية في تثبيط الاحياء المجهرية.

المواد وطرائق العمل:

استعمل مصدرين مختلفين من مادة العكبر هما العراق و ايران وحدد المصدر العراقي من منطقتين مختلفتين هي شمال ووسط العراق(أربيل وبغداد).

استعمل المذيب العضوي الكحول الايثانول وبواقع تركيزين مختلفين (70% و95%) .

العزلات المستعملة :

تم الحصول على عزلات البحث من كلية العلوم- قسم التقنيات الاحيائية –جامعة بغداد:

Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Bacillus cereus, Staphylococcus epidermidis,* and *Candida albicans

أختيار الطريقة المثلى للاستخلاص :

تمت عملية الاستخلاص بطريقتين لتحديد الطريقة الاكفأ وهي :

الطريقة الاولى : حضر النموذج للاستخلاص كما يلي [7]:

1- قطع الشمع الى قطع صغيرة بابعاد 5ملميتر مربعة الشكل , وكلما كانت القطع صغيرة كلما كان الاستخلاص افضل.

2-أستخلص العكبرمن قطع شمعية بوزن 30 غرام ومزجها في 100مليليتر من الكحول الاثيلي بتركيزين 70% و95% أي بنسبة 30: 100 (وزن رطب : حجم الكحول) كلا على حدة ووضع المزيج في قناني معتمة ومحكمة الغلق جيدا بعد مزجها جيدا بوساطة جهاز المازج (vortex) .

3-وضعت القناني في الحاضنة بدرجة حرارة37 م مع الرج لمرتين الى ثلاث مرات يوميا لفترة 5- 10 دقائق وأستمرت عملية الحضن لفترة اسبوعين .

4-رشح المزيج من خلال ورق الترشيح (wattman no. 1) للتخلص من بقايا الشمع والملوثات الاخرى للحصول على المستخلص الخام جيد للاستعمال.

الطريقة الثانية حضرالنموذج للاستخلاص كما يلي[8] :

1-قطع النماذج الشمعية الى قطع صغيرة بنفس ابعاد الطريقة الاولى بعد تجميد النموذج الى درجة (-20) مئوية .

2-أذابة 30غرام من الشمع في 100مليليتر من الكحول الاثيلي بتركيز 70% و95% ومزج بالطريقة ذاتها المذكورة في الطريقة الاولى .

3-حفظ المزيج في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 5 أيام.

4-رشح المزيج خلال ورق ترشيح wattman no. 1 للحصول على سائل الاستخلاص الخالي من بقايا الشمع والملوثات الاخرى. ولغرض تحديد الوزن الجاف للمستخلص جفف النموذج بدرجة حرارة الغرفة و ثم التخلص من الكحول حتى الجفاف حفظ النموذج المستخلص الخام للعكبر في التجميد لحين الاستعمال.

الفعالية البايولوجية التثبيطية:

درست الفعالية البايولوجية التثبيطية (Microbial inhibition assay) لبعض الاحياء المجهرية المرضية , تحضر اوساط زرعية للبكتيريا من الوسط المغذي(nutrient agar) صبت في اطباق معقمة بحجم 20ملميتر/طبق , وقدرت الفعالية التثبيطية بطريقة Agar well diffusion assay (method) [9],وذلك بزرع 0.1 ملليتر من عالق بكتيريا الاختبارية (*S. epidermidis* و *S. aureus* و *B.cereus* و *K.pneumoniae* و *P.aeruginoa* و *E.coli*) وخميرة *C. albicans* وذي كثافة ضوئية 0.5 نانوميتر ونشرها بواسطة الناشر الزجاجي المعقم (spreader). وعُمل حفر بقطر 0.5 مليمتر بواسطة ثاقب الفلين ,ورفعت تلك الاقراص لتكوين الحفر,تلاها اضافة 0.1 ملليترمن المستخلص لكل حفرة في الاطباق, وأستعملت حفرتين في كل طبق كسيطرة للتركيزين 70% و 95% , ثم تتركت الاطباق في الثلاجة درجة حرارة 4 درجة مئوية لمدة ساعتين لكي يسمح للمستخلص ان يرتشح خلال الاكار قبل ان تنمو الاحياء المجهرية,توضع الاطباق في الحاضنه بدرجة حرارة 37مْ ولمدة18ساعة.

النسبة الافضل للاستخلاص :

درست أوزان مختلفة من العكبر الخام تمثلت (10, 20, 30 و 40) غرام وزن جاف ,وأذيب في 100مليليتر من الكحول الايثانول بتركيزين 95% و70% وبعد الرج والمزج الجيد في حاضنة رجاجة لمدة 5 أيام ,تلاها ترشيح باستخدام ورق ترشيح (wattman no.1) لمرتين للتخلص من بقايا الشمع والملوثات الاخرى للحصل على مستخلص رائق ومتجانس ذو لون ذهبي مصفر .

التأثير التآزري للعكبر مع بعض المضادات الحيوية :

درست قابلية المستخلص الخام للعكبر في التآزر (synergistic action)مع بعض المضادات الحيوية مثل Streptomycin و Neomycin وTetracycline وAmpicillin, حضُرت اوساط زرعية للاحياء المجهرية من الوسط المغذي nutrient agarوالتي صُبت في الاطباق المعقمة

بواقع 20ملليلتر /طبق ,وحضُرت اقراص من ورق الترشيح (Wattman no.3)وعُقمت بالمؤصدة ثم شُبعت بمستخلص العكبر الخام ذو تركيز 30% وبمقدار 100 مايكروليتر وتركت لتجف ثم حُفظت في قناني معقمة لحين الاستعمال. زرعت اطباق الوسط المغذي بمقدار 100 ماكروليتر من عالق الاحياء المجهرية وذو كثافة ضوئية مقدارها 0.5 نانومترالمساوية لعدد خلوي مقدارة $1.5x10^8$, ثم وضعت اقراص المضادات الحيوية على الطبق ووزعت بالجهة المقابلة لها الاقراص المشبعة بالمستخلص الخام للعكبر وحضنت في حاضنة وبدرجة حراره 37مْ ولمدة 18ساعة , ثم حُسبت نتائج بقياس مناطق التثبيط للاحياء المجهرية مقدره بالملميتر.

النتائج والمناقشة :

أختيار الطريقة المثلى للاستخلاص :

أظهرت نتائج تحديد الطريقة المثلى لاستخلاص العكبر ,أن الطريقة الثانية كانت الاكفأ والتي تمثلت بالحضن لمدة خمسة ايام وبدرجة حرارة 37مْ بحاضنة رجاجة , بلغ قطر هالة التثبيط للعكبر العراقي المنشأ (اربيل) المستخلص بكلا التركيزين 70% و 95% على التوالي لكل من بكتيريا و *S. epidermidis* 30,24 مليمتر و *B. cereus* 30,18مليمتر و15 *P. aeruginosa* ,20 , و *E. coli* بمقدار 22,20مليمتر , و *S.aureus* أذ قدرت 27,25مليمتر , *K .pneumoniae* بمقدار 25,21 مليميتر ,وكانت نتائج الفعالية التثبيطية ضد الفطريات *C. albicans* 34,30 مليميتر ,في حين كانت نتائج الفعالية التثبيطية للعكبر العراقي المنشأ (بغداد) لنفس العزلات وعلى التوالي ولكلا التركيزين70%و 95% هي 34,17 ملميتر *S. epidermidis* و 32,23 ملميتر *B.cereus* و 16,13ملميتر *K* .pneumoniae و 26,20 ملميتر *S.aureus* و 21,20 ملميتر *P. aeruginosa*و17,12ملميتر كانت الفعالية التثبيطية لبكتيريا*E. coli* , في حين كانت الفعالية التثبيطية لمستخلص العكبر الخام ضد الخميرة *C. albicans* 25, 35 ملميتر. لوحظ أن الفعالية التثبيطية تزداد عند استعمال الكحول الاثيلي ذو تركيز 95% مقارنة بتركيز 70% (الكحول المطلق ليس له تاثير مثبط على الاحياء المجهرية عند أضافته الى اطباق الاختبار, في حين أن تركيز الكحولي 70% له تأثير قاتل على الاحياء المجهرية وبمقدار اقطار تثبيط متغايرة(10) ولكن عملية الاستخلاص للمركبات الفعالة من العكبر بالكحول الايثانولي تركيز 95% كانت الاكفأ كما اشار اليها Park. وجماعتة(11) . كذلك تبين من خلال ملاحظة النتائج أن للعكبر الخام فعالية عالية ضد البكتيريا الموجبة لملون كرام مقارنة بباقي انواع البكتيريا السالبة لملون كرام وهذه النتائج تتماثل مع ما توصل اليه Park. وجماعتة [11]عند دراسة للفعالية التثبيطية للعكبر الخام في البرازيل أذ استنتج وجود مواد داخلة في تركيب العكبر مثل diterpanic acid لها تأثير تثبيطي على البكتيريا الموجبة لملون كرام وأن تأثير هذه المادة أقل على البكتيريا السالبة لملون كرام . كما لوحظ أن تأثير مستخلص العكبر الخام للمناشئ الثلاثة على الفطريات والخمائر مثل *C.albicans* فعال جدا للمستخلصات الثلاثة, وهذا ما يؤكده كل من [12] Kardalو .Krell[13] من أن نسبة الاستخلاص 4% كانت الافضل في تثبيط الفطريات والخمائر وخاصة ضد *Candidia* وأن هذا يعود الى احتواء العكبر على مادة trans-p-coumaric acid الذي له تأثير قاتل على الفطريات والخمائر [14] ,في حين كانت نتأئج التثبيط بنفس طريقة الاستخلاص لنماذج مأخوذة من مناحل في ايران أقل فعالية مما سجلته النماذج المأخوذة من مناحل محافظة اربيل و بغداد وكما موضح في الجدول (1) .ومن ملاحظة نتائج الفعالية التثبيطية تبين بأن طريقة الاستخلاص لها تأثير كبير على فعالية المستخلص وهذا مايؤكده الباحثSforcin وجماعته [15] أذ بين أن أفضل طريقة استخلاص هي بأستخدام كحول الايثانول وبتركيز 95% , أذ كانت الفعالية التثبيطية أفضل من الفعالية التثبيطية عند الاستخلاص بتركيز الكحول الايثانولي 70% وبين أن طريقة الاستخلاص وتركيز العكبر, وتركيز الكحول , له تأثير على الفعالية التثبيطية وكما موضح في الجدول (1). و يعود سبب الاختلاف في الفعالية التثبيطية بين النماذج الثلاثة لاختلاف التركيب الكيمياني للعكبرأذ يتكون العكبر بصورة عامة من مواد راتنجية تجمعها النحلة من المكان الذي تتواجد فيه , ومواد الايض الثانوي التي تفرزها النحلة وكذلك انزيمات ومواد شمعية تضيفها النحلة الى العكبر خلال عملية التخليق في داخلها [16]

جدول(1) الفعالية التثبيطية لنماذج العكبر الثلاث المستخلص بتركيزين من الكحول الاثيلي في الاحياء المجهرية

العزلات البكتيرية	اقطارمناطق التثبيط مقاسه بالملميتر					
	نموذج1		نموذج2		نموذج3	
التركيز الكحولي	70%	95%	70%	95%	70%	95%
S. epidermidis	24	30	17	34	14	22
B. cereus	18	30	23	32	14	27
K..pneumoniae	21	25	13	16	15	18
S.aureus	25	27	26	20	14	20
P.aeruginosa	15	20	20	21	15	20
E.coli	20	22	12	17	16	18
C. albicans	30	34	25	35	22	32

1-نموذج اربيل 2-نموذج بغداد 3-نموذج ايران

الفعاليـة البايولوجيةالتثبيطيـة لمسـتخلص العكبـر الخام:

أظهرت النتائج أن طريقة الاستخلاص للمركبات الفعالـة للعكبـر باسـتعمال الطريقـة الثانيـة هـي الافضـل, والتـي يبلـغ الـوزن الجـاف للمسـتخلص 1.9غرام/30غرام (وزن جاف : وزن رطب) من الشمع الخام للنموذج المأخوذ من بغداد ونموذج اربيل 2.3غرام/30غرام (وزن جاف : وزن رطب) مـن الشـمع الخـام ,والـوزن الجـاف للنمـوذج المأخوذ من ايران مقدارة 2.5غرام/30 غرام (وزن جاف:وزن رطب)من الشمع الخام, والذي أذيب في 10ملليلتـر مـن الكحـول الاثيلـي 95% وبتركيـز مقداره 19% لنموذج بغداد , وتركيز 23% لنموذج اربيل,وتركيـز 25% لنمـوذج ايـران , وفحصـت الفعالية التثبيطية اتجاه الاحياء المجهرية الممرضة *S. aureus* و*K. pneumoniae* و*S.epidermidis* و*B. cereus* و *E.coli* و *P.aeruginosa*و الخميـره *C.albicans* وكمـا موضح في الجدول (2), تباينت الفعالية التثبيطية لمستخلص العكبر الخام أعتماداً على منشأ النموذج وعلـى نـوع الكـائن المجهـري , أذ تبـين أن الفعاليـة التثبيطية لمستخلص العكبرالخام المأخوذ من أربيل أعطى فعالية تثبيطية اعلى من النموذج المأخوذ من بغداد ,في حين كان النموذج المأخوذ من ايران اقل فعاليـة مـن النمـوذجين السـابق ذكرهمـا . أشـارت العديد من الدراسات الى أن المستخلص الكحولي للعكبر ذو فعالية عالية في تثبيط العديد من الاحياء المجهرية (18,17). كذلك أكد كل من الباحثين Koo and Park (19) من أن مستخلص العكبر الكحولي له تأثير شديد على البكتيريا الموجبة لملون كرام أكثر من البكتريا السالبة لملون كرام . وقد بين كـل مـن Takinsi وجماعتـه (20) فـي دراسـة أجريت باستخدام المجهر الالكتروني بان أليه عمل البروبولس كمضاد حيوي تتم من خلال منع انقسام الخلية وهذا يؤدي الى تكوين خلايا متعددة كاذبة، فضـلا عـن ذلـك يعمـل البروبـولس علـى الاخـلال بنفاذية الغشاء السايتوبلازمي ، مما يؤدي الى تحلل جزئي للبكتريا وتثبط تصنيع البروتين داخل الخلية. وايضاً يؤثر في نفاذية الاغشية السايتوبلازمية في بعض الكائنات المجهرية الاخرى مما يؤدي الى تحلل جزئي للبكتريا ,كذلك يعمل على تثبيط عملية تخليق البروتين في داخل الخلية , وأن هذه الالية مشابه للآلية التي يعمل بها المضادات الحيوية في عملية قتل وتثبيط الاحياء المجهرية [21]. يعود سـبب التبـاين فـي نتـائج شـدة الفعاليـة البايولوجيـة التثبيطيـة للاحيـاء المجهريـة للنمـاذج الثلاثـة و الموضحة في الجدول (2) الى التركيب الكيميائي أذ تدخل حوالي 180مركب معظمها من الفينولات وأن هذا المحتوى العـالي مـن المـواد الفعالـة يتـأثر بعوامل مختلفه مثل الرقعه الجغرافيه وموسم الجمع ونوع الغطاء النباتي وايضـا الوقت الذي يجمع فيه العكبر . [22] أذ يؤكد أن المواد الفعاله الداخله في تركيـب العكبـر وبـالاخص المركبـات الفينوليـه والفلافونات هي المسؤولة عن تثبيط نمو الاحياء المجهرية , كذلك أشار الباحث Tosi [23] الى أن هنـاك اكثـر مـن مـاده مسـؤوله عـن عمليـة التثبـيط تتـداخل فيمـا بينهـا وتعمـل علـى تثبـيط الاحيـاء المجهرية .

جـدول (2) الفعاليـة البايولوجيـة التثبيطيـة لمستخلص العكبر الخام مقدرة بـالملميتروالمنتج من مناشئ مختلفة في بعض الاحياء المجهرية الممرضة

الاحياء المجهرية	اقطارمناطق التثبيط مقاسه بالملميتر		
	نموذج1	نموذج2	نموذج3
S. epidermidis	32	20	19
B. cereus	31	30	34
K..pneumoniae	14	12	11
S.aureus	15	13	10
P.aeruginosa	18	16	13
E.coli	15	16	12
C. albicans	36	35	28

1نموذج اربيل 2-نموذج بغداد 3-نموذج ايران

النسبة الافضل للاستخلاص:

تباينت نتائج نسب الاستخلاص للعكبر الخام المعامله باوزان جافه مقدره (40,30 ,20 أو10) غـرام وزن جـاف والمذابـة فـي 100ملليتـرمن الكحـــول الايثـــانول, أذ اعطـــت نســـبة الاستخلاص30% وبتركيز كحولي 95% أفضل النتائج للفعالية في تثبيط الاحياء المجهرية للنماذج الثلاثـة وبـأختلاف المنشـأ . لـوحظ أن هنـاك زيـادة تدريجية في معدلات أقطار مناطق التثبيط مصاحبة لارتفـاع تركيـز المسـتخلص الكحـولي الـى نسـبة 30% وهذا ما يؤكده Grange وDavey [24] بأن التركيزالمثبط الادنى الامثل لاستخلاص المواد الفعالـة المثبطـة الموجـودة فـي العكبـر هـو 30%, وقد يعزى هذا لازدياد تركيز المواد الفعالة المثبطة بازدياد تركيز المادة الخام وهذه النتيجة تتماثل مع النتائج التي ذكرها Krell [13].

ويؤكد الباحث Menezes وجماعته [22] من أن الكحول الاثيلي هو الافضل استعماله في عملية الاستخلاص مقارنة بباقي المذيبات الاخرى مثل الماء, الايثر, الكلوروفورم أو اي مذيبات اخرى , فضـلاً عـن مـا ذكـره الباحـث Pinto وجماعته(25)من أن استخدام مذيبات اخرى غير الكحول كانت غير كفؤه في عملية الاستخلاص للمواد الفعالة الداخلة في تركيب العكبر.

التآزر مع بعض المضادات الحيوية :

تظهر البيانات الموضحة في الجدول (3) مقاومة الاحياء المجهرية للعديد من المضادات الحيوية , والحساسية العالية جدا للعكبربمناشئة المختلفة كلا

على انفراد, أذ تبين أن *E. coli* كانت مقاومة Streptomycin(S) Ampicillin (Am) , Tetracycline) وحساسة Neomycin (N) Tc) وأظهرت حساسية عاليه للعكبر للمناشئ الثلاث بينما كانت *S.epidermatis* مقاومة لكل من Streptomycin , Tetracycline و Neomycin وحساسة للامبسلين ولمستخلص العكبر الخام بمناشئة الثلاث,في حين كانت بكتيريا *B.cereus* مقاومة Streptomycin,Neomycin وTetracycline وحساسة Ampicillin , بينما أظهرت بكتيريا *K..pneumonia* و *P.auroginosa* مقاومة للمضادات الاربعة وحساسية عالية للمستخلص العكبر الخام , وكانت بكتيريا *S.aureus* حساسة للمضادات Tetracycline , Streptomycin و Ampicillin ومقاومة Neomycin , وابدت حساسية للمستخلص العكبر الخام . في حين كانت *Candidia albicans* مقاومة للمضادات الحيوية و حساسة فقط للمستخلص العكبر وبنسبة 30% . وقد يعود سبب هذا التحسس العالي للاحياء المجهرية من المستخلص الخام للعكبر الى أحتوائه على مواد فعالة لها تأثير تثبيطي في الاحياء المجهرية ومن ملاحظة الجدول(3) نجد أن جميع الاحياء المجهرية الموجبة والسالبة لملون غرام قد أظهرت مقاومة لعدد معين من المضادات الحيوية المستعملة قيد البحث , ولكن أظهرت جميعها حساسية عالية لمستخلص الكحولي للعكبر ولم تظهر أي منها مقاومة تجاه ,ويعزى سبب ذلك لاحتواء العكبر على الكثير من المركبات الفعالة التي لها تأثير على الاحياء المجهرية مثل (Aromatic, phenolics, caffaic acid, esterst, flavonone, pinocembrin) (26) . وكما تشير الكثير من الدراسات والبحوث الى أن مستخلص العكبر الكحولي له تأثير مثبط على الاحياء المجهرية الممرضة [28,27,18] , كما أثبت بأن العكبر له أيضا تأثير قاتل على الاحياء المجهرية وليس فقط مثبط لها [20].كما أظهرت بعض المضادات فعالية تعاضد وتآزر(Synergy‘s) مع المستخلص الخام للعكبر في تثبيط بعض الاحياء المجهرية قيد التجربة , أذ أظهرمستخلص العكبر الخام فعالية تعاضد وتآزر مع Tetracycline و Streptomycin في تثبيط بكتيريا *S. epidermatis* وأدى الى زيادة قطر التثبيط من 30ملمترالى 45 ملمتر اربيل ومن34ملمتر الى 40 ملمتر بغداد ومن 22ملمتر الى 35ملمترايران , كما أظهرت مستخلص العكبر الخام فعالية تعاضد وتآزر معStreptomycin في تثبيط بكتيريا *P.auroginosa* ,أذ ازداد قطر منطقة التثبيط من20 ملمتر ليصبح 32ملمترلنموذج أربيل , ومن 21ملمتر ليصبح 28 ملمتر لنموذج بغداد , ومن 20ملمتر الى 25 ملمتر لنموذج ايران ,كما أظهر فعالية تآزروتعاضد المستخلص الخام للعكبر مع المضاد الحيوي Tetracycline و Streptomycin في تثبيط بكتيريا *S. aureus* ليصبح قطر منطقة التثبيط 30ملمتر لنموذج اربيل و 29ملمتر لنموذج بغداد و 25ملمتر لنموذج ايران .بينما لم تظهر اي فعالية تآزرية في تثبيط الاحياء المجهرية الاخرى. وهذا يؤكد ما أشار الية الباحث Krol [5] من تعاضد العكبر مع بعض المضادات الحيوية مثل Streptomycin , Penicillin, Neomycin, Tetracycline في زيادة قطر منطقة التثبيط لنموبعض الاحياء المجهرية. أذ ينصح باستعمالة مع المضاد الحيوي ليزيد من كفائة المضاد دون الاستغناء عنه وبمقدار 600- 400ملغرام \ كبسولة يوميا لمدة أسبوعين دون أن تظهر أي اعراض جانبية له [5,13]. يبين الجدول (3)أن هناك تباين بين العزلات البكتيرية والتي تظهر مقاومة تجاه بعض المضادات الحيوية وحساسيتها للبعض الاخر من المضادات المستخدمة في التجربة وأن هذا التباين يرجع الى امتلاك البكتيريا لجينات محمولة على الكرموسوم أو كبلازميدات في السايتوبلازم مسؤولة عن صفة المقاومة [29] .

جدول (3)الفعالية التثبيطية لمستخلص العكبر الخام بالمقارنة مع بعض المضادات الحيوية وكلا على انفراد في تثبيط الاحياء المجهرية

Am	N	S	Tc	3	2	1	العزلات البكتيرية
معدلات النمو				اقطار مناطق التثبيط			
+	+	-	-	22	34	30	*S. epidermatis*
-	+	+	+	27	32	30	*B. ceruse*
+	+	+	+	18	16	25	*K. pneumonia*
+	+	-	-	20	26	28	*S.aureus*
-	+	-	+	20	21	20	*P.auroginosa*
+	+	+	-	18	17	22	*E.coli*
+	+	+	+	32	28	34	*C. albicans*

1نموذج اربيل 2-نموذج بغداد 3- نموذج ايران
+ مقاومة (وجود نمو) - حساسة(عدم وجود نمو)
* تازر وتعاضد

Tetracycline=TC Streptomycin=S
Nalidixic acid=N Ampicillin=AM

المصادر:

1-Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. Drug Discov.Today, 5:294-300.

2-Scoff R. Gregory 2002, Comparison of Sliver Sulfadiazine to propolis in second – degree Burn treatment, J. of Alternative and complementary Medicine

3-Teixeira,EW.;Message,D.;Negri, G.; Salatino,AC.;andStringheta,P.C.,2007: Seasonal Variation, Chemical Composition and Antioxidant activity of Brazilian Propoli Sample. Evid Baed Complement Alternat Med

4-Qiao Z.,1991 ,China propolis antimicrobial ,Journal of Chinese Matteri Medica Aug; 16;481-2.

5- Krol, W. And Arzneimittel, F.:1996, Inhibition of neutrophils chmiluminescence by ethanol extracts of propolis [EEP]and its phenolic components. Journal Ethropharmacol; 55:19-25.

6- Burdock, G.A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis [propolis]. Food Chem. Toxicol.,36: 347-363.

7- Dizaji,A.A., Valizadeh E.,Alishah, H.M., Hhaddel,A. and Maheri,N.2008.Chemical Compoition Analyis and Antimicrobial Activity of Iranian Propolis.Research Journal of Biotecnology Sciences3(5):448-450,.

8- Katircioglu H.; and Mrcan N. . 2006. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. African J. of Biotecnology Vol.5 (11), pp.1151-1153, 2 June**.**

9- Mitchell J. K. and Carter W. E. 2000,Modeling Antimicrobial Activity of Clorox Using an Agar-Diffusion Test: A New Twist on an Old Experiment, Bioscience Journal, Vol.26(3) August.

10- Morello A.;Mizer R.N.;and Granaato A. .2006.Microbiology a laboratory manual & Workbook.

11- Park Y. & Ikegaki M., 1998. Preparation of water & ethanolic extracts of propolis & evaluation of the preparations. Biosci Biotechnol Biochem; 62[11]: 2230-2.

12- Kartal M., Yildiz S., Kaya S., Kurucu S. & Topcu G., 2003. Antimicrobial activeity of propolis samples from two different regions of Anatolia. Journal of Ethnopharm acology; 86: 69-73.

13-Krell R. A., 1996. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural services Bulletin N°. 124. Rome, Italy.

14- Hegazi A., Abd El Hady F. & Abd Allah F., 2000. Chemical composition & anti microbial activity of European propolis. Z. Naturforsch; 55[1-2]: 70-5.

15-Sforcin, JM.; Fernandes,J.A.; Lopez,C.A.M.; Funari,S.R.C.and Bankova,V. 2001. Seasonal effect of Brazilian propolis on Candida albicans and Candida tropicalis.J.Venom. Anim.Toxins.,7:139-44

16- AL-Nema M., ;2006. A Study of The Chemical Analysis, Some Physical Properties, microbiological effects, biocompatibility & The Microleakage of New Root Canal Filling Material Composed of Iraqi Propolis, Beeswax and Vanillin. Ph D; 6-45.

17-Kujumgiev A., Tsvetkova I., Serkedjieva Y., Bankova V., Christov R. & Propov S., 1999. Antibacterial, antifungal & antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacol; 63[3]: 235-40.

18- Castro, and Higashi,K.O.1995. Effect of different formulations of propolis on mice infected with

Trypanosoma cruzi, J.Etnopharmacol., 46: 55-58.

19- Koo,MH.and Park,YK.1997. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. Biosci.Biotechnol.Biochem., 61: 367.

20-Takasi, Kikuni NB.and Schilr, H. 1994.Electron microscopicand microcalorime-

tric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of propolis. Povenance planta Med.,60[3]: 222-227.

21-Chandel,D.S.; Chaudhry,R.; Dhawan,B.;Pandey, A. and Dey, A.B.2000. Drug resistant Salmonella enterica serotype paratyphoid in India. Emerging Infections Diseases., 6[4]: 420-421.

22- Menezes,H.; Alvarez,JM., and Almeida,E. 1999. Mouse ear edema modulation by different propolis ethanol extracts. Arzneim.Forsch., 49: 705-7.

23- Tosi,B.; Donini,A.; Romagnolic,C.and Bruni,A. 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. Phytother.Res., 10(14):335-6

24-Grange,J.M.; Davey,R.W.1990: Antibacterial properties of propolis [beeglue] J.of the Royal Society of Medicine, 83: 159-160.

25-Pinto,M.S.; De Faria,J.E.; Message, D.; Cassini, S.T.A.; Pereira, C.S. and Gioso, M.M.2001. Effect of green propolis extracts on pathogenic bacteria isolated from milk of cows with mastitis, Braz.j. vet.Res.anim.Sci.,38(6):278-283.

26-Koo H., Gomes B., Rosalen P., Ambrosano G. & Park Y.,2002. In vitro antimicrobial activity of propolis & Arnica montana against oral pathogens. Arch Oral Boil; 45[2] : 141-8.

27- Kujumgiev , A; Bankova , Ignatova and popov ,S;1993. Antibacterial activity of propolis , some of its components and analogs .pharmazie ;48:785-786.

28-Popova,M; Bankova,v ;Naydensky,ch; Tsvetkova I. and kujumgiev,A A;2004.Comparative study of the biological activity of propolis from different geographic origin :a statistical approach .Macedonian pharm Bull.;50:9-14.

29-Michel, M. and Gutmann,L. z1997.Methicillin- resistant *Saphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci: therapeutic realities and Possibilities. Lancet. 349:1901-1906.

Antimicrobial activity of propolis agents on some pathogenic microbes

*Ekbal R. Hanna**

* Biotechnology Department, College of science, Baghdad University

Key words: Propolis, Natural Antimicrobial compounds, Honey bee

ABSTRACT

The study aims to investigate the antimicrobial activity of propolis obtained from different regions of Iraq compared with that of propolis obtained from Iran. Samples were investigated for their antimicrobial activity against ***Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Eschericha coli, Klebsiella pneumoniae, Bacillus cereus , Staphylococcus epidermidis*** **and** ***Candida albicans*** using standard antimicrobial assays. Marked variations in the antimicrobial activity of the different propolis samples were observed, the method of extraction selected gives the highest antimicrobial activity and the best alcohol concentration using in the extraction of propolis , then the crude extract of propolis showed synergistic effect with some antibiotics in inhibition of pathogenic microorganisms.