# التأثير الحيوي لبعض مستخلصات أوراق نبات الآس الشائع السوري *Myrtus communis* L. في نمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة

**أسمهان زينب**

قسم علم الحياة النباتية ــ كلية العلوم ــ جامعة تشرين ــ اللاذقية ــ سورية

تاريخ الإيداع 2011/07/18

قبل للنشر في 2011/10/17

## الملخّص

اختُبر التأثير الحيوي لبعض مستخلصات أوراق نبات الآس الشائع السوري *Myrtus communis* L. في نمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة من مختبر مستشفى الأسد الجامعي في اللاذقية بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص.

أظهرت النتائج أن المستخلصات المائية الباردة والساخنة للأوراق تمتلك فعالية مضادة إزاء جميع البكتيريا السلبية والإيجابية غرام والفطريات الممرضة *Candida albicans* باستثناء بكتيريا الكليبسيلة الرئوية *Klebsiella pneumoniae*.

وتمتلك المستخلصات العضوية لأوراق نبات الآس الشائع فعالية مضادة إزاء بكتيريا المتقلبات الشائعة *Proteus vulgaris* والمكورات المعوية البرازية *Entrococcus faecium* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والبيضاء *Staphylococcus albus*، وكانت بكتيريا الزوائف *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas fluorescens* حساسة لمعظم المستخلصات العضوية، والتأثير الحيوي الأكثر فعالية في الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة كان لمستخلص الميتانول، حيث أقطار حلقات تثبيط النمو الميكروبي كانت أكبر بتأثير المستخلصات من أقطار حلقات التثبيط بالمضادات الحيوية الشاهدة.

وكانت بكتيريا *Serratia marcescens* و*Acinetobacter calcoaceticus* حساسة لمستخلصات الميتانول (بقطر تثبيط 37.33 و27.33 ملم على التوالي) والإيتانول والأستون وإيتيل أسيتات ولكنها كانت مقاومة للمستخلصات الأخرى، وكانت بكتيريا الكليبسيلة الرئوية *Klebsiella pneumoniae* حساسة لمستخلص الإيتانول فقط بقطر 20.33 ملم.

تشير نتائج دراسة الفاعلية الحيوية باستخدام المذيبات المختلفة أن لمستخلصات أوراق نبات الآس الشائع السوري تأثيراً مضاداً إزاء بعض الأحياء الدقيقة البكتيرية والفطريات الممرضة المختبرة، وبذلك يمكن أن تكون مصدراً للمضادات الحيوية الطبيعية إزاء البكتيريا والفطريات الممرضة في المستقبل.

**الكلمات المفتاحية**: نبات الآس الشائع، مستخلصات عضوية، مستخلصات مائية، التضاد الميكروبي، الأحياء الدقيقة الممرضة.

# Bioeffect of some Syrian *Myrtus communis* L. leaves extracts in the growth of some pathogenic microorganisms

**A. Zinab**

**Department of Plant Biology, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**

**Received 18/07/2011**
**Accepted 17/10/2011**

## ABSTRACT

**Bioeffect of some Syrian *Myrtus communis* L. leaves extracts in growth of some pathogenic microorganisms, which were isolated from Al-Assad hospital laboratory in Lattakia, was tested by disc diffusion method.**

**Results showed that cold and hot water extracts have antibacterial activity against all Gram positive and negative bacteria, and pathogenic *Candida albicans* except *Klebsiella pneumoniae*.**

**All organic extracts have antibacterial activity against *Proteus vulgaris*, *Entrococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus albus*. *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens* were affected by most of the organic extracts, and the most bioactivity was by methanol extract, and all inhibition zones of extracts were bigger than inhibition zones by control antibiotics.**

***Serratia marcescens* and *Acinetobacter calcoaceticus* were affected by methanol (with highest inhibition zone 37.33 and 27.33 mm respectively), ethanol, acetone and ethyl acetate extracts, but resistant to the others. *Klebsiella pneumoniae* affected by ethanol extract only with inhibition zone 20.33 mm.**

**Results of bioactivity according to a various solvents used in this study demonstrate that Syrian *Myrtus communis* L. leaves extracts have antimicrobial activity, so expected to be potential sources of natural antibacterial and antifungal products against some pathogenic bacteria and fungi in the future.**

**Key words:** *Myrtus communis* L. Organic extracts, Water extracts, Antimicrobial activity, Pathogenic microorganisms.

## 1- المقدمة

إن انتشار السلالات البكتيرية الممرضة السالبة والموجبة صبغة غرام المقاومة للعلاج بالمضادات الحيوية (Hiramatsu 1997; Thomson and Bonomo 2005; Rice 2006; Appelbaum 2007) هو موضوع اهتمام عالمي (Akin *et al*., 2010)، مما دعا الباحثين إلى البحث عن المواد الفعالة حيوياً من مصادر جديدة طبيعية كالطحالب البحرية (Ibtissam *et al*., 2009) فضلاً عن بعض أنواع البكتيريا وخاصة بعض أنواع الزوائف *Pseudomonas* بعدما أكدّت دراسات عديدة امتلاك مستخلصات مزارع الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* خصائص مضادة إزاء بعض الأحياء الدقيقة (زينب، قيد النشر)، (Marinho *et al*., 2009). واحتلت حديثاً النباتات الطبية وخاصة العطرية مكانة مهمة في الإنتاج الزراعي والصناعي، كما أنها تعدُّ المصدر الرئيس للعقاقير الطبية والمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الأدوية أو تستخدم بوصفها موادَّ خاماً لإنتاج عدد من المركبات الكيميائية التي تدخل في تصنيع بعض الأدوية المهمة (السلامي، 2000)، وتحتوي النباتات على مركبات أساسية مثل الكربوهيدرات والبروتينات والأحماض الدهنية وعلى مركبات ثانوية فعالة كالفينولات والقلويدات والتربنتينات والفلافونيدات والغليكوزيدات وتؤدي الأخيرة دوراً مهماً في الطب، وتنتشر النباتات العطرية في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط (Hassiotis and Lazari 2010) وأهمها نبات الآس الشائع والمنتشر بكثرة في منطقة الساحل السوري.

أكثر من 50% من العقاقير الطبية الحديثة ذات منشأ طبيعي، وتشكل العقاقير النباتية أكثر من 26% من إجمالي العقاقير الطبية (Joy *et al*., 1998)، وتؤدي المركبات الطبيعية دوراً مهماً في برامج تطوير العقاقير في الصناعات الصيدلانية (Farombi 2003)، وتنتج النباتات الطبية مجالاً متنوعاً من الجزيئات الفعالة الطبيعية، التي استخدمت آلاف السنوات في الحياة اليومية في الطب الشعبي لمعالجة الأمراض في معظم أنحاء العالم (Nair *et al*., 2005; Genetu *et al*., 2008; Tepsorn 2009; Husein 2010).

### 2- وصف نبات الآس الشائع:

يُعدّ الآس الشائع *M. communis* L. نباتاً حولياً عطرياً ينتمي إلى العائلة الآسية Myrtaceae وهي شجيرات دائمة الخضرة ارتفاعها متران أو أكثر، الأوراق عنقودية الترتيب صغيرة بيضوية أو رمحية، متداخلة، ملساء براقة، جلدية وذات رائحة عطرية فواحة مميّزة، الأزهار بيضاء عطرة مفردة في محور الورقة، الكأس حويصلي صغير، الثمار بسيطة لبنة مجسمة سوداء تؤكل وتجفف فتكون من التوابل، والبذور بيضاء ذات غطاء سميك (Mouterde 1983).

تنتج الأوراق والأزهار واللحاء زيتاً معروفاً باسم Angels water يتميّز برائحة عطرية منعشة، ويعدّ مهماً في صناعة العطور (Boelense and Jimenez 1992)، يمتلك النبات خواص مسكنة للألم (Twaij and El-Jalil 2009)، وتحتوي الأوراق على مواد مطهرة Antiseptic ومضادة للالتهابات كالإسهال العادي والإسهال الدموي، ومواد فعالة لمعالجة أمراض التهابات اللثة gingivitis (Akalu *et al*., 2007)، ومواد مضادة للأكسدة Antioxidant (Gortzi *et al*., 2007)، ويستخدم النبات في الصناعات الغذائية فالثمار الناضجة غنية بالفيتامينات، ويُضاف إلى بعض الأغذية لإعطاء نكهة، حيث يدخل في المركبات المكونة للعلكة (Akin *et al*., 2010).

### 3- أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية البحث في دراسة الفعالية المضادة لمستخلصات أوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض البكتيريا والفطريات الممرضة المعزولة من عينات بشرية مرضية، بهدف الاستفادة من المواد الاستقلابية الطبيعية الثانوية لأوراق هذا النبات في المستقبل بوصفها موادَّ فعّالة حيوياً وبديلة للمضادات الحيوية في معالجة الأمراض الإنتانية، وهَدَف البحث إلى:

1- استخلاص المواد الفعالة (باستخدام الماء ومذيبات عضوية مختلفة) من أوراق نبات الآس الشائع السوري *Myrtus communis* L.

2- عزل بعض الأحياء الدقيقة الممرضة من عينات مرضية.

3- دراسة التأثير الحيوي للمستخلصات المائية والعضوية لأوراق نبات الآس الشائع السوري في نمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة من العينات المرضية.

## 4- مواده البحث وطرائقه

### 4-1- جمع عينات نبات الآس الشائع:

جُمعت عينات نبات الآس الشائع من منطقة البسيط خلال شهر شباط 2011، وصُنّفت اعتماداً على معطيات الدراسات التصنيفية السابقة (Mouterde 1983)، وبمساعدة اختصاصيين في التصنيف النباتي في قسم علم الحياة النباتية الدكتور سرحان لايقة والدكتورة عفيفة عيسى. فُصلت الأوراق الخضراء القديمة السليمة (الأوراق المتوضعة في أسفل الأغصان)، نُظّفت وغُسلت مباشرة لإزالة المواد العالقة عليها، ثمّ جففت في الظل في درجة حرارة المختبر (20-23°م) مدة تزيد على 12 يوم (Nair *et al*., 2005). أُنجز هذا البحث في مختبر البحث العلمي لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم جامعة تشرين خلال عام 2011.

**4-2- تحضير مستخلصات أوراق نبات الآس الشائع:**

**4-2-1- المستخلصات المائية:**

**4-2-1-1- الخلاصة المائية الباردة:**

- وُضعت كمية من الأوراق المجففة سابقاً في حاضنة هوائية خاصة (تنشر تياراً هوائياً لضمان تجانس الحرارة بداخلها) مدة ساعتين درجة حرارتها 37° م؛ وذلك للتخلص من أي رطوبة في العينة لسهولة طحن الأوراق.
- طُحنت الأوراق الجافة باستخدام طاحونة كهربائية (grinder) حتى أصبحت بشكل بودرة ناعمة.
- أُخذ 20 غ من البودرة الناعمة ونقعت في حوجلة سعة 500 مل بإضافة 200 مل من الماء المقطر المعقم وضعت العينات في جهاز رجاج 130 هزة/د في درجة حرارة المختبر (20 -23°م) بعيداً عن الضوء مدة أسبوع.
- رُشحت الخلاصة باستخدام أوراق ترشيح (Whatman, No.1, 15 cm) وعُقمت بطريقة الترشيح الغشائي باستخدام أغشية ترشيح (Millipore) ذات قطر 47 ملم وحجم الثقوب 0.45 ميكرومتراً.
- جُففت الخلاصة بالتخلص من الماء بوضع الخلاصات في حاضنة هوائية لا تتجاوز حرارتها 40°م (السلامي، 2000)، مدة تزيد على 18 يوم، وبلغ وزن المادة الجافة 2.1 ملغ.

**4-2-1-2-الخلاصة المائية الساخنة:**

- أعيدت الخطوات السابقة نفسها ولكن بغلي مسحوق الأوراق والماء المقطر مدة ساعة واحدة، ومتابعة الخطوات نفسها.
- حُفظت الخلاصات الجافة الباردة والساخنة في مجمدة حرارتها أقل من -20° م إلى حين استخدامها (Nair *et al*., 2005; Amensour *et al*., 2010).

**4-2-2-المستخلصات العضوية:**

- وُضعت كمية من الأوراق المجففة سابقاً في حاضنة هوائية خاصة (تنشر تياراً هوائياً لضمان تجانس الحرارة بداخلها) مدة ساعتين درجة حرارتها 37° م؛ وذلك للتخلص من أي رطوبة في العينة.
- طُحنت الأوراق الجافة باستخدام طاحونة كهربائية (grinder) حتى أصبحت بشكل بودرة ناعمة.
- نُقع 20 غ من البودرة الناعمة في حوجلة سعة 500مل بإضافة إليها كل مرة 200مل أحد المحلات العضوية التالية من شركةMerck: موضحة مواصفاتها في الجدول (1) (methanol, ethanol, n-hexane, ethyl acetate, diethyl ether, dichlormethan, chloroform, acetone)

- وضعت العينات في جهاز رجاج 130 هزة/د في درجة حرارة المختبر (20-23° م) بعيداً عن الضوء مدة أسبوع.
- رُشحت الخلاصة باستخدام أوراق ترشيح (Whatman, No.1, 15 cm) وعُقمت بطريقة الترشيح الغشائي باستخدام أغشية ترشيح (Millipore) ذات قطر 47 ملم وحجم الثقوب 0.45 ميكرومتراً.
- جُففت الخلاصات بواسطة جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator تحت ضغط منخفض للتخلص من المذيب العضوي بعد معايرة حرارة الجهاز إلى 37° م أو أقل.
- حفظت الخلاصات العضوية الجافة في مجمدة حرارتها أقل -20° م إلى حين استخدامها (Nair *et al*., 2005; Nanasombat and Lohasupthawee 2005; Amensour *et al*., 2010).

-أُعيدت الخطوات السابقة بالنسبة إلى المستخلصات المائية والعضوية المذكورة بمعدل ثلاثة مكررات لكل منها.

وحُسب مردود المستخلصات الجافة المائية والعضوية وفق العلاقة الآتية:

المردود % = وزن الخلاصة الجافة بعد التبخر/وزن مسحوق الأوراق الجافة × 100 (Chanthaphon *et al*., 2008).

**الجدول (1) مواصفات المذيبات العضوية المستخدمة.**

| المذيب | الكتلة الجزيئية g/mol | طاقة التبخر j/g | نقطة الغليان عند 1/ ضغط جوي | الكثافة $g/cm^3$ |
|---|---|---|---|---|
| **الميتانول** | 32 | 1227 | 65 | 0.791 |
| **الإيتانول** | 46 | 879 | 79 | 0.789 |
| **إيتيل أسيتات** | 88.1 | 394 | 77 | 0.9 |
| **أسيتون** | 58.1 | 553 | 56 | 0.79 |
| **ثنائي إيتيل الإيتر** | 74 | 389 | 35 | 0.714 |
| **ثنائي كلور الميتان** | 84.9 | 373 | 40 | 1.327 |
| **الكلوروفورم** | 119.4 | 264 | 62 | 1.483 |
| **الهكسان** | 86.2 | 368 | 69 | 0.660 |

### 4-3-عزل الأحياء الدقيقة الممرضة:

عُزلتْ الأحياء الدقيقة الممرضة من عينات مرضية (الجدول 2) مأخوذة من مختبر مستشفى الأسد الجامعي في اللاذقية، واستُخدمت عديد من الأوساط لزراعة وتنقية البكتيريا من العينات المرضية مثل وسط MacConky Agar – وسط إيوزين أزرق المتيلين EMB Agar – وسط M-FC Agar – وسط M-Enterococcus Agar – وسط KF-Streptococcus Agar - وسط شابمان آغار لزراعة العنقوديات – وسط

Psedomonas agar p Base – وسط Acetamide agar لتمييز نوع بكتيريا الزائفة الزنجارية *Psedomonas aeruginosa* القادرة على نزع مجموعة الأمين من المداد Acetamide ضمن الوسط وتشكيل الأمونيا التي ترفع pH الوسط مسببة تغيّر لون الوسط من الأصفر إلى اللون الأحمر القرمزي، عن النوع الآخر للزوائف *Pseudomonas fluorescens* التي تعدّ سلبية لهذا الاختبار - وسط الآغار الدموي Blood Agar لكشف التحلل الدموي لبكتيريا المكورات العنقودية والبكتيريا الأخرى – وسط Potato Dextrose Agar (PDA) لزراعة فطريات *Candida albicans* فضلاً عن الآغار المغذي والمرق المغذي (APHA, 2000)، والأوساط المستخدمة جميعها من شركة Merck.

أمكن تصنيف البكتيريا المعزولة من العينات المرضية بعد إجراء كامل الاختبارات الحيوية الكيميائة اللازمة (الأوكسيداز، الكاتالاز، الإندول، أحمر الميتيل، السترات، فوجس بروسكاور، الحركة، اليوريا، تخمر السكاكر، إطلاق $H_2S$، تحلل الجيلاتين والنشاء، إرجاع النترات، نزع الكربوكسيل من الحموض الأمينية، المخثراز coagulase) ثمّ بالاعتماد على دليل بيرجي (Krieg and Holt 1984; Sneath *et al.*, 1986; Garrity *et al.*, 2004; Garrity *et al.*, 2005) وأحياناً استُخدمت أنظمة تحديد البكتيريا API (BioMérieux API Staph, API 20 Strep, API 20E System, France).

اختُبرت حساسية البكتيريا المعزولة ومقاومتها إزاء بعض المضادات الحيوية بطريقة الانتشَار بواسطة الأقراص، وحددت الحساسية والمقاومة وفقاً لمعايير (NCCLS, 2004) بعد قياس أقطار حلقات عدم النمو بواسطة مسطرة ميليمترية على وسط Mueller Hinton agar (Merck) (Bauer *et al.*, 1966; Barker & Kehoe 1995). والمضادات الحيوية المستخدمة موضحة في الجدول رقم (2) مع تركيزها في الأقراص، إنتاج شركة Liofilchem الإيطالية.

**الجدول (2) المضادات الحيوية المستخدمة**

| **Antibiotic** | **Code** |
|---|---|
| 1- Oxacillin | OX: 1µg |
| 2- Amoxicillin/Clavulanic acid | AMC: 20/10 mcg |
| 3- Cephalothin | KF: 30 µg |
| 4- Cefaclor | CEC: 30 µg |
| 5- Amikacin | AK: 30 µg |
| 6- Gentamycin | CN: 10 µg |
| 7-Cefadroxil | CFR: 30 mcg |
| 8- Imipenem | IPM: 10 mcg |
| 9- Sulfaprime | SXT: 25 µg |
| 10- Nystatian | 20 µg |

**4-4-اختبار التأثير الحيوي لمستخلصات أوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة:**

اختُبر التأثير الحيوي لمستخلصات أوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص أو طريقة Kirby-Bauer (Nanasombat and Lohasupthawee 2005; Salvagnini *et al*., 2008)، حيث أُذيبت المستخلصات العضوية الجافة (1 ملغ) في 1 مل من محلول (DMSO) Dimethyl sulfoxide تركيز 5 % المعقم بالترشيح، ثمّ شُربت أقراص ترشيح قطرها 6 مليمترات (Whatman, No.1, 6 mm) بمقدار 20 ميكرومتراً من كل مستخلص (1 ميكروغرام/ميكرومتر)، وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر (23-25° م)، واستُخدمت أقراص ترشيح مشربة بمقدار 20 ميكرومتراً من محلول (DMSO) Dimethyl sulfoxid 5% شاهداً سلبياً للاختبار دون مستخلص بالنسبة إلى المستخلصات العضوية.

وأذيبت المستخلصات المائية الجافة (1 ملغ) في 1 مل من الماء المقطر المعقم، وشُربت أقراص ترشيح قطرها 6 مليمترات (Whatman, No.1, 6 mm) بمقدار 20 ميكرومتراً من كل مستخلص (1 ميكروغرام/ميكرومتر)، وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر (23-25° م)، واستُخدمت المضادات الحيوية المقاومة Resistant (شاهداً سلبياً) أو أقراص ترشيح مشربة بمقدار 20 ميكرومتراً من الماء المقطر المعقم، والمضادات المتجسة (شاهداً إيجابياً)، مبينة في الجدول (3) وتركيزها موضح في الجدول (2)، واستُخدم Nystatian شاهداً إيجابياً للفطريات.

حُضّر معلق ميكروبي لكل نوع من الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة، بأخذ غمسة بكتيرية من طبق Nutrient agar (Merck) عمرها 24 ساعة، وغمسة لفطريات *Candida albicans* من طبق PDA agar عمرها 48 ساعة، وضعت في محلول فيزيولوجي لإعطاء عكارة 0.5 ماكفرلاند McFarland Standard ما يعادل $1.5\times 10^8$ خلية/ مل، ونُقل 0.5 مل من المعلق الميكروبي وفُرش فوق وسط Mueller Hinton agar (Merck) بماسحة قطنية، وبعد 15 دقيقة وزعت الأقراص المشربة بالمستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي بملقط معقم، وضعت في البراد مدة ساعتين لانتشار المادة الفعالة ضمن الوسط الزرعي، ثمّ حُضنت في الدرجة 37° م مدة 24 ساعة بالنسبة إلى البكتيريا وفي الدرجة 28° م مدة 48-72 ساعة بالنسبة إلى الفطريات، إن ظهور مناطق التثبيط (منع النمو) Inhibition zones في الآغار حول الأقراص دليل واضح على تثبيط النمو الميكروبي، وسجلت أقطار التثبيط بعد انتهاء الحضن بواسطة مسطرة ميليمترية، أُنجزت التجربة بواقع ثلاثة مكررات.

## 5- النتائج والمناقشة:

تمّ الحصول على اثنتي عشرة عزلة جرثومية (ثماني عزلات سالبة صبغة غرام وأربع عزلات إيجابية صبغة غرام) فضلاً عن عزلة واحدة من فطريات *Candida albicans* من عينات مرضية من مختبر مستشفى الأسد الجامعي في اللاذقية، موضحة في الجدول (3).

**الجدول (3) الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة ومصدر العينة ونتائج الشاهد الإيجابي والسلبي للمضادات الحيوية والمذيب DMSO.**

| الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة | الشاهد الإيجابي (S) ملم | الشاهد السلبي (R) | المحل DMSO | العينة المرضية |
|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | AK = 22 | CN | R | بول |
| *Proteus vulgaris* | AK = 20 | CN | R | بول |
| *Serratia marcescens* | SXT= 17 | CN | R | دم |
| *Klebsiella pneumoniae* | SXT= 27 | CN | R | دم |
| *Klebsiella oxytoca* | CN= 22 | OX | R | بول |
| *Acinetobacter calcoaceticus* | IPM= 12 | CN | R | دم |
| *Pseudomonas aeruginosa* | AK= 25 | AMC | R | خراج |
| *Pseudomonas fluorescens* | AK= 22 | CN | R | بول |
| *Streptococcus faecalis* | CEC= 18 | OX | R | دم |
| *Entrococcus faecium* | CN= 23 | OX | R | رتج خلفي |
| *Staphylococcus aureus* | KF= 25 | OX | R | مفرزات سرة |
| *Staphylococcus albus* | CEC= 30 | OX | R | بول (حالة للدم) |
| *Candida albicans* | Nystatian=18 | CN | R | رتج خلفي |

Resistance = R مقاومة، Susceptible =S حساسة وأقطار حلقات تثبيط النمو بالملم.

يوضح الجدول (3) الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة ومصدر العينة المأخوذة منها فضلاً عن المضادات الحيوية المستخدمة شاهداً سلبياً، أي مقاومة، والمضادات المستخدمة شاهداً إيجابياً وقياس أقطار حلقات تثبيط النمو بالملم ونتائج حساسية الأحياء الدقيقة للمذيب المستخدم لإذابة المستخلصات العضوية، والأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة جميعها مقاومة للمذيب DMSO، ومقاومة أيضاً للأقراص المشربة بالماء المقطر المعقم (النتائج غير مدونة في الجدول) المستخدم لإذابة المستخلصات المائية.

يبين الجدول (4) نتائج حساسية البكتيريا الممرضة المعزولة ومقاومتها للمضادات الحيوية، ويتضح أن البكتيريا الممرضة *Acinetobacter calcoaceticus* مقاومة لمعظم المضادات الحيوية المستخدمة، وبكتيريا *E. coli* والكليبسيلة الرئوية *K. pneumoniae* مقاومة لأربعة أنواع من المضادات الحيوية أهمها الجنتاميسين والسيفالوتين، والمتقلبات الشائعة *P. vulgaris* مقاومة للجنتاميسين والسيفالوتين

والسلفابريم، في حين المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* مقاومة للجنتاميسين والأوكسيسلي وIPM، والملاحظ أن جميع البكتيريا الإيجابية غرام مقاومة للأوكسيسلين OX ومعظم البكتيريا السلبية غرام مقاومة للجنتاميسين CN باستثناء بكتيريا *Klebsiella oxytoca* وبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ولذلك استُخدمت المضادات OX وAMC شاهداً سلبياً على التوالي بالنسبة إلى النوعين الأخيرين والجنتاميسين CN إلى الأنواع الأخرى، كما هو موضح في الجدول (3). حيث تكتسب كثير من البكتيريا مقاومة عالية لعدد من المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال مثل بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*؛ (السلامي، 2000) وبكتيريا *Acinetobacter calcoaceticus* التي تعدّ معندة على العلاج وخاصة العزلات المنتقلة عن طريق المستشفيات، وعدد من البكتيريا السالبة والموجبة صبغة غرام، وذلك لأسباب عديدة منها العلاج الخاطئ بالمضادات أو عوامل تتعلق بالجرثوم نفسه وغيرها (Thomson and Bonomo 2005; Rice 2006)، كما أن الفطريات لا تستجيب لمعظم المضادات الحيوية.

**الجدول (4) نتائج حساسية ومقاومة الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة إزاء المضادات الحيوية المستخدمة.**

| الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة | حساسة (S) | متوسطة الحساسية (I) | مقاومة (R) |
|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | AK, AMC | | CN, KF, CFR, SXT |
| *Proteus vulgaris* | AK, AMC | | CN, SXT, KF |
| *Serratia marcescens* | SXT | | AMC, CN |
| *Klebsiella pneumoniae* | SXT, IPM, AK | AMC | AK,CEC, CN, KF |
| *Klebsiella oxytoca* | CN, KF, SXT | | OX |
| *Acinetobacter calcoaceticus* | IPM | | SXT, AMC, CN,CEC, AK, CFR, KF |
| *Pseudomonas aeruginosa* | CN, IPM, AK | | AMC, SXT, CFR |
| *Pseudomonas fluorescens* | AK, IPM, SXT | CFR | SXT, AMC, CFM, CN |
| *Streptococcus faecalis* | CEC, AMC | | OX |
| *Entrococcus faecium* | CN, AMC | | OX, KF |
| *Staphylococcus aureus* | KF, SXT, CEC | AMC | CN, IPM, OX |
| *Staphylococcus albus* | CEC, AK, AMC, SXT | CN | OX |
| *Candida albicans* | Nystatian | | مقاومة لكل المضادات |

Susceptible=Sحساسة، Intermediate=I متوسطة الحساسية، Resistant=R مقاومة

**5-1- نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات المائية لأوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة:**

يعدّ الآس الشائع نباتاً طبياً ويمتلك خصائص مضادة إزاء العديد من العوامل الممرضة (Gholamhoseinian *et al*., 2005; Gholamhoseinian *et al*., 2009; Sacchetti *et al*., 2007).

إن غالبية الدراسات العالمية حول الفعالية المضادة لمستخلصات نبات الآس الشائع ركزت على دراسة المستخلصات العضوية أكثر من المستخلصات المائية، فكان من الضروري تعرّف تأثير المستخلصات المائية في الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة ومقارنتها بتأثير المستخلصات العضوية، وخاصةً أن الماء يعدّ من المحلات ذات القطبية العالية.

إن نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات المائية الباردة والساخنة لأوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة مبينة في الجدول (5)، إذ يلاحظ أن الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة كانت حساسة للمستخلصات المائية الباردة والساخنة لأوراق نبات الآس الشائع، باستثناء بكتيريا الكليبسيلة الرئوية *Klebsiella pneumoniae* التي أبدت مقاومة للمستخلصات المائية الباردة والساخنة، وكانت بكتيريا *E. coli* مقاومة للخلاصة المائية الساخنة، في حين كانت حساسة للخلاصة المائية الباردة وبلغ قطر حلقة تثبيط النمو 8.33 ملم.

وكانت البكتيريا السلبية والإيجابية غرام الأخرى المعزولة جميعها فضلاً عن فطريات *Candida albicans* حساسة للمستخلصات المائية الباردة والساخنة، وبأقطار حلقة تثبيط مختلفة، فبعضها كان حساساً بقطر أعلى للخلاصة المائية الباردة كبكتيريا *Serratia marcescens* وبلغ قطر التثبيط 30.66 ملم، وأنواع الزوائف *P. aeruginosa* و*P. fluorescens* وبلغ قطر التثبيط 40.33 و 37.66 ملم على التوالي، وتطابقت النتائج هنا مع دراسة (السلامي، 2000) في تأثير الخلاصة المائية الباردة في بكتيريا الزائفة الزنجارية بقطر أكبر من تأثير الخلاصة المائية الساخنة، وبلغ قطر حلقة التثبيط بالخلاصة المائية الباردة لبكتيريا المكورات المعوية *Entrococcus faecium* والمكورات العنقودية البيضاء *Staphylococcus albus* الحالة للدم أكبر من قطر التثبيط بالخلاصة المائية الساخنة، وتحسست فطريات *Candida albicans* للخلاصة المائية الباردة والساخنة بقطر أكبر من المضاد الحيوي.

مع الإشارة إلى أن أقطار حلقات تثبيط المستخلصات المائية أكبر بشكل عام من أقطار حلقات تثبيط المضادات الحيوية المستخدمة شاهداً إيجابياً كما هي مبينة في الجدول (3).

**الجدول (5) نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات المائية لأوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة.**

| الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة | الخلاصة المائية الباردة (ملم) | الخلاصة المائية الساخنة (ملم) | الشاهد السلبي (R) |
|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | * 8.33 | R | R |
| *Proteus vulgaris* | 27.33 | 28 | R |
| *Serratia marcescens* | 30.66 | 29.33 | R |
| *Klebsiella pneumoniae* | R | R | R |
| *Klebsiella oxytoca* | 13.66 | 20.33 | R |
| *Acinetobacter calcoaceticus* | 21.33 | 23.66 | R |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 40.33 | 32.33 | R |
| *Pseudomonas fluorescens* | 37.66 | 36.33 | R |
| *Streptococcus faecalis* | 22.66 | 26.66 | R |
| *Entrococcus faecium* | 17.33 | 16.33 | R |
| *Staphylococcus aureus* | 28.33 | 33 | R |
| *Staphylococcus albus* | 42.33 | 36.33 | R |
| *Candida albicans* | 34.66 | 33.33 | R |

* متوسط قطر حلقة تثبيط النمو بالملم

R = Resistance مقاومة (الشاهد السلبي= الأقراص المشربة بالماء المقطر المعقم أو المضادات الحيوية المقاومة)

بينما سجل قياس قطر حلقة التثبيط للبكتيريا الممرضة الأخرى أكبر بتأثير الخلاصة المائية الساخنة من الخلاصة المائية الباردة كالمتقلبات الشائعة *Proteus vulgaris* وبكتيريا *Klebsiella oxytoca* وبكتيريا *Acinetobacter calcoaceticus* 28 و20.33 و23.33 ملم على التوالي، وأيضاً بكتيريا *Streptococcus faecalis* والمكورات العنقودية الذهبية حيث بلغ قطر حلقات التثبيط 26.66 و33 ملم على التوالي.

وسجل الباحث (Genetu *et al*., 2008) في دراسته أن المستخلصات المائية لأوراق نبات الآس الشائع المعاملة بالأوتوغلاف في الدرجة 121° م مدة 15 دقيقة، يزداد تأثيرها في البكتيريا بمقدار 18 ضعفاً، وربما يعزى هذا الاختلاف في التأثير إلى فقدان الفعالية الحيوية لبعض المركبات الاستقلابية بالتسخين بالحرارة، وبقائها عالية الفعالية في المستخلصات المائية الباردة، أو اختلاف تركيز المادة الفعالة في الخلاصة المائية الباردة عنها في الخلاصة المائية الساخنة، وتعزى فعالية مستخلصات أوراق الآس إلى احتوائها على مركبات الفينولات ومتعدد الفينولات التي تثبط نمو البكتيريا السلبية والإيجابية الغرام، فضلاً عن وجود مركبات Alph-pinene و1,8-cineole التي تكون فعالة في تثبيط نمو البكتيريا لما تملكه من سُمية عالية (السلامي، 2000).

**5-2- نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات العضوية لأوراق نبات الآس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة:**

أثبتت دراسة الأجزاء الغليكوزيدية القطبية من مستخلصات الأوراق أن قسماً منها يمتلك خصائص مضادة للبكتيريا (Appendino *et al*., 2002; Appendino *et al*., 2006).

إن نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات العضوية لأوراق نبات الأس الشائع إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة مبينة في الجدول (6)، والملاحظ أن الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة جميعها كانت حساسة لمستخلصات أوراق النبات بالإيتانول، وبيّنت دراسة (AL-Anbori *et al*., 2007) أن خلاصة الإيتانول لهذا النبات قد أثرت في المكورات العقدية اللعابية الفموية salivary Mutans streptococci، بسبب احتوائها على مركبات الفلافونيد flavanoid.

وكانت الأحياء الدقيقة الممرضة جميعها حساسة لمستخلص الميتانول والأستون باستثناء بكتيريا الكليبسيلة الرئوية *Klebsiella pneumoniae*، التي أبدت مقاومة للمستخلصات المائية والعضوية جميعها باستثناء مستخلص النبات بالإيتانول، حيث تأثرت بقطر حلقة تثبيط 20.33 ملم وهو أقل من قطر حلقة تثبيط الصاد الحيوي SXT الشاهد الإيجابي 27 ملم، كما هو مبيّن في الجدول (3)، كما كانت بكتيريا *Klebsiella oxytoca* حساسة لمستخلصات الأستون والميتانول الإيتانول فقط، والأخير أكثرها فعالية بقطر ثتبيط 15.33 ملم.

وأثرت مستخلصات الميتانول والإيتانول والأستون في بكتيريا *E. coli* المعوية الممرضة المعزولة من بول المرضى، وبلغ قطر حلقة التثبيط بالميتانول أكبر قياس 25.33 ملم، كما أثرت مستخلصات إيتيل أسيتات وثنائي إيتيل الأيتر ولكن بقطر حلقة تثبيط صغيرة 7.33 و9 ملم على التوالي، ومن ثم اختلفت عن نتائج بعض الباحثين (Salvagnini *et al*., 2008; Amensour *et al*., 2010)، وربما يعود إلى أسباب عديدة منها ما يتعلق بالجزء المدروس من النبات نفسه وعمر الأوراق، كما تتأثر المواد الحيوية الفعالة والمركبات الاستقلابية الخلوية بعوامل كثيرة كظروف التربة والمناخ والموقع الجغرافي وطريقة الجمع والحفظ (Joy *et al*., 1998)، فضلاً عن طريقة الاستخلاص والمذيبات العضوية المستخدمة، وتوافقت مع نتائج (Gholamhoseinian *et al*., 2005) في تأثير مستخلص الميتانول لأوراق الآس الشائع في بكتيريا *E. coli* K12، ويعود السبب ربما إلى احتواء خلاصة الميتانول لأوراق نبات الآس الشائع على الجذور الحرة Free Radicals (زمر وظيفية شاردية) التي تؤدي دوراً أساسياً في الفعالية المضادة لهذا النبات إزاء البكتيريا، إذ تؤثر في عمل الأنزيمات البكتيرية مثل الكاتالاز وغيره، ولا تُغيّر في التركيب البنيوي للمادة الوراثية للبكتيريا (Gholamhoseinian *et al*., 2005)، وإنّ تشكل الجذور الحرة يعتمد على قطبية

المذيب، فكلما كانت قطبية المذيب عالية ازداد تشكلها وخاصة في الماء ثمّ الميتانول والإيتانول والأسيتون بدرجة أقل وهي ثابتة ضمنه وفعالة دائماً، ولا تتشكل في بقية المذيبات، ولذلك فإن مستخلصات المذيبات المذكورة لأوراق هذا النبات تبقى الأكثر فعالية وتأثيراً في نمو الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة.

وتأثرت بكتيريا المتقلبات الشائعة *Proteus vulgaris* بالمستخلصات العضوية جميعها وأكبر قطر تأثير سجل بالميتانول 29.66 ملم، وكانت بكتيريا *Serratia marcescens* و*Acinetobacter calcoaceticus* حساسة لمستخلصات الميتانول والإيتانول وإيتيل أسيتات والأستون، في حين كانت مقاومة للمستخلصات الأخرى، وأكبر قطر تثبيط سجل بالميتانول 37.33 و27.33 ملم على التوالي.

وأثرت مستخلصات الميتانول والإيتانول والأستون وإيتيل أسيتات في بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* في حين كانت مقاومة للمستخلصات الأخرى، وتحسست بكتيريا *Pseudomonas fluorescens* للمستخلصات نفسها بإضافة الكلوروفورم وثنائي كلور الميتان بأعلى قطر حلقة تثبيط للمحل الميتانول 29.33 و35.66 ملم على التوالي، وتوافقت هذه النتائج مع دراسة (Amensour *et al*., 2010) وتثبيط مستخلص الميتانول لأوراق نبات الآس الشائع في بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من الأغذية الفاسدة.

**الجدول (6) نتائج التأثير الحيوي للمستخلصات العضوية لأوراق نبات الآس الشائع السوري *Myrtus communis* L. إزاء بعض الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة.**

| الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة | إيتيل أسيتات | ميتانول | كلوروفورم | ثنائي كلور الميتان | أسيتون | إيتانول | هكسان | ثنائي إيتيل الإيتر |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | * 7.33 | 25.33 | R | R | 19.33 | 21.33 | R | 9 |
| *Proteus vulgaris* | 15.66 | 29.66 | 14.33 | 10.33 | 15.33 | 20.66 | 7.33 | 9.33 |
| *Serratia marcescens* | 7.33 | 37.33 | R | R | 25.66 | 28.33 | R | R |
| *Klebsiella pneumoniae* | R | R | R | R | R | 20.33 | R | R |
| *Klebsiella oxytoca* | R | 11 | R | R | 10.33 | 15.33 | R | R |
| *Acinetobacter calcoaceticus* | 10 | 27.33 | R | R | 20.33 | 17.66 | R | R |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 12.33 | 29.33 | R | R | 12.33 | 25.33 | 9.33 | R |
| *Pseudomonas fluorescens* | 20.66 | 35.66 | 8.33 | 10 | 30.66 | 28.33 | 7.33 | R |
| *Streptococcus faecalis* | 14.33 | 23.33 | R | 12.33 | 14.66 | 16.66 | R | 13.66 |
| *Entrococcus faecium* | 10.33 | 25.33 | 15.33 | 14.33 | 20.33 | 22.66 | 16.66 | 11.66 |
| *Staphylococcus aureus* | 21.66 | 35.66 | 16.66 | 14.66 | 28.33 | 27.33 | 16.66 | 25.33 |
| *Staphylococcus albus* | 32.33 | 41.33 | 23.33 | 30.33 | 32.33 | 33.66 | 25.33 | 27.33 |
| *Candida albicans* | 10 | 19.33 | R | R | 17.66 | 19.66 | R | R |

R= Resistant مقاومة، * متوسط قطر حلقة تثبيط النمو بالملم.

والملاحظ من الجدول (6) أن البكتيريا الإيجابية غرام الممرضة المعزولة جميعها قد تأثرت بالمستخلصات العضوية باستثناء بكتيريا المكورات العقدية البرازية *Streptococcus faecalis* التي أبدت مقاومة فقط لمستخلص الهكسان والكلوروفورم فقط، وأكبر قطر تثبيط بالميتانول 23.33 ملم، كما أن أكبر قطر تثبيط للمكورات العنقودية الذهبية والبيضاء سجل بالميتانول 35.66 ملم و41.33 ملم على التوالي، وبهذا تكون النتائج متطابقة مع دراسة (Mansouri 1999) التي بيّن فيها فعالية مستخلصات أوراق نبات الآس الشائع في عزلات *Staphylococcus aureus* المأخوذة من عينات مرضية، وتوافقت مع نتائج (Salvagnini *et al*., 2008; Gholamhoseinian *et al*., 2009) في تحسس البكتيريا الممرضة المعزولة من عينات بشرية للمستخلص وخاصة المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* والجلدية *S. epidermidis* وبكتيريا *Serratia marcescens*.

وكانت الفطريات الممرضة *Candida albicans* حساسة لمستخلصات الميتانول وإيتيل أسيتات والأستون والإيتانول وأكبر حلقة تثبيط سجلت 19.66 ملم بالإيتانول، وهو أكبر من قطر الثبيط بالصاد Nystatian.

والنتيجة المهمة الملاحظة بالنسبة إلى الأحياء الدقيقة المدروسة في هذا البحث جميعها هي أن مستخلص الميتانول قد أثر في الأحياء الدقيقة بقطر أكبر من المستخلصات الأخرى باستثناء أنواع الكليبسيلة *K. pneumoniae* التي كانت مقاومة و*K. oxytoca* فضلاً عن الفطريات الممرضة *Candida albicans*، كما أن تأثيره أعلى من تأثير المضادات الحيوية المستخدمة شاهداً إيجابياً، تلاه مستخلص الإيتانول الذي أعطى فعالية في الأحياء الدقيقة المعزولة جميعها، وتعزى فعالية المستخلصات الكحولية لنبات الآس لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة بتراكيز مختلفة منها Gallic acid وEllegic acid فضلاً عن الغليكوزيدات الفلافونية التي لها تأثير مثبط في نمو البكتيريا الإيجابية والسلبية الغرام (السلامي، 2000)، ثمّ الأستون الذي أعطى حلقة تثبيط أعلى أحياناً من الإيتانول إزاء بكتيريا *Pseudomonas fluorescens* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* فقط، وتلاه مستخلص إيتيل أسيتات من حيث الفعالية وأقطار حلقات تثبيط النمو الميكروبي.

## 6- الاستنتاجات والتوصيات:

أظهرت نتائج البحث أن مستخلصات أوراق نبات الآس الشائع *Myrtus communis* L. تمتلك فعالية مضادة إزاء البكتيريا السلبية والإيجابية غرام الممرضة وفطريات *Candida albicans* المعزولة من عينات مرضية بشرية، وخاصة المستخلصات المائية وبعض المستخلصات العضوية كالميتانول بالدرجة الأولى والإيتانول والأستون وإيتيل أسيتات، وبلغ تأثير المستخلصات إزاء الأحياء الدقيقة الممرضة المعزولة درجة مهمة بحيث تفوق تأثير المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج وخاصة الجنتاميسين والأوكسيسلين والأموكسيسلين، لذا يمكن أن يكون لأوراق النبات دور مهم في الحصول على المواد الفعالة إزاء بعض الأحياء الدقيقة كأنواع العنقوديات الممرضة سواء أكانت الذهبية والبيضاء *Staphylococcus* spp. والمكورات العقدية البرازية *Streptococcus faecalis* والمكورات المعوية البرازية *Entrococcus faecium* وبكتيريا الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* و*P. fluorescens* فضلاً عن بكتيريا *Acinetobacter calcoaceticus* و*E. coli* والمتقلبات الشائعة *Proteus vulgaris*، ويمكن استخدام المستخلصات المائية للأوراق في عملية الغسل الخارجي في أثناء الإصابة بفطريات *Candida albicans* الممرضة بتركيز لا يقل عن 10% (وزن/حجم) حسب النتائج الواردة في البحث، وانطلاقاً من هذه النتائج لا بدّ من القيام بإجراء دراسة أوسع عن المستخلصات وتحديد طبيعة المركبات الكيميائية وكمياتها وفصلها، ودراسة تأثير كل مركب بمفرده إزاء الأحياء الدقيقة الممرضة لتحديد المادة الفعالة، ودراسة اختبارات السمية في الكائن الحي، وذلك للاستفادة منها في معالجة الإنتانات الالتهابية الناتجة عن الإصابة ببعض الأحياء الدقيقة الممرضة مستقبلاً.

# REFERENCES المراجع


1- زينب، أسمهان. 2011. الفعالية الصادة لمستخلص جراثيم الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* إزاء الجراثيم الممرضة. مجلة جامعة تشرين للعلوم البيولوجية. قيد النشر.

2- السلامي، نبراس يحيى عبد الله. 2000. دراسة تأثير مستخلصات نباتي الآس *Myrtus communis L.* والثوم *Allium sativum* في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* خارج وداخل الجسم الحي. رسالة ماجستير، جامعة الكوفة، 2000، 106 صفحة.

3-Akalu, N.; Endale, A.; Asres, K., 2007. Evaluation of Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Myrtus communis* L. and Its Formulation into Gum Paint. Ethiopian Pharmaceutical Journal. Vol. 25, No. 1, pp. 72-76.

4-Akin, M.; Aktumsek, A. and Nostro, A., 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. African Journal of Biotechnology. Vol. 9 (4), pp. 531-535.

5-AL-Anbori, D. K. A.; AL-Nimer, M. S. M.; AL-Weheb, A. M., 2007. Antibacterial activity of ethanolic extract of *Myrtus communis*. L leaves against salivary Mutans streptococci. Saudi Dental Journal, Vol. 20, No. 2, pp. 82-87.

6-Amensour, M.; Bouhdid, S; Fernández-López J.; Idaomar, M.; Senhaji, N. S.; Abrini, J., 2010. Antibacterial Activity of Extracts of *Myrtus communis* Against Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria. International Journal of Food Properties, Vol. 13, P.1215-1224.

7-APHA, AWWA and WEF, 2000. Standard Methods for Examination of water and wastewater. 20th edition. American Public Health Association, Inc., Baltimore, M.D. USA..

8-Appelbaum P. C., 2007. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). International Journal of Antimicrobial Agents, Vol. 30, p. 398-408.

9-Appendino G.; Bianchi F.; Minassi A.; Sterner O., Ballero M. and Gibbons S., 2002. Oligomeric Acylphloroglucinols from Myrtle (*Myrtus communis*). Journal of Natural Products. Vol. 65, No. 3, pp. 334–338.

10-Appendino, G.; Maxia, L.; Bettoni, P.; Locatelli, M.; Valdivia, C.; Ballero, M.; Stavri, M.; Gibbons, S. and Sterner, O., 2006. Antibacterial Galloylated Alkylphloroglucinol Glucosides from Myrtle (*Myrtus communis*). J. Nat. Prod., Vol. 69, No. 2, pp. 251-254.

11-Barker, G. A.; Kehoe, E., 1995. Assessment of disc diffusion methods for susceptibility testing of *Aeromonas salmonicida*. Aquaculture, Vol. 134, P. 1-8.

12-Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., , Vol. 45, No.4, P. 493-496.

13-Boelense, M. H. and Jimenez, R., 1992. The chemical composition of Spanish myrtle oils . Part. 1. J. Ess. Oil. Res.,Vol. 3, 137-177.

**14-Chanthaphon, S.; Chanthachum, S. and Hongpattarakere, T., 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin J. Sci. Technol., Vol. 30, pp. 125-131.**

**15-Farombi, E. O., 2003. African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. African J. Biotech., Vol. 2, 662-671.**

**16-Garrity, G. M.; Bell, J. A. and Lilburn, T. G., 2004. Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition, Springer, New York Berlin-Heidelberg, 401.**

**17-Garrity, G. M.; Brenner, D. J.; Krieg N.R., Staley, J. T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, USA, 2nd Edition, Vol. 2, P. 1-1135.**

**18-Genetu, A.; Yared, M.; Moges, T.; Andargachew, M., 2008. In vitro antibacterial activity of crude preparation of myrtle (*Myrtus communis*) on common human pathogens. Ethiopian medical journal, Vol. 46, No. 1, pp. 63-9.**

**19-Gholamhoseinian A.; Mansouri S. and Rahighi S., 2009. Effects of Sub-Inhibitory Concentrations of *Myrtus communis* Leave Extracts on the Induction of Free Radicals in *Staphylococcus aureus*; A Possible Mechanism for the Antibacterial Action. Asian j. Plant Sci., Vol. 8, pp. 551-556.**

**20-Gholamhoseinian A.; Shakibaei M. R.; Jamali Z., 2005. The mechanism of antibacterial activity of methanolic extract of *Myrtus communis* L. on *E. coli* K12 HB101. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Vol. 4, No. 16, pp. 220-227.**

**21-Gortzi O.; Lalas S.; Chinou L.; Tsaknis J., 2007. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. European Food Research and Technology. Vol. 226, No. 3, pp. 583-590.**

**22-Hassiotis, C. N. and Lazari, D. M., 2010. Decomposition process in the Mediterranean region. Chemical compounds and essential oil degradation from *Myrtus communis*. International Biodeterioration & Biodegradation, journal homepage: www.elsevier.com/locate/ibiod, pp. 1-7.**

**23-Hiramatsu, K., 1997. Reduced susceptibility of Staphylococcus aureus to vancomycin-Japan,1996. Am. J. Infect. Control, Vol. 25, p. 405-408.**

**24-Husein, A. I. A., 2010. Modification of Biologically Active Compounds from Selected Medicinal Plants in Palestine. Thesis for Ph.D. Degree. An-Najah National University, Nablus, Palestine. pp. 1-149.**

**25-Ibtissam, C.; Hassane, R.; José, M-L.; Francisco, D. S. J. F.; Antonio, G. V. J.; Hassan, B. and Mohamed, K., 2009. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. African Journal of Biotechnology, Vol. 8, No. 7, p. 1258-1262.**

**26-Joy P. P.; Thomas J.; Mathew S.; Skaria B. P., 1998. Medicinal Plants. Kerala Agricultural University. Aromatic and Medicinal Plants Research Station, India. pp. 1-211.**

**27-Krieg N.R. and Holt J.G., 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Lippincott William & Wilkins, Baltimore, M.D. USA. Vol. 1, P. 1 – 964.**

**28-Mansouri, S., 1999: Inhibition of *Staphylococcus aureus* Mediated by Extracts from Iranian Plants. Vol. 37, No. 5, pp. 375-377.**

**29-Marinho, P. R.; Moreira A. P. B.; Pellegrino, F. L. P. C.; Muricy, G.; Bastos, M. D. C. D. F.; Santos, K. R. N. D.; Giambiagi-Demarval, M.; Laport, M. S., 2009. Marine Pseudomonas putida: a potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.144 , No. 5, P. 678-682.**

**30-Mouterde P., 1983. Nouvelle flone du liban et de la Syrie, tom II, Beyrouth dar el Machreg, p. 563, pp. 1-725.**

**31-Nair, R.; Kalariya, T.; Chanda, S., 2005. Antibacterial Activity of Some Selected Indian Medicinal Flora. Turk. J. Biol. Vol. 29, 41-47.**

**32-Nanasombat S. and Lohasupthawee P., 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other Enterobacteria. Sci. Tech., Vol. 5, No. 3, p. 527-538.**

**33-NCCLS., 2004. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. M100-S14 Vol.24, No.1, January.**

**34-Rice, L. B., 2006. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. Am. J. infect. control, Vol. 34, No. 5, p. 11-19.**

**35-Sacchetti, G.; Muzzoli, M.; Statti, G. A.; Conforti, F.; Bianchi, A.; Agrimonti, C.; Ballero, M.; Poli, F., 2007. Intra-specific biodiversity of Italian myrtle (*Myrtus communis*) through chemical markers profile and biological activities of leaf methanolic extracts. Natural Product Research, Vol. 21, P. 167-179.**

**36-Salvagnini, L. E.; Oliveira, J. R. S.; Santos, L. E. D.; Moreira, R. R. D.; Pietro, C. L. R., 2008. Evaluation of the antibacterial activity of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) leaves. Brazilian Journal of Pharmacognosy, Vol. 18, No. 2, pp. 241-244.**

**37-Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M.E. and Holt, J. G., 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Lippincott William & Wilkins, Baltimore, M.D. USA. Vol. 2, P. 965–1599.**

**38-Tepsorn, R., 2009. Antimicrobial Activity of Thai Traditional Medicinal Plants Extract Incorporated Alginate-Tapioca Starch Based Edible Films against Food Related Bacteria Including Foodborne Pathogens. PhD thesis. University of Hohenheim, Thailand, 1-370.**

**39-Thomson, J. M. and Bonomo, R. A., 2005. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: b-lactams in peril! J. mib. Vol. 8, p. 518-524.**

**40-Twaij, H.; EL-Jalil, H. A., 2009. Evaluation of Narcotic (Opioid Like) Analgesic Activities of Medicinal Plants. European Journal of Scientific Research, Vol. 33, No. 1, pp. 179-182.**