دراسة الدور العلاجي لمرهم مادة البروبوليس الكحولي المحلي في علاج الجروح المخموجة تجريبيا بالعنقوديات الذهبية بالفئران المخبرية

علي محمد غازي المحنة
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

فريد جميل عمر الطحان
كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

عدنان حمد الحمداني
كلية الطب / جامعة القادسية

الخلاصة

البروبوليس (صمغ النحل) عبارة عن مادة طبيعية صمغية راتنجية لزجة تجمعها عاملات نحل العسل من مصادر نباتية مختلفة وتتملك خصائص طبية وعلاجية متعددة . هدفت هذه الدراسة الى التعرف على الدور العلاجي للمرهم المحضر من خلاصة مادة البروبوليس المحلي في علاج الجروح الخارجية المخموجة بصورة تجريبية بجرثومة العنقوديات الذهبية في الفئران المخبرية. بلغت نسبة الخلاصة الإيثانولية للبروبوليس (33%) من وزن مسحوق المادة الجاف وكان قوامه لزجاً بلون أخضر داكن وله رائحة مميزة و أظهرت نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي الذي أجري في هذه الدراسة احتواء مادة البروبوليس على الفلافونويدات والرواتين والتربينات والفنولات وخلوها من القلوانيات والجليكوزيدات والكومارينات. اختبرت كفاءة الخلاصة الإيثانولية للبروبوليس على الجلد من خلال تحضيره على هيئة مرهم بتركيز (9%) في علاج الجروح الخارجية المستحثة بالفئران المخبرية والمخموجة بجرثومة العنقوديات الذهبية ، أظهر المرهم كفاءة عالية في علاج تلك الجروح التي تماثلت للشفاء خلال (8) ايام مقارنةً بمجموعة السيطرة (15) يوماً والمجموعة المعاملة بالوذلين (15) يوماً وتم تأكيد ذلك من خلال المقاطع التشريحية المرضية النسيجية التي أخذت من منطقة الإصابة قبل العلاج وبعده.

ملاحظة :

- المصطلحات المذكورة في البحث هي طبقاً الى المعجم الطبي الموحد
المقدمة

لاحتوائها على العديد من المواد الفاعلة والمثبتة لنمو الجراثيم كالقلوانيات والفنولات والفلافونويدات وغيرها التي أثبتت التجارب فاعليتها ضد الأحياء المجهرية الممرضة وتدني سميتها وتفعيلها بشكل غير متخصص للجهاز المناعي (6 ؛ 5) البروبوليس ويُعرف أيضاً بصمغ النحل (Bee glue) وهو ناتج طبيعي (Natural product) راتنجي ، صمغي القوام معقد التركيب متباين اللون يجمع من قبل شغالات نحل العسل من الأجزاء النامية للأشجار والشجيرات كبراعم الأوراق وقلف الأشجار (7) ، وذكر المختصون أنه مزيج من رواتين النباتات والشمع وحبوب الطلع و إفرازات الغدد اللعابية للنحل (8) ، يستخدم من قبل النحل لأغراض مختلفة فهو يستخدم في تضيق مداخل الخلايا في فصل الشتاء ، وفي سد التصدعات وملء الشقوق التي يدخل منها الضوء إلى داخل الخلية ، كما يستخدمه في تحنيط القوارض والحشرات كبيرة الحجم التي يقتلها داخل خلاياه ويصعب عليه إخراجها (9) هدفت الدراسة الحالية الى :

- 1- تهيئة وتحضير الخلاصة الإيثانولية لمادة البروبوليس المحلي الخام.
- 2- التحري عن وجود بعض المجاميع الكيميائية الفاعلة في مادة البروبوليس.
- 3- دراسة التأثير أشفائي لمرهم محضر من الخلاصة الإيثانولية لمادة البروبوليس المحلي في علاج الجروح الخارجية المستحثة تجريبيا والملوثة بجرثومة العنقوديات الذهبية في الفئران المخبرية.

يحدث أن يتعرض الأشخاص المصابون بالجروح والحروق ولأسيما الراقيدين في المستشفيات للإصابة بالأخماج بالرغم من كل الإجراءات الوقائية المتخذة حيالهم والذي يقود إلى التهابها وتقيحها وبالنتيجة الى تأخر مدة الالتئام ورفع كلفة معالجتها وفي حالات نادرة إلى الإنتان الدموي (Septicemia) الذي يقود إلى الموت ، ومن الجراثيم المسببة لمثل هذه الالتهابات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* و الإشريكية القولونية *Escherichia coli* وأنواع الكلبسيلا *Klebsiella spp.* وأنواع المتقلبة *Proteus spp.* (1) وتستخدم الكثير من المضادات الحيوية في معالجة هذه الأحياء الممرضة غير أنه في الآونة الأخيرة وبسبب الاستخدام العشوائي للمضادات فقد انتشرت الكثير من العزلات الجرثومية المقاومة لأغلب المضادات الحيوية إذ أظهرت *Proteus spp.* مقاومة لمضادات البيتا لاكتام من خلال إنتاجها إنزيم (β - lactamase) الذي يسبب تحلل حلقة البيتا لاكتام للمضاد الحيوي (2) ، كذلك الحال مع جراثيم *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas* إذ أظهرت مقاومة للعديد من المضادات الحيوية مما أكسبها ضراوة شديدة (4 ؛ 3) فضلاً عن مسؤولية المضادات الحيوية في إحداث العديد من التأثيرات الجانبية (Side effect) خاصة إذا استخدمت بجرع عالية وغير صحيحة لذا انصب اهتمام الباحثين في إيجاد البدائل لهذه المستحضرات الطبية فركز بعضهم على التدوي بالمستخلصات النباتية والأعشاب الطبية

طرائق العمل

نسبة مرور الضوء 25% بطول موجي 580 نانومتر بعد أن ضبط الجهاز المذكور لمرور 100% من الحزمة الضوئية على نفس الطول الموجي خلال مروره بالمرق المغذي الخالي من الجراثيم 0

حيوانات التجربة.

أستخدمت الفئران المختبرية البيضاء Albino mice من النوع (Balb - c) تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لمركز العقم لغرض دراسة فاعلية المهرم المحضر من خلاصة البروبولس المحلي إذ تراوحت أعمارها بين (6 - 8) أسابيع وكانت أوزانها ما بين (20 - 25 غم) من الذكور، وضعت الفئران في أقفاص نظيفة تحت ظروف بيئية ثابتة وبدرجة حرارة (25 - 30) °م وإضاءة مستمرة وزودت بعلف مركز طيلة فترة الدراسة .

أحداث الإصابة التجريبية في الفئران

أحدثت الإصابة التجريبية في حيوانات التجربة وذلك بقص وحلاقة الشعر من المنطقة الظهرية للفئران بعده تم تعقيم المنطقة بمحلول الكحول الايثيلي بتركيز (70 %) وعمل تخديش للجلد في مكان الحلاقة ، بعد ذلك تم تلويث المنطقة المحصورة بعالق الجرثومة المعد مسبقا ، وتم مراقبة تطور الالتهاب وحدوث الإصابة في منطقة الدراسة واخذ مسحات جلدية بعد 24 ساعة و48 ساعة من أحداث الإصابة التجريبية وزرعها على مستعنت اغار الدم والاغار المغذي للجرثومة وعمل ملون غرام للتأكد من ان سبب الالتهاب هو العنقودية الذهبية نفسها.

مجاميع التجربة

أستخدم لهذا الغرض (16) فأرا مختبريا قسمت الى أربع مجاميع وبواقع (4) فئران لكل مجموعة وكالاتي :

I - المجموعة الأولى / متمثلة بمجموعة السيطرة التي تم أحداث الإصابة التجريبية فيها بجرثومة العنقوديات الذهبية وتركها دون علاج لمتابعة تطور الحالة.

II/ المجموعة الثانية / متمثلة بمجموعة المعاملة بالمادة الحاملة إذ تم أحداث الإصابة التجريبية فيها بجرثومة العنقوديات الذهبية وعلاجها بالمادة الحاملة حصرا (الوذلين)

III/ المجموعة الثالثة / متمثلة بمجموعة العلاج بالبروبولس إذ تم أحداث الإصابة التجريبية فيها بجرثومة العنقوديات الذهبية وعلاجها بمهرم محضر من مزج البروبولس مع الوذلين بتركيز (9 %).

VI/ المجموعة الرابعة / متمثلة بمجموعة العلاج بالمضاد الحيوي إذ تم أحداث الإصابة التجريبية فيها بجرثومة العنقوديات الذهبية وعلاجها بمهرم يحتوي

جمع مادة البروبولس وتحضيرها لغرض الدراسة

تم جمع كمية من مادة البروبولس المحلي خلال شهر تشرين الأول من مناحل مدينة الديوانية والموصل والكوت ، نظفت من الأتربة وقطع الخشب العالقة بها ، ثم وضعت في المجمدة لعدة ساعات بعد ذلك طحنت باستعمال المطحنة الكهربائية حتى أصبحت بهيئة مسحوق (powder) ، حفظت النماذج المطحونة في عبوات نظيفة ، معتمدة ومحكمة الغلق في درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال.

تحضير الخلاصة الايثانولية للبروبولس.

مزج 50 غم من مسحوق مادة البروبولس الذي تم تحضيره في الفقرة السابقة مع (450) مل من الكحول الايثيلي (70 %) باستعمال صفيحة حارة المحركة لقطعة المغناطيس بدرجة حرارة الغرفة وحفظ المزيج لمدة أسبوع وكان يرج يوميا لبضع دقائق ، ثم رشح المزيج باستعمال ورق ترشيح وبخر باستعمال الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 45°م وبعد الحصول على الخلاصة تم وزنها بالغرامات وحفظت بدرجة حرارة الثلاجة (4) °م لحين الاستعمال (10) حضر التركيز 9% لغرض المعالجة في الجسم الحي. الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الطبية في مادة البروبولس

تم اجراء الكشف الكيميائي التمهيدي عن الرواتين بطريقة (11) الفلافونيدات بطريقة (12) وعن الفينولات والقلوانيات بطريقة (13) وعن الكومارينات بطريقة (14) وعن الفليكوزيدات بطريقة (15) وعن التربينات بطريقة (16).

تحضير العالق الجرثومي

اتبعت الخطوات التالية وحسب طريقة Grove و Randell المحورة (17)

• تم تحضير الجرثومة المذكورة في الفقرة السابقة بإعادة زراعتها من الخزين الأصلي (Stock) الى وسط الاكار المغذي بطريقة التخطيط ثم وضعت في الحاضنة بدرجة 37°م مدة 24 ساعة .

• نقل جزء من النمو الجرثومي على مستعنت الاغار المغذي باستعمال Loop الى الاغار المغذي المائل وحضنت بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة .

• غسل النمو الجرثومي من السطح المائل باستخدام 10 مل من المرق المغذي ورج العالق جيدا ومن ثم نقل الى أنبوبة اختبار نظيفة

• تم تعيين العدد الكلي لجرثومة العنقودية الذهبية باستخدام جهاز المطياف الضوئي بحيث تكون

الفورمالين الدارء ذي تركيز 10 % لمدة 3 ايام ثم تم تمرير النماذج بالطرائق الاعتيادية باستعمال جهاز التمرير Histokinette للحصول على قالب البرافين الذي قطع الى شرائح نسيجية باستخدام المشرع Microtome سمك 6 مايكرون ثم لونت الشرائح النسيجية بملون الهيماتوكسيلين والايوزين وفحصت التغيرات النسيجية تحت المجهر

النتائج

أظهرت نتائج الكشف الكيميائي للخلاصة الإيثانولية لمادة البروبولس باستعمال الكواشف والمحاليل التي سبق ذكرها وجود الفلافونويدات والرتينات والتريبات و الفنولات وخلوها من الفليكوزيدات و القلوانيات والكومارينات كما موضح في الجدول (1) .

على المضاد الحيوي الجنتاميسين Gentamicin (0.3%).

استمر العلاج بهذه المواد المذكورة في اعلاه بواقع مرتين يومياً حتى حدوث الشفاء التام في مجاميع التجربة كافة مع ملاحظة التطورات الحاصلة على منطقة الإصابة خلال فترة المعالجة مع اخذ نماذج من المناطق المصابة قبل العلاج وبعده لغرض التقطيع المرضي النسيجي حيث تم وضع النماذج في محلول

نتائج الاستخلاص الكحولي الإيثانولي للبروبولس:

بلغت نسبة الخلاصة الإيثانولية لمادة البروبولس (33%) من وزن مسحوق المادة الجاف وكان قوامه لزجاً بلون أخضر داكن وله رائحة مميزة .

نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الطبية:

جدول (1) الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الكيميائية الفعالة في البروبولس المحلي.

النتيجة	المكونات الكيميائية
(+)	الفلافونويدات
(-)	الفليكوزيدات
(-)	القلوانيات
(+)	الـفـنـولات
(+)	الراتينات
(+)	التريبينات
(-)	الكومارينات

(+) تدل على احتواء الخلاصة على المادة الكيميائية المراد الكشف عنها
(-) تدل على عدم احتواء الخلاصة على المادة الكيميائية المراد الكشف عنها .

المعالجة بالوذلين فقط ،أما المجموعة المصابة والمعالجة بمرهم الجنتاميسين (0.3%) فقد استغرق الشفاء التام للجروح نفس الفترة الزمنية التي أبداه العلاج بمرهم البروبولس (8 يام). من خلال إجراء التحليل الإحصائي وجد أن استخدام مرهم البروبولس حقق تفوق معنوي إحصائي عند مستوى احتمالية ($p < 0.01$) في شفاء الجروح المستحدثة بالفئران مقارنةً بمجموعة الفئران المعاملة بالوذلين ومجموعة الفئران المتركبة دون علاج ، في الوقت نفسه لم يسجل فرق معنوي إحصائي عند مستوى احتمالية ($p < 0.05$) بين فاعلية مرهم البروبولس وفاعلية كل من مرهم الجنتاميسين ومرهم الكلوترميزول في الدراسة الحالية. كما لم يظهر مرهم البروبولس المستخدم أي علامات سمية على الجلد عند استخدامه لعلاج الآفات الجلدية المستحدثة في الفئران المختبرية طيلة فترة المعالجة.

نتائج دراسة فاعلية الخلاصة الأيثانولية للبروبولس في الفئران المخبرية

بعد مرور 48-72 ساعة من إحداث الإصابة التجريبية في حيوانات التجربة بجرثومة العنقودية الذهبية *S.aureus* ظهرت الآفات الجلدية (Skin lesions) في المناطق المصابة على شكل تورم وحمامي (Erythema) مع ملاحظة حك الحيوانات المخموجة موقع الآفة باستمرار (صورة 1) . بعد المباشرة بعلاج مجاميع حيوانات التجربة بمادة البروبولس والمواد العلاجية الأخرى بينت النتائج الكفاءة العالية لمرهم البروبولس بتركيز (9%) في علاج الجروح الخارجية المستحدثة بالحيوانات المخبرية فقد ساعد المرهم على التئام الجروح المخموجة بجرثومة *S.aureus* خلال مدة 8 أيام (صورة 2) مقارنة مع مجموعة السيطرة التي تركت دون علاج والتي استغرقت مدة الشفاء فيها 15 يوماً وهي نفس المدة التي تطلبها شفاء المجموعة

جدول (2) معدل مدة الشفاء بالأيام للفئران المعالجة بالمواد العلاجية المختلفة في الجسم الحي

المادة العلاجية المستخدمة	معدل مدة الشفاء بالأيام
البروبولس (9%)	8
المضاد الحيوي الجنتاميسين (0.3 %)	8
الوذلين	15
السيطرة (متروكة دون علاج)	15

البشرة نتيجة الشواك Acanthosis مع فرط التقرن Hyperkeratosis وارتشاح انفرادي للخلايا الالتهابية من نفس النوع في الادمة اي حدوث التهاب الادمة البؤري الطفيف Slight focal dermatitis صورة (4). لقد اظهرت المقاطع النسيجية المأخوذة من منطقة الإصابة بعد العلاج بمرهم البروبولس وحدث الشفاء للجروح المستحدثة نتيجة الإصابة بالعنقودية الذهبية الى اختفاء الخراجات والخلايا الالتهابية والوذمة من منطقة الإصابة ، كما لوحظ رجوع البشرة الى سمكها الطبيعي مع تكاثر ألياف الكلاجين Collagen صورة (5).

نتائج التشريح المرضي النسيجي Histopathology

لقد أظهرت المقاطع النسيجية الجلدية المأخوذة من منطقة الإصابة بعد 3 أيام من أحداث الإصابة التجريبية بجرثومة العنقودية الذهبية *S.aureus* في الفئران حدوث التهاب قيحي حاد Acute suppurative inflammation يتمثل بوجود خراجات (Abscesses) في ادمة الجلد متكونة بالدرجة الاساس من كريات بيض مفصصة النوى Polymorphonuclear leukocytes مع الوذمة (Edema) صورة (3) ولوحظ كذلك زيادة سمك

صورة (1) مظهر عياني للإصابة التجريبية بجرثومة العنقودية الذهبية قبل بدء العلاج يظهر تورم وحمامي في منطقة الإصابة (3 أيام بعد أحداث الإصابة).

صورة (2) مظهر عياني للإصابة التجريبية بجرثومة العنقودية الذهبية بعد العلاج بمرهم البروبوليس يلاحظ التنام الجروح واختفاء الحمى من منطقة الإصابة (8 أيام بعد بدء العلاج).

صورة (3) مقطع نسيجي لجلد فأر مخموج بجرثومة العنقودية الذهبية يظهر وجود باحتين محدودتين (A) تتكون بصورة رئيسية من كريات بيض مفصصة النوى اشارة الى حدوث التقيح مع وجود الخبز (O) ((H&EX200

صورة (4) مقطع نسيجي لجلد فأر مخموج بجرثومة العنقودية الذهبية يلاحظ تتخن البشرة مع فرط التقرن وارتشاح انفرادي للخلايا الالتهابية (مفصصة النوى) في الادمة (X200 H&E)

صورة (5) مقطع نسيجي لجلد فأر مخموج بجرثومة العنقودية الذهبية بعد العلاج بمزهم البروبولس يظهر عودة سمك البشرة الى الطبيعي، قلة جريبات الشعر، برفقة تكاثر ألياف الكلاجين (X200 H&E)

المناقشة

الباحث Taylor (19) الى أن المواد الراتينية تشكل 50-70 % من إجمالي المكونات الكيميائية في البروبوليس وتعزى إليها طبيعته اللزجة أما التربينات (Terpens) و الفينولات (Phenols) فقد بينت نتائجنا وجودها في البروبوليس وقد يعزى إليها الفعل المضاد للجراثيم والفطريات بالتآزر مع المركبات الفلافونويدية (32) واتضح خلو البروبوليس من الفليكوزيدات والقلوانيات والكومارينات. عند دراسة كفاءة المهرم المحضر من (9%) من الخلاصة الإيثانولية للبروبوليس في علاج الجروح الخارجية المخموجة بجرثومة العنقودية الذهبية في الفئران المختبرية وبواقع مرتين يومياً أظهرت النتائج كفاءته في علاج تلك الفئران وظهر ذلك من خلال الأهمية الإحصائية لنتائج فاعلة مرهم البروبوليس والمضاد الحيوي البكتيري الجنتاميسين (Gentamicin) في علاج الفئران المصابة بالميكروب المذكور مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعالجة بالوذلين وتم تأكيد ذلك من خلال المقاطع النسيجية المأخوذة من منطقة الإصابة قبل العلاج وبعده ، يعود سبب الشفاء السريع للجروح المعالجة بمرهم البروبوليس إلى عاملين أساسيين وهما احتواء مادة البروبوليس ومستخلصاته على مجاميع كيميائية مضادة لنمو وتكاثر الجراثيم أثبتتها التحليل الكيميائي الأولي الذي أجري على الخلاصة الكحولية للبروبوليس المحلي وهذه المجاميع هي الفلافونويدات والتربينات إما العامل الآخر فهو فعل البروبوليس المحفز لبناء النسيج المتضرر من خلال تفعيل عملية الانقسام الخلوي المباشر للخلايا (33;34) ويستنتج من هذه الدراسة إلى أن للبروبوليس القدرة العالية والمقاربة إلى فعالية المراهم المحضرة من المضادات الحيوية في علاج الجروح الخارجية السطحية من خلال قضاءه على المسبب المرضي لالتهابات الجروح من جهة وسرعة التئام الجرح وهي الخاصية التي يتميز بها البروبوليس والغير موجودة في المضادات الحيوية لذا نوصي بضرورة الاستفادة من هذه المادة والتي غالباً ما تهمل أو تتلف من قبل مربى النحل لجهلهم بأهميتها الطبية .

احتلت نواتج النحل (Bee products) في الفترة الأخيرة حيزاً واسعاً من اهتمام الأطباء والباحثين لما تتمتع به هذه النواتج من قيمة غذائية عالية من ناحية ومن فاعليات حيوية وعلاجية متعددة من ناحية أخرى، وتشمل هذه النواتج على مادة العسل وشمع النحل والغذاء الملكي وسم النحل وحبوب الطلع ومادة البروبوليس ، يعد الأخير واحد من أهم نواتج النحل من الناحية الطبية والعلاجية لما يحتويه من مجاميع كيميائية فاعلة كالفلافونويدات والتربينات والفينولات (18) ولتوفر هذه المادة وبكميات كبيرة في خلايا النحل وعدم الاستفادة منها غالباً من قبل مربى النحل تم اختيار هذه المادة لغرض التحري عن قابليتها العلاجية من خلال تحضيرها على هيئة مرهم واستخدامها في علاج الجروح الخارجية الملونة تجريباً بجرثومة المكورات العنقودية في الفئران المخبرية. استخدم الكحول الإيثيلي بتركيز (70%) لغرض الاستخلاص كونه مذيباً جيداً لمعظم المكونات الفاعلة الموجودة في البروبوليس إضافة إلى سهولة تبخيره مقارنة مع المذيبات الأخرى (10) وكانت نسبة مستخلصه الإيثانولي (33%) من وزن مسحوق المادة الجاف وكان قوامه لزجاً وبلون أخضر داكن قد يعود سببه إلى وجود المركبات الفلافونويدية (19)، أظهرت نتائج الكشوفات الكيميائية التمهيدية التي أجريت على مادة البروبوليس إلى الخروج باستنتاجات أولية تشير إلى وجود مركبات الفلافونويدات (Flavonoids) وهذا يتفق مع ما ذكره الباحثون في دراساتهم الذين أكدوا وجود هذه المركبات بصورة رئيسية (20,21,22,23,24) إذ تعد المركبات الفلافونويدية إحدى المجاميع الكيميائية الرئيسية الموجودة في البروبوليس والمسؤولة عن جزء كبير من الفاعليات الحيوية كالفعل المضاد للأكسدة (25) والفعل المضاد للجراثيم (26) والفعل المضاد للفطور (27) والفعل المخدر (28) وقد أحصى الباحثون حوالي 40 مركباً فلافونوئيدياً من عينات البروبوليس المختلفة (29) كما أظهرت التحليلات أيضاً وجود الرواتين (Resins) وهذا يوافق ما ذكره الباحث Omar (30) والباحث Hegazi (31) كما أشار

المصادر

1. Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1990). Bailey and Scott's Diagnostic Micro-Biology. 8th ed. C.V. Mosby. USA.
2. Pagnie, L.; Migliavacca, R.; Rallecchi, L.; Matti, C.; Romero, E. and Rossini, G. (2002). Emerging extending spectrum β -lactamase in *proteus mirabilis*. J. Clin. Microbiol. P1549-1552.
3. Lakkis, C. and Fleiszing, S.M. (2001). Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to hydrogel contact lens disinfection correlates with cytotoxic activity. J. Med. Microbiol. P1477-1486.

4. Zalid, P.M.; Davies, S.; Whittaker, S. and Mason, C.(2001).Evaluation of a new selection medium for methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol.50:476-479.
5. Ghani, H.M.; Yahya, M.M. and Ayoub, M.T.(1987). Crude extract from *Lawsonia inermis* with antidermatophyte activity. Iraq. Mem. J.35:39-43.
6. البناء، يلدز محمد علي (1998) تأثير الكافئين وبعض المستخلصات النباتية على بعض الفطريات والبكتيريا المرضية والتفاعل اللانوعي للبلاعم. رسالة ماجستير في علوم الأحياء المجهرية / كلية العلوم - الجامعة المستنصرية.
7. Koo, H.; Smith, A.; Bowen, W. Rosalen, P.; Cury, J. and Park, Y. (1999). Effects of *Apis mellifera* propolis on the activities of streptococcal glucosyltransferases in solution and adsorbed on to saliva-coated hydroxyapatite. Caries. Res. 34:418-426.
8. Lin, S.; Chung, C.; Chiang, C. and Hsu, S. (1999). The influence of propolis ethanol extract on liver microsomal enzymes and glutathion after chronic alcohol administration. Am. J. Chin. Med. 27:83-93.
9. Valcic, S.; Montenegro, G.; Mujica, A.; Avila, G.; Franzblau, S.; Singh, M.; Maiese, W. and Timmermann, B. (1999). Phytochemical investigation of propolis from central Chile. Verlag der Naturforsch. 54:406-416.
10. Krell, R. (1996). Value-Added Products from Beekeeping. Agricultural Services bulletin. No.124.
11. Shihata, I.M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.D. Vet. Thesis. Cairo Univ. Egypt.
12. Jaffer, H.J.; Mahmood, M.I.; Jawad, A.M.; Naji, A. and Al-Naib, A. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plants. Fitoterapia. P229.
13. Harborne, J.B. (1973). Phytochemical Methods. Chapman and Hall. London.
14. Geissman, T.A. (1962). Chemistry of Flavonoid Compounds. Macmillan Co. New York.
15. الشيلخي، محمد عبد الستار؛ العزاوي، فريال حسن؛ فياض، حسن. (1993). الكيمياء التحليلية. الجامعة المستنصرية.
16. الخفاجي، باسمه ربيع أحمد (2000) تأثير مستخلصات نباتات سم الفراخ والميرمية والصفصاف على نمو بعض الفطريات الجلدية، رسالة ماجستير في علوم الأحياء المجهرية / كلية العلوم - الجامعة المستنصرية.
17. Grove, D.C. and Ranadell, W.A. (1955). The Pharmacological Basis of Therapeutics. 6th ed. Macmillan Co., New York.
18. حمزة، عارف سالم. (1998). اليروبولس الشافعي الطبيعى تركيبه، جمعه، طرق العلاج. دار علاء الدين - دمشق، سوريا.
19. Taylor, J.S. (2002). A look at the energizing properties of the royal jelly, bee Pollen, propolis and honey. Health Media publishing. London.
20. Baumann, J.; Bruchausen, F. and Wurm, G. (1980). Flavonoids and related compounds as inhibitors of arachidonic acid peroxidation. Prostaglandins. 20: 627-629.
21. Moreira, T.F. (1986). Chemical composition of propolis: vitamins and amino acids. Rev. Bras. Farmacogn. 1:9-12.
22. Walker, P. and Crane, E. (1987). Constituents of propolis. Apidologie. 18:327-340.
23. Koo, H.; Roslen, P.L.; Cury, J.A.; Park, Y. K.; Ikegaki, M. and Satler, A. (1998). Effects of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. Caries. Res. 33:393-400.

24. Chang, C.; Yang, M.; Wen, H.;Chern, J.(2002). Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods. J.Food. Drug. Anal. 10:178-182.
25. Scheller,S.;Wilczoks,T.;Imielskis,S.;Krol,W.;Gabrys,J.and Shani,J. (1990). Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. Int. J. Radiat.Biol.57:461-465.
26. Kujumgiev, A.; Tsvetkova, I.; Sevkedjieva,Y.; Bankova,V.; Chiristov, R.and Popov, S.(1999). Antibacterial, antifungal, and antiviral activity of propolis of different geographic origin .J. Ethnopharmacol.64:235-240.
27. Cafarchia,C.; Milillo, M.; Losacco,V. and Puccini,V.(1999). Antifungal activity of Apulia region propolis.Parasitologia41:587-590.
28. Paintz,S. and Metzner, R.(1979). Biological properties and Clinical application of propolis. Arzneim. Forsch.31:201-203.
29. Maciejewicz, W. (2001). Isolation of flavonoid aglycones from propolis by a column chromatography method and their identification by Gc/Ms and TLC method. Liq. Chrom. Rel. Technol. 24:1171-1179.
30. Omar, M.O. (1989). Some characteristics of propolis from upper egypt.Int.Conf.Agr.10:88-92.
31. Hegazi,A.G.and Abd El Hady, F.K. (1997). Chemical and biological studies of Egyptian propolis.Int. Symp.Apithera.Cairo.
32. Bankova, V.; Marcucci, M.; Simova, S.; Nikolova, N.; Kujumgiev, A. and Popov, S. (1996) . Antibacterial diterpenic acids from brazilian propolis. Z- Naturforsch.51:277-280.
33. Gabrys,J.; Konecki,Z.; Krol,W.; Scheller,S. and Shani,J. (1986). Free amino acids in bee live product(propolis) as identified and quantified by GLC. Pharmacol. Res.Comm. 18:513-518.
34. Scheller,S.; lewajka,E ; Panasiewicz, M.; Dzieka,D.; TustanoWski,J. and Stojko,A.(1977).Biological properties and clinical application of propolis. Arzneim. Forsah. 27:1547-1549.

A study of activity of local alcoholic propolis ointment in the treatment of the external wounds that experimentally infected with staphylococcus aureus in mice.

A.M. Al-Mohana

F.J. Al-Tahan

A.H. Al-Hamedeny

Abstract

Propolis (bee glue) is a sticky, gummy, resinous substance collected by honeybees from various plant sources, which has various medicinal properties. This study aimed to know the therapeutic role of ointment which prepared from extract of local propolis in treatment of external wounds that experimentally infected with *S.aureus* in experimental mice. The ratio of ethanolic extract of propolis amounted (33%) of the weight of the dry substance, it was glutinous with dark green color and characteristic odour . Moreover ,the results of the preliminary chemical tests which was taken in this study revealed that propolis contains flavonoids ,resins,terpenes and phenoles .Tested the qualification of ethanolic extract of propolis *In vivo*.Through its prepared as ointment (9%) in treatment of external wounds which are induced in lab. mice infected with *S.aureus* the ointment showed high qualification to treat such wounds (8 days) compared with control group(15 days) and group which treated with vaseline (15 days) that is assured by histopathological sections taken from the infected area before and after treatment .