In vitro efficacy of *Rosmarinus officinalis* L. leaves ethanolic extract and essential oil against head lice

Dr. Sozan Samra*
Dr. Kanaan Al-Tameemi**
Dr. Manal Darwish***
Abeer Qaseem****

(Received 4 / 7 / 2024. Accepted 1 / 8 / 2024)

□ ABSTRACT □

Introduction: Head lice infestation is one of the most important public health proplems among children worldwide, its treatment
is challenging because of the toxicity and the increased resistance to the existing treatments. Therefore, it's important to find alternative non-toxic anti-lice agents to overcome this problem.
Objective: This study aims to test the efficacy of essential oil and ethanolic extract from *Rosmarinus officinalis* L. leaves and compare their activity with benzyl benzoate in vitro.
Materials and methods: The leaves of *Rosmarinus officinalis* L. were collected from Banias City, Syria. Essential oil was extracted from dried and powdered leaves by hydrodistillation using a modified Clevenger apparatus. Ethanolic extract was prepared from leaves powder using Soxhelt. A filter paper diffusion bioassay was carried out to determine the pediculicidal activity of ethanolic extract and essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. leaves and comparing their activity with benzyl benzoate lotion, 4µl/cm^2 was an appropriate starting dose for screening.
Results: In a filter paper contact bioassay with *P. humanus capitis* females at 4 µl/cm ^{2}, the results showed that Rosemary essential oil ethanolic solution 800 µl/ml with LT50= 0.17h was more toxic than Rosemary ethanolic extract 25 mg/ml with LT50= 1.99h, but both were less effective than benzyl benzoate lotion with LT50= 0.03h.
Conclusion: The results demonstrate Rosemary essential oil in our study was more toxic than Rosemary essential oil in other studies and Rosemary ethanolic extract has good mortality against head lice, both of them can use in preparation the pediculicdal commercial product .

Keywords: Head lice, *Rosmarinus officinalis L.*, Filter paper contact toxicity bioassay, Ethanolic extract , Essential oil , LT50(Median lethal time).

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

***Assistant Professor - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Latakia - Syria.**
**** Professor - Faculty of Pharmacy - Al-Andalus University - Syria.**
***** Assistant Professor - Faculty of Pharmacy - Al-Andalus University - Syria.**
***** Postgraduate Student - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Latakia - Syria.**

دراسة فعالية الخلاصة الإيتانولية والزيت العطري لأوراق إكليل الجبل ضد قمل الرأس مخبرياً

د. سوزان سمرة*

د. كنعان التميمي**

د. منال درويش ***

عبير قاسم****

(تاريخ الإيداع 4 / 7 / 2024. قبل للنشر في 1 / 8 / 2024)

□ ملخّص □

المقدمة: تُعد عدوى قمل الرأس من أكثر الإصابات الطفيلية انتشاراً بين الأطفال، كما تعتبر مصدر قلق اجتماعي واقتصادي لا سيما في إطار المقاومة المتزايدة للطفيلي على العلاجات الكيميائية والمبيدات الحشرية المستخدمة، إضافة للآثار الجانبية والسَمية لهذه العلاجات، مما يستدعي ضرورة إيجاد علاجاتٍ بديلةٍ أكثر فعالية وأكثر أماناً للتغلب على مشكلة انتشار طفيلي القمل ومقاومته على الأدوية المستخدمة.

الأهداف: تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتقييم فعالية الزيت العطري والخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل ضد طفيلي قمل الرأس ومقارنتها مع فعالية بنزوات البنزيل في المختبر.

المواد والطرائق: تم جني الأوراق من نبات إكليل الجبل من منطقة بانياس في محافظة طرطوس، واستخلاص الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بالتقطير المائي. وتم تحضير الخلاصة الإيتانولية لأوراق النبات باستخدام جهاز سوكسليه. وتمت دراسة الفعالية القاتلة لحشرة قمل الرأس بالتماس المباشر للخلاصات النباتية بعد تطبيقها على أقراص سيللوزية ومقارنة فعاليتها مع المستحضر الجاهز من بنزوات البنزيل 25% وذلك بتسجيل معدلات القتل مع مرور الزمن لمدة 5 ساعات.

النتائج: أظهرت نتائج الاختبار عند تطبيق الخلاصات المحضرة بتركيز $4\mu l/cm^2$ أن الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل أكثر فعالية من الخلاصة الإيتانولية المحضرة من الأوراق أيضاً؛ إذ يمتلك المحلول الإيتانولي للزيت العطري المحضر بتركيز 800µl/ml LT50= 0.17h =10 min أما الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml تمتلك LT50=1.99h، و لكن كلاهما أقل فعالية من الشاهد الإيجابي (لوشن بنزوات البنزيل25%) LT50=0.3h=1.9min.

الخلاصة: نستنتج أن الزيت العطري لأوراق اكليل الجبل الذي تم تحضيره في دراستنا تفوق في الفعالية على الزيت العطري لإكليل الجبل في دراسات أخرى، وكذلك تمتلك الخلاصة الإيتانولية فعالية جيدة ضد حشرة قمل الرأس، يمكننا استخدام الزيت العطري والخلاصة الايتانولية لأوراق اكليل الجبل في تحضير مستحضرات لعلاج قمل الرأس المقاوم للمبيدات الحشرية الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: قمل الرأس، إكليل الجبل، السمية الحيوية بالتماس المباشر، خلاصة إيتانولية، زيت عطري.

حقوق النشر :مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* **مدرسة – كلية الصيدلة –جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.**

** **أستاذ – كلية الصيدلة –جامعة الاندلس- سورية.**

*** **مدرسة – كلية الصيدلة –جامعة الاندلس- سورية.**

**** **طالبة ماجستير – كلية الصيدلة –جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.**

مقدمة:

يُعتبر قمل الرأس Pediculus humanus capitis (Anoplura : Phthiraptera) طُفيلياً خارجياً نوعياً يمتلك مضيفاً واحداً هو الإنسان يتطفل على فروة الرأس(1). تضع الأنثى البالغة البيوض بعد يوم أو يومين من الإلقاح بالقرب من جذور الشعر على بعد حوالي 6 مم من فروة الرأس وبمعدل 7–10 بيوضٍ في اليوم ويصل عمرها إلى 30 يوماً، أما الذكر يموت بعد الإلقاح مباشرة (2). تتغذّى الحشرة على الدم عدة مرات في اليوم، وفي حال عدم وجود الدم يمكن أن تبقى على قيد الحياة مدة يومين بعيدة عن فروة الرأس. يُعد قمل الرأس شائعاً بين الأطفال بأعمار تتراوح بين 3 الى 12 عاماً، وتحدث العدوى بانتقال الطفيلي بالتماس المباشر رأس لرأس، أو بطرق غير مباشرة عبر تبادل الأمشاط والقبعات وغيرها(2).

تُعد الحكّة العرض الأساسي للإصابة بقمل الرأس التي تنجم عن فرط التحسس لِلُعاب القمل أثناء التغذية، كما يمكن أن تصاب السحجات الناتجة عن الحكّة بعدوات جرثومية ثانوية (3). يعد قمل الرأس أقل خطورة من قمل الجسد إذ لم تُسجّل حتى الآن أي حالات مرضية ناتجة عن جراثيم منقولة بقمل الرأس على الرغم من أنه تم عزل الحمض النووي للعديد من الجراثيم المسببة للأمراض من قمل الرأس، مثل: *Bartonella. quintana* و *Borrelia. recurrentis* و (4)*Yersinia pestis*.

يتم تشخيص العدوى بقمل الرأس عن طريق رؤية القمل الحي أو الحوريات أو الصئبان، وتعد رؤية الصئبان هي الأكثر شيوعاً والتي تدل على وجود إصابة نشطة لدى تواجدها على بعد أقل من 4مم من فروة الرأس، ونحتاج إلى دراسة مجهرية تمكننا من تحديد فيما إذا كانت الصئبان حية تحتوي حوريات أو فارغة تدل على إصابة سابقة (5). ونظراً للإنتشار الواسع لعدوى قمل الرأس بين الأطفال، يُعد علاج قمل الرأس وتدبيره أمراً بالغ الأهمية، حيث تشمل العلاجات المستخدمة غالباً المبيدات الحشرية الكيميائية مثل :البيرميثرين والمالاثيون واللينديين والإيفرمكتين والسبينوساد (6)، ولكن سُجّلت مقاومة على أغلب هذه الأدوية بشكل خاص البيرمترين بسبب تعريض الحشرات لمستحضرات تجارية من هذه المبيدات بتراكيز ممددة عن التركيز العلاجي الفعال إضافة إلى عدم إتباع الإرشادات الصحية السليمة عند تطبيق المستحضر، وكذلك يعتبر تطبيق المستحضر على شعر رطب من أسباب انخفاض فعاليته العلاجية (6).

يُعتبر فشل العلاجات المطبقة وتطور المقاومة عليها إضافة إلى أن البعض منها سام جداً كالمالاثيون واللينديين دافعاً لمحاولة إيجاد مبيدات حشرية جديدة من مصادر طبيعية، وتعتبر العقاقير المستخلصة من النباتات بديلاً جيداً إذ تُعد إمكانية تطوير مقاومة عليها أقل، وقد أظهرت بعض الدراسات الفعالية المخبرية لخلاصات نباتات عديدة ضد حشرة قمل الرأس البشري منها:

Illicium verum f(Illiciaceae), *Andrographis paniculata*(Acanthaceae), *Pongamia Pinnata*(Fabaceae)(7, 8)

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار فعالية مواد طبيعية بديلة عن العلاجات الكيميائية المستخدمة وهي الزيت العطري والخلاصة الإيتانولية من نبات *Rosmarinus officinalis* L.، من الفصيلة الشفوية (Lamiaceae) ضد حشرة قمل الرأس البشري مخبرياً. إذ تم اختيار غسول بنزيل البنزوات بتركيز 25% لمقارنة فعاليته مع كل من الزيت العطري والخلاصة الايتانولية القاتلة للقمل. يستخدم غسول بنزيل البنزوات بتركيز (10–30%) لعلاج هامة الجرب ويمدد عند استخدامه لدى الأطفال لتركيز12.5% ولدى الرضع لتركيز 6.25% كونه يسبب تهيج للجلد وخاصة الأغشية المخاطية والعينين (9)، إلا أن فعاليته مثبتة بالتجربة بالتراكيز المنخفضة في القضاء على قمل الرأس لهذا يتم

استخدامه لمقارنة فعالية الخلاصات المحضرة بفعاليته كونه الأشد فعالية ولم تظهر مقاومة ضده كونه غير شائع الاستخدام لمعالجة قمل الرأس (8).

طرائق البحث ومواده

1-جمع النباتات

تم جني الأوراق من نبات إكليل الجبل من منطقة ريف بانياس، محافظة طرطوس، وذلك خلال الشهر الرابع والخامس من عام 2022، ثم تم تصنيف النبات إلى فصيلته ونوعه في كلية الزراعة في جامعة تشرين.

تم غسل الأوراق وتجفيفها في الهواء الطلق والظل لمدة سبعة أيام وتخزينها إلى حين الاستخلاص.

1. 1. استخلاص الزيت العطري من مسحوق أوراق إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L.

بعد طحن الأوراق باستخدام مطحنة آلية تم وزن 300g من مسحوق أوراق إكليل الجبل واستخلاصها بجهاز التقطير المائي باستخدام وصلة كلافنجر. تم الاستخلاص بدرجة حرارة 50°C لمدة 3ساعات وكان حجم الزيت الناتج 3.2 ml، وزنه 3.09g، بمردود 1.03%. تم الاحتفاظ بالزيت العطري في عبوة عاتمة بدرجة حرارة 4- °C لحين استخدامه (6).

1. 2. تحضير الخلاصة الإيتانولية لمسحوق أوراق إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L.

تم استخلاص 5g من مسحوق الأوراق بواسطة جهاز سوكسيليه باستخدام الإيتانول المطلق عند درجة حرارة 45 °C، وقد استغرق الاستخلاص مدة ثلاث ساعات ونصف، وثم تم تركيز الخلاصة الإيتانولية السائلة بواسطة جهاز المبخر الدوار وطرد المحل لنحصل على خلاصة جافة بوزن1.55g، قُمنا بالاحتفاظ بها في عبوة عاتِمة بدرجة حرارة 4- °C (8).

2-جمع حشرات قمل الرأس

تم جمع الحشرات من أطفال مصابين من مدارس ابتدائية ضمن محافظة اللاذقية، بأعمار تتراوح من 7- 12 عاماً وبالتعاون مع المدرسين وأولياء الأمور، وتم جمع حشرات القمل البالغ بواسطة مشط بأسنان رفيعة ثم تم نزعها ونقلها بشكل آمن إلى صندوق مثقب ليتم بعدها نقلها مباشرة إلى مخبر الأحياء الدقيقة في مشفى تشرين الجامعي.

3- دراسة الفعالية القاتلة لحشرة قمل الرأس بالتماس المباشر للخلاصات النباتية عبر الأقراص Filter paper contact toxicity bioassay

بدأ الاختبار بعد نصف ساعة من عملية جمع الحشرات، قُمنا بتحضير التراكيز من الخُلاصات النباتية المُحضّرة سابقاً باعتماد الخطوات التالية:

1) تحضير تركيز أول (25 mg/ml) من الخلاصة الإيتانولية الجافة عبر حل 25 mg في 1ml من الإيتانول المطلق، ثم قمنا بتمديد التركيز السابق بالإيتانول بنسبة 50% للحصول على تركيز(12.5 mg/ml).

2) تمديد الزيت العطري لـ أوراق اكليل الجبل:

قمنا بحل 100 µl من الزيت مع 900 µl من الإيتانول المطلق وحصلنا على تركيز(100 µl/ml)، وحضرنا تركيز آخر(800 µl/ml) عبر حل 800 µl من الزيت مع 200 µl من الإيتانول.

تم في كل تجربة وضع قرص سيللوزي بقطر 5.5 cm في قاع كل طبق بتري بقطر 6 cm، ثم قمنا بتطبيق $4\mu l/cm^2$ (100 µl) على مساحة كامل القرص) من كل عينة مدروسة (الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بتركيز 100 µl/ml، الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml، الخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml، الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل بتركيز 12.5 mg/ml) في الطبق الأول، ومن مستحضر بنزوات البنزيل 25% في الطبق الثاني (شاهد إيجابي)، ومن الإيتانول المطلق في الطبق الثالث(شاهد سلبي). بعد ذلك تم وضع 10 حشرات قمل حية في كل طبق بتري وتَمّ التَّأكُد من نشاطِها، ثم تمت مُراقبة السمية مع مرور الزمن وتَسجيل مُعدل الوفيات خلال فترة المراقبة لمدة 5ساعات، كما قمنا بتكرار كُل تجربة لكل عينة مدروسة ثلاث مرات(7، 8).

تم حساب LT50 للعينات المدروسة والشاهد الإيجابي والشاهد السلبي لكل تجربة باستخدام Probit analysis (SPSS for windows version 20)، كما تم استخدام اختبار One way anova للمقارنة بين قيم LT50 للتراكيز المحضرة لكل من الزيت والخلاصة.

النتائج والمناقشة

النتائج

1. دراسة فعالية الزيت العطري أوراق إكليل الجبل بتركيز 100 µl/ml في القضاء على حشرة القمل

تمت مقارنة فعالية الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بتركيز 100µl/ml في القضاء على حشرة القمل مع كل من الشاهد الإيجابي (بنزوات البنزيل 25%) والشاهد السلبي (الإيتانول المطلق) من خلال حساب LT50 الخاص بكل مجموعة (الزمن اللازم لقتل 50% من العينة).

جدول 1: يوضح الجدول قيم LT50 الخاصة بزيت اكليل الجبل (100µl/ml) مقارنةً مع الشاهد الإيجابي والسلبي

Sample	LT50 (h)	95% CL	Slope (±SE)	R^2	R	P-value
زيت اكليل الجبل بتركيز 100µl/ml	1.82	1.43-2.15	0.75±0.14	0.805	0.897	0.00
الشاهد الإيجابي	0.03	0.01-0.1	1.15±0.35	0.841	0.917	0.03
الشاهد السلبي	11.8	--	0.1±0.08	0.034	0.184	0.2

LT50 (Median lethal time**), CL (**Confidence limit**), R^2 (**Correlation Coefficient**),**
r (Pearson correlation coefficient**) , SE (**Standard error**)**

كان LT50 الخاص بالزيت العطري أكبر من LT50 الخاص بالشاهد الإيجابي. بينما LT50 للشاهد السلبي غير مهمة احصائياً p-value= 0.2.

كانت العلاقة بين زمن تطبيق الزيت (ساعة) وفعاليته القاتلة هامة احصائياً (p-value=0.000) ويمكن كتابة معادلة الانحدار التي تمثل العلاقة بين المتغيرين كالتالي:

$$y= 1.37+ 0.75x$$

حيث أن x (متغير مستقل: زمن التطبيق) و y (متغير تابع: الفعالية القاتلة).

تم حساب معامل ارتباط بيرسون لقوة العلاقة بين زمن تطبيق زيت اكليل الجبل وفعاليته القاتلة وكان r= 0.897 مما يدل وجود علاقة ارتباط طردية قوية بين المتغيرين، بينما كان معامل التحديدR^2=0.805 وبالتالي يمكن تفسير 80.5%من تغيرات الفعالية باختلاف زمن التطبيق.

2. دراسة فعالية الزيت العطري لإكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml في القضاء على حشرة القمل

تمت مقارنة فعالية الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml في القضاء على حشرة القمل مع كل من الشاهد الإيجابي (بنزوات البنزيل 25%) والشاهد السلبي (الإيتانول المطلق) من خلال حساب LT50 الخاص بكل مجموعة (الزمن اللازم لقتل 50% من العينة).

جدول 2: يوضح الجدول قيم LT50 الخاصة بالزيت العطري لأوراق اكليل الجبل (800 µl/ml) مقارنةً مع الشاهد الإيجابي والسلبي

Sample	LT50(h)	95% CL	Slope(±SE)	R^2	r	P-value
زيت اكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml	0.17	0.13-0.25	1.6±0.7	0.167	0.408	0.02
الشاهد الايجابي	0.03	0.01-0.1	1.15±0.35	0.841	0.917	0.03
الشاهد السلبي	11.8	-	0.1±0.08	0.034	0.184	0.2

Probit analysis*

كان LT50 الخاص بالزيت العطري أكبر من LT50 الخاص بالشاهد الإيجابي، بينما كانت LT50 للشاهد السلبي غير مهمة احصائياً p-value= 0.2.

كانت العلاقة بين زمن تطبيق الزيت (ساعة) وفعاليته القاتلة هامة احصائياً (p-value=0.000) ويمكن كتابة معادلة الانحدار التي تمثل العلاقة بين المتغيرين كالتالي:

y= 0.28+1.6X

حيث أن x (متغير مستقل: زمن التطبيق) و y (متغير تابع: الفعالية القاتلة).

تم حساب معامل ارتباط بيرسون لقوة العلاقة بين زمن تطبيق زيت اكليل الجبل وفعاليته القاتلة وكان r= 0.408 مما يدل وجود علاقة ارتباط طردية متوسطة بين المتغيرين، بينما كان معامل التحديدR^2=0.167 وبالتالي يمكن تفسير 16.7%من تغيرات الفعالية باختلاف زمن التطبيق.

3. مقارنة الفعالية القاتلة للقمل للزيت العطري لأوراق إكليل الجبل بالتركيزين المستخدمين

جدول 3: نتائج اختبار تحليل التباين One way anova للمقارنة بين متوسطات Lt50 للزيت العطري لأوراق اكليل الجبل

Sample	Mean(LT50)	S.D	S.E	95% CL	P-value
زيت اكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml	0.168	0.125	0.072	1.45-2.07	0.00
زيت اكليل الجبل بتركيز 100 µl/ml	1.79	0.152	0.008	0.125-0.2	

One way anova, **SD** (Standard deviation)

*

كان LT50 للزيت العطري لأوراق اكليل الجبل (بالتركيز الأعلى 800 µl/ml) أقل منه بالتركيز الأكثر تمديداً، بالتالي عندما ازداد التركيز ازدادت الفعالية بشكل مهم احصائياً P-value=0.00.

4. دراسة فعالية الخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml في القضاء على حشرة القمل

تمت مقارنة فعالية الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml في القضاء على حشرة القمل مع كل من الشاهد الإيجابي (بنزوات البنزيل 25%) والشاهد السلبي (الإيتانول المطلق) من خلال حساب LT50 الخاص بكل مجموعة (الزمن اللازم لقتل 50% من العينة).

جدول 4: يوضح الجدول قيم LT50 الخاصة بالخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل مقارنةً مع الشاهد الإيجابي والسلبي

Sample	LT50(h)	95% CL	Slope(±SE)	R^2	r	P-value
خلاصة اكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml	1.99	2.15-1.43	0.85±0.08	0.705	0.84	0.00
الشاهد الإيجابي	0.03	0.01-0.1	1.15±0.35	0.841	0.917	0.03
الشاهد السلبي	11.8	--	0.1±0.08	0.034	0.184	0.2

كان LT50 الخاص بالخلاصة الإيتانولية أكبر من LT50 الخاص بالشاهد، بينما LT50 للشاهد السلبي غير مهمة احصائياً p-value= 0.2.

وكانت العلاقة بين زمن تطبيق الزيت (ساعة) وفعاليته القاتلة هامة احصائياً (p-value=0.000) ويمكن كتابة معادلة الانحدار التي تمثل العلاقة بين المتغيرين كالتالي:

$$y= 1.7+0.85X$$

حيث أن x (متغير مستقل: زمن التطبيق) و y (متغير تابع: الفعالية القاتلة).

تم حساب معامل ارتباط بيرسون لقوة العلاقة بين زمن تطبيق الخلاصة الإيتانولية وفعاليتها القاتلة وكان r=0.84 مما يدل وجود علاقة ارتباط طردية قوية بين المتغيرين، بينما كان معامل التحديد R^2=0.705 وبالتالي يمكن تفسير 70.5%من تغيرات الفعالية باختلاف زمن التطبيق.

5. دراسة فعالية الخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل بتركيز 12.5mg/ml في القضاء على حشرة القمل

تمت مقارنة فعالية الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل بتركيز 12.5 mg/ml في القضاء على حشرة القمل مع كل من الشاهد الإيجابي (بنزوات البنزيل 25%) والشاهد السلبي (الإيتانول المطلق) من خلال حساب LT50 الخاص بكل مجموعة (الزمن اللازم لقتل 50% من العينة).

جدول 5: يوضح الجدول قيم LT50 الخاصة بالخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل مقارنةً مع الشاهد الإيجابي والسلبي

Sample	LT50(h)	95% CL	Slope(±SE)	R^2	r	P-value
خلاصة اكليل الجبل بتركيز 12.5mg/ml	4.03	3.5-4.7	0.33±0.056	0.858	0.926	0.00
الشاهد الايجابي	0.03	0.01-0.1	1.15±0.19	0.841	0.917	0.03
الشاهد السلبي	11.8	--	0.1±0.08	0.034	0.184	0.2

كان LT50 الخاص بالخلاصة الإيتانولية أكبر من LT50 الخاص بالشاهد الإيجابي، بينما LT50 للشاهد السلبي غير مهمة احصائياً p-value= 0.2.

كانت العلاقة بين زمن تطبيق الخلاصة (ساعة) وفعاليته القاتلة هامة احصائياً (p-value=0.000) ويمكن كتابة معادلة الانحدار التي تمثل العلاقة بين المتغيرين كالتالي:

$$y= 1.35+0.33X$$

حيث أن x (متغير مستقل: زمن التطبيق) وy (متغير تابع: الفعالية القاتلة).

تم حساب معامل ارتباط بيرسون لقوة العلاقة بين زمن تطبيق الخلاصة الإيتانولية وفعاليتها القاتلة وكان r=0.926 مما يدل وجود علاقة ارتباط طردية قوية جداً بين المتغيرين، بينما كان معامل التحديدR^2=0.858 وبالتالي يمكن تفسير 85.8%من تغيرات الفعالية باختلاف زمن التطبيق.

6. مقارنة الفعالية القاتلة للقمل بين مجموعات الدراسة

جدول 6: نتائج اختبار تحليل التباين One way anova للمقارنة

بين قيم متوسطات LT50 للزيت العطري والخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل

Sample	Mean(LT50 h)	S.D	S.E	95% CL	P-value
زيت اكليل الجبل بتركيز 800 µl/ml	0.168	0.125	0.072	1.45-2.07	0.00
زيت اكليل الجبل بتركيز 100µl/ml	1.79	0.152	0.008	0.125-0.2	
خلاصة إيتانولية بتركيز 25 mg/ml	1.9	0.10	0.05	1.6-2.1	
خلاصة إيتانولية بتركيز 12.5 mg/ml	3.99	0.13	0.07	3.6-4.2	

نلاحظ أن الزيت العطري لإكليل الجبل أشد فعالية من الخلاصة الإيتانولية له، إذ كان LT50= 0.168h= 10 min بالتركيز الأعلى، بينما الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل بتركيز 25 mg/ml تمتلك LT50= 1.9h وكان هذا الفرق هام احصائياً P-value= 0.00.

المناقشة

أظهرت الدراسة أن الزيت العطري لأوراق إكليل الجبل الذي تم تطبيقه بتركيز $4\mu l/cm^2$ أشد فعالية من الزيت العطري في دراسة Limoncu, ***et al.*** التي تم إجراؤها في تركيا التي تُبين أن الزيت العطري لإكليل الجبل فعال في القضاء على القمل بتركيز $0.25ml/cm^2$ خلال 10min (10)، وفي دراسة YANG,Young-Cheol *et al.* إذ كان الزمن اللازم لقتل 50% من الحشرات عند استخدام الزيت العطري لإكليل الجبل بتركيز 0.25 mg/ml 14min (11). يُعد الزيت العطري لإكليل الجبل غني بالتربينات الأحادية مثل (borneol ,boryl aceatate ,camphene, 1.8 cineol ,camphor, β- pinene, α- pinene) ، ويعد α-pinene, 1.8 cineol من المكونات الأساسية لزيت اكليل الجبل(12). من المتوقع أن تكون الفعالية المضادة للقمل للزيت العطري لأوراق إكليل الجبل في دراستنا تعود لأحد مكونات الزيت مثل (β-pinene , 1.8 cineol , α-pinene, camphor)؛ إذ أظهرت دراسة *et al.* López أن مكونات الزيوت العطرية تعمل بآلية عمل مشابهة لآلية عمل بعض المبيدات الحشرية الكيميائية (مركبات الفوسفات العضوية)، ومن الممكن أن تسبب سمية عصبية تنتهي بشلل الحشرة وموتها، إذ تثبط أحاديات التربين ومن ضمنها camphor أنزيم أستيل كولين إستيراز مسببة بذلك شللاً للطفيلي وموته(13). كذلك أظهرت دراسة Cleary BV *et al.* أن 1.8 cineol من المكونات الأساسية لزيت شجرة الشاي الأسترالي المثبت فعاليته ضد قمل الرأس إذ يعمل 1.8 cineol كمثبط لأنزيم الأستيل كولين أستيراز أيضاً (14). وفي دراسة أخرى لتقصي الفعالية السمية لمكونات الزيت العطري لأوراق أوكاليبتوس *Eucalyptus globulus* في القضاء على القمل تبين أن المركب 1.8cineol هو الأكثر سمية لقمل الرأس باختبارات التماس المباشر يليه α-pinene و β- pinene (15)، ومن الممكن أن يكون مركب واحد يمتلك التأثير السمي على الطفيلي بينما تعمل المركبات الأخرى بشكل تآزري؛ إذ تنفذ هذه المكونات عبر جسم الطفيلي ببطء بسبب طبيعتها المحبة للدسم أو تدخل المكونات المتطايرة عبر الفتحات التنفسية للطفيلي(16). يمكن أن تمتلك الزيوت العطرية فعالية ميكانيكية تعود للطبيعة الكارهة للماء للزيت العطري التي تسبب في تعطيل الجدار الشمعي للحشرة، وإغلاق الفتحات التنفسية في هيكل الحشرة مسببة الاختناق(17). من ناحية أخرى أظهرت بعض الدراسات إمكانية استخدام الزيوت المعدنية في السيطرة على قمل الرأس حيث تعمل بألية ميكانيكية تسبب إغلاق الفتحات التنفسية في هيكل الحشرة مسببة الاختناق بينما لا تملك مكونات فعالة بيولوجياً كالزيوت العطرية (18).

تحتوي الخلاصة الإيتانولية لأوراق إكليل الجبل على مكونات فعالة عديدة الفينول مثل (apigenin, diosmin, luteolin, genkwanin)، كما تشكل الحموض الفينولية أكثر من 3% من المركبات عديدة الفينول مثل (rosmarinic acid, chlorogenic acid ,caffeic acid)، كما يمكن أن نحصل باستخلاص أوراق اكليل الجبل بالإيتانول على تربينات terpenes أيضاً مثل (epirosmanol, carnosol, carnosic acid, ursolic acid, oleanolic acid)(19). تعد الدراسات التي تم اجراؤها على مكونات الخلاصات النباتية التي من الممكن أن تمتلك فعالية ضد مفصليات الأرجل قليلة، ولكن أظهرت دراسة Rasha A. Guneidy أن الخلاصة الإيتانولية وكذلك

الخلاصة المائية لكل من أوراق Acacia saligna وقشور Punica granatum من الممكن أن تكون علاجاً واعداً للقراد المقاوم على العلاجات وذلك كونها تمتلك فعالية مثبطة لأنزيم glutathione S-transferase المسؤول في مفصليات الأرجل عن إزالة السمية ويلعب دوراً أساسياً في الحفاظ على توازن الطفيليات الخارجية الماصة للدم كالقراد والقمل وذلك كونه يزيل المواد الناتجة عن عملية هضم الدم بعد التغذية، وتعود الفعالية المثبطة للأنزيم للفينولات والمواد العفصية في هذه الخلاصات وبشكل خاص للحمض الفينولي حمض الغاليك وفلافونوئيد الكاتشين الموجودين بتراكيز عالية في الخلاصتين(20)، وبالتالي يمكننا توقع أن تعمل المركبات الفينولية في خلاصتنا المدروسة بآلية مشابهة ممكن أن تعود الفعالية لها، ويحتاج تفسير فعالية الخلاصات النباتية ضد مفصليات الأرجل دراسات أوسع.

الاستنتاجات والتوصيات

الإستنتاجات

1. الزيت العطري لأوراق اكليل الجبل أشد فعالية من الخلاصة الإيتانولية له
2. الزيت العطري لأوراق اكليل الجبل بتركيز800µl/ml فعال في القضاء على حشرة القمل LT50=0.17h=10min، ويمتلك الزيت العطري بالتركيز الأقل 100µl/ml LT50=1.79h
3. الخلاصة الإيتانولية لأوراق اكليل الجبل بتركيز 25mg/mlتمتلك LT50= 1.99h، بينما بالتركيز الأقل 12.5mg/ml تمتلك LT50= 3.95h

التوصيات

1. إجراء دراسات لاحقة على الخلاصات والزيوت المحضرة وتحديد المكونات الفعالة، التي يمكن دراسة فعاليتها ضد حشرة قمل الرأس بالتماس المباشر مع الأقراص المشربة بها وتحديد المكون الأكثر فعالية الذي يمكن استخدامه بشكل منفرد بتشكيل مستحضرات قاتلة للقمل جديدة وفعالة.
2. اختبار فعالية الزيت العطري لأوراق اكليل الجبل ضد قمل الرأس بطرق اختبار مختلفة عما تم استخدامه في دراستنا (اختبارات التبخر Fumigant test، اختبارات الغمر Immersion test).

Reference

.1 Veracx A, Raoult D. Biology and genetics of human head and body lice. Trends in parasitology. 2012;28(12):563-71.

.2 Leung AK, Lam JM, Leong KF, Barankin B, Hon KL. Paediatrics: how to manage pediculosis capitis. Drugs in Context. 2022;11.

.3 El Fady O ،Ibrahim S, Soliman N, Abdel Raouf A. Pediculus Capitis: An overview. Benha Journal of Applied Sciences. 2023;8(6):85-90.

.4 Amanzougaghene N, Fenollar F, Raoult D, Mediannikov O. Where are we with human lice? A review of the current state of knowledge .Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2020;9:474.

.5 Dagrosa AT, Elston DM. What's eating you? head lice (Pediculus humanus capitis). Cutis. 2017;100(6):389-92.

.6 Meinking TL. Clinical update on resistance and treatment of Pediculosis capitis .Am J Manag Care. 2004;10(9 Suppl):S264-8.

.7 Soonwera M. Toxicity of five herbal extracts against head louse (Pediculus humanus capitis De Geer.: Phthiraptera) in vitro. Journal of Agricultural Technology. 2016;12(4):657-66.
.8 Samuel AJSJ, Radhamani S ،Gopinath R, Kalusalingam A, Vimala AGKA, Husain A. In vitro screening of anti-lice activity of Pongamia pinnata leaves. The Korean journal of parasitology. 2009;47(4):377.
.9 Al-Dabbagh J, Younis R, Ismail N. The currently available diagnostic tools and treatments of scabies and scabies variants: An updated narrative review. Medicine. 2023;102(21):e33805.
.10 Limoncu ME, Balcıoğlu İC, Oyur T, Zeybek G, Zeybek U. Türkiye'deki Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Komponentlerinin Pedikülosidal Aktivitelerinin in vitro İncelenmesi. Türkiye Parazitolojii Dergisi. 2017;41(4):208.
.11 Yang Y-C, Lee H-S, Clark J, Ahn Y-J. Insecticidal activity of plant essential oils against Pediculus humanus capitis (Anoplura: Pediculidae). Journal of medical entomology. 2004;41.704-699:(4)
.12 Andrade JM, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis CP, Rijo P. Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. Future science OA. 2018;4(4):FSO283.
.13 López M, Pascual-Villalobos M. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. Industrial Crops and Products. 2010;31(2):284-8.
.14 Mills C, Cleary BV, Walsh JJ, Gilmer JF. Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2004;56(3):375-9.
.15 Yang Y-C, Choi H-Y, Choi W-S, Clark J, Ahn Y-J. Ovicidal and adulticidal activity of Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against Pediculus humanus capitis (Anoplura: Pediculidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004;52(9):2507-11.
.16 Talbert R, Wall R. Toxicity of essential and non-essential oils against the chewing louse, Bovicola (Werneckiella) ocellatus. Research in Veterinary Science. 2012;93(2):831-5.
.17 Ellse L, Wall R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. Medical and Veterinary Entomology. 2014;28(3):233-43.
.18 Wolf L, Eertmans F, Wolf D, Rossel B, Adriaens E. Efficacy and safety of a mineral oil-based head lice shampoo: a randomized, controlled, investigator-blinded, comparative study. PLoS One. 2016;11(6):e0156853.
.19 Andrade JM, Soonwera M, Garcia C, Ladeiras D, Reis CP, Rijo P. Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. Future science OA. 2018;4(4):FSO283.
.20 Guneidy RA, Amer MA, Hakim AEE, Abdel-Shafy S, Allam SA. Effect of polyphenols extracted from Punica granatum and Acacia saligna plants on glutathione S-transferase of the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) annulatus (Acari: Ixodidae). Journal of Parasitic Diseases. 2021;45:524-38.