دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات حبة البركة و الثوم، والزيتون على نمو بكتريا *Shigella dysenteriae* في الزجاج

رنا طالب العاني
كلية الطب/ جامعة الأنبار

الخلاصة

استخدمت في هذه الدراسة ثلاثة مستخلصات مائية لنباتات حبة البركة والثوم والزيتون وجرى دراسة تأثير هذه المستخلصات بشكلها الخام على نمو بكتريا *Shigella* dysenteriae المعزولة من براز مريض مصاب بالإسهال. تم تحضير أقرا ص من ورق الترشيح بعد غمرها بالمستخلصات النباتية وتحديد تركيز كل قرص ووزعت هذه الأقرا ص على إطباق Muller Hinton بعد نشر المستعمرات البكترية قيد الدراسة وحضنت الإطباق لمدة 18–24 ساعة وتم قياس قطر التثبيط.

بينت الدراسة الحالية إ ن أفضل الخلاصات المستخدمة هو خلاصة الحبة السوداء إذ أبدت الأقرا ص ذا ت التركيز (100ملغم/100مل) تأثير مثبط واضح وكان متوسط قطر التثبيط 23 ملم أما خلاصة ورق الزيتون فكان معدل قطر التثبيط 22 ملم ضمن تركيز (100ملغم/100مل) وأخير فصوص الثوم حيث كان معدل قطر التثبيط 16 ملم ضمن نفس التركيز.

اختيرت هذه النباتات بالتحديد لاحتوائها على العديد من العناصر الغذائية الأساسية وكذلك تميزها بالقدرة التثبيطية العالية ضد الأجناس البكتيرية بالأخص البكتريا المعوية *Escherichia coli* ، *Shigella dysenteriae*.

Studing the effects of aquatic extracts of *Nigella sativa, Olea europacea* and *Allium sativum* on *shigella dysenteriae* in vitro

R. T. Al-Ani
Medicine College\ University of Anbar

Abstract

Three aquatic extracts of *Nigella sativa, Allium sativum* and *Olea europacea* were used to determine their effect on s*higella dysenteriae* that was isolated from a stool of patient with diarrhea.

Filter paper disks were prepared to socked with plant extracts to be used on Muller Hinton agar plates that were inoculated with the bacteria. After 18-24hours, inhibition zones were measured. *Nigella sativa* extracts were found to be the best since the mean inhibition zone was 23 mm followed by *Olea europacea* extract which showed mean inhibition zone was 22mm, while the lowest inhibition zone diameter was noticed in *Allium sativum* 16mm.

These three medicinal plants were chosen because they were known to contain some elements that are effective against enteric bacteria.

المقدمة

إ ذ عصيات الشيكيلا هي عصيات سالبة لصبغة كرام وهي كائنات عصوية وقصيرة غير متحركة، طوله حوالي 0.5µmغير مكبسلة وهذه العصيات لا هوائية اختيارية وتنمو عادةً في درجة حرارة مقدارها 370c في مدى PHيتراوح من (6.4 -4.8) يقسم جنس الشيكيلا إلى أربعة أنواع:

1. *Sh. dysenteriae 2. Sh. flexneri 3.Sh. Boydii 4.Sh. Sonnei* (1,2)

تسبب أعضاء هذا الجنس مرض الدزنتري الباسلاري حيث يصيب الجهاز الهضمي وعادة تتضاعف البكتريا داخل الأمعاء وتؤدي إلى التهاب الأنسجة الطلائية و تسبب القرحة في المعدة ونادرا ما تهاجم الدم(3).

تمت دراسة تأثير المستخلصات النباتية على نمو البكتريا ***Shigella dysenteriae*** في الزجاج ومن أهم النباتات المستخدمة:

1. حبة البركة *Nigella sativa:* تعد الحبة السوداء أو ما يعرف بحبة البركة احد أكثر أنواع النباتات الطبية شيوعا وأكثرهاانتشارا على المستوى العلمي و الشعبي. وقد اهتم الأطباء بهذه النبتة منذ القدم، واستعملوها في العصور المتتابعة كأحد النباتات الطبية، تتميز بذور حبة البركة باحتوائها على مواد طبية فعالة مثل Nigellon, Nigelline وهذه المواد لها دور كبير في علاج الكثير من إمراض الصدر والسعال(4، 5).

أ ذ التركيب الكيميائي والتحليل التقريبي للحبة السوداء يشير إلى تنوع وتركيز العديد من العناصر الغذائية الأساسية حيث تحتوي على العناصر الكبرى البروتينات والسكريات والدهون والرماد والألياف، أيضا احتوائها على العناصر المعدنية الأساسيةمثل الحديد والنحاس والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والزنك، بالإضافة على احتوائها فيتامينات B1 ،B3 ،B6وحامض الفولك (6، 7). سجلت الدراسات ومستخلص حبة البركة يثبط عدد كبير من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام وكذلك لها القدرة على تثبيط العديد من البكتريا المعوية مثل البكتريا *Escherichia coli, shigella*(8). ولابد من الإشارة إلى التأثيرات الايجابية على الصحة والمترتبة على استعمال الحبة السوداء تعتمد فقط على الاستعمال الدائم وطويل الأمد لهذه النبتة، وانه لا يمكن تحصيل هذه الفوائد في حال استعمالها لفترات محدودة ومتقطعة، وهذا ما يمكن إن نؤكده من خلال النظر إلى الحديث الشريف أكدت على معنى الديمومة والاستمرار، ففي رواية للترمذي وابن ماجة واحمد، إن رسول الله **e** قال: ((عليكم بهذه الحبة السوداء، فان فيها شفاء من كل داء إلا السام))(9).

2. الثوم *Allium sativum*: الجزء المستخدم منه فصوص الثوم، يحتوي الثوم على الماء حيث يشكل النسبة العليا ويحتوي على النشويات، والبروتينات، الألياف وكذلك مركبات الكبريت مع الزيوت الطيارة، إضافة إلى احتوائه فيتامينات A,B1,B2,D وأملاح معدنية وخمائر ومواد مضادة للعفونة ومخفضة لضغط الدم ومواد مدررة لإفراز الصفراء وهرمونات تشبه الهرمونات الجنسية،عادةً يفضل الثوم نيئا أو نصف مطبوخ للمحافظة على مادة الاليسين والتي تتكون نتيجة فعل إنزيم الألنيز على حامض الألينين(10، 11). من فوائد الثوم الدور الفعال في علاج التهابات القصبات المزمن والزكام كذلك لوحظ الدور الفعال في قتل البكتريا ومقاومة السموم البكتيرية(12، 13).

3. الزيتون *Olea europacea:* يتكون حبوب الزيتون من فواكه بحجم صغير مقارنه مع فواكه الأشجار الأخرى، تستعمل حبوب الزيتون لاستخراج الزيت. ان التركيبالغذائي و الكيميائي للزيتون يتمثل على احتوائه للسكريات والدهون والبروتينات وعادةً يكون المحتوى السكر ي واطىء مقارنة بالفواكه الأخرى. إضافة إلى ذلك احتوائه على الأملاح المعدنية والفيتامينات والحمضيات الدهنية غير المشبعة، أما أوراقه فتحتوي على مركبات

كلاكوسيدات والتانينات التي لها أهمية كبيرة في قتل العديد من الجراثيم،و علاج أمراض اللثة والحلق والبلعوم(14).

المواد وطرق العمل

لقد تم اختيار 3 أنواع من النباتاتو اجري الاستخلاص المائي لها طبقا لما ذكره السلطان(13) وكما يلي:

1-أ-حبة البركة: تم وزن 10غم منها ثم أضيف إليها 100مل من الماء المقطر، وضع المحلول في الحمام المائي بدرجة 40 م ولمدة 30 دقيقة ثم رشح المحلول باستخدام ورق الترشيح وجمع الراشح في أنبوبة معقمة.

1-ب-أورا ق الزيتون: تم وزن 10غم من أورا ق الزيتون وأضيف إليها 100مل من الماء المقطر ثم تم سحقها في جهاز homogenizer ورشح المحلول وجمع الراشح في أنبوبة معقمة.

1-ج-الثوم: تم وزن 10غم من فصوص الثوم وأضيف إليها 100مل من الماء المقطر ثم تم سحقها في جهاز homogenizer ورشح المحلول وجمع الراشح في أنبوبة معقمة. بعد ذلك يتم حفظ جميع الرواشح داخل الأنابيب المعقمة إلى حين تؤخذ إلى جهاز المبخر الدوار تحت درجة حرارة 40 م وضغط مخلخل للتخلص من الماء للحصول على مسحوق ناعم.

2. اختبار حساسية البكتريا تجاه المستخلصات المحضرة: لدراسة تأثيرا لمستخلصات استخدمت طريقة نشر الأقرا صد modified Kirby-Bauer method (15). وكما يلي:

أ. تم تحضير التراكيز متسلسلة من المستخلصات النباتية وذلك بتخفيفها بالماء المقطر حيث تم وزن 1غم من المستخلص النباتيوا ذابته بـ100مل من الماء المقطر للحصول على أعلى تركيز وهو (100ملغم/100مل) وبعدها تم الحصول على التراكيز (10ملغم/100مل) و(1ملغم/100مل) و(0.1ملغم/100مل) و(0.01ملغم/100مل) و(0.001ملغم/100مل).

ب. تم تحضير ورق ترشيح بسمك 6 ملم وقطر 6 ملم وتقطيعية بشكل أقرا صد دائرية وعقمت بجهاز الموصدة.

- **طريقة الأختبار:**

أ. حضر الوسط الزرعي Muller Hinton agar(Oxid -England) بإذابة 37غم من Agar لكل لتر من الماء المقطر.

ب. تم عزل وزرع جرثومة الشيكيلا معزولة من مريض مصاب بإسهال على شكل معلق جرثومي بتركيز 150 مليون/1مل باستخدام Mcferland tubes (القنينة رقم 0.5) (16)عادةً شخصت مصلياً بواسطة shigella antisera.

تم اخذ 200 مايكروليتر من محلول المعلق الجرثومي لبكتريا الشيكيلا ومن ثم تم فرشه على طبق Muller Hinton بصورة متجانسة وبعد ذلك حضن الطبق في الحاضنة لمدة نصف ساعة وبدرجة حرارة 37م وباستخدام التراكيز المتسلسلة للمستخلصات النباتية تم تحضير عدة أقرا صد(باستخدام الأقرا صد المعقمة) حيث وضعت في أنابيب زجاجية معقمة بعد ذلك أضيف إليها 1مللتر من التراكيز أعلاه وتركت لمدة 5 دقائق من اجل ان يتشبع القرص بالمستخلص وبالتساوي، بعد ذلك تم تثبيتها على الوسط الزرعي وحضنها بدرجة 37م لمدة 18-24 ساعة ثم يقاس قطر التثبيط (zone of inhibition) (8).

النتائج والمناقشة

لقد تبينت من خلال النتائج التي حصلت في البحث وكما موضح في جدول (1) ان هناك فرق واضح بين مستخلصات النباتات الطبية الثلاثة في مدى تأثيرها على نمو بكتريا *shigella dysenteriae* حيث كان أعلى تأثير لمستخلص الحبة السوداء ضمن تركيز (100ملغم/100) تأثير مثبط واضح وكان معدل قطر التثبيط 23ملم ولقد تبين من خلال دراسات عدة ان تأثير الحبة السوداء (زيت الحبة السوداء) يتميز بكفاءة عالية لو تم مقرنتها بمضادات حيوية شائعة الاستعمال، حيث كان تأثير الحبة السوداء اشد وأكثر فعالية من تتراسيكلين وجنتاميسين و كونتريموكسازول في منع نمو كل من *Escherichia coli , Vibrio cholera* وكذلك جميع أجناس*spp Shigella* (5).

كذلك يعزى فعالية الجيدة ضد النمو البكتيري إلى احتواء حبة السوداء على حامض التانيك الذي هو من المركبات الفينولية وله القدرة التثبيطية العالية ضد الأجناس البكتيرية بالأخص البكتريا المعوية *Escherichia coli*، *shigella dysenteriae*(8).

وعادة المركبات الفينولية المتواجدة في الحبة السوداء لها القدرة على إذابة الطبقة الدهنية لجدار البكتريا الذي يؤدي إلى عملية نضوح السوائل خارج الخلايا البكتيرية وبالتالي تدميرها وتكون مجموعة أواصر OH في مركبات الفينول ونتروجين الأحماض الأمينية هذا كله يؤدي إلى تعطيل الأفعال الحيوية داخل الخلية البكتيرية (17، 18).

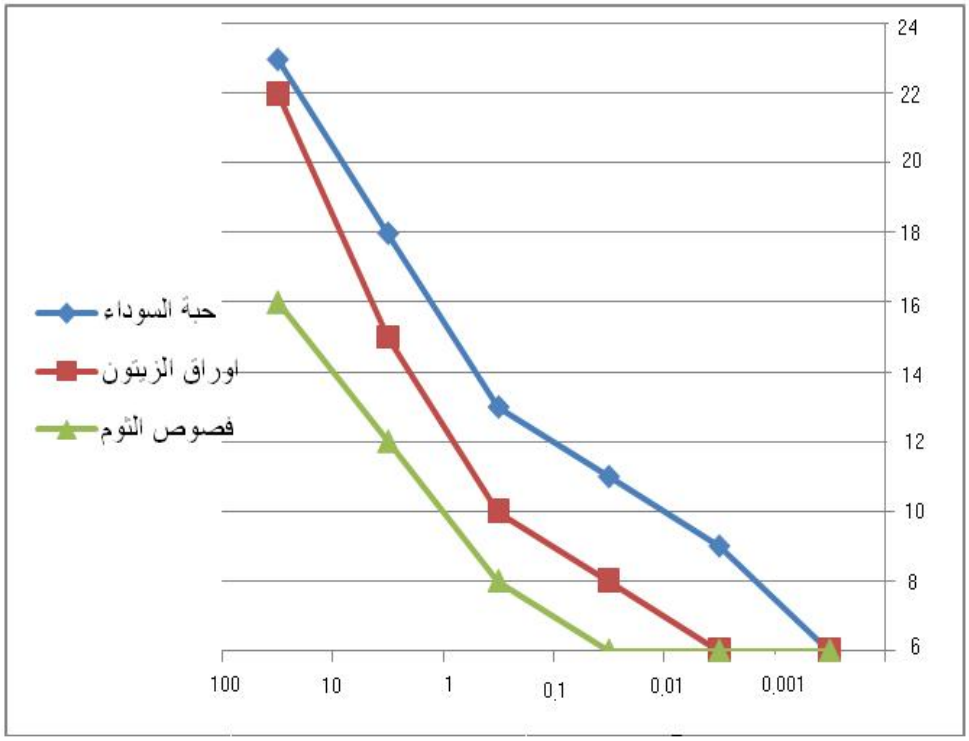
إما خلاصة ورق الزيتون فكان معدل قطر التثبيط 22 ملم ضمن تركيز (100ملغم/100مل) وأخير فصوص الثوم حيث كان معدل قطر التثبيط 16 ملم ضمن نفس التركيز، حيث كانت اقل قطر تثبيط كما موضح في شكل (1).

ويعزى التأثير التثبيطي لأوراق الزيتون إلى وجود الكلايكوسيدات الفينولية التي تتميز بالقدرة التثبيطية العالية من خلال عملها على الطبقة الدهنية على جدار الخلية وبالتالي يؤثر على انتقائية جدار الخلية وعملية نضوح السوائل (19).

من هذا يتضح انه يمكن استخدام الأعشاب الطبية في العلاج التي تعطي تأثير دوائي عالي وعادةً يمكن الحصول على هذه الأعشاب لتوفرها في الطبيعة ورخص ثمنها ،حيث تتميز باستخدامها الواسع في الحماية من نزلات البرد والأنفلونزا وأيضاً في معالجة القروح واستعمال بعض المستخلصات الطبية كالغرغرة لعلاج من شدة الإصابةفي الفم واللوزتين التي تساهم في قتل الجراثيم واختزالها(20).

جدول (1) يوضح تأثير المستخلصات الطبية الثلاثة على نمو *Shigella dysenteriae*

النباتات	تراكيز المستخلص المائي ملغم/100 مل (Mean ± sD)					
	100	10	1	0.1	0.01	0.001
الحبة السوداء	23 ±1.66	18 ±1.66	13 ±1.9	11 ±2.17	9 ±1.5	0
أورا ة الزيتون	22 ±1.17	15 ±1.9	10 ±1.5	8 ±1.1	0	0
فصوص الثوم	16 ±1.73	12±1.1	8 ±2.5	0	0	0



شكل (1) يوضح تأثير المستخلصات الطبية الثلاثة على نمو *Shigella dysenteriae*

المصادر

1. World Health Organization. (1992). Readings on diarrhoea.
2. Bennish, M. I. (1990). Death shigellosis incidence and risk factors in hospitalize patients. J. Infect. Dis., 161: 500 – 506.
3. Kirschiner, B. S. & Black, D. D. (1998). The Gastrointestinal track Behrman, R. E. and Kliegman, R. M. In: Nelson Essentials of pediatrics. 3rd ed. Philadelphia

4. قطب، فوزي طه. (1981). النباتات الطبية: زراعتها ومكوناتها. الرياض: دار المريخ.

5. Hamed, R. H. T. & Majdoleen, A. F. D. (1998). Study of the Nutritional Value of Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa* L). J. Sci. Food Agri.,76:404-410.
6. Donmez, E.; Unlu, M.; Candan, F. & Daferera, D. (2004). Antimicrobial and antioxidative activities. Food Chemistry, 84(4):519-525.

7. قط ب، فوز يـ طه. (1979). النباتات الطبية، زراعتها ومكوناتها، الدار العربية للكتاب، ليبيا.

8. Baglan, H. M. A. (2007). Study the antibacterial activity of extracted tannins from some medicinal plants and their aqueous extracts. Diploma thesis. Chemistry Science. AL-Anbar University.

9. البخاري، الصحيح الجامع، كتاب الطب، باب الحبة السوداء، دار إحياء التراث العربي، بيروت.

10. سعد، شكري إبراهيم؛ القاضي، عبد الله؛ صالح، عبد الكريم محمد وخلف الله، عبد العزيز محمد. (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية.

11. أبن سينا. (1986). القانون في الط ب. مؤسسة المعارف، بيروت.

12. خليل، ياسين. (1979). الطب والصيدلة عند العرب، ص145.

13. السلطان، صبا عبد السلام حامد. (1993). التأثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية على بكتريا حمى مالطة رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

14. رويحة، أمين. (1978). التداوي بالأعشاب. بيروت. دار القلم.

15. Benson, V. & Meran, M. A. (1998). Current estimate from the National Health inter view survey 1995. National center for health statistics. Hralth state, 10:190
16. Mcfarland, J. (1907). The nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. ASSO., 49 : 1176 – 1180.
17. Seely, H. W. & Vandamark, P. J. (1981). Microbes in action. 3rd. ed. W.H freedman and company.
18. Dylan, S. M. (2009). Extraction glycosides, tannins and study their biological activity of Cucurbito maxima, degree of diploma, thesis the collage of science university of Al-Anbar.
19. Aqeel, A.; Kursheed, A. K. & Sabiha, Q. (1989). Atibacterial activity of Juliforicine isolated from prosopis. P.655.

20. النعمان، أدبية يونس شريف. (1998). التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، رسالة دكتوراه، كلية العلوم– جامعة الموصل.