مجلة العلوم الطبية و الصيدلانية
العدد الثاني – المجلد الأول
يونيو 2017
ISSN: 2518-5780

المجلة العربية للعلوم و نشر الأبحاث
Arab Journal of Sciences & Research Publishing
AJSRP

تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص الزنجبيل على بكتريا Staphylococcus aureus

شيماء زيدون نافع محمد - وائل ياسين الدباغ
احياء مجهرية - علوم حياة - كلية العلوم - جامعة الموصل - العراق

الملخص: هدف الدراسة تقييم الفعالية الضد مايكروبية لمستخلص الزنجبيل المائي وبيان تأثيرها التثبيطي على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية **Staphylococcus aureus** المسببة لالتهاب المسالك البولية . وقد استخدمت تراكيز للمستخلص (100% ، 75 % ، 50% ، 25%) وتم قياس التركيز المثبط الادنى للمستخلص . بينت النتائج ان (**MIC Minimum Inhibition Concentration**) لمستخلص الزنجبيل هو 25% وكان المستخلص المائي ذو فعالية ضد البكتريا وقد استخدمت (طريقة الانتشار بالحفر **Well diffusion method**)وقورنت النتائج مع نتائج تأثير بعض المضادات الحيوية مثل **Nitrofurantionl , Ciprofloxacin (CIP) , Gentamycin (CN)** (F و **Trimethoprim (TMP)** وكان لتأثير مستخلص الطبيعي لنبات الزنجبيل فعالية مضادة للبكتريا المرضية افضل من فعالية بعض المضادات الحيوية..

الكلمات المفتاحية: ,**Staph. aureus**الزنجبيل، الفعالية التثبيطية، **MIC.**

1. المقدمة :

وصفت بكتريا *Staphylococcus aureus* أول مرة تصنيفيا عام 1884من قبل العالم Rosenbach وهي بكتريا موجبة لصبغة كرام Gram positive المسببة للأمراض التهاب المسالك البولية Urinary Tract Infection (UTI) المهمة للتدييات المعروفة منذ فترة طويلة والمسببة للأمراض الخطيرة والمزمنة (1) وتشكل رباعيات مكورة توضع في جنس *Micrococcus* بقطر يتراوح (0.5 - 1.5) ميكرون وتتميز بانها مكورات فردية حيث يكون الانقسام الخلوي اكثر من مستوي انقسام واحد وتشكل مجموعات تشبه عناقيد العنب ذات حوافي ملساء محدبة لامعة وبالاعتماد على ظروف النمو تصبح المستعمرات ذات لون رمادي – رمادي – ابيض مع اصفر الى برتقالي(2) وهذه البكتريا غير متحركة وغير مكونة للسبور لا تحتوي على محفظة ولاهوائية اختيارية facultative anaerobes قادرة على توليد الطاقة عن طريق التنفس الهوائي والتخمير والتي تنتج حامض Lactic acid وتخمر المانيتول وتتميز باحتياجاتها الغذائية المعقدة للنمو وتحتاج كمية كوانين- سايتوسين G + C قليلة لـ DNA في مدى 30 – 40 % وفيتامين B للنمو ومتحملة للتراكيز العالية من الملوحة ومقاومة للحرارة، وتنمو على الاوساط البسيطة اي تكون غير صعبة non fastidious (3) وتتواجد عادة كبكتريا غير ضارة لحوالي ثلث الاشخاص السليمين وعلى الاغلب تتواجد في فتحتي الانف . والنواقل المرضية لـ*Staph aureus* مرتبطة بشكل وثيق مع ممرضات *staphylococcal* يدل اسم aureus في الحقيقة انها مستعمرات تكونت على الوسط الغني الصلب كمستعمرات ذهبية تسبب بوجود صبغات الكاروتينات carotenoids بجوانب شاحبة ، شفافة وكونت مستعمرات بيضاء . تظهر على اطباق اكار دم المستعمرات عادا ما تكون B- hemolysis وتكون موجبة لاختبار catalase وسالبة لاختبار oxidase.(4)

Staph. aureus ممكن ان تسبب تنوع واسع لكل إصابات حميدة وقاتلة في الانسان والحيوانات بسبب المدى الواسع من عوامل الضراوة التي تتضمن سموم مختلفة وانزيمات والالتصاق على المضيف تشير التقديرات العالمية ان حوالي 20 – 30 % من سكان العالم مستعمرين بشكل دائم من قبل هذة البكتريا في حين ان 30% من البكتريا مستعمرة وتسبب عدوى للمضيف من خلال اختراق دفاعات المضيف (5) بكتريا *Staph. aureus*هي من أكثر الانواع المرضة لجنس

Staphylococcus في اصابات المجتمع المكتسب وعدوى المستشفيات وعادا تتواجد بشكل شائع وبدون اعراض واضحة على الجلد والغدد الجلدية والاغشية المخاطية (5) . تؤثر عدوى المستشفيات العنقودية الذهبية على مجرى الدم والجهاز التنفسي السفلي والجهاز البولي ويمكن ان تسبب تجرثم الدم عن طريق الاوردة المصاحبة للقسطرة واستخدام الحقن ،الالتهابات الرئوية، التهاب المفاصل، وايضا تسبب التهابات خطيرة مثل التهاب الشغاف القلب والتهاب العظم النقي ، بالإضافة الى ذلك يمكن ان تسبب التسمم الغذائي ،متلازمة تسلخ الجلد ،ومتلازمة الصدمة السامة من خلال انتاج السموم المختلفة (14)وتحدث اصابات عديدة بالبكتيريا الموجبة لصبغة كرام واذ وجد أن(30 – 10 %) من حالات التهاب المجاري البولية تحدث بفعل بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبالأخص في الاناث (6). كما وجد ان النساء الحوامل تكون أكثر عرضة للإصابة بالتهاب المجاري البولية ، وذلك لزيادة حجم المثانة مع قلة شد الحالب وكذلك يصاب الرجال كبار السن بالتهاب المسالك البولية ، نتيجة لانسداد المجرى البولي بسبب تضخم البروستات الشائع في هذا العمر مما يؤدي الى التهابه (15) ويمكن لهذا المرض ان يصيب الاطفال في السنين الاولى من العمر وبخاصة الاطفال الذين يعانون من تشوهات خلقية في الجهاز البولي – التناسلي . وقد يؤدي الى تضرر أنسجة الكلية في حالة عدم علاجها بسرعة علاجا صحيحا أو عدم علاج الحالات المصاحبة في الجهاز البولي كالحصى والتشوهات الخلقية وانسداد المجرى البولي فقد يؤدي الى عجز الكلى أو القصور في عملها .(6) وتعد الاصابة ببكتريا *Staph . aureus* من الأمراض التي تصيب المسالك البولية والتي تتطور لأمراض مزمنة اخرى (14) وبسبب ظهور المقاومة للعلاج التقليدي بالمضادات الحيوية لهذه البكتريا لذا التجأ الباحثين الى طرق معالجة جديدة تعتمد مصادر طبيعية كالنباتات وبروبايوتك Probiotic ومكملات غذائية والتي تعمل كبدائل طبيعية وبدون تأثيرات جانبية وتعمل كمنشطات للجهاز المناعي للجسم ، فضلا عن أنها علاجات امنة وغير مكلفة ومؤثرة تستخدم ضد بكتريا *Staph. aureus* (6) (10).

2-المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تم عزل بكتريا *Staph. aureus* بأخذ عينة ادرار من المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية وباستخدام لوب معقم تم التلقيح بطريقة التخطيط على وسط mannitol salt agar الملائم لتشخيص هذ البكتريا وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 الى 48 ساعة. واعتمدت الطرق المظهرية والكيموحيوية في تشخيص البكتريا وتأكيد تشخيصها بالطرق الجزيئية. أختبرت الفعالية التثبيطية لمستخلص عصير الزنجبيل على نمو عزلات بكتريا *Staph. aureus* بأستخدام طريقة الأنتشار بالحفر Well diffusion method .

تحضير المستخلص الزنجبيل

تم الحصول على المادة الطبيعية الزنجبيل من الاسواق المحلية وسحقت بمطحنة كهربائية وتم وزن 2 غم من كل مادة واضيف اليها5 مل ماء مقطر معقم ومزجت بالخلاط الكهربائي وتم مزجها لمدة 2 – 3 دقائق . تم تصفية المزيج باستخدام ورق ترشيح Whattman No.2 معقم ثم حفظ الراشح في قناني زجاجية معقمة وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام في التجارب، واعتبر المحلول الخزين التخفيف الاول وحضر الـ (Minimum Inhibition Concentration MIC) لمستخلص الزنجبيل اذ تم تحضير التراكيز التالية (100% ، 75% ، 50% ، 25%) من المحلول الخزين وحسب ما جاء في التوصيات اللجنة الوطنية للمعايير المختبرية السريرية (7).

اختبار الحساسية الضد المايكروبية Antimicrobial Susceptibility Test

تحضير اللقاحات Preparation of Inoculums

تشخص العزلات *Staph.aureus* وتلقح على وسط Brain Heart infusion broth الانابيب تحضن في 37 م لمدة 24 ساعة تتعكر الانابيب بفعل النمو على الاوساط السائلة مع محلول ملحي معقم قياسي 0.5- 0.1 مل والتي تحتوي 10^5

مستعمرة والمعلق الخلية تنقل الى اوساط Mueller – Hinton agar وتنتشر بالتساوي لاختبار الحساسية لكل العزلات للمضادات الحيوية المختلفة وتختبر بواسطة اقراص المضادات على وسط الاكار كمعايير قياسية بواسطة اللجنة الصحية من قبل المختبرات السريرية (7).

تطبيق اقراص المضادات الحيوية Application of Antibiotic Disc

بعد ان جف اللقاح على سطوح Mueller – Hinton agar تنقل الاقراص بواسطة ملقط معقم مع الضغط بحزم لضمان الاتصال مع الاكار وتترك لمدة 15 دقيقة ثم تقلب الاطباق وتحضن بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24ساعة.

اختبار الفعالية التضادية لمستخلص الزنجبيل المائي

في اختبار حساسية البكتريا لمستخلص الزنجبيل المائي بواسطة نشر 0.1 مل من المعلق البكتيري على اوساط Muller – Hinton agar ثم تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة وذلك لغرض امتصاص اللقاح بعدها يتم عمل حفر(Wells) في الوسط الغذائي الملقح بالبكتريا بواسطة ثاقب فليني معقم بقطر 5 ملم وبواسطة ماصة دقيقة Micropipette يتم نقل 10 مايكروليتر من كل تركيز من تراكيز المستخلص الزنجبيل المائي المحضر ويوضع داخل الحفرة ، وبالوقت نفسه يتم عمل اطباق سيطرة وذلك بوضع 10 مايكرولتر من الماء المقطر المعقم في الحفرة بدلا من المستخلص الزنجبيل ، ثم تحضن الاطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 – 18 ساعة بعد ذلك تقرا النتيجة بقياس قطر منطقة التثبيط والتي تمثل منطقة عدم النمو البكتيري المحيطة بالحفرة بواسطة المسطرة .

3. النتائج والمناقشة Results & Discussion

قدر التركيز المثبط الادنى لمسحوق الزنجبيل الذي أظهر تأثيرا تثبيطيا على بكتريا *Staph. aureus* باستخدام طريقة التخفيف بالحفر واظهرت النتائج ان التركيز المثبط الادنى لمسحوق الزنجبيل هو 25% والذي يؤكد التأثير التثبيطي للزنجبيل وهذا يتفق مع نتائج دراسة (8) (15) الذي اشار الى أن للزنجبيل له عدة انشطة بايولوجية والتاثيرات مضادة للأكسدة والالتهابات وبالنتيجة تعمل على تثبيط بكتريا *Staph.aureus* أما بالنسبة لمعدل اقطار مناطق التثبيط فقد ظهرت 21.34 ، 20.33 ملم على التتالي لبعض العزل عند التركيز 100 % كما في الجدول (1) والصورة (1) الذي يوضح قدرة التثبيط لبعض العزل البكتريا عند التراكيز 75% و100% ، أما عند التركيز 50% فظهرت القدرة التثبيطية لبعض العزل مساوية لتأثير المضاد(F) Nitrofurantionl ومن خلال النتائج يعد نبات الزنجبيل فعال ضد سلالات البكتريا الموجبة لصبغة كرام ضمن هذه الدراسة وهذا ما اتفق عليه (9) (12) . وتبين ان للنبات تأثيرا مضادا للميكروبات عند مقارنة نتائج المستخلصات بالمضادات الحيوية حيث كان تأثيرا الزنجبيل لبعض العزل اعلى من تثبيط المضادات الحيوية المستخدمة حيث بينت النتائج أن تأثير العزلات المثبطة بالزنجبيل اعلى من تثبيط مضادات (F) Nitrofurantionl و (TMP) Trimethoprim ، وظهرت قدرة تثبيط بعض العزلات مساوية تقريبا لمضادات (CN) Gentamycin و (CIP) Ciprofloxacin (13) (10) كما في صور (2) و (3). ويمكن تفسير اليات تثبيط المستخلصات النباتية وذلك بتثبيط تكوين جدار خلية الكائن المجهري او تثبيط تخليق بعض البروتينات الاساسية فيه ، وتكوين معقدات مع الجدار الخلوي تعيق انتظام النفاذية، وتثبيط بعض الانزيمات ذي الدور الأيضي المهم في النمو والتكاثر ، وتمزيق الاغشية الخلوية او تغيير وظيفتها (12) (11). وقد ترجع فعاليته كذلك لاحتوائه على مركبات gingerol وzingerone ومواد اخرى قاتلة للبكتريا . وبذلك تؤيد هذه النتائج استعمال الزنجبيل لمعالجة حالات الالتهابات البكتيرية في هذه الدراسة (9) (13).

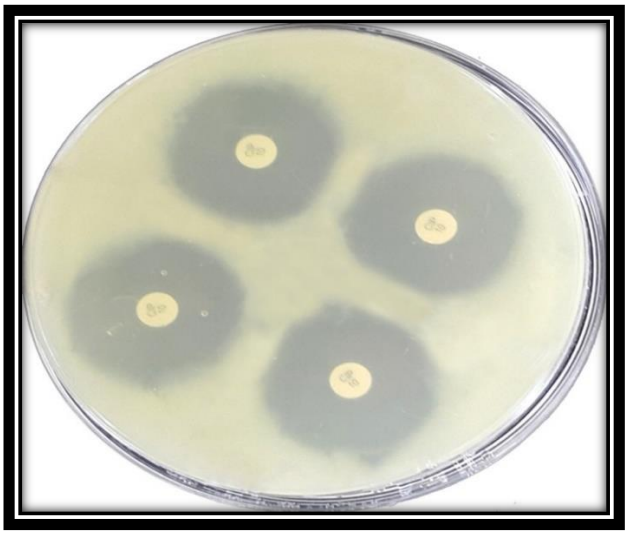
جدول (1) : يوضح فعالية المستخلص المائي للزنجبيل ضد عزلات بكتريا *Staph.aureus*

المستخلص	قطر منطقة التثبيط (ملم)				رقم العزلة لبكتريا *Staph.aureus*
	%25	%50	%75	%100	
المائي	5	9	20.33	21.34	41
	-	9	16.3	20.33	45
	-	3	15	16	12
	2	6	12	13	16

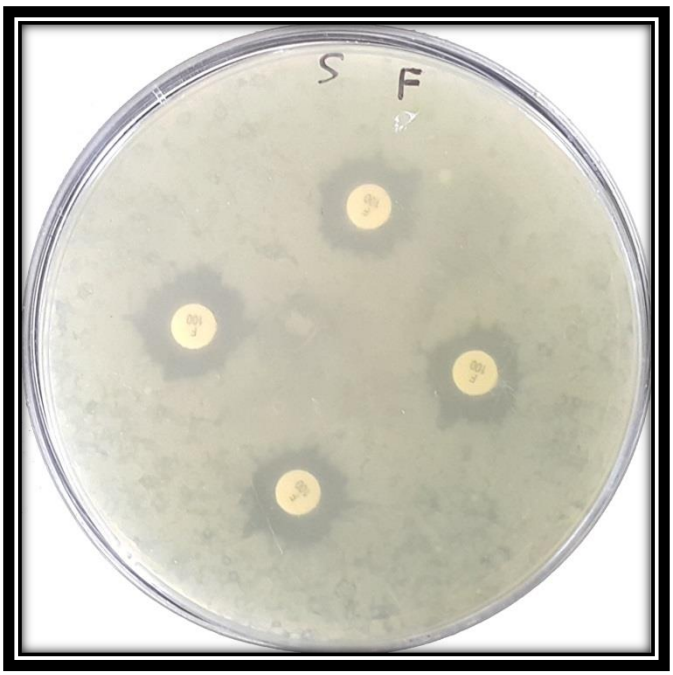
جدول (2): نتائج الحساسية للمضادات الحيوية لعزلات بكتريا *Staphylococcus aureus*

التسلسل	المضاد الحيوي القياسي	قطر التثبيط ملم
1	Nitrofurantionl (F) (100)ug	10
2	Gentamycin (CN) (10)ug	21
3	Ciprofloxacin (CIP) (10) ug	22
4	Trimethoprim (TMP) (10) ug	19

صورة (1) يوضح تأثير الزنجبيل على بكتريا *Staph. aureus*



صورة (2) تاثير المضاد Ciprofloxacin (CIP) على بكتريا *Staph. aureus*



الصورة (3) تأثير المضاد (F) Nitrofurantionl على بكتريا *Staph. aureus*

قائمة المراجع والمصادر:

1. M . Holden; T. G.; Feil, E. J. & Lindsay, J. A. 2004." ***Complete genomes of two clinical Staphylococcus aureus strains evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance***". Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 101: 9786-9791.
2. G . Adwan; H. Shaheen; K. Adwan-Barakat, A.(2015). *"**Molecular characterization of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from hospitals environments and patients in Northern Palestine***".*Epidemiol *Biostat Public Health*. 12(3) :e 11183.
3. W . Levinson & E . Jawetz, (2002*)." **Medical Microbiology&Immunology: Examination & Board Review***".7th edition. TheMcGraw -Hill Co., USA.pp:77,96-98 .
4. G. F. Brooks; , J. S. Butel; , K. C. Carrolland ; S. A Morse Jawetz , Melinick , J.L. and Adlebergs , (2007) ."***Medical Microbiology*** ", 24thed. A lange medical book.
5. B. A . Formes; , D. F. Sahm; A. S. Weissfeld and E. A Trevino,.(2002)." ***Baily and Scott Diagnostic Microbiology****".* Eleventh edition Mosby, *Inc.St Lousis.*
6. SD . Fihn, (2003). *" **Acute uncomplicated urinary tract infection in women***"The New England Journal of Medicine:349(3):259-266.
7. CLSI, (Clinical & Laboratory Standards institute) (2011**). *"Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing*";** *Twenty first Information al Supplement.* M100-S21.31 (1):1-163.
8. Nweze, E. L.; Okafor, J. L. and Njok, U. O. 2004. ***"Antimicrobial activity of methanolic extracts of Terma guineesis and Nlorinda lucida used in Nigerian herbal medicinal practice***." *J. Biol. Research and Biotechnol.,* **2**(1):39–46.

9. J . Yourch,(**2007)**. *"**Zingiber, Pacific Bull***". Society; pp.9 – 227
10. S.S.R. . Challa; M . Kumar and Faruq, (2011) Adv. ***"Drug Delivery Reviews".*** -
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013)" ***Antibiotic Resistance Threats in the United States****".*
12. Y. C. Chiang; H. Y Tsen; , H. Y., Chen ; , Y. H . Chang; C. K . Lin; and C. Y . Chen, (2012)".***Multiplex PCR and a chromogenic DNA macroarray for the detection of Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae,Enterobacter sakazakii, Escherichia coliO157:H7 , Vibrio parahaemolyticus, Salmonella spp. and Pseudomonas fluorescens in milk and meat samples****". J. Microbiol. Meth.* 88, 110–116.
13. C . Fuda; D . Hesek; M. Lee; K. Morio; T. Nowak; and S. Mobashery, (2005a). ***"Activation for catalysis of penicillin-binding protein 2a from methicillin-resistant Staphylococcus aureus by bacterial cell wall***". J Am Chem Soc 127, 2056-2057.
14. C.C . Fuda; J.F . Fisher; and S. Mobashery, (2005b*). **"Beta-lactam resistance in Staphylococcus aureus: the adaptive resistance of a plastic genome***". Cell Mol Life Sci 62, 2617-2633.
15. Hassan, Aycicek,Sardar Cakiroglo,Timoth,H.,Stevenson(2005). ***"Incedence of Staphylococcus aureus in readt to eat meals from military cafiterias in Ankara Turkey***"(16) 481-562.
16. Heijer, C.D., van Bijnen, E.M., Paget, W.J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C.A., Schellevis, F.G., Stobberingh, E.E., Team, A.S., (2013). ***"Prevalence and resistance of commensal Staphylococcus aureus, including meticillin-resistant S aureus, in nine European countries: a crosssectional study***".** Lancet Infect Dis 13, 409-415.
17. Z. .E. l . Astal, (2005*). "**Increasing ciprofloxacin resistance among prevalent Urinary tract bacterial is in Gaza strip**",* Palestine***solate*** Journal of Biomedicine and Biotechnology, 3: 238-241.
18. M. F. Ghaly; M . A. Shalaby; S. M. S. Shash; M .N . Shehata and A. A .Ayad, (2009). ***"Synergistic Effect of Antibiotics and Plant Extract to Control Clinical Bacterial Isolates Implicated in Urinary Tract Infections***". J. Appl. Sci. Res., 5: 1298-1306
19. K . F. Abed, (2007). ***"Antimicrobial Activity of Essential Oils of Some Medicinal Plants from Saudi Arabia***". Saudi J. Biol. Sci., 14: 53-60.
20. R. N . Okigbo; C. L. Anuagasi; J . E. Amadi and U . J. Ukpabi, (2009***). "Potential inhibitory effects of some African tuberous plant extracts on Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans"***. Inter. J. Integrative Biol., 6: 91-98.
21. M . Oskay; D. Oskay and F. Kalyoncu ,(2009). ***"Activity of Some Plant Extracts against Multi-drug Resistant Human Pathogen"s***. Iranian J.

Pharmacol. Res., 8(4): 293-300.

Abstract:

This study aimed was to evaluate the effect of microbial antibody on water ginger extract and to determine its inhibitory effect on Staphylococcus aureus bacteria which cause urinary tract infection concentrations of the extract 100% , 75% , 50% ,25 % mg / ml) were used and the minimum inhibitory concentration of the extract was measured . The results showed that Minimum inhibition concentration (MIC) of the ginger extract was 25% .the water extract effective against the bacteria . the results were compared with the effect of certain antibiotics such as Nitrofurantionl (F), Gentamycin (CN) , Ciprofloxacin (CIP), Trimethoprim (TMP) . The effect of ginger extract has had a better antibacterial effect than some antibiotics.

Keyword: Staph. aureus, ginger, efficiency, MIC