Iraqi Journal of Science
ISSN: 0067-2904
GIF: 0.851

مقارنة التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لقشور الرمان والمضادات الحيوية ضد بعض العزلات البكتيرية المعوية

***رغد أكرم عزيز**
قسم العلوم، كلية التربية الأساسية، الجامعة المستنصرية.

الخلاصة:
تضمن البحث عزل 18 عزلة بكتيرية من عينات براز اطفال مصابين بالاسهال المائي الحاد والدموي دون سن الخامسة، اذ امكن الحصول على 9 عزلات لبكتريا *Escherichia coli* و5 عزلات لبكتريا *Salmonella typhimurium* و 4 عزلات لبكتريا *Shigella flexneri*، اخضعت جميع هذه العزلات للفحوصات الزرعية والمجهرية والكيموحيوية وشخصت باستعمال نظام Vitek2. اختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لقشور الرمان *Punica granatum* L. في نمو العزلات البكترية المعوية وباستعمال طريقة الانتشار في الحفر Well diffusion وكذلك تحديد التركيز المثبط الادنى Minimum inhibitory concentration MIC والتركيز القاتل الادنى Minimal bactericidal concentration MBC للمستخلص ضد هذه العزلات البكترية، واظهر المستخلص الكحولي لقشور الرمان تأثيراً واضحاً في جميع العزلات البكترية المعوية وقورن هذا التأثير مع تأثير 10 مضادات حيوية شملت (Rifampicin، Amoxicilln، Ampicillin، Ciprofloxacin، Trimethoprim، Cefotaxim، Ceftriaxon، Neumycin، Tetracyclin، Chloramphenicol). وقد كان التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لقشور الرمان يزداد بزيادة تركيز المستخلص، اذ بلغت قيمة التركيز المثبط الادنى MIC والتركيز القاتل الادنى MBC للمستخلص ضد كل من بكتريا *Escherichia coli* وبكتريا *Shigella flexneri* 1 و2 ملغم/مللتر على التوالي، بينما كانت قيمة التركيز المثبط الادنى MIC للمستخلص ضد بكتريا *Salmonella typhimurium* هو 2 ملغم/مللتر في حين لم يتم تحديد قيمة التركيز القاتل الادنى MBC للمستخلص ضد تلك البكتريا.

Comparison of the inhibitory effect of the alcoholic extract of pomegranate peel and antibiotics against some intestinal bacterial isolates

***Raghad A. Aziz**
Department of Science, College of Basic Education, University of AL-Mustansiriya., Baghdad, Iraq.

Abstract:
This research included isolation of 18 bacterial isolates from children stool with diarrhea and acute bloody water and under the age of five, if possible get a 9 isolates of the bacterium *Escherichia coli* and 5 isolates of the bacterium *Salmonella typhimurium* and 4 isolation of the bacterium *Shigella flexneri*, subjected all of these isolates tests AGRO and microscopic and biochemical and diagnosed using Vitek2 system. Tested the effectiveness of inhibitory extract alcohol to peel pomegranate *Punica granatum* L. in the growth of isolates bacterial intestinal and using the diffusion method in drilling Well diffusion as well as determine the focus damper

*Email: drraziz@yahoo.com

Near Minimum inhibitory concentration MIC and focus killer Near Minimal bactericidal concentration MBC extract against these isolates bacterial, showed alcoholic extract of the peel pomegranate a clear impact on all isolates bacterial intestinal and this effect compared with the effect of 10 antibiotics included (Rifampicin, Amoxicilln, Ampicillin, Ciprofloxacin, Trimethoprim, Cefotaxim, Ceftriaxon, Neumycin, Tetracyclin, Chloramphenicol). Inhibitory effect of the alcoholic extract of peel pomegranate has been getting increasing with the concentration of extract, as the focus value of damper minimum MIC and focus killer Near MBC extract against all of the bacteria *Escherichia coli* and bacteria *Shigella flexneri* were 1 and 2 mg / ml, respectively, while the damper minimum focus MIC extract value against bacteria *Salmonella typhimurium* is 2 mg / ml while the killer is not specified minimum value of MBC focus extract against these bacteria.

Keywords: Alcoholic extract, Pomegranate peel, Intestinal bacterial.

المقدمة:

استقطبت دراسة النباتات الطبية اهتمام الباحثين وذلك لان العقاقير المشتقة منها تكون مثبطة وغير مؤذية وخالية من التأثيرات الجانبية مقارنة بالمضادات الحيوية التي لا تكون دائماً مثبطة (تزداد المقاومة لها مع الوقت) كما وتكون لمعظمها تأثيرات جانبية [1]. ومن تلك النباتات ذات الاهمية الطبية هو الرمان *Punica granatum* L. وخصوصاً ثمرة النبات (القشرة والبذور)، ويعتبر موطن الرمان الاصلي جنوب غرب اسيا او في قرطاجة، كما وتنتشر زراعته في معظم البلدان المجاورة للبحر الابيض المتوسط وكذلك في شمال غرب الهند [2–4]. وتحتوي ثمرة الرمان على 78% رطوبة و14.5% كاربوهيدرات و5.1% الياف و1.6% بروتين و0.1% دهون و0.7% عناصر معدنية [5]. وتحتوي الثمرة الناضجة على حامض الستريك وحامض الماليك وكذلك على بعض الانزيمات، اما قشرة ثمرة الرمان فتحتوي على التانينات Tannins والراتنجات والصمغ النباتي وكذلك تحتوي القشور على الفلافونويدات Flavonols و Anthocyanins و Catechin وProcyanidins وEllagic acid و Gallic acid [6]، وان للمركبات الفعالة المستخلصة من قشور الرمان فعالية عالية ضد الفايروسات كفايروس الهربس Herpes وفايروس الانفلونزا وفايروس شلل الاطفال Polio وفايروس نقص المناعة البشرية HIV [7]. كما ان العلاج بالنباتات الطبية شائع الاستعمال في الوقت الحاضر، وان لقشور الرمان استعمالات طبية واسعة منها معالجة الدزنتري (الزحار) Dysentery و التهاب المعدة Stomatitis والاسهال Diarrhea وذلك لاحتوائه على التانينات Tannins والتي تعد مادة قابضة [8]. كما وتستعمل قشور الرمان في علاج كثرة الافرازات المهبلية وذلك لخواصه القاتلة للبكتريا والفطريات، وتعد قشور الرمان مادة طاردة للديدان Antihelmenthic ومدرر للبول ومقوي للقلب ومبرد لحرارة الجسم، كما ويستعمل ايضا في معالجة التهاب المفاصل وعلاج الزهايمر والعقم عند الذكور، وينصح باستعماله في معالجة اصابات القناة الهضمية والتهاب القولون [3–5]. وان لمستخلصات جميع اجزاء ثمرة الرمان فعالية مضادة للعديد من الاحياء المجهرية لا سيما المسببة لاصابات الجهاز الهضمي، اذ ان للمستخلص المائي والكحولي لقشور الرمان فعالية مضادة عالية ضد كل من بكتريا *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* [9]، وكذلك له فعالية ضد كل من بكتريا *Proteus vulgaris* و *Salmonella typhi* و *Salmonella paratyphi* [4]، وبكتريا *Bacillus cereus* و *Bacillus coagulans* و *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa*، وكذلك لقشور الرمان فعالية مضادة تجاه عدد من الفطريات لا سيما *Aspergillus niger* و *Penicillium citrinum* و *Rhizopus oryzae* و *Mucor indicus* و *Trichoderma reesei* [5]. ويذكر ان لمستخلصات قشور الرمان فعالية مضادة للاكسدة antioxidant [8، 9]. ونظراً لانواع المركبات الكيمياوية التي تحتويها قشور الرمان وفوائدها العديدة في معالجة الكثير من الامراض لا سيما امراض الجهاز الهضمي لذا يهدف هذا البحث الى تقيم فعالية المستخلص الكحولي لقشور الرمان ضد عدد من العزلات البكترية المعوية وبالمقارنة مع بعض المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل:

العزلات البكترية:

استعملت في هذه الدراسة 18 عزلة بكتيرية من عينات براز اطفال مصابين بالاسهال المائي الحاد والدموي ودون سن الخامسة، وقد تم الحصول على العينات من مختبرات مستشفى الكاظمية التعليمي ومستشفى الطفل المركزي في محافظة بغداد.

تشخيص العزلات البكترية:

نقيت العزلات البكتيرية بتكرار الزرع و شخصت مبدئياً اعتماداً على الصفات الشكلية للمستعمرات ولونها وارتفاعها وقوامها وفحصت مجهرياً لغرض وصف اشكال الخلايا بعد معاملتها بصبغة كرام، كما اجريت الاختبارات الكيموحيوية اعتماداً على ما ورد في [10] والتشخيص النهائي باستعمال نظام الفايتك VITEK 2 System.

فحص الحساسية للعزلات البكتيرية:

اجري فحص الحساسية للعزلات البكتيرية تجاه 10 مضادات حياتية مختلفة وهي:
Ciprofloxacin (CIP 5 µg)، Ampicillin (AMP 10 µg)، Amoxicilln (AMC 30 µg)، Rifampicin (RIF 5 µg)، Trimethoprim (TR 5 µg)، Cefotaxim (CTX 30 µg)، Ceftriaxon (CTR 30 µg)، Neumycin (N 30 µg)، Tetracyclin (TE 30 µg)، Chloramphenicol (C 30 µg). واجري الاختبار باستعمال وسط مولر هنتون الصلب Mueller – Hinton agar واعتمد قياس قطر التثبيط حسب ما جاء في CLSI [11].

قشور الرمان:

جمعت قشور الرمان من الاسواق المحلية لمحافظة بغداد ونقلت الى المختبر وغسلت بالماء المقطر المعقم ثم جففت على اوراق ترشيح معقمة عند درجة حرارة المختبر، ثم سحقت وطحنت بوساطة طاحونة كهربائية وحفظت بعدها في اكياس بولي اثيلين في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م لحين الاستعمال.

تحضير المستخلص الكحولي لقشور الرمان:

اخذ 100 غم من مسحوق قشور الرمان الجاف في دورق مخروطي سعة 1000 مللتر واضيف له 500 مللتر كحول اثيلي بتركيز 70% وترك منقوعاً لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبعد ذلك رسب المزيج باستعمال جهاز النبذ المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة، بعدها بخر المحلول بوساطة جهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator بدرجة حرارة 40 م لحين الحصول على سائل كثيف، ثم جفف في الحاضنة بدرجة حرارة 37م خلال 3 – 4 ايام، وحفظ المسحوق في الثلاجة لحين الاستعمال [12].

الكشف الكيميائي عن بعض المجاميع الفعالة في المستخلص الكحولي لقشور الرمان:

كشفت عن بعض المجاميع والمركبات الفعالة الموجودة في المستخلص الكحولي لقشور الرمان وقد تضمنت الكشف عن التانينات (العصفيات) Tannins والراتنجات Resins والصابونيات Saponins والفلافونويدات Flavonoids والقلويدات Alkaloids والكلايكوسيدات Glycosides والكومارين Coumarin وحسب ما جاء به [13].

تحضير المحلول الخزين:

حضر محلول خزين Stock solution من المستخلص الكحولي لقشور الرمان وذلك باذابة (1 غم من المستخلص الكحولي في 5 مللتر من Dimethyl sulfoxide DMSO) مع التحريك لإتمام الإذابة وقد تمت هذه الخطوات تحت ظروف معقمة، وبهذا بلغ التركيز الأساس للمستخلصات النباتية 200 ملغم/مللتر، وحضرت خمسة تراكيز من المحلول الخزين للمستخلص (200، 100، 50، 25، 12.5) ملغم/مللتر وباستعمال الـ DMSO في التخفيف.

محلول ثابت العكارة القياسي– ماكفرلاند:

حُضّر محلول ماكفرلاند بحسب ماجاء في [14].

تحضير اللقاح البكتيري:

زرعت العزلات البكتيرية في انابيب حاوية على وسط المرق المغذي، ثم حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 18 – 24 ساعة، بعدها عمل تخطيط على سطح الوسط المغذي الصلب Nutrient Agar بوساطة العروة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 24

ساعة، وبعد انتهاء فترة الحضن نقلت بضعة مستعمرات بكترية نقية بعمر 24 ساعة بوساطة العروة الى انابيب حاوية على وسط المرق المغذي المعقم Nutrient Broth بمقدار 5 مللتر، ثم قورنت عكورة العالق البكتيري مع عكورة انبوبة ماكفرلاند رقم (0.5) القياسية والذي يعادل نمواً بكترياً مساوياً الى (1.5×10^{8}) خلية/مللتر.

تقدير التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي ضد العزلات البكترية المعوية:

اتبعت طريقة الانتشار بالحفر Well diffusion للكشف عن التأثير التثبيطي لمستخلص قشور الرمان ضد البكتريا المعوية والتي وصفها كل من [15، 16] وباستعمال وسط مولر هنتون الصلب Muller – Henton Agar اذ نشر حجم مقدار 0.1 مللتر من المعلق البكتري ثم تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة وذلك لغرض امتصاص اللقاح بعدها تم عمل حفر Wells في الوسط الغذائي الملقح بالبكتريا بوساطة ثاقبة فلين معقمة بقطر 7 ملم، وبوساطة ماصة دقيقة، نقل 50 مايكرولتر من كل تركيز من تراكيز المستخلصات النباتية قيد الدراسة ووضع داخل الحفرة، وتم عمل اطباق سيطرة Control وذلك بوضع 50 مايكرولتر من DMSO في الحفرة بدلا من المستخلص الكحولي، ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 18 – 24 ساعة، بعد ذلك قرأت النتيجة بقياس قطر منطقة التثبيط والتي تمثل منطقة عدم النمو البكتيري المحيطة بالحفرة بوساطة المسطرة.

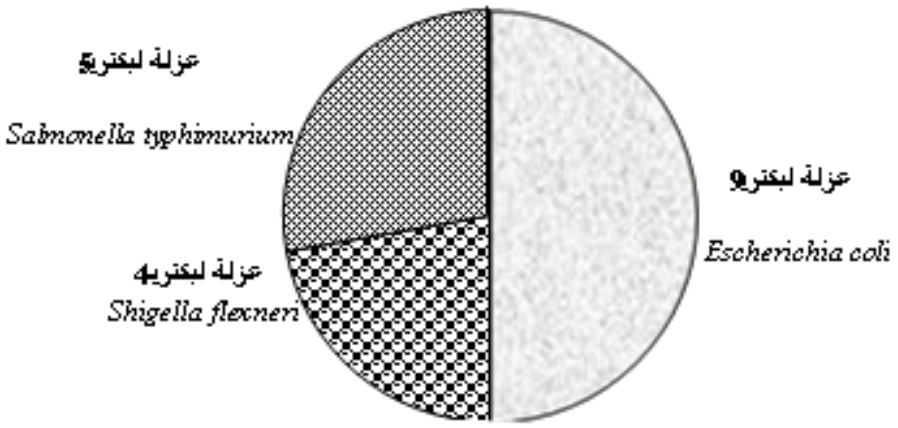
تحديد التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى:

استعملت طريقة التخفيف بالانابيب لتحديد التركيز المثبط الادنى MIC للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ضد العزلات البكترية المعوية وحسب ما موصوف من قبل [14]، اذ تم تحضير تخافيف نصفية متسلسلة من التركيز القياسي (المحلول الخزين) 200 ملغم/مللتر وبالتراكيز الاتية: (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25) ملغم/مللتر وباستعمال وسط مرق مولر هنتون Muller – Henton Broth، اذ اضيف 0.1 مللتر من المستخلص الكحولي لقشور الرمان وبتراكيز عدة الى انابيب تحتوي على 9.8 مللتر من مرق مولر هنتون Muller – Henton Broth ، ثم لقحت هذه الانابيب بـ 0.1 مللتر من العالق البكتيري وبتركيز 1.5×10^{8} خلية/مللتر، وبذلك اصبح تخفيف المستخلص الكحولي (2، 1، 0.5، 0.25، 0.125، 0.0625) ملغم/مللتر، وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37م لمدة 18–24 ساعة، قورنت النتائج مع نتائج انبوبة السيطرة القياسية التي تتكون من (9.8 مللتر من مرق مولر هنتون Muller – Henton Broth + 0.1 مللتر من العالق البكتيري + 0.1 مللتر من المذيب المستعمل DMSO)، وقد حدد التركيز المثبط الادنى MIC على انه اقل تركيز من المستخلص الكحولي الذي يمنع نمو البكتريا بالمقارنة مع السيطرة، اما لتحديد التركيز القاتل الادنى MBC فقد اخذ 0.1 مللتر من الانابيب الخالية العكورة وزرعها على سطح مولر هنتون الصلب Muller – Henton Agar بطريقة النشر ثم حفظت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 18 – 24 ساعة، وحددت قيمة التركيز القاتل الادنى MBC على انه اقل تركيز من المستخلص الكحولي الذي يقلل عدد المستعمرات النامية بمقدار 99.9% من المزروع الاصلي.

النتائج والمناقشة:

العزل والتشخيص:

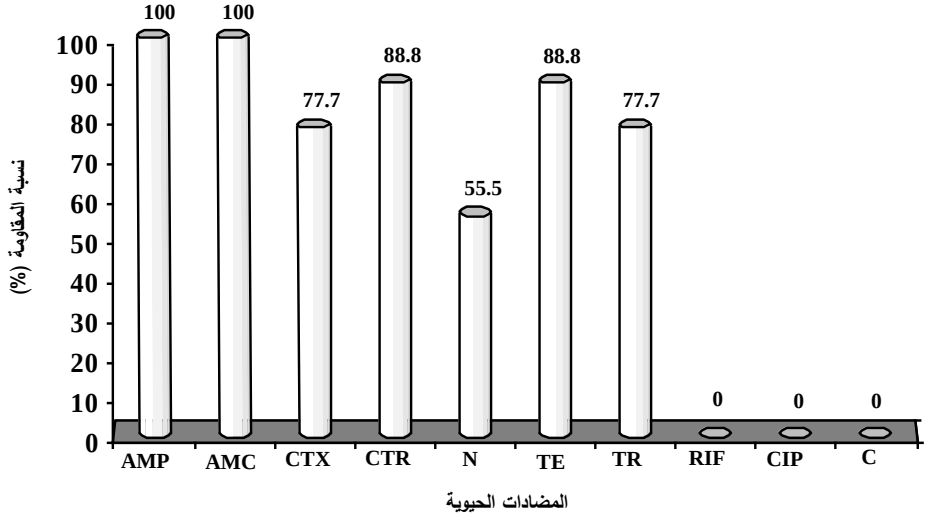
تم الحصول على 18 عزلة بكتيرية معوية من عينات براز الاطفال المصابين بالاسهال المائي الحاد والدموي دون سن الخامسة، وقد امكن تثبيت الصفات الزرعية للمستعمرات والصفات المجهرية للخلايا البكتيرية ومن ثم تشخيصها باستعمال عدة التشخيص Vitek2 الخاصة، وقد كانت على النحو الاتي 9 عزلة لبكتريا *Escherichia coli* و5 عزلة لبكتريا *Salmonella typhimurium* و 4 عزلة لبكتريا *Shigella flexneri* وكما هو موضح في الشكل 1.



شكل 1- عدد عزلات البكتريا المعوية المعزولة من براز الاطفال المصابين بالاسهال المائي الحاد والدموي.

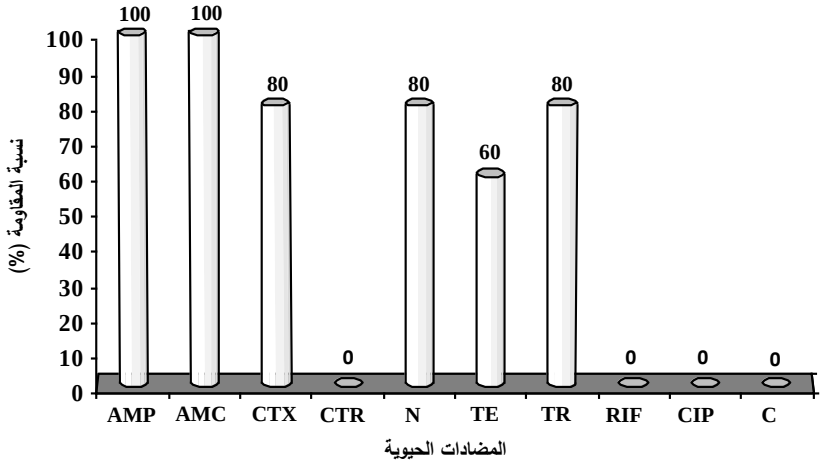
اختبار الحساسية:

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة تجاه 10 من المضادات الحيوية، وحددت النتائج بوصف البكتريا مقاومة R او حساسة S من خلال قياس قطر منطقة التثبيط ومقارنة ذلك بما ورد في CLSI [11]، وقد اظهرت النتائج الموضحة في الشكل 2 ان هناك تبايناً في مقاومة عزلات بكتريا *E. coli* قيد الدراسة تجاه المضادات المستعملة، فقد بينت النتائج ان جميع عزلات بكتريا *E. coli* كانت مقاومة لمضادات AMP وAMC بنسبة 100%، فيما كانت حساسة لمضادات C و CIP و RIF بنسبة 100%، فيما اختلفت حساسيتها تجاه المضادات المستعملة الاخرى.



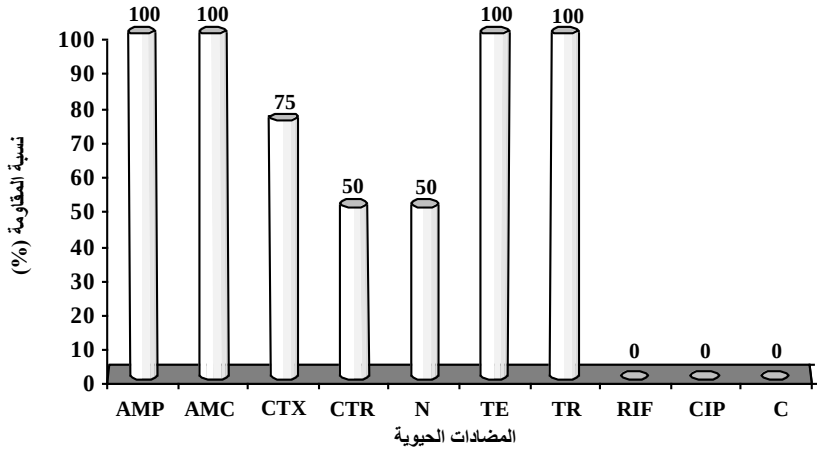
شكل 2- النسب المئوية لعزلات بكتريا *E. coli* المقاومة للمضادات الحيوية.

اما الشكل 3 يبين ان بكتريا *Salmonella typhimurium* كانت مقاومة تجاه بعض المضادات الحيوية المستعملة لا سيما AMP و AMC بنسبة 100%، بينما كانت حساسة لكل من المضادات CTR و C و CIP و RIF بنسبة 100%، وقد اختلفت حساسيتها تجاه المضادات الحيوية المستعملة الاخرى.



شكل 3- النسب المئوية لعزلات بكتريا *Salmonella typhimurium* المقاومة للمضادات الحيوية.

وقد اوضح الشكل 4 ان بكتريا *Shigella flexneri* كانت مقاومة تجاه بعض المضادات الحيوية مثل AMP و AMC و TE و TR بنسبة 100%، في حين كانت حساسة لكل من C و CIP و RIF وبنسبة 100%، وقد تباينت حساسيتها تجاه باقي المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة.



شكل 4- النسب المئوية لعزلات بكتريا *Shigella flexneri* المقاومة للمضادات الحيوية.

وقد جاءت هذه النتائج منسجمة مع النتائج التي توصل اليها [17، 18] عن اجرائهم فحص الحساسية لعدد من المضادات الحيوية تجاه البكتريا المعوية. يلاحظ ان المقاومة للمضادات الحيوية عالية وربما يعود السبب الى الاستعمال الواسع العشوائي للمضادات الحيوية وقلة الوعي الصحي فضلا عن استعمال بعض المضادات الحيوية كخط علاجي اولي لمعالجة اسهال الاطفال في بعض المستشفيات، والذي يقود الى تطور مقاومة سلالات البكتريا للمضادات الحيوية، ويمكن لافراد البكتريا ان تكتسب مقاومة مجموعة مضادات البيتالاكتام واسعة الطيف بوساطة اليات عدة، واهم هذه الاليات هو البلازميد الذي يشفر الى مقاومة انزيمات البتاركتاميز ESBL و AMPC. كما وجد ان هناك نوع اخر من الانزيمات يطلق عليها Extended spectrum β – Lactamase (ESβLS) تعمل على تحليل حلقة البتالاكتام [19]. و ان صفة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز هي ليست صفة مطلقة لكافة العزلات البكتيرية فقد تكون بعض العزلات البكترية غير المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز رغم مقاومتها لمضادات البيتالاكتام لذلك تلجأ البكتريا الى اليات اخرى لمقاومة مضادات البيتالاكتام غير انتاجها لانزيمات البتالاكتام مثل تغير بروتينات الغشاء الخارجي كخطوة لتغير

موقع الهدف، او الى تغير في حاجز النفاذية للغشاء السايتوبلازمي بكون انتاج انزيمات البيتالاكتاميز ليست الالية الوحيدة في مقاومة مضادات البيتالاكتام [20، 21].

الاستخلاص الكحولي لقشور الرمان:

يعد الكحول الاثيلي مذيب عضوي قطبي له القابلية على إذابة العديد من المواد الفعالة في النباتات منها الفلافونات والتانينات والفينولات المتعددة والتربينات والقلويدات [22]، وعليه يمكن ملاحظة احتواء المستخلص الكحولي لقشور الرمان قيد الدراسة على العديد من المركبات الفعالة.

الكشف النوعي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لقشور الرمان:

بينت نتائج الكشف النوعي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لقشور الرمان احتواءه على العديد من المركبات الفعالة وكما موضحة في الجدول رقم 1، والتي تمتاز بفعاليتها التثبيطية والقاتلة تجاه عدة انواع من الأحياء المجهرية. اظهرت النتائج احتواء المستخلص الكحولي لقشور الرمان المستعملة في الدراسة على التانينات والفلافونويدات والقلويدات والراتنجات والكلايكوسيدات، في حين لم يحتوي على الصابونيات والكومارين. وقد جاءت نتائج الكشف النوعي عن المركبات الفعالة للمستخلص الكحولي لقشور الرمان مقاربة لما توصلت اليه الكثير من البحوث في احتواءه على نسبة من المركبات الكيميائية الفعالة لاسيما المركبات الفينولية والتي تمتاز بتأثيرها التثبيطي ضد كل من الفايروسات والبكتريا وكذلك الفطريات [2، 6، 9]، كما وتتوافق النتائج في احتواءه على العديد من المركبات الفعالة حيوياً مع ما اشار اليه [4] ومن هذه المركبات هي القلويدات Alkaloids والفلافونويدات Flavanoids والتانين Tannin والكلايكوسيدات Glycosides وكذلك الستيرويدات Steroids والتربينات Terpenoids، وقد اوضح [3] ان المستخلص الكحولي لقشور الرمان يحتوي على القلويدات Alkaloids والتانينات Tannins والفلافونويدات Flavanoids وكذلك الزيوت الاساسية Essential oils. فضلا لما ذكره [5] عن احتواء قشور الرمان على عدد من المركبات الفينولية و Gallic acid وعدد من الفلافونويدات مثل Flavonols و Flavones و Anthocyanins وكذلك التانينات Tannins مثل Proanthocyanidins و Hydrolysable tannins و Gallotannins ellagitannins، فمثلا التانينات تعمل على ايقاف النزف والافرازات وتثبيط عمل الانزيمات والبروتينات الناقلة في غشاء الخلية، في حين تعد التربينات من المركبات المضادة للفايروسات والبكتريا والفطريات.

جدول 1– الكشف النوعي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لقشور الرمان.

المادة الفعالة	الكاشف	الدليل	المستخلص الكحولي لقشور الرمان
التانينات Tannins	خلات الرصاص 1%	راسب هلامي	+
الفلافونويداتFlavonoids	كحول اثيلي95% ومحلول مكون من كحول اثيلي 50% و KOH 50%	ظهور اللون الاصفر	+
الكومارين Coumarin	ورقة ترشيح مرطبة بـNaOH المخفف	عدم ظهور ورقة الترشيح بلون اصفر مخضر	–
القلويدات Alkaloids	كا شف ماير	راسب ابيض	+
	كاشف دراكندروف	راسب برتقالي	+
الراتنجات Resins	كحول اثيلي 95%وماء محمض بـ4%HCL	ظهور العكارة	+
الصابونيات Saponins	كلوريد الزئبقيك1%	عدم ظهور راسب ابيض	-
الكلايكوسيدات Glycosides	كاشف فهلنك	راسب احمر	+

التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لقشور الرمان:

اثيرت في الاونة الاخيرة العديد من الشكوك حول مدى سلامة المضادات الحيوية من الناحية الصحية واصبح استعمالها مثيراً للجدل كونها ذات تأثيرات جانبية، لذا انصب الاهتمام على المصادر الطبيعية الكامنة في النباتات والتي لا تمتلك تأثيرات سمية، وتعد المركبات الفينولية من ابرز المضادات الميكروبية الطبيعية التي تشمل الفلافونيدات والتانينات والحوامض الفينولية [5، 9]. وقد اظهرت النتائج بأن المستخلص الكحولي لقشور الرمان اثر مضاد تجاه البكتريا المعوية قيد الدراسة. ويبين الجدول 2 الاثر التثبيطي

للمستخلص الكحولي على كل من بكتريا *E. coli* و *Salmonella typhimurium* و *Shigella flexneri*، اذ كانت بكتريا *E. coli* هي الاكثر تثبيطاً من قبل المستخلص الكحولي لقشور الرمان، تلتها بكتريا *Shigella flexneri* ثم بكتريا *Salmonella typhimurium* . في حين يبين الجدول 3 التركيز المثبط الادنى MIC والتركيز القاتل الادنى MBC للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ضد العزلات البكتيرية المعوية قيد الدراسة، اذ كانت قيمة MIC لكل من بكتريا *E. coli* و *Shigella flexneri* هو 1 ملغم/مللتر اما MBC فكان 2 ملغم/مللتر، اما لبكتريا *Salmonella typhimurium* فكانت قيمة MIC 2 ملغم/مللتر، ولبكتريا *Shigella flexneri* كانت قيمة MIC 1 ملغم/مللتر. اذ وجد [7] بان المستخلص الكحولي لقشور الرمان تأثير مثبط لعدد من العزلات البكتيرية لا سيما بكتريا *E. coli* و *Salmonella typhimurium* وهذا يتفق مع ما توصلنا اليه في دراستنا، وقد اشار [6] الى تأثير المستخلص الكحولي لقشور الرمان في البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام. وقد تعود فعالية المستخلص الكحولي لقشور الرمان في تثبيط وقتل الاحياء المجهرية الى احتوائه على مركبات فعالة عدة مثل الراتنجات والفلافونويدات والكلايكوسيدات والتانينات وان لهذه المركبات فعالية تثبيطية لمجموعة كبيرة من الاحياء المجهرية ومنها البكتريا والفطريات [6، 8، 23]. اذ ان تواجد المركبات الفعالة لا سيما التانينات Tannins قد تؤثر على طبيعة البروتينات في الاحياء المجهرية مما يؤدي الى قتلها او ربما يؤثر على الغشاء البلازمي مغيراً بذلك خواصه الوظيفية مما يؤدي الى تثبيط نمو الاحياء المجهرية [3، 5]، كما ان تواجد البولي فينول Polyphenol والفلافونويدات Flavonoids والكلايكوسيدات Glycosides و Elgic acid و Gallic acid في المستخلص الكحولي لقشور الرمان والتي لها تأثير قاتل ضد البكتريا [4، 9]. ولمستخلصات قشور الرمان فعالية مضادة للسرطان anticancer اذ تستعمل في الوقاية والعلاج من بعض انواع السرطان لا سيما سرطان الرئة وسرطان البروستات [8، 9]. ويمكن ان نستنتج من خلال النتائج التي تم التوصل اليها في هذا البحث الى ان المستخلصات النباتية يمكن ان تكون مصدراً لمنتجات قادرة على السيطرة على الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية ولها اهمية كبيرة لتصنيع وتطوير ادوية وعلاجات مؤثرة وامنة وكذلك رخيصة الثمن.

جدول 2- تأثير المستخلص الكحولي لقشور الرمان وبتراكيز تجاه العزلات البكترية المعوية.

تركيز المسخلص الكحولي لقشور الرمان (ملغم/مللتر)	تأثير المستخلص الكحولي لقشور الرمان تجاه العزلات البكترية المعوية		
	E. coli	*Salmonella typhimurium*	*Shigella flexneri*
	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
200	28	20.5	25
100	23	18	21.5
50	19.5	14.5	17.5
25	16	10.5	13
12.5	11	-	9

(-): تعني لم يظهر تثبيط للمستخلص الكحولي لقشور الرمان.

جدول 3- التركيز المثبط الادنى MIC والتركيز القاتل الادنى MBC للمستخلص الكحولي لقشور الرمان تجاه العزلات البكتيرية المعوية.

العزلات البكتيرية المعوية	التركيز المثبط الادنى MIC (ملغم/مللتر)	التركيز القاتل الادنى MBC (ملغم/مللتر)
E. coli	1	2
Salmonella typhimurium	2	-
Shigella flexneri	1	2

(-): تعني لم يتم تحديد قيمة التركيز المثبط الادنى MIC او التركيز القاتل الادنى MBC للمستخلص الكحولي لقشور الرمان تجاه العزلات البكتيرية المعوية.

المصادر:

1. Randhir R. and Shet. T. **2007**. Improved α- amylase and Helicobacter pylori inhibition by fenugreek exyracts derived via solid-state bioconversion usin Rhizopus oligosporus. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* 16(3): 382-392.
2. Wang, Z.; Pan, Z.; Haile, M. and Atungulu, G. G. **2011**. Extract of Phenolics From Pomegranate Peels. *The Open Food Sci. J.* 5: 17-25.

3. Janani, J. and Estherlydia, D. **2013**. Antimicrobial activities of *Punica granatum* extract Against oral microorganisms. *Internati. J. of Pharm. Tech. Res.* 5(3): 973-977.

4. Hajoori, M.; Naik, M.; Naik, K. and Desai, S. **2014**. Evaluation of antimicrobial activity of *Punica granatum peel* extracts using different solvent system. *Internati. J. of Pharma. Screen. Method*. 4(1): 26-31

5. Dahham, S. S.; Ali, M. N.; Tabassum, H. and Khan, M. **2010**. Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci*. 9(3): 273-281.

6. Fawole, O. A.; Makunga, N. P. And Opara, U. L. **2012**. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12: 200-211.

7. Naziri, Z.; Rajaian, H. and Firouzi, R. **2012**. Antibacterial effects of Iranian native sour and sweet pomegranate *Punica granatum*) peel extracts against various pathogenic bacteria. *Iranian J. Veterinary Res.* 13(4): 282-288.

8. Altuner, E. M. **2011**. Investigation of antimicrobial activity of *Punica granatum* L. fruit peel ash used for protection against skin infections as folk remedies especially after male circumcision. *African J. Microbiol. Res.* 5(20): 3339-3342.

9. Nuamsetti, T.; Dechayuenyong, P. and Tantipaibulvut, S. **2012**. Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. *Sci. Asia.* 38: 319-322.

10. Forbes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. **2002**. *Baily and Scotts Dignostic Microbiology.* 11th ed. Mosby, Inc, St. Louis. USA.

11. (CLSI) Clinical Laboratory Standards Institute. **2009**. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 19th informational supplement, CLSI document M100-S19. Wayne, PA: CLSI; 29(3).

12. Anessiny, G. and Perez. C. 1993. Screening of plants used a green line. Folk Medicine for Antimicrobial Activity. *J. Ethnopharmacol*. 39: 119-128.

13. Newall, C. A.; Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. **1996**. *Herbal Medicine*. Aguid for Health Care Professional, London, the Pharmaceutical Press.

14. National Committee for Clinical Laboratory Standard. (NCCLS). **2002**. Approved Standards. M100-S12, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test: Twelfth Informational Supplement. Pennsylvania, USA.

15. Egorove, N. S. **1985**. *Antibiotics Scientific Approach*. Mir publishers. Moscow.

16. Gupta, S. **1996**. *The Short Text Book of Pediatrics*. 7th ed., Jaypee Brothers Medical Publishers (p) Ltd.

17. Ren, T.; Zamboni, D. S.; Roy, C. R.; Dietrich, W. F. and Vance, R. E. **2006**. Flagellin – deficient Legionella mutants evade caspase 1 and Naip -5- mediated macrophage immunity. *PLOS Pathog.* 2(3): e18.

18. Mirzaagha, P.; Louie, M.; Sharma, R.; Yanke, L. J.; Topp, E. and McAllister, T. A. **2011**. Distribution and characterization of ampicillinand tetracycline – resistant *E. coli* from feedlot cattle fed subtherapeutic antimicrobials. *BMC Microbiology.* 11: 78-85.

19. Skurnik, D.; Menach, A. L.; Zurakowski, D.; Mazel, D.; Courvalin, P.; Denamur, E.; Andremont, A. and Ruimy, R. **2005**. Integron associated antibiotic resistance andphylogenetic grouping of *Esherichia coli* isolates from healthy subjects free of recent antibiotic exposure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3062-3065.

20. Sabate, M.; Mir, E.; Navarro, F.; Reryes, C.; Aliaga, R.; Mirelis, B. and Prat, G. **2002**. Beta-Lactamase involved in resistance in *Esherichia coli Esherichia coli* and *Klebsiella spp*. Clinical isolates between 1994-1997 in Barcelonce. *Spain. J. Antimicrob. Chemther.* 49: 989-997.

21. Naas, T.; Coignard, B.; Carbonne, A.; Blanket, K.; Bajolet, O.; Bernet, C.; Verdeil, X.; Astagneau, P.; Desenclos, J. and Nordmann, P. **2006**. VEB-1 extended spectrum beta-lactamase producing *Acintobacter baumanni. France Emerging Infec. Dis.* 12(8): 1214-1222.

22. Cowan, M. M. **1999**. Plant products as Antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12 (4).p. 564-582

23. Foss, S. R.; Nakamura, C. V.; Nakamura, T. U., Cortez, D. A.; Endo, E. H. and Filho, B. P. D. **2014**. Antifungal activity of pomegranate peels extract and isolated compound punicalagin against dermatophytes. *Annals of Clinical Microbiolo. Antimicrob.* 13: 32-38.