The North African Journal of Scientific Publishing (NAJSP)
مجلة شمال إفريقيا للنشر العلمي (NAJSP)
E-ISSN: 2959-4820
Volume 3, Issue 3, 2025
Page No: 392-401
Website: https://najsp.com/index.php/home/index
SJIFactor 2024: 5.49 معامل التأثير العربي (AIF) 2024: 0.71 ISI 2024: 0.696

دراسة التأثير التآزري للمستخلص المائي لنبات الكركم CURCUMA مع بعض المضادات الحيوية على سلالات بكتيرية

فاطمة سليمان عريش[1*]، مراد بركة[2]، فاطمة صالح[3]، غالية محمد[4]
[1]قسم التقنيات الحيوية، كلية العلوم، جامعة سبها، سبها، ليبيا
[2,3,4]قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة سبها، سبها، ليبيا

Study of the Synergistic Effect of the Aqueous Extract of Curcuma with Some Antibiotics on Bacterial Strains

Fatma Suliman Arrish[1*], Morad Baraka[2], Fatma Saleh[3], Ghalia Mohamed[4]
[1]Departmentof Biotechnology, Faculty of Science, Sebha University, Sebha, Libya
[2,3,4]Department of Zoology, Faculty of Science, Sebha University, Sebha, Libya

[*]Corresponding author Fat.arrish@sebhau.edu.ly [*]المؤلف المراسل
تاريخ الاستلام:2025-07-09 تاريخ القبول:2025-09-20 تاريخ النشر: 2025-09-26

الملخص

هدفت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص المائي لنبات الكركم بالتركيز المختلفة (0.1mg\ml,0.5mg\ml,0.01mg\ml,0.05mg\ml) على بعض السلالات البكتيرية (الموجبة والسالبة جرام)، وكذلك دراسة التأثير التآزري للمستخلص مع مجموعة من المضادات الحيوية على بعض العزلات البكتيرية الموجبة الجرام (*S.aureus, B.cerues*) وسالبة الجرام(*S.typhi*, *E.coli*). أظهرت نتائج الاختبار التآزري للمستخلص المائي للكركم بالتركيز المحددة حدوث تغير في نمط المقاومة لجميع السلالات البكتيرية المستخدمة للمضاد (CT_{10}) فأصبحت حساسة لهذا المضاد في جميع التراكيز وتغيرت مقاومة السلالة S.typhi للمضاد (NA_{30})، وأصبح متوسط المقاومة في جميع التراكيز ماعدا في التركيز (0.1mg\ml) حيث أصبحت حساسة لهذا التركيز، في حين أصبحت حساسة للمضادات (CIP_5 و PB_{300})، وتغير نمط الحساسية لبكتيريا (*S.aureus*) من حساس للمضاد (AK_{30}) إلى شديد الحساسية عند التركيز(0.5mg\ml)، وتغير نمط الحساسية لبكتيريا (*B.cerues*)فأصبحت شديدة الحساسية لبعض المضادات الحيوية عند التراكيز (0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml)، وأظهرت نتائج الاقتران تغير في نمط الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية حيث تغيرت من حساسة إلى مقاومة لمعظم المضادات الحيوية ومن مقاومة إلى حساسة لبعض الأخر بعد الاقتران الوراثي لجميع السلالات البكتيرية ماعدا السلالة (*S.aureus,B.cerues*) التي لم يتغير نمط المقاومة فيها عند المضاد (CT_{10})، وأصبحت أغلب السلالات البكتيرية مقاومة للمضادات الحيوية بعد إجراء التحييد البلازميدي، ويتضح من هذه النتائج إن للكركم تأثير تآزري مع المضادات الحيوية على الأنواع البكتيرية المستخدمة.

الكلمات المفتاحية: المضادات الحيوية، تفاعل تآزري، بكتيريا، الاقتران، التحييد البلازميدي.

Abstract

This study aimed to investigate the effect of aqueous extract of Curcumin plant at different concentrations (0.1mg\ml,0.5mg\ml,0.01mg\ml,0.05mg\ml) on some bacterial strains (G-positive and Gram-negative), as well as to study the synergistic effect of the extract with a group of antibiotics on some Gram-positive (S.aureus, B.cerues) and Gram-negative (S.typhi, E.coli) bacterial isolates. The results of the synergistic test of the aqueous extract of turmeric at the specified concentration showed a change in the resistance pattern of all bacterial strains used for the antagonist (CT_{10}), which became sensitive to this antagonist at all concentrations, and the resistance of the S.typhi strain to the antagonist (NA30) changed, and the average resistance at all concentrations except at the concentration became

(0.1mg\ml), which became sensitive to this concentration, while it became sensitive to the antagonists (CIP_5 and PB_{300}) The sensitivity pattern of (S. aureus) bacteria changed from sensitive to the antibody (AK_{30}) to highly sensitive at concentrations (0.5 mg\ml), and the sensitivity pattern of (B. cerues) bacteria changed and became highly sensitive to some antibiotics at concentrations (0.1 mg\ml,0.5 mg\ml,0.01 mg\ml), The conjugation results showed a change in the pattern of sensitivity and resistance to antibiotics, as it changed from sensitive to resistant to most antibiotics and from resistant to sensitive to others after genetic conjugation of all bacterial strains except the strain (S.aureus, B. cerues), whose resistance pattern did not change at the antibiotic (CT_{10}), and most bacterial strains became resistant to antibiotics after plasmid neutralization was performed. These results show that turmeric has a synergistic effect with antibiotics on the bacterial species used.

Keywords: Antibiotics; synergistic reaction; conjugation; bacteria; plasmid neutralization.

مقدمة:

الكركم عشب هندي معمر من الفصيلة الزنجبيلية يستعمل مسحوق جذوره كتوابل واشتق اسمه العلمي CURCUMA من اللفظ العربي الكركم، أفادت دراسة في تايلاند بأن أخذه على شكل كبسولات تحتوي (ملغم 250) بمعدل 3 مرات يوميا لها دور مهم في علاج القرحة، وفي الوقت الذي بدأ فيه اكتشاف وتصنيع المضادات الحيوية أعتقد بأن هذه المضادات سوف تقضي على البكتريا الممرضة، ولكن مع مرور الزمن أظهرت البكتريا قدرة على التكيف مع المضادات الحيوية ومن هنا أصبحت الحاجة ملحه للحصول على مركبات طبيعية تستخرج من النباتات وتستخدم كمضادات حيوية[1].

ويحتوي الكركم على العديد من المواد الفعالة توجد على هيئة مجموعات تشكل 60% من كتله الكركم وتعرف هذه المجموعات باسم Turmerones كما يحتوي مجموعة أخرى هامة جدا تعرف Curcuminoides ومن أهم مركبات هذه المجموعة مركب الكركميين المشهور Curcumin ويعتقد بأنه مسئول عن التأثيرات الدوائية للكركم وكذلك هو الذي يعطي الصبغة الصفراء التي يتميز بها الكركم، كما يحتوي الكركم على خليط من الراتنج والزيت الطيار يعرف باسم OLEO [2].

استخدم نبات الكركم في مجالات حيوية عديدة حيث استخدم كمضاد ومانع لنمو العديد من أنواع البكتيريا التي تصيب أنسجة الجسم مثل البكتيريا المقيحة والعنقودية (E. coli) التي تصيب الفم فكانت فعالية الكركم كبيره على الأغشية الحيوية للأسنان وكذلك تأثيره العلاجي ضد بكتريا الموجبة جرام مما يتيح استخدامه كعلاج بديل لأمراض الفم [1]. وفي الآونة الأخيرة ازداد استخدام الكركم في العلاج للعديد من الأمراض حيث استخدم كمضاد للأكسدة [3].

وقد أظهرت العديد من الدراسات أن الكركمين أظهر أنشطة مضادة للبكتيريا ضد البكتيريا سالبة الجرام وموجبة الجرام. ويشمل التأثير المضاد للبكتيريا للكركمينفي تعطيل الغشاء البكتيري، وتثبيط إنتاج عوامل الضراوة البكتيرية وتكوين الأغشية الحيوية، وتحفيز الإجهاد التأكسدي وله تأثيرات إضافية وتآزرية مع أنواع مختلفة من المضادات الحيوية والمواد الغير مضادة للبكتيريا [4] خاصة عند استخدامه مع مضادات حيوية أخري متنوعة لذا، يُعتقد أن الكركمين، يتمتع بفوائد طبية عميقة، ويمكن تطويره مستقبلًا ليصبح مضادًا حيويًا طبيعيًا [5].

حيث أكدت دراسة [6] بأن لنبات الكركم تأثير كمضاد حيوي، وهناك دراسة أخرى حول تقييم التأثير الكابح من الكركميين على مجموعة من السلالات البكتيرية باستخدام طريقة الانتشار بواسطة [7]. ودراسة [8] حيث تم تقييم مستخلص جذور الكركم الطويلة لنشاطها المضاد للبكتيريا ضد سلالات البكتيريا موجبة الجرام (*E.coli*; *P.aeruginosa*،*S.typhi*) وسالبة الجرام (*S.epdemidis*،*S.aureus*). وُجد بأن الزيت العطري هو الأكثر نشاطًا، وقورن نشاطه بالمضادات الحيوية القياسية جنتاميسين، وأمبيسلين، ودوكسيسيكلين، وإريثروميسين في هذه السلالات. أظهرت العزلة السريرية من المكورات العنقودية الذهبية فقط حساسية أكبر تجاه الزيت العطري مقارنةً بالسلالة القياسية. وقد أُشير إلى استخدام الزيت العطري من الكركم كمطهر محتمل للوقاية من العدوى البكتيرية وعلاجها.

ودراسة [9] حيث استخدم مستخلصات الكركم بالإيثانول والهكسان في كبح وإيقاف نمو أنواع من البكتيريا باستخدام سلالات من البكتيريا معزولة من الروبيان والدجاج ودراسة [5] الذي وُجد أن الكركمين فعال ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (S. aureus). ونظرا لتزايد مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية المختلفة ونقص العلاج الفعال ضد الأمراض والالتهابات التي تسببها الأنواع المختلفة من البكتيريا ومن منظور إيجاد استراتيجيات ناجعة وفعالة ضد العدوى تهدف هذا الدراسة لدراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الكركم وتأثيره التآزري مع بعض المضادات الحيوية على سلالات البكترية سالبه الجرام (*S.aureus; B.cerues*) وموجبه الجرام (*E.coli*; *S.typhi*)، وفحص المحتوي البلازميدي لها وإجراء التحول الوراثي باستخدام تقنية الاقتران الوراثي وذلك لدراسة خاصية أمكانيه انتقال الصفات الوراثية (المقاومة) للبكتيريا ودراسة التحييد البلازميدي وذلك لفحص جينات المقاومة للمضادات الحيوية ما إذا كان محمولة على DNA (البلازميدي أو الكروموسومي).

المواد وطرق العمل

العزلات البكتيرية: تم العمل على بعض العزلات البكتيرية المعزولة والمعرفة من مختبر مركز سبها الطبي والمحفوظة في المتحف الميكروبي بمعمل الوراثة وتم استخدام أنواع من البكتيريا الموجبة والسالبة جرام وهي *Salmonella SP* وبكتريا القولون *E.coli* و*Staphylococcus aurous* و *Bacillus cerues* وتم تأكيد هذه الأجناس باستخدام الأوساط التفريقية. وتم إتباع تعليمات المنتج OXDIE في تحضير الأوساط الزراعية الصلبة مثل Muller (MHA) Hinton Agar ووسطSalmonella Shigella Agar (SSA) وكذلك استخدام الأوساط السائلة مثل وسط Nutrient broth [10].

تحضـير المسـتخلص المائي: تم تحضـير المسـتخلص المائي للكركم بعدة تراكيز لإظهار مدي تأثير هذه التراكيز علي البكتريا المسـتخدمة، والتراكيز هي **(**0.1mg\ml،0.5mg\ml،0.01mg\ml،0.05mg\ml) ويحضـر المسـتخلص المائي بالنقع على البارد [11] ووفقا لـ [12].

المضـادات الحيوية المسـتخدمة: تم اسـتخدام المضـادات الحيوية معلومة التركيز على هيئة أقراص من إنتاج شـركة OXDIE للمنتجات الكيميائية وأُجري اختبار الحسـاسـية للمضـادات الحيوية بطريقة الأقراص (Kirby-Bauer method) وفقا لما جاء في [13] و [14] وتم قياس قطر تثبيط النمو بواسـطة المسـطرة وقورنت النتائج بالجداول الخاصة بالمصادر العلمية [1].

تحضـير محاليل عزل الـــ DNA البلازميدي: تم تحضـيرها وفقا لما جاء في [15]، تم إجراء تقنية الاقتران والتحييد البلازميدي وفقا لما جاء في [15] و [16].

النتائج والمناقشة

تم في هذه الدراسة تقييم تأثير المستخلص المائي لنبات الكركم بالتركيزات (0.1mg\ml،0.5mg\ml، 0.05mg\ml،0.01mg\ml) وكذلك دراسة التأثير التآزري للمستخلص مع مجموعة من المضادات الحيوية على مجموعة من السلالات البكتيرية الموجبة الجرام (*B.cerues*،*S.aureus*) والسالبة الجرام (*S.typhi*، *E.coli*).أظهرت النتائج المبينة في جدول (1) أن سلالة البكتيرية *B.cerues*، والسلالة البكتيرية *E.coli* أظهرت نمط حساسية مع جميع المضادات الميكروبية في حين أظهرت نمط مقاومة للمضاد (CT_{10})، والسلالة البكتيرية *S.typhi* أظهرت نمط الحساسية مع جميع المضادات الميكروبية ماعدا المضادات التالية NA_{30}،CIP_{5}،PB_{300}،(CT_{10}) حيث أظهرت نمط المقاومة، وبالنسبة لسلالة البكتيرية *S.aureus* أظهرت نمط حساسية مع أغلب المضادات الحيوية ماعدا المضادات التالية AML_{25}،IPM_{10}،K_{30}،(TE_{30}) حيث أظهرت نمط شديد الحساسية في حين أظهرت نمط المقاومة مع المضاد الحيوي (CT_{10}).

جدول (1): يوضح متوسط اختبار الحساسية (ملم) للمضادات الحيوية مع البكتيريا

المضاد	تركيز المضاد	*B.cerues*	*E.coli*	*S.typhi*	*S.aureus*
AML	25	19	19	18	>29
IPM	10	48	30	30	>29
K	30	35	18	19	>29
AK	30	29	23	22	20
F	300	19	16	16	18
TE	30	19	28	26	>29
NA	30	20	17	R	22
CIP	5	26	25	R	28
PB	300	10	11	R	12
CT	10	R	R	R	R
RD	5	16	17	14	23
RD	30	20	17	18	26

R: Resistance>20: Sensitivity،

وكانت النتائج المتحصـل عليها من اختبار المسـتخلص المائي للكركم بالتراكيز التالية (0.1mg\ml،0.5mg\ml، 0.05mg\ml،0.01mg\ml) مع البكتيريا والمبينة في جدول (2) حيث أبدت جميع السـلالات البكتيرية نمط المقاومة في التراكيز المختلفة للمستخلص المائي للكركم، ربما يرجع ذلك لتأثير مركب الكركمين كما جاء في النتائج التي تحصل عليهـا [17] حيـث قـام بتقييم التـأثير الكـابح للكركميين علـى مجموعـة من السـلالات البكتيريـة (*E.coli*،*B.cerues*،*S.typhi*،*S.aureus*)، حيث أظهرت نتائج مشـابهة، كما بينت دراسـة [18] بان المعالجة بمسـتخلص الكركم الطويل يؤدي إلى تشـوه مورفولوجي مع غياب جزئ للغشـاء السـيتوبلازمي مما يؤدي إلى تمزق الخلايا، وأن قدرة الكركم على تثبيط عامل الممرض مؤشر على كفاءته المضادة للميكروبات واسعة الطيف.

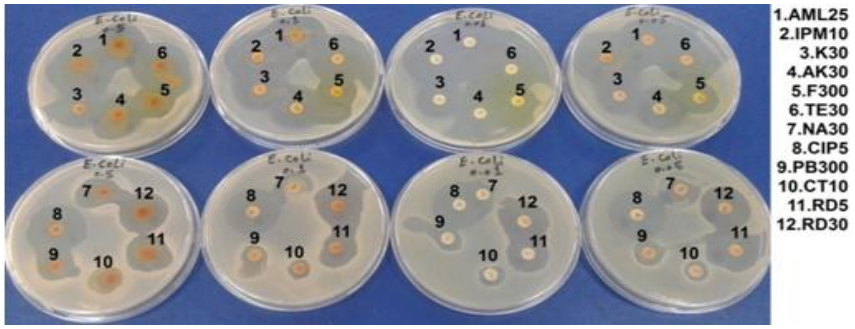
جدول (2): يوضح متوسط اختبار التراكيز المختلفة للمستخلص المائي لنبات الكركم على البكتيريا

S.aureus	*Styphi*	*E.coli*	*B.cerues*	تركيز المستخلص
R	R	R	R	0.1mg\ml
R	R	R	R	0.5mg\ml
R	R	R	R	0.01mg\ml
R	R	R	R	0.05mg\ml

R: Resistance

ومن خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول (3) والتي توضح نتائج الاختبار التآزري لمستخلص المائي للكركم بالتركيز (0.05mg\ml،0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) حدوث تغير في نمط الحساسية لجميع المضادات الحيوية للسلالة E.coli حيث تغير نمط الحساسية لجميع التراكيز كما في الصورة (1). وأصبح للمستخلص المائي للكركم تأثير تآزري مع المضادات الحيوية على هذه السلالة وتغير في نمط المقاومة للمضاد الحيوي (CT_{10}) إلى حساس لهذا المضاد في جميع التراكيز، إلا إنها أصبحت السلالة عند التركيز 0.01 شديدة الحساسية للمضادات الحيوية (AML،IPM،K،AK،F،TE).ربما يعزي هذا التأثير لوجود مادة الكركمين والتي يعتقد بأنها المسئولة عن التأثيرات الدوائية للكركم [2]، للكركمين، سواءً بمفرده أو مع مضادات حيوية أخرى، تأثير مضاد للبكتيريا واضح ضد العزلات البكتيرية المنتجة للأغشية الحيوية. وقد يكون له دور مفيد في تكملة العلاج بالمضادات الحيوية [17].

وهذه النتائج تشابه ما تحصل عليها [19] في دراسته على الكركم ونبات الزنجبيل ضد البكتيريا الملوثة للأغذية حيث أظهرت نتائج مشابهة في مقاومتها للبكتيريا، وكما أنها مشابهة للدراسة التي قام بها [1] حيث درس التأثير التثبيطي للراسب البروتيني لجذور نبات الكركم وكانت النتائج إن الراسب البروتيني له تأثير تثبيطي متفاوت على البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة الجرام، كما أن الآليات الجزيئية المحتملة لأنشطة الكركمين المضادة للبكتيريا، تشمل تعطيل الغشاء البكتيري، وتثبيط إنتاج عوامل الضراوة البكتيرية وتكوين الأغشية الحيوية البكتيرية، وتحفيز الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى موت الخلايا المبرمج، واضطراب التمثيل الغذائي البكتيري، والسمية الضوئية. تُسهم هذه الخصائص أيضًا في تفسير كيفية عمل الكركمين كعامل مساعد مضاد للبكتيريا واسع الطيف، وهو ما تجلى في التأثير الإضافي أو التآزري الملحوظ مع مختلف المضادات الحيوية التقليدية أو المركبات غير المضادة للبكتيريا، مثل العوامل المضادة للبكتيريا والمنتجات الطبيعية والمعادن[4].



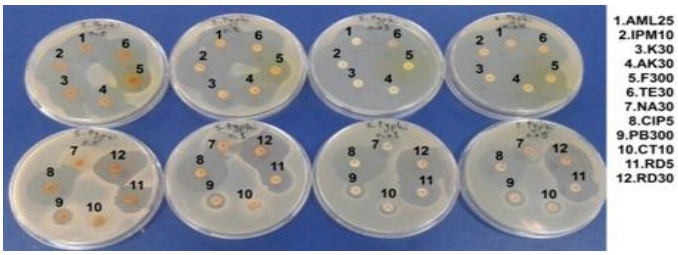
صورة (1): توضح مساحة التثبيط لبكتيريا *E.Coli* ومساحة التثبيط لاختبار التآزري لمستخلص الكركم بالتركيزات (0.05mg\ml، 0.5mg\ml، 0.01mg\ml،0.1mg\ml)

كما أظهرت النتائج المبينة في جدول (3) إن السلالة البكتيريا *S.typhi* كانت حساسة لكل المضادات الحيوية ماعدا المضادات (CT_{10}،BP،CIP،NA) في اختبار الحساسية، إلا أن نتائج الاختبار التآزري لمستخلص المائي للكركم بالتركيز (0.05mg\ml،0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) بينت حدوث تغير في نمط الحساسية لجميع المضادات الميكروبية ماعدا المضاد (NA_{30}) أظهرت معه السلالة *S.typhi* نمط متوسط من المقاومة، كما تغير نمط المقاومة للمضادات CT_{10}،CIP_5،(BP_{300}) إلى حساس في جميع التراكيز إلا أنها لم تظهر أي تغيير في نمط المقاومة للمضاد (CT_{10}) عند التركيز (0.1mg\ml). كما هو موضح في الصورة (2)، وهذا التأثير قد يرجع لوجود مادة الكركمين المسئولة عن التأثيرات الدوائية [2] كما قد يعزي هذا التأثير التآزري إلى قدرة الكركمين على نفاذ الغشاء الخارجي مما يسهل دخول العامل الثانوي إلى الخلايا البكتيرية والتسبب في موتها،بالإضافة إلى ذلك قد يعزي هذا التأثير التآزري إلى التأثير المثبط للكركمين على أنشطة مضخات التدفق[4].

جدول (3): يوضح متوسط مساحة التثبيط لاختبار التآزر للمستخلص المائي للكركم مع المضادات الحيوية على بكتيريا E.coli و S.typhi.

متوسط مساحة التثبيط لبكتيريا S.Typhi				متوسط مساحة التثبيط	متوسط مساحة التثبيط لبكتيريا *E.Coli*				متوسط مساحة التثبيط	تركيز المضاد	رمز المضاد
0.1mg \ml	0.01mg\ ml	0.5mg \ml	0.05m g\ml		0.1mg \ml	0.01m g\ml	0.5mg \ml	0.05m g\ml			
30	36	28	27	18	30	>20	29	31	19	25	AML
37	37	38	40	30	37	>20	37	37	30	10	IPM
27	28	36	25	19	25	>20	20	21	18	30	K
27	30	26	30	22	26	>20	26	20	23	30	AK
22	20	19	23	16	20	>20	19	20	16	300	F
34	20	31	34	26	28	>20	28	40	28	30	TE
20	IM	IM	IM	R	13	15	15	16	17	30	NA
29	36	36	29	R	27	31	32	29	25	5	CIP
10	11	12	12	R	12	12	16	13	11	300	BP
R	13	11	10	R	10	10	13	10	R	10	CT
24	22	24	21	14	19	19	18	24	17	5	RD
33	29	28	23	18	24	25	23	25	17	30	RD

، IM: Inter mediate،R: Resistance>20: Sensitivity



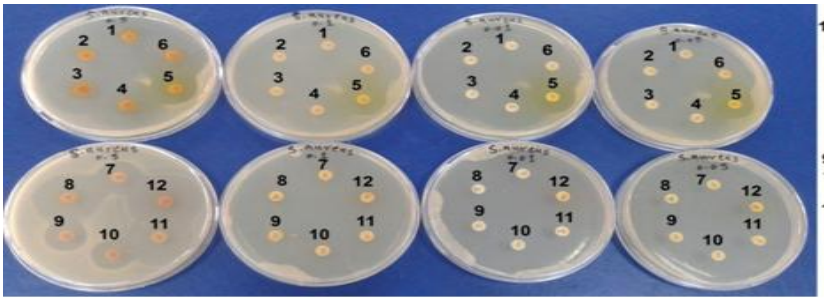
صورة (2): توضح مساحة التثبيط لبكتيريا *S.Typhi*ومساحة التثبيط لاختبار التآزري لمستخلص الكركم بالتركيزات (0.05mg\ml، 0.5mg\ml، 0.01mg\ml،0.1mg\ml)

من خلال النتائج المبينة في جدول (4) نلاحظ أن السلالة البكتيريا *S.aureus* حساسة لجميع المضادات الحيوية ماعدا (CT_{10}) حيث كانت مقاومة لهذا المضاد، وأظهرت نتائج الاختبار التآزري لمستخلص المائي للكركم بالتراكيز المستخدمة (0.05mg\ml،0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) حدوث تغير في نمط الحساسية للمضادات الميكروبية في اختبار التآزري حيث كانت جميعها حساسة وبعضها شديدة الحساسية للتركيزات المختلفة كما في الصورة (3). هذه النتائج تشابه نتائج التقرير الذي أجراه ياداف وآخرون أن مشتق الكركمين القابل للذوبان في الماء يمكنه عكس مقاومة الميروبينيم من خلال استهداف نشاط إنزيمات الكاربابينيماز ونظام مضخة التدفق متعدد الأدوية [4].

جدول (4): يوضح متوسط مساحة التثبيط لاختبار التآزر للمستخلص المائي مع المضادات الحيوية على بكتيريا S.aureus وبكتيريا B.cerues.

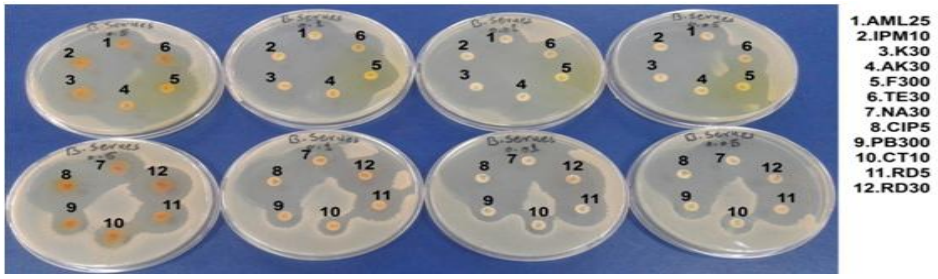
متوسط مساحة التثبيط لبكتيريا B.cerues				متوسط مساحة التثبيط	متوسط مساحة التثبيط لبكتيريا *S.aureus*				متوسط مساحة التثبيط	تركيز المضاد	رمز المضاد
0.1mg \ml	0.01m g\ml	0.5mg \ml	0.05m g\ml		0.1mg \ml	0.01m g\ml	0.5mg \ml	0.05m g\ml			
>20	>20	>20	19	19	43	33	42	>20	>20	25	AML
>20	>20	>20	43	48	45	45	45	>20	>20	10	IPM
>20	30	>20	41	35	45	36	49	>20	>20	30	K
>20	22	>20	35	29	33	23	30	>20	29	30	AK
25	21	>20	30	19	23	20	22	23	18	300	F
26	22	>20	24	19	31	30	30	>20	>20	30	TE
31	25	26	27	20	27	26	23	12	22	30	NA
35	32	34	35	26	29	30	27	28	28	5	CIP
16	20	18	13	10	15	24	20	13	12	300	BP
14	15	13	12	R	18	24	28	12	R	10	CT
23	22	22	19	16	28	31	36	32	23	5	RD
27	25	28	34	20	34	40	35	38	26	30	RD

، IM: Inter mediate،R: Resistance>20: Sensitivity



صورة (3): توضح مساحة التثبيط لبكتيريا *S.aureus* ومساحة التثبيط لاختبار التآزري لمستخلص الكركم بالتركيزات (0.05mg\ml، 0.5mg\ml، 0.01mg\ml،0.1mg\ml)

وبالنظر للنتائج المبينة في الجدول (4) نلاحظ أن السلالة البكتيريا B.cerues كانت حساسة لكل المضادات الحيوية ماعدا المضاد (CT_{10})، وأظهرت نتائج الاختبار التآزري لمستخلص المائي للكركم بالتراكيز المستخدمة (0.05mg\ml،0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) حدوث تغير في نمط الحساسية لجميع المضادات الحيوية في اختبار التآزري حيث أصبحت شديدة للمضادات (IPM_{10}،AML_{25}) عند التراكيز (0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) في حين أصبحت شديدة الحساسية للمضادين (AK_{30}،K_{30}) عند التركيزين (0.5mg\ml،0.1mg\ml) كما أظهرت حساسية شديدة للمضادين (TE_{30}،F_{300}) عند التركيز (0.5mg\ml) (صورة 4)، وتغير نمط المقاومة للمضاد (CT_{10}) حيث أصبح حساس في جميع التراكيز، من خلال النتائج المذكورة لوحظ أن هذا المستخلص يحتوى على مواد لها تأثير تآزري تضادي وشبه تضادي قد يعزي هذا التأثير لوجود مادة الكركمين[2]. وبالمقارنة كانت هذه النتائج مشابهة لما تحصل عليه [8] الذي قام بتقييم نشاط نبات الكركم الطويل ضد السلالات المسببة للإمراض من موجبة الجرام ووجد أن لها تأثير مثبط بكل التراكيز المستخدمة، وفي دراسة أخري أظهرت تركيبة الكركمين مع مضادين حيويين مثل السيبروفلوكساسين والنورفلوكساسين تأثيرا تآزريا ملحوظا ضد سلالة المكورات العنقودية الذهبيةوعزلات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين وعلى العكس من ذلك قلل العلاج بالكركمين من النشاط المضاد للميكروبات للسيبروفلوكساسين ضد السالمونيلا التيفية الفأرية قد يكون هذا مرتبطا بخاصية الكركمين المضادة للأكسدة وتثبيطه لتعبير الإنترفيرون جاما في المختبر وفي نموذج الفأر[4].



صورة (4): توضح مساحة التثبيط لبكتيريا *B.cerues* ومساحة التثبيط لاختبار التآزري لمستخلص الكركم بالتركيزات (0.05mg\ml، 0.5mg\ml، 0.01mg\ml،0.1mg\ml)

الاقتران

أظهرت نتائج الاقتران الوراثي المبينة في جدول (5) والتي أجريت حسب [7] تغير نمط الحساسية للمضادات الميكروبية لجميع السلالات البكتيرية *E.coli* و*S.typhi*،*S.aureus* و*B.cerues*. وتم اختيار السلالة *E.coli* كخلية مانحة لباقي السلالات حسب دراسة [16] والتي تم فيها دراسة مظاهر الكروموسومات الإضافية في سلالات E.coli وتتبعها بعد حدوث النقل الأفقي داخل الخلايا.

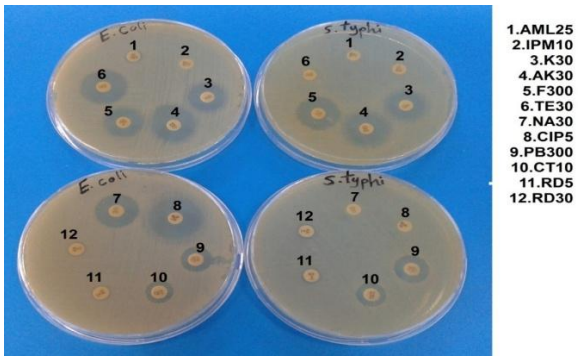
نتائج الاقتران الوراثي بين E.coli و S.typhi

من خلال النتائج المبينة في الجدول (5) نلاحظ تغير في نمط الحساسية لجميع المضادات الميكروبية بالنسبة لسلالة *E.coli* والسلالة *S.typhi* حيث تغير كل من المضادات الحيوية(AML_{25}،IPM_{10}، RD_5، RD_{30}) من حساسة إلى مقاومة للسلالتين، وللمضاد (TE_{30}) بالنسبة للسلالة S.typhi بعد ما كانت حساسة لهذا المضاد، أما بالنسبة للمضادات الميكروبية (BP_{300} ,CT_{10}) أظهرت نتائج عكسية حيث تغيرت من مقاومة إلى حساسة بعد الاقتران الوراثي لسلالة البكتيرية *S.typhi*

جدول (5): يوضح متوسط نتائج اختبار الحساسية بعد الاقتران الوراثي بين بكتريياE.coli والبكتيريا المستخدمة

المضادات المستخدمة		الاقتران الوراثي بين		الاقتران الوراثي بين		الاقتران الوراثي بين	
رمز المضاد	تركيز المضاد	E.coli	S.typhi	E.coli	S.aureus	E.coli	B.cerues
AML	25	R	R	R	R	17	R
IPM	10	R	R	R	R	R	R
K	30	16	17	15	14	16	15
AK	30	17	18	16	18	17	17
F	300	15	20	15	14	17	13
TE	30	20	R	20	20	R	18
NA	30	18	R	16	18	18	16
CIP	5	25	R	24	21	25	20
BP	300	13	13	12	R	11	11
CT	10	11	11	11	R	R	R
RD	5	R	R	R	R	R	R
RD	30	R	R	R	R	R	R

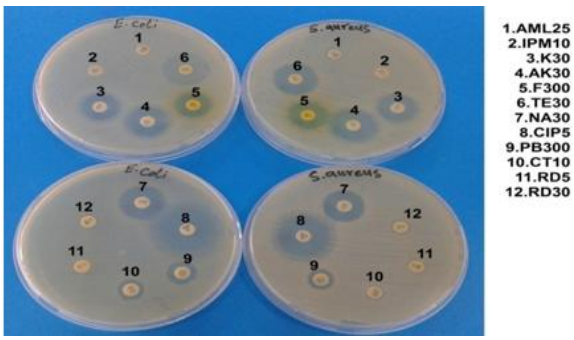
بعد إجراء الاقتران الوراثي، (كما في الصورة 5) في حين فقدت السلالة *E.coli* صفة المقاومة للمضاد (CT_{10}). هذه النتيجة قد تعزي لوجود الكروموسومات الإضافية والمحتوية على جينات المقاومة الدوائية [16]، وتشير الأدلة الوراثية إلى أن جينات المقاومة للمضادات الحيوية في مسببات الأمراض البكتيرية البشرية تنشأ من العديد من المصادر البكتيرية، مما يشير إلى أن جينومات جميع البكتيريا يمكن اعتبارها مجموعة جينية عالمية واحدة يمكن أن تتراجع فيها معظم البكتيريا، إن لم يكن كلها، عن الجينات اللازمة من أجل البقاء[20].



صورة (5): توضح متوسط اختبار الحساسية بعد الاقتران الوراثي بين بكتيريا E.Coli وبكتيريا *S.Typhi*

نتائج الاقتران الوراثي بين *E.coli* و*S.aureus*:

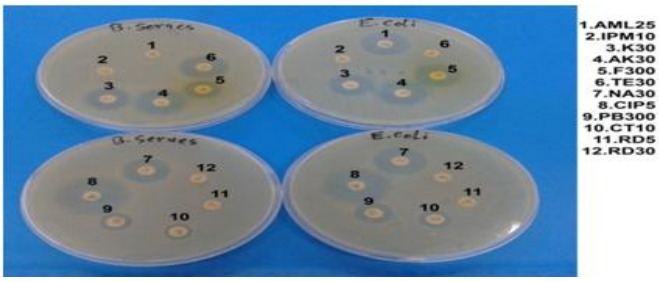
أظهرت نتائج الاقتران الوراثي والمبينة في جدول (5) بين السلالة *E.coli* و*S.aureus* حيث حصل تغير في نمط الحساسية للمضادات الحيوية للسلالتين، وأظهرت السلالتين نمط مقاومة للمضادات الحيوية التالية (AML_{25}،IPM_{10}،RD_5،RD_{10}) كما هو مبين في الصورة (6)، في حين أظهرت السلالة *S.aureus* نمط مقاومة للمضاد (BP_{300}) بعد ما كانت حساسة لهذا المضاد، كما تغيرت شدة حساسية هذه السلالة للمضادين (K_{30}،TE_{30}) من حساسة بشدة إلى متوسط الحساسة،حيث فقدت السلالة *E.coli* صفة المقاومة للمضاد (CT_{10}) كما هو موضح بالصورة (6) قد تعزي هذه النتيجة لوجود الكروموسومات الإضافية والمحتوية على جينات المقاومة الدوائية [16].



صورة (6): توضح متوسط اختبار الحساسية بعد الاقتران الوراثي بين بكتيريا E.Coli وبكتيريا *S.aureus*

نتائج الاقتران الوراثي بين *E.coli* و *B.cerues*:

باستقراء النتائج المتحصل عليها في جدول (5) والتي تبين نتائج اقتران بين *E.coli* و*B.cerues* حيث لوحظ تغير في نمط الحساسية لكي السلالتين حيث اكتسبت السلالتين نمط مقاومة للمضادات الحيوية التالية (RD_{30}،RD_5،IPM_{10}،AML_{25}) بعد ما كانت حساسة لهذه المضادات ماعدا السلالة *E.coli* فبقيت حساسة للمضاد (AML_{25})، في حين فقدت نمط المقاومة للمضاد الميكروبي (CT_{10})، كما (في الصورة 7).والتغيرات التي حصلت بعد الاقتران الوراثي بين سلالة البكتيرية E.coli والسلالة البكتيرية B.cerues قد تعزي لوجود الكروموسومات الإضافية والمحتوية على جينات المقاومة الدوائية [16].



صورة (7): توضح متوسط اختبار الحساسية بعد الاقتران الوراثي بين بكتيريا E.Coli وبكتيريا*B.cerues*

نتائج التحييد البلازميدي:

تم إجراء التحييد البلازميدي باستخدام SDS وفقا لـ [21] و [15] وهو إزالة البلازميد من الخلايا دون التأثير على الخلية وتم إجراء اختبار الحساسية لهذه السلالات البكتريةفمن خلال النتائج المبينة في الجدول (6) نلاحظ إن اغلب السلالات البكترية اكتسبت صفة المقاومة لبعض المضادات الحيوية حيث لاحظنا حدوث تغير في اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بالنسبة لسلالة البكتيرية *E.coli* للمضادات الحيوية(RD_{30}،RD_5،NA_{30}،TE_{30}،IPM_{10}،AML_{25}) من حساسة إلى مقاومة. أما بالنسبة لسلالة *S.typhi* فكانت حساسة للمضادات الحيوية (RD_{30}،RD_5،TE_{30}،IPM_{10}،AML_{25}) وأصبحت مقاومة بعد إجراء التحييد البلازميدي في حين فقدت صفة المقاومة للمضاد (CT_{10})، وبالنسبة لسلالة البكتيرية *S.aureus* كانت حساسة للمضادين الحيويين (F_{300}،IPM_{10}) فأصبحت مقاومة بعد التحييد البلازميدي مما يدل على أنها اكتسبت جينات المقاومة لهذه المضادات الحيوية أو تكون هذه الجينات أو المورثات محمولة على الكروموسوم وليس على البلازميد [20].

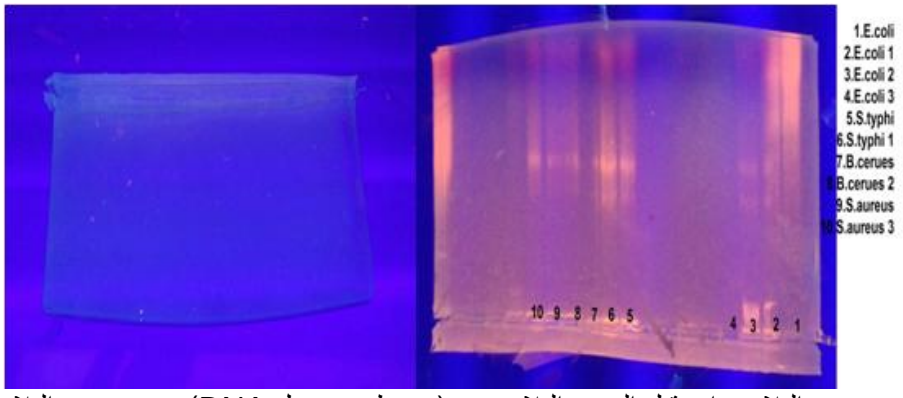
جدول (6): يوضح اختبار الحساسية بعد التحييد البلازميدي

B.cerues	S.aureus	S.typhi	E.coli	تركيز المضاد	رمز المضاد
R	25	R	R	25	AML
R	R	R	R	10	IPM
R	30	18	15	30	K
R	30	20	20	30	AK
R	R	22	18	300	F
R	28	R	R	30	TE
R	S.S	R	R	30	NA
R	S.S	R	17	5	CIP
R	20	13	13	300	BP
R	17	11	R	10	CT
R	18	R	R	5	RD
R	15	R	R	30	RD

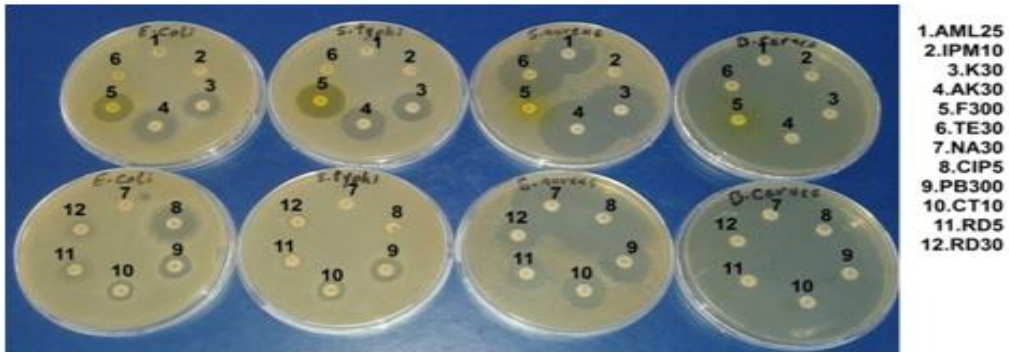
S.S: Sensitivity،R: Resistance

في حين فقدت صفة المقاومة للمضاد (CT_{10}) وأصبحت شديدة الحساسية للمضادين (CIP_5،NA_{30}) مما يدل على أن جينات المقاومة لهذه المضادات الحيوية كانت محمولة على البلازميد وليست على الكروموسوم، أما بالنسبة لسلالة البكتيرية *B.cerues* فكانت حساسة لجميع المضادات الحيوية ماعدا المضاد (CT_{10}) فأصبحت مقاومة لجميع المضادات الحيوية المستخدمة بعد التحييد البلازميدي. فآليات المقاومة للمضادات الحيوية في البكتيريا متنوعة وتشمل حماية الهدف، واستبدال الهدف، وإزالة السموم بالمضادات الحيوية والحد من تراكم المضادات الحيوية داخل الخلايا. ومما يساعد على الحصول على الجينات اللازمة لوضع آليات مختلفة إلى حد كبير من قبل مجموعة متنوعة من أنظمة نقل الجينات المختلطة، مثل البلازميدات [21] و[20]. وعليه ترجح هذه النتائج إلى أن البلازميدات التي كانت تحويها

هذه البكتيريا لها تأثير مثبط على الجينات المقاومة للمضادات الحيوية، وأن هذه السلالة *B.cerues* تعتبر سلالة شرسة نظرا لشدة مقاومتها للمضادات الميكروبية، ويوجد احتمال أخر بأن (ترانسبوزونات) الانتقال كان لها دور في المقاومة للمضادات الميكروبية والتي يرجع أيضا لقلة نشاطها أثناء وجود البلازميدات [16]، كما هو موضح في صورة (8).



صورة (8): توضح وجود البلازميدات قبل التحييد البلازميدي (عن طريق عزل DNA) وعدم وجود البلازميدات بعد التحييد البلازميدي



صورة (9): توضح اختبار الحساسية بعد التحييد البلازميدي

الاستنتاج

تم دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الكركم بالتركيزات المختلفة (0.05mg\ml،0.01mg\ml،0.5mg\ml،0.1mg\ml) وثم دراسة تأثيره على السلالات البكتيرية، وكذلك دراسة التأثير التآزري للمستخلص مع مجموعة من المضادات الميكروبية على مجموعة من السلالات البكتيرية الموجبة الجرام (*S.aureus*،*B.cerues*) وسالبة الجرام(*S.typhi*،*E.coli*). من خلال النتائج توصلنا إلى بأن للمستخلص المائي لنبات الكركم فعالية تآزرية مع المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية قيد الدراسة حيث تحول نمط المقاومة لبعض المضادات إلى حساس كما تحولت بعض السلالات إلى حساس بشدة لبعض المضادات، كما تغير نمط المقاومة والحساسية بعد إجراء الاقتران وتحييد البلازميد وهذا يدل على أن بعض جينات المقاومة محمولة على DNAالكروموسومي وليس على DNA البلازميدي.

قائمة المراجع:

1- محمد، هيثم عبدالله رجب (2005) دراسة التأثير التثبيطي للراسب البروتيني للكركم على عدد من الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة الجرام،معهد التقني، كلية العلوم،قسم علوم الحياة،جامعة الموصل، العراق.

2- رشوان صديق (2002) دراسة تأثير بعض النباتات الطبية على نمو بعض الفطريات الجلدية، مجلة أسيوط لدراسات البيئة العدد (23)، معهد البحوث صحة الحيوان أسيوط، أسيوط، مصر.

3- العنود عبد العزيز (2009) تأثير الكركم والزنجبيل وخليطهما على السكر ودهون الدم للفئران المصابة بالسكر، مجلة جامعة الملك عبد العزيز،ع (4) ص:112-120، الرياض-السعودية.

4.Dai, C., Lin, J., Li, H., Shen, Z., Wang, Y., Velkov, T., & Shen, J. (2022). The natural product curcumin as an antibacterial agent: Current achievements and problems. Antioxidants, 11(3), 459.

5. Teow, S.-Y., Liew, K., Ali, S. A., Khoo, A. S.-B., &Peh, S.-C. (2016). Antibacterial action of curcumin against Staphylococcus aureus: A brief review. Journal of Tropical Medicine, 2016, Article 2853045.
6. Jakkapan, S., Siripon, O., & Waranee, P. (2002). Comparison of antibacterial activity against foodborne bacteria of Alpiniagalanga, Curcuma longa, and Zingibercassumunar. Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University.
7. Mohammad, N. A., & Neama, Y. (2015). Evaluation of antimicrobial activity of curcumin against two oral bacteria. Medical Technology Institute, University of Medical Technology, Baghdad, Iraq.
8. Chandra, R., Rambir, S., Luthra, P. M., & Bosa, N. (2002). Antibacterial activity of Curcuma longa rhizome extract against pathogenic bacteria. Current Science, 83(6), 737–740.
9. Herrmann, M., & Lyminarayan, R. (2009). Antibacterial effectiveness: New challenges in natural resource management. Université Laval, Quebec, Canada.
10- الأمين. محمد (2008)، البحث في المعالم الوراثية لبلازميدات بكتيريا السالمونيلا المعزولة من عينات عشوائية لمرضى يعانون من اعتلالات معوية بمنطقة سبها وبراك، جامعة سبها، سبها-ليبيا.2
11- عبدالمحسن مهند (2013) استخلاص الزيوت النباتية النابتة من بذور بعض النباتات، مجلة جامعة بابل/العلوم الصرفة والتطبيقية/العدد (3) المجلد (20). كلية العلوم للنبات، جامعة بابل، العراق.
12- عفيفي؛ فتحي عبد العزيز،عطي؛ محمود السيد (2003) المستخلصات النباتية والفاعلية البيولوجية، الطبعة الأولي / دار الثقافة الدينية للنشر والتصدير- مصر.
13. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Truck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 36, 493–496.
14. Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology.
15. Sambrook, J., & Miniats, T. (1987). Plasmid. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
16. Aljanga, A. A. (2003). Conjugative transposons and their role as transferors of antimicrobial resistance genes. Journal of Sebha University (Pure and Applied Sciences), 2(2).
17. Kali, A., Devarai, B., Pravin, M. C., & Kuniga, S. S. (2016). Antibacterial synergy of curcumin with antibiotics against biofilm-producing clinical bacterial isolates. Journal of Basic and Clinical Pharmacy, 7, 93–96.
18. Gupta, A., Malajan, S., & Sharma, R. (2015). Evaluation of antimicrobial activity of Curcuma longa rhizome extract against Staphylococcus aureus. Biotechnology Reports, 6, 51–55.
19. Pommerville, J. C. (2002). Fundamentals of microbiology (7th ed.). Jones & Bartlett Learning.
20. Bennett, P. M. (2008). Plasmid-encoded antibiotic resistance: Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. British Journal of Pharmacology, 153(Suppl 1), S347–S357.
21- فرج، ديمة نزار، غنيمة، قيس قاسم (2010) تحييد البلازميد لبكتريا Klebsiella *pneumoniae* المعزولة محليا من التهابات المجاري البولية ودوره في المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية، المجلة العراقية للعلوم، المجلد 51، العدد3، الصفحة415-421.