مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (٨) العدد (٥) ٢٠٢٤
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (8) No. (5) 2024

دراسة الفعالية التثبيطية للخلاصة الأسيتونية لأوراق نبات المورينجا *Moringa oleafera* على جراثيم *Staphylococcus aureus*

نزار معلا *

ديفانا يوسف **

ريم زينه ***

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٤/٢/١ . قُبِل للنشر في ٢٠٢٤/٥/٢٠)

□ ملخّص□

أجري هذا البحث في مخبر الأحياء الدقيقة بكلية الهندسة الزراعية –جامعة تشرين في عام ٢٠٢٣، حيث تم دراسة الفعالية التثبيطية لخلاصة أوراق المورينجا الأسيتونية بهدف معرفة مقدرتها التثبيطية على سلالة *staphylococcus aureus*باستخدام ثلاث تراكيز من الخلاصة (١٠٠%، ٧٥%، ٥٠%)، وذلك عبر قياس أقطار هالات التثبيط ومقارنتها مع المقدرة التثبيطية للصاد الحيوي Azithromycin، نفذت التجربة باستخدام تصميم العشوائية الكاملة بثلاث مكررات لكل معاملة.

بين التحليل الإحصائي لنتائج التجربة وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات المدروسة، حيث تفوقت المقدرة التثبيطة للصاد الحيوي التي بلغت mm٢٩,٣٤ مقارنة ب (٢٣,٣٧، ٢١,٦٩، ٢٠,١٤ mm) لتراكيز (١٠٠%، ٧٥%، ٥٠%) من الخلاصة على التوالي.

الكلمات المفتاحية: المورينجا، *staphylococcus aureus*، قطر التثبيط، صادات حيوية، Azithromycin.

* أستاذ مساعد، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

** مدرس، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

*** طالبة دراسات عليا (ماجستير)، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (٨) العدد (٥) ٢٠٢٤
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (8) No. (5) 2024

Study of the inhibitory effectiveness of *Moringa oleafera* leaf extract on *Staphylococcus aureus* bacteria

Nizar Mualla [*]

Divana Yousef [**]

Reem Zaineh [***]

(Received 1/2/2024 . Accepted 20/5/2024)

□ ABSTRACT □

This research was conducted in the Microbiology Laboratory at the Faculty of Agricultural Engineering - Tishreen University in the year 2023, where the inhibitory activity of Moringa acetone leaf extract was studied with the aim of knowing its inhibitory ability on the Staphylococcus aureus strain using three concentrations of the extract (100%, 75%, 50%), This was done by measuring the diameters of the inhibition halos and comparing them with the inhibitory capacity of the antibiotic Azithromycin. The experiment was carried out using a completely randomized design with three replications for each treatment.

The statistical analysis of the experiment results showed that there were significant differences between the averages of the studied treatments, as the inhibitory capacity of the antibiotic was 29.34 mm compared to (23.37, 21.69, 20.14 mm) for the concentrations of the extract, respectively. (%٥٠ ،%٧٥ ،%١٠٠)

Key words: *Moringa oleafera*, *Staphylococcus aureus*, damping diameter, Antibiotics, Azithromycin.

[*] Assistant professor, Department of Field Crops, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Lattakia , Syria .

[**] Lecturer, Department of Field Crops , Faculty of Agricultural Engineering , Tishreen University , Lattakia , Syria .

[***] Postgraduate student (Master's) , Field Crops Department , Faculty of Agricultural Engineering , Tishreen University , Latakia , Syria .

١ – المقدمة:

استخدمت النباتات كمصادر قيمة للمنتجات الطبيعية للحفاظ على صحة الإنسان والحيوان، لاحتوائها على عدد كبير من المواد الكيميائية التي تمتلك خصائص علاجية ووقائية، خاصةً تلك التي تمتلك كفاءة عالية مضادة للجراثيم، هذا في ظل ارتفاع تكلفة الأدوية التقليدية وتعدد آثارها الجانبية (Moyo *et al.*, 2012).

يُعد نبات *Moringa oleifera* أكثر أنواع المورينجا انتشاراً، واستخداماً في صناعة الأدوية الطبيعية، حيث ينتمي إلى عائلة *Moringaceae*، يتركز موطنه الأصلي في الهند، باكستان، أفغانستان، بنغلادش، ويعرف أيضاً بشجرة مضرب، وشجرة الفجل، وشجرة أفخاذ، له تأثير دوائي قيم كونه مضاد للربو، مضاد للسكري، مضاد التهاب، مضاد للسرطان، مضاد للميكروبات، مضاد للأكسدة، منشط للخصوبة والقلب والجهاز العصبي المركزي(Paikra *et al.*, 2017).

يمتلك نبات *Moringa oleifera* خصائص مضادة للمكروبات وهذا ما يُفسر استخدامه على نطاق واسع في علاج الأمراض التي تصيب الإنسان، وتتبع هذه الأهمية الطبية من المستقلبات الثانوية مثل القلويدات، العفص، الفلافونيدات، الصابونين، الكومارين، الكينون، و الرانتجات (Brilhante *et al.*, 2017)، ويُذكر في الطب التقليدي للأيورفيدا أن المورينجا أوليفيرا يمكن أن تمنع 300 مرض(Leone *et al.*, 2015).

تُعد الأوراق الفتية هي الجزء الأكثر استخداما في النبات كونها غنية بالعديد من المركبات النشطة بيولوجياً كالفيتامينات، الكاروتينات، البوليفينول، الأحماض الفينولية، الفلافونيد، القلويدات، الجليكوزينات، الأيزوثيوسيانات، العفص، و الصابونين مم يفسر الخصائص الدوائية لأوراق المورينجا (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017)، وإمكانية استخدام هذه الأوراق في السيطرة على العديد من الأمراض التي تسببها البكتريا منها المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*التي تتبع لعائلة *Staphylococcaceae*، موجبة لصبغة غرام وتنقسم خلاياها إلى أكثر من مستوى لتعطي أشكالاً ثنائية أو رباعية، أو قد تكون على هيئة تجمعات عنقودية غير منتظمة (السالمي ، ٢٠٠٣)، وتُعد هذه من أكثر الانواع التابعة لجنس المكورات العنقودية أهمية من الناحية السريرية نظراً لما تسببه من إصابات قيحية سطحية أو عميقة، وإحداث عدد من الأخماج الجهازية المهددة للحياة

(Life threating) مثل التهاب شغاف القلب، التهاب نخاع العظم، خراج الدماغ، ذات السحايا، تجرثم الدم (السالمي، ٢٠٠٣)، هذا وكثيراً ما تستوطن هذه المكورات الجلد والأغشية المخاطية وهي واحدة من أغلب المسببات المرضية المنتشرة عالمياً خصوصاً الالتهابات بعد العملية الجراحية، إذ تمتلك هذه البكتريا قدرة عالية على اكتساب محددات المقاومة مما يسبب تحدي كبير للمعالجة والسيطرة على الأمراض التي تسببها هذه البكتريا (صالح وآخرون ، ٢٠١٥).

٢- دراسات سابقة:

- أظهر المستخلص المائي لنبات المورينجا نشاطاً مضاداً لكل من الأنواع البكتيرية الآتية: المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، الالتهاب الرئوي الكليبسيلا، الإيشريشيا القولونية، المكورات المعوية، السلمونيلا حيث تراوحت أقطار هالات التثبيط بين12.5 و 23.5 وفقا لنوع البكتريا وكانت النسب المئوية لمتوسط التثبيط بين ٦٥,٣ و ٨٥,٩ حيث أظهر مستخلص الاسيتون نشاطا مضادا للبكتريا سالبة الغرام أكبر مقارنة بالسلالات البكتيرية موجبة الغرام (Al_husnan & Alkahtani, 2016).
- أظهر مستخلص الأسيتون بتركيز 5 ملغ من أوراق المورينجا نشاطاً مضاداً للبكتريا ومنها: المكورات العنقودية الذهبية، المكورات الدقيقة الكريستينية، الإشريشيا. ولم يظهر أي تثبيط ضد Staphylococcus faecalis و Bacillus pumilus و Klebsiela pneumonia وPseudomonas aeruginosa حيث كان النشاط المضاد للبكتريا أكبر ضد البكتريا سالبة الغرام منها ضد البكتريا موجبة الغرام (Moyo *et al.*, 2012).
- أظهر المستخلص المائي والميثانولي نشاطاً مضاداً ضد العديد من الأنواع البكتيرية ومنها: Bacillus, Staphylococcus aureus, Pseudomona Klebsiella, E. coli حيث كانت الفعالية القصوى للمستخلص الميثانولي ضد بكتريا Staphylococcus المتحولة بينما كانت الفعالية القصوى للمستخلص المائي ضد المتقلبة الشائعة وذلك بالمقارنة مع الصاد الحيوي القياسي ستربتومايسي (Gebregiorgis Ambaye & Tadesse, 2016).

٣- مبررات البحث وأهدافه:

١. أهمية استخدام المصادر الطبيعية في العلاج بدلاً من الأدوية الكيميائية المصنعة، وإمكانية التغلب على الآثار الجانبية لها كالغثيان، والإقياء.

٢. خفض تكلفة العلاج في ظل ارتفاع أسعار الأدوية الكيميائية، وزيادة الوعي لأهمية منتجات النباتات الطبية كمصدر طبيعي فعال، ولاسيما أوراق المورينجا الغنية بالمضادات الحيوية، ومضادات الأكسدة، ومصدر للعناصر الغذائية المهمة، والطاقة.

٣. تقدير الفعل التثبيطي لخلاصة أوراق المورينجا الأسيتونية في المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* ومقارنتها مع الصاد الحيوي.

٤- مواد البحث وطرائقه:

٤-١-مكان وزمان تنفيذ التجربة: تم تنفيذ التجربة في مخبر الأحياء الدقيقة التابع لكلية الهندسة الزراعية-جامعة تشرين-محافظة اللاذقية عام ٢٠٢٣، باتباع تصميم العشوائية الكاملة، حيث تم تطبيق أربع معاملات بثلاث مكررات ومن ثم أخذ قراءات أقطار هالات التثبيط وتحليلها إحصائيا لإيجاد المتوسطات وحساب قيمة أقل فرق معنوي LSD عند ١% باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Genstat.

٤-٢-مصدر الجراثيم: تم الحصول على جرثومة المكورات العنقودية الذهبية من مختبر مشفى تشرين الجامعي المركزي معزولة سريرياً ومنماة على طبق بتري.

٤-٣-تحضير المادة النباتية:

تم استخدام المادة النباتية (المورينجا) على هيئة شتول من مشتل خاص في منطقة بانياس، حيث جمعت الأوراق في مرحلة ما قبل الإزهار، وتم تحضير الخلاصة النباتية منها باستخدام المذيب العضوي الاسيتون (١غ مادة نباتية/٥مل أسيتون)، إذ وضعت الأوراق في هاون بورسلان معقم، وطحنت بالمذيب العضوي، ثم تم ترشيح الخلاصة الناتجة ووضعها في قارورة زجاجية لتمثل التركيز ١٠٠%، تم تحضير التركيزين ٥٠% و٧٥% باستخدام طريقة التمديد بالماء المقطر المعقم.

٤-٤-تحضير المعلقات البكتيرية:

تم تحضير المعلقات البكتيرية باستخدام البيئة المغذية السائلة نترنت بروث (٤غ نترنت بروث/٢٥٠مل ماء مقطر معقم)، وأُضيف ٩مل إلى كل أنبوب زجاجي معقم، ثم أغلقت الأنابيب بإحكام وعقمت في الأوتوغلاف، ليتم نقل البكتريا المنماة في طبق بتري إليها باستخدام طريقة الكشط بإبرة الزرع المعقمة ضمن كبينة العزل الجرثومي، ثم وُضعت الأنابيب في الحاضنة لمدة 48 ساعة على درجة حرارة ٢٨ درجة مئوية لضمان نمو البكتريا بالشكل الأمثل.

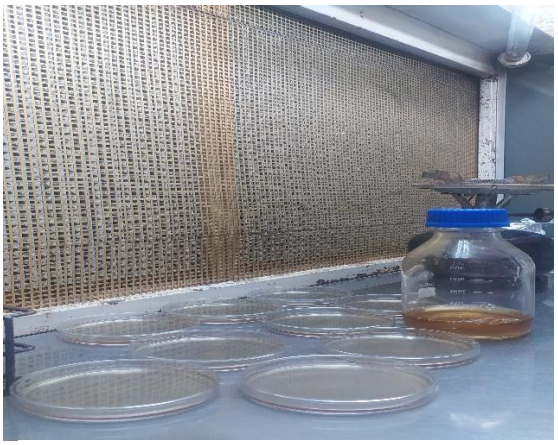
وتم تحضير البيئة المغذية مولار هنتون آغار في دورق زجاجي (١١غ مولار هنتون/٢٥٠مل ماء مقطر)، أُغلق بإحكام وتم تعقيمه في الأوتوغلاف، وتم الانتظار حتى انخفضت درجة الحرارة، ثم سكبت البيئة في أطباق بتري معقمة ضمن كبينة العزل الجرثومي، وتركت حتى تمام التصلب لتصبح جاهزة لنمو البكتريا.

كذلك تم غلي أقراص الصاد الحيوي المنتهي الصلاحية في الماء لمدة عشر دقائق ولخمس مرات وعُقمت بالأوتوغلاف، وتم تشريب هذه الأقراص بالخلاصة النباتية لمختلف التراكيز (٢٠ ميكروليتر لكل قرص) باستخدام ساحبة إلكترونية.

ثم فُرشت البكتريا على البيئة في أطباق بتري باستخدام قضيب زجاجي معقم ضمن كبينة العزل الجرثومي (100 ميكرو ليتر معلق بكتيري/لكل طبق) باستخدام ساحبة إلكترونية، وضعت الأقراص المحملة بالخلاصة على هذه البيئات باستخدام ملقط معقم مع ضغط خفيف جدا لضمان التصاق القرص بالبيئة، وتم إغلاق الأطباق وإحاطتها بورق البارفيلم ، ووضعت بشكل مقلوب في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة، ومن ثم تم أخذ قراءات أقطار هالات التثبيط لمختلف تراكيز الخلاصة و الصاد الحيوي، حيث تم تخصيص ثلاث أطباق لكل تركيز بثلاثة أقراص لكل طبق وكذلك بالنسبة للصاد الحيوي Azithromycin .

تم تبويب القراءات ضمن جداول في برنامج Excel، وحللت إحصائياً باستخدام برنامج Genstat

٥-مراحل العمل في البحث: تعرض الصور التالية من (٦-١) مراحل العمل المتعلق بالناحية الميكروبيولوجية الخاصة بإعداد بيئات الزرع وصولاً إلى مراقبة وعد هالات التثبيط



صورة (١) سكب البيئة في أطباق بتري

صورة (٢) تشريب الأقراص بالخلاصة النباتية

صورة (٣) تحميل البكتريا على البيئة المغذية

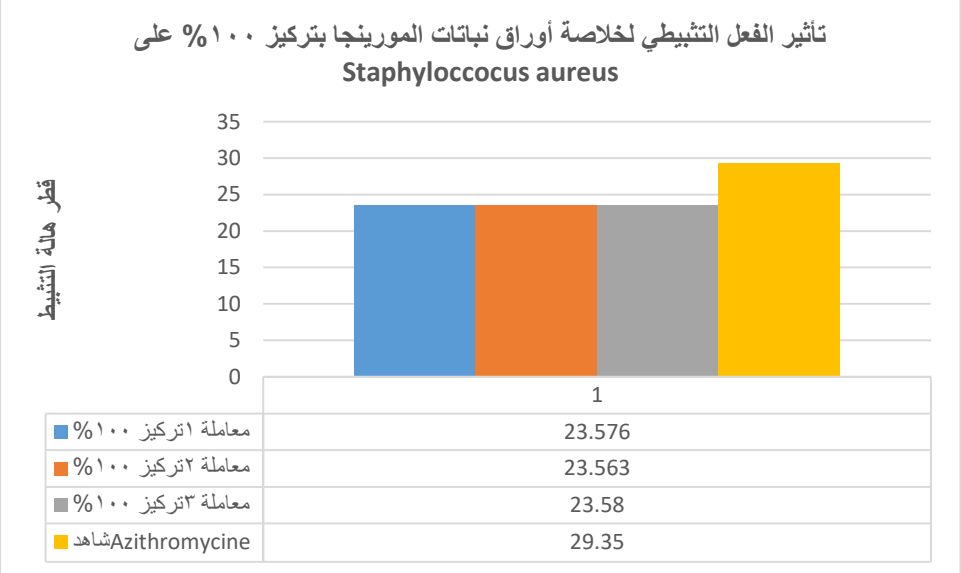
صورة (٤) فرش البكتريا بالقضيب الزجاجي

صورة(٥) المعلقات البكتيرية

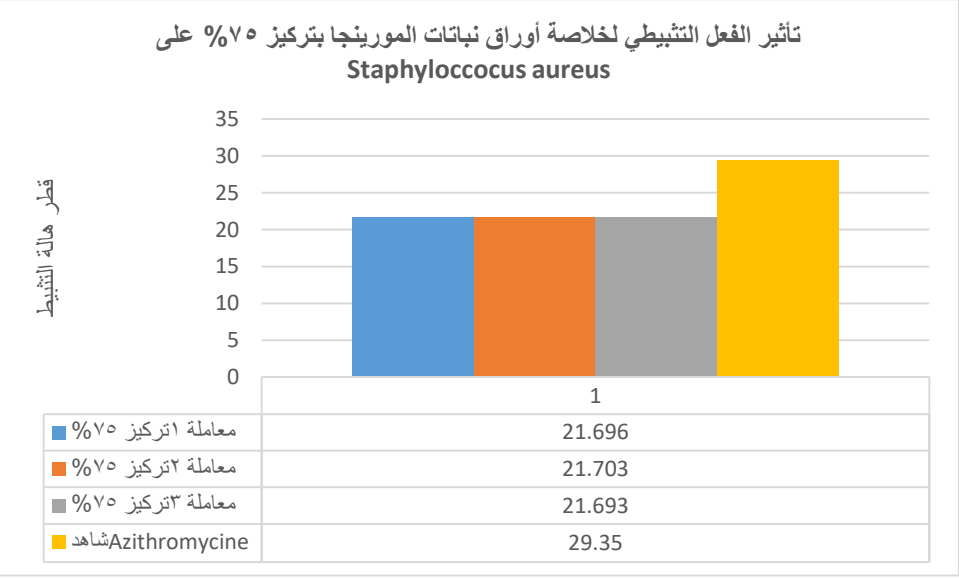
صورة (٦) هالات التثبيط

٦- النتائج والمناقشة:

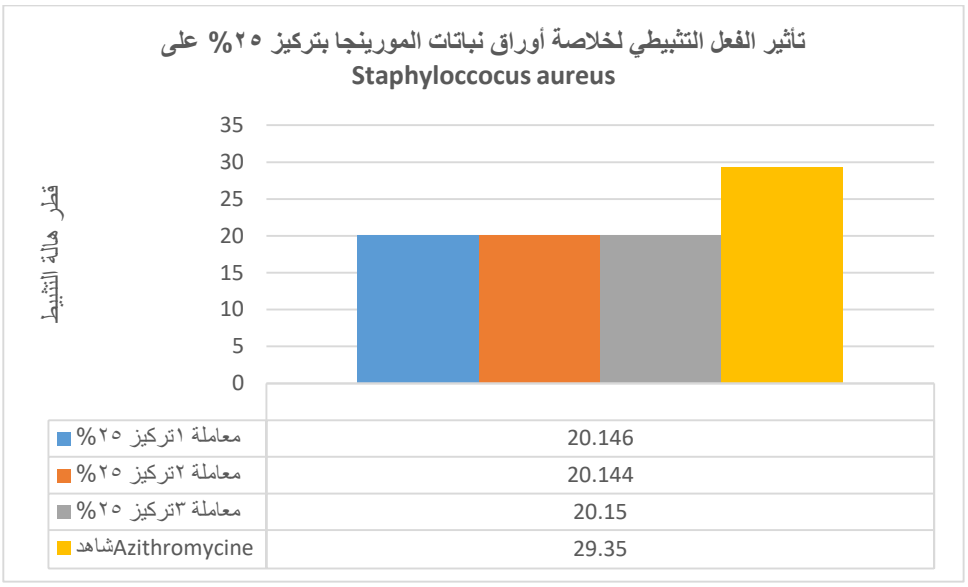
بينت النتائج كما هو موضح في الأشكال رقم(١-١)،(٢-١)،(٣-١) و (4-١) تفوق المقدرة التثبيطية للخلاصة المدروسة على البكتريا معنوياً عند التركيز ١٠٠%حيث بلغ متوسط قطر هالة التثبيط mm٢٣,٧٣ على المقدرة التثبيطية عند التركيز ٧٥%، حيث بلغ متوسط قطر هالة التثبيط mm٢١,٦٩، والذي بدوره تفوق معنوياً على المقدرة التثبيطية للخلاصة عند التركيز ٥٠%، حيث بلغ متوسط قطر هالة التثبيط mm٢٠,١٤.



الشكل رقم (١-١) تأثير الفعل التثبيطي لخلاصة أوراق نباتات المورينجا بتركيز 100% على Staphyloccocus aureus

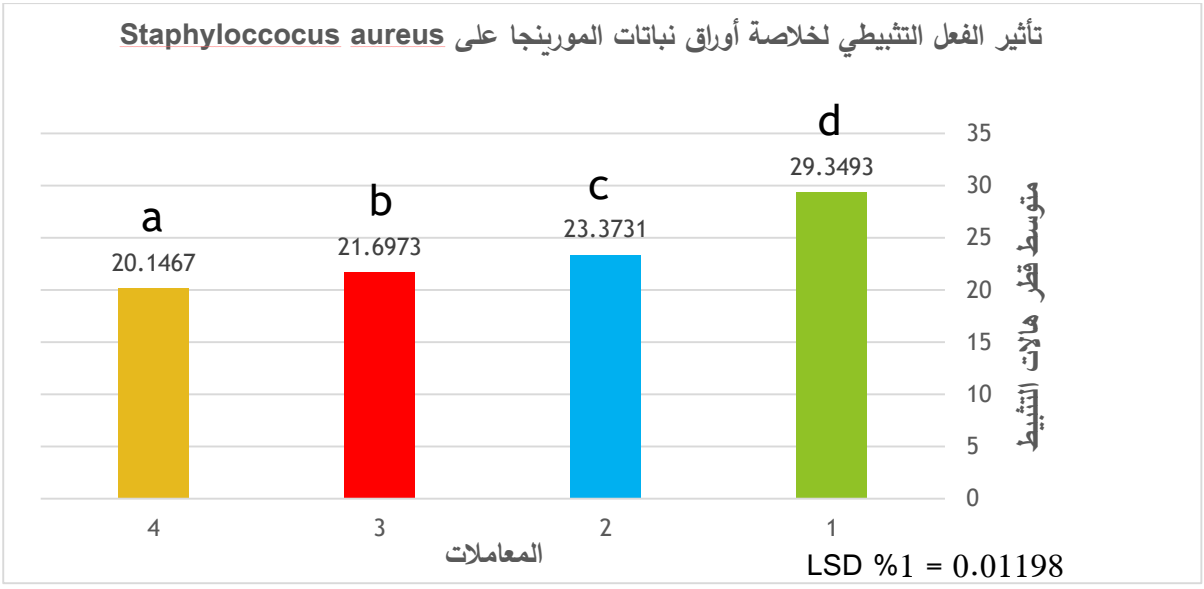


الشكل(٢-١)تأثير الفعل التثبيطي لخلاصة أوراق نباتات المورينجا بتركيز 75% على Staphyloccocus aureus



الشكل (٣-١)تأثير الفعل التثبيطي لخلاصة أوراق نباتات المورينجا بتركيز ٢٥% على

Staphyloccocus aureus



a: تركيز الخلاصة ٥٠% **b** : تركيز الخلاصة ٧٥% **c** : تركيز الخلاصة ١٠٠% **d** :

zithromycin

الشكل رقم (٤-١) تأثير الفعل التثبيطي لخلاصة أوراق نباتات المورينجا على

Staphyloccocus aureus

تُبين النتيجة المعروضة في الشكل رقم (٤-١) الفعل التثبيطي للخلاصة النباتية، إذ ترتبط هذه الإمكانية بالمركب الحيوي بينزيل أيزوثيوسيانات و كذلك مركب بنزيل جلوكوزينولات، تعود أيضا إلى حمض الغاليك، العفص، الأيزوسيانات، القلويدات والمركبات الفينولية مثل الفلافونويدات (Moyo *et al*., 2012)؛ (Brilhante *et al*., 2017)، تجدر الإشارة إلى أنه لا يوجد في الواقع تركيز معياري كمقياس نموذجي لتحديد النشاط المضاد للبكتريا

(Moyo *et al*., 2012)، حيث تعمل هذه المركبات الحيوية على تعطيل آليات الغشاء الخلوي للبكتريا وتخليق الأنزيم، كما وتحتوي مستخلصات أوراق المورينجا أوليفيرا على ببتيدات صغيرة يمكن أن تلعب دوراً مهماً في نظام الدفاع المضاد للميكروبات في النبات، وقد تتفاعل الببتيدات المضادة للميكروبات مع الأغشية على مرحلتين: أولاً تنجذب الأحماض الأمينية الموجبة بواسطة الشحنات السالبة مثل مجموعات رأس الفسفوليبيد على السطح، وثانيا يتفاعل الببتيد الكاره للماء والموجب الشحنة مع الأحماض الدهنية الأليفاتية والمكونات الأنيونية على التوالي، ويؤدي هذا الى زعزعة استقرار الغشاء، وتغير نفاذيته، وتوزيع الدهون، ودخول الببتيد وحجب مكونات الخلايا الأنيونية، أو تحفيز الأنزيمات ذاتية التحلل. وهذا يتوافق مع كل (Al_husnan & Alkahtani, 2016) و

(Sayeed *et al*., 2012) و (Rahman *et al*., 2009)

٧-الاستنتاجات:

- الفعالية التثبيطية لخلاصة أوراق المورينجا الأسيتونية على جراثيم *Staphylococcus aureus* عند مختلف التراكيز المدروسة من الخلاصة.

- يُعد التركيز ١٠٠% هو الأمثل حيث تفوق معنوياً بمتوسط قطر هالة التثبيط بالمقارنة مع متوسطي أقطار هالة التثبيط لتركيزين الآخرين من الخلاصة النباتية.

- تفوق متوسط قطر هالة تثبيط الصاد الحيوي Azithromycin معنوياً على مختلف متوسطات أقطار هالات تثبيط تراكيز الخلاصة المدروسة.

٨-المقترحات والتوصيات:

- تشجيع الاعتماد على النباتات الطبية والمصادر الطبيعية في العلاج، ولاسيما نبات المورينجا لما له من أهمية طبية وغذائية عالية.

- التوسع في دراسة شتى المجالات الطبية عن الفعل الدوائي لنبات المورينجا، كونه نبات معجزة واعد.

- العمل على تحديد العوامل النشطة المسؤولة عن الفعل التثبيطي مستقبلاً وإدخالها في التصنيع الدوائي كمصدر صادات حيوية جديدة.

المراجع العربية:

١-السالمي، براك. (٢٠٠٣). دراسة بعض العوامل في إنتاج الكواكيوليز Coagulase في المكورات العنقودية Staphylococci المعزولة محليا. كية العلوم. جامعة كربلاء،١-١٣٦.

٢-صالح، مشتاق؛ تركي، أحمد؛ شيحان، ميادة. (٢٠١٥) تشخيص المكورات العنقودية الذهبية جينيا اعتمادا على الجين nuc. مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة، المجلد التاسع، العدد الثالث،٦٦-٧١.

المراجع الأجنبية:

3-Al_husnan, L. A., & Alkahtani, M. D. F. (2016). Impact of Moringa aqueous extract on pathogenic bacteria and fungi in vitro. *Annals of Agricultural Sciences*, *61*(2), 247-250.

4-Brilhante, R. S. N., Sales, J. A., Pereira, V. S., Castelo-Branco, D. d. S. C. M., Cordeiro, R. d. A., de Souza Sampaio, C. M., de Araújo Neto Paiva, M., Santos, J. B. F. d., Sidrim, J. J. C., & Rocha, M. F. G. (2017). Research advances on the multiple uses of Moringa oleifera: A sustainable alternative for socially neglected population. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *10* .٦٣٠-٦٢١ ،(٧)

5-Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of Moringa oleifera Leaves: An Overview. *Int J Mol Sci*, *16*(6), 12791-12835.

6-Moyo, B., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012). Antimicrobial activities of Moringa oleifera Lam leaf extracts. *African Journal of Biotechnology*, *11*(11), 2797-2802 .

7-Paikra, B. K., Dhongade, H. K. J., & Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and Pharmacology of Moringa oleifera Lam. *J Pharmacopuncture*, *20*(3), 194-200.

8-Rahman, M. M., Sheikh, M. M. I., Sharmin, S. A., Islam, M. S., Rahman, M. A., Rahman, M. M., & Alam, M. (2009). Antibacterial activity of leaf juice and extracts of Moringa oleifera Lam. against some human pathogenic bacteria. *CMU J Nat Sci*, *8*(2), 219.

9-Sayeed, M. A., Hossain, M. S., Chowdhury, M. E. H., & Haque, M. (2012). In vitro antimicrobial activity of methanolic extract of Moringa olieifera lam. fruits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *1*(4), 94-98.

10-Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive Components in Moringa Oleifera Leaves Protect against Chronic Disease. *Antioxidants (Basel)*, *6*(4).