Faculty of Agriculture & Veterinary Medicine, Thamar University

Yemeni Journal of Agriculture & Veterinary Sciences

Available online at; WWW.YJAVS.COM

دراسة فعالية التضاد الميكروبي لمستخلص أوراق وقشور ثمار العنب الأسود اليمني

جلال العسكري[1]*، خديجة خديد[2]،عائشة قسماوي[2]، رضى شاروف[2] و زكريا منان[2]

١. قسم العلوم البيئية - كلية علوم البحار والبيئة- جامعة الحديدة – اليمن .

٢. قسم البكتيريا الطبية - المعهد الوطني للصحة – الرباط – المغرب.

المرسل: eco_galal@yahoo.com

Article history:

Received

14 January 2015

Accepted

07 February 2015

الملخص

العنب واحداً من أقدم الفواكه التي استهلاكها الإنسان،والذي جاء وصفه بأنه أحد ملوك الفواكه الثلاثة (العنب، الرطب والتين). لهذه الفاكهة استعمالات عديدة منها ماهو غذائي ومنها علاجي. يلقي هذا البحث الضوء على أهمية العنب من خلال دراسة قدرة التضاد الميكروبي لمستخلصات نوع من العنب اليمني (قشور الفاكهة والأوراق)،وقد درست فعالية هذه المستخلصات ضد ١٦ نوع من البكتريا المسببة للعديد من للأمراض و٨ أنواع من الخمائر المسببة للإصابات الجلدية. وذلك باستخدام طريقة النشر والحفر على الوسط الصلب (وسط هانتون وسابورد). أظهرت النتائج أن المستخلص المائي لقشور واوراق العنب فعالاً ضد البكتيريا الموجبة لصبغة الجرام و ضعيف الفعالية ضد البكتريا السالبة بصبغة الجرام، كما أظهرت ان المستخلص الكحولي (الإيثانول) لقشور العنب كان له تأثيراً قاتلاً ضد كل المكورات الموجبة الغرام حيث بلغ أعلى قطر تثبيطي ٢٠مم ضد بكتيريا *Streptococcus pyogenes* فيما كان أدنى تركيز قاتل للمستخلص الكحولي ١٢,٥ ملغم/مل.

وأظهرت نتائج الدراسة أيضا تأثير المستخلص الكحولي لقشور العنب كان ذو فعالية تجاه كل البكتيريا السالبة لصبغة جرام حيث كان أعلى قطر تثبيطي ١٨ ملم ضد بكتيريا ال *Yersinia enterocolitica* وحدد أدنى تركيز قاتل ب١٢,٥ ملغم/مل، كما أعطى هذا المستخلص فعالية ممتازة ضد الخمائر. كما أظهر المستخلص الكحولي لأوراق العنب نتائج متفاوتة ضد البكتيريا قيد الإختبار، حيث أعطى تأثيراً قاتلاً ضد كل البكتيريا الموجبة لصبغة جرام التي شملتها الدراسة وبلغ أدنى تركيز قاتل ١٢,٥ ملغم/مل، كما لوحظ ضد ٦٣% من بكتيريا العصيات السالبة لصبغة جرام وكان أعلى قطر تثبيطي تم الحصول عليه هو ١٧ملم ضد بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* وحدد أدنى تركيز قاتل ب٢٥ملغم/مل.

الكلمات المفاتحية : العنب الاسود، الفعالية المضادة للميكروبات، ، اليمن.

المقدمة INTRODUCTION

العنب (*Vitis vinifera*)من أقدم الفواكة التي عرفها الإنسان ويتبع العائلة العنبية (Vitaceae) وهو نبات متسلق عن طريق المحاليق، وقد عرفت فوائد العنب الغذائية والطبية، فمعروف عن العنب انه يستهلك طازجاً او على هيئة عصير او مجففاً، ويساهم العنب في حفظ ضغط الدم المرتفع ومدراً للبول لاحتوائه على نسبة عالية من البوتاسيوم كما يوصف لإعتلالات الجهاز العصبي ولتقوية الذاكرة كما انه يخفض الحموضة وخصوصاً الناتجة عن عسر الهضم (Mullen et al. 2007;Vislocky and Fernardez, 2010).

أشتهر العنب في عدة مناطق من العالم بأنه غذاء ودواء، فبالإضافة إلى استعمالاته في التغذية لاحتوائه على العديد من المكونات الأساسية للجسم ومنها الفيتامينات والمعادن (Witherspoon, 2000). اشتهر العنب في الطب التقليدي باستعمالاته العديدة لعلاج كثير من الأمراض وقد أوضحت العديد من التحقيقات (Ethnobotanic stydies) في عدة مناطق من العالم استعمالات متعددة للعنب سواء أكانت الفاكهة أو الأوراق في الطب التقليدي، فالفاكهة إضافة إلى استخدامها كغذاء طرية أو جافة، تستخدم في تحسين الذاكرة، كمنظم للجهاز الهضمي (ملين) ، مقوي للدم ومدر للبول أما الأوراق فتستخدم كعلاج ضد الحمى، رمد العيون و التهابات الجهاز البولي (Bellakhdar, 2006 ; Eddouks et al 2002;Tahraoui et al.2007).

تتميز اليمن بزراعة أجود أصناف العنب وتتركز زراعته في العديد من المحافظات لاسيما في المناطق ذات الطقس البارد والمعتدل واشهر الأنواع المنتجة هي رازقي، عاصمي، حاتمي، اسود، زيتوني، بالإضافة الى العديد من الأنواع الأخرى. وتعد مناطق بني حشيش ، خولان، سنحان، بني الحارث، ارحب همدان ، وادي ظهر بمحافظة صنعاء وبعض مناطق من محافظة صعده والتي تزرع ما يقارب ٢٠ نوع من العنب.

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المستخلص المائي و الكحولي لقشور فاكهة العنب وأوراق شجرة العنب المثبط والقاتل لطيف واسع من الميكروبات المسببة لعدد من الأمراض والتي شملت ١٦ نوع من البكتيريا المرضية والمسببة للتسمم الغذائي و٨ أنواع من الخمائر المسببة للعديد من الأمراض الجلدية.

مواد و طرائق العمل :

MATERIALS AND METHODS

أولاً المواد المستعملة :

قشور فاكهة العنب: جمعت كمية من العنب الطازج (نوع اسود) من إحدى مزارع العنب بمنطقة بني حشيش – محافظة صنعاء– اليمن.غسلت بماء الحنفية لإزالة الأتربة والأوساخ، ثم أزيلت قشورها وتركت القشور لتجف بدرجة حرراه الغرفة. بعدها سحقت لأجزاء صغيرة .

أوراق شجرة العنب: جمعت من نفس المزرعة التي جمعت منها عينات العنب الطازج وتركت في درجة

حرارة الغرفة لتجف، بعدها سحقت باليد للحصول على مسحوق جاف.

الأحياء المجهرية: Microorganism

البكتيريا: استعمل ١٦ نوع من البكتيريا تم الحصول عليها من مختبر الميكروبيولوجيا الطبية التابع للمعهد الوطني للصحة – الرباط– المملكة المغربية والجدول١ يوضح توزيع هذه الأنواع وما قد تسببه من أمراض للإنسان

جدول ١: البكتريا الممرضة للانسان المستخدمة في البحث

أنواع البكتيريا		الرمز	الأمراض المسببة لها
المكورات (موجبة لصبغة جرام) Cocci G +	*Streptococcus pyogenes*	SR	إلتهاب بولي
	Streptococcus sanguins	SS	إلتهاب جلدية
	Staphylococcus epidermis	SE	إلتهاب بولي
	Staphylococcus aureus	SA	إلتهاب بولي
	Methicillin-resistant S. aures	MSA	تعفنات المستشفيات
العصيات (سالبة لصبغة جرام) Bacill G –	*Pseudomonas aeruginosa*	PA	إلتهاب بولي
	Acinetobacter baumannii	AB	تعفن المستشفيات
	Pseudomonas fluorescens	PF	إلتهاب الأذنين
	salmonella enteritidis	SL1	التسمم الغذائي
	Salmonella Typhimurium	SL2	التسمم الغذائي
	Salmonella arizonae	SLA	التسمم الغذائي
	Proteus mirabilis	PM	إلتهاب بولي
	Hafnia alvei	HA	إلتهاب بولي
	Yersinia enterocolitica	Y	تسمم غذائي
	Escherichia coli	EC	إلتهاب مهبلي
	Klebsiella pneumoniae	KP	إلتهاب بولي

الخمائر: استعملت ٨ أنواع من الخمائر (تم الحصول عليها من نفس مصدر البكتيريا) موضحة في الجدول رقم (٢) وأهم الإصابات التي تسببها هذه الخمائر للإنسان

جدول ٢: الخمائر الممرضة للانسان المستخدمة في البحث

أنواع الخمائر	الرمز	الأمراض المسببة لها
Candida tropicalis	CT1, CT2	إصابات الأطراف (بين اصابع اليدين والقدميين)
Candida famata	CF1, CF2	
Candida parapsilosis	CP1, CP2	
Candida glabrata	CG1, CG2	

الوسط الغذائي Media

وسط مولرهانتون Mueller–Hinton: استعمل في تنمية البكتيريا وحضر الوسط بإذابة ٣٧,٥ جم في لتر ماء مقطر وبعد الذوبان عُقم في جهاز التعقيم بالبخارالرطب عند 121°C /١٥ دقيقة، بعد التعقيم ترك الوسط ليبرد ومن ثم صب في أطباق بتري معقمة وتركت هذه الأخيرة بدرجة حرارة الغرفة حتى تصلبت.

وسط سابورود دكستروز الصلب Sabouraud Dextrose Agar : استعمل في تنمية الخمائر وحضر الوسط بإذابة ٦٥ جم في لتر ماء مقطر وبعد الذوبان عُقم في جهاز التعقيم بالبخارالرطب 121°C /١٥ دقيقة، بعد التعقيم ترك الوسط ليبرد ومن ثم صب في أطباق بتري معقمة وتركت هذه الأخيرة بدرجة حرارة الغرفة حتى تصلبت.

ثانياً: الطرق المستعملة

تحضير المستخلص الكحولي: للحصول على هذا النوع من المستخلصات استعمل السوكسليت (Soxhlet) كجهاز استخلاص كما استعمل الإيثانول كمذيب عضوي، وذلك عن طريق ملئ قمع من السيليلوز بـ ٢٠٠ جرام من مسحوق قشور فاكهة وأوراق شجرة العنب كلاً على حده ، من ثم يوضع القمع بداخل السوكسليت، ملئ الأخير بـ ٧٠٠ مل من الإيثانول، استمرت العملية لمدة أربع وعشرون ساعة وكانت مردوديتها ٢٠ % و ١٦% بالنسبة لقشور فاكهة العنب وأوراق شجرة العنب على التوالي، تم التخلص من الكحول المتبقي باستخدام الدورق الدوار مع التسخين.

تحضير المستخلص المائي: تم الحصول عليه بترقيد ١٠٠ جرام من مسحوق قشور فاكهة وأوراق شجرة العنب كلاً على حده، في نصف لتر من الماء المغلي لمدة ثلاث ساعات ومن ثم رشح المخلوط، ثم تركيزه للحصول على المستخلص المائي، وكانت مردودية هذا المستخلص ١٠ % و٨ % بالنسبة لقشور فاكهة العنب وأوراق شجرة العنب على التوالي.

تحضير المعلق الميكروبي: حضر بإضافة مسحة من الميكروب، التي سبق وأن أجرى تنشيطها لمدة ٢٤ ساعة بالنسبة للبكتيريا و٤٨ ساعة بالنسبة

للخمائر،إلى أنبوب يحتوي على ٩مل محلول ملحي، (كلوريد الصوديوم NaCL ٠,٩%) للحصول على معلق للخلايا بكثافة 1x106 و.ت.م/مل للبكتيريا و1x104 و.ت.م/مل للخمائر.وتم التأكد من كثافة الخلايا باستخدام جهاز قياس الكثافة نوع Densimat/Bioérieux sa France) (IDN012618, Italy

اختبار التضاد الميكروبي بطريقة الحفر والإنتشار على الأجار الصلب Agar well diffusion method: أجري الاختبار حسب طريقة Nongpanga et al. (2008) باستعمال الوسط الغذائي مولر هانتون للبكتيريا وسابورود للخمائر. حيث نقلت مسحة من المحلول الملحي المحتوي على الميكروب باستعمال عود القطن (swab) نقلت مسحة من المحلول الملحي المحتوى على الميكروب، ونشرت على الوسط الغذائي المناسب بطريقة التخطيط المتوالي وباتجاهين متعامدين لضمان انتشار الخلايا على كل سطح الوسط، تركت الأطباق لتجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٥ دقيقة، بعدها حفرت ثقوب في الوسط الغذائي بقطر ٦مم . تم ملئ الحفر ب ٥٠ ميكرومل من المستخلصات قيد الدراسة. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°C لمدة ٢٤ ساعة بالنسبة للبكتيريا و بدرجة حرارة 30°C لمدة ٤٨ ساعة بالنسبة للخمائر. بعدها قيست منطقة التثبيط حول الحفر المحتوية على المستخلصات .

تحديد أقل تركيز قاتل Minimum Inhibitory Concentration (MIC): تم التحديد باستعمال طريقة التخفيف بالأنابيب Microtitration technic الموصوفة من قبل Eloffe (1998) ولمعرفة أقل تركيز مثبط Minimum BactericidalConcentration (MBC) زرعت الخلاياعلى وسط Clead الصلب.

النتائج RESULTS

التضاد الميكروبي و أقل تركيز قاتلٍ للمستخلص المائي والكحولي لقشور فاكهة العنب

أظهرت النتائج في الجدول (٣) أن المستخلص المائي لقشور فاكهة العنب كان له تأثيراً قاتلاً على كل المكورات المسبحية والعنقودية العادية وكان أعلى قطر تثبيطي للمستخلص المائي ١٢ مم ضد المكورات العنقودية *العادية Staphylococcus aureus* ، بينما أظهرالمستخلص تأثيراً متفاوتاً على العصيات السالبة جرام، حيث لم يلاحظ أي تأثير على العصيات الغيرمعوية non Enterobacteriaceae والتي شملت على *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas fluorescens* و الأسينتوباكتر *Acinetobacter baumannii* فيما أظهر تأثيراً مثبطاً على العصيات المعوية Enterobacteriaceae وكان أعلى قطر تثبيط ١٤ مم ضد إشريشيا كولي Escherichia coli فيما لم يسجل أي تأثير للمستخلص ضد كلاً من سالمونيلا

Salmonella Typhimurium، حافنيا ألفي *Hafnia alveie* وكليبسيلا بنومونيا *Klebsiella pneumonae* .

في اختبار أدنى تركيز قاتل MIC للمستخلص المائي، كان أدنى تركيز حصل عليه ٢٥ ملجم/مل ضد بكتيريا المكورات العنقودية العادية و*Escherichia coli*التي كانتا أكثر الأنواع حساسية للمستخلص المائي . فيما أقتصر أدنى تركيز قاتل لبقية أنواع البكتيريا والتي أظهرت حساسية لهذا المستخلص على ٥٠ملجم/مل .

الجدول (٣): فعالية التضاد الميكروبي لقشور فاكهة العنب ضد البكتريا الممرضة للانسان

المجاميع الميكروبية	الأنواع	المستخلص المائي		المستخلص الكحولي	
		قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل	قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل
المكورات (موجبة لصبغة جرام)+ cci G	***Streptococcus pyogenes***	١٠	٥٠	٢٠	١٢,٥
	Streptococcus sanguins	٩	٥٠	١٥	٢٥
	Staphylococcus epidermis	١٠	٥٠	١٨	١٢,٥
	Staphylococcus aureus	١٢	٢٥	١٧	١٢,٥
	Methicillin-resistant S. aures	٠	–	١٩	١٢,٥
العصيات (سالبة لصبغة جرام) Bacill G-	***Pseudomonas aeruginosa***	٠	–	١٥	٢٥
	Acinetobacter baumannii	٠	–	١٥	٢٥
	Pseudomonas fluorescens	٠	–	١٣	٢٥
	salmonella enteritidis	٠	٥٠	٠	–
	Salmonella Typhimurium	٠	–	١٢	٥٠
	Salmonella arizonae	٨	٥٠	١٢	٥٠
	Proteus mirabilis	٠	–	١٦	٢٥
	Hafnia alvei	٠	–	١٣	٥٠
	Yersinia enterocolitica	١٠	٥٠	١٨	١٢,٥
	Escherichia coli	١٤	٥٠	١٦	١٢,٥
	Klebsiella pneumoniae	٠	–	١٠	٢٥

الجدول (٤): فعالية التضاد الميكروبي لقشور فاكهة العنب ضدا لخمائر الممرضة للانسان

أنواع الخمائر	الرمز	المستخلص المائي		المستخلص الكحول	
		قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل	قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل
Candida tropicalis	CT1	٠	–	٠	–
	CT2	٠	–	٠	–
Candida famata	CF1	١٢	٥٠	١٨	٢٥
	CF2	٠	–	١٦	٥٠
Candida parapsilosis	CP1	٠	–	٢٠	٢٥
	CP2	٠	–	١٨	٢٥
Candida glabrata	CG1	٠	–	١٦	٥٠
	CG2	٠	–	٠	–

كان تأثير المستخلص المائي ضعيفاً على عزلات الخمائر المدروسة، إذ لم يلاحظ تأثيره إلا على نوع واحد من الخمائر كانديدا فماتا ١*Candida famata* وكان قطر منطقة التثبيط ١٢ مم فيما اقتصر أدنى تأثير قاتل على ٥٠ ملجم/مل .

كما يظهر من النتائج في الجدول (٣) أن المستخلص الكحولي لقشرة فاكهة العنب كان أعلى تأثيراً من المستخلص المائي، حيث أظهرتأثيراً قاتلاً ضد كل المكورات الموجبة وكان أعلى قطر تثبيط لهذا المستخلص ٢٠مم ضد المكورات المسبحية *Streptococcus pyogenes* . تميز نشاط المستخلص الكحولي ضد المكورات الموجبة بالفعالية العالية ويلاحظ ذلك من خلال أقطار التثبيط التي تراوحت بين ١٥ و ٢٠ مم وبمعدل ١٧,٥ مم.

تميز المستخلص الكحولي بفعاليته النشطة ضد العصيات السالبة، إذ أظهر نشاطاً قاتلاً ضد ٩٠% منها، وكان أشد تأثيراً ضد بكتيريا اليرسينيا *Yersinia enterocolitica* بقطر تثبيط ١٨مم ، فيما كان أدنى تأثيرله ضد بكتيريا اكليبسيلا *Klebsiella pneumoniae* بقطر تبيط ١٠ مم، مما لوحظ أن تأثيراً هذا المستخلص كان مثبطاً ضد بكتيريا السالمونيلا، بينما كان تأثيره قاتلاً على بقية البكتيريا.

عند إختبار أدنى تركيز قاتل للمستخلص الكحولي، أظهر فعالية عند تراكيز منخفضة، وكان أكثر فعالية في التراكيز المنخفضة ضد المكورات الموجبة مقارنة بالعصيات السالبة، حيث كان أدنى تركيز قاتل على أغلب المكورات الموجبة ١٢,٥ ملجم/مل، بينما سجلت

الفعالية عند هذا التركيزضد ١٨% من العصيات السالبة.

المستخلص الكحولي كان له تأثيراً قاتلاً ضد ٦٢% من عزلات الخمائر قيد الدراسة وبلغ أعلى قطر تثبيط ٢٠مم ضد كانديدا بارابسيلوسيس١ *Candida parapsilosis* ، فيما كان أقل قطر تثبيط لهذا المستخلص ضد كلاً من كانديدا فماتا٢ *Candida famata* و كانديدا جالابرتا١ *Candida glabrata* وبقطر تثبيط ١٦مم.كما لم يسجل أي نشاط للمستخلص ضد كلاً من كانديدا تروبيكالس١،٢ *Candida tropicalis* و كانديدا جلابرتا٢ *Candida glabrata* (الجدول٤).

أظهر اختبار تحديد أدنى تركيز قاتل للمستخلص الكحولي، لقشور فاكهة العنب، ضد الخمائر، من أن المستخلص ظل فعالاً إلى غاية تركيز ٢٥ ملجم/مل ضد كلاً من كانديدا فماتا Candida famata 1 و كانديدا بارابسيلسيس ٢,١ *Candida parapsilosis* ، فيما اقتصرت فعاليته عند ٥٠ ملجم/مل ضد كلاً من كانديدا فماتا٢ *Candida famata* (الجدول٤).

التضاد الميكروبي للمستخلص المائي والكحولي لأوراق شجرة العنب

من الجدول (٥) نلاحظ أن المستخلص المائي لأوراق شجرة العنب كان له تأثيراً واضحاً على المكورات الموجبة، إذ بلغ أعلى قطر تثبيط ١١مم ضد المكورات المسبحية نوع *Streptococcus sanguins*

فيما سجل المستخلص المائي فعاليه أقل ضد العصيات السالبة ، حيث لم يكن فعالاً سوى على ١٨% من العصيات السالبة وبلغ أعلى قطر تثبيط ١٠ مم ضد كلاً من *Yersinia enterocolitica* و *Escherichia coli* . وكان أدنى تركيز قاتل للمستخلص المائي ٥٠ ملجم /مل لنوعي البكتيريا، فيما أظهرت الخمائر مقاومة واضحة للمستخلص المائي لأوراق شجرة العنب، إذ لم يلاحظ أي فعالية لهذا المستخلص ضد عزلات الخمائر .

كما يلاحظ من الجدول (٤) أيضا المستخلص الكحولي لأوراق شجرة العنب أظهر نتائج ممتازة ضد المكورات الموجبة، إذ سجل المستخلص الكحولي فعالية ضد كل المكورات الموجبة وبلغ أعلى قطر تثبيط لهذا المستخلص ٢٢مم ضد *Streptococcus pyogenes* . اظهر المستخلص الكحولي فعالية عند تراكيز منخفضة ضد كلاً *Streptococcus sanguins* و *Staphylococcus epidermis* من البكتيريا الموجبة، فيما اقتصر أدنى تركيز قاتل بين ٢٥ و٥٠ ملجم /مل لبقية المكورات الموجبة.

أظهرت النتائج أن للمستخلص الكحولي فعالية جيدة ضد العصيات السالبة حيث أظهر فعالية ضد ٦٣% من عزلات البكتيريا السالبة و وجد أفضل تأثير لهذا المستخلص كان بقطر تثبيط ١٧ مم ضد بكتيريا *Klebsiella pneumonia* وكان ادنى تركيز قاتل بين ٢٥ و ٥٠ ملجم/مل، و لم تسجل أي من مستخلصات أوراق العنب أي فعالية ضد العصيات الغير معوية (Non Enterobacteriaceae) إذ أظهرت مقاومة لمستخلصات أوراق العنب.

الجدول (٥): فعالية التضاد الميكروبي لمستخلصات أوراق شجرة العنب ضد البكتريا الممرضة للانسان

المجاميع الميكروبية	الأنواع	المستخلص المائي		المستخلص الكحولي	
		قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل	قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل
المكورات (موجبة لصبغة جرام)+ cci G	***Streptococcus pyogenes***	٠	٠	٢٢	١٢,٥
	Streptococcus sanguins	١١	٥٠	١٦	٢٥
	Staphylococcus epidermis	١٠	٥٠	٢٠	١٢,٥
	Staphylococcus aureus	٩	٥٠	١٤	٢٥
	Methicillin-resistant S. aures	٠	–	١٢	٥٠
العصيات (سالبة لصبغة جرام) Bacill G-	***Pseudomonas aeruginosa***	٠	–	٠	–
	Acinetobacter baumannii	٠	–	٠	–
	Pseudomonas fluorescens	٠	–	٠	–
	salmonella enteritidis	٠	–	٠	–
	Salmonella Typhimurium	٠	–	١٤	٥٠
	Salmonella arizonae	٠	–	١٤	٥٠
	Proteus mirabilis	٠	–	١٥	٥٠
	Hafnia alvei	٠	–	١٢	٥٠
	Yersinia enterocolitica	١٠	٥٠	١٥	٥٠
	Escherichia coli	١٠	٥٠	١٦	٢٥
	Klebsiella pneumoniae	٠	–	١٧	٢٥

الجدول (٦): فعالية التضاد الميكروبي أوراق شجرة العنب ضدا لخمائر الممرضة للانسان

أنواع الخمائر	الرمز	المستخلص المائي		المستخلص الكحول	
		قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل	قطر التثبيط مم	أدنى تركيز ملجم/مل
Candida tropicalis	CT1	٠	-	١٦	٥٠
	CT2	٠	-	١٩	٢٥
Candida famata	CF1	٠	-	١٥	٥٠
	CF2	٠	-	١٣	٥٠
Candida parapsilosis	CP1	٠	-	٠	-
	CP2	٠	-	٠	-
Candida glabrata	CG1	٠	-	٠	-
	CG2	٠	-	٠	-

لم يلاحظ أي فعالية للمستخلص المائي لأوراق العنب ضد الخمائر المدروسة (الجدول٦). فيما أعطى المستخلص الكحولي فعالية ضد ٥٠% من عزلات الخمائر ، فيما كان أعلى قطر تثبيط ١٩ مم ضد *Candida tropicalis* . وبالنسبة لأدنى تركيز قاتل أظهر المستخلص الكحولي فعالية عند ٥٠ ملجم/مل بإستثناء اضهاره فعالية عند ٢٥ملجم/مل ضد *Candida tropicalis* (الجدول٦).

المناقشة DISCUSSION

أظهر المستخلص المائي لقشور فاكهة العنب ، فعالية على المكورات الموجبة، فيما كان تأثيره بالضعيف ضد العصيات السالبة ففي دراسة سابقة لـ Jigna and Sumitra (2006) لم يسجل أي فعالية ميكروبية للمستخلص المائي لقشور العنب . عادة ما تظهر البكتيريا السالبة لصبغة جرام مقاومة للمستخلصات المائية أكثر من البكتيريا الموجبة، كنتيجة لما تتميز به البكتيريا السالبة في تركيبها الخلوي من وجود مركبات ليبوبوليسكرايد lipopolysaccharideو فوسفوالبيد phospholipid مما يعطيها مقاومة ضد المستخلصات النباتية والمضادات الحيوية (Costa et al. 2008). بالرغم من أن العديد من الدراسات قد أشارت إلى ضعف أو انعدام الفعالية الميكروبية للمستخلصات المائية للنباتات (Martin, 1995; Masika and Afolayan, 2002; Paz et al.1995; Vlientinck et al.1995).

إلا أن نتائج الدراسة الحالية أثبتت تفوق المستخلص المائي لفاكهة العنب على العديد من المستخلصات المائية في الفعالية الميكروبية، وخصوصاً ضد المكورات الموجبة ،إضافة إلى فعاليته ضد بعض البكتريا السالبة وبنسبة ٢٧ %وقد أظهر هذا المستخلص فعالية عند التراكيز المنخفضة حيث سجل أدنى تركيز ١٢,٥ ملجم /مل ضد المكورات العنقودية مما يؤشر على فعالية هذا المستخلص في القضاء على هذا النوع من الميكروبات والمتهمة بالتسبب بالعديد من التهابات، دلت العديد من الدراسات على احتواء ثمار العنب على من المركبات ذات الأثر المضاد للميكروبات والتي تشمل مركبات الفينول و الآحماض العضوية (, En-Qin et al. 2010; Yadav et al. 2009; Ntkfardjam, 2008; Sousa .٢٠١٤ et al)

من ناحية أخرى كان المستخلص الكحولي لقشور فاكهة العنب فعالية ممتازة، حيث أظهر تأثيراً قاتلاً ضد كل البكتيريا الموجبة و٩٠% من العصيات السالبة. نتائج مشابهة وجدت من قبل El Hawary et al. (2012) في أن فعالية المستخلص الكحولي لقشور فاكهة العنب ضد العصيات السالبة وخصوصاُ بسودومونس Pseudomonas ، و مما يدل على أهمية هذا المستخلص أنه سجل فعالية عند التركيز المنخفضة ٢٥ ملجم/مل، كما أظهر هذا المستخلص فعالية ضد عزلتين من اصل ٣ عزلات بكتيريه من السالمونيلا المعروفة عادة بمقاومتها للمستخلصات النباتية (Lin et al. 1999) .

الفعالية ضد الخمائر سجلت بنسبة ٦٢% مع المستخلص الكحولي وأظهر المستخلص فعالية حتى تركيز ٢٥ ملجم/مل. جاءت هذه النتائج معاكسة (كونها ذات فعاليه ضد الخمائر قيد الدراسة) لاستنتاجات العديد من الدراسات العلمية التي بينت أن فعالية المستخلصات النباتية ضد الفطريات ومنها الخمائر ضعيفة (Alasbahi et al.1999 ;Ela et al. 1996 ; Meena and Sethi, 1994; Saeed et al.1995; Taniguchi and Kubo, 1993) .

أوراق شجرة العنب، هي الأخرى أثبتت فعالية تضاد عالية سواء أكان ذلك من خلال المستخلص المائي الذي كان فعالاً ضد المكورات الموجبة أكثر من العصيات السالبة، أو من خلال المستخلص الكحولي الذي أظهر تضاد ميكروبي عالي، حيث وصل فيه قطر التثبيط إلى ٢٢مم ضد المكورات العنقودية كما أعطى فعالية ضد المكورات العنقودية المقاومة للمضادات الحيوية، نتائج مشابهة حصل عليها Oskay et al. (2009) من أن المستخلص الكحولي لأوراق شجرة العنب أعطى فعاليه ضد بكتيريا المكورات العنقودية المقاومة Methicillin-resistant S.aureus.

بعض البكتيريا المستعملة في الدراسة مثل بسودوموناسPseudomonas ،أسينتوباكتر Acinetobacter و حافينيا ألفي Hafnia alveie كانت مقاومة للمضادات الحيوية ، إلا أنها أظهرت

حساسية للمستخلصات المستخدمة، مما يعزز من فرصة استعمال هذه المستخلصات ذات الأصل النباتي كبدائل طبيعية للمضادات الحيوية (Aburjai et al. 2001) .

ويمكن القول أن المستخلص المائي لقشور فاكهة العنب أعطى نتائج جيدة ضد البكتيريا المرضية وكان أفضل فعالية على المكورات الموجبة منها على العصيات السالبة، وأظهر فعالية عند تراكيز منخفضة، مع انعدم تأثيره على الخمائر.فيما أظهر المستخلص الكحولي لقشور فاكهة العنب فعاليه ممتازة ضد كل المكورات الموجبة و ٩٠% من العصيات السالبة . كما سجل فعالية عند التراكيز المنخفظة بلغت ١٢,٥ ملجم/مل، لوحظ فعالية المستخلص الكحولي على٦٢% من عزلات الخمائر قيد الدراسة.

أما بالنسبة لأوراق شجرة العنب، فقد أعطى مستخلصها المائي تضاد ميكروبي ضد ٦٠% من المكورات الموجبة و١٨% من العصيات السالبة فيما لم يلاحظ أي تأثير له على الخمائر. المستخلص الكحولي أظهر فعاليه ممتازة ضد كل البكتيريا الموجبة و٦٣% من البكتيريا السالبة لصبغة جرام كما أظهر فعاليه عند التراكيز المنخفضة ، كما لوحظ فعاليته ضد ٥٠% من عزلات الخمائر وسجل فعاليه عند التراكيز المنخفضة .

REFERENCES المصادر

Aburjai, T. Rula, M. Darwish, S. Al-Khalil, A. Mahafzah, A. and Al-Abbadi, A. 2001. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of Pseudomonas aeruginosa. Journal of Ethno pharmacology, 76, 39- 44.

Alasbahi, R.H. Safiyeva, S. and Craker, L.E. 1999. Antimicrobial activity of some Yemen medicinal plants. Journal of Herbs Spices and Medical Plants, 6, 75-83.

Bellakhdar, J. 2006 . Plantes médicinales au Maghreb et soins de base. Ed. Le Fennec, Casablanca, pp, 13-15.

Costa, E.S Hiruma-Lima, C.A. Lima, E.O. Sucupira, G.C. Bertolin, A.O. Lolis, S.F. Andrade, F.D. Vilegas, W. Souza-Brito, A.R. 2008. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. Phytotherapy Research, 22, 705-707.

Eloff, J.N. 1998. Sensitive and quick micro plate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria .Plant Medical, 64, 711-713.

En-Qin, X. Gui-Fang, Deng. Ya-Jun, Guo. and Hua-Bin, Li.2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. International Journal of Molecular Sciences, 11, 622-646.

Jigna, P. and Sumitra, C. 2006. Vitro Antimicrobial Activities of Extracts of Launaea procumbens Roxb. (Labiateae), Vitis vinifera L. (Vitaceae) and Cyperus rotundus L. (Cyperaceae). African Journal of Biomedical Research. 9, 89-93.

Lin, J. Opoku, A.R. Geheeb-Keller, M. Hutchings, A.D. Terblanche, S.E. Jager, A. K. and Vanstaden, J. 1999. Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. Journal of Ethno pharmacology, 68, 267- 274.

Eddouks, M. Maghrani, M. Lemhadri, A. Ouahidi, L. and Jouad, H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). Journal of Ethno pharmacology, 82, 97-103.

Sousa, E. C. Uchôa-Thomaz A.M. Carioca J.O, Morais S.M, et al. 2014.Chemical composition and bioactive compounds of grape pomacem(Vitis vinifera L.) Benitaka variey, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. Food Science and Technology,34(1), 135-142.

El Hawary, S. El Fouly, K. El Gohary, H.M. Meselhy, K.M. Slem, A. and Talaat, Z. 2012. Phytochemical and Biological Investigation of Vitis vinifera (Flame cultivar), Family Vitaceae cultivated in Egypt. Natural and Science, 10 (10), 48 - 59.

Ela, M.A. El-shaer, N.S. Ghanem, N.B. 1996. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie journal, 51, 993-994.

Nikfardjam, M.S. 2008. General and Polyphenolic composition of unipe grape juice (verjus\verjuice)from various producers. Mitteilungen Kloserneburg 58, 28-31.

Oskay, M. Oskay, D. and Kalyoncu, F. 2009. Activity of some plant extracts against Multi-drug resistant human pathogens. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 8 (4), 293-300.

Paz, E.A. Cerdeiras, M.P. Fernandez, J. Ferreira, F. Moyna, P. Soubes, M. Vazquez, A. Vero, S. and Zunio, L. 1995. Screening of Uruguan medicinal plants for antimicrobial activity. Journal of Ethno pharmacology, 45, 67-70.

Saeed, A. Ibrahim, N. Bashandy, S. El-gengaihi, S. 1995. Saponin of Balanites aegyptiaca Del fruits and biological evaluation. Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo Univ, 33,105-109.

Martin, G.J. 1995. Ethnobotany: A Methods Manual. Chapman and Hall, London,pp, 214-220.

Masika, P.J. Afolayan, A.J. 2002. Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock disease in the Eastern Cape, South Africa. Journal of Ethno pharmacology, 83,129-134.

Meena, M.R. and Sethi, V. 1994. Antimicrobial activity of essential oils from spices. Journal of Food Sciences and Technology, 31, 68-70.

1.

Mullen, W. Marks, S.C. and Crozier, A. 2007. Evaluation of Phenolic Compounds in Commercial Fruit Juices and Fruit Drinks. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(8), 3148-3157.

Nongpanga, K. Aporn, W. Duangtip, M. and Sukon, T. 2008. Screening and identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial compound from pig gastrointestinal tracts. KMITL Science and Technology Journal, 8 (1), 37-40.

Witherspoon, B. 2000. Raisins to the rescue. School foodservice and nutrition, pp, 54-58.

Yadav, M. Jain, S. Bhardwaj, A. Nagpal, R. Puniya M, Tomar R, Singh V, Parkash O, Prasad G.B. Marotta F and Yadav H. 2010. Biological and Medicinal Properties of Grapes and Their Bioactive Constituents: An Update. Journal of medicinal food, 12 (3), 473–484.

Tahraoui, A. El-Hilaly, J. Israili, Z. and Lyoussi, B. 2007. Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province) . Journal of Ethno pharmacology, 110,105-117 .

Taniguchi, M. Kubo, I. 1993. Ethnobotanical drug discovery based on medicine men's trials in the African savanna: screening of East African plants for antimicrobial activity II. Journal of Natural Products, 56,1539-1546.

Vislocky, L.M. and Fernandez, M.L.F. 2010. Biomedical Effects of Grape Products. Natural Review, 68(11), 656- 670.

Vlientinck, A.J. Van, H.L. Totte, J. Lasure, A. Vanden, B.D. Rwangabo, P.C. and Mvukiyumwami, J. 1995. Screening of a hundred Rwandese medicinal plants for anti-microbial and antiviral properties. Journal of Ethno pharmacology, 46, 31- 47.

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LEAVES AND FRUIT SKIN OF BLACK YEMENI GRAPE

G. Al Askari [1]*, K. Khedid[2], A. Quasmaoui[2], R. Charof[2], Z. Mennane[2]

1. Department of Environmental Sciences - Faculty of Marine Sciences & Environment - University of Hodiedah - Yemen.
2. Department of Bacteriology Medical - National Institute of Hygiene – Rabat- Morocco.

Corresponding author e-mail: eco_galal@yahoo.com

ABSTRACT

Grape is one of the oldest fruits which consumed by human, and described as one of the three kings of fruits (grapes, dates and figs). This fruit has many uses, nutrition and therapeutic. The aim of this study was investigation the antimicrobial activity of leaves and skins extracts of one type of black Yemeni grapes. These extracts were used against 16 types of disease-causing bacteria and 8 types of skin disease-causing yeasts. The results showed that ethanol extract of grape skins had a good effect against all Gram positive bacteria tested in this study, and the maximum zone of inhibition was 20 mm against *Streptococcus pyogenes*, 19mm with MIC 12.5µg/ml. Also, strong antimicrobial activity was obtained against Gram negative bacteria and the maximum zone of inhibition was 18mm against *Yersinia enterocolitic* with MIC 12.5µg/ml, this extract also has excellent activity against yeasts. The ethanol extracts of leaves of grapes showed inhibition growth of most tested microorganisms with various degrees of inhibition. The results found that the grape extract was exhibited high antimicrobial activities against all tested Gram positive bacteria (12.5µg/ml), also was effective against 63% of Gram negative bacteria and the maximum inhibition zone diameter of this extract was 17 mm against *Klebsiella pneumoniae* with MIC 25µg/ml.

Key words: *Vitis vinifera* - Antimicrobial activity – Yemen.