



التأثير التثبيطي لبعض المواد الطبيعية على جرثومة الملوية البوابية

Helicobacter pylori

اميرة محمود الراوي^٢

٢ . جامعة الموصل/ كلية العلوم / قسم علوم الحياة

umdashwa@yahoo.com²

ايمان يوسف ذنون^١

١ . دائرة صحة نينوى

emanyousif64@yahoo.com¹

المخلص

هدفت الدراسة الى استخدام بدائل طبيعية لبيان تأثيرها التثبيطي على جرثومة الملوية البوابية *Helicobacter pylori* لقلّة سمية موادها ومرونتها العالية في الاستخدام وكفاءتها في المعالجة حيث تم التحري على الفعالية التثبيطية للمواد الطبيعية التالية (قشر الرمان، كركم، زنجبيل، المستكي، زيت المستكي وخل التفاح) وقياس التركيز المثبط الأدنى للمواد المثبطة للجرثومة. بينت النتائج ان Minimum Inhibition Concentration (MIC) لقشر الرمان (٠.٠٤٨٨٢٨١٢٥ ملغم / سم^٣) ويعد الاكثر تأثيرا من الكركم (٠.٠٩٧٦٥٦٢٥ ملغم / سم^٣) والزنجبيل (١.٥٦٢٥ ملغم / سم^٣) في حين لم يبدي كل من المستكي وزيت المستكي وخل التفاح تأثيرا على الجرثومة، لذا نستنتج انه يمكن استخدام المواد الطبيعية المؤثرة كمنتجات سائدة للعلاج من اجل تقليل مقاومة الجرثومة للمضادات الحيوية.



The inhibitory effects of some natural substances on *H.*

Pylori

Eman Yousif Thanoon AL-Noaimi¹, Amera Mahmood Al-Rawi²

1 Iraqi Ministry of health\ Nineveh

2 University of Mosul\college of Science\Biology Department

¹, umnashwa@yahoo.com ² emanyousif64@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to use natural alternatives to detect its inhibitory effect on *H. pylori* due to its low toxicity and flexibility in use as well as its efficiency in treatment. detection an the inhibitory activity of (ginger , apple vinegar , mastic (gum,oil) , pomegranate peel and curcumin) was done and Minimum Inhibition Concentration (MIC) was estimated. the results showed that the MIC of pomegranate peel (0.048828125) mg / cm³ so it is more efficient than curcumin (0.09765625) mg / cm³ and ginger (1.5625) mg / cm³ while there is no effect of mastic gum , mastic oil and apple vinegar on *H. pylori*.

We conclude that these natural substances may be used as treatment assistant products to reduce *H. pylori* resistance to antibiotics.

Keyword: *H.pylori* ginger , apple vinegar , mastic (gum,oil) , pomegranate peel and curcumin

(Introduction) المقدمة -1



عزلت جرثومة الملوية البوابية *H.pylori* أول مرة في عام ١٩٨٢ من قِبل العالمين الاستراليان مارشال Marshall و وارن Warren وتعد فاتحة لعصر جديد في علم الاحياء المجهرية الطبي للجهاز الهضمي [1] تستعمر الملوية البوابية *H.pylori* معدة ما يقارب نصف سكان العالم ٥٠% ومنتشرة في انحاء العالم اجمع وتكون نسبة تواجدها في الدول النامية ٧٠-٩٠% اما نسبة انتشارها في الدول المتقدمة ٢٥-٥٠% وانخفضت العدوى بالتغيرات المصاحبة للتنمية الصناعية. [2][3]

يوصف الشكل المظهري لخلايا هذه الجرثومة بظاهرة تعدد الاشكال فهي اما ان تكون عصوية، منحنية، واوية، على هيئة تشبه اجحة النورس، تأخذ شكل الحرف اللاتيني U ، كروية وفي الظروف الغير ملائمة تمارس ظاهرة التحول حيث تتحول من الاشكال العصوية الى الاشكال الكروية [4] يتراوح حجم الخلايا ما بين 0.5-1 مايكرومتر عرضا و3 مايكرومتر طولاً وهي سالبة لصبغة كرام [5] متحركة باحتوائها اسواط متعددة تتواجد في احدى القطبين، وتكون موجبة لاختبار انتاج انزيمي الكتاليز والاكسيداز وتطل اليوريا بانتاجها انزيم اليوريز [6][7]. محبة للهواء القليل Microaerophilic (٢-٥% O2 و٥-١٠% CO2 ثاني اوكسيد الكاربون و٠-١٠% H2 هيدروجين و83-87% N2 نتروجين) [8][9] تتصف مستعمراتها بصغر حجمها وتحديها وذات شفافية تشبه قطرة الماء وتحتاج رطوبة عالية بمعدل ٩٥-٩٨% ، لغرض عزلها يضاف مضاد حيوي للوسط لتثبيط باقي انواع الجراثيم [10][11].

تبقى الملوية البوابية احدى المسببات الجرثومية الاكثر شيوعا لإصابات الانسان حول العالم والمرتبطة بإحدى التهابات المعدة الحادة والمزمنة والقرحات المعدية والاثني عشري وسرطان المعدة وسرطان الانسجة اللمفية المرتبط بالأغشية المخاطية Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) وفي احداث اضطرابات وظيفية معدية وعسر الهضم [12][13].

تعد الاصابة بجرثومة *H.pylori* من الامراض المزمنة والتي تتطور لأمراض القرحة وسرطان المعدة وبسبب ظهور المقاومة للعلاج التقليدي بالمضادات الحيوية التي تستأصل الجرثومة وتأثيراتها الجانبية والكلفة المالية وخطورة تكرار الاصابة لذا التجا المختصين الى طرق معالجة جديدة تعتمد مصادر طبيعية كالنباتات وبروبايتك probiotic ومكملات غذائية والتي تعمل كبدائل طبيعية وبدون تأثيرات جانبية والتي تخدم كمنشطات للجهاز المناعي للجسم



[14][15] فضلاً عن أنها علاجات امنة وغير مكلفة ومؤثرة تستخدم ضد جرثومة *H.pylori* ذات مرونة في استخدامها الطويل وسميتها القليلة. [16][17]

2- مواد و ظرائق العمل (Materials and Methods)

تم عزل جرثومة *H.pylori* بطريقة الزرع الروتينية باستخدام الوسط الغذائي كولومبيا يوريا اكار المحور Modified Columbia Urea Agar (MCUA) بطروف محبة للهواء القليل Microaerophilic بدرجة حرارة 37 م ولمدة 3-5 ايام حسب طريقة [18] من الخزع النسيجية المستاصلة من المعدة من قبل طبيب اختصاص، اعتمدت الطرق المظهرية والكيموحيوية في تشخيص الجرثومة.

أختبرت الفعالية التثبيطية للمواد الطبيعية التالية (قشر الرمان، الكركم، زنجبيل، مستكي وزيت المستكي وخل التفاح) على نمو عزلات جرثومة *H.pylori* باستخدام طريقة الأنتشار بالأقراص وبالاعتماد على طريقة [19] اذ حضر المعلق الجرثومي من المستعمرات النامية النقية والفتية في 2 سم³ من الوسط السائل Tryptone soy broth وضبطت العكورة بالمقارنة مع الانبوب الرابع من انابيب ماكفر لاند القياسية (10⁸ CFU/cm³) [20] ونقل 0.1 سم³ من المعلق الجرثومي ولقح باستخدام ماسحة قطنية معقمة على وسط مولر هنتون يوريا اكار المحور Modified Muller – Hinton Urea Agar (M M-H UA) ثم تركت الاطباق تجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق، تم الحصول على المواد الطبيعية من الاسواق المحلية وسحقت في اداة سحق (هاون معقم) لتحويلها بشكل مسحوق للمواد الصلبة بعد ذلك وزعت أقراص من ورق الترشيح Whatmann No.1 بقطر 6 ملم مشبعة بالتركيز 100 ملغم/قرص من المواد الطبيعية المراد التحري عن تأثيرها على حيوية الجرثومة وتم تحضير التخفيف الاول بوزن 300 ملغم من المادة في 3 سم³ من الماء المقطر. وحضر ال- Minimum MIC Inhibitory Concentration لمواد قشر الرمان والكركم والزنجبيل إذ تم تحضير التخفيف منه وحسب ما جاء في التوصيات للجنة الوطنية للمعايير المختبرية السريرية [21].

حضرت التخفيف 100-50-25-12.5-6.25....0.78125 ملغم/سم³ وحضرت الأقراص المشبعة بهذه التراكيز للمواد الطبيعية باضافة 1 سم³ من المواد الى قنينة حاوية على 100 قرص معقم [22] او باضافة 13 مايكرو لتر على القرص من كل تخفيف [23] ثم ثبتت الاقراص بوساطة ملقط معقم على سطح الاطباق الملقحة وحضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24

ساعة وتم قياس اقطار التثبيط وحدد التركيز المثبط الادنى MIC الذي هو أعلى تخفيف للمضاد الحيوي يمنع نمو الجرثومة.

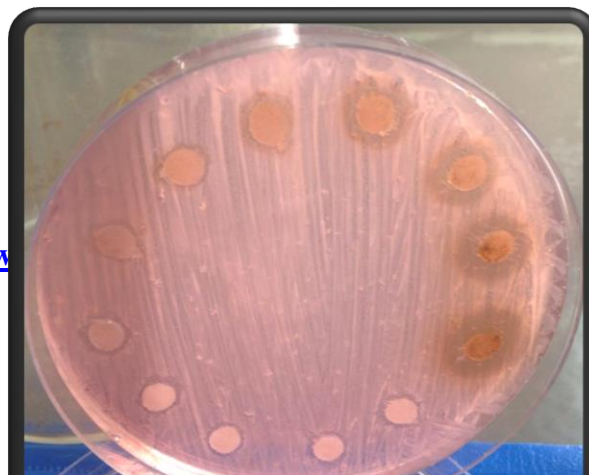
٣- النتائج والمناقشة (Results & Discussion)

* قشر الرمان

قدر التركيز المثبط الادنى MIC لقشر الرمان الذي اظهر تأثيراً تثبيطياً لجرثومة *H.pylori* باستخدام طريقة التخفيف بالأقراص حيث تبين ان التركيز المثبط الأدنى لقشر الرمان وكما موضح في الجدول (١) بلغ 0.048828125 ملغم/سم^٢ على جرثومة *H.pylori* وكما موضح في الصورة (١)، اتفقت هذه النتائج مع ماتوصلت اليه بدراسة [24] حيث بين أن إصابة جرثومة *H.pylori* بالتهاب معوي مزمن والذي يمكن ان يؤدي الى القرحة المعوية وسرطان معوي و ورم الغدد اللعابية فضلا على المشكلة المتزايدة لمقاومة المضادات الحيوية لجرثومة *H.pylori* لذا من الضروري البحث عن بدائل من مصادر نباتية وطبيعية وقدر التأثير التثبيطي لقشر الرمان خارج الجسم ضد جرثومة المعدة بطريقة الانتشار بالاقراص حيث اظهرت نتائج دراستهم التأثير التثبيطي عن طريق قياس متوسط قطر التثبيط من (١٦-٣٩) ملليمتر ومقارنته بالدراسة الحالية حيث بينت قطر التثبيط ١٨ ملليمتر في ١٠٠ ملغم / سم^٢ وبالمقابل ذكر [25] انه على الرغم من أن مستخلص قشور الرمان لم يبد فعالية تثبيطية ضد جرثومة *H.pylori* لكنه يستخدم لتقليل المقاومة للمضادات الحيوية لاستئصال الجرثومة .

الجدول (١): تراكيز MIC لقشر الرمان والكرم والزنجبيل

التسلسل	المادة	MIC
١	قشر الرمان	0.048828125 ملغم / سم ^٢
٢	كرم	0.09765625 ملغم / سم ^٢
٣	زنجبيل	1.0625 ملغم / سم ^٢





الصورة (١) : التأثير التثبيطي لقشر الرمان على جرثومة *H.pylori*

* الكركم

تم تقدير التركيز المثبط الأدنى MIC لمسحوق الكركم الذي أظهر تأثيراً تثبيطياً ضد جرثومة *H.pylori* باستخدام طريقة التخفيف بالأقراص حيث تبين ان التركيز المثبط الأدنى للكركم وكما موضح من الجدول (١) بلغ 0.09765625 ملغم/سم^٢ وهي مقاربة لنتائج [26] التي بلغت $0.050-0.005$ ملغم/سم^٢ والذي يؤكد التأثير التثبيطي للكركم لامتلاك الكركم امكانية علاجية هائلة ضد جرثومة *H.pylori* وقد أشير إلى خصائصه ضد الالتهابات وترميم واعادة اصلاح الاضرار داخل المعدة واستخدامه كعلاج بديل للمضادات الحيوية بسبب انتشار المقاومة التي اشارت اليها الدراسات حيث تتراوح بين ١٠ – ٩٠ % نسبة المقاومة للمضاد الحيوي Metronidazole ومن ١٥-٠ % للمضاد الحيوي Clarithromycin فضلاً عن الاستخدام السيء والعشوائي للعلاج والاثار الجانبية له وكلفته العالية وعوامل اخرى تساهم في عدم تأثير المضادات الحيوية مما أدى إلى زيادة الحاجة الماسة لتطوير استراتيجيات للمعالجة الجديدة لإصابة بجرثومة *H.pylori*.

* الزنجبيل

قدر التركيز المثبط الأدنى MIC لمسحوق الزنجبيل الذي اظهر تأثيراً تثبيطياً على جرثومة *H.pylori* باستخدام طريقة التخفيف بالأقراص واطهرت النتائج ان التركيز المثبط الأدنى لمسحوق الزنجبيل وكما موضح في الجدول (١) بلغ 1.5625 ملغم / سم^٢ والذي يؤكد التأثير التثبيطي للزنجبيل وعند مقارنة هذه النتائج مع نتائج دراسة [27] حيث اظهر الزنجبيل فعالية اقوى وبلغ تركيز الـMIC بمعدل $0.78 - 12.5$ مايكروغرام/ سم^٢ في دراستهم وأشير



إلى أن للزنجبيل له عدة أنشطة بايولوجية وتأثيرات مضادة للاكسدة والالتهابات وبالتالي فإنه يعمل على إزالة جرثومة *H.pylori* والقضاء عليها وكذلك أكد [28] الدور الفعال والتثبيطي للزنجبيل في تثبيط نمو جرثومة *H.pylori* وخاصة السلالات التي تمتلك عامل الضراوة CagA.

* خل التفاح

لم يبدي خل التفاح المأخوذ من الاسواق المحلية (محل عطارية / مول تجاري / محلات بيع طرشي) اي تأثير تثبيطي ضد جرثومة *H.pylori* وعلى الرغم من أن حامض الخليك CH_3COOH هو المكون الرئيسي للخل إلا أنه تم التحري عن تأثيره على الجرثومة بهدف المقارنة مع تأثير الخل، وابدى الحامض فعالية تثبيطية ضد جرثومة *H.pylori* بدلالة منطقة التثبيط والتي بلغت (٣٠) ملليمتر.

جاءت هذه النتيجة مطابقة لدراسة [29] حيث لا يوجد اي تأثير من قبل خل التفاح على معالجة واستئصال جرثومة *H.pylori*. وبالمقابل اشارت نتائج الدراسة التي أجراها [١٦] إلى اختفاء الاعراض الممرضة الناجمة عن جرثومة *H.pylori* عند استخدام خل التفاح وفي دراسة اخرى [30] كشف عن نسبة النجاح للمعالجة بلغت ٩١% ضد الجرثومة ان الاختلاف الواسع في نسبة التأثير في الدراسات قد يعود الى النوع المستخدم من خل التفاح ومدى مقاومة عزلات الجرثومة وسعة انتشار مقاومتها، مقارنة بنسبة نجاح للمضادات الحيوية التي بلغت ٨٣%.

* المستكي

لم يبدي مسحوق المستكي وزيت المستكي اي تأثير تثبيطي ضد جرثومة *H.pylori* وأشار [31] الى اختلاف الدراسات في نتائج تأثير المستكي اوزيت المستكي حيث توصل قسم منها الى تأثير المستكي داخل المختبر (*In vitro*) على جرثومة *H.pylori* بينما في داخل الجرذان المصابة بالجرثومة (*In vivo*) لم يكن هناك اي تأثير على جرثومة *H.pylori*. و عند المقارنة بين تأثير MIC للمستخلصات قيد الدراسة تبين ان قشر الرمان والكرم أفضل من الزنجبيل في الفعالية المضادة على جرثومة *H.pylori* ويعد MIC بشكل عام أكثر طرق التحري المختبرية كفاءة لتحديد النشاط ضد الميكروبي.



(References) المصادر

- [1] N. Ahmed, (2005)." *23 years of the discovey of Helicobacter pylori: is the debate over?*" Annals of clinical microbiology and antimicrobials 4(17):1-3.
- [2] Willey; Sherwood and Woolverton, (2014)." *Prescott's Microbiology*". 9th edition. Mc Graw-Hill.Companies,Inc,USA.
- [3] B. E. Dunn; H. Cohen and M. J. Blaser, (1997)." *Helicobacter pylori*". American Society for Microbiology 10(4): 720–741.



- [4] S. Percival; R. Chalmers; M. Embrey; P. Hunter; J. Sellwood; P. Wyn-Jones, (2004). "*Microbiology of waterborne diseases*". 1st ed. Elsevier academic press.UK.
- [5] R. Bhatia and R. L. Lchhpujani, (2008). "*Essentials of Medical Microbiology*". 4th edition. Jaypee brothers medical publishers (p) LTD. : 295 – 296.
- [6] G. F. Brooks ; K. C. Carroll ; J. S. Butel ; S. A. Morse and T. A. Mietzner, (2013). "*Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*". 26th edition. *Mc Graw-Hill Lange*.Companies,Inc,USA
- [7] R. J. Owen, (1998). "*Helicobacter – species classification and identification*". British medical bulletin 54(1): 17 – 30.
- [8] H. L. T. Mobley; G. L. Mendz and S. L. Hazell, (2001). "*Helicobacter pylori: Physiology and Genetics*". Washington (DC): ASM Press.USA.
- [9] R. Ansorg; G. V. Recklinghausen; R. Pomarius and E. N. Schmid, (1991). "*Evaluation of techniques for isolation, Sub cultivation, and preservation of Helicobacter pylori*". Journal of clinical microbiology : 51 – 53.
- [10] K. C. Carroll; S. A. Morse; T. Mietzner and S. Miller, (2016). "*Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*". 27th edition. Mc Graw- Hill education Lange.USA.
- [11] C. S. Goodwin; E. D. Blincow; J. R. Warren; T. E. Waters; C. R. Sanderson and L. Easton, (1985). "*Evaluation of cultural techniques for isolating Campylobacter pyloridis from endoscopic biopsies of gastric mucosa*". Journal of clinalic pathology 38: 1127-1131.



- [12] G. Sachs and D. R. Scott, (2012). "***Helicobacter pylori: Destruction or Preservation***". F 1000 medicine reports 4(7): 1-5.
- [13] M. J. M. Buckley and C. A. O'morain, (1998). "***Helicobacter biology– discovery***". British medical bulletin 54 (1): 7– 16.
- [14] G. Ayala; W. I. Escobedo-Hinojosa; C. F. Cruz-Herrera and I. Romero, (2014). "***Exploring alternative treatments for Helicobacter pylori infection***". World Journal Gastroenterol 20(6):1450 – 1469.
- [15] A. R. Gaby, (2001). "***Helicobacter pylori eradication: are there alternatives to antibiotics?***". Alternative medicine review 6(4): 355-366.
- [16] A. M. Nasrat; S. A. Nasrat; R. M. Nasrat, and M. M. Nasrat, (2015). "***An Alternate Natural Remedy for Symptomatic Relief of Helicobacter Pylori Dyspepsia***". General Medicine 3(4):1-5.
- [17] B. V. Bonifacio; M. A. S. Ramos; P. B. silva and T. M. Bauab, (2014). "***Antimicrobial activity of natural products against Helicobacter pylori a review***". Annals of clinical microbiology and antimicrobials : 13- 54.
- [18] A. Al-Sulami; H. S. Al-kiat; L. K. Bakker and H. Hunoon, (2008). "***Primary isolation and detection of Helicobacter pylori from dyspeptic patients : a simple rapid method***". La revue de santé de la mediterranee orientale 14(2): 268-275.
- [19] A. W. Bauer; W. A. M. Kirbay; J. S. Sherris and M. Turk, (1966). "***Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method***". Am. J. Clin. Pathol 45:493-496.
- [20] C. McNulty; R. Owen; D. Tompkins; P. Hawtin; K. McColl; A. Price; G. Smith and L.Teare, (2002). "***Helicobacter pylori susceptibility testing by disc diffusion***". Journal of Antimicrobial chemotherapy 49: 601-609.



- [21] NCCLS, (2004). *"Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing: Fourteenth Informational supplement"* 24(1):136-138.
- [22] S. K. Waage and P. A. Hedin, (1985). *"Quercetin-3-O-galactosyl (1-6) glycoside, a compound activity"*. Phytochem 24: 243-245.
- [23] B. R. Ghalem and B. Mohamed, (2009). *"Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of Pistacia vera L"*. African Journal of pharmacy and pharmacology 3(3):92-96.
- [24] M. Hajimahmoodi; M. Shams-Ardakani; P. Saniee; F. Siavoshi; M. Mehrabani; H. Hosseinzadeh; P. Foroumadi; M. Safavi; M. Khanavi ; T. Akbarzadeh; A. Shafiee and A. Foroumadi, (2011). *"In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against Helicobacter pylori"*. Natural product research 25(11): 1059-1066.
- [25] H. Saffari; M. Saffari; A. Arj and A. H. E. Abadi, (2012). *"Comparing the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract with common antibiotics used on Helicobacter pylori isolated from biopsies of patients referring to Kashan Shahid-Beheshti hospital"*. Journal of kashan university of medical sciences 16(5): 426 – 432.
- [26] R. De; P. Kundu; S. Swarnakar; T. Ramamurthy; A. Chowdhury; G. B. Nair and A. K. Mukhopadhyay, (2009). *"Antimicrobial activity of curcumin against Helicobacter pylori isolates from India and during infections in mice"*. Antimicrobial agents and chemotherapy 53(4): 1592-1597.
- [27] K. Gaus; Y. Huang; D. A. Israel; S. L. Pendiland; B. A. Adeniyi and G. B. Mahady, (2009). *"Standardized ginger (zingiber officinale) extract reduces bacterial load and suppresses acute and chronic inflammation in*



Mongolian gerbils infected with *cagA*⁺ *Helicobacter pylori*". Pharm. boil
47(1): 92-98.

[28] G. B. Mahady; S. L. Pendiand; G. S. Yun; Z. Lu and A. Stoia, (2003). "***Ginger (zingiber officinale roscoe) and the gingerols inhibit the growth of cag A+ strains of Helicobacter pylori***". Anticancer res 23(0): 3699-3702.

[29] Z. V. Shariatpanahi; N. Sadeghifard and SH. Shahbazi, (2014). "***Effect of proton pump inhibitor based triple therapy with apple cidar vinegar on Helicobacter pylori eradication***". Galen medical journal 3(2):90-94.

[30] A. M. Nasrat; S. AM. Nasrat; R. M. Nasrat and M. M. Nasrat, (2015). "***A comparative study of natural eradication of Helicobacter pylori vs. antibiotics***". General medicine 1(1):1-4.

[31] M. F. Loughlin; D. A. Ala aldeen and P. J. Jenks, (2003). "***Monotherapy with mastic does not eradicate Helicobacter pylori infection from mice***". Journal of antimicrobial chemotherapy 51: 367-371.