P- ISSN 1991-8941 E-ISSN 2706-6703 (JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2018,12 (1) :01-20

دراسة تأثير زيت السمسم في تثبيط قدرة بكتريا Klebsiella sp. المسببة لخمج المجاري البولية في الالتصاق بالخلايا الطلائية

ليث مصلح نجيب , هاله مهدي حمد , طاهر خميس ياس , عبد الباسط محمد جاسم , سجى عبد الحكيم فليح
كلية العلوم/ جامعة الانبار

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: 2017/12/12
تاريخ القبول: 2018/8/12
تاريخ النشر: 27/ 11 / 2018
DOI: 10.37652/juaps.2022.171506

الكلمات المفتاحية:
زيت السمسم المعقم،
الفلاتر المعدنية،
عينات ادرار،
مثبط لنمو،
الخلايا الطلائية.

الخلاصة:
حضرت ثلاثة تراكيز من زيت السمسم المعقم بواسطة الفلاتر المعدنية والمخفف بالماء كالاتي (25%, 50%, 75%) وكذلك ثلاثة تراكيز من المستخلص ذاته التي خففت بالكحول المخفف بتركيز 50% وكالاتي (25%, 50%, 75%) وتم اختبار تاثيرها التثبيطي على العزلة البكتيرية المستخدمة Klebsiella sp. المعزولة من عينات ادرار نساء صحيحات. اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان التركيزين 50% المخفف بالماء 50% المخفف بالكحول اكثر تاثير مثبط لنمو العزلة البكتيرية من خلال قياس قطر دائرة التثبيط الناتج في اطباق بتري وكذلك من الفحص الميكروسكوبي وملاحظة قلة التصاق البكتيريا بالخلايا الطلائية وذلك بمعدل (4±0.1) و (7±0.3) على التوالي عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$.

المقدمة:

بكتريا Klebsiella sp. هي أحد أفراد العائلة المعوية, عصيات قصيرة سالبة لصبغة غرام غير متحركة تتميز بامتلاكها طبقة كثيفة من متعدد السكريات, تحيط الخلية من الخارج تدعى بالغلاف, تتواجد هذه البكتريا في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان وبأعداد قليلة مقارنة مع أفراد العائلة المعوية الأخرى (Baron, 1996). ازداد الاهتمام بهذه الجرثومة نظرًا لزيادة نسبة الإصابات الناتجة عنها, ولمقاومتها العالية للمضادات الحيوية بما فيها المضادات واسعة الطيف (chris et al, 2017).

وتعتبر مقاومة المضادات الحيوية من الامور الشائعة بين أفراد العائلة المعوية حيث انها عادًة ما تمتلك بلازميدات خاصة تشفر لمقاومة مجاميع مختلفة من المضادات الحيوية يطلق عليها بلازميدات المقاومة R-Plasmids, أو عوامل المقاومة R-Factors (Ramirez et al, 2014). وتعد بكتريا Klebsiella من اكثر افراد العائلة المعوية مقاومة للمضادات الحيوية, مما جعلها المسؤولة الاساسية عن تفشي العدوى التي تحدث في المستشفيات. تظهر الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية من خلال آليات عدة منها الانتخاب Selection والتكيف Adaptation والطفرة Mutation. ويعتبرالتحطيم الانزيمي للمضاد الحيوي من الآليات التي تستخدمها هذه بكتريا Klebsiella sp. حيث تمتلك انزيمات البيتا-لاكتاميز التي تعمل على

* Corresponding author at College of science - University of anbar
E-mail address: hala.mahdi.hh@gmail.com

شطر حلقة البيتا-لاكتام لمضادات البنسلينات والسيفالوسبورينات وتعطلها عن العمل (Granier et al, 2002).

وقد طورت البكتريا المعوية, ونخص بالذكر منها بكتريا Klebsiella sp., خلال السنوات الماضية مجموعة اكثر فعالية من هذه الانزيمات تدعى انزيمات البيتا-لاكتاميز واسعة الطيف Extended Spectrum β-Lactamases ويشار لها اختصارًا ب ESBLs. حيث تعمل هذه الانزيمات على تحليل مضادات الجيل الثالث للسيفالوسبورينات(River, 2001) كما ثبت ان بأمكان هذه الجرثومة نقل صفة المقاومة لمضادات الجيل الثالث للسيفالوسبورينات والمضادات الاخرى الى غيرها من الانواع وذلك من خلال البلازميدات.

تمتاز بكتريا Klebsiella بامتلاكها عوامل ضراوة تمكنها من الأختزال والتضاعف داخل جسم المضيف وأهم هذه العوامل هي المحفظة التي تمكنها من الأفلات من البلعمة ومقاومتها لعوامل المصل القاتل للبكتريا يجعلها أكثر أنتشارا وأشد ضراوة، ان بكتريا Klebsiella الطافرة الفاقدة للمحفظة تكون اقل ضراوة للفئران نتيجة لزيادة البلعمة والقتل. كما انها تنتج كميات كبيرة من متعدد السكريد المحفظي مما يساعد ها لتكوين غشاء حيوي Biofilm الذي يتداخل مع اختراق ودخول المضادات الحيوية (Schembri, 2005), وفي الاونة الاخيرة ارتفع معدل الوفيات الناتجة عن اصابات بكتريا Klebsiella مما يدل على ان العلاج الحالي غير مناسب لهذه البكتريا نظرا لزيادة مقاومتها للمضادات الحيوية المشفرة من قبل البلازميدات مما دفع الحاجة الى ايجاد وسائل وقائية وعلاجية بديلة. ويعد التهاب المجاري البولية Urinary Tract Infection من أكثر الأمراض الالتهابية البكتيرية شيوعا ويكتسب هذا المرض من المستشفيات Nosocomial Infection كما يكتسب من المجتمع Community-Acquired Infection. هذا وتعد بكتريا Klebsiella من اهم الانواع الميكروبية المسببة لخمج المجاري البولية (Flores-Mireles et al, 2007).

ومن عوامل الضراوة الاخرى التي تمتلكها البكتريا هي مكونات سطح الخلية من غير المحفظة التي تمنع حدوث عملية البلعمة ومنها بروتين M والاهداب Pili تتم بواسطتها عملية الالتصاق بخلايا الأنسجة، لتثبت نفسها فتقاوم وسائل دفاع الجسم مثل عمليات الغسل والطرد .وتعد عملية الالتصاق هي أولى خطوات إحداث المرض وبدونها لا يتمكن الميكروب من الاستقرار واحداث المرض بواسطة عوامل الضراوة الأخرى (Maroncle et al, 2002).

وقد حظيت دراسة عوامل الالتصاق بأهمية في العديد من الأبحاث خاصة منذ عام 1988 لإدراك الباحثين لأهمية العلاقة بين أعضاء الالتصاق، والقدرة المرضية, فقد وجد أن هناك أنواع مختلفة من عوامل الالتصاق التي لها ارتباط قوي بامراضية البكتريا مثل P-fimbriae (Chen et al, 2011), وفي دراسة جينية عن عامل الالتصاق G adhesion, تبين ان تواجده بالخلايا البكتيرية عن طريق شفرة جينية تتمثل في صورة مجموعة جينية من جينات Prs و Pap. وقد تمت هذه الدراسة على 257 عزلة من البكتريا معزولة من مرضى مصابين بالتهاب مثانة حاد او متكرر. كذلك سجلت اعضاء الالتصاق F1C fimbrial, S fimbrial المتشابهة جينيا في البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية (Hornick et al, 1995). لذا فإن التصاق الخلايا البكتيرية على الغشاء المخاطي للمثانة تعتبر خطوة حاسمة وخطيرة في إمراضية البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية, وان وجود عوامل الالتصاق شرط أساسي لتثبيت البكتريا ببطانة المجرى البولي للعائل واستجابة الاخير للاصابة.

أما بالنسبة لتأثير المضادات على عوامل الالتصاق P-fimbriae فقد درس تأثير المضاد الحيوي ofloxacin في علاج

إصابة المسالك البولية، وقدرته على إضعاف شراسة الخلايا البكتيرية أو التداخل بين الخلايا البكتيرية والعائل، أو قدرته على قتل الخلايا، ولوحظ أنه بعد اليوم السادس من العلا ج بالمضاد أن الخلايا البكتيرية فقدت زوائد الالتصاق ال P–fimbriaeادت الى تناقص معدل التصاق البكتريا (Lebeaux et al, 2014) .

اصبحت مقاومة المضادات الحيوية من أكبر المخاطر التي تحيق اليوم بالصحة العالمية والأمن الغذائي والتنمية. والتي يمكن أن تُلحِق الضرر بأي شخص بصرف النظر عن السن وبلد الإقامة. تحدث مقاومة المضادات الحيوية بشكل طبيعي، ولكن تتسارع بفعل إساءة استعمالها عند إعطائها للإنسان والحيوان. ونتيجة لذلك، تصبح الأدوية غير ناجحة وتصمد حالات العدوى في الجسم بزيادة خطر انتقالها إلى أشخاص آخرين. ولهذ ازداد الاهتمام حاليا بالنباتات الطبية نتيجة لفعاليتها واثارها الجانبية القليلة وكلفتها الرخصية. وتعد دراسة المستخلصات النباتات مهمة لاثبات فعاليتها وميكانيكة عملها ومعرفة تاثيرها السمي, وقد وافقت منظمة الصحة العمالية (WHO) على استعمال النباتات الطبية لعلاج مختلف الامراض (WHO . 2007), اذ تبين ان 80 % من سكان العالم معظمهم من البلدان النامية لا تزال تعتمد على الطب التقليدي لعلاج الامراض الشائعة (WHO, 2009). تمتاز النباتات الطبية باحتوائها مركبات حيوية فعالة, وفي السنوات الاخيرة كُثفت البحوث حول الزيوت الطيارة والثابتة لفعاليتها كمضادات ميكروبية فمعظم مكونات الزيوت التي درست كانت لها فعالية ضد الميكروبات فالمركبات الاساسية Thymol, Carvacrol, Eugenol and Linalool لمعظم الزيوت النباتية تبين بانها تمتلك طيفا واسعا من الفعالية ضد الميكروبات ومنها ما هو قاتل للبكتيريا او مثبط حسب التركيز المستخدم(Bassolé and Juliani, 2012). وتعد الية عمل تلك المركبات غير واضحة الا ان هناك دراسات تشير بانها تدخل الخلية وتتداخل مع عملية الايض الخلوي ,فيما بينت دراسات اخرى بان الفينولات ومنها Carvacrol and Eugenil تؤثر في الغشاء الخلوي وتصل الى الموقع الفعال في الانزيم (De Martino, 2009). من جهة اخرى ذكر (Mith et al, 2014) ان العديد من المواد الكيمائية النباتية المعروفة مثل القلويدات, الفلافونيدات, الصابونين والبوليفينول لديها تاثير كابح على مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة وقد تم استخدامها كادوية.

ازدادت في الآونة الأخيرة الإصابات البكتيرية بشكل ملحوظ ويعود ذلك الى خصائص البكتيريا الممرضة او ما يسمى بعوامل الضراوة مثل تحمل الميكروب للظروف البيئية القاسية والتنقل من عائل لآخر وتحمل الميكروب وسائل دفاع الجسم لفترة من الزمن فضلا عن قدرته على تحطيم أنسجة الجسم أو تعطيلها .اما عن أهم عوامل إحداث المرض, الالتصاق بمنطقة الدخول Adhesion attachment هي أولى خطوات إحداث المرض (Moorthy et al, 2016), اما غزو الأنسجة Invasiveness, فيقصد بها مقدرة الميكروب على الانتشار داخل الجسم ومقدرته على هدم وتعطيل وسائل الدفاع، وذلك من خلال إفرازه السموم ومنها السموم خارجية، exotoxins والداخلية endotoxins.السموم الخارجية عبارة مواد بروتينية سامة، تتأثر بالحرارة، تحث الجسم على إنتاج مضاد للسم antitoxin, اما السموم الداخلية فهي مواد عديدة السكاكرالدهنية lipopolysaccharide من مكونات جدار الخلية الخارجي للبكتيريا السالبة لجرام، تتحرر عند موت الخلية البكتيرية أو تحللها، لا تتأثر بالحرارة، غير نوعية ومن امثلتها السم الداخلي للسالمونيللا، السم الداخلي للنايسيريا السحائية (Ramachandran, 2014). ومن عوامل الاخرى الإنزيمات, هي مواد بروتينية تفرزها البكتيريا تحطم الأنسجة مما يسهل انتشار البكتيريا في الجسم، ومن امثلتها انزيم هيالورونيديز : يفكك حمض الهيالورونيك

المكون الأساسي للأنسجة الضامة فيساعد على انتشار البكتيريا تفرزه : المكورات العنقودية الذهبية, وانزيم ستريبتوكاينيز : يفكك الفيبرين فيمنع محاصرة البكتيريا, وأنزيم المحلل للحمض الريبي النووي المنقوص الأكسجين Deoxyribonucease, فضلا عن أنزيم الكواجيوليز ,أنزيم التخثر التجلط يخثر بلازما الإنسان والأرنب ويغلف المكورات العنقودية الذهبية مانعًا بذلك عملية البلعمة (Pilo et al, 2005).

يعتبر السمسم نبات عشبي حولي ذو اوراق سفلية متقابلة وعلوية متبادلة وازهاره ابطية مفردة الكاس لها خمسة فصوص, والمبيض علوي له اربع غرف تكون ثمرة كبسولية قائمة, والغرف الاربع تكون معبأة ببذور سطحية بيضاء او سوداء مسطحة (Asokan, 2008). تتكون بذور السمسم بصورة اساسية من زيت السمسم الذي يكون غنيا بالاحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة وان الاحماض الدهنة غير المشبعة تعمل على تقليل الاكسدة, وبالتالي تقليل اصابة انسجة الفم, بالاضافة الى احتوائه على مركبات فلافونيدية هي Sesamolin, Sesamol, Sesamin والتي لها خصائص مضادة للاكسدة, كما انها تحفز عمل فيتامين E (Sankar et al, 2005). لزيت السمسم العديد من الفوائد في حياتنا اليومية, حيث يحتوي على نسبة عالية من Omega 3 اضافة الى المعادن كالحديد والنحاس والكلس والسلينيوم والفوسفات. وقد استخدم على نطاق واسع لمنع التسوس ونزيف اللثة والرائحة الكريهة للفم وجفاف الحلق, كما ان له نشاط ضد ميكروبي ضد البكتريا المسببة Strepotococcus mutans, اذ يحتوي على كمية كبيرة من الاحماض الدهنية غير المشبعة. ومن جهة اخرى تبين ان استخدامات زيت السمسم العلاجية تكمن في قدرته على تقليل الكوليستيرول في الدم, ونقص السكر ومضادات الاكسدة والشروع في التئام الجروح.

ونظرا لاهمية بكتريا Klebsiella من حيث انتشارها وقدرتها العالية لاستيطان السطوح الطلائية وسطوح العدد الطبية ومقاومتها للمضادات الحيوية المختلفة جاءت هذه الدراسة لتهدف الى دراسة تاثير زيت السمسم في قدرة بكتريا Klebsiella, المسببة لالتهاب المجاري البولية, على الالتصاق في الخلايا الطلائية.

المواد وطريقة العمل

عزل وتشخيص البكتريا

تم الحصول على عزلة بكتريا الكليبسلا Klebsiella معزولة من مختبرات كلية العلوم – جامعة بغداد – المختبر البيئي, مصدر عزلها مثبت من اشخاص مصابين بالتهاب المجاري البولية مشخصة جينيا حسب الطريقة الواردة في (Cindy et al, 2011).

الاوساط التحضيرية

وسط الماكونكي الصلب MacConkey Agar

استعمل لتشخيص بكتريا Klebsiella ومعرفة قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز. وقد حضر حسب التعليمات المرفقة من الشركة المجهزة للوسط (LAB M, United Kingdom).

وسط المغذي الصلب Nutrient Agar

استعمل هذا الوسط لتنشيط وحفظ العزلات, ولاختبار حساسية البكتريا ضد زيت السمسم. وقد حضر حسب التعليمات المرفقة من الشركة المجهزة للوسط (HIMEDIA, INDIA).

وسط المرق المغذي Nutrient Broth

استعمل هذا الوسط لتنشيط وحفظ العزلات. ولاختبار قدرة زيت السمسم في تثبيط التصاق البكتريا في الخلايا الطلائية. وقد حضر حسب التعليمات المرفقة من الشركة المجهزة للوسط (LAB M, United Kingdom).

المحاليل

تحضير محلول الفسلجي Phosphate buffer solution

تم تحضير محلول الملحي الفسلجي من خلال تذويب 0.144 من KH2PO4g و 0.795g من Na2HPO4 و 9g من NaCl في واحد لتر من الماء.

تحضر مستخلص زيت السمسم استخلص الزيت باستخدام جهاز سكسوليت soxhlet حيث وضع من10 غم من مسحوق بذور السمسم مع 150 مل من البترواليوم ايثر في الجهاز بدرجة 80 ولمدة 6 ساعات وازيل البترواليوم ايثر تحت ضغط منخفض وبدرجة حرارة اقل من 40 درجة (Zhou et al.,2009) حضر المحلول القياسي الخزين stock solution للمستخلص الخام بتركيز 0.2 مليلتر /مليلتر وذلك باضافة 2 مليلتر من لزيت في 10 مليلتر من DMSO وعقم المستخلص بمرشحات قطر فتحاتها 0.22 مايكرون.

اختبار حساسية العزلات للمضادات الحياتية

اجري اختبار الحساسية باستخدام المضادات الحياتية (Ciprofloxacin, clarithromycin, cefotaxime, Amoxicilin, Cefixime, Ampicilin, Penicilin) والمصنعة في شركة Bioanalyse وقرات النتائج بقياس اقطار التثبيط حول كل قرص من اقراص المضادات الحياتية.

تحضير تخافيف المستخلص النباتي (زيت السمسم)

تم تحضير ثلاث تخافيف من المستخلص النباتي (25% ,50% ,75%) مخفف مع الماء وتم تحضير ثلاثة تخافيف من المستخلص ذاته مع الكحول المخفف 50% وكالاتي (25% ,50% ,75%).

تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي استخدمت طريقة الانتشار بالحفر وفقا لما جاء في (Shahidi, 2004) وكالاتي اخذ 1 مل من مزرعة سائلة للعزلة وزرعت على وسط Nutrient agar ونشرت باستخدام الناشر Swap ثم عملت حفر بقطر 6 ملم بواسطة بواسطة ماصة معقمة وبمعدل حفرة لكل طبق في مركزه . بعدها وضع 20 مايكروليتر من التراكيز (25% ,50% ,75% مخفف بكحول) و (25% ,50% ,75% مخفف بالماء) ووضع 20 مايكروليتر من المحلول الملحي الفسلجي Phosphate Buffer Solution في الحفرة الوسطية كمعاملة سيطرة حضنت الاطباق بدرجة حراره 37 لمدة 24 ساعة وقرات النتائج بقياس قطر التثبيط حول كل حفرة بالملي متر.

عزل الخلايا الطلائية

جمعت عينات ادرار من نساء صحيحات ووضعت في انابيب اختبار معقمة وتم طردها مركزيا وبسرعة 1000 دورة/ دقيقة لمدة عشر دقائق واهمل الرائق وغسل الراسب الحاوي على الخلايا الطلائية بدارئ الفوسفات الملحي PBS لثلاث مرات ثم علقت بمقدار 2 مل منه لكل انبوبة اختبار.

اختبار الالتصاق البكتيري بالخلايا طلائية

اجريت وفقا لطريقة Lomberg et al., (1986) كما يلي:

1- مزج في انابيب اختبار معقمة 0.5 مل من مزروع بكتيري لبكتريا الكلبسيلا في وسط المرق المغذي Nutrient broth مع 0.5 مل من عالق الخلايا الطلائية المحضر اعلاه وعدت هذه الانابيب كمعاملة سيطرة موجبة ثم اضيف في انابيب اختبار اخرى نفس الحجم من البكتيريا وخلايا الطلائية فضلا عن 0.5 مل من تراكيز المستخلص النباتي (25% ,50% ,75%) المخفف بالماء ولكحول وعمل مكررين لكل انبوبه وحضنت الانابيب بحرارة 37 درجة لمدة 60 دقيقة مع تحريك الانابيب كل 10 دقائق.

2- اضيف الى الانابيب السابقة بعد نهاية الحضن حجم مساوي من دارئ الفوسفات الملحي PBS ونبذت الانابيب مركزيا بسرعة 1000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقاق للتخلص من الخلايا بكتيرية غير الملتصقة.

3- اعيد تعليق الراسب بحجم الدارئ السابق نفسه.

4- حضرت شرائح زجاجية نظيفة ووضع عليها 200 مايكروليتر باستخدام الماصة دقيقة ثلاث مكررات لكل تخفيف تركت لتجف وصبغة بصبغة كرام.

5- فحصت الشرائح بالعدسة زيتية تحت المجهر الضوئي لملاحظة الالتصاق من عدمه (الصورة رقم 1)

6- حضرت شرائح السيطرة السالبة والمتمثلة بالخلايا طلائية فقط

7- ثبتت النتائج بحساب عدد الخلايا طلائية لكل شريحة زجاجية ثم حسب معدل الالتصاق بالاعتماد على هذا القانون:

معدل الالتصاق = مجموع البكتريا الملتصقة / مجموع الخلايا طلائية

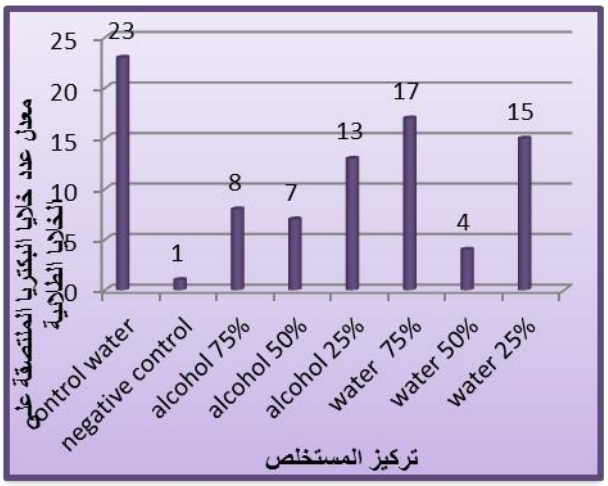
التحليل الاحصائي

تم اجراء التحليل الاحصائي من خلال توظيف البرنامج التحليل الاحصائي SPSS الاصدار الثامن عشر, وتمت المقارنة بين المتوسطات باستعمال طريقة LSD.

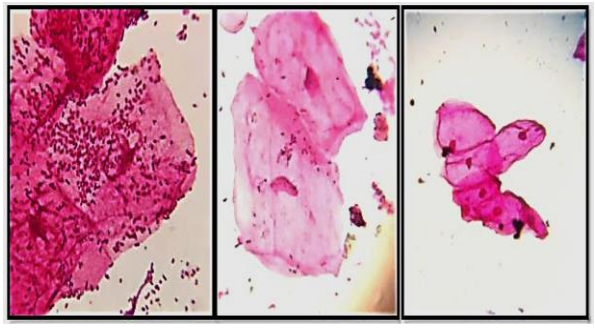
النتائج والمناقشة

وفقا لنتائج اختبار تاثير المستخلص النباتي (زيت السمسم) والموضحة في الجدول رقم 1 (الملحق) نجد ان معدل التصاق البكتريا في الخلايا الطلائية انخفض انخفاضا معنويا مقارنة بمجموعة السيطرة والتي عوملت بالماء المعقم فقط عند مستوى احتمالية $p\leq0.05$, وقد كان تركيز (50 %) المخفف بالماء اكثر تثبيطا لالتصاق بكتريا الكليبسلا بالخلايا الطلائية وذلك بمعدل (4±0.1) خلية بكتيرية لكل خلية طلائية واحدة, في حين ان اقل تثبيط كان عند تركيز 75% والمخفف بالماء ايضا بمعدل (17±1.28) خلية بكتيرية لكل خلية طلائية. لاحظ الشكل رقم (1). اظهرت النتائج تفاوتا في معدل التصاق بالخلايا الطلائية بين التراكيز المختلفة وباختلاف المذيب (لاحظ الصورة رقم 1), حيث لوحظ انخفاض معدل الالتصاق انخفاضا معنويا عند تركيز 75% من الزيت المخفف بالكحول وبمعدل (8±0.42) والمخفف بالماء بمعدل (17±1.28) مقارنة بمجموعة السيطرة. كما انخفض معدل الالتصاق عند التركيز 50% من الزيت المخفف بالكحول وبمعدل (7±0.3) والمخفف بالماء بمعدل (4±0.1) (وكان الاكثر تثبيطا) مقارنة بمجموعة السيطرة, اما عند التركيز 25% من الزيت المخفف بالكحول فقد انخفض الالتصاق بمعدل (13±1) اما المخفف بالماء فكان المعدل (15±1) مقارنة بمجموعة السيطرة, وقد كانت الفروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$). (الشكل رقم 1).

عند مقارنة عينات السيطرة الحاوية على الخلايا الطلائية والبكتيرية فقط من دون المستخلص النباتي مع العينات الحاوية على اعلى تراكيز مثبطه للبكتريا من هذا المستخلص كما موضح في الجدول لوحظ ان عينات السيطرة كانت حاوية على عدد كبير من الخلايا البكتيرية الملتصقة على الخلايا الطلائية مقارنة بتلك الحاوية على المستخلص حيث كان عدد البكتيريا اقل. وبالتالي فان هذه النتائج تؤكد ما توصل اليه Yarnell,1997 بان مجموعة من مستخلصات النباتية ومنها زيت السمسم تمنع البكتريا من الالتصاق بجدار المثانة مما يسمح لها بالنزول مع الادرار , الية العلاج هذه تبطل التوازن للبكتريا داخل المثانة وبالتالي تعمل بدور مشابه بما تقوم به المضادات الحياتية وذلك دليل على ان للمستخلص دور مهم في تثبيط عملية التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية للسبيل البولي.



الشكل رقم (1) يبين الفروق بين مجاميع التجربة, لاحظ ان ان اكثر تثبيط كان عند تركيز 50% من زيت السمسم المذاب في الماء, في حين ان اقل تثبيط كان عند تركيز 50% من الزيت المذاب في الماء مقارنة بمجموعة السيطرة والتي عوملت بالماء فقط عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$)



صورة (1) تبين الفرق في اعداد البكتريا الملتصقة عل الخلايا الطلائية. A تبين خلايا طلائية لم تعامل بالمعلق البكتيري والتي اعتبرت كمجموعة سيطرة سالبة. B صورة لخلايا طلائية عوملت بالزيت المخفف بالكحول بتركيز 50%. C صورة تظهر خلايا لم تعامل بالزيت والتي اعتبرت كمجموعة سيطرة موجبة.

تتكون بذور السمسم بصورة اساسية من زيت السمسم الذي يكون غنيا بالاحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة وان الاحماض الدهنية غير المشبعة والتي تعمل على تقليل الاكسدة وبالتالي تقليل اصابة الانسجة, بالاضافة الى احتوائه على مركبات فلافونيدية هي Sesamin, Sesamol Sesamolin والتي لها خصائص مضادة للاكسدة, كما انها تحفز عمل فيتامين E (Sankar et al.,2005) وقد بين (Khan et al .,2015) ان السيسامول الموجود في زيت السمسم يحمي الحامض النووي من الضرر الذي يلحق به بفعل التعرض للاشعاعات والمواد الكيماوية ومن الممكن القول بان استعمال هذا المستخلص سيكون مادة طبيعية توفر للجسم مركبات مهمة فضلا عن التاثير المثبط تجاه البكتريا المرضية عند استخدامه من قبل المرضى وهذا كان هدف الاساسي من استخدام هذا المستخلص ضد بكتريا المسببة لالتهاب المسالك البولية (كليبسلا).

ان عملية التصاق البكتريا المسببة للالتهابات البولية تمر بمرحلتين الاولى طور التمييز Initial recognition phase تعتمد هذه المرحلة على الاهداب لاسيما من النوع الاول Type 1 pili والنوع المسمى P fimbria وعلى كيفية تفاعلها مع الخلايا الطلائية وما يغطيها من مستقبلات .اما المرحلة الثانية فيكون الالتصاق فيها اكثر استقرارا وهنا تشترك فيها تراكيب سطحية اخرى كالمستضد الجسمي O antigen او متعدد السكريد الشحمي Lipopolysaccharide الموجود في الغشاء الخارجي للبكتريا السالبة لصبغة كرام اذ ان امتلاك البكتريا لهذا التركيب يؤدي الى زيادة قدرتها على الالتصاق (Gerald et al 2006). ان معظم البكتريا المعوية التي تسبب اخماج المثانة يكون للخمل من نوع Type 1 Fimbriae القدرة على الارتباط بوحدات المانوز في الخلايا المخاطية او الاغشية الخلوية للمضيف كما تمتلك بكتريا الكليبسلا متعدد سكريد محفضي يلعب دور مهم في قابلية هذه البكتريا على الالتصاق مع الخلايا طلائية, وان للمحفظة دور فاعلا اثناء الخطوات الامراضية لهذه البكتريا اذ يحصل تماس بينها وبين الخلايا طلائية كما يوثر تواجد المحفظة في عملية بناء البروتينات الضرورية لتركيب اللاصق البكتيري (Evrard et al, 2010). لذا فمن المحتمل ان يكون للمستخلص النباتي دور في حجب وحدات المانوز الموجودة بالخلايا الطلائية وبالتالي استطاع ان يخفض معدل التصاق هذا النوع البكتيري (كليبسلا) بالخلايا الطلائية.

References

Macrophages and Complement. J Bacteriol. Apr; 188(7): 2735–2739.

Granier, S. A.; Leflon-Guibout, V. and Nicolas-Chanoine, M. (2002). The Extended-Spectrum K1 Lactamase from Klebsiella oxytoca SC 10,436 Is a Member of the blaOXY-2 Family of Chromosomal Klebsiella Enzymes. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, June. Vol. 46, No. 6, p. 2056–2057.

HORNICK, D. B.; THOMMANDRU, J.; SMITS, W. and Clegg, S. (1995). Adherence Properties of an mrkD-Negative Mutant of Klebsiella pneumoniae. INFECTION AND IMMUNITY, May. Vol. 63, No. 5, p. 2026–2032.

Khan,S.; Kumar, A.; Adhikari, J. S.; Rizvi, M. A.& ChaudhuryProtective, N. K. (2015). effect of sesamol against 60Co γ-rayinduced hematopoietic and gastrointestinal injury in C57BL/6 male mice. Free Radical Research, 49(11): 1344–1361.

Lebeaux, D.; Ghigo, J. and Beloin, C. (2014). Biofilm-Related Infections: Bridging the Gap between Clinical Management and Fundamental Aspects of Recalcitrance toward Antibiotics. Microbiology and Molecular Biology Reviews. September Volume 78 Number 3 p. 510 – 543.

Lomberg, H.; Cedergren, B.; Leffler, H.; Nilsson, B.; Carlstrom, A.S. & Svanborg, C. (1986). Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic Escherichia coli. Infect Immun 51: 919–926.

Maroncle, N.; Balestrino, D.; Rich, C. and Forestier, C. (2002). Identification of Klebsiella pneumoniae Genes Involved in Intestinal Colonization and Adhesion Using Signature-Tagged Mutagenesis. INFECTION AND IMMUNITY, Aug. Vol. 70, No. 8, p. 4729–4734.

Mith, H; Remi Dure; Delcenserie, V; Zhiri, A; Daube, G and Clinquart, A. (2014). Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. Food Science & Nutrition; 2(4): 403–416. doi: 10.1002/fsn3.116.

Moorthy, S.; Keklak, J. and Klein, E. A. (2016) Perspective: Adhesion Mediated Signal Transduction in Bacterial Pathogens. Pathogens, 5, 23.

Pilo, P.; Vilei, E. M.; Peterhans, E.; Bonvin-Klotz, L.; Stoffel, M. H.; Dobbelaere, D. and Frey, J. (2005). A Metabolic Enzyme as a Primary Virulence Factor

Asokan, S. (2008). Oil pulling therapy. Indian J Dent Res. Apr-Jun; 19(2):169.

Baron S. 1996. Medical Microbiology. 4th edition.

Bassolé, IHN and Juliani, HR. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. Molecules, 17, 3989-4006; doi:10.3390. ISSN 1420-3049.

Chen, F.; Chan, C.; Huang, Y.; Liu, K.; Peng, H.; Chang, H.; Liou, G.; Yew, T.; Liu, C.; Hsu, K. Y. and Hsu, L. (2011). Structural and Mechanical Properties of Klebsiella pneumoniae Type 3 Fimbriae. JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Apr. Vol. 193, No. 7, p. 1718–1725.

Chris R. T; Tomasz A. L.; Daniel P. E.; Elizabeth A. O.; Nancy C. K.; Janet N. N.; Ronald K. K.; Abigael N. O.; Judd L. W.; Patricia B. P.; Christine H. and Gary J. (2017). VoraAntimicrobial resistance of Klebsiella pneumoniae stool isolates circulating in Kenya. PLOS ONE journal, p; (1-19).

Cindy F. Virginie P.; Alexis D.; Valérie B.; Lionel F.; Ana S. A.; Philippe S.; Régis T. and Sylvain B. (2011). PCR-Based Identification of Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis, the Agent of Rhinoscleroma. PLoS Negl Trop Dis. 2011 May; 5(5): e1052.

De Martino, L; De Feo, V; Formisano, C; Enrico Mignola, E and Senatore, F. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of Origanum vulgare L. ssp. hirtum (Link) Ietswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy). Molecules, 14, 2735-2746;

Evrard, B.; Balestrino, D.; Dosgilbert, A.; Bouya-Gachancard, L. J.; Charbonnel, N.; Forestier, C. and Tridon, A. (2010). Roles of Capsule and Lipopolysaccharide O Antigen in Interactions of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells and Klebsiella pneumoniae. Infect Immun. Jan; 78(1): 210–219.

Flores-Mireles, A. L.; Walker, J. N.; Caparon, M. and Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol. May ; 13(5): 269–284.

Gerald L. M.; Stephen R. A. and Renato M. (2006). Altering the Length of the Lipopolysaccharide O Antigen Has an Impact on the Interaction of Salmonella enterica Serovar Typhimurium with

WHO monographs on. Selected medicinal plants: Volume 3. (2007).

WHO monographs on. Selected medicinal plants: Volume 4. (2009).

Yarnell, E.(1997) Review of Botanicals useful in Treatment of cystitis .Ameriean Botanical council, PP.269-275.

Zhou, Z.; Liu, G. L. and Zhao, Y. Q. (2009). studies on smashing tissue extraction and purification process of the total saponins of the basal part of stem and beard from Panax notoginseng. Mod Chin Med. 11 (3): 34-36.

الملحق

جدول رقم (1) يبين المقارنة في اعداد خلايا بكتريا Klebsiella الملتصقة على الخلايا الطلائية بين مجاميع التجربة باستخدام اقل فرق معنوي

معدل الالتصاق	الفئات / التركيز	Control (water)	Negative control	alcohol	Water
	% 75	25 ± 1	1 ± 0.01	8 ± 0.42	17± 1.28
	% 50	26 ± 1	1 ± 0.01	7 ± 0.3	4 ± 0.1
	% 25	24 ± 1	1 ± 0.01	13 ± 1	15 ± 1

of Mycoplasma mycoides subsp. mycoides Small Colony. JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Oct. Vol. 187, No. 19, p. 6824–6831.

Ramachandran, G. (2014). Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis. Virulence 5:1, 213–218; January 1.

Ramirez, M. S; Traglia, G. M.; Lin, D. L.; Tran, T. and Tolmasky, M. E. (2014). Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance and Virulence in Gramnegatives: the Klebsiella pneumoniae Paradigm. Microbiol Spectr. 2(5): 1–15.

River, P. (2001). Extended-Spectrum -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Oct. Vol. 14, No. 4, p. 933–951.

Sankar, D.; Sambandam, G.; Ramakrishna Rao, M. and Pugalendi, KV. (2005). Modulation of blood pressure, lipid profiles and redox status in hypertensive patients taking different edible oils. Clin Chim Acta. May; 355(1-2):97-104.

Schembri, M. A.; Blom, J.; Krogfelt, K. A. and Klemm, P. (2005). Capsule and Fimbria Interaction in Klebsiella pneumoniae. INFECTION AND IMMUNITY, Aug. Vol. 73, No. 8, p. 4626–4633.

Shahidi, B. (2004). Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. J Ethnopharmacol. Oct; 94(2-3):301-5.

Study of the effect of sesame oil on the ability of bacteria to infect urinary tracts in adhesion to epithelial cells

Laith Mosleh Najeeb , Halah Mahdi Hamad , Tahir Khamis Yas , Abdul Basset Mohammed Jassim , Saja Abdul Hakeem Fileyh

College of science - University of anbar
E.mail:hala.mahdi.hh@gmail.com

Abstract:

Three concentrations of sterile sesame oil were obtained by mineral filters diluted with water (25% ,50% ,75%), as well as three concentrations of the same extract diluted with dilute alcohol at %50 (25% ,50% ,75%). Their inhibitory effect was tested on bacterial isolation that Isolated from samples of healthy women. The results of the statistical analysis showed that the 0.08 concentrations diluted with water and %50 diluted with alcohol were more inhibitory effect of bacterial isolation by measuring the diameter of the inhibition circuit in the petri dishes as well as the microscopic examination and observation of the adhesion of the bacteria to the epithelial cells at a rate of (4 ± 0.1) and (7 ± 0.3) Respectively at P ≤00.05.