

Evaluation of the Antibacterial Effect of Aqueous Extracts of *Nigella sativa* and *Lepidium sativum* on *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella Spp*

Haniyah Abraheem Ahmed Aboumakhlab*

Department of Biology, Faculty of Science, Bani Waleed University, Libya

*Email (for reference researcher): haniaibrahimabo@gmail.com

تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية لنباتي حبة البركة (*Nigella sativa*) وحب الرشاد (*Lepidium sativum*) على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) وبكتيريا الكلبسيلا (*Klebsiella spp*)

هنية إبراهيم احمد أبو مخاب *

قسم الأحياء، كلية العلوم، جامعة بنى وليد، ليبيا

Received: 08-09-2025; Accepted: 15-11-2025; Published: 10-12-2025

Abstract

This study aimed to evaluate the inhibitory effects of aqueous extracts from *Nigella sativa* (black seed) and *Lepidium sativum* (garden cress) against two clinically important bacterial species: *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella spp*. Aqueous extracts at different concentrations (55%, 75%, and 100%) were prepared and tested using the disk diffusion method to assess their antimicrobial activity. The results showed that both plant extracts exhibited notable antibacterial effects, with higher concentrations demonstrating stronger inhibition zones. *Staphylococcus aureus* showed greater sensitivity to the extracts compared to *Klebsiella spp.*, likely due to differences in their cell wall structures. The study highlighted the potential of these plant extracts as natural alternatives to synthetic antibiotics. However, further studies are required to confirm their safety and clinical efficacy.

Keywords: *Nigella sativa*, *Lepidium sativum*, aqueous extracts, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, antimicrobial activity, medicinal plants.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية لنباتي حبة البركة (*Nigella sativa*) وحب الرشاد (*Lepidium sativum*) على نمو نوعين من البكتيريا المرضية *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp*. وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص (Disk diffusion). تم تحضير مستخلصات مائية بتركيز (%) 100، 75، 55% . تم تقييم التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية لنباتي حبة البركة (*Nigella sativa*) وحب الرشاد (*Lepidium sativum*) على نمو نوعين من البكتيريا المرضية *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp*. وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص (Disk diffusion). تم تحضير مستخلصات مائية بتركيز (%) 100، 75، 55%. تم تحديد قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC). أظهرت النتائج أن المستخلصات النباتية كانت ذات فعالية واضحة، حيث كان التركيز الأعلى (100%) الأكثر تأثيراً، وخاصة ضد *S. aureus* التي أظهرت حساسية أكبر مقارنة بـ *Klebsiella spp*. ويُعزى ذلك إلى اختلاف طبيعة الجدار الخلوي لكل نوع بكتيري. تدعم النتائج إمكانية استخدام المستخلصات النباتية كمضادات حيوية طبيعية بدائلة، لكنها تؤكد الحاجة إلى دراسات إضافية لفحص الأمان والفعالية السريرية.

الكلمات المفتاحية: حبة البركة، حب الرشاد، مستخلصات مائية، *Staphylococcus aureus*، *Klebsiella spp*، الفعالية التثبيطية، النباتات الطبية

مقدمة

تمثل مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية تحدياً كبيراً ومتزايداً للصحة العامة على مستوى العالم، مما يدفع بالباحثين إلى استكشاف بدائل طبيعية تمتاز بفاعلية مضادة للميكروبات وذات سمية أقل. ومن بين هذه البدائل الوااعدة تأثير النباتات الطبية التي عُرفت منذ القدم بخصائصها العلاجية، والتي تُستخدم على نطاق واسع في الطب الشعبي والتقلدي، مثل نبات حبة البركة (*Nigella sativa*) ونبات حب الرشاد (*Lepidium sativum*). (Ahmad et al., 2013; Al-Bayati, 2009).

بكتيريا *Staphylococcus aureus* من أبرز المُمراضات الشائعة المرتبطة بالعديد من الالتهابات الجلدية والدموية والتسمية، وُظهر في كثير من الحالات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية، بما في ذلك الميثيسيلين (Otto.2010) في المقابل، تُعد بكتيريا *Klebsiella spp.* من العصويات سلبية الغرام، وهي مسؤولة على العديد من حالات العدوى المكتسبة في المستشفيات، بما في ذلك التهابات المسالك البولية والتهابات الجهاز التنفسي، كما أنها تُظهر مقاومة متزايدة للكاربافينيمات (Podschun & Ullmann, 1998).

أظهرت مستخلصات حبة البركة خصائص قوية مضادة للبكتيريا والفطريات، ويعزى ذلك غالباً إلى مركب الثيموكينون (Thymoquinone)، الذي يُعتبر من أبرز المكونات النشطة في زيت بذور حبة البركة السوداء (Gholamnezhad et al., 2016). أما حب الرشاد، فيحتوي على مركبات فينولية وتانينات تُعرف بقدرتها على التأثير على نفاذية الأغشية البكتيرية والتدخل مع نشاط الإنزيمات الخلوية الأساسية للبكتيريا (Gul et al., 2012).

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية لنباتي حبة البركة وحب الرشاد على نمو اثنين من السلالات البكتيرية الممرضة هما *Klebsiella spp.* و *Staphylococcus aureus*. وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص وتحديد قيمة الحد الأدنى للتثبيط (MIC). وتأتي هذه الدراسة في إطار دعم التوجّه نحو إيجاد بدائل طبيعية للمضادات الحيوية التقليدية، خاصة في ظل تزايد معدلات المقاومة الدوائية للبكتيريا، مع التحقق من فاعلية تراكيز مختلفة من هذه المستخلصات في تثبيط نمو البكتيريا، مما قد يُمهّد لاستخدامها في التطبيقات العلاجية مستقبلاً.

المواد والطرق (Materials and Methods)

العينات النباتية واستخلاص المستخلصات:

تم الحصول على بذور حبة البركة (*Lepidium sativum*) وحب الرشاد (*Nigella sativa*) مطحونة من الأسواق المحلية بمدينة بنى وليد - ليبيا. تم تحضير المستخلصات المائية بإضافة 20 غراماً من كل مسحوق نباتي إلى 200 مل من الماء المقطر، ثم خلطها لمدة ساعة وتركها لتنقع في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة. بعد ذلك، تم ترشيح المزيج باستخدام شاش معقم وورق ترشيح قطره 0.45 ميكرومتر، ثم أجري الطرد المركزي لجمع الراشح: بسرعة 2500 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق لحبة البركة، و 5000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق لحب الرشاد. تم تحضير تراكيز (100%، 75%، 55%) باستخدام الماء المقطر (Gul et al., 2012؛ Ahmad et al., 2013).

تحضير اللقاح البكتيري

تم استخدام عزلات سريرية من بكتيريا *Klebsiella spp.* و *Staphylococcus aureus* ثُمّيت البكتيريا على وسط الأجار المغذي (Nutrient Agar) واحتضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. ومن ثم تم تحضير المعلق البكتيري وضبط كدرته لتساوي أنبوب ماكفارلاند القياسي (0.5) بما يعادل تقريراً 1.5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة/ مل (CLSI, 2018).

اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا

تم استخدام طريقة الانتشار بالأقراص الورقية (Disk Diffusion) لتقييم الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية (Bauer et al., 1966) زُرعت الأطباق الحاوية على وسط مولر هنتون (Mueller-Hinton Agar) بـ 0.1 مل من المعلق البكتيري، وزُرعت باستخدام ناشر زجاجي. وُضعت أقراص ورقية مشبعة بالمستخلصات النباتية على سطح الأطباق، ثم احتضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. تم قياس قطرات مناطق التثبيط بالمليمتر، وأجريت جميع التجارب بثلاث مكررات.

Results

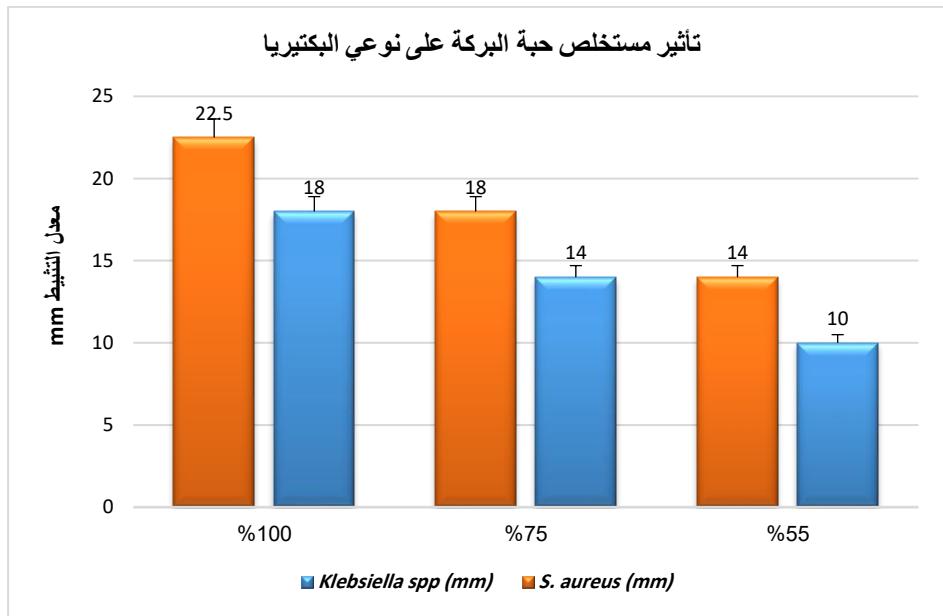
تضمنت هذه الدراسة نوعين من البكتيريا (*Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp.*) لاختبار حساسيتها لمستخلصات كلا من نبات حبة البركة ونبات حب الرشاد؛ بقياس منطقة قرص ورقة الترشيح بالمليمتر (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC) وتحديد قيمة (mm) (MIC).

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لنبات حبة البركة ضد كلا من *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp.*

يوضح الجدول التالي تقييم التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لحبة البركة عند تراكيزات (55%، 75%، 100%) ضد *Klebsiella spp.* و *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص.

جدول (1) قياسات مناطق التثبيط (mm) لنبات حبة البركة على كلاً من *Klebsiella spp* و *S. aureus*

<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella spp</i>	تركيز المستخلص
20-25 mm	16-20 mm	100%
16-20 mm	12-16 mm	%75
12-16 mm	8-12 mm	55%



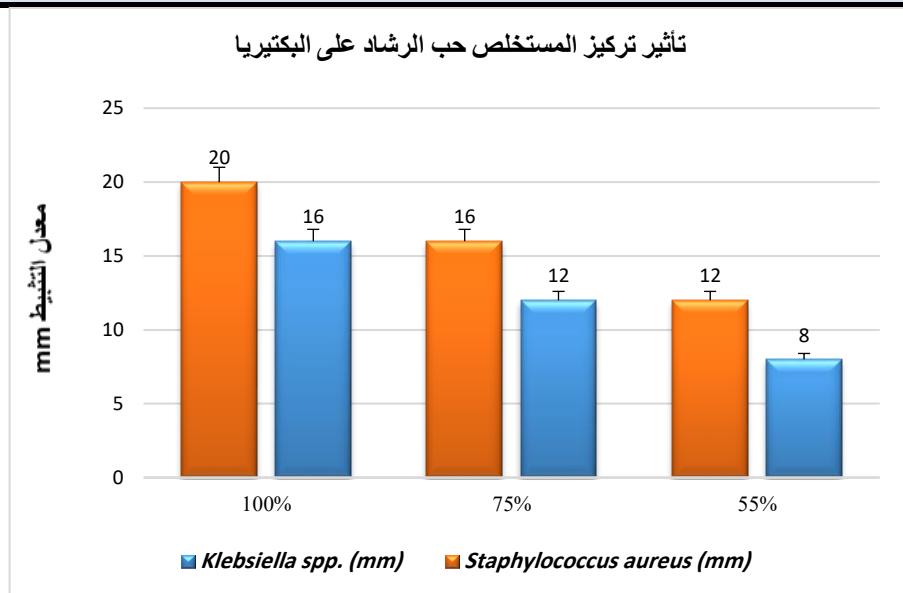
شكل (1) يبين تأثير تركيز مستخلص حبة البركة على نمو بكتيريا *Klebsiella spp* و *Staphylococcus aureus*

أظهرت نتائج تأثير مستخلص حبة البركة أن *S. aureus* كانت أكثر حساسية للمستخلص مقارنة بـ *Klebsiella spp*, وكذلك الفعالية التثبيطية تقل مع انخفاض التركيز. أما المستخلص عند تركيز 100% كان له تأثير قاتل على البكتيريا (Bactericidal)، عند التركيز الأقل (55%) زادت قيم MIC مما يشير إلى أن المستخلص أصبح أقل كفاءة وقد يعمل فقط كمثبط للنمو (Klebsiella spp. Bacteriostatic). تتطلب تركيزات أعلى للقتل مما يدعم نتائج اختبار مناطق التثبيط (*S. aureus* مقارنة بـ Disk Diffusion).

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لنبات حب الرشاد ضد *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp*. تم اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لحب الرشاد عند تركيزات (55%, 75%, 100%) ضد *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص.

جدول (2) يوضح قياسات مناطق التثبيط (mm) لنبات حب الرشاد على كلاً من *Klebsiella spp* و *S. aureus*

<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	<i>Klebsiella spp.</i> (mm)	تركيز المستخلص
18-22 mm	14-18 mm	100%
14-18 mm	10-14 mm	%75
10-14 mm	6-10 mm	55%



شكل (2) يبين تأثير تركيز مستخلص حب الرشاد على نمو بكتيريا *Klebsiella spp.* و *Staphylococcus aureus*

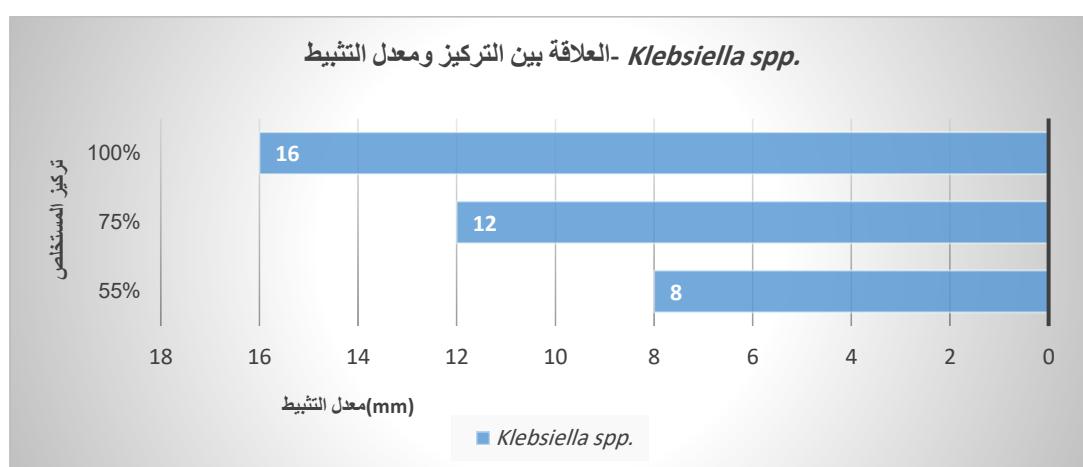
تأثير المستخلص يزداد مع زيادة التركيز، حيث كان التركيز 100% هو الأكثر فعالية ضد كلا النوعين من البكتيريا، وان *S. aureus* كانت أكثر حساسية للمستخلص مقارنة ب *Klebsiella spp.*. زيادة تركيز المستخلص تزيد من تأثيره المثبت حيث كان أعلى تثبيط عند تركيز 100% *S. aureus* أظهرت حساسية أكبر للمستخلص مقارنة ب *Klebsiella spp.* أظهرت مقاومة نسبية للمستخلص، مما قد يرجع إلى طبيعة جدارها الخلوي المعقد الذي يحتوي على (Lipopolysaccharide LPS) والذي يعمل ك حاجز ضد المركبات المضادة للبكتيريا.

العلاقة بين تركيز المستخلص النباتي ومعدل التثبيط (كل نوع بكتيريا على حدة):

تشير النتائج إلى وجود علاقة طردية واضحة بين تركيز المستخلص النباتي وفعاليته التثبيطية ضد كلا النوعين من البكتيريا المدروسة، حيث يزداد معدل التثبيط (mm) بزيادة التركيز، مما يدل على أن فعالية المستخلص تعتمد بشكل كبير على جرعته.

مقارنة بين *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp.*

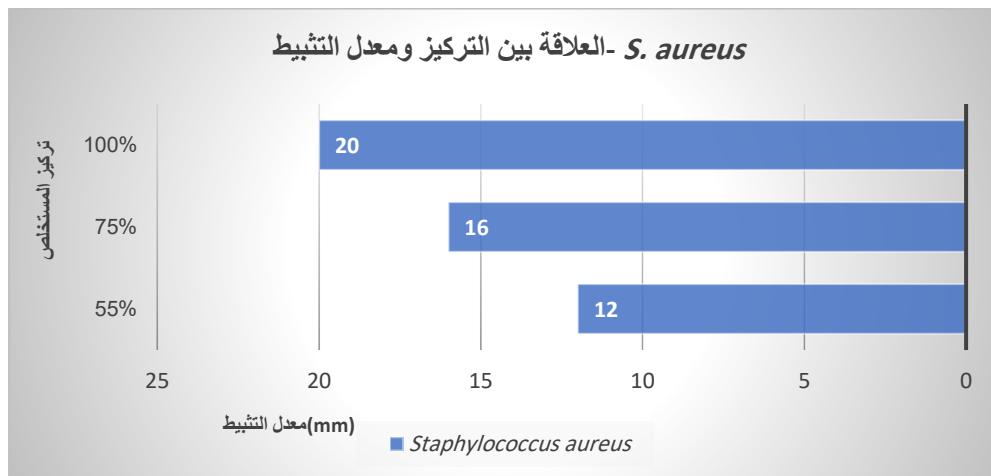
عند تركيز 100%，بلغ قطر منطقة التثبيط 20 mm لـ *S. aureus*. و 16 mm لـ *Klebsiella spp.* مما يشير إلى أن *S. aureus* أكثر حساسية للمستخلص النباتي مقارنة ب *Klebsiella spp.* كما موضح بالشكل (3).



الشكل (3) يبين العلاقة بين تركيز المستخلصات ومعدل التثبيط على بكتيريا *Klebsiella spp.*

العلاقة بين التركيز ومعدل التثبيط:

يتبيّن من الشكل (4) أنه كلما زاد التركيز من 55% إلى 100% زادت مساحة التثبيط، مما يدعم وجود علاقة جرعة-استجابة. هذه العلاقة تؤكّد فاعلية المستخلص النباتي كمضاد ميكروبي طبيعي.



الشكل (4) يبيّن العلاقة بين تركيز المستخلصات ومعدل التثبيط على بكتيريا *Staphylococcus aureus*

تبين من خلال هذه الدراسة أن المستخلصات المائية لكل من نبات حبة البركة وحب الرشاد تمتلك خواصاً تثبيطية ملحوظة ضد البكتيريا قيد الدراسة (*Klebsiella spp.*) و(*Staphylococcus aureus*), وكانت الفعالية تزداد طردياً مع تركيز المستخلص. وقد أظهرت بكتيريا *S. aureus* حساسية أعلى بسبب بساطة تركيب جدارها الخلوي.

المناقشة (Discussion)

أظهرت نتائج الدراسة فعالية ملحوظة للمستخلصات المائية لنبات حبة البركة (*Nigella sativa*) وحب الرشاد (*Lepidium sativum*) في تثبيط نمو البكتيريا المختبرة، وهي *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp.*، حيث ازداد تأثير المستخلصات مع ارتفاع التركيز، وبلغ ذروته عند تركيز 100%， مما يشير إلى علاقة طردية بين التركيز وكفاءة التثبيط البكتيري. أظهرت بكتيريا *Staphylococcus aureus* حساسية أعلى بشكل ملحوظ لكلا المستخلصين مقارنة بـ *Klebsiella spp.*، وهو ما يمكن تفسيره من خلال طبيعة تركيب الجدار الخلوي. فبكتيريا *S. aureus*، باعتبارها بكتيريا موجبة الغرام، تمتلك جداراً خلويًا يتكون أساساً من البيتیدو غلیکان، مما يجعلها أكثر عرضة لاختراق المركبات الفعالة. في المقابل، تمتاز *Klebsiella spp.* بكونها بكتيريا سالبة الغرام تحتوي على طبقة خارجية من الليبوپولیسکارید (LPS)، والتي تعمل ك حاجز فعال ضد الكثير من العوامل المضادة للبكتيريا (Nikaido, 2003).

تفق هذه النتائج مع دراسات سابقة أشارت إلى أن مستخلص *Nigella sativa* يحتوي على مركب الثيموكينون (Thymoquinone)، الذي يتمتع بخصائص مضادة للبكتيريا والفطريات، حيث يثبط تخلق البروتينات ويؤثر على نفاذية الغشاء الخلوي للبكتيريا (Gholamnezhad et al., 2016). كما يحتوي *Lepidium sativum* على مركبات فينولية وتانينات تعمل على تثبيط الإنزيمات البكتيرية وتخلخل الغشاء الخلوي، مما يفسر نشاطه المضاد للبكتيريا (Gul et al., 2012).

تدعم هذه النتائج التوجهات الحديثة نحو البحث عن بدائل طبيعية آمنة للمضادات الحيوية الاصطناعية، خاصة في ظل تصاعد ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية، التي أصبحت تمثل تحدياً عالمياً يهدد الصحة العامة (Ventola, 2015). ويُعد استخدام المستخلصات النباتية خياراً واعداً بفضل توفرها، وانخفاض تكلفتها، وقلة آثارها الجانبية مقارنة بالمضادات التقليدية.

من المهم الإشارة إلى أن فعالية المستخلصات كانت أقوى عند التركيز الأعلى (100%)، مما يشير إلى أن عملية الاستخلاص باستخدام الماء قد تكون أقل كفاءة في استخلاص المركبات الفعالة مقارنة بالذبيبات العضوية مثل الإيثانول، وهو ما أشارت إليه عدة دراسات سابقة أوصت باستخدام الذبيبات الكحولية للحصول على تركيزات أعلى من المركبات النشطة. (Cowan, 1999). لذلك، يوصى بإجراء دراسات إضافية باستخدام ذبيبات متعددة لاستخلاص المركبات الفعالة بكفاءة أكبر، مع اختبار تأثيرها على أنواع أوسع من البكتيريا.

بالرغم من النتائج الإيجابية، إلا أن التطبيق السريري لهذه المستخلصات يتطلب تقييمات دقيقة لمدى سميتها وأمانها الحيوي، إضافة إلى تجارب سريرية لتحديد الجرعات الفعالة وأليات التأثير، وهو ما يمثل خطوة أساسية في سبيل تطوير مضادات حيوية طبيعية قائمة على النباتات الطبية.

عند تركيز 100%，بلغ قطر منطقة الشبيط 20 mm بـ *S. aureus*. و 16 mm مما يشير إلى أن *Klebsiella spp.* أكثر حساسية للمستخلص النباتي مقارنة بـ *S. aureus*. وتفسير ذلك قد يرجع إلى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي بين البكتيريا (موجبة الجرام) مثل *S. aureus* و(سلالية الجرام) مثل *Klebsiella spp.* حيث إن البكتيريا سالبة الجرام تتميز بجدار خلوي أكثر تعقيداً يحتوي على غشاء خارجي من الدهون المتعددة (lipopolysaccharides) مما يقلل من نفاذية المركبات النباتية (Nazzaro *et al.*, 2013).

كلما زاد التركيز من 55% إلى 100% زادت مساحة الشبيط، مما يدعم وجود علاقة جرعة-استجابة (Dose-response relationship). هذه العلاقة تؤكد فاعلية المستخلص النباتي كمضاد ميكروبي طبيعي. حيث تحتوي المستخلصات النباتية على مركبات مثل: (الفينولات، التريبيونات، والفلويونات، وهي مواد معروفة بخواصها المضادة للميكروبات (Cowan, 1999)، زيادة التركيز تعني زيادة كمية هذه المركبات الفعالة، وبالتالي زيادة في قدرتها على اختراق الجدار الخلوي وتعطيل وظائف البكتيريا.

الخلاصة:

تبين من خلال هذه الدراسة أن المستخلصات المائية لكل من نبات حبة البركة وحب الرشاد تمتلك خواصاً تشبيطية ملحوظة ضد البكتيريا قيد الدراسة *Staphylococcus aureus* (Klebsiella spp.)، وكانت الفعالية تزداد طردياً مع تركيز المستخلص. وقد أظهرت بكتيريا *S. aureus* حساسية أعلى بسبب بساطة تركيب جدارها الخلوي، بينما أبدت *Klebsiella spp.* مقاومة نسبية بسبب وجود طبقة الليبووليسيكاريد (LPS) يُعزى التأثير التشبيطي للمستخلص حبة البركة إلى مركب الثيموكينون، بينما تعود فاعلية حب الرشاد إلى الفينولات والتانينات. تشجع هذه النتائج على مواصلة البحث في إمكانيات استخدام هذه النباتات في تطوير مضادات بكتيرية طبيعية، مع ضرورة إجراء دراسات متقدمة لتقدير السلامة والفعالية على المستوى السريري والدوائي.

المراجع

1. Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., ... & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(5), 337–352.
2. Al-Bayati, F. A. (2009). Isolation and identification of antimicrobial compound from *Nigella sativa* L. and *Lepidium sativum* L. seeds. Journal of Saudi Chemical Society, 13(3), 363–368.
3. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4), 493–496.
4. CLSI. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 28th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
5. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564–582.
6. Gholamnezhad, Z., Havakhah, S., & Boskabady, M. H. (2016). Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. Journal of Ethnopharmacology, 190, 372–386.
7. Gul, R., Jan, S. U., Faridullah, S., Sherani, S., & Jahan, N. (2012). Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from selected medicinal plant species of Pakistan. BMC Chemistry, 14, 147–154.
8. Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L. D., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals, 6(12), 1451–1474.
9. Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67(4), 593–656.
10. Otto, M. (2010). *Staphylococcus aureus* toxins. Current Opinion in Microbiology, 13(1), 1–8.

11. Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589–603.
12. Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277–283.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions, and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of **LOUJMSS** and/or the editor(s). **LOUJMSS** and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred to in the content.