تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات النارنج *Citrus medica* على الجراثيم المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وعلى الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية في الزجاج

*** بسعاد عقرب معلة ، *رلى رائد محي و** محمد عبد علي جبر**

* قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بغداد

** مستشفى الحميات، دائرة صحة ميسان

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لتحديد الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلص المائي لأوراق نبات النارنج الذي تميز بتأثيره المضاد للجراثيم المستخدمة كما تم التعرف على تأثير المستخلص المائي للنبات في تضعيف الرؤيسات الاولية لطفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* المعزول من الإنسان ،واتضح من خلال الدراسة خارج الجسم الحي (*In vitro*) إن المستخلص المائي للنبات أدى فعله في إيقاف حيوية الطفيلي عند استخدام التركيز 90 ملغم/مليلتر بعد مرور أربعة أيام من المعاملة.

المقدمة

اتجهت الدراسات في السنوات الأخيرة لكثير من الإمراض باستعمال الدواء الشعـــــبي المعروف بطب الإعشاب (Folkloric medicine) لعوامل الفعالية والأمان والاقتصادية (Glombitza *et al.*1994) فضلا عن احتوائه على صيغ يصعب إيجاد بديل عنها سواء بالطرق الكيماوية أو الصيدلانية بسبب وجود مواد أخرى ملازمة لبعض مركباتها الفعالة (الجبوري والرواي ،1994).

يكثر نبات النارنج في مناطق عديدة من العالم وينتشر في عدة دول عربية ، اما في العراق فينتشر في عدة مناطق أيضا ويكثر زراعته في بساتين المنطقة الغربية وتعد شجرته ذات أهمية اقتصادية فضلا عن زراعتها لإغراض الزينة(Al-Rawi&Chakravarty,1988) ومن بين الإمراض الطفيلية اختير داء الأكياس العدرية كونه يشكل مشكلة صحية ذات خطورة على حياة الإنسان ومن مساوءه انه لا يظهر إعراض مرضية واضحة إلا بعد تطور الإصابة وزيادة حجم الكيس كما انه يعد من الإمراض المتوطنة في العراق(Seimenis,1998).

وضمن الاهتمام بالنباتات الطبية المضادة للجراثيم والطفيليات تم اختيار أوراق نبات النارنج *Citrus medica* التابع لعائلة Rutaceae لدراسة فعاليته المضادة لبعض الجراثيم المرضية وللرؤيسات الأولية لطفيلي الأكياس المائية.

المواد وطرائق العمل

1-تهيئة النبات وتحضير المستخلص المائي

تم الحصول على النبات من الحدائق المنزلية المزروع بها النبات.حيث غسلت الأوراق جيدا ونشرت لتجف ثم طحنت وحضر المستخلص المائي بمزج 50 غم من مسحوق أوراق النبات مع التحريك المستمر على جهاز المحرك المغناطيسي (IKA-Combing) لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة المختبر 20 مئوي ثم فصل الراسب عن الراشح باستخدام ورق الترشيح من نوع Whatman رقم 3 ثم جفف الراشح بجهاز التجفيف Free drying (Twaij *et al.*,1983) .

2-تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC)

Determination of Minimum Inhibitory Concentration

حدد التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات النارنج والذي اظهر فعالية مضادة للجراثيم من خلال استخدام طريقة التخفيف Tube (Begum *et al.*,1996) dilution إذ حضرت تراكيز مختلفة (1.0-100) مايكرو غرام /مل من المستخلص في 5 مليلتر من الوسط ألزرعي Nutrient broth NB الذي يحتوي

10^5–10^6خلية/ مليلتر ثم حضنت بدرجة 37 مئوي لمدة 24 ساعة وسجلت النتائج بوساطة الفحص البصري للعكرة والتركيز الذي لم يظهر عكرة يمثل التركيز المثبط الأدنى.

3–تحديد التركيز القاتل الأدنى

Determination of Minimum Bacterial Concentration (MBC)

تم نقل 10 مايكروليتر من كل تركيز لم يظهر عكورة في اختيار MIC إلى وسط NB وزرع بطريقة التخطيط ثم حضنت الإطباق في درجة 37 مئوي لمدة 24 ساعة والتركيز الذي لم يظهر نمو جرثومي يمثل التركيز القاتل الأدنى.

4– فعالية المستخلص المائي ضد الرؤيسات الأولية

استخدمت التراكيز (30، 60، 90 ملغم/مليلتر) ضد 1500 رؤيس أولي المحفوظة في محلول KCF + K.R.S. (1:4) بدرجة 20 م .واضيف كل تركيز إلى 1500 رؤيس أولية في كل أنبوبة اختبار وحسبت النسبة المئوية لحيوية الروئيسات التابعة لطفيلي *Echinococcus granulosus* في أوقات متدرجة وباعتماد طريقة نقل الحجم الثابت بمقدار 10 مايكروليتر وبإضافة صبغة الايوسين . واستخدم التحليل Two ways analysis لإيجاد الفرو قات المعنوية بين المعاملات خارج الجسم *In Vitro* ضد الطفيلي واعتمد المصدر (1968) Snedecor & Cochran في إجراء الحسابات الإحصائية .

تم عزل الانواع الجرثومية جدول (1) قيد الدراسة من المرضى المصابيمن مستشفى الحميات دائرة صحة ميسان.

النتائج

تم تحديد التركيز المثبط والتركيز القاتل الأدنى للمستخلص الذي اظهر فعالية مضادة للجراثيم حيث يلاحظ في الجدول (1) إن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص تراوح مابين (25 – 100) مايكرو غرام / مليلتر إما التركيز القاتل الأدنى فقد كان أعلى من التركيز المثبط الأدنى .

جدول (1)

التركيز المثبط الأدنى(MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) بالمايكرو غرام/مليلتر خلال 24 ساعة حضن في 37 مئوي للمستخلص المائي لأوراق النارنج.

الجراثيم الموجبة لصبغة كرام	المستخلص المائي لأوراق النارنج	
	التركيز المثبط الادنى MIC	التركيز القاتل الادنى MBC
Bacillus subtillis	75	100
Staphylococcus aureus	75	100
الجراثيم السالبة لصبغة كرام		
Acinetobacter calcoaceticus	25	50
Pseudomonas aeruginosa	100	100<
Plesiomonas shigelloides	100<	100>
Klebsiella pneuamonia	75	75
Shigella dysenteriae	75	100
Serratia marcescens	100	100<
Escherichia coli	50	75

لقد أظهرت نتائج التجربة التأثير الفعال لتراكيز مختلفة من المستخلص النباتي المستخدم في هذا البحث ضد الرؤيسات الأولية لطفيلي *Echinococcus granulosus* في الاختبار في الزجاج *In vitro* وجود فروقا معنوية عند مستوى احتمال P0.05 بين مختلف التراكيز ولمختلف الفترات الزمنية.

ومن ملاحظة الجدول (2) نجد انعدام الحيوية عند استخدام التركيز 90 ملغم/مليلتر من المستخلص المائي لأوراق نبات النارنج في اليوم الرابع من المعاملة.كما يلاحظ في الجدول نفسه وجود علاقة طردية قوية بين زيادة تركيز المستخلص والمدة المائي وانخفاض نسبة حيوية الرؤيسات الأولية المعزولة من الإنسان.

جدول(2)

تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص المائي لأوراق نبات النارنج في حيوية الرؤيسات الأولية المحفوظة في المحلول الحافظ (KCF+K.R.S,1:4) وبدرجة 20 م0 pH(7.4).

مدة المعاملة	المدة(يوم)									
	0	12 ساعة	1 يوم	2 يوم	3 يوم	4 يوم	5 يوم	7 يوم	9 يوم	11 يوم
Control	88.5 ± 3.2	88.0 ± 1.8	87.4 ± 0.21	86.4 ± 1.95	83.5 ± 0.2	81.15 ± 1.87	78.21 ± 0.91	75.01 ± 1.54	73.62 ± 0.5	70.03 ± 2.00
30 ملغم/مل	90.20 ± 1.7	85.54 ±2.45	79.01 ± 3.75	74.8 ± 2.04	70.3 ± 2.00	64.22 ± 0.1	61.1 ± 0.02	57.11 ± 2.1	55.36 ± 1.5	50.11 ± 1.1
60 ملغم/مل	86.54 ± 1.1	85.45 ±0.27	79.35 ± 0.75	72.64 ± 1.1	63.5 ± 0.5	53.04 ± 0.8	43.82 ± 1.1	35.92 ± 0.23	19.51 ±2.64	0 ± 0.00
90 ملغم/مل	84.8 ± 0.5	65.71 ±0.5	55.5 ± 0.73	49.96 ± 1.53	23.7 ± 1.93	0 ± 0.00				

* القيم داخل الجدول تمثل معدل المتوسط الحسابي للنسبة المئوية لحيوية الرؤيسات الأولية ± الانحراف المعياري

المناقشة

أوضحت الدراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات النارنج على نمو بعض أنواع الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وتأثيره في تضعيف الرؤيسات الاولية للطور اليرقي لطفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* حيث أدت معاملة الطفيلي بالمستخلص المائي إلى توقف نموه وتوقف حيوية الرؤيسات الأولية بعد مرور اربعة أيام من المعاملة وبتركيز 90 ملغم /مليلتر وقد يعزى سبب كفاءة المستخلص المائي لأوراق نبات النارنج في التأثير في مجموعة من الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام وفي طفيلي الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية إلى احتواءه على تربينات أحادية (Monoterpenoid) وليمون (Lemon) وسترال(Citral) (Trease &Evans,1978) وقد يكون تأثير المستخلص النباتي في خلية الطفيلي والجراثيم عائدا إلى الخصائص التي يمتلكها كونه محب للدهون فهذه الخاصية تمكنه من اختراق الجدار الحيوي والنفوذ عبره الى الداخل والعمل على اضعاف الفعالية الحيوية (Lim *et al.*1992).

كما يمكن الاعتماد على المستخلص من ناحية الأمان كونه يحتوي على المركب Limonene الذي اختبرت فعاليته في حدة الإنزيم Glutathion –s-Tranferase (GST) المزيل للسمية في عدة انسجة في إناث الفئران البيض ولوحظ انه زاد من فعالية الإنزيم وهذا يؤكد كونه يعد من عوامل منع القوه الكيماوية للمركبات التي قد تكون مؤذية للأنسجة الحية (Zamith *et al.*,1993).

وبالنهاية نذكر أن التأثير الحاصل في اضعاف فعالية الرؤيسات الأولية في الزجاج والتأثير المضاد للجراثيم المستخدمة في البحث ربما يعزى الى احتواء المستخلص النباتي على مركبات متنوعة كونه مستخلص خام وهذه المركبات منها ما هو فعال ومنها ليس له أي تأثير بل قد يكون له تأثير سلبي في فعالية النوع الأول ،لذلك فمن الضروري فصل هذه المركبات بعضها عن بعض واختبار فعاليتها منفردة فضلا عن اختبار مستخلصاتها الخام (Al-Rawi,1988).

Abstract

This study was made to determine the of antibacterial activity of aqueous extract of leaves of Citrus medica ,which was more active to inhabited growth of bacteria which was take in this study.

This study also was made to find out the effect of aqueous extract of this plant in alteration of the protoscolices of Echinococcus granulosus which isolated from the patients, it was shown (In vitro study) that the aqueous extract is most effective in stopping the viability of the parasite at 90 mg/ml after four days of preservation.

المصادر

[1] الجبوري،علي عواد والراوي ، محمد عبدا لله (1994). علم الأدوية الطبيعية ، دار الكتب والوثائق،بغداد.

[2] A. Al-Rawi, Medicinal plants of Iraq.. 2nd ed. Governmant Press , Baghdad. 1988 p.6.

[3] A. Al-Rawi, & H. L. Chakravarty, Medicinal plants of Iraq government press, Baghdad . (1988).

[4] S. Begum, ; S. B. Usmni,; B. S Siddigui, ; S. R. Saeed, ; S. Farnaz, ; K. Ali Khan, ; S. Ahmed-Khan, ; S. Khalid, & A. Zia, Chemistry and biological activity of atryptamine and B – carboline series of bases. Arzneim – Forch / Drug Res. (1996). 46: 1163 - 1168.

[5] K. W. Glombitza, ; G. H. Mahran,; Y. W. Mirhon, ; K. G Michel,. & T. K. Motaw, Hypoglycemic and antihyperglyemic Effects of Zizyphus Spina - christri in rats.Planta Med. 1994. 60: 244 - 247.

[6] E. O. Lima, ; O. F. Gornpertz,; M. Q. Paulo, & A. M. Giesbrecht, In vitro antifungal activity of essential oil against clinical Isolates of dermatophytes. Rev. Microbio. 1992. 23 (4) : 235 -238.

[7] A. Seimenis, Zoonoses : a social and economic burden. East state Health 1998. J., 4 (2) : 221.

[8] G. W. Snedecor, & W. G. Cochran, Statistical methods. Iowa state university press, Iowa. 1968.

[9] G. E. Trease, & W. C. Evans, Pharmacognosy . 11th ed. Bailliere Tindal London. 1978.

[10] H. A. A. Twaij, ; A. Kery, & N. K. Al-Khazargi , Some pharmacyological , toxicolo-gical & phytochemical investigations on centaurea phytochemical . J. Ethnopharm-acol. 1983. 9 : 47.

[11] H. P. Zamith, ; M. N. Vidal, ; G. Speit, & F. J. Paumgartten, 1993.Absence of genotoxic activity of beta - myrcene in the in vitro cytogenetic bone marrow assay. Braz. J. Med. Bio. Res. 26(1):93-98.