تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات سم الفراخ على بعض عوامل الضراوة لبكتيريا *Pseudomonas aeruoginosa* المعزولة محلياً

ديمـــة نـزار فـرج

جامعة بغداد/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة

الخلاصة

اختيرت عزلتان لبكتيريا *Pseudomonas aeruoginosa* المعزولة محلياً(PD1 و PD2) العزلة الاولى مقاومة لاحد عشر مضادا من اصل 12 مضاداً مستخدم منتجة لعوامل الضراوة الهيمولايسين ، والايلاستيز، واليورييز اما العزلة (PD2) فكانت حساسة (مقاومة لاربعة مضادات من اصل 12 مضاداً) ومنتجة للايلاستيز والهيمولايسين وغير منتجة لليوريز (PD2). حدد التركيز المثبط الادنى للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي سم الفراخ *Withania somnifera* L. Dun. ، تجاه بكتريا *P. aeruginosa* (للعزلتين PD1,PD2) وكان التركيز المثبط الادنى لمستخلص سم الفراخ المائي (175) ملغم/ مللتر، والكحولي (5) ملغم/ مللتر.

درس تاثير المستخلصات في التراكيز تحت التركيز المثبط الادنى تجاه تثبيط بعض عوامل الضراوة للبكتريا وكان مستخلص سم الفراخ المائي والمستخلص الكحولي مثبطاً لانزيم الهيمولايسين ومضعفاً للايلاستيز ولم يكن لهما تأثير في انتاج اليوريز عند التراكيز (100، 125، 150) ملغم/ مللتر للمستخلص المائي والتراكيز (2،3،4) ملغم/ مللتر للمستخلص الكحولي.

المقدمة

تسبب بكتيريا *P. aeruginosa* حالات مرضية مختلفة لاسيما للمرضى الراقدين في المستشفيات ولا سيما مرضى السرطان، و اصابات الحروق، ومرضى نقص المناعة، وزراعة الاعضاء لان البكتريا من النوع الانتهازي (Opportunistic) (1،2)، تفرز البكتريا العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها على الغزو والاستيطان واحداث الضرر النسيجي (3)، يعد انزيم الايلاستيز احد عوامل الضراوة المهمة للبكتريا لانه يساعد البكتريا في الغزو، والانتشار، إذ يحطم الانزيم بروتينات الايلاستين، والفايبرين، والكولاجين، وللانزيم دور مهم في اصابات القرنية، والرئة، والجلد كما ان الايلاستيز يتداخل مع عدد من اليات الدفاع في الجسم ويثبط عملها (4،5). اما انزيم الهيمولايسين فهو عامل ضراوة مهم جداً للبكتريا إذ يحلل كريات الدم الحمر ويساعد البكتريا في احداث الامراضية والانتشار في انسجة الرئة وغيرها من الانسجة مسبباً نخر وتحطم الانسجة (6،2)، ويعد انزيم اليوريز عامل ضراوة اضافياً للبكتريا إذ يسبب حالات مرضية مثل، تكوين الحصى في المثانة والكلية، والتهاب الكلية، والاعتلال الدماغي الم تسبب عن الامونيا والغيبوبة الكبدية وتقرح المرئ وغيرها من الامراض (7).

يعد نبات سم الفراخ احد النباتات واسعة الاستخدام منذ القدم في الطب اليوناني والطب الشعبي في الهند وفي مناطق مختلفة من العالم وما يزال استخدامه واسعاً فهو مضاد للشيخوخة، ومجدد للشباب، ومقوي جنسي، ومنوم، ومسكن، ولعلاج التوتر، والارهاق، وعلاج الزهايمر، وتقوية الذاكرة والادراك، والسكري، وارتفاع الكولسترول، وتنظيم فعالية الغدة الدرقية، وعلاج السرطان، وكمضاد للبكتريا والفطريات (8،9)، لذا هدف هذا البحث الى دراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات سم الفراخ في ثبيط نمو بكتيريا وتثبيط انتاجها لبعض عوامل الضراوة.

المواد وطرق العمل

1. جمع نبات سم الفراخ *Withania somnifera* (الاوراق والساق والثمار) من حدائق كلية العلوم في الجادرية ابتداءاً من شهر كانون الثاني ولغاية اواسط شهر نيسان للعام 2005.

غسل النبات بالماء لازالة الاوساخ والاتربة وجفف بالهواء (في جو الغرفة) بعدها جفف في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40–45م، وتم طحنه اولاً بالهاون الخزفي ثم باستخدام مطحنة كهربائية صغيرة لغرض الحصول على مسحوق ناعم، حفظ المسحوق في اكياس بلاستيكية نظيفة

تم تعليمها باسم النبات وتاريخ الجمع ثم حفظت في مكان مظلم بعيد عن الرطوبة في درجة حرارة الغرفة (10).

2. حُضر المستخلص المائي الساخن لمسحوق سم الفراخ بوزن 50 غرام من المسحوق النباتي الجاف واضيف اليه 500 مللتر من الماء المقطر المغلي مع التحريك المستمر وترك في حاضنة هزازة (Shaker incubator) بدرجة حرارة 35 م لمدة 24 ساعة، ثم رشح اولاً باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي، ثم باستخدام ورق ترشيح من نوع (Whatman No. 1). أُخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار (Rotary evaporator) وبدرجة حرارة لا تتجاوز 40 م لحين الحصول على سائل كثيف ثم جفف بعدها السائل في حاضنة بدرجة حرارة 35– 40م لمدة 2– 3 ايام حتى تكوّن المسحوق المجفف الذي جمع في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م (11).

3. اتبعت نفس خطوات تحضير المستخلص المائي نفسها عدا استخدام 250 مللتر من الكحول الاثيلي بتركيز 75% بدلاً من الماء المقطر(12).

4. حضرت محاليل الخزين (Stock solutions) للمستخلصات المائية والكحولية لنبات سم الفراخ وعُقمت باستخدام اغشية الترشيح كالآتي:

المستخلص المائي لسم الفراخ : المحلول الخزين تركيزه 200 ملغرام/ مللتر وحُضر بوزن 0.5غرام من المستخلص الجاف/ 2.5 مللتر ماء مقطر معقم. ثم تم ت مجـــانستـــه بـــاستخـــدام مـــازج مغنـــاطيســـي (Hot plate) magnetic stirrer.

المستخلص الكحولي لسم الفراخ: المحلول الخزين تركيزه 100 ملغرام/ مللتر وحضر بوزن 0.1 غرام من المستخلص الجاف/ 1 مللتر ماء مقطر معقم، ثم تم ت مجانسته باستخدام المازج المغناطيسي.

5. استخدمت طريقة الانابيب (Tube test) في تحديد التركيز المثبط الادنى MIC للمستخلصات النباتية قيد الدراسة كما ذكر في (13)، حُضرت التخافيف 125،100، 150،175 ملغرام/ مللتر من المحلول الخزين لسم الفراخ المائي تركيزه 200 ملغرام/ مللتر، حضرت التخافيف 1, 2 ، 3 ، 4 ، 5 ملغرام/ مللتر من المحلول الخزين لسم الفراخ الكحولي تركيزه 100 ملغرام/ مللتر.

6. نشطت العزلتان(PD1 و PD2) باستخدام وسط مولر هنتون السائل بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة.

7. خففت البكتريا عشرياً وتم اختيار التخفيف الثالث(10^{-3}) لاحتوائه على (10^{5} CFU/ مللتر) اذ لُقح 0.1 مللتر منه في تخافيف المستخلصات المذكورة اعلاه وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة.

8. نُقل 0.1 مللتر من كل تخفيف للمستخلص المزروع وزرع على وسط Nutrient agar وحُضن بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وتم تقدير التركيز المثبط الادنى MIC اذ عُد اقل تركيز للمستخلص الذي اظهر مستعمرات منفردة هو التركيز MIC بينما التراكيز الاقل اظهرت نمواً كثيفاً والتراكيز الاعلى تكون قاتلة أي لا يظهر اي نمو على الطبق (Minimum bactericidal concentration) MBC.

9. تم التحري عن انتاج البكتيريا لانزيم الهيمولايسين Hemolysin بنقل مستعمرة منفردة وتخطيطها على وسط اكار الدم ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 – 48 ساعة مع ملاحظة تحلل الدم حول منطقة النمو (14).

10. للتحري عن انتاج اليوريز Urease لُقح وسط اليوريا الصلب بالتخطيط وحضن بدرجة حرارة 37 م لمدة 24– 72 ساعة. لوحظت النتيجة الموجبة بتحول لون الوسط الى الوردي (15).

11. لُقح وسط الايلاستين 0.2% بعمل تخطيط على شكل خط مستقيم او دائرة، ولوحظت النتيجة الموجبة لانتاج انزيم الايلاتسيز بتحلل الحبيبات حول المستعمرة بعد الحضن بدرجة حرارة 37 م لمدة 1–5 ايام (16).

12. بعد تحديد التركيز المثبط الادنى MIC لكل مستخلص نباتي، دُرس تاثير المستخلصات في انتاج الانزيمات وكالاتي:

اخذ 100 مايكروليتر من التركيز تحت التركيز المثبط الادنى (Sub MIC) وزرع على اوساط blood agar 10%، 20 % Urea agar، 0.2 % Elastin agar، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة لوسط blood agar ووسط Elastin agar لمدة 1–5 ايام

ووسط Urea agar لمدة 1-3 ايام ،تم فحص النتائج بملاحظة التغييرات الحاصلة في وسط النمو حول المستعمرات، او بتغير لون الوسط لاختبار اليوريز.

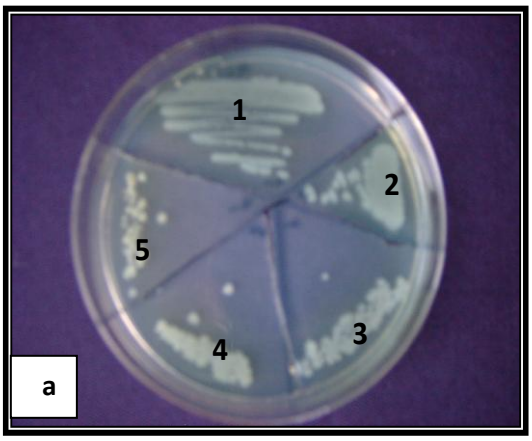
النتائج والمناقشة :

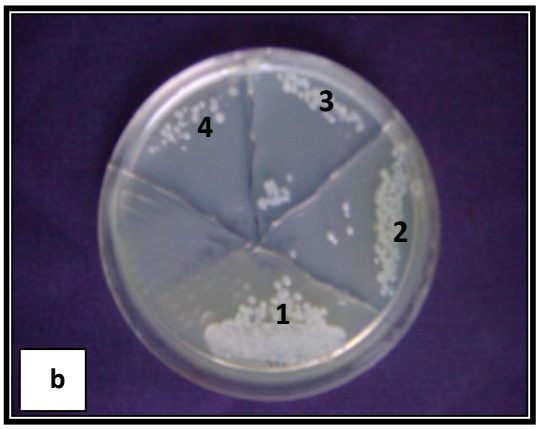
ايجاد MIC للمستخلص المائي والكحولي لنبات سم الفراخ *Withania somnifera* :

تم تحديد التركيز المثبط الادنى للسلالتين PD1، و PD2 تجاه مستخلص نبات سم الفراخ المائي والكحولي باستخدام طريقة الانابيب (Tube test)إذ تم تحديد التركيز المثبط الادنى لمستخلص سم الفراخ المائي وهو 175 ملغم/ مللتر وللمستخلص الكحولي 5 ملغم/ مللتر إذ كانت التراكيز الاعلى قاتلة والاقل اعطت نمو اً كثيفاًشكل (1- a , b). وهذا يتوافق مع نتائج (17،18) إذ وجدوا ان المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ عند التركيز 0.1 ملغم / مليلتر كان مثبطاً لبكتريا *Salmonella* و*E. coli* وكذلك وجدوا ان المستخلص الكحولي للنبات كان فعالاً جداً ضد بكتريا *E. coli* ، و *Salmonella typhimurium* وعدداً من البكتريا الموجبة لملون كرام مثل *Staph.* ، أما (19) فذكروا ان المستخلص المائي والكحولي للاوراق والجذر مثبط قوي للسالمونيللا، اما المستخلص المائي فهو اقل فعالية في التثبيط وهذا يتوافق مع نتائج(20) إذ وجدوا ان المستخلص المائي للنبات ذو قدرة تثبيطية متوسطة ضد مجموعة من البكتريا ومنها بكتريا *P. aeruginosa* ، اما المستخلص الكحولي فكان اكثر كفاءة تثبيطية.

ان الفعالية ضد الميكروبية لنبات سم الفراخ تعود الى مركب Withaferin A ولا سيما في اوراق النبات إذ ذكر (21،22) فعالية هذا المركب ضد العديد من البكتريا والفطريات.

ان كفاءة المستخلص الكحولي في قتل البكتريا تعود الى ان اهم مادة فعالة في النبات هي القلويدات الذائبة في الكحول (23). ويحتوي النبات على مركبات عديدة ذات فعالية ضد ميكروبية بعضها تذوب في الكحول والماء مثل : الدباغيات ، والتربين ومركبات اخرى تذوب في الكحول مثل القلويدات والستيرويدات والفلافونيدات ومركبات ذائبة في الماء مثل الصابونيات (23).





شكل (1) الفحص التأكيدي لتحديد التركيز المثبط الادنى من تجربة الانابيب التي اجريت لـــ :

a- مستخلص سم الفراخ الكحولي (1 : 1 ملغم / مليلتر ، 2 : 2 ملغم / مليلتر ، 3 : 3 ملغم / مليلتر، 4 : 4 ملغم / مليلتر ، 5 : 5 ملغم / مليلتر).

b- مستخلص سم الفراخ المائي (1 : 100 ملغم / مليلتر ، 2 : 125 ملغم / مليلتر ، 3 : 150 ملغم / مليلتر ، 4 : 175 ملغم / مليلتر).

تاثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات سم الفراخ في تثبيط بعض عوامل الضراوة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* :

نظراً لدور عوامل الضراوة المختلفة لبكتريا *P. aeruginosa* مثل: انزيمات الهيمولايسين، والايلاستيز ،واليوريز، والسم الخارجي A، والسم الداخلي (Endotoxin) وغيرها في امراضية البكتريا قام العديد من الدراسات باستخدام بعض مضادات الحياة (بتراكيز تحت

التركيز المثبط الادنى Sub MIC) (24)، وبعض المركبات الكيمياوية لتثبيط عوامل الضراوة (25)، ونظراً للاثار السلبية للمضادات وسرعة ظهور المقاومة لها حاولنا في هذا البحث معرفة تاثير التراكيز تحت المثبطة (Sub MIC) للمستخلصات النباتية المائية والكحولية لمستخلص سم الفراخ تجاه عوامل الضراوة الهيمولايسين، والايلاستيز، واليوريز لبكتريا *P. aeruginosa*.

يلاحظ من الجدول (1) ان مستخلص سم الفراخ المائي والكحولي كان مثبطا لانزيم الهيمولايسين، مضعف للايلاستيز، ولم يؤثر في انتاج اليوريز عند التراكيز 100، و 125، و 150 ملغم/ مللتر للمستخلص المائي والتراكيز 2، و3، و 4 ملغم / مليلتر للمستخلص الكحولي وينخفض التاثير بانخفاض التراكيز (يتناسب المثبط طردياً بزيادة التراكيز) شكل (2– a,b,c).

وهذا يتوافق مع ما ذكره (26) بان مركبات glycoprotein في المستخلص المائي لسم الفراخ تعادل انزيم (Phosphlipase A) لسم افعى *Naja naja* وهو سم عضلي (Myotoxin) يسبب تحطم العضلات والالتهابات، اما (27) فقد ذكرا ان مركبات الـ glycoprotein لنبات سم الفراخ تعادل الفعالية الانزيمية والخواص الطبية كالتسمم الخلوي والورم المائي والتسمم العضلي (Myotoxicity) لانزيم Phospholipase A لافعى Cobra الهندية لكنه يفشل في معادلة التسمم العصبي ، ويحدث التثبيط نتيجة تكوين معقد بين glycoprotein النبات وانزيم Phosphlipase A. وبصورة عامة فان مركبات Withaferin A تثبط الـ RNA وتخليق البروتين اما Withanolid D فهي مثبطة لانتاج الـ RNA (28).

كما يحوي نبات سم الفراخ على عدد من المركبات ذات الفعالية تجاه الانزيمات فمركبات الفينول تثبط الانزيمات عبر التداخل غير المحدد مع البروتينات (23) ومن مركبات الفينول الذائبة في الكحول الفلافونويد الذي يكوّن معقداً مع البروتينات الخارجية والبروتينات الذائبة.(23،29،30)

اما الدباغيات الذائبة في الماء وفي الكحول فهي ترتبط مع كربوهيدات الجدار والبروتينات. وتثبط الدباغيات من قدرة البكتريا على الالتصاق وتثبط الانزيمات وانتقال البروتينات عبر الغشاء (31) وترتبط الدباغيات مع السكريات المتعددة ووجد بانه مثبط لفعالية انزيمات protease للبكتريا الموجودة في معدة المجترات (23) لذلك فان هذه المركبات المثبطة للانزيمات الموجودة في نبات سم الفراخ قد تعمل معاً في تثبيط عمل انزيمات البكتريا قيد البحث.

وقد التزم العديد من الدراسات باستخدام مواد كيميائية كمثبطات للانزيمات فلقد ذكر(25) ان تحت التركيز المثبط الادنى لمركب (Quartenary Bisammonium Salt) QBAS كان مثبطاً لانزيم الهيمولايسين ولكن المركب ذو تاثير اقل في انزيم الايلاستيز والبروتييز كما يؤثر المركب في انتاج الالجنيت لبكتريا *P. aeruginosa*.

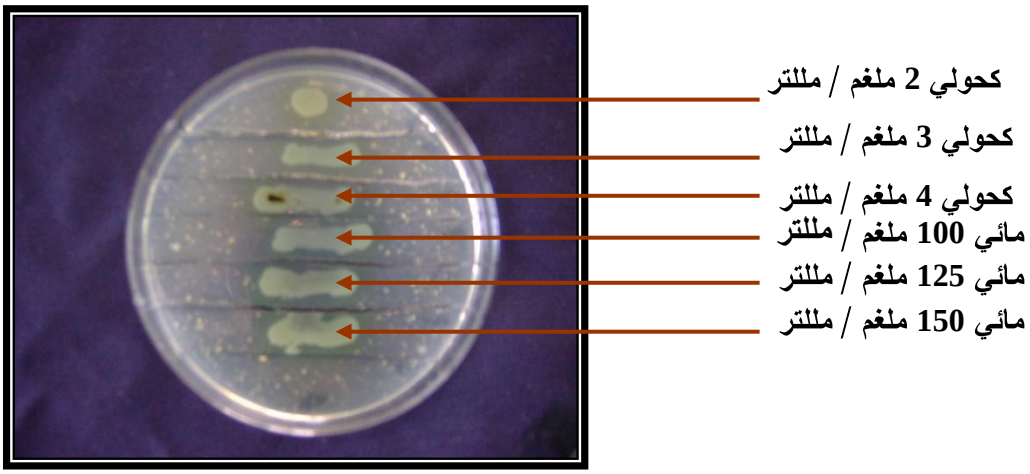
كما ذكر(32) ان مركبات الامونيوم الرباعية واوكسيد الامين عند التراكيز تحت التركيز المثبط الادنى كانت مثبطة للـ 14-C adenine ، 14-C leucin كبادئ لتخليق الجزيئات الكبيرة وهذه التراكيز كانت مثبطة للهيمولايسين بينما لم تؤثر في الايلاستيز والبروتييز للبكتريا.

جدول (1)

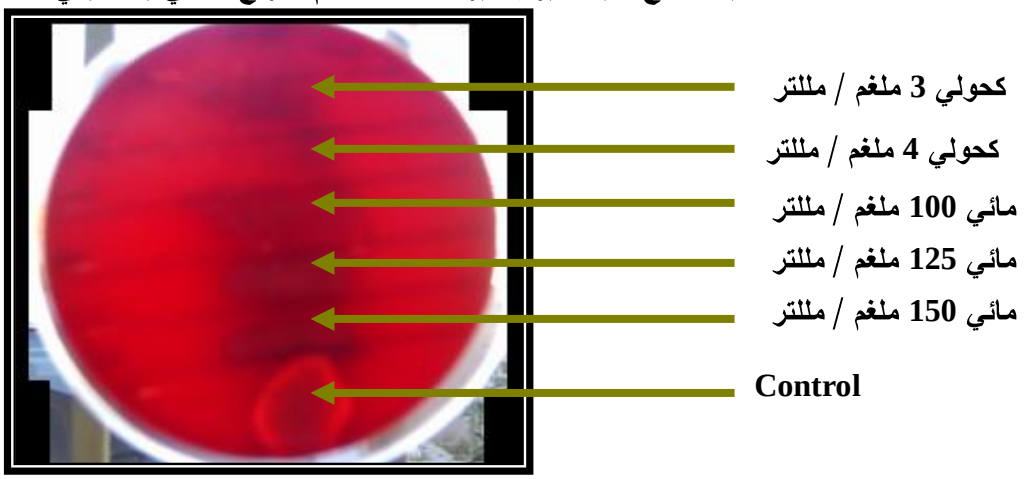
تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات سم الفراخ وبتراكيز تحت التركيز المثبط الأدنى في انتاج الهيمولايسين، والايلاستيز ، واليوريز للعزلتين PD1 ، و PD2

المستخلص	العزلة	التراكيز (ملغم / مللتر)	الهيمولايسين	الايلاستيز			اليوريز		
				24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
مستخلص سم الفراخ المائي	PD1 ، و PD2	100	–	–	*+	+	+	+	+
		125	–	–	–	*+	+	+	+
		150	–	–	–	+	+	+	+
				* PD2 غير منتجة					
مستخلص سم الفراخ الكحولي	PD1 ، و PD2	2	–	–	+	+	+	+	+
		3	–	–	*+	+	+	+	+
		4	–	–	–	+	+	+	+
				* PD2 غير منتجة					

– غير منتجة، +* انتاج ضعيف، + منتجة



a- تضعيف انتاج الايلاستيز بتأثير مستخلص سم الفراخ المائي والكحولي



b- تثبيط انتاج الهيمولايسين بتأثير مستخلص سم الفراخ المائي والكحولي

c- عدم تأثر انتاج اليورييز بمستخلص سم الفراخ المائي والكحولي

شكل (2) تأثير مستخلص سم الفراخ المائي والكحولي في بعض عوامل الضراوة للعزلتين PD1 ، PD2.

[9] Chaudhary, G.; Sharma, U.; Jagannatha, N. R. and Gupta, Y. K. (2003). Evaluation of Withania somnifera in a middle cerebral artery occlusion model at stroke in rats. C. E. P. P. 30 (5-6) : 399.

[10] العبيدي ، لمياء عبد الرزاق احمد طه. (2000). تاثير مستخلص نبات القريص Urtica urens L. في نمو بعض الاحياء المجهرية الممرضة. رسالة ماجستير. كلية العلوم- جامعة بغداد

[11] Harborne, J. B. (1984). Phytochemical Methods. 2nd ed. Chapman and Hull.

[12] Anessing, C. and Peroz, C. (1993). Screening of plants used in Argentina folk medicine for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol. 39 (2): 119 – 128.

[13] Miles, R. S. and Amyes, S. G. B. (1996). Laboratory control of antimicrobial therapy, In: Practical Medical Mirobiology 14th Ed. By : J. Gerald Collee ; Barrie, P. Marmion ; Andrew G, Fraser and Anthony Simmons. Churchill Livingstone. New York.P.:159-161

[14] Cruickshank, R.; Duguid, J. P. ; Marmion, B. P. and Swain, R. H. A. (1975). The practice of medical Microbiology. In : Medical Microbiology. Vol. 2. 12th ed. Churchill Livingstone. London. P. 141 – 181 , 443 – 447.

[15] Benson, J. H. (2002). Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Micrbiology. 8th ed. McGraw Hill.P. 145, 168 – 175.

References:

[1] Iglewski, B. H. (1997). *Pseudomonas* . from Internet explorer. Google. Com http: // www. Iglewski. Com / pubs / pseuare / 1997.

[2] Todar, K. (2004.a). Pseudomonas aeruginosa Internet explorer. Todar's online Textbook of Bacteriology.

[3] Todar,K.(2004.b).*Pseudomonas.*Internet explorer.Todars online Textbook of Bacteriology.

[4] Krenacki, K. A.; Hobden, J. A.; Hazlett, l. D. ; Fridman, R. and Berk, R. S. (1995). In vitro bacterial protease production during Pseudomonas aeruginosa corneal. Invest. Ophthalmol. Vis Sci. 36 : 1371 – 1378.

[5] Gales, A.C.; Jones, R. N. and Turuidge, J. (2001). Characterization of Pseudomonas aeruginosa isolates: Occurrence rate, antimicrobial susceptibility patterns and molecular typing in the global SENTRY antimicrobial surveillance program 1997 – 1999. Clin. Inf. Dis. 32 (2) : 146 – 155.

[6] Van Delden, C. H. and Iglewski, B. H. (1998). Cell - to cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emer. Infect. Dis. 4 (4).

[7] Mobley, H. L. and Hausinger, R. p. (1989). Microbial Ureases: Significance, regulation and Molecular characterization. Microbiol.Rev. 53 (1): 85 – 108.

[8] Garma, V. (2002). Tibetan Medicin Encyclopedia. International Research Institute. India.

[16] Sakata, K.; Yajima, H.; Tanaka, K.; Sakamoto, Y. ; Yamamoto, K. ; Yoshida, A. and Dohi, Y. (1993). Erythromycin inhibits the production of elastase by Pseudomonas aeruginosa without affecting its proliferation In Vitro. Am. Rev. Respir. Dis. 148 : 1061 – 1056.

[17] Arora, S.; Dhillon, S.; Rani, G. and Nagpal, A. (2004). The in vitro antiba-cterial / synergistic activities of Withania somnifera extracts. Fitoterapia. 75 (3-4) : 385 – 388.

[18] Mothana, R. A. and Lindquist, U. (2004). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. J. Ethnopharmacol. 96 (1-2): 177 – 181.

[19] Owasi, M.; Sharad, k. S.; Shehbaz, A. and Saleemuddin, M. (2005). Antibacterial efficacy of Withania somnifera (ashwagandha) an indigenous medicinal plant against experimental of murine Salmonellosis. Phytomedicin. 12 (3): 229 – 235.

[20] Ali, N. A.; Juhch, W. D.; Kusrick, C. and Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni: medicinal plants for antimicrobial and cytotoxic activities. J. Ethnopharmacol. 74 : 173 – 179.

[21] Garner-Wizard, M.; Henson, S. H. and Milot, B. (1998). Withania somnifera. The Eurp. J. Herb. Med. 4 (2): 17 – 22.

[22] Nadkarni, k. M. (2001). Review of the therapeutic effects of ashwagandha (Withania somnifera) Alt. Med. Rev. 9 (2): 211 – 214.

[23] Cowan, M. M. (1999). Plants products as antimicrobial agents. C. M. R. 12 (4): 564 – 582.

[24] عوف، عبد الحكيم. (2001). دراسة بكتريولوجية وانزيمية لبكتريا Pseudomonas aeruginosa المنتجة للايلاستيز. رسالة ماجستير. كلية العلوم – جامعة الكوفة.

[25] Hostacka, A.; Majtan, V. and Hybenova, D. (1995). Antimicrobial efficacy of quaternary bisammonium salt and the effect of their Sub-MICs on Pseudomonas aeruginosa virulence factors. Folia. Microbial. 40 (3): 283 – 287.

[26] Schauss, A. G.; Milholland, R. B. R. and Munson, S. (1998). Therapeutics applications of Withania somnifera (ashwagandha). Popular Ayurvedic Botanical Medicine. Nat. Med. J. 1 (10): 16 – 19.

[27] Lizano, S.; Damout, G. and Perales, J. (2003). Natural Phospholipid A <sub> 2 <sub> myotoxin inhibitor protein from snakes , mammals and plants. Toxicon. 42 (8) : 963 – 978.

[28] Deepa, M. and Gowda, V. T. (2002). Purification and characterization of a glycoprotein inhibitor of toxic phospholipase from Withania somnifera. Arch. Biochem. Biophy. 408 (1) : 42 – 51.

[29] Crozier, A.; Burns, J. Aziz, A. A.; Stewart, A. J.; Rabiasz, H.; Jenkins, G.; Edwards, C. A. and Ejleen, M. (2000). Antioxidant flavonoles from fruits, vegetables and beverages: measurement and bioavailability. Biol. Res. 33 (2).

[30] Sahelian, R. (2004). Polyphenoles and disease risk in epidemiological studies Am. J. Clin. Nutr. 81 (1): 317 – 325.

[31] Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols. J. Anim. Sci. 73: 1516 – 1528.

[32] Majtan, V.; Majtanova, L.; Hostacka, A.; Aybenova, D. and Mlynarick, D. (1995). Effect of quaternary ammonium salts and ammonia oxide on Pseudomonas aeruginosa. Microbios. 84 (338): 41 – 51.

Abstract

Two local isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were selected the first isolate (PD1) was resistant to (11) antibiotics, and produced hemolysin, elastase and urease, the second isolate (PD2) was resistant to (4) antibiotics only (out of 12) and produced hemolysin, elastase but not urease.

Minimum inhibitory concentration (MICs) of the aqueous and ethanolic extracts of (whole) *Withania somnifera* (L.) Dun. and were determined towards *P. aeruginosa* (PD1,PD2), Results obtained showed that MIC of ethanolic extract of *W. somnifera* was (5) mg / ml and of aqueous extract was (175) mg / ml.

The effect of Sub – MICs of the aqueous and ethanolic extracts of on the production of hemolysin, elastase and urease was investigated. Sub-MICs of the ethanolic and aqueous extract of *W. somnifera* had an inhibitory effect and of aqueous extract was (175) mg / ml.

The effect of Sub – MICs of the aqueous and ethanolic extracts of on the production of hemolysin, elastase and urease was investigated. Sub-MICs of the ethanolic and aqueous extract of *W. somnifera* had an inhibitory effect on hemolysin production and a suppressing effect on elastase but no effect on urease production at 100 , 125 , 150 mg / ml for the aqueous extract and 2 , 3 , 4 mg / ml for the ethanolic extract.