P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2010 ,(4), (3) :08-13

(*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة**

Open Access

دراسة التاثير التآزري لبعض المستخلصات النباتية على البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية.

ميادة عبدالله شيحان

كلية العلوم/جامعة الانبار

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2010/2/22
تاريخ القبول: 2010/5/27
تاريخ النشر: 14/ 6/ 2012
DOI: 10.37652/juaps.2010.15615

الكلمات المفتاحية:

synergism effect,
plants extracts
U.T.I.

الخلاصة:

اشتملت الدراسة على عزل البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية وحساب نسبة عزل البكتريا المسببة للمرض ومن ثم قياس فعالية المستخلصات المائية والكحولية للنباتات (الحبة السوداء ،الحلبة ،الثوم ،بذور الشعير ، بذور العنب ،بذور الفجل) وبالتركيز (10 ،20 ،30) ملغم/مل على هذه العزلات. كما اشتملت على دراسة التاثير التآزري للمستخلصات الكحولية على هذا العزلات البكتيرية. واظهرت النتائج ان نسبة عزل بكتريا E.coli هي 48% بينما كانت نسبة عزل بكتريا *Klebsiella pneumoniae* 32% اما بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد كانت نسبة عزلها 20% .وقد اظهرت نتائج اختبار تاثير المستخلصات النباتية على نمو العزلات البكتيرية تاثيرات متباينة اعتمادا على نوع المستخلص ، مقدار التركيز المستخدم ،ونوع الكائن المجهري إذ كانت قدرة تثبيط المستخلصات المائية ضعيفة او معدومة مقارنة مع المستخلصات الكحولية وذلك باستثناء مستخلص الثوم والحبة السوداء .ولقد اظهرت النتائج ان فعالية المستخلصات النباتية الكحولية تزداد بزيادة التركيز المستخدم باستثناء بذور الشعير .كما تبين من الدراسة ومن نتائج الاختبار التآزري للمستخلصات النباتية الكحولية فعالية متميزة ضد العزلات البكتيرية تفوق الفعالية المفردة لهذه المستخلصات على نمو البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية.

المقدمة

ان للنباتات الطبية فعل فسلجي وفعل مضاد للحياة واسع جدا لذلك فقد شغل هذا الموضوع الكثير من الباحثين من اجل التوصل الى علاجات مضادة للحياة وبشكل واسع جدا ولذلك توصل الكثير منهم الى علاجات طبية من الاعشاب والنباتات الطبية حيث انها تحتوي على مواد كيميائية تتكون من عمليات الايض الثانوي داخل النبات واستخدمت طبيا وذلك لفعاليتها ضد العديد من الامراض والمواد السامة [1].

ان من المتوقع بعد انتشار العقاقير الطبية وتنوعها ان يتراجع المرض وتزداد السيطرة عليه الا ان ذلك لم يحدث بل عرف الانسان امراضا لم تكن معروفة فضلا عن انتشار الامراض المزمنة وقد يعزى ذلك الى اسباب عديدة منها الادوية المتنوعة التي يتناولها المريض والتي عملت على اختفاء المرض فقط مع التأثير على مناعته لمقاومة الامراض الاخرى فاصبحت هناك قائمة سوداء للادوية السامة في حين ارادة حكمة الخالق عز وجل ان تجعل تراكيز المواد الفعالة في النبات واطئة ومخففة فيمكن للاجسام التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية الى جانب ان النبات الواحد قد يحتوي على العديد من المواد الفعالة التي تتعاون معا في معالجة المرض [2].

يعتبر مرض التهاب المجاري البولية من الامراض الشائعة وذلك لما يوفره الادرارمن بيئة صالحة لنمو الاحياء المجهرية وتعد بكتريا Pseudomonas aeruginosa من البكتريا الانتهازية وهي عصيات سالبة لصبغة كرام ومتحركة بسوط قطبي وتستطيع العيش في بيئات ذات عناصر مغذية قليلة جدا[3] وتنتج صبغات تنتشر في الوسط الذي تنمو عليه مثل الصبغة الخضراء المزرقة pyocyanin والصبغة الصفراء المخضرة fluorescine وتسبب هذه البكتريا العديد من الامراض منها التهاب المجاري البولية حيث تعتبر الممرض الثالث لهذا المرض المكتسب في المستشفى[4].

* Corresponding author at: College of Science/University of Anbar, Iraq;
ORCID:
E-mail address:

ان (85- 90)% من حالات الاصابة بالتهاب المجاري البولية هي بكتريا E. coli الممرضة للجهاز البولي uropathogenic E. coli كما تسبب امراض للامعاء منها الاسهال البكتيري [5] وتوصف هذه البكتريا بكونها عصيات سالبة لصبغة كرام لاهوائية اختيارية ومتحركة بواسطة الاسواط وغير مكونة للابواغ وتنتمي الى البكتريا المعوية Enterobacteriaceae [6].

من البكتريا الاخرى التي تعود للعائلة المعوية هي Klebsiella pneumoniae وتتصف بخلاياها العصوية المحاطة بالمحفظة وهي مخمرة للاكتوز على وسط ماكونكي وتتميز مستعمراتها النامية على الاوساط الزرعية الغنية بالكاربوهيدرات بصفتها المخاطية mucoid [7].

تختلف النباتات في المواد الفعالة التي تحتويها وفي صفاتها الكيميائية حيث ان التركيب الكيميائي للحبة السوداء يحتوي على المواد الفعالة القلويدات Alkaloids وقد ثبت علميا ان المستخلص الكحولي لهذة الحبة له تاثيراً وفعلاً مشابه لبعض المضادات مثل الجنتامايسين والستربتومايسين [8] اما المواد الفعالة في الحلبة فهي زيوت طيارة تتكون من سكوتربينات هايدروكاربونية ولاكتونات والكانات ومواد صابونية وقلويدات مثل الكلوين وهي مقوية ومضادة للالتهابات.يعمل الثوم كترياق للسموم ومطهر للمجاري البولية ويمكن عزل المواد المضادة للمايكروبات من الثوم بالتقطير البخاري [9].

اتجهت الدراسات الحديثة الى دراسة فعالية وفوائد بذور العنب وتشير الدراسات الحديثة الى ان مستخلص بذور العنب Grape Seeds Extract (GSE) فعال جداً ضد انواع مختلفة من البكتريا اذ يحتوي على مواد معقدة مثل الفينول ويطلق عليه Broad spectrum grape [10].

طرائق العمل.

- **جمع وتشخيص العينات.**

تم جمع (25) عينة من الادرار الوسطي midstream urine من مرضى في مستشفى الرمادي العام في حاويات زجاجية معقمة وجلبت للمختبر لزرعها بفترة لاتتعدى (20) دقيقة وتم زرعها على وسط اكار الماكونكي والاكار المغذي واكار الدم وبعد فترة حضن 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م تم اختيار المستعمرات النامية واجريت لها عملية التنقية لدراسة صفاتها الزرعية وتم تشخيص العزلات البكتيرية بالاعتماد على الفحوصات البكتريولوجية والكيموحيوية [11] .

- **تحضير ومعايرة العالق البكتيري**

تم تحضير العالق البكتيري ومقارنته مع محلول ثابت العكرة القياسي MacCfarland standard solution° لضبط كثافة العالق البكثيري وذلك باضافة كمية من المحلول الفسيولوجي الملحي او البكتريا لحد القيمة التي تقابل قراءة الانبوب الحاوي على المحلول القياسي[12].

- **طرق استخلاص النباتات.**

تم استخلاص النباتات (بذورالحبة السوداء ،بذورالحلبة ،الثوم ،بذور الشعير ، بذور العنب ،بذور الفجل) بطريقة الاستخلاص المائي بالاعتماد على طريقة السلامي[13] وكما تم استخلاص النباتات كحوليا باستخدام الكحول الاثيلي بتركيز 99% وفي كلتا الطريقتين تم تركيزالمحاليل المستخلصة بجهاز المبخر الدوار التفريقي ثم توضع في الفرن المجفف لكي يجف المستخلص ومن ثم اخذ (1)غم من المستخلص المائي او الكحولي وتذاب بـ (10) مل من الماء المقطر او الكحول الاثيلي للحصول على تركيز (100) ملي غرام /مل الذي يعتبر محلول خزين stock solution لتحضير تراكيز مختلفة (10،20،30 ملغم/مل).

- **تحضير اطباق فحص فعالية المستخلص.**

تم عمل حفر بقطر (6) ملم في الوسط الزرعي اكار مولر هنتون ثم تلقيح الاطباق الحاوية على هذا الوسط بالبكتريا المعزولة من المرضى بالتهاب المجاري البولية وذلك بعد معايرة عالق البكتريا مع محلول ثابت العكرة القياسي ماكفرلاند.ووضعت المستخلصات النباتية في الحفر وحضنت بدرجة حرارة 37م° ولمدة 18 ساعة ومن ثم قراءة النتائج بقياس قطر التثبيط حول الحفر الحاوية على المستخلصات وذلك بواسطة المسطرة المدرجة.

النتائج والمناقشة.

بعد جمع نماذج الادرار الوسطي وبعد الكشف عن وجود البكتريا فيها عن طريق الزرع الجرثومي وبعد دراسة الصفات الزرعية والفحص المجهري والاختبارت الكيموحيوية الموضحة في جدول رقم (1) تم عزل (12) عزلة من بكتريا E. coli بنسبة 48% من مجموع العزلات واشار Snyder [14] الى ان 80-90% من حالات التهاب المجاري

البولية تسببها هذه البكتريا الممرضة للجهاز البولي E. coli uropathogenic وعزلت (8) عزلات من بكتريا Kl. pneumoniae بنسبة 32% اذ تعتبر هذه البكتريا المسبب الثاني لالتهاب المجاري البولية بعد الـ E. coli كما تسبب التهاب الجروح والحروق [15] وامتازت مستعمراتها على وسط الماكونكي بكونها كبيرة ومخاطية القوام mucoid وردية اللون لقدرتها على تخمير سكر اللاكتوز. وكانت (5) عزلات من مجموع (25) عزلة اي بنسبة عزل 20% تعود لبكتريا P. aeruginosa التي انتجت صبغات الـ pyocyanin و fluorescine على الوسط الزرعي واعطت جميع عزلاتها تحلل كامل للدم على وسط اكار الدم وكانت هالة التحلل عديمة اللون لقدرة هذه البكتريا على انتاج انزيم حال للدم haemolysin ولم تعطي اي تغير لوسط TSI لعدم قدرتها على تحليل السكريات الموجودة فيه.

- **الفعالية الحيوية للمستخلصات المائية والكحولية**

اظهرت نتائج دراسة تاثير المستخلصات النباتية على نمو العزلات البكتيرية قيد الدراسة تاثيرات متباينة وهذا يعتمد على نوع المستخلص ،مقدار التركيز المستخدم ونوع الكائن المجهري .

ومن خلال المقارنة بين جدول (2) و(3) وجد ان هناك اختلافا كبيرا في قدرة المستخلصات النباتية المستخدمة قيد الدراسة في تثبيط نمو الاحياء المجهرية P.aeruginosa, E.coli ,Kl. pneumoniae المعزولة من مرضى التهاب المجاري البولية حيث كانت قدرة تثبيط المستخلصات المائية ضعيفة او معدومة بالمقارنة مع قدرة تثبيط المستخلصات الكحولية وذلك باستثناء المستخلصات المائية للثوم والحبة السوداء وفي دراسة محمد [16] وجد ان استعمال مستخلص الثوم المائي بتركيز 25% يمنع نشاط الـ trypsin دون التاثير على نشاط الـ pepsin وان هرس الثوم واستخلاصه مائيا يزيد من فعاليته ضد الاحياء المجهرية وان المواد الفعالة في الثوم لاتظهر إلا بعد تحطيم انسجته [17] .ان المواد الفعالة في الثوم thiosulfinate مثل الـ Allicin حيث تقوم هذه المادة بالتثبيط الكامل للـ DNA و RNA وكذلك تثبيط تصنيع البروتين كليا او جزئيا[18].

اعطى المستخلص الكحولي لبذور العنب فاعلية عالية في تثبيط البكتريا، وظهرت له فاعلية جيدة في التثبيط وبالتركيزين (20 و 30 ملغم/مل) واشار Basavar [19] الى ان بذور العنب تحتوي على polyphenolic hesperidin, Neoheperdine,Narginin compound وهذه المواد تعطي فاعلية مضادة للاكسدة بالاضافة الى قدرتها على تحطيم الغشاء الخلوي للبكتريا وبالتالي تسرب محتويات السايتوبلازم وتحدث العملية كاملة خلال (15) دقيقة.

وكذلك فان المستخلص الكحولي للحبة السوداء اعطى قدرة تثبيطية عالية وهذا يعود الى المادة الفعالة في هذه البذور Thymoquine والتي لها فاعلية في تثبيط البكتريا السالبة والموجبة لملون كرام بالاضافة الى دور هذه المادة في تثبيط نمو الاحياء المجهرية المسببة لالتهاب المجاري البولية وكذلك لها فعلا مضادا للاكسدة التي تحدث في الكلية وهذا يوحي الى دورها في تثبيط التاثيرات السلبية ولها دور في الوقاية من الاعتلال الكلوي [8].

- **التاثير التآزري للمستخلصات الكحولية.**

بعد مزج بعض المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة ودراسة التثير التآزري لها لوحظ ازدياد في حساسية البكتريا لهذه المستخلصات وازدياد اقطار التثبيط لهذه المستخلصات مقارنة باقطار التثبيط لهذه المستخلصات وبشكل مفرد وكما موضح في الجدول رقم (4).

عند مزج المستخلصات الكحولية للحبة السوداء والحلبة ازدادت القدرة التثبيطية مقارنة بالقدرة التثبيطية للمستخلصين وبشكل مفرد وذلك نتيجة اجتماع المواد الفعالة ذوات القدرة التثبيطية مثل Thymoquione و polyphenolic compound الموجودة في الحبة السوداء مع القلويات Trigonellene, Choline الموجودة في الحلبة التي تختلف عن بعضها بمواقع عملها في الخلية البكتيرية لذلك نلاحظ استخدام خلطات من الحلبة والحبة السوداء لعلاج الالتهابات الجلدية والكدمات والحروق [20].

ولم يعطِ المستخلص الكحولي لبذور الشعيرفاعلية تثبيطية جيدة ضد البكتريا ولكن عند مزجة مع مستخلص الثوم لوحظ زيادة في القدرة التثبيطية للثوم لذلك ففي الكثير من وصفات الطب البديل يغلي الشعير جيدا ويبرد ويخلط مع فصوص ثوم مهروسة ويشرب على الريق يوميا وتعتبر مدرة للبول ومطهرة للمجاري البولية[21]

اعطى مزيج مستخلصي بذور العنب والفجل فعالية تثبيطية عالية لجميع انواع البكتريا المعزولة من مرضى التهابات المجاري البولية وبجميع التراكيز (10,20,30) وذلك لقدرة مستخلص بذور العنب في تحطيم الغشاء السايتوبلازمي ووصول المركب الفعال في بذور الفجل السكوالين الى مواقع عمله في الاحياء المجهرية دون ان يتاثر بفاعلية الغشاء

السايتوبلازمي[22].وبشكل عام فان زيادة تركيز المستخلص الكحولي ادى الى زيادة اقطار التثبيط للبكتريا إذ كان الفرق التاثير معنوية ($p<0.05$) بين التركيز (20و30) وبين (10و30) بينما لم يكون التاثير معنويا بين التركيز (10و20) شكل رقم (1).

المصادر

1-الشحات،نصر ابو زيد(1986)النباتات والاعشاب الطبية في الوطن العربي في الصناعة الدوائية.مجلة البحث العلمي الدوائية39:47-70.

2-نشرة الجامعة العربية.المنظمة العربية للتنمية الزراعية(1988)النباتات الطبية والعطرية السامة في الوطن العربي.الخرطوم/جامعة الدول العربية.

3Poirel,L.;F.Weldhangen;S.Champs;P.Nordmann(2002)An nosocomial outbreak of Pseudomonas aeruginosa isolated expressing the ESBLs GES-2 in south Africa.J.Antimicrobial agent and chemother .49:561-565.

4-Sharnson,D.C(2000) Micobiology in clinical practice 3rd ed. Butterworth Heineman. Oxford: 326-339.

5-Leblebicioglu, H.; S. Esen (2003) Turkish Nosocomial urinary tract infection study group .J. Hospital infection.53:207-210.

6-Crichton, B.P (1996) Enterobacteriaceae in Mackie and MacCartney .Practical medical 14th ed. Churchill Livintstone. singapore.

7-Paterson,J.E;T.Hardin;C.kelly;R.Garcia (2000) Association of antibiotic utilization measure and control of multidrug resistance in Klebsialla pneumoniae .In infect control .Hosp. Epidemiol. 21:455-458.

8-Morsal,N.M(2000) Antimicrobial effect of crude extract of Nigella sativum on multiple antibiotic resistant bacteria .Acta.Microbiol.Pol.49:63-73.

9-Tezcan,T.; E.Pederson(1976) The inhibitory effect garlic on bacteria.J.Fac.Vet. Med.23:53-62.

10-Rhodes,P.L;J.W Mitchell; M. W. Wilson; L.D Melton (2006) Antilisterial activity of Grape juice and Grape extract from Vitis vinifera variety Ribier.International Journal of food microbiology.107:281-286.

11-Holt,JC;N.R. Krieg;P.H. Sneath;S.T. Williams (1994) Bergey's Mannual of determination bacteriology.9th ed.USA.

12-Soussy,C.J(2001) Comitte de L. Antibiogram de la societe Francaise de Microbiology. Center hospital university Henri Monodor. Repot.

13-السلامي،وجيه مظهر(1998) تاثيرمستخلصات نبات المديد Convolvuhus arvensis والهندال Ipomea caivica في الاداء الحيوي كثيرة الحنطة Schizophis graminum.اطروحة دكتوراه فلسفة.كلية العلوم /جامعة بابل.

14-Snyder,J.A;B.J. Haugen;E.L. Buckles;D.E. Johnson; M.S. Donnenberg (2004) Transcription of uropathogenic E.coli during urinary infection. Infec. Immuno.72:6373-6381.

15-Coudroun,P.E;E.S. Molland (2003) Occourance and detection ESBLs in membrane of family Enterobacteriaceae at varians medical. center. seek and young find clinical micobiol.235.

16- محمد،زاهرة سليم (1978) ثائير مستخلص الثوم المائي على Bacillus cereus وبعض المايكروبات الاخرى وعلى انزيمي البيسين والتربسين.رسالة ماجستير في الزراعة /الصناعات الغذائية. كلية الزراعة /جامعة الانبار.

17-Walton,L;M. Herbold; C. Lindergren (1936) Bacteria of Vapors from crushed garlic. food RES. 1:163-169.

18-Tyneka,Z.(1975)Fungistatic activity of garlic (Allium sativum in vitro).Ann. Univ. Mariae Guriesk oldwke. Sec 30.5-15.

19-Basavar,J; L. Martha ; A. Kamlesh; V. Amit; J. Palmy; D. Suresh;S. Bhimanagouda(2008) Grape fruit juice and its furocoumarins inhibit autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria .International Journal of food microbiology. 125:204-208.

20- التركي،مصطفى خضر دونمز(2006) موسوعة الطب النبوي.دراسة وتحقيق.المجلد الثاني.دارابن حزم للطباعة والنشر والتوزيع.بيروت- لبنان.

21- نيبال،نادر(2005) موسوعة التداوي بالاعشاب الطبية .دار اليوسف للطباعة والنشر والتوزيع.بيروت

22-Smullen, J; G.M. Koutson; H.A. Foster; A. Zombe; D.M. Stony (2007)The antibacterial activity of plants extracts containing polyphenol against streptococcus mutants .Caries Research.41:342-339.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة** Open Access
2010 ,(4), (3) :08-13

جدول رقم (1) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص العزلات البكتيرية

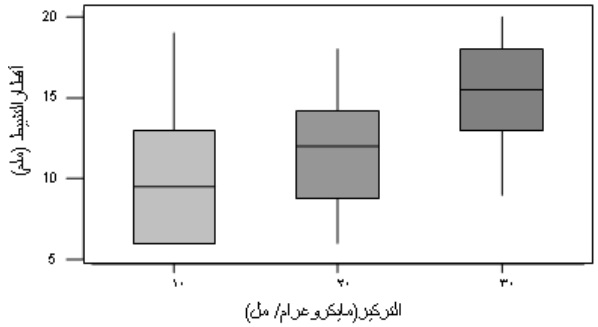
Type of bacteria	Catalase	Oxidase	Urease	Indole test	Methyle red	Voges _proskauer	Citrate utilization	lactase	motility	Growth on TSI
P.aeruginosa	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+ *
E.coli	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Kl. pneumoniae	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+

* بدون تغيير لمكونات الوسط.

جدول رقم (2) يبين تاثير المستخلصات المائية للنباتات قيد الدراسة على العزلات البكتيرية.

المستخلصات النباتية	التركيز ملغم/مل	اقطار التثبيط بالملم		
		P.aeruginosa	*K.pneumonia*	*E.coli*
بذور الحلبة	10	-	-	-
	20	-	+	+
	30	+	+	+
بذور العنب	10	-	-	-
	20	+	-	-
	30	+	+	+
الحبة السوداء	10	-	+	-
	20	+	++	+
	30	++	++	++
الثوم	10	++	-	++
	20	++	++	++
	30	++	++	++
بذور الشعير	10	-	-	-
	20	+	-	-
	30	+	+	+
بذور الفجل	10	+	-	-
	20	++	+	+
	30	++	++	+

- :-لايوجد قطر تثبيط +:- قطر التثبيط من 6_10ملم ++:- قطر التثبيط من 11_16 ملم +++:- قطر التثبيط => 18 ملم



شكل رقم (1) يوضح العلاقة بين تركيز المستخلصات النباتية الكحولية واقطار التثبيط للبكتريا.

جدول رقم(3) يبين تاثير المستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة على العزلات البكتيرية.

المستخلصات النباتية	التركيز ملغم/مل	اقطار التثبيط بالملم		
		P.aeruginosa	*K.pneumonia*	*E.coli*
بذور الحلبة	10	-	-	-
	20	++	+	++
	30	+++	+	++
بذور العنب	10	+	-	-
	20	++	+	+
	30	++	++	++
الحبة السوداء	10	+	++	+
	20	++	+++	++
	30	++	+++	+++
الثوم	10	++	+	++
	20	++	++	++
	30	+++	++	+++
بذور الشعير	10	-	-	-
	20	+	-	+
	30	+	+	++
بذور الفجل	10	+	+	+
	20	++	++	++
	30	++	++	+++

جدول رقم (4) يبين التاثيرالتآزري للمستخلصات الكحولية للنباتات قيد الدراسة على العزلات البكتيرية

المستخلصات النباتية	التركيز ملغم/مل	اقطار التثبيط بالملم		
		P.aeruginosa	*K.pneumonia*	*E.coli*
بذور الحلبة+بذور الحبة السوداء	10	++	+++	+
	20	+++	+++	+++
	30	+++	+++	+++
بذور العنب+بذور الفجل	10	+++	+++	+++
	20	+++	+++	+++
	30	+++	+++	+++
الثوم+بذور الشعير	10	++	++	++
	20	++	+++	+++
	30	+++	+++	+++

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2010 ,(4), (3) :08-13

THE STUDY OF SYNERGISM EFFECT FOR SOME PLANTS EXTRACTS ON BACTERIA THAT CAUSED URINARY TRACT INFECTION.

MAYADA ABDULLAH SHEHAN

ABSRTACT:

The study was carried out to isolate the bacteria that causing urinary tract infection and to determine the rate of this bacteria and to determine the activity.of aquatic and alcoholic extracts of the plants (Nigella sativa, Trigonella foenum , Allium sativum , Vitis vinifera, Hordium valgara and Raphanus seeds).The study also carried out to study the synergism effect of alcoholic extract on these bacteria .The infection percent caused by E.coli was 48% percent ,Klebsiella pneumoniae was 32% percent and Pseudomonas aeruginosa was 20% percent.The results of the effects of plants extracts on the isolates show various effects depending on the extract type,the extract concentration and the type of microorganism.The inhibition activity of the aquatic extracts were lower than alcoholic extracts for all the plants extracts except Allium sativum and Nigella sativa and the inhibition activity of alcoholic extracts was increasing with inceasing the concentration except Hordium valgara .The results of the synergesim effects of alcoholic extracts show better effect than single effect of these plant extract .