الدراسة البايولوجية لقشور ثمار الرمان ومكوناتها الفعالة لبعض انواع الجراثيم المعزولة من حالات الإسهال في مدينة الموصل

خضر داؤد سليمان

قسم علوم الحياة / كلية التربية

جامعة الموصل

الاستلام	القبول
١٤ / ٠٩ / ٢٠٠٩	٠٧ / ٠٤ / ٢٠١٠

Abstract:

The study involved isolation and identification of the bacteria types which cause effection to the stomach from peoples having dieria-200 saples of diaria patients male and female of different ages were used in this study during aperiod of sepetemlar 2006-march 2007. The isolated microorganisms were as follows. Entero pathogenic, *E.coli* O126 in percent of 38.88% Which y the most popular percent then *Sal. Typyimurium* with apercent of 27%in so 1% typh and *Sh.flexneri*, Apercent of 16-11%. The result of the above study revailed that aquous extract of punica granatum has medium activity agaius all types of bacteria studied compaired with antibiotic cephalexin and showed weak activity comparied to the Gentamycin, Trimethoprim antibiotics. The alcohole extract showed higher activity against all types of bacteria compaired with antibiotics (Gentamycin, cephalexin). Moderate activity was shown compaired with Trimethoprim. The study also revailed that the extract of punica granatum showed higher tow and all types of bacteria comparied with the commercial antibiotic mentioned above. The diometer of inhibition one of *Sh.flexneri* was found 23mm While for *S. Typhi* y 22mm. The determination of minimum concentration activity (MIC) of the aquous extracts was found 1mg/ml. For *Sh.flexneri, S. Typhi* and *S.Typyimurium*, while for E.coli was 0.5 mg/ml. The (MIC) of alcoholic extracts for all studied bacteria was found 0.25 mg/ml. The punica granatum extract was found equd in activity for *Sh.flexneri, S. Typhi* and *S.Typyimurium* whoch y 0.125mg/ml. While in *E.coli* the minimum activity (MIC) was found 0.25 mg/ml. The minimum Killer concentration (MBC) was also determined in this study for the studied

organisms. The aquous extract for *Sh.flexneri*, *S.Typyimurium* was found 2 mg/ml. For *E.coli* it was found 1 mg/ml. Alcoholic of all types of organisms as (MBC) was found 0.5 mg/ml. The punica granatum extract was found 0.5 mg/ml. for all types of bacteria studied. The detection of the inhibitory effect for the separated tannin in the growth of the (EPEC O126 in vivo using the ILLeaL rabbit Loop test Showed that the Tannin has an inhibitory effect in the (EPEC) O126 though the measurement of the dilatation indicator Wich was showed to be (0.37) and in comparison with the other dilatation in dicator measurement.

الخلاصة:

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الأنواع الجرثومية الممرضة للامعاء من المصابين بالاسهال. جمعت (٢٠٠) عينة من حالات الاسهال من كلا الجنسين وفي اعمار مختلفة وفي اوائل شهر ايلول ٢٠٠٦ ولغاية شهر اذار ٢٠٠٧ وتمكنت الدراسة من عزل الانواع الجرثومية التالية *Enteropathogenic E.col* O126: بنسبة (٣٨.٨٨%) يعد من اكثر الانواع شيوعا يليه *Sal.typhi murium* بنسبة (٢٧%) في حين Sal.typh. و sh. Flexneri بنسبة (١٦.١١ %) اظهرت النتائج ان المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان اظهرت فعالية تثبيطية معتدلة على جميع الانواع الجرثومية مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin وتأثيراً ضعيفا مقارنة بالمضادين الحيويين Gentamycin و Trimethoprim واما المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية عالية في الانواع الجرثومية مقارنة بالمضادين الحيويين Cephalexin و Gentamycin وفعالية جيدة مقارنة بالمضاد الحيوي Trimethoprim. كما اظهر التانينات المفصولة من قشور ثمار الرمان تأثيراً تثبيطياً عالياً في جميع الانواع الجرثومية مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية حيث كان قطر المنطقة الخالية من النمو في الجرثومة *Sh.flexneri* (٢٣)ملم وفي الجرثومة :***S.typhi*** (٢٢) ملم. وحدد التركيز الادنى المث بط (MIC) في المستخلص المائي حيث كان (MIC) في الجرثومة *Sh.flexneri*،***S.typhi***، *Sal.typhi murium*مساوياً (١) ملغم /سم^3 وفي الجرثومة E.coli O_{126} مساوياً (٠.٥) ملغم/سم^{3}وفي المستخلص الكحولي كان (MIC) في جميع الانواع الجرثومية مساوياً (٠.٢٥) ملغم/سم^3.وفي التانينات ا لمفصولة من قشور ثمار الرمان كان (MIC) مساوياً في الجرثومة *Sh.flexneri*،***S.typhi***، *Sal.typhi murium* (٠.١٢٥) ملغم/سم^3 وفي الجرثومة: E.coli كان (MIC) مساوياً (٠.٢٥) ملغم/سم^3. وكما حدد التركيز القاتل الادنى (MBC) حيث كان (MBC) في المستخلص المائي في الجرثومة *Sh.flexneri*،***S.typhi***، *Sal.typhi murium*مساوياً (٢) ملغم/سم^3 وفي الجرثومة E.coli مساوياُ (١)) ملغم/سم^3 اما في المستخلص الكحولي كان (MBC) في جميع الانواع الجرثومية مساوياً (٠.٥)) ملغم/سم^3. واما

في التانينات كان (MBC) مساوياً (٠.٥)) ملغم/سم^{٣} في جميع الانواع. بالاضافةالى التحري عن التاثير التثبيطي التانينات في نمو جرثومة (EPEC) داخل الجسم الحي (in vivo) وباستخدام اختبار امعاء الارانب المربوطة وتبين ان التانينات تاثيرا تثبيطاً في نمو جرثومة (EPEC) وتكاثرها من خلال حساب مؤشر التمدد الذي بمقدار (٠.٣٧).

المقدمة:

يعد مرض الاسهال من المشاكل الصحية المهمة، اذ يعد من المسببات الرئيسية للوفيات ويحدث الاسهال نتيجة عرقلة في حركة السوائل والايونات خلال القناة الهضمية والناجمة عن حركة غير طبيعية للقناة الهضمية والتي تساعد الجراثيم على النمو في الامعاء الدقيقة (١) وتعد الجراثيم من اهم مسببات الاسهال الخمجي ومنها جرثومة السالمونيلا اذ تعد الانواع ،*S.typhi*، *Sal.typhi* *S.enteritidis*،*murium* من اكثر الانماط المصلية شيوعاً لحالات الاسهال (٢) وهناك العديد من الجراثيم المسببة لهذا المرض مثل *E.coli* بمختلف أنواعها و *Shigella* و *Vibrio cholera*(٣).

فالجراثيم كانت ولاتزال من اهم اسباب الامراض البشرية والحيوانية والنباتية وقد ظهر الامل في معالجة الاصابات الناتجة عن الجراثيم بعد اكتشاف البنسلين والعديد من المضادات الحيوية ولكن بمرور الزمن لوحظ تناقص في فعالية هذه المضادات (٤) لقد ارتأينا في هذه الدرا سة الى الاهتمام بالنباتات الطبية واستخدامها كبديل عن الادوية.

المواد وطرائق العمل:

١) العزلات الجرثومية:

جمعت (٢٠٠) عينة براز من الاشخاص المصابين بالاسهال وباعمار مختلفة ومن كلا الجنسين الذين راجعو العيادة الاستشارية في مستشفى الرازي العام التعليمي من اوائل شهر ايلول ٢٠٠٦ ولغاية اواخر شهر اذار ٢٠٠٧ اذ نقل مايقارب من (١)غم من البراز من كل عينة الى قناني حاوية لوسط المرق المغذي N. broth، ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة (٣٧) م لمدة ٢٤ ساعة بعدها لقحت على الاوساط الانتخابية الصلبة ومنها وسط ماكونكي ووسط SSAgar وبعد الحصول على مزارع نقية تم اجراء الاختبارات الشكلية والكيموحيوية على جميع العزلات وحسب ماورد في (٥،٦).

٢) تحضير المستخلصات النباتية:

جمعت ثمار الرمان من الاسواق المحلية ونظفت ثم غسلت بالماء المقطر وبعد الحصول على القشور جففت في الظل.

٣) تحضير المستخلصات المائية:

تم تحضير المستخلصات المائية لقشور ثمار الرمان وذلك بمزج (٤٠) غم من النموذج مع (١٦٠) سم^{٣} من الماء المقطر وسحق النموذج باستخدام جهاز Blender وحسب ماورد في طريقة الباحث Riose وجماعته (٧) وتم تعقيم هذا المستخلص بعد الحصول عليه باستخدام المرشحات الغشائية membrane filter 0.22 µg.

٤) تحضير المستخلصات المائية الكحولية:

اتبعت طريقة Grand وجماعته (٧) المحور عن الطريقة الاساسية للباحث Verpoorte وجماعته (٨) في تحضير المستخلصات الكحولية حيث سحق (٢٠)غم من قشور ثمار الرمان في (٢٠٠) سم^{٣} من الكحول الاثيلي وبتركيز (٩٥%) وبعد الحصول على المستخلص عقم بطريقة البسترة بدرجة (٦٢)^{o} م لمدة عشر دقائق.

استخلاص المركبات الفعالة من قشور ثمار الرمان والكشف عنها:

تم استخلاص التانينات من قشور ثمار الرمان باستعمال جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet (٩) استخدام الماء المقطر كمذيب وبمعدل (٨) ساعات. وقد اجريت عدة كشوفات كيميائية لاثبات نقاوة التانينات ومنها مدى ذوبانها في الماء، الايثانول، الاسيتون، والايثر والكلوروفورم وثنائي كبريتيدات الكاربون والبنزين ومدى تفاعلها مع محلول كلوريد الحديديك والاملاح المعدنية كخلات الرصاص وخلات النحاس ومحلول ثنائي كرومات البوتاسيوم (١٠).

وتم الكشف عن الثانين المفصول من قشور ثمار الرمان باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer chromatography (TLC) واستعملت في هذه التقنية الصفائح الرقيقة المغطاة بهلام السليكا (Silica gel) المجهز من شركة Merck لقد اعتمدت هذه التقنية لقياس سرعة الجريان للتانينات حيث تم قياس المسافة التي قطعتها العينة من نقطة البداية الى النقطة التي توقفت عندها وتم قياس سرعة الجريان RF باستخدام المعادلة التالية (١١):

$$\text{معدل سرعة الجريان للعينة} = \frac{\text{المسافة التي يقطعها المذيب من نقطة البداية}}{\text{المسافة التي يقطعها المذاب من نقطة البداية}}$$

اختيار الفعالية التثبيطية للمستخلصات ومكوناتها الفعالة:

تم الاختبار بالاعتماد على طريقة (١٢) حيث تم تحضير اقراص من ورق الترشيح (Whatmann No.1) المشبعة بتراكيز مختلفة من المستخلصات (٢٠٠، ١٠٠، ٥٠، ٢٥، ١٢.٥، ٦.٢٥) ملغم/سم^{٣} وذلك بإضافة (٠.١) سم^{٣}من كل تركيز من المستخلص الى قنينة حاوية غلى (١٠) اقراص معقمة (١٣) تم تثبيت الاقراص بواسطة ملقط معقم وحضنت بدرجة حرارة (٣٧)^{o} م ولمدة (١٤-١٦) ساعة. استخدمت طريقة (١٤) لبيان الحساسية للمستخلصات

المستخدمة التي تعتمد على حزام التثبيط واستخدمت المضادات الحيوية من Cephalexin وGentamycin وTrimethoprim والتي اظهرت حساسيته ا ضد الانواع الجرثومية المختلفة كعينة سيطرة موجبة.

تحديد التركيز الادنى المثبط (MIC):

حدد هذا التركيز باستخدام اختبار العكارة، حيث حضرت التخافيف التالية من كل مستخلص (٢٠٠، ١٠٠، ٥٠، ٢٥، ١٢.٥، ٦.٢٥، ٣.١٢٥) ملغم/سم^{٣} ثم اضيف (٠.١) سم^{٣} من كل تخفيف من تخافيف المستخلص من ثمار قشور الرمان الى انابيب اختبار تحتوي (٩.٨) سم^{٣} من المرق المغذي المعقم، ثم لقحت هذه الانابيب بـ (٠.١)سم^{٣} من المعلق الجرثومي وبتركيز $١٠^{٨}$ خلية /سم^{٣} وبمعدل ٣ مكررات لكل تركيز.

حضنت الانابيب بدرجة حرارة (٣٧)^{o}م ولمدة (١٤-١٦) ساعة بعدها تم قياس العكارة باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer من نوع (CEIL CEIO21 1000 SERIES) وعند طول الموجي ٥٩٥ نانوميتر، وحدد التركيز الادنى المثبط الذي هو اعلى تخفيف للمستخلص الذي يمنع نمو الجراثيم بالمقارنة مع عينة السيطرة، التي تتكون من (٩.٨) سم^{٣}من وسط المرق المغذي الملقح بـ (٠.١) سم^{٣} من المعلق الجرثومي المخفف و(٠.١) سم^{٣} من المذيب المستخدم لاذابة المستخلص المراد دراسته (١٥).

تحديد التركيز القاتل الادنى للمستخلصات (MBC):

حدد التركيز القاتل الادنى للمستخلصات عن طريق اعادة زرع الانابيب التي لم تظهر نمواً والتي أظهرت نمواً قليلاً بطريقة العكارة وذلك بسحب (٠.١) سم^{٣} من العالق الجرثومي لكل انبوب ونشره على سطح اطباق حاوية لوسط الاكار المغذي، ثم حضنت الاطباق بدرجة (٣٧)^{o}م لمدة ١٨-٢٤ ساعة قيم الـ(MBC) اخذت من الاطباق التي لم تظهر نمواً جرثومياً بعد انتهاء فترة التحضين (١٦).

دراسة تأثير المكونات الفعالة في جرثومة E. coli: O126 الممرضة للامعاء داخل الجسم الحي (invivo) باستخدام اختبار امعاء الارانب المربوطة (Rubbit Ligated ileal Loops).

تحضير المعلق الجرثومي : لقح (١٠) سم^{٣} من مرق نقيع القلب والدماغ المعقم بالموصدة بـ(٠.٥) سم^{٣} من جرثومة E.coli الممرضة للامعاء في الطور اللوغارتمي وحضنت بدرجة حرارة (٣٧)^{o}م مدة (١٤-١٦) ساعة اختبر تأثير التانينات المعمول من ثمار قشور الرمان في جرثومة E. coli الممرضة للامعاء داخل الجسم الحي وذلك باعتماد على اختبار امعاء الارانب المربوطة (١٧)، اجري الفحص على الارانب بصحة جيدة وباوزان تراوحت بين (١.٥-٢) كغم، اذ خدر الحيوان من خلال حقنة في العضلة بمادتي الكيتامين (Ketamin) بنسبة ١٢٠ ملغم/

كغم من وزن الجسم والزايلزين (Xylazin) بنسبة (٠.٨) ملغم/كغم، تم استحداث شق بطول (١٠)سم تحت عظم القص مباشرة واستخرجت الا معاء الدقيقة ومنها اللفائفي وغسلت بمحلول رنكر وذلك بحقنه بعد الاثني عشر مباشرة بمسافة قصيرة، ربطت الامعاء بعد ذلك بشكل قطع بطول (٥)سم بلغت ثلاثة قطع هي:

١ – القطعة الاولى: حقن (٠.٥)سم^{٣} من المعلق الجرثومي الذي حضر في الفقرة السابقة و (٠.٥) سم^{٣} من المحلول الملحي الفسلجي المعقم.

٢ – القطعة الثانية: حقنت هذه القطعة بـ (١) سم^{٣} من مرق نقيع القلب والدماغ Brain heat infusion (B.H.I) المعقم للسيطرة.

٣ – القطعة الثالثة : حقنت بـ (٠.٥)سم^{٣} من المعلق الجرثومي (٠.٥)سم^{٣} من التانينات المفصولة من ثمار قشور الرمان.

ادخلت الامعاء بعد ذلك في التجويف البطني.خيط الجرح وبعد (٨–١٠) ساعة استخدمت جرعة مميتة من الكلوروفورم لقتل الحيوان . وفتح الجرح واحتسبت دلائل او مؤشرات التمدد (Dilatation In dices) بحساب النسبة بين حجم السوائل المتجمعة في كل قطعة من الامعاء بالسم^{٣} /طول كل قطعة بالسم. فاذا كان مقدار التمدد ٠.٤ او اكثر فتعد النتيجة موجبة.

النتائج والمناقشة:

كانت نتائج الاختبارات الكيموحيوية والتي اجريت على العزلات الجرثومية مطابقة لما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة (١٨) وفيما يتعلق بنتائج هذه الدراسة فان الجدول (١) يوضح بان نسبة اصابة الاطفال الذين ك انت اعمارهم اقل من ٦ اشهر اذ بلغت (١٧.١٤%) تلتها الفئة العمرية بين ٦–١٢ شهراً وبنسبة (١٢.٥%) ثم الفئة العمرية من ١–٥ سنوات بنسبة (١٢%) ومن العمر ٥–١٢ سنة كانت النسبة (٥.٢٦) وبعدها الفئة العمرية ١٢ سنة فمافوق (٩.٠٩%)، ومن هنا نستنتج ان هناك تناقصاً في نسبة الاصابة بالجراثيم مع تقدم العمر وقد يعود السبب في ذلك الى تكامل نمو الجهاز المناعي لدى الاطفال مع تقدم العمر .

كما اشار الجدول السابق الى توزيع الانواع البكتيرية بحسب المجموعات العمرية المختلفة اذ اظهرت النتائج بان نسبة الاصابة في الفئة العمرية اقل من ٦ اشهر بجرثومة E.coli Enteropathogenic كان اعلى نسبة (١٧.١٤). اما فيما يتعلق باختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات فقد اظهرت الدراسة ان المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان فعالية تثبيطية معتدلة كما في الشكل (١) على جميع الانواع الجرثومية مقارنة بالمضادات الحيوية Gentamycin وتاثيراً ضعيفاً مقارنة بالمضادين Cephalexin وTrimethoprim كما موضح في الجدول (٣) وهذا ماشار اليه Zrecetk وجماعته اكدو على ان المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان فعالية تثبيطية ضد الجراثيم السا لبة والموجبة (١٩).وكان للمستخلص

الكحولي فعالية تثبيطية عالية في الانواع البكتيرية مقارنة بعينات السيطرة القياسية Cephalexin و Gentamycin وفعالية تثبيطية جيدة مقارنة بالمضاد الحيوي Trimethoprim كما في الشكل (2).

كما اظهرت التانينات المفصولة من قشور ثمار الر مان تاثيراً تثبيطياً عاليا من الانواع الجرثومية جميعاً بالمقارنة بعينات السيطرة . وقد اشارت الدراسة الحالية ان المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان قد اظهر تاثيراً تثبيطياً عالياً في نمو الانواع الجرثومية ويعزى سبب ذلك الى طبيعة المادة الفعالة وقوة تاثيرها وع لاقتها بجدار الخلية الجرثومية (٢٠) وقد اظهرت التانينات فعالية تثبيطية عالية في جميع الانواع الجرثومية وقد يعزى السبب الى وجود المحتوى العالي للتانينات والذي يعتبر من المواد القاتلة للاحياء المجهرية ويعود تاثيره الى تكوين اواصر هيدروجينية مع البروتينات مما يحول دون بنائها (٢١).

تحديد التركيز المثبط الادنى:

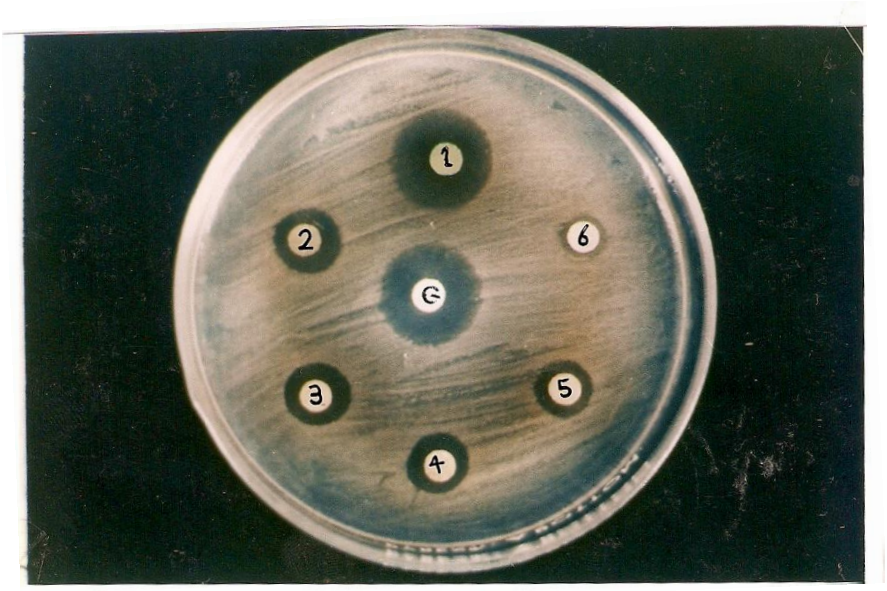
وقد تبين ان التركيز المثبط الادنى للمستخلص المائي لقشور ثمار الرمان في الانواع الجرثومية *Sh.flexneri*،*S.typhi*،*S.typhimurium* كان مساوياً تقريباً (١) ملغم/سم^{3}وفي النوع *E.coli* النمط المصلي O126 (٠.٥) ملغم/سم^3 وكما مبين في الجدول (٤)بينما كان المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان تاثيراً قوياًعلى الانواع الجرثومية جميعاً حيث كان مساوياً(٠.٢٥) ملغم/سم^3.اما في التانينات فقد كان (MIC) في الانواع الجرثومية *Sh.flexneri* و *S.typhi* كان مساوياً (٠.١٢٥) ملغم/سم^3 وفي الانواع الجرثومية *S.typhimurium* وEnteropathogenic E.coli O126 مساوياً (٠.٢٥)ملغم/سم^3. حيث كان التركيز القاتل الادنى للمستخلص المائي للانواع الجرثومية *Sh.flexneri* و*S.typhi* و *S.typhimurium*مساوياً (٢) ملغم/سم^3 وللجرثومة *Enteropathogenic E.coli O126* (١) ملغم/سم^{3}اما بالنسبة للمستخلص الكحولي (MBC) للانواع الجرثومية جميعاً مساوياً (٠.٥) ملغم/سم^{3}بينما للتانينات المفصول من قشور ثمار الرمان كان لجميع انواع الجراثيم (٠.٥) ملغم/سم^3. كما اظهرت نتائج الكشف للتانينات المفصولة من قشور ثمار الرمان باستخدام تقنية الكروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة والمذكورة في المواد وطرائق العمل . بظهور بقعة لون بني وكانت قيمة الـ(RF)لها مساوياً ٠.٨٥ وهي مماثلة لـ RF العينة القياسية للتانينات وكما موضح في الجدول (٥) والصورة (١).

باستخدام المذيبين Ethanol و Ethylacetate

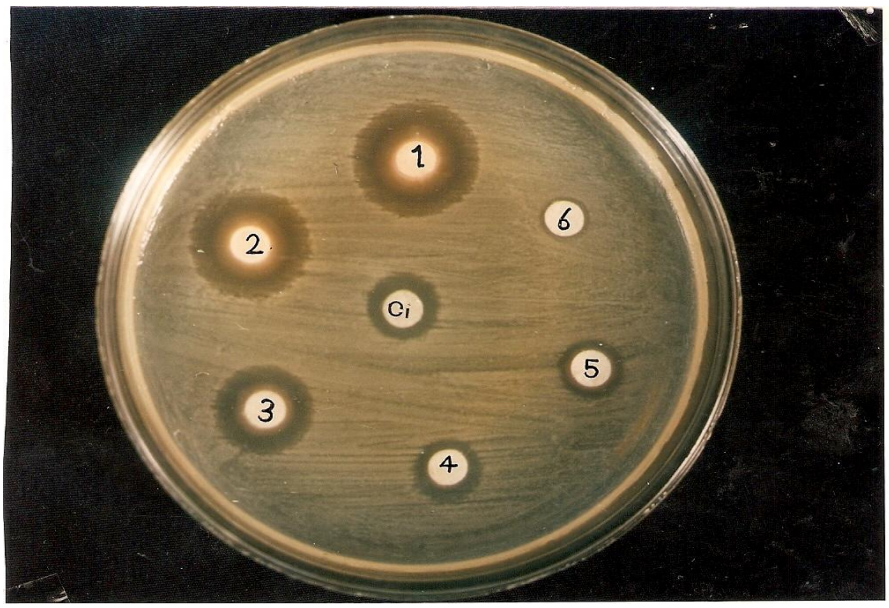
صورة رقم (١): البقع الظاهرة للتانين المفصول من قشور ثمار الرمان وعينة النموذج القياسية بواسطة تقنية TLC

١- التانين المفصول من قشور ثمار الرمان

٢- عينة النموذج القياسية



الشكل (١): تأثير المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان بتراكيز مختلفة في النمط المصلي D_{126} لجرثومة *E. coli* مقارنة مع المضاد الحيوي Gentamycin

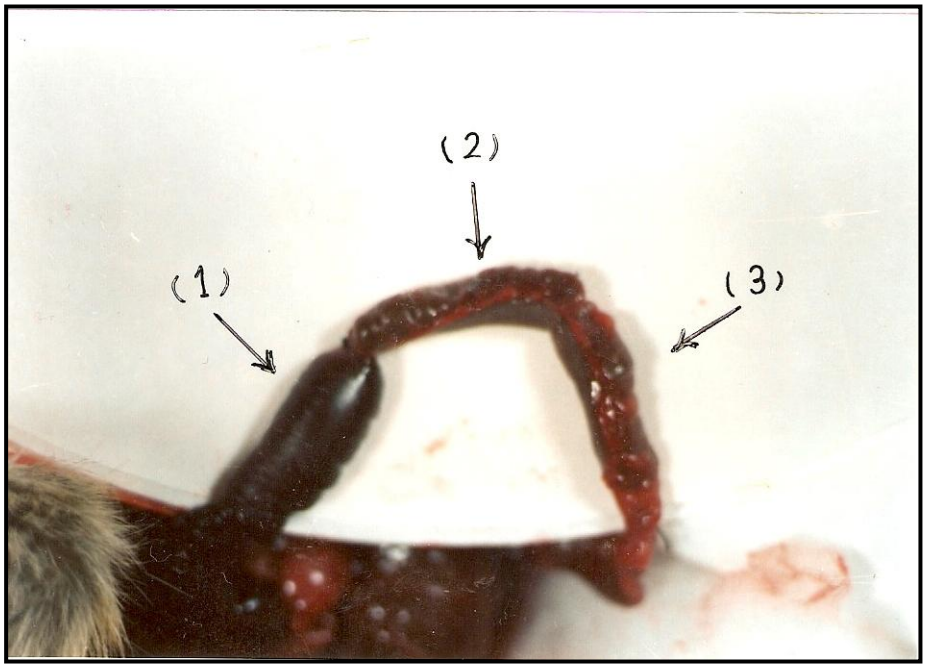


الشكل (٢): تأثير التانينات المفصولة من قشور ثمار الرمان بتراكيز مختلفة في النمط المصلي D_{126} لجرثومة *E. coli* مقارنة مع المضاد الحيوي Cephalexin

التاثير التثبيطي للتانينات المفصولة من قشور الرمان في الجرثومة E.coli النمط O126 الممرضة للامعاء داخل الجسم الحي Invivo.

اجري هذا الاختبار حسب طريقة الباحث Moon وجماعته(١٧) للكشف عن قابلية الجراثيم على النمو والتكاثر داخل الامعاء، اعطيت نتيجة الاختبار نتيجة موجبة كما مبين في الصورة (٢) اذ تظهر قطع الامعاء المربوطة التي حقنت القطعة الاولى منها بـ(١) سم^{3}من المعلق الجرثومي الذي يعادل ١٠^{١٠}خلية /سم^3 والمخفف بنسبة بنسبة ٥٠% باستخدام محلول الملح الفسيولوجي، ويلاحظ فيه تمدد القطعة وتضخمها نتيجة لتجمع السوائل، وان مؤشر التمدد بلغ ٠.٥٣ تقريباً وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Sedlock وDeibel (٢٢) اللذان اثبتا ان لعدد من السلالات جرثومة E.coli القدرة على تجميع السوائل في امعاء الارانب المربوطة .

اظهرت القطعة الثانية (control) نتيجة سالبة وهي التي حقنت بـ (١) سم^3 من مرق نقيع القلب والدماغ، اذا مؤشر التمدد مساوياً لـ (٠.٢٩") تقريباً، اما القطعة الثالثة التي حقن ت بـ(٠.٥)سم^3 من التانينات المفصولة فقد اظهرت نتيجة سالبة لاختبار امعاء الارانب المربوطة .ممايدل على ان تاثير التانينات المثبط لنمو جرثومة (EPEC) وتكاثرها، اذ بلغ مؤشر التمدد (٠.٣٧). وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه الباحثان (Sulyman وAbbar،١٩٨٤) اللذين اثبتا بان بعض السلالات جرثومة (EPEC) القدرة على تجميع السوائل في امعاء الارانب المربوطة.



الصورة رقم (٢): توضح لقطع أمعاء الأرانب المربوطة.

١- تمثل القطعة المحقونة بالمعلق الجرثومي

٢- تمثل القطعة المحقونة بواسطة (B.H.I)

٣- تمثل القطعة المحقونة بالمعلق الجرثومي السيطرة + مستخلص التانينات

جدول رقم (١) توزيع الانواع الجرثومية والنسبة المئوية للجراثيم الممرضة للامعاءبين الفئات العمرية المختلفة في مدينة الموصل.

الفئات العمرية	العدد الكلي للعزلات المختلفة	النسبة المئوية	عدد العزلات الموجبة	النسبة المئوية	الانواع الجرثومية			
					Shigella flexneri	*Salmonell typhimurium*	*Salmonell typhi*	E.coli Seroo126
اقل من ٦ اشهر	٣٥	٢١.٨٧	٦	١٧.١٤	—	—	—	٦
٦-١٢ شهر	٤٠	٢٥.٠	٥	١٢.٥	—	٢	٢	١
١-٥ سنة	٢٥	١٥.٦٢	٣	١٢.٠	—	٢	١	—
٥-١٢سنة	٢٢	١٣.٧٥	٢	٩.٠٩	—	١	١	—
١٢ سنة فما فوق	٣٨	٢٣.٧٥	٢	٥.٢٦	٢	—	—	—
	١٦٠		١٨		٢	٥	٤	٧
					١١.١١	٢٧.٧٧	٢٢.٢٢	٣٨.٨٨

جدول رقم (٢): التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية والكحولية والتانينات المفصولة من ثمار قشور الرمان بتراكيز مختلفة في الأنواع البكتيرية المختلفة (قطر دائرة التثبيط مقاساً بالملم).

الانواع البكتيرية	نوع المعاملة	تركيز المستخلص ملغم /سم٣					
		٢٠٠	١٠٠	٥٠	٢٥	١٢.٥	٦.٢٥
Shigella flexneri	المستخلص المائي	١٠	٨	٠	٠	٠	٠
	المستخلص الكحولي	٢١	١٩	١٤	٨	٠	٠
	التانينات	٢٣	٢١	١٥	١٢	٩	٠
Salmonella typhimurium	المستخلص المائي	٩	٧	٠	٠	٠	٠
	المستخلص الكحولي	٢٠	١٦	١٢	٩	٠	٠
	التانينات	٢٢	٢٠	١٧	١٢	٠	٠
Salmonella typhi	المستخلص المائي	١٢	٨	٠	٠	٠	٠
	المستخلص الكحولي	٢١	١٧	١٤	١٠	٠	٠
	التانينات	٢٢	١٩	١٥	١٢	٩	٠
E.coli O126	المستخلص المائي	١٤	١١	٧	٠	٠	٠
	المستخلص الكحولي	٢١	١٧	١٤	١١	٠	٠
	التانينات	٢١	١٨	١٣	٩	٠	٠

جدول (٣): الفعالية التثبيطية لمستخلصات ثمار قشور الرمان للأنواع الجرثومية الممرضة للامعاء مقارنة مع المضادات الحيوية (قطر دائرة التثبيط مقاساً بالملم).

نوع المعاملة	Shigella flexneri	Salmonella typhimurium	Salmonella typhi	Enteropathogenic E.coli O126
المستخلص المائي لثمار قشور الرمان	١٠	٩	١٢	١١
المستخلص الكحولي	٢١	٢٠	٢١	٢١
التانينات	٢٣	٢٢	٢٢	٢١
المقارنة				
Gentamycin	١٢	١٣	١٢	١٣
Cephalexin	١٧	١٦	١٨	١٦
Trimethoprim	٢١	٢٠	٢١	٢١

جدول (٤) التركيز الأدنى المثبط (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) للمستخلصات المائية والكحولية والتانينات المفصولة من ثمار قشور الرمان في انواع الجراثيم المعزولة من الاشخاص المصابين بالاسهال.(ملغم/سم٣).

نوع المستخلص	*Shigella flexneri*		*Salmonella typhimurium*		*Salmonella typhi*		Enteropathogenic E.coli O126	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
المستخلص المائي	١	٢	I	٢	I	٢	٠.٥	١
المستخلص الكحولي	٠.٢٥	٠.٥	٠.٢٥	٠.٥	٠.٢٥	٠.٥	٠.٢٥	٠.٥

التانينات	٠.١٢٥	٠.٥٠	٠.١٢٥	٠.٥	٠.١٢٥	٠.٥٠	٠.٢٥	٠.٥٠

جدول (٥): قيمة الـ(RF) للتانين المفصول من قشور ثمار الرمان.

المركب	RF المقاسة	RF للمركب القياسي Stander
التانين	٠.٨٥	٠.٨٥

المصادر:

1) Branski, D.; Lerner, A. and Lebenthal, E., pediater, Gastroenterol., 43(2): 307-331.(1996).

2) Black, R. E., pediater. Infec. Dis. J., 12: 751-761.1993.

3) Charasse, D. C.; Shier, R; P.; Murphy, O. A.; Huttly, S. R.; Cousens, S. N. and Akhtar, T., Lancet, 353:22-25(1999).

4) Digrak, M.; Ilcim, A; Alrma, M. H. and Sen, S. Tr. J. of Biology., 23:241-248.1999.

5) Cruickshank, R; Dugiud, J. P.; Marmion, B. P. and Swain, R. H. A., "Med: cal Microbiology" vol.2. The practice of Microbiology. 12thed. Churchill Living stone Edinburghi (1975).

6) Macfaddin, J. f., "Biochemical test for identification of medical bacteria".2nded. Waverly press, Inc., Baltimore (1985).

7) Grand, A; Woudergem, P. A; Verpoorte, R. and pousset, J. L., J. Ethnopharmacol., 22:25-31 (1988).

8) Verpoorte, R.; Tginastoi, A.; Vandoorn, H. and vendsen, A. B., J. Ethnopharmacol., 5:221-226 (1982).

9) Panshin, A. J. and Harrar, E. S., Forest product, there sources, production and Utilization McGRAW-Hill book company, USA (1962).

10) Shriner, R. L.; Puson, B. C. and Curtin, D. Y., "Systematic identification of Organic Compound" 5thed., John Wiley and sons. Inc (1964).

11) Harborne, J. B.; phytochemical Methodes Agide to modern Technique of plant analysis, Ist. ed.printed in Great Britain Cox and Wyman Ltd., London. (1973).

12) Bauer, A. W.; Kirbay, W. A. M.; Sherris, J. S. and Turk, M., Am J. Clin. Pathol., 45:493-496 (1966).

13) Waage, S. K. and Hedin, P. A., phytochemistry, 24:243-245 (1985).

14) Prescott, L. M.; Harley, J. P. and Klein, D. A., "Microbiology" 3ed., W. M. C. Brown. publishers London. Chicago (1996).

١٥) النعمان، اديبة يونس شريف حمو، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم ، جامعة الموصل، العراق (١٩٩٨).

16) Grace, O. O.: Evaluation of the anti microbial. Activity of citral. Letters in. Appli. Microbiol. 9:105-108. 1989.

17) Moon, H. W.; Whipp, S. C.; Engstrom, G. W. Baetz., A. L. Response of the rabbit ileal Loop to cell-free products from E. coli Enteropathogenic for Swine. J. ifect. Dis.121:182-187.(1970).

18) Koneman, E. W.; Allen, S. P. Jadan. W. M; Schreckeberger, P. C. and Win, W. C. color Atlas and textbook of diagnostic Microbiology. 5th ed, JB. Lippincott Ravenpublishers, philadaphia.

19) Zvetkova, E. Wirleitner, B.; Tarm, N. T.; Schennach, H. and fuchs, D. 2001.Aaqueout extracts crinum Latifolium (L.) and camellia sinensis. Immunopharam col., I(12):2143-2150.

20) Desta, B., Journal of Ethnopharmacology, 39:129-139(1993).

21) Nychas, G. J. E., Natural antimicrobial form plants. In: Gould, G. W. New Methods of Food preservation. Academic and professional., London, PP.58-89 (1995).

22) Das, D. N.; Studies on antibiotic activity of J. Ind. chemsoc. 39:849-854 (1992).

23) ABBAR. F. M.; Sulayman, H. D.; Isolation and identification of Enteropathogenic Bacteria Causing infantile Diarrhea in infantile Hospital, the Bulletin of the High Institute of public health- vol. X(v.) No.2-(1984).