



جمهورية العراق

وزراء التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم / قسم البيئة

دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لاوراق نبات النارج (Citrus aurantium)
في تثبيط نمو البكتريا المرضية المعزولة من الاطفال الرضع المصابين بالتهابات
المعوية المعوية في مستشفى الحمزة للاطفال

بحث مقدم الى مجلس قسم البيئة كلية العلوم

كجزء من متطلبات نيل درجه بكالوريوس في علم البيئة

من قبل

مروان جاسم بركات

بإشراف

المحاضر المساعد د. عباس العبيد الله

2015 – 2016

الإمام

الإمام صاحب الفردوس الأعلى وسراج الأمة المنير وشفيعها النضير البشير حاتم الأنبياء والمرسلين محمد (صلى الله عليه وآله وسلم)

الإمام من جرع الكاس فارغا ليسقيني قطرة حب الله من حبك الإلهي عن طريق
إيمتك لي طريق العلم الله رمز الحب وبسمل الشفاء

الإمام من سهر الليالي ونسج الغوالي وظل سندي الموالج وحمل همي غير مبالج والطي العزيز

الإمام من أثقلت الجفون سهرًا وحملت الفؤاد هما وجأهات الأيام صبرا وشغلت البال فكري

ورفعت الأيام دعاءً وأيقنت بالله إملأني من كان دعائها سر نجاتي وحنانها يسلم

جراتي أغلغ الغوالي وأعز الأحاب (والطي العزيز)

الإمام جميع من ساندني من الحوتج والحواتج وصديقاتي

الشكر والتقدير

- تقدير جزيل الشكر والتقدير إلى المكاتورة (ولاء عباس العبد الله) التي ساعدتني
- في الإرشاد والنصح حتى أتمته هذا البحث في هذه الصورة وكفاتي (والتي)
- التي سألهم مسألته كغيره في إنجاز بحثي هذا وكفاتي تقدير جزيل الشكر
- إلى كل من قدم لي يد العون والمساعدة ولا يفوتني أن أسجل شكري وامتناني إلى
- جميع من ساعدني سواء في المستشفى وفي المختبر الجامعي

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لتحديد الفعالية الجرثومية للمستخلص المائي والكحولي لاوراق نبات النارنج (Citrus aurantium) ضد بعض العزلات الجرثومية البكتيرية الممرضة المعزولة من براز الاطفال الرضع المصابين بالالتهابات المعوية المعدية والبالغة ١٣ عينة ، حيث تمثلت الانواع البكتريا المعزولة

(E.Coli, Enterobacter, salmonella Sp, Shigella Sp, Staphylococcus Sp) .

اظهرت النتائج ان لكلا من تراكيز المستخلص المائي والكحولي تاثير واضح في تثبيط قطر النمو للبكتريا المعزوله كما اوضحت النتائج ان اعلى نسبة تثبيط كان للمستخلص الكحولي وبتركيز ١ مايكرو غرام امل للبكتريا E.Coli والبالغ فيها نسبة نصف قطر منطقة التثبيط ٢٠ . كما اظهرت النتائج ان اعلى نسبة تثبيط عند المعاملة بتراكيز المستخلص الكحولي كان عند تركيز ٠,٧٥ و ١ للبكتريا Shigella Sp وبنصف قطر التثبيط ٢٢ و ٢٥ ملم على التوالي . اوضحت النتائج ان فعالية المستخلص المائي والكحولي لاوراق النارنج تزداد بزياده التركيز .

المقدمة

الالتهاب المعدي المعوي او التهاب المعدة (Gastroenteritis) هو حالة مرضية تتسبب بالتهاب القناة الهضمية واتي تؤدي الى مجموعة اعراض كالإسهال والقيء والم بطني وتشنج (Singh ,2010).

يعتبر الفايروس روتا (العجلي) المسبب الاكثر شيوعا لحالات التهاب المعدة والامعاء لدى الاطفال

(Tate *et.al* , 2012) او سبب بعض البكتيريا مثل السالمونيلا والمكورات العنقودية (Staphylococcus, Vibrio cholera , E.coli) وهذا قد يحدث انتقال العدوى بسبب استهلاك الاطعمة المعدة بطريقة غير سليمة واطباق اللحوم المعاد تسخينها او بسبب المياه الملوثة والحليب الملوث والاتصال الوثيق بالافراد المصابين في حالة المصابين من الاطفال الرضع (Starr , 2005).

في الاطفال تسبب البكتيريا حوالي 15% من الحالات والانواع الاكثر شيوعا هي : E. Coli , Salmonella , Shigella وانواع من Vibrio (Starr , 2005). ومن الجدير بالذكر ان ارضاع الاطفال بالزجاجات الغير معقمة جيدا تعتبر سببا مهما للإصابة على المستوى العالمي (Webber , 2009). كما ترتبط معدلات انتقال العدوى بتدني مستويات النظافة الصحية خاصة بين الاطفال في الاسر الكبيرة وفي الاسر التي تعاني من تغذية سيئة (Baumgart , Eckardt , 2011).

تكون القناة الهضمية عند الاطفال الرضع معقمة وتبدأ الجراثيم بالدخول اليها عبر الطعام والشراب فيتكون مجتمعا ميكروبيا يتعايش مع الانسان داخل الجهاز الهضمي وهو ما يعرف ب Normal flora يزداد عدد هذه الكائنات كلما اتجهنا الى اسفل الجهاز الهضمي .

بالرغم من وجود الحمض المعوي ووجود انزيم البيبسين الهاضم للمكونات البروتينية ولكن يزداد هذا العدد في الامعاء الدقيقة والغليظة اكثر لوجود المواد الغذائية داخلها لمدة طويلة مما يعطي الفرصة لهذه الكائنات بالزيادة العددية لها . تحدث الالتهابات القناه الهضمية نتيجة الإصابة بعده انواع من المسببات المرضية كالبكتيريا والطفيليات والفيروسات فيحدث الم او غثيان او قيئ او اسهال وقد يصاحب ذلك الحمى كعرض من اعراض التهاب القناة الهضمية .

Citrus aurantium L نبات النارنج

يعود نبات النارنج تصنيفيا الى عائلة الحمضيات Rutaceae التي تضم (150) جنسا وما بين

(1600-1500)نوعا وتعود هذه العائلة الى رتبة Geraniales التابعة لتحت الصنف Archichlamydae

التابعة لصنف ذوات الفلقتين Dicotyledons (Bhattachar& Johri . 1998) يسمى هذا النبات علميا

Citrus aurantium L ويسمى محليا في العراق بالنارنج (الكاتب .1988) ويسمى ايضا neroli وتعود هذه

التسمية الى المدينة Nerola الايطالية التي تم فيها استعمال زيت نبات C. aurantium لأول مرة كعطر

لتهديئة الاعصاب (Medica- 2004) يوصف هذا النبات بانه شجرة دائمة الخضرة واوراقها مركبة

تحوي على تخصر واضح بين النصل وعنق الورقة , الازهار ثنائية الجنس , شعاعية التناظر , خماسية الاجزاء ,

الثمرة برتقالية (Hesperidium) تحوي كمية كبيرة من الزيوت الطيارة والثابتة في حين تحتوي البذور على

كمية كبيرة من الزيوت الثابتة بالاضافة الى احتواء النبات على فلافونيدات (flavonoids) , عطور مرة

(baitter essence) و hesperidin (2003.Gotfredson)

ينمو هذا النبات بصورة طبيعية في الهند ويزرع بكثرة في المناطق شبة الاستوائية واهم مصادر التجارة تأتي

من اسبانيا وصقلية ومن المناطق الحارة في امريكا الجنوبية , ادخلت زراعة هذه الشجرة الى الاقطار العربية

وافريقيا بواسطة العرب ووصلت الى اوربا عام (1200) م (الشعاع,1989)

تستعمل قشور نبات C. a urantium كدواء للمعدة وطارد للأرياح (الشعاع,1989) . كذلك تستعمل كمبيد

للحشرات (Insecticide) في حين يستعمل الزيت المستخلص من الازهار والاوراق كعلاج للامراض الجلدية

(Schmidt,1994-2004) وعلاج حالات الهياج العصبي (Weiss&Fintelmann ,2000). في الطب

الصيني تستعمل ثمارة لازالة الدهون وتخفيف الوزن عن طريق زيادة توليد الحرارة في العضلات بدون تحفيز

الجهاز العصبي المركزي مما يؤدي الى حرق عدد كبير من السعرات الحرارية (Total Control ,2002)

وتعمل كذلك ثمارة على تحرير الحوامض الدهنية وتزيد في السرعة التمارين ووجد ان هذه الثمار المستعملة الطب الصيني تحتوي على فلوريدات بنسبة (0.8%) ويعتقد ان عدم وجود تأثيرات جانبية لفلوريدات نبات C.aurantinm , كارتفاع ضغط الدم وزيادة معدل ضربات القلب وتحفيز الجهاز العصبي , يعود لعدم وصول الفلوريدات الى الدماغ , وذلك بسبب تخصصها العالي نحو الخلايا الدهنية الموجودة في النسيج الدهني (-2000 Sou Zao Enterprises 2003)

المواد وطرائق العمل

١- تحضير المستخلص المائي والكحولي

جمعت عينات اوراق النارج الفنتية من الحدائق المحليه لمدينه الديوانيه وتركت العينات لتجف بدرجة حراره الغرفه الاكثر من اسبوع ثم طحنت عينات الاوراق واذيب كل من (١غم) من المسحوق مع ١٠٠ من

الماء المقطر و(١غم) مع ١٠٠مل كحول الايثانول وكل منهما تم خلطه باستخدام Magnetic stirrer

بدرجه حراره الغرفه مع تسخين المائي فقط وتنقيع الكحولي لمده ٢٤ ساعه. وبعد انتهاء المده وضع كل من الخليطين في جهاز الطرد المركزي (٥٠٠pm) لمده ثلاث دقائق ثم السماح لكل منهما ليحجف بدرجة حراره الغرفه الباودر الناتج منهما يمثل المستخلص المائي والكحولي الخام والتي يمكن منه تحضير التراكيز (١٠٠، ٧٥، ٥٠، ٢٥) مايكرو غرام/مل (saimary, ١٩٩٩).

٢- عزل البكتريا الممرضة المسببة لالتهابات المعوية المعدية

تم جمع (١٣) عينه من براز الاطفال الرضع الراقين في المستشفى الحمزة للاطفال وجميعهم مصابين بالالتهابات المعدية المعوية . تم جلب العينات الى المختبر باستخدام صوابات جاهزة حاويه على وسط Cary blair medium وبعدها. زرعت العينات بعد ترقيمها في الاوساط التفريقية والتشخيصية وهي Tcps, blood agar, XLD, SS, Macckonky ووسط الهكتون للتعرف على الاجناس البكتيرية من خلال نوع المستعمرة وشكلها وقوامها ولونها وطبيعة تحللها للوسط وهل هي البكتريا موجب ام سالبه لصبغه كرام .

طريقه العمل

(١) جمع العينات وتهيأتها مختبريا

تم جمع ثلاثه عشر عينه حديثه من براز الاطفال الرضع المصابين بالالتهابات المعويه المعديه Gastroenteritis تراوحت اعمارهم (٢-٥) اشهر في المستشفى الاطفال لقضاء الحمزه في محافظه الديوانيه . زرعت العينات مباشره في صوابات خاصه حاويه على وسط (Cary blair medium with swab) لحين نقلها الى المختبر للتشخيص واجراء التجربه عليها.

رقت العينات وزرعت حسب ترقيمها في اوساط (XLD, blood agar ,Macconky agar ,Tcps) حيث بعض هذه الاوساط تفريقيه والاخرى الاختبارية . (SS agar)

(٢) تشخيص البكتريا

تم زراعه العينات في الاوساط التفريقيه وتسجيل الملاحظات في شكل المستعمرة وقوامها ولونها وحافه المستعمرة ومن ثم تصبيغ البكتريا بصبغه كرام يليها اجراء الفحوصات الخاصه بتفريق وتميز الاجناس البكتريا المسببه بالالتهابات المعويه المعديه .

(٣) تحضير المستخلص المائي والكحولي الاوراق نبات النارج (Citrus aurantium)

تم جمع العينات من اوراق نبات النارج الناميه حديثا من البراعم وتجفيفها بواسطه الفرن الكهربائي ومن ثم سحق العينات للحصول على باودر من اوراق النارج .

تم قسم كميه الباوور الى جزئين متساويين احدهما للاستخلاص المائي والاخر الكحولي تم استخدام الطرق التقليديه في الاستخلاص المائي والكحولي بطريقه التنقيع والترشيح تم تحضير تراكيز

(0.10 , 0.75 , 0.50 , 0.25) من تراكيز القياس (١) ppm .

٤) قياس الفعاليه التضاديه للبكتريا المعزوله

تم استخدام وسط Nutrient agar لقياس التضاديه باستخدام اقراص معامله بالتراكيز تم زرع الاطباق بالبكتريا المستخدمه بطريقه التخطيط وحضنها لمده 24ساعه ومن ثم اضافه الاقراص المعامله بالتراكيز لكل البكتريا المعزوله وحضنها لمده 24 ساعه اخرى وبعد انتهاء مده الحضان تم اخذ قياسات منطقه التثبيط حول الاقراص .

النتائج والمناقشة

تم تسجيل الفعالية التثبيطية لمنطقة التثبيط لكل من المعاملتين المستخلص الكحولي والمائي وظهرت النتائج ان الاستخلاص الكحولي ذات تاثير واضح في تثبيط نمو البكتريا المعزولة وبشكل اكثر تاثيرا مما هو عليه عند معاملة العزلات البكتيرية بالمستخلص المائي حيث كان التركيز ٠,٧٥ و ١ مايكروغرام/مل اكبر نصف قطر تثبيط (٢٢ و ٢٥) ملم على التوالي للبكتريا Shigella , يليه ١٦ ملم عند تركيز ١ مايكروغرام/ مل للبكتريا Staphylococcus ومقاربه لها عند التركيز نفسه ١٥ ملم كل من E.coli و Enterobacter وكانت اقل نصف قطر تثبيط ٢٠ ملم عند اقل تركيز ٠,٢٥ مايكروغرام /مل للبكتريا Salmonella كما في الجدول رقم(١).

جدول (١) تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات النارج في البكتريا الممرضة المعزولة من الاطفال الرضع في مستشفى الحمزة التعليمي

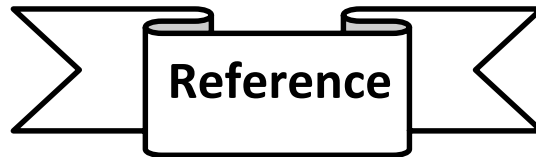
البكتريا المعزولة	التركيز مايكرو غرام/مل	نصف قطر التثبيط (ملم)
<u>E.Coli</u>	٠,٢٥	٣
	٠,٥٠	٨
	٠,٧٥	١٠
	١	١٥
<u>Enterobacter Sp</u>	٠,٢٥	٤
	٠,٥٠	٩
	٠,٧٥	١٤
	١	١٥
<u>Salmonella Sp</u>	٠,٢٥	٢
	٠,٥٠	٢
	٠,٧٥	٦
	١	١٠
<u>Shigella Sp</u>	٠,٢٥	٦
	٠,٥٠	١٥
	٠,٧٥	٢٢
	١	٢٥
<u>Staphylococcus Sp</u>	٠,٢٥	٣
	٠,٥٠	٤
	٠,٧٥	٩
	١	١٦

اما بالنسبة لتأثير المستخلص المائي فقد ظهر واضحا تأثيره عند تركيز ١ مايكروغرام/مل ونصف قطر تثبيط البكتريا E.Coli يليها ١٨ ملم عند تركيز نفسه للبكتريا Enterobacter كما يوضح الجدول رقم (٢) ان

التركيز ٠,٢٥ و ٠,٥٠ مايكروغرام/مل لم يظهر تأثيرا تثبيطيا في نمو كل من Salmonella و Staphylococcus. وأظهرت النتائج ان الفعاليه التثبيطيه لكل من المستخلص المائي والكحولي يزدادان بزياده التركيز .

جدول (٢) تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات النارج في البكتريا المرضية المعزولة من الاطفال الرضع في المستشفى الحمزة التعليمي

البكتريا المعزولة	التركيز	نصف قطر التثبيط (ملم)
<u>E.Coli</u>	٠,٢٥	٥
	٠,٥٠	٨
	٠,٧٥	١٢
	١	٢٠
<u>Enterobacter Sp</u>	٠,٢٥	٣
	٠,٥٠	٧
	٠,٧٥	١٤
	١	١٨
<u>Salmonella SP</u>	٠,٢٥	صفر
	٠,٥٠	صفر
	٠,٧٥	٨
	١	٨
<u>Shigella Sp</u>	٠,٢٥	٣
	٠,٥٠	٦
	٠,٧٥	٩
	١	١١
<u>Staphylococcus Sp</u>	٠,٢٥	صفر
	٠,٥٠	٤
	٠,٧٥	٥
	١	٨
	١	١٢

A decorative banner with a ribbon-like border and a central rectangular box containing the word "Reference".

Reference

-Singh ,Amandeep 2010, pediatric Emergency Medicine .practice Acute Gastroenteritis world journal for medical research volum 11, issue 5 ,pp102-110

-Tate JE ,Burton AH , Boschi – Pinto C, steele AD , Duque J , parashar UD .2012.

Estimate of world wide rotavirus – associated mortality in children younger

Than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination

Programmes . The lancet infectious diseases 12 (2): 136-41.

-Starr , M (2005) Gastroenteritis in children Australian family physician ,

34(4) :227 -31 .

- Webber Roger (2009) . communicable disease epidemiology and control : a global

Perspective walling ford , oxfordshire : Cabi , ISBN 978-1-84593-504-7 , p :79 .

Eckardt AJ and Baumgart DC . 2011. Viral gastroenteritis in adults . Recent patents

On Anti – infective drug . discovery 6 (1):54 -63.

References

- 1- Al-saimany-I-E1993 A study of activity of extracts of my thus commis L –(myrtaccae)
- 2- AL – Saimany - I-E. 1999 . Astudy of activity of extracts of aqueous extracts OA\Allim Sativum L.(Liliaceace) . Eeatem Mediterranean health Tournal vol,NO. 4:803-810.
- 3- Ali B.K. ; Tanira , M .O. and Bashir , A.K . (2000). Anti inflammatory
- 4- Antipyretic analgesic effect of Linermis Linn in rats Desert and Marine Environmental Research Center , VAE Vi versity , AlAin