

تأثير مستخلص نبات النومي بصرة *Citrus aurantifolia* في الطفيلي اميبا الزحار

Entamoeba histolytica في الجسم الحي

علي حسين مكي الكبيسي يعرب مضر القزويني رياض حاتم حدادي

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة كربلاء

الخلاصة Summary

تم خلال الدراسة للتحري عن تأثير مستخلص نبات نومي بصرة ، تم اصابة فئران مختبرية من سلالة **Mice** كذلك استخدام عقار الفلاجيل اضافة لمحلول السيطرة (محلول فسلجي) وكانت النتائج حسب الشكل التالي: ان لمستخلص نومي بصرة (3000 ملغم/كغم) هو اكثر فعالية للقضاء على اميبا الزحار واكثر فعالية من الميترونيدازول (الفلاجيل) وهذا يؤكد على انه المستخلص المائي نومي بصرة (3000 ملغم/كغم) هو احسن عقار لاميبا الزحار *Entamoeba histolytica*. جاء بعده المستخلص (2000 ملغم/كغم) اذ ابدى فعالية علاجية وخاصة في اليوم الثاني واخيرا كان لمستخلص (1000 ملغم/كغم) وهو اوطأ فعالية علاجية حيث تم القضاء على اميبيا الزحار في اليوم السادس اما الفلاجيل كان له التأثير في اليوم الرابع من التجريع.. من خلال دراسة المقاطع النسيجية للامعاء واكباد الفئران لوحظ حصول قرح نسيجية لامعاء الفئران عند الاصابة باميبيا الزحار مع تضخم في الكبد والطحال نتيجة التخر **Necrosis** وحصول حالة نقص اوكسجيني للخلايا **Hypoxia** كذلك احتقان في الاوعية الدموية وزيادة في حجم الخلايا **Hypertrophy** وبالتالي تضخم الكبد والطحال. وجد من خلال الاختبار **F-test** هناك فروقات معنوية لتراكيز المستخلص المائي لنومي بصرة المستخدمة مع عقار الفلاجيل كذلك وجد هنالك فرقا" معنويا" لعدد ايام التجريع مقارنة مع عقار الفلاجيل.

Summary

The study detected the effect of dried *Citrus aurantifolia* on lab mice. Flagile was used in addition to the control solution (physiological solution) and the results were as follows: The dried lemon extract 3000mg/kg. is more efficient to exterminate the dysentery compared with the metronidazole(flagile) and this affirms that the water extract of dried *Citrus aurantifolia* 3000mg./kg. is the best drug to treat the dysentery. The 2000mg./kg. extract came next where it showed high treatment efficiency notably during the second day and finally the 1000mg./kg. extract came last which is the least effective in treating dysentery during the 6th day. As regards the flagile, it was very effective during the fourth day. It was noticed, during a study of mice liver and intestine tissues that a kind of ulcer occurs in the intestine tissues of the mice when they catch the *Entamoeba histolytica* disease (dysentery) with a hypoxia, necrosis, hypertrophy, and a congestion of blood vessels, and an increase in the cell size and spleen. There are significant differences for the dried *Citrus aurantifolia* extract

المقدمة واستعراض المراجع

ان اول من فتح صيدلية لتحضير الدواء واعطاه لمرضى بوصفة من قبل الطبيب المعالج هم العرب وفي بغداد بالذات في القرن الثامن الميلادي وكانت الوصفات معتمدة على الاعشاب الطبية غالباً كان المريض يتناول العقاقير النباتية على شكل اقراص ointment او tablets او معاجين pastes تدهن بها اماكن الالم وموضع الاصابة (الكاتب، 1997). اجريت العديد من الدراسات حول تأثير المستخلصات المائية على الطفيليات المعوية ومن هذه الدراسات اذ بين (Howard 1937) ان النخالة تحتوي على بعض المواد التي تمنع العدوى بالمرض التي تسببه السالمونيلا في الفئران. كما أشارا لباحثون (Lun *etal.* 1994) أن لمستخلص نبات الثوم *Allium sativum* تأثير مثبت ضد طفيلي اميبيا الزحار *Entamoeba histolytica* إذ كان التركيز 59 مايكرو غرام / مل ذو تأثير مثبت بينما التركيز 14 مايكرو غرام / مل مثبت للطفيلي المسوط *Giardia lamblia*. كما بين مجموعة من الباحثين (Carson & Riley 1995) تأثير زيت اعشاب الشاي *Melaleuca alternifolia* على انواع البكتريا: *B. subtilis*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Closteridium perfringens* إضافة إلى بكتريا أخرى ولقد وجود مادة Terpinene التي لها تأثير فعال على تلك البكتريا. كما أشار (Inuma *etal.* 1996) إلى تأثير مادة Xanthones المستخلصة من نبات (*Guttiferae*) *Garcinia mangostana* الذي له دور في تثبيط فعالية بكتريا *Staph. aureus* نظراً لما يحتوي ذلك المستخلص من هذه المادة. بين السعدي وجماعته (1996) ان لعصير الثوم ونومي بصرة بتركيز (100%) له تأثير فعال في طرد الديدان الشريطية القزمية وبكفاءة علاجية مقدارها (82.9%). اذ ذكر (Al-Ani 1996) ان مستخلص الاثيلي لترويج ولحاء السيقان حديثة التكوين لنبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* فعال ضد خمسة انواع من البكتريا المرضية ونوع واحد من الفطريات المرضية، والزيوت الطيارة Volali oils المستخلصة من نباتات مزروعة في العراق مثل البصل

Allium cepa والثوم *A. sativum* والكراث *A. porrum* والريحان *Ocimum basilicaum* والكمون *Cuminu* والشبنت *Foeniculum vulgare* والنومي بصرة *Citrus aurantifolial* ذات فعالية قوية مع ست أنواع من الاحياء المجهرية. واجرى Hussain & Tobgi (1997) دراسة حول تأثير عشرين من النباتات المستخدمة في الطب الشعبي الليبي، حيث تم اكتشاف مركبات فلويدية والانتراكونيون والكومارين والفالفون والصابونين والستيرويد التربين والتانين من المستخلص الكحولي لهذه النباتات أدت إلى إيقاف نمو البكتريا *Staph. aureus* و 50% كبح نمو *E. coli*. وأكد (Ziyyat et al., 1997) في مسح اجري في مناطق مختلفة من المغرب أن 263 مريضاً بالسكري من أصل 386 مريضاً كانوا يستعملون النباتات لطبية بشكل منظم في العلاج النباتي Phytotherapy ومن بين هذه النباتات الثوم *Allium satvium*. وبين (Ankri et al., 1997) أن مادة Allicin المستخلصة من نبات الثوم *Allium satvium* لها دور في القضاء على طفيلي اميبيا الزحار *Entamoeba histolytica* حيث له دور في القضاء على طور Trophozoite من خلال التأثير على Cystein proteinases الذي له تأثير في فعالية (virulence) للطفيلي. وفي دراسة للتقصي عن تأثير المستخلص المائي للنباتات الطبية ودورها في القضاء على لبكتريا *E. coli*، حيث لوحظ إن نبات البربري ذو تأثير فعال على البكتريا المعزولة من حالات الإسهال (Turi et al., 1997). كما أكدت الذهب (1997) دراسة الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية إن الأَس *Myrtus communis* L. ونبات الحر مل *Peganum harmala* L. وتم تجربة هذه المستخلصات على مجموعة البكتريا *Staph. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aerogenus* الحيوية الصناعية، ووضحت الدراسة أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام أكثر تحسناً للمستخلص من البكتريا من ذلك نلاحظ ان الدراسات المتعلقة بالمستخلص نومي بصرة وتأثيرها على طفيلي اميبيا الزحار تكاد تكون قليلة، اضافة الى استخدام بدائل لعقار الفلاجيل نظراً لمل يحدثه تلك العقار مستقبلاً من تأثيرات اخرى كالسرطان.

طريقة العمل

تم تحضير المستخلص المائي الحار وتتضمن اخذ 100 غم من نبات (النومي بصرة) وتم سحقها بواسطة الخلاط *Citrus aurantifolial* ووضعها في ورق زجاجي سعة 500 مل حاوي على 200 مل من الماء المقطر المغلي مع الخلط جيداً لمدة 15 دقيقة وترك الدورق ومحتوياته لمدة 30 دقيقة، ثم رشح المحلول خلال قطعة قماش نظيفة ووضع الراشح بجهاز الطرد المركزي 150 دورة بالثانية ولمدة ساعتين، ثم اخذ الراشح ووضع في قناني زجاجية حاوية على المستخلص المائي في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40 ° م لتجفيف المستخلص وبقاء المادة الصلبة فقط ثم اخذ وزن المادة الصلبة ومن هذه المادة الصلبة تم تحضير التراكيز (Shnawa, 1995). جرعت الفئران المختبرية بواسطة الانبوب المعدي بالاطوار المتغذية والمتكيسة للطفيلي وبعده تركت لمدة خمسة ايام بعدها فحص براز الفئران المستعملة في التجارب الحالية باستخدام طريقة المسحة المباشرة Direct smear باستعمال المحلول الملحي الفسلجي 0.85 %، وتم عزل الحيوانات بشكل منفرد في اقفاص معينة وبعد تجمع البراز الرطب حضرت منه مسحات عدة وبعد التأكد من وجود اطوار اميبيا الزحار خلطت الحيوانات المصابة مع غير المصابة ووضعت في الاقفاص المعدنية ووضعت طبقة من نشارة الخشب للمساعدة على انتقال العدوى بين تلك الحيوانات قيد الدراسة (Vandepitte et al., 1991) وتركت الفئران لمدة 30 يوماً لضمان الإصابة وبعدها فحصت منفردة للتأكد من حصول الاصابات باميبيا الزحار وذلك لوجود الطفيلي في غائط الفئران المختبرية. تم تجريع 15 فار مصاباً باميبيا الزحار بواسطة الانبوب المعدي Stomach tube بتركيز المستخلص المائي اذ جرعت 3 فئران بتركيز المستخلص المائي 1000 ملغم/كغم و 3 فئران جرعت بتركيز المستخلص المائي 2000 ملغم/كغم و 3 فئران بتركيز 3000 ملغم/كغم و 3 فئران جرعت بعقار المترونيدازول بجرعة 30 ملغم و 3 جرعت بمحلول فسلجي 0.85 % Normal saline، بعدها تم فحص براز الفئران المستعملة في التجارب الحالية باستخدام طريقة المسحة المباشرة Direct Smear وباستعمال المحلول الفسلجي (0.85%) للتأكد من القضاء على اطوار الطفيلي.

تحضير المقاطع النسيجية: Preparation of Histological Section

تم عمل المقاطع النسيجية بحسب منظمة الصحة العالمية (1983):-
بعد ان تم قتل الفئران، استخرجت اجزاء الكبد من مثبت بوان Bouins Fixative وتم غسلها بالكحول الايثيلي بتركيز (70%) لعدة مرات لاجل ازالة اللون الاصفر وبعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات المتتالية الانكاس Dehydration والترويق Clearing تم الانكاس لتمرير النماذج في تراكيز متصاعدة من الكحول الايثيلي (70% و 80% و 90% و 95% والمطلق) ولمدة ساعتان في كل التراكيز وتم الترويق بالزايلين لمدة (2-3 ساعة) وحسب حجم العينة.

التشريب Impregnation

استخدم شمع البارافين Paraplast by بدرجة انصهار (58°م) وتضمنت هذه العملية وضع النماذج بخليط منه الزايلين والشمع المنصهر بنسبة (1:1) لمدة نصف ساعة في الفرن الكهربائي، وبعدها تم تشريب النماذج بوضعها في شمع منصهر لمدة نصف ساعة، تغيير لضمان تشرب العينة بشمع البارافين بصورة تامة.

الطمر Embedding

تم صنع قوالب من الشمع حاوية على نماذج من العينات المثبتة وذلك من صب الشمع المنصهر في قوالب بلاستيكية خاصة وطرقت العينات نها وتركها لحين تصلب الشمع ثم فصلها عن القالب وحفظها في مكان بارد ولحين تقطيعها.

التشذيب Trimming والتقطيع Sectioning

شدت قوالب العينات باستخدام شفرة حادة للتخلص من الشمع الزائد، بعد ذلك ثبتت على قاعدة جهاز التقطيع اليدوي Rotaring microtime وتم تقطيع النماذج بسمك قليل لكن العينات التي اشتملت عليها الدراسة تم تحميل الاشرطة الحاوية على المقاطع على شرائح زجاجية مدهونة بلاسق هاويت لضمان ثباتها وذلك بوضع الاشرطة بحمام مائي بدرجة (56 م) لضمان فرش المقاطع ولتغطيس الشرائح الزجاجية الحاوية على البلاسق تحت الاشرطة وبوضع نصف وجود الاشرطة في مراكز الشرائح ويرفع الشرائح الزجاجية بسرعة مع وجود الاشرطة عليها، ثم تركت لتجف تدريجياً على الصفيحة الساخنة Hot Plate بدرجة (37 م).

التصبغ Staining والتحميل Mounting:

وصولاً الى شرائح مصبوغة لا بد من التخلص من الشمع كمادة سائدة لذا وضعت الشرائح المحملة الحاوية على النماذج في الزايلين لمدة عشر دقائق ثم مررت بتراكيز تنازلية من الكحول الايثيلي المطلق (90%، 80%، 70% و 50%) ولمدة خمس دقائق وصبغت بصيغة الهياتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بماء الحنفية لمدة خمس دقائق وصبغت بصيغة الايوسين لمدة دقيقة واحدة ووضعت في كحول حامضي غطسة واحدة وبعدها نقلت الى سلسلة تصاعدية من الكحول الايثيلي (50%، 70%، 90% والمطلق) ولمدة دقيقتين لكل تركيز وبعدها تم ترويقها الزايلين مدة عشر دقائق ثم تم تحميلها باستخدام المادة اللاصقة بلسم كندا Canda Balsam لغرض التثبيت النهائي بعد وضع الغطاء الشريحة Cover slide وضع الشرائح على الصفيحة الساكنة لتجف وتكون جاهزة للفحص المجهرى.

النتائج:

تم إصابة مخبرية من سلالة Mice بطفيلي *Entamoeba Histolytica* ثم عولجت بمحاليل مختلفة وهي كالآتي:

1. مستخلص نومي بصرة
2. فلاجيل.
3. المحلول الفسلجي.

الفترة المصابة *Entamoeba histolytica* المعالجة بمستخلص نومي بصرة

الايام	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
مسـ تخـلـصـ 1000 ملغم/كغم	3	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000 ملغم/كغم	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3000 ملغم/كغم	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 ملغم/كغم فلاجيل Metronidazole	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
محلول فسلجي	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	مو ت

F المحسوبة للايام = 8.24

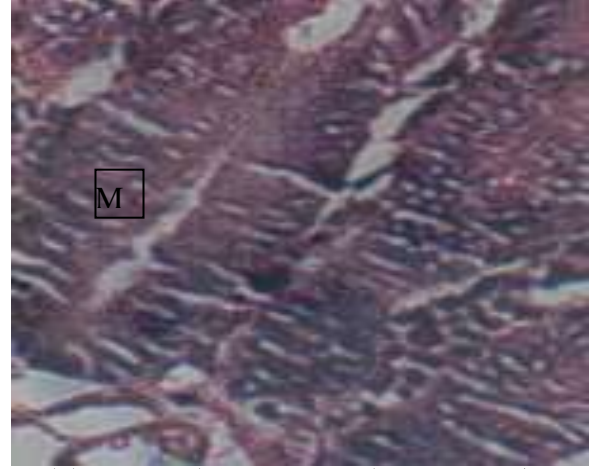
F الجدولية = 0.005 = 3.605

F المحسوبة للتراكيز = 4.2

F الجدولية = 0.005 = 3.21

وقد سجلت النتائج الآتية:

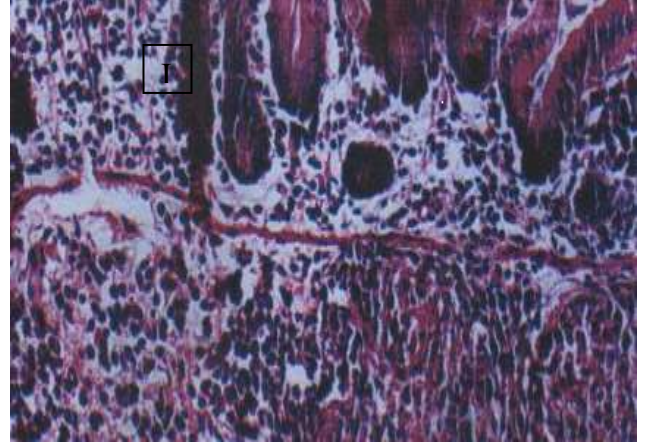
1. عند إعطاء مستخلص نومي بصرة بجرعة مقدارها (1000 ملغم/كغم) بقيت الإصابة خلال اليوم الاول والثاني والرابع وذلط لوجود اطوار الطفيلي في براز الفئران المخبرية و لثلاث فئران مصابة لكن ان نسبة الإصابة قلت في اليوم السادس لتشمل فأر واحد فقط ثم لوحظ في اليوم الثامن شفاء الفئران الثلاثة.
 2. عند إعطاء نومي بصرة بجرعة مقدارها (2000 ملغم/كغم) لثلاث فئران مصابة لوحظ التالي:
استمرت مدة إصابة الفئران الثلاثة معاً يوم واحد فقط ثم لوحظ تراجع الإصابة في اليوم الثاني لتشمل فئران واحد فقط ثم شفيت جميعها في اليوم الرابع واستمرت حتى اليوم الثاني.
 3. عند إعطاء مستخلص نومي بصرة بجرعة مقدارها (3000 ملغم/كغم) لثلاث فئران مصابة لوحظ التالي:
الفئران يوم واحد فقط وشفيت جميعها في اليوم الثاني.
اما عند تجريب الفئران الفلاجيل عند اعطاء ثلاث فئران مصابة بطفيلي *Entamoeba Histolytica* الفلاجيل بجرعة مقدارها (30 ملغم) وجد ان الإصابة تستمر في الفئران الثلاثة خلال اليوم الاول والثاني ولوحظ تراجع نسبة الإصابة في اليوم الرابع لتشمل فئرانين فقط لكن لوحظ شفاء الفئران الثلاثة في اليوم السادس.
- اما عند معالجة الفئران الثلاثة المصابة بطفيلي *Entamoeba Histolytica* بالمحلول الفسلجي لوحظ ان الفئران تظل مصابة حتى اليوم الثاني والعشرون بعدها ماتت الفئران حيث لم يلاحظ اي تأثير ملحوظ على الفئران



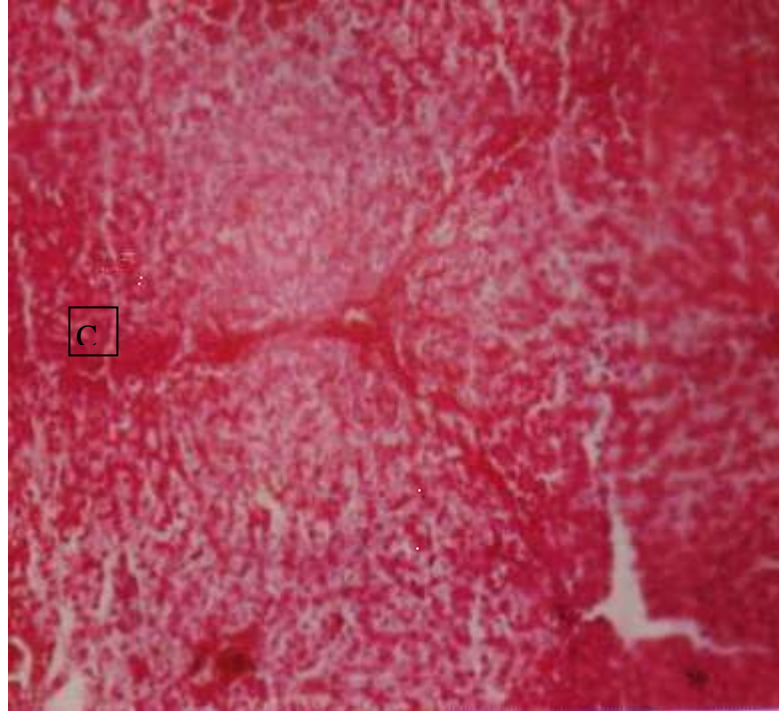
شكل (1) يوضح الصورة مقطع طولي الامعاء الغليظة عند المعالجة بمستخلص نومي بصرة 3000 ملغم/كغم تلاحظ الطبقة المخاطية M

، قوة X1500.

M



شكل (2) توضح الصورة مقطع طولي لاصابة الامعاء الغليظة باميبيا الزحار I والطبقة المخاطية M، قوة X1000 .



شكل (3) توضح الصورة مقطع طولي في الكبد يوضح الاحتقان في الاوعية الدموية C عند اعطاء مستخلص نومي بصرة (1000ملغ /كغم)، قوة X1000.

مناقشة

لوحظ من خلال الدراسة وفي اثناء تجريب الفئران المختبرية حصول اصابات او هنالك استعداد للاصابة وللكشف عن فعالية مضادة لمستخلص نومي بصرة تم اختيار كل مستخلص مائي اي من اكبر تركيز الى اقل تركيز.

تحمل الفئران للمستخلص المائي نومي بصرة اذ تبين من خلال الدراسة ان المستخلص المائي نومي بصرة الذي هو (3000 ملغم/كغم) هو افضل جرعة للقضاء على اميبيا الزحار وذلك لاحتواء المستخلص على مواد عديدة سامة عند تراكيز عالية اما تأثير مستخلص نومي بصرة على الاطوار المتغذية في الجسم الحي لقد ظهرت خلال النتائج من اليوم الاول الى اليوم السادس اظهر مستخلص (1000 ملغم/كغم) تأثير ملحوظ. أما مستخلص (2000 ملغم/كغم) فقد اظهر نتيجة من اليوم الثاني اما المستخلص (3000 ملغم/كغم) كان تأثيره اقوى وذلك لعدم وصول كمية كافية من المستخلص النباتي لتلك الاطوار المتغذية والموجودة داخل امعاء الفئران بسرعة امتصاص هذا المستخلص في الامعاء كذلك نسبة المحلول السام للطفيلي للمستخلص ذو جرعة (3000 ملغم/كغم) كانت مرتفعة و المتضمنة المواد الكيتونية والفعالة مما اثرت على الطفيلي في اليوم الاول (Ziyyat et al., 1997).

كما ان المستخلص المائي يحتوي على العديد من المركبات مثل الفلوييدات والصابونيات والمواد الدباغية وغيرها من المركبات الاقضية الذاتية في الماء لكن تركيب المستخلص المائي المرتفع كانت هناك سمية خاصة في اليوم الاول وفي المستخلص (3000 ملغم/كغم) (Vandepitte et al. 1991)

الكشف عن اصابة الفئران باميبيا الزحار:

المحلول الملحي الفسلجي: لوحظ ان معالجة ثلاث فئران مصابة بطفيلي *Entamoeba Histolytica* بالمحلول الملحي الفسلجي ان الفئران تظل مصابة حتى اليوم الثاني والعشرون حيث لم يلاحظ للمحلول الفسلجي اي تأثير ملحوظ.

لوحظ من خلال الدراسة ومن خلال عمل مقاطع نسيجية للامعاء حصول تمزقات لبطانة الامعاء وهذا يعتبر شيء طبيعي ومطابق لما هو موجود في (الحديثي، 1989) وكذلك لوحظ من خلال الدراسة حصول تنخر في الخلايا واحتقان في الاوعية الدموية المبطنة للكبد والطحال Necrosis وحصول حالة نقص اوكسجيني للخلايا Hypoxia كذلك وزيادة في حجم خلايا الكبد والطحال Hypertrophy وبالتالي تضخم الكبد والطحال.

يؤكد تراكم مواد سمية في خلايا الكبد وبالتالي حصول سوء عمل في تلك الخلايا وبالتالي حصول احتقان حيث لوحظ اذا تركت لفترة اطول تلك الفئران مع التجريب فانها سوف تموت.

المصادر العربية

- الحديثي، اسماعيل وامين السلمي. (1989) مدخل وضيبي الى عالم الحياة. مطبعة جامعة البصرة.
داؤد، ابراهيم شعبان (1989) فسلفة الطفيليات، مطبعة جامعة بغداد (بيت الحكمة). للنشر.
الذهب، أزهار عمران لطيف (1998). الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية في بعض البكتريا الممرضة. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل: 68 صفحة.
الكاتب، يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية. مطبعة جامعة الموصل، الطبعة الثانية: 584 صفحة.
لسعدي، احمد عبد الامير، طاهر، جاسم حميد، السامرائي، طه حسين (1996) الطفيليات ومرض البشر دار الحكمة للطباعة والنشر/ الموصل.
الموسوي، احمد محمد (2000). تأثير مستخلصات نبات الشاي – *Artemisia herba* في الدودة الشريطية القزمية *Hymenolepis nana* في الفأر الابيض، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل: 98 صفحة.
منظمة الصحة العالمية (1983). دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية. منظمة الصحة العالمية، جنيف: 488 صفحة.

المصادر الانكليزية

- Ankri, S.; Miron, T.; Rabinkov, A.; Wilchek, M. and Mirelman, D. (1997). Allicin from garilic strongly inhibits cysteine protein ases and cytopathic effects of *Entamoeba histolytica*. Antimicrob. Agents. Chemo., 41(10): 2286-2288.
Carson, C.F. and Riley, T.V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appl. Bacteriol., 78: 264-269.
Ghazal, A.m. & Avery, R.A. (1976). Observations on coprophagy and the transmission of *H.nana* infection in mice. Parasitology, 73:39-45.
Howard, S.(1937). Whole wheat bread and resistance to infection and disease Ed.by Doris Grant, Chap.5:67-78.
Hussain, H.H. and Tobgi, R. (1997). Phytochemical and antibacterial screening of some medicinal Libyan plants. Mu'tah J. Res. Stud., 12(1): 95-110.
Inumd, M.; Tosa, H.; Tanaka, T.; Asai, F.; Kobayashi, Y.; Shimano, R. and Miyauchi, K.I. (1996). Antibacterial of thones from guttificillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Pharmacol., 48: 861-865.
Shnawa, B.H. (1995) Biological and Immunological Studies on the *Giardia lamblia* (Stiels, 1915).
Türi, M.; Türi, E.; Kõljalg, S. and Mikelsaar, M. (1997). Influence of aqueous extracts of medicinal plants on surface hydrophobicity of *Escherichia coli* strains of different origin. APMIS., 105: 956-962.
Ziyyat, A.; Legssyer, A.; Mekhfi, H.; Dassouli, A.; Serhrouchni, M. and Benjelloun, W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. J. Ethnopharmacology., 58: 45-54.
Vandepitte, J.; Engbaek, K.; Piot, P. & Heuck, C.C. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. W.H.O., Geneva: 109 pp.