تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات آذان الصخلة *Plantago lanceolata* في نمو بعض أنواع البكتريا المسببة لأمراض المسالك البولية

صبا طالب هاشم* مهدي ضمد القيسي** جنان مجيد العقيدي***

الملخص

شملت هذه الدراسة جمع عينات الإدرار من مرضى ظهرت عليهم أعراض أمراض (إصابة) المسالك البولية، حيث جمعت **420** عينة إدرار من الذكور والإناث راقدين أو مراجعين لمستشفيات مختلفة في مدينة بغداد في جانبي الكرخ والرصافة. أخضعت العينات للزرع المختبري، وقد بينت نتائج الدراسة وجود **203** عينة موجبة للزرع البكتيريولوجي وشكلت نسبة **48.33**%. أظهرت نتائج التشخيص أن بكتريا ***Escherichia coli*** أكثر الأنواع البكتيرية شيوعاً في المرضى المصابين بأمراض المسالك البولية حيث بلغت نسبتها **54.68**% فيما جاءت بكتريا ***Klebsiella pneumoniae*** بالمرتبة الثانية **18.23**%، تليها بكتريا ***Proteus mirabilis*** وبكتريا ***Enterobacter cloacae*** بنسبة **11.33** و**9.36**% على التوالي، في حين جاءت بكتريا ***Staphylococcus aureus*** بأقل نسبة وهي **6.4** %.

تم دراسة التأثير المثبط لكل من المستخلصين المائي والكحولي لأوراق نبات أذان الصخلة وبالتراكيز **25**، **50**، **100** و**200** ملغم/مل في نوع واحد من البكتريا الموجبة لصبغة غرام وهي ***S. aureus*** وأربعة أنواع من البكتريا السالبة لصبغة غرام وهي ***K. pneumonia, P. mirabilis, E. cloacae, E. coli***. وقد أظهر المستخلص المائي والكحولي فعاليته تجاه جميع الأنواع البكتيرية فيما عدا بكتريا ***K. pneumoniae***. وان المستخلص المائي لأوراق نبات آذان الصخلة بتركيز **25** ملغم/مل لم يكن مؤثراً في تثبيط الأنواع البكتيرية المسببة لأمراض المسالك البولية، في حين لم يظهر المستخلص الكحولي عند نفس التركيز تأثيراً في كل من بكتريا ***E. coli*** و ***E. cloacae*** إضافة إلى بكتريا ***K. pneumoniae*** .

المقدمة

تعد أمراض المسالك البولية مشكلة صحية كبيرة، إذ أنها من أكثر المناطق في جسم الإنسان عرضة للإصابة بالبكتريا. ومن المسببات البكتيرية الشائعة التي تشكل أعلى نسبة في إحداث الخمج هي ***Escherichia coli*** (26)، و ***Klebsiella*** **spp.**; ***Proteus*** **spp**; ***Enterobacter*** **spp.** ***Staphylococcus*** **spp.** (27). وان تكرار الإصابة بأمراض المسالك البولية له دور في ارتفاع نسبة الإصابة، وقد يعزى ذلك إلى الاستعمال العشوائي للمضادات الحياتية مما يؤدي إلى ظهور سلالات مقاومة وبالتالي عدم كفاءة هذه المضادات لعلاج أمراض المسالك البولية (27). لذا فقد جرى الاتجاه نحو استخدام المستخلصات النباتية في محاولة لإيجاد بدائل فعالة عن استخدام الأدوية المخلقة كيميائيا. لقد شملت الدراسة الحالية نبات أذان الصخلة ***Plantago lanceolata*** وينتمي إلى العائلة النباتية **Plantaginaceae** وهو من النباتات التي تمتلك فعالية مضادة

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول.

* كلية العلوم- الجامعة المستنصرية- بغداد، العراق.

** وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

*** كلية الصيدلة- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

تاريخ تسلم البحث: أيلول/2009

تاريخ قبول البحث:آب/2010

للبكتريا **Antibacterial** ومضادة للالتهاباتAnti-inflammatory فضلاً عن معالجته لأمراض المسالك البولية (17)، ويحتوي هذا النبات على العديد من المركبات الفعالة منها الكلايكوسيدات والتانينات والقلويدات (21).

هدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص البكتريا المسببة لأمراض المسالك البولية ودراسة تأثير كل من المستخلصين المائي والكحولي لأوراق نبات آذان الصخلة **Plantain** (***Plantago lanceolata***) في نمو البكتريا المعزولة من أمراض المسالك البولية وعند تراكيز مختلفة خارج الجسم الحي.

المواد وطرائق البحث

جمع العينات

جمعت **420** عينة إدرار من مرضى يعانون من امراض المسالك البولية وتم تشخيصهم من قبل أطباء مختصين ومن مستشفيات مختلفة لمدينة بغداد (من جانبي الرصافة والكرخ). واستخدمت لهذا الغرض قناني معقمة وقد تم اخذ عينة الإدرار الوسطية التي زرعت مباشرة بعد اخذ العينة لغرض التشخيص.

عزل وتشخيص العزلات البكتيرية:

عزل البكتريا:

زرعت عينات الإدرار بطريقة التخطيط باستخدام الناقل القياسي المعقم على الوسط الزرعي التفريقي **agar MacConkey** و**Blood agar** وحضنت الإطباق في درجة حرارة **37** م لمدة **24** ساعة. ولغرض العزل الأولي للبكتريا أخذت مستعمرة نقية واحدة وشخصت مبدئياً حسب الصفات الشكلية التي تضمنت حجم وشكل ولون المستعمرات وقوامها، ثم فحصت مجهرياً لغرض وصف شكل الخلايا من خلال استجابتها لصبغة غرام. وقد اعتمد تعريف **Kass** (16) في تحديد معنوية النمو في الإدرار.

تشخيص العزلات البكتيرية باستعمال الاختبارات الكيميوحيوية:

أجريت الاختبارات الكيموحيوية بتحضير مستنبت العزلات البكتيرية على وسط الاكار المغذي وآخر على وسط المرق المغذي بعمر **24** ساعة ليكون كمستنبت أصلي، واستخدمت الفحوصات الكيموحيوية التالية لتشخيص البكتريا وفقاً لما ورد في **Baron** و**Finegold** (6).

تشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام باستخدام عدة التشخيص **api 20 E kite**:

استخدمت عدة التشخيص **api20 E kit** الجاهز لزيادة التأكد من عملية تشخيص العزلات إلى مستوى النوع **Species**، وتضم عدة التشخيص **20** اختبار كيموحيوياً، وذلك تبعاً لما ورد في **Holt** وجماعته (15).

تشخيص بكتريا المكورات العنقودية باستخدام عدة التشخيص **api Staph**:

استخدمت عدة التشخيص **api Staph** الجاهزة لتشخيص المكورات العنقودية، وتضم عدة التشخيص **19** اختباراً كيموحيوياً، وذلك تبعاً لما ورد في **Holt** وجماعته (15).

تحضير المستخلصات النباتية:

جمع العينات النباتية:

تم جمع نبات أذان الصخلة ***Plantago lanceolata*** في صباح يوم جمع النماذج (الساعة **8-9** صباحاً) من حدائق جامعة بغداد في الجادرية، صنف هذه النباتات من قبل الأخصائي في تصنيف النبات الأستاذ الدكتور علي الموسوي/ قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد، غسلت العينة النباتية المتضمنة أوراق نبات آذان الصخلة بالماء

بشكل جيد،لإزالة جميع الأتربة، ثم جففت تجفيفاً طبيعياً عند درجة حرارة المختبر، وطحنت الأجزاء النباتيـــة (الأوراق) بطاحونة كهربائية، وحفظت لحين الاستعمال.

تحضير المستخلصات الخام:

المستخلص المائي البارد:

اتبعت الطريقة التي ذكرها El-Mahmood و Ameh (12) في تحضير المستخلص المائي لأوراق نبات آذان الصخلة وكالاتي: أخذ 100غم من مسحوق المادة الجافة للعينة النباتية ووضعت في دورق ســـعته 1000مـــل وأضيف إليه 400 مل من الماء المقطر وترك الدورق في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة. بعدها رشح المستخلص المائي باستخدام قمع ترشيح (بخنر) يحوي على قطعة من الشاش الطبي لإزالة أجزاء النباتات الكبيرة ثم رشح باستعمال أوراق ترشيح Whattman No.1، عرض الراشح للنبذ المركزي بقوة 2500 دورة/ دقيقـــة لمـــدة 15 دقيقة، بعدها تم تركيز الراشح باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporatore تحت الضغط المخلخـــل في درجة حرارة 40 م للحصول على مستخلص مركز ووضع النموذج شبه الجاف في فرن في درجة حرارة 40 م لحـــين الحصول على جفاف تام للنموذج وحفظ النموذج في الثلاجة (7± 2م°) في قناني نظيفة لحين الاستعمال.

تحضير المستخلص الكحولي:

اتبعت الطريقة التي أوردها Boskabady وجماعته (8) في تحضير المستخلص الكحولي لنبات آذان الـــصخلة. تم وزن 50 غـــم مـــن المـــسحوق النبـــاتي في كـــشتبان Thumble وتم الاســـتخلاص في منظومـــة الاســـتخلاص المستمر Soxhlet apparatus بإضافة 500 مل من الكحول الأثيلي بتركيز 96%، وبعد انتهاء فترة الاستخلاص ترك النموذج ليبرد، ثم أزيل المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار وتحت الضغط المخلخل للحصول علـــى مـــستخلص مركز، وأجريت عملية التجفيف الكامل للمستخلص بوساطة الفرن الكهربائي عند درجـــة حـــرارة 40 م وحفـــظ النموذج في الثلاجة (7± 2م°) في قناني نظيفة لحين الاستعمال.

الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المجاميع الفعالة للمستخلص النباتي:

الكشف عن الكلايكوسيدات:

اتبعت الطريقة التي وصفها الشيخلي وجماعته (1) وكالأتي:

وضع 1 مل من المستخلص النباتي إلى 2 مل من كاشف بندكت Benedicts reagent في أنبوبة اختبار ثم نقلت إلى حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق، واستدل على ايجابية الفحص (وجود الكلايكوسيدات) من خلال ظهور اللون الأحمر.

الكشف عن القلويدات:

اتبعت الطريقة التي ذكرها Harborn (14) وكالأتي:

اخذ 10 غم من المستخلصات النباتية وأضيفت إليه 50 مل من الماء المقطر المحمض باســـتعمال 4% مـــن حـــامض الهيدروكلوريك ولمدة 30 دقيقة ورشح المحلول ثم وضع الراشح في زجاجة ساعة أضيف إليه قطـــرات مـــن كاشـــف دراجندروف ويشير تكون راسب برتقالي على ايجابية الاختبار. فضلاً عن وضع عدة قطرات مـــن كاشـــف مـــاير إلى الراشح فظهور راسب ابيض يشير إلى وجود القلويدات.

الكشف عن التانينات:

اتبعت الطريقة التي ذكرها Shihata (25) وكالأتي:

تم غلي **10** غم من المسحوق الجاف لأوراق نبات أذان الصخلة في **50** مل ماء مقطر، رشح المحلول الناتج وترك ليبرد. ثم قسم إلى جزئين، أضيف للجزء الأول خلات الرصاص بتركيز **1%** وان ظهور راسب هلامي القوام دليل على وجود التانينات، أما الجزء الثاني فقد أضيف له كلوريد الحديديك **1%** وظهور اللون الأخضر المزرق دليل على وجود التانينات.

الكشف عن الصابونينات:

اتبعت الطريقة التي ذكرها **Shihata (25)** وكالأتي:

رج المحلول المائي لمسحوق العينة النباتية بشدة في أنبوبة اختبار، وظهور الرغوة الكثيفة وبقائها لعدة دقائق دليل على وجود الصابونيات. تم إضافة **1-3** مل من محلول كلوريد الزئبقيك إلى **5**مل من المستخلص المائي للنباتات بعد ظهور راسب ابيض دليل على وجود الصابونينات.

الكشف عن الفلافونيدات

اتبعت الطريقة التي ذكرها العكيلي **(3)** وشملت تحضير محلول (أ) بإذابة **10**غم من مسحوق النباتات في **5** مل من الكحول الاثيلي بتركيز **50%** إلى **10**مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز **50%** مزجت حجوم متساوية من كلا المحلولين، يدل ظهور اللون الأصفر على وجود الفلافونيدات.

اختبار التأثير التثبيطي للمستخلص النباتي تجاه البكتريا المعزولة من حالات أخماج المسالك البولية في الزجاج ***(In vitro):***

تحضير المحلول الخزين للمستخلصات النباتية:

حضرت تراكيز المحلول الخزين لمستخلص أوراق نبات أذان الصخلة المائي والكحولي كل على حدة المراد اختبار تأثير كل منهما التثبيطي تجاه البكتريا المعزولة في الزجاج (***In vitro***) بتركيز **200** ملغم/مل وذلك بإذابة **8** غم من مسحوق المستخلص في **40** مل من محلول **10%** **Dimethysulfoxide (DMSO)** **(9)** عند تحضير المستخلص الكحولي و**40** مل ماء مقطر عند تحضير المستخلص المائي.

تأثير المستخلصات النباتية في نمو البكتريا المعزولة من حالات أخماج المسالك البولية:

نقلت مستعمرة من المزروع البكتيري النقي المنمى على وسط الاكار المغذي إلى أنابيب احتوت على محلول الملح الفسلجي مع الرج بشكل جيد ومقارنة العكارة الحاصلة في الأنابيب مع العكارة القياسية لمحلول ماكفرلاند الذي يعطي 1.5×10^8 وحدة مكونة للمستعمرة/مل.

استخدمت طريقة الحفر بالاكار **(Agar well diffusion)** لتحديد فعالية المستخلصات النباتية تجاه البكتريا المعزولة. نشر **0.1** مل من العالق البكتيري على وسط اكار مولر هنتون **Muller Hinton agar** وعملت ثقوب في الوسط الزرعي باستخدام ثاقب الفلين المعقم قطره **5** ملم أضيف إلى كل حفرة **0.05** مل من المستخلصات النباتية وبالتراكيز **25** ،**50** ،**100** و**200** ملغم/مل، إضافة إلى عمل حفرة وسط كل طبق أضيف لها **0.05** مل من محلول **10%** **DMSO** المستخدم في إذابة المستخلصات النباتية الكحولية واعتبرت مجموعة سيطرة **Control**. وحضنت الإطباق عند درجة حرارة **37** م لمدة **24** ساعة، أجريت التجارب بثلاث مكررات، تم بعدها قياس منطقة التثبيط حول كل حفرة بالمليمتر **(18)**.

تم تحليل البيانات وفق التباين **A. NOVA (Analysis of Variance)** باتجاهين وذلك باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز **(SPSS) (2)**.

النتـــائج والمناقشـــة

عزل وتشخيص البكتريا المسببة لأحماج المسالك البولية:

بينت النتائج المستحصل عليها إن **188** عينة والتي تشكل نسبة **44.76%** هي سالبة للزرع البكتريولوجي، فيما كانت **203** عينة موجبة للزرع البكتريولوجي وهي تشكل نسبة **48.33%** مـــن مجمـــوع حـــالات الإصـــابة للأشخاص الذين يعانون من أعراض أحماج المسالك البولية (جدول **1**)، وجاءت هذه النتيجة مقاربة لما وجده **Orret** (**22**)، فقد أظهرت نتائجه إن النسبة المئوية لعينات الإدرار التي أعطت نتيجة موجبة للزرع البكتيرلوجي هي **49%**، وهي لا تتطابق مع ما وجده **Santos** وجماعته (**24**) الذين وجدوا إن النسبة المئوية لعينات الإدرار التي أعطت نتيجة سالبة للزرع البكتيرلوجي هي **16%**. كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود **29** عينة إدرار ذات نمو بكتيري غير معنوي (**P>0.05**) إذ شكلت نسبتها **6.91%** من نسب إصابة الأشخاص الذين يعانون من أعراض أحماج المسالك البولية.

جدول **1**: أعداد عينات الإدرار المدروسة ونسب الإصابة عند الإناث والذكور.

الجنس	العينات		عينات لا تحوي نمو بكتيري		عينات تحوي نمو بكتيري معنوي		عينات تحوي نمو بكتيري غير معنوي	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%
إناث	279	66.43	96	34.41	162	58.06	21	7.53
ذكور	141	33.57	92	65.25	41	29.08	8	5.67
المجموع	420	100	188	44.76	203	48.33	29	6.91

أظهرت نتائج تشخيص البكتريا بعد إجراء الاختبارات الزرعية والبايوكيميائية إن بكتريـــا ***E. coli*** هي المـــسبب الرئيسي لأحماج المسالك البولية احتلت المرتبة الأولى بنسبة بلغت **54.68%** من بين مسببات أحماج المسالك البوليـــة وقد تغلبت نسبة الإناث المصابات بهذه البكتريا على الذكور إذ شكلت النسبتان **48.77%** و **5.91%** على التوالي (جدول **2**)، وتأتي هذه النتيجة متوافقة لنتائج عدد من الدراسات التي أشارت إلى سيادة بكتريا ***E. coli*** في تـــسببها لأحماج المسالك البولية (**7**، **20**). ويعزى سبب ارتفاع نسبة الإصابة بهذه البكتريا إلى كونها من النبيت الطبيعي للأمعاء إذ يحدث الخمج عندما تصل هذه البكتريا الموجودة في منطقة ما حول الشرج والقريبة من المهبل إذ تنتشر مـــا حـــول الاحليل صعوداً للاحليل والمثانة (**10**)، فضلاً عن وجود مستقبلات خاصة من نوع **Glycosphingolipid** علـــى سطح الخلايا الطلائية للقناة البولية ترتبط بها بكتريا ***E. coli*** عن طريق **P-fimbriae** (**13**).

أما بالنسبة إلى بكتريا ***Klebsiella pneumoniae*** فقد احتلت المرتبة الثانية في إحداث الخمج فقد شكلت نسبة **18.23%** (جدول **2**) وهي مقاربة للنسبة التي حصل عليها **Sonavane** وجماعته (**26**)، فيما احتلت بكتريـــا ***P. mirabilis*** المرتبة الثالثة في إحداث الخمج وهذا يتوافق مع النتائج التي حصل عليها **Kiffer** وجماعته (**19**). كمـــا احتلت بكتريا ***Enterobacter cloacae*** المرتبة الرابعة حيث بلغت **9.36%**، وجاءت هذه النتيجة متوافقة مع ما وجده **Astal** (**5**). أما بكتريا ***S. aureus*** فقد احتلت المرتبة الخامسة في نسبة الإصابة بأحماج المسالك البولية والتي بلغت **6.40%** وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل أليه **Sonavane** وجماعته (**26**).

جدول 2: الأعداد والنسب المئوية للعزلات البكترية المعزولة من المرضى المصابين بأخماج المسالك البولية

العزلة البكتيرية	الذكور		الإناث		الكلي	
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
Escherichia coli	**12**	**5.91**	**99**	**48.77**	**111**	**54.68**
Klebsiella pneumoniae	**4**	**1.97**	**33**	**16.26**	**37**	**18.23**
Proteus mirabilis	**14**	**6.9**	**9**	**4.43**	**23**	**11.33**
Enterobacter cloacae	**6**	**2.96**	**13**	**6.40**	**19**	**9.36**
Staphylococcus aureus	**5**	**2.46**	**8**	**3.94**	**13**	**6.40**
المجموع الكلي	**41**	**20.2**	**162**	**79.80**	**203**	**100**

الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة لأوراق نبات آذان الصخلة:

بينت نتائج الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق نبات آذان الصخلة وباستخدام عدة طرائق للكشف عن هذه المركبات (جدول 3) احتواء المستخلص المائي لأوراق نبات أذان الصخلة على عدد من المجاميع الفعالة وهي القلويدات والصابونينات والكلايكوسيدات والتانينات، وجاءت هذه النتائج مشابهة لما وجده عباس (4). أما المستخلص الكحولي فقد احتوى على القلويدات والفينولات والكلايكوسيدات والتانينات والفلافونيدات، بينما يفتقر المستخلص المائي وجود هذه بعض المركبات ويعزى ذلك لكون هذه المواد غير قابلة للذوبان بالماء إلا بنسب محددة جداً إذ إن الاستخلاص لا يعتمد فقط على نوع المذيب وإنما على الطبيعة الكيميائية للمركبات المراد استخلاصها (11).

جدول 3: المجاميع الكيميائية في المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات أذان الصخلة

المجموعة	القلويدات	الفينولات	الصابونيات	الكلايكوسيدات	التانينات	الفلافونيدات
المستخلص المائي	+	_	+	+	+	_
المستخلص الكحولي	+	+	_	+	+	+

الفعالية التثبيطية لأوراق نبات آذان الصخلة:

تبين نتائج الدراسة الموضحة في جدول (4)، إن لكل من المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات آذان الصخلة فعالية تثبيطية متباينة لأغلب الأنواع البكتيرية المدروسة، فلم يظهر المستخلص المائي لأوراق نبات آذان الصخلة عند تركيز 25 ملغم/مل تأثيراً في تثبيط نمو العزلات البكتيرية الخمسة قيد الدراسة، أما عند التركيز 50 ملغم/مل فأظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في تثبيط نمو عزلات *P. mirabilis* و *S. aureus* وباقي العزلات فقد بلغت أقطار مناطق التثبيط 9.17، 10.53 ملم على التوالي، بينما لم يلاحظ وجود فروق معنوية في تثبيط نمو عزلات بكتريا *E. cloacae, K. pneumoniae, E. coli*. وبينت نتائج المعاملة بتركيز 100ملغم/مل تأثيراً معنوياً في تثبيط جميع الأنواع البكتيرية ($P<0.05$) وبمعدلات أقطار 12.77، 12.08، 10.47، 10.39 و0.0 ملم للبكتريا *S. aureus*، *P. mirabilis*، *E. coli*، *E. cloacae* و *K. pneumoniae* على التوالي. أما عند أعلى تركيز 200 ملغم/مل فقد أظهرت نتائج المعاملة فرقاً معنوياً ($P<0.05$) في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية المسببة لأخماج المسالك البولية وازدادت معدلات أقطار مناطق التثبيط بزيادة التركيز فكانت 17.84، 15.43، 13.03، 14.10 و0.0 ملم على التوالي.

كما اظهر المستخلص الكحولي لأوراق آذان الصخلة وجود فروق معنوية (P<0.05) في نمو كل من بكتريا *P. mirabilis* و*S. aureus* بمعدلات أقطار تثبيط **8.08** و**9.30** ملم عند تركيز **25** ملغم/مل (جدول **4**)، أما عند تركيز **50** ملغم/مل فأظهر المستخلص تأثيراً معنوياً في جميع الأنواع البكتيرية ما عدا بكتريا *K. pneumoniae* التي لم يحدث لها أي تأثير، بينما لا يوجد فرق معنوي بين *E. coli* و*E. cloacae* (P<0.05) وبمعدلات أقطار تثبيط **9.07** و**9.00** ملم على التوالي. وأظهرت نتائج المعاملة بتركيز **100** ملغم/مل فرقاً معنوياً في تثبيط جميع الأنواع البكتيرية، بينما لم يكن هناك فرق معنوي في تثبيط نمو بكتريا *E. cloacae* و *E. coli* بمعدلات أقطار تثبيط **11.84** و**12.00** ملم على التوالي، وفي تثبيط نمو *S. aureus* و*P. mirabilis* بمعدلات أقطار **15.30** و**15.08** ملم على التوالي (P<0.05). وعند زيادة التراكيز وصولاً إلى **200** ملغم/مل، نلاحظ زيادة معدلات أقطار تثبيط نمو بكتريا *S. aureus ; P. mirabilis ; E. cloacae; E. coli ;* فكانت **21.53**، **20.00**، **17.78** و**17.46** ملم على التوالي مما أدى إلى وجود فروق معنوية في تثبيط نمو البكتريا.

جدول **4**: معدلات أقطار مناطق التثبيط بالمليمتر(ملم) لتأثير مستخلصات أوراق نبات آذان الصخلة في البكتريا المعزولة من أخماج المسالك البولية بتراكيز مختلفة.

المعاملة	التركيز ملغم/مل	معدلات أقطار مناطق التثبيط (المعدل ± الخطأ المعياري)				
		E. coli	*K. pneumoniae*	*P. mirabilis*	*E. cloacae*	*S. aureus*
السيطرة ماء مقطر	0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0
المستخلص المائي	25	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0
	50	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	B,b 0.71±9.17	A,a 0.0±0.0	B,c 0.51±10.53
	100	B,a 1.11±10.93	A,b 0.0±0.0	C,c 0.66±12.08	B,a 0.61±10.47	C,c 1.09±12.77
	200	C,a 0.76±13.03	A,b 0.0±0.0	D,c 0.98±15.34	C,c 0.87±14.10	D,d 0.68±17.84
السيطرة DMSO	0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0
المستخلص الكحولي	25	A,a 0.0±0.0	A,a 0.0±0.0	B,b 0.94±8.08	A,a 0.0±0.0	B,c 0.75±9.30
	50	B,a 0.74±9.07	A,b 0.0±0.0	C,c 0.78±10.60	B,a 0.81±9.00	C,d 0.66±11.53
	100	C,a 0.83±12.00	A,b 0.0±0.0	D,c 0.99±15.08	C,a 0.93±11.84	D,c 0.85±15.30
	200	D,a 0.77±17.46	A,b 0.0±0.0	E,c 0.95±20.0	D,a 0.97±17.78	E,c 0.51±21.53

* الأحرف الكبيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (p<0.05) للمقارنة بين الصفوف.
* الأحرف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي (p<0.05) للمقارنة بين الأعمدة.
* تمثل النتائج معدل ثلاث مكررات.

يتضح من النتائج إن المستخلص المائي لأوراق نبات آذان الصخلة بتركيز **25** ملغم/مل لم يكن مؤثراً في تثبيط الأنواع البكتيرية المسببة لأخماج المسالك البولية، في حين لم يظهر المستخلص الكحولي عند نفس التركيز تأثيراً في كل من بكتريا *E. coli* و *E. cloacae* إضافة إلى بكتريا *K. pneumoniae*. أما عند التركيز **50** ملغم/مل فأظهرت

البكتريـــا السالبة لصبغة غـــرام مقاومتها للمستخلص المائي ماعـــدا بكتريا ***P. mirabilis*** التي أظهرت تحسساً لهذا المستخلص. أما البكتريا الموجبة لصبغـــة غرام المتمثلـــة ببكتريا ***S. aureus*** فقد أظهرت تحسساً لهذا المـــستخلص، ويمكن أن يفسر ذلك لطبيعة جدار البكتريا الموجبة لصبغة غرام إذ تكون نفاذيته للمواد أكثر من جدار البكتريا السالبة لصبغة غرام (23). وجاءت هذه النتيجة مشابهة لما وجده العكيلي (3)، فقد أظهرت دراسته حساسية كل من بكتريـــا ***S. aureus*** و***Proteus* sp.** للمستخلص المائي لأوراق نبات آذان الصخلة، كما جاءت هذه النتائج غير مـــشابهة مع ما وجده عباس (4)، حيث بينت النتائج عدم تأثر بكتريا ***K. pneumoniae*** بالمـــستخلص المـــائي والكحـــولي لأوراق نبات أذان الصخلة، وهذا يتوافق مع ما وجده العكيلي (3) الذي بين مقاومة هذه البكتريا للمستخلص المـــائي لأوراق نبات آذان الصخلة وهذه النتيجة مشابهة أيضاً لما وجـــده **Kharam** و**Hassawi** (18) فقـــد أظهـــرت دراستهما مقاومـــة بكتريـــا ***K. pneumoniae*** للمســـتخلص الكحولي لأوراق نبـــات آذان الـــصخلـــة فيمـــا أظهرت الأنـــواع البكتيريـــة ***S. aureus, E. coli, Enterobacter* sp.** حساسيتها لهـــذا المـــستخلص عنـــد التراكيز **50** ،**100** و**200** ملغم/مل. وبينت نتائج هذه الدراسة مقاومة بكتريا ***K. pneumoniae*** للمـــستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات آذان الصخلة، وقد يعزى سبب المقاومـــة إلى احتوائهـــا علـــى الـــسكريات المتعـــددة **Polysaccharide** والسكريات المتعددة الدهنية **Lipopolysaccharide (LPS)** (10) اللذان يقومان بدور الحماية من الفعل التثبيطي للمكونات الفعالة الموجودة في النبات. فيما أظهرت الأنواع البكتيرية الأخـــرى حـــساسيتها للمستخلص، وقد يعزى السبب إلى احتواء أوراق النبات على العديد من المركبات الفعالة منـــها **Aucubin** الـــذي يمتلك فعالية مضادة للبكتريا، فضلاً عن احتوائها على التانينات والصمغيات والكاروتينات (17).

المصادر

1- الشيخلي، محمد عبد الستار؛ فريال حسن عبد الجليل وحسن فياض العزاوي. (1993). الكيمياء الحياتيـــة العملي، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

2- العقيلي، صالح رشيد ومحمد سامر الشايب. (1998). استخدام البرنامج الإحـــصائي SPSS. مطبوعـــات الجامعة، دار الشريف للطباعة.

3- العكيلي، عدنان حنون عباس. (2002). دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمـــو بكتريا إصابات الحروق. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

4- عباس، زيد رعد. (2008). تأثير المستخلصات المائية والكحولية لأوراق نباتي العفص ***Thuja orientalis*** L. وآذان الصخلة ***Plantago lanceolata*** L. على بعض البكتريا المسببة لالتهابات جروح الجلد. رسالة ماجستير، كلية العلوم،الجامعة المستنصرية.

5- **Astal, Z.E. (2005). Increasing ciprofloxacin resistance among prevalent urinary tract bacterial isolates in gaza strip, Palestine. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 3: 238-241.**

6- **Baron, E.J. and S.M. Finegold (1990). Bailey and Scotts. Diagnostic Microbiology, 8th Ed., Mosby Co., U.K.**

7- **Bashir, M. F.; J. I. Qazi; N .A. Ahmad and S. Riaz (2008). Diversity of urinary tract pathogens and drug resistant isolates of *Escherichia coli* at different age and gender groups of Pakistanis. Tropical Journal Pharmaceutical Research, 7(3): 1025-1035.**

8- Boskabady, M.H.; H. Rakhshandah; M. Afiat; Z. Aelami and S. Amiri (2002). Ant tissue effect of *Plantago lanceolata* in guinea pigs. Iranian Journal Medicine Science, 31(3): 143-146.

9- Ciraj, A.M.; J. Sulaim; B. Mamatha; B.K. Gopulkrishna and P.G. Shivananda (2001). Antibacterial activity of black tea (*Camellia sinensis*) extract against *Salmonella* serotypes causing enteric fever. Indian Journal Medicine Science, 55: 376-381.

10- Cortes, G.; N. Borrell; B.D. Astorza; C. Comez; J. Sauleda and S. Alberti (2002). Molecular analysis of contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of *Klebsiella pneumoniae* in murine model of pneumonia. Infection and Immunity, 70 (5): 2583-2590.

11- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 564-582.

12- El-Mahmood, A.M. and J.M. Ameh (2007). *In vitro* antibacterial activity of *Parkia biglobosa* (Jacq.) root bark extract against some microorganisms associated with urinary tract infections. African Journal of Biotechnology, 6(11): 1272-1275.

13- Franz, M. and W.H. Horl (1999). Common errors in diagnosis and management of urinary tract infection. I: Pathophysiology and diagnostic techniques. Nephrology Dialysis Transplantation, 14: 2746 -2753.

14- Harborn, J.B. (1973). Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapmen and Hall Ltd., London, New York.

15- Holt, J.G.; N.R. Krieg; R.H. Sneath; J.T. Staley and S.T. Williams (1994). Berge's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed., Williams and Wilkins, U.S.A.

16- Kass, E.H. (1957). Bacteria and diagnosis of the urinary tract infection. Archives Internal Medicine, 100: 709-713.

17- Khare, C.P. (2007). Indian Medicinal plants. Spring Science Business Media, LL.C.

18- Kharma, A. and D.S. Hassawi (2006). The genetic relationship and antimicrobial activity of *Plantago* species against pathogenic bacteria. World Journal of Agricultural Sciences, 2(3): 311-318.

19- Kiffer,C.R.; C. Mendes; C.P. Oplustil and J.L. Sampaio (2007). Antibiotic resistance and trend urinary pathogens in general outpatients fro major urban city. Official Journal of the Brazilian Society of Urology, 33(1): 42-49.

20- Kothari, A. and V. Sagar (2008). Antibiotic resistance in pathogens causing community– acquired urinary tract infections in India: A multicenter study. The Journal of Infection Developing Countries, 2(5): 354-358.

21- Newall, C.A.; L.A. Andrson and J.D. Phillipson (1996). Herbal Medicines. A. guide for Health Care Professional. London. The Pharmaceutical Press.

22- Orrett, F. A. (2001). Urinary tract infection in general practice in rural community in south Trinidad. Saudi Medical Journal, 22(6): 537-540.

23- Rashedmarandi, F.; M. Rahnamayefarzami; M. Saremi and R. Sabouri (2008). A Survey on urinary pathogens and their antimicrobial susceptibility among patients with significant bacteria. Iranian Journal of Pathology, 3(4): 191-196.
24- Santos, J.C.; L.P. Weber and L.R. Perez (2007). Evaluation of urinalysis parameters to predict urinary tract infections. The Brazilian Journal of Infection Diseases, 11(5): 479-481.
25- Shihata, I.M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.D. Vet., Thesis, Cairo University.
26- Sonavane, A.; M. Mathur; D. Turbadkar and V. Baradkar (2008). Antimicrobial susceptibility pattern in urinary bacterial isolates. Bombay Hospital Journal, 50(2): 240-244.
27- Tilgner, S. (2000). Urinary tract health. Herbal Transitions, 4(1): 1–12.

FFECT OF AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF *Plantago lanceolata* LEAVES AGAINST SOME ISOLATED BACTERIA FROM URINATY TRACT INFECTION

S.T. Hashim* **M.T. Al-Kaisey**** **J.M. Al-Akidi*****

ABSTRACT

Samples of urine were collected from patients who had symptoms of urinary tract infections in which 420 urine samples were collected from females and males from different hospitals in Baghdad city. The samples were cultured and the results were positive in 203 samples (48.33%). The result showed that *Escherichia coli* was the most common and prominent bacteria among patients of urinary tract infections (54.68%) while *Klebsiella pneumonia*e was in the second rank (18.23%), followed by *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* and *Staphylococcus aureus* 11.33, 9.36 and 6.4%, respectively. The inhibitory effect of the aqueous and alcoholic extracts of the *Plantago lanceolata* (leaves) was studied by using four concentrations (25, 50, 100 and 200mg /ml) with one type of gram positive bacteria (*S. aureus*) and four species of gram negative bacteria (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* and *P. mirabilis*). The aqueous, alcoholic extracts of leaves of *P. lanceolata*, showed no remarkable effect on *K. peneumonia*e, but they were active on the other bacterial species. The aqueous extract of leaves of *P. lanceolata* at a concentration of 25 mg/ml showed no inhibitory activity against all tested bacteria. Meanwhile, the alcoholic extract at the same concentration was showed no inhibitory activity against *E. coli*, *E. cloacae* and *K. pneumonia*e bacteria.

Part of Ph.D. Thesis for the first author.

*** College of Science, Al-Mustanserya University.**
****Ministry of Agriculture, Baghdad, Iraq.**
*****College of Pharmacy, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.**