تأثير مستخلصات بذور نبات الليمون الاسود (*Citrus aurantifolia*)في بعض انواع البكتريا المعزولة من اخماج الحروق

*سعاد خليل ابراهيم** *الهام سعيد بنو** *سوسن محمد عبد الله**

استلام البحث 20، كانون الاول، 2012
قبول النشر 3، اذار، 2014

الخلاصة:

اجريت الدراسة الحالية لغرض تقييم الفعالية المضادة للبكتريا للمستخلصات المائية والكحولية (الباردة والحارة) والاسيتونية لبذورنبات الليمون الاسود(*Citrus aurantifolia*)تجاه البكتريا المعزولة من اخماج الحروق، (*Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli, Klebsiella pneumonia,Staphylococcus aureus*) من مستشفى الكندي التعليمي للفترة من آذار الى حزيران 2012،وتم اختبار حساسيتها ومقاومتها للمضادات الحيوية المستخدمة في العلاج .تباينت المستخلصات المذكورة اعلاه تجاه الانواع البكتيرية باستخدام طريقة الحفر والانتشارفي الاكار بتركيز (256 مايكروغرام/ملليتر)،حيث أظهرت المستخلصات الاسيتونية اعلى فعالية تثبيط تجاه البكتريا المدروسة تلاه مستخلصات الكحول الحارة ثم الباردة اما المستخلص المائي فقد اظهر تأثير قليل وذلك من خلال قياس قطر دائرة التثبيط(Inhbiition Zone). تم تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC)للمستخلصات الاسيتونية والكحولية تجاه البكتريا وكان ما بين (12.5-50)ملغرام /ملليتر،اما المستخلص المائي فكان (MIC)50 ملغرام /ملليترللبكتريا (*Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli* ولم يظهر التركيز 50 ملغرام /ملليترتأثير على البكتريا(*Klebsiellapneumonia,Staphylococcusaureus*،كما تم تحديد(MBC)للبكتريا المدروسة وكان ما بين (25-50)ملغرام /ملليترللمستخلص الاسيتوني،اما (MBC)للمستخلص الكحولي الحار فكان 25ملغرام/ملليتر،اما المستخلص الكحولي البارد فقدكان 50ملغرام/ملليترللبكتريا (*Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli, Klebsiellapneumonia* ولم يظهر التركيز نفسه تأثيرا على البكتريا (*Staphylococcusaureus*،اما المستخلص المائي فأظهر تأثيرا سلبيا لكل انواع البكتريالمدروسةللتركيز 50ملغرام/ملليتر.تم اختبارالفعالية المضادة للمستخلص الكحولي الحارلبذورالنبات تطبيقيا (*in vivo*)لمعالجة فئران مصابة مختبريا بانواع البكتريا المعزولة واظهرت الاختبارات نتائج ايجابية تمثلت بشفاء المنطقة المصابة بزمن قصير مقارنة مع المضاد الحيوي المستخدم.

الكلمات المفتاحية: الفعالية المضادة للبكتريا، *Citrus aurantfolia*

المقدمة:

تحتل النباتات الطبية مكانة كبيرة في الانتاج الزراعي والصناعي لانها تعد مصدر مهم للعقاقير الطبية والمواد الفعالة التي تدخل في صناعة الادوية المستعملة في علاج العديد من الامراض (1)،لكونها غنية بنواتج الايض الثانوي المضادة للجراثيم والمتمثلة بالتانينات والقلويدات والفلافوناتوالتربينات وغيرها وهذه المواد الفعالة سهلة الامتصاص ويمكن للجسم الحيواني التفاعل معها(2)،ويمكن استخدام هذه النباتات الطبيةفي العلاج بصورة كبسولات او اقراص ،فضلا عن امكانية استخدامها موضعيا على شكل لبخات او كمادات او مراهم(3) كما تستعمل كغرغرة من جسم الانسان دون الدخول اليه(4)،ومنها نبات الليمون الاسود(النومي بصرة) Limeالتابع لعائلة(Rutaceae) ،والموطن الاصلي للنبات جنوب شرق آسيا والمناطق الاستوائية في انحاء العالم كما ينتشرفي الهند ،مصر ،السودان ،وسط اميركا ونيجيريا(5)،ويعد من ضمن النباتات الطبية المستعملة في العراق اذ يستعمل المستخلص المائي الحار له لعلاج اوجاع الرأس والمعدة والاسهال والزكام ومعقم للجروح وعضة الحشرات وكمادة منكهة في المشروبات والاغذية المصنعة (6)،وهذا الاثر الطبي العائد له بسبب احتوائه على بعض المواد الفعالة مثل الفلافونات، الكومارين ،والتربينات كما بينت ذلك بعض الدراسات(7)،كما واستخدم الزيت المستخلص من قشرة النبات كمادة مضادة للجراثيم والسرطان (8)،واوضحت دراسة ان عصير النبات له فعالية قاتلة لخط سرطان البنكرياس (9)واكدت دراسة ان مستخلص الايثانول 96%لبذور النبات له فعالية مضادة للجراثيم ،واحتواء المستخلصات المائية والكحولية على المواد الفعالة

*قسم علوم الحياة ،كلية التربية للعلوم الصرفة ،جامعة بغداد

التانينات،الكومارين،الستيرولات،القلويدات،الصابونيات،الكلايكوسيدات والتربينات(10).
تهدف الدراسة الحالية دراسة الفعل التثبيطي لاستخدام المستخلصات المائية والكحولية والاسيتونية لبذور نبات اليمون الاسود تجاه بعض انواع البكتريا المعزولة من اخماج الحروق في الزجاج والحيوانات المختبرية.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات البكترية السريرية وتشخيصها
جمعت 220 عينة من اخماج متقيحة من مستشفى الكندي التعليمي من ردهات الحروق للفترة من ايلول-آذار 2011-2012 بمسحات قطنية معقمة وحفظت المسحات في انابيب حاوية على المرق المغذي المعقم لحين زرعها،وتم تشخيصها بالاعتماد على الصفات المزرعية والاختبارات الكيموحيوية،وحفظت العزلات على مائل الاكار المغذي بدرجة حرارة الثلاجة بدرجة(4)ملحين الاستخدام(11).
نبات *Citrus auranfolia*
تم الحصول على نبات الليمون الاسود(النومي بصرة)من الاسواق المحلية وصنف في المعشب النباتي لكلية التربية/ابن الهيثم،وتم استخراج البذور وطحنها بواسطة مطحنة كهربائية ووضعت مساحيقها في زجاجيات نظيفة معقمة في الثلاجة لحين الاستعمال.
طرائق تحضير المستخلصات النباتية
اتبعت الطريقة المذكورة في (12) لتحضير المستخلص النباتي المائي والكحولي البارد والحار،وحضر المستخلص بالاسيتون وفقاً لما ورد في(13).بعد تحضير المستخلصات المذكورة وضعت في جهاز المبخر الدوار للحصول على سائل كثيف،وبخر السائل المتبقي في الفرن بدرجة(45)م لحين الجفاف التام،ثم حفظت المساحيق في قناني معقمة في الثلاجة.تم تحضير محلول خزين للمستخلصات بتركيز(200)ملغرام/ملليتر،ثم عقمت المحاليل الخزينة باستخدام المرشحات الغشائية بقطر ثقوب(0,22)مايكرومتر.وحفظت بالثلاجةبدرجة(4)م
الكشف الكيمياوي لبعض المكونات الفعالة في مستخلصات النبات المحضرة
1 – الكشف عن الفلافونات ابعت الطريقة(14).
2 – الكشف عن الصابونيات والتانينات اتبعت الطرق(15).
3 – الكشف عن الكلايكوسيدات اتبعت الطريقة(16).
4 – الكشف عن الستيرودات والتربينات اتبعت الطرق(17).
5 – الكشف عن الاحماض الامينية اتبعت الطريقة (18).
تحضير مزروع البكتريا
حضرللعزلات البكتيرية المستخدمة في الاختبارات عالق بكتيري على درجة ثابت العكرة القياسي ماكفرلاند رقم(1) والذي يحوي على عدد تقريبي($1,5x10^8$)خلية/ملليتر(19).
دراسة حساسيةالعزلات البكتيرية للمضادات الحيوية
اختبرت حساسية عزلات البكتريا وفق طريقة(20)لاقراص المضادات الحيوية المستخدمة لعلاج اخماج الحروق،وتم قراءة النتائج بقياس مناطق التثبيط حول كل قرص ولاجل معرفة المقاومة والحساسية قورنت الاقطار المقاسة مع الاقطار القياسية لهذه المضادات حسب المواصفات الواردة في (21).
اختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه المستخلصات المحضرة لبذور النبات
حضرت التراكيز (32،64،128و256) مايكروغرام/ملليترلجميع المستخلصات باستعمال الماء المقطر للمستخلص المائي ومحلول10%(DMSO) للمستخلصات الكحولية والاسيتونية،واختبرت حساسيةجميع العزلاتالبكتيرية،واستخدمت طريقة الانتشار في الحفرفي الاكار Agar Diffusion Method(22)،وحددت فعالية كل تركيز لانواع المستخلصات المستخدمةبقياس قطر منطقة التثبيط.
تحديد التركيز المثبط الادنى MICوالتركيز القاتل الادنى MBCلجميع مستخلصات النبات
حضرت ساسلة من التراكيز المتضاعفة لجميع مستخلصات النبات(5،12،25و50)ملغرام/ملليتر باستخدام المرق المغذي Nutrient broth .لقحت الانابيب بمقدار (1،.)ملليتر من مزرعة البكتريا بعمر 24 ساعة والحاوية على($1,5x10^8$)خلية/ملليتر ثم حضنت الانابيب بدرجة(37)م لمدة 48 ساعة وقورنت النتائج مع السيطرة المتمثلة بوسط زرعي مع المستخلص النباتي فقط.حددت قيمة التركيز الادنىMinimum inhibitory concentration(MIC) بأنها اقل تركيز من المستخلص الذي يمنع حدوث عكورة واضحة للعين المجردة في الوسط الزرعي،كما حدد التركيز القاتل الادنى Minimum bactericidal concentration(MBC)بنقل (1،.)ملليتر من جميع الانابيب التي لم يظهر فيها عكورة الى اطباق حاوية على وسط الاكار المغذي وحضن الاطباق بدرجة37م وحددت قيمة الـ بانه اقل تركيز من المستخلص يمنع نمو البكتريا(23).
دراسة تأثير المستخلص الكحولي الحار على انواع البكتريا المعزولة من الحروق في الحيوانات المختبرية *(in vivo)* اتبعت الطريقة

المذكورة(24)،استعملت ذكور فئران بيضاء سويسرية من سلالة BALB-Cعدد 24 فأرة تراوحت اعمارهم بين 12-16 اسبوع وتراوحت اوزانها بين 26-28 غرام ،واستخدمت مزارع سائلة للبكتريا التي تأثرت بمستخلص الكحولي الحارللبذور *Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli, Klebsiellapneumonia*، وبتركيز($1,5x10^8$)خلية/ملليتر. حضرت الحيوانات للتجربة بازالة الشعر من منطقة الظهر وبنسبة 15% من مساحة الجسم الكلية وعقمت المنطقة المزال منها الشعر بمحلول الديتول،ثم حرقت بواسطة قطعة حديدية دائرية ساخنة قطر 20 مليمتر وتركت لمدة 24 ساعة ،وقسمت الى ثمانية مجاميع (كل مجموعة ثلاث فئران) وكالآتي :لوثت المنطقة المحلوقة والمحروقة لكل مجموعتين بمسحة من احدى مزارع البكتريا وبذلك بقيت مجموعتي فئران كسيطرة . بعد مرور يومين من الاصابة لوحظ حصول التهاب في المنطقة مصحوب باحمرار وتقيح موضعي ،عولجت ثلاث مجاميع بمرهم (Flamazine)،اما المجاميع المتبقية فقد عولجت بالمرهم المحضر مختبريا والمتكون من 5،.غرام من المستخلص الكحولي الحار مضاف اليه 9،5غرام من الفازلين ،وعولجت مجموعة سيطرة بالفازلين فقط ، وتركت مجموعة السيطرة الثانية بدون معالجة . استمر العلاج بهذه المواد بواقع مرتين في كل يوم مع ملاحظة التطورات التي تحدث للمنطقة واستمر العلاج لمدة 12 يوم.

النتائج والمناقشة:

هدفت نتائج الدراسة للتحري عن وجود البكتريا المسببة لاخماج الحروق وذلك من خلال 220 مسحة من حالات حروق متقيحة من مرضى راقدين في مستشفى الكندي التعليمي،وتم الحصول من هذه المسحات على 175 عزلة بكتيرية من انواع مختلفة من البكتريا الاكثر ضرراً وخطورة على الحروق اي بنسة 79,54%،ويحدث التلوث لمرضى الحروق نتيجة لتلف انسجة الجلد الغنية بالبروتين والسوائل والتي تعتبر من اكثر الاوساط ملائمة للنمو البكتيري(25).تم تشخيص العزلات باجراءالاختبارات الخاصة بكل نوع استناداً على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية ويوضح جدول (1) النسب المئوية لعزلات البكتريا الممرضة من المصابين بالحروق ،سجلت بكتريا *Ps.aeruginosa*اعلى النسب في العزل عندما بلغت 28،571%،وهذا يتفق ما حصل عليه العكيلي(26)،وتعتبر هذه البكتريا من الملوثات الخطرة في المستشفيات لأنهاتلوث ارضية المستشفى وفراش المرضى وحتى ممرات التهوية(27).حققت بكتريا *K.pneumoniae*المرتبة الثانية في العزلات اذ بلغت 23،428%، وتعتبرجزء من البكتريا الطبيعية الموجودة في الجهاز الهضمي والتي تعتبر من ملوثات الجروح والحروق ،ويمكن ان يكون مصدرها الشراشف،الاغطية،العاملين من الكادر الطبي في المستشفيات وملامسة المريض(28).اما البكتريا العنقودية الذهبية *Staph.aureus*فكانت نسبتها 18،857%،وتتفق نتائج الدراسة مع ما وجده (29) واثبت ان المكورات العنقودية هي الاكثر شيوعآ في تلوث الجروح والحروق .تتساسل بعد ذلك الايشيرشيا القولونية *E.coli*حيث سجلت نسبة 17،142%من العزلات ،وتعتبر من ملوثات المستشفيات(30)ويعزى سبب ارتفاع نسبة الاصابة نسبيآ لهذه البكتريا الى كونها من النبيت الطبيعي للامعاء اذ يحدث الخمج عندما تصل هذه البكتريا الى منطقة الحرق لذا فهي من ملوثات الجروح والحروق في المستشفيات. شكلت بكتريا *P.mirabilis*حوالي 12%من العزلات البكتيرية وتمتاز هذه البكتريا ايضآ انها من البكتريا الطبيعية للجهاز الهضمي وتعد من ملوثات الجروح والحروق في المستشفيات.

جدول(1)النسب المئوية للانواع البكتيرية الممرضة والمعزولة من المرضى المصابين بالحروق

ت	نوع البكتريا	عدد العزلات	النسبة المئوية%
1	*Ps.aeruginosa*	50	28،571
2	*K.pneumoniae*	41	23،428
3	*Staph.aureus*	33	18،857
4	*E.coli*	30	17،142
5	*P.mirabilis*	21	12
المجموع		175	%100

حساسية البكتريا الملوثة لالتهابات الحروق للمضادات الحيوية

يوضح الجدول(2)حساسية البكتريا المعزولة للمضادات الحيوية بطريقة الاقراص لتحديد مدى حساسية او مقاومة العزلات البكتيرية,*P.mirabilis, E.coli Staph.aureus* للمضادات*K.pneumoniae Ps. aeruginosa,* الحيوية اعتماداً على قطر دائرة التثبيط المحيطة باقراص المضادات الحيوية ومقارنتها مع الجداول القياسية الواردة في (21)، واظهرت النتائج مقاومة بكتريا *Ps.aeruginosa*للمضادات Carbencillin ,Cephalothin ,Erythromycin ,Vancomycin, Cefotaxime وحساسيتها للمضادات Imipenean, Ciprofloxacin, Aztreonam, Gentamicin وتتفق هذه النتيجة مع ما وجده (31) وذلك لامتلاك هذه البكتريا

البلازمد المسؤول عن مقاومة المضادات الحيوية والذي يعتبر من اهم عوامل ضراوة هذه البكتريا بالاضافة الى امتلاك هذه البكتريا غشاء خارجي قوي يمنع دخول المضادات لقلة نفاذيته وذلك لاحتوائه على نسبة عالية من الدهون، واظهرت النتائج مقاومة جميع العزلات البكتيرية السالبة لصبغة كرام قيد الدراسة لمضاد Carbencillin بنسبة 100%ولاسيما ان النتيجة جاءت موافقة لما جاء به العكيلي(26)من ان بكتريا *P.mirabilis,E.coli, K.pneumoniae Ps.aeruginosa,* تمتلك مقاومة تجاهه بنسبة 100%.اما بالنسبة لبكتريا *E.coli* فقد اظهرت مقاومة لاغلب المضادات وحساسيتها فقط للـGentamicin,Imipenean وذلك لحصول بعض الطفرات في بكتريا *E.coli* مما يؤدي الى عرقلة انتاج الغشاء الخارجي للقنوات البروتينية كما تعزى مقاومتها الى امتلاكها البلازميدات المسؤولة عن مقاومة المضادات الحيوية (32)،واظهرت *Staph.aureus* حساسية لاغلب المضادات وكانت مقاومة فقط للـ Carbaencillin,Cephalothin،وهذه النتائج متوقعة بسبب الاستعمال المفرط والعشوائي للمضادات الحيوية فضلآ عن تطور آليات المقاومة التي تمتلكها البكتريا ضد اغلب المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج(33).

جدول(2)مقاومة البكتريا المعزولة من اخماج الحروق لاقراص المضادات الحيوية

الانواع البكتيرية المضادات الحيوية المستخدمة	*Ps.aeruginosa*	*K.pneumoniae*	*Staph.aureus*	*E.coli*
Imipenean(IPM)	S	S	S	S
Cefotaxime (FOX)	R	S	S	R
Ciprofloxcin(CIP)	S	S	S	R
Aztreonam(ATM)	S	S	S	R
Erythromycin(E)	R	R	S	R
Gentamicin (GN)	S	S	S	S
Cephalothin(KF)	R	R	R	R
Carbenicillin(PY)	R	R	R	R
Vancomycin(VA)	R	R	S	R

R:البكتريا مقاومة للمضاد ، S:البكتريا حساسة للمضاد

الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة في مستخلصات النبات قيد الدراسة

بينت نتائج الكشف النوعي عن بعض المركبات الفعالة في مستخلصات بذور نبات الليمون الاسود قيد الدراسة وباستخدام عدة طرائق للكشف عن هذه المركبات المبينة في جدول(3)،وبينت نتائج الكشوفات الكيميائية لبذور النبات،احتواء المستخلص المائي على العديد من المواد الفعالة منها الصابونيات والفلافونات والتانينات فقط،اما المستخلص الكحولي البارد والحار فيحتوي على جميع هذه المركبات الموجودة في المستخلص المائي بالاضافة الى التربينات والستيرودات والكلايكوسيدات والاحماض الامينية، اما مستخلص الاسيتون فقد احتوى على الصابونيات والفلافونات والتانينات والتربينات وهذا يتفق مع ما توصل اليه (10).

جدول(3)المركبات الفعالة في مستخلصات بذور نبات الليمون الاسود

المركبات الفعالة	مستخلص الاسيتون	مستخلص الايثانول البارد	مستخلص الايثانول الحار	المستخلص المائي
الفلافونات	+	+	+	+
الصابونيات	+	+	+	+
التانينات	+	+	+	+
الستيرودات	-	+	+	-
التربينات	+	+	+	-
الكلايكوسيدات	-	+	+	-
الاحماض الامينية	-	+	+	-

الفعالية التثبيطية لمستخلصات بذور نبات الليمون الاسود على البكتريا المعزولة من الحروق في الزجاج *(in vivo)* :

تمت دراسة تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية والكحولية والاسيتونية لبذور نبات الليمون الاسود على انواع البكتريا المعزولة من المرضى المصابين بالحروق والاكثر ضرراً مقاومة العزلات البكتيرية *E.coliStaph.aureus,,K.pneumoniaePs.aeruginosa,* ،وكالاتي :

حساسية عزلات البكتريا تجاه مستخلصات النبات

اظهرت نتائج استخداماالتراكيز(32،64،128و256)مايكروغرام/ملليترللمستخلصات (المائية ،الايثانول الباردة والحارةوالاسيتون)من خلال قياس قطر منطقة التثبيط، وتبين ان التأثيرتناسب طرديا مع زيادة التراكيز المستخدمة ويوضح جدول(4)تأثير التركيز 256مايكروغرام/ملليترللمستخلصات تجاه انواع البكتريا المعزولة من اخماج الحروق .

جدول(4)تأثير التركيز(256)مايكروغرام/ملليتر للمستخلصات على البكتريا المعزولة

انواع البكتريا	قطر منطقة التثبيط(ملليمتر) للمستخلصات			
	الاسيتون	الايثانول الحار	الايثانول البارد	المائي
Ps.aeruginosa	14	10	9	9
K.pneumoniae	16	14	12	8
E.coli	17	12	9	7
Staph.aureus	12	11	9	11

يبين الجدول من خلال قطر منطقة التثبيط ان التأثير الاعلى كان لمستخلص الاسيتون يليه مستخلص

الايثانول الحار ثم الايثانول البارد والتأثير الاقل للمستخلص المائي .

تحديد MICوMBC للمستخلصات تجاه انواع البكتريا

استخدمت التراكيز (5، 12، 25و50)ملغرام/ملليتر للمستخلصات واظهرت النتائج الموضحة في جدول(5)و(6) تغايرات اعتمدت على نوع المستخلص ونوع البكتريا حيث تبين البكتريا السالبة اكثر حساسية من البكتريا الموجبة لصبغة كرام لجميع المستخلصات .

جدول(5)قيم MIC للمستخلصات تجاه انواع البكتريا

انواع البكتريا	مستخلصات النبات(ملغرام/ملليتر)			
	الاسيتون	الايثانول الحار	الايثانول البارد	المائي
Ps.aeruginosa	25	12،5	25	50
K.pneumoniae	12،5	12،5	25	-
E.coli	25	25	50	50
Staph.aureus	50	50	50	-

-:لايوجد تأثير على نمو البكتريا

جدول (6) قيمMBC للمستخلصات تجاه انواع البكتريا

انواع البكتريا	مستخلصات النبات(ملغرام/ملليتر)			
	الاسيتون	الايثانول الحار	الايثانول البارد	المائي
Ps.aeruginosa	25	25	50	-
K.pneumoniae	25	25	50	-
E.coli	50	25	50	-
Staph.aureus	50	50	-	-

-: لا يوجد تأثير على نمو البكتريا

يتضح من الجداول(5و6) ان مستخلصات الاسيتون والكحولية الحارة كان لها فعالية تثبيط اكبر تجاه العزلات البكتيرية تليها المستخلصات الكحولية الباردة والمائية،وقد يعود ذلك الى احتواء هذه المستخلصات على المواد الفعالة المذكورة في جدول (3) وقد تحتوي على مواد فعالة اضافية لانها مستخلصات خام ،اضافة الى قدرة المستخلصات الكحولية على الذوبان في الغشاء الخلوي للبكتريا وذلك لالفة الغشاء للدهون الموجودة في المستخلص(34و35)،كما ان الكحول الاثيلي له قابلية عالية على سحب المركبات الفعالة من العينة النباتية بسبب قطبيته العالية(36)،كما تبين ان البكتريا السالبة لصبغة كرام اكثر تأثراً من البكتريا الموجبة لصبغة كرام وذلك لامتلاكها غشاء خارجي مكون من بروتينات دهنية ودهون فوسفاتية مقارنة مع البكتريا الموجبة لصبغة كرام الحاوي جداره على نسبة ضئيلة من الدهون ونسبة عالية من مادة الببتيدوكلايكان(11).

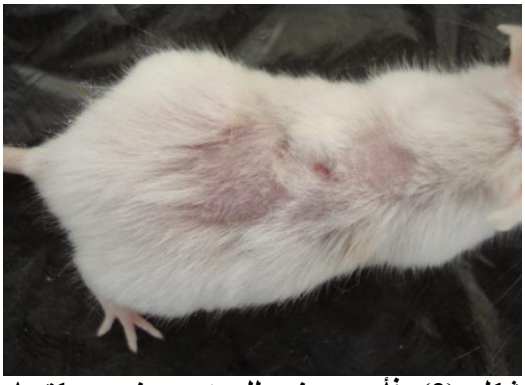
تأثير مستخلص الايثانول الحارلبذور نبات الليمون الاسود في معالجة اخماج الحروق في الحيوانات المختبرية (*in vivo*)

يوضح جدول(7)نتائج استخدام مستخلص الايثانول الحار ومرهمFlamazine في معالجة الحروق المحدثة. تبين النتائج الموضحة في الجدول ان جلد الفأرة المصاب بالحرق قد تماثل للشفاء اي زوال الورم والاحمرار واختفاء القيح من المنطقة المصابة بعد العلاج لفترة(12)يوم باستخدام المستخلص الكحولي الحار مقارنة بالعلاج بـ Flamazine. وتبين الاشكال (1و2) ان جلد الفأرة المصاب بالحرق قد تماثل بالشفاء وكذلك المقارنة مع السيطرة(1و2)التي لم تتماثل للشفاء حيث بقيت منطقة الاصابة رطبة وتتقيح باستمرار. ان الاتجاهات الحديثة لا توصي باستخدام المضادات الحيوية في الالتهابات الجلدية المرضية ويعزى ذلك الى ان استخدام هذه المضادات بشكل واسع وعشوائي يؤدي الى ظهور سلالات من البكتريا الملوثة للجروح والحروق المقاومة لتلك المضادات وبالتالي تصعب وتطول فترة العلاج والشفاء وهذا النوع من المقاومة ربما يؤدي الى تطور التهابات ثانوية وخصوصآ عند دخول الاحياء المجهرية الى الانسجة المصابة ولذا من المهم اختيار العلاج الناسب لتلك الحلات ، واوضح(37) ان الاحماض الامينية الموجودة في المستخلص المائي للكتان والجرجير تكون مسؤولة بشكل جزئي عن عمليات تجديد الخلايا في انسجة جسم اللبائن، وهذا يتفق مع مكونات المستخلص الكحولي المستخدم قيد الدراسة الحاوي على الاحماض الامينية .

جدول (7) اعراض استخدام مستخلص الايثانول الحار ومرهم Flamazine في معالجة اخماج الحروق المحدثة في الحيوانات المختبرية

العلاج بالايام	استخدام مستخلص الايثانول الحار	استخدام مرهم Flamazine
3	الاعراض السريرية ومساحة الحروق واضحة وكبيرة وتكونت قشرة فوق منطقة الاصابة	الحروق مغطاة بقشرة غير كاملة ومناطق الجلد حول منطقة الاصابة منتفخة وتميل الى الاحمرار
6	ظهرت مناطق كندب وردية اللون تحت القشرةمن الحافة الخارجية	مناطق الاصابة جافة ومغطاة بالقشرة
9	اختزلت المناطق المصابة بصورة واضحةوكانت مغطاة بندب وردية دلالة على التقدم بالشفاء	القشرة لازالت ملتصقة بسطح المناطق المصابة وفي الحافة كان هنك تشقق زظهر النسيج الطلائي بلون احمر ورقيق وهذا يشير الى ان مناطق الاصابة لم تتماثل للشفاء
12	مناطق الاصابة شفافة	تساقط القشرة المتكونة في منطقة الاصابة وظهور ندب حمراء اللون تحتها ولكن الجروح والتشققات الصغيرة لم تختفي بعد

شكل (1) فار معرض للحرق ومخمج ببكتريا *E.coli* وفي المراحل الأولى من العلاج



شكل (2) فأر معرض للحرق ومخمج ببكتريا *E.coli* ومعالج بالمستخلص الكحولي لبذور الليمون الأسود

المصادر:

1–Cowan, M. M.(1999).Plant products as antimicrobial agent. Microbiol.Rev.,12(4):564-582.

2–Ekwenye, U. N. and Elegalam, N. N. (2005). Antimicrobial activity of ginger (*Zingiberofficinale*) Rosco and Garlic (*Allium sativum*) extracts on Escherichia coli and Salmonella typhi. Internat. J. Molec. Med. Adv. Sci.,1(4):411-416.

3– غوتليب، بيل (2004). العلاجات البديلة ، ترجمة زينة جابر ادريس . الدار العربية للعلوم، بيروت- لبنان :809 صفحة.

4– الزبيدي، زهير نجيب،هدى عبد الكريم بابان وفارس كاظم فليح(1996). دليل العلاج بالاعشاب الطبية العراقية. دار الكتب والتوفيق ، بغداد.

5–NallelyE.Sandoval-Montemayayor; Abraham, G.;Elizabeth ,E. ; Elvira, G.; Laura, A. and Maria, C.(2012). Chemical Composition of Hexan Extract of *Citrus aurantifolia*and Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Activity of Some of Its Constituents., Molecules, 17 11173-11184.

6 –Morton, J.(1987). Mexican Lime.*In Fruits of Warm Climates*, 1 st ed., J.F. Morton: Miami, FL, USA, PP.168-172.

7–Piccinelli, A. L.; GarciaM. M.;Armenteros, D. M.;Alfonso, M. A.;Arevalo,A. C.;Campone, L. (2008). HOLC-PDA-MS and NMR characterization of C-glycosylfiavones in hydroalcholic extract of *Citrus aurantifolia* leaves with antiplatelet activity. J.Aric.Food.Chem. 56.,1574-1581.

8-Gharagozloo, M.;Doroudchi, M. and Ghaderi, A.(2002). Effects of *Citrus aurantifolia* on concentrated extract on the spontaneous proliferation of MDA-MB-453 and RPMI-8866 tumor cell lines.,Phytomedicine, 9.,475-477.

9–Patil, J.R.; Murthy, K.N.; Jayaprakasha, G,K.;Chetti, M.B. and Patil B.S.(2009). Bioactive Compound from Mexican Lime(*Citrus aurantifolia*) Juice Induce Apoptosis in Human Pancreatic Cells.J. Agric.Food chem., 57(22), pp 10933-10942.

10–Rehab, M.O.M.(2011).Phytochemical investigation of antimicrobial seed extract of of*Citrus aurantifolia* (Lime),.The fifth Palastinian International Chemistry Conference. (abstract).

11–Forbes, B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S.(2007). Baily&Scott ,Diagnostic Microbiology.,12 ed.McGraw-Hill, New York:1031pp.

12–Hernandez, M.; lopez,R.; Abanas,R.M.; Paris, V.and Arias, A. (1994). Antimicrobial activity of *Visueamocanera*leaf extracts.,J. Ethanopharmacology,41. 115-119.

13-Ahmed, L., Beg, A.Z.(2008). Antimicrobial & phytochemical studies on 45 indian medicinal plants against multi-resistant human pathogen.

Journal of Ethanopharmacology, 74: 87-91.

14–Harborne, J. (1973).Phytochemical methods.Chapman and Hall. London.

15–Shihata, I.M. (1951). A Pharmalogical study of *Anagllisarvensis*. M.D. Vet. Thesis, CairoUniversitiy.

16–AL-Shamma, A. and Mischer, L.A.(1975). Compressive survy of indigenous Iraqi plant for potential economic value.I.Screening results of (372) species for alkaloids and antimicrobial agents.,Nat.Pro., 42(6) :633-642.

17–AL-Abid, M.R.(1985). ZurZusammemsetrung der Abschlu B membrane in *phoenix dactilyfra*. Wurzburg Universitiy Wurzburg, F.R .of Germany.

18–Ralf, K. P.; Papi, R.G.; Parveen, P.; Tananki, G.andSoujanya, P. (2012). In vitro Antibacterial Activity of *Citrus aurantifolia* and Phytochemical Screening.Asian Pacific Journal of Tropical Disease 5328-5331.

19–MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical test for Identification of medical bacteria,3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA : PP. 912.

20–Bauer, A.W. ; Kirby, W.M.; Sherries, J. and Turck, M.(1966). Antibiotic susceptibility testing by standerized single disk method.,Am.J.Clin. path. 36:439-496.

21–NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts), (2002).Performance standert for antimicrobial disc susceptibility test.Twelfth in formation supplement.14th ed. Vol.10 (7).

22–Malika, N.; Mohamed, F. andChakib, A.(2004). Antimicrobial Activities of Natural Honey from Aromatic and Medicinal plant on Antibio-resistant strain of bacteria. International Journal of Agriculture and Biology, 6(2) 289-293.

23–Umachigi, S.P.; Jayaveera, K.N.; Kumar,C.K.A.; Kumar, G.S.; Swamy,B.M.V. and Kumar,D.V. (2008).Studies on wound healing properties of Quercus in fectoria. Trop. J. Pharmaceut. Res., 7(1):913-919.

24–Khayyal, M.T. ; EL-Ghazaly, M.A. and EL-Khatib, A.S.(1993). Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolisextracts. Drug Exp.Clin. Res.,19:197-203.

25–Willely, J.M.; Sherwood, L.M. and Woolverton, C.J. (2008).Prescot, Harley and Kleins Microbiology, 7th ed., McGraw-Hill Copanies,Pp.,1088.

26– العكيلي،عدنان حنون عباس،(2002). دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتريا اصابات الحروق. رسالة ماجستير، كلية العلوم – الجامعة المستنصرية.

27–Singh, N.P.; Goyal, R.; Manchando, V.; Das, S.; Kaur, I. and Tulwar, V.(2003). Changing trends in bacteriology of burns in the burns unit, Delhi, India. Burns, 29(2): 129-132.

28–Ozumba, V.C. and Jiburum, B.C. (2000). Bacteriology of burn wounds in Enugu, Nigeria. Burn, Mari., 26(2): 178-181.

29–Winn, Jr.W.;Allen,S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schrekenberger, P. and Woods, G. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6thed.,Lippincott Williams and Wilkins.

30–Perilla, M.J.; Ajello, G.; Boop,C.; Elliott,J.; Facklam, R.; Popovic, T. and Wells,J. (2003). Manual for laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of Public health importance in developing world. CDC, Atlanta, Georgia, U.S.A.

31–Japoni, A.; Hayati, M.; Abrozi, A.; Farshad, Sh. And Abbasian, S.A.(2005). *In vitro* susceptibility of *Ps.aeruginosa*isolated from a burn center to silver suifadiazine and silver nitrate in sharaz ,South of Iran. J. Med. Sci., (ijms), 30(2):63-67.

Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. Braz. J. Microbial.,31(4):1-16.

36–AL-Hilli, F.A.M.(2000). Study of antibacterial effect of leaves from *Callistermoncitrinus* on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients. M.Sc. thesis, Coll.Sc., AL-Mustansiriya University:88pp.

37–Assegid, G.; Erik, S., and Ingolf, Lampercht.(2004). Microbiological and different propolis extracts.Institute of zoology. Free University, 422(1-2): 115-124.

32–Prats, G.; Miretis, B. and Miro E.(2003). Cephalosporin Resistant *Escherichia coli* among summer camp attendes with Salmonellosis. Emerg. Infect.Dis.Oct.9(10):1274-8 (abstract).

33 – Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Mores, S.A.(2001). Medical Microbiology 24th ed. Lange medical books McGraw-Hill. New York :Pp.694.

34– الـذهب، أزهـار عمـران لطيـف(1998). الفعالية التضادية لمستخلصات نباتات عراقية في بعض البكتريا الممرضة. رسالة ماجستير، كلية العلوم- جامعة بابل : 68 صفحة.

35–Nascimento, G.G.F.; Locatelli, J.; Freitas,P.C. and Silva,G.L.(2000).

Effect of *Citrus aurantifolia* Seed Extracts In Some Bacteria Isolated From Burns Infections

Suaad K. Ibrahim ***Ilham S. Banno*** ***Sawsan M. Abdella****

*Department of Biology,College of Education For Pure Sciences Ibn-AL-HaithamUniversity of Baghdad

Abstract:

The present study was carried to evaluate antibacterial activity of Acetone, Alcholic (cold and hot) and Aqueaus(water) extracts of Citrus aurantifoliaseeds,against growth of some bacteria isolated from burns infections(*Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli, Klebsiellapneumonia,Staphylococcusaureus)*fromKindy HospitalIn Baghdad from March to June 2012.Antibiotic Sensitivity was done for all isolated bacteria used in this study.Results showed variation in antibacterial activity of different extracts against all tested bacteria by well diffusion technique in agar and measuring the diameter of inhibition zone, at concentration 250Mg-ml. Acetone extract had the greatest inhibitory effect followed by hot alcoholci extract, and then cold alcoholic extract,while the aqueous extract slightly inhibited bacteria. Minimum inhibitory concentration(MIC)were determined for all extracts against studying bacteria and found(12.5-50)mg-ml for acetone and alcoholic extracts, MIC for aqueous extract was 50mg-ml for*Pseudomonasaeruginosa and Escherichia coli*,while was no effect on*Klebsiellapneumonia and Staphylococcusaureus.* Minimum Bacterial Concentration(MBC)were determined and was found25-50mg-ml for acetone extract,hot water was25mg-ml, cold alcoholic extract was 50mg-ml for*Pseudomonasaeruginosa,Escherichia coli andKlebsiella pneumonia* but showed no effect on *Staphylococcus aureus,* aqueous extract showed negative effect on alltested bacteria. The antimicrobial activity of hot alcoholic extract of seeds was investigated practically (in vivo) by treating burns mices infected with tested bacteria(*Pseudomonas aeruginosa,Escherichia coli and Klebsiellapneumonia*),the results revealed good recovery at short time comparing with antibiotic(Flamazine) used at the same time.