جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتات ليمون البصرة والرمان والبلوط على البكتريا المسببة للإسهال

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة /النبات

من قبل

نور جبار احمد علي

بكالوريوس علوم الحياة – كلية التربية

٢٠١٠- ٢٠١١

بإشراف

ا٠د نجم عبدالله جمعة الزبيدي

1436هـ 2015م

1- المقدمة INTRODUCTION

لاقت مسببات التهاب الأمعاء اهتماما شديدا لما تسببه من حالات مرضية يأتي الإسهال في مقدمتها ,والذي يعد من المشاكل الصحية الخطرة التي تواجهها معظم دول العالم ٠ كما يعد عاملا مؤديا إلى ارتفاع معدل الوفيات بين الأطفال والرضع وخاصة في الدول النامية وبشكل خطير (1989,Huttlys). من أهم السلالات المصلية المسببة للالتهاب المعوي الحاد هي بكتريا*Escherichia coli* و *Salmonella typhimuruim*, اذ تتميز هذه البكتريا بمقاومتها للعديد من المضادات الحياتية لما تمتلكه من آليات مختلفة تساعدها على المقاومة , منها أنتاج أنزيمات قادرة على تحوير جزيئة المضاد الحيوي إلى مادة غير فعالة , وكذلك تعمل على تغيير موقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد الحيوي وغيرها من الآليات التي تسبب فشل المضادات الحياتية في القضاء على الإصابة المتسببة عن هذه الأنواع البكتيرية(Ichhpujani و,2004 Bhtia). لهذا اهتم المختصون في البحث عن مصادر جديدة للمضادات المايكروبية بوصفها بدائل عن المضادات التقليدية (Abrutyn و ,Fraimow1995) ٠ونظرا لما تبديه البكتريا من مقاومة ضد المضادات الحيوية فقد اتجه كثير من الباحثين في مجال الإحياء والكيمياء الى إيجاد مواد بديلة مضادة للبكتريا , ومن هذه المواد النباتات الطبية وهذا ما أكدته العديد من الدراسات (,Riordan 1987 و,1990 BarnesandAid) ,مما دفع الباحثين إلى التوجه لدراسة تأثير النباتات الطبية وفصل مكوناتها الفعالة ,إذ تحتوي النباتات الطبية على مواد فعالة حيويا Bio active constituents مثل القلويدات Alkaloides,و الفينولات Phenoles, والكلايكوسيدات Glycosidesوالراتنجات Resins والتانينات Tannins والصابونينات Saponins وزيوت طيارة وعطرية ومواد كربوهيدراتية وغيرها (توفيق,2003)

٠تستخدم النباتات الطبية في معالجة الكثير من الإمراض , ركزت الدراسات في السنوات الاخيرة على المعالجة بالنباتات الطبية واكتسبت المركبات المفصولة من هذه النباتات أهمية كبيرة خاصة تلك المركبات المستخدمة في صناعة الأدوية والمستحضرات الطبية ,اذ تحتوي الكثير من النباتات على مواد فعالة فضلا عن

2 INTRODUCTION المقدمة

توفرها وانتشارها ٠وتمثل المواد الطبيعية المستخدمة في العلاج حوالي 60% من المواد المستعملة كأدوية , ولهذا فان البكتيريا تكون ذات حساسية عالية اتجاه هذه الادوية وعدم قدرتها على التقليل من فعاليتها لان الجزء الاكبر من هذه الادوية مستمد من النباتات التي تكون ذات تأثيرات جانبية قليلة ونقاوة عالية (Carson و 2003, Riley)٠ لهذا فان اغلب دول العالم أخذت في الآونة الأخيرة تلجا إلى النباتات الطبية وجعلها مصدرا رئيسا للحصول على المستحضرات الطبية ٠ونتيجة توفر النباتات الطبية في الطبيعة ولسهولة الحصول عليها فقد زاد اهتمام الشركات المتخصصة في صناعة الأدوية والمستحضرات الطبية لهذه النباتات واستخدامها مواد أولية في منتوجاتها (Sokman واخرون ,1999) ٠وبناء على ماتقدم ولأهمية النباتات الطبية فقد أجريت هذه الدراسة على ثلاثة أنواع من النباتات الطبية وهي ليمون البصرة (*Citrus aurantifolia*) والرمان (*Punica granatum*) والبلوط (*Quercus robun*) والتي تم اختيارها بالاعتماد على أساس استخدامها في الطب الشعبي فضلا عن كونها غنية بالمركبات المضادة لنمو الجراثيم ٠لذا تهدف الدراسة الحالية الى:٠

١- الكشف النوعي والكمي للمركبات الفعالة للمستخلصات النباتية المستخدمة في الدراسة ٠

٢- تقويم فعالية المستخلصات النباتية لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط بتراكيز مختلفة ضد العزلات البكتيرية خارج جسم الكائن الحي ٠

٣- المقارنة بين تأثير المستخلصات النباتية بمختلف طرائق الاستخلاص (المستخلص المائي البارد والمائي الحار والمستخلص الكحولي)في تثبيط نمو العزلات البكتيرية خارج جسم الكائن الحي٠

٤- تقدير السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية للنباتات المستخدمة ٠

٥- اختبار حساسية البكتريا ضد المضادات الحياتية ٠

3 LITERATURE REVIEW استعراض المراجع

2- استعراض المراجع literature review

2-1 المكونات الفعالة في النباتات الطبية

تنتج النباتات مركبات الايض الأولية الأساسية مثل (الكاربوهيدرات ,والدهون, و البروتينات والأحماض النووية) فضلا عن قدرتها على إنتاج الكثير من المركبات واطئة الوزن الجزيئي والتي تعرف بمركبات الايض الثانوية , وهي التي لا تمتلك وظيفة مهمة في إدامة العمليات الأساسية للنبات الذي صنعت فيه , لكنها تمتلك وظيفة مهمة في مساعدة النبات في مواجهة الظروف غير الملائمة مثل الإصابة ببعض الأمراض المتسببة عن الأحياء المجهرية والحشرات ، ويكون أنتاج هذه المواد قليلا غالبا (أقل من 1% من الوزن ألجاف) ٠اذ يعتمد بصورة رئيسة على الحالة الفسلجية والمرحلة التطورية للنبات ولهذا تعد النباتات مصدرا غنيا للمكونات الفعالة حياتيا والمستخدمة في الصناعات الصيدلانية (Namdeo2007,)٠

تعد المركبات الكيميائية منتجات طبيعية لكونها نواتج ثانوية للعمليات الايضية التي تجري داخل النبات , إذ تتميز بنشاطيها الوظيفي والعلاجي على أعضاء الجسم

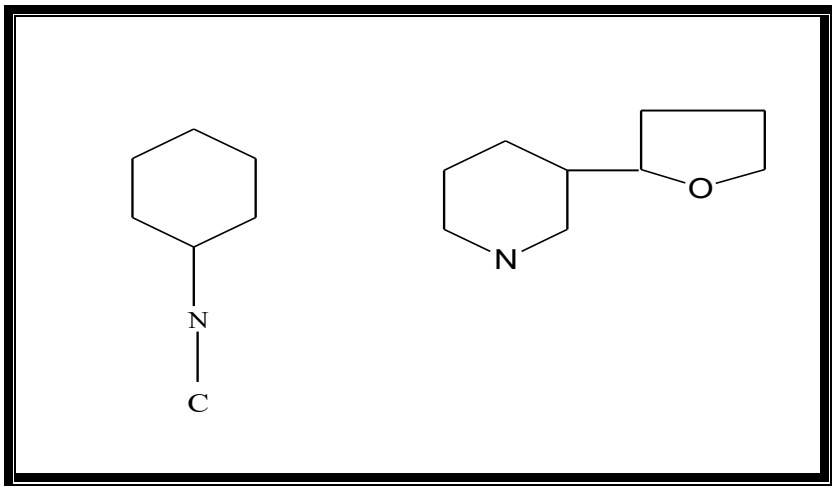
البشري والحيواني (الشحات ,1986) ٠ تنتج النباتات عددا كبيرا ومختلفا يقدر بأكثر من (100000) مركب ثانوي ويتجاوز العدد الكلي في بعض النباتات إلى (50000)(Singerوآخرون ,2003)٠ إن العقاقير المصنعة كيمائيا لا تعطي نفس التأثير العلاجي الذي تعطيه المواد المستخلصة من النباتات الطبية بالرغم من نقاوتها العالية ، فضلا عن التأثيرات الجانبية الكثيرة التي يمكن أن تحدثها للإنسان (قطب , 1981 , Karim وQuraan.,1986). تقسم مركبات الايض الثانوي (Secondary metabolism) إلى ثلاث مجاميع رئيسة وهي المركبات القلويدية , والفينولية , والتربينية (Goodwin و1983 Mercer)٠

2-1-1القلويدات Alkaloids

هي مواد عضوية تتوافر بكميات ضئيلة في النباتات ,ذات تركيب قاعدي معقد تحتوي بشكل رئيس على عنصر النتروجين فضلا عن الكاربون والهيدروجين, وفي بعض الأحيان الأوكسجين شكل 1 , لها اثر وظيفي في الكائن الحي , (قطب, 1981; ستاري و جيراسيك , 1986) وهي من نواتج الايض الثانوي للبروتينات ومشتقة من الأحماض الامينية (Raffauf1997,)٠ ذات شكل بلوري متواز تتميز بطعمها المر وسميتها العالية وتكون عديمة اللون والرائحة , حساسة لدرجات الحرارة العالية , هناك بعض أنواع القلويدات لا يدخل أوكسجين في تركيبها ,لذلك تكون سائلة في درجة حرارة الغرفة (Gowan,1999) تتوافر القلويدات بصورة رئيسة في النباتات على شكل أملاح لبعض الحوامض الكاربوكسيلية (carboxylic acid)مثل حامض الليمون (citric acid) ,وحامض أللبنيك (lactic acid) , وحامض الخليك (Acetic acid) , وحامض الاوكزاليك (

oxalic acid), وحـامض ألماليـك (malice acid) , وحـامض الترتاريـك (tartaric acid), وحـامض الفيوماريـك (fumaric acid), وحـامض البنزويـك (Benzoic acid) (Deluca و,Stpierre2000) ٠ أن أول قلويد ذا أهمية طبيـة تـم عزلـه هـو المـورفين (morphine) فـي سـنة (1805) مـن نبـات الخشـخاش (*Papaver somniferum*) , معظم القلويدات ذات تاثير مضاد للأحياء المجهريـة منها قلويدات ثنائية الترتيب (Diterpenod) التـي عزلـت مـن نباتـات عائلـة عـرف الـديك (*Ranunculaceae*) (Gowan , 1999) ٠وهنـاك العديـد مـن المركبـات التي تعـد مـن القلويـدات منهـا berberine ,nicotine, colchicines ٠ومركبـات أخرى ذات تأثيرات مختلفة ضد بعض الطفيليات ولعلاج قرحة المعدة وزيـادة السـكر في الدم (Chitwood2002 و karou ; واخرون2006) ٠

استعراض المراجع LITERATURE REVIEW
5



الشكل(١)التركيب الحلقي العام للقلويداتAlkaloids

Abulafaith (1987)

2-1-2 الفينولات Phenols

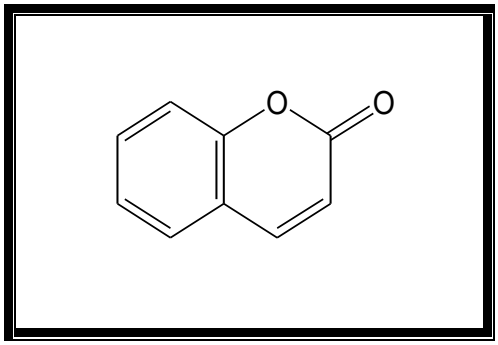
وهي مركبات اروماتية عطرية تحتوي على حلقة بانزين تتصل بمجموعة واحدة من الهايدروكسيل (OH) الجانبية او أكثر٠ (Harborn , 1984), تكون ذات طعم مر لا تمتلك لون,ذائبة في الماء حساسة لدرجات الحرارة العالية وذات سمية عالية ٠يعود سبب سميتها الشديدة الى عدد وموقع مجاميع الهايدروكسيل في الفينولات,فمثلا مركب الكاتيكول (catechol) والبايروكالول (pyrogallol) هما فينولات سامة للأحياء المجهرية , اذ يحتوي الكاتيكول على مجموعتي هايدروكسيل بينما يحتوي البايروكالول على ثلاث مجاميع (Gowan , 1999) ٠ وان اكبر المجاميع الفينولية الموجودة في الطبيعية هي الفلوفونات (flavonoid) التي تحتوي على فينول أحادي الحلقة,أما التانين (Tannin) واللكنين (Lignin) فهي متعددة الفينولات poly phenolic (Harborn, 1984) , توصف الفينولات التي لاتحتوي على أوكسجين على انها زيوت أساسية وتعرف بوصفها كمضادات للأحياء المجهرية كالمركب ايوجينول (Eugenol) تتوافر في زيت القرنفل وكذلك زيت الثايمول (Thymol) المتوافرة في الزعتر(Thymus)

الذي يحتوي على مركب cafic acid وهو فعال ضد البكتريا (Schimmer, Winks ,1999). وتعد المواد الفينولية منظمات للنمو ولعمل الأنزيمات في النبات , كما تعد عوامل مقاومة طبيعية ضد الحشرات (Usher ,1974) وتضم المواد الآتية ٠

1-2-1-2 الكومارينات Coumarins

وهي مادة فينولية بسيطة تتكون من9 ذرات كاربون كما في الشكل (٢) تتميز بطعمها المر و رائحتها النفاذة, تذوب في الكحول وتتوافر في نبات الينسون

pimpinella anisum والحلبة *Trigonella foenumgraceum* ويكون تركيبها مشابها لتركيب فيتامين K لذلك تتداخل مع التلازن Coagulation (biosynthesis)ولكن فعاليته تقل عند تناولها عن طريق الفم , يلاحظ ان مركب Hydro-cinnamic acid المتوافر في الكومارينات له تأثير مثبط لنمو الفطريات الممرضة (Mills واخرون , 2006) ٠ ان مركبات الكومارينات السامة ليس لها تاثير سلبي على الإنسان اذ تطرح بأمان مع الإدرار (Weimanr1997,) ٠ ولكن تم تحاشي استعمالها آذ ظهر انه يتداخل في مفعولها الطبي مع عدد من المركبات الطبية الأخرى(Tyler وآخرون 1988)٠



الشكل(٢)التركيب العام للكومارينات Coumarins

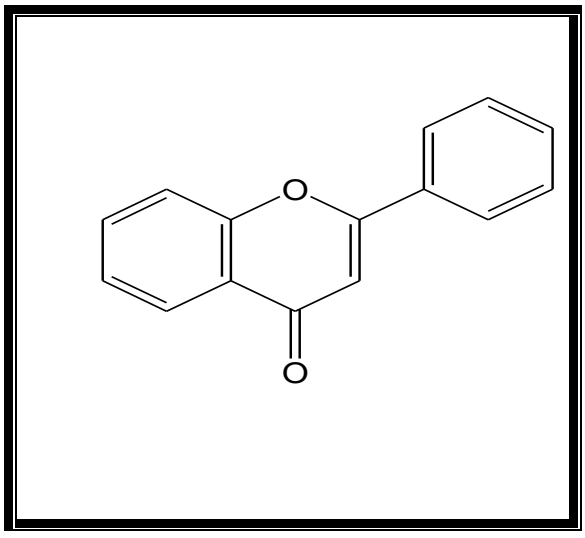
Abulafaith (1987)

7 LITERATURE REVIEW استعراض المراجع

2-1-2-2 الفلافونات Flavonoids

هي مواد فينولية تتركب من15 ذرة كاربون مع مجموعتي فينول مرتبطتين بثلاث ذرات كربون 3٠ تشتق الفلافونيدات من flavanone , وقد تم عزل (4000)

فلافونيد من النباتات (Danile ; واخرون 1999)٠ تعد الفلافونات مضادات حيوية ,اذ تبين من الدراسات ان لها تاثيرا تثبيطيا ضد البكتريا والفطريات (,Harborn1991) ولها خاصية علاجية في تقوية الأوعية الدموية اذ تستخدم في مختلف الحالات الناتجة عن النزف الشعري (Capillary bleeding) , وتكمن أهميتها في تنشيط الأدرنالين (Adrenalin) , ولبعضها أهمية في علاج إمراض البرد (الحمداني وأيوب , 1990)

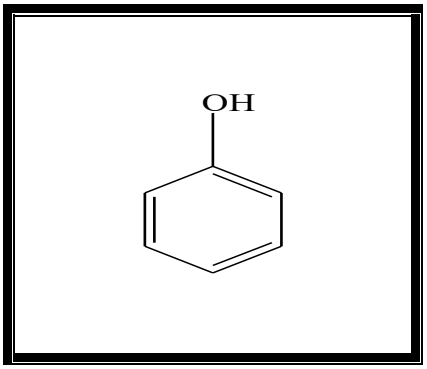


الشكل(٣) التركيب العام للفلافونويداتFlavonoids

Abulafaith (1987)

3-2-1-2التانينات Tannins

هي مواد فينولية لها تركيبا حلقيا يتكون من 6 ذرات كربون شكل 4 وتمتلك وزن جزيئي عالي , تقسم التانينات (الدباغيات) الى مجموعتينمجموعة مكثفة (Condensed) ,ومجموعة قابلة للتحلل بالماء (Hydrolysable) (Quideauو Felmank ,1997,) ٠تمتلك التانينات تركيب كميائي معقد ويعود سبب ذلك الى تجمع الفينولات غير المعقد ة مع بعضها البعض , تذوب التانينات في الماء ولها فوائد طبية اذ انها تساعد في سرعة شفاء التهاب الأغشية المخاطية وشفاء الجروح وتكون الأنسجة الجديدة ولها مفعول مطهر (سعد,;1977 سعد الدين , Acamovic;1986و Brooker,2005) ٠ وقد ذكر Dasmohapatra وآخرون(2006) ان التانينات تعطي الحماية للأجزاء النباتية الموجودة فيها من الإصابة الميكروبية ٠



الشكل(٤) التركيب العام للتانينات Tannins

Abulafaith (1987)

3-1-2 التربينات Terpens

وهي مركبات غير نترو جينية مضادة للأحياء المهجرية , وحافظة للأغذية ومسهلة للهضم , ومسكنة للألم , التركيب الكيمائي العام للتربينات هو ($C_{10}H_{16}$) (Daniel ; واخرون 1999).تمتلك معظم التربينات تركيبا حلقيا واحد متصلا بواحدة او أكثر من المجاميع الفعالة (الهيدروكسيل ,والكربونيل ,وغيرها) , تنتج في النباتات عبر مسلك حامض Mevalonic (Harborn,1984,)٠ تذوب التربينات غالبا في الدهون كما تتوافر في سايتوبلازم الخلية النباتية , وتتميز بطعمها الحاد غير المستساغ احيانا , (Tyler وآخرون 1988) أشار Winks و Schimmer (1999) إلى ان التربينات هي اكبر مجموعة من المنتجات الطبيعية في النباتات إذ يزيد عددها على (20000) مركب , تشمل الزيوت الطيارة (Voltile oils) , والمنكهات (Flavors) , والعطور (Fragrances), والصبغات النباتية الذائبة في الدهون٠ وتقسم التربينات ألى:

1-3-1-2 الصابونيات Saponins

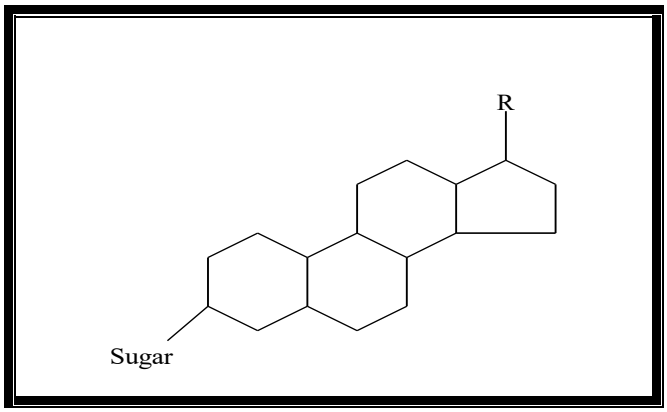
وهي عبارة عن مركبات كيميائية من التربينات الثلاثية (Triterpenes), وتتوافر في العديد من النباتات تتميز بأنها تنتج رغوة صابونية عند رجها مع الماء , استعملت منظفات قبل اكتشاف الصابون (Taizو Zeger ,2006) , أوضحت الدراسات أن للصابونين نشاطا فسيولوجيا ساما على الإنسان والحيوان عندما تحقن بالوريد فإنها تسبب تحلل كريات الدم الحمر ٠ أما إذا أخذت عن طريق الفم فإنها تكون أمنة على الإنسان, لأنها لاتمتص من قبل الأمعاء , ولها تأثير مقشع ومزيل للبلغم ٠ استعملت الصابونيات في تصنيع الكورتزون ذي الاستعمالات العلاجية

المختلفة وأيضا لها وظيفة وقائية في النباتات ضد الحشرات والإحياء المجهرية (Tylerواخرون,1988)

استعراض المراجع 10 LITERATURE REVIEW

2-3-1-2 الكلايكوسيدات Glycosides

مركبات كيميائية عند تحللها في الماء تعطي مادة سكرية واحدة او اكثر فضلا عن توافر مواد غير سكرية مرتبطة معها شكل 5 , تركيبها الكيميائي يحتوي على الأوكسجين (O) , والهيدروجين (H), والكربون (C), وقد تحتوي على النتروجين (N), والكبريت (S), تقوم الأحماض المخففة والأنزيمات بتحليل الكلايكوسيدات وينتج عن تحللها نوع او اكثر من السكريات ,وأيضا مادة أو أكثر من المواد غير السكرية ٠ويسمى الجزء السكري الكليكون (Glycone) وعادة مايكون بيتا كلايكوز , أما الجزء غير السكري فيسمى اكليكون (Aglycone) او جين (Genie) ويختلف تركيبه الكيميائي من نبات لآخر (Ismail واخرون 1990, و المنظمة العربية للتنمية الزراعية , Claus,1980 وآخرون , 1973)٠ توصف الكلايكوسيدات بانها مركبات صلبة متبلورة أو غير متبلورة , عديمة اللون تذوب في الكحول والماء ولا تذوب في الايثر ,بعضها يذوب في المذيبات العضوية مثل الأسيتون والكلوروفورم (Evans 1996,)٠ ومن أهم المركبات الكلايكوسيدية الكلايكوسيدات الستيرويدية (Steroid Glycoside)مثل الديجوكسين (Digitoxin) , وكلايكوسيدات الروتين (Rutin) , والسينوسايد (Sennoside), والسالسين (Salcin) (الشماع , 1989)



الشكل(٥) التركيب العام للكلايكوسيداتGlycosides

Abulafaith (1987)

2-1-2-3الراتنجات Resins

هي مركبات كيميائية لها تركيب كيميائي معقد لخليط من الكحولات والحوامض واسترات راتنجية ، ومواد دباغيه (الشماع ، 1989)٠يتم الحصول على الراتنجات عن طريق أكسدة انواع مختلفة من الزيوت العطرية وهي مواد غير قابلة للذوبان في الماء لكنها تذوب في الايثر والكحول(المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، 1980 ؛ Evans, 1996)٠ اوضح(Al- Jadi وMohde1996,) ان الراتنجات المعزولة من نبات المستكي *Mastic lenticus* لها فعالية ضد المايكروبات ٠

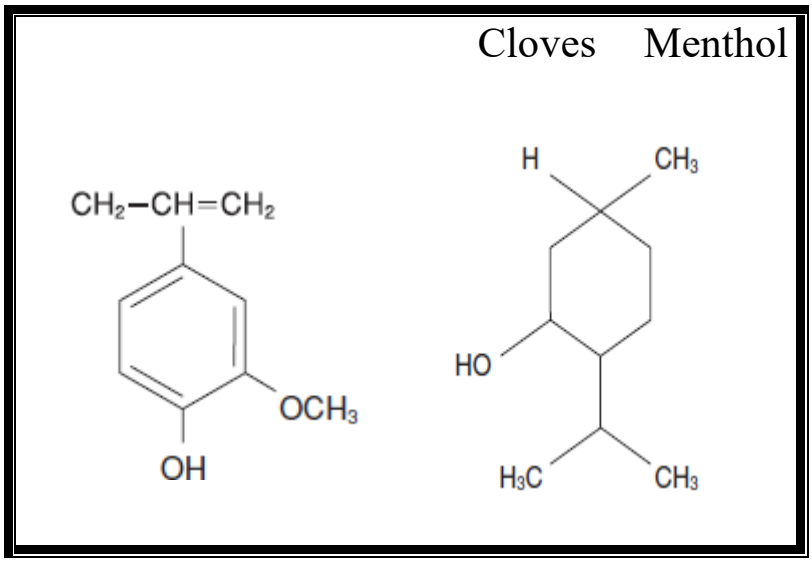
2-1-3-4 الزيوت الطيارة Volatile oils

وهي الزيوت التي تتبخر او تتطاير عند تعرضها للهواء في درجات الحرارة الاعتيادية من دون تغير او تحلل في تركيبها الكيميائي ، وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة Fixed oils التي تتحلل عند تعرضها للتسخين العالي ، وتدعى

الزيوت الطيارة ايضا بالزيوت العطرية Aromatic oils لرائحتها العطرية الجميلة أو تدعى بالزيوت الايثرية Etheral oils لذوبانها في الايثر وتدعى ايضا بالزيوت الأساسية Essential oils (Mills واخرون 2006) ، وتتميز الزيوت الطيارة بالألوان الفاتحة المائلة للاصفرار وكثافتها اقل من كثافة الماء باستثناء الدارسين والقرنفل ,وقابليتها على الذوبان في المذيبات العضوية ,وعدم ذوبانها في الماء (الشماع ، 1989)٠ تختلف كميات الزيت المستخلصة باختلاف النبات فقد تكون قليلة في بعضها ، وبنسب مئوية قد تصل الى 5% في بعضها الأخر (الشحات، 2000)٠ تنتشر الزيوت الطيارة في اكثر من الفي نبات تمثل ستين عائلة نباتية تقريبا ، فتكثر في العائلة الشفوية Labiatae والعائلة السذبية Rutaceae, والعائلة الخيمية Umbelliferae, والعائلة القرفية Lauraceae, والعائلة المركبةAsteraceae, والعائلة الآسية Myrtaceae ,والعائلة الصنوبرية

12 LITERATURE REVIEW استعراض المراجع

Pinaceae (حسين ، 1981)٠ تتوافر الزيوت الطيارة في تراكيب متخصصة للإفراز مثلا تتوافر في الشعيرات الغدية Glandular hairs كما في العائلة الشفوية أوفي غدد زيتية Oils glands كما في العائلة السذبية او في قنوات زيتية Oils vittae كما في العائلة الخيمية ، وتعد الزيوت الطيارة من أهم منتجات الايض الثانوي العضوي (الشحات ،2000) ٠



الشكل(6) التركيب الحلقي لبعض أنواع الزيوت الطيارةVolatile Oils

Abulafaith (1987)

13 LITERATURE REVIEW استعراض المراجع

5-3-1-2 الزيوت الدهنية (الزيوت الأساسية) fixid Oils

هي عبارة عن زيوت لاتتبخر, ولا تتطاير عند تعرضها للهواء, ويمكن تقطيرها من عند تحللها ،و تتألف من الكلسرين الذي يكون مرتبطا مع حامض دهني غير مشبع ، وتعد هذه الزيوت غير سامة للإنسان, وتعد مادة غذائية وتحل محل الشحوم

الحيوانية, ومن أمثلتها زيت الخروع وزيت الزيتون الذي يستخدم مليناً في حالات ألامساك (Roberts وآخرون,1974)٠

2-2 الإسهال

الإسهال هو حالة مرضية ناتجة عن اضطراب وظيفي في الجهاز الهضمي نتيجة الإصابة بالمسببات الحياتية وغير الحياتية ,اذ يؤدي الى زيادة عدد مرات التغوط الذي يكون على شكل سائل او شبه سائل وبالتالي يؤدي الى الجفاف ولزوجة الدم بسبب فقدان الجسم الكثير من السوائل والايونات (و Ichhpujani, Bhatia2004) ٠تتفاوت إمراض الإسهال بحسب العمر وهي مسؤولة عن موت ما يقارب,2 2 مليون طفل سنويا بسبب الجفاف, 80% منهم يموتون في السنتين الأولى والثانية من حياتهم بحيث تصل إلى حوالي 4200حالة في الأسبوع , وحوال 600 في اليوم, وحوالي ٤ أطفال في الدقيقة الواحدة (WHO1993,) ٠ هناك عدة عوامل تؤدي الى حدوث الإسهال اهمها هي إصابة الجهاز الهضمي بالجراثيم مثل العدوى الفيروسية Rota virus or Adeno virus اذ تكون الاصابة بالعدوى الفيروسية أكثر انتشارا خاصة في الأطفال بعمر اقل من خمس سنوات. يتميز الإسهال في هذه الحالة انه بسيط ومائي مؤقت وغالبا ما يكون مصحوبا بارتفاع بسيط في درجة الحرارة (اقل من 38.5 درجة مئوية) وتزداد احتمالية الإسهال نتيجة عدوى فيروسية في فصل الشتاء اذ إن الالتهاب المعوي الفيروسي هو أكثر الأسباب شيوعا لحدوث الإسهال المائي في الشتاء وهو ما يسمى Watery Winter diarrhea (Gracey1996,) ٠وهناك عامل اخر يؤدي الى الاصابة بالإسهال وهو ناتج عن الإصابة بالجراثيم المرضية مثل بكتريا الشكيلا والسالمونيلا والاشريشية القولونية يتميز بكونه شديدا و يحتوي على دم ويكون مصحوبا بارتفاع شديد في درجة

الحرارة أكثر من ٣٨,٥م ويصيب جميع الأعمار تقريبا (Gracey1996,) ٠ان الإصابة بالإسهال تكون إما بالتماس المباشر Direct contact أو عن طريق الماء والغذاء الملوثين بفضلات الإنسان والحيوان الحاملة لتلك العوامل المرضية ,ان استخدام الفضلات غير المعالجة كمياويا لأغراض التسميد فضلا عن استخدام مصادر مختلفة للمياه غير الصالحة للشرب تلعب دورا مهما في نقل مسببات الإسهال ,وقد تنتقل الجرثومة الى الدم مسببة ظاهرة تجرثم الدم أو قد يصبح الشخص حاملا للمرض دون ظهور الإعراض المرضية, وتعتمد الإصابة أيضا على الظروف البيئية التي تساعد على تطور هذا المرض , وان عدم الاهتمام بالنظافة وقلة الوعي الصحي والحالة الاجتماعية والاقتصادية يزيد من فرص انتقال هذا المرض (Giannella و اخرون ,1973). أكدت العديد من التقارير إن مدى انتشار الإصابة بالسالمونيلا و الاشريشيا كولاي و الشكلا يأتي نتيجة تلوث المياه والغذاء (Doyle واخرون ,1997) فقد تم عزل أنواع من السالمونيلا في انكلترا من لحم الدواجن, وظهر إن معظم أنواع الأسماك المستوردة مصابة بـ *Salamonella agonea* ,وتلعب الأعلاف المستخدمة غذاء للحيوانات دورا مهما في إبقاء عدوى السالمونيلا بين الحيوانات والبشر ,1996(Maeda)٠ أشارت التقارير أيضا إلى احتمالية الإصابة إثناء عملية الولادة أو عن طريق المحار ير الشرجية او عن طريق الغبار وخاصة في المستشفيات (Merier وGyr, 1987)٠

الإسهال على نوعين هما الإسهال الحاد والإسهال المزمن, الإسهال الحاد غالبا مايسمى بالتهاب المعدة أو الأمعاء الحاد وهو اكثر حدوثا في الدول النامية, اذ يكون عاملا مهما لوفيات الأطفال في هذه الدول النامية (Gavin واخرون ,1996) ٠ وتكون الإصابة اكثر حدوثا عند الأشخاص المصابين بضعف المناعة وسؤ التغذية ,او الذين تكون لديهم العادات الغذائية غير منتظمة , يتميز الإسهال من النوع الحاد بأنه يستمر لمدة 10 أيام أو اقل مصحوب بارتفاع في درجة الحرارة ويؤدي إلى الجفاف ثم الموت إذا لم يعالج ,2007(NDDIS)٠ إما الإسهال من النوع المزمن فيستمر لأكثر من أربعة أسابيع

نتيجة الإصابة بالفايروسات والبكتيريا والطفيليات او استعمال بعض العقاقير او التسمم بالمواد الكيمائية ٠ يكون الإسهال من النوع المزمن مصحوبا بارتفاع درجات الحرارة وفقدان كميات كبيرة من السوائل والأملاح والمعادن ومكونات غذائية ضرورية للجسم مما يسبب الجفاف والشعور بالإرهاق الشديد وجفاف الجلد وتجعده ونزول كميات قليلة من الإدرار وتسارع في نبضات القلب, وإذا لم يعالج يؤدي إلى الموت (OchoaSurawic 2006) ٠ وهناك تفسير أخر اعتمادا على طبيعة البراز ويشمل الإسهال المائي والإسهال الدموي , ينتج النوع الأول من غزو الإحياء المجهرية للأمعاء مثل *Vibrio cholera , E-coli , Clostrdium perfringens* التي تعمل على إفراز السموم المعوية مؤدية إلى تحفيز الخلايا المخاطية على إفراز السوائل ٠ فيما يحدث الإسهال الدموي نتيجة الإصابة بالإحياء المجهرية مثل *Campylo bacter spp, Salmonella spp, Shigella spp*٠ يتميز هذا النوع من البراز باحتوائه على الدم والمخاط مع وجود نضحة التهابية (Brooks, و اخرون ,1996,Gorbach;2007)

2-3التصنيف النباتي ليمون البصرة

2-3-1 الاسم العلمي *Citrus aurantifolia varacidica*

القسم :	*Spermatophyta*	Division
القسم الثانوي :	*Angiospermae*	Sub division
الصف:	*Dicotyledonae*	Class
الرتبة :	*Geraniales*	Order

العائلة: *Rutaceae* Family

الجنس : *Citrus* Genies

النوع: *Citrusaurantifolia var acidica* Species

(الكاتب , 2000).

2-3-2 الوصف العام General description

ينتمي نبات ليمون البصرة والذي يسمى احيانا بالليمون الهندي او المكسيكي إلى العائلة السذبية (Rutaceae), يصل ارتفاع نبات ليمون البصرة 7 أمتار وهو اعلى ارتفاع قد تصل اليه الشجرة لأنها في العادة صغيرة,الإزهار تكون في هذا النبات ثنائية الجنس و لونها ابيض ولها رائحة عطرية ،أما ثمار هذا النبات تكون ذات شكل بيضوي والقشر الخارجي اصفر اللون وفيها غدد زيتية،الأوراق تكون ذات لون اخضر داكن وحافة الورقة تكون غير مسننة و تكون جلدية القوام و الأفرع تكون منتشرة وقائمة بها أشواك كبيرة كما في الشكل ٠7

موطن نبات ليمون البصرة في المناطق المعتدلة والمدارية اذ ينتشر فيها بشكل واسع وفي شمال الهند بآسيا والمكسيك ويوجد أيضا في كثير من الدول العربية, لاسيما ليبيا ,و المغرب, و مصر ويكثر في سوريا, ولبنان ,والأردن ,والعراق (الكاتب , 2000) ٠



الشكل (7) المظهر العام لنبات ليمون البصرة

3-3-2 المكونات الكيميائية Chemical constituents

يحوي الغلاف ألثمري لنبات ليمون البصرة2,5%من الزيوت الطيارة ومن المركبات المهمة الموجودة في الزيت الطيار هي بيتا باينين و سترال و الفاتيربنين, ويشكل مركب الليمونيين ٧٠٪ من محتوى الزيت الطيار ٠ (مجيد ، 1988) ٠ يوجد في نبات ليمون البصرة مركبات اخرى مثل كومارين وبايوفلافونيدات, ويحتوي أيضا على الكالسيوم والحديد والمغنسيوم و الثايمين (Vit B) والرايبوفلافين (Vit B12) ,والنياسين (Vit B3), وحامض بانتوثينيك (VitB5) ,و فيتامين (B6), وفيتامين (ج) ,وفيتامين (E) ,وفيتامين (C) ٠(الدرويش ،1983) ٠

4-3-2 الاستخدامات الطبية Medical uses

يوصف ليمون البصرة دواء من الأوبئة والإمراض كالكوليرا او التيفوئيد والنقرس والإنتانات المعوية كالإسهال والأنفلونزا والسعال ٠يستخدم نبات ليمون البصرة مطهر في حالات التهاب الكلية و المثانة والمسالك البولية (القاضي والرماح،1997)٠يستخدم شراب ليمون البصرة لمعالجة الروماتزم و مقشعا طارد للبلغم ويعد فيتامين (ج) مرققا للمخاط ومذيبا له, ويمكن استخدام شراب ليمون البصرة كغرغرة لعلاج التهاب اللثة وتنخر الآسنان وأيضا في حالات التهاب الحنجرة واستعمل الشراب مقوي للكبد٠ كما يعمل ليمون البصرة مضادا للبكتريا وطاردا لسموم الجسم ومخفضا للحمى ٠تعد قشور ليمون البصرة علاجا لفطريات الجلد و معالجة حالات الاسهال كمضاد للإصابة بالملاريا ويطهر جراثيم المعدة ويكافح حالات الإسهال كما يعمل ليمون البصرة مضادا للبكتريا وطاردا لسموم الجسم ومخفضا للحمى (Hoffman , 1988)٠

4-2التصنيف النباتي للرمان

1-4-2 الاسم العلمي Pome granate

القسم :	*Spermatophyta*	Division
القسم الثانوي :	*Angiospermae*	Sub division
الصف:	*Dicotyledonae*	Class

الرتبة :	*Myrtales*	Order
العائلة:	*Punicaceae*	Family
الجنس :	*Punica*	Genus
النـوع:	*punica granatum*	Species

(الكاتب , 2000)

2-4-2 الوصف العام General description

ينتمي نبات الرمان إلى العائلة الرمانية (Punicaceae) وهي شـجيرات كثيـرة التفرع كبيرة ,الأفرع الحديثة تكون مضلعة الشكل ذات لـون رمادي,يصـل ارتفاعهـا الى 7 أمتار ٠ تبدأ عادة بالتزهير بعد السنة الثانيـة او الثالثـة مـن الزراعـة ٠ تكـون الأوراق رمحية الشكل ، الأفـرع ذات لـون اخضـر لامـع ومتقابلـة,ثمار هـذا النبـات كرويــة تحمــل تاجــا ذا قشــرة جلديــة القــوام تحتــوي علــى الكثيــر مــن البــذور الحمراء،أزهارها حمراء فاتحة اللون ٠موطنها الأصلي شمال غرب الهنـد وإيـران , وجنوب غرب اسيا و وتزرع فـي معظـم المنـاطق العربيـة خصوصـا العـراق وبـلاد الشام وحوض البحر الأبيض المتوسط (إبراهيم ,2008)٠



الشكل(٨)المظهر العام لنبات الرمان

3-4-2 المكونات الكيميائية Chemical constituents

تحتوي ثمار الرمان على نسبة عالية من الماء تقدر حوالي (81%) فضلا عن العديد من المواد الأخرى مثل السكريات (10%) والبروتينات (3 %) والدهون(3.9%) والألياف(2.91 %) وحامض الليمون(10%)ومواد حمضية وعناصر مرة، وفيتامينات (أ ، ب ، ج) ومقادير قليلة من الحديد والفوسفور، والكبريت، والكالسيوم والبوتاسيوم والمغنسيوم ويحتوي على أربعة أنواع من المواد البكتينية

١ـ بروتوبكتين: Protopectin يوجد بكميات كبيرة في الثمار غير الناضجة اذ لا يذوب في الماء ولكنه يتحول أثناء عملية النضج إلى بكتين ذائب (Prohopectinase Protopectin).

٢ـ بكتين: Pectin ينتج عن تحلل البرتوبكتين وهو مادة قابلة للذوبان بالماء تتوافر في العصير الذي يملأ فجوات الخلية في الثمار .

٣ـ حامض البكتيك: Pectic Acid يتكون من سلاسل طويلة من جزيئات حامض الجلاكتورونيك .

٤ـ حامض البكتنيك: Pectinic Acid يتكون من سلاسل طويلة من جزئيات حامض الجلاكتورنيك في صورة استره.

(امان ,2000)

4-4-2 الاستخدامات الطبية Medical uses

يوصف نبات الرمان دواء شافيا لقرحة المعدة و الاثني عشري وإزالة السعال المزمن و اوجاع الصدر ٠,ويساعد عصير الرمان انقباض الأوعية الدموية والغشاء المخاطي المبطن للأنف ويوقف النزف باستعماله كنقاط للانف٠يحتويالمستخلص المائي لقشور الرمان على مواد قابضة مثل حامض Tannic Acid الذي يتمركز في قشور الرمان لذلك يستخدم في علاج الإسهال و الدزنتري ، (الحسيني,1997) ٠لنبات الرمان أنشطة بيولوجية و تفاعلات بيولوجية مثل مضادات الأورام ومضادات البكتريا المسببة للإسهال اذ تبين البحوث امتلاك نبات الرمان في جميع أجزائه مواد كربوهيدراتية ذات وزن جزيئي مرتفع تدخل في تركيب جدران الخلايا التي لها تأثير قوي من الناحية البيولوجية وهي ذات فعالية قوية كمضادات للأكسدة , ويحتوي مستخلص الرمان على وفرة من التانيك الذي يعمل على تقليل الدهون اذ يقلل من مستويات الكولسترول في الدم (Seeram واخرون ,2005 ٠)

2- 5التصنيف النباتي للبلوط

2- 5- 1الاسم العلمي *Quercus robur*

القسم :	*Spermatophyta*	Division
القسم الثانوي :	*Angiospermae*	Sub division
الصف: Class	*Dicotyledona*	
الرتبة : Order	*Fagales*	
العائلة: Family	*Fagaceae*	
الجنس : Genus	*Quercus*	
النـوع:	*Quercus robu*r	Species

(الكاتب ,2000)

2- 5-2 الوصف العام General description

يعود نبات البلوط الى العائلة الزانيـة (Fagaceae) ويكـون بهيئـة أشـجار كبيـرة ،الأوراق صغيرة مسننة ذات لون اخضـر داكـن،اذ ارتفـاع شـجرة نبـات البلـوط إلـى 30متـر, تتكـاثر بالبـذور تنمـو فـي المنـاطق معتدلـة المنـاخ و ذات المعـدل المطـري

المرتفع , , الإزهار بشكل عناقيد برعميه صغيرة ذات لون اخضر مائل الى الصفرة ٠ الثمار ذوات الفلقتين ذات لون بني وشكلها بيضوي طولي مكسوة بقلف خشبي صلب وفي كل ثمرة قمع على شكل نصف كرة تكسوه حراشف مرتبة صغيرة ٠ موطنها الأصلي إقليم حوض البحر الأبيض المتوسط الا أنها تنتشر في إنحاء واسعة من العالم مثل الصين و أمريكا والبرازيل وبعض الدول العربية مثل شمال العراق و الأردن وسوريا ولبنان (الالوسي , 1995)٠





الشكل (٩) المظهر العام لنبات البلوط

2- 5-3 المكونات الكيمائية Chemical constituents

يحوي قلف البلوط على كميات كبيرة حامض الفاليتوليك وحامض اللينوليك وحامض الفولك و المواد الدباغية و الاليـاف بنسبة 6.8% ونسبة عالية من الكربوهيدرات 16% ٠ البلوط يحتوي على الكلايكوسيدات والكورستين وايضا يحتوي على التانينات ونسبة عالية من الدهون والبروتينات وكذلك يحتوي على أملاح معدنية مثل الفسفور والمغنسيوم بنسبة 5% والكالسيوم بنسبة 8% ٠(الدرويش ,1983)

2- 5- 4 الاستخدامات الطبية Medical uses

يستخدم منقوع نبات البلوط لعلاج حالات الإسهال و الدزنتري والتغلب على التهاب القولون, وذلك لاحتوائه على التانينات القابضة الموجودة في اللحاء التي تعمل على تقليل إفرازات الأمعاء مما يساعد على تقليل فقدان السوائل, وتستخدم التانينات في شفاء الانسجة و تقليل النزيف ,وأيضا تعتبر مضادات للفايروسات والأورام السرطانية ٠ويستخدم منقوع نبات البلوط لعلاج قرحة الفم واللثة٠وايضا يستخدم لتقوية عضلة القلب وذلك لاحتوائه على الكلايكوسيدات التي تنضم معدل وقوة ضربات القلب ٠وان شرب ثلاثة أكواب من قلف البلوط المغلي يساعد في حماية الشرايين من التصلب ويحافظ على الكبد من التلف ٠ويستخدم المنقوع البارد لغسيل الجروح والحروق ويعمل كطارد للبلغم٠

(الدرويش ,1983)

2- 6 الأحياء المجهرية

لقد استخدمت مجموعة من الإحياء المجهرية الممرضة في الدراسة لغرض معرفة تأثير مستخلصات النبات الخام فيها ٠ ومعرفة حساسية هذة الأحياء المجهرية الممرضة اتجاه بعض المضادات الحيوية المعروفة طبيا , ومن هذه الأحياء المجهرية :

2- 6-1المتقلبة الرائعة *Proteus mirabilis*

ينتمي جنس المتقلبة الى العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* والتي تعد عائلة كبيرة للعديد من الجراثيم المرضية *Klebsiella , Escherichia ,Serratia, Entrobacter* تعد بكتريا *Proteus mirabilis* النوع الأهم في جنس *Proteus*من الناحية الطبية ,اذ انها تسبب العديد من الالتهابات الجهازية والسطحية كالتهاب الجهاز التنفسي Respiratory tract infection والتهاب الجروح wound والتهاب الإذن الوسطى والتهاب الامعاء والتهاب المجاري البولية(2007,Brooks)٠يضم جنس المتقلبات *Proteus* أربعة انواع, ثلاثة منها ذات أهمية سريرية *P.penneri* , *P.mirabilis vulgaris* ٠*P*,اما النوع الرابع *P.myxofaciens* فانه يعزل من يرقات العث, وليس له تاثير ممرض على الانسان (2000,Macfadin)٠ حظيت بكتريا

Proteus mirabilis باهتمام الباحثين لما يحمله من عوامل ضراوة مهمة تجعله اكثر قدرة على إحداث الإصابة اذ تمتلك قابلية على مقاومة المضادات الحياتية مثل البيتا لاكتام B-lactamase الذي يستهدف حلقة البيتا لاكتام اذ تحطمها وتثبط عمل المضاد (Jones و , Mobley 1988) ٠ تسهم البلازميدات في انتقال صفة المقاومة بين خلايا البكتريا اذ تقاوم عددا من المضادات الامينوكلايكوسيدات

باحتوائها على بلازميدات مقاومة للمضاد مثل Garamycin,Tetracyclin(Jawetsواخرون ,1984)٠

2-6-2 بكتريا الكلابسيلا الرئوية *Klebseilla pneumonia*

تنتمي هذه البكتريا الى العائلة المعوية Entrobactriaceae غير متحركة بيضوية الشكل تتميز بامتلاكها طبقة كثيفة متعددة السكريات (polysaccharides) تحيط الخلية من الخارج تدعى المحفظة (capsule) , توجد هذه البكتريا بوصفها متعايشات (commensals) في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان وعادة تكون بأعداد قليلة مقارنة مع افراد العائلة المعوية الاخرى (Edwards و , Ewing.1972) ٠ ان جرثومة الكلابسيلا خمسة انواع

1- *Klebseilla granulomtis*

2- Klebseilla oxytoca

3- Klebseilla pneumonia

4-Klebseilla singaporensis

5-Klebseilla varicola

النوعين الثاني والثالث ذات اهمية سريرية, اذ يسببان العديد من الإمراض للإنسان والحيوان كمرض ذات الرئة والتهاب المجاري البولية وتجرثم الدم والتهاب الأنسجة الرخوة والإسهال والسحايا والتهاب العضام (Kaijser و Nimmich ,1981) ٠ تمتلك الكلابسيلا نوعين من المستضدات الاول هومستضد الجسمي }O{ والذي هو عبارة عن متعدد سكري دهني والثاني المستضد المحفظي }K{ وبالاعتماد على

الأنواع المصلية (Umebobiamiwa و Berkwitz ,2009) ان للكلابسيلا قدرة على انتاج مواد حيوية تطرح الى الخارج والتي تعمل على إعطائها القدرة على الالتصاق بمختلف السطوح مما يساعدها على بقائها حية وهذا يزيد من مقاومتها لمختلف وسائل الدفاع الموجودة في الجسم (نجيب 2007,)٠

2-6- 3 بكتريا الاشريشيا القولونية *Escherichia coli*

تنتمي هذه البكتريا إلى عائلة Entrobactriaceae ، متعايشة في امعاء الانسان والحيوان ، وهي عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام يتراوح عرضها بين (١-١,٥) مايكروميتر ، أما طولها فيتراوح بين(٥-٦)مايكروميتر, وتترتب بشكل مفرد او بشكل أزواج , تتحرك بوساطة اسواط محيطية او تكون غير متحركة , وتستهلك اغلب الكاربوهيدرات مكونة غاز مع حامض , وتظهر مستعمراتها جافة وردية اللون على وسط الماكونكي لتخميرها سكر اللاكتوز , كما تعطي فحصا موجبا للاندول (Indole), وغير مستهلكة للسترات (Baron و آخرون ,1995) ٠ تنتج هذه البكتريا نوعين من السموم الخارجية (Exotoxin), الأول غير ثابت حراريا (Heat stabile) , والأخير ثابت حراريا (Heat stable)٠ كما تسبب تلوث الجروح والحروق نتيجة انتقالها من مكان وجودها الطبيعي وهي الأمعاء إلى مناطق الجسم الأخرى , فضلا عن عدها احدى المسببات الرئيسة التي تصيب القناة البولية مسببة التهاب المجاري البولية مختلفة الحدة (Davis وآخرون ,1995)٠ هذه البكتريا ايضا تسبب التسمم الغذائي المصحوب بالتقيؤ وإسهال شديدين فضلا عن انها تسبب التهاب القناة الصفراء (Vandepitte وآخرون , 1991 ٠(Carbutt,1997

2- 6- 4 بكتريا السالمونيلا *Salmonella typhimurium*

عصيات سالبة لصبغة كرام, لا هوائية اختيارية متحركة بوساطة الاسواط المحيطية تنمو بدرجة حرارة (٣٧)م ,غير مكونة للسبورات وغير محاطة بمحفظة ولها قدرة تكيفية عالية على إصابة الإنسان (Collee وآخرون ,1996) ٠ تعد اغلب سلالات السالمونيلا ممرضة للإنسان, والحيوان وتتفاوت شدة الإصابة من نمط لأخر وبحسب المضيف وجرعة الإصابة ,فالأنماط المصلية التي تصيب الإنسان هي *S.typhi*, *S.paratyphi* B,C التي تمتاز بقدرتها التكيفية العالية في الإنسان, ومن الأنواع الأخرى التي تصيب الإنسان هي *S.enteriditis*, *S. heideiberg, S.newport, S.infant, S. typhimurium* المسببة للتسمم الغذائي, كما يمكن ان تعيش هذه البكتريا في الماء عند درجة الانجماد ولمدة طويلة وهذة الصفة تساعدها على الانتشار في المثلجات والأطعمة وغيرها من مصادر الأطعمة Indar (واخرون2001)٠

تسبب بكتريا السالمونيلا العديد من الامراض وهي:-

١- الحمى المعوية Enteric fever والحمى التايفوئيدية Typhoid fever والمسبب لها بكتريا S. para typhi A,B,C وتتصف بانتقال الجرثومة الى الدم في المراحل الأولى من المرض ٠

٢- الالتهاب المعوي الحاد Acute gastroenteritis وتشمل التسمم الغذائي Food Poisoning وهذه الالتهابات المعوية تنتج عن بعض الأنواع المصلية منها S. *typhimurium* و *S. entritids* وتتصف بالإسهال والقيئ

وتـؤدي أحيانـا الـى انتانيـة الـدم Septicemia (Radostitis وآخـرون 2000,) ٠

٣- التسمم الغذائي ٠يعد التسمم الغذائي من الامراض الناتجة عن السالمونيلا والذي تسببه *S. typhimurium* تحدث الإصابة نتيجة تناول الأغذية والسوائل والمياه الملوثة ٠ كما ان التهاب الأمعاء ينتج بعد (٨-٤٨)ساعة من ابتلاع *Salmonella*

تستوطن هذه الجراثيم في الأمعاء الدقيقة ,وفي أثناء نموها يشعر المصاب بحمى خفيفة , وغثيان, وصداع ,وقيئ وألم في البطن مع إسهال مع ظهور خلايا قيحية في البراز وتستمر هذه الأعراض من (٢-٣) أيام (John,1998,) ٠

وقد تسبب السالمونيلا المتناولة عن طريق الفم التي تنتقل عبر الدم إلى العقد اللمفية المساريقية أو بعض الأعضاء الأخرى إلى أفات صحية Embolic lesion التي تؤدي الى مضاعفات ثانوية مثل صعوبة تنفسية والتهاب السحايا والإجهاض Abortion والموت المفاجئ Sudden death (Ekperigin, 1998)٠

2- 7 النباتات الطبية و الاحياء المجهرية

عني الباحثون في مجال صناعة الأدوية المصنعة كيمياويا على ايجاد البدائل اكثر امانا واستقرارا ,اذ ان المضادات الحيوية تكون ذات صلاحية قصيرة ومحدودة فضلا عن ظهور سلالات بكتيرية مقاومة, للعلاج بهذه الأدوية بسب توارث الجينات المسؤولة عن اخفاء صفه المقاومة فضلا عن ذلك ان الاستخدام الخاطئ والعشوائي لهذه الأدوية يؤدي الى ظهور إعراض جانبية خطرة للمرض ٠ اذ أثبتت الدراسات ان الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية يؤدي الى حالات الاسهال وفرط الحساسية

٠ولهذا داب الباحثون لإيجاد بدائل اكثر استقراريه يتم استخراجها من النباتات الطبية (2000,Eloff)اذ أكدت العديد من الدراسات ان للنباتات الطبية تأثيرا فعالا على الأحياء المجهرية و ذلك لاحتوائها على العديد من المركبات الفعالة (Raiseو Oran 2000,)ومن هنا تأتي اهمية النباتات الطبية اذ ان اغلب المواد الصيدلانية تكون مشتقة من اصل نباتي مثل Asprinالذي يعد احد مشتقات حامض Salicylic Acid٠اما الديجوكسين هو علاج يستخدم في معالجة قصور القلب تم عزله من القمحية الارجوانية Digitalis Purpure(شوفاليه,2003)٠ أجريت العديد من الدراسات و البحوث حول تأثير المثبط لبعض النباتات الطبية على نمو الكثير من الإحياء المجهرية الممرضة للإنسان , ففي دراسة اجراها الباحث (Issaواخرون,2012) على المستخلصات الكحولية و المائية

استعراض المراجع LITERATURE REVIEW

لثمرة نبات البلوط لمعرفة فعاليتها ضد 8 أنواع من البكتيريا السالبة لصبغة كرام المعزولة من مناطق مختلفة من الجسم ,اذ توصل الباحث إلى ان المستخلص الكحولي كان ذا فعالية تثبيطيه عالية على العزلات المستخدمة يليه المستخلص المائي ٠اشار الباحث Nassemو آخرون,(2012) الى تأثير بذور الرمان على8 عزلات سالبة لصبغة كرام و3 عزلات من الفطريات ,اذ لاحظ ان المستخلص المائي أعطى تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *K.Pneumoniae*تليه بكتريا *E-coli*و *P.mirbilis* و أعطى تأثيرا ضعيفا ضد العزلات الفطرية ٠ لذلك اثبت الباحث أمكانية استخدام النباتات الطبية بوصفها مضادات لجرثومة*K.Pneumonia* و-*E coli*و*P.mirabilis* ٠وجد (Askidi و,2012 Odunbaku) عند دراسة تأثير المستخلص المائي لخمسة انواع من النباتات على 10 عزلات بكتيرية بينت النتائج ٠ان المستخلص المائي لنبات النومى بصرة اعطى تأثيرا تثبيطيا نشيطا جدا ضد بكتريا *K.Pneumonia* و *P.mirabilis*٠ودرس سليمان و الحليم (2005) التأثير

التثبيطي لقشور ثمار الرمان و مادة التانين في بعض انماط السالمونيلا المعزولة من حالات الاسهال في مدينة الموصل اظهرت النتائج ٠ان المستخلص المائي و الكحولي لقشور ثمار الرمان ذو تأثير تثبيطي عالي في الأنماط المنتخبة لجرثومة السالمونيلا ٠وفي دراسة أجراها الباحثان السامرائي والنداوي(2004) لفعالية أوراق الياس, بذور الحلبة , بذور الكرفس وبذور حبة الحلوة و درنات السعد ضد عزلات بكتيرية معزولة من المصابين بالتهاب المجاري البولية حيث وجد ان المستخلص المائي لأوراق الياس الاكفا ضد البكتيريا الموجبة لصبغة الكرام ٠واوضحت الطائي(2004) التأثير البايلوجي لنبات الشاي و البصل و رايزومات الرواند ونبات النبق موادها الفعالة في نمو جراثيم *E-coli* المسببة للإسهال لدى الأطفال الرضع اذ أثبتت بتجربة I*n vivo* داخل الجسم الحي تأثير المستخلصات النباتية على بكتيريا-*E coli* داخل أمعاء حيوان الارنب٠

3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1: المواد والأجهزة المستعملة

3-1-1 : الأجهزة المستعملة

جدول (1) الأجهزة المستعملة والشركات المصنعة والمنشأ

ت	الجهاز	الشركة المصنعة والمنشأ
1	**جهاز Autoclave الموصدة**	**Gallen kamp (England)**
2	**حاضنة Incubator**	**Gallen kamp (England)**
3	**حاضنة Shaker Incubator هزاز**	**Gallen kamp (England)**

4	جهاز النبذ المركزي Centerifuge	Gallen kamp (England)
5	ميزان حساس Senseitive Balance	Gallen kamp (England)
6	حمام مائي Water Bath	Gallen kamp (England)
7	مطحنة كهربائية Electric Grinder	Arthur H.thomas co. (U.S.A)
8	جهاز تقطير Elecritc distiller	GFL (Germany)
9	فرن كهربائي Electric Oven	Clay Adams (Germany)
10	ماصات دقيقة Micropipettes	Gillson instrument (France)
11	مجفف زجاجي Desiccator	Quick Fit (England)
12	جهاز قياس الاس الهيدروجيني pH-mete	Oreint Research (U.S. A)
13	جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer	Brosh (Lebanon)
14	مرشحات غشائية نبيذة ذات قطر ٠،٢٢ مايكروميتر Millopre filter unit	Millphore (U.S.A)
15	جهاز مولد للاشعة فوق البنفسجية Ultra violet transilluminater	San Gabriet (U.S.A)
16	ورق ترشيح Whatman No 42	Millphore (U.S.A)

3-1-2 المواد الكيميائية

جدول (2) المواد الكيميائية التي استعملت في البحث والشركات المنتجة والمنشأ

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة
1	كلوريد الباريوم Barium chloride	BDH (England)
2	حامض الكبريتيك المركز Sulphuric acid (H_2SO_4)	BDH (England)
3	كلوريد الصوديوم Sodium chloride	BDH (England)
4	الفورملدهايد Formaldehyde	BDH (England)
5	هيدروكسيد البوتاسيوم Potassium hydroxide	BDH (England)
6	حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid	BDH (England)
7	سترات الصوديوم Sodium citrate	BDH (England)
8	كلوريد الحديديك Ferric Chloride	BDH (England)
9	هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide	BDH (England)
10	بخار الامونيا Amonia vapour	BDH (England)
11	يوديد البوتاسيوم Potassium iodide	BDH (England)
12	حامض الخليك ثلاثي الكلور Tri chloro Acetic Acid	BDH (England)
13	حامض الفسفوريك Phosphoric Acid	Fluk (Germany)
14	كلوريد الزئبقيك Mercury Chloride	Fluk (Germany)
15	كحول الاثيلي المطلق Absolute Ethanol	Fluk (Germany)
16	حامض الهيدروكسيد	Fluk (Germany)
17	كاربونات الصوديوم المائية الاحادية Monohydrate sodium carbonate	Fluk (Germany)
18	تنسكنات الصوديوم Sodium tansacnt	Fluk (Germany)

19	مولبيد الفسفور	Phosphor molbied	Fluk (Germany)

20	كبريتات النحاسيك	Cupric Sulphate	Fluk (Germany)
21	خلات الرصاص	Lead acetate	Fluk (Germany)
22	هيدروكسيد الامونيوم	ammonium hydroxide	Fluk (Germany)
23	سيانيد البوتاسيوم	Potassium cyanide	Fluk (Germany)
24	ايثر ثنائي	diethyl ether	Fluk (Germany)
25	بيوتانول	Butanol	Fluk (Germany)
26	ايثانول مائي	Ethanol – Water	Fluk (Germany)

3-1-3 الأوساط الزرعية

حضرت الأوساط الزرعية المدرجة في القائمة أدناه على وفق تعليمات الشركة المصنعة المثبتة على العلبة , وضبط الأس الهيدروجيني (pH) 7.2وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة 37مْ وضغط 15 باوند /انج^2 لمدة 15 دقيقة , بعدها حضنت بدرجة 37مْ لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها .

جدول (3) الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة .

ت	اسم الوسط ألزرعي		الشركة المصنعة والمنشأ
1	وسط أكار مولرهنتون	Muller-Hinton agar	Himedia (India)
2	وسط أكار المغذي	Nutrient agar	Oxoid (England)

3	وسط المرق المغذي	Nutrient broth	Oxid (England)

3-1- 4 المحاليل و الكواشف Solution and Reagents

3-1-4-1 المحاليل Solution

1- محلول الملح الفسلجي Normal Physiological saline

حضر المحلول كما ورد في APHA (1985)

أذيب 0.85غم من كلوريد الصوديوم (NaCl) في 100مل من الماء المقطر, ثم عقم بالموصدة, وعبئ في قنينة زجاجية معقمة ومحكمة الغلق ,وحفظت في الثلاجة بدرجة 4مْ لحين الاستعمال.

2- محلول ثابت العكورة القياسي Mcfarland turbidity standard

حضر المحلول كما ورد في NCCL (2000) وعلى النحو الأتي

a- أذيب 1.175غم من كلوريد الباريوم في 100 مل من الماء المقطر .

b- مزج9.5 مل من حامض الكبريتيك (H_2SO_4) بتركيز 1% مع 0.5 مل من محلول a في أنبوبة زجاجية ذات غطاء محكم لمنع التبخر.

c- استعمل محلول لمعايرة الخلايا الميكروبية إذ يعطي عددا تقريبيا للخلايا مقداره ($1.5x10^8$) خلية٠مل$^{-1}$.

3-1-4- 2 الكواشف

1- كاشف ماركيز Marquis Reagent

حضر الكاشف تبعا لما ورد في (Harborne,1984) وعلى النحو الأتي اخذ 1 مل من الفورمالدهايد (formaldehyde) بتركيز 40% المحضر من مزج الفورملدهايد مع 60 مل من الماء المقطر وأضيف الى 10 مل من حامض الكبريتيك المركز .

2- كاشف بندكت Benedicts Reagent

حضر بإذابة 137 غم من سترات الصوديوم (Sodium citrate) و100 غم من كاربونات الصوديوم المائية الأحادية (Monohydrate Sodium carbonate) في 800مل من الماء المقطر , ورشح المحلول ثم أضيف الى الراشح محلول كبريتات ألنحاسيك (Cupric Sulphate) 3.17 غم في 100مل ماء مقطر, أكمل الحجم إلى 1000 مل باستعمال الماء المقطر . هذا الكاشف يعطي راسبا احمر بالقعر للدلالة على وجود المركبات الكلايكوسيدية (الشيخلي وآخرون ,1993).

3- كاشف فولن Folin reagent

حضر الكاشف بمزج 100 غم من تنسكنات الصوديوم في750 مل من الماء المقطر و20 غم مولبيدات الفسفورو50 غم من حامض الفسفوريك وترك الخليط لمدة ساعتين في درجة الغليان, ثم برد وأكمل الحجم الى 1000 مل بالماء المقطر (Gayon,, 1972).

3-1-5 المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة

استخدمت ستة من المضادات الحيوية على شكل أقراص مشبعة وكما موضح في الجدول أدناه

جدول (4) يبين أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وتركيزها (ملغم /قرص)

		قطر منطقة التثبيط (ملليمتر)

ت	المضاد الحيوي	الرمز	التركيز	المنشا	مقاومة R	متوسطة I	حساسة S
1	Ciprofloxacin	Cip	5 mg/disc	Turkey	≤15	20-16	≤21
2	Cefotaxime	Ctx	30 mg/disc	Turkey	≤14	22-15	≤23
3	Amikacin	Ak	30 mg/disc	Turkey	≤14	16-15	≤17
4	Trimethoprim	Tm	5 mg/disc	Alrazi-Iraq	≤12	16-13	≤17
5	Gentamicin	Gn	20 mg/disc	Ireland	≤12	14-13	≤15
6	Nalidixic acid	Na	30 mg/disc	India	≤10	15-11	≤16

2-3 طرائق العمل Methods

1-2-3 جمع العينات

جمعت العينات النباتية قيد الدراسة من الأسواق المحلية في مدينة بعقوبة وهي (قلف البلوط ,وقشر الرمان, وليمون البصرة) نقلت العينات إلى المختبر, ونظفت من الشوائب ثم غسلت وتركت لتجف طبيعيا عند درجة حرارة الغرفة وتحت تيار هوائي إلى حد ثبوت الوزن , طحنت الأجزاء النباتية بمطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم منها الذي تم حفظه في قناني زجاجية مغلقة ونظيفة وفي ظروف خالية من الرطوبة لحين استخدامه٠

2-2-3 عزلات الإحياء المجهرية الممرضة

أجريت هذه الدراسة على عزلات الميكروبية المذكورة في الجدول أدناه ,والتي تم الحصول عليها من مختبرات مستشفى بعقوبة العام التعليمي ,وهي مشخصة تشخيصا نهائيا,

ت	اسم العزلة	مصدر العزلة البكتيرية	مكان جمعها
1	*Proteus mirabilis*	إسهال	م. بعقوبة العام
2	*Klebseilla pneumonia*	إسهال	م. بعقوبة العام
3	*Escherichia coli*	إسهال	م. بعقوبة العام
4	*Salmonella typhimurum*	إسهال	م. بعقوبة العام

جدول (٥) العزلات الميكروبية المستخدمة في الدراسة

3-2-3تشخيص العزلات البكتيرية

3-2-3-1 الفحوصات المظهرية

شخصت المستعمرات مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية , وتضمنت شكل المستعمرات، ولونها، وقوامها، ورائحتها، وحجمها على وسط أكار الماكونكي وأكار الدم ، أخضعت العزلات الى الفحص ألمجهري باستخدام صبغة كرام للتعرف على شكل البكتريا وترتيبها وتفاعلها مع صبغة كرام .

3-2-3-2 حساب العدد التقريبي للأحياء المجهرية

تم حساب العدد التقريبي للأحياء المجهرية قيد الاختبار, بنقل كمية مناسبة من المستعمرات من المزارع النقية المنشطة للكائن ألمجهري إلى أنابيب حاوية على محلول الملح الفسيولوجي بحيث تصبح العكورة مساوية مع محلول ثابت العكورة وللدقة تقاس الكثافة الضوئية لكل من العالق ومحلول ثابت العكورة عند طول موجي (650) نانوميتر وتقارن . وذلك للحصول على عدد تقريبي للكائن ألمجهري وبتركيز $1.5x10^8$خلية/مل$^{-1}$.

3-3-2-3 إدامة العزلات Maintenance of isolates

استعمل وسط الاكار المغذي المائل slant لحفظ العزلات البكتيرية المشخصة وحفظت في درجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة ,ومن ثم حفظت في درجة حرارة 4مْ للاستعمال اليومي , وتم تجديدها كل 3–4 أسابيع وذلك بتنشيطها على وسط المرق المغذي. ثم أعادة زرعها على وسط مائل جديد لضمان بقاء العزلات بشكل نشط طيلة مدة الدراسة.

3-2-4اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Sensitivity Test

استخدمت طريقة Kirbyو Bauer(1966) في اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية باستخدام أقراص المضادات الحيوية وكما ياتي٠

a- نقل 0.1 مل من العالق البكتيري المحضر كما ذكر في الفقرة (٣-٢-٣-٣) ونشر على سطح وسط أكار مولر- هنتون وباستعمال مسحة قطنية معقمة٠ وترك الطبق لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة لغرض التشرب.

b- ثبتت الأقراص المشبعة بالمضادات الحيوية على الطبق بواسطة ملقط معقم وعملت 3 مكررات ثم حضنت الإطباق بدرجة حرارة 37مْ ولمدة 18-24 ساعة

c- قيست منطقة التثبيط Inhibition Zone (وهي المساحة حول الأقراص الخالية من النمو الجرثومي), وبعدها سجلت النتائج ٠عدت البكتريا حساسة (S) اومقاومة (R) او متوسطة (I) intermediate حسب المواصفات القياسية الواردة في.NCCLS (2007)

3-2-5 طرائق تحضير المستخلصات النباتية

تم الحصول على ثلاثة أنواع من المستخلصات النباتية لكل نبات وهي المستخلص المائي البارد ,والمائي الحار, والمستخلص الكحولي, وكانت طرائق الاستخلاص المتبعة كما يأتي

3-2-5-1 المستخلص المائي البارد

اتبعت طريقة Chandaو Parikh (2007)وذلك بوزن 10 غم من المسحوق النباتي ووضع في بيكر زجاجي نظيف ,أضيف له 100 مل من الماء المقطر , ثم وضع في حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة, ثم رشح المزيج بواسطة الشاش في أنابيب زجاجية ونبذت في جهاز النبذ المركزي (Centrifuge) بسرعة 5000 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق, ثم رشح الرائق بواسطة أوراق الترشيح , بعدها بخر الراشح في الفرن (Oven) بدرجة حرارة 40مْ إلى أن يتبخر الماء كليا وتم الحصول على المسحوق الجاف

للمستخلص كررت العملية مرات عدة لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص المائي البارد,ثم وضع في انبوبة محكمة الغلق ومعتمة و حفظت في الثلاجة على درجة 4مْ لحين الاستعمال ٠

2-5-2-3 المستخلص المائي الحار

اتبعت طريقة El-fallal, El-kattan,(1997) وذالك بوزن 10غم من المسحوق النباتي ووضع في بيكر , وأضيف له 100 مل من الماء المقطر المغلي , ووضع بعدها في الحاضنة الهزازة في درجة حرارة 35مْ لمدة 30 دقيقة . بعدها رشح المزيج باستعمال الشاش الطبي ثم وزع الراشح في أنابيب جهاز النبذ المركزي وبسرعة 3000 دورة /دقيقة ولمدة 10 دقائق, ثم جمع الراشح ووضع في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة وجفف الماء في الفرن على درجة حرارة 40مْ إلى أن يتبخر الماء كليا وحصل على المسحوق الجاف للمستخلص, كررت العملية عدة مرات لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص المائي الحار و وضع في انبوبة زجاجية محكمة الغلق وبعد تعليمها حفظت في الثلاجة بدرجة 4مْ لحين الاستعمال٠

3-5-2-3 المستخلص الكحولي

اتبعت طريقة Abu-Ghadeib , Shtayeh (1999) وذلك بوزن 10 غم من المسحوق النباتي ووضع في دورق زجاجي ثم أضيف 100 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 70% ووضع بعدها المزيج لمدة 24 ساعة في الحاضنة الهزازة بعدها رشح المزيج باستعمال الشاش الطبي , ثم وزع الراشح في أنابيب جهاز النبذ المركزي وبسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق, ثم جمع الراشح ووضع في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة, وجفف الراشح في الفرن بدرجة حرارة 40مْ إلى أن تبخر الكحول كليا , وحصل على المسحوق من المستخلص الكحولي .كررت العملية مرات

عدة لغرض الحصول على كمية كافية من المستخلص الكحولي.ووضع المسحوق في انبوبة زجاجية محكمة الغلق ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4مْ لحين الاستعمال ٠

3-2-6 تحضير التراكيز المستخدمة في الاختبارات الحيوية

حضرت تراكيز الاختبارات الميكروبية وذلك بإذابة 1 غم من مسحوق المستخلص النباتي في 10 مل من الماء المقطر , وباستخدام قانون التخفيف العام C1V1=C2V2حضرت التراكيز(100,80,60,40,20) ملغرام /مل وعقم باستخدام المرشحات الدقيقة (Millipore Filter) ذات ثقوب (0.22) مايكروميتر.

3-2-7تقدير السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية للنباتات المستخدمة

اجري اختبار السمية الخلوية Cellulars Toxicity للمستخلصات النباتية تبعا للطريقة الواردةUrsellaو, Xin-gup (1994)كالأتي

وضع 0.8 مل من كل مستخلص في أنبوبة اختبار معقمة, وأضيف له 0.2 مل من كريات الدم الحمر للإنسان (Red blood cell) ليصبح الحجم النهائي 1 مل, ثم حضنت بالحاضنة بعد رجه لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 37مْ,ثم وضعت في أنابيب ونبذت بجهاز النبذ المركزي لمدة 5 دقائق بمعدل1000 دورة/دقيقة ولوحظ بعدها التحلل الدموي واستخدمت معاملة سيطرة أنبوبة تحوي على دم ومحلول فسلجي الذي لا يسبب تحللا لكريات الدم الحمر لملاحظة الفرق في التحلل الدموي .

3-2-8 الكشوفات النوعية للمستخلصات المائية والكحولية

أجريت الكثير من الكشوفات النوعية وذلك للتعرف على المكونات الكيمائية الأساسية أو المركبات الفعالة المتوافرة في هذه المستخلصات وكالاتي

3-2-8-1 الكشف عن القلويدات Alkaloids

اتبعت طريقة Harborn(1973) وذلك بإضافة 3 مل من المستخلص النباتي في أنبوبة اختبار, وأضيف له 2 مل من كاشف ماركيز (Marquis Reagent) , وعند رج الأنبوبة يتكون لون رصاصي محبب يدل على توافر القلويدات .

3-2-8-2 الكشف عن الفلافونيدات Flavonoids

1- كشف هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي

مزج 2 مل من المستخلص النباتي مع 1 مل من هيدروكسيدالبوتاسيوم الكحولي ٠فيكون ظهور اللون الأصفر دليلا على توافر الفلافونيدات (Jaffer وآخرون 1983,)٠

2- الكشف عن الفلافونيد والفلافونول

أذيب 1 مل من المستخلص النباتي في 1 مل من حامض الكبريتيك المركز, فيكون ظهور اللون الأصفر الداكن دليلا على الكشف الموجب (Al-khazragi 1991,)

3-2-8-3 الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides

اخذ 10 مل من المستخلص النباتي وأضيف له 20 مل من كاشف بندكت ,ثم نقلت إلى حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق, ويستدل على ايجابية الكشف من خلال ظهور اللون الأحمر(الشيخلي وآخرون ,1993) .

4-8-2-3 الكشف عن التانيناتTannins

اعتمدت الطريقة الواردة في دلالي والحكيم (1987), اذ اغليت 10 غم من المسحوق الجاف للمستخلصات النباتية في50 مل من الماء المقطر. ثم رشح المحلول الناتج وترك ليبرد . ثم قسم على جزئين, أضيف للجزء الأول خلات الرصاص (Lead acetate) بتركيز 1% ,وعند ظهور راسب ابيض هلامي القوام يدل على توافر التانينات ٠اما الجزء الثاني أضيف له كلوريد ألحديديك (Ferric Chloride) بتركيز1% , وعند ظهور اللون الأخضر المزرق يدل على توافر التانينات.

5-8-2-3 الكشف عن الكومارينات Coumarins

تم الكشف عن الكومارين بحسب الطريقة التي ذكرها Geisman (1962) , اذ أذيب 0.5 غم من المستخلص النباتي مع 1 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 95% في أنبوبة اختبار, ثم غطيت الأنبوبة بورقة الترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المخفف.ووضعت في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة ثلاث دقائق , ثم عرضت ورقة الترشيح للأشعة فوق البنفسجية . ويعد ظهور اللون الأصفر المخضر دليلا على توافر الكومارينات .

6-8-2-3 الكشف عن الزيوت الطيارة Volatile Oils

اعتمدت طريقة IHP, (1998), إذ اخذ 10 مل من المستخلص النباتي المحضر, ورشح بعد ذلك, وشبعت بها أوراق الترشيح ,وعرضت للأشعة فوق البنفسجية ,إذ يدل ظهور اللون الوردي البراق على توافر الزيوت الطيارة .

3-2-8-7 الكشف عن الراتنجات Resins

اتبعت طريقة Shihata,(1951) اذ وزن 10 غم من المسحوق النباتي ٠واضيف إلى 50 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 95%,وترك لمدة دقيقتين في حمام مائي مغلي ,ثم رشح المحلول, وأضيف أليه 100 مل ماء محمض بحامض الهيدروكلوريك 4%, ويستدل على توافر الرانتجات بظهور عكورة واضحة في المحلول

3-2-8-8 الكشف عن الفينولات Phenols

حضر كاشف كلوريد ألحديديك بإذابة 1 غم من كلوريد ألحديديك $FeCl_3$ في 100 مل من الماء المقطر, ورطبت ورقة الترشيح بالمستخلص النباتي, ثم أضيفت قطرات من كاشف فولن أو كلوريد ألحديديك, وتم تعريض الورقة إلى بخار الامونيا . فكان ظهور اللون الأزرق دليلا على توافر الفينولات (Adeday و آخرون ,2001).

3-2-8-9 الكشف عن الصابونيات Saponins

اتبعت طريقة Shihata (1951)

1- تم تحضير محلول مائي لمسحوق النباتي الجاف ,ووضعت في أنبوبة اختبار ورجت بشدة فكان ظهور رغوة كثيفة تبقى لمدة طويلة دليلا على وجود الصابونيات.

2- أضيف 3 مل من المستخلص النباتي إلى 2 مل من كلوريد ألزئبقيك $HgCl_3$ بتركيز 1%, ويعد ظهور راسب ابيض دليلا على ايجابية الكشف .

3-2-8-10 الكشف عن الفيكومارينات Fuocoumarins

أضيف 1 مل من محلول هيروكسيد البوتاسيوم الكحولي بتركيز15% إلى 1مل من المستخلص النباتي ويكون ظهور اللون الأصفر أو الأصفر المخضر دليلا على توافر الفيكومارينات 1962 (Geisman.)

3-2-8-11 قياس الأس الهيدروجيني pH determination

تم خلط 10 غم من المسحوق الجاف للنباتات مع 50 مل من الماء المقطر بوساطة خلاط مغناطيسي لمدة 10 دقائق ثم رشح النموذج وتم تقدير قيمة pHباستخدام جهاز pH- meter (Shihata ,1951)

3-2-9**تقدير الكمي للمستخلصات المائية والكحولية**

3-2-9-1تقدير القلويدات

اذيب 5غم من المستخلص المحضر مسبقا في 200 مل من مزيج حامض الخليك والايثانول بنسبة 15:1,واضيف هيدروكسيد الامونيوم 2 مل تدريجيا مع الرج المستمر ,ورشح المحلول واذيب الراسب مرة اخرى ورشح ٠الراسب الناتج يمثل القلويدات ويوزن ٠ (Harborne, 1937)٠

3-2-9-2تقدير الكلايكوسيدات

اخذ 30غم من المستخلص المحضر مسبقا ,واضيف له 10مل من الكحول الاثيلي بتركيز 80% وترك لمدة 24 ساعة ثم يرشح المحلول ثم يضاف الى الراسب 5 مل من الايثر و5 مل من محلول خلات الرصاص مع الرج المستمر لحين الحصول على طبقة عليا ٠ تستخلص وتوزن الطبقة التي تمثل الكلايكوسيدات (Krishnaian واخرون ,2009)٠

3-2-9-3تقدير الفلافونيدات

اخذ 5 غم من المستخلص المحضر مسبقا ,واضيف الى 100 مل من كحول الميثانول بتركيز80% , رشح المحلول, بخر المستخلص ويوزن الراسب الناتج يمثل الفلافونيدات (سركيس واخرون , 1980)٠

3-2-9-4تقدير التانينات

أضيف 2 غم من المستخلص المحضر مسبقا الى 120مل مل من الماء المقطر , وضع المزيج في حمام مائي مغلي لمدة 30 دقيقة ثم وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة ٠ دقيقة$^{-1}$ لمدة 20 دقيقة بعدها وضع المحلول في بيكر زجاجي وأضيف للمحلول 80 مل من خلات الرصاص 4% مع الرج المستمر بواسطة الهزاز لمدة ساعة

.رشح المحلول ووضع الراسب في الفرن عند بدرجة حرارة 60م ثم جرى عملية وزن الراسب الجاف. (الجوعاني,2007)

3-2-9-5تقدير الصابونينات

اخذ 20 غم من المستخلص المحضر مسبقا, وأضيف له 80 مل من الايثانول ويرشح ,ويضاف الى الراسب 20مل من الايثر الثنائي ويرشح ,وتعاد العملية عدة مرات بعدها يضاف 60 مل من البيوتانول ويرشح وغسل الراسب بمادة كلوريد الصوديوم 5 % ويبخر ويوزن الراسب الذي يمثل الصابونين (Edeoga واخرون ,2005)٠

3-2-9-6تقدير الزيوت الطيارة

اخذ 5 غم من المستخلص المحضر مسبقا, يضاف له 5 مل من الايثانول المائي 20 % ,سخن بعدها المحلول في حمام مائي لمدة ثلاث ساعات مع التحريك المستمر وبدرجة حرارة 55 درجة مئوية ثم يرشح ,ويضاف الى الراسب مرة أخرى 100مل من الايثانول المائي وسخن المحلول بدرجة 90 درجة مئوية حتى يصلالمحلول النهائي الى 40 مل ,ثم اضيف له 20 مل من ثنائي اثيل ايثر مع الرج المستمر وتتكون طبقة وتفصل ثم توزن (Edeoga واخرون ,2005)٠

3-2-9-7تقدير الراتنجات

اخذ 5 غم من المستخلص المحضر مسبقا, ويضاف له 250 مل من الايثر مع الرج المستمر, ويرشح المحلول ,ويؤخذ الراسب ويضاف له 5 مل من خلات الرصاص مع الرج المستمر, ويرشح ويوزن الراسب الذي يمثل الراتنج (سركيس واخرون , 1980)٠

10-2-3 اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية في نمو العزلات البكتيرية

اتبعت طريقة Perez وآخرون (1990) طريقة الانتشار في الحفر وكما يلي

a- خفف المعلق الجرثومي بالمحلول الملحي الفسلجي, ولقح وسط أكار مولر-هنتون بنشر0.1 مل بوساطة ناشر معقم (Sterile spreader) من العالق البكتيري, ثم تركت الإطباق لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة لغرض التشرب

b- عملت حفر بقطر 10 ملم في الوسط المزروع بوساطة ثاقب فليني معقم (Sterile cork borer)

c- أضيف مقدار 0.2 مل من التراكيز المتدرجة المحضرة للمستخلصات النباتية باستعمال ماصة دقيقة معقمة , وعملت حفرة سيطرة ممثلة بإضافة كحول اثيلي فقط.

d- عملت 5 مكررات لكل طبق , بعدها حضنت الإطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة في الحاضنة

e- حددت فعالية كل تركيز من المستخلص النباتي بقياس قطر منطقة التثبيط (Inhibition zone) , علما أن منطقة التثبيط هي منطقة خالية من النمو الميكروبي .

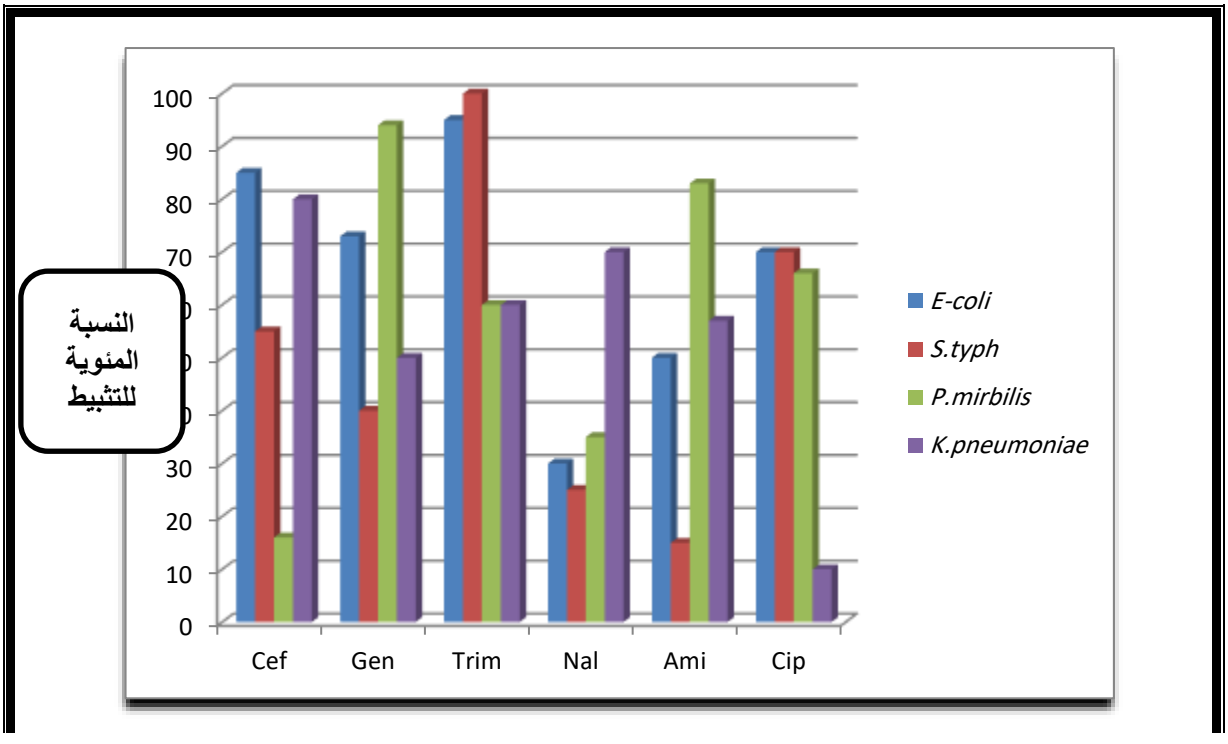
11-2-3 التحليل الإحصائي

حللت نتائج التجربة بحسب البرنامج الإحصائي (SPSS) وفقا للتصميم العشوائي CRDوقورنت متوسطات المعاملات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSDعند مستوى احتمال .0.05(الراوي ,1984) ٠

4- النتائج والمناقشةresults and discussion

4-1اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية العزلات الدراسية تجاه ستة من المضادات الميكروبية بطريقة الأقراص Disk method وتم تحديد حساسية ومقاومة العزلات للمضادات الميكروبية بالاعتماد على قياس قطر منطقة التثبيط بالمليمتر (ملم) حول أقراص المضادات المستعملة ويظهر من النتائج أن هناك تباينا واضحا في مقاومة العزلات المدروسة للمضادات المستعملة كما في الشكل (10)



المضـــادات الحياتيـــة	
Cefotaxime, (Gen) Gentamicin, (Trim) Trimethoprim	(Cef)
(Nal) Nalidixic acid (Ami) Amikacin,(Cip) Ciprofloxacin	

الشكل (10) تأثير المضادات الحياتية على العزلات البكتيرية المدروسة

توضح النتائج في الشكل (10) ان بكتيريا *E.coli* ابدت مقاومة مختلفة للمضادات الحيوية,اذ كانت اعلى نسبة تثبيط للمضادات , Cefotaxim Trimethoprimبلغت95% و85% على التتابع و تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Arias و اخرون (2000),اذ بلغت نسبة التثبيط Cefotaxim و Trimethoprim 83% و97% على التتابع. اما مضاد Nalidixic Acid فكانت بكتريا E.coliاكثر مقاومة لهذا المضاد بلغت نسبة التثبيط27%, وهذا يتفق مع ما توصل اليه Bashir(2007), اذ بلغت نسبة التثبيط لبكتريا*E. Coli*للمضاد 23% ٠ اما بكتيريا *S.typh* فقد بلغت نسبة تثبيطها من قبل المضادينTrimethoprimوCiprofloxacin 100%و70% على التتابع , وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Tassuo و اخرون (1996) ,اذ بلغت نسبة التثبيط97% و 67% على التتابع ٠ اما مضاد Amikacin فقد بلغت نسبة التثبيط12% اذ كانت هذه البكتريا اكثر مقاومة لهذا المضاد, وهذا يتفق مع ما توصل اليه Basser و اخرون (1997) , اذ بلغت نسبة التثبيط8%٠ اما بكتيريا *P.mirbilis* فقد بلغت نسبة ثبيطها من قبل المضادينGentamcin و Amikacin بنسبة 94% و 83% على التتابع, و هذا يتفق مع ما توصل اليه الميسري(2002), فقد بلغت نسبة التثبيط للمضادين المذكورين 90% و 85% على التتابع ٠ وكانت هذه البكتريا أكثر مقاومة للمضادCefotaxcin فقد بلغت نسبة التثبيط15% و هذا

يتفق مع ما توصل اليه عبد الله (2009) اذ بلغت نسبة التثبيط للمضاد 16%٠وضحت النتائج في الشكل 10 ان بكتيريا *K.pneumoniae*ثبطت من قبل المضادينNalidixic Acid و Cefotaxime بنسبة 70% و 80%, وهذا يتفق مع ما توصل اليهJesmin و اخرون (2014) ,اذ بلغت نسبة التثبيط72% و 76% على التتابع , أما المضاد Ciprofloxain فقد بلغت نسبة تثبيطه للبكتريا10%, وهذا يتفق مع ما توصل اليه Jesmin اذ بلغت نسبة التثبيط9% ٠ وقد يعود مقاومة البكتيريا للعديد من المضادات الحياتية الى الاستخدام العشوائي للمضادات المؤدية الى نشوء الطفرات الوراثية, كما ان للبكتيريا القابلية على تطوير صفة المقاومة للمضادات الحياتية٠ فقد تحدث تحورات في عملية النضج داخل الخلية تؤدي الى إزالة المضاد الحيوي قبل ان يكون قادرا على البكتيريا ,

فضلا عن حصول تغيرات في بروتينات الجدار الخلوي للخلايا البكتيرية التي تعمل على بقاء المضاد الحيوي في المحيط الخارجي للخليةالبكتيرية٠ كذلك فالبلازميدات من نوع R تحمل جينات تشفر المقاومة لمضاد او عدة مضادات, هذه الجينات تسيطر على تكوين الإنزيمات و بالتالي تعمل على تحطيم المضاد و إبطال مفعوله, مثل أنزيمات البيتا لاكتاميز B-Lactamase و انزيمات الاستيل ترانسفيرز Acetile-Transferase المحطمة لChloromphenic وغيرها من الانزيمات(Threlfall و اخرون ,1999)٠

2-4 الدالة السمية والحامضية للمستخلصات المائية و الكحولية

بينت النتائج في الجدول6 السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية, للنباتات كريات الدم الحمر للإنسان من خلال التحلل الدموي (Hemolysis)الذي ظهر في الزجاج (*in vitro*)

جدول (6)الدالـة السـمية والحامضـية للمستخلصـات المائيـة و الكحوليـة لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط

النبات	نوع المستخلص	الدالة الحامضية PH	الدالة السمية
ليمون البصرة	المستخلص المائي البارد	6.1	لا
	المستخلص المائي الحار	5.2	لا
	المستخلص الكحولي	5.8	نعم
الرمان	المستخلص المائي البارد	6.4	لا
	المستخلص المائي الحار	6.8	لا
	المستخلص الكحولي	5.1	نعم
البلوط	المستخلص المائي البارد	5.8	لا
	المستخلص المائي الحار	6.4	لا
	المستخلص الكحولي	6.3	نعم

تبين النتائج في الجدول 6 عدم وجود سمية خلوية للمستخلصات المائية, ويعزى ذلك الى التراكيز الضئيلة من المركبات الصابونية في النباتات ٠كما أظهرت النتائج وجود سمية خلوية في المستخلصات الكحولية للنباتات ٠ان ظهور السمية الخلوية يعود الى الفة الصابونينات للسترولات التي تدخل الغشاء البلازمي للخلية ٠اذ يزيل الغشاء ويحرر الهيموغلوبين٠لهذا نجد ان علاج الإمراض الداخلية بالمواد التي تكون غنية بالمركبات الصابونية يكون عن طريق الفم وليس وريديا ,اذ ان الأمعاء لا تمتص الصابونين (سعد,1985)٠

3-4 الكشف الكميائي العام

4-3-1 الكشف النوعي عن المركبات الكميائية الفعالة في النباتات قيد الدراسة

تم التحري عن محتوى المركبات الفعالة في المستخلص النباتي وذلك باستخدام الكواشف الكميائية المختلفة٠ إذ أظهرت الكشوفات النوعية في الجدول 7 ان النباتات قيد الدراسة تحوي عددا من المركبات الفعالة مثل الكلايكوسيدات والقلويدات والتانينات والصابونينات و الراتنجات وغيرها ذات الفعالية التثبيطية ضد البكتريا٠ يبين الجدول 7 احتواء الرمان على القلويدات والكلايكوسيدات والفلافونيدات والتانينات لجميع طرائق الاستخلاص ان وجود الكلايكوسيدات في النبات يعمل على تنظيم النمو والبناء الضوئي ويدخل في عمليات الايض الداخلي للنبات وتوجد ايضا في العصير الخلوي لفجوات الخلايا النباتية , اما القلويدات فتعد مستودعا للعناصر الغذائية التي تدخل في عمليات النمو والبناء (Lawal واخرون ,2013) ٠ يبين الجدول احتواء الرمان على الراتنجات في المستخلص المائي الحار والمستخلص الكحولي فقط بينما اقتصر وجود الصابونينات في المستخلص الكحولي فقط وذلك لعدم ذوبان الصابونينات في الماء ٠ اظهرت النتائج خلو النبات من الكومارينات والزيوت الطيارة بين الجدول 7 احتواء البلوط على القلويدات والتانينات والصابونينات لجميع طرائق الاستخلاص ,اما الفلافونيدات والكلايكوسيدات والزيوت الطيارة قد توافرت في المستخلص المائي الحار والمستخلص الكحولي اظهرت النتائج خلو النبات ولجميع طرائق الاستخلاص من الكومارينات ٠

أما نبات ليمون البصرة فقد بين الجدول7 احتوائه على القلويدات والفلافونيدات والتانينات لجميع طرائق الاستخلاص أما الكلايكوسيدات والراتنجات والزيوت الطيارة فقد توافرت في المستخلص المائي الحار والمستخلص الكحولي, إما الصابونينات فقد اقتصر وجودها في المستخلص الكحولي فقط ٠

4-3-2 الكشف الكمي للمركبات الكميائية الفعالة في النباتات قيد الدراسة

يبين الجدول 8 النسب المئوية للمركبات الفعالة للمستخلصات النباتية الكحولية ,والمائية الباردة والحارة لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط . اذ توضح النتائج اختلاف النسب المئوية للمركبات الكميائية الموجودة في المستخلصات النباتية . اذ بلغت النسبة المئوية للقلويدات في المستخلص الكحولي لنبات ليمون البصرة 1.86% فيما بلغت نسبتها في المستخلص المائي الحار والبارد 0.38 و0.15 % على التتابع . اما الفلافونيدات بلغت نسبتها في المستخلص الكحولي 11.41 % اما في المستخلص المائي الحار والبارد بلغت 7.12 و3.22 % على التتابع اما نسبة التانينات في نبات

ليمون البصرة بلغت في المستخلص الكحولي 9.69% فيما بلغت في المستخلص المائي الحار والبارد 5.22 و1.19 % على التتابع.

تبين النتائج في الجدول 8 النسب المئوية للمركبات الفعالة للمستخلصات الكحولية والمائية لنبات الرمان اذ كانت نسبة القلويدات في المستخلص الكحولي 5.22 % اما المستخلص المائي الحار والبارد 2.88 و1.57 % على التتابع , اما التانينات فكانت نسبتها في المستخلص الكحولي 19.04% اما في المستخلص المائي الحار والبارد بلغت 14.16و 8.13 % على التتابع .

تظهر النتائج في الجدول 8 النسبة المئوية للمركبات الفعالة لنبات البلوط اذ أظهرت النتائج . نسبة التانينات في المستخلص الكحولي والمائي الحار والبارد 14.32 و10.05 و3.08 % على التتابع . اما الكلايكوسيدات كانت نسبتها في المستخلص الكحولي 10.22 % وفي المستخلص المائي الحار والبارد 8.05 و1.77 % على التتابع . اما الصابونينات فكانت نسبتها في المستخلص الكحولي 8.06% اما في المستخلص المائي الحار والبارد 4.11 و0.68% على التتابع.

تبين النتائج في الجدول 8 ان المستخلص الكحولي اعطى اعلى نسب مئوية مقارنة مع المستخلصات المائية الحارة والباردة وذلك لكون المستخلص الكحولي مذيب جيد للمركبات الفعالة فضلا عن توافرها بكميات كبيرة في النباتات .

5-4 الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات البلوط والرمان وليمون البصرة اتجاه بكتريا *Escherichia coli*

نلاحظ من الجدول 9 ان الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الرمان تفوقت على نباتي البلوط ليمون البصرة بقطر تثبيط بلغ 15.57 ملم, في حين كانت اقل فعالية تثبيطية لنبات ليمون البصرة بقطر تثبيطي 13.02ملم ٠ اما بالنسبة للمستخلصات نلاحظ ان المستخلص الكحولي اعطى أعلى فعالية تثبيطية بقطر 18.55 ملم, في حين ان المستخلص البارد كان اقل فعالية تثبيطية بقطر تثبيط بلغ 9.03 ملم ٠

بالنسبة للتراكيز يبين الجدول نفسه ان التركيز الاعلى 100ملغم٠مل$^{-1}$ قد أعطى اعلى فعالية تثبيطية بقطر 22.55 ملم, في حين أن تركيز 20 لمغم٠مل$^{-1}$ اعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر 6.04 ملم٠

تبين النتائج في الجدول نفسه بالنسبة للتداخل بين نوع النبات وطريقة الاستخلاص أن المستخلص الكحولي لنبات الرمان أعطى فعالية تثبيطية عالية بقطر 19.40ملم ,بينما أعطى المستخلص المائي البارد لنبات ليمون البصرة اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 6.73 ملم ٠

تشير النتائج في الجدول 9 ان مستخلص نبات ليمون البصرة عند تركيز100ملغم٠مل$^{-1}$ أعطى اعلي فعالية تثبيطية بقطر 23.22 ملم, في حين ان مستخلص نبات ليمون البصرة عند تركيز20ملغم٠مل$^{-1}$ أعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر2.89 ملم ٠ بينت النتائج في الجدول نفسه أن استخدام المستخلص الكحولي بتركيز100ملغم٠مل$^{-1}$ أعطى فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *E.coli* بقطر تثبيطي بلغ 28.33 ملم,في حين أعطى المستخلص المائي البارد عند تركيز 20ملغم٠مل$^{-1}$ اقل فعالية تثبيطية بقطر 3.00 ملم٠

جدول (9) الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه بكتريا *E-coli*

النبات	طريقة الاستخلاص	تركيز المستخلص النباتي (ملغم/ مل$^{-1}$) ملم					النبات* طريقة الاستخلاص
		20	40	60	80	100	
البلوط	ماء بارد	0.000	7.667	9.667	14.000	16.333	9.533
	ماء حار	10.333	8.667	13.667	18.000	22.333	14.600
	كحول	9.000	10.333	25.000	20.333	26.000	18.133
الرمان	ماء بارد	9.000	10.000	10.000	12.000	13.261	10.852
	ماء حار	6.667	10.667	17.667	21.000	26.333	16.466
	كحول	10.667	17.667	18.000	21.667	29.000	19.400
ليمون البصرة	ماء بارد	0.000	0.000	8.667	11.333	13.667	6.733
	ماء حار	0.000	8.667	15.667	20.667	26.000	14.200
	كحول	8.667	10.667	17.667	23.667	30.000	18.133
L.S.D 0.05		0. 874					1.093 تأثير نوع النبات
النبات * التركيز	البلوط	6.444	8.889	16.111	17.444	21.555	14.088
	الرمان	8.778	12.778	15.222	18.222	22.864	15.572
	ليمون البصرة	2.889	6.444	14.000	18.555	23.222	13.022
L.S.D 0.05		0.5					0.869 طريقة الاستخلاص
طريقة الاستخلاص * التراكيز	ماء بارد	3.000	5.889	9.444	12.444	14.420	9.039
	ماء حار	5.666	9.333	15.666	19.889	24.888	15.0888
	كحول	9.444	12.889	20.222	21.889	28.333	18.555
L.S.D 0.05		0.58					0.736
متوسط التراكيز		6.036	9.370	15.046	18.074	22.547	14.214
L.S.D 0.05		0.562					

يظهر الجدول 9 أن استخدام المستخلص الكحولي لنبات ليمون البصرة عند تركيز 100ملغم٠مل-١ أعطى اعلى فعالية تثبيطية من بين جميع المعاملات بقطر تثبيطي بلغ 30.00 ملم ,في حين ان المستخلص المائي البارد لنبات ليمون البصرة عند تركيز 20ملغم٠مل-١ لم تكن له اي فعالية تثبيطة لهذه المعاملة 0.00ملم٠٠

قد يعود سبب تفوق نبات الرمان حيث أعطى فعالية تثبيطية عالية اتجاه بكتريا *E.coli* وذلك لاحتوائه على نسب عالية من التانينات والقلويدات كما موضح في الجدول 8 التي تؤثر على نمو البكتريا وذلك بإضعاف الغشاء البلازمي وإيقاف تخليق الانزيمات الضرورية لنمو البكتريا (Seeram واخرون, 2005)٠

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Chem (2011) اذ درس الفعالية التثبيطية لقشور نبات الرمان ضد أربعة عزلات بكتيرية اذ أظهرت نتائجه ان مستخلصات نبات الرمان أبدت فعالية تثبيطبية عالية تجاه بكتريا E.coli وان المستخلص الكحولي عند تركيز 100ملغم٠مل-١ تفوق على المستخلصات النباتية بإعطائه اعلي اقطار تثبيط٠

6-4 الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات البلوط والرمان وليمون البصرة اتجاه بكتريا *Klebseilla pneumonia*

تبين النتائج في الجدول 10 أن الفعالية التثبيطية لنبات الرمان تفوقت على نباتي البلوط وليمون البصرة بقطر بلغ 12.42 ,في حين كانت اقل فعالية تثبيطية لنبات ليمون البصرة بقطر 12.38 ملم ٠ اما بالنسبة للمستخلصات نلاحظ ان المستخلص الكحولي أعطى اعلي فعالية تثبيطية بقطر بلغ 15.36 ملم ,بينما كانت اقل المستخلصات فعالية هو المستخلص البارد بلغ 7.33 ملم ٠

تبين النتائج في الجدول نفسه ان تركيز 100 ملغم٠مل-١ فقد أعطى اعلي فعالية تثبيطية بقطر بلغ 21.00 ملم في حين ان تركيز 20 ملغم٠مل-١ اعطى اقل فعالية

تثبيطيـة بقطـر بلـغ 4.92 ملـم ٠يبـين الجـدول التـداخل بـين نـوع النبـات وطريقـة الاستخلاص اذ نلاحظ ان المسـتخلص الكحـولي لنبـات البلـوط أعطـى أعلـى فعاليـة

النبات	طريقة الاستخلاص	التراكيز ملغم/ مل$^{-1}$	النبات* طريقة

تثبيطية بقطر 15.85ملم, في حين ان المستخلص المائي البارد لنبـات البلـوط أعطـى اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 7.77 ملم ٠

جدول (10) الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه بكتريا *K pneumonia*.

	100	80	60	40	20		
7.773	14.667	10.333	7.333	6.333	0.000	ماء بارد	البلوط
13.666	21.333	17.000	12.333	9.333	8.333	ماء حار	
15.857	30.000	19.333	12.333	9.956	7.667	كحول	
9.800	18.333	14.000	9.000	7.667	0.000	ماء بارد	الرمان
11.666	22.333	17.667	12.000	6.333	0.000	ماء حار	
15.800	25.667	18.667	17.667	10.667	6.333	كحول	
10.466	13.333	12.000	12.333	7.000	7.667	ماء بارد	ليمون البصرة
12.266	19.667	15.000	12.333	7.333	7.000	ماء حار	
14.400	23.667	17.667	13.333	10.000	7.333	كحول	
0.952 تأثير نوع النبات					0. 997	L.S.D 0.05	
12.418	22.000	15.555	10.666	8.540	5.333	البلوط	النبات * التركيز
12.422	22.111	16.778	12.889	8.222	2.111	الرمان	
12.377	18.889	14.889	12.666	8.111	7.333	ليمون البصرة	
12.400 طريقة الاستخلاص	0.5						L.S.D 0.05
7.333	5.444	12.111	9.555	7.000	2.555	ماء بارد	طريقة الاستخلاص * التراكيز
8.733	21.111	16.555	12.222	7.666	5.111	ماء حار	
15.362	26.444	18.555	14.444	10.207	7.111	كحول	
0.758	0.58						L.S.D 0.05
12.406	21.000	15.740	12.073	8.291	4.925	متوسط التراكيز	
0.969							L.S.D 0.05

-

تشير النتائج في الجدول 10 ان مستخلص نبات الرمان عند تركيز 100ملغم.مل-١اعطى أعلى فعالية تثبيطية بقطر بلغ 22.11 ملم, في حين أعطى مستخلص نبات الرمان عند تركيز 20ملغم.مل-١اقل فعالية تثبيطية بقطر 2.11 ملم ٠ نلاحظ من الجدول نفسه ان المستخلص الكحولي بتركيز 100ملغم.مل-١اعطى فعالية تثبيطية عالية بقطر بلغ 26.44 ملم, في حين ان المستخلص المائي البارد عند تركيز 20 ملغم.مل-١ اعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 2.55 ملم٠

توضح النتائج في الجول نفسه ان استخدام المستخلص الكحولي لنبات البلوط عند تركيز 100ملغم.مل-١ أعطى اعلى فعالية تثبيطية بقطر بلغ 30.00 ملم ,من بين جميع المعاملات في حين ان المستخلص المائي البارد لنبات البلوط عند تركيز 20 ملغم.مل-١لم تكن له اي فعالية تثبيطة لهذه المعاملة 0.00ملم٠

ان سبب تفوق نبات الرمان بإعطائه اعلى فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *K.pneumonia* قد يعود لاحتوائه على نسب عالية من التانينات والقلويدات كما مبين في جدول 8, اذ تعمل هذه المركبات على تثبيط نمو البكتريا من خلال تكوين أواصر هايدروجينية مع البروتينات مما يحول دون بناء هذه البروتينات (Nychas ,1995)وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Kannaiyan واخرون (2012) الذين درسوا فعالية مستخلص قشور نبات الرمان على عدة عزلات بكتيرية تشير نتائجه ان مستخلصات قشور نبات الرمان أبدت تثيرا تثبيطيا جيدا ضد بكتريا *K.pneumonia* مقارنة مع العزلات الأخرى وان المستخلص الكحولي تعطى اعلى أقطار تثبيط ضد هذه البكتريا ٠

4-7 ٠ الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات البلوط والرمان وليمون البصرة اتجاه بكتريا *P. mirabilis*

نلاحظ من الجدول 11 أن الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات البلوط تفوقت على نباتي الرمان وليمون البصرة بقطر تثبيطي بلغ 18.75 ملم, في حين كانت اقل فعالية تثبيطية لنبات ليمون البصرة بقطر تبيط بلغ 12.95 ملم ٠ آما بالنسبة للمستخلصات فنلاحظ أن المستخلص الكحولي قد أعطى اعلي فعالية تثبيطية بقطر بلغ 19.58 ملم, في حين أن اقل المستخلصات فعالية أن المستخلص البارد بقطر 13.22 ملم ٠

نلاحظ من الجدول نفسه تأثير التراكيز على بكتريا *P. mirabilis* نجد ان تركيز المرتفع 100ملغم٠مل$^{-1}$ أعطى أعلى قطر تثبيط بلغ 22.55 ملم, في حين ان اقل التراكيز فعالية كان التركيز 20ملغم٠مل$^{-1}$ بقطر تثبيط بلغ 8.55 ملم ٠

يبين الجدول 11 التداخل بين النبات وطريقة الاستخلاص نلاحظ ان المستخلص الكحولي لنبات البلوط كانت له اعلي فعالية تثبيطية بقطر بلغ 22.53 ملم ,في حين ان المستخلص المائي البارد لنبات ليمون البصرة قد اعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر تثبيط وصل الى 11.13 ملم ٠

يلاحظ من الجدول نفسه ان نبات البلوط بتركيز 100ملغم٠مل$^{-1}$ قد أعطى فعالية تثبيطية عالية بقطر بلغ 25.44 ملم, في حين ان المستخلص ليمون البصرة بتركيز 20ملغم٠مل$^{-1}$ قد أعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 5.33 ملم ٠كما نلاحظ من الجدول ذاته ان استخدام المستخلص الكحولي بتركيز100ملغم٠مل$^{-1}$ فقد أعطى اعلي فعالية تبيطية تجاه بكتريا*P. mirabilis*بقطر تثبيطي بلغ 27.67 ملم, في حين ان المستخلص المائي البارد عند تركيز 20 ملغم٠مل$^{-1}$ اعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر تثبيط بلغ 6.33 ملم ٠

يظهر الجدول 11 ان استخدام المستخلص الكحولي لنبات البلوط عند تركيز 100ملغم٠مل$^{-1}$ كان الأكثر فعالية من بين جميع المعاملات بإعطائه أعلى قطر تثبيط

بلغ 30.67 ملم, فـي حـين ان المسـتخلص المـائي البـارد لنبـات ليمـون البصـرة عنـد تركيز 20 ملغم٠مل-١ لم تكن له اي فعالية تثبيطة لهذه المعاملة 0.00ملم٠

جدول (11) الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه بكتريا *Proteus mirabilis*

النبات	طريقة الاستخلاص	التراكيز ملغم. مل-١					النبات* طريقة الاستخلاص
		20	40	60	80	100	
البلوط	ماء بارد	8.333	12.333	15.333	17.333	19.333	14.533
	ماء حار	10.667	15.000	21.333	22.667	26.333	19.200
	كحول	11.667	16.333	24.667	29.333	30.667	22.533
الرمان	ماء بارد	10.667	12.667	13.333	16.333	17.000	14.000
	ماء حار	7.333	10.000	13.333	16.000	22.333	13.799
	كحول	12.333	15.667	22.333	26.000	29.000	21.066
ليمون البصرة	ماء بارد	0.000	7.333	14.333	16.667	17.333	11.133
	ماء حار	7.000	10.667	13.333	14.333	17.667	12.600
	كحول	9.000	12.000	15.000	16.333	23.333	15.133
L.S.D 0.05		0.978					1.531 تأثير نوع النبات
النبات * التركيز	البلوط	10.222	14.555	20.444	23.111	25.444	18.755
	الرمان	10.111	12.778	16.333	19.444	22.777	16.288
	ليمون البصرة	5.333	10.000	14.222	15.777	19.444	12.955
L.S.D 0.05		0.5					0.879 طريقة الاستخلاص
طريقة الاستخلاص * التراكيز	ماء بارد	6.333	10.777	14.333	16.777	17.888	13.221
	ماء حار	8.333	11.889	15.999	17.666	22.111	15.199
	كحول	11.000	14.666	20.666	23.888	27.666	19.577
L.S.D 0.05		0.78					0.536
متوسط التراكيز		8.555	12.444	16.999	19.444	22.555	15.999
L.S.D 0.05		0.473					

توضح النتائج في الجدول11تفوق نبات البلوط اذ أعطى فعالية تثبيطية عالية تجاه بكتريا *P. mirabilis* وذلك لاحتوائه على نسب عالية من التانينات والكلايكوسيدات كما موضح في الجدول 8 إذ تؤثر الكلايكوسيدات على طبقة الحامض الاميني مما يؤدي الى تأثيرها على الحامض النووي DNA وبالتالي القضاء على البكتريا (1997, Wilkens , Mendozol) تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Issa وآخرون (2012) الذين درسوا فعالية مستخلصات ستة نباتات ضد البكتريا الممرضة وجدوا ان مستخلصات قلف نبات البلوط كانت الأكفأ من حيث تأثيرها على نمو بكتريا *P. mirabilis* حيث ابدى المستخلص الكحولي بتركيز 100ملغم ٠مل-١ أعلى أقطار تثبيط٠

8-4 الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات البلوط والرمان وليمون البصرة اتجاه بكتريا *S. typhimurum*

تبين النتائج في الجدول 12 ان الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الرمان تفوقت على نباتي البلوط وليمون البصرة بقطر تثبيطي بلغ 16.15 ملم, في حين كانت اقل فعالية تثبيطية لنبات البلوط بقطر تثبيط بلغ 12.95 ملم ٠ نلاحظ من الجدول نفسه ان المستخلص الكحولي قد أعطى أعلى فعالية تثبيطية بقطر 18.11 ملم,بينما كان اقل المستخلصات فعالية هو المستخلص المائي البارد بقطر بلغ 12.64 ملم ,

تبين النتائج ان التركيز الأعلى (100ملغم ٠مل-١)قد أعطى اعلي قطر تثبيطي بلغ 21.52 ملم في حين أعطى التركيز الواطئ (20ملغم ٠مل-١)قل قطر تثبيطي بلغ 6.30 ملم ٠

نلاحظ من الجدول نفسه بالنسبة للتداخل بين النبات وطريقة الاستخلاص ان المستخلص الكحولي كانت له اعلي فعالية تثبيطيه بقطر بلغ 19.00 ملم, في حين ان المستخلص المائي البارد لنبات البلوط كانت له اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 9.07 ملم ٠

تشير النتائج في جدول 12 ان مستخلص نبات البلوط بتركيز 100ملغم ٠مل-١قد أعطى اعلي فعالية تثبيطية بقطر تثبيطي بلغ 21.11 ملم, في حين آن مستخلص نبات البلوط عند تركيز 20 ملغم٠مل-١ قد أعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر 2.89 ملم ٠

جدول (12) الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه بكتريا*S. typhimurum*

النبات	طريقة الاستخلاص	التراكيز ملغم. مل-١					النبات* طريقة الاستخلاص
		20	40	60	80	100	
البلوط	ماء بارد	0.000	7.667	9.000	12.667	16.000	9.066
	ماء حار	0.000	7.333	11.000	20.667	21.667	12.133
	كحول	8.667	11.000	19.000	24.000	25.667	17.666
الرمان	ماء بارد	8.333	7.667	12.333	13.333	15.000	11.333
	ماء حار	8.000	8.667	13.333	17.000	22.000	13.888
	كحول	11.667	12.333	15.667	25.000	30.333	19.000
ليمون البصرة	ماء بارد	8.667	10.333	11.333	13.000	19.000	12.466
	ماء حار	0.000	7.000	10.333	18.333	19.000	10.933
	كحول	11.345	13.333	18.000	20.667	25.000	17.669
L.S.D 0.05				0.953			0.699 تأثير نوع النبات
النبات * التركيز	البلوط	2.889	8.666	13.000	19.111	21.111	12.955
	الرمان	9.333	9.555	23.777	18.444	19.666	16.155
	ليمون البصرة	6.670	10.222	13.222	17.333	21.000	13.689
L.S.D 0.05				0.5			0.759 طريقة الاستخلاص
طريقة * الاستخلاص التراكيز	ماء بارد	5.666	8.555	17.555	14.777	16.666	12.643
	ماء حار	2.666	7.666	11.555	18.666	20.889	12.228
	كحول	10.559	12.222	17.555	23.222	27.000	18.111
L.S.D 0.05				0.58			0.206
متوسط التراكيز		6.297	9.481	13.333	18.296	21.518	13.753
L.S.D 0.05				0.868			

توضح النتائج في جدول 12 ان استخدام المستخلص الكحولي بتركز100 ملغم٠مل-١ قد أعطى اعلي فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *S. typhimurum* بقطر تثبيطي بلغ 27.00ملم,في حين ان المستخلص المائي البارد قد أعطى اقل فعالية تثبيطية بقطر بلغ 5.67ملم ٠

تشير النتائج في الجدول نفسه ان استخدام المستخلص الكحولي لنبات الرمان بتركيز 100ملغم٠مل-١ قد أعطى اعلي فعالية تثبيطيه بقطر بلغ 30.33 ملم ,في حين ان المستخلص المائي البارد لنبات البلوط عند تركيز 20 ملغم٠مل-١ لم يبدي اي فعالية تثبيطية لهذه المعاملة 0.00ملم ٠

توضح نتائج جدول 12 تفوق نبات الرمان بإعطائه اعلى فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *S. typhimurum* وذلك لاحتوائه على نسبة عالية من التانينات والقلويدات كما موضح في جدول 8 ٠ وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Sibandamokoh (2007) اذ درس فعالية مستخلصات الكحولية و الاسيتونية والمائية ضد بعض العزلات البكتيرية الممرضة بينت نتائجه ان مستخلص الكحولي لنبات الرمان بتركيز 100 ملغم ٠مل-١ اعلي أقطار تثبيط ضد بكتريا *S. typhimurum*٠

توضح نتائج جميع الجداول الى انه المستخلصات الكحولية لجميع النباتات قيد الدراسة أعطت فعالية تثبيطيه عالية مقارنة مع المستخلصات المائية لكون الكحول مذيب جيد للمركبات الفعالة وله القدرة على اختراق الجدار الخلوي للبكتريا وذلك لألفة الغشاء للدهون الموجودة في المستخلصات الكحولية (AL-Hili, 2000) ٠

يلاحظ من نتائج الجداول ان تركيز 100ملغم ٠مل-١قد أعطى أعلى اقطار تثبيط ضد العزلات وذلك لان عملية التثبيط تتناسب طرديا مع زيادة التركيز وبالتالي عند زيادة التركيز تزداد المادة الفعالة المثبطة الموجودة في المستخلصات النباتية (Wong و Hancock, 1984)

-

9-4 مقارنة التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية مع التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية ضد العزلات البكتيرية قيد الدراسة

عند إجراء مقارنة التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية والمائية لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط مع التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية تجاه بكتريا *E-coli* اذ بينت النتائج ان المستخلص الكحولي لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط أبدى تأثيرا تثبيطيا جيدا مقارنة مع المضادات الحيوية اذ أعطى عند تركيز 100ملغم. مل$^{-1}$بأقطار بلغت30, و29 و 26 ملم, على التتابع اما عند تركيز 80ملغم. مل$^{-1}$اعطى اقطار تثبيطيه بلغت 23 و21و 20 ملم, على التتابع .اما تاثير المضادات الحيوية ضد بكتريا *E-coli* اذ اعطى كل من المضاد Trimethoprim و Cefotaxime و Ciprofloxacin أقطارا بلغت 22 و20 و16 ملم ,على التتابع تبين النتائج ان المستخلصات النباتية ذات فعالية عالية في تثبيط البكتريا مقارنة من المضادات الحياتية المستخدمة٠اما تاثير المستخلصات لنبات ليمون البصرة والرمان و البلوط على بكتريا *K.pneumonia* اذ أعطى المستخلص الكحولي عند تركيز 100ملغم. مل$^{-1}$23 و25 و30 ملم, على التتابع اما عند تركيز 80 ملغم/مل اعطى اقطارا تثبيطية بلغت 17 و18 و19 ملم ,على التتابع اما تأثير المضادات الحيوية ضد بكتريا K. pneumonia اذ اعطى كل من المادة Nalidixic acid و Cefotaxime و Amikacin اقطارا بلغت 13 و18 و16 ملم, على التتابع تبين النتائج ان المستخلصات النباتية المستخدمة ذات فعالية عالية في تثبيط نمو البكتريا مقارنة من المضادات الحياتية المستخدمة٠

بينت النتائج التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط تجاه بكتريا P.mirabilis اذ أبدى المستخلص الكحولي تأثيرا تثبيطيا جيدا عند تركيز 100ملغم. مل-١بأقطار بلغت 23 و 29 و30 ملم, على التتابع اما عند تركيز 80ملغم. مل-١اعطى أقطار بلغت 16 و26 و 29 ملم ,على التتابع فيما أبدت المضادات الحيوية تأثيرا تثبيطيا جيدا حيث اعطى كل من Gentamicin و Amikacin بأقطار بلغت 22و19

ملم ,على التتابع . تبين النتائج ان نسبة تبيط البكتريا من قبل المستخلصات النباتية والمضاد Gentamicin متقارب في نسب التثبيط ٠اما تأثير المستخلصات النباتية تجاه بكتريا S. typhimurum اذ ابدى المستخلص الكحولي لنبات ليمون البصرة والرمان والبلوط عند تركيز 100ملغم. مل-١بأقطار بلغت 25و30 و25 ملم,على التتابع اما تركيز 80ملغم. مل-١اعطى اقطار بلغت 20 و 25 و 24ملم, على التتابع مقارنة مع المضادات الحيوية اذ اعطى كل من المضاد Trimethoprim و Ciprofloxacin أقطار بلغت 24 و16 ملم, على التتابع .تبين النتائج ان نسبة تبيط البكتريا من قبل المستخلصات النباتية والمضاد Trimethoprim متقارب في نسب التثبيط

بينت نتائج الدراسة ان التاثير التثبيطي للمستخلصات النباتية في بعض الأحيان كان مساويا او اكثر من المضادات الحيوية والسبب ذلك يعود الى عدم الفة العزلات البكتيرية لهذه المستخلصات من قبل او قد يكون لهذه المستخلصات مستقبلات موجودة على جدار الخلية البكتيرية تعمل على ايقاف تصنيع الانزيمات والمرافقات الانزيمية والجزيئات الاخرى (1984).

5- الاستنتاجات والتوصيات conclusion and recommendation

الاستنتاجات Conclusion

١- ابدت مستخلصات النباتات المستخدمة تـأثيرا تثبيطيـا فـي نمـو مجموعـة مـن الاحياء المجهرية التي تعد مهمة جدا بوصفها الشائعة فـي احـداث الالتهابـات وخصوصا الإسهال.

٢- احتـواء نبـات الرمـان علـى المجـاميع الفعالـة وهـي القلويـدات, التانينـات,و الصابونينات, بنسب عالية ٠

٣- اكثر المضادات الحياتية تأثيرا على العزلات هو مضاد cefotaxime ٠

٤- كانت بكتريا ***Escherichia coli*** أكثر تأثيرا بالمستخلصات النباتية ٠

٥- أن أفضل طرائق الاستخلاص هو المستخلص الكحولي اذ اعطى اعلى نسـب تثبيط ٠

٦- ان افضل تركيز تأثيرا على البكتريا هو تركيز 100ملغم ٠مل-١ اذ اعطى اعلى فعالية تثبيطية ضد العزلات المدروسة

٧- ظهور سمية خلوية للمستخلصات الكحولية لنبات الرمان والبلوط و ليمون البصرة

فيما لم تظهر في المستخلصات المائية الحارة والباردة٠

التوصيات Recommendation

١- زيادة الاهتمام باستخدام المستخلصات النباتية بوصفها بدائل للمضادات الحيوية ,وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة ذات أهمية علاجية ولان تأثيراتها الجانبية أن وجدت فهي قليلة ٠

٢- أجراء دراسات كيميائية لعزل المركبات الفعالة من النباتات بشكلها النقي وباستخدام طرائق الفصل الكيميائي المختلفة وباستخدام الطرائق والاجهزة الحديثة,ودراسة فعاليتها المضادة للجراثيم ,وكيفية تأثيرها في الجراثيم الممرضة لإمكانية استخدامها في العلاج٠

٣- دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة في الحيوانات المختبرية In vivo٠

٤- قائمــة المحتويات

(أ)

٥-

ت	العنوان	رقم الصفحة
	الفصل الأول	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني	
2	استعراض المراجع	3
1-2	المكونات الفعالة في النباتات الطبية	3
1-1-2	القلويدات	4
2-1-2	الفينولات	5
1-2-1-2	الكومارينات	6
2-2-1-2	الفلافونات	7
3-2-1-2	التانينات	8
3-1-2	التربينات	9
1-3-1-2	الصابونيات	9
2-3-1-2	الكلايكوسيدات	10
3-3-1-2	الراتنجات	11
4-3-1-2	الزيوت الطيارة	11
5-3-1-2	الزيوت الدهنية	13
2-2	الاسهال	13
3-2	ليمون البصرة	15
1-3-2	التصنيف النباتي ليمون بصرة	15

-٦

-٧

-٨

-٩
-١٠
-١١

-١٢
-١٣

١٤- قائمــة المحتويات

(ب)

-١٥
-١٦

ت	الموضوع	رقم الصفحة
2-3-2	الوصف العام لليمون بصرة	16
3-3-2	المكونات الكيميائية لليمون بصرة	17
4-3-2	الاستخدامات الطبية لليمون بصرة	17
4-2	الرمان	18
1-4-2	التصنيف النباتي للرمان	18
2-4-2	الوصف العام للرمان	18
2-4-3	المكونات الكيميائية للرمان	19
4-4-3	الاستخدامات الطبية للرمان	20
5-2	البلوط	21
1-5-2	التصنيف النباتي للبلوط	21
2-5-2	الوصف العام للبلوط	21
3-5-2	المكونات الكيميائية للبلوط	22
4-5-2	الاستخدامات الطبية للبلوط	23
6-2	الأحياء المجهرية	23
1-6-2	بكتريا البروتيس	23
2-6-2	بكتريا الكلابسيلا	24
3-6-2	بكتريا القولون	25

4-6-2	بكتريا السالمونيلا	26
3	**الفصل الثالث**	
	المواد وطرائق العمل	29
1-3	المواد والأجهزة المستخدمة	29
1-1-3	الأجهزة المستخدمة	29
2-1-3	المواد الكيمائية	30

-١٧

١٨- قائمــة المحتويات

(ت)

-١٩

ت	الموضوع	رقم الصفحة
3-1-3	الأوساط الزرعية	31
4-1-3	المحاليل و الكواشف	32
1-4-1-3	المحاليل	32
1	محلول الملح الفسلجي	32
2	محلول ثابت العكورة القياسي	32
2-4-1-3	الكواشف المستعملة في دراسة التاثير للمستخلصات النباتية	33
1	كاشف ماركيز	33
2	كاشف بندكت	33
3	كاشف فولن	33
4	كاشف ماير	33
5-1-3	المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة	34
2-3	طرائق العمل	34
1-2-3	جمع العينات	34
2-2-3	عزلات الأحياء المجهرية الممرضة	35

3-2-3	تشخيص العزلات	35

ت	الموضوع	رقم الصفحة

1-3-2-3	الفحوصات المظهرية	35
2-3-2-3	حساب العدد التقريبي للأحياء المجهرية	36
3-3-2-3	إدامة العزلات	36
4--2-3	اختبار الحساسية للمضادات الحياتية	37
5-2-3	طرائق تحضير المستخلصات النباتية	37

-٢٠
-٢١
-٢٢
-٢٣
-٢٤
-٢٥
-٢٦
-٢٧
-٢٨

٢٩- قائمــة المحتويات (ث)

-٣٠

-٣١
-٣٢
-٣٣

1-5-2-3	المستخلص المائي البارد	37
2-5-2-3	المستخلص المائي الحار	38
3-5-2-3	المستخلص الكحولي	38
6-2-3	تحضير التراكيز المستخدمة في الاختبارات الحيوية	39
7-2-3	تقدير السمية الخلوية للمستخلصات المائية والكحولية	39
8-2-3	الكشوفات النوعية للمستخلصات المائية والكحولية	39
1-8-2-3	الكشف عن القلويدات	40
2-8-2-3	الكشف عن الفلافونيدات	40
3-8-2-3	الكشف عن الكلايكوسيدات	40
4-8-2-3	الكشف عن التانينات	40
5-8-2-3	الكشف عن الكومارينات	41
6-8-2-3	الكشف عن الزيوت الطيارة	41
7-8-2-3	الكشف عن الراتنجات	41
8-8-2-3	الكشف عن الفينولات	42
9-8-2-3	الكشف عن الصابونينات	42
10-8-2-3	**الكشف عن الفيوكومارينات**	42
11-8-2-3	قياس الاس الهيدروجيني	42
9-2-3	الكشوفات الكمية للمستخلصات المائية والكحولية	43
1-9-2-3	تقدير القلويدات	43
2-9-2-3	تقدير الكلايكوسيدات	43
3-9-2-3	تقدير الفلافونيدات	43
4-9-2-3	تقدير التانينات	43

٣٥- قائمــة المحتويات

(ج)

ت	الموضوع	رقم الصفحة
5-9-3-2	تقدير الصابونينات	44
6-9-2-3	تقدير الزيوت الطيارة	44
7-9-2-3	تقدير الراتنجات	44
10-2-3	اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية	45
11-2-3	التحليل الاحصائي	45
4	الفصل الرابع	
1-4	اختيار فحص الحساسية للمضادات الحيوية	46
2-4	الدالة السمية والحامضية للمستخلصات المائية والكحولية	48
3-4	الكشف الكيميائي العام	49
1-3-4	الكشف النوعي للمركبات الكيميائية الفعالة في النباتات قيد الدراسة	49
2-3-4	الكشف الكمي للمركبات الكيميائية الفعالة في النباتات قيد الدراسة	50
4-4	تاثير المستخلصات النباتية في نمو الاحياء المجهرية	53
5-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية اتجاه بكتريا *E-coli*	53
6-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية *K. pneumonia*	55
7-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية اتجاه بكتريا *P. mirabilis*	58
8-4	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية اتجاه بكتريا *S. typhimurum*	60
9-4	مقارنة التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية مع التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية ضد العزلات البكتيرية قيد الدراسة	63
	الفصل الخامس	
5	الاستنتاجات والتوصيات	65

-٣٧

ت	الإشكال والصور	رقم الصفحة
الشكل –1	التركيب الحلقي للقلويدات	6
الشكل –2	التركيب الحلقي للكومارينات	7

-٣٨

-٣٩ قائمــة المحتويات

(ح)

-٤٠

-٤١

-٤٢

-٤٣

-٤٤

-٤٥

الشكل –3	التركيب الحلقي للفلافونيدات	8
الشكل–4	التركيب الحلقي للتانينات	رقم الصفحة
الشكل –5	الاجهزة المستعملة في الشركة لاستخلاص الصبغات والمنشا	29
الشكل –6	التركيب الحلقي للزيوت الطيارة	13
الشكل –7	المظهر العام لنبات النومي بصرة	18
الشكل –8	المظهر العام لنبات الرمان	21
الشكل –9	المظهر العام لنبات البلوط	22
الشكل –10	تأثير المضادات الحيوية على العزلات البكتيرية المدروسة	46

جدول–1 التركيب الحلقي للفلافونيدات 41

–٤٦

–٤٧

–٤٨

–٤٩

–٥٠

–٥١

–٥٢

–٥٣

–٥٤

٥٥– قائمــة المحتويات

(خ)

–٥٦

جدول–2	المواد الكميائية التي استعملت في البحث والشركة المنتجة والمنشا	30
جدول–3	الاوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	32
جدول–4	المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة	34
جدول–5	العزلات المايكروبية المستخدمة في الدراسة	35
جدول–6	الدالة السمية والحامية للمستخلصات الكحولية والمائية للنبات المستخدمة في الدراسة	48
جدول–7	الكشف النوعي للمستخلصات الكحولية والمائية للنباتات المستخدمة في الدراسة	50
جدول–8	الكشف الكمي للمركبات الكيميائة الفعالة في النباتات قيد الدراسة	52
جدول–9	الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية اتجاه بكتريا *E-coli*	54
جدول–10	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية *K.pneumonia*	56
جدول–11	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية اتجاه بكتريا *P. mirabilis*	59
جدول–12	الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية اتجاه بكتريا *S. typhimurum*	61

-٥٧

Abstract -٥٨

-٥٩ This study was conducted in Diyalaprovince during the period that lasted from 17 August ,2014 to 15 February 2015, four ready bacterial isolates were taken after isolating them from diarrhea disease cases and then they were diagnosed by the bactriology in the bacteriology lab/ Baqubah teaching hospital .The isolates were : *Salmonella typhimurum , Escherichia coli* , *Klebseilla pnumonia* , and *Proteus mirabilis* .

٦٠- The study investagated the effect of the plants extracts of *Punicagranatum, Quercusrobur ,and aurantifoliavaracidica* Citrus on the bacterial isolates that caused diarrhea

٦١- .The bacterial isolates showed a various sensitivity toward the plants extracts. The sensitivity of isolates against extracts were to alcoholic extract,hot aqueous extracts cold water extracts of all the plants used in the study

٦٢- The study showed that plant extract ofQuercusroburwas the more effect on the growth of the bacterial isolates *Punicagranatum* extractsand extract of *Aurantifoliavaracidica* respectively. The high inhibition zone concentration were at 100 and 80 mg /ml . The isolates that had moer sensitivity toward the plants extracts were : *Klebseilla pnumonia , Salmonella typhimurum, Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* respectively .

٦٣- The study investigated with the qualitative and quantitative of active compounds found in the plants extracts used in the study . The result showed that the plant were rich of many secondary metabolic compounds like:(Taninat, clycosides , flavonoids , alkaloids , pheonols and saponins)

٦٤- Also , the present study showed the toxid effect of the aqueous and alcoholic extracts on the red blood cells . it showed also that there was cytotoxic of the cold and hot aqueous extract for all the plants used in the study.

٦٥- The result showed the resistant of the bacterial isolates against some antibiotics such as Ciprofloxacin , Cefotaxime , Amikacin , trimethoprim , Gentamicin and Nalidixic acid . The study showed that the bacterial isolates had a highest ratio of resistance against the antibiotics Amikacin,Trimethoprim, and Cefotaxime .

٦٦- الخلاصة

٦٧-

٦٨- أجريت الدراسة في محافظة ديالى للمدة من ١٧ اب ٢٠١٤ ولغاية ١٥ شباط ٢٠١٥, اذ آخذت أربع عزلات جرثومية جاهزة بعد عزلها من حالات مرض الإسهال وهي

٦٩- *Proteus mirabilis* و *Klebseilla pneumonia* و *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* ٠

٧٠- تناولت الدراسة تأثير مستخلصات نبات ليمون البصرة و الرمان والبلوط على البكتيريا المسببة للإسهال,اذ أبدت العزلات الجرثومية حساسية متفاوتة ضد المستخلصات النباتية ٠ اذ أظهرت العزلات حساسية عالية ضد المستخلص الكحولي يليه المستخلص المائي الحار ثم المستخلص المائي البارد لجميع النباتات المستخدمة في الدراسة .

٧١- أظهرت الدراسة ان اكثر المستخلصات النباتية تأثيرا على نمو العزلات هي مستخلصات نبات الرمان يليه البلوط ثم نبات ليمون البصرة ,وكانت أعلى أقطار تثبيط عند تركيز 100 و 80 ملغم / مل ٠ ان أكثر العزلات حساسية ضد المستخلصات النباتية هي *Escherichia coli ,Proteus mirabilis ,Salmonella typhimurium ,Klebseilla pneumonia*٠

٧٢- تناولت الدراسة الكشف النوعي والكمي للمركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية قيد الدراسة,و بينت النتائج ان النباتات غنية بالعديد من مركبات الايض الثانوي (التانينات و الكلايكوسيدات و الفلافونيدات و القلويداتوالراتنجات والزيوت الطيارة والصابونينات)٠

٧٣-

٧٤-

٧٥-

٧٦- ٠

٧٧-

٧٨- واظهرت النتائج عدم وجود سمية خلوية للمستخلصات المائية الحارة والباردة لجميع النباتات المستخدمة في الدراسة ٠ فيما أظهرت تأثيرا سميا للمستخلصات الكحولية للنباتات المستخدمة ٠

٧٩- بينت النتائج مقاومة العزلات البكتيرية لبعض المضادات الحيوية اذ استخدمت ستة من المضادات المعروفة Ciprofloxacin وCefotaximeو Amikacin وTrimethoprim و Gentamicin و Nalidixic acidاذ أظهرت العزلات البكتيرية اعلى نسب مقاومة لكل من المضادات الحيوية Cefotaxime و Trimethoprim وAmikacin٠

٨٠-

جدول (٧) الكشوفات النوعية للمستخلصات المائيـة

ت	المركبات الفعالة	نبات الرمان			نبات البلوط		
		المستخلص المائي البارد %	المستخلص الملائي الحار %	المستخلص الكحولي %	المستخلص المائي البارد %	المستخلص الملائي الحار %	المستخلص الكحولي %
١	القلويدات	+	+	+	-	+	+
٢	الفلافونيدات	+	+	+	-	+	+
٣	الكلايكوسيدات	+	+	+	-	+	+
٤	التانينات	+	+	+	+	+	+
٥	الكومارينات	–	–	-	–	–	–
٦	الفينولات	-	-	-	-	-	-
٧	الراتنجات	-	+	+	–	–	–
٨	الزيوت الطيارة	-	–	–	–	+	+
٩	الصابونيات	-	–	+	+	+	+

والكحولية للنباتات المستخدمة في الدراسة

٥	الكومارينات	0	0	0	0	0	0
٦	الفينولات	0	0	0	0	0	0
٧	الراتنجات	0	0	0.23	0.67	0	0
٨	الزيوت الطيارة	0	0	0	0	0.33	0.76
٩	الصابونيات	0.68	4.11	2.03	0	4.11	8.06

جدول (8) النسبة المئوية للمستخلصات المائية والكحولية للنباتات المستخدمة في الدراسة

المصادر **References** 71

(APHA) American public Health Association .(1985). Standard methods for the examination of water and waste water . 17 th ed. American public Health Association Inc., Washington ,USA.

Abulafaith, H.A.(1987) medical plant of south western Saudi Arabia . Economic Botany .

Abrutyn.E.andFraimow.H.S.(1995)Pathogen Resistant to Antimicrobial Agents :Epidmology Molecular Mechnism and Clinical.infect Management.Dis .Clin.north.Am.,9:497-530.

Acamovic ,A .and Brooker ,J.D.(2005).Biochemistry of plant secondary metabolites

and their effects in animals nutrition society .64:403-512.

Adeday ,O.; Aderson , W,; Young ,M.; Sncickus,V.; patil.P. and kolawole,D.(2001).

Photochemistry and antibacterial activity of *san flower* pharmuct.Biol.,39:1-5.

Agaoglu .s.; Dostbil, N .and Aledar .S. (2007). Antimicrobial Activit of some sepses

used in meat industry. Bull. Vet. Hnst. Pulawy. 51:53-57.

AL-Hilli F.A.M.(2000). Study of antibacterial effect of leaves fro Callistermoncitrinus

on Pseudomonas aeruginosa isolated from patient M .Sc. thesis ,colL .Sc, AL-

Mustansiriya Universty:88pp

Al-khazragi, S. M.(1991). Biopharmacological study of Artemisia herbal alba .M.Sc.

thesis. Univ. Baghdad .

Ai-Jadi, A.M.and Mohde,K,Y.(2005). Isolation and identification of phenolic acids in

Malaysian-honey with antibacterial properties. Turk.j.med.Sci.,33:229-236.

Arias, C.A.; Courvalin, P. and Reynolds, P.E. (2000). Vance cluster of antibiotic *E-*

coli – resistant .BM. Antimicrobial . Agent. Chemother. 44 (6):166-170.

Aroras , D ., Kaur . J . (2003) . Vancomycin resistant *S. pyogene* unwed model of

antibiotic resistant . Lancet .infection . Dis . 1 : 47-55.

Atlas, R.M.; Brown. A.E.and parks .L .C .(1990). Laboratory Manual of Experimental

microbiology mosby com U.S.A.

References المصادر

Ayyad .W. AL- shahwamy . Adel .A.AL-Hemiri ; Khalid .M.Abed. (2013)comparative

Evaluation of Alkaloids Extraction methods from the root Bark of punica granum

linn Advaces in Bioresearch H.v.u(1)33-39.

Banderjee, S.; Mukherjee.A.; Bandyo payday , S .K .; Mukherjee , P. K,; Sikdar S,

(1995) . Preliminary studies on the anti - inflammatory effects of *Ricinus* of

Ricinus communis India J. pharmacy; 22:239-244.

BarnesG . child and Adie Scant health for practitioners ,Williams and wilkins

associated pty. Ltd,Australia , 1987.

Bashir , A,; Mujahid, T.Y. and Jehan. N.(2007). Antibiotic resistant profile isolation

and Characterization of clinical isolates of *Staphylococci* and *E-Coli* from patient

with community – acquired skin infection .J .pharm. Sci. (20): 299-304.

Basser , T, Gay, G ,; Gay . J. and Wray, C.(1997).*Salmonellas* associated with S.

Typhimurum DT 104 in the U.S.A. Vet Res., 140 : 75 - 80 .

Bauer , A . M . and Kirby ,W.M .(1966) . Antibiotics susceptibility testing by a

standardized single Disk method. Am ,J. Clin .pathol. 45:493-496.

Barve , J.T; Bowden, B.F.;coll, I. C. Jesus ;V .E. fuente .G. C .and

Ragasa,C.Y.(1997).Abioactive triterpene from Lautana Camara phytochemistry

4.45;321-324

Bhattacharje ,I.; Chatterjee , S.K. and Chanadra. G. (2006). Antibacterial potentiality

of Argemone Mexicana solvent Extract against some pathogenic bacteria .

Mem. Inst. Os-Waldo cruz., rio dejaneiro. 101(6):642-648.

Bhatia,R.and Ichhpujani,R.L(2004).Essentials of medical microbiology.3rd edn.,japee

Bros. Med.publ.,New Delhi.506pp.

Brooks, G.F.; Carroll ,K .G ; Butel , J.S.C; Morse, S.A.(2007). Jawetz . melnick .and

Adelbergs medical microbiology , 4th ed . Appleton and Lange . PP. 224-730.

Brooks ., G.F .; Batel ,G.S. and Morse ,S.A. (2001). medical microbiology . 22 th ed.

Lange medical Books North America .

Brooks , G.F; Bule , J.S; and morse , S.A.(2007). Medical microbiology (24th ed)

.langs medical Books /MC Graw-Hill.

Bhatia,R.and Ichhpujanj,R.L(2004).Essentials of Medical Microbiology. 3rd.Jaypee

Bros.Med.Publ.,New Delhi.506pp

Carbutt,J.(1997). Essential of food microbiology .Arrold .PP.20-52.

Carry ,D.; Figueroa, R.; Guillaume, Cucco ,V.(2000). Use of *Castor oil* in pregnancies

at term Altern there Health med; 6:77-90.

Carson,C . F . and Rilley. T . V (2003). Non antibiotic therapies for infection diseases

.commun .Dis in tell.,27:143-146.

Chitwood, D.J.(2002). Phytochemical Based strategies for nematode control . Annu.

Rev. phytopathol . 40:221-249.

Claus, E ,P.; Tyler ,V.E. and Brady .L .R .(1973). Pharmacognosy. 6th ed . Lead and

febiger, London.pp.79-127.

Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion , B.P. and Simmous, A.(1996).Mackine and Mac

Carteny practical medical microbiology . 14 th ed., Churchill living ston Inc ., New

York .

Danile ,O .; Meier , M .S ,; Shatter . J ,and firscknecht ,p. (1999) . selected phenolic

Compounds in Cultivated plants , Ecologic function , Health implication . and

modulation by pesticides. Environ. Health perspect. 107(1):109-114.

Dasmohapatra , P.K.; Mondale .K .C, and pati .B .R.(2006) . Production of tannase

through submerged fermentation of Tanni containing plant extract by Bacillus

licheniformis KBR6. polish Journal of microbiology . 55(4):297-301.

Davis, B.D.; Dullbecco, R.; Eisen ,H.N. and Ginsberg, H.S.(1995). Microbiology. 3 rd

ed . Harper and row publishers , inc.

Deluca, V . and Stpierre .B. (2000) . The cell and developmental biology of alkaloid

biosynthesis. Trends plant Sci .5:168-173.

Doughari, J H.(2006). Antimicrobial activity of tamarindus indica linn. Trop. J.

pharm. Res. 5 (2):597-603.

Doyle ,M.P.; Beuchat ,L.R.; montrile,T.J., (1997). Food microbiology fundamentals

and frontiers. AsM press. Washington D.C.129-131.

Edward, R.p. and Ewing,W.,(1972).identification of enter bacteria 3rd .ed.Burgess

Publishing company, Minnesota, USA,pp.290-300.

Edeoga , H.o.,okwa.D.E.and mbaebile ,B.o.(2005).phytochemic Plants . African .

J.Biotech .vol.4(7) pp 605 – 644.12

Eloff.J,N.(2000). On explessing the antibacterial activity of plant extract a small first

step in applying scientific knowledge .

Ekperigin , H.E. and Nigeria ,K.V.(1998). *Salmonella* .Vet. Nor. Ameri.; 14 (1):17-29.

Ekta , S .; Burhan , H . Babita , R. and Abishek .G.(2000) . Antimicrobial of *Ricinus*

communis from Gram positive and Gram negative bacterial isolated to burn .

international of pharma research (2):22-30.

El-fallal ,A.A. and El- Kattan , M .H .(1997) . Effect of plant extracts on the mycelial

growth of some cultivated *mushrooms* .Egypt .J. microbial .32(1):41-48.

Evans , W.C . (1996) . Trease and Evans Pharmacognosy. 14th ed . pp . 472-504.W.B.

saunders company ltd London.

Franzolin, M.R.; Aives ,R.C.B; Keller, R.,Gomes, T.A.T.; Beutin,L. Barreto, M.L.;

Milroy. C.; Strina.A.;Ribeiro, H. and Trabulsi L.R.(2005).prevalence of

diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Salvador, Bahia,

Brazil. Mem.inst.Oswaldo Cruz , Rio de Janerio. 100(4):359-363.

Gast, R.K. (1997). Paratyphoid Infection. In: Disease of Poultry. Edited by Calnek,

B.W.; Barnesh, S.; Beard, C.W.; Medogald, L.R. and Saif, Y.M. 10th ed., Mosby

Com., Iowa State University Press.

Gayon , P.R.(1972). Plant phenolic . Oliver and Boyd. Edinburgh, 254 pp.

Geisman,T.A.(1962).chemistry of Flavonoids compounds. Macmillan. Co. New

York.

Glonbitza, K.W.; Mahran , G.H.; Mirhony. W.; Michle , K.H . and Motawi, T,K.

(1994). Hypoglycemic and anti hyperglycemic effects of zizphys spinachrist in

rats plant Med . 60:244-247.

Giannella, R.A.,(1973)pathogenesis of salmonellosis studies of fluid secretion

mucosal invasion and morphologic reaction in the rabbit ileum, J.Clin. invest

52(44)

Goodwin, T.W. and mercer ,E.I.(1983). Introduction plant Biochemical 2^{ed} .

pergamon press. P.677.

Gorbach , S.L(1996). Microbiology of the gastro intestinal tract 95.in(Baron,s)

medical microbiology (4^{th} ed) university of Texas medical Brach Golves ton.

Texas.

Gowan. M. (1999). Plant products as antimicrobial agent clinical microbial . Rev

.12(4):564-582.

Gopinath.S.M;Suneetha.T.B,Mruganka,V.D and Auanda.S(2011).chemical profiling

and antibacterial activity of punica granatum L.against pathogens causing Bovine

Mastitis j.chem.eharm. res.,3(5):514-518

Gracey,M.(1996) Diarrhea and malnutrition A challenge for pediatricians.J.pediatr.

Gastroentero inutr.22:6-16.

Gyr, K.and Merier,R.,(1987). Acute infection Diarrhea. Trop.Med parasitol.

32:236- 238.

Harborn ,J.B.(1984). Phytochemcial methods, champan and Hall. London,2 nd ed .

New York.

Harborn, J.B.(1991). Photochemical methods .A guide to moderm techniques of plant

analysis .PP. 159-165. Chapman and Hall Ltd London.

Harborn . J. B.(1937). Phytochemical methods. London . champrman and Hall. Ltd

pp-49-188.

Hancock,R.E.W.and Wong,B.G.V(1984).compounds which increase the permeapility

of the *pseudomonas aerogionsa* outer membrane.antimicrobs Agents

chemother.26:48-52

Hero , F . S . and Jwan , D. (2012). Antimicrobial activity of *Lepidum sativum and*

Allium Porum extract and Juices against some gram positive and gram negative

bacteria medical journal Islamic world 20:1 . 10-16.

Harborn, J,B.(1991).photochemical methods .A guide to moderm trchniques of plant

analysis .pp. 159-165.Chapman and Hall Ltd London.

Hung, L.; Zhang. L.; Hung. Pl.; Chang, Y.T. and Hung, P.L.(2003). Anti-HIV activity

of olive leaf extract (ole) and Modulation of host cell gene expression by HIV-1

infection and ole treatment. Biochemical and Biophysical Research communication .307:1029-1037 .

Huttlys.1989 . PRvsistent diarvhea a rural area of Bengladesh a commnnity based

longitudinal study .int .J.Epid No 18.pp.964-969,

Indar , H.L.; Daniales , N.; Prabhakar, P.;Brown, C.; Baccus, T.G.;Comission , E. and

Hispedales, J.(2001).emergence of *salmonella enteritidis phage* type 4 in the

Caribbean, case.

Indian Herbal pharmacopeia .(1998). A Joint publication of Regional Research

laboratory . counce of scientific and industrial Research .Jammataw.1;1-10.

Ismail, L,D.; El.Aziz, M,M.;Khalifa, T.I. and Stermitz ,F.R.(1990). Verbascoside

derivatives and ivioid Glycosides from penstemon Crandall.

Phytochemistry.39(6):1391-1393.

Issa , Sadeghian ;Mehdi .H; Sakine. S .and Shoele Jamal.

(2012).Antimicrobial effect

of Qeurcus Branti fruits on bacterial pathogenic. Journal microbial 5(3):462-469.

Jaffer , H.J.; Mohamed ,M ,J.; Jawad, A.M.; Naji, A. and Alnaib, A.(1983).

Photochemical and biological screening of some Iraqi plant. Fitoterapia ,Lix .299.

Jawest, E,; melink , J.K,and Adelbery, E.A. Entric gram negative microorganisms: the

protus providential group in review of medicl microbiology 16th edition

middleast edition . Beirut .London .

Jesmin A kter, A.M .masdul ,A zadchowdhury and mohammad Al farkan .(2014)

.study on prevalence and Antibiotic cresistance pattern of klebsiella isolated from

clincl sample in south Eastregion of Bangladaesh.

Jones . B.D.and mobley ,(1988).H.L.T. protuse mirabilis urease :genetic organization

regulation and expression df structural genes .J Bacterial .170(8):3392-3396.

John, L .(1998). Laboratory manual for the food microbiology laboratory ,

Bacteriology. Food science 324 at the university of Wisconsin-madison.

Kaijser,B.Nimmich .w.(1981). Immune electrophoretic pattern of klebsilla and

kantegins. Iut ,Archs Allergy A pp immune ,64:80-83.

Karim, F.M.and Qurran, S.A.(1986).medicinal plant of Jordan . Jordan natural History

museum. Center for Jordanian studies . published by Yarmouk university –irbid-

Jordan .

Kannaiyan moorthy , Thambidurai P.Raja.V:Belli T.S.Ponnusamy.v and Ncoruddin

.T.(2012) Antimicrobial activity and qualitative phytochemical analysis of panica

granatum Linn.(PER,CARP).Journal of medicinal plant Research vol.7(9).pp 474-

479.

Karou, D.; Savadago, A.; Canini, A. Yameogo, S.; Montesano ,C.;Simpore.J.;

Colizzi,V. and Traone , A.S.(2006). Antimicrobial activity of alkaloids from sida

acuta .AFR.J. Biotechnol.5(2):195- 200.

Krishnaian, D.: Devi ,T.; Bono .A.and sarbaitly , R.(2009).studies on phytochemical

constituents of six Malaysian medicinal plan. J.Med . plant Res.3(3):67-76.

Koneman ,E.W ;Allen , S.D; Janda ,W. M ,Schreckenberger ,P.C And

Winn,W.C.J.(1992).color Atlas and textbook of Diagnosise Microbiology – (4 th)

ed. J.B.Lippincott company.phidadelphia.

Lawal ,D.Bala,A; Aliyu,S.Y.and Huguma,(2013). Photochemical Screening and in

vitro Antibacterial studies of the Ethanolic Extract of citrus sinensis (linn). Pell

against some clinical Bacteria isolates . international journal of innovation and

Applied studies .pp.138-145.

Lara ,K., Mohamed .M, and constantan .F.D.(2009).the role of methanol extract of

Qurcus in fectoria bark in lipemia , glycemia gastric ulcer and bacterial growth

journal of medicinal plant Research vol. 2(4), pp.224-230.

Levason, W.and Jawatez , E.(2000).medical microbiology and Immunology

.Examination and board Review .bth ed McGraw-Hill, international Editions

.Health profestional series .

Lins, M.G. and silva ; G.A.(2000) diarrhea disease in hospitalized children importance

of the persistent diarrhea .J. pediatr . (Riode janero), 76(1): 37-93

Loomba , P. S,; Taneja, J. and Mishra, B. (2010). Methicillin and antibiotic resistant

Staph auras Hospitalized patient .J clob. infection Dis 3 (2): 275-283.

Macfadin , J.F, Biochemical test for identification of medical bacteria 3rd edition

.Lippincott Williams and wilkins 2000.

Maeda, H., (1996). Of microbial proteases in pathogenesis .microbial ,immune 4 (10)
:685 .

Marzouk,Z.,Neffati,A.,Marzouk,B.,Chraief,I.,Fathia,K.,Ghedira,L.C.and. Boukef,

K.(2003). Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of

Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. Journal of Food ,

Agriculture and Environment. 4(3&4):61– 65 .

Mendozal, and Wilkens .M, (1997). Antimicrobial study of resinoys exudates and of

diterbernoids and flavonoids isolated from some child J.Ethno pharmacy

158:85- 88.

Mills ,Edward ,jean. Jacques Duguoa,

Dauperri,Gideonkoren.(2006).Herbal medicines

inpregnancy and location-AnEvidence-Based Appreach,London and New York.

Nassem ullah , Javid ,A; Farhat .A.K. Muhammad . K;Arshed .H, inayat .U.R.Ziar.R.and Shafpatullah.A.(2012).proximate composition ,mineral content.

Antibacterial and antifungal activity Evaluation of pomegranate (punica granatum)

pell powder middle –East . J. of scientific Research 11(3):396-401.

Namdeo, A,G.(2007).plant cell elicitation for production of secondary metabolites

,Areview . Phcog .Rev. 1(1):69-79.

Nationl Digestive oisese information clearinghouse (NDDIC), (2007). Diarrhea.

National institute of Diabetas and Digestive and Kidney Disease National

institute OF health NIH publication No 72749.

Nychas , G.J.E. natural antimicrobial from plant . In:Gould,G.W.New method of food

preservation Academic and professional . London .pp. 58-89 (1995).

NCCLS.(2007). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.

Approved Standard - Seventh Edition .

Oran.S.A,and Raise ,A.(2000).Antimicrobial activity of Globular Arabica juba and

spach Globular alypuml.(Globule riaceae) Direst .par.Sci., 27 (1) :71-73.

Odunbaku . O. A. and Askidi, J .S.(2012).Antimicrobial effect of ethanol leaf extract

of selected medical plaint on some human pathogenic microbes .international

journal of science and Advanced technology .volume 2 No 4 :39-42.

Parikh ,J. and chanda ,S.(2007).in vitro antimicrobial activity and photochemical

analysis of some Indian medicinal plant . Turk ,J.Bio.13:53-58.

References المصادر

Perez, l., pauli ,M. and Bazequre.P.(1990).Antibiotic assay by the agar – well diffusion

method .Journal of Actabiology . 15: 113-115.

Quideau ,S .and felmank ,K.S.(1997). Ellagitannin chemistry . chem Rev.96:475-503.

Radostitis, O.M.; Gay, C.C.; Browd, D.C. and Hinchcliff, K.W.(2000). Veterinary

medicine. 9 th ed ., New york .

Raffauf , R.F.(1997). Plant alkaloids . a gnide to their discovery and distribution.

Haworth press, inc., New York ,London. 279pp.

Riordan J.the biological specificity of Brest Milk in Brest Feeding and Human

Lactation,Riodanj . jones and Bartlett publisher,Bosten 1990 .

Roberts ,I.D.; Stewart. R .and caserio . M.C.(1974). Organic chemistry. 14th ed. Addisowestry publishing co, California, P.864.

Saad, A.A.(2012). Antimicrobial properties (3) medical plant from Saudi Arabia .

Seeraw.N.P;Zhang,Y.;ReedJ.D.;Kruger,C.G;Vaya,J.Gil-IZq uierdo.A;Zafrilla.p(2002)

Tomis Barberin FA.An in vitro method to simulate phenolic compound relase

from the food matrix in the gastrontistinal tract.Euv.food Res.Technol.2002-

214,155-159.

Senath, P.H.A.; Mair,N.S.; Sharpe ,M.E. and Holet ,J.G.(1986). Bergys manual of

systemic Bacteriology .Vol.2. Williams and Wilkins. London.

Seeram,N.P., L;L. S.Adams,S.S. M.Henning , Y.Niu. Y.Zharg. M ;G,Nair and

D.Herler.(2005). Invitro ant proliferation apoptioc and antioxidant activates of

puni elegiac acid and a total pomegranate tannin extract are inn anted in

combination with other polpenols as found in pomegranate juice.J.nutr.

Biocne.16(6):360-367.

Shihata ,I.M.(1951).A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M, D. vet. Thesi

Cairo univ.

Shtayeh, M,S.A. and Abu-Ghdeib ,S.I.(1999). Antifungal activity of plant extract

against dermatopytes. J. Mycoses., 42:665-672.

Shyamkumar ,B.; Anjaneyuiu,C.and Giri,C.C.(2007). GeneticTransformation of

Terminalia chebula Retz.and detecation of Tannin in transformed tissue .

Current Science. 92(3):361-367.

Sibanda , T. and Okoh , A.I.(2007). The challenges of overcoming antibiotic resistant .

plant extract as potential sources of antimicrobial and resistant modifying

against . African .J. Biotechnol. 6(25) : 2886-2896.

Singer, A.C,; Crowley .D.E. and Thompsom, L.P.(2003). Secondary plant metabolites

in phytoremediation and Biotransformation. Trends in Biotechnology .

21(3):123-130.

Sulayman, K.D.(2000).antibacterial activity of the aqueous extract from the seeds of

trigonella foenumgaecum.J. Educ. and Sci.,46:11-16.

Suruwicz, ch.M.and . ochoa ,B.(2006). Diarrhea disease and Constipation in

Harrisons Principles or Internal medicine (15th ed) MC Graw-Hill companies inc.

Sokman,A;Jones,B. and Erturk, M.(1999).Antimicrobial activity of extract from cell

cultures of som Turkish medicinal plant phytotherapy Research,13:355-357.

Tahara, S.and Abraham. R.K.(1995).prenylated iso flavonoids an update. Phytochemistry. 38:1073-1094.

Tassuo ,C.C ; N.J. and Parry, G.M.(1996). The treatment of thyphoid fever,

Taiz,L. and Zeger, E.(2006). Plant physiology 4th. edition sinauer Associates in corporated, Sunderland ,Massachusetts .pp.315-344. secondary metabolites and plant defense.

Threlfall, E.J.; Ward. L.R.; Skinner, J.A. Smith, H.R. and Lacey, S. (1999). Ciprofloxacin resistant of *salmonella thyph* and treatment failure . the lancet , Colindale Avenue London Vol 353.

Tyler, V.E,; Brady , L.R. and Robert , J.E.(1988). Pharmacognosy. 9th .ed. Lea and febiger .philadephia.

Tynechaz ., Coze ,Z. (2000) . comparative studay of antibiotic resistant of S. pyogenes isolated from clinical and environment sample . J. tehn . Rep . 13 (3) : 165-169.

Usher, G.(1974). Dictionary of plants used by man. Constable, London.

Uwaezuoke, J.C. and Aririatu, L.E.(2004). A survey of antibiotic *Staphylococcus*

aureus strain from clinical sources An overview.J.APPL. Sci environ 8 (1):67-69.

Umebobiamiwa , L.Berkwitz .M,D.(2009). *Klebsiella* infection *Klebsiella SPP*

.Asnosocomail pathogenic : epidemiology , taxonomy .typing method ,and

pathogencity factor. Clin.microbicl . Rev., 11(4):589-630.

Vandepitte, J.; Engback, K.; P. and Heuck, C.C.(1991).Basic laboratory procedures in

clinical Bacteriology world Health organization .

Weinmanr ,I.(1997). History of development and applications of coumarin and

coumarin-related compounds inCoumarins ,Biology application and mode of

action , Ed by :Okenndy , R,; thornes ,R.D.; john Wiley and sons , INC .New

York. 9 : 298-302.

WHO, (1993). Summary of who guidelines for the manufacture of herbal medicinal

.who. thch, rep. ser. Geneva. 8:113-169.

Winks, M. and Schimmer, O.(1999). Modes of action of defensive secondary

metabolites .function of plant secondary metabolism SMS and their exploiton in

biotechnology . Annual plant Reviews. Pp.17-133.Sheffield Academic press.

Sheffield.

Xin-gup, H. and ursella ,M.(1994).Antifungal compounds from *Solamum nigrescens*,

J. Ethnopharm;43:173-177.

References المصادر

ابراهيم ,سعاد خليل ,الهام سعيد و عبد الله سوسن محمد(٢٠١٤) تأثير مستخلصات بذور الليمون الاسود فـــي

بعض انواع البكتريا المعزولة من اخماج العروق ٠مجلة بغداد للعلوم٠

ابراهيم, جهان بنت سعود بنت راشد (٢٠٠٨) تاثير عصير الرمان ضد البكتريا المسببة لالتهاب الجروح

الجبوري , علي عواد ومحمد عبد الله الراوي٠(١٩٩٤)٠ علم الأدوية الطبيعية , دار الكتاب والوثائق, بغداد٠

الجبوري ,علي جواد٠(١٩٩٣)٠ علم الأدوية الطبيعية ,العراق-بغداد ٠

الجوعاني, ايمان حسام محمد خلف . (2007) . استخلاص بعض المركبات الفعالة من نبات الكبر ودراسة فعالياتها

ضد البكتريا , رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة الانبار – العراق

الحاج يحيى ,توفيق (2003)النباتات الطبية و الطب البديل ٠الدار العربي للعلوم ,بيروت :422 صفحـــــــــة ٠

الحسيني , ايمن (١٩٩٧)٠ مختصرة داود ,مختصرة التذكرة وراي العلم الحديث ٠مكتبة ابن سينا للطباعـــة

والنشر والتوزيع ٠القاهرة

الحمداني ,رعد إسماعيل وأيوب ,مقداد توفيق٠(١٩٩٠)٠ الكيمياء العضوية المتقدمة جامعة الموصل٠

الدرويش , شافي مصطفى ٠(١٩٨٣)٠ موجز في علم العقاقير , وزارة الصحة , جمهورية العراق ٠

الراوي,خاشع ساطع٠(١٩٨٤)٠ الإحصاء الحياتي ٠جامعة الموصل, مطبعة وزارة التعليم العاليوالبحث

العلمي٠

السامرائي, سؤدد عبد الله محمد و أحسان شفيق النداوي (٢٠٠٤)٠ المقارنة بين المستخلصات النباتيةوالمضادات

الحيوية في التأثير على البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية ٠المجلة العراقيةللعلوم والتكنولوجيا,

المجلد١, العدد ١:١٩ -٢٨ ٠

الشحات , النصر أبو زيد ٠(٢٠٠٠)٠ الزيوت الطيارة , الدار العربية للنشر والتوزيع ,الطبعة الأولى, القاهرة ٠

الشحات , نصر أبو زيد (١٩٨٦)٠ النباتات والإعشاب الطبية ٠ دار البحار , بيروت ٠

الشحات , نصر أبو زيد ٠(١٩٩٢) ٠ النباتات الطبية والعطرية ومنتجاتها الزرعية والدوائية ٠
الدار العربية للنشر
والتوزيع , الطبعة الثانية ٠ القاهرة ٠

الشماع ,علي عبد الحسين ٠(١٩٨٩)٠ العقاقير وكيمياء النباتات الطبية , دار الكتب للطباعة والنشر,نينوى-
العراق ٠

الشيخلي , محمد عبد الستار , عبد الجليل , فريال حسن , العزاوي ,حسن فياض٠(١٩٩٣)٠
الكـــيمياء التحليلية ,
الجامعة المستنصرية ٠

الطائي ,ذكرى صديق ذنون ٠(٢٠٠٤)٠ التاثيرالبايلوجي لبعض المستخلصات النباتية وعدد من مـــــكوناتها
الفـــعالة في نمو جرثومة الاشريشةالكولونية الممرضة للامعاء المعزولة من حالات الاسهـــال لدى
الاطفال الرضـــعرسالة ماجستير ,كلية التربية ,جامعة الموصل – العراق

العابدي, سجى مهدي جابر (٢٠١٤) دراسة تاثير نباتي العفص والبنزهير على جرثومتي (الاشريشـــية
القولونـيـــة والكلابسيلا) المعزولة من مسببات الاسهال للاطفال ٠ كلية الطب البيطري ـــــ جامعة
القادسية ـــــ العراق٠

الغريب, نورتان عبد الصاحب ٠ (٢٠٠٠) ٠ دراسة مقارنة لفعالية مضادات حياتية مختارةتجاه بعض انواع

المكوراتالعنقودية ذات المقاومة المتعددة ٠ رسالة الماجستير, كلية التربية , جامعةالبصرة ٠

القاضي, عبد الله عبد الحكيم والرماح ,صفية محمد ٠(١٩٩٧) ٠ استعمالات بعض النباتات في الطبالشعبي

الليبي,الجزء الأول , الطبعة الخامسة , دار الكتب الوطنية بنغازي ٠

الكاتب , يوسف منصور ٠ تصنيف النباتات البذرية ٠ كلية الزراعة ٠جامعة بغداد- الطبعة الثانية , ٢٠٠٠ ٠

امان , محمد البسطويس (٢٠٠٠)٠ تركيب وحفظ الاغذية مكتبة المعارف الحديثة

المسيري , محمد فاضل سالم (٢٠٠٢)٠ دراسة بكتريولوجية وراثية وبائية عن بعض عصيات القولون المسببة

للإسهال في الاطفال في بعض مستشفيات عدن ,اطروحة دكتوراه, كلية العلوم – الجامعة المستنصرية

المنظمة العربية للتنمية الزراعية ٠(١٩٨٠) ٠ النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي , الخرطوم٠

حسين, فوزي قطب ٠(١٩٨١)٠ النباتات الطبية , زراعتها ومكوناتها ٠ دار المريخ للنشر ,الرياض-السعودية ٠

دلالي , باسل كامل والحكيم صادق حسن (١٩٨٧)٠ تحليل الأغذية , دار الكتب , جامعة الموصل ٠

ستاري ,فرانتشيكوجراسيك , فاكلاف٠(١٩٨٦) ٠ الأعشاب الطبية , ترجمة : سعد الدين , شروقمحمد كاظم

٠ الطبعة الأولى , دار الشؤون للثقافة العامة –وزارة الثقافة والأعلام -,بغداد –العراق ٠

سعد , شكري إبراهيم ٠ (١٩٧٧) ٠ نباتات العقاقير والتوابل مكوناتها فوائدها ,دار الفكرالعربي ,بيروت –لبنان ٠

سعد, شكري إبراهيم ٠(١٩٨٥)٠ نباتات العقاقير والتوابل مكوناتها وفوائدها , دار الفكر العربي , القـــــاهرة ٠

سعد الدين , شروق محمد كاظم ٠(١٩٨٦)٠ الأعشاب الطبية ,دار الشؤون للثقافة العامة , بغـداد ـــ العـــراق ٠

سركيس , جورج جوناثان والراوي , قاسم محمد وكاطع محمد(١٩٨٠) تشخيص المركبات العضوية بالطرق

الكمياوية ٠مطبعة جامعة بغداد٠

سليمان , داود والحليم ,صبا مؤيد سليمان ٠(٢٠٠٥)٠ دراسة التاثيرالتثبيطيلقشور ثمار الرمان ومادة التانينفي

بعض انماط السالمونيلا المعزولة من حالات الاسهال في مدينة الموصل ٠ مجلة التربية والعلوم ,كلية

التربية , جامعة الموصل ١٧(١) : ١٢-٢٨

شوفاليه , اندرو ((٢٠٠٣) ٠ الطب البديل : التداولي بالأعشاب والنباتات الطبية ٠اكاديميا انتر ناشيونال ,

بيروت- لبنان ٠

عبد الفتاح , باسم قيس سعيد ٠ (٢٠٠١) ٠ التأثير التثبيطيلراتنجالمستكي وبعض المشتقات الكوماريتية المحضرة

المصادر
References

محليا على بعض أنماط جنس السالمونيلا المعزولة من عينات سريريه ٠ رسالة ماجستير و كلية التربية ,

جامعة الموصل- العراق٠

عبد الله , رنا مجاهد , عبد الله اروى مجاهد ٠(٢٠٠٩)٠ دراسة تأثير الخلطي لمضادالسيفاتكسيم مع EDTA

على بعض انواع البكتريا المسببة لالتهاب الجروح ٠ مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة 16 (1) : 27-

٠ 102

عقيل ,محسن ٠(٢٠٠٦) ٠ صيدلية المنزل , مؤسسة دار المجتبى للمطبوعات , الطبعة الأولى ٠ بغداد٠

مجيد , بختيار رشيد والشطي صباح مالك حسين و عبد الكريم , علي حسين (١٩٩٨)٠ المحتوى الكيمائي للزعتر

وتأثير مستخلصة التثبيطي على بعض البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة الكرام ٠ مجلة البصرة للعلوم

الزراعية ٠ العدد (١) ٤١-٥٠ ٠

مجيد , سامي هاشم , مهند جميل ٠(١٩٨٨)٠ النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي ,

مركزبحوث علوم الحياة , مجلس البحث العلمي ٠

نجيب , ليث مصلح ٠(٢٠٠٧)٠انتاج البكتيروسينات من بكتريا حـامض اللبنيـك ودراسـة بعـض خواصه ٠اطروحة

دكتوراه٠كلية العلوم/ جامعة الانبار ٠