

## دراسة الفعالية المضادة للمايكروبات ومضاد اكسدة لمستخلص ازهار نبات العصفر ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* (خارج وداخل الجسم)

انتصار عبدالجبار شمخي\* و نهى حميد صادق\*\*

\*قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة تكريت \*\* قسم الإنتاج الحيواني - كلية الزراعة - جامعة تكريت

### الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لظهور الفعالية المضادة للمايكروبات ومضاد اكسدة لمستخلص ازهار نبات العصفر المائي ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*. الدراسة قسمت الى جزئين، الجزء الاول (خارج الجسم) والذي تضمن عزل وتشخيص البكتريا واختبار حساسية *P. aeruginosa* ضد المستخلص وبعض المضادات الحيوية. كانت نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلص ازهار نبات العصفر ضد البكتريا عالية حيث كانت منطقة تثبيط ذات قطر 40mm، بينما المضاد الحيوي الجينتاميسين اظهر منطقة تثبيطية ذات قطر 11ملم. ام المضاد الحيوي النيومييسين اظهر منطقة تثبيطية بقطر 5ملم في حين لم يظهر كل من التينتراسيكلين والنوفويابوسين اي منطقة تثبيطية تذكر ضد البكتريا. ام الجزء الاخر (داخل الجسم) فقد تم استخدام 20 من ذكور الجرذان البيض والتي قسمت بصورة عشوائية الى خمس مجاميع (كل مجموعة تحتوي 4 جرذان)، مجموعة السيطرة والتي جرعت بحمية طبيعية وماء فقط، المجموعة التي حققت تحت الجلد (بجرعة  $10^8$  CFU/ml) من البكتريا، المجموعة التي حققت تحت الجلد (بجرعة  $10^8$  CFU/ml) من البكتريا ومن ثم قد تم معالجتها بالجينتاميسين، المجموعة التي حققت تحت الجلد (بجرعة  $10^8$  CFU/ml) من البكتريا ومن ثم قد تم معالجتها بالنيومييسين، المجموعة التي حققت تحت الجلد (بجرعة  $10^8$  CFU/ml) من البكتريا ومن ثم قد تم معالجتها بمستخلص الازهار. اظهرت كل من مستويات كل من MDA، GSH و الكتاليز فروقات عالية المعنوية ( $P < 0.05$ ) في المجاميع المحقونة بالبكتريا ومعالجة بالجينتاميسين والمحقونة بالبكتريا ومعالجة بالنيومييسين مقارنة مع مجموعة السيطرة، بينما في المجموعة المحقونة بالبكتريا ومعالجة بالمستخلص كانت مستويات MDA، GSH و الكتاليز طبيعية. يستنتج من هذه الدراسة بان مستخلص ازهار نبات العصفر ذو فعالية تثبيطية ومضاد اكسدة ضد بكتريا *P. aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية:  
مايكروبات ، مضاد اكسدة ،  
العصفر .

للمراسلة:  
انتصار عبدالجبار شمخي  
البريد الالكتروني:

[Noosas\\_abd@yahoo.com](mailto:Noosas_abd@yahoo.com)

## Study The Antimicrobial and Antioxidant Activity of Safflower *Carthamus tinctorius* Extract Against *Pseudomonas aeruginosa* (Invivo & Invtro)

Intisar Abduljabbar Shamkhi\* and Nuha Hameed Sadiq\*\*

\*Biology Dept.- College of Sciences \*\*Animal Production Dept.- College of Agric.- Tikrit University

### ABSTRACT

**Key words:**  
Antimicrobial,  
Antioxidant Activity,  
Safflower, Against  
*Pseudomonas*  
*aeruginosa*.

**Correspondence:**  
Intisar A. Shamkhi

**E-mail:**  
[Noosas\\_abd@yahoo.com](mailto:Noosas_abd@yahoo.com)

The present study designed to show the antimicrobial and antioxidant activity of *Carthamus tinctorius* extract against *P. aeruginosa*. The present study was divided to two parts, the first part (invitro) including sensitivity test of *P. mirabilis* against extract and some antibiotics. Where, the results of inhibition efficacy of extract toward *P. aeruginosa* showed very high inhibition efficacy of extract, which reached to 40 mm, while, gentamycin showed inhibition zone reached to 11mm. Neomycin showed inhibition zone reached to 5mm. Tetracycline and Novobiocin showed without any inhibition zone. In the second part (in vivo) used 20 albino male rats that divide randomly to five groups (each group consist 4 rats), first group; control group administrated only normal diet and water, second group; injected subcutaneous with ( $10^8$  CFU/ml), third group; injected subcutaneous with ( $10^8$  CFU/ml) and treated with gentamycin, group injected subcutaneous with ( $10^8$  CFU/ml) and treated with neomycin, group injected subcutaneous with ( $10^8$  CFU/ml) and treated with safflower extract. The MDA, GSH and catalase levels showed

high significant changes ( $P < 0.01$ ) in groups; group injected with bacteria only; group injected with bacteria and treated with gentamicin and group injected with bacteria and treated with neomycin compare with control group. While, in group injected with bacteria and treated with safflower extract, MDA, GSH and catalase levels still normal. It was concluded from this study that the *Carthamus tinctorius* safflower extract has been antimicrobial and antioxidant activity against *P. aeruginosa*.

#### المقدمة:

تعرف بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* على انها بكتريا سالبة لصبغة كرام، غير مكونة للسبورات، هوائية المعيشة، متحركة، وتنتمي لعائلة Pseudomonadaceae. تتواجد هذه البكتريا في البيئات الرطبة والدافئة ويمكن عزلها بشكل طبيعي من التربة والمياه ومياه الصرف الصحي وكذلك احيانا من جلد البشر ( Mahabir وآخرون ، 2009 و Driscoll وآخرون ، 2007 ). تعرف بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بانها من على الغالب من مسببات المرضية المكتسبة والسبب الرئيسي في التهاب الرئتين المزمن في مرضى التليف الكيسي وغيرها ( Driscoll وآخرون ، 2007 ). اصبحت مقاومة هذه البكتريا للأدوية على نحو متزايد في اغلب المرافق الصحية وتشكل الاصابة بهذه البكتريا تحديا هائلا ضد العلاج بالمضادات الحيوية التقليدية (Imoeria وآخرون ، 2013 و Page و Heim ، 2009 ). يعود سبب ضراوة *P. aeruginosa* الى افراز العديد من المركبات منها exoenzyme S, haemolysin, exotoxin A, siderophores و phospholipase C, elastase, alkaline protease ( Woods وآخرون ، 2006 ، Mittal وآخرون ، 1997 ). كما وان لهذه البكتريا القدرة على انتاج نوعين من الصبغات الذائبة وهي الصبغة المتألقة البايوفيريدين والصبغة الزرقاء البايوسيانين، حيث تمتاز هاتان الصبغتان وخصوصا البايوسيانين بقابليته على خفض مستويات الكتاليز في الجسم ( Al-shamaa وآخرون ، 2011 ). كما وتمتاز هذه البكتريا بامتلاكها طبقة خارجية تحيط بها ذات تركيب مخاطي والتي تتكون بالأساس من متعدد السكر الخارجي المخاطي Mucoïd expolysaccharide والذي يلعب دورا مهما في حماية البكتريا من عملية البلعمة (phagocytosis) ( Nada و Salih ، 2009 ). تستخدم العديد من النباتات كعوامل علاجية في المجالات الطبية ومن بين هذه النباتات المستخدمة ضد العديد من الامراض هو نبات العصفور. يصنف نبات العصفور *Carthamus tinctorius* على انه ضمن عائلة asteraceae ( Siddiqi وآخرون ، 2009 ). ويعود أصل هذا النبات الى في بلدان جنوب اسيا وفي إيران والهند ومصر ( Punjanon وآخرون ، 2004 ). يمتاز نبات العصفور بامتلاكه خواص علاجية مختلفة حيث يستخدم مع العديد من الامراض والحالات المرضية منها امراض القلب، الام المفاصل، مضاد التهابات، مضاد اورام ويستخدم ايضا في الاضطرابات العصبية ( Maleki ، 2015 ). كما وذكرت بعض البحوث بان لنبات العصفور خواص مضاد بكتيري ضد بعض الانواع السالبة والموجبة لصبغة كرام ( Qazi وآخرون ، 2013 ، Shahidi ، 2004 ). لذلك صممت هذه الدراسة لغرض الكشف عن قدرة مستخلص ازهار نبات العصفور كمضادة اكسدة ومضاد بكتيري ضد بكتريا *P. aeruginosa*.

#### المواد وطرائق العمل :

#### جمع البكتريا Bacteria collection

تم جمع عينات البكتريا في مستشفى الجمهوري في كركوك بين شهر اب وشهر تشرين الاول لعام 2016 ومن مواقع مختلفة من الجسم كما مبين في الجدول (1):

جدول (1): يوضح نوع وعدد العينات مع عدد ونسب العزلات في الدراسة الحالية

نوع العينات	عدد العينات	عدد العزلات	نسبة العزلات (%)
البلغم Sputum	11	4	36.4%
الادرار Urine	15	5	45.4%
الخروج Feces	9	-	0%
الجروح Wounds	6	2	18.2%

## الزراعة Cultivation

تم اختيار العزلات التي تم جمعها من عينات البلغم والادرار والخروج والجروح وبعدها تم تمييزها على اوساط اكار الدم Blood agar ووسط ماكونكي اكار MacConkey agar ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م<sup>0</sup> لمدة 24 ساعة.

## التشخيص Identification

تم اجراء عدة فحوصات على العزلات لغرض التأكد من نوع البكتريا ولغرض اجراء اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية والمستخلص النباتي خارج وداخل الجسم. الصفات المظهرية كشكل وحجم وكثافة نمو المستعمرات قد تم تسجيلها. وكما تم اجراء الفحوصات الكيميائية واختبار API 20E لغرض تشخيص *P. aeruginosa* حسب طريقة Holt وآخرون (1994) كما مبين في جدول (2).

جدول (2): الاختبارات البايوكيميائية لغرض تشخيص بكتريا *P. aeruginosa*

الاختبارات الكيميائية	النتائج
انتاج الاندول Indole production	سالب
اختبار الميثيل الاحمر Methyl red test	سالب
VogesProskauer	سالب
اختبار انزيم الاوكسيديز Oxidase test	موجب
استخدام السترات Citrate utilization	موجب
اختبار انزيم الكاتاليز Catalase test	موجب

## اختبار الحساسية Antimicrobial susceptibility test

اجري اختبار الحساسية تم للعزلات التي تم الحصول عليها من عينات الادرار، لكثير الاصابات في الجهاز البولي، حيث تم الاختبار باستخدام وسط Mueller hinton agar وباستخدام طريقة انتشار الأقراص disc diffusion method (Lighner ، 1996 ) ، حيث اختبرت حساسية البكتريا ضد كل من المستخلص والمضادات الحيوية والتي شملت (Gentamycin (10 ug)، Neomycin (30ug)، Tetracycline (10ug) و Novobiocin (30ug).

## الحيوانات Animal

استخدم 20 ذكر جرد بالغ (معدل وزن 200-250غم، وبمعدل عمر 6-8 اشهر) في هذه الدراسة حيث تم الحصول على الجرذان من معمل ادوية سامراء لتجهيزات الطبية-العراق. تم حفظ الجرذان في اقفاس من الالمنيوم وفي ظروف بيئية ملائمة وتم التأكد من سلامتها من اي اعراض مرضية ظاهرية تذكر .

## تحضير المستخلص Extract preparation

استخدمت ازهار نبات العصفور *Carthamus tinctorius* في هذه الدراسة، حيث تم طحن الازهار وتحويلها الى مسحوق ومن ثم تم اذابت المسحوق (Powder) في 100مل من الماء المقطرز تم وضع المزيج بجهاز الطرد المركزي (4000 دورة/بالدقيقة) بعد ذلك تم اخذ الراشح وتسخينه لمدة 60 دقيقة. تم ترشيح الخليط ثم وضع في الحاضنة incubator (بدرجة حرارة 50 ولمدة 20 دقيقة) بعدها جمع الراسب وحفظ بدرجة حرارة 4°C لحين الاستعمال (Mirboseini ، 2012).

## تصميم التجربة Experimental design

قسمت ذكور الجرذان البالغة المستخدمة في هذه الدراسة الى خمس مجاميع بصورة عشوائية (كل مجموعة تحتوي على 4 ذكور) كما يلي:

1. المجموعة الاولى: مجموعة السيطرة حيث اعطيت هذه المجموعة الحمية الغذائية وجرعة بالمحلول الملحي المنظم.
2. المجموعة الثانية: حقنت الجرذان (تحت الجلد) بجرعة  $10^8$  CFU /ml من البكتريا. بعد التأكد من الاصابة تم تشريحها.

3. المجموعة الثالثة: حقنت الجرذان (تحت الجلد) بجرعة  $10^8$  CFU/ml وتم معالجتها بالمضاد الحيوي Gentamycin لمدة 21 يوم بشكل جرعة فموية واحدة يوميا.
4. المجموعة الرابعة: حقنت الجرذان (تحت الجلد) بجرعة  $10^8$  CFU/ml وتم معالجتها بالمضاد الحيوي Neomycin لمدة 21 يوم بشكل جرعة فموية واحدة يوميا.
5. المجموعة الخامسة: حقنت الجرذان (تحت الجلد) بجرعة  $10^8$  CFU/ml وتم معالجتها بمستخلص ازهار نبات العصفور (100mg) لمدة 21 يوم بشكل جرعة فموية واحدة يوميا.

### جمع عينات الدم Blood samples collection

جمعت عينات الدم بعد تخدير الجرذان بطريقة الوغز القلبي (Cardiac puncture) وباستخدام حقنة معقمة ثم وضعت عينات الدم في انابيب الاختبار البلاستيكية وتركت لمدة نصف ساعة لغرض تخثر الدم، بعد ذلك، وضعت الانابيب الحاوية على عينات الدم في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 4000 دورة/دقيقة ولمدة 10د. ثم تم جمع المصل وحفظه لحين الاستعمال.

### عوامل الجهد التأكسدي Oxidative stress factors

تم قياس مستويات (MDA) malondialdehyied استنادا على التفاعل اللون مع thiobarbituric acid (TBA) باستخدام جهاز امتصاصية الطيف (Mahmood ، 2010 ) ، مستويات الكلوتاثيون (GSH) تم تقديرها عن طريق مزج عينات المصل مع المحلول المنظم وإضافة DTNB ثم قراءة الخليط باستخدام جهاز قياس امتصاصية الطيف (Mahmood واخرون ، 2015 ) ، ام الكتاليز فقد تم قياس مستويات الانزيم حسب الطريقة المذكورة مع العدة التشخيصية Biovision-USA kits.

### التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم تحليل البيانات باستخدام برنامج المنى تاب Minitab program. والذي يعتمد على نظام الانوفا احادي الاتجاه (ANOVA) بتحليل البيانات. و عرضت البيانات بشكل المعدل  $\pm$  الخطا المعياري وعلى مستوى  $P < 0.05$ . الحروف المتشابهة تعني عدم وجود اختلافات معنوية والحروف المختلفة تعني وجود اختلافات معنوية

### النتائج Results

#### اختبار الحساسية susceptibility test

اظهرت نتائج الدراسة الحالية للفعالية التثبيطية لكل من المستخلص والمضادات درجات متفاوتة ضد البكتريا. حيث كانت اعلى فعالية تثبيطية هي لمستخلص ازهار العصفور حيث وصل قطر منطقة التثبيط 40ملم في حين اظهر المضاد الحيوي الجينتاميسين منطقة تثبيطية ذات قطر 11ملم. اما المضاد الحيوي النيوميسين اظهر منطقة تثبيطية بقطر 5ملم في حين لم يظهر كل من النيتراسيكلين والنوفوبايوسين اي منطقة تثبيطية تذكر ضد البكتريا كما موضح في الصورة (1).

#### عوامل الجهد التأكسدي oxidative stress factors

اظهرت نتائج الدراسة الحالية اختلافات عالية المعنوية  $P < 0.05$  في قيم عوامل الجهد التأكسدي حيث كانت نتائج كل من MDA، GSH و الكتاليز ( $2.57 \pm 0.25$ ،  $0.447 \pm 0.03$  و  $0.51 \pm 0.03$  على التوالي) في المجموعة المحقونة بالبكتريا ذات فروقات عالية المعنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة ( $1.27 \pm 0.06$ ،  $0.727 \pm 0.04$  و  $1.06 \pm 0.05$  على التوالي). كانت مستويات كل من MDA، GSH و الكتاليز ( $2.83 \pm 0.21$ ،  $0.383 \pm 0.05$  و  $0.46 \pm 0.04$  على التوالي) في المجموعة المحقونة بالمضاد الحيوي الجينتاميسين ذات فروقات عالية المعنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة. مستويات كل من MDA، GSH و الكتاليز ( $2.63 \pm 0.45$ ،  $0.38 \pm 0.03$  و  $0.44 \pm 0.05$  على التوالي) في المجموعة المحقونة بالبكتريا والمعالجة بالمضاد الحيوي النيوميسين ذات فروقات عالية المعنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة. لكن في حالة استخدام مستخلص ازهار نبات العصفور فقد اظهرت مستويات كل من MDA، GSH و الكتاليز ( $1.43 \pm 0.06$ ،  $0.74 \pm$

0.07 و  $1.07 \pm 0.11$  على التوالي) عدم وجود اي فرروقات عالية تذكر مقارنة مع مجموعة السيطرة كما موضح في الجدول (3).



صورة (1): توضح اختبار الحساسية البكتريا ضد المستخلص (X)،  
(TE) Tetracycline، (N) Neomyci، (CN) Gentamycin  
و (NV) Novobiocin.

جدول (3): قيم كل من MDA، GSH و الكتاليز (Cata) في مصل ذكور الجرذان

Cata (mmol/l)	GSH (mol/l)	MDA (mmol/l)	المعايير المجاميع
$1.06 \pm 0.05$ a	$0.727 \pm 0.04$ a	$1.27 \pm 0.06$ b	السيطرة
$0.51 \pm 0.03$ b	$0.447 \pm 0.03$ b	$2.57 \pm 0.25$ a	البكتريا
$0.46 \pm 0.04$ b	$0.383 \pm 0.05$ b	$2.83 \pm 0.21$ a	البكتريا + الجينتاميسين
$0.44 \pm 0.05$ b	$0.38 \pm 0.03$ b	$2.63 \pm 0.45$ a	البكتريا + النيوميسين
$1.07 \pm 0.11$ a	$0.74 \pm 0.07$ a	$1.43 \pm 0.06$ b	البكتريا + المستخلص

## المناقشة Discussion

اظهرت نتائج الدراسة بما يخص الجزء خارج الجسم لفعالية المستخلص النباتي والمضادات الحيوية التثبيطية ضد بكتريا *P. aeruginosa*. حيث كانت النتائج تشير الى قدرة مستخلص ازهار نبات العصفور على تكوين أكبر منطقة تثبيط وصلت الى 40 ملم مقارنة مع المضادات الحيوية التي اختلفت من المضاد الحيوي الجينتاميسين الذي اظهر منطقة تثبيطية ذات قطر 11ملم. اما المضاد الحيوي النيوميسين اظهر منطقة تثبيطية بقطر 5ملم في حين لم يظهر كل من النيتراسيكلين والنوفوبايوسين اي منطقة تثبيطية تذكر ضد البكتريا. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع Qazi وآخرون (2013) الذي اشار الى امتلاك مستخلص ازهار نبات العصفور خاصية مضاد بكتيري. حيث وجد الباحث وجماعته بان لمستخلص ازهار نبات العصفور فعالية تثبيطية ضد انواع مختلفة من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام ومن هذه الانواع *Klebsiella sp*، *E. coli*، *B. pumilus*، *Tetrad*، *Staphylococcus sp.* و *S. aureus*. وفي دراسة اخرى على قدرة الجينتاميسين والنيوميسين على تثبيط نمو فقد تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج Rammo (2014) الذي صمم تجربة تضمنت اختبار

حساسية *P. aeruginosa* ضد بعض المضادات الحيوية منها الجنتاميسين والنيوميسين. وجد البحث قدرة هذان المضادان على تثبيط نمو البكتريا ولكن بمستويات اقل من باقي المضادات المستعملة بالتجربة. وفي دراسة اخرى صممت من قبل Abd Al-Rubai (2013) لغرض الكشف عن حساسية *P. aeruginosa* ضد مجموعة من المضادات الحيوية منها الجنتاميسين، وجد الباحث بان قطر المنطقة التثبيطية لمضاد الجنتاميسين قد وصلت 7 ملم وقد كان ضمن المضادات ذات التأثير المتوسط على بكتريا *P. aeruginosa* وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية.

بما يخص الجزء داخل الجسم فقد تم اخذ جوانب تأثير البكتريا على عوامل الجهد التأكسدي حيث لوحظ ارتفاع في مستويات MDA وانخفاض في مستويات الكلوتاثيون والكتاليز في الجرذان المحقونة بالبكتريا. في دراسة Rifaioglu واخرون (2013) لغرض الكشف عن مستويات MDA و GSH على مستوى انسجة الجسم وجد الباحث بان مستويات عوامل الجهد التأكسدي في انسجة الجرذان المعاملة ببكتريا *P. aeruginosa* تغيرات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة. و اشار الباحث الى ان البكتريا تعمل على تحطيم الانسجة والارتفاع في مستويات الجذور الحرة في الانسجة. في حالة استعمال المضاد الحيوي الجنتاميسين في المعالجة لم يظهر اي تحسن يذكر على مستوى تحسين مستويات عوامل الجهد التأكسدي، حيث اشار الباحث Ghafil واخرون (2012) الى ان المضاد الحيوي الجنتاميسين يعمل على احداث تأثيرات سلبية على مستويات عوامل الجهد التأكسدي. حيث في تجربته وجد الباحث وجماعته بان الجنتاميسين يعمل على رفع مستويات MDA في الجرذان مقارنة مع مجاميع السيطرة. في دراسة اخرى قام بها Reddy واخرون (2011) لغرض الكشف عن تأثير الجنتاميسين على عوامل الجهد التأكسدي. وجد الباحث وجماعته انخفاض مستويات الكلوتاثيون في الجرذان المعاملة بالجنتاميسين مقارنة مع مجموعة السيطرة، وهذا يطابق نتائج الدراسة الحالية. ام بخصوص نبات العصفور فقد اظهرت النتائج الدراسة الحالية امتلاك النبات خاصية مضادة اكسدة وتطابق النتائج الحالية مع دراسة Maneesai واخرون (2016) اللذان اشارا الى امتلاك نبات العصفور صفة مضاد اكسدة. حيث قام الباحث وجماعته بتجريب الجرذان بمادة (N-Nitro-L-arginine methyl ester) L-NAME ولاحظ ارتفاع في مستويات MDA مقارنة مع مجموعة السيطرة ولكن عند معالجة الجرذان المعاملة بمادة L-NAME اكتشف الباحث انخفاض في مستويات MDA وعدته الى الحدود الطبيعية ولم يكن هناك فروق معنوية مع مجموعة السيطرة [24]. وفي دراسة اخرى قام بها الباحث Thammer واخرون (2014)، اشار الى دور مستخلص نبات العصفور كمضاد اكسدة فعال حيث بعد تجريب الجرذان بعقار دوكسورايبسين لاحظوا ارتفاع في مستويات MDA وانخفاض مستويات GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة ولكن بعد استخدام مستخلص نبات العصفور وجدوا بان مستويات كل من MDA و GSH عادت الى الحدود الطبيعية. وقد اعز الباحث وجماعته هذه النتائج الى امتلاك نبات العصفور صفة مضاد اكسدة وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية.

#### المصادر :

- Abd Al-Rubai, M. G. (2013). The relationship between the site of infection and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* experimental infection in mice. *J. Vet. Med.* 37(2):284 - 293.
- Al- Shamaa, S. D., Shababa A. B. and Nareman S. N. (2011). Production of Extracellular Pigments as a Virulence Factor of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bas. Edu. Res.* 11(2): 689-697.
- Driscoll, J. A., Brody S. L. and Kollef M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J. Drugs* 67(3):351-368.
- Ghafil, F. A., Fatimah A. and Seher A. (2012). Assessment of Nephroprotective role of Irbesartan against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 3(2): 54-60.
- Holt J.G, Krieg N.R, Sneath PHA, Staley J.T, Williams S.T. "Bergey,s manual of determinable bacteriology" 9th ed . William and Wilkins, Baltimore. 1994.
- Imperia, F., Francesco M., Marcella F., Emanuela F., Daniela V., Livia L., Alessandra B. and Paolo V. (2013). Repurposing the antimycotic drug flucytosine for suppression of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity. *J. PNAS.* 110(18): 7458-7463.
- Ligthner, D. V.. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultural Penaeid Shrimp.section 4. World Aquaculture Society, Baton Rouge,Louisiana, USA.1996.
- Mahabir, E., Bulian D., Bensch S. and Schmidt J. (2009). Elimination of *P. Aeruginosa* in Mice by Treatment with Chlorine, and the use of Microbiological and PCR Analyses. *J. Lab. Anim. Sci.* 36 (4): 355-361.
- Mahmood, B. M., Nahi Y. Y. and Fawzi S. (2015). Investigating the influence of emitted Cadmium from crude oil combustion on glutathione level in workers at Al- Qudis power plant, Baghdad. *J. Sci.* 55(4):1792-1801.



- Mahmood, N. A. (2010). Glutathion-S- transferase Enzyme and Malondialdehyde (MDA) in Colorectal Cancer and in Healthy Control. *J. Can. Med. Gen.* 3(1): 21-26.
- Maleki, S. A. (2015). Effect of ethanolic extract of Safflower on naloxone-induced morphine withdrawal signs in mice. *J. Adv. Her. Med.* 1(4): 9-15.
- Maneesai, P., Patoomporn P., Sarawoot B., Upa K., Veerapol K., Panot T., Parichat P. and Poungrat P. (2016). Synergistic Antihypertensive Effect of *Carthamus tinctorius* L. Extract and Captopril in L-NAME-Induced Hypertensive Rats via Restoration of eNOS and AT1R Expression. *J. Nutr.* 8(122): 1-14.
- Mirhoseini, M., Masoomeh M. and Layasadat K. (2012). Toxic effects of *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) extract on mouse spermatogenesis. *J Assist Reprod. Genet.* 29:457-461.
- Mittal, R., Rakesh K. K., Varsha G., Mittal P.K. and Kusum H. (2006). Phenotypic characters of urinary isolates of *Pseudomonas aeruginosa* & their association with mouse renal colonization . *J. Med. Res.* 123: 67-72.
- Page M. G. and Heim J. (2009). Prospects for the next anti-*Pseudomonas* drug. *J. Curr. Opin. Pharmacol.* 9(5):558-565.
- Punjanon T, Arpornsuwan T, Klinkusoom N. The pharmacological properties of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Bull of Health Sci and Tech.* 2004; 7: 51-63.
- Qazi, N., Rafeeq A. K., Yasmeen F. K., Pardeep K. and Ghazala H R. (2013). Antibacterial activity of *Carthamus tinctorius* L. against bacterial isolates. *J. Antim.* 128: 172-176.
- Rammo, R. N. N. (2014). Evaluation of some antibiotics in combination activity against Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Nah. Uni. Sci.* 17(4): 174-179.
- Reddy, V. C., V. Amulya C. H., Anusha L., Bala P. R., D. Pratima, Thirupathi A. T., Kumar, K. P. and Sengottuvelu S. (2011). Effect of simvastatin in gentamicin induced nephrotoxicity in albino rats. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 5(1): 36-40
- Rifaioğlu M.M., Nacar A., Yuksel R., Yonden Z., Karcioğlu M., Zorba O.U., Davarci I. and Sefil N.K. (2013). Antioxidative and Anti-inflammatory Effect of Thymoquinone in an Acute *Pseudomonas* Prostatitis Rat Model. *J. Urol. Int.* 91(4): 474-481.
- Salih, D. S., Khalid A. H. and Nada S.R. (2009). Biological & Immunological Effect of Ozonated Water on Certain Skin Pathogenic Bacteria In vivo. *J. Bag. Sci.* 6(4): 654-665.
- Shahidi B., 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. *Journal of Ethno pharmacology*, 94, 301-305.
- Siddiqi EH, Ashraf M, Hussain M, Jamil A. 2009. Assessment of intercultivar variation for salt tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using gas exchange characteristics as selection criteria. *Pak J Bot*, 41: 2251-2559.
- Thammer, M. R., Khalil D. and Hamad, M. N. (2014). The possible protective effect of *carthamus tinctorius* methanolic extract against doxorubicin induced cardiac toxicity in rats. *J. Pharma. Glo.* 5(4): 1-4.
- Woods D. E., Lam J. S., Paranchych W., Speert D. P., Campbell M. and Godfrey A. J. (1997). Correlation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors from clinical and environmental isolates with pathogenicity in the neutropenic mouse. *Can J Microbiol.* 43 : 541-51.