

## Effect of aqueous extracts of plants in a group of bacteria that cause diarrhea

### تأثير المستخلصات المائية لمجموعة من النباتات في البكتيريا المسببة للإسهال

د. علي حسين مكي الكبيسي      د.ستار جاسم حنروش الراجحي      م.م. اسراء كاظم شناوة  
كلية طب الاسنان/ جامعة كربلاء      كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء      كلية العلوم / جامعة كربلاء

#### الخلاصة:

تمت دراسة حساسية البكتيريا للمستخلصات المائية المغلية والمبردة لخمسة انواع من النباتات مستخلص نبات الشاي (*TheaSinensis*) ومستخلص نبات الخباز (*Malvapazvifloza*) والمستخلص الاخير خليط من ثلاثة نباتات هي (الحبة السوداء (*Nigella staiva*) والثوم (*Allium staivum*) والنومي بصرة (*citrus aurantifolia*) واستعملت المستخلصات المائية المغلية والمبردة للنباتات عند التركيز 250 , 500 , 1000 / ملغم/مل. واستعملت طريقة الانتشار بالأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية في اختبار حساسية هذه البكتيريا *Escherichia coli* و *salmonella* و *shigella* المسببة للإسهال للفئات العمرية المختلفة لوحظ ان المستخلص المائي لخليط ( النومي بصرة والثوم والحبة السوداء) له تأثير مثبت واضح من خلال قطر منطقة التثبيط (ملم) في نمو البكتيريا المدروسة .

#### Abstract

Sensitivity of the bacteria have been studied fo extract boiled and cooled water for five types of plants, plant extracts tea (*TheaSinensis*) and The baker (*Malvapazvifloza*) and the plant extract is amixture of the last three plants are (*Nigella staiva*) , (*Allium staivum*) and (*citrus aurantifolia*) . Extracts used boiled and cooled water to plants when you concentration (250 , 500 , 1000 ) mg / ml . The disk diffusion method used saturated with plant extracts according to the method to test the sensitivity of bacteria (*E.coli* , *salmonella* , *shigella*) . that cause diarrhea for different age groups has been observed that the aqueous extract of mixture(*citrus aurantifolia* ,*Allium staivum* , *Nigella staiva*) . Has a clear inhibitory effect through inhibition zone diameter in the growth of bacteria studied .

#### المقدمة :-

ان الاسهال ناتج عن الاصابة بالمسببات الحياتية او غير الحياتية ويتمثل بزيادة عدد مرات التغوط انتاج غائط سائل او شبه سائل مما يؤدي الى فقدان السوائل والايونات متسبباً بحالة الجفاف ولزوجة الدم [1] تعد *Escherichia coli* الممرضة للأمعاء *Enterpoathogenic E. Coli* (EPEC) احد المسببات الرئيسية للإسهال لدى الاطفال في كثير من البلدان النامية . [2] وبكتيريا السالمونيلا *Salmonella* لها القدرة على احداث التهابات معوية وتعد *S.typhimurium* من اهم السلالات المصلية المسببة للالتهاب المعوي الحاد [3] اما بكتيريا *Shigelladysenteriae* يتميز هذا النوع من البكتيريا بمقاومته العالية للمواد الكيميائية ( المعقمات والمطهرات) والعوامل الفيزيائية ( الحرارة , الرطوبة , الجفاف) [4] .

كذلك تميز هذه البكتيريا بمقاومتها للعديد من المضادات الحياتية كونها تمتلك آليات مختلفة تساعد على المقاومة منها انتاج انزيمات قادرة على تحوير جزئية المضاد الحيوي الى مادة غير فعالة وكذلك تغير موقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد الحيوي وغيرها من الآليات التي تسبب فشل المضادات الحياتية في القضاء على الاصابة المتسببة عن هذه الانواع البكتيرية مما دعا المختصين للبحث عن مصادر جديدة للمضادات المايكروبية تستعمل بوصفها بدائل عن المضادات التقليدية [5] وان ظهور وانتشار المقاومة للمضادات الحيوية دفع كثيراً من الباحثين في مجال الاحياء والكيمياء الى التوجه الى ايجاد مواد بديلة مضادة للبكتيريا بشكل عام ومن هذه المواد النباتات الطبية لما تحويه من المواد الفعالة المضادة للبكتيريا وهذا ما اكدته العديد من الدراسات [6] و [7] مما دفع الباحثين الى التوجه لدراسة تأثير النباتات الطبية وفصل مكوناتها الفعالة اذ تحتوي النباتات الطبية على مواد كيميائية خاصة ومن اهم هذه المواد هي القلويدات *Alkaloides* , *Glycosides* , والزيوت والدهون الخفيفة والمواد الكربوهيدراتية *Carbohydrates* والزيوت العطرية او الطيارة والراتنج *Resin* والتانين *Tannin* والصمغ *Gum* والفينولات *Phenols* الصايونين *Saponins* [8] .

تمثلت المصادر الجديدة بأستعمال النبات الطبيعية كمضادات ماكروبية ومنها استعمال نبات الشاي *TheaSinensis* لما يمتلكه هذا النبات من مجاميع فعالة ذات اهمية علاجية , اذ يستعمل الشاي في العديد من الاستعمالات العلاجية , ان تناول الشاي يحمي من الاصابة بالسرطان وانه يفيد في علاج حالات الاسهال والتهابات المجاري البولية والخراجات لاحتوائه على المادة القابضة (التانين) [9] وهو ذو فعالية تثبيطية عالية ضد البكتيريا الموجية لصبغة كرام والفطريات والبكتيريا المسببة لأمراض النبات وذلك لأحتوائه على مادة الفلافونول [10] .

اما نبات النومي بصرة او يسمى نبات البنزهير *Citrus aurantifolia* فأن عصير النومي بصرة يمنع نمو خميرة *candida* , *albicans* وكذلك يستخدم في علاج الامراض الجلدية والاغشية المخاطية وفي حالة التهاب الحويض والكلية [11] اما نبات

الحبة السوداء *Nigella Sativa* اشارت دراسات عديدة الى امكانية استعمال بذور الحبة السوداء ومستخلصاتها المائية والكحولية في علاج الامراض الالتهابية الناتجة من انواع عديدة من البكتريا اذ ظهر تأثيرها مع المضادات الحيوية ضد انواع مختلفة من البكتريا السالبة الموجبة لصبغة كرام [12] , [13] يستعمل نبات الثوم *Allium Sativum* في العديد من الاستعمالات العلاجية منها خفض ضغط الدم وخفض المستوى العالي للكولسترول في الدم كذلك يعمل كمضاد للتجلط Anticoagulant , كما يعمل الثوم على طرد الديدان المعوية وتثبيط نمو طفيلي اميبا الزحار والجيارديا , كما يمتلك الثوم فعالية عالية ضد نمو الفطريات والبكتريا , وهو ذو تأثير مانع لنمو العديد من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام [14] و [15] .  
اما نبات الخباز *Malvapazvifloza* ذو فعالية عالية جداً في قتل الديدان الطفيلية المعوية التي تعيش في الجهاز الهضمي للإنسان ولاسيما ديدان الاسكارس والانكلستوما [16] .  
الهدف من الدراسة هو اختبار حساسية المستخلصات النباتية بثلاثة اجناس بكتيرية مسببة للاسهال .

### المواد وطرائق العمل :

جمعت اوراق النباتات التالية الشاي , والثوم , والنومي بصرة , والحبة السوداء , والخباز من الاسواق المحلية وبعد التجفيف سحقت وحضرت المستخلصات المائية حسب طريقة [17] . بعدها اخذ 100غم من مسحوق كل نبات ووضع كل منها في دورق زجاجي سعة 500 مل حاوي على 200 مل من الماء المقطر المغلي مع الخلط لمدة 15 دقيقة وترك الدورق ومحتوياته لمدة 30 دقيقة يبرد ثم رشح المحلول خلال قطعة قماش نظيفة ووضع الراشح في جهاز الطرد المركزي (3000 دورة /دقيقة لمدة عشرة دقائق ) ثم اخذ الراشح ووضع في قناني زجاجية ووضع في فرن كهربائي بدرجة حرارة 70م لتجفيف المستخلص وبقاء المادة الصلبة , ثم اخذ وزن من المادة الصلبة لتحضير التراكيز المطلوبة لاختبار تأثيرها كما مبين من قبل الموسوي [18] وتم تحضير هذه التراكيز لثلاثة مستخلصات نباتية المستخلص الاول هو خليط ( النومي بصرة والحبة السوداء والثوم ) والثاني مستخلص الشاي والثالث مستخلص الخباز لتراكيز (250 و 500 , 1000/مل) حسب طريقة [19] .  
استخدمت طريقة الانتشار بالاقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية واتبعت هذه الطريقة حسب ما ذكره [20] حضر عدد من الاقراص بقطر 6 ملم باستخدام ورق ترشيع نوع What. Man. No.1 قسمت الاقراص الى مجاميع بواقع 10 اقراص لكل مجموعة في قنينة زجاجية محكمة الاغلاق vail وعقمت بالفرن الكهربائي بعدها اضيف 0.1 مل من التركيز الاول 250ملغم/مل الى احد القناني الحاوية 10 اقراص معقمة وتركت حتى اتمام تشرب الاقراص بالمستخلصات لمدة 24-48 ساعة وكررت العملية نفسها مع بقية التراكيز (500,000/ملغم) وفي الوقت نفسه حضرت قناني تحتوي اقراص مجموعة السيطرة المشبعة بالماء المقطر المعقم وباقي المذيبات المستخدمة في عملية الاستخلاص وحفظت القناني المحتوية على الاقراص المشبعة بالمستخلصات بدرجة 20 م لحين الاستعمال . نقل 0.1 مل من العالق البكتيري الى الوسط (Muller Hinton) ونشر على سطح الطبق باستخدام الناشر وتركت الاطباق بوضع مستوي لمدة 30 دقيقة لضمان التشرب الكامل للعالق البكتيري في الوسط , نقلت اربعة اقراص للطبق الواحد لكل تركيز ولكل مستخلص ولكل نوع نباتي وفي الوقت نفسه شبعت اقراص السيطرة غير المعاملة بالمستخلصات النباتية والتي عوملت بالمذيبات المستخدمة في عمليات الاستخلاص على طبق نفسه الملقح بالبكتريا المدروسة , حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 18 ساعة تم قياس طر منطقة التثبيط inhibition zone ملم بواسطة المسطرة .

### النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الجدول (1) حساسية بكتريا *Escherichia Coli* المسببة للاسهال لتراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطر الدائرة المثبطة (ملم) .  
فقد لوحظ أن للمستخلص المائي لخليط (النومي بصرة + الثوم + الحبة السوداء) تأثيراً مثبطاً واضحاً في بكتريا الاشريشيا القولونية وهذا يتفق مع ما سجله [21] أن للمستخلص المائي الحار لبصلات الثوم ذات تأثير مثبط واضح لتركيز 1000ملغم/مل بدلالة قطر الدائرة المثبطة وكذلك يتفق و ما سجله [22] اذ ان الثوم يحتوي على مواد فعالة لها تأثير ضار للأحياء المجهرية ومنها [23]Allicin كذلك يستعمل الثوم لحفظ وإطالة مدة حفظ بعض الأغذية من غزو الأحياء المجهرية لاحتوائه على مواد كيميائية تؤثر في هلاك البكتريا [24] ولأن نسبة الثوم الموجودة بالخليط المستخدم كانت ذات فعالية عالية في القضاء على البكتريا *Escherichia Coli* وقد أثبتت البحوث أن الثوم يحتوي على مركبات كيميائية عديدة ومنها الزيوت الطيارة ( Volatile oils ) التي تشكل حوالي (0.1-0.3)% من مكوناته الكيميائية ويحتوي زيت الثوم على مادة الاليسين Allicin ومركبات تحتوي على الكبريت [25] لذلك أعطى الثوم نسبة عالية من التثبيط للخليط .  
ولقد أثبتت البحوث أن للثوم فعل المضادات الحيوية فهو يعادل البنسلين و الستريتومايسين في قتله للأحياء المجهرية إذ يقتل الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام خلال مدة لا تتجاوز خمس دقائق ولهذا يفيد في الاسهالات المزمنة وفي التسمات بالسالمونيلا [26] .

وان المستخلص المائي بتركيز 1000ملغم/مل فعال في قتل البكتريا بقطر التثبيط (4.8 ملم) أعلى قطر تثبيط من التراكيز التالية (500ملغم/مل ، 250ملغم/مل) وقطر التثبيط (2.0 و 1.0 ) ملم أما بالنسبة لمادة النومي بصرة المستخلصة الموجودة في الخليط فقد كان لها دور في القضاء على البكتريا قيد الدراسة بالتراكيز نفسه 1000ملغم/مل ويعزى هذا التأثير إلى كون المستخلص يحتوي على مواد تثبئ نمو البكتريا زيوت اساسية (Essential oils) وحوامض (حامض المالك Malic acid وحامض الستريك Citric acid) حوامض امينية (Amino acid) تريبتوفان و (Vitamins(A,B1,B12) وعناصر معدنية (بوتاسيوم وفسفور وكالسيوم وحديد) [27] . التي لها دور فعال في منع نمو المسببات المرضية المعوية وقد وجد الباحث [28] ان عصير النومي بصرة يمنع نمو بكتريا *Escherichia Coli* بفعالية عالية جداً أما بخصوص مادة الحبة السوداء

المستخلصة الموجودة في الخليط كذلك فقد كان لها دور في القضاء على البكتريا قيد الدراسة بالتركيز نفسه 1000 ملغم/مل وهذا يعود إلى أن هذه المادة تحتوي على مواد تثبيط نمو البكتريا الفينولاتوالقلويدات ومركبات الثايموكوينونون Thymoquinone التي أعطتها الأهمية الطبية والصيدلانية [29] ; [30] وأشارت البحوث إلى أن نسبة البروتين يتراوح بين (21- 20%) من محتويات البذور ومن الأحماض الامينية فيها حامض الاسبارتكAspartic acid والارجنين Arginine و حامض الكلوتاميك Glutamic acid فضلا على الدهون والعناصر المعدنية [31].

أما المستخلص الثاني هو نبات (الشاي العادي) فقد كان له تأثير تثبيط واضح في بكتريا *Escherichia Coli* والتركيز 1000 ملغم/مل قطر التثبيط (2.8) مقارنة بالتركيز التالية (500 ملغم/مل ، 250 ملغم/مل) وهذا يتفق مع ما سجله الطائي [32] ويعزى هذا التأثير إلى كون المستخلص يحتوي على مواد تثبيط نمو البكتريا مادة (التانين) Tannin وهي مادة قابضة نسبة (10-24%) بالإضافة الى وجود قلويد الكافئين Caffeine alkaloid (ثلاثي مثيل الزانثين) ونسبة (1-5%) توجد هذه المركبات في أوراق الشاي. [33] ; [34].

فضلا على احتوائه على قلويدات والأحماض الامينية ومتعدد الفينول Polyphenol وكذلك يحتوي على كميات قليلة من الفلافونول [35] Flavonols.

أما المستخلص الثالث نبات الخبز المائي ضد بكتريا *Escherichia Coli* فقد كان له دور في القضاء على البكتريا لكن بنسبة منخفضة اقل من المستخلصين السابقين لتركيز 1000 ملغم/مل قطر الدائرة المثبطة (2.0 ملم) مقارنة بالتركيزين (500 ملغم/مل ، 250 ملغم/مل).

تم تحليل النتائج احصائيا باستعمال مربع كاي ( $X^2 - TEST$ ) لايجاد معنوية علاقة الاصابات بمسببات الاسهال البكتيري بالمستخلصات النباتية قيد الدراسة وعلاقتها بمختلف التراكيز (250 , 500 , 1000 ملغم / مل).

جدول ( 1 ): يبين حساسية بكتريا *Escherichia Coli* المسببة للإسهال لتركيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطرة الدائرة المثبطة (ملم).

تركيز المستخلص المائي للنبات (ملغم / مل )			المستخلص النباتي
1000	500	250	
قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	
4.8	2.0	1.0	خليط (النومي بصرة +الثوم +الحبة السوداء )
2.8	1.16	0.5	الشاي
2.0	1.0	0.5	نبات الخبز
*14.001	*13.54	*13.62	$\chi^2$ المحسوبة
		8.3	$\chi^2$ الجدولية (0.01)
		7.13	$\chi^2$ الجدولية (0.05)

\* الفرق المعنوي

\*ويبين الجدول (2) حساسية بكتريا *Salmonella* لتركيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطر الدائرة المثبطة (ملم).

فقد لوحظ أن للمستخلص المائي لخليط (النومي بصرة+الثوم+الحبة السوداء) تأثير مثبط واضح في بكتريا *Salmonella* للتركيز 1000 ملغم/مل قطر التثبيط (2.3 ملم) مقارنة بالتركيز التالية (500 ملغم/مل ، 250 ملغم/مل) ويعود سبب التثبيط لهذه البكتريا كما في الجدول (1) في بكتريا *Escherichia Coli* على حسب وجود المواد الكيميائية.

أما المستخلص الثاني نبات الشاي فلم يظهر أي تأثير تثبيطي للتركيز جميعها (1000 ملغم/مل ، 500 ملغم/مل ، 250 ملغم/مل) لبكتريا *Salmonella*. اما مستخلص نبات الخبز فقد اظهرت تأثيرا تثبيطيا ضعيفا جدا لتركيز 1000 ملغم/مل.

جدول ( 2 ): يبين حساسية بكتريا *Salmonellae* لتركيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطر الدائرة المثبطة (ملم).

تركيز المستخلص المائي للنبات (ملغم / مل )			المستخلص النباتي
1000	500	250	
قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	
2.3	1.15	1.0	خليط (النومي بصرة +الثوم +الحبة السوداء )
0	0	0	الشاي
1.0	0.3	0	نبات الخبز
*13.08	*11.11	*10.12	$\chi^2$ المحسوبة
		8.3	$\chi^2$ الجدولية (0.01)
		7.13	$\chi^2$ الجدولية (0.05)

\* الفرق المعنوي

\*ويبين الجدول (3) حساسية بكتريا الشغيبلا *Shigella* لتركيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطر الدائرة المثبطة (ملم).

فقد لوحظ أن المستخلص المائي خليط (النومبيصرة+الثوم+الحبة السوداء) كان له دور في القضاء على البكتريا قيد الدراسة . فقد كان التراكيز 1000 ملغم/مل فعال في قتل البكتريا وهذا يتفق مع ماسجله [21] وكان قطر التثبيط للتركيز 1000 ملغم/مل هو (4.6) ملم مقارنة بالتركيزين ( 500 ملغم/مل ، 250 ملغم/مل) ويعود السبب إلى وجود مركبات كيميائية للمستخلص المائي خليط (النومبيصرة+الثوم+الحبة السوداء) كما ذكر في الجدول (2,1) .

أما المستخلص المائي لنبات الشاي فقد كان له دور اقل في قتل البكتريا لتركيز 1000 ملغم/مل ، أما المستخلص المائي لنبات الخبز فقد اظهر تثبيطاً ضعيفاً جداً تجاه البكتريا الشغيلة *Shigella* لجميع التراكيز المذكورة . ويرجع تباين حساسية الأحياء المجهرية إلى نوع المستخلص وتركيزه وإلى النوع البكتيري ، والطريقة المتبعة في الاستخلاص وقطبية المذيب المستخدم في التجربة [36] .

جدول ( 3 ) : يبين حساسية بكتريا *Shigella* لتراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية بدليل قطرة الدائرة المثبطة (ملم) .

تركيز المستخلص المائي للنبات (ملغم / مل) .			
1000	500	250	المستخلص النباتي
قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	قطرة الدائرة المثبطة (ملم)	
4.6	2.5	1	خليط (النومي بصرة +الثوم+ الحبة السوداء )
2.5	1.20	1.0	الشاي
1.5	1.0	0.5	نبات الخبز
*15.87	*13.6	*9.23	$\chi^2$ المحسوبة
		8.3	$\chi^2$ الجدولية (0.01)
		7.13	$\chi^2$ الجدولية (0.05)

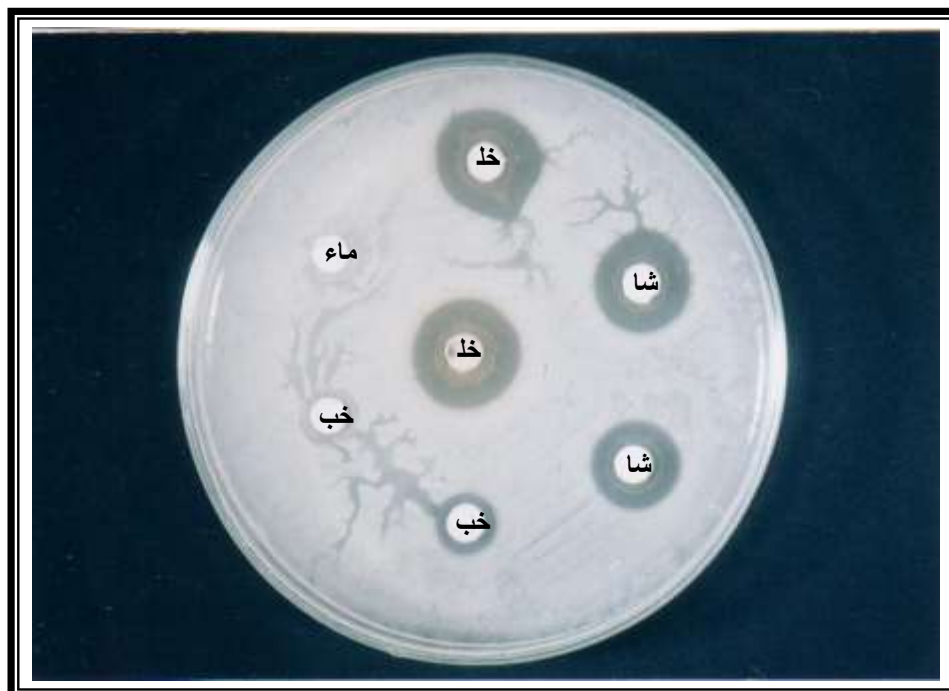
\* الفرق المعنوي



شكل ( 1 ) : يبين حساسية بكتريا *Escherichia coli* المسببة للإسهال لتراكيز المستخلصات 1000 ملغم/مل



شكل ( 2 ): يبين حساسية بكتريا *Salmonellae* لتركيز 1000 ملغم/مل من المستخلصات النباتية بدليل قطرة الدائرة المثبطة (ملم) .



شكل ( 3 ): يبين حساسية بكتريا *Shigella* لتركيز 1000 ملغم/مل من المستخلصات النباتية بدليل قطرة الدائرة المثبطة (ملم) .

المصادر REFERENCES

- 1-Bhatia, R. & Ichhpujani, R.L. (2004). Essentials of medical microbiology. 3 rd edn., Jaypee Bros. Med. Publ., New Delhi. 506 pp
- 2- Vallance , B.A.and Finaly , B.B.(2000) . Exploitation of host cell by enteropathogenic E.coli proc Natl Acad Sci USA. 97(161;8799-806) .
- 3- Falkow , M.J.G. (1995) . Giardia lamblia In : infection of the gastrointestinal tract , (ed). Blaser , M.J. Smith , P.D., Ravdin , J.I, Greenberg , H.B. and Guerrent .R.L. Raven press Ltd ., New York . pp: 1081-1104 .
- 4- الجبوري, محمد مد الله (1990). علم البكتريا الطبية ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، العراق: 103 صفحة .
- 5- Abrutyn . E . and Fraimow , H.S.(1995) Pathogen Resistant to Antimicrobial Agents : Epidemiology . Molecular Mechanisms and clinical Management . Infect. Dis . clin . North . Am., 9:497 – 530 .
- 6- الطريا,رنا خالد احمد غائب (2002). تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو جرثومين *Pseudomonas aeruginosa* , *Proteus mirabilis* المعزولتين من مناطق مختلفة من جسم الإنسان . رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل: 125 صفحة .
- 7- النعمان, ادبية يونيس شريف (1998) . التأثير الجزئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة للصبغة كرام . رسالة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل: 150 صفحة .
- 8- Cowan, M.M.(1999). Plant product as antimicrobi agent. Clin Microbial . Rev. 12(4):564-582.
- 9- Kashiwade , y & Nonka , G. (1992). Antitumer, Tannins and related compounds as a selective cytotoxic agent . J. Notprod . 55: 1033-1043.
- 10- EL-Gammal , A.A.; and Mansour , M.A. (1986) . Antimicrobial activities of some flavonid compounds . Z. Microbiol . 141: 561-565 .
- 11- Coee, F, G. and Anderson, G.L. (1996). Ethobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. Econ. Bot; 50(1):7
- 12- Topozoda , H.H ; Mazloum , H.A and Eldakhakney , M. (1995). The anti bacterial effect of Nigella sativa seeds active principle with some clinical application . J. Med. Ass. ., 48:187-202 .
- 13- Hanafy, M.S.M. and Hatem, M.E. (1991). Studies on the antimicrobial of Nigella sativa seed (black cumin) J. Ethroph. 34(2-3):275-278.
- 14- Barnes, J and Anderson , L.A.(2002) . Herbal Medicines : A guid . for Healthcare professional . 2 nd.ed. pharm aceutical press. London .
- 15- Schulze , R . (2003) . Herbs Hands Healing Ltd , California Unir . J., 8:82-88 .
- 16- الكاتب, يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية، دار النشر جامعة بغداد : 102 صفحة .
- 17- Hernadez .M.; Lopez . R.; Abanas .R.M.; Paris .v. and Arias . A.(1994) . Antimicrobial activity of visnea mocanera Leaf extracts . J. Ethnopharma cology. 14; 115 – 119 .
- 18- الموسوي, احمد محمد (2000). تأثير مستخلصات نبات الشايخ *Artemisia-herba-alba* في الدودة الشريطية القزمية *Hymenolepis nana* في الفار الأبيض . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل : 98 صفحة .
- 19- Vandepitte, J.; Engbaek, K.; Piot, P. & Heuck, C.C. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. W.H.O., Geneva: 109pp .
- 20- Soxena ,A.P. ; Farmer , S.; Hanco , R. and Towers , G.(1995) . Antimicrobial Compounds from *Alnus vubra* , . Int .J. of pharmacognosy , 33 – 36 .
- 21- الكبيسي, علي حسين مكي (2007). تأثير المستخلصات المائية لبعض النباتات التي تثبط مسببات البكتيريا الطفيلية للإسهال في محافظة كربلاء . أطروحة دكتوراه، كلية التربية ابن الهيثم، جامعة بغداد : 152 صفحة .
- 22- Sasaki, J.; Kita, T.; Ishita, K.; Uchisawa, H. & Matsue, H. (1999). Antibacterial activity of garlic powder against *Escherichia coli* O-157. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 45: 785-790
- 23- Harris, J.C.; Plummer, S.; Turner, M.P. & Lloyd, D. (2000). The microaerophilic flagellate *Giardia intestinalis*: *Allium sativum* (garlic) is an effective anti giardial. Microbiology, 146: 3119- 3127.
- 24- الجميلي, عبير عبد الغني محمد (2005). كفاءة تكوين نبات الثوم *Allium staivum* من مزارع كالس أوراق البراعم والسيقان القرصية مع عزل مركب الاليسين . رسالة ماجستير، كلية التربية ، جامعة الموصل : 119 صفحة .
- 25- Leung . A. (1980). Encyclopedia of common natural ingredients used in food , drugs and cometics . John wiley and sons, New York , Ny pp: 176-168 .
- 26- الحاج يحيى , توفيق (2003) . النباتات والطب البديل . الدار العربي للعلوم , بيروت : 422 صفحة .
- 27- المنظمة العربية للتنمية الزراعية، (1988) . النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي، الخرطوم : 98 صفحة .

- 28- Caceres,A. (1987).Screening of antimicrobial activity of plants popularlyused in Gguatemala for the treatment of Dermatophytic disease. J. Ethnopharmacology. 20(3):223-237.
- 29- Schmauder,H.P. and Doebel,p.(1991).Ni gella ssp. In vitro culture , regeneration,and the formation of secondary metabolites. Biotech. In Agricul.and Forest,15:311-338 .
- 30- Ghosheh,O.A.; Houdi,A.and Crook,P.A (1999). High.performance liquid chromatographic analysis of the pharmacoloGically activeguinones and related compounds in the oil of te black seed (Nigella sativa ).J. Pharma Biomed Anal , 19:757-762.
- 31- Takruri , H.R.H . and Damch , M.A.F. (1998) . Study of the nutritional value of black cumin seeds (Nigella sative L.) J.Sci . FoodAgric , 76:404-440 .
- 32- الطائي، مهدي صالح عبد الرحمن (2004). عزل وتشخيص جرثومة السالمونيلا من عينات سريرييه مختلفة من الإنسان ودراسة أمكانية توليد طفرات سيتأثر أشعة كاما في الموروثات مانحة المقاومة للمضادات الحيوية وتلك المسؤولة عن تخليف عوامل النمو . رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل : 85 صفحة.
- 33- قطب، فوزي طه (1998). النباتات الطبية :زراعتها و مكوناتها دار المريخ للنشر الرياض .
- 34- Chakravarty, H.L. (1988).plant weath of Iraq ,adictionary of Economic plants, volume. I, Botantydirectorata, ministry of agriculture and agrarian, Bagdad.
- 35- Kirk , R.E. &Othmer, D.F. (1980). Enclopedia of Chemical technology .3rd ed., Jhon wileyx&sons , Inc. , New york . vol . 22.p. 628-648.
- 36- الذهب , ازهار عمرانلطيف (1998) . الفعاليةالتضاديةلمستخلصاتنباتيةعراقيةفيبيعضالبكترياالمرمضة . رسالةماجستير , كليةالعلوم , جامعةبابل : 68 صفحة .