# الفاعلية التثبيطية لمستخلصات قشور ثمار الرمان *Punica granatum* ضد البكتريا المرضية المعزولة من أخماج تجويف الفم

# *The inhibitory Effecay of Punica granatum extracts against the pathogenic bacteria isolated from oral cavity infections*

م. د. فراس عدنان حسين

أ.د. كركز محمد ثلج


م. د. فراس عدنان حسين
جامعة واسط/ كلية التربية
أ.د. كركز محمد ثلج
جامعة تكريت/ كلية الزراعة
**L. Dr. Firs Adnan Hussein**
**Wasit University/ College of Education**
**Prof.Dr. Karkaz Mohammed Thalij**
**Tikrit University/ College of Agriculture**



## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص أنواع البكتريا المرضية الموجودة في الفم وكذلك التعرف على الفعالية البيولوجية للمستخلصات ( المائية و الأيثانولية) لقشور ثمار الرمان *Punicagranatum* ضد عدد من الانواع البكتيرية هي والتي كان قسم منها سالباً لصبغة غرام هم

*Escherishia coli* و*Salmonella typhi* و*Salmonella paratyphi* و*Serratialiquefaciens*و*Proteus mirabilis* والأنواع الآخرى موجبة لها وهم *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* و*Staphylococcus saprophyticus* و*Streptococcus mutans* و*Lactococcuslactis* واختبار فعاليتها التثبيطية عند تركيز ١٠ ، ٢٥ ، ٥٠ ، ٧٥، ١٠٠، ٢٠٠ ملغم /حفرة، وبينت نتائج الكشف عن المجاميع الفعالة للرمان احتوائه على كل من: التانينات (العفصيات) Tanninsوالكومارين Coumarin والراتنجات Resins والصابونيات Saponins والكلايكوسيدات Glycosides والفلافونات Flavonoids والفينولات Phenols والقلويدات Alkaloids، وكان ذا تأثير تثبيطي فعال عند قياس التركيز المثبط الادنى من المستخلص المائي والكحولي عند استعمال التراكيز ١٠، ٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠ و ٢٠٠ ملغم/ مل من نبات الرمان ضد الانواع البكتيرية المعزولة من اخماج الفم. تبين من النتائج ان تأثيرات المستخلصات قد اختلفت اعتمادا الى نوع المستخلص والتركيز المستعمل فقد تبين ان المستخلص المائي لنبات الرمان قد بدأت فاعليته التثبيطية ضد الانواع البكتيرية المعزولة عند التركيز ٥٠ ملغم/ مل وبدأت الفاعلية التثبيطية للمستخلص الكحولي من الرمان عند ١٠٠ ملغم.

## Abstract


The present study aimed at isolating and diagnosing the types of pathogenic bacteria found in the mouth, as well as identifying the biological efficacy of the extracts of *Punic granatum* for a number of bacterial species, some of which were negative for gram dye *Escherishia coli, Salmonella typhi and Salmonella paratyphiSerratialiquefaciens, Proteus*

*mirabilis* and other positive species, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus mutans, Lactococcuslactis*, and their inhibitory activity at 10, 25, 50, 75, 100 and 200 mg / pit. The active pomegranate contains both: tannins, Coumarin, Resins, Saponins, Glycosides, Flavonoids, Phenols and Alkaloids. It has an effective inhibitory effect when measuring the minimum inhibitory concentration of water and alcohol extract when using concentrations 10, 25, 50, 75, 100 and 200 mg / ml Pomegranate plant against bacterial species isolated from mouth infections. The results showed that the effects of the extracts differed depending on the type of disposer and the concentration used. It was found that the water extract of pomegranate had begun its inhibitory effect against isolated bacterial species at concentration of 50 mg / ml and the inhibitory activity of the pomegranate extract of pomegranate was started at 100 mg.

## المقدمة

الرمان يعرف باسم Pomegranate ينتمي إلى العائلة الرمانية Punicaceae واحد أهم النباتات ذات الاستعمال الطبي تنتشر زراعته في اغلب الدول العربية لاسيما

العراق وبلاد الشام وكذلك حوض البحر الأبيض المتوسط ومعظم الأقطار الغربية وشمال غرب الهند (سعدي واخرون، ١٩٨٨ وقطب،١٩٨١).

تحتوي قشور الرمان على الكثير من المواد الفعالة من اهمها التانين (Tannin) بنسبة تتراوح بين ٢٥-٢٨% وأنَّ أهم المركبات في التانين هما بيونيك الينوكراناتين وترجع القيمة العلاجية للرمان على احتوائه على مركبات التالين والقلويدات وعلى المركبات الفينولية المضادة للأكسدة التي تمنع تأكسد البروتينات الشحمية ذات الكثافة القليلة التي تحمل الكولسترول فضلاً عن الاحماض ألامينية (وصفي وجانيت، ١٩٨٣).

أنَّ مستخلص قشور الرمان تحتوي على نسبة من التانين عند ٣٠% (منصور، ٢٠٠٥)، أمَّا السيقان والجذور فتحتوي على القلويدات. وإنَّ أهم مركب هو بيونكالين Punicalin الذي يعرف باسم مركب كرناتين Granatine ومركب بيونك الاجين الذي يعرف أيضا باسم كراناتين Granatine (علي، ٢٠١٣).

إنَّ خلاصة القشور لها تأثير فعّال ضد الأحياء المجهرية مثل تلك الموجودة في أمعاء الجرذان المصابة مختبريا وهو مضاد بكتيري فعّال (عبد الحسين، ٢٠٠١ وNavarro واخرون، ١٩٩٦). واثبتت الدراسات أنَّه مُضاد للجراثيم المسببة للإسهال عند صغار السن (الزبيدي واخرون، ٢٠٠٨). كما تبين ان له فعلاً تثبيطياً ضد بكتريا الليستريا Listeria sp (النصراوي، ٢٠٠٩). واستخدم من قبل Shaokat وآخرين، (٢٠٠٧) لتثبيط أنواع من الفطريات وهو مصدر غني بالمركبات الفعَّالة التي لها تأثير تثبيطي ضد العديد من الجراثيم ومنها الزوائف الزنجاريةPseudomonas aeruginosa التي تمتاز بقدرتها على مقاومة المضادات الحياتية وأنواع مختلفة من المعقمات ( Adwan واخرون، ٢٠٠٩ وBambeke واخرون، ٢٠٠٠) ، وله فعلٌ تثبيطي ضد بكتريا *E. coli*

و *Salmonella* و *Shigellasonni* و *Shigellaflexneri* و*Saphylococcusaureus* و *Vibrio cholerae* و أيضا تثبيط خميرة الـــ *candid albicans* (Guevara واخرون، ١٩٩٤ و Holetz واخرون، ٢٠٠٢ و Rani و Khuller، ٢٠٠٤ و Voravuthikunchai واخرون، ٢٠٠٤).

## المواد وطرائق العمل

### جمع العينات النباتية وتحضيرها

جمعت عينات النبات المستعملة في الدراسة بالكمية الكافية لإجراء التجارب عليها من الأسواق المحلية ووضعت في حاويات بلاستيكية معقمة، بعدها نقلت إلى مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة، كلية التربية. تم تنظيفها من الأتربة والشوائب، ثم وضعت في مكان مفتوح في أوان بدرجة حرارة المختبر ضمن عدم تعرضها لأشعة الشمس بصورة مباشرة مع التقليب المستمر لمنع تعفنها لحين اكتمال جفافها. طحنت بعدها العينات النباتية باستعمال الطاحونة المختبرية للحصول على مسحوق ناعم وتم وضعه مرة أُخرى في العبوات البلاستيكية المعقمة ومحكمة الغلق ثم حفظت في ثلاجة المختبر لحين استعمالها في تحضير المستخلص النباتي أو لحين اجراء الاختبارات والفحوصات الكيميائية عليها.

### الكشف الكيميائي للمجاميع الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية

تم الكشف عن المركبات الفعالة للرمان مثل التانينات (العفصيات) Tannins والكومارين Coumarin والراتنجات Resins والصابونيات Saponins والكلايكوسيدات Glycosides والفلافونات Flavonoids والفينولات Phenols والقلويدات Alkaloids، وبحسب ما جاء في (Newall وآخرون، ١٩٩٦).

## تحضير المستخلص

تم في هذه الطريقة وزن (١٠٠ غم) من المسحوق النباتي وأضيف إليه (٥٠٠ مللتر) من الماء المقطر المعقم (العبيدي، ٢٠٠٧) وترك فترة ٢٤ ساعة (Vandepitte وآخرون، ٢٠٠٣) مع الاستمرار في تحريك المستخلص بين فترة وأخرى ليسمح بعملية الاستخلاص بشكل جيد طول هذه المدة، ثم رشح المستخلص باستعمال طبقات عدة من القماش الناعم (الململ) المعقم، بعدها تم تركيز المستخلص النباتي من خلال تبخير الماء الموجود فيه باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator عند حرارة ٤٠ م° كي لايتم تلف المواد الفعالة الموجودة فيه إذ تم الحصول بعدها على مستخلص مركز كثيف القوام. وتم إكمال تجفيف المستخلص النباتي باستخدام الفرن الحراري بدرجة حرارة لاتتجاوز ٤٠ م°، ثم حفظ المستخلص النهائي في الثلاجة لحين الاستعمال (Schneider و Ermel، ١٩٨٦). اما فيما يخص المستخلص الكحولي تم اتباع الخطوات السابقة نفسها التي اعتمدت في تحضير وحفظ المستخلصات المائية عدا استبدال الكحول الايثانولي بتركيز (٩٥ %) بدلاً من الماء المقطر المعقم.

## حفظ العزلات البكتيرية وأدامتها:

حفظت العزلات البكتيرية بعد تشخيصها على أوساط زرعيه مائلة slants من الاكار المغذي في الثلاجة بدرجة ٤ مئوية وتم التأكد من نقاوتها بتجديد الزرع شهريا طيلة مدة الدراسة.

أمَّا لغرض حفظ العزلات لفترات طويلة من دون احتمال تعرضها لفقدان بعض مواصفاتها الوراثية فقد تم تلقيح انبوبة اختبار حاوية على (٥-١٠) مل من المرق المغذي بمستعمرة واحدة وحضن المزروع لمدة ٢٤ ساعة ثم نقل ٠,٨٥ مل من المزروع الى قناني ذات غطاء محكم تحوي ٠,١٥ مل من الكليسيرول المعقم تم مزج

المزيج بقلب الأنبوبة إلى الأسفل والأعلى بعد غلقها مرات عدة وخزن المزروع في درجة (-٢٠)°م (Ausuble واخرون، 1978).

## التشخيص بحسب الصفات الزرعية والكيموحيوية:

تم زرع العينات على وسط أكار الماكونكيMacConkey agar ، وسط أكار الدم Blood agar ، وسط Manitol salt agar ووسط Nutrient agar . وقد حضنت هوائيا بدرجة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ساعة. نميت الأحياء المجهرية على الأوساط الزرعية الملائمة لنموها وحضنت عند درجة حرارة (37ºم) لمدة (24 ساعة)، ثم أجري التشخيص عليها بحسب الطرائق القياسية المعتمدة بملاحظة ألوانها الشاحبة، رائحتها المميزة، شكل المستعمرات وملاحظة ظاهرة الإنثيال (Swarming phenomenon) التي تحدث في أنواع جراثيم جنس المتقلبات (Atlas واخرون، 1995 وJawetz، ٢٠٠٤).

## تحديد التركيز المثبط الأدنى

استعملت طريقة تخافيف الآكار بالطبق Agar Dilution Method لتحديد التركيز المثبط الأدنى، تم فيه إذابة (١ غم) من كل مستخلص نباتي في (١٠ مللتر) من الماء المقطر المعقم بالنسبة للمستخلصات المائية وفي (١٠ مللتر) من المذيب العضوي من الكحول الأثيلي بالنسبة للمستخلصات الكحولية والتي عدت محاليل مرجعية لكل مستخلص. تم منها تحضير التخافيف المتسلسلة وكانت ١٠ ، ٢٥ ، ٥٠ ، ٧٥ ، ١٠٠ ، ٢٠٠ ملغم/مللتر للمستخلص النباتي التي أضيفت مع الوسط الزرعي مولر هنتون الصلب Mueller Hinton Agar الذائب عند درجة حرارة (50 م°).فضلا عن طبق السيطرة الذي لا يحتوي على أي نوعٍ من المستخلص النباتي. تم زرع(٠,١ مللتر) من المعلق البكتيري الذي قورن بأنبوبة ماكفرلاند رقم (0.5) لكل نوع منها ونشر بواسطة الناشر الزجاجي على الأوساط الزرعية الحاوية على تلك التراكيز

للمستخلص وكذلك وسط السيطرة المستخدم. بعدها تركت الأطباق لمدة دقائق لتجف وحضنت عند درجة الحرارة الملائمة (٣٧ م°) لمدة (٢٤ ساعة)، تم تسجيل النتائج عند ملاحظة أقل التراكيز التي لم يظهر فيها أي نمو والذي اعتبر هو التركيز المثبط الأدنى للبكتريا (NCCLS، ٢٠٠٢).

## اختبار فعالية التثبيط للمستخلصات النباتية ضد البكتريا بقياس قطر منطقة التثبيط:

استخدمت في هذا الاختبار طريقة الانتشار في الآكارAgar Diffusion Method باستعمال الحفر wells وذلك من اجل اختبار حساسية البكتريا للمستخلصات النباتية مع التراكيز ١٠، ٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠، ٢٠٠ (ملغم/حفرة) من الوسط الغذائي وتم في الطريقة عمل ثلاث حفر لكل طبق على وسط Mueller Hinton Agar بأقطار متساوية (نق 5ملم) لكل حفرة وبواقع ثلاثة مكررات واستخدم الثاقب الفليني Cork Borer استعمل من المحلول المستخلص ما مقداره (50مايكرولتر/ حفره) وبعد انتشاره في الحفر ترك لمدة ساعة واحدة لضمان عدم بقاء المستخلص بعد أنْ تمَ قبلها نشر(0.2مايكرولتر) من المعلق البكتيري ذي التخفيف (١,٥×١٠^٨ خلية/ مللتر) على الوسط الزرعي، ثم حضنت عند حرارة ٣٧ م° لمدة٢٤ ساعة. بعدها قُرئت النتائج من خلال قياس قطر منطقة التثبيط بواسطة مسطرة عينية وبالمليمتر، كما تم تحضير معامل سيطرة سالبة كما في الطريقة السابقة الذكر بأستخدام الماء المقطر المعقم بدلاً من استخدام المستخلص النباتي (Perez وآخرون،1990 وEgorove، ١٩٨٥).

## التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج الحالية للتجارب باستخدام طريقة تحليل التباين ووفق المعاملات العاملية factorial treatments والتي قورنت متوسطاتها الحسابية باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود لتحديد معنوية الفروقات للعوامل المؤثرة على الصفات قيد الدراسة

عند مستوى احتمالية وتم باستعمال برنامج Minitab(0.05%) (الراوي، ٢٠٠٠ وDuncun، 1955).

## النتائج والمناقشة

بينت نتائج الكشف عن المجاميع الفعالة لقشور الرمان احتوائه على كل من:التانينات (العفصيات) Tanninsوالكومارين Coumarin والراتنجات Resins والصابونيات Saponins والكلايكوسيدات Glycosides والفلافونات Flavonoids والفينولات Phenols والقلويدات Alkaloids، واتفقت النتائج مع طويل وفار(٢٠١٥) ومع Voravuthikunchai (٢٠٠٤).

الجدول ١ يوضح التركيز المثبط الادنى للمستخلصات المائية والكحولية لقشور ثمار الرمان ضد الانواع البكتيرية المرضية سالب لصبغة غرام هم *Escherishia coli* و*Salmonella typhi* و *Salmonella paratyphi* و*Serratialiquefaciens* و*Proteus mirabilis* والأنواع الموجبة وهم *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* و*Staphylococcus saprophyticus* و*Streptococcus mutans* و*Lactococcuslactis* بعد تنميتها على وسط مولر هنتون الصلب فقد تبين ان المستخلص المائي لنبات الرمان قد بدأت فاعليته التثبيطية ضد الانواع البكتيرية المعزولة عند التركيز ٥٠ ملغم/ مل بخلاف الفاعلية التثبيطية للمستخلص الكحولي من الرمان عند ١٠٠ ملغم. وترجع مقاومة البكتريا للتثبيط هو احتواؤها على المحفظة والجدار الخلوي والبروتينات السطحية التي تمنحها صفة المقاومة اما الأنواع التي لا تمتلك تلك الوسائل تكون اكثر حساسية (Todar، ٢٠٠٢ و Winn واخرون، ٢٠٠٦).

جدوا (١) التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات المائية والكحولية ضد الأنواع الجرثومية.

| تركيز المستخلصات (ملغم/مل) | مستخلص الرمان | |
|---|---|---|
| | مائي | كحولي |
| ١٠ | - | - |
| ٢٥ | - | - |
| ٥٠ | + | - |
| ٧٥ | + | - |
| ١٠٠ | + | + |
| ٢٠٠ | + | + |

كما بينت نتائج الدراسة الحالية فعالية المستخلصات المائية والكحولية بتراكيزها (١٠ و ٢٥ و ٥٠ و ٧٥ و ١٠٠ و ٢٠٠ ) ملغم/مل لنبات الرمان ضد انواع البكتريا المدروسة (الجدول ٢).

يلاحظ من الجدول في المستخلصات المائية في بكتريا *Staphylococcus aureus* ان التركيزين ١٠٠ و٢٠٠ ملغم/مل هما الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا بمتوسط ١٦,٦٦ و ١٨,٦٦ ملم على التوالي مقارنة بالسيطرة وفي بكتريا *Staphylococcus epidermidis* التركيز ٢٠٠ ملغم/مل هو الاكثر فعالية في التثبيط بمتوسط ١٦ ملم مقارنة بالسيطرة، اما في بكتريا *Staphylococcus saprophyticus* فان التركيزين ١٠٠و٢٠٠ملغم/مل بمتوسط ١٨,٦٦ و ٢٠ ملم على التوالي هما الاكثر فعالية في التثبيط مقارنة بالسيطرة، كما يلاحظ في بكتريا *Streptococcus mutans* و*Lactococcuslactis* كان التركيز ٢٠٠

ملغم/مل بمتوسط ١٦,٦٦ و ١٦ ملم على التوالي هو الاكثر فعالية في تثبيط نوعي البكتريا مقارنة بالسيطرة وكما في الشكل (٤-١)، علاوة على ذلك في بكتريا *Escherichia coli* كان التركيزان ١٠٠ و ٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ١٢ و ١٧,٣٣ملم هما التركيزين الفعالين في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة، وفي بكتريا *Salmonella typhi* و *Salmonella paratyphi* كان التركيز ٢٠٠ ملغم / مل بمتوسط ٢٠ و ١٨,٣٣ ملم على التوالي هو الاكثر فعالية في تثبيط نوعي البكتريا المدروسة ، اما في بكتريا *Serratialiquefaciens* لا يوجد فرق معنوي بين التراكيز ٢٥ و ٥٠ و ٧٥ و ١٠٠ و ٢٠٠ ملغم / مل في تثبيط البكتريا المختبرة بمتوسط ١٤ و ١٥,٣٣و ١٤و١٤و١٥,٣٣ ملم على التوالي وان التركيز ١٠ ملغم / مل هو الاقل فعالية بمتوسط ١٢,٦٦ ملم في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة ، وفي بكتريا *Proteus mirabilis* كان التركيز ٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ١٦,٦٦ ملم هو الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة.

ويبين الجدول في المستخلصات الكحولية في بكتريا *Staphylococcus aureus*كان التركيز ٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ٢١,٣٣ ملم هو الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة ، وفي بكتريا *Staphylococcus epidermidis* التركيزان ١٠٠و٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ٢٠,٦٦ و ١٩,٣٣ ملم هما الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة، اما في بكتريا *S. saprophyticus* و *Streptococcus mutans* و*Lactococcuslactis* كان التركيز ١٠٠ ملغم/مل هو الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا بمتوسط ٣٠ و ٢١,٣٣ و ١٩,٣٣ ملم على التوالي مقارنة بالسيطرة وكما في الشكل (٤-٣)، كما يلاحظ في الجدول في بكتريا *Escherichia coli* و*Salmonella typhi*كان التركيز ٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ٢٠,٦٦ و ٢٦ ملم على التوالي هو الاكثر فعالية في تثبيط نوعي البكتريا مقارنة بالسيطرة ، و في بكتريا *Salmonella paratyphi* التراكيز ٧٥ و ١٠٠ و

٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ٢٦,٦٦ و ٢٦ و ٢٦,٦٦ ملم على التوالي هي الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة ، اما في بكتريا *Serratialiquefaciens*كان التركيزان ١٠٠ و ٢٠٠ ملغم/مل بمتوسط ١٨,٦٦ و ١٩,٣٣ ملم على التوالي هما الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا مقارنة بالسيطرة، وفي بكتريا *Proteus mirabilis* التركيز ٢٠٠ ملغم/مل هو الاكثر فعالية في تثبيط البكتريا بمتوسط ١٨,٦٦ ملم مقارنة بالسيطرة.

كما تبين من الجدول (٢) ان التركيز ٢٠٠ ملغم/مل من المستخلص الكحولي هو الاكثر فعالية في تثبيط انواع البكتريا المختبرة مقارنة مع بقية تراكيز المستخلصات المائية والكحولية بمتوسط ٢٢,٢٦ ملم، كما يلاحظ من الجدول ان المستخلص الكحولي بمتوسط ١٧,٨١ هو الاكثر فعالية في تثبيط انواع البكتريا المدروسة مقارنة بالمستخلص المائي.

اتفقت النتائج Buwa و Staden (٢٠٠٦)، فيما يخص تثبيط بكتريا *Escherichia coli* و*Salmonella sp*ومع الدوري (٢٠١٢) فيما يخص بكتريا*Proteus mirabilis* و *Streptococcus*. ويعزى الاثر التثبيطي الى النسبة العالية التي يحتوي عليها الرمان من التانينات تثبيط الاحياء المجهرية عن طريق تغيير طبيعة البروتبنات وبالتالي قتلها (Samuelsson، ١٩٩٩)، بينما عزا البعض الاخر الفعل الثبيطي له الى المركبات الفينولية والتي تكون سامة للاحياء المجهرية عن طريق تثبيط الانزيمات واكسدة المركبات (Urs و Dunleavy، ١٩٧٥ و Mason و Wasserman، ١٩٨٧).

جدول (٢). فعالية مستخلصات الرمان المائية والكحولية ضد انواع البكتريا المرضية

| نوع النبات | نوع المستخلص | التركيز | البكتريا الموجبة لصبغة كرام | | | | | البكتريا السالبة لصبغة كرام | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *S. aureus* | *S. epidermidis* | *S. saprophyticus* | *S. mutans* | *L. lactis* | *E. coli* | *S.typhi* | *S. paratyphi* | *S. liquefaciens* | *P. mirabilis* |
| الرمان | مائي | 10 | 12.66C | 12C | 14.66C | 12.66D | 12D | 10C | 11.33D | 10D | 12.66B | 10C |
| | | 25 | 14C | 12C | 13.33C | 14.66C | 14BC | 10C | 14C | 10D | 14AB | 14B |
| | | 50 | 16B | 12C | 16.66B | 16.66B | 14BC | 10C | 14C | 10D | 15.33A | 11.33C |
| | | 75 | 16.66B | 12C | 18.66A | 17.33AB | 13.33CD | 10C | 17.33B | 13.33C | 14AB | 14B |
| | | 100 | 18.66A | 14B | 20A | 16.66B | 15.33AB | 12B | 18B | 16B | 14AB | 15AB |
| | | 200 | 19.33A | 16A | 18.66A | 18.66A | 16A | 17.33A | 20A | 18.66A | 15.33A | 16.66A |
| | السيطرة | | 0D | 0D | 0D | 0E | 0E | 0D | 0E | 0E | 0C | 0D |
| | كحولي | 10 | 12D | 18BC | 14.66E | 14.66C | 13.33D | 12.66D | 13.33F | 17.33C | 10C | 10D |
| | | 25 | 12D | 18.66BC | 18D | 14.66C | 15.33C | 13.33D | 15.33E | 20B | 10C | 11.33CD |
| | | 50 | 12D | 20A | 22C | 13.33C | 16.66BC | 16.66C | 19.33D | 21.33B | 16B | 12C |
| | | 75 | 16.66C | 17.33C | 23.33BC | 17.33B | 15.33C | 18BC | 21.33C | 26.66A | 16.66B | 14.66B |
| | | 100 | 19.33B | 20.66A | 24B | 18B | 17.33B | 18.66B | 24B | 26A | 18.66A | 16B |
| | | 200 | 21.33A | 19.33AB | 30A | 21.33A | 19.33A | 20.66A | 26A | 26.66A | 19.33A | 18.66A |
| | السيطرة | | 0 E | 0D | 0F | 0D | 0E | 0E | 0G | 0D | 0D | 0E |

## المصادر


الدوري، سند شامل عمر (٢٠١٢). التاثيرالتثبيطي للصبغات النباتية المستخلصة مائياً من نباتات الفوة *Rubiaticorium*و*Punicagrantum*و*Menthapiperita*على بعض انواع البكتريا المرضية. مجلة جامعة كربلاء العلمية. ١٠ (٤): ١٨٥-١٨٨.

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز، محمد خلف الله (٢٠٠٠). تصميم وتحليل التجارب، ط٢، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الوصل، العراق.

الزبيدي، اسامة صالح و علي، هدى عبدالهادي و غازي، علي محمد (٢٠٠٨). فاعلية خلاصات ثمرة الرمان على نمو بعض مسببات الاسهال الجرثومية عند الاطفال. مجلة القادسية. المجلد١٣. ص:٢٥ -٣١.

ألعبيدي، هبة محمد علي. (٢٠٠٧). تأثير بعض المستخلصات النباتية المضادة للاميبا الحالة للنسيج *Entamoebahistolytica*المنماة على أوساط زرعيه. رسالة ماجستير. كلية العلوم_ جامعة بغداد.

النصراوي،هدىعبدالهادي (٢٠٠٩). التأثير التثبيطي لمستخلصات قشور ثمرة الرمان على نمو جرثومة اللستريا مختبريا. مجلة القادسية.ملحق ببحوث المؤتمرالعلمي الثالث. ص:٧١-٧٨.

سعدي، شكري ابراهيم و عبد الله، القاضي ومحمد، صالح عبدالكريم (1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي.جامعة الدول العربية والمنظمة العربيةللتنمية الزراعية. الخرطوم. ص: 59-61.

عبد الحسين، منذر عبد الواحد(2001). الامراض المتسببة عن طفيلي الزحار الاميبي*Entamoebahistolytica* وتأثير قشور ثمرة الرمان المضادة للطفيلي في الجرذان المختبرية. رسالة ماجستير، كلية العلوم. جامعة البصرة. ص86 .

قطب، فوزي طه (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض.ص:314.

منصور، احمد توفيق (٢٠٠٥). التطبيب الطعام( الوقاية والعلاج بالغذاء الصحي). الطبعة الثانية، المطبعة الاهلية للنشر والتوزيع، عمان،الأردن.

وصفي، عادل سعيد وجانيت، توفيق قصير(١٩٨٢). كيمياءالنواتج الطبيعية. كلية العلوم، جامعة بغداد، ص٣١٤.

**Adwan, G. ; Abu-Shanab, B. and Adwan، K. (2009).In vitro interaction of Certain Antimicrobial Agents in Combination with Plant Extracts Against Multidrug-resistant *Pseudomonasaeruginosa* Strains Middle-East Journal of Scientific Research 4 (3): 158-162.**

**Atlas, R. M.; Parks, L. C. and Brown, A. E. (1995)."Laboratory Manual of Experimental Microbiology".$^{1st}$ed.Mosby.USA.**

Bambeke, F. V. ;Balzi , E. andTulkens, p.M. (2000). Antibiotic Efflux Pumps.BiochemicalPharmacology.University Catholique de lovain. J. Belgium. 60: 457-470.

Buwa, L. V. and Staden, J. V. (2006). Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa Journal of Ethnopharmacology, 103:139-142.

Duncun, D. B. (1955). Multiple Range and F. test. Biometric. 11:42.

Egorove, N. S. (1985) .Antibiotics a Scientific Approach.Mir Publishers. Moscow.

Guevara, J. ;Chumpitaz, J. and Valencia, E. (1994). The in vitro action of plants on Vibrio cholera.Rev Gastroenterol Peru. 14 (1): 27-31.

Holetz, F. ;Pessin, G. ; Sanches, N. ; Cortez, D. ; Nakqmura, C. and Filho, B. (2002). Sceening of some plants used in the Brazilian folk medicine for die treatment of infectious diseases. MemInstOswaldo Cruz, 97(7): 1027-1031.

Jawetz, E.; Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2004).Jawetz, Melnick&Adelberg's Medical Microbiology 23rd ed. McGraw-Hill Com., Singapore.

Mason, T. L. and Wasserman, B. P. (1987).Inactivation of Red Beet Beta-Glucan Synthase by Native and Oxidized Phenlic Compounds.Phytochemistry.

National Committee for Clinical Laboratory Standers (NCCLs) (2002).Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.Himedia Laboratories limited, India.

Navarro, V. ;Villarrwal, M. ; Rojas, G. and Lozoya,Y. (1996). Antimicrobial evaluation of some plants used in mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. J. Ethnopharma. 53: 143.

Newall, C. A.; Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. (1996). Herbal Medicine, Aguid for Health Care Professional, London, The Pharmaceutical Press.

Perez, L.; Pauli, M. and Bazequre, P (1990) Antibiotic assay by the agar well diffusion method .Journal of Actabiology.15: 113 –115.

Rani, p. andKhuller, N. (2004). Antimicrobial evaluation of some medicinal plants for their anti-enteric potential against multi-drug resistant *Salmonella typhi*. Biotechnology, university of Punjab, India. Phytother. Res. 18 (8): 3- 670.

Samuelsson, G. (1999). Drugs of natural origin.Swedish pharmaceutical press, Sweden.

Schneider, B. H. and Ermel, K. (1986). Quantities Determination of Azadirachin from neem seeds using high performance liquid Chromatography In: Natural pesticides from the Nemm Tree ( Azadirachtaindicartjuss ) and other Tropical plants. Schmutterer and K.B.S. Ascher, proc. (3rd Int) Neem conf. Nairobi.161-170.

Shaokat , S. S. ; Hameed, H. A. and Mohammad, H. A. (2007). Anti-fungal Activity of *PunicaGranatum* peels Powder and Extracts from Pathogenic Samples. Iraqi J. Pharm.Sci, 16 (2).12-20.

Todar, K. (2002). Streptococcus pyogen, Todars online Textbook of bacteriology. University of Wisconsin- madison.

Urs, N. V. and Dunleavy, J. M. (1975). Enhancement of Bactericidal Activity of a peroxidase system by Phenolic Compounds.Phytopathology.

Vanddepitte, J.; Verhaegen, J.; Engbeck, K.; Rohner, R.; Piopt, P. and Heuck, C. (2003).Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology 2nd ed. World Health Organization. Geneva.

Voravuthikunchai, s.; Lortheeranuwal, A.; Jeeju, W.; Sririrak, T.; Phongapaichits, S. and Supawita, T. (2004). Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic*E.coli*. Biochemical and bimolecular, University New south wales, J. Ethnopharmacol, Austeralia. 94 (1): 49-54.

Winn, J. W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006).Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology .6th ed. Lippincott Williams and Wilkins. USA.