جامعة سبها

SEBHA UNIVERSITY - LIBYA

كلية العلوم – قسم النبات.

رسالة مقدمة استكمالا لمتطلبات الإجازة العالية (الماجستير)

بعنوان

دراسة فاعلية المستخلصات النباتية (الريحان ,القرض, الفلية) كمضاد لبعض البكتيريا الممرضة للإنسان

Investigation of the Effectivness of plant extract Ocimum basilicum , Acacia nilotica and Chamomilla aurea) against some pathogenic bacteria

مقدمة من : آمنة خالد حسين محمد

تحت أشرف:

أ.د. يونس ابوبكر الخيالي (المشرف الاول)

د. محمد مفتاح الصنباني (المشرف الثاني)

العام الجامعي 2017-2018

بسم الله الرحمن الرحيم

وَعِنْدَهُ مَفَاتِيحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ إِلَّا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٍ فِي ظُلُمَاتِ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ مبين

صدق الله العظيم (الأنعام:59)

كلمة شكر

اللهم لك الحمد حمداً كثيراً ولك الشكر كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك.....

أتقدم بجزيل الشكر لمشرفي هذا البحث الاستاذين الفاضلين الدكتور يونس الخيالي و الدكتور محمد مفتاح على ما بذلوه من جهد واجتهاد لإخراج هذا البحث فى أحسن صورة، أدعو الله العلي القدير أن يجزيهما عني كل خير، كما أتقدم بالشكر إلى كل أعضاءهيئة التدريس بقسمي علم النبات و الكيمياء وكل من ساعدنى فى إنجاز البحث كما لا يفوتني إن اقف وقفة شكر وتقدير إلى رفاق العلم الذين تعاونوا معي بتقديم آرائهم وأفكارهم إلى كل من ساهموا معي في اخراج هذا البحث بهذه الصورة.

شكري موصول الى من أناروا فكري وكانوا الدليل في بداية دربي والمثل الأعلى والسند فى تكملـــــــة مشواري جمال الدين محمد د. الشارف البغدادي، د. حافظ أمحمد د. محمد أرحيم، د. زهرة عبداللــه، أ. عياد ميلاد، أ. محمد إبراهيم، أ. مسعودة عمر، أ. أبتسام محمد، أ. فادية إشعيوي .

أخيراً الشكر كل الشكر إلى افراد اسرتي الكريمة إلى كل ما قدموه لي من مساعدة فلكم مني همسة من صميم القلب.

معدة البح

الإهداء

(قل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون)

إلهى لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك..ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك.. ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك..ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك الله جل جلاله

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة ..ونصح الأمة ..إلى نبي الرحمة ونور العالمين ..

سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى من أحمل أسمه بكل افتخار أرجو من الله أن يمد فى عمرك لترى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار والدي العزيز

إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب

أمي الحبيبة

إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله إلى من آثروني على انفسهم

إخوتي وأخواتي

أهدي تخرجي إلى من تمنى لي النجاح والتوفيق رآجية من الله أن يبارك فيه ويحفظه بعينه التى لا تنام

جمال الدين محمد

إلى الاخوات والأخوة إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء الى ينابيع الصدق الصافي إلى من معهم سعدت وبرفقتهم فى دروب الحياة سرت إلى من كانوا معى على طريق النجاح والخير إلى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا اضيعهم

زميلاتي وزملائي بمستوصف الثانوية

معدة البحث

دولة ليبيا

جامعة سبها / كلية العلوم

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الإجازة العالية (الماجستير)

(في علم النبات)

اسم الطالبة : آمنة خالد حسين محمد

بتاريخ: 24/ 11 / 2018 م

قسم علم النبات (كلية العلوم – جامعة سبها)

	أعضاء لجنة الإشراف		**التوقيع**
.1	أ.د يونس أبوبكر علي الخيالي	مشرف أول	
2	د. محمد مفتاح الصنباني	مشرف ثاني	2018/12/18

مدير مكتب الدراسات العليا بكلية العلوم

دولة ليبيا

جامعة سبها
SEBHA UNIVERSITY LIBYA

جامعة سبها / كلية العلوم

قدمت هذه الرسالة استكمالا لمتطلبات الحصول على درجة الإجازة العالية (الماجستير)

(في علم النبات)

اسم الطالبة : **آمنة خالد حسين محمد**

بتاريخ: 24/ 11 / 2018 م

قسم علم النبات (كلية العلوم – جامعة سبها)

	أعضاء لجنة المناقشة		**التوقيع**
.1	أ.د يونس ابوبكر علي الخيالي	مشرفا أول	
.2	د.محمد مفتاح الصنباني	مشرفا ثاني	
.3	أ.د عبد القادر السنوسي قاسم	ممتحنا داخليا	
4	أ.د احمد الصغير دبوب	ممتحنا خارجيا	

مدير مكتب الدراسات العليا بكلية العلوم

المحتويـــــات

الموضوع **الصفحة**

الآية القرآنية .....

كلمة الشكر .....

الإهداء .....

الملخص العربي .....

1. 1. تمهيد 1

2.1. المقدمة 2

1. 3. الدراسات السابقة 4

4.1. تصنيف وتعريف العينات النباتية 6

1. 4. 1. نبات الريحان *Ocimum basilicum* 7

1. 4. 2. نبات الفلية *chamomillia aurea* 8

4.1. 3. نبات القرض *Acacia nilotica* 9

1. 5. الهدف من الدراسة 10

2. المواد و الطرق .....

2. 1. موقع الدراسة 11

2. 2. تجفيف النباتات وطحنها 11

2. 3. وسط النمو 12

2. 4. العزلات البكتيرية 12

2. 4. 1. صبغة جرام 12

2. 4. 2. اختبار الكتاليز 12

2. 4. 3. اختبار الاوكسيديز 13

الموضوع	الصفحة

2. 4. 4. آجار السكر الثلاثي 13
2. 4. 5. اختبار شريط API 20E..... 13
2. 5. الكشوفات الكيميائية لبعض المركبات الفعالة الموجودة في نباتات قيد الدراسة 13
2. 5. 1. الكشف عن الفلافونويدات 13
2. 5. 2. الكشف عن الجلايكوسيدات 14
2. 5. 3. الكشف عن التانينات 14
2. 5. 4. الكشف عن الصابونيات 14
2. 5. 5. الرانتجات 14
2. 5. 6. القلويدات 14
2. 5. 7. الفينولات 15
2. 5. 8. الزيوت الطيارة 15
2. 5. 9. تقدير بعض العناصر الثقيلة للمستخلصات 15
2. 5. 10. قياس الاس الهيدروجيني "pH" و درجة الحرارة 15
2. 6. تحضير المستخلصات النباتية 15
2. 7. اختبار التضاد (تأثير المستخلصات على البكتيريا المختبرة) 16
2. 8. المضادات الحيوية 16
2. 9. التركيز المثبط للمستخلص 17
2. 10. التحليل الاحصائي 17
3. النتائج .....
4. المناقشة .....
5. الخلاصة 45
6. التوصيات 46

الموضوع	الصفحة

7. المراجع العربية 47
8. المراجع الأجنبية 50
9. الملخص الإنجليزي 55
10. **الملاحق** .....
1.10. ملخص البحث المقدم للمؤتمر العلمي الأول لطلبة الدراسات العليا - جامعة سبها- كلية العلوم الهندسية و التقنية- براك الشاطئ- ليبيا- 18- أبريل- 2017 م 56
1.10. ملخص البحث المقدم للمؤتمر الدولي الأول للعلوم والتكنولوجيا جامعة سبها- كلية العلوم - ليبيا- 12- فبراير - 2018 م 57
2.10 مقياس ماك فورلاند .McFarland tubes 58
10. 3. نتائج اختبار API..... 59
4.10.نتأئج التحليل الأحصائي..... 60
10 .5 صور الكشوفات الكيميائية لبعض المركبات الفعالة الموجودة في النباتات.... 72
6.10 لبعض الأجهزة المستخدمة فى عملية استخلاص النباتات 73
7.10 الأوساط الزراعية..... 74

الجـــــــداول

الجـدول **الصفحة**

1. الكشف الأولي عن المركبات والمجاميع الفعالة في نباتات الدراسة 18
2. تراكيز بعض عناصر الثقيلة للمستخلصات النباتية 19
3. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الريحان *O. basilicum* باستخدام مذيب الإيثانول على البكتيريا المختبرة 20
4. تحديد أقل تركيز مثبط للبكتيريا لمستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الإيثانول 21
5. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *O. basilicum* باستخدام مذيب الاسيتون على البكتيريا المختبرة 22
6. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *O. basilicum* باستخدام مذيب الكلوروفورم على البكتيريا المختبرة 23
7. أقل تركيز مثبط للبكتيريا لمستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم 25
8. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *O. basilicum* باستخدام الماء المقطر على البكتيريا المختبرة 26
9. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C.aurea* باستخدام مذيب الايثانول على البكتيريا المختبرة 28
10. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الاسيتون على البكتيريا المختبرة 30
11. أقل تركيز مثبط للبكتيريا لمستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون 31
12. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C.aurea* باستخدام مذيب الكلوروفورم على البكتيريا المختبرة 32
13. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C.aurea* باستخدام الماء المقطر 33

الجـدول	الصفحة

14. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الايثانول 34
15. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الاسيتون 35
16. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الكلوروفورم. 37
17. تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام الماء المقطر. 38
18. نتائج تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا المختبرة 39

الأشكـــــــال

الشكل **الصفحة**

1. نبات الريحان 7
2. نبات الفلية 8
3. نبات القرض 9
4. خريطة ليبيا (مواقع جمع العينات) 11
5. نتائج اختبارات التعريف البكتيري 17
6. تراكيز بعض عناصر المعادن الثقيلة للمستخلصات النباتية 19
7. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الايثانول على البكتيريا عند تركيز 100%..... 21
8. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الأسيتون على البكتيريا عند التركيز 100% 22
9. تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الأسيتون على بكتيريا *B. subtilis* 23
10 متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الكلوروفورم على البكتيريا عند تركيز 100%..... 24
11. تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم على بكتيريا *S. cholerasui* 24
12. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الماء المقطر على البكتيريا عند تركيز100%..... 26
13. تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام الماء المقطر على بكتيريا *E. coli* . 27

الشكل	الصفحة

14. متوسط اقطار مناطق التثبيط لمستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الإيثانول عند تركيز100%..... 28

15. أثير مستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الإيثانول على بكتيريا *Staph. aureus* 29

16. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون على البكتيريا عند التركيز 100%..... 30

17. تأثير مستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون على بكتيريا *E. coli* .. 31

18. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام مذيب الكلوروفورم على البكتيريا عند التركيز 100%..... 32

19. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام الماء المقطر على البكتيريا عند تركيز 100%..... 33

20. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض باستخدام مذيب الإيثانول على عند التركيز 100%..... 34

21. تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام مذيب الإيثانول على بكتيريا *Ps. aeruginosa* 35

22. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض باستخدام مذيب الأسيتون عند التركيز 100%..... 36

23. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض على باستخدام مذيب الكلوروفورم عند التركيز100%..... 37

24. متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض على باستخدام الماء المقطر عند التركيز 100%..... 38

25. تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام الماء المقطر على بكتيريا *E. coli* ... 39

26. حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية 40

1. 1. تمهيد Preface

شهدت صناعة المضادات الحيوية تطوراً كبيراً ، حيث كانت الفترة الممتدة من 1950 و حتى 1980 هي الفترة الذهبية لاكتشاف معظم المضادات الحيوية المستعملة الآن و حتى يومنا هذا مازالت الابحاث و الدراسات مستمرة بُغية اكتشاف و تطوير مضادات حيوية جديدة، يبلغ عدد المضادات المكتشفة حتى الآن 3000 مضاد، منها 2500 تنتجه الميكروبات؛ المضادات المستخدمة في التداوي لا تتجاوز 60 مضاد حيوي، خلاصة القول في الآونة الاخيرة شهد توسع في استخدام المضادات الحيوية وسوء الأستخدام نتج عنه ظهور ميكروبات شديدة المقاومة لأغلب المضادات الحيوية المعروفة و التي كان لها فيما مضى تأثير على هذه الميكروبات؛ و هذا ما حذرت منه منظمة الصحة العالمية (WHO) في وقت قريب من ظهور أنواع مقاومة للمضادات الحيوية؛ نتيجة لهذه المقاومة و خوف الانسان من ظهور سلالات ميكروبية شديدة المقاومة عاد إلى الطبيعة و استخدام الطب الشعبي "أو البديل" كبديل عن هذه المضادات في التداوي و العلاج (منظمة الصحة، 2017) .

تم نشر ورقتين بحثيتين من هذا البحث واحدة فى المؤتمر العلمي الأول لطلبة الدراسات العليا جامعة سبها- كلية العلوم الهندسية والتقنية ، والأخرى فى المؤتمر الدولي الأول للعلوم والتكنولوجيا بكلية العلوم جامعة سبها. ملخص هذين الجزئين دونا في الملحق رقم (1).

المقدمـــة

Introduction

1. 2. المقدمة Introduction

النباتات و الأعشاب الطبية و العطرية من أقدم النباتات التي عرفها الإنسان و استخدمها في الغذاء و كذلك في علاج الكثير من الأمراض؛ نتيجة لوجود مواد فعالة بها (عباس،2011). الاستعمال المكثف و الطويل للأدوية الصناعية و التي من بينها المضادات الحيوية التي لها العديد من الأضرار الجانبية على صحة الإنسان كالحساسية و التسمم و غيرها، كما أن الكثير من الأعراض نتجت عن سوء استعمال هذه المضادات وأدت إلى اكتساب الميكروبات المسببة للأمراض مناعة بسبب تكوينها لطفرات ضدها (الجنابي وكمال ،2014). لذلك اتجه الإنسان الى استخدام بدائل عن هذه الأدوية لتفادي تأثيرها الضار على صحته، فوجد في استخدام النباتات و مستخلصاتها فوائد كثيرة، بمعنى آخر العودة إلى الطبيعة و لذلك بدأت كثير من شركات الأدوية في محاولة انتاج أنواع من المستخلصات القائمة على مجموعة من الأعشاب الطبية المدروسة دراسة علمية بجرعات علاجية و خالية من السمية (بركة والزكراوي، 2012). الكثير من الأعشاب و النباتات التي استعملت و مازالت تُستعمل بكثافة في الطب الشعبي بدأت تتعرض للاختفاء أو ربما للانقراض (عميرة، 2011). و نظراً للمشاكل الناتجة عن استخدام المضادات الحيوية التقليدية اتجه العالم إلى المركبات (المستخلصات) النباتية لما لها من فؤاد طبية وسهولة الحصول عليها وقلة تكلفتها، مما أدى إلى انتشارها بشكل كبير في آواخر التسعينيات من القرن الماضي بما عرف بالطب البديل (Eisenberg *et al.*, 1993).

لقد لجأ العلماء في الآونة الأخيرة إلى إجراء أبحاث على النباتات للحصول على علاجات طبيعية لتقوية المناعة وللتقليل من الأخطار الناجمة عن الإفراط في استخدام المضادات الحيوية وما يترتب عنها من زيادة مقاومة الميكروبات لهذه المضادات المستخدمة بصورة مستمرة، إن النباتات لها القدرة على تصنيع مركبات كنواتج أيضية ثانوية تتواجد في البذور والأوراق أو في الجذور، ومن هذه المركبات ما يكون لها دور من الناحية الطبية(Bogdadi *et., al* 2007). من جانب أخر قد أشار Cohen في العام 1992 إلى الاستخدام الشائع للنباتات في إفريقيا لمعالجة العديد من الأمراض. العديد من العلماء أشاروا في دراساتهم لأهم الادوار التي لعبتها و تلعبها مستقبلاً المستخلصات النباتية في معالجة الأمراض و مكافحة الميكروبات وفي هذا الإطار لقد أكد (Mitscher *et al.*,1972)إن ازدياد مقاومة الكائنات الحية المجهرية ضد العقاقير الصناعية، مثل بعض أنواع البكتيريا، وهذه الحقيقة تدعو للقلق بسبب انتشار المرض وبسبب ظهور سلالات بكتيرية مقاومة أكثر خطورة في المستشفيات العامة.

أكدت بعض الدراسات إن العديد من المواد الفعالة في النباتات استعملت ضد الميكروبات للتأكد من فاعليتها، وتبين بأن بعض النباتات لها القدرة على إنتاج مواد عطرية مثل الفينولات أو

مشتقاتها وأغلبها مشتقات ثانوية(الجنابي وكمال ،2014). تشير ايضاً العديد من الدراسات الى أن هذه المواد النباتية تستعمل من جانب النبات كآليات دفاع ضد الكائنات الحية والبعض منها يعطي النباتات روائح مثل التربينويدات (Terpenoids) و التانينات (Tannins) و الكيتونات (Cutins) المسؤولة عن الأصباغ في النباتات (Elloff, 1998). إن النباتات الطبية لها فعل فسلجي وفعل مضاد واسع جداً؛ لذلك فقد شغل هذا الموضوع الكثير من الباحثين من اجل التوصل إلى علاج الكثير من الأمراض، من ضمن النباتات التي تم استخدامها نبات الريحان الذي يتميز باحتوائه على مركبات فعالة طبيا مثل الجلايكوسيدات، القلويدات، التربينات، التانينات، والزيوت الطيارة، و يصنع منه كمادات للمساعدة على التئام الجروح ويستعمل لحالات السعال والأرق وطارد للغازات وضد التشنج؛ ونظرا لرائحته العطرية تضاف أوراقه الطازجة الي الاطعمة (Duck &Ayensu, 1985) (لبنية، 1994). وايضا يعد نبات القرض من النباتات المستخدمة كمطهرات ومضادة للإسهال كذلك بذوره تستخدم كمواد قابضـــة في علاج البواسير وغيرها من الإمراض (Louhaichi *et al*., 2001). نبات الفلية هو الآخر استخدمت ازهاره في عـــلاج نـــزلات البـــرد والروماتزم وحـالات القرحـة المعويـة والمعديـة ومـــضادة للالتهابـــات الجلديـــة وتقرحـــات الفـــم واللـــسان والتهـــاب اللـــــــوزتين ويحتوي النبات على مركبات فعالة مثل . القلويدات، التانينات و الكيومارين (مجيد ، ومحمود 1988) وتنتشر هذه النباتات تقريبا في ربوع ليبيا بالكامل؛ ونظرا لأن هذه النباتات تفضل النمو بالمناطق الدافئة نجدها بالتالي تنتشر في المناطق الجنوبية من البلاد والتي تتمتع بمثل هذا المناخ، حيث تتواجد في مدينة سبها و بعض الاودية مثل وادي الشاطئ والحياة (الآجال) واودية الجبال (جبل الحساونة، تبستي، العوينات، و الهروج السوداء)، أضافة الى منطقة غات (Feng *et al*., 2013).

نظراً لكثرة استخدام النباتات وقلة تكلفتها وما تتميز به من صفات طبية وذات استخدام واسع؛ لذلك تم اختيار هذه النباتات ومن ثم اختبار مستخلصاتها ومعرفة تأثيرها على بعض أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان و لاستكمال هذا العمل تم استخدام بعض النباتات المعروفة في الطب الشعبي وهي: نبات الريحان *Ocimum basilicum*، القرض *Acacia nilotica* و الفلية *Matricaria chamomillia*، حيث تم تجميع نبات الفلية من منطقة العوينات (بالقرب من غات)، بينما القرض فجمع مجففاً من منطقة وادي الشاطئ، ونبات الريحان من منطقة سبها، حيث تتميز هذه النباتات باحتوائها على مركبات فعالة طبياً منها الجلايكوسيدات، و القلويدات وتستخدم كعلاج طبي للعديد من الأمراض (الساعدي، 2006) .

1. 3. الدراسات السابقة Literature review

لقد أجريت في السابق العديد من الدراسات والأبحاث على النباتات من حيث تأثير مستخلصاتها على البكتيريا الممرضة للإنسان لاحظ (Flemming., 1928) حساسية بكتيريا *Escherichia coli* و *Enterococcus faeclis* تجاه التأثير التآزري لمستخلص الشاي الأخضر والزنجبيل وكان لكلا المستخلصين تأثيرات مضادة لبكتيريا *Entrococcu faecalis*، في حين لم يكن لها أي تأثير على *Escherichia coli*، كما وجد (Wilson & Brown 1953)ان لمستخلصات نباتي الثوم *Allium sativum* والبصل *A. cipa* تأثير مثبط ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*، كما وجد (Al-delaimy & Ali.,1970) إن تركيز 4 % من المستخلص المائي للثوم كان مثبطاً لكل من بكتيريا *Shigella dysenteriae*، *Salmonella typhi* و *E. coli* و في دراسة أخرى (Norris & Ribbons., 1970)، أجريت لمعرفة تأثير مستخلص الشاي الاخضر على بعض أنواع البكتيريا المعزولة من جلد الانسان مثل *Micrococcus* sp. و *Staphylococcus. epidermids* بينت النتائج أن للمستخلص تأثير مثبط لتلك الانواع بمنطقة تجاوزت 7 ملم، وفى دراسة اخرى قام بعض الباحثين بالتحري عن الفعالية التثبيطية للمواد الفعالة للمستخلص الكحولي والمائي البارد لنبات السدر *Zizyphusspin-csiti* في تثبيط نمو *E. coli*، *Klebsiella* و*Strpetococcus feacalis* وذلك لاهميتها السريرية بصفتها المسببة لالتهاب المجاري البولية، وقد بينت النتائج أن هذه المستخلصات ذات تأثير فعال في تثبيط نمو هذه البكتيريا، اذ بلغ اعلى معدل قطر للتثبيط (20 ملم) لبكتريا *Strpetococcsus feacalis* عند التركيز 200 ملغم /مل، بينما بلغ اقل قطر للتثبيط (8 ملم) لبكتريا *Klebsiella* عند التركيز 100 ملغم /مل في المستخلص الكحولي والمائي البارد، كذلك بينت نتائج الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة لهذا النبات احتوائه على مركبات Terpenoids، Tannins، Alkaloids و Flavonids 1994 , Nickel *et al*)(Winberg et al., 1990)). أثبت(Campo *et al*., 2000) أن المستخلص الايثانولي لنبات الإكليل *Rosmarinus officinalis* كان له تأثير مثبط ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus. mutans* و *Bacillus cereus*، كما بينت دراسة (يوسف، 2001) أن تانينات الشاي الأخضر تساعد في القضاء على النشاط الضار لبكتيريا الأمعاء؛ مما يقلل من تكون نواتج التعفن في القناة الهضمية وزيادة تكون الأحماض العضوية وخفض pH فيجعل الوسط غير ملائم لنمو البكتيريا الضارة وأكثر ملائمة لبكتيريا حامض اللاكتيك النافعة.

أشــار (Seeram *et al.*, 2002) وأخرون في دراسـة أجـروهـا على مستخلص أوراق نبات الرمان *Punica granatum* تحتوي على كمية كبيرة من حمض التانيك والذي له دور قـوى وفعـال في تقليل الدهـون، وايضا لاحتوائه على مضـادات الأكسـدة، و استخدم نبات اليقطين *Cucurbita pepo* كمضاد حيوي ضد البكتيريا و خاصةً المسببة لالتهاب المسالك البولية، و يستطيع مستخلصه أن يوقف نمو الميكروبات، إما بقتلها أو تثبيطها، حيث تم تحضير المستخلصات المائية للثمار و البذور، ثم اختبرت ضد البكتيريا الممرضـــــــــــة مثل العنقوديـــــــــــــة الذهبية *S. aureus* و *E. coli*، و أظهرت النتائـج إن هذه المستخلصات لها تأثيرات مثبطة ضد البكتيريا المختبرة، حيث ثبط التركيز 0.2 % للمستخلص المائي نمو بكتيريا *S. aureus* بقطر تراوح ما بين 18.02 - 9.41 مم بعد 24 ساعة من التحضين، بينما كان التأثير أقل على بكتيريا *E. coli* بقطر بلغ 15.12 مم (Singhal and Garg., 2007؛ الصديق،.2011). وقد قام (عجينة و آخرون، 2009) بدراسة أربعة انواع من النباتات هي ثمار الكمون *Cuminum cyminum* وبذور الفلفل الأسود *Piper nigrum* و أوراق الميرمية *Salvia officinalis* وأوراق الصنوبر الإبرية *Pinus halipensis* وأخضع المستخلص الكحولي والايثانولي لكل نبات لعدة اختبارات للكشف عن الفعاليـــة المضادة ضد بكتريـــــا *B. subtilis* ، *B. Cereus* ، *E. Coli* ، *Klebsiella* ، *Pseudomonas aeruginosa* و *S. typhi* وقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص نفسه واختلاف الكائن المجهري المختبر، إذ أظهرت المستخلصات الكحولية الإيثانولية فعالية تثبيطيه ضد بعض الميكروبات عند تركيز 80 ملغم/ مل، حيث تراوحت معدلات أقطار هالات التثبيط تجاه البكتريا بين 0- 0.9 مم للكمون، من 0.1- 10.8مم للفلفل الأسود و 0- 0.7 مم للميرمية و 0- 1.4 مم لأوراق الصنوبر وأتضح أن المستخلص الكحولي لبذور الفلفل الاسود هو الأفضل في تثبيط جميع انواع البكتريا، وفى دراسة أخرى (جواد، 2011)، لمعرفة التأثير التثبيطي لمستخلصات بذور نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* المائية والكحولية والزيتيــة على أنواع من البكتيريا الممرضة *Staph. aureus* ، *Pseudomonas*، *E coli*، *Klebsiella* و *Strept. pneumonia* اظهرت النتائج تأثيراً تثبيطياً واضحاً لهذه المستخلصات على البكتيريا Gram positive وبالأخص *Staph. aureus,* و *Staph. epidermis*، فيما كان تأثيرها على البكتيريا Gram Negative أقل تأثير كتأثيرها على بكتيريا *E. coli* او عديمة التأثير كما هو الحال مع بكتيريا *Pseudomonas* و *Klebsiella*، اختُبر التأثير الحيوي لبعض مستخلصات أوراق نبات الآس *Myrtus communis* على انواع مختلفة من البكتيريا موجبة وسالبة الجرام، اظهرت النتائج ان المستخلصات المائية تمتلك فعالية

مضادة إزاء جميع أنواع البكتيريا السالبة والموجبة باستثناء ***Klebsiella pneumoniae*** وكان له تأثير على بكتيريا *Proteus vulgaris* والمكورات المعوية البرازية *Entrococcus faecium* و المكورات العنقودية الذهبية*Staphylococcus aureus* وبكتيريا الزوائف *pseudomonas aeruginosa*(زينب، 2012). و أجريت دراسة للمستخلص الكحولي و المائي لثمار القرنفل *Ianthus carphyllus* بتراكيز 0.1 %، 0.2 % و 0.3 % لمعرفة تأثير مكوناته الفعالة على بعض أنواع البكتيريا، و اوضحت النتائج ان المستخلص الكحولي بتركيز 0.3 % كان الأفضل في تثبيط البكتيريا وذلك من خلال قياس قطر منطقة التثبيط (جعفر وآخرون، 2013). هدفت دراسة بجامعة بابل لمعرفة تأثير فعالية تراكيز المستخلص المائي والكحولي (المثيلي والايثيلي) لثمار و جذور و الزيت الطيار لنبات الكراوية.*Carum carvi* على نوعين مـن البكتيريا هي *E. coli* و *Staph. aureus* اظهرت النتائج أن فعالية المستخلصات النباتية تجاه نمو كلا النوعين تباينت حسب نوع الجزء النباتي ونوع المستخلص وتركيزه واظهر المستخلص الايثانولي للجذور بتركيز 200 ملغم فقط تثبيطاً لنمو *E. coli* بقطر منطقة تثبيط بلغت 16 ملم، أما باقي المستخلصات الاخرى لم تؤثر في نمو البكتريا نفسها، في حين كانت بكتيريا *Staph. aureus* أكثر تأثراً بالمستخلصات النباتية واظهر المستخلص الميثانولي للجذور بتركيز 200 ملغم فرقا "معنويا "في تثبيط نموها بقطر تثبيط 25 ملم والذي لم يختلف معنويا عن المستخلص الميثانولي للجذور بتركيز 400 ملغم الذي اعطى قطر تثبيط بلغ 24 ملم، بخصوص الزيت الطيار كان التركيز 100 % فقط هو الفعال في تثبيط نمو *E. coli* بقطر بلغ 20 ملم، واظهرت بكتيريا *Staph. aureus* مقاومة لجميع تراكيز الزيت التي استخدمت في الدراسة (عبد البهادلي و مطرود، 2015).

1. 4. تصنيف وتعريف العينات النباتية

صنفت هذه النباتات في معشبة قسم علم النبات بكلية العلوم- جامعة سبها حسب طريقة (Mitscher et al ,.1972)). أخذت المواصفات المورفولوجية والتشريحية لكل نبات، الريحان جمع طازج من احد الحدائق المنزلية بمدينة سبها بعدها جفف في المعمل، الفلية أخذت مجففة من منطقة العوينات (بالقرب من غات)، بينما القرض فجمع مجففاً من منطقة وادي الشاطئ.

1. 4. 1. نبات الريحان *Ocimum basilicum*

يتبع الفصيلة الشفوية Lamiaceace نبات حولي شجيري صغير (شكل 1) يزرع في الحدائق كنبات زينة وله رائحة عطرية، اوراقه بسيطة معنقة بيضاوية الشكل والازهار كبيرة الى حد ما جانبية التناظر متجمعة في نورات مكتظة وهى بيضاء او محمرة قليلا، يتميز النبات باحتوائه على مركبات فعالة طبياً منها الجلايكوسيدات، و القلويدات و التربينات ويستخدم الريحان كنبات طبي لعلاج ألم الرأس وألم الأذن والسعال والاسهال وكعلاج شعبي لسوء الهضم والغثيان والتهاب المعدة والأمعاء وايضا لإعطاء نكهة للغذاء.. (Adam& Omer,.2015) يصنف النبات (السحار، 1987)، وفق الآتي:

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnolipsida

Order: Lamiales

Family: Lamiaceae

Genu: *Ocimum*

Species: *O. basilicum*

شكل (1). نبات الريحان (نامي في احد المنازل بمدينة سبها).

1. 4. 2. نبات الفلية *Chamomillia aurea*

يعتبر نبات الفلية (شكل 2)، من اهم النباتات الطبية تنتمي الى العائلة المركبة Asteraceae، نبات عشبي يبلغ ارتفاعه ما بين (20-50) سم، أزهاره كثيرة التفرع بيضاء اللون نوراتها صفراء لها رائحة عطرية نفاذة (قبيسي، 1998). تنتشر في أغلب دول العالم ويستعمل بشكل شائع النورات الزهرية بسبب احتوائها على العديد من المواد الفعالة كالجلايكوسيدات، القلويدات و التربينات، تستخدم الفلية من الناحية الطبية كعلاج لالتهابات العين وخافض لدرجات الحرارة ومهدئاً للأعصاب ومضاد للتشنج وفاتحة للشهية ومنشطة للدورة الدموية ومزيلاً للمغص وآلام المعدة خصوصاً عند الأطفال (مجيد ومحمود، 1988). يصنف النبات (السحار، 1987)، وفق الآتي:

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnolipsida

Order: Asterales

Family: Asteraceae

Genu: *Chamomilla*

Species: *C. aurea*

شكل (2). نبات الفلية (www.tamatart.com/p).

4.1. 3. نبات القرض *Acacia nilotica*

شجرة يصل ارتفاعها الى 15 مترا تتبع الفصيلة الطلحية *Mimosaceae* (شكل 3)، ثمارها شديدة المرارة وجافة وبها حبوب سوداء من الداخل ذات لون اسمر، للقرض فوائد علاجية كثيرة فالثمار تعطى منقوعة لمعالجة الاسهال خصوصاً للأطفال، ولعلاج التهاب العيون و ارتفاع درجة الحرارة؛ وذلك لاحتوائها الثمار على مواد قابضة فعالة مثل: الجلايكوسيدات، القلويدات التربينات، الفلافونيدات والفينولات **(**Mattana *et al*., 2012**).** يصنف النبات (السحار، 1987)، وفق الآتي:

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Order: Fabales

Family: Mimosaceae

Genu: *Acacia*

Species: *A. nilotica*

شكل (3). نبات القرض (نامي فى أحدي مناطق الشاطئ تاروت).

1. 5. الهدف من الدراسة

تهدف هذه الدراسة لأظهار أهمية النباتات الطبيعية والعطرية وابراز دورها المهم للأنسان بأستخدامها فى مجال البحث العلمي و محاولة استخدامها ضد بعض انواع البكتيريا الممرضة للأنسان من حيث:-.

1- دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنباتات الريحان *Ocimum basilicum*، و القرض *Acacia nilotica* و الفلية *Chamomilla aurea* ومعرفة قدرتها على تثبيط وايقاف نمو بعض انواع من البكتيريا الممرضة للإنسان.

2- الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة المتواجدة في النباتات قيد الدراسة.

3- قياس محتوى بعض العناصر المعدنية الثقيلة والخفيفة لهذه النباتات.

4- معرفة تأثير بعض المضادات الحيوية التجارية شائعة الاستخدام ضد بعض البكتيريا الممرضة للأنسان *Escherichia coli*, *Bacillus subtilus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Salmonella cholerasuis* و *Staphylococcus aureus*.

المواد و الطـرق

Materials and methods

2. 1. موقع الدراسة

شملت الدراسة مواقع مختلفة من الجنوب الغربي لليبيا يغلب عليها المناخ الصحراوي (الحار و الجاف صيفاً و شديد البرودة شتاءاً) تبعد عن بعضها البعض بمسافة تتجاوز 400كم هي: منطقة العوينات بغات جمع منها نبات الفلية، مدينة سبها جمع منها نبات الريحان و اخيراً نبات القرض من وادي الشاطئ (شكل 4).

شكل (4). خريطة ليبيا (مواقع جمع العينات).

2. 2. تجفيف النباتات وطحنها

استناداً إلى طريقة ابوزيد (1985) تم تجفيف المجموع الخضري للنباتات المستخدمة في الدراسة (الريحان، القرض و الفلية) بوضع النباتات في مكان ظليل بعد فردها على ورق لمدة 10 أيام، ثم بعد ذلك تم طحنها بواسطة هاون خزفي بعد إزالة الاجزاء الخشبية الصلبة منها؛ بغية الحصول على النباتات في شكل مسحوق، هذا و استخدمت الثمار بالنسبة لنبات القرض، و الاوراق لنبات الريحان و أخيراً استخدمت الازهار و الاوراق معاً بالنسبة لنبات الفلية.

2. 3. وسط االمغذي

استخدم لتنمية البكتيريا وحفظها، علاوة على اختبار التضاد وسط Mueller- Hinton Agar(MHA) و الذي حضر بحسب ارشادات الشركة المنتجة (Oxoid) بإذابة 38 جرام في لتر من الماء المقطر، يعقم في الأوتوكلاف على درجة حرارة 121˚ م لمدة ربع ساعة و يترك الى حين الاستخدام.طريقة التحضيرالوسط ملحق رقم (6)

2. 4. العزلات البكتيرية

استخدم في هذه الدراسة خمسة عزلات بكتيرية مشخصة مسبقاً من العينات المرضية للمرضى المترددين على مركز سبها الطبي و المختبر المركزي و معامل قسم علم الحيوان بجامعة سبها واجري لهذه العزلات بعض الاختبارات المورفولوجية و البيوكيميائية لتأكيد هويتها شملت:

البكتيريا	المصدر
Escherichia coli *Pseudomonas aeruginosa*	مركز سبها الطبي
Bacillus subtillus	معمل قسم علم الحيوان
Salmonellas cholerasuis *Staphylococcus aureus*	المختبر المركزي

2. 4. 1. صبغة جرام (Gram stain)

تستخدم هذه الصبغة لتقسيم البكتيريا إلى مجموعتين على أن تكون البكتيريا الموجبة (ذات لون بنفسجي) و سالبة (ذات لون أحمر) وهذا الفرق ناتج عن الاختلاف في التركيب والمحتوى الكيميائي لجدار الخلية.(Brown, 2007)

2. 4. 2. اختبار الكتاليز (Catalase production test)

يستخدم فيه محلول فوق أكسيد الهيدروجين (Hydrogen Peroxide (H_2O_2 3%، إذ يؤخذ عينة من المستعمرة البكتيرية و يوضع فوقها قطرة من المحلول؛ أذا ظهرت فقاعات تكون نتيجة موجبة للاختبار Positive و البكتيريا تمتلك هذا الانزيم، و إذا لم تظهر هذه الفقاعات تكون نتيجة سالبة Negative و البكتيريا تفتقر لهذا الانزيم (Brown, 2007).

2. 4. 3. اختبار الاوكسيديز (Oxidase test)

الاوكسيديز عبارة عن انزيمات مؤكسدة ضمن سلسلة الانزيمات التنفسية المسؤولة عن تفاعلات الفسفرة التأكسدية، حيث تستطيع أكسدة بعض الامينات العطرية لتكوين نواتج نهائية ملونة. نُميت السلالات البكتيرية أولاً على آجار MHA و حضنت على درجة 37° م لمدة 24 ساعة، بعد مرور فترة التحضين تنقل كمية قليلة من البكتيريا بإبرة التلقيح و تمزج على ورق ترشيح مشبع بمحلول 1% Tetramethyl-1-p-phenylene diamine. إذا ظهر لون ارجواني أو ازرق مباشرةً بعد المزج دل ذلك على امتلاك البكتيريا للأنزيم و اعتبرت النتيجة موجبة، و إذا لم يتلون فإن البكتيريا لا تمتلكه و النتيجة سلبية (Grundmann *et al*., 1995).

2. 4. 4. آجار السكر الثلاثي "Triple Sugar Iron agar "TSI

يحتوي هذا الوسط على ثلاثة أنواع من السكريات هي: الجلوكوز و السكروز و اللاكتوز، و الحديد إضافة إلى كاشف للـــــ pH، في العادة يكون تركيز اللاكتوز و السكروز 10 أضعاف الجلوكوز، أجري هذا الاختبار بقصد التفرقة بين الانواع البكتيرية و تعريفها كما وصف من قبل (Collins *et al*., 2004). على الوسط السالف الذكر و الذي حضر وفق ارشادات الشركة المنتجة (Oxoid)، ثم وزع على انابيب اختبار و عقمت في الأوتوكلاف على درجة حرارة 121° م لمدة ربع ساعة، بعد التعقيم ،وضعت الانابيب على سطح مائل للحصول على الآجار المائل Slant agar، ثم لقحت البكتيريا في الانابيب بطريقة الوخز، و حضنت على درجة 37° م لمدة 24 ساعة، بعد التحضين تفحص الانابيب و تسجل النتائج.

2. 4. 5. اختبار شريط API 20E

تم اختبار العزلات البكتيرية السالبة لصبغة جرام لمعرفة قدرتها على تحليل و اكسدة بعض المواد الكيميائية كما وصف (Brown, 2007)، باستخد ام اشرطة API 20E (BioMérieux, France)، بعد حقن الاشرطة بالمعلق البكتيري Bacterial suspension تحضن على درجة حرارة 37° م و لمدة 24 ساعة، تلاحظ النتيجة بعد اضافة الكواشف لبعض الاختبارات بتغير في الألوان، النتائج الإيجابية تعطى إشارة (+) و النتائج السالبة إشارة (-) ،تعطى النتائج لتعطي في النهاية مجموعة ارقام لا يقل عددها عن سبعة، هذا و تم استخدام هذا الشريط مع السلالات البكتيرية سالبة الجرام.

2. 5. الكشوفات الكيميائية لبعض المركبات الفعالة الموجودة في النباتات قيد الدراسة

2. 5. 1. الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids

يجرى هذا الكشف بإضافة 4 مل من الكحول الإيثيلي (95 %) إلى 1 مل من المستخلص النباتي في أنبوبة اختبار، ثم توضع في حمام مائي عند درجة الغليان لمدة 25- 30 دقيقة بعد

إخراجه من الحمام تضاف اليه قطرات قليلة من هيدروكسيد البوتاسيوم (0.5 عياري)، في حالة وجود الفلافونويدات سيظهر لون داكن (Harborne, 1984).

2. 5. 2. الكشف عن الجلايكوسيدات Glycosides

يجرى بمزج جزئين متساويين من كاشف فهلنك مع المستخلصات النباتية المائية، ثم يترك المزيج في حمام مائي عند درجة الغليان لمدة 10 دقائق. يستدل على ايجابية الفحص من خلال ظهور راسب احمر وهو دليل على وجود السكريات وللتأكد من هذه النتيجة يضاف 1 مل من المستخلصات النباتية المائية الى 5 مل من كاشف بندكت، حيث يؤكد ظهور راسب أحمر على وجود السكريات، أما ظهور اللون الأزرق فيدل على عدم وجود السكريات (الشيخلي و آخرون، 1993).

2. 5. 3. الكشف عن التانينات Tannins

يجرى بغلي 10 جم من العينات النباتية في 50 مل من الماء المقطر، ثم يرشح المحلول ويترك ليبرد ويقسم إلى جزئين يضاف لأحدهما بضع قطرات من محلول خلات الرصاص 1%؛ ليستدل بها على وجود التانينات بظهور راسب هلامي القوام، و يضاف للجزء الآخر قطرتين من محلول كلوريد الحديديك 1%؛ ليستدل به على وجود التانينات من خلال تكوين راسب بلون اخضر مزرق (دلالي والحكيم، 1987).

2. 5. 4. الكشف عن الصابونيات Saponins

يجرى هذا الكشف برج المحلول المائي للعينات النباتية بشدة في أنبوبة اختبار، إذا كانت العينة تحتوي على الصابونين بعد الرج تظهر رغوة كثيفة تبقى لفترة طويلة و إذا لم تحتوي على الصابونين لا تظهر هذه الرغوة (العاني ، 1998).

2. 5. 5. الراتنجات Resins

يجرى بأخذ 10 مل من المستخلص النباتي ويضاف إليه 20 مل من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك HCl 4%، يستدل على وجود الراتنجات بظهور عكارة Turbidity فيه (الطائي ، 2001).

2. 5. 6. القلويدات Alkaloids

كاشف ماير Mayers reagent: يحضر باستخدام المحلولين A و B على النحو التالي: محلول A يحضر بإذابة 1.58 جم من كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ في 60 مل من الماء المقطر، المحلول B تم تحضيره بإذابة 5 جم من يوديد البوتاسيوم KI في 10 مل فى الماء المقطر، قبل الكشف مباشرةً يمزج محلولي A وB ثم ليكتمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر، تم الكشف

بمزج 1 مل من هذا الكاشف مع 5 مل من المستخلص النباتي في زجاجة ساعة، ظهور الراسب الأبيض دلالة على وجود القلويدات (Sousek *et[. al*,. 1999).(الملحق 5)

2. 5. 7. الفينولات Phenols

يتم بإضافة كميات متساوية من خليط كلوريد الحديد المائي aqueous ferric chloride 1% مع potassium iron cyanide %1 إلى المستخلصات الخام للنبات، عند ظهور لون أزرق مخضر يدل على وجود الفينول (Harbone, 1984).

2 . 5. 8. الزيوت الطيارة Volatile oils

أجرى هذا الأختبار بإضافة قليل من المستخلص الرائق الى ورقة ترشيح لحد الاشباع وتعرض للأشعة فوق البنفسجية، ظهور لون رمادي يدل على وجود الزيوت الطيارة Geismann, (1962).

2. 5. 9. تقدير بعض العناصر الثقيلة والخفيفة للمستخلصات

أجري بإذابة 0.5 جم من المسحوق النباتي في 10 مل من حمض النيتريك المركز HNO_3 مع التسخين الهين لمدة 10 دقائق، ثم يضاف اليه 10 مل من H_2O_2 ويترك ليغلي حتى يصبح لون المحلول رائقاً شفافاً ويترك ليبرد، ثم ينقل لدورق سعته 100 مل ويكمل الحجم الى 100 مل بالماء الخالي من الايونات، لتصبح العينات جاهزة لقراءتها باستخدام جهاز امتصاص الطيف الذري Atomic Absorption Spectrometer **(**Iftikhar *et al.,* 2013**).**

2. 5. 10. قياس الاس الهيدروجيني "pH" و درجة الحرارة

اجري هذا القياس باستخدام جهاز pH Meter-JENWAY -3205 قدرت الحموضة في المستخلصات النباتية، حيث غمر الجهاز في الدوارق التى تحتوي على المستخلصات المائية وسجلت نتيجة كل عينة(Harbone, 1984)

2. 6. تحضير المستخلصات النباتية

حضرت المستخلصات بطريقة (Naik, *et al*,.2015) والتي تتلخص بوضع 50غم من الجزء النباتي المجفف والمطحون في اوعية ورقية Thimbles ثم توضع في جهاز الاستخلاص Soxhelet extractor باستخدام 400 مل لجميع المذيبات المختلفة بتركيز 96 % (ايثانول، اسيتون، كلوروفورم و الماء المقطر) لمدة 72 ساعة في درجة حرارة الغرفة، ثم يبخر المستخلص بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporator على درجة حرارة 45°م، بالنسبة لمستخلص الايثانول، بينما مستخلصات الكلوروفورم و الاسيتون كانت على درجة حرارة 35°م، أما مستخلص الماء المقطر فكان عند درجة 100°م، هذا و استخدم من كل مستخلص اربعة

تراكيز هي: 20، 50، 70 و 100% ، عبأت الخلاصات النباتية في قناني نظيفة معتمة إلى حين استخدامها.

2. 7. اختبار التضاد (تأثير المستخلصات على البكتيريا المختبرة)

حُضر المعلق البكتيـــــــري لكل نوع من الأنواع المستـــــــهدفة للـــــــدراسة وفق (Nascimento *et al*.,2000) بأخذ عبوة الإبرة من كل مزرعة بكتيرية حديثة النمو (24 ساعة) ولقحت في أنبوبة اختبار معقمة محتوية على 5 مل محلول فسيولوجي (Normal saline)،و رجت كل أنبوبة و مزجت جيداً بـــ Vortex و قورنت العكارة المتحصل عليها من الرج بالأنبوبة 0.5 من مؤشر ماك فورلاند (Mc Farland tubes) الملحق رقم 2، تحت ظروف التعقيم، أُخذ من كل معلق بكتيري مسحه بماسح قطني معقمة (تحتوي تقريباً على 10^5 خلية بكتيرية/مل) و فردت على الأطباق البترية المحتوية على الوسط المغذي MHA ، بثاقب فليني (Cork borer 4 mm) معقم عُمل في الوسط المغذي و الملقح بالبكتيريا ثقوب أو حفر (Holes) صغيرة (بواقع ثلاثة حفر في كل طبق)، عبئت الحفر بــ 100µg من كل نوع من المستخلص النباتى الخام المعد للاختبار، هذا واستخدم الماء المقطر كشاهد أو كعامل للمقارنة، حضنت الأطباق على درجـــة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة. ظهور منطقة خالية من النمو البكتيري (Inhibition zone) حول الحفر المحتوية على المستخلص المختبر أُعتبر دليلاً على تأثير المستخلص على البكتيريا المختبرة، أما عدم ظهور مثل هذه المنطقة سُجل الاختبار سلبياً (البكتيرية مقاومة للمستخلص المختبر)، هذا و تم أخذ متوسط قطر منطقة التثبيط باستخدام مسطرة مدرجه.

2. 8. المضادات الحيوية التجارية المستخدمة

للمقارنة بين فعالية المستخلصات النباتية وبعض المضادات الحيوية التجارية شائعة الاستخدام في مركز سبها الطبي استخدمت ستة مضادات حيوية تم حصول عليها من شركة (Oxoid) تركيزها بـــ µg هى: Amoxicillin 30، Gentamycin 10 µg ، Tetracycline 30 µg ،Vancomycin 5 µg ، Chloramphenicol 30 µg وPenicillin 10 IU، توضع الأقراص على سطح الوسط الصلب في الطبق البتري، ثم تحضن الاطباق لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 37 درجة مئوية، بعد التحضين فحصت الأطباق وذلك لمعرفة تأثير المضادات الحيوية على النمو البكتيري فأن وجدت منطقة تثبيط حول القرص تقاس بالمسطرة المدرجة.

2. 9. التركيز المثبط للمستخلص MIC (Minimum Inhibitor Concentration)

أجري هذا الاختبار لمعرفة التركيز المثبط للمستخلصات ضد البكتيريا ،استخدمت بيئة سائلة وتم ملاحظة التعكيرفى البيئة بالعين المجردة ،وتم القياس بأستخدام جهاز السبكتروفوتوميترعند طول موجيnm 640حيث تم تحضير وسط غذائي (Muller hinton broth) تم وضع 5مل من الوسط السائل فى أنابيب احتبار من نفس النوع والحجم ثم أضيف لها 0.1من المعلق البكتيري المخفف بتركيز 1×10^5بكتيريا/ مل من كل البكتيريا المختبرة اضيف الى الأنابيب المحتوية على البيئة السائلة والمعلق البكتيري50 ميكرون من كل التراكيز المختلفة للمستخلصات المستخدمة بأستثناء ثمانية أنابيب لم يضاف إليها المستخلص واعتبرت كشاهد (control) ووضعت الأنابيب على الرجاج عند درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة بعد ذلك لوحظ التعكير فى كل الأنابيب ومقارنته بالشاهد وبعد ذلك تم القياس بأستخدام جهاز السبكتروفوتوميتر وسجلت القراءة (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993).

10.2. التحليل الاحصائي

اجري التحليل الإحصائي بأستخدام برنامج spss للنتائج بطريقة اختبار التباين Analysis of variance test (ANOVA)، باستخدام أقل فرق معنوي $\alpha= 0.05$ (الراوي وآخرون، 2000).

Results النتائـج

اظهرت نتائج اختبارات التعريف (شكل 5)، تطابق النتائج مع صفات البكتيريا المستخدمة فى هذه الدراسة وتطابقها مع مراجع التعريف، مزيداً من نتائج التعريف في الملحق رقم 3.

شكل (5). نتائج اختبارات التعريف البكتيري.

نتائج الكشوفات الكيميائية لبعض المركبات الفعالة الموجودة في نباتات قيد الدراسة (جدول 1)، بينت أن هناك تباين ما بين مركب كيميائي و آخر،و ليس بين نباتات الدراسة المختلفة و حسب و لكن أيضاً داخل النبات الواحد، الفلافونويدات، الفينولات و التانينات كانت متواجدة في جميع النباتات قيد الدراسة، أما الراتنجات و القلويدات لم توجد في النباتات المستخدمة فى هذه الدراسة ، في حين تباينت بقية المركبات الأخرى ما بين النباتات المستخدمة.

جدول (1). الكشف الأولي عن المركبات والمجاميع الفعالة في نباتات الدراسة.

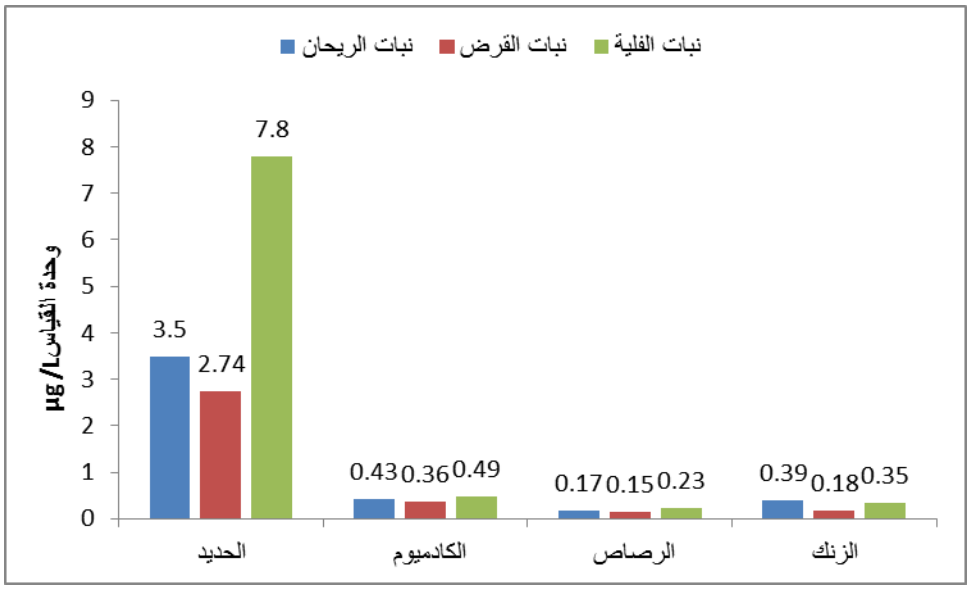
المركب الفعال	دليل الكشف	نباتات الدراسة		
		الريحان	القرض	الفلية
الفلافونويدات Flavonoids	لون داكن مزرق	+*	+	+
الجلايكوسيدات Glycosides	راسب احمر	-	+	+
الصابونيات Saponins	رغوة كثيفة لمدة طويلة	+	+	_
الراتنجات Resins	تكون عكارة	-	-	-
الفينولات Phenols	ظهور لون ازرق مخضر	+	+	+
القلويدات Alkaloids	ظهور راسب ابيض	-	-	-
التانينات Tannins	ظهور لون اخضر مزرق	+	+	+
زيوت الطيارة Volatile oils	ظهور لون رمادي	+	+	_
الأس الهيدروجيني		6.57	3.93	4.35
درجة الحرارة		27.8	27.9	27.5

* (+) تعني وجود المادة الفعالة، بينما (-) تعني عدم وجود هذه المادة.

فيما يتعلق بالعناصر الثقيلة أظهرت النتائج ارتفاع تراكيز هذه العناصر(µg / L) ، لنبات الفلية فيما عدا عنصر الزنك مقارنة بنباتي الريحان و القرض، حيث بلغ معدل عنصر الحديد لنبات الفلية 7.80، يليه نبات الريحان بمعدل بلغ 3.50، بينما كان أقل معدل له في نبات القرض بلغ 2.74، كذلك عنصر الكادميوم كان أعلى معدل له في نبات الفلية حيث بلغ 0.49، بينما كان أقل معدل له في نبات القرض حيث بلغ 0.36، اما بالنسبة لعنصر الرصاص كان أعلى معدل له في نبات الفلية بمعدل 0.23 وأقل معدل له في نبات القرض 0.15، اما بالنسبة لعنصر الزنك كان أعلى معدل له في نبات الريحان حيث بلغ معدله 0.39 واقل معدل له في نبات القرض 0.18 (الجدول 2 و الشكل 6). هذا وكانت نسبة عنصري الصوديوم (Na) و البوتاسيوم (K) (اللذان يعدان من العناصر الخفيفة .حيث بلغت نسبة عنصر صوديوم 0.07 لنباتي الريحان والقرض فى حين بلغ 0.14 لنبات الفلية. اما بالنسبة لعنصر البوتاسيوم بلغ 1.68 لنبات الريحان وكان اعلى معدل له فى نبات الفلية بلغ 1.84.

جدول (2). يوضح تراكيز بعض العناصر الثقيلة للمستخلصات النباتية.

العنصر (µg/L)	نباتات الدراسة		
	الريحان	القرض	الفلية
الحديد	3.50	2.74	7.80
الكادميوم	0.43	0.36	0.49
الرصاص	0.17	0.15	0.23
الزنك	0.39	0.18	0.35



شكل (6). يوضح تراكيز بعض عناصر المعادن الثقيلة فى مستخلصات النباتية المختبرة.

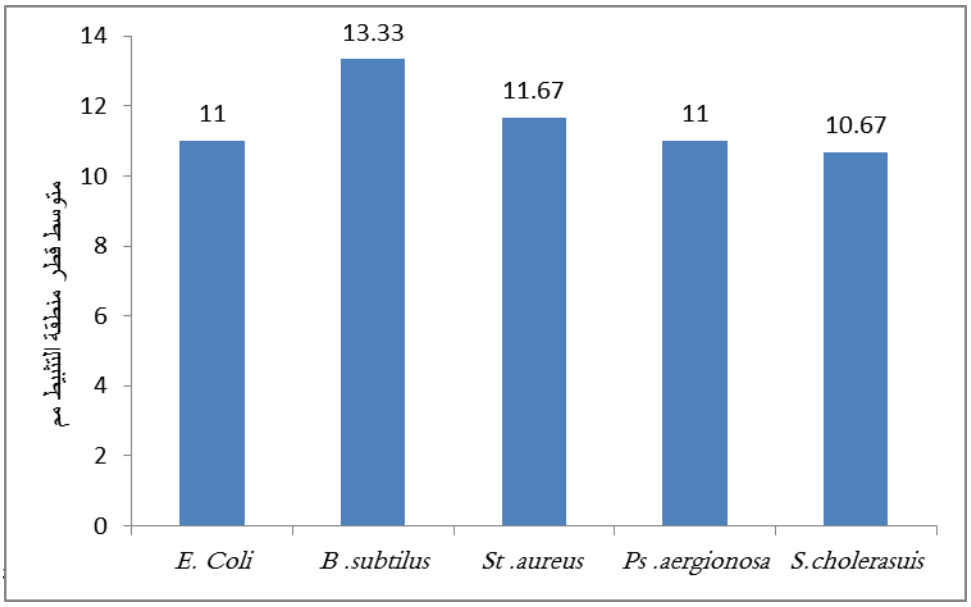
أظهرت نتائج اختبار التضاد هـــــو الآخر تباين كبير ما بين مستخلص و آخر و مـــا بين نبات و آخر و أيضاً مـــا بين تركيز و آخر و كذلك مـــــا بين مذيب و آخر، فتأثير مستخلصات نبات الريحـــــان *O. basilicum* على البكتيريا باستخدام مذيب الإيثانول عند التركيز 20 % لم يظهر أي تأثير يذكر على جميع انواع البكتيريا المدروسة، في حين تباين تأثيره عند التراكيز الأخرى، فقد كان أكثر فاعلية على بكتيريا *B. subtilis* عند تراكيز تتراوح من 50- 100 % من المستخلص، حيث كان أعلى متوسط منطقة تثبيط لهذه البكتيريا هو

(13.33±2مم)عند تركيز 100% من المستخلص (الجدول و الشكل)، أما بالنسبة لبكتيريا *E. coli* فكان تأثير المستخلص عليها عند تراكيز من 50- 100 %، حيث كان أعلى متوسط قطر منطقة تثبيط لهذه البكتيريا هو(11.00±1مم)عند تركيز 100 %، وكان تأثير أعلى متوسط قطر منطقة التثبيط للمستخلص على بكتيريا *Staph. Aureus* هو(11.67 ±1 مم)عند تركيز 100% ، أما بالنسبة لتأثير هذا المستخلص على بكتيريا *Ps. aeruginosa* فكان أعلى متوسط قطر منطقة تثبيط هو(11.00 ±2مم) عند تركيز 100% ، وكان تأثير المستخلص على بكتيريا *Sal.cholerasuis* عند تركيز 100% هو (10.67±2مم) (الجدول 3 و الشكل 7)، بخصوص تحديد اقل تركيز مثبط "MIC" للبكتيريا لنبات الريحان (جدول 4)، بين أن التركيزين 10 و 20 % لا تأثير يذكر لهما، وأن التاثير ظهر عند التراكيز الأخرى،هذه الدراسة بينت أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المعزولة وبين التراكيز لمستخلص الريحان باستخدام مذيب الأيثانول عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$، مزيد من البيانات حول التحليل الإحصائي ملحق 4.

جدول (3). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الريحان *O. basilicum* باستخدام مذيب الإيثانول ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	9±0	9.00±0	9.00±0	10.00±1	9.00±1
70	10±1	13.00±1	11.00±0	10.67±1	10.00±2
100	11±1	13.33±2	11.67±1	11.00±2	10.67±2

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (7). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الايثانول ضد البكتيريا عند تركيز 100%.

جدول (4). تحديد أقل تركيز مثبط للبكتيريا لمستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الإيثانول.

البكتيريا المختبرة	التراكيز %				
	10	20	50	70	100
E. coli	-*	-	+	+	+
B. subtilis	-	-	+	+	+
Staph. aureus	-	-	+	+	+
ps.aeruginosa	-	-	+	+	+
Sal. cholerasuis	-	-	+	+	+

* (+) تعني المنطقة المانعة للنمو، (-) لا توجد منطقة مانعة للنمو.

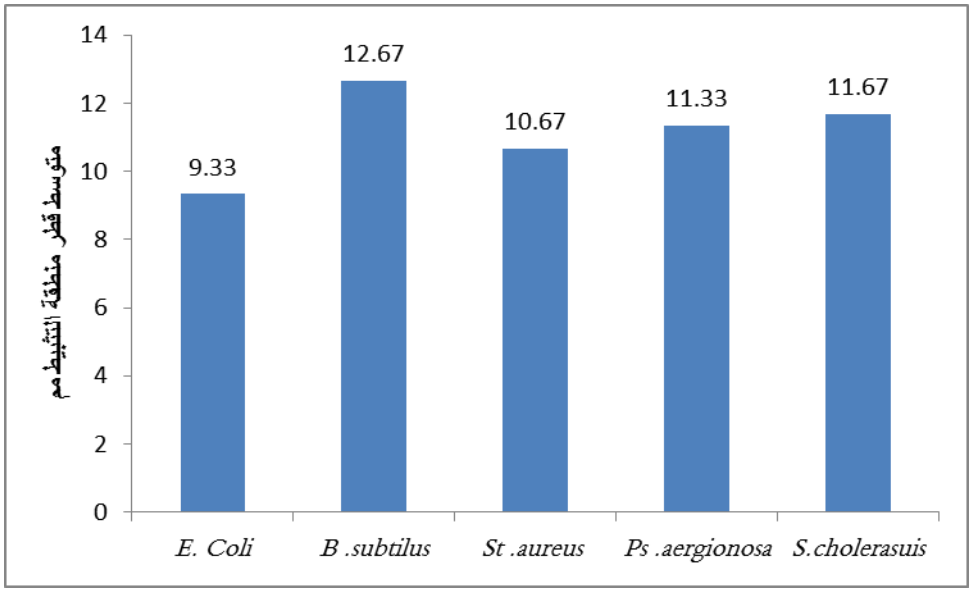
أظهرت تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الاسيتون أنه لم يكن له تأثير عند التركيزين 20 و 50 %، و أن التأثير ظهر عند التركيزين الأخريين 70 و 100 %، حيث كان أعلى منطقة تثبيط(0±12.67مم) عند التركيز 100% ضد بكتيريا *B subtilis* (الجدول 5 و الشكل 8 و 9) و أقل منطقة تثبيط بلغت (1± 9 مم) ضد بكتيريا *E. coli* عند تركيز 70 %، كما كان له تأثير أيضاً ضد بكتيريا Sal . cholerasuis بمنطقة تثبيط بلغت(±11.67مم) عند التركيز المطلق 100%.

أما، فيما يتعلق بأقل تركيز مثبط "MIC"ضد البكتيريا المختبرة لهذا المستخلص فقد تبين أن اقل تركيز مثبط لجميع البكتيريا المختبرة كان عند التركـــيز 70 %.

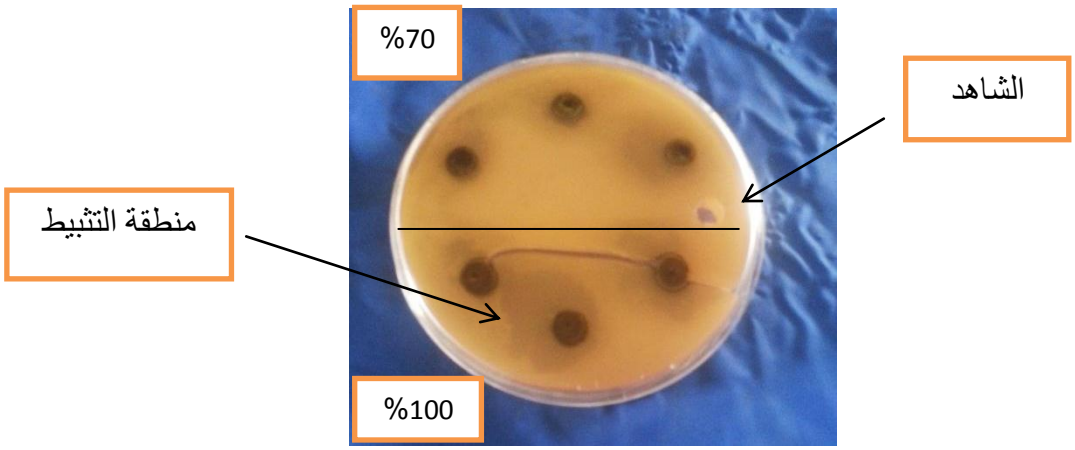
جدول (5). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الريحان *O. Basilicum* باستخدام مذيب الاسيتون ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
70	9±1	12±0	10±1	11±1	11.33±1
100	9.33±1	12.67±0	10.67±1	11.33±1	11.67±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (8). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الأسيتون ضد البكتيريا عند التركيز 100%.



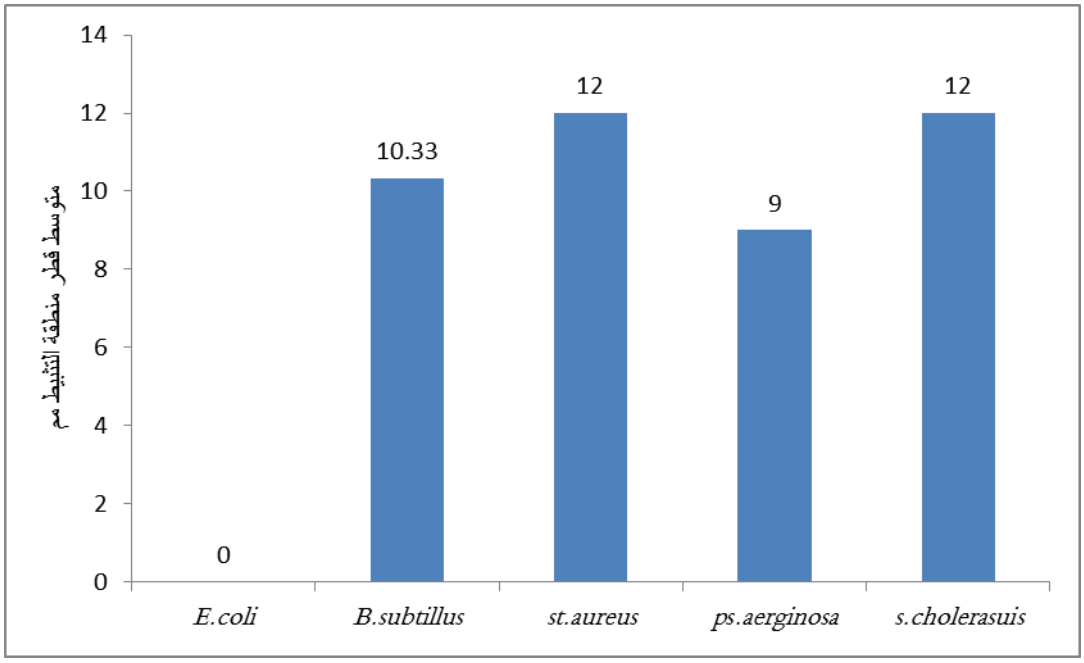
شكل (9). تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الأسيتون ضد بكتيريا *B. subtilis*.

نتائج تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم اوضحت أن هذا المستخلص كان أقل فاعلية ضد البكتيريا المختبرة، ولم يكن له تأثير على بكتيريا *E. coli* عند جميع التراكيز، و تباين تأثيره عند التراكيز الأخرى، خاصةً ضد بكتيريا *Sal. cholerasuis* التي كانت حساسة لجميع التركيز (الجدول 6 و الشكل 10 و 11)، اما عن تحديد اقل تركيز مثبط هنا تباين من بكتيريا إلى أخرى بالنسبة لـــــــ *Sal. cholerasuis* كان عنـد 20 %، بينما البكتيريا الأخرى *Staph. aureus*، *B. subtilis* و *Ps. aeruginosa* فكان عند التركيز 70 % (جدول 7)، من الناحية الاحصائية تبين أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الريحان باستخدام هذا المذيب عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$.

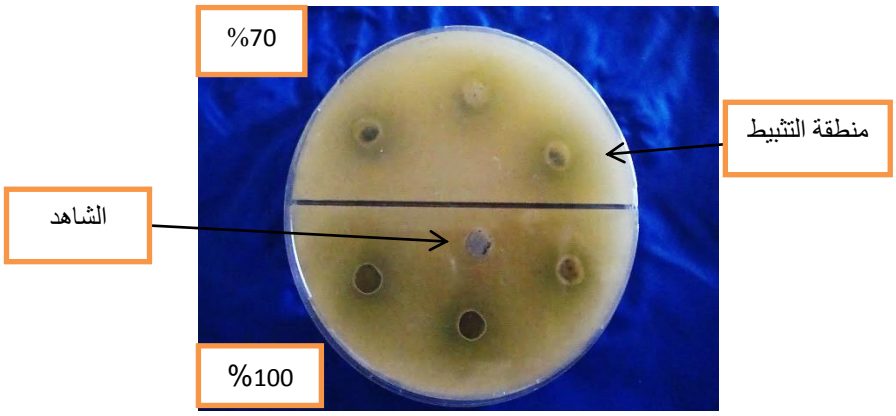
جدول (6). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *O. basilicum* باستخدام مذيب الكلوروفورم ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	8.33±0
50	-	-	-	-	8.67±1
70	-	9.33±0	8.67±1	9±0	9.33±0
100	-	10.33±3	12± 2	9±2	12±2

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (10). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الكلوروفورم ضد البكتيريا عند تركيز 100%.



شكل (11). تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم ضد بكتيريا *Sal.cholerasuis*.

جدول (7). أقل تركيز مثبط للبكتيريا لمستخلص نبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم.

البكتيريا	التراكيز %				
	10	20	50	70	100
E. coli	-*	-	-	-	-
B. subtilis	-	-	-	+	+
Staph. aureus	-	-	-	+	+
Ps. Aeruginos	-	-	-	+	+
S. cholerasuis	+	+	+	+	+

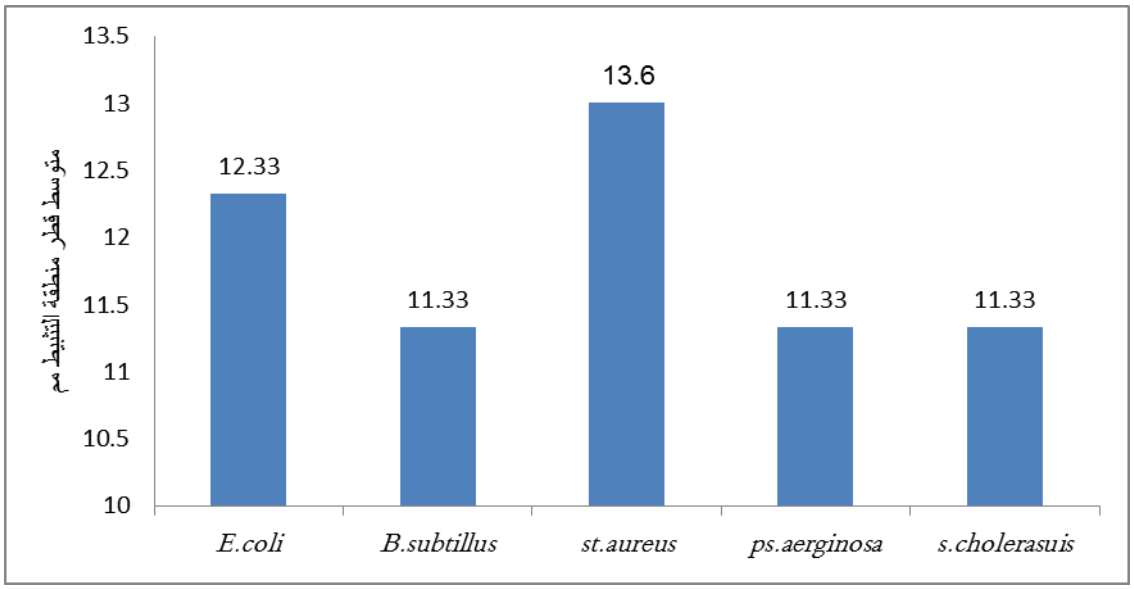
* (+) تعني المنطقة المانعة للنمو، (-) لا توجد منطقة مانعة للنمو.

نتائج تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الريحان باستخدام الماء المقطر ضد البكتيريا المختبرة اظهرت أن مستخلص النبات كان أكثر فاعلية ضد جميع انواع البكتيريا المختبرة بجميع التراكيز فيما عدا بكتيريا *Ps. aeruginosa* عند التركيزين 20 و 50 ملجم/ مل مقارنة مع المذيبات الأخرى، حيث كان المستخلص اكثر فاعلية ضد بكتيريا *Staph. aureus* بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت (1±13.6 مم) عند تركيز 100% ، اما بالنسبة لبكتيريا *E. coli* بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط(0±12.33مم)عند نفس التركيز، كما كان للمستخلص نفس التأثير عند كل من *B. subtilis*، *Ps. aeruginosa* و*Sal.cholerasuis* ، بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت(1±11.33مم) عند التركيز 100% (الجدول 8 و الشكل 12 و 13)، لتحديد أقل تركيز مثبط للنمو بينت النتائج أن معظم انواع البكتيريا كان التركيز المثبط لنموها 20 %، و من خلال التحليل الأحصائي تبين أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الريحان باستخدام الماء المقطر عند مستوى معنوية 0.05= α.

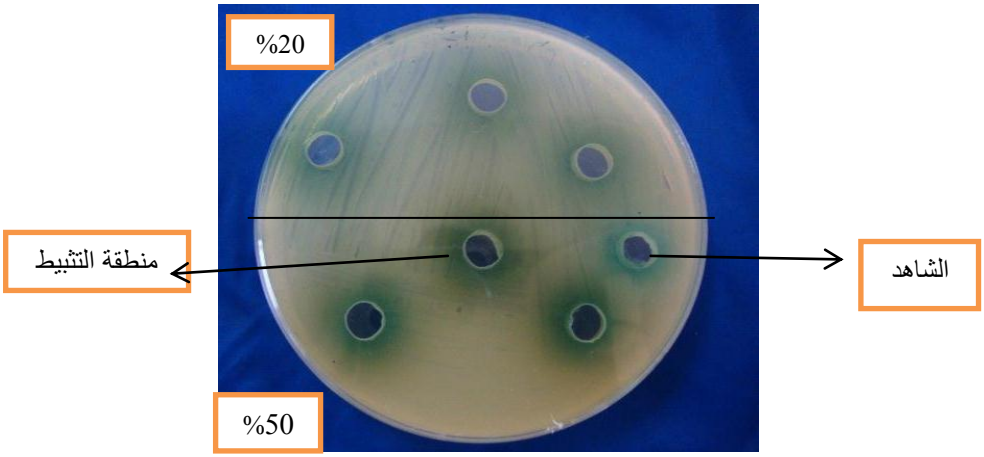
جدول (8). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *O. basilicum* باستخدام الماء المقطر ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	10±0	10.67±0	12.33±0	-*	10.67±1
50	11±0	10.67±0	12.33±0	-	10.67±1
70	12±1	11.33±0	12.67±0	10.67±1	11±0
100	12.33±0	11.33±1	13.6±1	11.33±1	11.33±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



الشكل (12). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الريحان باستخدام الماء المقطر ضد البكتيريا المختبرة عند تركيز 100% .



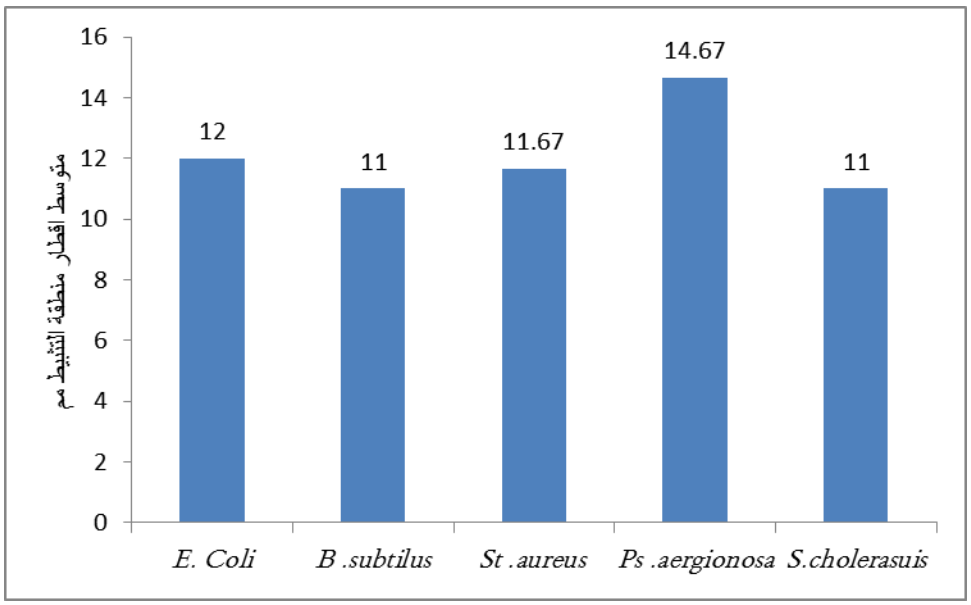
شكل (13). تأثير مستخلص نبات الريحان باستخدام الماء المقطر ضد بكتيريا *E. coli*.

أما عن نتائج تأثير مستخلص نبات الفلية *C. aurea* باستخدام مذيب الإيثانول ضد البكتيريا المختبرة (الجدول 9 و الشكل 14 و 15)، بينت بأن المستخلص لم يكن له اي تأثير يذكر ضد جميع انواع البكتيريا المختبرة عند التركيزين 20 و 50%، بينما كان له تأثير على جميع انواعها عند التركيزين 70 و 100 %، حيث كان متوسط قطر منطقة التثبيط لبكتيريا *B. Subtilis*هو(1±11مم)، و بكتيريا *Staph. Aureus*(1±11. 67 مم)عند التركيز 100 %، بينما كان اقل تأثيراً ضد بكتيريا *Sal. cholerasuis* بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت(0±10 مم)عند تركيز70 % ، كما كان المستخلص اكثر فاعلية ضد جميع انواع البكتيريا عند التركيز 100 %، حيث كان أعلى متوسط قطر منطقة تثبيط لبكتيريا *Ps. aeruginosa* هو (3±14.67 مم)، أما عن اقل تركيز مثبط للنمو كان في جميع البكتيريا عند التركيز 70 %،و من خلال التحليل الأحصائي تبين إن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الفلية باستخدام مذيب الإيثانول عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$.

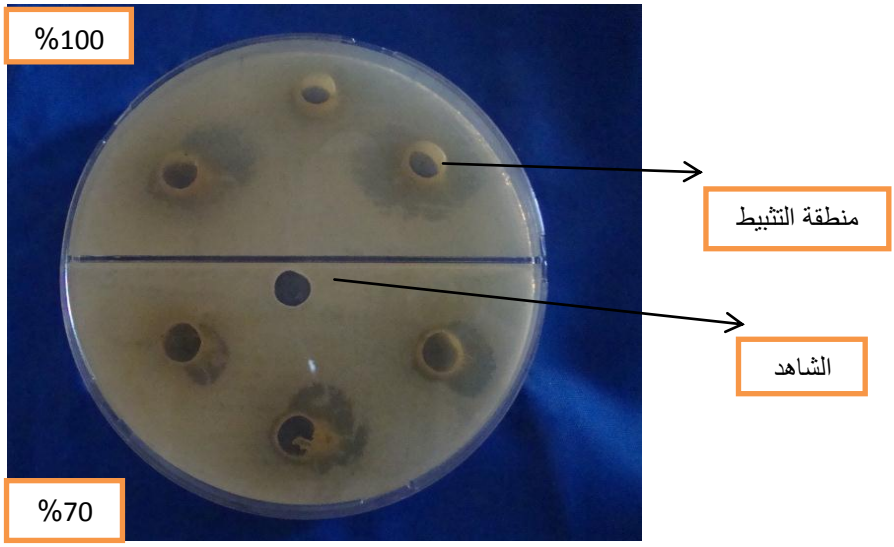
جدول (9). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C. aurea* باستخدام مذيب الايثانول ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*S. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
70	11.33±1	11±2	11±1	14.33±3	10±0
100	12±1	11±1	11.67±1	14.67±3	11±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (14). متوسط اقطار مناطق التثبيط لمستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الإيثانول عند تركيز 100%



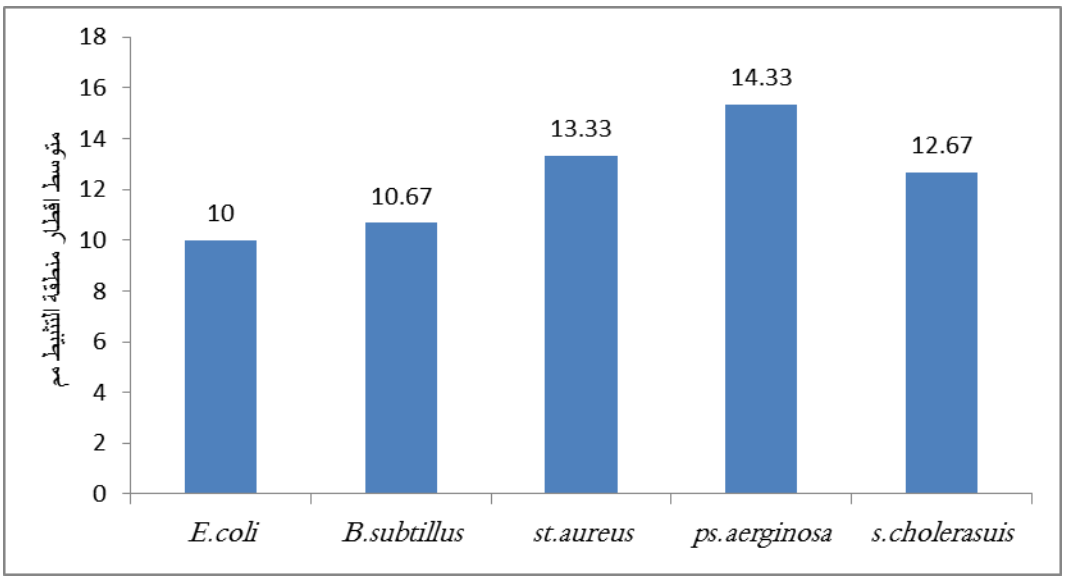
شكل (15). تأثير مستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الإيثانول ضد بكتيريا *Staph. aureus*.

أما نتائج تأثير مستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون بينت أن بكتيريا *Ps. aeruginosa* كانت الاكثر حساسية للمستخلص في جميع التراكيز و ان هذا التاثير زاد بزيادة تركيز المستخلص، بينما بكتيريا *Sal. cholerasuis* كانت الاكثر مقاومة للمستخلص و لم تتأثر إلا بالتركيز المطلق 100 %(الجدول 10 و الشكل 16 و 17)، و بخصوص تحديد أقل تركيز مثبط للنمو لهذا المستخلص فبينت النتائج اختلاف ما بين بكتيريا و اخرى و ما بين تركيز و آخر، حيث كان أقل تركيز مثبط للنمو لبكتيريا *E. coli* و *B. subtilis* عند التركيز 70 %، بينما *Ps. aeruginosa* كان عند التركيز 20 %، في حين بكتيريا *Sal. cholerasuis* كان التركيز المثبط لها عند 100 % (جدول 11)،ومن خلال التحليل الأحصائى تبين أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الفلية باستخدام مذيب الأسيتون عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$.

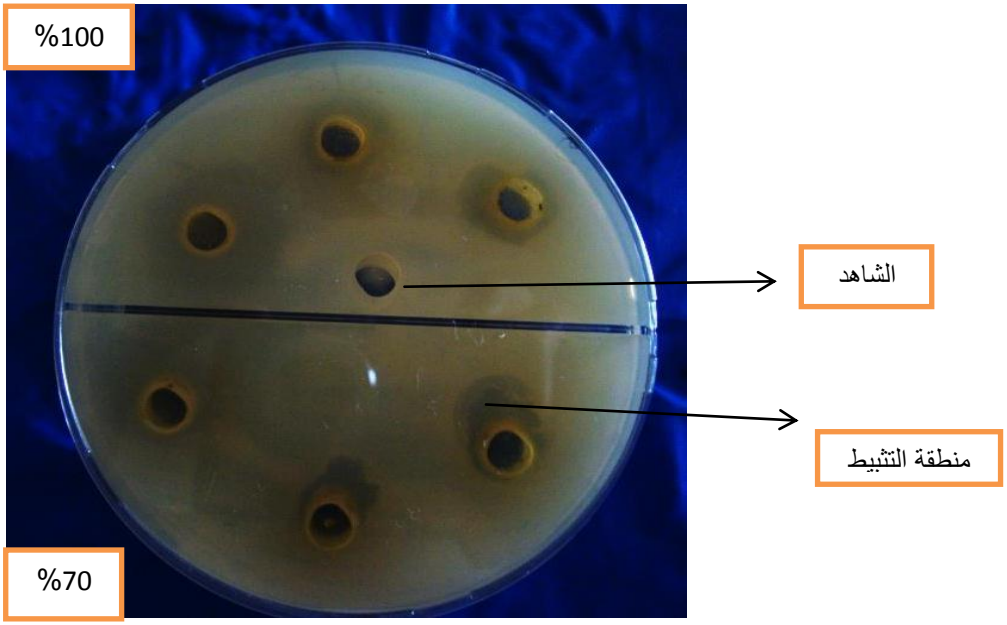
جدول (10). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C. aurea* باستخدام مذيب الاسيتون ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	10.33±0	-
50	-	-	12.33±2	11.33±1	-
70	9.67±0	10.33±0	13±2	12.33±1	-
100	10±0	10.67±0	13.33±1	14.33±2	12.67±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (16). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون ضد البكتيريا المختبرة عند التركيز 100%.



شكل (17). تأثير مستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون ضد بكتيريا *E. coli*.

جدول (11). أقل تركيز مثبط للبكتيريا المختبرة لمستخلص نبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون.

البكتيريا المختبرة	التراكيز %				
	10	20	50	70	100
E. coli	-*	-	-	+	+
B. subtilis	-	-	-	+	+
Staph. aureus	-	+	+	+	+
Ps.aeruginosa	-	+	+	+	+
Sal. cholerasuis	-	-	-	-	+

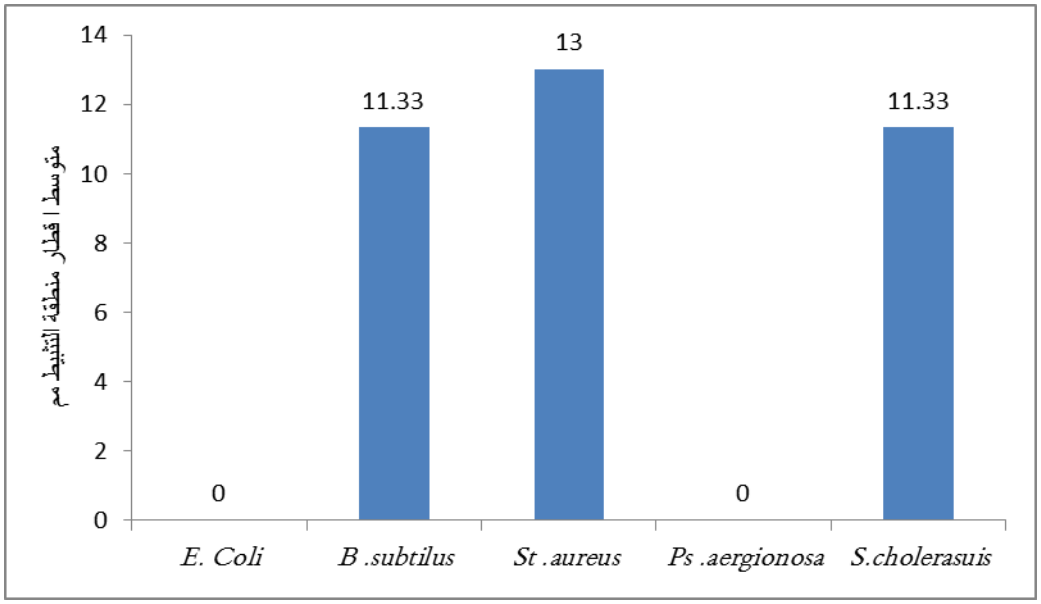
* (+) تعني المنطقة المانعة للنمو، (-) لا توجد منطقة مانعة للنمو.

بخصوص نتائج تأثير مستخلص النبات باستخدام مذيب الكلوروفورم بينت أن بكتيريا *E. coli* و *Ps. aeruginosa* كانت الاكثر مقاومة لمستخلص النبات و لم تتأثر، بأي تركيز، في حين البكتيريا الأخرى كانت حساسة له وتأثرت بدءاً من التركيز 50 % و أن قطر مناطق التثبيط اختلفت من بكتيريا إلى أخرى و أن هذا القطر ايضاً زاد بزيادة تركيز المستخلص (الجدول 12 و الشكل 18)، أما عن اقل تركيز مثبط للنمو فقد كان عند اغلب البكتيريا عن التركيز 50 %، فيما يتعلق بنتائج التحليل الاحصائي فبينت، أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الفلية باستخدام مذيب الكلوروفورم عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$

جدول (12). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C. aurea* باستخدام مذيب الكلوروفورم ضد البكتيريا المختبرة.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	-	10.33±0	10±1	-	10.67±1
70	-	11±1	10.67±1	-	11± 1
100	-	11.33±1	13±3	-	11.33±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



شكل (18). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام مذيب الكلوروفورم ضد البكتيريا عند التركيز 100%.

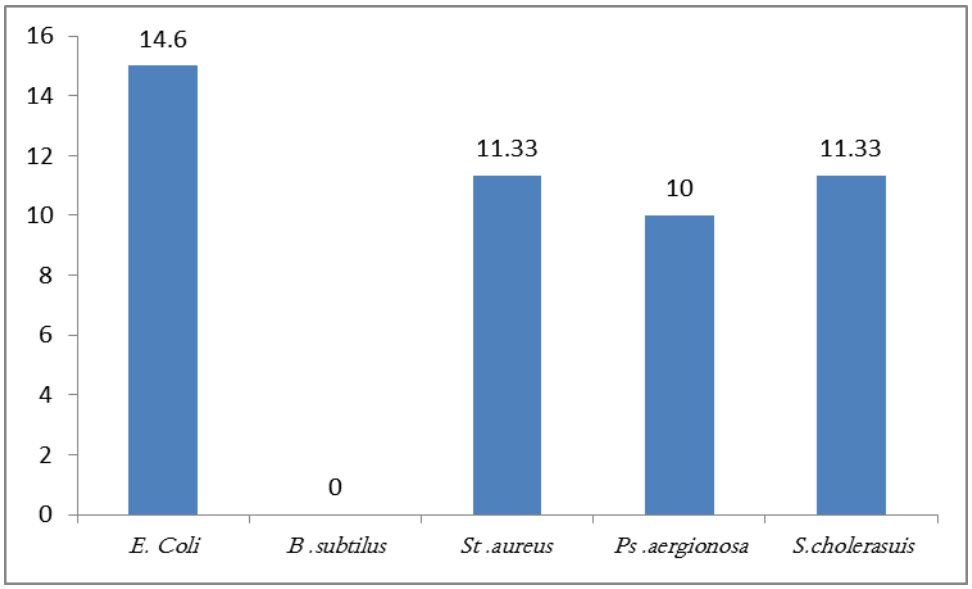
أخيراً نتائج تأثير مستخلص النبات باستخدام الماء المقطر بينت ان هذا المستخلص كان الأكثر تأثيراً ضد بكتيريا *E .coli*، مقارنة مع البكتيريا الأخرى عند تركيز 100% تليها بكتيريا , *Staph.aureus*حيث كانت بكتيريا *B. subtilis* الاكثر مقاومة و لم تتأثر بأي تركيز، تليها بكتيريا *Sal. cholerasuis* و التي تأثرت فقط بالتركيز المطلق للمستخلص 100 %، في حين بكتيريا *E. coli* و كانت الأكثر حساسية للمستخلص و تأثرت بأغلب تراكيز المستخلص و ان قطر منطقة التثبيط زاد بزيادة التركيز (الجدول 13 و الشكل 19)، فيما يتعلق بتحديد أقل تركيز مثبط فكان في اغلب البكتيريا عند التركيز 70 %، وبينت نتائج التحليل الإحصائي أن هناك

فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيز لمستخلص الفلية باستخدام الماء المقطر عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$

جدول (13). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الفلية *C. aurea* باستخدام الماء المقطر.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	10.33±0	-	10.67±0	.9±0	-
70	11.33±1	-	11±0	9.33±0	-
100	14.6±0	-	11.33±0	10±1	11.33±1

* (-) تعني عدم وجود تثبيط



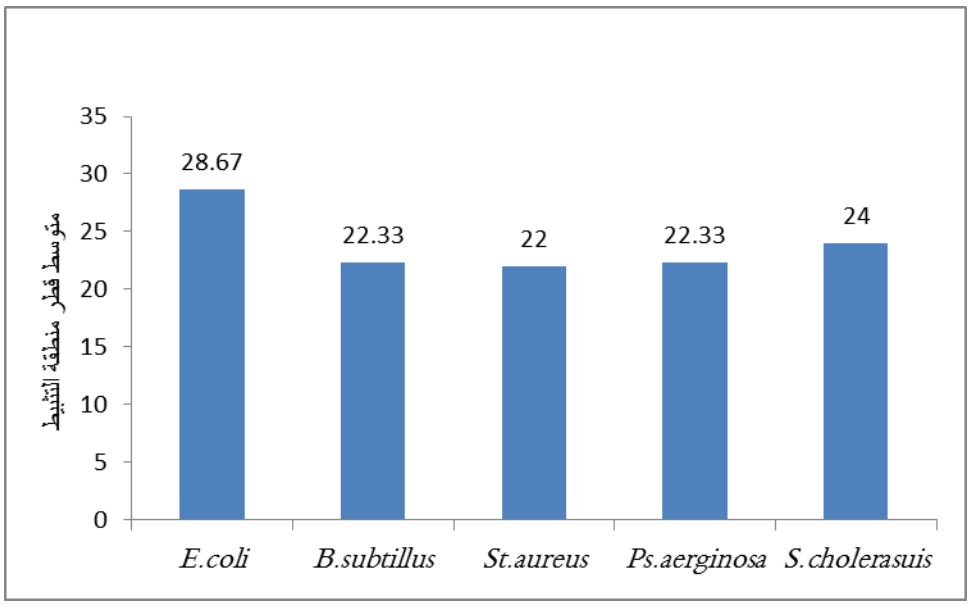
شكل (19). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات الفلية باستخدام الماء المقطر ضد البكتيريا عند تركيز 100%.

أما عن نتائج تأثير مستخلص نبات القرض فبينت الدراسة أن هذا النبات كان الاكثر فاعليةً مقارنةً بالنباتين الآخرين و أن تأثيره زاد بزيادة تركيز المستخلص، تفاوتت النتائج ما بين مذيب و آخر و ما بين بكتيريا و أخرى؛ ألا أنه اجمالاً كان فعال تجاه معظم البكتيريا المختبرة، نتائج مذيب الإيثانول (الجدول 14 و الشكل 20 و 21)، بينت أن المستخلص كان فعال ضد جميع انواع البكتيريا و أن تفاوت تأثيره من بكتيريا إلى أخرى، بكتريا *E. coli* كانت الاكثر حساسية لتراكيز المستخلص بقطر منطقة تثبيط بلغت (28.67±1 مم) عند التركيـــــز 100 %، في

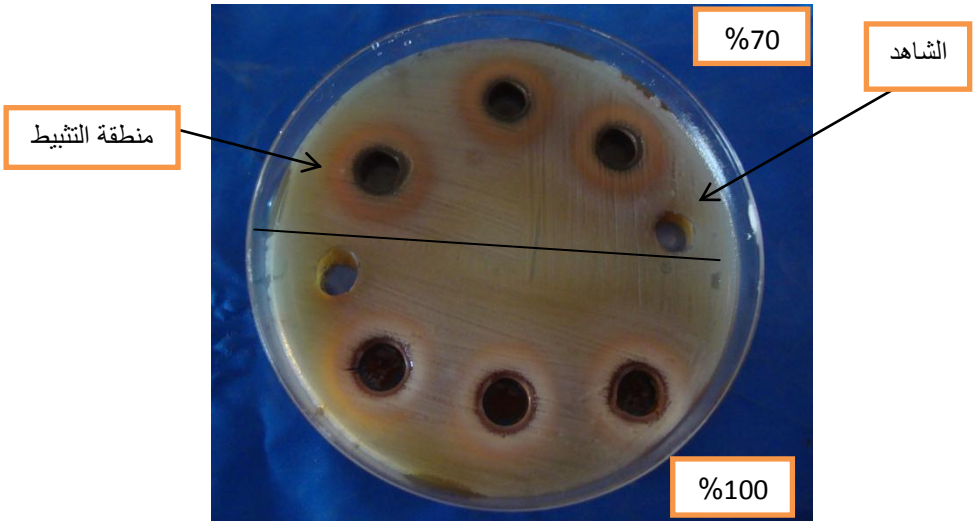
حين كانت البكتيريا *Staph. aureus* الأقل تأثيراً مقارنةً مع البكتيريا الأخرى بقطر منطقة تثبيط(22±2 مم)عند نفس التركيز، أما عن أقل تركيز مثبط للنمو كان عند جميع البكتيريا عند التركيز 10 %، وبينت نتائج التحليل الاحصائي أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين تراكيز المستخلص عند مستوى معنوية $\alpha = 0.05$

جدول (14). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الايثانول.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بمم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	22±2	16±2	17±2	18±1	16.67±0
50	25.67±1	19.33±0	20.67±1	18.67±1	21±1
70	28±2	20.33±0	21±1	20±1	22.33±2
100	28.67±1	22.33±0	22±2	22.33±0	24±1



شكل (20). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض باستخدام مذيب الإيثانول ضد عند التركيز 100%.

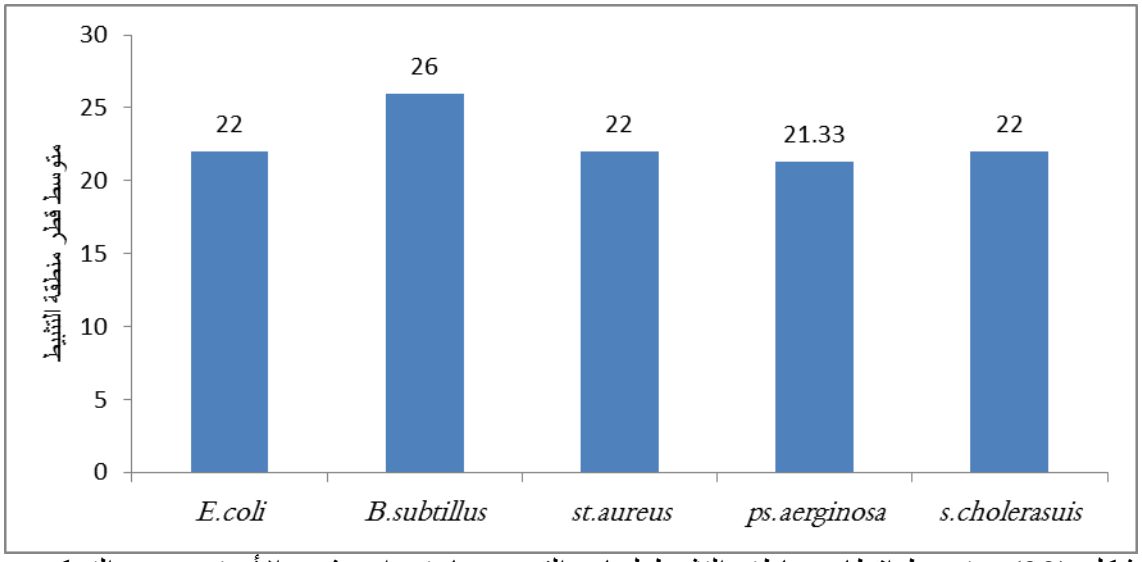


شكل(21). تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام مذيب الإيثانول ضد بكتيريا *Ps. aeruginosa*.

نتائج تأثير مستخلص نبات القرض مع مذيب الأسيتون (الجدول 15 و الشكل 22)، بينت بأنه كان أكثر فاعلية ضد بكتيريا *B. subtilis* عند جميع التراكيز، حيث كان أعلى قطر منطقة تثبيط لهذه البكتيريا هو (1±26 مم)عند التركيز 100 %، و على النقيض من ذلك كان اقل تأثير على بكتيريا *Ps. aeruginosa* بقطر منطقة تثبيط بلغت (0± 21.33مم)عند نفس التركيز، ايضاً نتائج تحديد أقل تركيز مثبط للنمو كانت مثلها مثل مذيب الايثانول حوالي 10 % من المستخلص، أما عن نتائج التحليل الاحصائي فبينت أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المعزولة وبين التراكيز عند مستوى معنوية 0.05= α.

جدول (15). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الاسيتون.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	12.67±0	16.33±1	20± 0	10.67±0	18.33±2
50	14.33±1	21.33±0	21±1	17.33±1	20.67±1
70	22±3	21.33±1	21.33±1	18.67±0	21.33±1
100	22±2	26±1	22±2	21.33±0	22±2



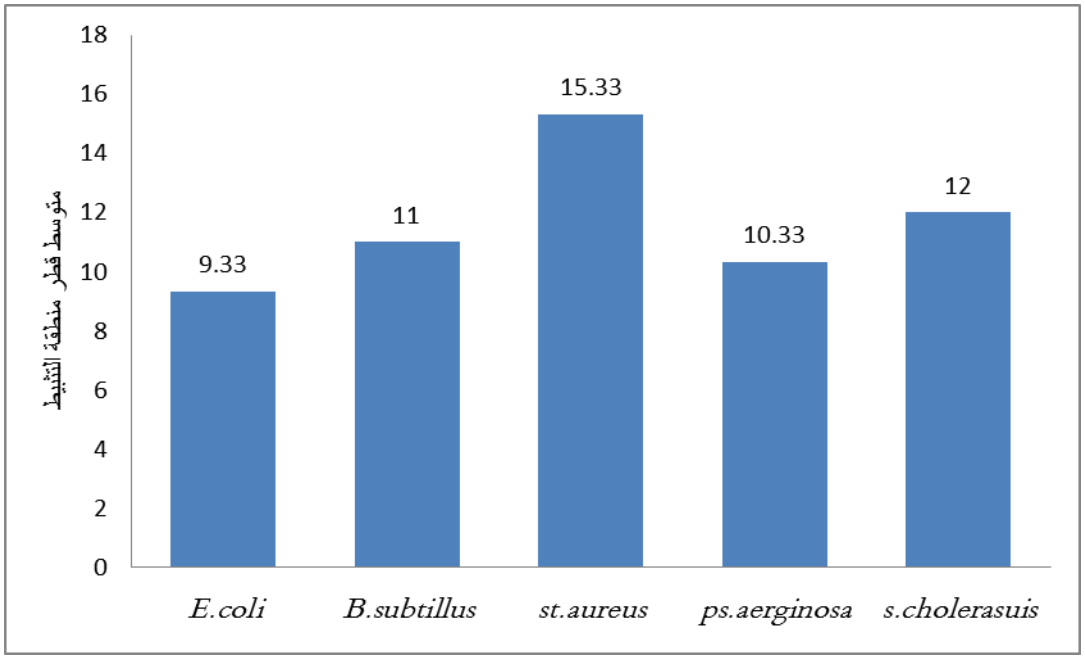
شكل (22). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض باستخدام مذيب الأسيتون عند التركيز 100%.

أما عن نتائج تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام مذيب الكلوروفورم (الجدول 16 و الشكل 23)، فقد بينت أن هذا المذيب كان الاقل في التاثير مقارنةً بالمذيبات الاخرى، فلم يكون له أي تأثير يذكر ضد جميع البكتيريا المختبرة عند التركيزين 20 و 50 %، في حين كان اكثر فاعلية على بكتيريا *Staph. aureus* عند التركيز 100 %بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت (0± 15.33 مم)، وأن اقل تأثير عند نفس التركيز كان ضد بكتيريا *E. coli* بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت 0±9.33 مم، التركيز المثبط للنمو كان لجميع انواع البكتيريا المختبرة عند التركيز 70 %،وبينت نتائج التحليل الاحصائي أن هناك فروق معنوية عند مستوى $\alpha = 0.05$.

جدول (16). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام مذيب الكلوروفورم

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	-*	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
70	8.67±1	9±0	10.67±1	10±1	11.67±3
100	9.33±0	11±1	15.33±0	10.33±1	12±2

* (-) تعني عدم وجود تثبيط.



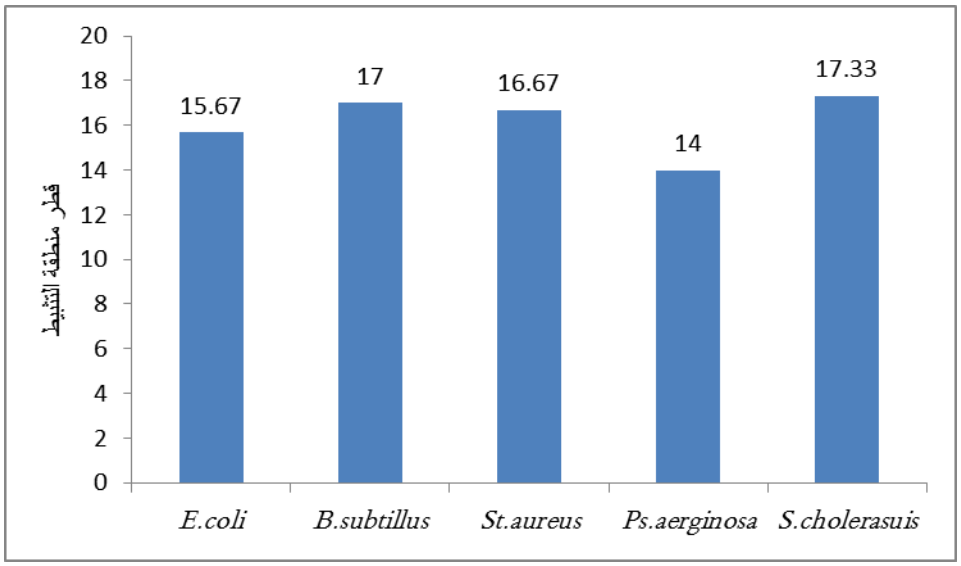
شكل (23). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض ضد البكتيريا المختبرة باستخدام مذيب الكلوروفورم عند التركيز 100%.

أخيراً نتائج تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام الماء المقطر (الجدول 17 و الشكل 24 و 25)، بينت أنه كان فعال ضد جميع انواع البكتيريا المختبرة و عند جميع التراكيز، بكتيريا *Sal. cholerasuis* كانت الاكثر تأثراً بهذا المستخلص بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغت(17.33±0 مم)عند التركيز 100 ملجم /مل، بينما كانت بكتيريا *Ps. aeruginosa* الاقل تأثراً بمتوسط قطر منطقة(3± 14مم) عند نفس التركيز، فيما يتعلق بتحديد أقل تركيز مثبط للنمو كانت النتيجة مشابهة لمذيب الإيثانول و الأسيتون 10 %، من الناحية الاحصائية عند تحديد اقل فروق

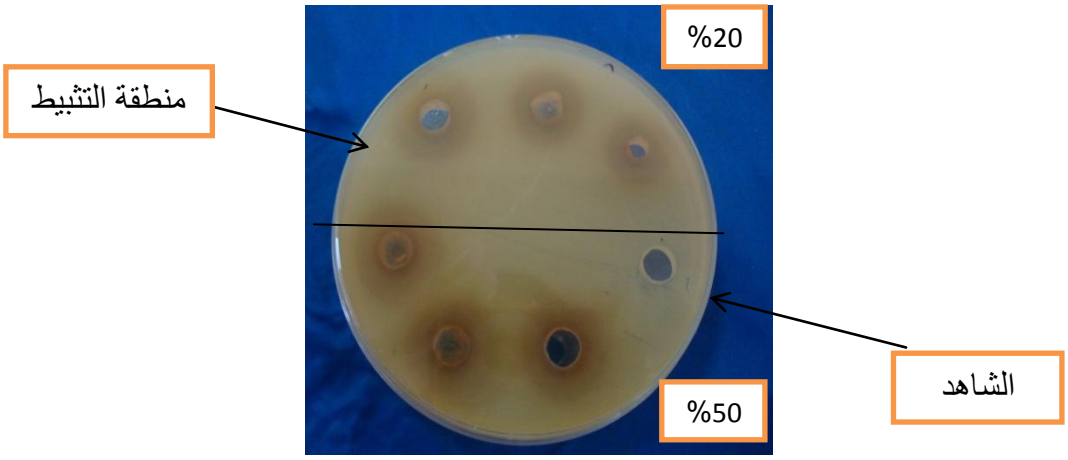
معنوية تبين ان هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين تراكيز المستخلص عند مستوى معنوية α=0.05.

جدول (17). تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات *A. nilotica* باستخدام الماء المقطر.

التراكيز%	متوسط اقطار مناطق التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة				
	E. coli	*B. subtilis*	*Staph. aureus*	*Ps. aeruginosa*	*Sal. cholerasuis*
20	13±0	15.67±0	15±0	10.67±1	13.67±1
50	15.67±0	16.33±1	16±0	12.33±0	15.67±0
70	15.67±0	16.33±1	16.33±1	13±0	16.33±1
100	15.67±0	17±1	16.67±1	14±3	17.33±0



شكل (24). متوسط اقطار مناطق التثبيط لنبات القرض ضد البكتيريا المختبرة باستخدام الماء المقطر عند التركيز 100%



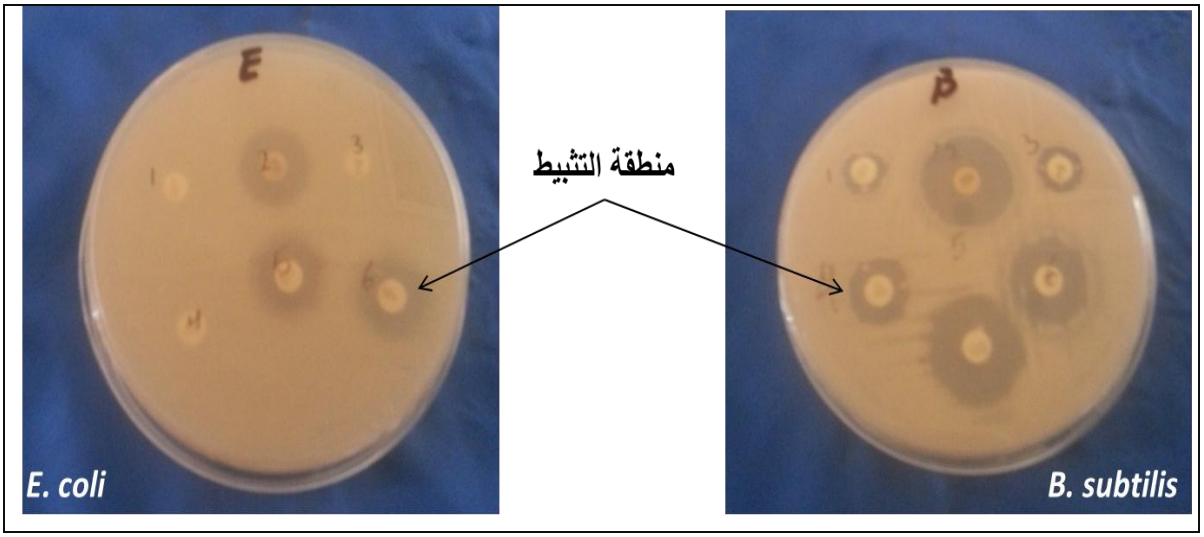
شكل(25). تأثير مستخلص نبات القرض باستخدام الماء المقطر ضد بكتيريا *E. coli*.

أما عن نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية التجارية و مقارنتها بمستخلصات النباتات و Gentamicin المختلفة (الجدول 18 و الشكل 26)، فقد بينت أن المضادين الحيـــــيوين Chloramphenicol ، كانا الأكثر تأثيراً ضد البكتيريا تلاهما المضاد الحيوي Tetracycline كانا الاقل في التأثير و أن متوسط Penicillin و Vancomycinفي حين المضادين الحييوين قطر منطقة التثبيط اختلفت من مضاد إلى آخر و من بكتيريا إلى أخرى، ما يميز هذه الدراسة أن مستخلصات النباتات خاصة نبات القرض كانت اكثر نجاعة في التاثير بالمقارنة مع المضادات الحيوية المصنعة.

جدول (18). نتائج تأثير المضادات الحيوية التجارية ضد البكتيريا المختبرة.

قطر منطقة التثبيط (بال مم) للبكتيريا المختبرة					المضاد الحيوي
Sal. cholerasuis	*Ps. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*	*E. coli*	
NE	NE	8	10	*NE	Vancomycin
6	NE	7	13	NE	Amoxicillin
13	12	18	24	13	Gentamicin
12	NF	NE	10	NE	Penicillin
20	7	20	18	15	Tetracycline
16	NE	10	20	17	Chloramphenicol

NE = NO effect



شكل (26). حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية التجارية المصنعة

المناقشـــــة

Discussion

من خلال نتائج الكشف عن بعض المركبات الكيميائية الفعالة في النباتات قيد الدراسة اتضح أن نبات القرض كان يحتوي على اغلب المركبات الفعالة (فينولات،الفلافونيدات ،التانينات ، الجلايكوسيدات،الصابونيات،الزيوت الطيارة) مقارنةً مع نباتي الريحان والفلية وربما ترجع فعاليته لهذا السبب، كما اتضح عدم ظهور القلويدات في المستخلصات المائية لجميع النباتات المستخدمة وهذا يعود لكونها مواد تحتاج الى كمية من الحرارة اثناء الاستخلاص، اولأن بعضها لا تذوب في الماء وتذوب فقط في الكحول (الأيثر ،البنزين) (أبو ضاحي، 1989؛ Sawar, 2011). وقد يكون هو السبب فى أستخدام هذه النباتات كمضادات ضد للأحياء المجهرية، وجود الجلايكوسيدات في مستخلصي القرض و الفلية وعدم وجودها في مستخلص الريحان؛ وقد يكون هو ما جعل هذه النباتات تستعمل في علاج التهاب المعدة والعيون؛ وذلك لأن الجلايكوسيدات تتكون من جزئين الأول سكري ذائب في الماء والثاني غير سكري يذوب في الكحول (البالاني، 2003؛2010 Solomon *et al.*,). اما الفينولات فوجودها يعزى الى قدرة هذه النباتات على قتل وتثبيط العديد من الكائنات الدقيقة (Kemp & Burden, 1986). وايضا وجود التانينات التى لها خصائص قابضة تسرع شفاء الجروح، لوحظ وجود الصابونيات في المستخلص المائي لنباتي الريحان والقرض؛ وذلك لأنها تذوب في الماء وتعطي رغوة الصابون خلافاً للمستخلص الكحولي؛ ويعود ذلك بسبب ان الجزء السكري يكون جزءاً أساسياً من تكوينها؛ لذا تتميز بقدرتها على الذوبان في الماء وليس في الكحول وكثيراً ما يكون هذا السكر هو سكر الجلوكوز(Okwa &Morha, 2004). كما ان احتواء جميع النباتات على الفلافونويدات وهى مضادات أكسدة ذائبة في الماء وكذلك احتواء مستخلصي الريحان والقرض على الزيوت الطيارة يعود الى وجود مادة Linalool في اوراق وثمار هذه النباتات (العنزي، 2005). من خلال ما ذكر نستطيع ان نلاحظ إن هذه النباتات غنية بجميع مركبات الأيض الثانوي؛ مما يؤهلها لان تستخدم طبيًا في مجالات مختلفة، و بهذا تتفق هذه الدراسة مع دراسات أخرى في هذا المجال (Meghana& Mobashera., 2015).

أظهرت النتائج ارتفاع تركيز العناصر الثقيلة لمستخلص نبات الفلية مقارنةً مع مستخلصي القرض والريحان، حيث بلغت نسبة الحديد في مستخلص الفلية 7.8 جزء بالمليون، و من المعروف أن الحديد يدخل كعنصر اساسي في كثير من الأنزيمات وخصوصاً انزيمات التنفس البيروكسديز و الكتاليز، كما يعد احد مكونات الهيموجلوبين ويساعد في نقل الأوكسجين ويؤدي الحديد مع الهيموجلوبين والفريدوكسين ferrodixin دوراً مهماً في عمليات التمثيل الغذائي في جسم الأنسان(Okwu, 2004). اما في ما يخص باقي العناصر الأخرى كانت اقل تركيز و شملت كلاً من عنصر الرصاص، الكادميوم و الزنك والتي تعتبر من العناصر المعدنية الاساسية

للإنسان والحيوان والنبات تدخل في تركيب العديد من الانزيمات (Edeoga *et al*., 2006).
تواجد العناصر الثقيلة في عينات الدراسة تمت الأشارة إليه في دراسات أخرى مشابهة (Singh & Garg ,2006 AL-aubadi, 2011؛ عماد، 2016). هذا وكانت نسبة عنصري الصوديوم (Na) و البوتاسيوم (K) اللذان يعدان من العناصر الخفيفة .حيث بلغت نسبة عنصر صوديوم 0.07 لنباتي الريحان والقرض فى حين بلغ 0.14 لنبات الفلية. اما بالنسبة لعنصر البوتاسيوم بلغ 1.68 لنبات الريحان وكان اعلى معدل له فى نبات الفلية بلغ 1.84 حيث تلعب هذه العناصر دور في استقطاب أغشية الخلايا وتوازن الأيونات والمحافظة على حجم الخلية وحركة السوائل وامتصاص الماء في المعدة والأمعاء والكلية، وإمداد الخلية باحتياجاتها من الجلوكوز والأحماض الأمينية، وتلعب دور اساسي في نقل الإستحثاثات العصبية وتساهم في استهلال التقلصات العضلية وطرح الخلايا لإفرازاتها (Edeoga et al., 2006).

اتضح ان الأس الهيدروجينى لأغلب المستخلصات النباتية تميل الى الحامضية فقد بلغ فى نبات القرض 3.93 والفلية 4.35، فى حين كان الأس الهيدروجيني لنبات الريحان قريب من التعادل 6.5 . يعد الأس الهيدروجيني من العوامل المهمة التي تؤدي دوراً مهماً في فعالية المغذيات في التربة وامتصاصها بواسطة جذور النباتات (زينب، 2012). ميل الاس إلى الهيدروجين إلى الحموضة ربما هو سبب آخر لفاعلية هذه المستخلصات كون ان البكتيريا وكما هو معلوم تفضل الأس الهيدروجيني المتعادل او القريب من التعادل، تبين من النتائج ان تأثير مستخلص النباتات اتجاه البكتيريا المختبرة يقل كلما قل تركيز المستخلص و بهذا اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسات اخرى (Hammer *et al*., 2003; Deshpande, 2013). و إن المستخلص المائي لنباتي الريحان والفلية كان أكثر فاعلية على البكتيريا المختبرة ؛ قد يعود السبب الى قابلية الماء المقطر على إذابة جميع المركبات الفعالة اكثر من المذيبات الأخرى؛ او بسبب احتواء هذه النباتات على حوامض نباتية و التي منها: Ursolic، Capric و Oleanic (Rizk & El-Ghazaly, 1995؛ يحي و آخرون، 2015). إذ ان الحامضية تعمل على تغير طبيعة البروتينات في الغشاء الخلوي و كذلك تؤثر على الانزيمات؛ مما يؤدي الى تهشم الغشاء الخلوي و قتل الخلية البكتيرية (الصراف، 1995؛ Musa & Jean., 2002). أما عن نتائج التحليل الاحصائي فبينت أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيزالمختلفة للمستخلصات المائية لنباتي الفلية والريحان عند مستوى معنوية 0.05= α كما هو موصح بجداول(8,13).اما بالنسبة لنتائج نبات القرض بينت أن المستخلص الايثانولي للنبات كان له فاعلية اكثر اتجاه البكتيريا المختبرة عند جميع التراكيز، حيث اعطى أعلى قطر منطقة تثبيط ضد بكتيريا *E .coli* عند التركيز 100 بقطر بلغ(28.6 مم)، بينما كان اقل تأثير على بكتيريا

B. subtilis عند تركيز 20 بقطر (22.33مم)، الفاعلية الكبيرة لنبات القرض لوحظت منذ عشرات السنين في فاعليته ضد العديد من الامراض؛ لذا استخدم وبشكل كبير فيما يعرف بالطب الشعبي أو البديل؛ خاصةً عند الليبيين (القاضي و المغربي، 1999). أما عن نتائج التحليل الاحصائي فبينت أن هناك فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة وبين التراكيزالمختلفة للمستخلص الأيثانولي لنبات القرض عند مستوى معنوية 0.05= α.كما هو موضح بجدول(14) و تفاوتت نتائج المذيبات الاخرى فمنها من كان له تأثير ضعيف كمستخلص مذيب الكلوروفورم، الذي كان الاقل تأثيراً عن بقية المذيبات الاخرى، وقد يرجح ذلك الى الأختلاف في القطبية للمذيبات العضوية، أو ربما ترجع الفعالية التثبيطية لثمار نبات القرض الى احتوائها على اغلب المركبات الفعالة؛ خاصة المواد الدباغة و التي منها حمض التانيك و التي قد يكون لها تأثير ضد الاحياء المجهرية (Meghana & Mobashshera 2015). ضعف المستخلصات المذابة مع الكلوروفورم لوحظت في دراسات اخرى مشابهة (المعيني و آخرون، 2007؛ زينب، 2012).إن ما تم ملاحظته عن عدم حساسية البكتيريا المختبرة لبعض التراكيزقد يكون بسبب إنخفاض المواد الفعالة فى هذه التراكيز و نسبة التأثير تتناسب طردياً مع تركيز المستخلص، بحيث كلما زاد تركيز المستخلص ازدادت نسبة التثبيط وهذه النتائج تتفق مع (Eshanawany, 1996; Deshpande, 2013).أما فيما يتعلق بنتائج اختبار بعض المضادات الحيوية التجارية ضد البكتيريا المختبرة، بينت النتائج تفاوت تأثير هذه المضادات من مضاد إلى آخر و من بكتيريا إلى أخرى، المضادين الحيويين Tetracycline و Gentamicin كانا الاكثر تأثيراً على جميع انواع البكتيريا، في حين المضادين Penicillin و Vancomycin كانا الاقل في التأثير. تأثير المضادين Tetracycline و Gentamicin ضد البكتيريا المختبرة قد يكون لأن هذين المضادين اضافة لتأثيرهما على البروتين فإن لهما آلية عمل اخرى تتمثل في احداث خلل في الغشاء الخلوي (المعيني و آخرون، 2007؛ شاهين و شاهين، 2008). أما عدم تأثير المضادين Penicillin و Vancomycin فهذا متوقع كونهما يؤثرا في الجدار الخلوي خاصةً للبكتيريا الموجبة لجرام و هو ما يتفق مع نتائج هذه الدراسة.

تفوق بعض المستخلصات النباتية في التاثير على البكتيريا المختبرة أكثر من هذه المضادات تجعلنا نتجه إلى الطب البديل واستخدام مثل هذه النباتات في مقاومة الميكروبات بدلاً من استخدام المضادات الحيوية التجارية خصوصاً بعد النشرات و التقارير الاخيرة الصادرة عن منظمة الصحة العالمية و التي أشارت إلى الطفرات التي حدثت و مازالت تحدث للخلايا الميكروبية و جعلها اكثر مقاومة لأغلب المضادات الحيوية المعروفة و التي كانت فيما سابق ذات فاعلية كبيرة ضد الميكروبات (منظمة الصحة العالمية، 2017).

الخلاصة

بينت دراسة فاعلية بعض النباتات الطبية النامية فى المناطق الجافة من ليبيا ، إن مستخلصات هذه النباتات كانت لها فاعلية فى تثبيط نمو بعض أنواع من البكتيريا الممرضة للانسان. منها (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus ,, Salmonella, Scholerasusi* *Bacillus subtilis*. تأثيرمستخلصات النباتات كانت متباينة فى تأثيرها ضد البكتيريا المختبرة ليس فقط ما بين نبات وأخر ولكن ايضا بين النبات الواحد، حيث أن التركيزين 70-100 كانا هما الأكثر تأثيراً ضد جميع أنواع البكتيريا المختبرة وقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات، حيث كان مستخلص نبات القرض هو الأكفأ في تثبيط جميع انواع البكتيريا، كما انه سجل أعلى معدلات هالات لقطر منطقة التثبيط حيث بلغ(1±28.6مم) ، تم يليه نبات الفلية و كان لقطر منطقة التثبيط لمستخلص نبات الفلية ضد البكتيريا المختبرة (0±14.6مم) فى حين ظهر نبات الريحان أقل تأثير حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (1±13.6مم). اظهرت نتائج الكشف الكيميائي الابتدائي احتواء هذه النباتات على بعض المكونات الفعالة مثل الفلافونويدات، التانينات، الصابونيات و الفينولات كذلك تم تقدير بعض العناصر الثقيلة والخفيفة لهذه المستخلصات منها: الصوديوم والبوتاسيوم، الزنك ،الحديد . الكادميوم ، الرصاص . كذلك تم أختبارتأثير بعض المضادات الحيوية التجارية شائعة الاستخدام ضد البكتيريا الممرضة وأظهرت النتائج ان المضادين الحيويين Tetracycline و Gentamicin كانا الاكثر تأثيراً ضد البكتيريا، في حين المضادين Penicillin و Vancomycin الاقل في التأثيرعلى البكتيريا المختبرة. و من خلال ما تقدم نستطيع ان نلاحظ ان هذه النباتات غنية بجميع مركبات الأيض الثانوي مما يؤهلها لأن تستخدم طبياً فى مجالات مختلفة.

التوصيـــــــات

من خلال النتائج التى تم الحصول عليها من هذه الدراسة نوصي بالتالي :

1. إجراء دراسات شاملة وموسعة للنباتات الطبية التي تنمو برياً بصورة طبيعية في منطقة فزان
2. التوسع اكثر ودراسة نباتات أخرى عدا تلك التي شملتها هذه الدراسة و من مناطق مختلفة من ليبيا.
3. الكشف عن المجاميع والمركبات الكيميائية الفعالة للمستخلصات النباتية.
4. توفير المواد والأجهزة الخاصة بالاستخلاص وفصل المواد الفعالة من النباتات.
5. التأكيد على الضوابط العلمية في استخدام النباتات الطبية والتحذير من الاستخدام العشوائي لهذه النباتات.
6. التوسع فى إجراء الأبحاث على تأثير المستخلصات النباتية ومعرفة قدرتها في منع نمو البكتيريا .

المراجـع

References

المراجع References

المراجع العربية:

– ابوزيد، الشحات نصر (1985): النباتات العطرية ومنتجاتها الدوائية الدارالعربية للنشر والتوزيع .الصفحات من 283- 296

- أبوضاحي، يوسف محمد .(1989). تغذية النبات العلمي .بيت الحكمة .جامعة بغداد .

- بركة، مراد عبد الرحمن؛ الزكراوي، أحمد مسعود (2012). دراسة ارتباط المقاومة للمضادات الحيوية بالمحتوى البلازميدي في عزلتين من بكتيريا السالمونيلا ودوره في اتساع طيف المقاومة الدوائية بين البكتيريا المعوية، قسم علم الحيوان، كلية العلـــوم، جامعـــــة سبها – ليبيا.

- جعفر محمد موسى ،كريدى حسين حبيب ،أحمد سندس حميد (2013) تأثير مستخلصات ثمار نبات القرنفل ***Ianthus carphyllus*** *على* البكتيريا الممرضة للأنسان المجلد 16 ص 41-47- جامعة النهرين

- جواد رأفت عبدالحسن محمد (2011) دراسة التأثير التثبيطي للمستخلصات المائية والكحولية والزيتية لبذور نبات الحبة السوداء على أنواع محتارة من البكتيريا الممرضة جامعة المثنى – العراق

- دلالي،باسل كامل والحكيم ،صادق حسن (1987) تحليل الأغذية دار الكتب جامعة الموصل

-زينب أسمهان (2012)،التأثير الحيوي لبعض مستخلصات أوراق الآس*Myrtus communis* فى نمو بعض الاحياء دقيقة الممرضة جامعة تشرين اللاذقية –سورية المجلد 28

- شاهين، عمر و رند عمر شاهين (2008). المضادات الحيوية، دار الفكر العربي- عمان / الأردن

- عباس، ميسون صباح (2011)، دراسة حساسية بعض البكتيريا المرضية للمضادات الحيوية والمستخلصات النباتية، مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، المجلد الرابع، العدد الثاني الصفحات 7_14، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد

- عبد البهادلى وداد على ، مطرد سميرة عبدالكريم (2015) ،الفاعلية التثبيطية لمستخلصات ثمار وجذور نبات الكراويه على نوعين من البكتيريا الممرضى للأنسان العدد1-مجلد 23 جامعة بابل Carum Carvi

- عجينة صبا جعفر ،هندى مازن جميل ،يحيى عبد الغني ابراهيم (2009) ،تأثير المستخلصات الكحولية الخام لأجزاء بعض النباتات فى تثبيط النمو لأنواع من البكتيريا المرضية المسببة لتلف الاغذية كلية الزراعة –بغداد

- عماد الحداد، (2016). دراسة مكونات الزيت العطري لأو ا رق نبات الريحان)الحبق(وفعاليتها المضادة للجراثيم. *مجلة تشرين للبحوث والدراسات العلمية 38*(سلسلة العلوم الصحية)، 3–21

- عميرة ، اسراء (2011). الوجيز في علم العقاقير، دار يافا للنشر وتوزيع- عمان / الاردن

- قبيسي،حسان (1998) معجم الاعشاب والنباتات الطبية .دار الكتب العلمية ،بيروت ،لبنان

- لبنية محيى الدين ،1994الريحان فوائده ومزاياه مجلة أهلا وسهلا العدد 5 مايو أبريل ص16

- مجيد ، سامي هاشم ومحمود ،مهند جميل 1988، النباتات والاعشاب الطبية بين الطب الشعبي والبحث العلمي.مجلس البحث العلمي .العراق.

- منظمة الصحة العالمية (2017).مقاومة مضادات الميكروبات فى إقليم شرق المتوسط،المكتب الإقليمي لشرق المتوسط-القاهرة/مصر.

- البالاني ، ماجد رشيد.2003.تأثير المستخلصات النباتية الخام وقلويد الفازيسين(Vasicine) لنبات حلق السبع الشجيري .Adhatoda Vasical فى بعض الجراثيم المرضية . رسالة ماجستير كلية العلوم – جامعة بغداد

- الجنابي، جواد كاظم؛ كمال، صابرين عبد الأمير (2014). تقويم كفاءة مستخلصات الشاي الأخضر والدارسين في نمو الفطر *mentagrophytes*، مجلة جـــــــــامعة بابل، العلوم الصرفة والتطبيقية، المجلد الثاني والعشرون، العدد الثاني، الصفحات 651- 660 قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بابل / العراق.

- الراوي ،خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز (2000) تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل

- الساعدي ، فيصل كاظم مطشر (2006) الفعالية التثبيطية لبعض مستخلصات نبات الحندقوق *Melilotus indica* ضد بعض الاحياء المجهرية والخط الخلوي السرطاني

- السحار ،قاسم فؤاد (1987) مقدمة فى علم تقسيم النبات- الطبعة الاولى لدار البحر المتوسط للنشر والتوزيع، مصر

- الشيخلي ، محمد عبد الستار والعزاوي ،فريال حسن وفياض ،حسن وعبدالجليل (1993) .الكيمياء الحياتية العملي –الجامعة المستنصرية العراق.

- الصديق، آمنة علي ناصر (2011). *Cucurbita moschata* ضد بعض الميكروبات المسببة للتسمم الغذائي ،المؤتمر العالمي العاشر للإعجاز العلمي في القرآن و السنة/ بدولة تركيا

- الصراف، عبد الحسن محمود جواد (1995). النشرة الإرشادية في زراعة الكجرات، الهيئة العامة للخدمات الزراعية- وزارة زراعة العراقية- بغداد / العراق

- الطائي ،سعاد ريحان عوار (2001) تأثير مستخلصات نباتية على نمو فطريات جلدية معزولة من مرضي مصابين بأمراض جلدية وعلى نمو بعض أنواع البكتيريا المرضية كلية التربية جامعة تكريت العراق.

- العاني ، اوس هلال (1998) دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella Sativa* وتأثيرمستخلصاتها على بعض الاحياء المجهرية .كلية العلوم جامعة المستنصرية

- العنزي،مهند عبدالمحسن كريم.(2005) الفعالية الثبيطية للمستخلصات الخام لنبات الجرجير.*Eruca sativuml* على بعض الجراثيم المرضية ، رسالة ماجستير –كلية العلوم – الجامعة المستنصرية

- القاضي، عبدالله عبدالحكيم و المغربي، موسى عبدالسلام (1999).أستعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي اليبي .الجزء الثالث. مطابع الوحدة العربية. الزاوية. ليبيا.

- المعيني، صفاء،عبد اللطيف الثويني امنة نعمة ،أحمد حربي إبراهيم(2007). تقييم فعالية مستخلصات أوراق نبات الريحان فى تثبيط الأحياء المجهرية المرضية. *معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الأحيائية للدراسات العليا جامعة بغداد*؛100:6–109

- يحيى نافع أياد،على نوري عبد،هبة عدنان ابراهيم،(2015).دراسة المحتوي الكيميائي وتأثير منقوعها المائي فيعدد الخلايا المحيطةبأسناخ الغدة البنية لأناث الجرذان.مجلة جامعة تشرين للبحوث ودراسات العلمية .37:164-163

- يوسف ،محمد كمال السيد (2001)، الشاي الأخضر :مشروب غذائي صحي علاجي مجلة أسيوط للدراسات البيئية ،العدد الحادي والعشرون ،الصفحات 57 - 66 كلية الزراعة.

المراجع الاجنبية:

-**Adam, Z. A. and Omer, A. A. (2015).** Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* (Rehan) Leaf Extract against Bacterial Pathogens in Sudan. American Journal of Research Communication, 3(8), 94- 99

-**AL-aubadi,I.m.k.(2011)**. The Nutritional and chemical content of basil leaves *Ocimum basilicum* L. College of Agriculture. University of Baghdad vol .5, pp.67-74.

-**Al-Delaimy, K.S.& Ali, S.H.(1970).** Storage, Spillage and Proximate food composition of Iraqi truffles. Beit Trop. Suptrop. Land writ Tropenveternmedizin, 8:77

-**Bogdadi,Hamed Abdelsalam Abdelah,Kokoska Ladislav, Havlik Jaroslav,Kloucek Pavel, Rada Vojtech ,and Karel,Vorisek(2007**) : in vitro Antimicrobial Activity of some Libyan Medicinal plant 45,NO.5.pp.386-391.

-**Brown, A. E. (2007)**. Benson's Microbiological Application-s. 10th ed.. published by McGraw- Hill, New York, USA

- **Campo.J.D.Amiot,M.J.and Nguyen-C(2000):**Antimicrobial effect of Rosemary extracts.J. of food protection ,vol,(63) .1359-1368

- **Cohen, ML. 1992.** Epidemiology of drug resistance implications for apost- antimicrobial era.science 257:1050-1055-

- **Collins, C. H., Lyne, P. M., Gran-ge, J. M. and Falkinha III, J. O. (2004)**. Microbiological Methods. 8th ed. Arnold a member of the Hodder Headline Group London

- **Deshpande S.(2013)** Preliminary Phytochemical Analysis and In Vitro Investigation of Antibacterial Activity of Acacia nilotica against Clinical Isolates. *Pharmacogn Phytochem*;1:23–27

- **Duck JA. and ES, Ayensu.1985.** Medicinal Plants of China. Reference Publications Inc.:ISBN 0-917256-20-4

-Edeoga H. O., G. Omosun and L.C. Uche (2006). Chemical composition of *Hyptis suaveolens* and *Ocimum gratissimum* hybrids from Nigeria. African J. Of Biotechnology Vol. 5 (10), pp. 892-895.

Eisenberg, D.M., R.C. Kessler, C.Foster, F.E. Norlock, D.R. Calkins,and T.L.Delbanco.(1993). Unconventional medicine in the United States: prevalence, costs and patterns of use. N. Engl. J. Med. 328:246-252.

-Ellof, N.J. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. J. Ethnophrmacol 6:1-6

-Eshanawany H., Boham, A .B. and A. C. Kocipai (1996). medicinal pl-ant used in saudi Traditional medici-ne, king Abdel Aziz city for science and Technology Riyadh .144

- **Flemming , A. N (1928).** The Synergistic and Individual Ant- microbial Impacts of green tea And Ginger On Common Gastro-Intestinal Bacterial , 1_11, U.S.

-Feng, Y., Lei, J., Xu, X. and Pan, B. (2013). Composition and characteristics of Libyan flora. *Arch Bio Sci* Belgrade 65 (2), 651- 657.

-Hammer, K. A., Carson, C. F. and Riley, J. V. (2003). Anti-fungal activity of the components of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil. *J Appl Microviol* 86, 446- 452.

- **Harborne , J.B. (1984)** . Phytochemical methods aguide to moder techniques of plants analysis. 2nd ed. Chapman and Hall New York . 288

- **Hayat, Muhammad Umar,. Zahra. A. Adam and Al Fadhil A. Omer. (2015)** determination of concentrate-on in sewage water and vegetable Le-af samples. The Journal of Microbiolgy -, Biotechnology and Food Scien-nces 4(5), 387.

- Ifikhar , H., Bukhari , M ., Muhammed. R . Tanveer.,H .(2013). Determination of trace Heavy metals in Different Varleties of Vegetables and fruits Available in local market of shorkot Pakistan int.j curr pharm vol 5:0795-7066

-Geismann ,T,A(1962) Chemistry of flavonnoid compounds .Macmillan CONew York

-Grundmann, H., Schneider, C., Hartung, D. et al. (1995). Di-scriminatory power of three DNA-based typing techniques for *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clinical Microbi* **33**: 528-534

- **Kemp,M and R. Burden.(1986**) .Phytochem. 25 1261 .lachowicz K.J.,G.P.Jones,D.R. Briggs,F.E. Bienvenu M.V,. Palmer, S.S.T. Ting and M. Hunter.1996. Characteristics of essential oil from basil(Ocimum basilicum L.) grown in Australia.J.Agr.Food chem . 44:877-881.

- **Louhaichi, M., Salkini, A. K., Estita, H. E. and Belkhir, S. (2011).** Initial Assessment of Medicinal Plants Across the Libyan Mediterranean Coast. *Adv Enviro Biol* 5(2), 359- 370

- **Mattana, C.M., Satorres, S.E., Escobar, F., Sabini, C., Sabini, L., Fusco, M., Alcaraz, E.(2012).** Antibacterial and cytotoxic activities of *Acacia aroma* extracts. *Emir. J. Food Agric.*, 24(4): 308- 313

- **Meghana Gore, Mobashshera Tariq AK.(2015)** Synergistic Interaction of Ocimum basilicum Extracts with Antibiotic Against β-lactamase Producing Uropathogens. *Int J Adv Pharm Res*;6:177 – 184

-Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S.and Beal,J.L. (1972): Antimicrobial agents from higher plant Introduction. rationle and methodology. Lioydia 35-135.

- **MUSA , ozcan1 and JEAN –clause chat2(**2002) Essentional oli. Compostion of ocimum basilicum l and ocimum minimum L in Turkey Food Eng fac Agric selcuk univ konya (20:223-228

- **Naik, L. S., Shyam, P., Marx, K. P. Baskari, S., and Devi, C. V. R. (2015).** Antimicrobial activity and phytochemical analysis of Ocimum tenuiflorum leaf extract. Int J of Pharm Rese8 (1), 88- 95.

-**Nascimento ,G.F.Gislene., Locatelli, Juliana .,Freitas, C.Paulo., Silva ,L Giuliana .(2000)** . Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic –resistant bacteria .J.31 no

-**National Committee for Clinical Laboratory Standards (1993).** Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically, 3rd Ed. Document M7- A3, National Committee for Clinical Laboratory Standards 6, 13(25): 915.

-**Nickel, J. C., Costerton, J.W., Mcleam, R. J. and Alson, M. (1994).** Bacterialbio films . Influence on the pathogenesis, diaqnoses and treatment of Urinary tract infection . J-Antimicrob – chemoth

-.**Norris.J.R.and D.W.Ribbons (1970)** , Methods in microbiology , Academic Press London and new York

-- **Okwa, D. E. and F. N. Morah (2004).** Mineral and Nutritive value of Dennurtive tropica fruits. Fruits. 59:437

- **Okwu, D. E. (2004).** Phytochemicals and vitamin content of indigenous spices Of Southeastern 6: 1249-1270. Nigeria. J. Sustain. Agric Environ., 6(1): 30-37

Rizk, A. M. and El -Ghazaly, G. A. (1995). Medicinal and oisonous plants of Qatar. University of Qatar, Scientific and applied Research Center Doha, Qatar. 306p

- Sawar I. Mawlood.(2011) Chemical and Biological Study of Iraqi Kurdistan Chamomile Flower (Matricaria recutita. Baghdad Sci;Vol.8(3) Vol.8(3):736–40

- **Singhal V,and Garg A.N.(2006**) Availability of essential trace elements in Indian cereals, vegetables and spices using INAA and the contribution of spices

- **Solomon-Wisdom G(2010)**. n vitro antimicrobial and phytochemical activities of Acacia nilotica leaf extract. *Med* PLANT Res Vol. 4(12:12323-1)

- **Seeram, N .P.; Zhang, Y.; Reed, J .D.; Krueger, C .G.; Vaya, J .Gil-lzquierdo, A.; Zafrilla, P.; (2002**)Tom/is Barber/in, FA .An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract.Eur .Food Res .Technol .2002_214, 155-159..

- **Sousek, J.; Guedon, D.; Adam, T.; Bochorakova**, H.; Taborska, E.; Valka, I. And Simanek, V. (1999). Alkaloids and organic acid content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*, 10:6-11. Cited in : Sa`eed, O.F. (2004). The effect of green and black tea extracts on different cell lines *in vitro*. M.Sc. Thesis, College of Pharmacy, University of Mosul, Mosul, Iraq

- **Wilson, D.C., and Brown ,H. D (1953)** .Heat-induced inhibitory agents obtaind from processed fruits vegetables. Food Technol.7:250

-**Winberg , J; Mollby , Bergstrom , J.; Karlsson , K ; Leonard soon , L.; Mill, M .; Tenebery , S.(1990).** The pap Gadhesion at the tip of P-fembria provides Escherichia coli With a competition edege in bladder infection of cynmdgus monkeys . J. Exp . Med ., 182 (6) :1695.

المراجع من النت :p www.tamatart.com/

ABSTRACT

Three districts in the southwest of Libya have been chosen for this study whereThis region is dominated by the desert climate. The sites from which samples were collected are far from each other about 180 k. *Ocimum basilicum* or Basil has been collected from Sabha , *Acacia nilotica* collected from Wadi AL-Shati and *chamomilla aurea* from Awainat/ Ghaat .The study aims to determine the effectiveness of basil leaves. and the *Acacia nilotica* seed and *chamomilla aurea* leaves and flowers to inhibit some human pathogenic bacterias human being,all extracts were obtained using soxhelet extractor device with different types of organic solvents (ethanol, chloroform and acetone) and distilled water, four different concentrations were for each extract 20,50.70, 100%. were tested against Escherichia coli The plant extract effectiveness Salmonella cholerasuis pseudomonas aeruginosa Bacillus subtilus and Staphylococcus aureus the study showed varieties of inhibitory activities results within each extract and testal against each test ed bacteria. Extract The Acacia nilotica extract was the most efficient inhibiting all types of tested bacteria with IZ (28.6mm) followed Chamomilla aurea bacteria with IZ(14.6mm) the other hand basil was the least effective with IZ (13.6MM) The chemical constiitnents of tested plant s showed that they contain some active components such as flavonoids, tannins, saponins and phenols and . Some heavy and light metal and they contain sodium ,butosium ,cadmium, lead, zinc and iron and lead more over the investigation of the effectiveness of some commonly used antibiotics on pathogenic bacterial tested showed Gentamicin and Tertacyclin are the most effective tested while Vancomycin and penicillin the least effective.

الملاحـــق

Appendixes

الملحق 1

مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly
المؤتمر العلمي الأول لطلبة الدراسات العليا جامعة سبها كلية العلوم الهندسة والتقنية (براك – الشاطئ) 2017/4/18

دراسة فعالية المستخلصات النباتية (الريحان ،القرض) كمضاد للبكتيريا الممرضة للإنسان

أمنة خالد حسين د. :يونس أبوبكر الخيالي د: محمد مفتاح

قسم: علم .النبات (شعبة الأحياء الدقيقة) كلية العلوم جامعة سبها

*للمراسلة amnakhaled192@gmail.com

الملخـــــــــــــص.

شملت الدراسة مواقع مختلفة من الجنوب الليبي يغلب عليها المناخ الصحراوي (الحار و الجاف صيفاً و شديد البرودة شتاءاً) تبعد عن بعضها البعض بمسافة تتجاوز 180كم هى مدينة سبها لنبات الريحان ونبات القرض من وادي الشاطئ .هدفت الدراسة للتحري على مدى فعالية اوراق نبات الريحان*Ocimum basilicum* وثمار نبات القرض *Acacia nilotica* على تثبيط البكتيريا الممرضة للإنسان حيث تم الحصول على مستخلص كل نبات باستخدام جهاز Soxhelet extractor بأستخدام اربع انواع من المذيبات العضوية (الأيثانول ،الكلوروفورم، اسيتون، الماء المقطر) هذا واستخدم من كل مستخلص اربعة تراكيز مختلفة 20,50,70,100% واخضع المستخلص الى عدد من الاختبارات للكشف على فعالية المضادة للاحياء المجهرية التى ضمت البكتيريا الموجبة لصبغة جرام *Bacillus subitiles* وبكتيريا السالبة *Pseudomonas aeruginosa* , , *E.coli* وقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص نفسه واختلاف البكتيريا المختبرة ،حيث كان مستخلص نبات القرض هو الأكفأ فى تثبيط جميع انواع البكتيريا كما انه سجل أعلى معدلات هالات التثبيط فى حين كان لنبات الريحان أقل تأثير ضد بعض البكتيريا مختبرة .

واظهرت نتائج الكشف الكيميائي الأبتدائي احتواء هذه النباتات على بعض المكونات الفعالة مثل الفلافونويدات ،التانينات ، الصابونيات،الفينولات كذلك تم تقدير بعض العناصر الكبرى والصغري لهذه المستخلصات. كما اجريت مقارنة بين فعالية هذه المستخلصات وبعض المضادات الحيوية شائعة الاستخدام فى مركز سبها الطبي.

كلمات البحث:

نبات، تثبيط ،مستخلص ،بكتيريا ،فعالية

مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly
Received 5/1/20xx Revised 2/2/20xx Published online 14/x/20xx

دراسة فعالية المستخلصات النباتية الفلية (البابونج *Chamomilla aurea*) و القرض Acacia nilotica كمضاد لبعض أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان

امنة خالد حسين يونس ابوبكر الخيالي محمد مفتاح الصنباني

قسم: علم .النبات (شعبة الأحياء الدقيقة) كلية العلوم جامعة سبها

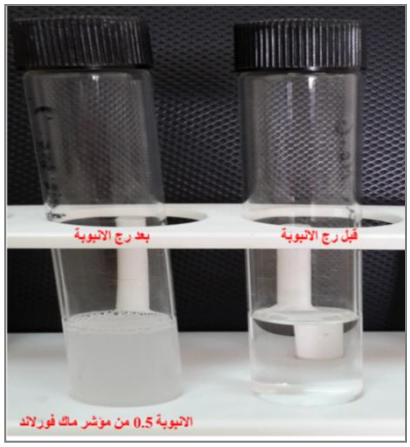
*للمراسلة amnakhaled192@gmail.com

الملخص

تم دراسة تأثير فعالية نوعين من النباتات الطبية النامية بمنطقة الجنوب وهما نباتي الفلية *Chamomilla aurea* والقرض *Acacia nilotica*، استخدمت الاوراق والازهار لنبات الفلية، والثمار لنبات القرض، تم الحصول على مستخلص كل نبات باستخدام جهاز Soxhelet extractor و باستخدام ثلاثة انواع من المذيبات العضوية (الإيثانول ، الكلوروفورم و الاسيتون) مع الماء المقطر، حيث تم اختبارها على ثلاثة أنواع من البكتيريا *salmonella cholerasuis.,.Staphylococcus aureus & Escherichia coli*، تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص نفسه و اختلاف البكتيريا المختبرة، حيث كان مستخلص نبات القرض هو الأكفأ في تثبيط جميع انواع البكتيريا، كما انه سجل أعلى معدل لحالات متوسط قطر منطقة التثبيط بقطر بلغ (28.6مم) و بمتوسط قطر اقل لنبات الفلية بلغ(14.6مم). اظهرت نتائج الكشف الكيميائي الابتدائي احتواء النباتين على بعض المكونات الفعالة مثل الفلافونويدات، التانينات، الصابونيات و الفينولات، كذلك تم تقدير بعض العناصر الصغرى لهذه المستخلصات منها الصوديوم والبوتاسيوم، كما تم معرفة تأثير بعض المضادات الحيوية شائعة الاستخدام على البكتيريا الممرضة.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا، الفلية، القرض، النبات، مستخلص

ملحق 2. مقياس ماك فورلاند .McFarland tubes



Barium chloride		1 %
Sulphuric acid		1 %
Tubes	Barium chloride	Sulphuric acid
no.1	0.1 ml	9.9 ml
no.2	0.2 ml	9.8 ml
no.3	0.3 ml	9.7 ml
no.4	0.4 ml	9.6 ml
no.5	0.5 ml	9.5 ml
no.6	0.6 ml	9.4 ml

(National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993)

ملحق 3. نتائج اختبار Api.

البكتيريا المختبرة			الأختبار	
s.cholerasuis	*ps.aerginosa*	*E.coli*		
_	_	+	β-glactosidase	ONPG
+	+	+	Arginin hydrolase	ADH
+	_	+	Lysine decarboxylase	LDC
+	_	+	Ornithine decarboxylase	ODC
_	+	_	Citrate utilization	CIT
+	_	_	H2S production	H_2S
_	_	_	Urea hydrolysis	URE
_	_	_	Tryptophan deamination	TDA
_	_	+	Indole production	IND
_	_	_	Acetone production	VP
_	+	_	Gelatin hydrolysis	GEL
+	+	+	Glucose fermentation	GLU
+	_	+	Mannitol	MAN
+	_	_	Inositol	INO
+	_	_	Sorbitol	SOR
+	_	+	Rhamanose	RHA
_	_	_	Sucrose	SAC
+	_	+	Melibiose	MEL
_	_	_	Amygdalin	AMY
+	_	+	Arabinose	ARA
_	_	_	Cytochrome oxidase	Oxidase

* + نتيجة موجبة للاختبار بعد 48 ساعة من التحضين، - نتيجة سالبة للاختبار

ملحق 4. نتائج التحليل الاحصائي

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الريحان باستخدام مذيب الإيثانول

نوع المذيب		مذيب الإيثانول				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		9	9	9	10	9.67
0.70		10	13	11	10.67	10
100		11	13.33	11.67	11	10.67
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		1	0	1	0	0.57
0.70		0	0	0	1.15	1
100		1.15	0.57	0.57	1	0.57
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		11.1	0	11.1	0	5.89
0.70		0	0	0	10.77	10
100		10.45	4.27	4.88	9.09	5.34

الفروق بين التراكيز لمذيب الإيثانول لنبات الريحان علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الأيثانول				
المقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	**	**	**	**	**
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	**
0.50	0.70	*	**	**	*	*
0.50	100	**	**	**	*	*
0.70	100	**	*	*	*	*

** توجد فروق معنوية * لاتوجد فروق معنوي

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الريحان باستخدام مذيب الأسيتون

نوع المذيب		مذيب الأسيتون				
		انواع البكتيريا				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		9	12	10	11	11.33
100		9.33	12.67	10.67	11.33	11.67
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		1	0	1	1	1.52
100		1.52	0.57	1.15	1.52	1.52
0.20	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		11.11	0	10	9.09	13.41
100		16.29	4.49	10.77	13.41	13.02

الفروق بين التراكيزالمختلفة لمذيب الأسيتون لنبات الريحان علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الإسيتون				
المقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	*	*	*	*	*
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	**
0.50	0.70	**	**	**	**	**
0.50	100	**	**	**	**	**
0.70	100	*	**	*	*	*

** توجد فروق معنوية * لاتوجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الريحان باستخدام مذيب الكلوروفورم

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	8.33
0.50		0	0	0	0	8.67
0.70		0	9.33	8.67	9	9.33
100		0	10.33	12	9	12
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0.57
0.50		0	0	0	0	1.52
0.70		0	0.57	1.15	1.73	0.57
100		0	2.51	2	1	2
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	6.84
0.50		0	0	0	0	17.53
0.70		0	6.10	13.26	19.22	6.10
100		0	24.29	16.66	11.11	16.66

الفروق بين التراكيز لمذيب الكلوروفورم لنبات الريحان علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	**	*	*	*	*
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	*
0.50	0.70	**	**	**	**	*
0.50	100	**	**	**	**	**
0.70	100	**	*	**	*	**

** توجد فروق * لا توجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الريحان باستخدام ماء مقطر

نوع المذيب		الماء المقطر				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		10	10.67	12.33	0	10.67
0.50		11	10.67	12.33	0	10.67
0.70		12	11.33	12.67	10.67	11
100		12.33	11.33	13	11.33	11.33
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0.57	0.57	0	1.15
0.50		1	0.57	0.57	0	1.15
0.70		0	0.57	0.57	1.15	0
100		0.57	1.15	1	1.15	1.15
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	5.34	4.62	0	10.77
0.50		9.09	5.34	4.62	0	10.77
0.70		0	5.03	4.49	10.77	0
100		4.62	10.15	7.69	10.15	10.15

الفروق بين التراكيز لمذيب ماء المقطر لنبات الريحان علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		الماء المقطر				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	**	*	*	*	*
0.20	0.70	**	*	*	**	*
0.20	100	**	*	*	**	*
0.50	0.70	**	*	*	**	*
0.50	100	**	*	*	**	*
0.70	100	*	*	*	*	*

** توجد فروق * لا توجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الفلية باستخدام مذيب الإيثانول

نوع المذيب		مذيب الإيثانول				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		11.33	11	11	14.33	10
100		12	11	11.67	14.67	11
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		1.52	1.73	1	3.51	0
100		1	1	1.52	3.05	1
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		13.41	15.72	9.09	24.49	0
100		8.33	9.09	13.02	20.79	9.09

الفروق بين التراكيز لمذيب الإيثانول لنبات الفلية علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الأيثانول				
لمقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	*	*	*	*	*
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	**
0.50	0.70	**	**	**	**	**
0.50	100	**	**	**	**	**
0.70	100	*	*	*	*	**

** توجد فروق * لاتوجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الفلية باستخدام مذيب الأسيتون

نوع المذيب		مذيب الأسيتون				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	10.33	0
0.50		0	0	12.33	11.33	0
0.70		9.67	10.33	13	12.33	0
100		10	10.67	13.33	14.33	12.67
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0.57	0
0.50		0	0	2.08	1.15	0
0.70		0.57	0.57	1.73	1.15	0
100		0	0.57	1.15	2.30	1.15
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	5.51	0
0.50		0	0	16.86	10.15	0
0.70		5.89	5.51	13.30	9.32	0
100		0	5.34	8.62	15	9.07

الفروق بين التراكيز لمذيب الأسيتون لنبات الفلية علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الإسيتون				
المقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	*	*	*	*	*
0.20	0.70	**	**	*	*	*
0.20	100	**	**	*	**	**
0.50	0.70	**	**	*	*	*
0.50	100	**	**	*	*	**
0.70	100	**	*	*	*	**

** توجد فروق * لا توجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الفلية باستخدام مذيب الكلوروفورم

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		-0	10.33	10	0	10.67
0.70		0	11	10.67	0	11
100		0	11.33	13	0	11.33
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0.57	1	0	1.15
0.70		0	1	1.15	0	1
100		0	1.15	2.64	0	1.15
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	-	-	0	-
0.50		0	5.51	10	0	10.77
0.70		0	9.09	10.77	0	9.09
100		0	10.15	20.30	0	10.15

الفروق بين التراكيز لمذيب الكلوروفورم لنبات الفلية علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	*	**	**	**	**
Control	0.50	*	**	**	**	**
Control	0.70	*	**	**	**	**
Control	100	*	**	**	**	**
0.20	0.50	*	**	**	**	**
0.20	0.70	*	**	**	**	**
0.20	100	*	**	**	**	**
0.50	0.70	*	*	*	**	*
0.50	100	*	*	**	**	*
0.70	100	*	*	*	**	*

** توجد فروق * لا توجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات الفلية باستخدام ماء مقطر

نوع المذيب		الماء المقطر				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	انواع البكتيريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		10.33	0	10.67	0	0
0.70		11.33	0	11	9.33	0
100		14.6	0	11.33	10	11.33
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0.57	0	0.57	0	0
0.70		1.15	0	0	0.57	0
100		0	0	0.57	1	1.15
Control	معامل الأختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		5.51	0	5.34	0	0
0.70		10.15	0	0	6.10	0
100		0	0	5.03	10	10.15

الفروق بين التراكيز لمذيب الماء المقطر لنبات الفلية علي تثبيط ألبكتريا

نوع المذيب		مذيب الماء المقطر				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	*	**	**	**	**
Control	0.50	*	**	**	**	**
Control	0.70	*	**	**	**	**
Control	100	*	**	**	**	**
0.20	0.50	*	**	**	**	**
0.20	0.70	*	**	**	**	**
0.20	100	*	**	**	**	**
0.50	0.70	*	*	*	**	*
0.50	100	*	*	**	**	*
0.70	100	*	*	*	**	*

**توجد فروق * لاتوجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات القرض باستخدام مذيب الإيثانول

نوع المذيب		مذيب الإيثانول				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	أنواع البكتريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		22	16	17	18	16.67
0.50		25.67	19.33	20.67	18.67	21
0.70		28	20.33	21	20	22.33
100		28.67	22.33	22	22.33	24
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		2	1.73	1.73	1	0.57
0.50		1.52	0.57	1.15	1.52	1
0.70		1.73	0.57	1	1	2.08
100		1.15	1.52	2	0.57	1
Control	معامل الاختلاف	0	0	0	0	0
0.20		9.09	10.81	10.18	5.56	3.42
0.50		5.43	2.80	5.48	7.60	4.48
0.70		6.18	2.80	4.76	5.00	9.31
100		4.01	6.81	9.09	2.55	4.17

الفروق بين التراكيز لمذيب الإيثانول لنبات القرض علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الإيثانول				
المقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	**	**	**	*	**
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	**
0.50	0.70	*	*	*	*	*
0.70	100	**	**	*	**	*

**توجد فروق * لاتوجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات القرض باستخدام مذيب الأسيتون

نوع المذيب		مذيب الأسيتون				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	أنواع البكتريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		12.67	16.33	20	10.67	18.33
0.50		14.33	21.33	21	17.33	20.67
0.70		22	21.33	21.33	18.67	21.33
100		22	26	22	21.33	22
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0.57	1.52	0	0.33	2.08
0.50		1.52	0.57	1	0.88	1.15
0.70		2.64	1.15	1.52	0.33	1.15
100		2	1.73	2	0.33	2
Control	معامل الاختلاف	0	0	0	0	0
0.20		4.50	9.31	0.00	3.09	11.35
0.50		10.61	2.67	4.76	5.08	5.56
0.70		12.00	5.39	7.13	1.77	5.39
100		9.09	6.65	9.09	1.55	9.09

الفروق بين التراكيز لمذيب الأسيتون لنبات القرض علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الإسيتون				
المقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	*	**	*	**	*
0.20	0.70	**	**	*	**	**
0.20	100	**	**	*	**	*
0.50	0.70	**	*	*	*	*
0.50	100	**	**	*	**	*
0.70	100	*	**	*	**	*

** توجد فروق * لاتوجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات القرض باستخدام مذيب الكلوروفورم

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	أنواع البكتريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		8.67	9	10.67	10	11.67
100		9.33	11	15.33	10.33	12
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		1.15	0.57	1.15	1	2.88
100		0.57	1	0.57	1.52	1.73
Control	معامل الاختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	0	0	0	0
0.50		0	0	0	0	0
0.70		13	6	11	10	25
100		6	9	4	15	14

الفروق بين التراكيز لمذيب الكلوروفورم لنبات القرض علي تثبيط البكتريا

نوع المذيب		مذيب الكلوروفورم				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	*	*	*	*	*
0.20	0.70	**	**	**	**	**
0.20	100	**	**	**	**	**
0.50	0.70	**	**	**	**	**
0.50	100	**	**	**	**	**
0.70	100	*	**	**	**	*

** توجد فروق * لا توجد فروق معنوية

نتائج تحليل التباين لتأثير التراكيز المختلفة لنبات القرض باستخدام ماء مقطر

نوع المذيب		مذيب ماء مقطر				
التراكيز	المقاييس الإحصائية	أنواع البكتريا				
		E.coli	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	المتوسط	4	4	4	4	4
0.20		13	15.67	15	10.67	13.67
0.50		15.67	16.33	16	12.33	15.67
0.70		15.67	16.33	16.33	13	16.33
100		15.67	17	16.67	14	17.33
Control	الانحراف المعياري	0	0	0	0	0
0.20		0	0.57	0	1.15	1.15
0.50		0.57	1.15	0	0.57	0.57
0.70		0.57	1.15	1.15	0	1.15
100		0.57	1.73	1.52	3.46	0.57
Control	معامل الاختلاف	0	0	0	0	0
0.20		0	4	0	11	8
0.50		4	7	0	5	4
0.70		4	7	7	0	7
100		4	10	9	25	3

الفروق بين التراكيز لمذيب ماء المقطر علي تثبيط نمو البكتريا

نوع المذيب		الماء المقطر				
مقارنة المزدوجة بين التراكيز		انواع البكتيريا				
الأول	الثاني	*E.coli*	*B.subtillus*	*st.aureus*	*ps.aerginosa*	*s.cholerasuis*
Control	0.20	**	**	**	**	**
Control	0.50	**	**	**	**	**
Control	0.70	**	**	**	**	**
Control	100	**	**	**	**	**
0.20	0.50	**	**	*	*	**
0.20	0.70	**	*	*	*	**
0.20	100	**	*	**	**	**
0.50	0.70	*	*	*	*	*
0.50	100	**	*	*	*	**
0.70	100	**	*	*	*	*

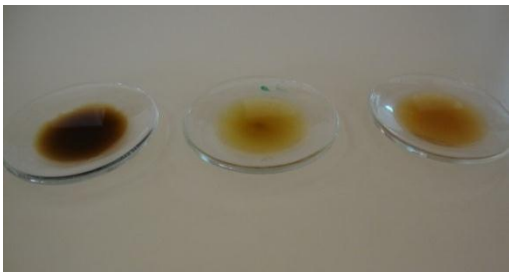
** توجد فروق * لاتوجد فروق معنوية

الملحق 5: الكشف الكيميائي

كشفVolatile oil

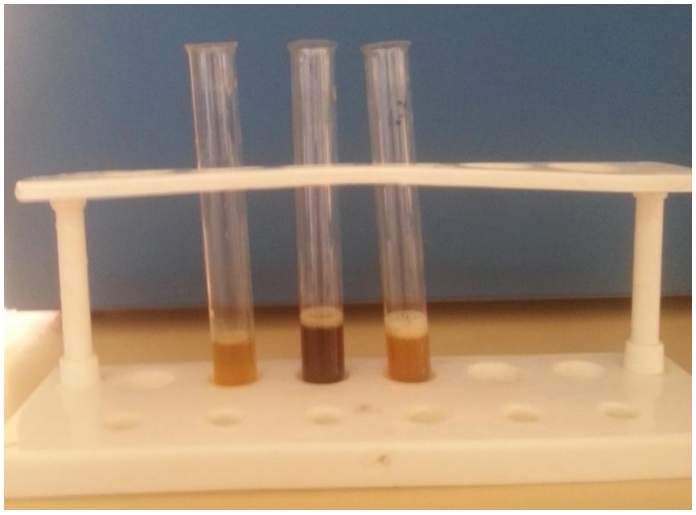
كشف عن Tannins

كشف عن Resins



كشف عن Alkaloids

Meter ،PH



كشف عن Saponins

الكشف الأولي عن بعض المركبات الفعالة

استخلاص النباتات باستخدام جهاز soxhelet

التبخير بإستخدام جهازRotary evaporator

الأجهزة المستخدمة فى عملية الأستخلاص

الملحق 6

- الاوساط الزراعية Culture Media

استخدمت الاوساط الزراعية التالية والتي تم الحصول عليها من كلية العلوم جامعة سبها:

اسم الوسط	الشركة المجهزة
Nutrient agar	Oxoid
MaCconkey agar	Oxoid
Manniton salt agar	Oxoid
Saboroud Dextrose Agar	Oxoid
Shigella agar Salmonella	Oxoid
Mueller- Hinton Agar	Oxoid
Blood agar medium	Oxoid
Triple Sugar iron agar	Oxoid

تحضير الاوساط الزراعية

حضرت الاوساط الزراعية وفق الشركة المصنعة لها وعقمت بالموصده (Autoclave) بدرجة حرارة 121م° وضغط 15 باوند\انج لمدة 15 دقيقة بعدها تركت لتبرد بدرجة حرارة 50-45 م° واستخدمت الاوساط لتنمية البكتيريا وتشخيصها :

1.1 الوسط المغذي الصلب Nutrient agar .

استخدم الوسط لغرض العزل الاولي ودراسة الخواص الزراعية والمظهرية للبكتيريا المعزولة

2.1 وسط الماكونكي MacConky agar

استخدم الوسط لعزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام وللكشف عن قابلية البكتيريا على تخمير سكر اللاكتوز

3.1 وسط اجار اليوريا Urea agar medium

حضر الوسط بإضافة 10 مليلتر من محلول اليوريا المحضر بتركيز 40% والمعقم بالترشيح الي 100مليلتر من الوسط الاساسي والمعقم والمبرد الي 50م° وبعد مجانسة الوسط وزع في انابيب اختبار نظيفة ومعقمة وترك ليتصلب بشكل مائل ، واستخدم هذا الوسط لتحري عن قابلية البكتيريا على انتاج انزيم اليوريز

4.1 وسط اجار الدم Blood agar medium -

حضر بإضافة 5% من دم الانسان الي الوسط الاساس base Blood agar المعقم بالموصده والمبرد الي 50م°،واستخدم الوسط لعزل البكتيريا والتحري عن قابليتها على تحلل الدم

5.1 وسط المانيتول المملح Mannitol salt agar

حضر الوسط حسب ارشادات الشركة المصنعة له وهي Oxoid والذي استخدم لتشخيص بكتريا Staphylococcus aureus

6.1 وسط السالمونيلا شغيلا اجار Salmonella : Shigella agar medium

استخدم لتشخيص بكتيريا Salmonella حيث تأخذ لون شفاف مع وجود لون اسود في المركز نتيجة تحلل مواد موجودة في الوسط ينتج عنها غاز H2O

1. 7. وسط مولر هنتون الصلب medium Mueller- Hinton Agar

استخدم لتنمية البكتيريا وحفظها، لاختبار التضاد و الذي حضر بحسب ارشادات الشركة المنتجة بإذابة 38 جرام في لتر من الماء المقطر، وعقم في الموصده على درجة حرارة 121م° لمدة 15دقيقة