

تأثير المستخلص المائي الحار لقشور الرمان على ظاهرة العج وانتاج الهيولاييسين في بكتيريا *Proteus mirabilis* ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية

صلاح سلمان زين العابدين¹ ، بنان حازم احمد²

قسم البيولوجي/ كلية العلوم/ جامعة كركوك

¹Mts.m1963@gmail.com , ²Biologia8888@yahoo.com

تاريخ قبول البحث: 2014 / 11 / 17

تاريخ استلام البحث: 2014 / 4 / 13

الملخص

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص *Proteus mirabilis* من نماذج مرضية مختلفة اذ تم الحصول على 25 عزلة تعود لـ *P.mirabilis* بنسبة (8.06%) من مجموع (310) عينة مأخوذة من المرضى الوافدين والراقدين في مستشفى كركوك العام ومستشفى ازادي التعليمي المصابين بالتهاب المجاري البولية و حالات الاسهال والتهابات الجهاز التناسلي الانثوي واخماج الجروح والحروق والاذن و من أعمار مختلفة ومن كلا الجنسين. شخضت بكتيريا *P. mirabilis* بالاعتماد على الفحوصات المظهرية والكيموحيوية المعتمدة فضلاً الى باستخدام نظام RapiD ONE ، اظهرت جميع العزلات حركة العج على سطح الاوساط الصلبة ،وسالبيتها لصبغة كرام وتباينها في انتاج انزيم الهيولاييسين التي تزيد من امراضيتها ، وبينت النتائج مقاومة معظم العزلات للمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Amoxicillin_Clavulanic acid و Azithromycin و Cefixime بينما كانت اغلب العزلات حساسة للمضادات Amikacin و Piprecillin و Chloramphenicol و Ciprofloxacin . تبين من نتائج الدراسة تباين حساسية جرثومة الاختبار للمستخلص المائي الحار لقشور الرمان في التخافيف (50 ، 25 ، 12.5) ملغم/امل ، كما وظهرت الدراسة تأثير هذه التخافيف على افطار النمو الانثيالي (Swarming) وعلى قابلية البكتيريا لانتاج انزيم الهيولاييسين. الكلمات الدالة : *Proteus mirabilis* ، قشور الرمان، الهيولاييسين، العج.

Effect of Hot water extract of pomegranate peel on swarming and hemolysin production in multiple antibiotics resistance *Proteus mirabilis*

Salah S. Zain alabidin¹ , Banan H. Ahmed²

Department of Biological / College of Science / University of Kirkuk

¹Mts.m1963@gmail.com , ²Biologia8888@yahoo.com

Received date: 13 / 4 / 2014

Accepted date: 17 / 11 / 2014

ABSTRACT

The study included isolation and identification of Proteus mirabilis from different clinical samples, as it was obtained 25 isolates belonging to P.mirabilis (8.06 %) of the total (310) samples taken from the outpatients' and inpatients in Kirkuk General Hospital and Azadi education hospital whom infected with urinary tract , diarrheagenital tract infections , wounds , burns and ear and of different ages and both gender. P. mirabilis diagnosed depending on morphological and biochemical tests as well as by using the Rapid ONE system . The results indicated that all isolates showed swarming on the surface of blood agar and was gram negative also the isolates showed variation in the production of hemolysin that increase the pathogenicity and the results showed resistance of most isolates to antibiotics Amoxillin and Ampicillin and Amoxillin _Clavulanic acid and Azithromycin and Cefixime, while most of the isolates were sensitive to Amikacine Piprecilline and Chloramphenicol and Ciprofloxacin. The results of this study showed sensitivity of P.merabilis to hot aqueous extracts of pomegranate peel in dilution (50.25 , 12.5)mg/ml , also the study showed the effect these dilutions on the diameters of (Swarming) and the ability of bacteria to produce hemolysin.

keywords : *Proteus merabilis Pomogranate peel Swarming , Hemolysin.*

1. المقدمة (Introduction)

تعد *P.mirabilis* من اهم الأنواع التابعة لجنس المتقلبات (*Proteus*) والذي يضم اربعة انواع ثلاثة منها ذات اهمية سريرية *P.mirabilis* و *P.vulgaris* و *P.penneri* اما النوع الرابع *P.myxofaciens* فإنه يعزل من يرقات العث وليس له تأثير ممرض للإنسان [1] *P.mirabilis* عصيات سالبة لصبغة كرام ، لاهوائية اختيارية ، سالبة لاختبار الاندول ، غير مخمرة لسكر اللاكتوز ، وهي من النبيت الطبيعي الموجود في الجهاز الهضمي للإنسان وبعض الحيوانات ، كما انها تتواجد في التربة والمياه الملوثة ، لها خاصية الانتشار على سطح الوسط الزراعي بأشكال متتالية متحدة المركز تسمى بالعج (Swarming) ، وتعد هذه البكتريا من ممرضات عدوى المستشفيات حيث تعزل من الجروح و التهابات المسالك البولية [2] وقرح الضغط (Pressure sores) وقيح الاذن ، والانتان الدموي [3] لقد حصى هذا النوع من البكتريا باهتمام الباحثين لما يملكه من عوامل ضراوة مهمة تجعله اكثر قدرة على احداث الاصابة [1] كأمتلاك الأنزيم المحلل لكريات الدم الحمراء [4] ونتاج انزيم اليوريز الذي يحلل اليوريا ويجعل الوسط قاعدي مما يشجع تكوين حصى الكلى [2] بالإضافة الى قابلية البكتريا لمقاومة العديد من المضادات الحيوية منها مقاومة مضادات بيتا_لاكتام من خلال انتاج انزيمات B-Lactamase التي تستهدف حلقة بيتا_لاكتام حيث تحطمها وتثبط عمل المضاد [1].

تعتبر النباتات الطبيعية مصدرا مهما للعديد من المواد الصيدلانية منذ القدم والى يومنا هذا يستخدمها الناس في علاج العديد من الامراض وذلك لأحتوائها على عدد كبير من المركبات ذات الفعالية الحيوية [5] ويعد الرمان واحدا من تلك النباتات الطبية وهو ثمار شجرة *Punica granatum* ويعود الى العائلة الرمانية موطنه الأصلي جنوب غرب اسيا ويزرع في معظم المناطق العربية خصوصا حوض البحر الابيض المتوسط والعراق وبلاد الشام [6] حيث يحتوي قشور الرمان على مادة قابضة تستعمل في حالات الاسهال وينفع عصيره في معالجة قروح الفم ووجع الأذن والمعدة وقشوره تحتوي قلويدات مهمة تستعمل في علاج الديدان الشريطية ، وان مستخلص قشور الرمان المائي له فعالية عالية في تثبيط البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام فضلا عن تأثيره ضد بعض انواع الفطريات الجلدية [7] فعليه استهدف البحث تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان المغلي على بكتريا *P.mirabilis* المعزولة من المرضى .

2.طرائق العمل (Experimental)

عزل وتشخيص *Proteus mirabilis*

تم الحصول على 25 عزلة التابعة لنوع *P.mirabilis* من نماذج مرضية مختلفة (التهابات المسالك البولية ، حروق ، جروح ، الاسهال ، التهابات الأذن) ، استخدمت الأوساط الغذائية البسيطة والتفريقية المجهزة من شركة Himedia laboratory ، اذ زرعت العينات مباشرة على وسط اكار الدم و اكار الماكونكي وحضنت عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة وعزلت المستعمرات غير المخمرة لسكر اللاكتوز على وسط ماکونكي والذي اظهرت حركة العج على وسط اكار الدم ، ثم اجريت العديد من الاختبارات الكيموحيوية على المستعمرات النامية لغرض تشخيصها استنادا الى [8] و [9] و [2] كما استخدم نظام (Rapid ONE) وفق ماجاء في تعليمات الشركة المصنعة (remel microbiology USA) لتأكيد تشخيص البكتريا .

اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية: استخدمت طريقة الأقراص كما ورد في [2]

جمع واعداد قشور الرمان:

تم الحصول على ثمار الرمان من الاسواق المحلية في مدينة كركوك ، فصلت القشور عن باقي اجزاء الثمرة ، ثم عقت القشور بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم بتركيز (1%) [10] ، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ونشفت بورق ناشف وجففت باستخدام فرن كهربائي Oven بدرجة حرارة 50 م° لمدة 48 ساعة ثم طحنت بأستخدام المطحنة الكهربائية الحصول على مسحوق ناعم وحفظت في علب بلاستيكية لحين الأستعمال.

تحضير المستخلص المائي الحار لقشور الرمان:

تم تحضير الخلاصة المائية لقشور ثمرة الرمان وذلك بأضافة 100 مل من الماء المقطر لكل 15 غم من مسحوق قشور الرمان ، ثم سخن المزيج لدرجة الغليان لمدة 15 دقيقة [11] ، ثم وضع في الحاضنة الهزازة لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 30 م° لغرض النقع ، تم رسب المحلول بأستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة ادقيقة لمدة 10

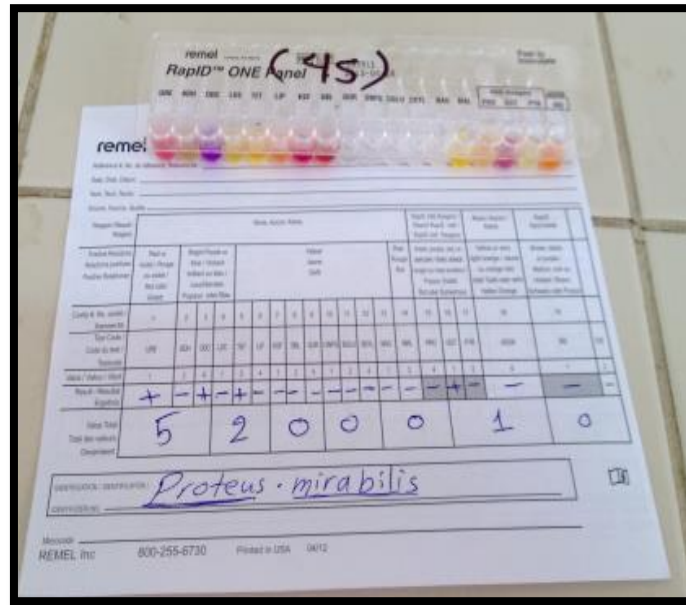
دقائق ثم رشح المحلول الراشح من خلال ورق الترشيح للتخلص من الجزيئات غير المترسبة ، وجفف الراشح في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 60 م ، وجمع المستخلص الناتج في علب وحفظت في درجة حرارة 4 م لحين الأستعمال .

اختبار حساسية الجرثومة لخالصة قشور الرمان :

انيب 1 غم من مسحوق قشرة الرمان المحضر في الفقرة السابقة في 10 مل من المرق المغذي للحصول على التركيز 100 ملغم/مل ، وحضرت منه بقية التراكيز وهي 50 ، 25 ، 12.5 ، 6.25 ملغم/مل، تم زرع كل عذلة في التراكيز المحضرة وحضنت 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م ، وبعد الحضانة تم اخذ Loop full من كل انبوية وزرع في وسط طبق حاوي على اكار الدم ، ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة ، تم الكشف عن وجود النمو او عدمه وكذلك قياس اقطار ال swarming في الاطباق الحاوية على النمو ، ومن خلاله تم تحديد التركيز المثبط الادنى للنمو MIC والتي تعددت باختلاف العزلات ، كما لوحظ تأثير مسحوق قشور الرمان على قابلية البكتريا لإنتاج الانزيم المحلل لكريات الدم الحمراء (هيموليسين) وذلك بزرع العزلات على وسط اكار الدم الحاوي على التركيز المثبط الادنى لمستخلص قشور الرمان.

3. النتائج والمناقشة (Results & Discussion)

عزل تشخيص *Proteus mirabilis* : عزلت 25 عذلة من *Proteus mirabilis* من زرع 310 عينة مأخوذة من المرضى الراقدين والمراجعين للمستشفى والتي مثلت (8.06%) من مجموع العينات المدروسة ، اذ تم التشخيص باستخدام الاختبارات الكيموحيوية بالإضافة الى تأكيد التشخيص باستخدام نظام (Rapid ONE) (الشكل 1). ان وجود هذه البكتيريا في العينات المرضية يعزى الى كونها تتواجد بنسبة كبيرة ضمن الفلورا الطبيعية المستوطنة في القناة المعوية للانسان وتعد من البكتيريا الانتهازية، اذ تتمكن من احداث امراضا مختلفة عند توفر الفرصة الملائمة لها [2] وهذه النتيجة مقارنة لما توصل اليه [4]الذي اشار الى عزل *P. mirabilis* بنسبة (10.4%) .



الشكل (1): التشخيص باستخدام نظام (Rapid ONE)

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (1) عزل *P.mirabilis* من عينات مرضية مختلفة اذ تم عزلها من حالات الاسهال والتهاب المجاري البولية واخماج الاذن وجروح العمليات والحروق واخماج جهاز التناسلي الانثوي

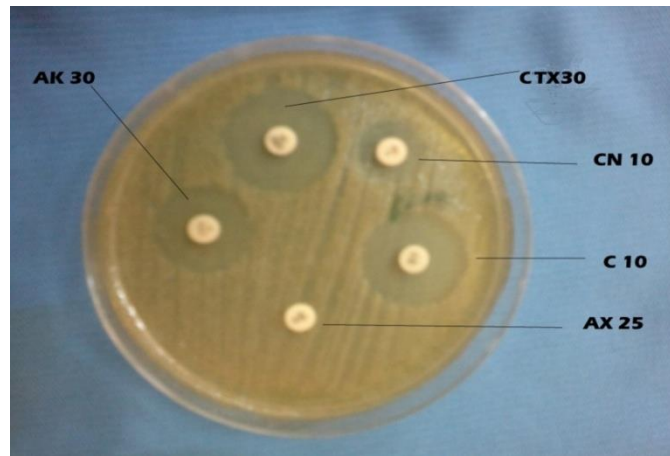
جدول (1): اعداد ونسب *P.mirabilis* المعزولة من نماذج مرضية مختلفة.

<i>Proteus mirabilis</i>		نوع العينة	
النسبة %	العدد		
36%	9	Urine الادرار	1
32%	8	stool الخروج	2
12%	3	Ear swape الأذن	3
8%	2	Wound الجروح	4
8%	22	Burns الحروق	5
4%	1	high cervical عنق الرحم	6
25		المجموع	

الحساسية للمضادات الحيوية :

تبين النتائج في الشكل (2) والجدول (2) اعداد ونسب العزلات الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية المشمولة في الدراسة بطريقة الانتشار وتم مقارنتها مع [12]. تشير المصادر الى ان مشكلة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية هي من المشاكل الصحية الخطيرة والجديرة بالاهتمام. ان لهذه المشكلة تأثيرات صحية ومادية كبيرة يعاني منها مرضى المستشفيات. وقد لوحظ في السنوات الاخيرة اكتساب السلالات الجرثومية لهذه المقاومة ضد المضادات الحيوية بسبب الاستعمال غير العلمي لهذه الادوية مما ساعد الجراثيم على تطوير وسائل مقاومتها لمثل هذه المضادات الحيوية [13] اذ اظهرت العزلات مقاومة عالية لمضادات البنسلينات فقد ابدت المقاومة للمضادين الحيويين Ampicillin و Amoxillin_Clavulanic acid بنسبة (88%) والمضاد Amoxillin بنسبة (96%) ، في حين كانت المقاومة للمضاد Piprecillin بنسبة (20%) و اظهرت العزلات المقاومة للمضاد Ceftazidim بنسبة (40%) والمضاد Cefotaxime بنسبة (68%) تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما اشار اليه [14] بمقاومة معظم عزلات *P.mirabilis* لمضادات البيتا_لاكتامن قد يعود السبب في مقاومة مضادات البيتا_لاكتام الى انتاج العزلات لانزيمات البيتا_لاكتاميز التي تعمل على كسر اصرة الامايد في حلقة البيتا_لاكتام الموجودة في المضاد فيصبح المضاد غير فعال بشكل Penecillonic acid في البنسلينات و Cephalosporinc acid في السيفالوسبورينات [15] كما قد تأتي المقاومة نتيجة تحويل مواقع الهدف للمضاد وهي (Penicillin-binding proteins) PBPs المخصصة لأرتباط هذه المضادات فيصبح المضاد غير فعال [16] ، وان كثرة تعاطي هذه المضادات بصورة غير صحيحة يؤدي الى ظهور سلالات مقاومة مع مرور الزمن، اذ اشار [17] الى استخدام مضادات البيتا_لاكتام في العديد من الاصابات المرضية كأخماج الاذن الوسطى والجلد والتهاب السحايا واصابات المجاري البولية والتسمم الدموي و اصابات الجهاز الهضمي وغيرها من الاصابات البكتيرية. اظهرت مضادات الامينوكلايكوسايد Aminoglycoside تباينا في تأثيرها على عزلات المتقلبات اذ كانت جميع العزلات حساسة للمضاد (Amikacin) وكانت مقاومة للمضاد Tobramycin بنسبة (44%) و للمضاد Gentamicin بنسبة (68%) ، تعتمد مقاومة الجراثيم لمضادات الامينوكلايكوسيدات على غياب مواقع الاستقبال على الرايبوسوم [18] او تحطيم العلاج بواسطة بعض الانزيمات التي تكون تحت سيطرة البلازميدات مثل Acetyl transferase و Phosphotransferase [19] او من خلال فقدان النفاذية للعلاج وغياب عملية النقل الفعال الى داخل الخلية والتي

تكون تحت سيطرة كروموسومية ، فضلا عن كون جميع مضادات هذه المجموعة لسوء الحظ له تأثيرات جانبية حادة منها فقدان السمع وتلف الكلية [13]. اظهرت النتائج مقاومة العزلات للمضاد الحيوي Chloramphenicol بنسبة (28%) ان مقاومة هذا المضاد الحيوي يعتمد على الاستئلة Acetylation بفعل الانزيم Chloramphenicol acetyl transferase وبالتالي تصبح غير فعالة وهي تعتمد على البلازميدات [20] على الرغم من الحساسية العالية لعزلات المتقلبات قيد الدراسة لهذا المضاد الا انه لا يوصف للمرضى عند توفر العلاج البديل لكونه ذات سمية عالية فهو يسبب فقر دم انحلاي (Hemolytic anemia) ومتلازمة الطفل الرمادي Gray baby syndrome [13]. بينت الدراسة مقاومة العزلات للمضاد Ciprofloxacin بنسبة مئوية (28%) ، ربما يعود سبب ظهور المقاومة لهذا المضاد في الدراسة الحالية إلى الاستخدام الواسع و العشوائي لهذا المضاد مما أدى إلى ظهور عتر مقاومة ، إذ إنه يستخدم في علاج حالات التجرثم الدموي وإصابات المسالك البولية والجهاز الهضمي والتهاب العظام والاصابات الجلدية فضلاً عن الإصابات الرئوية [17]. كما ان المقاومة كانت عالية ايضا بالنسبة للمضاد الحيوي (Azithromycin) التي بلغت (88%) ، ان هذه المضادات هي مركبات نصف مصنعة وهي مشتقة من الارثرومايسين والتي يتم مقاومته نتيجة افتقار البكتريا الى مستقبل مناسب للعلاج من خلال عملية Methylation of the rRNA التي تكون تحت سيطرة الكروموسوم او البلازميد [13]. ابدت (88%) من العزلات مقاومتها للمضاد الحيوي Cefixime ، اذ يحدث المقاومة لهذا المضاد بوجود عوامل عديدة منها الية الدفع النشط والتي تعمل على تقليل تراكم المضاد الحيوي داخل الخلية البكتيرية [21].



الشكل (2): اقطار تثبيط نمو البكتيريا *P. mirabilis* بالمليتر

الجدول(2): اعداد ونسب العزلات الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية.

النسبة المئوية %	عدد عزلات المقاومة	النسبة المئوية %	عدد عزلات الحساسة	Antibiotic	
96	24	4	1	Amoxillin (25mg)	1
88	22	12	3	Ampicillin (25)	2
88	22	12	3	Amoxillin_Clavulanic acid(30 mg)	3
44	11	56	14	Tobramycin (10mg)	4
0	0	100	25	Amikacin (30mg)	5
20	5	80	20	Piprecillin	6
68	17	32	8	Gentamicin (10mg)	7
68	17	32	8	Cefotaxim (30 mg)	8
40	10	60	15	Ceftazidime (30mg)	9
28	7	72	18	Chloramphenicol (10mg)	10
28	7	72	18	Ciprofloxacin (5mg)	11
88	22	12	3	Azithromycin (15mg)	12
88	22	12	3	Cefixime (5mg)	13

اختبار حساسية العزلات للمستخلص المائي الحار لقشور الرمان:

تم اجراء اختبار الحساسية لـ 6 عزلات قيد الدراسة اذ اظهرت النتائج تأثير المستخلص المائي المغلي لقشور الرمان

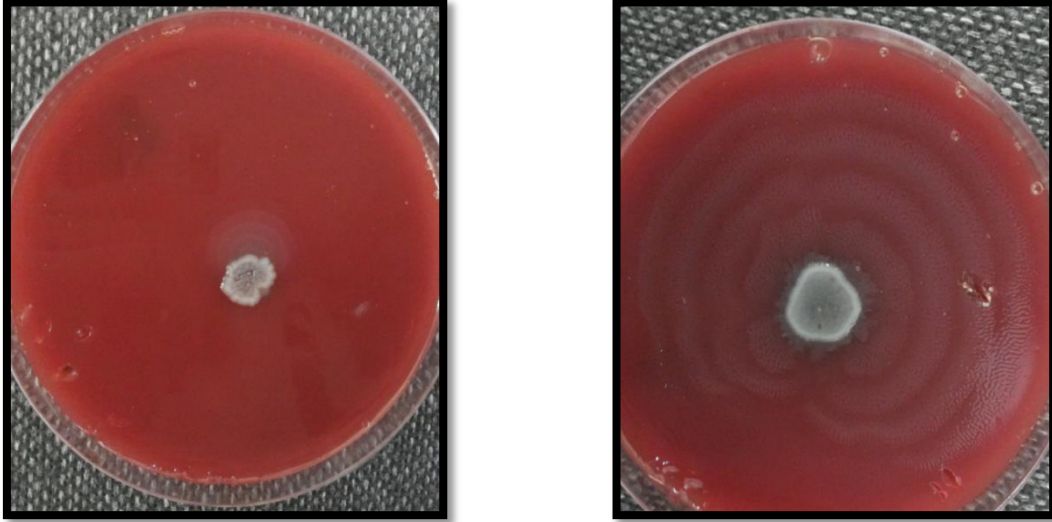
على نمو *Proteus mirabilis* في عدة تراكيز كما موضح في الجدول(3).

جدول(3): تأثير مستخلص قشور الرمان على نمو *P. mirabilis*

التراكيز	العزلات	100 ملغم امل	50 ملغم امل	25 ملغم امل	12,5 ملغم امل	6,25 ملغم امل
1		-	21 ملم	74 ملم	+	+
2		-	-	-	70 ملم	+
3		-	55 ملم	+	+	+
4		-	-	50 ملم	66 ملم	+
5		-	-	-	23 ملم	+
6		-	-	75 ملم	+	+

(-) لا توجد نمو (+) توجد نمو تغطي الطبق بأكمله

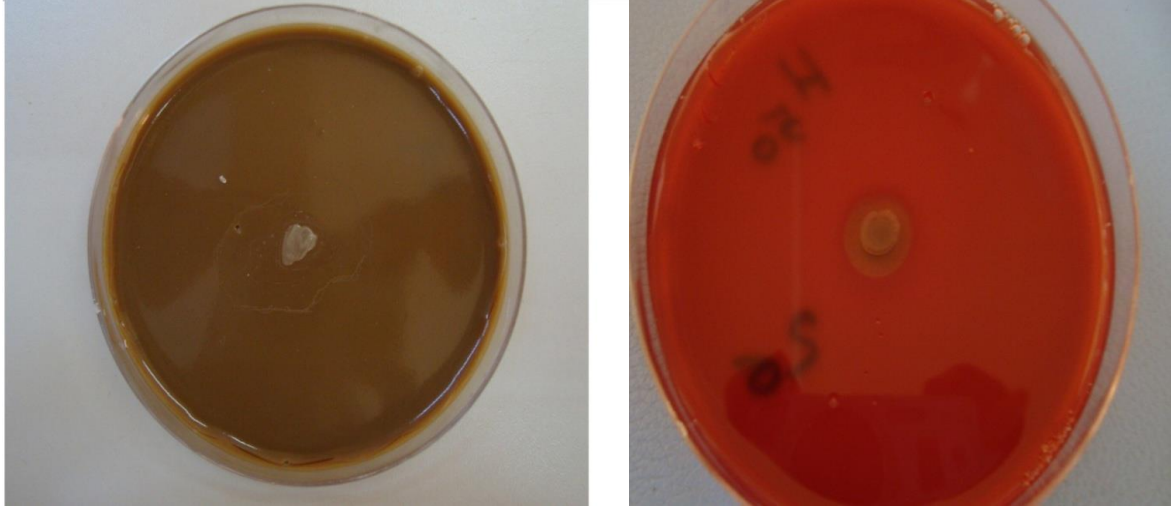
اظهرت الدراسة اختلاف في التركيز المثبط الادنى للنمو بأختلاف العزلات ، فبعض العزلات تم تثبيط نموها بتركيز 100 ملغم/امل وبعضها بتركيز 50 او 25 ملغم امل ، ولوحظ تأثير المستخلص على ظاهرة العج في التركيز الذي يلي التركيز المثبط الادنى للنمو (Sub MIC) حيث ظهرت حركة العج بأقطار صغيرة لاتصل الى نهاية الطبق كما في الشكل (3) (A و B).



الشكل(3): اقطار تثبيط النمو بالمليتر

A : حركة العج يغطي الطبق قبل المعاملة بالمستخلص **B** : تثبيط العج بعد المعاملة بالمستخلص

من اجل ملاحظة تأثير مستخلص الرمان على قابلية البكتريا لانتاج انزيم الهيموليسين تم الكشف عن انتاج الانزيم بزرع العزلات على وسط اكار الدم المضاف اليه مادة اكار بنسبة 3% (لايقاف العج) ولوحظ وجود مناطق التحلل حول المستعمرة ، ثم تم زرع العزلات على وسط اكار الدم المضاف اليه مستخلص قشور الرمان بتركيز الاقل من تركيز المثبط للنمو (Sub MIC) ولوحظ عدم وجود انتاج للانزيم هيموليسين كما في الشكل(4).



(B)

(A)

الشكل (4) A : انتاج الهيموليسين قبل المعاملة بمستخلص قشور الرمان.

B : عدم انتاج الهيموليسين بعد المعاملة بمستخلص قشور الرمان.

اظهرت نتائج الدراسة تأثير التراكيز المختلفة للمستخلص المائي الحار لقشور الرمان على نمو *P. mirabilis* وتأثيرها على حركة العج وانتاج انزيم الهيموليسين . كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تثبيط واضح لهذه الجرثومة بفعل المستخلص وذلك لما يحتويه من مواد مضادة لنمو البكتيري وهذا يتفق مع دراسات اخرى في هذا المجال [11] وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما اشار اليه [22] بتأثير المستخلصات المائية الحارة على بعض البكتريا المعزولة من المصابين بالتهاب البلعوم و اللوزتين والجروح وبعض الالتهابات الجلدية والتهاب القصبات ، حيث شملت البكتريا المعزولة من تلك الحالات (*Staphylococcus aureus* ، *Micrococcus spp.* ، *Staphylococcus epidermidis* ، *Streptococcus pneumoniae* ، *Streptococcus pyogenes*) اذ اظهرت جميعها حساسية لمستخلصات قشور الرمان المستخدمة وبدرجات تأثير مختلفة من نوع الى اخر ، كما ذكر [23] بأن المستخلص المائي الحار لقشور الرمان له تأثير مثبت لنمو *E.coli* و *P.aeruginosa* ، ويعزى السبب الرئيسي لهذه الفعالية لاحتواء المستخلص على مدى واسع من مركبات الايض الثانوية الفعالة منها (الكلاوسيدات ، التانينات ، الزيوت الطيارة، الفلافونات ، الصابونينات ، متعدد الفينول ، الراتنجيات ، الفلويديات) فالفلونيدات مثلا تعزى فعاليتها تجاه البكتريا لقابليتها لتكوين مركب معقد مع بروتينات الخلية الذائبة وتتركب مع جدار الخلوي لبكتريا وكذلك الحال مع الفلويديات حيث تعمل على التداخل مع DNA الخلية ،

بينما تعمل التانينات والمركبات الفينولية على تثبيط عمل الانزيمات والبروتينات الناقلة اما الصابونينات تتداخل مع الأغشية الخلوية وبالاخص مع ستيرولات الغشاء الخلوي وتعمل على تحليل الخلايا الحية [24] و [25].

المصادر (References)

- [1] رغد حربي .العزاوي و رباب كزار و الاء رحيم . *دراسة التأثير التثبيطي وتقدير كمية البروتين والتنقية الجزئية للبروتسين المستخلص من بكتريا p.mirabilis المعزولة من عينة الادرار* ، مجلة جامعة النهرين . مجلد 14 . (2011). (45-40).
- [2] Michael J.Leboffe, Burton E.Pierce *Aphotographic atlas of the microbiology laboratory* , 4th Edition , (2011) united states – America .153-154.
- [3] جاي دوقلاس، سلية. *مذكرات في علم البكتريا الطبي*. (الطبعة الخامسة) .(2005) الترجمة: حنان. احمد .حبيب الله باباي، ؛ عبدالمجيد. محمد . كمال ، مكتبة الملك فهد الوطنية للطباعة والنشر المملكة العربية السعودية.
- [4] افاق رشيد سلمان . *فوعة بعض انواع المتقلبات المعزولة من خمج الاذن الوسطى في بعقوبة وضواحيها* . جامعة ديالى (2008) .ديالى.العراق
- [5] عبير عبد الغني محمد الجميلي، *تأثير مستخلص قشور الرمان على تثبيط نمو بعض الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام* مجلة جامعة كركوك للدراسات العلمية.7. (2012). 40-30..
- [6] اسامة صالح مهدي الزبيدي و هدى عبدالهادي علي و علي محمد غازي المحنة. *مجلة قادسية للعلوم الصرفة. فاعلية خلاصات قشور ثمرة الرمان على نمو بعض مسببات الاسهال الجرثومية عند الاطفال*.15.(2010) . 7-1
- [7] عهود مزاحم شاکر الرفاعي . *تشخيص الطفيلي بويغات الخبيثة باستخدام اختبار الاليزا وصبغة كاريول فوكسين المحورة ودراسة تأثير مستخلص نباتي الزعتر والرمان على الطفيلي* جامعة تكريت.(2006) . تكريت. العراق(رسالة ماجستير) ، علوم الحياة ، 31-32.

- [8] A. Morella, Josephine; Granato , A. paul ; Mizer , Helen eckel (2003)
laboratory manual and work book in microbiology application to patien care (7th Edition)
- [9] J. Vandepitte and J. Verhaegen K. Engbaek. ; rohner, P P. Rohner. ; P. Piot. C.
C. Heuck. *basic laboratory procedures in clinical bacteriology* , 2nd Edition , (2003).
world health organization geneva.51
- [10] ناهدة مهدي صالح , صبا باقر الجبوري تقييم كفاءة مسحوق قشور الرمان والبكتريا *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر *aphanidermatum Pythium* المسبب لمرض موت البادرات في الخيار ،
المجلة العراقية للعلوم ، مجلد 54، (2013) العدد 1 ، ص 56.
- [11] عباس ياسين حسن و عباس عبود فرحان، و ماجد محمد محمود ، دراسة تأثير المستخلص المائي لقشرة ثمار
الرمان *Punica granatumL.* على البكتريا المعزولة من مرضى إلتهاب اللوزتين في محافظة ديالى مجلة الفتح
(2006)العدد السادس والعشرون 63-72.
- [12] National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCL) (2007). *The performance standard for antimicrobial susceptibilit testing methods*.Vol.27(1).USA.
- [13] محمد فرج ،المرجاني ، المضادات الحيوية " المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية" ، الطبعة الاولى . (2011)
عمان ، دار دجلة.
- [14] رنا خالد الطريا ، تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو جرثومتي *Proteus mirabilis* و
Pseudomonas aeruginosa المعزولتين من مناطق مختلفة من جسم الانسان ،جامعة الموصل. (2002)
.رسالة ماجستير ، موصل – كلية التربية .
- [15] S. M Drawz ,. and R. A Bonomo, three decades of β – lactamase inhibitors clinical
microbiology reviews. 23 (2010) 1. pp. 160–201.



- [16] D. E .Nelson. ; A. S. Ghosh ,. ; A. L. Paulson ,. and K. D. Young ,)
Contribution of Membrane–Binding and Enzymatic Domains of Penicillin Binding Protein 5 to Maintenance of Uniform Cellular Morphology of Escherichia coli. journal of bacteriology , 184. (2002) no 13.pp.3630–3639.
- [17] Z. M.Musawi , and A. A. Beer, ***Iraqi anti–infective drug guide*** . first edition, (2010) .
Iraqi national library , Baghdad,pp.45.
- [18] S. M. Hamed , K. M.; Aboshanab ,; W. F. Elkhatib , and M. S. Ashour,
Aminoglycoside resistance patterns of certain gram negative uropathogens recovered from hospitalized Egyptian patient . British Microbiology Research Journal. 3. (2013) no 4, 678–691.
- [19] S. B. Vakulenko , and S. Mobashery , ***versatility of aminoglycosides and prospects for their future.*** Microbiology Reviews 18 (2003). 3. 430–450.
- [20] J. A. Tharian ,; R. Padmapriya , and T.Thirunalasundar. ***Chloramphenicol acetyl transferase producing bacteria*** , pelagia research library , 4. (2013). : (4) , pp. 413–419.
- [21] Y.–Chen , ***Structural and Biochemical Studies of Antibiotic Resistance and Ribosomal Frameshifting,*** Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology. (2013) , uppsals university, pp. 28.
- [22] S. S. Shaokat, and H. A. Hameed,. ; ***Evaluation of anti bacterial activity of punica granatum peels extracts, on growth of gram– positive bacteria isolated from clinical samples General commission for Industrial Research.*** 5. (2005). 1, pp. 13–24.

[23] J. A. Khan, and , S. Hanee. *antibacterial properties of punica granatum peels.* , International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical technology, (2011) volume 2, issue 3.

[24] اشواق طالب حميد، و حماد فرحان ،نواف و احمد محمد تركي، *الفعالية التثبيطية للمستخلصات قشور الرمان punica granatum تجاه البكتريا المرضية المعزولة من الامعاء والمعدة في الانسان* .مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة . مجلد الثالث(2009) 56-52

[25] حسين علي فرحان ، *تأثير مستخلصات الميثانولية الخام لبعض النباتات ضد بعض البكتريا السالبة الممرضة* ، مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية مجلد الرابع.(2010).89-93

المؤلف

صلاح سلمان زين العابدين: بكالوريوس علوم الحياة 1984-1985 جامعة صلاح الدين ، ماجستير الاحياء المجهرية 1991 جامعة صلاح الدين ، دكتوراه الاحياء المجهرية 2003 جامعة الانبار، استاذ مساعد 2005 جامعة كركوك.

