التأثير التثبيطي لمستخلصات نبات الغافث و مكوناتها الفعالة في جرثومتي Staphylococcus aureus و Pseudomonas aeruginosa المعزولتين من الأشخاص المصابين بخمج الأذن الخارجية

خضر داؤد سليمان و حسن فيصل المولى

قسم علوم الحياة:كلية التربية:جامعة الموصل

تاريخ الاستلام	تاريخ القبول
2006/5/14	2006/7/17

Abstract:

This study includes the isolation and identification of **Staphylococcus aureus** and **Pseudomonas aeruginosa** from Otitis Externa patients. Two hundred samples were collected, (191) samples showed a positive bacterial culture, this included (82) specimens of **Ps .aeruginosa** with percentage (41%) and (72) specimens of **Staph. aureus** with percentage (36%).

After detecting the inhibitory effect of plant extracts and active components on the bacteria under study, the results showed high inhibitory effect of aqueous and ethanolic extracts on **Staph. aureus**, while quercetrin and catechin showed weak effect on **Staph. aureus**. **Ps. aeruginosa** showed resistance against aqueous, ethanolic and Quercetrin, while it showed weak sensitivity against Catechin.

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of aqueous extract against **Staph. aureus** was (0.5) mg|cm^3, while (MIC) of Catechin against **Ps. aeruginosa** was (2) mg|cm^3.

الخلاصة:

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص جرثومتي **Pseudomonas aeruginosa**, **Staphylococcus aureus** من الأشخاص المصابين بالتهاب الأذن الخارجية Otitis Externa إذ بلغ عدد العينات (200) عينة , أعطت (191) عينة منها نموا بكتيريا موجباً ضمت (82) عزلة تمثل جرثومة **Ps. aeruginosa** و(72) عزلة تمثل جرثومة **Staph. aureus** و بنسبة (41%) و (36%) على التوالي .

بعد التحري عن التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية والمواد الفعالة في الجرثومتين قيد الدراسة، أظهرت النتائج تأثيرا تثبيطيا عاليا نسبيا للمستخلص المائي والايثانولي في جرثومة **Staph. aureus** في حين أظهرت مادتا Catechin و Quercetrin تأثيراً ضعيفاً نسبياً في جرثومة **Staph. aureus** مقارنة بالمستخلصات النباتية.

لقد أبدت الجرثومة **Ps. aeruginosa** مقاومة تامة ضد المستخلص المائي والمستخلص الايثانولي ومادة Quercetrin في حين أظهرت حساسية ضعيفة ضد مادة catechin.

واظهر اختبار تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimum Iinhibitory Concentration أن المستخلص المائي لنبات الغافث كان مساويا لـ(0.5) ملغم/سم^3 في جرثومة **Staph. aureus** في حين كان الـ(MIC) لمادة Catechin في جرثومة **Ps. aeruginosa** مساويا لـ (2) ملغم/سم^3.

المقدمة: Introduction

إن التهاب الأذن الخارجية من الأمراض الشائعة المتسببة عن الأحياء المجهرية بضمنها البكتريا والفطريات والفايروسات، إلا أن الدراسات تؤكد أن الغالبية الساحقة من الإصابات تتمثل بالجراثيم المرضية الانتهازية، إذ لوحظ أن جرثومة **Pseudomonas aeruginosa** هي المسبب الخطير والأكثر شيوعاً في هذا الالتهاب تليها جرثومة **Staphylococcus** بنوعيها الموجب لاختبار Coagulase والسالب له . كما أن هناك حالات سجلت لالتهاب الأذن الخارجية متسببة عن جراثيم المكورات السبحية المقيحة **Streptococcus pyogenes** و **Heamophillus influenzae** وهما من مضاعفات اخماج الجهاز التنفسي العلوي Upper respiratory infection , هذا فضلاً عن إصابة الاطفال بخمج الأذن الخارجية المتسبب عن جراثيم العائلة المعوية Enterobacteriaceae مثل **Escherichia coli , Proteus vulgaris** بسبب تلوث الأيدي بالجراثيم ومن ثم تلوث قناة الأذن نتيجة إدخال الاطفال أصابعهم الملوثة إلى داخل الأذن لغرض حك الأذن وتنظيفها (2،1) .

لعل من أهم الأسباب التي دفعت العلماء والباحثين إلى التوجه نحو دراسة النباتات الطبية في الحقبة الأخيرة فشل العديد من المضادات الحيوية في علاج الأمراض التي تسببها الجراثيم، إذ أبدت هذه الجراثيم مقاومة تجاه المضادات الحيوية بعد سنوات من اكتشاف المضاد، كما أن المضادات الحيوية المصنعة لها أعراض جانبية إذ ثبت

أن التعاطي المفرط للمضادات يؤدي إلى حصول حالات إسهال وفرط الحساسية (3,4).

لقد اثبت العلماء والباحثون احتواء النباتات الطبية على مواد كيمياوية طبيعية مثل القلويدات Alkaloids والتانينات Tannins والزيوت الأساسية والطيارة Essential & volitle oils والفلافونويدات Flavonoids والراتنجات Resin والاصماغ Gum والفينولات Phenols (3).

يعود نبات الغافث **Agrimonia eupatoria** إلى عائلة الورديات Rosaceae ، أما الاسم الإنكليزي فهو Agrimony أو Liverwort وهي عبارة عن عشبة معمرة (أكثر من سنتين) تزهر من حزيران إلى آب على سفوح الجبال أما في قطرنا العزيز فهي تنتشر في مناطق راوندوز واربيل والسليمانية وبعقوبة.

الأوراق رمحية كثيرة التسنن خضراء داكنة أما الأزهار فتكون كأسية صفراء ذهبية وغالباً ما تجمع هذه الأعشاب برياً لأنه يتعذر إنبات بذورها (5, 6).

يتكون الغافث بالدرجة الأساس من الفلافونويدات Flavonoids مثل Catechin و Quercetrin و Eupatorin و Phytosterin كما تحتوي على تانينات (5%) و اصماغ Gum وأحماض مثل حامض الستريك Citric acid وحامض النيكوتينيك Nicotinic acid وحامض التانيك Tannic acid وقد تحتوي على زيوت طيارة Volite oils (5 ,7)

لقد عرفت الفلافونويدات على أنها مواد مضادة للأحياء المجهرية Antimicrobial agents ومضادة للأكسدة Antioxidant ويرى عدد من الباحثين أن فعاليتها التثبيطية ناتجة عن قدرتها على التداخل مع البروتينات الخلوية وبروتينات الجدار الخلوي للبكتريا وكما أن في إمكانها أن تمزق الغشاء السايتوبلازمي وتنفذ من خلاله (8,9,10).

ويعد الـ Quercetrin و Catechin من الفلافونويدات ذات الفعالية التثبيطية العالية ضد الفايروسات والبكتريا (11),

المواد وطرائق العمل Materials and methods

جمع وتصنيف النباتات المستخدمة في الدراسة:

جمع نبات الغافث **Agrimonia eupatoria** من شمال العراق من راوندوز والسليمانية واربيل إذ انه ينمو برياً على سفوح الجبال، وتم التحقق من نوعه في قسم علوم

الحياة / كلية العلوم/ جامعة الموصل ثم غسل جيداً بالماء المقطر وجفف في ظروف الظلام بعيداً عن الرطوبة وخزن في أكياس ورقية جافة إلى حين استخدامها.

العزلات الجرثومية:

جمعت (200) مسحة من المرضى المصابين بالتهاب الأذن الخارجية Otitis Externaمن المراجعين لاستشارية الأنف، الأذن، الحنجرة في مستشفى السلام العام وللمدة ما بين (2004/8/1) و (2004/11/1) وأخذت العينات باستخدام ممسحات قطنية معقمة Cotton swabs واخذ مسحة من منطقة الإصابة مع ملاحظة عدم لمس الجلد المحيط بقناة الأذن لتفادي التداخل مع النبيت الطبيعي للجلد Normal flora، و نقلت العينات باستخدام وسط نقيع المخ والقلب Brain Heart Infusion Broth بوصفه وسطاً ناقلاً للعينات بعد تحضينها في مختبرات المستشفى مدة 2 – 3 ساعات إلى حين إيصالها إلى المختبرات.

وقد اعتمد على الصفات المز رعية والفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية لتشخيص العزلات.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Sensitivity of antibiotics test

اجري اختبار الحساسية لـ (10) أنواع من المضادات الحيوية المجهزة من الشركة العامة للأدوية والمستحضرات الطبية / سامراء وشركة (Oxoid)وكما في الجدول (1)، إذ اتبعت طريقة Bauer وآخرون (12)

الجدول (1) يبين تركيز المضاد الحيوي لكل قرص من المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة

المضاد	التركيز	المختصر
Ampicillin	10 µg/disc	AP
Cephalosporin	5 µg/disc	CP
Gentamycin	10 µg/disc	GN
Amoxicillin	25 µg/disc	Ax
Chloramphenicol	30 µg/disc	Cm
Streptomycin	10 µg/disc	Sm
Carbincillin	100 µg/disc	Car
Vancomycin	30 µg/disc	Vm
Erythromycin	15 µg/disc	Er
Trimethoprim	5 µg/disc	Tm

تحضير المستخلصات النباتية:

1. تحضير المستخلصات المائية: Preparation of water extract

اعتمدت طريقة Riose وآخرون (13) في تحضير المستخلص المائي، إذ سحقت عينة النبات بوساطة جهاز طحن كهربائي ووزن (40) غم من المسحوق النباتي Plant powder ومزجه مع (160) سم^3 من الماء المقطر المعقم بنسبة (1 : 4) وزن : حجم، ثم مزج النموذج باستخدام جهاز سحق Blender و رشح المستخلص باستخدام قطع من الشاش وعقم المستخلص بعد الحصول عليه باستخدام المرشحات الغشائية

2. تحضير المستخلصات الكحولية الخام:

Preparation of crude ethanolic extracts

اتبعت طريقة Grand وآخرون (14) في تحضير المستخلص الايثانولي المحورة عن الطريقة الأساسية للباحث Verporte وآخرون (15) وذلك بمزج(40) غم من المسحوق النباتي في (400) سم^3 من كحول الايثانول بتركيز (95%) وتم التخلص من الايثانول باستخدام جهاز المبخر الدوار ومن ثم عقم المستخلص بطريقة البسترة بدرجة 62 $^{\circ}$م مدة 10 دقائق.

استخلاص الفلافونويدات من نبات الغافث:

Extraction of Flavonoids from Agrimony

اعتمدت طريقة الباحث Bate-Smith (16) والباحث Harborne (17) إذ عومل وزن معين من المسحوق النباتي بحامض الهايدروكلوريك HCl (2M) والتسخين بحمام مائي بدرجة (100)$^{\circ}$م ، ثم أضيف الايثايل استيت Ethyle acetate للتخلص من الحامض والحصول على مستخلص ذي لون احمر إلى اصفر ذهبي، وتم التخلص من المذيب بجهاز المبخر الدوار فنحصل على طبقة سميكة من المستخلص تعامل بالايثانول، وتفصل مكونات المستخلص باستخدام عمود الفصل المعبئ ببلورات هلام السيليكا Silica gel من النوع (**Mesh size** 120 – 60) ثم يشبع الهلام بالمذيب Ethyle acetate ثم يوضع المستخلص فوق الهلام ويبدأ الفصل باستخدام المذيبات على التوالي n-hexan, ethyle acetate واخيراً Ethyle acetate : n-hexan، ثم Methanol فتفصل(8) مستخلصات Fractions ثم يكشف عنها بتقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (18).

الكشف عن الفلافونويدات باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة:

Thin Layer Chromatography (TLC)

تم الكشف عن الفلافونويدات (Catechin, Quercetrin) بتقنية (TLC) وكما يأتي :

1. الكشف عن مادة Quercetrin:

استخدمت صفائح هلام السيليكا Silica gel المجهزة من شركة (Merck) وبسمك (0.25) ملم بالأبعاد (20 × 20) سم، وضعت البقع Spots على احد طرفي اللوح على خط وهمي حدد بوصفه نقطة بداية وذلك باستخدام الأنبوبة الشعرية Capillary tube ووضع اللوح داخل الوعاء Tank الحاوي لنظام المحلول Solvent system (n-Butanol : acetic acid : water) وبنسبة (5 : 1 : 4) عمودياً بما يكون طرف اللوح الحاوي للبقعة معه ملامساً لنظام المحلول.

بعد اكتمال صعود محلول الفصل إلى مسافة (13) سم ,يرفع اللوح من الحاوية ويترك بصورة أفقية ليجف بدرجة حرارة الغرفة، يرش اللوح بكاشف (Vanillin-p-toluenesulphonic acid) ويسخن بدرجة حرارة (100)°م مدة (10) دقائق، تلاحظ البقعة المتكونة من المادة الفعالة Quercetrin (17,19).

2. الكشف عن مادة Catechin:

اتبعت نفس خطوات الفقرة أعلاه ولكن تم رش اللوح بكاشف (P-Dimethylaminobenzaldehyde) وسخن بدرجة حرارة (100)°م مدة (10) دقائق (8,19).

التشخيص الوصفي للفلافونويدات:

قيست سرعة جريان المادة Rate of flow على اللوح (TLC) على أساس أن المسافة التي قطعتها العينة مقسومة على المسافة التي قطعها محلول الفصل تساوي سرعة جريان المادة وكما في المعادلة الآتية (17):

$$\text{معدل سرعة جريان المادة} = \frac{\text{المسافة التي قطعتها المادة من نقطة البداية}}{\text{المسافة التي قطعها المحلول من نقطة البداية}}$$

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة:

اعتمدت طريقة الباحث Bauer وآخرون (12) إذ نقل (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي المخفف إلى وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ونُشر على سطح الوسط على نحو متجانس وحضنت مدة (30) دقيقة وبدرجة حرارة (37)°م لغرض التشرب. في هذه الأثناء تعد الأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة إذ تحضر أقراص من ورق ترشيح نوع (Watmann No. 1) وبقطر (6) ملم وإضافة (0.1) سم^3 من كل تركيز (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25، 3.125) ملغم/سم^3 من المستخلصات والمكونات الفعالة إلى قنينة حاوية لـ (10) أقراص معقمة (20).

ثم تثبت الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة بوساطة ملقط معقم على وسط الاكار المغذي وتحضن بدرجة حرارة (37)°م مدة (14 – 16) ساعة ,تقاس منطقة التثبيط أو حزام التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة وتسجل النتائج (21).

تحديد التركيز المثبط الأدنى

Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

حدد التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية والمواد الفعالة المفصولة وذلك باستخدام اختبار العكارة إذ حضرت التراكيز (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25، 3.125) ملغم/سم^3 من كل مستخلص والمكونات الفعالة ، وأضيف (0.1) سم^3 من كل تركيز إلى أنبوبة حاوية لـ (9.8) سم^3 من المرق المغذي المعقم ولقح بـ (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي بتركيز (10^8) خلية/سم^3 وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة (37)°م مدة (14 – 18) ساعة ثم قيست العكارة باستخدام جهاز المطياف الضوئي وبالمقارنة مع عينة السيطرة المكونة من (9.8) سم^3 من المرق المغذي و (0.1) سم^3 من المذيب المستخدم لإذابة المستخلص أو المكونات الفعالة و (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي بتركيز (10^8) خلية/سم^3 (22).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

جاءت نتائج الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية مطابقة لما ورد في أنظمة التصنيف المعتمدة (23)، إذ أعطت (191) عينة نمواً بكتيرياً أي بنسبة (95.5%) ووجد أن (82) عزلة كانت تمثل جرثومة **Ps. aeruginosa** و (72) عزلة كانت تمثل جرثومة **Staph. aureus** أي بنسبة (41%) و (36%) على التوالي. وقد أهملت العزلات التي لا تمثل الجرثومتين المذكورتين قيد الدراسة.

أما فيما يتعلق باختبار الحساسية للمضادات الحيوية فقد أظهرت جرثومة **Ps. aeruginosa** مقاومة بنسبة (100%) للمضادات الحيوية (Erythromycin، Ampicillin، Trimethoprim، Chloramphenicol، Cephalosporin، Amoxicillin، Vancomycin) في حين أظهرت حساسية تجاه كل من المضادين Gentamycin و Streptomycin وبنسبة (75%)، أما المضاد الحيوي Carbencillin فقد أظهرت الجرثومة حساسية تجاهه بنسبة (63%) أما جرثومة **Staph. aureus** فقد ظهر أنها مقاومة للمضادات الحيوية (Erythromycin، Trimethoprim، Chloramphenicol، Amoxicillin) وبنسبة (100%) في حين أنها أبدت مقاومة للمضادين الحيويين Ampicillin و Cephalosporin وبنسبة (77%) و (79%) على التوالي.

لقد أبدت الجرثومة **Staph. aureus** حساسية بنسبة (100%) للمضادين الحيويين Streptomycin و Gentamycin في حين أنها أبدت حساسية للمضادين الحيويين Carbencillin و Vancomycin بنسبة (86%) و (40%) على التوالي .

لقد أعتمد في تحديد تأثير المستخلصات النباتية ومقارنتها بالمضادات الحيوية حسب ما ورد في توصيات منظمة الصحة العالمية (24) إذ انتخبت ثلاثة مضادات حيوية أبدت الجراثيم حساسية تجاهها وهي (Carbencillin, Streptomycin , Gentamycin).

اظهر المستخلص المائي لنبات الغافث تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد جرثومة **Staph. aureus** مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية، أما المستخلص الايثانولي فقد أبدى فعالية تثبيطية جيدة مقارنة بالمضادين الحيويين Gentamycin و Streptomycin وفعالية عالية مقارنة بالمضاد Carbencillin وكما موضح في الصورة (1و2) والجدول (2).

لقد قاومت جرثومة **Ps. aeruginosa** المستخلصات المائية والعضوية لنبات الغافث تماماً بنسبة (100%).

لقد جاءت النتائج في أعلاه متفقة مع دراسات عدة، كدراسة Alcaraz وآخرون (25) الذين اختبروا (18) نوعاً من الفلافونويدات المفصولة من نباتات متنوعة منها نبات الغافث وبينوا أن الفلافونويدات تمتلك فعالية مضادة لجرثومة **Staph. aureus** ولاسيما السلالات المقاومة لمضاد المثيسيلين (MRSA) وقد تفاوتت الفعالية بين العالي والمتوسط والواطئ كما بينوا إمكان إدخال هذه الفلافونويدات في صناعة الأدوية المضادة لجرثومة **Staph. aureus** (Antistaphalococcal therapy).

كما اتفقت النتائج مع دراسة Yasunaka وآخرون (26) والتي بينت تأثير (22) نوعاً نباتياً في المكسيك وبضمنه نبات الغافث ضد الجراثيم، إذ كان المستخلص المائي للنبات ذا تأثير تثبيطي عال ضد جرثومة **Staph. aureus** وتأثير واطئ ضد جرثومة **E. coil**.

أما الفلافونويدات Flavonoids المفصولة من نبات الغافث فقد أظهرت مادة Quercetrin تأثيراً تثبيطياً معتدلاً ضد جرثومة **Staph. aureus** مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية، أما مادة Catechin فقد كانت ذات فعالية تثبيطية معتدلة ضد جرثومة **Staph. aureus** مقارنة بالمضادات الحيوية القياسيةوكما موضح في الصورة (3و4).وقد يعود انخفاض فعالية الفلافونويدات إلى فقدان ظاهرة التآزر Synergism بين المواد الفعالة فقد ذكر Cowan (3) أن المواد الفعالة الموجودة في النبات تعمل متعاونة فيما بينها على إظهار الفعالية التثبيطية ضد الجراثيم.

أما فيما يخص جرثومة **Ps. aeruginosa** فقد أبدت مقاومة ضد مادة Quercetrin في حين كانت ضعيفة الحساسية ضد مادة Catechin مقارنة بالمضادات الحيوية القياسيةوكما موضح في الصورة (5)، إن تأثير المادة Catechin في الجرثومة قد يدل على قدرتها التثبيطية على نحو منفصل في حين لم تؤثر في الجرثومة حين كانت ضمن النبات وهذا يفسر ظاهرة التضاد Antagonism.لقد جاءت النتائج في أعلاه مطابقة للعديد من البحوث، فقد اثبت Aqil وآخرون (27) أن النباتات التي تحتوي على نسبة عالية من الفلافونويدات تثبط جرثومة **Staph. aureus** بنوعيها المقاوم والحساس للمضاد المثيسيلين (MSSA & MRSA) في حين أنها لا تؤثر في الجراثيم السالبة لصبغة كرام.

عزى Xu وآخرون (28) تأثير نبات الغافث من النوع **A. pilosa** في الأحياء المجهرية إلى احتوائها على فلافونويدات مثل Catechin، Hyperoside، Quercetrin و Rutin كما أمكنهم فصل هذه الفلافونويدات بتقنيات الهجرة الكهربائية Electrophosesis، وكذلك أشار Gibbons وآخرون (29) إلى تأثير Catechin gallates في جرثومة **Staph. aureus** المقاومة للعديد من المضادات (MDR).

كشف عن الفلافونويدات المفصولة من نبات الغافث باستخدام تقنية الفصل بكروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin-Layer Chromatography (TLC).

واتضح عند إجراء تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) أن البقعة المتكونة من مادة Quercetrin قد ظهرت بلون احمر بنفسجي عند رشها بكاشف Vanillin-p-toluenesulphonic acid وكان معدل سرعة الجريان (Rf) لها مساوياً

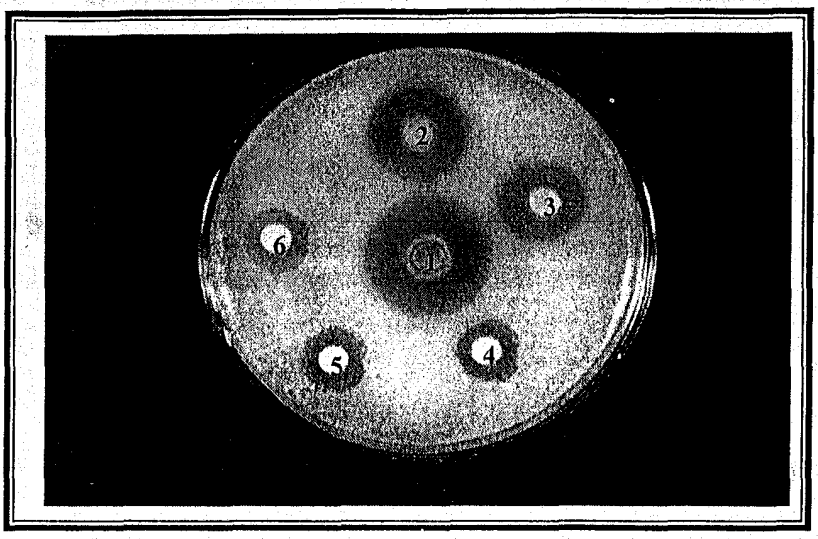
تقريباً لـ (0.66) وهو مقارب لمعدل سرعة جريان المادة القياسية المذكورة في الجداول القياسية (8) وكما موضح في الجدول (3) والصورة (6).

أما مادة Catechin فقد أمكن الكشف عنها بتقنية (TLC) إذ أنها ظهرت على شكل بقعة بلون احمر بلوري لماع وبمعدل سرعة جريان مساوية تقريباً لـ (0.74) وهو مقارب بدرجة كبيرة لـ (Rf) المادة القياسية والمذكورة في الجداول القياسية (8) وكما موضح في الجدول (3) والصورة (7).

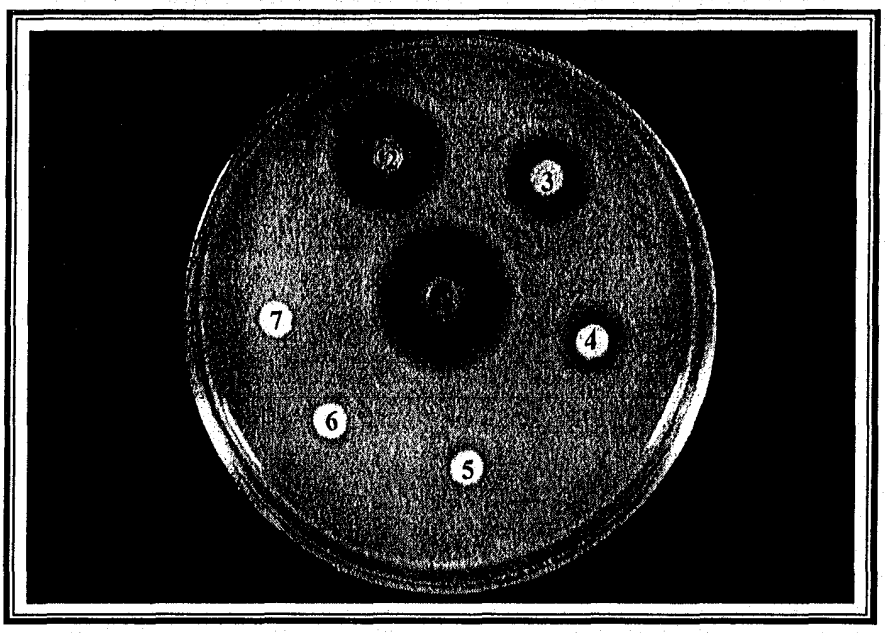
الجدول (2) : الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية في جرثومتي Ps. Aeruginosa، Staph. Aureus مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

نوع المعاملة		الجراثيم	
		Staph. aureus	Ps. aeruginosa
المستخلص المائي للغافث		0.2 ± 24.8	--
المستخلص الايثانولي للغافث		0.2 ± 20.2	--
Quercetrin		0.4 ± 15	--
Catechin		0.6 ± 14.8	0.6 ± 10.8
Gentamycin	المقارنة	5.7 ± 19.3	2.1 ± 16.3
Streptomycin	المقارنة	4.3 ± 17	1.5 ± 18.3
Carbencillin	المقارنة	1.6 ± 18.1	3.2 ± 12.3

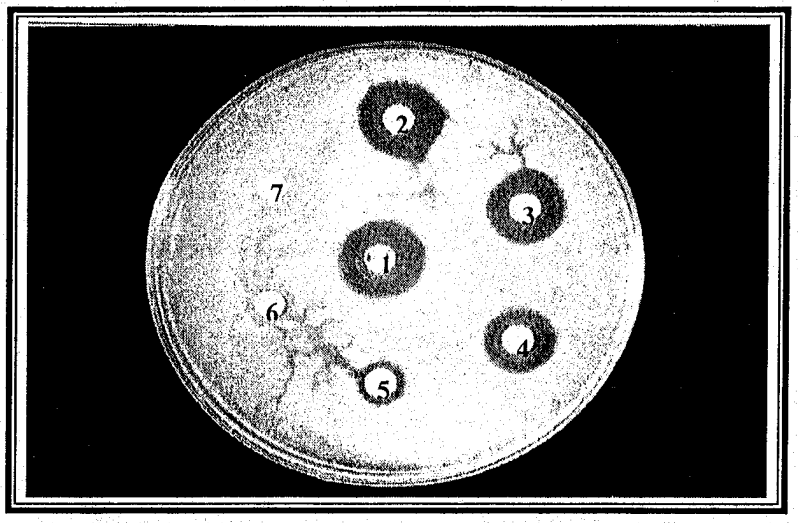
(- -) تشير إلى عدم وجود فعالية



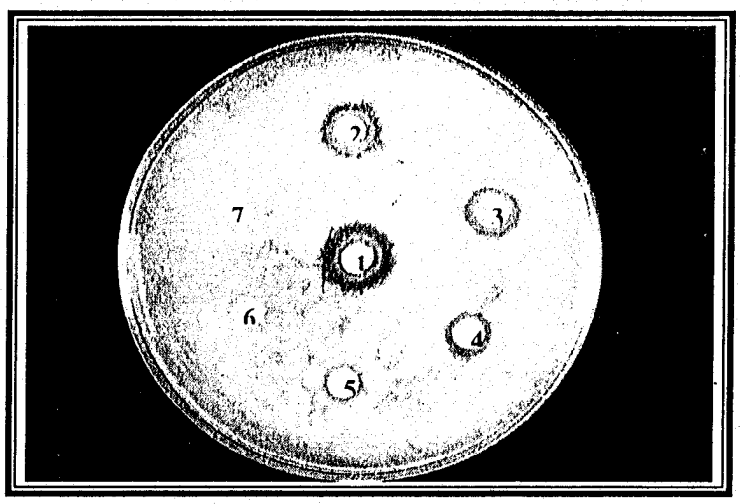
الصورة (1) : تأثير المستخلص المائي لنبات الغافث بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus*. 1 (200 ملغم/سم^3)، 2 (100 ملغم/سم^3)، 3 (50 ملغم/سم^3) ، 4 (25 ملغم/سم^3)، 5 (12.5 ملغم/سم^3)، 6 (6.25 ملغم/سم^3)



الصورة (2) : تأثير المستخلص الايثانولي لنبات الغافث بتراكيز مختلفة في جرثومة Staph. Aureus . 1 (200 ملغم/سم^3)، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3) ، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ،



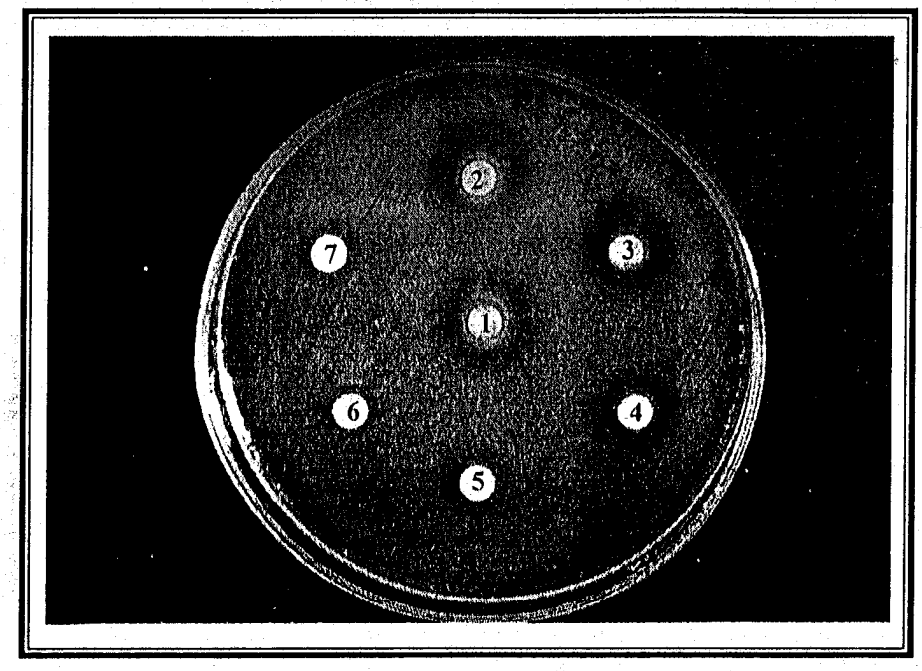
الصورة (3) : تأثير مادة Quercetrin بتراكيز مختلفة في جرثومة *Staph. aureus* . 1 (200 ملغم/سم^3)، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3) ، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3) ، 7 (3.125 ملغم/سم^3)



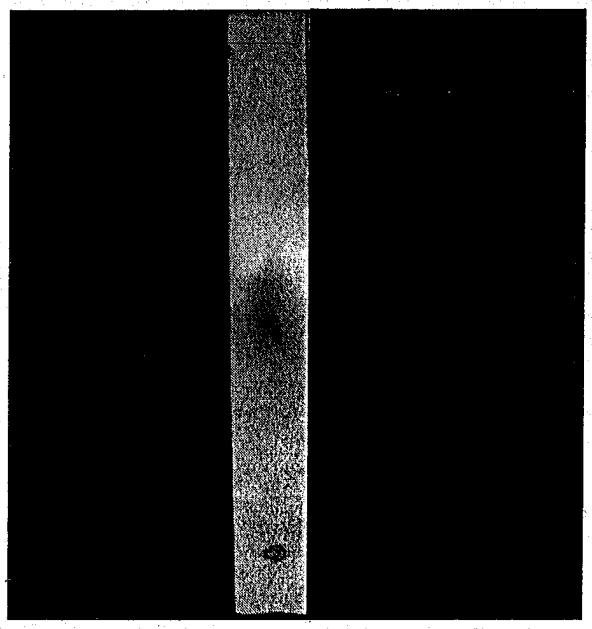
الصورة (4) : تأثير مادة Catechin بتراكيز مختلفة في جرثومة Staph. aureus . 1 (200 ملغم/سم^3)، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3) ، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3) ، 7 (3.125 ملغم/سم^3)

الجدول (3) : قيمة (Rf) للفلافونويدات المفصولة من نبات الغافث والفلافونويدات المذكورة في الجداول القياسية

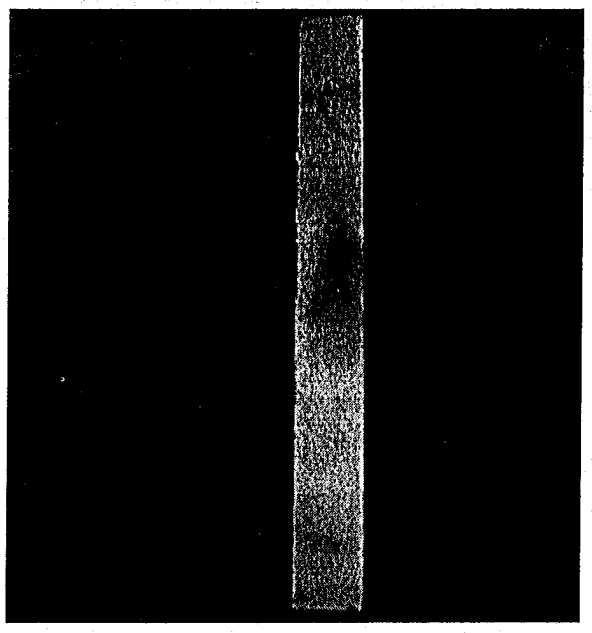
المادة المفصولة	Rf المقاسة	Rf القياسية
Quercetrin	0.66	0.64
Catechin	0.74	0.76



الصورة (5) : تأثير مادة Catechin بتراكيز مختلفة في جرثومة *Ps. aeruginosa* . 1 (200 ملغم/سم^3)، 2 (100 ملغم/سم^3) ، 3 (50 ملغم/سم^3) ، 4 (25 ملغم/سم^3) ، 5 (12.5 ملغم/سم^3) ، 6 (6.25 ملغم/سم^3) ، 7 (3.125 ملغم/سم^3)



الصورة (6) : البقعة الظاهرة في لوح TLC تمثل مادة Quercetrin



الصورة (7) : البقعة الظاهرة في لوح TLC تمثل مادة Catechin

المصادر

1.**Tortora, G. J.; Funke, B. R. and Case, C. L.,** Microbiology an Introduction, 8th ed., Person Education, Inc., San Francisco, USA. (2004) .

2.**Hasselt, M. D. and Gudde, M. Sc.,** J. of Laryngology & Otology, 118 : 93 – 96,(2004).

3.**Cowan, M. M.,** Clin. Microbiol. Rev., 12(4): 564-582. (1999).

4.**Lall, N. and Meyer, J. J..,** J. Ethnopharmacol. 66(3): 349 - 354(1999).

5.ستاري، فرانتشيك وجيراسيك، فاكلاف (1986). الأعشاب الطبية، دار الشؤون الثقافية العامة، بغداد، العراق، (مترجم).

6.عيسى، بسام محمد (2002). لكل داء دواء ومن الأعشاب الطبية الشفاء، دار الرضوان للطباعة، حلب، سوريا.

7.**Morris, . R.,**Plant for a future database search results. : website.www.pfaf.org. (2000).

8.**Gayon, P. R.** ,Plant Phenolics, Oliver & Boyd Co., Edinbur,(1972).

9.**Dixon, R. A.; Dey, P. M. and Lamb, C. J.,** Adv. Enzymol., 55: 1-69, (1983).

10.**Tsuchiya, H.; Sato, M.; Miyazaki, T.; Fujiwara, S.; Tanigaki, S.; Ohyama, M.; Tanaka, T. and Linuma, M.,** J. Ethnopharmacol., 50: 27-34(1996).

11.**Barnard, D. L.; Huffman, J. H.; Meyerson, L. R. and Sidwell, R. W.,** J. Ethnopharmacol., 39: 212-217(1993).

12.**Bauer, A. W.; Kirbay, W.A.M.; Sherris, J. S. and Turk, M.** ,American, J. Clin. Pathol., 45: 493-496(1966).

13.**Riose, J. L.; Recio, M. C. and Villar, A.,** J. Ethnopharmacol., 21 : 139-152(1987).

14.**Grand, A.; Woundergem, P. A.; Verporte, R. and Pousset, J. L.,** J. Ethnopharmacol., 22 : 25-31(1988).

15.**Verporte, R.; Tginastoi, A.; Vandoorn, H and Svendsen, A. B.,** J. Ethnopharmacol., 5 : 221-226(1982).

16.**Bate-Smith, E. C.** ,J. Linn. Soc. Bot. 58: 39(1962).

17.**Harborne, J. B.,** Phytochemical Methods, Chapman and Hall. Ltd. New York, U.S.A(1973).

18.**Beckett, A. H. and Stenlake, J. B.,** Chromatography In: Practical Pharmaceutical Chemistry, Vol. 2, 3rd ed. Delhi, India(1986).

19.**Dawson, R. M. C.; Elliott, D. C.; Elliott, W. H. and Jones, K. M.** ,Data for Biochemical Research, 3rd ed. Clarendon Press. Oxford, Great Britain(1989).

20.**Rahman, M. and Gul; S.,** J. Biotechnology, 1(1): 55-60(2002).

21.**Djipa, C. D.; Delmee, M. and Quetinleclercq, J.**,J. Ethnopharmacology, 71: 307-313(2000).

22.**Iwalokun, B. A.; Gbenle, G. O.; Adewole, T. A. and Akinsinde, K. A.**, J. Health. Popul. Nutri., 19(4).: 331-335(2001).

23.**Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberg, P. C. and Winn, W. C.**, Color Atlas & Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J. B. Lippincott Com., Philadelphia. New York(1997).

24.**Vandepitte, J.; Engback, K.; Piot, P. and Heuk, C.**, World Health Organization, Geneva(1991).

25.**Alcaraz, L. E.; Blanco, S. E.; Puig, O. N.; Tomas, F. and Ferretti, F. H.**,J. heor. Biol, 21 : 205 – 206 (Abstract) (2000).

26.**Yasunaka, K.; Abe, F.; Nagayama, A.; Okabe, H.; Lozadaperez, L.; Villafranco, E. L.; Estrada, E.; Aguilar, A. and Chilpa, R. R.**, J. Ethno pharmacol., 97 (2) : 293-299(2005).

27.**Aqil, F.; Khan, M. S.; Owais, M. and Ahmad, I.**, J. Basic Microbiol. 45 (2) : 106 – 114 (Abstract) (2005).

28.**Xu, X.; Qi, Y.; Wang, W. and Chen, G.**, J. Sep. Sci., 28 (7) : 647 – 652(2005).

29.**Gibbons, S.; Moser, E. and Kaatz, G. W.**, Planta. Med., 70 (12) : 1240 – 1242 (Abstract) (2004).