التأثير البايولوجي لمستخلصات بعض النباتات على جرثومة *Staphylococcus aureus* المعزولة من اخماج جلدية مختلفة♦

رواء محمود داؤد حموشي و عبد الرزاق خضر محمود

كلية الطب البيطري قسم علوم الحياة / كلية التربية

جامعة الموصل

Abstract

This study included the isolation and identification of Staphylococcus aureus (S.aureus)from different cutaneous infections including secondary pyoderma(wound and burn) infections , Impetigo contagiosa , Folliculitis and Boils (Furuncles) . These patient were under treatment in the emergency unit, and out patients of dermatology clinic both within the Mosul Medical City.(247)samples were collected, (155) of them were of (*S. aureus*) by a ratio of (62.7%) . The highest rate *S.aureus* infection (76.1%) was isolated in impetigo while the lowest rate (37.5%). There was different percentage of bacterial infection according sex and age. The alcoholic and aquatic extracts were prepared .

The inhibitory effect of the extracts of *Lillium Candidum* flowers , *Hedra helix* leaves , *Carduus Benedictus* and *Portulaca Oleracea* leaves was studied against all the isolated bacteria using disk diffusion method comparing with standard method and turbidity. In addition, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was determined for these extracts against the bacterial isolates under study .

The results showed that the Alcoholic extract of *Portulaca Oleracea* leaves had the best effect on bacteria.

الملخص

تضمن البحث عزل وتشخيص جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcu aureus* من اصابات جلدية مختلفة متمثلة بالإصابات الثانوية والتي شملت إصابات الجروح الحروق وداء القوباء المعدي والتهاب جريبات الشعر والدمامل من ردهة الجراحة العامة وردهة الحروق ووحدة الطوارئ واستشارية الجلدية في مدينة طب الموصل . حيث تم جمع (247) عينة شكلت جرثومة *S.aureus* (155) عزلة بنسبة (62.7%) وأعطت أعلى نسبة (76.1%) من حالات داء القوباء المعدي في حين عزلت باقل نسبة من إصابات الجروح

♦ البحث ملقى في المؤتمر الأول لعلوم الحياة في كلية التربية جامعة الموصل للفترة 4-5 أيلول 2007

بنسبة (37.5%). واختلفت نسبة الاصابة بالجرثومة للفئات العمرية المختلفة وبين الإناث والذكور حسب منطقة الاصابة. حضر المستخلص المائي ، الكحولي، لكل من أزهار نبات الزنبق الابيض وأوراق نبات اللبلاب ونبات شوك الجمل ونبات البقلة وتمت دراسة الفعالية التثبيطية لكل منها على العزلات المختلفة لجرثومة *S.aureus* باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص مقارنة مع المضادات الحيوية القياسية وطريقة العكارة. وحدد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى(MBC) وتباين تحديد (MIC) والـ(MBC) حسب نوع المستخلص ومنطقة العزل وقد كان المستخلص الكحولي لنبات البقلة الافضل في التأثير.

المقدمة

تعد بكتريا *S.aureus* عاملا ممرضا انتهازيا للإنسان وغالبا ما تكون الإصابة بها حادة وقيحية واذا لم تعالج فربما تنتشر الى الأنسجة المحيطة او من خلال تجرثم الدم وعفونة الدم الى اعضاء اخرى[1]

وتشكل امراض المكورات العنقودية اكثر من 80% من الإمراض القيحية المسجلة في المراكز الطبية ، اذ تحدث معظم امراض المكورات العنقودية بين المرضى الراقدين في المستشفيات الذين يعانون ضعفا في ميكانيكيات دفاعات أجسامهم الطبيعية[2]. وقد ازدادت في السنوات الاخيرة وبشكل مثير الاخماج المرتبطة بالمستشفيات والتي تسببها سلالات المكورات العنقودية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية ، اذ تظهر بعض السلالات حاليا مقاومة لاكثر من 20 مركبا مضادا للجراثيم بضمنها المطهرات Antiseptics[3].

وقد أجريت العديد من الدراسات في استخدام النباتات بوصفها عوامل مضادة للجراثيم المسببة لاخماج الجروح وعوامل مساعدة في شفاء الجروح والتئامها عن طريق دراسات خارج الجسم الحي وداخله [4]. وفي هذه الدراسة تم استخدام نبات الزنيق الابيض *Lillium candium* حيث استعمل زيت ازهار الزنبق في معالجة الحروق والجروح والدمامل والتهاب غدد جفن العين الدهنية ولسعات الحشرات السامة ولتنقية الوجه من النمش[5،6] ونبات البقلة *Portulaca olercea L.* أو ما تسمى (الحمقى) حيث اضافة لأستخدامها في الحكة والجرب والالتهابات الجلدية تستخدم في علاج الخراج وامراض البول السكري وارتخاء العضلات والالام المعدة [7] ونبات اللباب *Hedera helix* حيث يستعمل لمعالجة المسامير في اصابع القدم والقروح والحروق وبعض الامراض الجلدية [8، 9] ونبات شوك الجمل *Carduus Benedictus acute L.* حيث يستعمل في معالجة الجروح والتقرحات والنزيف وامراض القلب المزمن واحيانا امراض السرطان [10، 11]. تهدف الدراسة الى اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي للنباتات المستخدمة وايجاد التركيز المثبط الادنى (MIC) والقاتل الادنى (MBC) لهذه المستخلصات.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

استخدم في عملية جمع العينات مسحات قطنية معقمة Sterile cotton swabs للاصابات الجلدية المختلفة مع الاخذ بنظر الاعتبار تحاشي الأماكن المعرضة للتلوث. واستخدم وسط نقيع المخ والقلب كوسط ناقل للعينات لحين وصولها للمختبر بفترة زمنية لا تتجاوز الثلاث ساعات ثم حضنت المزارع بدرجة 37م° لمدة 24 ساعة.

الزرع والتشخيص

تم زرع العينات على وسط Blood Agar وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° لمدة 18-24 ساعة وبعد ظهور النمو تم اختبار المستعمرات المنفردة ذات المواصفات المطلوبة واعيد زرعها على وسط اكار المانتيول الملحي اذ حضنت بدرجة 37م° لمدة 18-24 ساعة وبعد ظهور النمو اخذت المستعمرات المنفردة وشخصت بالاعتماد على الصفات المزرعية والفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية التي شملت اختبار فعالية انزيم سايتوكروم اوكسيديز، انزيم الكاتاليز انزيم التجلط المرتبط والحر، الانزيم المحلل للحامض النووي الدي اوكسي رايبوز وانزيم اليوريز واختبار النمو على وسط المانيتول والملح الصلب واختبار تمييع الجلاتين وتحلل الدم وتخمر السكريات ومجموعة اختبارات IMViC واخيرا التشخيص باستخدام نظام Api Staph System [12، 13].

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

استخدم في هذا الاختبار 6 انواع من المضادات الحيوية والمجهزة من شركة (Oxoid) ومعمل ادوية سامراء، اعتماداً على طريقة [Bauer.,[14], Vandepitte., et al[15], et al].

تحضير المستخلص المائي

حضر بالاعتماد على طريقة[Riose., et al[16]]. ثم جفف المستخلص الناتج بالتجميد تحت ضغط مخلخل بوساطة جهاز التجفيد Lyophilizer المجهز من شركة (Edwards) ثم حفظت العينات بعد جفافها في قناني زجاجية ذات غطاء محكم وفي ظروف خالية من الرطوبة اذ حفظت المستخلصات النباتية بالتجميد لحين استخدامها في الدراسة.

تحضير المستخلص الكحولي الخام

اختير الايثانول 95% بوصفه مذيبا ملائما للحصول على كل من الاجزاء الذائبة في الكحول والماء واتبعت طريقة الباحث[Grande., et al[17]] في تحضير المستخلص الاثيانول والمحورة عن الطريقة الاساسية للباحث [Verporte ., et al[18]]، وبعد الحصول على

المستخلص حفظت النماذج بالتجميد في قناني زجاجية ذات غطاء محكم لحين استخدامها في الدراسة.

تعقيم المستخلصات النباتية

تم تعقيم المستخلص المائي باخذ غرام واحد من المستخلص الجاف واذيب في 5 سم^3 من الماء المقطر المعقم، وبذلك يكون لدينا مستخلص بنسبة (200) ملغم /سم^3 كتركيز قياسي، عقم هذا المستخلص باستخدام المرشحات الغشائية (membrane filter 0.22m) لمنع مرور الجراثيم من خلاله وعد هذا المركز القياسي مصدرا لتحضير التخافيف اللاحقة المستخدمة في البحث ، في حين تم تعقيم المستخلص الكحولي، الايثر البترولي، الكلورفورمي، مستخلص البنزين، الاسيتون، باذابة 1غم من المستخلص في 5سم^3 من مادة Dimethyl sulfoxide (DMSO) ثم عقم المزيج بطريقة البسترة بدرجة حرارة 62 م° لمدة 15 دقائق [19].

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية بطريقة اختبار الحساسية (الانتشار بالاقراص) واختبار العكارة [14و 20].

تحديد قيم التراكيز المثبطة الدنيا للمستخلصات النباتية

Determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

حدد التركيز المثبط الأدنى MIC باستخدام طريقة العكارة اذ حضرت التخافيف الاتية من كل مستخلص نباتي (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25، 3.125) ملغم /سم^3، ان اقل تركيز للمستخلص النباتي الذي يمنع نمو الجراثيم نهائيا بعد فترة تحضين 24 ساعة بدرجة 37م° اعتبر التركيز المثبط الادنى (MIC) وذلك مقارنةً مع عينة السيطرة التي تحوي 9.8سم^3 من وسط المرق المغذي و 0.1 سم^3 من المعلق الجرثومي و 0.1سم^3 من المذيب المستخدم لاذابة المستخلص النباتي المراد دراسته[21].

تحديد قيم التراكيز القاتلة الدنيا للمستخلصات النباتية

Determination of the Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

حدد التركيز القاتل الادنى (MBC) عن طريق اعادة زرع الانابيب التي لم تظهر نمواً والتي اظهرت نمواً قليلاً بطريقة العكارة وذلك بسحب 0.1سم^3 من العالق الجرثومي لكل انبوب ونشره على سطح اطباق حاوية لوسط الاكار المغذي، ثم حضنت الاطباق بدرجة 37م° لمدة 18-24 ساعة. قيم الـ MBC اخذت من الاطباق التي لم تظهر نموا جرثوميا بعد انتهاء فترة التحضين [22].

النتائج والمناقشة

العــزل والتشخيص

يوضح الجدول (1) العدد والنسب المئوية لجراثيم المكــورات العنقوديــة وبحــسب المنطقة المعزولة. حيث اعطت جرثومة *S.aureus* النسبة الاكبر ضمن المكورات العنقودية اذ بلغت نسبتها 62.7% من مجموع العينات قيد الدراسة ويرجع السبب في سيادة جرثومــة *S.aureus* على الانواع الجرثومية الاخرى ، كونها تشكل جزءاً كبيراً من النبيت الطبيعــي للجــسم ولاســيما علــى الجلــد ومقدمــة المنخــرين اذ تحمــل هــذه الجرثومــة بنــسبة (20%-30%) في خيشوم الاصحاء والذين يشكلون اهم واخطر عامل مسبب للاصابة فضلاً عن قابلية هذه الجرثومة لمقاومة الجفاف والانتشار عن طريق الهواء [23] .

كما ان عنقوديات الجلد غالبا ما تكون صعبة الازالة باستعمال المــضادات الحياتيــة وهذا يرجع الى تكرار التلوث بهذه الجراثيم من المستودع الانفي ولهذا نجد ان مقاومة البكتريا للمضادات كانت ومازالت المعضلة الاساسية امام نجاح العلاج ومن الصعوبة ان توجــد أي مجموعة Antibiotics لم تظهر البكتريا اساليب لمقاومتها [24].

كما عزلت بأعلى نسبة 76.1% من داء القوباء المعدي مقارنة مع بقيــة الاصــابات الجلدية قيد الدراسة ، وهذه النتيجة تتفق مع دراسة اخرى اجريت حول داء القوباء المعدي من قبل الباحث [Mertz ., et al[25]] حيث وجد ان جرثومة *S.aureus* هي الــسائدة والمــسبب الرئيس للمرض وعزلت من اصابات الجروح باقل نسبة 37.5% مقارنة مع بقية الاصــابات الجلدية. ان تدني نسبة جرثومة *S.aureus* المعزولة من الجروح يمكن ان يوعز الى قابلية الجرح للتلوث بانواع اخرى من الجراثيم وحدوث التضادد بين السلالات البكتيرية المختلفــة (Antibiosis).

جدول (1)

العدد والنسبة المئوية لجراثيم المكورات العنقودية المعزولة حسب مصادر عزلها

منطقة عزل العينات	عدد العينات الكلي	عدد عزلات الجراثيم على وسط المانيتول	عدد عزلات co- agulas (+) S.aureus	نسبتها المئوية	عدد عزلات co- agulas (-)	نسبتها المئوية
الاصابات الثانوية						
a - الحروق	30	25	12	% 40	13	% 43.3
b - الجروح	48	21	18	% 37.5	3	% 6.3
داء القوباء المعدي	67	55	51	% 76.1	4	% 5.9
الدمامل	46	41	34	% 73.9	7	% 15.2
التهاب جريبات الشعر	56	47	40	% 71.4	7	% 12.5
العدد الكلي	247	189	155	% 62.7	34	% 13.7

كما يوضح الجدول (2) ومن النتائج التي تم الحصول عليها ان نسبة اصابة الاناث بهذه الاجرثومة كانت اعلى من الذكور في الجروح والدمامل والحروق بنسبة (58.3% ، 56.5% ، 53.3%) على التوالي بينما كانت اصابة الذكور اعلى من الاناث في التهاب جريبات الشعر وداء القوباء المعدي بالنسب (53.6%، 50.7%) على التوالي .

جدول (2)

توزيع الاصابة بجرثومة *S.aureus* تبعا لجنس المصاب

منطقة عزل العينات	ذكور	%	اناث	%
الإصابات الثانوية				
a- الحروق	14	%46.7	16	%53.3
b- لجروح	20	%41.6	28	%58.3
داء القوباء المعدي	34	%50.7	33	%49.3
الدمامل	20	%43.5	26	%56.5
التهاب جريبات الشعر	30	%53.6	26	%46.5

ويوضح الجدول (3) توزيع الاصابة بجرثومة *S.aureus* حسب الفئة العمرية للمصاب ونسبتها المئوية اذ كانت اعلى نسبة لاصابات الحروق وداء القوباء المعدي تقع بين

الاعمار (1-9) سنة بنسبة (33%، 65.6%) على التوالي وهذا يعود الى النشاط والحركة المستمرة للاطفال في هذه الفترة العمرية وعدم الوعي وادراك مخاطر الاصابة بالحروق وان داء القوباء غالبات يصيب الافراد عديمي النظافة فهذا ربما يفسر كثرته عند الاطفال لعدم اهتمامهم بالنظافة الشخصية مما يعرضهم للتلوث بالجراثيم والاصابة بعدوى المرض وخاصة الاماكن المزدحمة الفقيرة. في حين كانت اعلى نسبة لاصابات الجروح والتهاب جريبات الشعر تقع بين الاعمار (20-29) سنة بنسبة (35.4% ، 37.5%) على التوالي.

جدول (3)

الاصابات الجلدية حسب الفئات العمرية ونسبها المئوية

منطقة عزل النماذج	1-9 سنوات		10-19 سنة		20-29 سنة		30-39 سنة		40-49 سنة		50-59 سنة		60-69 سنة		70+ سنة	
	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية	عدد الإصابات	النسبة المئوية
Secondary pyoderma	10	33%	7	23.3%	5	16.6%	3	10%	2	6.6%	1	3.3%	1	3.3%	1	3.3%
a-burns	1	2%	6	12.5%	17	35.4%	12	25%	4	8.3%	3	6.2%	3	6.2%	2	4.1%
b-Wounds																
Impetigo	44	65.6%	9	13.4%	7	10.4%	3	4.4%	1	1.4%	1	1.4%	1	1.4%	1	1.4%
Folliculitis	8	14.2%	11	19.6%	21	37.5%	7	12.5%	4	7.1%	2	3.5%	1	1.7%	2	3.5%
Boils	11	23.9%	11	23.9%	10	21.7%	8	17.3%	3	6.5%	2	4.3%	1	2.1%	----	----

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية والفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية

أظهرت جرثومة *S.aureus* المعزولة من اصابات جلدية مختلفة حساسيتها للمضادات الحيوية. الامبسلين، الكلورامفينكول، الفانكومايسين والجينتامايسين في حين كانت جميع هذه العزلات مقاومة للمضاد الحيوي نالديكسيك اسيد. وكان تأثير المستخلصات النباتية على العزلات الجرثومية متبايناً حسب نوع تركيز المستخلص فضلاً عن المصدر الذي عزلت منه الجرثومة إذ اظهر المستخلص الكحولي لنبات البقلة اعلى تثبيط للجرثومة المعزولة من داء القوباء المعدي جدول(4) وربما يعزى سبب ذلك الى احتوائها على العديد من المركبات والمواد مثل Alkoloids ، Flavonoids ، Fattyacid، Oxalate ، Pectin ، Saponins [26].

جدول (4)

الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية في جرثومة *S.aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

المستخلصات بتركيز 200 ملغم/سم ^{3}		مناطق عزل الجرثومة			
		Secondary pyoderma	Impetigo	Boils	Folliculitis
المستخلص المائي للزنبق الابيض		9.7	10.7	10	8.3
المستخلص الكحولي للزنبق الابيض		15	20.3	13	13
المستخلص المائي للبقله		12.7	14.7	12.3	11.7
المستخلص الكحولي للبقلة		15.3	21.7	15	14.7
المستخلص المائي للبلاب		-----	-----	------	------
المستخلص الكحولي للبلاب		17.3	16.3	14.3	14.33
المستخلص المائي لشوك الجمل		-----	------	-----	-------
المستخلص الكحولي لشوك الجمل		12.7	20	14.7	14.3
المقارنة	Tetracycline 30µg/disk	11.3	24.7	26	26
	Ampicillin 10µg/disk	16.7	18.7	20.7	18.7
	Chloramphenicol 30µg/disk	24.7	17.7	23	21
	Varcomycin 10µg/disk	18.3	21.7	16.7	16.3
	Nalidixic acid 10µg/disk	0.000	8.3	8.3	7.3
	Gentamycin 10µg/disk	20	22	18	18

كما توضح الجداول من (8,7,6,5) تأثير المستخلصات بتراكيز مختلفة على عزلات جرثومة *S.aureus* قيد الدراسة.

جدول (5)

تاثير المستخلص الكحولي لنبات الزنبق الابيض بتراكيز مختلفة في جرثومة S.aureusالمعزولة من اصابات جلدية مختلفة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

مناطق عزل الجرثومة				تراكيز المستخلص ملغم/سم^3
Folliculitis	Boils	Impetigo	Secondary pyoderma	
13	13	20.3	15	200
11.3	11.3	18.3	13.3	100
11	11.3	14.7	12.3	50
10.3	10.7	12	11.7	25
10	10.7	11.7	8.3	12.5
0.0	0.0	0.0	0.0	6.25
0.0	0.0	0.0	0.0	3.125

جدول (6)

تاثير المستخلص الكحولي لنبات البقلة بتراكيز مختلفة في جرثومة *S.aureus*المعزولة من اصابات جلدية مختلفة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

مناطق عزل الجرثومة				تراكيز المستخلص ملغم/سم^3
Folliculitis	Boils	Impetigo	Secondary pyoderma	
14.7	15	21.7	15.3	200
12.3	12	17.3	11	100
10.3	9.7	15.7	9.7	50
5.7	6.7	11.7	9.3	25
5.3	6.3	11.7	0.0	12.5
0.0	0.0	0.0	0.0	6.25
0.0	0.0	0.0	0.0	3.125

جدول (7)

تاثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات اللبلاب بتراكيز مختلفة في جرثومة *S.aureus* المعزولة من اصابات جلدية مختلفة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

مناطق عزل الجرثومة				تراكيز المستخلص ملغم/سم^3
Folliculitis	Boils	Impetigo	Secondary pyoderma	
14.3	14.3	16.3	17.3	200
12.7	12.7	16	13.7	100
11	11.3	14.3	11.7	50
10.3	10.7	13.3	9.7	25
6.7	8.3	11.3	7.3	12.5
0.0	0.0	0.0	0.0	6.25
0.0	0.0	0.0	0.0	3.125

جدول (8)

تاثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات شوك الجمل بتراكيز مختلفة في جرثومة *S.aureus* المعزولة من اصابات جلدية مختلفة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

مناطق عزل الجرثومة				تراكيز المستخلص ملغم/سم^3
Folliculitis	Boils	Impetigo	Secondary pyoderma	
14.3	14.7	20	12.7	200
8.7	9.7	17.7	7.3	100
0.0	0.0	11.3	2.3	50
0.0	0.0	0.0	0.0	25
0.0	0.0	0.0	0.0	12.5
0.0	0.0	0.0	0.0	6.25
0.0	0.0	0.0	0.0	3.125

ويوضح جدول (9) نتائج الـ(MIC) و (MBC) للمستخلصات النباتية

جدول (9)

التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MBC) للمستخلصات النباتية على عزلات جرثومة *S.aureus* (ملغم /سم^3)

نوع المعاملة	مصدر العزلات الجرثومية							
	Folliculitis		Boil		Impetigo		Secondary pyolerna Burn+wound	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
المستخلص الكحولي للزنبق الابيض	0.125	0.5	0.125	0.25	0.125	0.25	0.125	0.5
المستخلص الكحولي للبقلة	0.5	1.0	0.5	1.0	0.125	0.5	0.5	1.0
المستخلص الكحولي للبلاب	0.125	2.0	0.125	2.0	0.25	0.5	0.25	1.0
المستخلص الكحولي لشوك الجمل	1.0	2.0	1.0	2.0	0.5	2.0	0.5	2.0

المصادر

1- **Bilal, N. E., & Gedebou, M.** Eastern Mediterranean Health J. 6:35-37. (2000).

2- **Higaki , S. ; Morohash : M. ; Yamagishi , T. and Hasegawa , T.** Int-J. Dermatol . Apr , 38:265-9 . (1999).

3- **Aries-de-sousa, M. ; de-Lencastre, H. ; Santos, S. I. ; Kikuchi, K. ; Totsuka, K. & Tomasz, A.** J.Microb-Drug-Resist; 6:253-258. (2000).

4- **Rasik, A. M.; Raghubir, R.; Gupta, A.; Shukia, A.; Dubey, M. P.; Jain, H. K. & Kulshrestha,D.K.**.J.Ethropharmacol,968: 261-266. (1999).

5- **Pieroni, A.**, Italy. J of Ethnopharmacol. 235-273. (2000).

6- **شمس الدين،احمد(2000)**.التداوي بالاعشاب والنباتات قديما وحديثا.دار الكتب العلمية، بيروت ، لبنان.

7- **Iwu,M. M. (1993)**.Hand book of African Medicinal plants . CRC press . 265-270 .

8- **Dweck,C. (2000).** Functional Botanicals-their chemistry and effects . International Cosmetie Expo ^{Tm}2000 , 15th – 17th February 2000 , in Miami , Florida , USA .

9- **Chakravarty,H.L.**Vol.(1).S.N.GUHA RAY,at SREE SaraswatyPress Ltd. (1976).

10- **اودي ، بنيلوب (1999)** . الكامل في الاعشاب والنباتات الطبية ، معجم لاتيني ، فرنسي انكليزي ، عربي ، دليل عملي للخصائص العلاجية للاعشاب ،اشراف جمعية اطباء الاعشاب في انكلترا ، اكاديميا انترناشيونال للنشر والطباعة.

11- **Hanrahan , C.**http://www.findarticles.com/cf-0/g2603/mag.jhtml. (2003)

12- **Johnson, A. G.; Ziegler, R. J.; Lukasewycz, O. A. & Hawley, L. B. (2002).** Board Review Series Microbiology & Immunology. 4thed. Lippincott Williams & Wilkins Awolters Kluwer Company. 88.

13- **Todar, K.**. J. Med. Microbiol, 1-9. (2002).

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

15- **Vandepitte, J.; Engback, K.; Piote, P. & Heuk, C.**World Health Organization, Geneva. (1991).

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

17- **Grand,A.;Woudergem,P.A.;Verportes,R.&pousset,J.L.**.J.Eth nopharmacol.,22:25-31. (1988).

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

19- **النعمان ، اديبة يونس شريف** .رسالة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل . ..(1998)

20- **Merius, D. J.; Veldman, K. T.; V&erpal, R. H. M. & Zijderveld, F. G.** Veterinary Quarterly. 21: 99-104. (1999).

21- **Levinson, W. & Jawetz, E. (2000).** Medical Microbiology & Immunology. Examination & Board Review. 6th ed., McGraw-Hill, International Editions. Health Professions Series.

22- **Grace, O. O.** Letters in. Appli. Microbial. 9 :105-108. (1989).

23- **Dowell,E. B. & James , J. F.**Contagious comments Department of Epidemiology The children's Hospital Association . 15:102-104. (2001).

24- **Amyes , S.G.B.**.BMJ, 320 :199-200. (2000).

25- **Mertz , P. ; piovanetti , Y . & Eaglstein , W.** in 20th world Congress of Dermatology , Paris . (2002)

26- **Leung , A. Y. and foster , S. (1996).** Encyclopedia of common natural Ingredients used in food , drugs and cosmetics . 2nd Edition, John Wiley , ISBN, 826-834 .