التاثير التثبيطي لمستخلصات نبات البصل ومكوناتها الفعالة في عدد من انواع الجراثيم والتآزر بين المكونات الفعالة والمضادات الحيوية

خضر داؤد سليمان

كلية التربية-قسم علوم الحياة-جامعة الموصل

الاستلام	القبول
04/09/2006	21/02/2007

ABSTRACT

This study indicates the biological activity of Allium. The activity extracts including alcoholic and ethanolic volatile oil was studied against eight bacterial species: *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*.

The results showed that alcoholic extract of onion has a comparable inhibitory effects against *Sal. typhi*, *Sh. flexneri*, *E. coli* and *Pr. mirabilis* compared to the antibiotics Cephalexin and Amoxicillin. The diameter of inhibition zone at concentration 200 microgram/cm^3 was 24 mm toward *Sal. typhi*, while in case of Cephaloxin the diameter of inhibition zone is 21 mm using the same concentration. The study also showed moderate activity compared to the antibiotic Gentamycin.

The results also revealed that the acetonic extract and the volatile oil showed moderate activity against compared to the antibiotic cephalexin and lower effect compared to the antibiotic Gentamycin and has higher effect compared to Amoxicillin.

The alcoholic, acetonic and volatile oil showed meditate effects against the *Ps. aeruginosa* while they showed negligible effect toward the studied antibiotic.

Three types of antibiotics have been used for this study (Amoxicillin, Cephalexin and Gentamycin). The results of this study revealed that *Sh. flexneri*, *Pr. mirabilis* and *Staph. aureus*, became more sensitive against the antibiotic Gentamycin in the presence of alcoholic extract while *Sal. typhi* and *Staph. aureus* showed higher sensitivity toward cephalexin in the presence of the active ingradient, while showed no significant sensitivity of Amoxicillin against the microorganism in presence of the active compound.

The study also include the identification of diallyl disulfide and diallyl trisulfide compound in hexane extract using TLC technique.

الخلاصة

تضمنت الدراسة اختبار الفعالية المضادة لمستخلصات نبات البصل Allium ومكوناته الفعالة والزيت الطيار تجاه ثمانية انـواع مـن الجـراثيم *Salmonella typhi*، *Shegilla flexneri*، *Escherichia coli* ، *Proteus mirabilis* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staph. aureus* ، *Bacillus subtilis* .

اظهرت نتائج الدراسة ان المستخلص الكحولي لنبات البصل كان له تاثير تثبيطي عالي في الجراثيم *S. typhi* ، *Sh. flexneri* ، *E. coli* و *Pr. mirabilis* مقارنـة بالمـضادين الحيويين Cephalexin و Amoxicillin اذ كان قطر دائـرة التثبـيط فـي التركيـز 200 مايكروغرام/سم^3 24 ملم في الجرثومة *S. typhi* ، في حين كان قطر دائرة التثبيط للمـضاد الحيوي Cephalexin في التركيز نفسه 21 ملم. وكانت له فعالية معتدلة مقارنـة بالمـضاد الحيوي Gentamycin .

كما اظهرت النتائج ان التاثير التثبيطي للمستخلص الاسيتوني والزيت الطيار متـساويا تقريبا في الجراثيم قيد الدراسة، فقد كان تاثيرهما في الجـراثيم *S. typhi* ، *Sh. flexneri* ، *E. coli* و *Pr. mirabilis* معتدلا مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin وقلـيلا مقارنـة بالمضاد الحيوي Gentamycin وكثيرا مقارنة بالمضاد الحيـوي Amoxicillin . اظهـر المـستخلص الكحـولي والاسـيتوني والزيـت الطيـار تـاثيرا معتـدلا فـي جرثومـة *Ps. aeruginosa*. في حين لم تظهر المضادات الحيوية القياسية الثلاثة تاثيرا في الجرثومة.

اختبريت حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المكونات الفعالة التي فصلت مـن نبات البصل، وقد دراست ثلاثة انواع مـن المـضادات الحيويـة وهـي (Gentamycin ، Cephalexin و Amoxicillin). وقد تبين ان الجراثيم *Sh. flexneri* ، *Pr. mirabilis* و *Staph. aureus* اصبحت اكثر حساسية للمضاد الحيوي Gentamycin بوجود (المستخلص الكحولي).

اما الجراثيم *S. typhi* و *Staph. aureus* فقد اصبحت اكثر حساسية للمضاد الحيوي Cephalexin بوجود المادة الفعالة للنبات. في حين لم تتغيـر حـساسية المـضاد الحيـوي Amoxicillin تجاه الجراثيم بوجود المادة الفعالة، كما فصلت وشخصت المركبات الكيميائية (Diallyl disulfide و Dially trisulfide) من مـستخلص الهكـسان باسـتخدام تقانـة (TLC).

المقدمة

ينتمي البصل Allium cepa الى العائلة الزنبقية Liliaceae وهو نبات عـشبي معمـر ينمو عن طريق الريزومات او الابصال او الجذور اللحمية المنتفخة او الـدرنات، يحمـل فـي سطحه السفلي جذورا عرضية ليفية تعلوها الاوراق الشحمية التي تشكل قواعد الاوراق والتـي تتضخم عند نضج النباتات لخزنها الغذاء وتحاط بغلاف فتكون البصلة التي تعد الجـزء الطبـي المستعمل (1). للبصل فوائد طبية كثيرة فهو يستخدم في علاج التهـاب المفاصـل والرومـاتيزم وعلاج الامراض الجلدية (2)، اثبتت فعالية مستخلص البصل الكحولي في علاج حساسية الجلد وانسداد القصبات الهوائية في خنازير غينيا والارانب، اذ ان له تاثيرا يشبه تاثير الهستامين (3).

استخدم المستخلص المائي المركز منه للمصابين بداء السكري (4)، وللبصل فعالية في علاج الامراض السرطانية (5). وقد ذكر الزبيدي وجماعته (6) ان البصل من النباتات التـي يمكن الاستفادة منها في تخفيض ضغط الدم والكوليستيرول.

ويقول الانطاكي انه يذهب اليرقان ويفتت الحصى ويدرر البول (7)، كما اثبت الباحث (8) وجماعته ان للمستخلص المـائي للبـصل تـاثيرا فـي الانـواع المختلفـة مـن الـ (Leishmania) اذ كانت الجرعة القاتلة لانواع اللشمانيا المستخدمة 1.25 mg/ml .

وذكر في دراسة اخرى ان للمستخلص المائي للبصل والثوم فعالية ضد عدد من انـواع الفطريات والخمائر (9). وبين الباحثون ان الزيوت الاساسية لنباتي البصل والثـوم تـاثيرات مضادة لنمو انواع مختلفة من الفطريات ولاسيما انواع (Trichophyton Spp) (10).

واكد الباحث (11) ان عددا من مستخلصات البصل لها تاثير في انواع من البكتريا المعزولة من اللوزتين. واكد الباحث (12) ان لمستخلصات البصل تاثيرا في البكتريا المرضية في الفم.

ان هناك العديد من المركبات الكيميائية المضادة للاحياء المجهرية التي تكلـف مبـالغ طائلة كما ان لكثير منها اثارا جانبية فضلا عن ان الاستخدام المستمر لها في العلاج يفقـدها فاعليتها ويكسب الجراثيم مقاومة لها، لذا وجهت مجموعة من الدول اهتمامـا كبيـرا نحـو النباتات الطبية بوصفها مصدرا طبيعيا للادوية وقد كثرت في السنوات الاخيـرة محـاولات تحري عن تاثير عدد من النباتات الطبية في الاحياء المجهرية المعزولة من حالات مرضـية مختلفة (13، 14).

ومن منطلق الاهمية الكبيرة لنبات البصل في الطب الشعبي فـضلا عـن كونـه غنيـا بالمركبات المضادة لنمو الجراثيم فقد جاءت هذه الدراسة لتسليط الضوء على جانب مـن هـذه الثروة الطبيعية الهائلة التي تتمتع بها بيئة العراق، وهي تهدف الـى تحـضير المستخلـصات المختلفة والزيت الطيار وفصل عدد من المكونات الفعالة من البصل فضلا عن تقـدير الفعاليـة البايولوجية المضادة للمستخلصات تجاه انواع من الجراثيم المنتخبة ومقارنتها بفعالية المضادات الحيوية القياسية الشائعة الاستعمال. وكذلك التآزر بين المضادات الحيوية والمكونات الفعالة لنبات البصل.

المواد وطرائق العمل

انواع الجراثيم المستخدمة في الدراسة:

Salmonella typhi
Shigella flexneri
Escherichia coli
Proteus mirabilis
Klebsiella pneumoniae
Pseudomonas aeruginosa
Staphylococcus aureus
Bacillis subtilis

وقد حصلنا على هذه الانواع من الجراثيم من فرع الاحياء المجهرية / قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / جامعة الموصل.

وحصلنا على نبات البصل onion (*Allium cepa*) من الاسواق المحلية وقد نظف وجفف في الظل بوضعه على اوراق الترشيح وبدرجة حرارة الغرفة معرضا لتيار هوائي مناسب، تمت عملية التقليب على نحو مستمر لمنع التعفن، وحفظت النبات المجففة في مغلفات ورقية وفي ظروف خالية من الرطوبة الى حين استخدامها في عملية الاستخلاص.

تحضير المستخلص المائي:

حضر المستخلص المائي لنبات البصل بمزج (40) غم من النموذج النباتي مع (160) سم^3 من الماء المقطر أي بنسبة (4:1) وزن/حجم. اذ سحق النموذج باستخدام جهاز السحق (Blender) داخل حمام ثلجي ثم حرك المزيج بوساطة المحرك الكهربائي المغناطيسي مدة (60) دقيقة وذلك لتفجير جدران الخلايا النباتية، ترك المزيج بعد ذلك في الثلاجة مدة (24) ساعة لغرض النقع، ثم رشح خلال عدة طبقات من الشاش ورشح ثانية باستخدام قمع بخنر وباستخدام اوراق الترشيح (Whatmann No. 1) مع التفريغ للتخلص من الاجزاء غير المسحوقة والالياف، وبهذا تم الحصول على المستخلص المائي الخام، الذي جفف فيما بعد بالتبريد تحت الضغط المخلخل بجهاز التجفيد (Lyophilizer) والمجهز من شركة (Edwards) بعد انتهاء عملية التجفيد. وضع المستخلص في قنان زجاجية ذات غطاء محكم وحفظ في ظروف خالية من الرطوبة وبالتجميد الى حين استخدامه لاحقا (15).

تحضير المستخلص الكحولي لنبات البصل:

اتبعت طريقة الباحث (16) المحورة عن الطريقة الاساسية للباحث (17) وذلك بـسحق (20) غم من النبات في (200) سم^3 من الكحول الاثيلي وبتركيز (95%) داخل حمام ثلجـي، وبعد رج المزيج جيدا، ترك في الثلاجة مدة (24) ساعة، ثم رشح عبر عـدة طبقـات مـن الشاش ومرر بعد ذلك خلال قمع بخنر وللتخلص من الكحول وضع في جهاز المبخر الـدوار Rotary vacuum evaporator اذ يعمل هذا الجهاز على اساس التبخيـر تحـت الـضغط المخلخل ودرجة حرارة لا تزيد على (40)°م. وبعد تبخر الايثانول كله الموجود في المـزيج لوحظ تكون طبقة سميكة من المستخلص الذي جفف بالتبريد تحت ضـغط مخلخـل بجهـاز التجفيد (Lyophilizer) وحفظت النماذج بالتجميد الى حين استخدامها.

تحضير المستخلصات العضوية باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) :

حضرت المستخلصات العضوية باتباع الطريقة التي استخدمها (18) لنبـات البـصل، والتي تعتمد على طبيعة المكونات المفصولة من النبات وقطبية المذيب المستعمل في عمليـة الفـصل، فقـد اختيـرت اربعـة مـذيبات متفاوتـة القطبيـة، وهـي الايثـر البترولـي (Petroleum ether) والبنزين (Benzene) والكلوروفـورم (Chloroform) والاسـيتون (Acetone) وباستخدام جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) وبهذا تـم الحـصول علـى اربعة مستخلصات، اذ تم وضع النموذج النباتي المسحوق بوزن (50) غم داخل (Thumble) لجهاز الاستخلاص المستمر الحاوي لـ (250) سم^3 من المذيب الاول وهو الايثر البترولـي، سخن الجهاز بوساطة حمام مائي مدة (3-4) ايام الى ان اصبح المذيب عديم اللون.

ركز الناتج العضوي بعد ذلك باستخدام جهاز المبخر الدوار وبعد تبخير المـذيب كلـه الموجود في المزيج تكونت طبقة سميكة من المادة التي حفظت في قنان زجاجية ذات غطـاء محكم الى حين استخدامها، ثم جفف النموذج النباتي المتبقي للتخلص من بقايا المذيب ثم وضع النموذج النباتي مرة اخرى في جهاز الاستخلاص. واعيـدت الطريقـة نفـسها وباسـتعمال المذيبات الاخرى.

استخلاص عدد من المركبات الكبريتية من المستخلص الكحولي للبصل باستخدام المـذيبات العضوية:

اتبعت طريقة (19) في الاستخلاص اذ اذيب (3 غم) من مستخلص البـصل الكحـولي المركز في (100 مل) من الايثانول (80%) ثم وضع المستخلص الكحولي المذاب في قمـع الفصل (Separating funnel) واضيف الايثر (100 سم^3 × 3) وتم في كـل مـرة عـزل مستخلص الايثر عن المستخلص الكحولي الخام ثم اضيف الهكـسان (Hexane) وكلوريـد المثيلين (Methylene chloride) على التوالي لفصل المركبات الاقل قطبيـة ثـم الاكثـر قطبية، وركزت هذه المستخلصات بوساطة جهاز التبخير تحت الضغط المخلخل.

الكشف عن المركبات الكبريتيدية الفعالة في مستخلص الهكسان المفصول من المـستخلص الكحولي للبصل:

كشف عن عدد من المركبات الكبريتيدية في مستخلص الهكسان باستخدام تقانـة الـ TLC واستخدمت الالواح الزجاجية المغطاة بهلام السليكا (Merck, W.G) بسمك 0.25 ملم وبالابعاد 20 × 20 سم، ونشطت الصفائح قبل استعمالها وذلك بتسخينها مدة ساعة واحدة في فرن بدرجة حرارة (100 °م) ثم تركت لتبرد الى درجة حرارة المختبر، وبعد ذلك وضـعت العينة على احد طرفي اللوح على خط حدد بوصفه نقطة بدايـة وذلـك باسـتخدام الانبوبـة الشعرية، ووضع اللوح في الحاوية (Tank) بوضع عمودي لتكون النهاية المحملة بالعينة في الاسفل وملامسة لنظام المحلول المكون من الهكسان. ثم غطيت الحاوية بالغطاء الخاص بهـا وتركت في درجة حرارة المختبر 25 °م الى حين وصول محلول الفصل الى النهاية الاخرى من اللوح. واخرج اللوح من الحاوية ووضع بشكل افقي في درجة حرارة المختبر حتى جفافه، ثم اظهرت البقع بوساطة تعريضها لكاشف حامض الخليك الثلجي-ثالث اوكسيد الكروم (V/V 1:1) Trichromium oxide-Glacial acetic acid (20).

التشخيص الوصفي للمركبات الكبريتية المفصولة من البصل بقياس سرعة الجريان (Rf):

اعتمدت تقانة كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة TLC لقياس سرعة الجريان، تم التعـرف الى عدد من مكونات مستخلص الهكسان باستعمال الكاشف (Trichromium oxide-HOAC) ظهرت البقع بلون اصفر-بنفسجي دلالة على وجود مركبات الكبريت العـضوية، اذ ظهـرت بقعتان من عينة مستخلص الهكسان احداهما كانت الـ Rf لها مساويا لـ 0.25 وهي تمثـل البقعة النموذجية القياسية Diallyl disulfide ، اما البقعة الثانية فكانت تساوي (Rf = 0.5) وتمثل قيمة الـ Rf هذه للمركب Diallyl trisulfide (21).

وقد قيست سرعة الجريان (Rf) باستخدام المعادلة الاتية:

$$\text{معدل سرعة جريان المادة (Rf)} = \frac{\text{المسافة التي تقطعها العينة من نقطة البداية}}{\text{المسافة التي يقطعها المذيب من نقطة البداية}}$$

(Block et al., 1984)

تعقيم المستخلصات الكحولية والعضوية:

حضرت المستخلصات الكحولية والاسيتونية والكلوروفورمية والايثر البترولي والبنزينية والهكسان وكلوريد المثيلين باذابة (1) ملغم من المستخلص في (5) سم^3 من مادة Dimethyl sulfoxide (DMSO) ثم عقم المزيج بطريقة البسترة بدرجة (62) °م مدة (10) دقائق وبهذا تم الحصول على المركز القياسي للمستخلصات الكحولية والعضوية التي تعد مصدرا لتحضير التخفيفات (22).

تعقيم الزيوت الطيارة من البصل:

عقمت الزيوت الطيارة المفصولة من البصل باستخدام المرشحات الغشائية (0.224) بعد ان اذيب (1) سم^3 من الزيت في (9) سم^3 من Ethylenglycol ، وبهذا تم الحصول على الزيت المعقم الذي سيعتمد في تحضير التخفيفات اللاحقة (22).

تعقيم المستخلص المائي:

عقم المستخلص المائي الذي حضر عن طريق اذابة (1) ملغم من المستخلص المائي الجاف في (5) سم^3 من الماء المقطر واستعملت المرشحات الغشائية (0.22 m) لمنع مرور الجراثيم من خلاله، وعد هذا المركز القياسي الاساس في تحضير التخفيفات (22).

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

اجري اختبار الحساسية لـ (3) انواع من المضادات الحيوية المجهزة من شركة سامراء العراقية. وقد اتبعت طريقة (23) اذ نقلت (4-5) مستعمرات نقية للجراثيم الى وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة (37) °م مدة (14-16) ساعة، ثم خفف العالق الجرثومي بالمحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline وبالمقارنة مع انبوبة السيطرة القياسية التي تعادل 10^8 خلية/سم^3، نشر (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي على طبق حاوي وسط اكار مولر-هنتون وباستعمال مسحة قطنية معقمة. تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لكي يحصل التشرب وذلك مدة (30) دقيقة. ولغرض دراسة الفعالية التثبيطية للمضادات

الحيوية، تم تحضير التراكيز التالية (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25) مايكروغرام/سم^3 كما مبين في الجدول (8)، تثبت اقراص المضادات الحيوية Cephalexin ، Gentamycin و Amoxicillin بوساطة ملقط معقم، وحضنت الاطباق بدرجة (37) °م مدة (18-24) ساعة. ثم قيست منطقة تثبيط النمو (24).

طريقة اختبار الحساسية للمستخلصات (الانتشار بالاقراص):

اتبعت طريقة الباحث (23) في اختبار الحساسية وذلك بنقل (3-5) مستعمرات نقية للجراثيم المنتخبة على وسط المرق المغذي، حضنت بدرجة حرارة (37) °م مدة (18-24) ساعة، ثم خففت بالمحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline بالمقارنة بانبوبة السيطرة لمحلول ماكفرلاند الذي يعادل 10^8 خلية/سم^3. ثم نقل (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي المخفف الى وسط اكار مولر-هنتون المجهز من شركة (Oxoid)، ونشر على سطح الطبق باستعمال مسحة قطنية معقمة، وحضنت بدرجة (37) °م مدة (30) دقيقة لكي يحصل التشرب. ولغرض دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية والاجزاء المفصولة والزيوت الطيارة والمضادات الحيوية على نمو الجراثيم، حضرت اقراص من ورق الترشيح (Whatman No.1) بقطر (6) ملم المعقمة واضيف (0.1) سم^3 من كل تركيز (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200) مايكروغرام/سم^3 من المستخلصات والمكونات الفعالة الى قنينة حاوية لـ (10) اقراص معقمة (26). ثبتت الاقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة بوساطة ملقط معقم على وسط اكار مولر-هنتون وحضنت بدرجة حرارة (37) °م مدة (14-16) ساعة (27)، ولبيان حساسية المستخلصات المستخدمة والمكونات الفعالة والمضادات الحيوية (Amoxicillin ، Cephalexin ، Gentamycin)، قيس قطر مناطق التثبيط (24، 25).

اختبار حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المواد الفعالة:

اعتمدت طريقة الباحث (10) في قياس حساسية الجراثيم للمضادات الحيوية بوجود المكونات الفعالة. اذ استخدمت الاقراص المشبعة بالمضادات الحيوية بتركيز (200 مايكروغرام) للمضادات الحيوية (Amoxicillin ، Cephalexin ، Gentamycin) واضيف المستخلص الكحولي بتركيز (200 مايكروغرام) الى القرص نفسه كما موضح في الجدول (1).

وقد اختبرت حساسية الجراثيم قيد الدراسة باتباع طريقة (23)، اذ نقلت (4-5) مستعمرات نقية للجراثيم الى وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة (37) °م مدة (14-16) ساعة وخفف المعلق الجرثومي بالمحلول الملحي الفسلجي وبالمقارنة بالسيطرة القياسية التي تعادل (10^8) خلية/سم^3، نشر (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي على طبق حاوي لوسط اكار مولر-هنتون وباستعمال مسحة قطنية معقمة. تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لكي يحصل التشرب وذلك مدة (30) دقيقة، وحتى تدرس الفعالية التثبيطية للمضادات الحيوية والمستخلص الكحولي معا، وضعت الاقراص المشبعة بوساطة ملقط معقم على الطبق المزروع، وحضنت الاطباق بدرجة (37) °م مدة (18-24) ساعة وقيست منطقة التثبيط للنمو بعد ذلك بحسب توصيات منظمة الصحة العالمية (24، 25).

الجدول (1): يبين تراكيز المضادات الحيوية والمستخلص الكحولي (المادة الفعالة)

المضادات الحيوية + المادة الفعالة	التراكيز المستخدمة
Gentamycin	200 مايكروغرام/قرص
Cephalexin	200 مايكروغرام/قرص
Amoxicillin	200 مايكروغرام/قرص
المستخلص الكحولي	200 مايكروغرام/قرص
Gentamycin + المستخلص الكحولي	200 مايكروغرم + 200 مايكروغرام في القرص
Cephalexin + المستخلص الكحولي	200 مايكروغرم + 200 مايكروغرام في القرص
Amoxicillin + المستخلص الكحولي	200 مايكروغرم + 200 مايكروغرام في القرص

(Pyun et al., 2006)

تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) :

حدد التركيز المثبط الادنى للمستخلصات النباتية والمواد الفعالة المفصولة، وذلك باستخدام اختبار العكارة، اذ حضرت التراكيز (200، 100، 50، 25، 12.5، 6.25) مايكروغرام/سم^3 من كل مستخلص والمكونات الفعالة فضلا عن المضادات الحيوية القياسية و (5:1 ، 10:1 ، 15:1 ، 20:1 ، 25:1 ، 30:1 ، 35:1) سم^3/سم^3 للزيت الطيار او الاساس

واضيف (0.1) سم^3 من كل تركيز الى انبوبة 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 الانابيب بدرجة حرارة (37) °م مدة (14-18) ساعة ثم قيست العكارة باستخدام جهاز المطيـاف الـضوئي بالمقارنة بعينة السيطرة المكونة من (9.8) سم^3 من المرق المغذي و (0.1) سم^3 من المـذيب المستخدم لاذابة المستخلصات والمكونات الفعالة والمضادات الحيوية و (0.1) سم^3 من العالق الجرثومي بتركيز (10^8) خلية/سم^3 (28).

النتائج والمناقشة

اظهرت الدراسة الحالية امتلاك المستخلصات النباتية للبصل وعدد من مكوناتها الفعالـة تاثيرا متباينا في الانواع الجرثومية تبعا لنوع المستخلص ومكوناته الفعالة المفصولة والتراكيز المستخدمة منه.

فقد اظهر المستخلص الكحولي لنبات البصل فعالية تثبيطية على الانـواع الجرثوميـة جميعا المستخدمة في الدراسة كما مبين في الجدول (2) وكان للمستخلص الكحـولي فعاليـة تثبيطية عالية في الجراثيم *Sal. typhi* ، *Sh. flexneri* و *E. coli* مقارنة بالمضاد الحيـوي Cephalexin و Amoxicillin كما موضح في الصورة (1)، اذ كان قطر دائرة التثبيط في التركيز 200 مايكروغرام/سم^3 24 ملم في الجرثومة *Sal. typhi* في حين كان قطر دائـرة التثبيط للمضاد الحيوي Cephalexin في التركيز 200 مايكروغرام/سم^3 21 ملـم. وكانـت فعاليته معتدلة مقارنة بالمضاد الحيوي Gentamycin ، وكان تاثير المـستخلص الكحـولي لنبات البصل فـي الجرثومـة *K. pneumoniae* افـضل مـن تـاثير المـضاد الحيـوي Cepahlexin ومتساويا مع المضاد الحيوي Gentamycin . في حين كان تاثير المستخلص الكحولي للجرثومة *Ps. aeruginosa* افضل من المضادات الثلاثة لان المضادات الحيوية لم تؤثر في هذه الجرثومة. وكانت له فعالية تثبيطية عالية في الجرثـومتين *Staph. aureus* و *B. subtilis* مقارنة بالمضادين الحيويين Cephalexin و Gentamycin وقد تعزى هـذه الفعالية التثبيطية الى احتواء المستخلص الكحولي لنبات البصل علـى المركبـات العـضوية الكبريتية، كما اشار الى ذلك الباحثان (29، 30) اذ تحدثا عن فعاليتهـا المـضادة للجـراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

اظهر المستخلص الاسيتوني لنبات البصل فعالية تثبيطية متساوية في الانواع الجرثومية *Sal. typhi* و*Sh. flexnei* و*E. coli* و*Pr. Mirabilis* مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin كما في الصورة (2)، وفعالية تثبيطية قليلة نوعا ما مقارنة بالمضاد الحيـوي Gentamycin في الانواع نفسها من الجراثيم وفعالية تثبيطية متساوية فـي الجرثومـة *K. pneumonieae*

مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin ، وتاثيرا جيـدا فـي الجرثومـة *Ps. aeruginosa* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية، لان المضادات الحيوية الثلاث لم تؤثر في هذه الجرثومة.

اما فيما يتعلق بالجرثومتين *Staph. aureus* و *B. subtilis* فكانت الفعالية التثبيطيـة للمستخلص الاسيتوني معتدلة مقارنة بالمضادين الحيـويين Cephalexin و Gentamycin وضعيفة مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxicillin كما مبين في الجدول (3) والـصورة (2). وهذا يتفق مع نتائج دراسة (14، 30).

ومن خلال هذه الدراسة تبين ان للزيت الطيار المفصول من البصل فعالية تثبيطية فـي انواع الجراثيم المنتخبة جميعا كما في الجدول (7)، فقد اظهر الزيت الطيار فعاليـة تثبيطيـة متـساوية تقريبـا فـي الانـواع الجرثوميـة *Sal. typhi* و *Sh. flexneri* و *E. coli* و *Pr. mirabilis* مقارنة بالمضاد الحيـوي Cephalexin وفعاليـة عاليـة فـي الانـواع *K. pneumoniae* و *Staph. aureus* و *B. subtilis* مقارنة بالمضاد الحيوي نفسه. وفعالية تثبيطية ضعيفة في الانواع *Sal. typhi* و *Sh. flexeri* و *E. coli* مقارنة بالمضاد الحيـوي Gentamycin وفعالية متساوية تقريبا فـي الانـواع *Pr. mirabilis* و *K. pneumoniae* و *Staph. aureus* و *B. subtilis* كما في الصورة (3) في المضاد الحيوي نفسه، وفعاليـة عالية فـي الانـواع *Sal. typhi* و *Sh. flexneri* و *E. coli* مقارنـة بالمـضاد الحيـوي Amoxicillin وفعالية تثبيطية ضعيفة في الانواع *Staph. aureus* و *B. subtilis* مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxicillin. وفعالية جيدة فـي الانـواع الجرثوميـة *Pr. mirabilis* و *K. pneumonia* و *Ps. aeruginosa* مقارنـة بالمـضاد الحيـوي Amoxicillin لان المضاد نفسه لم يؤثر في هذه الانواع المذكورة. وهذه النتائج تتشابه مع ما وجده الباحث (31) الذي اثبت ان البصل يحتوي على زيوت طيارة وان لـه فعاليـة تثبيطيـة علـى الجـراثيم *Salmonella* و *E. coli* و *Shigella* . كما اشار الباحث (32) الى الفعالية العالية لمركبات الكبريت المفصولة من البصل في الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، اذ اكد الباحـث ان التاثير في الجراثيم السالبة كان اكثر من الموجبة. وقد يعود السبب في القدرة المضادة لهـذه الزيوت الطيارة لنبات البصل الى المجموعات القطبية الفعالة الهيدروكسيلية والـى عنـصر الكبريت الموجود فيها وهذا ما اشار اليه الباحث (33).

اظهر المستخلص الكلوروفورمي لنبات البصل تاثيرا تثبيطيـا ضـعيفا فـي الانـواع الجرثوميـة *S. typhi* و *Sh. flexeri* و *E. coli* و *Pr. mirabilis* و *Staph. aureus* مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية Cephalexin ، Gentamycin و Amoxicillin ، ولم يظهر تاثيرا في الانواع الجرثومية *K. pneumoniae* و *Ps. aeruginosa* و *B. subtilis* كما مبين في الجدول (4) وهذا ما اشار اليه الباحث (30).

اما مستخلص الهكسان الذي فصل من المستخلص الكحولي للبصل، وشخص عدد من المركبات منه مثل (Diallyl disulfide) بـ (Rf = 0.25) و (Diallyl trisulfide) بـ (Rf = 0.5)، وباستخدام تقانة (TLC) فقد اظهر تاثيرا تثبيطيا معتدلا في الانواع الجرثومية *Sal. typhi* و *Sh. flexneri* و *E. coli* و *Pr. mirabilis* مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin وتاثيرا ضعيفا نسبيا مقارنة بالمضاد الحيوي Gentamicin، ولم يظهر المستخلص المذكور تاثيرا في الانواع *K. pneumonia* و *Ps. aeruginosa* و *B. subtilis* كما في الجدول (5)، وهذا يتفق مع دراسة (12). وقد يعود السبب في الفعل التثبيطي الى العناصر الكبريتية الموجودة في مركبات الهكسان التي تكون اواصر هيدروجينية مع المواقع الفعالة للانزيمات الجرثومية وبذلك تؤدي الى تعطيل الفعالية الحيوية للجراثيم (32).

وقد فصل مستخلص كلوريد المثلين من المستخلص الكحولي للبصل اذ اظهر المستخلص المفصول تاثيرا تثبيطيا ضعيفا في الانواع الجرثومية *Sal. typhi* و *Sh. flexneri* و *E. coli* و *Pr. mirabilis* مقارنة بالمضادين الحيويين Cephalexin و Gentamycin وتاثيرا متساويا تقريبا في الجرثومة *Staph. aureus* مقارنة بالمضادين المذكورين، ولم يظهر تاثيرا في الانواع *K. pneumonia* و *Ps. aeruginosa* و *B. subtilis* كما في الجدول (6). وهذه النتائج تتفق مع دراسة (11) في الجراثيم الموجبة ومع دراسة (29) في الجراثيم السالبة.

فيما لم يظهر المستخلص المائي ومستخلص الايثر البترولي والمستخلص البنزيني فعالية مضادة لهذه الانواع الجرثومية المنتخبة، وقد يفسر ذلك على اساس قابلية ذوبان عدد من المكونات الفعالة في مذيب معين وعدم ذوبانه في مذيب اخر.

كما بينت الدراسة الحالية ان المضادات الحيوية القياسية الثلاثة لم تؤثر في الجرثومة *Ps. aeruginosa* كما في الجدول (8) وان الكلام على مقاومة الجرثومة لهذه المضادات الحيوية جاء متماشيا مع دراسة (34) الذي اكد في دراسته على مدى مقاومة الجرثومة *Ps. aeruginosa* لعدد من المضادات الحيوية وقدرتها على تطوير اليات المقاومة للمضادات الحيوية ومنا الواسعة الطيف.

اختبرت حساسية الجراثيم تجاه المضادات الحيوية بوجود المواد الفعالة التي فصلت من نبات البصل، وقد درست ثلاثة انواع من المضادات الحيوية هي Gentamycine و Cephalexin و Amoxicillin ، كما في الجدول (9) والصورة (4)، وقد تبين ان الجراثيم *Sh. flexneri* و *Pr. mirabilis* و *Staph. aureus* اصبحت اكثر حساسية للمضاد الحيوي Gentamicin بوجود المادة الفعالة (المستخلص الكحولي)، اذ كان تاثير

المضاد الحيوي Gentamicin للجرثومة *Sh. flexneri* وحدها 24 ملم في حين اصبح قطر دائرة التثبيط في حالة Combination مع المستخلص الكحولي 28 ملم.

واما الجراثيم *Sal. typhi* و *Staph. aureus* فقد اصبحت اكثر حساسية للمضاد الحيوي Cephalexin بوجود المادة الفعالة، فقد كان تاثير المضاد الحيوي Cephalexin في جرثومة *Staph. aureus* وحدها 15 ملم، في حين اصبح قطر دائرة التثبيط بوجود المادة الفعالة 21 ملم.

واما حساسية المضاد الحيوي Amoxicillin فلم تتغير تجاه الجراثيم المنتخبة بوجود المادة الفعالة. ان ظاهرة التآزر Synergism بين المواد الفعالة للنبات والمضادات الحيوية قد اشار اليها الباحثون (10، 35، 36) الذين توصلوا الى نتائج تؤكد التآزر بين المضادات الحيوية والمواد الفعالة للنباتات الطبية وهذا يتفق مع النتائج التي حصلنا عليها في دراستنا.

اظهرت النتائج ان التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الكحولي للبصل مساو لـ (0.125) مايكروغرام/سم^3 في الجرثومة *Sal. typhi* في حين بلغ (0.25) مايكروغرام/سم^3 في الانواع *Sh. flexneri* و *E. coli* و *Pr. mirabilis* و *Staph. aureus* ، في حين كان الـ (MIC) (0.5) مايكروغرام/سم^3 في الانواع *K. pneumoniae* و *Ps. aeruginosa* وكنا الـ (MIC) في الجرثومة *B. subtilis* (1.0) مايكروغرام/سم^3.

واما فيما يخص الزيت الطيار فقد كان الـ (MIC) مساويا لـ (0.0004) سم^3/سم^3 في الانواع الجرثومية *Sal. typhi* و *Sh. flexneri* و *E. coli* ، وكان في الجرثومتين *Pr. mirabilis* (0.0033) سم^2/سم^2 وفي *Staph. aureus* (0.0005) سم^3/سم^3 في حين كان (0.0006) سم^3/سم^3 في الجراثيم *K. pneumonia* و *Ps. aeruginosa* و *B. subtilis* . ان التركيز المثبط الادنى للمستخلصات الاخرى والمضادات الحيوية القياسية مثبت في الجدول (10).

الجدول (2): تاثير المستخلص الكحولي لنبات البصل بتراكيز مختلفة في الانواع الجرثومية (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز مايكروغرام/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
200	24	23	20	17	14	15	18	14
100	19	20	17	15	11	13	15	10
50	15	17	15	13	9	10	13	-
25	13	14	11	10	-	-	9	-
12.5	8	8	-	-	-	-	-	-
6.25	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) تشير الى عدم وجود فعالية

الجدول (3): تاثير المستخلص الاسيتوني لنبات البصل في الانواع الجرثومية المنتخبة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز مايكروغرام/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
200	21	20	18	16	13	14	17	14
100	18	17	16	12	9	12	14	10
50	14	13	12	9	-	8	12	-
25	10	9	8	-	-	-	8	-
12.5	8	-	-	-	-	-	-	-
6.25	-	-	-	-	-	-	-	-

الجدول (4): تاثير المستخلص الكلوروفورمي لنبات البصل في الانواع الجرثومية المنتخبة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز مايكروغرام/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
200	17	15	14	12	-	-	13	-
100	14	12	11	-	-	-	10	-
50	10	8	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
6.25	-	-	-	-	-	-	-	-

الجدول (5): تاثير مستخلص الهكسان لنبات البصل بتراكيز مختلفة في الانواع الجرثومية (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز مايكروغرام/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
200	18	19	17	16	-	-	16	-
100	14	14	13	11	-	-	12	-
50	11	10	8	-	-	-	3	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
6.25								

الجدول (6): تاثير مستخلص كلوريد المثيلين لنبات البصل في الانواع الجرثومية المنتخبة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز مايكروغرام/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
200	16	17	16	14	-	-	16	-
100	15	14	13	10	-	-	14	-
50	10	11	-	-	-	-	9	-
25			-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
6.25								

الجدول (7): التاثير التثبيطي للزيت الطيار المفصول من نبات البصل في الانواع الجرثومية المنتخبة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

التراكيز سم^3/سم^3	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
0.1	21	20	19	18	14	16	17	13
0.06	18	18	17	16	10	12	14	9
0.05	12	14	13	13	-	-	9	-
0.04	8	10	9	10	-	-	-	-
0.033	-	8	-	8	-	-	-	-
0.028	-	-	-	-	-	-	-	-

الجدول (8): التاثير التثبيطي للمضادات الحيوية القياسية في الانواع الجرثومية المنتخبة (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

انواع المضادات الحيوية (المقارنة)	التراكيز مايكروغرام/مل	انواع الجراثيم							
		S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
Cephalexin	200	21	20	18	16	12	-	15	11
	100	18	17	14	12	-	-	14	-
	50	14	15	12	9	-	-	10	-
	25	9	10	-	-	-	-	-	-
	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamycine	200	25	24	22	18	14	-	16	9
	100	21	21	21	17	9	-	12	-
	50	16	18	17	13	-	-	10	-
	25	11	13	13	9	-	-	-	-
	12.5	8	8	9	-	-	-	-	-
	6.25	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoxicillin	200	15	16	14	-	-	-	19	14
	100	13	13	8	-	-	-	16	11
	50	9	10	-	-	-	-	13	-
	25	-	-	-	-	-	-	8	-
	12.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	6.25	-	-	-	-	-	-	-	13

الجدول (9): تاثير المضادات الحيوية بوجود المستخلص الكحولي لنبات البصل (المادة الفعالة) (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

المضاد الحيوي + المستخلص الكحولي	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
Gentamycin 200 مايكروغرام	25	24	22	18	-	-	16	13
المستخلص الكحولي 200 مايكروغرام	24	23	20	17	14	15	18	14
Gentamycin + المستخلص الكحولي	25	28	21	21	16	15	20	13
Cephalexin 200 مايكروغرام	21	20	18	16	13	-	15	12
المستخلص الكحولي 200 مايكروغرام	24	23	20	17	14	15	18	14
Cephalexin + المستخلص الكحولي	26	22	20	17	16	14	21	13
Amoxicillin 200 مايكروغرام	15	16	13	-	-	-	20	15
المستخلص الكحولي 200 مايكروغرام	24	23	20	17	14	15	18	14
Amoxicillin + المستخلص الكحولي	23	23	20	17	14	14	20	15

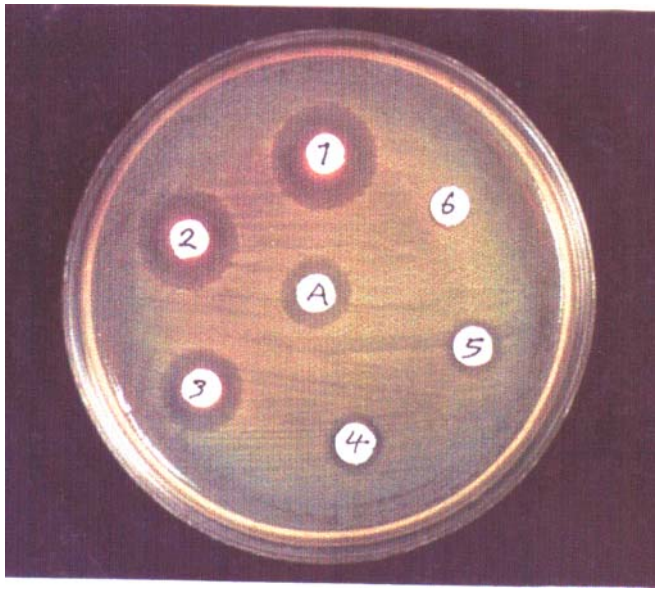
قطر دائرة التثبيط للمضاد الحيوي وحده

قطر دائرة التثبيط للمستخلص الكحولي وحده

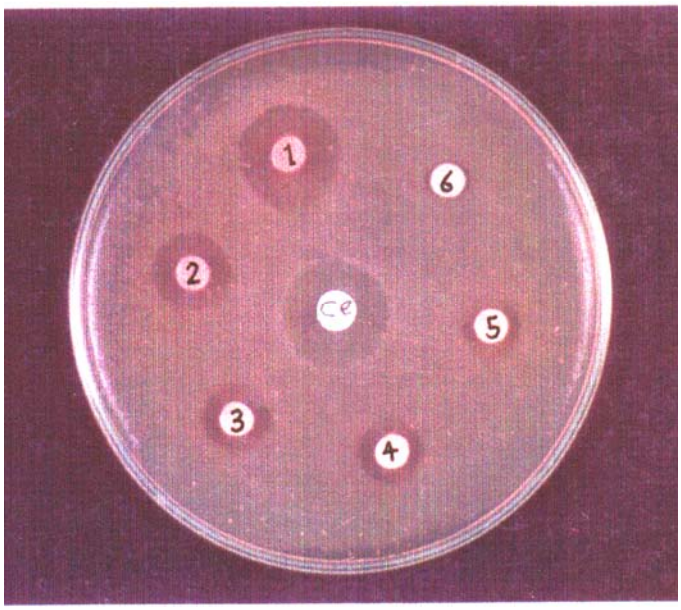
قطر دائرة التثبيط (المضاد الحيوي + المستخلص الكحولي) (Pyun *et al*., 2006)

الجدول (10): التركيز المثبط الادنى (MIC) لمستخلصات نبات البصل ومكوناتها الفعالة والمضادات الحيوية القياسية في الجراثيم المنتخبة

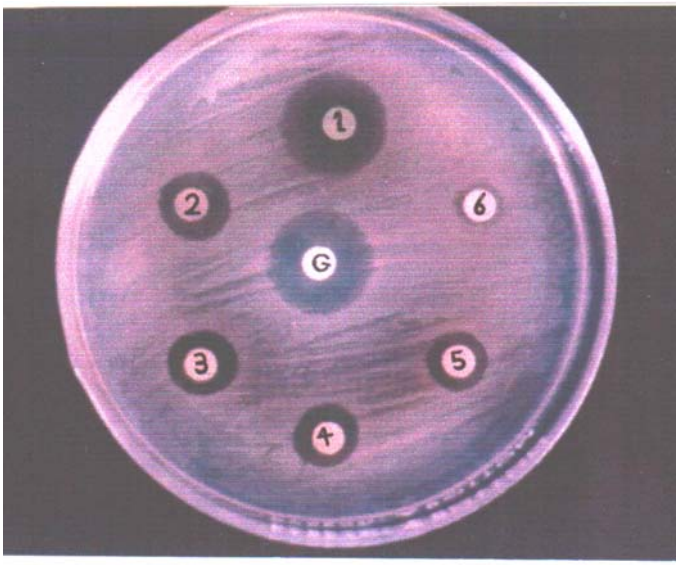
انواع المستخلصات ومكوناتها الفعالة والمضادات الحيوية	انواع الجراثيم							
	S. typhi	*Sh. flexneri*	*E. coli*	*Pr. mirabilis*	*K. pneumoniae*	*P. aeruginosa*	*Staph. aureus*	*B. subtilis*
	0.5	1.0	1.0	-	-	-	-	-
المستخلص الكحولي	0.125	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	1.0
المستخلص الاسيتوني	0.125	0.25	0.25	0.5	1.0	0.5	0.25	1.0
المستخلص الكلوروفورمي	0.5	0.5	1.0	2.0	-	-	1.0	-
مستخلص الهكسان	0.5	0.5	0.5	1.0	-	-	0.5	-
مستخلص كلوريد المثيلين	0.5	0.5	1.0	1.0	-	-	0.5	-
الزيت الطيار	0.0004	0.0033	0.0004	0.0033	0.0006	0.0006	0.0005	0.0006
Cephalexin	0.25	0.25	0.5	0.5	2.0	-	0.5	2.0
Gentamycin	0.125	0.125	0.125	0.25	1.0	-	0.5	1.0
Amoxicillin	0.5	0.5	1.0	-	-	-	0.25	1.0



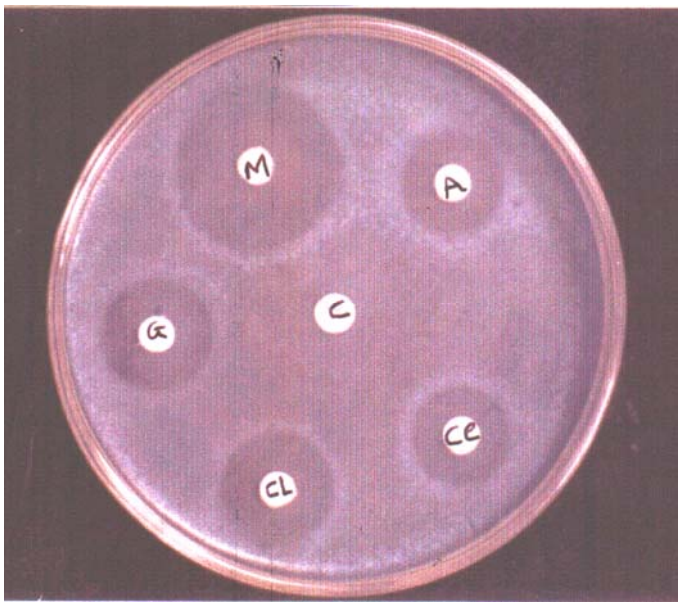
الصورة (1): تاثير المستخلص الكحولي للبصل بتراكيز مختلفة في جرثومة *Sh. flexneri* .
1. (200 مايكروغرام/سم^3)، 2. (100 مايكروغرام/سم^3)، 3. (50 مايكروغرام/سم^3)، 4. (25 مايكروغرام/سم^3)، 5. (12.5 مايكروغرام/سم^3)، 6. (6.25 مايكروغرام/سم^3) مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxicillin



الصورة (2): تاثير المستخلص الاسيتوني للبصل بتراكيز مختلفة في الجرثومة *S. typhi* مقارنة بالمضاد الحيوي Cephalexin



الصورة (3): تاثير الزيت المفصول من البصل بتراكيز مختلفة في الجرثومة*Pr. Mirabilis* مقارنة بالمضاد الحيوي Gentamycin



الصورة (4): يبين التآزر الموجود بين المضاد الحيوي Gentamycin والمادة الفعالة لنبات البصل (المستخلص الكحولي) في الجرثومة *Sh. flexneri*

A = Amoxicillin لوحده 200 مايكروغرام/سم^3

Ce = Cephalexin لوحده 200 مايكروغرام/سم^3

G = Gentamycin لوحده 200 مايكروغرام/سم^3

Cl = المستخلص الكحولي لوحده 200 مايكروغرام/سم^3

M = Gentamycin + المستخلص الكحولي 200 مايكروغرام/سم^3

C = قنطرول المذيب DMSO

المصادر

1. عرموش، هاني، الامراض الشائعة والتداوي بالاعشاب. دار النفائس، بيروت، لبنان، 1998.
2. Sharquie K.E. and Al-Obaidi H.L., Onion juice (Allium cepa L.) a new topical treatment for alopeci areata. J. Dermatol., (6): 343-346, 2002.
3. Dorsch W. and Wagner H., New antiasthematic drugs from traditional medicine. J. International Archives of Allergy and Applied Immunology, 94: 262-265, 1991, Abstract.
4. Grover J.K., Yadav S. and Vats V., Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J. of Ethnopharmacology, 81: 81-100, 2002.
5. Ingrid A. and Jacques A., Seleno-Compounds in garlic and onion. J. of Chromatography A, 1112: 23-30, 2006.
6. الزبيدي، زهير نجيب، فليح، فارس كاظم وبابان، هدى عبد الكـريم. دليـل العـلاج بالاعشاب الطبية العراقية. دار الكتب والوثائق، بغداد، 1996.
7. سومان، لانا. التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية من الطب العربـي القـديم. مجلـة المجلس العربي للاختصاصات الطبية، 4(2): 53-56، 2001.
8. Saleheen D., Ali A.S. and Masoom M.Y., Anti-leishmanial activity of aqueous onion extract in vitro. Fitoterapia, 75: 9-13, 2004.
9. Ghahfarokhi M. and Mohammad R.N., In vitro antifungal activities of Allium cepa, Allium sativum against some pathogenic yeasts and dermatophytes. Fitoterapia, xx: 1-3, 2006.
10. Pyun M.S. and Shin S., Antifungal effects of the volatile oils from Allium plants against Trichophyton species and synergism of the oils with ketoconazole. Phytomedicine, 13: 394-400, 2006.
11. حسين، سهى حسين احمد. التاثير البايولوجي لبعض المستخلصات النباتيـة ومكوناتهـا الفعالة في نمو ثلاث انواع من الجراثيم المعزولة من اللوزتين. رسالة ماجستير، كليـة التربية، جامعة الموصل، 2001.
12. Kim J.H., Antibacterial action of onion (Allium cepa L.) extracts against oral pathogenic bacteria. J. Nihon Univ. Sch. Dent., 39(3): 136-141, 1997.
13. Martines M.J., Brtancourt J., Alonsogon, Zalez N. and Jaure A., Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol., 53(3): 171-174, 1996.
14. Sokmen A., Jones B. and Erturk M., The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. J. Ethnopharmacol., 67: 79-86, 1999.

15. Riose J.L., Recio M.C. and Villar A., Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. J. Ethnopharmacol., 12: 139-152, 1987.
16. Grand A., Woudergem P.A., Verpoortes R. and Pousset J.L., Anto-infections phytotherapies of tree savannah Senegal (West-Africa) II-Antimicrobial activity of 33 species. J. Ethnopharmacol., 22: 25-31, 1988.
17. Verpoorte R., Tginastoi A., Vandoorn H. and Svendsen A.B., Medical plant of serinam, L-antimicrobial activity and some medicinal plant. J. Ethnopharmacol., 5: 221-226, 1982.
18. الرمضاني، طلعت ابراهيم. دراسة كيميائية بعض النباتات العراقية التـي تنمـو فـي المنطقة الشمالية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق، 1999.
19. Block E., Ahmad S., Catalforma J.L., Jain M.K. and Anizcostro R. Antithrombotic organosulfur compounds from garlic, structural, mechanistic and synthetic studies. J. Am. Chem. Soc., 108: 7045-7055, 1986.
20. Langler R.F., Chromiumtrioxid-acetic acid as a spray for organo sulfur compounds. J. Chrom., 104: 228-230, 1975.
21. Block E., Ahmed S., Jain M.K., Crecely R.W., Aplix-Castro R. and Gruz M.R., E,Z-Ajoene: A potent antithrombotic agent from galic. J. Am. Chem. Sos., 106: 8295-8296, 1984.
22. النعمان، اديبة يونس شريف، التاثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية علـى نمـو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، 1998.
23. Bauer A.W., Kirbay W.A.W., Sherris J.S. and Turk M., Antibiotic susceptibility by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496, 1966.
24. Vandepitte J., Engback K., Piot P. and Heuk C., Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization, Geneva, 1991.
25. Garrod L.P., Lambert H.P. and Grady F.O., Antibiotic and Chemotherapy. 5th ed., Churchill Livingstone, New York, 1981.
26. Rahman M. and Gul S., Antibacterial activity of hydrodistilled essential oils of psammayeton canescens N.O. Umbelliferae. J. Biotechnology, 1(1): 55-60, 2002.
27. Prescott L.M. and Harley J.P., Laboratory Exercises in Microbiology. 3rd ed., WVB McGraw-Hill, Lowa, USA, 1996.
28. Richards R.M.E., Xing D.K.L. and King T.P., Activity of p-aminobenzoic acid compared with other organic acids against selected bacteria. J. Applications Bact., 78: 209-215, 1995.

29. Mehrabian S. and Yazdy H., Antimicrobial activity of Allium sativum, Allium cepa, Allium porrum, against Enteric pathogens. Fitoterapia, 77: 321-323, 2006.
30. Basaran D. and Amed G., Animicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. Asian J. of Plant Sciences, 3(1): 104-107, 2004.
31. Nakatani N., Antioxidative and Antimicrobial Constituents of Herbs and Spices. Elsevier Science B.V., 251-271, 1997.
32. Benkeblia N., Antimicrobial activity of essential oil extract of various onion (Allium cepa) and galic (Allium sativum). J. of Technol., 37: 263-268, 2004.
33. Settineri R.A. and Krassner S.M., Anitmicrobial effects of plant-derived essential oil formulations on pathogenic bacteria. J. Am. Nutraceutical Association, 6(3): 27-31, 2003.
34. خلف، صبحي حسين، دراسة حساسية جرثومة Ps. Aeruginosa المعزولة من حالات التليف الكيسي لمختلف المضادات الحيوية. مجلة علوم الرافدين، المجلد 16، العـدد 7، ص207-214، 2005.
35. Rhee G.J. and Kim E.H., Activities of Ketonic fraction from Leptospermumscoparum alone and synergism in combination with some antibiotics against various bacterial strains and fungi. Yakhak Hoeji, 43: 716-728, 1999.
36. Shin S., Anti-Aspergillus activities of plant essential oils and their combination effects with ketoconazole or amphotericin B. Arch. Pharm. Res., 26: 389-393, 2003.