



جامعة الموصل  
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة تأثير البعض من المستخلصات النباتية والكيميائية  
على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان  
من الناحية البايولوجية الجزيئية

نوار طلال حامد عزيز الصفاوي

اطروحة دكتوراه  
علوم حياة/ علم النبات

بإشراف

أستاذ

د. عبدالرزاق خضر محمود

أستاذ

د. خالد دحام أحمد

2017 م

1439 هـ

## الخلاصة

تم جمع مائه وعشرة عينة مرضية من المرضى المراجعين لمستشفيات السلام وابن سينا والجمهوري لمدينة الموصل خلال فترة ثلاثة اشهر (أب وايلول وتشرين الاول) من سنة 2012. أخذت العينات من مرضى مصابين بالتهابات الأذن، والحروق، والجروح، والتهابات المجاري البولية، والاسهال.

تم عزل البكتريا وتشخيصها باستخدام الصفات المورفولوجية والزرعية والاختبارات البايوكيميائية فضلاً عن اختبار API20 والاختبار بنظام Vitek2 .  
تم الحصول على 78 عزلة بكتيرية تنتمي الى أنواع مختلفة ، انتخبت 53 عزلة منها تعود إلى خمس أنواع من البكتريا واختيارها للدراسة ، البكتريا هي الزوائف الزنجارية *pseudomonas aeruginosa* 20 عزلة ( 25.6 % )، والايشريشيا القولونية *Escherichia coli* 14 عزلة ( 17.9 %). والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* 13 عزلة ( 16.7 % ) و بكتريا المتقلبات الرائعة *Proteus mirabilis* 5 عزلة ( 6.4 %). وبكتريا التايفوئيد *Salmonella typhi* 1 عزلة ( 1.28 % ) . فضلاً عن عزلتين لبكتريا *Bacillus cereus* التي تم الحصول عليها من بنك العزلات البكتيرية التابع لقسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل. اما بقية العزلات البالغة 23 عزلة والتي تنتمي لانواع اخرى من البكتريا فقد تم اهمالها.

اختبرت حساسية ومقاومة العزلات البكتيرية قيد الدراسة لـ 10 مضادات حيوية وهي Amoxicillin و Ampicillin و Chloramphenicol و Erythromycin و Gentamicin و Refampicin و Streptomycin و Tetracycline و Trimethoprim و Nalidixic acid و 4 أملاح للمعادن الثقيلة وهي كلوريد الزئبق و HgCl<sub>2</sub> و كلوريد النيكل NiCl<sub>2</sub> وكلوريد الكاديوم CdCl<sub>2</sub> وكلوريد الكوبلت و CoCl<sub>2</sub>. لقد أظهرت العزلات البكتيرية مقاومة متباينة لأغلب المضادات الحيوية وأملاح المعادن الثقيلة . علاوة على ذلك تم اختيار عزلة واحدة من كل نوع من البكتريا التي اظهرت مقاومة متعددة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة لإجراء التجارب اللاحقة.

حضرت المستخلصات المائية والايثانولية لكل من الأوراق الكأسية لأزهار نبات الكوجرات *Pganum Calyx Hibiscus sabdariffa L.* و بذور نبات الحرمل *Callistemon viminalis leaves* و أوراق نبات فرشاة البطل *harmala seeds*

ومسحوق حمض الليمون Citric acid powder . تم التحري عن التأثير التثبيطي للنمو للمستخلصات النباتية المحضرة على أنواع البكتريا المختارة وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأكار Agar wells diffusion method وطريقة قياس العكارة Turbidity measurement method . معظم المستخلصات النباتية والكيميائية المحضرة أظهرت بشكل واضح فعالية مثبطة للنمو تم تقديرها بقياس منطقة التثبيط بالمليمتر للبكتريا المدروسة. وأوضحت النتائج التي تم الحصول عليها بأن الفعالية المثبطة للنمو تزداد بزيادة تركيز المستخلصات. بينما لم تظهر كل من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبكتريا *Proteus mirabilis* استجابة تجاه المستخلص المائي لبذور الحرمل *Peganum harmala* seeds بالإضافة الى المستخلص المائي لأوراق نبات فرشاة البطل الذي ايضا لم يكن له استجابة تثبيطية على كل من بكتريا *E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus mirabilis*.

تم توصيف محتوى الحمض النووي البلازميدي Plasmid DNA للعزلات البكتيرية المختارة، وأظهرت النتائج وجود بلازميدات باحجام مختلفة ظهرت على هلام الأكاروز بعد إجراء الترحيل الكهربائي Electrophoresis.

إن التركيز تحت المثبط الأدنى (Sub-MIC) Sub minimum inhibition concentration للمستخلصات النباتية والكيميائية استخدم كعامل محيد لإزالة مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة للأنواع البكتيرية قيد الدراسة. تم الحصول على قيم متباينة لنسبة فقدان المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة كنتيجة لمعظم فعالية المستخلصات لكن لم تظهر بعض المتسخلصات فعالية محيدة.

دعمت نتائج تجارب التحييد من خلال توصيف الحمض النووي البلازميدي على هلام الأكاروز للعزلات المحييدة. الهجرة الكهربائية أظهرت اختفاء لحزم الحمض النووي البلازميدي من هلام الأكاروز مقارنة مع العزلات غير المحييدة. كما قدر محتوى الحمض النووي البلازميدي ومحتوى الحامض النووي الرايبوزي الكلي Total RNA والبروتين الكلي للأنواع البكتيرية المحييدة وغير المحييدة. لوحظ انخفاض كبير في قيم هذه الجزيئات للعزلات المحييدة التي تعطي دعماً أحرأ على المستوى الجزيئي للفعالية المحييدة للمستخلصات النباتية والكيميائية.

واظهرت المستخلصات المحضرة تأثيراً ملحوظاً على نمو وحيوية الأنواع البكتيرية والتي اصبحت واضحة بقياس قيم العكورة وتقدير عدد وحدة تشكيل المستعمرة (CFU) لكل ملتر لمزارع الأنواع البكتيرية المحييدة وغير المحييدة.

## Summary

A hundred and ten pathogenic samples were collected from in and out patients of Al –Salam and Ibn- Sena hospitals within a time period lasted three months (August,September,October) 2012. These patients suffering from otitis, wounds, burns, urinary tract infections and diarrhea.

Bacteria were isolated from these samples and identified using morphological, cultural characters and biochemical tests. In addition, the API 20 and the Vitek 2 compact systems were utilized for this purpose.

Seventy six bacterial isolates belonging to various species were obtained but fifty three of them related to five species were chosen for this study. These are *Pseudmonas aeruginosa* 20 (25.6%), *Echerichia coli* 14 (17.9 %), *Staphlococcus aureus* 13 (16.7%),*Proteus mirabilis* 5(6.4%), and *Salmonella typhi* 1(1.3%) . Moreover, two isolates of *Bacillus cereus* were taken from Bacterial Isolates Bank in Biology Department , College of Science, Mosul University.

The resistance and sensitivity of the isolates understudy were tested for 10 antibiotics , Amoxicillin, Ampicillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamycin, Rifampicin, Streptomycin, Tetracyline,Trimethprim and Nalidixic acid and 4 heavy metals salts, HgCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub> and CdCl<sub>2</sub>. Variation in resistance appeared by the isolates. Moreover, one isolate from each bacterial species with multiple resistance to antibiotics and heavy metals was chosen for the following experiments.

The aqueous and ethanol extracts were prepared from *Hibiscus sabdariffa L- calyx* , *Peganum harmala seeds*, *Callistemon viminalis* leaves and Citric acid powder. The growth inhibitory action of these extracts were examined on the chosen bacterial species by using agar diffusion and turbidity measurments methods. Most of the prepared plant and chemical extracts had a clear growth inhibitory actions which estimated in millimeter of the inhibitory zone on the tested bacteria. It is obvious from the results obtained that the inhibitory action values increased as the concentrations of the extracts raised.

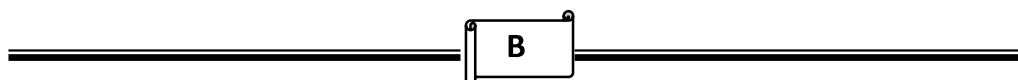
While no response by the tested *Ps. aeruginosa* and *P. mirabilis* to the aqueous extract of the *Paganum harmala* seeds. Also, the aqueous extract of the *Callistemon viminalis* leaves had no inhibitory effect on *E. coli*, *Ps. aeruginosa* and *P. mirabilis*.

Characterization of the plasmid DNA content of the chosen bacterial isolates were carried out. Different sizes of plasmid DNA appear in the agarose gel after electrophoresis were observed.

The sub-inhibitory concentrations of the prepared Plant and chemical extracts were used as curing agent to remove the antibiotics and heavy metals resistance of the bacterial species under study. Various percentages values of losing antibiotics and heavy metals resistance were obtained as the result of most extracts actions but still some of the extracts had no curing action.

The results of the curing experiment were supported by characterizing the plasmid DNA in agarose gel from the cured isolates. Plasmid DNA bands disappear from the gel after electrophoresis as compared with those in uncured isolates. Furthermore, plasmid DNA content, total RNA and total proteins concentrations were estimated in cured and uncured bacterial species. Considerable reduction in the values of these molecules were observed in the cured isolates which give another support at molecular level for the curing action of the plants and chemical extracts.

Lastly, these prepared extracts had a remarkable effect on growth and viability of the bacterial species and this is become very clear by measuring the turbidity values and estimating the number of the colony forming unit (C.F.U.) per milliliter of the culture in the cured and uncured species.



**University of Mosul**  
**College of Education**  
**for Pure sciences**



**Study the Effect of Some Plant and  
Chemical Extracts on Some  
Bacterial Pathogens of Humans at  
Molecular Aspect**

**Nawar Talal Hamid Al-Saffawi**

Ph. D. Thesis

Biology/ Botany

Supervised by

Professor

Dr. Khalid Daham Ahmed

Professor

Dr. Abdel Razaq Khdher  
Mahmood

**2017 A.D**

**1439 A.H**