دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات لسان الثور *Borage officinalis* ضد بكتريا *Staphylococcus spp.* و *Streptococcus pyogenes*

رنا مجاهد عبدالله* هبة قاسم حميد* عاصفة علي**

*قسم علوم الحياة - كلية التربية ابن الهيثم للعلوم الصرفة - جامعة بغداد

**مستشفى الطفل المركزي

الخلاصة

تم تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي (الساخن) لاوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* تجاه انواع من البكتريا الموجبة لصبغة كرام والمتضمنة العزلات *Staphylococcus* *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pyogenes* , *epidermides* واظهرت النتائج فعالية ضد مايكروبية لكلا المستخلصين على انواع البكتريا قيد الدراسة. وقد تم الكشف عن بعض المركبات الفعالة في اوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* وقد وجد احتواء هذه الاوراق على (التانينات ، القلويدات ، الراتنجات ، الصابونيات ، الفينولات ، الفلافونيدات والكلايكوسيدات). كذلك تم دراسة حساسية هذه العزلات لبعض المضادات الحيوية وكان اغلبها مقاومة لمضادات السفتازيديم والكلورامفينيكول والامبسلين والاموكسسلين والسيفوتاكسيم في حين كانت العزلات حساسة لمضادات الاموكسيسيلين /حامض كلافيولونك والبنسيلين (G) ، وقد اظهرت جميع العزلات حساسية لمضادات النورفلاكسين والجنتامايسين بنسبه 100 % . اظهرت النتائج فعالية تازريا عند خلط مضاد Ceftazidime و Amoxicillin مع كل من المستخلص المائي والكحولي (الساخن) لاوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* على انواع من البكتريا المختلفة قيد الدراسة.

كلمات مفتاحية : *Borago officinalis* ، الفعالية التثبيطية ، البكتريا الموجبة لصبغة كرام.

دراسة فعالية مستخلص اوراق نبات لسان الثور *Borage officinalis* ضد بكتريا
Staphylococcus spp. و *Streptococcus pyogenes*

رنا مجاهد عبدالله هبة قاسم حميد عاصفة علي

Antimicrobial activity of *Borago officinalis* leaves extract against *Staphylococcus Spp*. and *Streptococcus pyogenes*

Rana Mujahid Abdullah* **Hiba Qasim Hameed*** **Asifa Ali****

*Department of Biology - college of Education Ibn- Al Haitham -University of Baghdad

**Central Teaching Hospital of Peadiatric

Received 6 March 2016 ; Accepted 19 June 2016

Abstract

The current study was conducted to evaluate the antimicrobial activity of Aqueous and alcoholic extracts (hot) of *Borago officinallis* leaves against types of bacteria that include *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides* and *Streptococcus payogene*, the results showed inhibitory effect of both extracts against bacteria. A photochemical screening of both extracts was revealed the presence of (Tannins, Alkaloids, Risine , Saponin , Phenols , Flavonoides and Glycosides). Sensitivity test of isolates to antibiotics was studied and most of them were resistance to Ceftazidim, Chloramphinicol, Cefotaxime, Amoxicillin and Ampicillin. Most of isolates were sensitive to Amoxicillin /Clavulanic acid and Penicillin (G). All the isolates showed high sensitivity to Norfloxacin and Gentamicine 100%. The results show Synergism effect when Combination of Ceftazidime and Amoxicillin with hot (aqueous and alcoholic) extracts of *Borago officinalis* on the different type of bacteria.

Key word: *Borago officinalis*, Antimicrobial, Gram positive bacteria.

المقدمة

ان استخدام المستخلصات النباتية لعلاج الكثير من الامراض ازدادت في الوقت الحاضر خاصة بعد زيادة مقاومة البكتريا للمضادات الجرثومية المسببة للامراض والتي تسبب مشكلة كبيرة على صحة الفرد سواء في البلدان المتقدمة اوالنامية [1 ، 2] اظهرت الدراسات ان بكتريا *S. aureus* تعد من اشد المكورات العنقودية امراضية فهي تتمكن من احداث الاصابة بالجهاز التنفسي اضافة الى بكتريا *Streptococcus spp.* المسببة لمرض ذات الرئة (Pneumonia) والتهابات البلعوم ، كما وتسبب التهاب السحايا والتهاب الثدي والتهابات المجاري البولية [3 ،4] ولعلاج هذه الامراض تستخدم الكثير من المضادات الجرثومية الا ان الاستخدام المتزايد لهذه المواد والذي غالبا مايكون عشوائيا ولمده طويلة ادى الى ظهور تاثيرات جانبية تضر بصحة الفرد من جهة وظهور سلالات مقاومة للمضادات الجرثومية من جهة اخرى [5 ، 6] ةان احتواء النبات على مجموعة من المركبات الفعالة والتي عرفت منذ القدم في علاج العديد من الامراض كما واظهرت بعض الدراسات ان لبعض النباتات لها فعالية فسلجيه ودوائيه واسعه وكعوامل حماية وحفظ للاغذية فهي تمثل بدائل طبيعية للمواد الكيميائية المستخدمة سواء في مجال الادوية او في مجال حفظ الاغذية او اطالة عمرها عند الخزن وذلك باستخدام المضافات الطبيعية ذات الفعالية المضادة للبكتريا من قبل اصحاب مصانع الاغذية والباحثين في مجال الغذاء فهي امنة الاستعمال والاثار الجانبية التي تحدثها اقل ضررا بالمقارنة مع العقاقير الصناعيه [7].

يعد نبات لسان الثور (*Borago officinalis* L.) الذي يدعى محليا بالورد ماوي من النباتات العشبية الحولية من العائلة الجمجمية (Boraginaceae) ويسمى كذلك *Anchusa officinalis* ، يبلغ ارتفاع النبات حوالي (50 – 80) سم وهو نبات غض كثير الشعيرات وتكون الازهار منفصلة وقائمة كما تكون الاوراق عريضة ذات لون ازرق فاتح [8 ، 9]. ينتشر النبات بصورة واسعة في بلدان البحر المتوسط وهو مواطن لاوربا وجنوب افريقيا [10] ونظرا لطبيعة التركيب الكيميائي لنبات لسان الثور فقد ظهرت له عدة استعمالات في مجالات الصناعات الدوائية والغذائية اذ يعد من الاعشاب التي تستخدم بمثابة توابل اضافة الى انه يستخدم في المشروبات والسلطات [11]، كما يستخدم في علاج العديد من حالات الضعف والاعتلال الجسدي كالحمى ويستخدم لتنشيط القلب ويستعمل لعلاج الامراض التنفسية [12 ، 13].

ومن هنا جاء هدف هذه الدراسة لدراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي (الساخن) لنبات لسان الثور *Borago officinalis* ضد بعض انواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام.

المواد وطرائق العمل

جمع اوراق النبات :

جمعت اوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* من السوق المحلية في بغداد وتم تشخيصها من قبل مختصين بتصنيف النبات وتم غسل الاوراق بالماء لازالة الاتربة والشوائب منها وجففت في الهواء الطلق ثم طحنت بمطحنة كهربائية وحفظت في الثلاجة بعلب زجاجية محكمة الغلق ومعقمة لحين الاستخدام.

مصادر العزلات:

تم الحصول عزله واحدة لكل من *Staphylococcus aureus* ، *Staphylococcus epidermidis* ، *Streptococcus pyogenes* من مستشفى الطفل المركزي والتي عزلت من حالات التهاب البلعوم خلال شهر ايلول 2015.

فحص الحساسية للمضادات الحيوية :

اعتمدت طريقة Disk diffusion method المذكورة في [14] لاجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية وباستعمال وسط Mueller Hinton agar وشملت كل من Amoxicillin ، Norfloxacin (30µg)، Ceftazidime (30µg) ، Penicillin G (10u) ، Gentamicin (10µg), Choloramphinicol(10µg) ، /clavulanic acid (30µg) Amoxicillin (25µg) ، Ampicillin (10µg) ، Cefotaxime (30 µg) (Bioanalysis , Turkey) وتمت مقارنة النتائج مع الجداول القياسية المذكوره في [15] لتحديد قطرمنطقة التثبيط.

الكشف عن المركبات الفعالة :

تم اتباع الطرق التالية للكشف عن المركبات الفعاله :- القلويدات Alkaloids : باتباع طريقة [16] تتم العملية بغليان (10) مل من مسحوق النبات مع (50) مل ماء مقطرمحمض (4%) من حامض الهيدروكلوريك ثم يرشح المحلول وبعد التبريد يؤخذ (0.5) مل من الراشح ويضاف اليه كاشف واكنر،الفلافونات Flavonoides : باتباع طريقة [17] يتكون من محلولين ، المحلول الاول من اذابة (10) غم من النبات في كحول اثيلي(95%) ، اما المحلول الثاني يتكون من(10) مل من الكحول الاثيلي (50%) الى (10) مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (50%) وعند المزج بين المحلولين يظهراللون الاصفردليل على وجود الفلافونات ، الراتنجات Risine : باتباع طريقة [18] يضاف (50) مل من الكحول الاثيلي (95%) الى(5)غم من مسحوق النبات ويسخن بحمام مائي لمدة(2) دقيقة ثم يرشح ، ويضاف للراشح (100) مل ماء مقطر محمض بحامض الهيدروكلوريك وبتعكرالمحلول يدل على وجود الراتنجات، التانينات Tannins: باتباع طريقة [18] تتم عمليه غليان(10) غم من مسحوق النبات في (50) مل ماء مقطر لعدة دقائق وبعدها تتم عملية الترشيح ويقسم الراشح الى قسمين يضاف الى الجزء الاول محلول (1%) من خلات الرصاص ويدل وجود التانينات راسب هلامي القوام ، بينما يضاف الى الجزء الثاني محلول(1%) من كلوريد الحديديك ويدل اللون الاخضرالمزرق على وجود التانينات ، الكلايكوسيدات Glycosides : باتباع طريقة [18]مزجت اجزاء متساوية من المستخلصات النباتية مع كاشف بندكت وظهورراسب احمر دليل على وجود السكريات في هذه المستخلصات، الصابونيات Saponine : باتباع طريقة [18] يرج المحلول المائي لمسحوق النبات بشدة في انبوب اختبار ويستدل على وجود الصابونين بظهوررغوة كثيفة ، الفينولات Phenols : باتباع طريقة [19] .

تحضير المستخلص المائي الساخن :

تم استخدام الطريقة المذكورة في [20] وذلك بوزن (20) غم من مسحوق نبات لسان الثور (الورد ماوي) ووضعها في Thumble في جهاز الاستخلاص (Soxhlet apparatus) باستعمال الماء المقطر المعقم بحجم (150) مل كمذيب بدرجة حرارة (80) ْم ، واستمرت عملية الاستخلاص لمدة ثلاث ساعات بعد ذلك جفف المستخلص عند (50-60) ْم وجمع المستخلص الجاف بانابيب معقمة وحفظ لحين الاستعمال.

تحضير المستخلص الكحولي الساخن :

اتبعت نفس الطريقة اعلاه ولكن باستعمال كحول الايثانول بحجم (150) مل كمذيب بدرجة حرارة (60) ْم واكملت نفس الخطوات للحصول على المستخلص ثم جفف المستخلص بدرجة حرارة (50-60) ْم .

تحضير تراكيز من مستخلصي نبات لسان الثور (الكحولي والمائي) الساخن : تم تحضير محلول خزين Stock solution من كل من المستخلص المائي الساخن والمستخلص الكحولي الساخن لنبات لسان الثور اذ تم نقل (1) غم من كل مستخلص على حدة الى دورق سعة (100) مل واكمل الحجم الى (100) مل بالماء المقطر وعقم باستخدام مرشحات ذات قطر 0.22 مايكروميتر. وحضرت تراكيز 1000 , 2000, 3000 جزء بالمليون ppm [21].

دراسة الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من مستخلصات نبات لسان الثور : اختبرت حساسية العزلات الثلاثة تجاه المستخلصين (المائي والكحولي) الساخن لنبات لسان الثور اذ لقح سطح الطبق الحاوي على وسط Mueller Hinton agar بوساطة مسحة قطنية معقمة (Cotton swap) بالعالق البكتيري الحاوي 1.5 * 10^8 مستعمرة / مل ، عملت حفر بقطر (5) ملم على سطح الوسط الزرعي بوساطة ثاقب الفلين المعقم ووضع 20 مايكروليتر من كل مستخلص على حدة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24ساعة ، حددت فاعلية المستخلصات بقياس معدل قطر مساحة التثبيط الناتجة حول كل حفرة بالملمتر[22].

دراسة خلط المضاد الحيوي مع المستخلص :-

تم خلط كل من مضادات Amoxicillin ، Ceftazidim مع المستخلص الخام لذبات لسان الثور *Borago officinalis* الكحولي والمائي (الساخن) وباتباع طريقة رقعة الشطرنج وبأستخدم وسط صلب من مولر- هنتن Mueller Hinton agar وحضرت التخافيف المماثلة للتخافيف في فحص تحديد التركيز المثبط الأدنى لكل مضاد جرثومي والمستخلص وحسب ما ورد في [23] وتم حساب المعامل الجزيئي لتثبيط التركيز (FIC) لاختبار رقعة الشطرنج من خلال المعادلة :-

$$FIC = \frac{\text{MIC للمضاد او المستخلص في الخليط}}{\text{MIC للمضاد او المستخلص لوحدة}}$$

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج ان كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* ، *Staphylococcus epidermidis* ، *Streptococcus pyogene* مقاومة لمضادات Ceftazidim ومضاد Amoxicillin ومضاد Ampicillin ومضاد Cefotaxime في حين اظهرت جميع العزلات حساسية عالية لمضاد Norfloxacin ومضاد Gentamicin كما اظهرت بكتريا *S. aureus* و *St. pyogene* حساسية عالية لمضاد Amoxicillin / clavulanic acid ومضاد Penicillin G بينما اظهرت بكتريا *S. epidermidis* مقاومة لهذا المضاد واظهرت النتائج مقاومة كل من بكتريا *S. aureus* و *St. pyogene* لمضاد Chloramphinicol في حين اظهرت بكتريا *S. epidermidis* حساسية لهذا المضاد كما موضح في جدول (1). واتفقت هذه النتائج مع [24]. واظهرت الدراسات ان سبب مقاومة البكتريا للمضادات الجرثومية المختلفه يعود لعده اسباب منها تغيير في نفاذية الغشاء السايتوبلازمي او تغيير في موقع الهدف الذي يعمل علية المضاد اضافة الى انتاج البكتريا لانزيمات البيتالاكتاميزالذي يجعلها مقاومة لاغلب انواع البنسلينات [25] [26] [27] واظهرت الدراسات ان الاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية ومن دون اكمال مدة العلاج يؤدي الى زيادة مشكلة المقاومة من قبل البكتريا [28].

جدول (1) يبين مقاومة العزلات البكتيرية لانواع مختلفة من المضادات الحيوية.

Streptococcus pyogene (%)	*Staphylococcus epidermis* (%)	*Staphylococcus aureus* (%)	المضاد الحيوي
R	R	R	Ceftazidime (30µg)
S	S	S	Norfloxacin (30µg)
S	R	S	Amoxicillin /clavulanic acid (30µg)
R	S	R	Choloramphinicol (10µg)
S	S	S	Gentamicin (10µg)
S	R	S	Penicillin G (10u)
R	R	R	Amoxicillin (25µg)
R	R	R	Ampicillin (10µg)
R	R	R	Cefotaxime (30 µg)

R: Resistance, S: Sensitive

اظهرت نتائج الكشف عن المركبات الفعاله وحسب الطرق المذكور بطرائق العمل للمستخلصين المائي الساخن والكحولي الساخن لاوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* (الورد ماوي) احتواء المستخلص المائي الساخن لنبات لسان الثور *Borago officinalis* على التانينات والقلويدات ، الراتنجات ، الصابونيات والفينولات ، اما المستخلص الكحولي الساخن فقد احتوى على التانينات ، القلويدات ، الفلافونيدات ، الراتنجات ، الكلايكوسيدات ، الصابونيات والفينولات كما موضح بالجدول (2) الذي يبين المواد الفعالة الموجودة في كلا المستخلصين واتفقت هذه النتائج مع [29] التي بينت احتواء مستخلص

الورد ماوي على الراتنجات ، الكلايكوسيدات ، الصابونيات ، الفينولات ، الفلافونات ووجدت القلويدات بنسبة قليلة في كل من المستخلص المائي والكحولي لهذا النبات . ومما سبق نستطيع القول ان المستخلص الكحولي كان اكثر كفاءة من المستخلص المائي في استخلاص المركبات الفعالة وممكن ان يعزى ذلك الى قطبية المذيب التي تلعب دور كبير في استخلاص بعض المركبات الفعالة دون غيرها وينتج من ذلك ترسيب اكبر للمركبات الفعالة [30].

جدول(2) الكشف عن بعض المواد الفعالة في المستخلصات الخام لنبات لسان الثور *Borago officinalis* .

المركبات الفعالة	القلويدات	الفلافونات	الراتنجات	التانينات	الكلايكوسيدات	الصابونيات	الفينولات
المستخلص المائي الساخن لنبات لسان الثور	+	-	+	+	-	+	+
المستخلص الكحولي الساخن لنبات لسان الثور	+	+	+	+	+	+	+

(+) وجود المادة الفعالة ، (-) عدم وجود المادة الفعالة .

وقد اشارت النتائج الى الفعل التثبيطي لكلا المستخلصين المائي الساخن والكحولي الساخن على العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة من خلال قياس معدلات اقطار مناطق التثبيط والتي تراوحت بين (5-11) ملم للمستخلص المائي الساخن و -10) (6 ملم للمستخلص الكحولي الساخن كما موضح بالجدول (3) ، والذي يؤكد ويدعم هذه النتائج ان نبات لسان الثور يحتوي على العديد من المواد الفعالة منها (Rosmaric acid) [31] واحتواءه ايضا على القلويدات من نوع الباروليزيدين Pyrolizidine [14] وعلى الدباغيات التي تعمل على تثبيط الانزيمات والبروتينات الناقله الموجوده في غشاء الخلية ، بالاضافة الى مواد صابونية التي تعمل على ازالة اغشية الخلية ومواد هلامية وكالسيوم وبوتاسيوم وفيتامين G [11 ، 13]. ويحتوي النبات على الفلافونويدات Flavonoid والتي تعد من ابرز مضادات الاكسدة الطبيعية اضافه لدورها كمضاد للاحياء المجهرية وهي مركبات متعدده الفينول وتوجد في معظم النباتات وتساهم في حماية النباتات من الاصابات البكتيرية المختلفة [32] ، وفي دراسة لتشخيص الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لنبات لسان الثور وجد ان المستخلص اعطى فعالية تثبيطية ضد سلالات عديدة من البكتريا وكانت اعلى قيم تثبيط هي ضد بكتريا *Staphylococci* و *Enterobacteria* حيث تراوحت اقطار منطقة التثبيط بين (15-18) ملم. ويؤكد [33] ان فعاليه نباتات عائلة Boraginaceae المضادة للبكتريا وخاصة ضد بكتريا *S. aureus* ، ووجد [34] ان المستخلص الايثانولي والميثانولي لنبات لسان الثور كان فعالا ضد بكتريا *Bacillus cereus* ، *S. aureus* ، *S. epidermidis* و *Escherichia coli* وكانت اقطار مناطق التثبيط بالنسبة للمستخلص الميثانولي (8, 10, 19, 6) ملم في حين كانت اقطار مناطق التثبيط للمستخلص الايثانولي (20, 12 8, 12,) ملم. واظهرت دراسة [35] فعالية مستخلص نبات الورد ماوي *B. officinalis* ضد البكتريا الموجبة والسالبه

لصبغة كرام وتشمل كل من *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* و *Enterobacter spp.* و *Salmonella enterica*. ويمكن ان نستنتج من ذلك انه بالامكان استخدام المستخلص كمادة مضادة لبعض الانواع البكتيرية الموجبه لصبغة كرام مثل *S. aureus* و *S. epidermidis* وبينت [36] ان حساسية عزلات بكتريا *S. aureus* لمستخلص نبات لسان الثور *B. officinalis* كانت عالية ضد البكتريا وبينت ايضا ان مستخلص نبات لسان الثور يمتلك فعالية ضد البكتريا والفطريات. ويعود السبب في فعالية هذا النبات الى احتواءه على الحوامض والقلويدات من نوع البيروليزوين الذي يتحد مع مستلمات البروتين في الاغشية البلازمية ويؤدي الى حدوث تغيرات في الخلايا.

جدول(3) تاثير تراكيز مختلفة من المستخلص الخام لنبات لسان الثور *Borago officinalis* (المائي والكحولي) الساخن في نمو بعض انواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام.

العزلات	معدل اقطار مناطق التثبيط (ملم)					
	تركيزالمستخلص الخام لنبات لسان الثورالمائي الساخن			تركيز المستخلص الخام لنبات لسان الثور الكحولي الساخن		
	1000 ppm	2000 ppm	3000 ppm	1000 ppm	2000 ppm	3000 ppm
Staphylococcus aureus	7	9	11	6	7	9
Streptococcus pyogene	5	6	10	6	8	10
Staphylococcus epidermis	5	6	7	6	6	9

اجري اختبار فعالية خلط للمضادات الحيوية مع كل من المستخلص المائي والكحولي (الساخن) لاوراق نبات لسان الثور *Borago officinalis* ، واظهرت النتائج فعالية تازريا عند خلط مضاد Ceftazidime ومضاد Amoxicillin مع المستخلص الكحولي (الساخن) لجميع العزلات البكتيرية قيد الدراسه في حين اظهرت النتائج فعالية تازريا عند خلط مضاد Ceftazidime مع المستخلص المائي الساخن لكل من بكتريا *S. aureus* وبكتريا *S. epidermis* واظهرت النتائج فعالية تازريا عند خلط مضاد Amoxicillin مع المستخلص المائي الساخن لكل من بكتريا *Streptococcus pyogenes* وبكتريا *S. epidermis* ، وكما موضح بالجدول (4). وقد استعملت في الاونه الاخيرة العديد من المواد في العلاج وقد ازداد استعمال خلط من المضادات مع انواع من المستخلصات النباتية [37]. واتفقت النتيجه مع [36] التي بينت ان مستخلص نبات لسان الثور اظهر تاثير تازري عند خلطه مع مضاد Amoxicillin ضد بكتريا *S. aureus* ، ان الفعالية التازريه عند خلط المضادات مع المستخلص يعود الى عده اسباب منها الية تثبيط نمو الخلايا من خلال تاثير على تخليق الحامض النووي او البروتين او تاثيره على الجدار الخلوي او مصادر الطاقة اذ يعمل المركب الاول على جدار الخلية بينما يعمل المركب الثاني على ايقاف الحامض النووي مما ينتج عنه زيادة في فعالية تثبيط نمو الخلية البكتيرية.

جدول(4) يبين تاثير خلط المضاد الحيوي مع مستخلص نبات لسان الثور *Borago officinalis* على انواع مختلفة من البكتريا.

نوع البكتريا	خلط مضاد Ceftazidime مع كل من		مضاد Amoxicillin مع كل من	
	المستخلص الكحولي ساخن	المستخلص المائي ساخن	المستخلص الكحولي ساخن	المستخلص المائي ساخن
Staphylococcus aureus	+	+	+	-
Staphylococcus epidermis	+	+	+	+
Streptococcus pyogenes	+	-	+	+

(+) تاثير تازريا ، (-) تاثير غير مؤثر.

المصادر

1. Wilson, C. L. & Droby, G.G. (2000). Microbial food contamination. Boca Raton, FL. USA: CRC Press.
2. Friedman, M.; Henika, R.P. and Mandrell, E.R. (2002). Bactericidal activities of plant essential oil and some of their isolated constituents against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Salmonella enteric. Journal of food protection. 65: 1545-1560.
3. Levinson, W. and Jawetz, E. (2000). Medical microbiology and immunology (Examination and board review), 6th. Singapore, New Delhi: 582 pp.
4. Todar, K. (2000). Staphylococcus, Todaŕson line textbook of bacteriology.
5. Lai, S.; Themblay,J. & Deziel, E. (2009). Swarming motility a multicellular behavior conferring antimicrobial resistance. Environmental microbiology. 11:126-136.
6. SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and New Identified Health Risk) (2010). Research strategy to address the knowledge gaps on the antimicrobial resistance effects of biocides, 17 march 2010
7. Nychas, G.J.E. ; Tassou, C.C. & Skandamis P. (2003). Antimicrobial from herbs and spices .InS. M. Rollers (Ed.).Natural antimicrobials for the minimal processing of foods (pp.176-200). New York wood head publishers, CRC press.

8. لشتشتيرن ، هيرمان (1981). النباتات الطبية ترجمة ناصر حسين صقر. دار ابن الاثير للطباعة والنشر ، الموصل :صفحة 188 .

9. خليفة ، حسن (2009). جنة الاعشاب ، الشامل للاعشاب المجربة . الطبعة الاولى ، دار الاسراء للنشر ، عمان– الاردن : صفحة الطبعة الاولى ، دار الاسراء للنشر ، عمان – الاردن : صفحة 359 .

10. Hassan Gilani, A. ;Bashir, S. & Khan, A. (2007). Pharmacological basis for the use of Borago officinalis in gastrointestinal, respiratory and cardiovascular disorders, Journal of Ethnopharmacology .114:393-399.

11. عباس ، امال خضير (2008). تقويم بعض التاثيرات المناعية والنسجية لنباتي لسان الثور Borago officinalis وزنبق المطر Zephyranthes candida في تثبيط فعل خلات اليورانيل في ذكور الجرذ الابيض. اطروحة دكتوراه . كلية العلوم ، جامعة بغداد . صفحة 213.

12. 12 – شوفاليه ، اندرو (2003) . الطب البديل التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية ترجمة عمر الايوبي ومحمود يس. اكاديميا انترناشيونال للطباعة والنشر ، بيروت – لبنان صفحة 336 .

13. 12 –المصطاوي ، عبد الرحمن (2008). المعتمد في الادوية المفردة . الطبعة الاولى ، دار المعرفة ، بيروت – لبنان : صفحة 488 .

14. Vandepitte , J. ; Verhaegen , J. ; Engbaek , K. ; Rohner, P. ; Piot , P. and Heuck , C. C. (2003). Basic laboratory procedures in clinical Bacteriology. 2nd ed. World Health Organization Geneva. PP. 109-120.

15. CLSI (2012). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M 100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

16. Fahmy,I.R. (1933). Constituents of plant card drugs, 1st ed. Poul Barbey .Cairo. Egypt.

17. محمود ، مهند جميل. (2008) .كيمياء النباتات الطبية .المكتبة الوطنية ببغداد .ص 5-6.

18. Shiata, I. M. (1951). A pharmacological study of Anagallis arvensis M.D. vet Thesis Cairo University.

19. Gayon, P. (1972). Plant phenolics, 11th (ed.), Oliver and Boye, Edinburge P. 254.

20. Sato, J. ; Goto, K.; Nanjo, F.; Kowai, S. and Murata, K. (2000). Antifungal activity of plant extracts against Arthrinium sacchari and Chaetomium funicola . J.Biosci. Bioeng. 90(4):442-446.

21. Olaleye, M. T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of methanol extracts of Hibiscus subdarifa .J. of Medicinal plant. 1:9-13.

22. Pavrez, M. ; Mahboob, H. K.; Zahuul, I. & Shek, M.H. (2005). Antibacterial activities of the petroleum ether, Methanol and acetone extracts of Kaempferia galangal. Rhizome. J. Life Earth Sci., 25-29.

23. Sibanda, T. and Okoh, A.I. (2008). In vitro evaluation of the interactions between acetone extracts of Garcinia kola seeds and some antibiotics. African Journal of Biotechnology.7 (11):1672-1678.

24. عباس ، ميسون صباح ، لفتة ، انعام جاسم ، الناصري ، بان صاحب عبد النبي (2011) . دراسة حساسية البكتريا المعزولة من الاصابات التنفسية للفول السوداني ومختلف المضادات الحيوية . مجلة الهندسة والتكنولوجيا، المجلد 29 العدد 16. 672-681 .

25. Parveen , S.S. and Thyothsna , K. (2011) . Methicillin resistance among isolates of Staphylococcus aureus antibiotic sensitivity pattern and phage typing .Ann. Biol. Res., 2(4): 57-61

26. Chamber, H.F. (1997). Methicillin resistance in staphylococci genetics and mechanisms of resistance. Clin. Microbiol. Rev. 10: 781 – 791.

27. Cross, J.T. and Campbell, G. (1999). Drug – resistance pathogen in community in hospital acquired Pneumonia. Clin. Chest. Med., 20 (3): 499-506.

28. Heffernan, H. ; Bakker, S. (2011). Annual survey of methicillin – resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Institute of environmental science & research Ltd (ESR) ; Wellington .2013.

29. النعيمي ، حنان عدنان شاكر . (2005). تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية على نمو البكتريا المرضية الموجبة الصبغة المعزولة من حالات التهاب البلعوم واللوزتين . رسالة ماجستير . معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا . جامعة بغداد

30. Kelmanson, J. ; Jager, A. and Standen, J. (2000). Zulu medicinal plants with antibacterial activity. J. Ethnopharmacolo. 69:241-246.

31. 31-Ellise, B. E. (1985). Characterization of clonal culture Anchusa officinalis derived from single cells of known productivity. J. Plant. Physiol., 119:149-158.

32. Ramanathan , R. ; Tan, C. and Das, N.(1992). Cytotoxic effect of plant polyphenols and fat soluble vitamin on malignant human cultured cell. Capcerltt. 62:217-224.

33. Abolhassani, M. (2004). Antibacterial effect of Borago (Echium amoenum) on Staphylococcus aureus. Brazilian Journal of infectious diseases, 8: 382-385.

34. Vafaei, M. ; SeyyedNejad, S.M. ; Tofighi, S.E.R. ; Bakhtiari, A. ; Vaezi, J. (2010). Antibacterial activity of hydro Alcoholic extracts of Borago officinalis. The 3rd Iranian and the 2nd International congress of microbiology.

35. Micelia, A. ; Aleob, A. ; Coronaa, O. ; Sardinaa, M.T.; Mamminab, C. and Settannia, L.(2014).Antibacterial activity of Borago officinalis and Brassica juncea aqueous extracts evaluated in vitro and in situ using different food model systems. Food Control. 40: 157–16.

36. ناجي ، سيماء عمار. (2012). التاثيرات التازرية لبعض مستخلصات النباتية والمضادات الحيوية في بكتريا Staohylococcus aureus المعزولة من البلعوم الفمي . رسالة ماجستير، كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد.

37. Nostro, A. ; Cellini, L.; Di-Bartolome, S; Cannatelli, M.A.; Di-Campli, E. ; Procopio, F. ; Grande, R. ; Marzio, L. and Alonzo, V. (2006).Effects of combining extracts (from propolis or Zingiber officinale) with clarthromycin on Helicobacter pylori . Phytother-res.20 (3):187-90.