مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 23/11/2017 Revised 08/02/2018 Published online 30/06/2018

النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي الخام من ثمار أشجار نخيل التمر ضد بعض العزلات البكتيرية الممرضة

*مراد بركة[1] و علي هواد[2] و عبدالقادر الزين[3]
[1] قسم علم الحيوان– كلية العلوم– جامعة سبها، ليبيا
[2] قسم الكيمياء الحيوية– كلية الطب– جامعة سبها، ليبيا
[3] قسم كلية علم– الأحياء الدقيقة العلوم– جامعة سبها، ليبيا
*للمراسلة: mo.barka@sebhau.edu.ly

الملخص تم في هذه الدراسة بحث تأثير المستخلص الميثانولي الخام من ثمار ثلاثة أنواع من ثمار نبات أشجار النخيل (التافسرت، الآسبير، التاليس) والتي تنمو في مناطق الجنوب الليبي على ثلاثة أنواع من البكتيريا *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Staphylococcus aureus*، وتم استخدام 8 مضادات حيوية من مختلف المجموعات الوظيفية كشاهد مقارن، وأظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي لثمار التافسرت كانت الأكثر تأثيرا على البكتيريا ولم يكن له أي تأثير على البكتيريا *Salmonella typhimurium*، بينما لم تظهر مستخلصات الآسبير و التاليس أي تأثير على العزلات البكتيرية مقارنة بالمضادات الحيوية، تشير الدراسة إلى أن الحمية الغذائية الغنية بتمر التافسرت يكون لها تأثير وقائي وعلاجي جزئي من اخطار البكتيريا التي تصيب الجهاز الهضمي.

الكلمات المفتاحية: الجنوب الليبي، ثمار التمر، البكتيريا، مستخلص الميثانول الخام، المضادات الحيوية.

Antibacterial activity of the plant dectylifera phoenix fruit's crude extracts on some pathogenic Bacteria

*Morad Barka[1], Ali hwwad[2], Abdulkadr alzein[3]
[1] Biotechnology Devision, Department,of Zoology College of Sciences ,University of SEBHA, LIBYA
[2] Biochemistry Department, Medical College,SEBHA University LIBYA
[3] Department of Microbiology College of Sciences ,University of SEBHA, LIBYA
*Crosspnding author: mo.barka@sebhau.edu.ly

Abstract This study investigated the effect of methanolic extract from the fruits of three types of palm tree plant growing in the southern regions of Libya on three types of bacteria Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus. Eight antibiotics were used from different functional groups as a control, The results showed that the extract of Tafsirt was the most effective effect on the bacteria but did not have any effect on the bacteria Salmonella typhimurium, While the extracts of Aspare and Talis did not show any effect on the bacterial isolates compared to antibiotics, the study indicates that the diet rich in Tafsirt date will cause a preventive and partial therapeutic effects of the dangers of bacteria that infect the digestive system.

Keywords: southern regions of Libya, Date fruits, Bacteria, methanolic crud extract, Antibiotics.

المقدمة

النخلة سيدة الشجر ودرة الثمر هكذا ترى النخلة من وجهة نظر العلماء والمزارعين المهتمين بالتمور كما نجد ان هذه الشجرة اتصفت بأعظم الصفات الا وهي صفة البركة أي هي النماء والزيادة، حسية كانت أو عقلية، وكثرة الخير ودوامه[1] حيث طرح الله فيها البركة وجعل ثمارها وقاية من الامراض العضوية والروحية ودليل على اهميتها ذكرت في القرآن 27 مرة حيث قال تعالى: [(فَأَجَاءهَا الْمَخَاضُ إِلَى جِذْعِ النَّخْلَةِ قَالَتْ يَا لَيْتَنِي مِتُّ قَبْلَ هَذَا وَكُنتُ نَسْياً مَّنسِيّاً (23) فَنَادَاهَا مِن تَحْتِهَا أَلَّا تَحْزَنِي قَدْ جَعَلَ رَبُّكِ تَحْتَكِ سَرِيّاً (24) وَهُزِّي إِلَيْكِ بِجِذْعِ النَّخْلَةِ تُسَاقِطْ عَلَيْكِ رُطَباً جَنِيّاً (25)] [2]. ودليل اخر على اهمية التمر وفوائده العظيمة قول النبي صلى الله عليه وسلم بخصوص الآية السابقة "ان التمر يذهب الداء ولا داء فيه"[3]. تدخل النباتات الطبية والعطرية في صناعة الأدوية والعقاقير الطبية لعلاج كثير من الأمراض حيث تستخدم في المستحضرات الطبية المختلفة حسب استعمالها طبياً كمنبهات، مطهرات، مقويات، ومسكنات ومراهم علاجية أو تأثيرات فسيولوجية أخرى مثل خفض ضغط الدم، وغير ذلك من الاستخدامات الطبية، تأتي هذه الخصائص الطبيعية للنباتات من مجموعة من المركبات التي تعتبر نواتج أيضية ثانوية secondary metabolites في خلايا النسيج النباتي،

وتؤدي دور وظيفي حيوي داخل الخلايا النباتية من وظائف دفاعية، ووقائية وتنظيم لعمليات الأيضة وتدخل في بعض المركبات البروتينية النباتية، وتعتبر كل النباتات ذات قدرة على إنتاج هذه المركبات ولكن بمختلف التراكيز للانواع النباتية المختلفة، يصل عدد المركبات التي تنتجها النباتات في نشاطاتها الأيضية المختلفة إلى مايقارب الأربعة آلاف مركب[4]. وأشارت دراسة حول تقييم المركبات الكيميائية النباتية والمعادن في ثمار نبات النخلPhenix dectylifera، حيث تمت الدراسة باستخدام الزيت المستخلص كحوليا من الثمار، الى ان انها تحتوي على العديد من المركبات الكيميائية اهمها التنينات والجليكوسيدات القلبية الصابونيات والانثراكنونيدات والتيوجودة بتراكز عالية،ولم يظهر وجود الفلافونيدات والاسترويدات، بالاضافة الى وجود العديد من العناصر كالكالسيوم والفوسفور ولم يظهر اي وجود للحديد، وكان كلا من الماغنيسيوم والنيتروجين والزنك منخفض التركيز فيها[5].وفي دراسة اخرى لتأثير المستخلص المائي والمستخلص الكحولي متعدد القطبية لاوراق وثمار وبذور شجر النخيل *phenix dectylifera*، على الميكروبات *Staphylococcus aureus, Staphylococcus pygenes, E.coli, Psedomonas aeruginosa*، ان لجميع المستخلصات تأثيرا حيث كان مستخلص الفاكهة اكثر فاعلية ضد الميكروبات، وكان للمستخلص الكحولي تأثير اكبر من المائي ويعود ذلك الى قدرة الكحولات على تركيز المواد الفعالة مقارنة بالماء، وكان للمستخلصات تأثير على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مقارنة بالسالبة[6]. كما أظهرت دراسة اخرى بأن ثمار النخيل لها تأثير وقائي وعلاجي ضد بعض العقارات الكيميائية ذات التأثير الجانبي الالتهابي والطفري حيث برهنت النتائج ان لمستخلص ثمار النخيل الخام تاثيرا ضد العوامل المؤكسدة الناتجة من هذه العقارات[7]. ان ظهور البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية هو السبب الأساسي في فشل معالجة الكثير من الأمراض المعدية[8]، وذكرت التقارير الحديثة أن 23000 أمريكي و25000 أوربياً يموتون سنويا من الإصابات البكتيريا الغير قابلة للمعالجة نتيجة مقاومتها للمضادات الحيوية[9]. واشارت بعض البحوث الى بعض البكتيريا مثل E.coli لها القدرة العالية على حمل جينات مقاومة للمضادات الحيوية مثل tet A و tet D، وهي جينات مقاومة للمضاد الحيوي التتراسيكلين[10]. وتم تقييم المركبات الفينولية والنشاط الضد تأكسدي للمستخلص الايثانولي النخيل، واظهرت الاختبارات ان المستخلص كان له تأثير ضد تأكسدي عالي حيث يقدر بـــ (GAE/g 324–206.2)[7]. وتم تعريف وتقدير المركبات الفينولية والنشاط الحيوي للمستخلص المثانولي لحبوب لقاح نبات النخل ، وبينت النتائج انها غنية بحمض الكافن وحمض الغال وحمض الكيومرك، كما اظهر المستخلص بالتراكيز المستخدمة قدرته العالية على تثبيط نمو بعض البكتيريا منها*Staphylococcus epidermis*، وله تاثير ضد فطري ايضا على and Candida Albicans Aspergillus Niger، كذلك له تاثير ضد التسرطن بتثبيطه للنمو المتزايد في النسل الخلوي الورمي (HELA) (Cervical carcinoma cell line), (MCF7) (breast carcinoma cell line) and (CACO) (intestinal carcinoma cell line)) [11]،في دراسة اخرى اجريت على خليط المستخلص الميثانولي لبذور كل من نبات *Annona squamosa* و *Phoenix dectyliphera*، على السلالات البكتيرية *Psedomonas aeruginosa, E.coli, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, E.faecalis, Salmonella typhi, salmonella paratyphi*، واظهرت النتائج ان الخليط كان له تأثير تثبيطي كبير على الميكروبات، كما تم ملاحظة ان مستخلص *Annona squamosa* لوحده مقارنة بـــ *Phenix dectyliphera* اكثر فاعلية مما يدل على ان خليط هاتين النبتتين ذات تفاعل تآزري مقارنة بكلا النباتين منفصلين[12].

وفي نفس السياق تمت دراسة حول منقوع (مستخلص مائي) والمستخلص الكحولي متعدد القطبية لا وراق وثمار وبذور ولب نبات النخيل *phenix dectylifera*، بعد تجفيف الاجزاء المذكورة وطحنها ونقعها في الماء الدافئ لمدة يوم كامل، وتم تجربة المستخلص على الميكروبات *Staphylococcus aureus, Staphylococcus pygenes, E.coli, Psedomonas aeruginosa,*، باستخدام طريقة الانتشار من القرص واظهرت النتائج ان مستخلص الفاكهة كان الاكثر فاعلية ضد الميكروبات مع العلم بان كل الأجزاء كان لها تأثير عليها، وبشكل عام كان للمستخلص الكحولي تأثير اكبر من المائي ويعود ذلك الى قدرة الكحولي على تركيز المواد الفعالة مقارنة بالمائي، وايضا من ناحية اخرى وجد ان للمستخلصات تأثير على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام مقارنة بالسالبة[13].

وتم في دراسة علمية اخرى حول استعمال سعف نخيل phoenix dectylifera L. كمضاد بكتيري تجاه العزلات البكتيرية *Enterobacter sp., Salmonella sp., Pseudomonas aeruginosa, Escherichia aureus, Klebsella coli, Staphylococcus*

pneumonia, Streptococcus pneumoniae، واظهرت البكتيريا مناطق منع النمو اتجاه كافة تراكيز المستخلص النباتي مع بعض الاستثناءات المتعلقة بالتركيز 25ملجم\مل وكانت اكبر مناطق منع نمو عند 100ملجم\مل خصوصا للبكتيريا *E.coli* فيما اظهرت العزلة *salmonella sp* اصغر منطقة منع نمو عند التركيز 50ملجم\مل[14].

تهدف هذه الدراسة لتقيم النشاط المضاد لنمو البكتيريا الممرضة السالبة والموجبة الجرام لثمار بعض أصناف النخيل في المنطقة الجنوبية من دولة ليبيا وذلك بهدف اثراء الاهمية الطبية للمكونات النباتية بالجنوب الليبي والبحث عن بدائل اخرى طبيعية غير المضادات الحيوية لمقاومة الامراض الميكروبية.

المواد وطرق العمل

تجميع العينات Sample collection

عينات النبات Plant samples: تم جمع ثمار تمر النخيل المستخدمة في هذه الدراسة من بعض المزارع بالجنوب الليبي.

عينات البكتيريا: Samples of bacteria تم العمل على بعض عينات البكتيريا المعزولة من المرضى المترددين على مستشفى سبها الطبي وتم تعريفها بقسم الأحياء الدقيقة كلية العلوم جامعة سبها وهي بكتريا:

Staphylococcus ، *Salmonella typhimurium* *aereus*، *Escherichia coli*.

المضادات الحيوية: تم اختبار الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام أقراص المضادات الحيوية من شركة oxide للمنتجات البايوكيميائية حيث تم استخدامها كشاهد.

تحضير المستخلص: اجري بداية تجميع الثمار وغسلها جيدا بالماء الفاتر، ثم ازيلت منها النواة ووضعت في المجفف عند 40م° لمدة 3 – 10 أيام إلى أن تصبح جافة تماماً، ثم تم طحنها في طاحن كهربائي إلى أن اصبحت مسحوق دقيق جداً. ــ[15] تم التبخير باستخدام جهاز التبخير الدوار، ثم تم حفظ المستخلص في دورق محكم الاغلاق ومعتمة عند –20م° لعند الاستخدام، وتم تحديد نسبة أو قيمة المستخلص بالمعادلة الآتية:

قيمة المستخلص % = وزن المسحوق المستخدم / وزن المستخلص الحاصل عليه × 100. ــ[15] وتم تحضير التركيزات الاتية: 25، 50، 100، 150، 200 مليجرام/مل.

تحضير المستخلص الكحولي: علق مسحوق ثمار التمر في الكحول الميثانولي بنسبة (1جم: 4مل) ثم ترك على التعليق لمدة 24 ساعة رشح، و من ثم تم بدايةً اجراء الطرد المركزي عند 6000 rcf أي حوالي 4300 دورة في الدقيقة لمدة 30 دقيقة عند اقل من 10 م°، و نقلت الطبقة العليا إلى ضغط منخفض عند 40 م° لمدة 4 ساعات باستخدام جهاز التبخير الدوار . [15]

تنمية عينات البكتيريا Growth of Bacteria sample: تم استخدام وسط Muller Hinton Agar في تنمية العينات، حيث تم أخذ مسحة من العينات المحفوظة باستخدام اللوب وتمت تعليقها في هذا الوسط للتشيط تم حضنت في الحضانة عند 37 م° لمدة 24 ساعة.

حفظ عينات البكتيريا Preservation Of Bacterial Samples: كل عينيات البكتيريا المستخدمة في الدراسة حفظت علي وسط الآجار المغذي المائل المضاف اليه الجليسيرول 15% في قناني محكمة الإغلاق عند 4 درجة مئوية.

اختبار الحساسية: Susceptibility Test اجري اختبار الحساسية بطريقة الانتشار وفقا لطريقة (Kirby & Bauer) مع إتباع تعليمات اللجنة الوطنية لمعايير المختبرات الطبية National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) [13].حيث اشبعت أوراق الترشيح المعقمة بتركيزات المستخلص المحضرة بحيث لا يتجاوز حجمها 150µl وهو السعة القصوى لورقة الترشيح، ثم وضعت بواسطة ملقط معقم على وسط مولر الصلب MHA المزروع عليه عينات البكتيريا بطريقة المسح الشامل، حضنت الاطباق عند 37م°، وأخذت النتائج في اليوم التالي، وتم أخذ 3مكررات لكل عزلة بكتيريا[14].

تحديد أدني تركيز مثبط Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) وأدنى تركيز قاتل Minimal bactericidal concentration (MBC) تم تقدير كلا من التركيز المثبط الأدنى (Minimal inhibitory concentration –MIC) والتركيز القاتل الأدنى (Minimal bactericidal concentration - MBC) وفقا لــ[17]، [18] بإتباع الخطوات الآتية مع تحوير طفيف:

1-حضرت مجموعة انابيب اختبار تحتوي كل منها على 1مل مزرعة بكتيرية سائلة حيث كان عدد الخلايا البكتيرية فيها يتراوح ما بين 5–6*10^5.

2-اضيف المستخلص بتركيزات متناقصة ابتداء من اقل تركيز اظهر تأثيرا في اختبار الحساسية للمستخلص، بحيث كانت

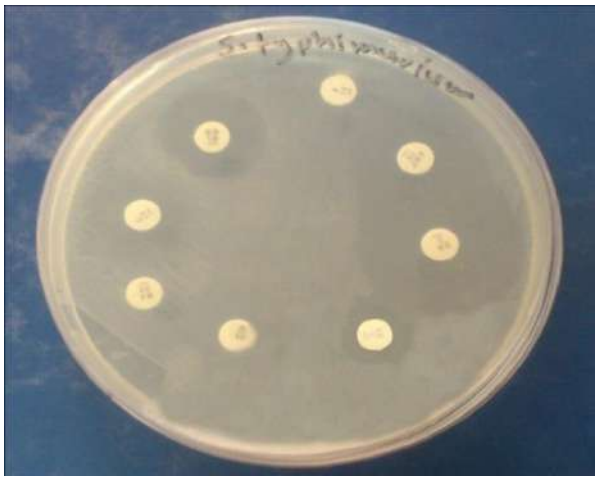
الأنبوبة الأولى ضابطة لا تحتوي على مستخلص ثم تليها الأنبوبة الثانية التي تحتوي على اقل تركيز اظهر تأثيرا في اختبار الحساسية للمستخلص، والأنبوبة الثالثة يضاف تركيز المستخلص المخفض بمقدار درجتين وكذلك الحال بالنسبة للأنبوبة الرابعة والخامسة.

3-تم حضنت الأنابيب جميعا في درجة حرارة 37م° للبكتيريا المدروسة وتم فحص الأنابيب بعد الحضن للتعرف على أيها تحتوي نمو بدلالة العكارة، أما الأنابيب الرائقة فتشير الى عدم حدوث نمو نتيجة فعالية المستخلص، وكان اول انبوب رائق يأتي بعد سلسلة انابيب عكرة هوالـــMIC .

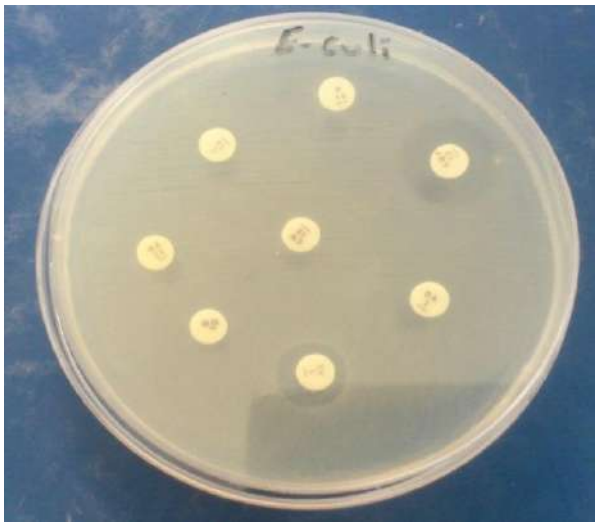
اما تحديد الـــMBC: تم اخذ حجم 100 ميكرو لتر من الانابيب الرائقة من (الخطوة السابقة) الى طبق فيه وسط زراعي صلب Muller Hinton agar، تحضن عند37م°لمدة 24 ساعة ثم تلاحظ المستعمرات النامية في كل طبق ويعتبر او طبق لم يظهر فيه نمو هوMBC.

ملاحظة: تم استخدام البرنامج العلمي Mendely اصدار 1.17.1، في تعديل المراجع.

النتائج والمناقشة كانت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية ان البكتيريا *E.coli* كانت الأكثر مقاومة للمضادات الحيوية بنسبة 75% من اجمالي المضادات المستخدمة وهي (P10, S10, CN10, C10, DA2, MA30)، حيث اظهرت نمط المقاومة التامة لمجموعة المضادات التابعة لTetracyclins وكان اقصى تحسس للمضاد الحيوي AMP10 التابع لمجموعة -□ letalactum، وهو ما يتطابق مع ما أشار إليه[10]. اما *S.aureus* كانت مقاومة للمضادات الحيوية بنسبة 25% حيث اظهرت نمط المقاومة لكل من (P10, MA30)، واقصى تحسس كان للمضاد الحيوي CN10 التابع لمجموعة Tetracyclins. ثم *S.typhimurium* كانت مقاومة بنسبة 37.5% حيث اظهرت نمط مقاومة لكل من (P10،S10،MA30) وكان اقصى تحسس للمضاد الحيوي DA2 التابع لمجموعة ( ).

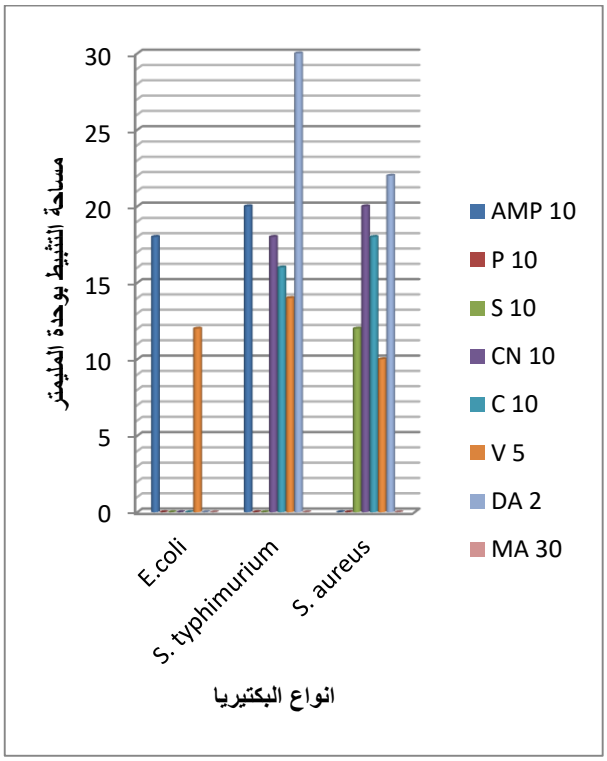


صورة 1 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على البكتيريا *S.typhimurium* نلاحظ كثافة النمو لهذا الميكروب.



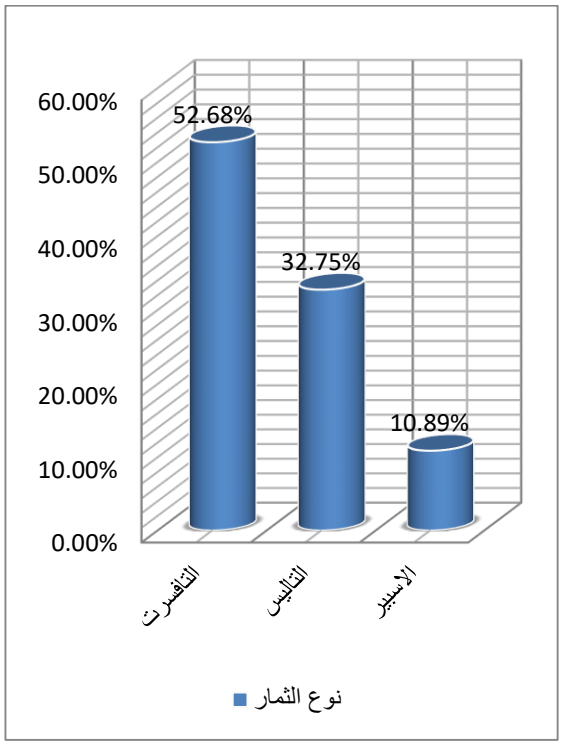
صورة 2 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على البكتيريا *E.coli* نلاحظ الهالات حول المضادات الحيوية المؤثرة على البكتيريا.

صورة 3 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على البكتيريا *S.aureus*.



شكل (1) نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية.

واشتركت البكتيريا قيد الدراسة في نمط المقاومة للمضادين الحيويين P10 وMA30، بينما البكتيريا *E.coli* و*S.typhimurium* في نمط المقاومة للمضاد الحيوي S10. وكانت نسب المستخلص الكحولي لثمار التافسرت، التاليس، الاسبير، 22%،14.6%، 10.1%، على التوالي.



شكل (2) نتائج نسبة المستخلصات لكل 100جرام من التمر.

جدول 2: يوضح نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على البكتيريا المختلفة.

المجموعة الوظيفية	المضاد الحيوي	اسم البكتيريا		
		S.aureus	*S.typhimurium*	*E.coli*
BETA-LACTAM	AMP10	R	20	18
	P10	R	R	R
TETRACYCINS	S10	12	R	R
CEPHALOSPORINS	CN10	20	18	R
	C10	18	16	R
	VA5	10	14	12
	DA2	22	30	R
	MA30	R	R	R

ولوحظ في نتائج اختبار الحساسية للمستخلص الكحولي ان تمر التافسرت كان الاكثر فاعلية حيث اظهر تأثيرا على كلا من البكتيريا*S.typhimurium* و*E.coli* ، وكانت اعلى مساحة تثبيط للتركيز mg/ml200 على البكتيريا *E.coli* واقل مساحة تثبيط للتركيز mg/ml25 على البكتيريا *S.aureus*ولم يكن له أي تأثير على البكتيريا*S.typhimurium* ونجد هذه النتائج متقاربة مع ما توصل اليه[14]. كما لم يكن لمستخلص تمر التاليس والآسبير أي تأثير على كل البكتيريا قيد الدراسة وهو يختلف مع ماتوصل اليه[13].

صورة 4 اختبار الحساسية للمستخلص الميثانولي على البكتيريا نتائج MIC لمستخلص التافسرت كان عند 19 ملجم/مل، بينما MBC يقدر بان يكون اعلى من 250 ملجم/مل.

جدول 3 يوضح نتائج اختبار الحساسية للمستخلص الكحولي من ثمار التمر على البكتيريا المختلفة

المستخلص	التركيز المستخدم Mlg/ml	مساحة قطر التثبيط على البكتيريا بوحدة ملم		
		S.aureus	*E.coli*	*S.typhim-urium*
الآسبير	25	R	R	R
	50	R	R	R
	100	R	R	R
	150	R	R	R
	200	R	R	R
التافسرت	25	8	10	R
	50	8	12	R
	100	10	12	R
	150	12	12	R
	200	20	12	R
التاليس	25	R	R	R
	50	R	R	R
	100	R	R	R
	150	R	R	R
	200	R	R	R

ونستنتج من هذه النتائج ان لمستخلص ثمر التافسرت هو الاعلى في التأثير على البكتيريا ويمكن ان يرجع ذلك لارتفاع كمية المكونات البايوكيميائية النباتية فيها مقارنة بالانواع الاخرى ويكن استخدامه بشكل دوري في الحمية الغذائية كمقوي للمناعة ضد الميكروبات الممرضة.

المراجع : Referances

[1]– م. ا. ب. عاشور، 1984 "مفهوم البركة في القرآن ", *تفسير التحوير والتنوير*، تونس: الدار التونسية للنشر، , p. 247.

[2]– الله، 610, "سورة مريم "*,القرآن الكريم*، بيروت: دار الفجر الاسلامي، .600 p. ,

[3]– الألباني. محمد ناصر الدين1997، *صحيح سنن ابن ماجة*. الرياض– السعودية: مكتبة المعرف للنشر والتوزيع،.

[4]- N. M. Ammar and L. T. Abou 2009, "Flavonoid Constituents and Antimicrobial Activity of Date (Phoenix dactylifera L .) Seeds Growing in Egypt," pp. 1–5,.

[5]- Y. S. A. Omokhudu and C. A. A. M. A. Sanusi 2015, "Phytochemical screening and mineral evaluation of fresh date fruits (Phoenix dactylifera L .) in wet season of Nigeria," *J. Agric. Crop Res.*, vol. 3, no. April, pp. 47–52,.

[6]- F. R. Saleh 2016, "Antibacterial activity of seeds of iraqi dates," vol. 5, no. 2, pp. 313–318,.

[7]- A. H. Rahmani, S. M. Aly, H. Ali, A. Y. Babiker, S. Suikar, and A. A. Khan 2014, "Therapeutic effects of date fruits (Phoenix dactylifera) in the prevention of diseases via modulation of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumour activity," *Int. J. Clin. Exp. Med.*, vol. 7, no. 3, pp. 483–491,.

[8]- S. H. Taleb-contini, M. J. Salvador, E. Watanabe, I. Y. Ito, and D. Rodrigues 2003, "Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two Chromolaena species," *Brazilian J. Pharm. Sci.*, vol. 39, pp. 403–408,.

[9]- A. J. Alanis 2005, "Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era?," *Arch. Med. Res.*, vol. 36, no. 6, pp. 697–705,.

[10]- T. Dodgen 2008, "Escherichia coliand Antibiotic Resistance to Tetracycline Antibiotics," *Lib. Univ.*, vol. 25, no. Senior Honors Theses, pp. 1–34,.

[11]- M. H. M. Abed El Azim 2015, "Identification Phenolic and Biological Activities of Methanolic Extract of Date Palm Pollen (Phoenix dactylifera)," *J. Microb. Biochem. Technol.*, vol. 7, no. 1, pp. 47–50,.

[12]- A. Javed, K. Annu, M. N. Khan, and S. K. Medam 2013, "Evaluation of the

…," no. May, pp. 1–29,.

[16]- B. Bonev, J. Hooper, and J. Parisot 2008, "Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method," *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 61, no. 6, pp. 1295–1301,.

[17]- L. G. Yamamoto, A. S. Inaba, J. K. Okamoto, M. E. Patrinos, and V. K. Yamashiroya, Eds. 2004, "Inhibitory and Bactericidal Principles (MIC & MBC)," in *Case Based Pediatrics For Medical Students and Residents*, 1st ed., Honolulu, Hawaii: University of Hawaii John A. Burns School of Medicine and Kapiolani Medical Center For Women And Children, , pp. 1–716.

[18]- J. D. Turnidge 2015, "Susceptibility Test Methods: General Considerations," *Man. Clin. Microbiol. 11th Ed.*, pp. 1246–1252,.

combinational antimicrobial effect of Annona squamosa and Phoenix dactylifera seeds methanolic extract on standard microbial strains," *Int. Res. J. Biol. Sci.*, vol. 2, no. 5, pp. 68–73,.

[13]- Sooad Al-daihan 2012, "Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of Phoenix dactylifera," *African J. Biotechnol.*, vol. 11, no. 42, pp. 10021–10025,.

[14]- N. Q. A. Maged and N. A. Abbas, 2013 "Antibacterial activity of Phoenix dactylifera L . leaf extracts against several isolates of bacteria," *Kufa J. Vet. Med. scienes*, vol. 50, no. 45,.

[15]- C. Paper 2016, "Antimicrobial Activity of Date Palm (Phoenix dactylifera) Pits extracts and its role in reducing side effect of Methyl prednisolone on the some Neurotransmitter content in the Brai