جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه تأثیر انواع عصاره‌های گیاه *Allium jesdianum* بر سویه های مختلف کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

محبوبه مدنی[۱*]، علیرضا خسروی[۲]، مریم شیرانی[۳]

۱*- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه قارچ شناسی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

۲ - دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه قارچ شناسی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۴۵۳-۱۴۱۵۵

۳ - دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، ایران.

madani@iaufala.ac.ir

چکیده

عود عفونت‌های کاندیدائی و مقاومت آن‌ها به داروهای ضد قارچی در طی درمان از معضلات اساسی است که ناشی از عدم تشخیص سویه عامل بیماری و ناکارا بودن داروهای شیمیائی می‌باشد. در این تحقیق فعالیت ضد کاندیدایی عصاره‌های آبی، الکلی (متانلی واتانلی)، جوشانده، خیسانده، دم‌کرده و شیرابه تغلیظ شده آلیوم جسدیانوم بر سوئه‌های مختلف کاندیدا (کاندیدا آلبیکنس (ATCC 62061، ATCC 1677 و ATCC 11670)، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس بطرق انتشار در ژل (روش دیسک و چاهک)، تعیین MIC و MFC بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی، دم‌کرده و شیرابه تغلیظ شده دارای فعالیت ضد کاندیدایی بر علیه انواع کاندیدا آلبیکنس می‌باشند. در این بین، فعالیت ضد کاندیدایی شیرابه تغلیظ شده قابل ملاحظه بود. قطر هاله ممانعت از رشد شیرابه تغلیظ شده ساقه و برگ و پیاز بر انواع کاندیدا آلبیکنس به ترتیب۱۰، ۱۱و ۱۰ میلی‌متر، MIC ۳۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MFC ۴۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. عصاره‌های الکلی، خیسانده و جوشانده فعالیت ضد کاندیدایی را بر علیه هیچ‌یک از انواع کاندیدا آلبیکنس نشان ندادند. کلیه عصاره‌ها فاقد فعالیت ضد کاندیدایی بر علیه کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس بودند.

کلمات کلیدی: شیرابه تغلیظ شده، فعالیت ضد کاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا گلابراتا.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

کاندیدا همواره به عنوان شایع‌ترین قارچ فرصت‌طلب قادر به ایجاد بیماری‌های جلدی، جلدی – مخاطی و سیستمیک می‌باشند. با توجه به مصرف روزافزون داروهای ضد قارچی، ایجاد مقاومت در برخی گونه‌های کاندیدا و عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیائی، استفاده از منابع جدید به خصوص گیاهان داروئی حائز اهمیت است (۴، ۵، ۱۰و ۱۵). طبیعت منبعی از گیاهان دارویی است و بر اساس استفاده سنتی از این گیاهان، بسیاری از داروهای مدرن امروزی تهیه شده است (۲۰و۲۳). لذا تحقیق برای تشخیص گیاهان خاص با خواص ضد میکروبی نتایج سودمندی خواهد داشت. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که ترکیبات موجود در گیاهان نظیر پپتیدها، آلدئیدهای غیر اشباع، آلکالوئیدها، سولفورها، روغن‌های ضروری، همچنین ترکیبات گیاهی محلول در فنل، اتانول، کلرو فرم، متانل و اتانل اثرات درمانی قابل توجهی بر علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دارند (۷و۱۱). به عنوان مثال اثر ضد میکروبی گیاهانی نظیر (*Arctostaphylos uvaursi*)، (*Vaccinium macrocarpon*)، (*Melissa officinalis*)، (*Melaleuca alternifolia*)، (*Silene multifida*)، (*Senna obtusifolia*) و (*Allium sativum*) به اثبات رسیده است (۶، ۹، ۱۸و ۲۴). آلیوم از خانوادهٔ آلیاسه (Alliaceae)، گیاهی پیازی، چند ساله و دارای بیش از ۷۵۰ گونه می‌باشد. این گیاه از بزرگترین جنس‌های گیاهی در جهان قلمداد می‌شود. از قسمت‌های مختلف برخی از گونه‌های آن به عنوان سبزیجات، چاشنی غذا و گیاهان داروئی استفاده می‌گردد. از گونه‌های مهم آلیوم می‌توان به سیر (A.sativum) و موسیر (A.cepa) اشاره کرد. تحقیقات زیادی در ارتباط با فعالیت ضد باکتریائی و ضد قارچی انواع گونه‌های آلیوم بخصوص سیر و پیاز انجام گرفته است (۱۴، ۱۵، ۱۹و ۲۵). اما تحقیقات انجام شده تاکنون فعالیت ضد کاندیدایی آلیوم جسدیانوم را نشان نداده است. هدف تحقیق مربوطه بررسی تأثیر انواع عصاره‌های تهیه شده از آلیوم جسدیانوم روی رشد کاندیداآلبیکنس (ATCC 62061، ATCC 1677 و ATCC 11670)، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۱- جمع آوری گیاه

با جستجو در ارتفاعات زردکوه بختیاری شهرکرد تعدادی بوته کامل گیاه جمع‌آوری شد. پس از تائید گیاه توسط دپارتمان سیستماتیک زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، مقدار زیادی از گیاه تهیه شد. برگ، ساقه و پیاز به طور جداگانه چند بار با آب تمیز شستشو داده شد. بعد از حذف کامل آب، قسمت‌های مختلف گیاه به طور جداگانه در حرارت اتاق و در سایه به مدت پنج روز خشک شدند (۸). از تمام قسمت‌های گیاه به طور جداگانه توسط آسیاب برقی پودر نرمی تهیه شد تا عمل عصاره‌گیری راحت‌تر و بهتر انجام گیرد. نمونه‌ها در حرارت اتاق و در تاریکی در ظروف در بسته تا موقع آزمایش نگهداری شدند (۱۳و۱۶).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۲- عصاره گیری

عصاره‌گیری از گیاه آلیوم جسدیانوم به روش سوکسیله (آبی، متانلی، اتانلی)، جوشاندن، خیساندن، دم کردن و شیرابه تغلیظ شده انجام شد. در روش سوکسیله از پودرهای تهیه شده ساقه و برگ با هم و پیاز به تنهائی با استفاده از آب، متانل و اتانول ۸۰ درصد عصاره تهیه شد. سپس با حذف حلال، نمونه‌ها خشک شده و وزن خشک هر یک اندازه‌گیری شد. در روش‌های جوشاندن، خیساندن و دم‌کردن، مقدار ۲۵ گرم از ساقه، برگ و پیاز به ۲۵۰ سی‌سی آب مقطر استریل افزوده شد. جوشاندن به مدت پنج دقیقه و خیساندن و دم کردن نمونه‌ها هر یک به مدت ۳۰ دقیقه انجام گرفت. در تهیه شیرابه تغلیظ شده از چرخ کرده ۲۵ گرم از ساقه، برگ و پیاز تازه استفاده شد. نمونه‌ها توسط کاغذ واتمن شماره یک فیلتر شد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد آب اضافی نمونه‌ها حذف و وزن خشک هر یک اندازه‌گیری شد (۶، ۲۲و ۲۳).

۳- تهیه محلول فلوکونازول

جهت مقایسه اثر عصاره‌های مختلف و تأثیر ضد قارچی آن‌ها به همراه استانداردسازی روش‌های مختلف تست‌های تعیین حساسیت قارچ، اثر آن‌ها با فلوکونازول مقایسه شد. بنابراین از فلوکونازول محلولی در آب مقطر استریل تهیه شد که در هر سی‌سی خود واجد پنجاه میلی‌گرم فلوکونازول بود.

٤- آزمون‌های تعیین حساسیت

جهت انجام این مرحله ابتدا از مرکز کلکسیون میکروبی دانشگاه تهران آمپول‌های لیوفلیزهٔ کاندیدا البیکنس (ATCC 62061، ATCC 1677 و ATCC 11670)، کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس تهیه شد. سپس با انتقال به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان از هر کدام از آن‌ها به طور جداگانه و در شرایط کاملاً استریل سوسپانسیون استاندارد برابر 10^6 CFU/ml تهیه شد.

٤-۱- انتشار در ژل با استفاده از دیسک

فعالیت ضد قارچی به وسیله روش دیسک در محیط سابارو دکستروز آگار انجام شد (۲). در این روش از دیسک‌های استریل کاغذی (۶ میلی‌متری) که مقدار ۲۰ میلی گرم از انواع عصاره به آن‌ها وارد و خشک شده بود استفاده گردید. دیسک‌ها در فواصل معینی از یکدیگر، بر محیط کشت تلقیح شده با مخمر (10^6 CFU/ml) قرار داده شد و رشد مخمر در اطراف دیسک‌ها بررسی گردید. از دیسک حاوی فلوکونازول به عنوان شاهد مثبت و از دیسک حاوی آب مقطر استریل، به عنوان شاهد منفی استفاده شد. آزمایشات در شش تکرار انجام گرفت. پس از انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۲۵ - ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ – ۷۲ ساعت، هاله ممانعت از رشد اندازه‌گیری و متوسط قطر ثبت شد. قطر بیش از ۱۰ میلی‌متر حساسیت قارچ نسبت به عصاره را نشان می‌دهد (۲۰و۲۱).

٤-۲- انتشار در ژل با استفاده از چاهک

برای این کار ابتدا در هر محیط کشت سابور دکستروز آگار در فواصل معین و مساوی، چاهک‌هائی به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد گردید. سپس هر یک از عصاره‌ها به طور جداگانه به چاهک‌ها ریخته شد. پس

از ۶۰ دقیقه مخمر (10^6 CFU/ml) به صورت سفره‌ای کشت داده شد. انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۲۵ – ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ – ۷۲ ساعت انجام گرفت. از فلوکونازول به عنوان شاهد مثبت و از آب مقطر استریل، به عنوان شاهد منفی استفاده شد. آزمایشات در شش تکرار انجام گرفت و هاله ممانعت از رشد اندازه‌گیری و متوسط قطر ثبت شد.

۳-٤- تعیین MIC و MFC عصاره بر قارچ‌ها

در این روش برای هر عصاره و هر میکروارگانیزم به طور جداگانه، یازده لوله استریل حاوی یک سی‌سی محیط کشت Trypticase Soy Broth تهیه شد. بعد از کدبندی لوله‌ها، یک سی‌سی از رقت ۱/۵ عصاره را به لوله اول وارد و در لوله‌های بعدی رقت‌های ۱/۲ تهیه گردید. لوله آخر فاقد عصاره و به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. در ادامه کار به لوله‌های آماده قارچ تحت آزمایش را وارد کرده پس از انکوباسیون با بررسی کدورت ایجاد شده MIC و MFC تعیین گردید. نگهداری نمونه‌ها در دمای ۲۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (۲۰). در تمام تست‌های تعیین حساسیت تعداد مخمر تحت آزمایش با مقایسهٔ کدورت سوسپانسیون میکروبی ایجاد شده با لوله نیم مک فارلند کنترل شد. سپس ۱ میکرو لیتر از هر لوله بر محیط سابارو دکستروز آگار تلقیح شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ – ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تمام تست‌ها برای فلوکونازول در شرایط یکسان و مشابه انجام گرفت تا نتایج حاصل با هم مقایسه شود (۳و۲۱).

نتایج

روش دیسک

در این روش در اطراف دیسک‌های تلقیح شده با عصاره‌های آبی ساقه و برگ، آبی پیاز، دم کرده ساقه، برگ و پیاز و شیرابه تغلیظ شده هاله ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس به قطرهای متفاوت مشاهده و مشخص شد که انواع عصاره‌های آبی ساقه و برگ، آبی پیاز، دم کرده ساقه و برگ و پیاز و شیرابه تغلیظ شده به میزان متفاوت دارای فعالیت ضدکاندیدایی بر علیه انواع کاندیدا آلبیکنس می‌باشند (جدول۱). در محل هاله ممانعت از رشد فلوکونازول پس از ۴۸ ساعت، تعدادی کلنی کاندیدا رشد کرد که نشان‌دهنده ایجاد مقاومت در این گونه‌ها بود. انواع کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا به کلیه عصاره‌های مورد بررسی در این تحقیق مقاوم بوده و رشد کامل را نشان دادند (جدول ۲).

روش چاهک

در این روش در اطراف چاهک‌های تلقیح شده با عصاره‌های آبی ساقه و برگ، آبی پیاز، دم کرده ساقه و برگ، دم کرده پیاز و شیرابه تغلیظ شده هاله ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس به قطرهای متفاوت مشاهده شد (جدول ۲). در محل هاله ممانعت از رشد فلوکونازول پس از ۴۸ ساعت، تعدادی کلنی کاندیدا آلبیکنس رشد کرد که نشان‌دهنده ایجاد مقاومت در این گونه‌ها بود. انواع کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا به کلیه عصاره‌های مورد آزمایش مقاوم بوده و رشد کامل را نشان دادند.

جدول ۱: اثر ممانعتی عصاره‌های آلیوم جسدیانوم (۲۰ میلی‌گرم)، علیه کاندیدا به روش دیسک (هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر)

کاندیدا / عصاره	tropicalis	glabrata	albicans		
			ATCC 11670	ATCC 1677	ATCC 62061
آبی ساقه و برگ	۰	۰	۴	۷	۴
اتانلی ساقه و برگ	۰	۰	۰	۰	۰
متانلی ساقه و برگ	۰	۰	۰	۰	۰
آبی پیاز	۰	۰	۴	۷	۸
اتانلی پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
متانلی پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
جوشانده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
خیسانده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
دم کرده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۴	۴
شیرابه تغلیظ شده	۰	۰	۷	۱۱	۸
*فلوکونازول	۱۲	۰	۱۳	۰	۱۳

* در اطراف دیسک حاوی فلوکونازول پس از ۴۸ ساعت کلنی‌های مقاوم ایجاد شد.

جدول ۲: اثر ممانعتی عصاره‌های آلیوم جسدیانوم (۲۰ میلی‌گرم)، علیه کاندیدا به روش چاهک
(هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر)

کاندیدا / عصاره	tropicalis	glabrata	albicans		
			ATCC 11670	ATCC 1677	ATCC 62061
آبی ساقه و برگ	۰	۰	۴	۷	۴
اتانلی ساقه و برگ	۰	۰	۰	۰	۰
متانلی ساقه و برگ	۰	۰	۰	۰	۰
آبی پیاز	۰	۰	۴	۷	۸
اتانلی پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
متانلی پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
جوشانده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
خیسانده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۰	۰
دم کرده ساقه، برگ و پیاز	۰	۰	۰	۴	۴
شیرابه تغلیظ شده	۰	۰	۷	۱۱	۸
*فلوکونازول	۱۲	۰	۱۳	۰	۱۳

* در اطراف دیسک حاوی فلوکونازول پس از ۴۸ ساعت کلنی های مقاوم ایجاد شد.

تعیین MIC وMFC

نتایج MIC وMFC مربوط به تأثیر انواع عصاره بر کاندیدا آلبیکنس (ATCC 62061، ATCC 1677 و ATCC 11670) بدین صورت بود: عصاره آبی ساقه و برگ (MIC ۸۰۰، ۸۰۰ و ۹۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MFC ۹۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، عصاره آبی پیاز (MIC ۴۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MFC ۴۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، دم کرده ساقه، برگ و پیاز (MIC ۸۰۰، ۸۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم بر میلی و MFC ۱۰۰۰، ۹۰۰ و ۴۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر)، شیرابه تغلیظ شده ساقه، برگ و پیاز (MIC ۳۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MFC ۴۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر). عصاره‌های الکلی، خیسانده و جوشانده خواص ضد کاندیدایی را بر علیه هیچ‌یک از گونه‌ها نشان ندادند.

بحث

تأثیر عوامل مختلف شیمیائی بر روی رشد میکروارگانیزم‌ها به نوع مادهٔ شیمیائی، غلظت مادهٔ

شمیایی، نوع و تعداد میکروارگانیزم وابسته است. در این تحقیق علاوه بر بررسی اثر ضد میکروبی گیاه آلیوم جسدیانوم، نقش فاکتورهای فوق بررسی و مشخص شد که اگرچه آلیوم جسدیانوم فعالیت ضد کاندیدائی بر علیه گونه آلبیکنس دارد، اما فاقد فعالیت ضد قارچی بر علیه کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس است. بعلاوه، این اثر حتی در کاندیدا آلبیکنس‌های با ATCC مختلف متفاوت می‌باشد. لذا با این تحقیق برای اولین بار فعالیت ضد کاندیدایی آلیوم جسدیانوم را ثابت نمودیم. ین و تسائو در سال ۱۹۹۰ خواص ضد میکروبی پیاز و دیگر گونه‌های آلیوم را نشان دادند (۲۵). ناگاناوا در سال ۱۹۹۶ ترکیبات حاوی سولفور موجود در سیر را عامل فعالیت ضد میکروبی قوی بر علیه کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کولی دانست (۱۹). کاسژن در سال ۲۰۰۲ کاهش فعالیت ضد قارچی را به دنبال ذخیره نمودن گیاه گزارش کرده است. وی دلیل این امر را کاهش پلی سولفیدها، تری سولفیدها و دی سولفیدها عنوان نمود (۱۵). کورتیس و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Fry و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر سیر بر پاتوژنهای گیاهی را متذکر شدند (۵و۱۰). لمار و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که پس از نرم شدن سیر آلیل الکل در آن تجمع یافته و در نتیجه با ایجاد تنش در کاندیدا رشد آن متوقف می‌گردد (۱۷). عمده‌ترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌های حاصله از بخش‌های هوایی گیاه آلیوم جسدیانوم تری-سولفید دی‌متیل (٪۲۲/۳۴)، هگزادکانوئیک اسید (٪۱۹/۰۳)، فیتول (٪۱۲/۸۲) دی‌سولفید متیل- ۱- متیل تیواتیل (٪۹/۲۵)، پنتاکوزان (٪۸/۰۳) و کورزرن (٪۷/۶۲) می‌باشد (۱). جدلسکا در سال ۲۰۰۷ به روش HPLC مقدار کل سیستئین سولفوکساید در آلیوم‌های جمع‌آوری شده از ایران را ۰/۵۰ گزارش نمود. وی بیشترین سیستئین سولفوکساید موجود در گیاه را متیئین و سپس ایزوآلیئین عنوان کرد. ولی پروپئین و آلیئین در این گیاهان وجود نداشت. سیستئین سولفوکسایدها نظیر آلیسین، دی تیودی پیرول و دیگر ترکیبات آروماتیک، متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند که عامل مکانیسم‌های دفاعی این گیاهان بوده و بسیاری از آن‌ها بر علیه میکروب‌ها و حشرات موثر می‌باشند (۱۴). نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانلی، متانلی، خیسانده و جوشانده آلیوم جسدیانوم هیچ گونه اثر ضد قارچی ندارند. به نظر ما حرارت و الکل از عواملی هستند که بر ترکیبات مؤثره گیاه اثر سوء دارند. احتمالاً مواد فعال گیاه در حین آماده‌سازی نمونه و عصاره‌گیری تبخیر شده یا از بین بروند. همچنین تفاوت در غلظت بکار رفته عصاره نیز در نتایج به دست آمده تأثیر دارد. عصاره‌گیری به روش خیساندن نیز مناسب نبوده و این روش قادر نبود مواد فعال گیاهی را آزاد نماید. فعالیت ضد کاندیدایی عصاره حاصل از دم کردن گیاه و شیرابه تغلیظ شده بر کاندیدا آلبیکنس، نتایج چشم‌گیری را به همراه داشت. با این تحقیق برای اولین بار فعالیت ضد کاندیدایی آلیوم جسدیانوم ثابت شد. در این تحقیق، هیچ یک از عصاره‌ها فعالیت ضد کاندیدایی، علیه کاندیدا گلابراتا و کاندیدا تروپیکالیس را نشان ندادند. این امر ممکن است ناشی از ناکافی بودن غلظت عصاره‌های بکار رفته، ناپایداری سیستئین سولفوکساید و یا مقاومت گونه‌های فوق به آلیوم جسدیانوم باشد.

سپاسگزاری

با تشکر از مسئولین محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان که امکان انجام این تحقیق را فراهم ساختند.

منابع

1. Amiri, H., 2007. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Allium Jesdianum* Boiss & Buhse from Iran. J.of Med.plants, vol. 6, pp. 39-44.
2. Ayandele, A.A. and Adebiyi, A.O., 2007. The phytochemical analysis and antimicrobial screening of extracts of *olax subscorpioidea*. Afr. J. Bio .technol, vol. 6(7), pp. 868-870.
3. Betty, A. and et al., 2007. Diagnostic microbiology. Laboratory methods and stratgies for antimicrobial susceptibility Testing.12th edition. Mosby., pp. 187-214.
4. Crump, J.A. and Collignon, P.J., 2000. Intravascular catheter-associated infections. Eur. J. clin. Microbiol. Infect. Dis, vol. 19, pp. 1-8.
5. Curtis, H.; Noll, U.; Stormann, J. and Slusarenko, A.J., 2004. Broad- Spectrum Activity of the Volatile phytoanticipin Allicin in Extracts of Garlic (*Allium sativum L.*) Against plant pathogenic Bacteria, Fungi and Oomycetes. Physiol. and Molecular Plant Pathol, vol. 65, pp. 79-89.
6. Doughari, J.H.; EI-mahmood, A.M. and Tyoyina, I., 2008. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia(L.)*. Afr. J. pharm. pharmacol, vol. 2(1), pp. 07-13.
7. EI Astal, Z.Y.; Aera, A. and Aam, A., 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. Pak. J. Med. Sci, vol. 21(2), pp. 187. www. Pjms.com.pk.
8. Eloff, J.N., 1998. Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial compounds from plants. J. Ethnopharm, vol. 60, pp. 1-8.
9. Erturk, O.; Kati, H.; Yayli, N. and Demirbag, Z., 2006. Antimicrobial Properties of *silene multifida* (Adams) Rohrb. Plant Extract. Turk. J. Biol, vol. 3, pp. 17-21.
10. Fry, F.H. and Okarter, N., 2005. Use of substrate/alliinase combination to generate antifungal activity in Situ. J. Agric. Food chem. vol. 53, pp. 574-580.
11. Gilfillian, D.; Sullivan, J.; Haynes, K.; Parkinson, T.; Coleman, C. and Gow, R., 1998. Candida dubliniensis: Phylogeny and putative virulence factors. Microbiol, vol. 144, pp. 829-838.
12. Hasan, M.F.; Alam khan, Hossain, M.S. and Rahman, M., 2009. The determination of antibacterial and antifungal activities of *Polygonum hydropiper(L.)* root extract. Adv. Bio. Res, vol. 3(1-2), pp. 53-56.
13. Iscan, G.; Kirimer, N.; Kurkcuoglu, M.; Baser, K.H. and Demirci, F., 2002. Antimicrobial Screening of *M. piperita* essential oils. J. Agric. Food. Chem, vol. 50, pp. 3943-3960.
14. Jedelska, J., 2007. Pharmaceutical Value of Onions *(Allium L.)* and Related Species of Central Asia. Ph.D thesis. Philipps University, Marburg, Germany.
15. Keusgen, M., 2002a. Ehapter 15. Health and *Allium* In: H.D. Rabinowitch and currah L (eds). *Allium* crop science recent advantages, CAB1 publishing. Wallinford uk, pp. 357-378.
16. Kilani, A.M.; Oyelade, O. and Adeleke, O.E., 2007. Antimicrobial activity of a decoction used by southwestern Nigeria Traditional healers on selected dermatophytes. Afr. J. Biotechnol, vol. 6 (22), pp. 2529-2531.

17. Lemar, K.M.; Passa, O.; Anon, M.A.; Cortassa, S.; Muller, C.T. and Plummer, S., 2005. Allyl alcohol and garlic *(Allium sativum)* extract produce oxidative stress in Candida albicans. Microbiol, vol. 151, pp. 3257-3265.
18. Lincoln, D.E. and Merritt, J.M., 1980. Chemical composition and genetic basis for phone chemotype of Mentha citra hybrid. Phytochem, vol. 25, pp. 1857-1863.
19. Naganawa, R. and Iwata, N., 1996. Inhibition of Microbial growth by ajoene, sulfur - containing Compound derived from garlic. Applied and Envir. Microbiol., pp. 4238-4242.
20. Nascimento, G.G.F.; Lacatelli, J.; Freitas, P.C. and Silva, G.L., 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. Braz. J. Microbiol, vol. 31(4), pp. 886-891.
21. National committee for clinical laboratory standards., 1990. Methods for the antifungal susceptibility testing. In: Manual of clinical Microbiology. Am. Sos. Microbiol. Washington, DC. 5th edition, pp.1105-1125.
22. Okore, V.C.; Ugwu, C.M.; Oleghe, P.O. and Akpa, P.A., 2007. Selective anti-Candidal action of crude aqueous pod extract of *Lecaniodiscus cupanioides*: a Preliminary study on Candida albicans obtained from an Aids Patient. Scient. Research and Assay, vol. 2, pp. 43-46.
23. Owolabi, J.; Omogbai, E.K.I. and Obasuyi, O., 2007. Antifungal and antibacterial activities of the ethanolic and aqueous extract of *Kigelia Africana* (Bignoniaceae) stem bark. Afr. J. Biotechnol, vol. 6(14), pp. 882-85.
24. Rios, J.L. and Recio, M.C., 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. J. Ethnopharm, vol. 100, pp. 80-84.
25. Yin, M. and Tsao, S., 1990. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three Aspergillus species. Int J. of Food Microbiol, vol. 49, pp. 49-56.