Archive of SID

بررسی اثر عصاره کلروفرمی سیر (*Allium Sativum* L.) بر مورفولوژی و فیزیولوژی بروسلا

رضا شاپوری[1*]، مرتضی ستاری[2]، زهیر محمدحسن[3]

۱- کارشناس ارشد، گروه باکتری‌شناسی دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس
۲- استادیار، گروه باکتری‌شناسی دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس
۳- دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس
*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه باکتری‌شناسی
صندوق‌پستی: ۱۵۸- ۱٤۱۱۵، تلفن: ۸۰۱۱۰۰۱ (۰۲۱)، نمابر: ۸۰۰٦٥٤٤ (۰۲۱)
پست‌الکترونیکی: sattarym@yahoo.com

چکیده

بروسلا تحت تاثیر عواملی مانند پنی‌سیلین، گلیسین و برخی از هورمون‌ها می‌تواند به ال ـ فرم تبدیل شود. اشکال ال باکتری ممکن است در طول بیماری و یا بروسلوز نهفته ایجاد شوند و در عودهای مجدد بیماری و انتقال آن دخیل باشند.

سیر (*Allium Sativum* L.) گیاهی دارویی است که آلیسین مهمترین ماده ضدمیکروبی آن می‌باشد. در این بررسی پس از استخراج عصاره کلروفرمی سیر و تعیین میزان کمّی آلیسین، حداقل غلظت بازدارنده از رشد (MIC) و باکتری‌کشی (MBC) بر روی بروسلا ملی‌تنسیس Rev1 و بروسلا آبورتوس S19 تعیین شد. اثر عصاره بر مورفولوژی بروسلا در غلظت‌های کمتر از بازدارنده، اثر زمان و دما در تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر روی بروسلا و اثر ضدمیکروبی عصاره در حضور سوکروز بر روی باکتری مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داد که اثر ضدمیکروبی آلیسین بر روی بروسلا تحت تاثیر دما قرار نمی‌گیرد و اثر کشندگی خود را در همان دو ساعت اول بر روی باکتری نشان می‌دهد. همچنین اشکال ال باکتری در غلظت‌های کمتر از بازدارنده عصاره جدا نشدند.

گل‌واژگان: بروسلا، ال ـ فرم، آلیسین، ضدمیکروبی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بروسلا باکتری گرم منفی هوازی، به شکل کوکوباسیل و عامل بروسلوز در حیوانات و انسان است [۱].

بروسلا تحت تاثیر پنی‌سیلین، گلیسین و هورمون‌های استرورییدی می‌تواند به شکل ال ـ فرم درآید. بررسی‌ها نشان داده است که بروسلاها با نقص در دیواره سلولی بهتر از باکتری طبیعی باعث نابودی و انهدام مونوسیت‌ها می‌شوند. برخی از این ال – فرم‌ها قابل فیلتر شدن هستند و می‌توانند از فیلترهای باکتریولوژیک عبور کنند [۵، ٤، ۳، ۲].

اشکال ال بروسلا ممکن است در طول بیماری فعال و یا بروسلوز نهفته ایجاد شوند. گزارش‌هایی وجود دارد که ثابت می‌کند گونه‌های بروسلا می‌توانند در اثر تبدیل شدن به ال ـ فرم و سپس بازگشت به فرم طبیعی به گونه دیگری تبدیل شوند. دو نوع پروتئین باند شونده به پنی‌سیلین (PBP) به‌نام PBP1 و PBP2 در بروسلا شناسایی شده است. PBP ها در پاتوژنز باکتری نقش دارند. PBP2 به عنوان کامل‌کننده برای فعالیت PBP1 است. PBP ها در تبدیل بروسلا به ال ـ فرم نقش دارند [۷، ٦، ٥، ٤].

سیر (*Allium Sativum* L.) با داشتن ترکیبات آلی گوگرددار دارای اثرات ضدمیکروبی وسیع، ضدسرطان، فعال‌کننده سیستم ایمنی و اثرات ضدانعقادی می‌باشد. آلیسین که در اثر عمل آنزیم آلئیناز از آلئین ایجاد می‌شود، مهمترین ماده ضدمیکروبی سیر است [۱۱، ۱۰، ۹، ۸].

اشکال ال توانایی بازگشت به فرم طبیعی باکتری را دارا می‌باشند بنابراین می‌توانند در چرخه انتقال بروسلوز از حیوان به انسان و سایر پستانداران نقش ایفا کنند.

یافتن مواد جدید ضدمیکروبی بدون اثرات سوء برای انسان از اهمیت ویژه‌ای برخورداراست. لذا هدف این تحقیق بررسی جامع اثر ضدمیکروبی آلیسین بر تغییرات مرفولوژی و فیزیولوژی بروسلا است.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه‌های بروسلا: سویه‌های بروسلا ملی‌تنسیس، Rev1 و آبورتوس S19 از انستیتو رازی تهیه شد. باکتری‌ها پس از کشت بر روی محیط آبگوشتی و آگاردار بروسلا و انجام تست‌های تاییدی در محیط بروسلا براث حاوی ۱۵ درصد گلیسرول، در ۲۰- و ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای کارهای بعدی نگهداری شدند [۱۲].

تهیه عصاره کلروفرمی سیر: تهیه عصاره کلروفرمی بر اساس روش کار منابع انجام گرفت که شامل تهیه عصاره آبی سیر، افزودن کلروفرم به عصاره آبی در دکانتور و جدا نمودن فاز کلروفرمی، تقطیر در خلا در دمای ۵۵-٤۵ درجه سانتی‌گراد برای حذف کلروفرم و خالص‌سازی عصاره که به صورت یک عصاره زرد مایل به سبز با بوی تند سیر به‌دست می‌آید [۱۳،۱٤].

تعیین مقدار کمی آلیسین: مقدار کمّی آلیسین موجود در عصاره به‌وسیله کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) با روش کار ذکر شده در فارماکوپه انگلستان انجام گرفت [۱۵]. به‌طور خلاصه شامل خرد و انکوبه کردن ۱۲ ساعت سیر در ۵۵ درجه سانتی‌گراد، آسیاب و حل کردن آن در آب مقطر که ۱۰ میلی‌لیتر از محلول رویی را با ۲۵ میلی‌لیتر از اسید فرمیک و متانول مخلوط نمودیم و ازمایع رویی جهت انجام HPLC استفاده کردیم. استاندارد داخلی ۲۰ میلی‌گرم بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات (BPB) در یک لیتر از حجم مساوی آب و متانول می‌باشد. با استفاده از فرمول زیر مقدار کمی آلیسین محاسبه می‌شود:

$$\text{درصد آلیسین} = \frac{s_1 m_2 \times 22.75}{s_2 m_1}$$

m_1 = مقدار ماده مورد آزمایش بر حسب گرم

s_1 = سطح زیر منحنی آلیسین

m_2 = مقدار BPB بر حسب گرم

www.SID.ir

Archive of SID

s_2 = سطح زیر منحنی BPB

تعیین MIC و MBC عصاره بر روی بروسلا: از محیط مولر هینتون براث و آگار حاوی ۱درصد Hb (هموگلوبین) برابر استانداردهای میکروب‌شناسی برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده از رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) استفاده شد. این بررسی به روش رقت در لوله (ماکرو) با تلقیح CFU/ml ^{5} ۱۰ × ۵ باکتری به لوله‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره و انکوباکسیون تا ٤ روز در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به همراه ۱۰-۷ درصد دی‌اکسیدکربن انجام گرفت. در هر روز از لوله‌ها بر روی پلیت کشت و در همان شرایط گرماگذاری شد [۹].

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره در حضور سوکروز: در این مرحله از مولر هینتون براث ۱ درصد Hb دارای سوکروز ۰/۵ مولار استفاده شد. پس از تهیه رقت‌های عصاره در لوله و تلقیح CFU/ml ^{5} ۱۰ × ۵ باکتری، لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۱۰-۷ درصدی CO_2 به مدت ۳ روز گرماگذاری شدند، هر روز یک کشت بر روی مولر هینتون آگار ۱ درصد Hb داده می‌شد و پلیت‌ها در همان شرایط به مدت ۵ روز انکوبه می‌شدند [۱٦،۱۷].

بررسی اثر غلظت‌های کمتر از بازدارنده عصاره بر مورفولوژی بروسلا: دو سری لوله حاوی رقت‌های مختلف کمتر از بازدارنده عصاره در مولر هینتون براث ۱ درصد Hb با تلقیح CFU/ml ^{5} ۱۰ × ۵ باکتری تهیه شدند. یک سری از لوله‌ها حاوی سوکروز ۰/۵ مولار بودند، هر دو سری لوله در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۱۰-۷ درصد CO_2 انکوبه شدند. در زمان‌های ٤ و ۲٤ ساعت بعد از گرماگذاری از لوله‌ها بر روی محیط بروسلا آگار مناسب برای رشد باکتری‌های ال ـفرم با غلظت آگار ۰/۷درصد و حاوی سوکروز ۰/۵ مولار کشت و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۱۰-۷ درصد CO_2 به مدت ۱۰ روز انکوبه شدند. همچنین در زمان‌های ذکر شده گسترشی از هر لوله بر روی لام تهیه گردید. لام‌ها پس از فیکس کردن در حرارت خیلی ملایم و رنگ‌آمیزی با سافرانین مورد مطالعه قرار گرفتند [۳،۹،۱٦،۱۷].

بررسی اثر زمان و دما در تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر روی بروسلا: دو سری لوله از رقت‌های مختلف عصاره در مولر هینتون براث ۱ درصد Hb با تلقیح CFU/ml ^{5} ۱۰ × ۵ باکتری تهیه شد. یک سری از لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد (به همراه ۱۰-۷ درصد CO_2) و سری دیگر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در زمان‌های صفر، ۱، ۲، ٤ و ۲٤ ساعت از لوله‌های هر دو سری بر روی پلیت کشت و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۱۰-۷ درصد CO_2 به مدت ۵ روز انکوبه شد [۱۷، ۱٦، ۹].

نتایج

تعیین مقدار کمی آلیسین به روش HPLC

با جایگزین اعداد به دست آمده در فرمول صفحه پیش میزان آلیسین ۱/۷٦ میلی‌گرم درصد گرم سیر محاسبه گردید.

نتایج MIC و MBC عصاره بر روی بروسلا: با توجه به جدول شماره ۱ ۱:۱٦۰ عصاره به‌عنوان MIC و ۱:۸۰ آن به‌عنوان MBC برای هر دو سویه بروسلا به دست می‌آید. با توجه به مقدار کمی آلیسین به دست آمده غلظت آلیسین در رقت ۱:۱٦۰ عصاره برابر با ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در رقت ۱:۸۰ عصاره ۲۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

اثر ضدمیکروبی عصاره در حضور سوکروز: نتایج ذکر شده در جدول شماره ۲ نشان داد که اثر ضدمیکروبی عصاره در حضور سوکروز نیز همانند نتایج جدول شماره ۱ برای MIC و MBC می‌باشد.

اثر غلظت‌های کمتر از بازدارنده عصاره بر مورفولوژی بروسلا: در مطالعه لام‌های تهیه شده از سه رقت ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۱۰۰۰۰ عصاره، در ٤ ساعت اول دو لوله ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰۰ عصاره بیشترین

www.SID.ir

Archive of SID

اشکال آتیپیک را از خود نشان دادند. این اشکال در مـورد سویه Rev1 مشخص‌تر بود و نسبت به باکتری طبیعی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۱- نتایج MIC و MBC عصاره بر روی بروسلا

	کنترل مثبت	لوله۱	لوله۲	لوله۳	لوله۴	لوله۵	لوله۶	لوله۷	لوله۸	لوله۹
رقت عصاره	–	۱:۱۰	۱:۲۰	۱:٤۰	۱:۸۰	۱:۱٦۰	۱:۳۲۰	۱:٦٤۰	۱:۱۲۸۰	۱:۲٥٦۰
رشد S19	+	–	–	–	–	–	+	+	+	+
رشد در ساب کالچر روی پلیت S19	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+
رشد Rev1	+	–	–	–	–	–	+	+	+	+
رشددرساب‌کالچرروی پلیت Rev1	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+

جدول شماره ۲- اثر ضدمیکروبی عصاره در حضور سوکروز

	کنترل‌مثبت	لوله۱	لوله۲	لوله۳	لوله۴	لوله۵
رقت عصاره	–	۱:۲۰	۱:٤۰	۱:۸۰	۱:۱٦۰	۱:۳۲۰
رشد S19	+	–	–	–	–	+
رشد در ساب کالچر روی پلیت S19	+	–	–	–	+	+
رشد Rev1	+	–	–	–	–	+
رشد در ساب کالچر روی پلیت Rev1	+	–	–	–	+	+

گردتر بودند. برخی از آنها از اندازه باکتری‌های طبیعی بزرگتر بودند. در بررسی گسترش‌های بعد از ۲٤ ساعت نیز نتایجی مشابه به‌دست آمد. این اشکال در هر دو سری از لوله‌های بدون سوکروز و دارای سوکروز مشاهده شدند. در رشد بر روی محیط بروسلا آگار ۰/۷ درصد حاوی سوکروز نیم مولار تا ۱۰ روز انکوباسیون هیچ کلونی با خصوصیات کلونی‌های اشکال ال ـ فرم جدا نشد.

اثر زمان و دما در تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره: نتایج جداول شماره ۳ و ٤ نشان می‌دهند که اثر ضدمیکروبی عصاره بر روی بروسلا تحت تاثیر دما قرار نمی‌گیرد و عصاره اثر ضدمیکروبی خود را در همان ۲ ساعت اول نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۳ – اثر زمان در تاثیر رقت‌های عصاره در دمای ۳۷ سانتی‌گراد

رقت عصاره	صفر	۱:۲۰	۱:٤۰	۱:۸۰	۱:۱٦۰
رشد روی پلیت در زمان ـ سویه					
صفر – S19	+	+	+	+	+
صفر – Rev1	+	+	+	+	+
۱ ساعت – S19	+	+	+	+	+
۱ ساعت – Rev1	+	+	+	+	+
۲ ساعت – S19	+	–	–	–	+
۲ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+
٤ساعت – S19	+	–	–	–	+
٤ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+
۲٤ ساعت – S19	+	–	–	–	+
۲٤ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+

جدول شماره ۴ – اثر زمان در تاثیر رقت‌های عصاره در دمای ۴ سانتی‌گراد

رقت عصاره	صفر	۱:۲۰	۱:٤۰	۱:۸۰	۱:۱٦۰
رشد روی پلیت در زمان ـ سویه					
صفر – S19	+	+	+	+	+
صفر – Rev1	+	+	+	+	+
۱ ساعت – S19	+	+	+	+	+
۱ ساعت – Rev1	+	+	+	+	+
۲ ساعت – S19	+	–	–	–	+
۲ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+
٤ساعت – S19	+	–	–	–	+
٤ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+
۲٤ ساعت – S19	+	–	–	–	+
۲٤ ساعت – Rev1	+	–	–	–	+

بحث

نتایج جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که MIC و MBC برای دو سویه یکسان است و عصاره در رقت‌های پایین هم اثر ضدمیکروبی دارد. نکته مهم در مورد این اثر ضدمیکروبی با توجه به نتایج جداول شماره ۳ و ٤ می‌شود که اثر ضدمیکروبی عصاره تحت تاثیر دما قرار نمی‌گیرد و عصاره این اثر را در هر دو دمای ٤ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌کند که یکی از مزایای عصاره در استفاده آن به‌عنوان یک ماده نگهدارنده به شمار می‌رود.

جداول شماره ۳ و ٤ همچنین نشان می‌دهند که عصاره اثر باکتری‌کشی در غلظت‌های MBC و

www.SID.ir

Archive of SID

بیشتر از آن را در دو ساعت اول بر روی بروسلا نشان می‌دهد. در رقت‌های ۱:۲۰ و بالاتر این اثر را می‌توان حتی در همان یک ساعت اول تماس باکتری‌ها با عصاره مشاهده نمود. این نتیجه نیز استفاده از عصاره سیر و سایر فرآورده‌های آن را به‌عنوان مواد نگهدارنده، بیشتر تایید می‌کند. از تاثیر سریع آلیسین بر روی بروسلا می‌توان در درمان بروسلوز نیز بهره برد. با توجه به مشکلات رژیم درمانی بروسلوز از جمله عودهای مجدد واثرات سوء ناشی از مصرف بلندمدت آنتی‌بیوتیک‌ها، می‌توان استفاده از سیر و فرآورده‌های آن را حداقل در کنار شیمی‌درمانی پیشنهاد نمود. البته باید اذعان داشت که اثر ضدمیکروبی سیر محدود به بروسلا نیست و بر روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مایکوباکتریوم‌ها، ویروس‌ها، تک‌یاخته‌ها و قارچ‌ها نیز موثر است [۱۹، ۱۸، ۱٤].

در بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره کلروفرمی سیر بر روی بروسلا در حضور سوکروز (جدول شماره ۲) نشان دادیم که این اثر ضدمیکروبی تحت تاثیر سوکروز محیط قرار نمی‌گیرد. سوکروز ۰/۵ مولار به‌عنوان یکی از ترکیبات مهم در بالا بردن فشار اسمزی محیط شناخته می‌شود تا بدین وسیله باکتری‌های با نقص در دیواره سلولی دچار شوک اسمزی و لیز نشده و بتواند در محیط رشد کند. این بررسی نشان داد که آلیسین تنها با مکانیسم شوک اسمزی باعث نابودی بروسلا نمی‌شود زیرا اگر عصاره با اثر در دیواره سلولی و ایجاد شوک اسمزی باعث مرگ باکتری می‌شد باید در حضور سوکروز که فشار اسمزی محیط را بالا می‌برد، باکتری‌ها رشد می‌کردند [۱٦] . نتایج به‌دست آمده در مورد غلظت‌های کمتر از بازدارنده عصاره نشان داد که عصاره باعث ایجاد اشکال غیرطبیعی بروسلا می‌شود اما چنین اشکال آتیپیکی توانایی ایجاد کلونی‌هایی با مشخصات کلونی‌های ال ـ فرم بر روی محیط آگار نرم مناسب برای جداسازی ال ـ فرم‌ها را ندارند. عدم توانایی بازگشت اشکال غیرطبیعی بروسلا توسط آلیسین این مورد را یک بار دیگر تایید می‌کند که آلیسین یکی از مواد ضدمیکروبی قوی و مناسب برای حذف بروسلا است. زیرا با توجه به اهمیت اشکال ال بروسلا در موارد عود مجدد و انتقال بیماری می‌تواند استفاده از این ماده در درمان بروسلوز را مطرح می‌کند [۷]. مکانیسم یا مکانیسم‌های فعالیت ضدمیکروبی آلیسین و عصاره سیر به‌طور دقیق مشخص نشده است ولی چندین مکانیسم در این رابطه پیشنهاد می‌شود. تداخل در عملکرد آنزیم‌ها و پروتئین‌های حاوی گروه SH یکی از این مکانیسم‌ها می‌باشد.

آلیسین به‌طور غیرقابل برگشت باعث مهار SH- پروتئازها و الکل دهیدروژناز وابسته به NADP می‌شود. به‌نظر می‌رسد که سلول‌های پستانداران نسبت به اثرات شدید آلیسین مقاوم هستند. یکی از دلایل مقاومت به‌علت وجود گلوتاتیون در داخل سلول‌های پستانداران می‌باشد که می‌تواند فعالیت آلیسین وارد شده به سلول را خنثی کند. به‌عبارت دیگر یکی از دلایل طیف وسیع ضدمیکروبی آلیسین بدون داشتن اثرات سوء بر روی میزبان به همین دلیل است. آنچه مهم است این‌که تداخل در عملکرد پروتئین‌های حاوی گروه SH یکی از مهمترین مکانیسم‌های فعالیت بیولوژیکی آلیسین می‌باشد. البته مکانیسم‌های دیگری مانند ممانعت از نسخه‌برداری mRNA، تاثیر بر روی سنتز پروتئین‌ها و سنتز DNA نیز پیشنهاد شده‌اند [۲۲، ۲۱، ۲۰، ۱۹].

منابع

www.SID.ir

Archive of SID

1. Gorvel JP, Moremo E. *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellulan replicatior. *Vet. Microbio.* 2002; 90: 281 – 97.

2. Hines WD, Freeman BA, Pearson GR. Production and Characterization of *Brucella* Spheroplasts. *J.Bacteriol.* 1964; 87: 438-45.

3. Mattman LH. Cell Wall Deficient Forms Stealth Pathogens. 3th ed. CRC Press. USA. 2001, pp: 351 –61.

4. Meyer ME. Evolution and taxonomy in the genus *Brucella*: steroid hormone induction of filterable forms with altered characteristics after reversion. *Am. J.Vet. Res.* 1976; 37: 207-10.

5. Meyer ME. Evolution and taxonomy in the genus *Brucella*: Progesterone induction of filterable forms of *Brucella abortus* type 2 with revertant characteristics essentially indistinguishable in vitro from those of *Brucella ovis*. *Am. J. Vet. Res.* 1976; 37: 211-4.

6. Meyer ME. Evolution and taxonomy in the genus *Brucella*:Concepts on the origin of the contemporary species. *Am. J.Vet. Res.*1976; 37: 199-202.

7. Banai M, Adams LG, Frey M. The myth of *Brucella* L-forms and possible involvement of *Brucella* penicillin binding proteins (PBPs) in pathogenicity. *Vet. Microbio.* 2002; 90: 263-79.

8. Block E. The oranosulfur chemistry of the genus Allium – implications for the organic chemistry of sulfur. *Angew. Chom. Internal. Edit.* 1992; 31: 1101-264.

9. Ahsam MJ. In vitro acitivities of five new antimicrobial agents against *Brucella melitensis*. *Intern. J. Antimicro. Agents.* 1999; 12: 185-6.

10. Emest E. Cardiovasular effects of garlic (Allium sativum): *A review. Pharmathera*. 1987; 5: 83-9.

11. Silagy CA, Neil AW. Ameta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *J.Hyperten.* 1994; 12: 463-8.

12. Shapiro DS, and Wong JD. *Brucella*, In Manual of clinical microbiology, Murray P.R, Baron E.J., and et al., 7th. Ed., ASM Press, 1999.

۱۳. صمصام‌شریعت سیدهادی، عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی. ۱۳۷۱.

14. Delaha DC, Garagasi VF. Inibition of *Mycobacterium* by garlic extract *(Allium Satiuum). Antimicrob. Agen. Chemother.* 1985; 27: 485-6.

15. Block E, Naganthan S, Putman D. Allium Chemistry HPLC Analysis of Thiosulfinates from Onion, Garlic, Wild Garlic, Leek, Scallion, Shallot, Elephant Garlic, Chive and Chive. *J. Agri. Food Chem.* 1992; 40: 2418- 30.

16. Pattnaik S, Subramanyam VR, Rath CC. Effect of essential oils on the viability and morphology of *Escherichia coli* (SP-11). *Microbios.* 1995; 84: 195-9.

17. Baron E, Finegold SM. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 8th Ed. Mosby. 1990, pp: 171-94.

18. Sivam GP, Lampe W, Ulness B, Swanzy Sr. *Helicobacter pylori* in vitro susceptibility to garlic (*Allium sativum*) extract. *Nut and Cancer.* 1997; 27: 119-21.

19. Weber ND, Anderson DO, North JA. In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta. Med.* 1992; 58: 417-23.

20. Agarwal K.C., Therapeutic actions of garlic constituents. *Med. Res.* Rev. 1996; 16: 111-12.

21. Lawson LD. *Phytomedicines of Europe: their chemistry and biological activity. Am. Chem. Soc. Washington* DC. 1998, vol 691. pp: 176- 209.

22. Ankri S, Miron T. Allicin from garlic strongly inhibits cysteine proteinases and cytopathic effects *Entamoeba histolytica* Antimic. Agen. Chemother. 1997; 41: 2286-8.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir