

FICUS CARICA L. SUBSP. CARICA YAPRAKLARININ MASTİTİS PATOJENLERİNE KARŞI ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTESİ

Gülten Ökmen^{*}, Onur Türkcan, Pınar Erdal, Dilek Işık

Özet:

Mastitis sağmal ineklerde sık görülen bir hastalıktır ve sürü sığırı yetiştiriciliği sektöründe yüksek ekonomik kayıplara neden olmuştur. Bu çalışmada kullanılan mastitis etkenleri toplam 7 bakteridir, iki *Staphylococcus aureus* ve beş KNS'yi (koagülaz negatif stafilokoklar) kapsamaktadır. Antibakteriyel aktivite çalışmalarındaki bitki özütleri *Ficus carica*'dan sağlanmış, testler Bauer- Kirby disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Ayrıca antibakteriyel aktivite testi minimum inhibitör konsantrasyon testi (MIC) ile yapılmıştır. *F. carica*'nın metanol özütleri 3 bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (%42). En yüksek antibakteriyel aktivite *S. aureus* – 17 ve KNS – 32'e karşı (10mm) gösterilmiştir. En düşük MIK değeri 3250 µg/mL olarak saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Ficus carica*, mastitis, antibakteriyel aktivite

GİRİŞ

Süt birçok mikroorganizma için mükemmel bir bakteriyolojik ortamdır. Sağlıklı bir inekten hijyenik koşullarda sağımı yapılan süt, meme kanalındaki mevcut mikroorganizmalardan yalnızca sınırlı sayıda olanı içermektedir. Kontaminasyon kaynakları çevre, sağım ekipmanları ve sağımıcının kendisi olabilir (1, 2). Mastitise neden olan en yaygın mikroorganizmalar *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve koliform bakterileridir (3). Mastitis, çeşitli ajanlara karşı meme bezi dokusunda meydana gelen inflamatuvar reaksiyonudur. Mastitisin bakteriyel ajanları arasında yıllardır en yaygın olarak *Staphylococcus aureus* rapor edilmiştir (4). Koagülaz negatif stafilokoklar, geçmişte düşük sıklıkla izole edilirken, son yıllarda daha yaygın olarak izole edilmekte ve sonuç olarak ta mastitis nedenlerinin araştırılması önem arz etmektedir (5, 6).

Sublinik mastitis enfeksiyon ajanları meme bezi üzerinde meydana gelmesine rağmen sütte gerçekleşen inflamatuvar değişiklikler ve klinik bir değişiklik nedeniyle meme bezi veya süt içinde yer alabilir (7).

^{*} Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kötekli, Muğla.
Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: gultenokmen@gmail.com

Klinik mastitis sporadik vakalar şeklinde görülürken, subklinik mastitis durumunda ineklerde enfeksiyon yayılmaya devam eder, hastalık sürüdeki diğer hayvanlara bulaşabilir (8). Mastitis sürü sığırı yetiştiriciliği sektöründe yüksek ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Dünya çapında mastitisten kaynaklanan yıllık kaybın 35 milyar dolar olduğu bildirilmiştir (9-11).

Hastalığın tedavisinde antibiyotikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Antibiyotiğin uzun süreli kullanımı antibiyotiğe dirençli türlerin gelişmesine, dolayısıyla antibiyotik dozlarının artırılarak kullanılmasına ve bu da sütte kalıntı oluşmasına neden olmaktadır (12). Kontamine süt yoluyla antibiyotiğe dirençli *S. aureus*'un gelişmesi çevreyi ciddi oranda etkiler ve aynı zamanda doğrudan temas yoluyla veya gıda zinciri yoluyla insanlara bulaşabilmektedir (13). Bu nedenle, günümüz bilim adamları birçok antibiyotiğe direnç geliştirmiş bakteriyel ajanlara karşı yeni antibiyotiklerin keşfi ve kullanımı konusunda araştırma yapmaktadırlar.

Bitki uçucu yağları ve özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi ham ve işlenmiş olarak bazı merhemlerin, besin koruyucularının, farmasotiklerin, alternatif ilaç ve doğal terapilerin temel bileşenini oluşturmaktadır (14-17). *Ficus carica*'nın meyveleri, kökleri ve yaprakları kolik, hazımsızlık, ishal, boğaz ağrısı, öksürük, bronşit problemleri, iltihap, kardiovasküler hastalıklar, ülseratif hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıklarda tıbbın geleneksel sisteminde kullanılmaktadır (18-22).

Ficus carica'nın antioksidant, antibakteriyel, iltihap önleyici, hemostatik, hipoglisemik, hipokolesterolemik, kanser baskılama ve antihelmintik etkilerinin varlığı bildirilmiştir (18, 19, 21, 23-27). *F. carica*'nın farmakolojik özellikleri muhtemelen özütlerinin yüksek fenolik bileşikler içermesinden dolayı ortaya çıkmaktadır. İncir yapraklarından farmakolojik özelliğe sahip bazı fenolik bileşiklerin elde edildiği rapor edilmiştir. Bunlar psoralen ve bergapten gibi funarocoumarinler, rutin gibi flavonoidler, feirulik asit gibi fenolik asitler ve taraksasterol gibi fitosterollerdir (28).

İncir, *Urticales* takımının *Moraceae* (dutgiller) familyasına dahil bir bitkidir. Bu cinsten, eski Dünya'nın tropik alanlarında 600 kadar tür yetişse de meyvecilik bakımından en önemlisi, Anadolu inciri denilen *Ficus carica* L.'dir (29). İncirin yaprakları koyu yeşil renkli, derin girintili beş lopludur (30). Yıllık ortalama sıcaklığın 18- 20°C olduğu yerlerde yetişmektedir. Ağustos-Eylül aylarında ise özellikle dişi ağaçlar, daha yüksek sıcaklıklar istemektedir (30°C). Toprak istekleri yönünden çok seçici değildirler. Derin kumlu-killi, organik madde miktarı zengin ve kireçli topraklarda yetişebilmektedirler. Toprak pH'sı yönünden 6- 7.8 olan nötr toprakları tercih etmektedirler. *Ficus carica* türü hem dişi hem de erkek ağaçlar için bir yıl boyunca üç farklı meyve oluşturmaktadır (31).

Bu çalışmanın amacı, mastitis patojenlerine karşı *Ficus carica* metanol özütlerinin antibakteriyel aktivitesinin saptanmasıdır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki materyali

Bu çalışmadaki bitki materyali örneği olan *Ficus carica* Temmuz 2013 tarihinde Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Kampüsünden temin edilmiştir.

Ficus carica'nın teşhisi uzman Olcay Ceylan tarafından yapılmıştır, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü. Bitki materyalleri Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Herbariumunda depo edilmiştir. Bitki örneklerinin teşhisi Davis (32)'e göre yapılmıştır.

Mikroorganizmalar

Mastitis etkenleri toplamda 7 bakteri olup, bunların ikisi *S. aureus* geri kalan 5 bakteri ise KNS'dir. Tüm mastitis etkenleri Dr. Zafer Cantekin tarafından daha önce yapılmış proje çalışmasından temin edilmiştir (Proje no: 1101 M 0103; Etik Kurul no: 2010/02-30:12). Tüm mastitis patojenlerinin teşhisi klasik kültür yöntemleri ile biyokimyasal testler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (33).

Bitki materyallerinin hazırlanması

Antibakteriyel aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere bitkilerin yaprak parçaları akan suda, ve steril distile su ile birkaç kez yıkanmıştır. Taze bitkilerin yaprakları havada kurutulmuş ve daha sonra bir öğütücüde toz haline getirilmiştir. Örneklerin hazırlanması sırasında tüm materyaller oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ayrıca kullanılıncaya kadar numuneler 4°C'de muhafaza edilmiştir. Analiz için gerekli olana kadar, çalışmalarda kullanılacak olan bitkilerin yaprakları ise derin bir dondurucu (-20°C) içinde taze olarak muhafaza edilmiştir.

Bitki özütlerinin hazırlanması

Havada kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitki yaprakları (10g) metanol ile Soksolet cihazında ekstrakte edilmiştir. Özütler uçurulduktan sonra, her biri soğuk olarak küçük steril opak şişelerde metanol içinde tutulmuştur. Tüm özüt konsantrasyonları 100 mg/mL olarak ayarlanmıştır.

Kültivasyon

Dr. Zafer Cantekin'in önceki çalışmasından izole ettiği mastitis etkenleri mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır. Bitki yaprak özütleri mastitis etkenlerine karşı ayrı olarak test edilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteriler Mueller Hinton Broth (MHB, Merck) besiyetinde, 37°C'de 24 saat kulture edilmiştir.

***In vitro* antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi**

Antibakteriyel aktivite çalışmaları Bauer-Kirby disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Bitki yapraklarının (100 mg/mL) metanol özütleri, disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Test bakterileri, Mueller - Hinton Agar plaklarında (MHA, Merck) 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Mastitis etkenlerinin bulanıklığı 0.5 McFarland'a göre ayarlanmıştır. İnkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden kayıt altına alınmıştır. Standart antibiyotik diskleri (ampisilin 10 µg; oksasilin 5 µg) pozitif kontrol olarak, metanol ise negatif kontrol olarak test patojenlerine karşı denenmiştir (34). Tüm testler üç paralel ve birbirinden bağımsız olarak yapılmıştır.

Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

Bu çalışmanın kapsamında gerçekleştirilen bir diğer antibakteriyel etkinlik testi minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerinin belirlenmesidir.

CLSI standartlarında (35, 36) tanımlandığı şekilde sıvı dilusyon metodu ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Tüm yaprak özütlerinin MİK değerleri, inkübasyon sonrası büyümeyi inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak kayıt altına alınmıştır. Her bir özütün son konsantrasyonları 6500; 3250; 1625; 812,5 ve 406,2 µg/mL olarak sağlanmıştır.

SONUÇLAR

Ficus carica'dan elde edilen özütlerin antibakteriyal aktivitesi mastitis etkenlerine karşı denenmiştir. *F. carica*'nın metanol özütlerinin antibakteriyal aktiviteleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar standart antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır (Tablo 1). *Ficus carica*'nın metanol özütleri 3 bakteriye karşı antibakteriyal aktivite göstermiştir (%42). En yüksek antibakteriyal aktiviteyi *S. aureus*- 17 ve KNS- 32'e karşı (10mm) göstermiştir. En düşük antibakteriyal aktivite ise KNS- 22'e karşı (7 mm) saptanmıştır. Ancak diğer bakteriler üzerinde herhangi bir antibakteriyal aktivite saptanmamıştır. Negatif kontrol olarak kullanılan metanolün mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyal etkisi bulunmamaktadır.

Tablo 1. *Ficus carica* yaprak özütlerinin antibakteriyal aktiviteleri ve test bakterilerinin antibiyotik direnç profilleri

Bakteriler	İnhibisyon zonu (mm)		
	Bitki özütü (100 mg/mL)	Antibiyotikler	
		AM	O
<i>S. aureus</i> - 17	10	18	10
<i>S. aureus</i> - 18	(-)	12	8
KNS - 22	7	-	-
KNS - 32	10	10	7
KNS - 33	(-)	8	7
KNS - 36	(-)	-	-
KNS - 37	(-)	-	-

(-) : inhibisyon yok AM: ampisilin (10µg); O: Oksasilin (5µg)

F. carica'nın metanol özütlerinin antibakteriyal aktiviteleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Antibakteriyel aktiviteye sahip türlere MİK testleri uygulanmış ve en düşük MİK değeri 3250 µg/mL olarak saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. *Ficus carica* yaprak özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonları

Bakteriler	MİK (µg/mL)
<i>S. aureus</i> - 17	3250
<i>S. aureus</i> - 18	nt
CNS - 22	3250
CNS - 32	6500
CNS - 33	nt
CNS - 36	nt
CNS - 37	nt

nt: Test edilmedi

TARTIŞMA

Tıbbi bitkiler geleneksel olarak Dünya çapında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (37). Bunlar biyolojik olarak aktif bileşiklerin yeterli kaynaklarını sağlamakta, bunların çoğu yeni farmasötiklerin gelişimi için bileşikler olarak kullanılmıştır (38). İncir bitkisi etnomedikal kullanımından dolayı bu çalışma için seçilmiştir (39-41).

Çalışmada incir bitkisine ait yaprakların metanol özütlerinin antibakteriyal aktiviteleri belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, *Ficus carica*'nın metanol özütleri mastitis patojenlerinden 3'üne karşı yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir (Tablo 1). Yapılan bir çalışmada *F. carica*'nın sulu özütlerinin alkaloidler, flavonoidler, kumarinler, saponinler, fenolik asitler ve terpenler içerdiği rapor edilmiştir (26, 28, 42). Fenolik bileşikler antioksidan, anti-kanser, iltihap önleyici ve antibakteriyel aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip fitokimyasal önemi olan bir sınıfı teşkil etmektedir (20, 26, 43). Çeşitli raporlar, bazı flavonoid bileşiklerin oral bakterilere karşı antibakteriyal aktivite (44) gösterdiğine dair kanıtlar içermektedir, genel olarak bu çalışmada gözlenen antibakteriyal etkinin, kısmen, *F. carica* içindeki flavonoidlerin etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Bunlar bizim çalışmamız ile uyum içersindedir. Çalışmada, 4 mastitis patojenine karşı inhibisyon zonu saptanmamıştır (Tablo 1). Kubmarawa et al. (45) *Ficus platyphylla*'nın *B. subtilis* ve *E. coli*'yi inhibe etmediğini rapor etmişlerdir. Uğuz (46) yaptığı çalışmada *Ficus carica subsp. carica*'nın 3 test fungusunu inhibe etmediğini bildirmiştir. Bu raporlar çalışmamızdan elde edilen sonuçları desteklemektedir. Bitkinin yaprak özütleri KNS- 22'e karşı düşük antibakteriyal aktivite göstermiştir (Tablo 1). Benzer sonuçlar Nair ve Chanda (47) tarafından yapılan çalışmada 4 *Ficus* sp.'den sağlanmıştır.

Bu çalışmaya göre, *F. carica* yaprak metanol özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonu en düşük 3250 µg /mL olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Alsabri ve arkadaşları (48) *Arbutus pavarit*'nin *S. aureus*'a karşı MİK değerlerini 4,86 mg/mL olarak rapor etmişlerdir. Çalışma sonuçlarımızda MİK değeri daha düşük bulunmuştur.

F. carica'nın mastitis patojenlerine karşı yeni bir ajan olarak kullanılabilmesi ve doğal antibakteriyel ajan olarak istihdam edilebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, *F. carica*'nın biyolojik olarak aktif bileşiklerinden sorumlu olan biyoaktif bileşiklerin daha fazla aranmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bundan sonraki çalışmalarda fitokimyasal çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır ayrıca daha geniş bir yelpazede bakteriyal popülasyonlar üzerinde çalışılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Seguin, JC., Walker, RD., Caron, JP., Kloos, WE., George, CG., Hollis, RJ., Jones, RN., Pfaller, MA. 1999. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential human-to-animal transmission. Journal of Clinical Microbiology 37: 1459-1463.
2. Khan, SA., Nawaz, MS., Khan, AA., Cerniglia, CE. 2000. Transfer of erythromycin resistance from poultry to human clinical strains of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology 38: 1832-1838.

3. Morin, DE., Constable, PD., McCoy, GC. 1998. Use of clinical parameters for differentiation of Gram-positive and Gram-negative mastitis in dairy cows vaccinated against lipopolysaccharide core antigens. *Journal of American Veterinary Medical Association* 212:1423-1431.
4. Karahan, M., Aık, MN., etinkaya, B. 2009. Investigation of toxin genes by polymerase chain reaction in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. *Foodborne Pathogens and Disease* 6(8): 1029-1035.
5. Huxley, JN., Green, MJ., Green, LE., Bradley, AJ. 2002. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. *Journal of Dairy Science* 85: 551-561.
6. Taponen, S., Simojoki, H., Haveri, M., Larsen, HD., Pyorala, S. 2006. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology* 115: 199- 207.
7. Rajala-Schultz, PJ., Smith, KL., Hogan, JS., Love, BC. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Veterinary Microbiology* 102: 33-42.
8. Mustafa, YS., Awan, FN., Zaman, T., Chaudhry, SR., Zoyfro, V. 2011. Prevalence and antibacterial susceptibility in mastitis in buffalo and cow in and around the district. Lahore-Pakistan. *Pakistan Journal of Pharmacy* 24 (1-2): 29-33.
9. Watts, JL. 1988. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary of Microbiology* 16:41-66.
10. Bramley, AJ. 1996. Current concepts of bovine mastitis. The National Mastitis Council, Madison. WI 53704.
11. Wellenber, GL., Van der Poel, WHM., Van Orschot, JT. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology* 88: 27-45.
12. Dhanabalan, R., Doss, A., Jagadeeswari, M., Balachandar, S., Kezia, E. 2008. *In vitro* phytochemical screening and antibacterial activity of aqueous and methanolic leaf extracts of *Tridax procumbens* against bovine mastitis isolated *Staphylococcus aureus*. *Ethnobotanical Leaflets* 12: 1090-1095.
13. Turutoglu, H., Hasoksuz, M., Ozturk, D., Yildirim, M., Sagnak, S. 2009. Methicillin and aminoglycoside resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis and sequence analysis of their *mecA* genes. *Veterinary Research Communications* 33: 945-956.
14. Hammer, KA., Carson, CF., Riley, TV. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86: 985-990.
15. Digrak, M., Alma, H., Iim, A. 2001. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology* 39: 346-350.
16. Poyrazoglu, E., Biyik, H., Uzun, C. 2009. Investigation of antimicrobial activity of some natural plants which are not-cultivated and are sold at bazaars in Aydın vicinity. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 3: 59-62.
17. Karatas, H., Ertekin, S. 2010. Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medical Plants Research* 4: 1238-1240.

18. Perez, C., Canal, JR., Campillo, JE., Romero, A., Torres, MD. 1999. Hypotriglyceridaemic activity of *Ficus carica* leaves in experimental hypertriglyceridaemic rats. *Phytotherapy Research* 13: 188-191.
19. Canal, JR., Torres, MD., Romero, A., Perez, CA. 2000. Chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiologica Hungarica* 87: 71-76.
20. Rubnov, S., Kashman, Y., Rabinowitz, R., Schlesinger, M., Mechoulam, R. 2001. Suppressors of cancer cell proliferation from fig (*Ficus carica*) resin: isolation and structure elucidation. *Journal of Natural Products* 64: 993-996.
21. Gilani, AH., Mehmood, MH., Janbaz, KH., Khan, AU., Saeed, SA. 2008. Ethnopharmacological studies on antispasmodic and antiplatelet activities of *Ficus carica*. *Journal of Ethnopharmacology* 119:1-5.
22. McGovern, TW. 2002. The fig-*Ficus carica* L. *Cutis. Close Encounters With the Environment* 69: 339-340.
23. Pèrez, C., Canal, JR., Torres, MD. 2003. Experimental diabetes treated with *Ficus carica* extract: effect on oxidative stress parameters. *Acta Diabetologica* 40: 3-8.
24. Wang, G., Wang, H., Song, Y., Jia, C., Wang, Z., Xu, H. 2004. Studies on anti-HSV effect of *Ficus carica* leaves. *Zhong Yao Cai* 27(10): 754-756.
25. Solomon, A., Golubowicz, S., Yablowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, HE., Altman, A., Kerem, Z., Flaishman, MA. 2006. Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20: 7717-7723.
26. Vaya, J., Mahmood, S. 2006. Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *BioFactors* 28:169-75.
27. Jeong, MR., Kim, HY., Cha, JD. 2009. Antimicrobial activity of methanol extract from *Ficus carica* leaves against oral bacteria. *Journal of Bacteriology and Virology* 39: 97-102.
28. Teixeira, DM., Patão, RF., Coelho, AV., da Costa, CT. 2006. Comparison between sample disruption methods and solid-liquid extraction (SLE) to extract phenolic compounds from *Ficus carica* leaves. *Journal of Chromatography A* 1103: 22-8.
29. Özen, M., Çobanoğlu, F., Kocataş, H., Tan, N., Ertan, B., Şahin, B., Konak, R., Doğan, Ö., Tutmuş, E., Köseoğlu, İ., Şahin, N., Özkan, R. 2007. İncir Yetiştiriciliği. *Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Aydın*. 145s.
30. <http://www.sagliksayfam.com/besinler-ve-ozellikleri/incir.html>
31. Aksoy, U., Şahin, N. 2001. İncir Çeşit Kataloğu. Merkez İkmal Müdürlüğü Matbaası, Ankara. 83s.
32. Davis, PH. 1965-1988. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. I-X. Edinburgh University Press, Edinburg.

33. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby Year Book Europe Limited, Lynton House, London WC1H9LB, England. pp.209-236.
34. Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology 45(4): 493-496.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2003. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard M7-A 6th edn. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Philadelphia.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2006. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 16th Informational Supplement M100-S16. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Philadelphia.
37. Chitme, H.R., Chandra, R., Kaushik, S. 2004. Studies on anti-diarrhoeal activity of *Calotropis gigantea* R.Br. in experimental animals. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences 7(1): 70-75.
38. Palombo, E.A. 2011. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine ID 680354, 15 pages doi:10.1093/ecam/nep067.
39. Patil, V.V., Patil, V.R. 2010. *Ficus bengalensis* Linn.-An Overview. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences V1(2): 1-11.
40. Shiksharathi, A.R., Mittal, S. 2011. *Ficus racemosa*: Phytochemistry, Traditional Uses and Pharmacological Properties: A Review. International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research 4: 6-15.
41. Dangarembizi, R., Erlwanger, K.H., Moyo1, D., Chivandi, E. 2013. Phytochemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses of *Ficus thonningii* (Blume Moraceae): A Review. African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines 10(2) 203-212
42. Ross, J.A., Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. Annual Review Nutrition 22: 19-34.
43. Ryu, S.R., Cho, H., Jung, J.S., Jung, S.T. 1998. The study on the separation and antitumor activity as new substances in fig. Journal of Applied Chemistry 2: 961-4.
44. Cha, J.D., Jeong, M.R., Jeong, S.I., Lee, K.Y. 2007. Antibacterial activity of sophoraflavanone G isolated from the roots of *Sophora flavescens*. Journal of Microbiology and Biotechnology 17: 858-64.
45. Kubmarawa, D., Khan, M.E., Punah, A.M., Hassan, M. 2009. Phytochemical and Antimicrobial Screening of *Ficus platyphylla* against Human/Animal Pathogens. The Pacific Journal of Science and Technology 10(1): 382-386.
46. Uğuz, M.T. 2011. Farklı Çözücülerdeki Bitki Ekstraktlarının Antifungal Özellikleri. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 1(2): 1-3.
47. Nair, R., Chanda, S.V. 2007. Antibacterial Activities of Some Medicinal Plants of the Western Region of India. Turkish Journal of Biology 31: 231-236

48. Alsabri, SG., El-Basir, HM., Rmeli, NB., Mohamed, SB., Allafi, AA., Zetrini, AA., Salem, AA., Mohamed, SS., Gbaj, A., El-Baseir, MM. 2013. Phytochemical screening, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities study of *Arbutus pavarii* plant. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 5(1): 32-36.