

اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی دانه جعفری (Apium petroselinum L.) علیه جدایه‌های بالینی هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی

محبوبه نخعی مقدم*

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد مشهد

E-mail: m.nakhaei@mshdiau.ac.ir

* نویسنده مسئول:

چکیده

مقدمه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی و ماریچی است که با گاستریت، زخم معده و سرطان معده ارتباط دارد. با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری، درمان آنتی‌بیوتیکی همیشه موفق نیست. بنابراین، معرفی منابع جدید برای کمک به درمان و یا پیشگیری از عفونت اهمیت دارد. با توجه به گزارش اثربخشی دانه جعفری بر ناراحتی‌های گوارشی در طب سنتی هدف این مطالعه تعیین فعالیت عصاره متانولی دانه جعفری بر علیه جدایه‌های بالینی هلیکوباکتر پیلوری بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، ۳۷ جدایه هلیکوباکتر پیلوری از نمونه‌های بیوپسی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان ۱۷ شهریور مشهد در سال ۱۳۸۷ جداسازی و شناسایی شدند. سپس فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی دانه جعفری (که با روش پرکولاسیون آماده شد) با روش انتشار در آگار روی محیط مولر هینتون آگار حاوی زرده تخم مرغ و مطابق استانداردهای (NCCLS) National Committee for Clinical Laboratory Standards آزمایش شد. همچنین اثر فعالیت عصاره در دمای اتوکلاو و در اسیدیته ۵ و ۸ بررسی شد.

نتایج: تمامی جدایه‌ها به دیسک حاوی ۲ میلی گرم عصاره متانولی حساس بودند. میانگین MIC عصاره علیه چهار جدایه حساس‌تر (با قطر هاله عدم رشد بیشتر) با روش رقت در آگار ۷۲۹ µg/ml به دست آمد. عصاره فعالیت خود را در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و در pH اسیدی ۵ حفظ کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد، عصاره متانولی دانه جعفری رشد هلیکوباکتر پیلوری را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند. فعالیت عصاره در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و در pH اسیدی ۵ همچنان محفوظ است.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، دانه جعفری، عصاره متانولی، اثر ضد میکروبی

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هفدهم - شماره ۸۷
تیر ۱۳۸۹

وصول: ۸۹/۲/۸

آخرین اصلاحات: ۸۹/۴/۱۸

پذیرش: ۸۹/۴/۲۲

مقدمه

و (۱۱).

با توجه به خاستگاه طبیعی و سمیت کمتر این ترکیبات، گرایش مردم نسبت به مصرف این فرآورده‌ها بیشتر شده است. مصرف دانه جعفری در طب سنتی ایران و در درمان ناراحتی‌های گوارشی مرسوم بوده و اثرات ضد میکروبی آن نیز گزارش شده است. هدف این مطالعه تعیین اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی دانه جعفری علیه جدایه‌های بالینی هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

جداسازی هلیکوباکتر پیلوری از نمونه بیماران

۳۷ جدایه هلیکوباکتر پیلوری از نمونه بیوپسی معده بیماران دارای علائم و ناراحتی‌های گوارشی (مانند نفخ، درد و سوزش معده، رفلاکس، تهوع و استفراغ) مراجعه کننده به بیمارستان ۱۷ شهریور مشهد در سال ۱۳۸۷ جدا شدند. نمونه‌های بیوپسی در محیط انتقالی استوارت به آزمایشگاه انتقال یافتند. پس از یکنواخت کردن (هموژنیزاسیون)، نمونه‌ها روی محیط بروسلا آگار حاوی ۵-۷ درصد خون اسب تازه، ۱ درصد نشاسته، ۵mg/L ونکومايسين، ۵mg/L تری‌متوپریم، ۱۰mg/L آمفوتریسین B و ۲۵۰۰۰u/L پلی‌میکسین B، در شرایط میکروانروئوفیل (۱۱-۱۰ درصد گازکربنیک)، ۹۰-۱۰۰ درصد رطوبت و دمای ۳۷°C به مدت ۵-۷ روز کشت و انکوبه شدند. باکتری‌های جدا شده با استفاده از مورفولوژی میکروسکوپی و ماکروسکوپی، آزمایش‌های اوره‌آز سریع، کاتالاز و اکسیداز مثبت، آزمایش عدم تولید H₂S در محیط TSI آگار، آزمایش عدم تولید اندول در محیط SIM آگار و مقاومت به نالیدیکسیک اسید شناسایی شدند (۱۲).

تهیه عصاره گیاهی

دانه جعفری خریداری و تمیز شد و کارشناس هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد آن را شناسایی کرد. پس از خرد و آسیاب کردن دانه‌های جعفری، برای تهیه عصاره از متانول خالص و روش پرکولاسیون استفاده

هلیکوباکتر پیلوری باکتری مارپیچی شکل، میکروانروئوفیل و گرم منفی است (۱). این باکتری با گاستریت، زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده ارتباط دارد (۲) که بیش از نیمی از جمعیت دنیا را آلوده می‌سازد (۳). با توجه به میزان بالای آلودگی و همچنین ارتباط باکتری با زخم و سرطان معده، درمان و ریشه‌کنی عفونت اهمیت زیادی دارد (۳). عفونت با کمک آنتی بیوتیک و مهارکننده‌های پمپ پروتون درمان می‌شود. اما درمان همواره موفقیت‌آمیز نیست زیرا باکتری در محیطی زندگی می‌کند که برای بسیاری از داروها در دسترس نیست. همچنین مقاومت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها رو به افزایش است. علاوه بر این، تجویز بسیاری از رژیم‌های توصیه شده، مشکلات و عوارضی را به همراه دارد که باعث کاهش همکاری بیمار می‌شود (۴ و ۵). رژیم‌های درمانی موجود می‌توانند در جمعیت‌های بیمار تا ۸۵ درصد، بهبودی را حاصل نمایند (۴). بنابراین معرفی رژیم‌های درمانی جدید ضروری است (۴ و ۵). یکی از این منابع، گیاهان دارویی هستند که اثرات درمانی و پیشگیری‌کننده بعضی از آنها شناسایی شده است. از جمله می‌توان از دانه جعفری نام برد.

جعفری با نام علمی *Petroselinum crispum* (Mill) Nym.ex A.W. Hill و مترادف *Apium petroselinum L.* گیاهی دوساله از خانواده آبیاسه / آمبلیفرا (/ *Apiaceae* Umbelliferae) است (۶). بخش‌های مختلف گیاه جعفری مانند ریشه، میوه و شاخه‌های برگ‌دار آن خواص درمانی دارند. مصرف میوه جعفری (تخم یا دانه) در طب سنتی در رفع اختلالات دستگاه‌هاضمه، نفخ، تب‌های نوبه‌ای و رفع انسداد مجاری شیری کاربرد دارد (۷ و ۸). فعالیت ضدباکتریایی جعفری علیه باکتری‌هایی همچون باسیلوس سوبتیلیس و اش‌ریشیا کلی گزارش شده است (۹). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر اثرات ضدباکتریایی فلاونوئیدهای جعفری علیه گونه‌های لیستریا، میکروکوکوس، اش‌ریشیا کلی و اروینیا وجود دارد (۱۰)

میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شدند. اثر مهاری عصاره برای ۳۷ جدایه هلیکوباکتر پیلوری بررسی و آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

– بررسی اثر حرارت و pH بر فعالیت عصاره

غلظت ۰/۱g/ml عصاره در آب مقطر استریل در لوله‌های در پیچ‌دار آماده شد. لوله‌ها در ۲۵°C (دمای آزمایشگاه)، ۸۰°C و ۱۲۱°C (اتوکلاو) به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس از هر کدام از عصاره‌ها، دیسک‌های آغشته به ۲mg عصاره آماده شد. پس از تبخیر حلال در ۴۰°C آزمایش سنجش فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری مشابه روش قبل برای سه باکتری جدا شده که به طور تصادفی انتخاب شدند، در کنار دیسک شاهد روی محیط EYE آگار انجام شد (۱۳). برای بررسی اثر pH بر فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره، لوله‌های حاوی غلظت ۰/۱g/ml عصاره در فسفات بافر نمکی با اسیدیته ۵، ۷ و ۸ آماده شدند. لوله‌ها به مدت ۳ ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه نگه داشته شدند (۱۸). سپس دیسک‌های بلانک (دیسک‌های خالی از شرکت پادتن طب) استریل آغشته به عصاره آماده و مطابق دستور قبلی اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری بررسی شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

تعیین MIC و MBC عصاره‌ها

حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد عصاره با روش رقت در آگار (۱۳ و ۱۵) برای چهار جدایه هلیکوباکتر پیلوری با حساسیت بیشتر (با قطر هاله عدم رشد بیشتر) تعیین شد. از عصاره، غلظت‌های سری ۱۵۶ تا ۱۲۵۰ μg/ml در محیط مولر هیتون آگار مذاب آماده شد. پس از بستن محیط ۳ تا ۴ کلنی از باکتری‌های خالص با کمک سواب استریل در سطح محیط تلقیح شد. ظروف پتری در شرایط میکرواثر و فیل در گرمخانه ۳۷°C قرار داده شدند و پس از سه روز نتایج از نظر رشد یا عدم رشد باکتری بررسی شدند. آزمایش‌ها دو بار تکرار و میانگین MIC ثبت شد.

شد. با کمک دستگاه تقطیر دوار، حلال عصاره حذف شد تا عصاره غلیظ شود. سپس با استفاده از فور، دمای ۴۵°C، حلال به طور کامل حذف شد تا عصاره به نسبتاً خشک به دست آید. برای نگه‌داری و ذخیره‌سازی عصاره از دمای ۴°C یخچال استفاده شد (۱۳ و ۱۴).

– آماده کردن دیسک‌های آغشته به عصاره و بررسی فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری

برای این منظور، از دیسک‌های بلانک استریل استفاده شد. عصاره با غلظت ۰/۱g/ml در آب مقطر آماده شد و دیسک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در آن غوطه‌ور شدند. با توجه به این که هر دیسک مقدار ۰/۰۲ میلی‌لیتر عصاره جذب می‌کرد، غلظت عصاره در هر دیسک ۲ میلی‌گرم به دست آمد. حلال دیسک‌ها در ۴۰°C به مدت یک شبانه‌روز تبخیر شد (۱۳).

برای بررسی فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره‌ها از روش انتشار در آگار مطابق استانداردهای (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (NCCLS) و از محیط مولر هیتون آگار حاوی امولسیون زرده تخم مرغ (EYE آگار) و تری فنیل تترازولیوم کلرید مطابق روش Tabak و همکاران استفاده شد (۱۵ و ۱۶).

از کلنی‌های تک هلیکوباکتر پیلوری دوباره کشت داده شد تا کشت خالص و بدون آلودگی به دست آید. سپس برای هر بار آزمایش از ۵ تا ۶ کلنی خالص در ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیون تهیه شد و کدورت آن با لوله ۴ مک فارلند (۱۷) مقایسه شد. سوسپانسیون باکتری با کمک پی‌پت پاستور خمیده استریل روی سطح مولر هیتون آگار حاوی افزودنی‌ها با روش یکنواخت تلقیح شد. پس از چند دقیقه، دیسک حاوی ۲ میلی‌گرم عصاره، دیسک حاوی متانول تبخیر شده (شاهد منفی) و دیسک استاندارد حاوی آموکسی‌سیلین (۲۵ μg/disc) و مترونیدازول (۵ μg/disc) شرکت Himedia (به‌عنوان شاهد های مثبت) با فواصل استاندارد روی سطح محیط قرار داده شدند.

ظروف پتری به مدت ۳ تا ۴ روز در گرمخانه ۳۷°C حاوی ۱۰٪ دی‌اکسید کربن و ۹۰-۱۰۰ درصد رطوبت قرار داده شدند. سپس هاله‌های عدم رشد بر حسب

جدول ۱ قطرهای عدم رشد عصاره متانولی دانه جعفری (۲ mg/disc) علیه باکتری‌های خدا شده هلیکوباکتر پیلوری با روش انتشار در آگار در مقایسه با دیسک آموکسی سیلین (۲۵µg/disc) و مترونیدازول (۵µg/disc)

جدایه‌ها	میانگین قطرهای عدم رشد بر حسب میلی متر*		
	عصاره متانولی دانه جعفری	مترونیدازول	آموکسی سیلین
۱	۱۷	۱۲/۵	۲۶
۲	۲۲	۹/۵	۲۷
۳	۱۱	۹	۳۲
۴	۱۶	ND*	۲۸/۵
۵	۱۴/۵	۲۸	۲۵
۶	۲۰	ND	۴۰
۷	۱۴/۵	۱۰	۳۳
۸	۱۳/۵	۱۸	۲۴
۹	۱۲	۱۶	۲۰
۱۰	۱۷	۴۱/۵	۱۶/۵
۱۱	۱۶	۴۷/۵	۶۰/۵
۱۲	۲۰	ND	۲۵
۱۳	۱۸/۵	۱۶	ND
۱۴	۱۵	۱۱	۲۴
۱۵	۱۴	۱۰	ND
۱۶	۱۵	۵۴	۲۰
۱۷	۱۵	۴۸/۵	۳۱
۱۸	۱۴	۶	۵۰
۱۹	۱۴/۵	۱۵/۵	۳۸
۲۰	۱۹/۵	۶	۳۰
۲۱	۱۳	۶	۳۰
۲۲	۲۱	۹/۵	۵۸
۲۳	۱۵	۵۵	۴۰
۲۴	۱۹/۵	۹/۵	۳۵
۲۵	۲۰	۱۰	۳۰
۲۶	۲۲	۲۹/۵	۴۰
۲۷	۱۸/۵	۵۰/۵	۵۰
۲۸	۱۵	ND	۳۷/۵
۲۹	۱۸/۵	۵۶	۴۲
۳۰	۱۴	۵۲	۳۶
۳۱	۱۸/۵	۱۰	۴۵
۳۲	۱۴	۶	۴۴
۳۳	۱۷/۵	۱۲	ND
۳۴	۱۱/۵	۹	۴۴
۳۵	۱۷/۵	۲۸	۵۰
۳۶	۱۳/۵	۴۸	۴۰
۳۷	۱۴/۵	۱۰/۵	۲۸

* میانگین قطرهای عدم رشد پس از دوبار آزمایش و با احتساب قطر دیسک (۶ میلی متر)
** تعیین نشده است.

رشد \pm انحراف استاندارد برای مترونیدازول $3/23 \pm$ $22/47$ میلی‌متر بود.

بر اساس قطراله عدم رشد فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری آموکسی‌سیلین (با میانگین قطراله عدم رشد $1/85 \pm 35/29$ میلی‌متر) بیشتر از عصاره متانولی دانه جعفری (با میانگین $0/48 \pm 16/28$ میلی‌متر) بود. اختلاف از نظر آماری (آنالیز واریانس و تست دانکن) معنادار ($P < 0/01$) بود.

قطراله عدم رشد عصاره متانولی دانه جعفری (در غلظت $2\text{mg}/\text{disc}$) برای ۱۹ جدایه ($57/58$ درصد) بیشتر از دیسک مترونیدازول ($51\mu\text{g}/\text{disc}$) بود.

جدول ۲ نتایج مربوط به بررسی اثر حرارت بر فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره متانولی دانه جعفری علیه ۳ باکتری جدا شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول مشخص است، این عصاره فعالیت ضدباکتریایی خود را در دماهای 80°C و 121°C حفظ کرده است.

جدول ۳ نتایج مربوط به بررسی اثر pH را بر فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره متانولی دانه جعفری نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری دانه جعفری با pH اسیدی ۵ حفظ شده است و با افزایش pH (از ۵ به ۸) فعالیت ضدباکتریایی عصاره کمی (۹-۱۶ درصد) کاهش یافته است.

نتایج آزمایش‌ها مربوط به تعیین MIC عصاره متانولی جعفری در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به جدول ۴، میانگین MIC این عصاره $729\mu\text{g}/\text{ml}$ به دست می‌آید. عصاره در همین غلظت اثر باکتری‌کشی داشت، به عبارت دیگر MBC عصاره مشابه MIC آن بود.

از ظروف پتری آزمایش MIC که باکتری بر روی آن‌ها رشد نکرده بود، روی محیط مولر هیتون آگار دارای امولسیون زرده تخم‌مرغ بدون عصاره تلقیح شد (۱۳ و ۱۹). پس از سه روز نتایج از نظر رشد یا عدم رشد باکتری گزارش شد. چنانچه باکتری در غلظت MIC روی ظروف پتری فاقد عصاره رشد نکند، MBC مساوی MIC است و عصاره در غلظت MIC اثر باکتریسید داشته است.

محاسبات آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین قطراله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر گزارش شدند. میانگین \pm انحراف استاندارد (S.E) برای هر گروه محاسبه شد و در صورتی که نتیجه تجزیه واریانس معنادار بود، برای بررسی اختلاف جفت میانگین‌های تیماری از آزمون دانکن استفاده شد. نتایج با $P < 0/01$ به عنوان معنادار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

جدول ۱ میانگین قطراله عدم رشد عصاره متانولی دانه جعفری را برای جدایه‌های هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با دیسک‌های شاهد نشان می‌دهد. میانگین قطراله عدم رشد برای عصاره متانولی دانه جعفری $16/28 \pm 0/48$ میلی‌متر بود. تمامی جدایه‌ها (۱۰۰ درصد) نسبت به آموکسی‌سیلین حساس بودند، در حالی که ۱۹ جدایه از ۳۳ جدایه آزمایش شده ($57/58$ درصد) به دیسک مترونیدازول مقاوم بودند. میانگین قطراله عدم

جدول ۲: اثر حرارت بر فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره متانولی دانه جعفری

جدایه‌ها	قطره‌اله عدم رشد بر حسب میلی متر*		
	۲۵°C (شاهد)	۸۰°C	۱۲۱°C (اتوکلاو)
۶	۱۶	۱۵	۱۶
۸	۱۵	۱۴/۵	۱۵
۲۷	۱۶	۱۷	۱۸

* قطر هر دیسک ۶ میلی متر و میانگین قطراله عدم رشد پس از دوبار آزمایش گزارش شده است.

جدول ۳: اثر pH بر فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره متانولی دانه جعفری

جدایه	قطره‌اله عدم رشد بر حسب میلی متر*		
	۵	۷ (شاهد)	۸
۵	۱۸	۱۶/۵	۱۵
۲۶	۱۵	۱۴	۱۳
۲۷	۱۶	۱۵	۱۴/۵

* قطر هر دیسک ۶ میلی متر و میانگین قطراله عدم رشد پس از دو بار آزمایش گزارش شده است.

جدول ۴: حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره متانولی دانه جعفری علیه چهار باکتری جدا شده هلیکوباکتر

پیلوری با روش رقت در آگار

جدایه‌ها	غلظت (µg/ml)						
	۰ (شاهد)	۱۵۶	۳۱۲/۵	۴۱۶/۵	۶۲۵	۸۳۳	۱۲۵۰
۵	+	+	+	+	+	-	-
۶	+	+	+	+	+	-	-
۱۶	+	+	+	+	-	-	-
۱۷	+	+	+	+	-	-	-

بحث

فعالیت بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها با pH اسیدی معده کاهش می‌یابد. آموکسی‌سیلین در pH خنثی بیشترین فعالیت را دارد (۲۰).

گزارش‌هایی از فعالیت ضدباکتریایی برگ جعفری در دسترس است. Astal Zy و همکاران اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی برگ جعفری را علیه باکتری‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی گزارش کرده‌اند، درحالی که عصاره آبی آن فعالیت علیه این باکتری‌ها نداشت (۲۱).

هلیکوباکتر پیلوری از جمله باکتری‌های عفونت‌زاست که درمان عفونت‌های ناشی از آن همیشه کامل نبوده و

یافته‌های این پژوهش نشان داد، دانه جعفری رشد هلیکوباکتر پیلوری را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند. MIC دانه جعفری علیه هلیکوباکتر پیلوری با روش رقت در آگار ۷۲۹ µg/ml به دست آمد که با همین غلظت خاصیت باکتریسیدی داشت. عصاره متانولی دانه جعفری فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری خود را با دمای ۱۲۱°C به مدت ۳۰ دقیقه و pH اسیدی ۵ حفظ کرد. با توجه به pH اسیدی معده، این موضوع که ماده ضدباکتریایی عصاره فعالیت خود را در این pH حفظ کند، اهمیت دارد. در حالی که به دنبال تجویز خوراکی،

دقیق خواص درمانی و کاربرد انواع مختلف گیاهان دارویی موجود در کشور پهناورمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که لازم است به آن توجه بیشتری شود. از دانه جعفری در طب سنتی برای درمان ناراحتی‌های گوارشی و داروی ضدنفخ استفاده می‌شود و خواص ضد میکروبی، ضدروماتیسم، زیادکننده ادرار، قاعده‌آور، تب‌بر، ملین و اشتهاآور برای آن گزارش شده است (۳۱). با عنایت به ویژگی‌های مفید فراوانی که چاشنی‌های طبیعی و گیاهان دارویی دارند، توصیه می‌شود، مصرف گیاهان و چاشنی‌های طبیعی جایگزین مواد شیمیایی و سنتزی شود که اغلب اثرات جانبی دارند و سرطان‌زا هستند. همچنین با توجه به گرایش مردم به محصولات طبیعی و استقبال اغلب افراد از گیاهان دارویی و فرآورده‌های آن‌ها، عصاره دانه جعفری می‌تواند برای کمک به درمان یا پیشگیری از عفونت‌های هلیکوباکتر پیلوری مفید باشد. تهیه اجزای دانه جعفری و بررسی اثر عصاره و اجزا در شرایط *in vivo* توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است که به این وسیله از مسئولان و همکاران محترم این حوزه تشکر و قدردانی می‌شود.

جامعه پزشکی با افزایش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری روبه‌رو است. تاکنون فعالیت ضد میکروبی چندین گیاه علیه این باکتری بررسی شده است (۱۶، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶). رمضانی و همکاران فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری اسانس پوست پسته را با حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد $1/5 \text{ mg/ml}$ گزارش کردند (۲۴). Tabak و همکاران گزارش کردند، آویشن طبی در غلظت $3/5 \text{ mg/ml}$ رشد هلیکوباکتر پیلوری را متوقف می‌کند (۲۶). ملک‌زاده و همکاران MIC عصاره هلیله سیاه را علیه هلیکوباکتر پیلوری 125 mg/L گزارش کردند (۱۳).

Voravuthikunchai و Mitchell فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری عصاره‌های دارمازو (*Quercus infectoria*) از انواع بلوط و پریکارپ انار از گیاهان دارویی تایلند را با حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد $3/1-0/8 \text{ mg/ml}$ گزارش کردند (۲۷).

O'mahony و همکاران فعالیت ضد باکتریایی چند گیاه را علیه هلیکوباکتر پیلوری بررسی کردند که برای برگ جعفری فعالیت باکتری‌سیدی گزارش کردند. علاوه بر این، عصاره برگ جعفری قادر بود، اتصال سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری را به برش‌های بافت معدی مهار کند (۲۸). در تحقیق حاضر نیز عصاره دانه جعفری مشابه برگ جعفری فعالیت باکتری‌سیدی داشت.

Hascelik و Diker اثر چای سبز و سیاه را روی ۶ سویه هلیکوباکتر پیلوری بررسی کردند که در غلظت ۲۰ درصد وزنی / حجمی در بافر نمکی فسفات، اثر مهاری داشتند و با دمای 85°C به مدت ۵ دقیقه فعالیت ضد باکتریایی خود را از دست دادند. نتایج نشان‌دهنده آن است که ماده ضد هلیکوباکتر پیلوری هر دو عصاره به حرارت حساس است (۲۹). برخلاف عصاره دانه جعفری که در این تحقیق فعالیت ضد هلیکوباکتر پیلوری آن نسبت به حرارت مقاوم بود.

استفاده از گیاهان دارویی از روزگار قدیم مورد توجه بشر بوده است و دانش شناخت و کاربرد این گیاهان هم‌اکنون نیز در سراسر دنیا گسترش دارد (۳۰). شناخت

منابع

- 1- Goodwin CS, Armstrong JA. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol*. 1990; 9: 1-13.
- 2- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* Infection. *N Engl J Med*. 2002; 347 (15): 1175-86.
- 3- Ahmed N, Sechi LA. *Helicobacter pylori* and gastroduodenal pathology: new threads of the old friend. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. [serial online] 2005; 4:1. [http://www.ann-clinmicrob.com/content/4/1/1], Open access article, 2005; licensee BioMed Central Ltd.
- 4- Hardin FJ, Wright RA. *Helicobacter pylori*: Review and update. *Arch Hosp Physician* 2002; 38 (5): 23-31.
- 5- Stamatis G, Kyriazopoulos P, Golegou S, Basayiannis A, Skaltsas S and Skaltsas H., In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *J Ethnopharmacol*. 2003; 88 (2-3): 175-179.
- 6- Mirheydar H. Herbal knowledge, Application of plants in prophylaxis and treatment of diseases (in Persian). Tehran: Nashr-e-Farhange Eslami Press, 1998; p. 58.
- 7- Mohammad ibn Zakaria Razi. Al-havi. Afsharipour S. (translator in Persian), 21th ed. Tehran: Medical Sciences Academy Press, 2005; p. 217.
- 8- Zargari A. Medicinal plants (in Persian). Tehran: Tehran University Press, 1997; pp: 485-8.
- 9- Wong PYY, Kitts DD. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chem*. 2006; 97 (3): 505-515.
- 10- Manderfield MM, Schafer HW, Davidson PM, Zottola EA. Isolation and identification of antimicrobial furocoumarins from parsley. *J Food Protect*. 1997; 60 (1): 72-77.
- 11- Ulate-Rodriguez J, Schafer HW, Zottola EA, Davidson PM. Inhibition of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Micrococcus luteus* by linear furanocoumarins in a model food system. *J Food Protect*. 1997; 60: 1050-1054.
- 12- Boyanova L, Koumanova R, Lazarova E, JeleV C. *Helicobacter pylori* and *H. heilmanni* in children. A Bulgarian study. *Diagn Micr Infec Dis*. 2003; 46: 249-252.
- 13- Malekzadeh F, Ehsanifar H, Shahamat M, Levin M, Colwell RR. Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz) against *H. pylori*. *Int J Antimicrob Ag*. 2001; 18 (1): 85-88.
- 14- Samsam Shariat H, Moattar F. Plants and Natural products. Esfahan: Mashal Press, 1990; pp. 9-20.
- 15- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 11th supplement. M100-S11, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2001; vol. 21 (1).
- 16- Tabak M, Armon R, Neeman I. Cinnamon extract's inhibitory effect on *H. pylori*. *J Ethnopharmacol*. 1999; 67 (3): 269-277.
- 17- McNulty C, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K, Pric A, Smith G, Teare L. *Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion. *J Antimicrob Chem*. 2002; 49: 601-609.
- 18- Ten Brink B, Minekus M, Vander Vossen J, Leer RJ, Huis JHJ. Antimicrobial activity of Lactobacilli: preliminary characterization and optimization of production of acidocin B, a novel bacteriocin produced by *L. acidophilus* M 46. *J Appl Bacteriol*. 1994; 77: 140-148.
- 19- Yesilada E, Gurbuz I, Shibata H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *J Ethnopharmacol*. 1999; 66 (3): 289-293.
- 20- Worrel JA, Stoner SC. Eradication of *H. pylori*. *Medical Update for Psychiatrics*. 1998; 4: 99-104.
- 21- Astal Zy E, Ashour AERA, kerrit AAM. Antibacterial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. *Pak J Med Sci*. 2005; 21 (2): 187-193.
- 22- Mahadi GB, Pendland SL, Yun G, Lu ZZ. Turmeric and curcumin inhibit the growth of *H. pylori*, a group 1 carcinogen. *Anticancer Res*. 2002; 22 (6C): 4176-4181.
- 23- Fazli Bazaz S, Khaje-Karamodini M, Dastpak M, The effect of *Glycyrrhiza glabra* on *H. pylori* activity, Abstract book of the third Iranian Microbiology Congress, Hamedan University of Medical Sciences and Health Services, 2000; p: 120.
- 24- Ramezani M, Khaje-Karamodini M, Karimi Fard V. Chemical composition and anti-*Helicobacter pylori* activity of the essential oil of *Pistacia vera*. *Pharm Biol*. 2004; 42 (7): 488-490.
- 25- Nariman F, Eftekhari F, Habibi Z, Falsafi T. Anti-*Helicobacter pylori* activities of six Iranian plants. *Helicobacter*. 2004; 9 (2): 146-151.
- 26- Tabak M, Armon R, Potasman L, Neeman I., In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J Appl Bacteriol*. 1996; 80: 667-672.
- 27- Voravuthikunchai SP, Mitchell H. Inhibitory and Killing activities of medicinal plants against multiple antibiotic-resistant *Helicobacter pylori*. *J Health Sci*. 2008; 54 (1): 81-88.
- 28- O'mahony R, Al-khtheeri H, Weerasekera D, Fernando N, Vaira D, Holton J. Bactericidal and anti-adhesive properties of culinary and medicinal plants against *H. pylori*. *World J Gastroentero*. 2005; 11(47): 7499-7507.
- 29- Diker KS, Hascelik. The bactericidal activity of tea against *Helicobacter pylori*. *Lett Appl Microbiol*. 1994; 19: 299-300.
- 30- Salehi Yeganeh Rad F, Medicinal plants in the north of Khorasan, Environment Head Office of Khorasan Press, 2001; pp: 1-4.
- 31- Grieve Maud, electronic version of "A Modern Herbal", Copyright 2000-2010; Botanical.com, [http://www.botanical.com/products/learn/eo/parsley-seed.htm/], 2010.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Seventeenth Year,
No.87
June, July 2010*

Received: 28/4/2010

Last revised: 9/7/2010

Accepted: 13/7/2010

In vitro anti-bacterial activity of methanolic extract of *Apium petroselinum* L. seed against clinical isolates of *Helicobacter pylori*

Mahboobeh Nakhaei Moghaddam*

Assistant Professor - Biology Department, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

E-mail: m.nakhaei@mshdiau.ac.ir

Background and Objective: *Helicobacter pylori* (HP) is a spiral Gram-negative bacterium that associates with gastritis, peptic ulcer and gastric carcinoma. Since antibiotic resistance of HP is increasing and sometimes the cure achieved with antibiotics is not successful, so introduction of new therapeutic agents for treatment or prophylaxis is important. There are some reports about the effects of parsley seed on gastric problems and in this study its anti-bacterial activity was studied against HP clinical isolates.

Materials and Methods: In this descriptive study, 37 clinical isolates of HP were isolated and identified from biopsy specimens of patients referred to 17 Shahrivar Hospital in Mashhad. Growth inhibition effect of percolated methanolic extract of parsley seed was determined by the filter paper disc diffusion method on Mueller-Hinton agar containing egg yolk emulsion (according to the NCCLS recommendation). Also antibacterial activity of the extract was studied after autoclaving and at pH 5 and 8.

Results: All isolates were susceptible to 2 mg of the extract. The minimum inhibitory concentration (MIC) of methanolic extract was 729 µg/ml by agar dilution. Methanolic extract preserved its anti-*Helicobacter pylori* activity at 121°C for 20 min and acidic pH~5.

Conclusion: The results showed that methanolic extract of parsley seed inhibited the growth of HP isolates in vitro. The extract had anti-*Helicobacter pylori* activity after autoclaving at 121°C for 20 min and acidic pH~5.

Key words: *Helicobacter pylori*, parsley seed, Methanolic extract, Antimicrobial activity