دانشور
پزشکی

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

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

محبوبه نخعی مقدم*

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد مشهد

* نویسنده مسئول: E-mail: m.nakhaei@mshdiau.ac.ir

وصول: ۸۹/۲/۸
آخرین اصلاحات: ۸۹/۴/۱۸
پذیرش: ۸۹/۴/۲۲

چکیده

مقدمه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی و مارپیچی است که با گاستریت، زخم معده و سرطان معده ارتباط دارد. با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در این باکتری، درمان آنتی بیوتیکی 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 مراجعه‌کننـــده به بیمارستان ۱۷ شهـریور مشهد در سال ۱۳۸۷ جداسازی و شناسایی شدند. سپس فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی دانه جعفری (که با روش پرکولاسیون آماده شد) با روش انتشـار در آگار روی محیط مولرهینتون آگار حاوی زرده تخم مرغ و مطابق استانداردهای National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) آزمایش شد. همچنین اثر فعالیت عصاره در دمای اتوکلاو و در اسیدیته ۵ و ۸ بررسی شد.

نتایج: تمامی‌جدایه‌ها به دیسک حاوی ۲ میلی گرم عصاره متانولی حساس بودند. میانگین MIC عصاره علیه چهار جدایه حساس‌تر (با قطرهاله عدم رشد بیشتر) با روش رقت در آگار ۷۲۹ µg/ml به دست آمد. عصاره فعالیت خود را در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی گراد 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

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری باکتری مارپیچی شکل، میکروائروفیل و گرم منفی است (۱). این باکتری با گاستریت، زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده ارتباط دارد (۲) که بیش از نیمی‌از 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 (٤ و ٥). رژیم‌های درمانی موجود می‌توانند در جمعیت‌های بیمار تا ۸۵ درصد، بهبودی را حاصل نمایند (٤). بنابراین معرفی رژیم‌های درمانی جدید ضروری است (٤ و ٥). 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 آپیاسه/ آمبلیفرا (/ Apiaceae Umbelliferae) است (٦). 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 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 ضدمیکروبی 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 کننـــــده به بیمارستان ۱۷ شهـریور 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 ۷-۵ درصد خون اسب تازه، ۱ درصد نشاسته، ۵mg/L ونکومایسین، ۵mg/L تری‌متوپریم، ۱۰mg/L آمفوتریسین B و ۲۵۰۰u/L پلی‌میکسین B، در شرایط میکروائروفیل (۱۱-۱۰ درصد گازکربنیک)، ۱۰۰-۹۰ درصد رطوبت و دمای ۳۷°C به مدت ۷-۵ 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 H_2S 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

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 ضدهلیکوباکتر 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 آون ۴۰°C به مدت یک شبانه‌روز تبخیر شد (۱۳).

برای بررسی فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری عصاره‌ها از روش انتشار در آگار مطابق استانداردهای (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (NCCLS) و از محیط مولرهینتون 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. سوسپانسون باکتری با کمک پی‌پت پاستور خمیده استریل روی سطح مولرهینتون آگار حاوی افزودنی‌ها با روش یکنواخت تلقیح شد. پس از چند دقیقه، دیسک حاوی ۲ میلی‌گرم عصاره، دیسک حاوی متانول تبخیرشده (شاهد منفی) و دیسک استاندارد حاوی آموکسی‌سیلین (۲۵µg/disc) و مترونیدازول (۵µg/disc) شرکت Himedia (به‌عنوان شاهدهای مثبت) با فواصل استاندارد روی سطح محیط قرار داده شدند.

ظروف پتری به مدت ۳ تا ۴ روز در گرمخانه ۳۷°C حاوی ۱۰٪ دی‌اکسیدکربن و ۱۰۰-۹۰ درصد رطوبت قرار داده شدند. سپس‌هاله‌های عدم رشد بر حسب 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 ضدهلیکوباکتر پیلوری مشابه روش قبل برای سه باکتری جداشده که به طور تصادفی انتخاب شدند، در کنار دیسک شاهد روی محیط EYE آگار انجام شد (۱۳). برای بررسی اثر pH بر فعالیت ضدهلیکوباکتر 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 ضدهلیکوباکتر 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 قطرهاله عدم رشد بیشتر) تعیین شد. از عصاره، غلظت‌های سری ۱۵۶ تا ۱۲۵۰µg/ml در محیط مولرهینتون 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 میکروائروفیل 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.

جدول۱ قطرهاله‌های 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 قطرهاله 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
٤	۱٦	ND*	۲۸/۵
۵	۱٤/۵	۲۸	۲۵
٦	۲۰	ND	۴۰
۷	۱٤/۵	۱۰	۳۳
۸	۱۳/۵	۱۸	۲۴
۹	۱۲	۱۶	۲۰
۱۰	۱۷	۴۱/۵	۱۶/۵
۱۱	۱٦	۴۷/۵	۶۰/۵
۱۲	۲۰	ND	۲۵
۱۳	۱۸/۵	۱۶	ND
۱٤	۱۵	۱۱	۲۴
۱۵	۱٤	۱۰	ND
۱٦	۱۵	۵٤	۲۰
۱۷	۱۵	٤۸/۵	۳۱
۱۸	۱٤	٦	۵۰
۱۹	۱٤/۵	۱۵/۵	۳۸
۲۰	۱۹/۵	٦	۳۰
۲۱	۱۳	٦	۳۰
۲۲	۲۱	۹/۵	۵۸
۲۳	۱۵	۵۵	٤۰
۲٤	۱۹/۵	۹/۵	۳۵
۲۵	۲۰	۱۰	۳۰
۲٦	۲۲	۲۹/۵	٤۰
۲۷	۱۸/۵	۵۰/۵	۵۰
۲۸	۱۵	ND	۳۷/۵
۲۹	۱۸/۵	۵٦	٤۲
۳۰	۱٤	۵۲	۳٦
۳۱	۱۸/۵	۱۰	٤۵
۳۲	۱٤	٦	٤٤
۳۳	۱۷/۵	۱۲	ND
۳٤	۱۱/۵	۹	٤٤
۳۵	۱۷/۵	۲۸	۵۰
۳٦	۱۳/۵	٤۸	٤۰
۳۷	۱٤/۵	۱۰/۵	۲۸

* میانگین قطرهاله عدم رشد پس از دوبار آزمایش و با احتساب قطر دیسک (٦ میلی‌متر)

** تعیین نشده است.

از ظروف پتری آزمایش MIC که باکتری بر روی آن‌ها رشد نکرده بود، روی محیط مولرهینتون 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 قطرهاله‌های عدم رشد برحسب میلی‌متر گزارش شدند. میانگین ± 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 <۰/۰۱ به عنوان معنادار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

جدول ۱ میانگین قطرهاله عدم رشد عصاره متانولی دانه جعفری را برای جدایه‌های هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با دیسک‌های شاهد نشان می‌دهد. میانگین قطرهاله عدم رشد برای عصاره متانولی دانه جعفری ۰/٤۸ ± ۱٦/۲۸ میلی‌متر بود. تمامی جدایه‌ها (۱۰۰درصد) نسبت به آموکسی‌سیلین حساس بودند، در حالی که ۱۹ جدایه از ۳۳ جدایه آزمایش شده (۵۷/۵۸درصد) به دیسک مترونیدازول مقاوم بودند. میانگین قطرهاله عدم رشد ± انحراف استاندارد برای مترونیدازول ۳/۲۳ ± ۲۲/٤۷ میلی‌متر بود.

براساس قطرهاله عدم رشد فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری آموکسی‌سیلین (با میانگین قطرهاله عدم رشد ۱/۸۵ ± ۳۵/۲۹ میلی‌متر) بیشتر از عصاره متانولی دانه جعفری (با میانگین ۰/٤۸ ± ۱٦/۲۸ میلی‌متر) بود. اختلاف از نظر آماری (آنالیز واریانس و تست دانکن) معنادار (P <۰/۰۱) بود.

قطرهاله عدم رشد عصاره متانولی دانه جعفری (در غلظت ۲mg/disc) برای ۱۹ جدایه (۵۷/۵۸ درصد) بیشتر از دیسک مترونیدازول (۵µg/disc) بود.

جدول ۲ نتایج مربوط به بررسی اثر حرارت بر فعالیت ضدهلیکوباکتر 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 ۸۰ °C و ۱۲۱ °C حفظ کرده است.

جدول ۳ نتایج مربوط به بررسی اثر pH را بر فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری عصاره متانولی دانه جعفری نشان می‌دهد. همان‌طوری که در جدول مشاهده می‌شود، فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری دانه جعفری با pH اسیدی ۵ حفظ شده است و با افزایش pH (از ۵ به ۸) فعالیت ضدباکتریایی عصاره کمی(۱٦-۹درصد) کاهش یافته است.

نتایج آزمایش‌ها مربوط به تعیین MIC عصاره متانولی جعفری در جدول ٤ نشان داده شده است. با توجه به جدول ٤، میانگین MIC این عصاره ۷۲۹µg/ml به دست می‌آید. عصاره در همین غلظت اثر باکتری‌کشی داشت، به عبارت دیگر MBC عصاره مشابه MIC آن بود.

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

دما / جدایه‌ها	قطرهاله عدم رشد برحسب میلی متر*		
	۲۵°C (شاهد)	۸۰°C	۱۲۱°C (اتوکلاو)
٦	١٦	١٥	١٦
٨	١٥	١٤/٥	١٥
٢٧	١٦	١٧	١٨

* قطر هر دیسک ٦ میلی‌متر و میانگین قطرهاله عدم رشد پس از دوبار آزمایش گزارش شده است.

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

pH / جدایه	قطرهاله عدم رشد برحسب میلی متر*		
	۵	۷ (شاهد)	۸
٥	١٨	١٦/٥	١٥
٢٦	١٥	١٤	١٣
٢٧	١٦	١٥	١٤/٥

* قطر هر دیسک ٦ میلی‌متر و میانگین قطرهاله عدم رشد پس از دو بار آزمایش گزارش شده‌است.

جدول ٤: حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره متانولی دانه جعفری علیه چهار باکتری جدا شده *هلیکوباکتر* پیلوری با روش رقت در آگار

غلظت(µg/ml) / جدایه‌ها	۰ (شاهد)	١٥٦	٣١٢/٥	٤١٦/٥	٦٢٥	٨٣٣	١٢٥٠
٥	+	+	+	+	+	−	−
٦	+	+	+	+	+	−	−
١٦	+	+	+	+	−	−	−
١٧	+	+	+	+	−	−	−

بحث

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 ۷۲۹µg/ml به دست آمد که با همین غلظت خاصیت باکتریسیدی داشت. عصاره متانولی دانه جعفری فعالیت ضدهلیکوباکتر 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، 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 فعالیتی علیه این باکتری‌ها نداشت (۲۱).

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

جامعه پزشکی با افزایش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی این باکتری روبه‌رو است. تاکنون فعالیت ضدمیکروبی چندین گیاه علیه این باکتری بررسی شده است (۱۶، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶). رمضانی و همکاران فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری اسانس پوست پسته را با حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ۱/۵mg/ml گزارش کردند (۲۴). Tabak و همکاران گزارش کردند، آویشن طبی در غلظت ۳/۵mg/ml رشد هلیکوباکتر پیلوری را متوقف می‌کند (۲۶). ملک‌زاده و همکاران MIC عصاره هلیله سیاه را علیه هلیکوباکتر پیلوری ۱۲۵mg/L گزارش کردند (۱۳).

Voravuthikunchai و Mitchell فعالیت ضدهلیکوباکتر پیلوری عصاره‌های دارمازو (Quercus infectoria) از انواع بلوط و پریکارپ انار از گیاهان دارویی تایلند را با حداقل غلظت ممانعت کننده رشد ۰/۸–۳/۱mg/ml گزارش کردند (۲۷).

O'mahony و همکاران فعالیت ضدباکتریایی 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/ حجمی‌در بافر نمکی فسفات، اثر مهاری داشتند و با دمای $85^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه فعالیت ضدباکتریایی خود را از دست دادند. نتایج نشان‌دهنده آن است که ماده ضدهلیکوباکتر پیلوری هر دو عصاره به حرارت حساس است (۲۹). برخلاف عصاره دانه جعفری که در این تحقیق فعالیت ضدهلیکوباکتر 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 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 ضدمیکروبی، 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 اسلامی‌مشهد انجام شده است که به این وسیله از مسئولان و همکاران محترم این حوزه تشکر و قدردانی می‌شود.

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, Kyriazopulos 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-Karamoddin 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, Eftekhar 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

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 121ºC 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 121ºC for 20 min and acidic pH~5.

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

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