مقایسه تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکترپیلوری در شرایط آزمایشگاهی

مهندس سیدکریم شفقی اصل [۱] ***- مهندس عزت نوری زاده*** [۲] ***- دکتر کریم الله قاسمی گرمی*** [۳] ***- مهندس نقی مالوفی*** [۴]

[۱] بیوتکنولوژیست، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] میکروبیولوژیست، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

[۳] میکروب شناس بالینی، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

[۴] کارشناس صنایع غذایی دانشگاه محقق اردبیلی

نویسنده مسؤول: مهندس سید کریم شفقی اصل - اردبیل - دانشگاه محقق اردبیلی- صندوق پستی ۱۷۹- دانشکده فنی

E-mail: shafaghiasl@yahoo.com

وصول: ۸۴/۵/۱۶، اصلاح: ۸۴/۸/۱، پذیرش: ۸۴/۸/۹

چکیده

زمینه و هدف: امروزه مشخص شده است که هلیکوباکترپیلوری شایع‌ترین علت گاستریت در سراسر جهان است. این ارگانیسم در پیشرفت زخم معده و به ویژه زخم دوازدهه نیز نقش مهمی را ایفا نموده و عامل یکی از رایج‌ترین عفونت‌ها در سراسر دنیا است که حداقل نیمی از جمعیت را در بسیاری از جوامع مبتلا می‌سازد. مقاومت های این میکروارگانیسم در برابر داروهای شیمیایی یک مشکل جدی است و نیاز برای یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و مؤثر را ایجاب می کند. در حال حاضر بنا به دلایل مختلف نظیر غلبه بر مقاومت های اکتسابی باکتری ها و مصرف نابجای آنتی بیوتیک ها، تولید فرآورده های گیاهی ضد باکتریایی کاملاً ضروری به نظر می رسد. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی زردچوبه و دارچین را بر روی پنج سویهٔ هلیکوباکترپیلوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: گیاهانی که بر علیه پنج سویه هلیکوباکترپیلوری انتخاب شدند، شامل دارچین و زردچوبه بودند که عصاره های الکلی و آبی آن‌ها با روش انتشار در آگار بر روی پنج سویه هلیکوباکترپیلوری های جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران مورد بررسی قرار گرفت، نمونه‌های بیوپسی از بیماران مبتلا به زخم معده و اثنی‌عشر، گاستریت و سرطان معده جدا شده بود. نمونه‌ها در داخل ترانسپورت به آزمایشگاه جهت بررسی و مطالعات بعدی منتقل شدند.

یافته‌ها: از بین عصاره‌های آبی و الکلی حاصل از گیاهان مورد مطالعه از نظر خاصیت ضد باکتریایی، عصاره‌های زردچوبه بیشترین اثر ضد میکروبی را از خود نشان دادند. بطوری که قطر هاله عدم رشد در عصاره‌های آبی ۲۲ میلی‌متر و در عصاره الکلی ۱۸ میلی‌متر بود. در صورتی که قطر هاله عدم رشد برای گیاه دارچین در عصاره آبی ۱۷ میلی‌متر و در عصاره الکلی ۱۲ میلی‌متر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که گیاهان مورد آزمایش دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشند که در این میان، خاصیت ضد باکتریایی عصاره آبی زردچوبه بر روی هلیکوباکترپیلوری قابل توجه می‌باشد. بنابراین توصیه می‌گردد با استخراج مواد مؤثرهٔ این گیاهان، تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود. *(مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۲/ شماره ۳/ ۲۱-۱۷).*

واژه‌های کلیدی: *دارچین؛ زردچوبه؛ ضد باکتریایی؛ هلیکوباکترپیلوری.*

مقدمه

اسانس‌ها ترکیبات شیمیایی و معطری هستند که در اندام‌های گیاهان دارویی یافت می‌شوند. بسیاری از فرآورده‌های گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به طور مستقیم در پزشکی مصرف می‌شوند، ولی در بیشتر موارد روغن فرار از مواد خام جدا شده و به عنوان دارو بکار می‌رود. عصاره گیاهی از نظر اقتصادی نیز نقش بزرگی در داروسازی، صنایع غذایی و بهداشتی دارند. خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان دارویی از زمان‌های قدیم شناخته شده است. امروزه استفاده بی‌رویه از مواد نگهدارنده و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و درمان بیماران سبب شده است تا مقاومت دارویی باکتری‌ها به شدت گسترش یابد. از این رو در حال حاضر منابع طبیعی بویژه گیاهان دارویی و خوراکی به عنوان مخازن اکولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱). هلیکوباکترپیلوری یکی از عوامل ایجاد کننده گاستریت و زخم‌های معده و دوازدهه است که درمان کامل آن بسیار مشکل بوده و در بیشتر موارد باید از ترکیب چند آنتی‌بیوتیک استفاده نمود (۲,۳). این نوع درمان بسیار گران است و عوارض جانبی نیز بدنبال دارد و در بیشتر مواقع امکان بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها را نیز دارد (٤,٥).

برای ریشه کن کردن هلیکوباکترپیلوری، از رژیم‌های درمانی چند دارویی استفاده می‌شود. موفق نبودن درمان‌ها و عود بیماری در بیماران درمان شده، همراه با مقاومت دارویی روزافزون این باکتری موجب شده است تحقیقات در زمینه یافتن داروهای جدید ادامه یابد (٦). دارچین و زردچوبه در گذشته، هم به عنوان دارو و هم به عنوان غذا مورد استفاده مردم بوده است و به عنوان گیاهان دارویی مؤثر بر میکروارگانیسم ها در طول تاریخ شناخته شده اند (۷). با توجه به این مهم هدف از این مطالعه مقایسه اثرات عصاره های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکترپیلوری می‌باشد. برای این منظور، تأثیر دو گونه از گیاهان افزودنی در مواد غذایی از نظر خاصیت ضدباکتریایی بر علیه پنج سویهٔ هلیکوباکترپیلوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعهٔ تجربی تعداد ۵۰ نمونه بیوپسی جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران مورد بررسی قرار گرفت. این نمونه ها از بیماران مبتلا به زخم معده و اثنی عشر، گاستریت و سرطان معده جدا شده بودند. نمونه ها در داخل محیط ترانسپورت به آزمایشگاه منتقل شدند و در روی محیط پایه کمپیلوباکتر بلادآگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، وانکومایسین ۱۰ میلی گرم در لیتر، پلی میکسین B ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر، تری متوپریم ۵ میلی گرم در لیتر و آمفوتریسین B ۲ میلی گرم در ایتر کست داده شدند. پلیت ها در درون جار بی هوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gas pack درب جار محکم بسته شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷-۳ روز گرمخانه گذاری گردید. تعیین هویت کلونی های هلیکوباکترپیلوری، توسط رنگ آمیزی گرم و تستهای اوره آز، اکسیداز و کاتالاز انجام شد (٦).

برای تهیه عصاره های الکلی، اتری و آبی از پودر آسیاب شده و خشک شده هل، میخک، زنجبیل و زردچوبه استفاده شد. سپس ۱۰ گرم از پودر مورد آزمایش در آب و ۱۰ گرم در اتانول، ریخته شده و محلول های حاصله به مدت ٢٤ ساعت، در دمای ۳۲ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. بعد از ٢٤ ساعت، مایع رویی استخراج، فیلتر شده و توسط دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد. نمونه های تغلیظ شده، روی شیشه ساعت قرار داده شدند و در آون ٤٠ درجه سانتی گراد، با تبخیر حلال رسوب خشک شده هر یک از حلالها بدست آمد (٦).

برای انجام تست حساسیت به عصاره آبی زردچوبه

و دارچین از روش Agar Dilution استفاده شد به این طریق که ۵ نمونه هلیکوباکترپیلوری (۲ نمونه جدا شده از زخم، ۲ نمونه جدا شده از گاستریت، ۱ نمونه جدا شده از سرطان معده)، برای بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره های آبی دارچین و زردچوبه، در داخل بروسلاآگار حاوی ۵ درصد خون، در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ٤۰۰ میکروگرم در میلی لیتر ریخته شد. سپس از باکتری هایی که در بروسلابرات به مقدار $۱۰^{۸} \times ۳$ باکتری در میلی لیتر تهیه شد. ۵ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی روی بروسلاآگار حاوی عصاره های گیاهی ریخته شده و پلیت ها در درون جار بی هوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gas pack درب جار بسته شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد دی اکسیدکربن گرمخانه گذاری گردید. بعد از ۵ روز کمترین غلظت عصاره های گیاهی را که رشد قابل رؤیت را پس از مدت کافی گرمخانه گذاری باز میداشت، به عنوان MIC (Minimum Inhibitory Concentration) در نظر گرفته شد (٦).

جهت بررسی حساسیت سویه های مختلف هلیکوباکترپیلوری به عصاره های آبی، الکلی زردچوبه و دارچین از روش Disk Diffusion استفاده شد. در این روش، از باکتری های رشد کرده در روی پلیت های حاوی کمپیلوباکتر بلادآگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، سوسپانسیون در سرم فیزیولوژیک به تعداد $۱۰^{۸} \times ۳$ باکتری در میلی لیتر تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون روی محیط مولرهینتون آگار حاوی ۵ درصد خون، تلقیح شد. دیسک بلانک استریل روی پلیت‌ها قرار داده شده و عصاره‌های آبی، اتانولی، و اتری زردچوبه، زنجبیل، میخک و هل در غلظت ٤۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به میزان ۱۰ میکرولیتر روی دیسک بلانک تلقیح شد بعد از ۲ روز گرمخانه گذاری پلیت ها از لحاظ وجود هاله عدم رشد بررسی شدند (٦).

یافته‌ها

از ۵۰ نمونه بیوپسی جمع آوری شده، ۳۵ نمونه از لحاظ خواص بیوشیمیایی بررسی شدند. همه نمونه های حاصله از لحاظ اکسیداز، کاتالاز و اوره آز مثبت بودند. همچنین به سفالوتین حساس و به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. بررسی باکتری در لام های مستقیم و پاتولوژی انجام شد. در ۷۵ درصد لام های مستقیم و در ۹۰ درصد لام های پاتولوژی هلیکوباکترپیلوری مشاهده گردید. دامنه MIC عصاره زردچوبه و دارچین برای سویه های مختلف به ترتیب ۳۵۰ – ۲۰۰ و ۳۵۰ – ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید. از بین عصاره های آبی حاصل از گیاهان مورد مطالعه از نظر اثر ضد باکتریایی، عصاره زردچوبه بیشترین اثر ضد هلیکوباکترپیلوری را داشت (بیشترین قطر هاله عدم رشد ۲۲ میلی متر) و بعد از آن دارچین قرار داشتند. در میان عصاره های الکلی نیز، عصاره زردچوبه با بیشترین قطر هاله عدم رشد (۱۸ میلی متر) اثر بخش بوده و پس از آن دارچین دارای فعالیت ضد باکتریایی بود. در جدول ۱،

جدول ۱: اثر ضد باکتریایی عصاره های آبی و الکلی گیاهان مورد مطالعه بر روی پنج سویه هلیکوباکترپیلوری جدا شده از بیماران

نوع عصاره	هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی متر در سویه های پنج گانه و گروه شاهد				
	سویه ۱	سویه ۲	سویه ۳	سویه ٤	سویه ۵	میانگین
عصارهٔ آبی زردچوبه	۲۰	۱۶	۲۲	۱٤	۱۸	۱۸
عصارهٔ آبی دارچین	۱٤	۱۶	۱۵	۱۳	۱۷	۱۵
عصارهٔ الکلی زردچوبه	۱۵	۱۲	۱۸	۱٤	۱۶	۱۵
عصارهٔ الکلی دارچین	۹	۱۱	۸	۱۲	۱۰	۱۰

نتایج حاصل از اثر عصاره های مختلف گیاهی بر سویه‌های پنج‌گانه ارائه شده است.

بحث

با توجه به بررسی های انجام شده می توان چنین نتیجه گرفت که برای مهار هلیکوباکترپیلوری، می توان از عصاره های آبی و الکلی زردچوبه و دارچین استفاده کرد. هنوز مدرکی دال بر این که آنتی بیوتیکی بتواند بر هلیکوباکتر پیلوری کاملاً مؤثر باشد، گزارش نشده است (۱,۸). ساکاریا و همکارانش نیز در یک بررسی، فعالیت ضد باکتریایی روغن زردچوبه را بر روی باسیلوس سرئوس، باسیلوس کوآکولانس، باسیلوس سابتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا بررسی کردند. آن ها پس از جداسازی پیگمان زرد رنگ، زردچوبه از اولئورزین زردچوبه، مایع باقیمانده را که تقریباً ٤٠ درصد روغن بود، برای بررسی اثرات ضدمیکروبی استفاده کردند. بررسی های بیشتر وجود دو ترکیب کورلون و تورمرون را به همراه ترکیبات اکسیژن دار دیگر، در این اجزاء مشخص کرد. نتایج بررسی های ما نیز نشان داد که بیشترین فعالیت ضد هلیکوباکترپیلوری مربوط به عصاره آبی زردچوبه بود که یک افزودنی مهم به مواد غذایی، به ویژه در کشورهای آسیایی جنوب شرقی محسوب می شود و بعد از آن عصاره های دارچین قرار داشتند (۹). با توجه به یافته های این تحقیق، مطالعه اثر افزودنی ها در رژیم غذایی بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری حائز اهمیت است. همچنین ارزیابی دوام بقای هلیکوباکترپیلوری در مواد غذایی حاوی غلظت های مختلف زردچوبه بسیار مهم می باشد.

تاباک و همکارانش نیز دریافتند که عصاره آبی آویشن و عصاره الکلی دارچین دارای اثر ضد هلیکوباکترپیلوری می باشد. آن ها همچنین مشخص کردند که اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری آویشن بیشتر از دارچین می باشد به دلیل این که عصاره این گیاه از فعالیت اوره آز و همچنین رشد باکتری جلوگیری می کند (۱۰). هیل و همکارانش نیز اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری پودر سیر و روغن سیر را طی تحقیقات خود مشخص کردند (۱۱).

بنابراین استفاده از داروهای گیاهی برای درمان بیماری ایجاد شده توسط این باکتری می تواند امید بخش باشد. از آنجایی که هدف از اجرای این پژوهش، یافتن بهترین گونه گیاهی با حداکثر خواص ضد باکتریایی بود که بتواند در تهیه و تولید داروهای گیاهی مورد استفاده قرار گیرد، زردچوبه بالاترین تأثیر در روند بازدارندگی رشد هلیکوباکترپیلوری، مناسب تر از دارچین می باشد. این گیاهان جهت بررسی های بیشتر و جداسازی مواد موثر معرفی می شوند تا کلید راهگشایی جهت درمان بیماری های عفونی باشند.

References

1. Vassili L, Peter M. Helicobacter Pylori and nonmalignant diseases, Helicobacter Pylori 2003; 8(Suppl. 1): 36-43.
2. Dominique L, Richard MP. Pathogenesis of Helicobacter Pylori infection, Helicobacter, 2003; 8(Suppl. 1): 21-30.
3. Nourizadeh E, Dorafshan S. Evaluation and comparison of diagnosis and identification Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical sciences, 1-3 Feb. 2005, p. 45.
4. Malek JM, Ghazvini K. Invitro Susceptibility of Helicobacter Pylori to Licorice extract, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical sciences 1-3 Feb. 2005, p.194.

5. Nourizadeh E. Survey of anti-bacterial effects of Black pepper on Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical Sciences 1-3 Feb. 2005, p.196.
6. Nourizadeh E. Anti-bacterial effects of ginger and clove on Helicobacter Pylori, Research Journal of Ardabil University of Medical Sciences, 2002; 1(4); 19-26.
7. Nourizadeh E, Ghasemi K, Latifi S. Anti-bacterial effects of Licorice on Helicobacter Pylori, The 3th National congress of Biotechnology, 9-11. September 2003, Mashad, Iran.
8. Taghipoor ZS, Hengameh Z. Comparison of antimicrobial effect of Licorice decoction and choice antibiotics on growth of Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical Sciences Feb 1-3, 2005; p. 199.
9. Sakariah KK, Negi PS. Antibacterial activity of Turmeric oil: A by-product from cur cumin manufacture. J Agric Food Chem 1999; 47(10): 4297-300.
10. Tabak M, Armon R, Pofasman I, Neeman I. In vitro inhibition of Helicobacter Pylori by extracts of thyme. J Appl Bacterial 1996; 80(6): 667-72.
11. Hill DJ, Ogara EA, Maslin DJ. Activites of garlic oil, garlic powder, and their dially l constituents against Helicobacter Pylori, Appl Environ Microbiol, 2000; 66(5): 2269-73.