Original Article

Comparing the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract with common antibiotics used on *helicobacter pylori* isolated from biopsies of patients referring to Kashan Shahid-Beheshti hospital

Saffari H[1*], Saffari M[2], Arj A[3], Haghir-Ebrahim-Abadi A[4]

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
4- Institute of Essential Oils, Kashan University, Kashan, I. R. Iran.

Received July 10, 2011; Accepted December 22, 2011

Abstract:

Background: *Helicobacter pylori (H. pylori)* infection is a worldwide problem nowadays. Considering *H. pylori* resistance to antibiotics, the need for complementary therapies or substances that reduce antibiotic resistance is completely obvious. The purpose of this study was to investigate the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract against *H. pylori*.

Materials and Methods: Pomegranate seed and peel extract were prepared in different concentrations (10, 15 and 20 percent) separately using the DMSO. Mixtures of these concentrates with meteronidazol and claritromycin (each with 3 concentrates) as well as the discs for each concentrate were prepared. Finally, *H. pylori* resistance in stomach biopsies of candidates for esophagoscopy was evaluated for each disc during 2008-2009 in Kashan.

Results: Considering an inhibitory zones around each disc and comparing those to the tables of national committee for clinical laboratory standards (NCCLS), antibiotic sensitivity to clarithromycin and meteronidazol increased significantly with pomegranate peel extract and it was not significantly increased with the pomegranate seed extract compared to the antibiotic discs alone.

Conclusion: Although the pomegranate seed and peel extract has no effect on inhibition zone of *H. pylori*, it can be used in reducing antibiotic resistance of meteronidazol and clarithromycin to eradicate *H. pylori*.

Keywords: Pomegranate extract, Antibiotic resistance, *Helicobacter pylori*, Antimicrobial effects, Meteronidazol, Clarithromycin

* **Corresponding Author.**
Email: hamed_saffary@yahoo.com
Tel: 0098 913 363 1563
Fax: 0098 361 557 8011

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2012; Vol. 16, No 5, Pages 426-432

Please cite this article as: Saffari H, Saffari M, Arj A, Haghir-Ebrahim-Abadi A. Comparing the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract with common antibiotics used on *helicobacter pylori* isolated from biopsies of patients referring to Kashan Shahid-Beheshti hospital. ***Feyz*** 2012; 16(5): 426-32.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

مقایسه اثر ضد میکروبی "عصاره دانه و پوست انار" و آنتی بیوتیک‌های رایج بر روی هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از نمونه‌های بیوپسی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان

حامد صفاری [۱*]، محمود صفاری [۲]، عباس ارج [۳]، عبدالرسول حقیر ابراهیم آبادی [٤]

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه عفونت با هلیکوباکترپیلوری یک مشکل جهانی است. با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری، نیاز جدی به درمان‌های جایگزین و یا موادی که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را کم کنند، احساس می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی و جلوگیری کننده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی عصاره گیاه انار بر علیه هلیکوباکترپیلوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: غلظت‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد از عصاره دانه و پوست انار به‌طور جداگانه توسط حلال DMSO تهیه شد. مخلوط-هایی از این عصاره‌ها با آنتی بیوتیک‌های مترونیدازول و کلاریترومایسین (هر کدام با ۳ غلظت) همراه با دیسک‌های هر محلول تهیه شد. مقاومت هلیکوباکترهای جدا شده از بیوپسی معده بیماران کاندید ازوفاگوسکوپی مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان در سال ۱۳۸۷ نسبت به هر دیسک بررسی شدند.

نتایج: با توجه به قطر دوایر ناشی از مناطق هاله عدم رشد و مقایسه آنها با جداول استاندارد NCCLS، حساسیت دیسک‌های آنتی-بیوتیکی کلاریترومایسین و مترونیدازول به‌همراه عصاره پوست انار در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (به تنهایی) به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. ولی حساسیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی کلاریترومایسین و مترونیدازول به همراه عصاره دانه انار در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (به تنهایی) افزایش معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی پوست و دانه انار هرچند به‌تنهایی بر روی هاله عدم رشد هلیکوباکتر پیلوری اثری ندارند، ولی می‌توانند به‌عنوان کاهنده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مترونیدازول و کلاریترومایسین، در ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی انار، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، هلیکوباکتر پیلوری، اثرات ضد میکروبی، آنتی‌بیوتیک مترونیدازول و کلاریترومایسن

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۱، صفحات ٤٣٢-٤٢٦

مقدمه

گیاهان دارویی امروزه در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند. درمان بیماری‌ها با عصاره‌های گیاهی به زمان‌های خیلی دور بر می‌گردد [۱]. پذیرش گیاهان دارویی به‌عنوان درمان جایگزین در بسیاری از بیماری‌ها و این حقیقت که مقاومت آنتی-بیوتیکی در حال افزایش است، پژوهشگران را بر آن داشته است که درباره‌ی خواص ضد میکروبی برخی از گیاهان دارویی، مطالعاتی به‌عمل آورده و مقالات زیادی در این زمینه به چاپ برسانند [۳،۲].

در دنیا ۲۵۰ هزار تا ۵۰۰ هزار گونه گیاهی وجود دارد، که از این میان فقط ۱ درصد از این گیاهان برای خواص دارویی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [٤]. امروزه با این که بخش قابل توجهی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند، اما تخمین زده می‌شود که حداقل ۳۰ درصد کلیه فرآورده‌های دارویی یا منشا گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه در فرمولاسیون دارویی وارد شده‌اند [۵]. هلیکوباکتر پیلوری یکی از شایع‌ترین باکتری‌هایی است که جوامع انسانی را مبتلا ساخته و گفته می‌شود که بیش از ۵۰ درصد از مردم دنیا میزبان این باکتری هستند [٦]. این باکتری باسیلی است گرم منفی، میکروآئروفیل که در نسج بیوپسی به شکل اسپریل و در محیط کشت هم به شکل اسپریل و هم به شکل کوکوئید دیده می‌شود [۷]. اولین بار در سال ۱۹۸۳ مارشال و واران از وجود این باکتری مارپیچی در محیط اسیدی معده خبر دادند [۸]. تحقیقات بیشتر نشان داد، معده‌ی انسان تنها محل اقامت مناسب برای این میکروب است و حتی از دوران نوزادی تا سنین کهولت انسان می‌تواند ناقل این باکتری باشد [٦]. میکروب مذکور به‌علت میکروآئروفیل بودن در زیر

[۱] دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
[۲] دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
[۳] استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان
[۴] دانشیار، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان
* **نشانی نویسنده مسئول:**
دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی
تلفن: ۰۹۱۳۳۶۳۱۵۶۳ **دورنویس:** ۰۳۶۱ ۵۵۷۸۰۱۱
پست الکترونیک: hamed_saffary@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۱۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۰/۱۰/۱

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

لایه مخاطی اپیتلیوم معده پنهان شده و خود را از اسید معده محفوظ می‌دارد و در نتیجه می‌تواند در ۱۰-۵ درصد از افراد مبتلا شده باعث سوء هاضمه، گاستریت سطحی، گاستریت فعال مزمن، زخم معده، زخم اثنی عشر و حتی آدنوکارسینوم معده شود [۹،٦]. امروزه عفونت با این باکتری یک مشکل جهانی است [۱۱،۱۰] و در کشورهای در حال توسعه نسبت به کشورهای پیشرفته بیشتر بوده و در سنین پایین‌تری اتفاق می‌افتد. در کشور ما نیز میزان ابتلا به این باکتری زیاد است و در مطالعات انجام شده میزان ٦۷/۱ درصد افراد مبتلا به این باکتری، ثبت شده است [۱۲]. رژیم‌های مختلفی برای درمان این عفونت مورد بررسی قرار گرفتند، از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها، مهارکننده‌های پمپ پروتون، بلوک کننده‌های H2 و نمک‌های بیسموت که مدل‌های استاندارد برای درمان این عفونت هستند [۱٤،۱۳]. استفاده بی‌رویه‌ی این داروها، باعث به‌وجود آمدن مقاومت دارویی در این باکتری شده است که این عامل باعث شیوع این باکتری در مناطق با مقاومت بیشتر می‌شود. در کشور ما مقاومت این باکتری ها به حدی رسیده است که نیاز جدی به درمان‌های جایگزین و یا موادی که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را کم کنند، احساس می‌شود. برای مثال مقاومت به مترونیدازول در کشور ما به ٤۲ درصد رسیده است که به‌نظر می‌رسد اقبال شایان توجهی از تاثیر این آنتی‌بیوتیک نشود [۱۵،۱۲]. انار درطب سنتی آمریکا،آسیا،آفریقا و اروپا برای بیماری‌های مختلفی استفاده می‌شود [۱۷،۱٦]. نوشته‌های باقیمانده ازEber's paprus (یکی از قدیمی‌ترین فلاسفه مصر باستان) حاکی از این است که میوه انار برای درمان کرم نواری و سایر بیماری‌های انگلی مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۱۹،۱۸]. میوه درخت انار برای درمان اسیدوز، دیسانتری، عفونت‌های میکروبی، اسهال، هلمینتیازیس، خونریزی و بیماری‌های تنفسی مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۲۰]. علاوه بر این، میوه‌ی این درخت آثار ضد ویروسی علیه هرپس ویرویس‌ها [۲۱] و ویروس آنفولانزا [۲۳،۲۲] از خود نشان داده است. متابولیت‌های موجود در قسمت-های مختلف میوه و پوست انار شامل انواع قندها، اسید آلی، آلکالوییدها، پلی فنل‌ها، تانن، فلاوونوییدها، آنتوسیانین‌ها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و نظایر آن است. قندهای موجود در عصاره انار شامل فروکتوز، ساکاروز و مالتوز [۲٤] بوده و ویتامین‌های موجود در آن C، B1، B2 و بتاکاروتن هستند [۲٦،۲۵]. مطالعات نشان می-دهد پوست انار حاوی مقدار زیادی تانن بوده که عامل مهمی برای خواص ضد میکروبی عصاره در برابر باکتری‌های دستگاه گوارش به‌شمار آید [۲۷]. این مطالعه با هدف بررسی خواص ضد میکروبی و جلوگیری کننده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی عصاره گیاه انار بر علیه هلیکوباکتر پیلوری و تعیین اثر سینرژیسم آن با آنتی‌بیوتیک‌های مترونیدازول و کلاریترومایسین در سال ۱۳۸۷ در کاشان صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

باکتری

سویه‌های کلینیکی هلیکوباکتر پیلوری پس از تست اوره‌آز، کشت و رنگ‌آمیزی از ۳۵ نمونه‌ی بیوپسی معده‌ی بیماران (۱۸ نفر مرد و ۱۷ نفر زن) انجام شده از بیماران مبتلا به گاستریت‌های مزمن و حاد و یا مشکوک به ناراحتی‌های گوارشی که به بیمارستان شهید بهشتی کاشان مراجعه کرده بودند، جدا گردید. برای جداسازی باکتری، نمونه‌های بیوپسی را در چند قطره نرمال سالین استریل، به-صورت سوسپانسیون در آورده و آن را بر روی محیط کشت اختصاصی Campylobacter Selective agar حاوی آنتی-بیوتیک به روش Streak method کشت داده و به مدت ۵-۳ روز در شرایط میکروآئروفیلیک و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا ظاهر شدن کلونی باکتری، گرمخانه گذاری شدند. پس از ظاهرشدن کلونی سویه‌های هلیکوباکتر با توجه به تست‌های اوره‌آز -کاتالاز و رنگ-آمیزی گرم شناسایی شدند [۲۸].

تهیه غلظت‌های آنتی بیوتیکی

۲۵۰ میلی گرم مترونیدازول (شرکت پارس دارو) در آب یونیزه و حلال (DMSO) حل شد و در دمای اتاق به ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد [۲۹]. این عمل باعث شد تا غلظت دارو به ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برسد. با حل کردن ۱ میلی‌لیتر از این محلول با ۹۹ میلی لیتر DMSO، غلظت نهایی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. محلول ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کلارتیرومایسین نیز به روش مشابه تهیه شد.

تهیه عصاره‌های گیاهی

به‌منظور تهیه عصاره‌ی انار، میوه سالم این گیاه از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی اداره جهاد کشاورزی اصفهان خریداری گردید. پس از تفکیک پوست و دانه انار از یکدیگر، هر جز به‌طور جداگانه در شرایط آزمایشگاه و درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پس از آسیاب کردن، پودر پوست و دانه تهیه گردید. سپس به ۱۰۰ گرم از پودرهای به‌دست آمده، ۱۰ میلی‌لیتر متانول اضافه نموده و پس از ۲۰ دقیقه از خیساندن پودرها در الکل، محتویات حاصله درون کیسه‌ی پارچه‌ای ویژه‌ای قرار گرفتند و به دستگاه سوکسله متصل گردیدند. در مرحله بعد۲۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص به بالن سوکسله اضافه گردید و عصاره‌گیری با حرارت دهی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

دستگاه آغاز شد. عصاره‌گیری به‌مدت ٦٠ دقیقه تا مرحله بیرنگ شدن حلال خروجی ادامه یافت. پس از صاف کردن عصاره‌ها، توسط دستگاه تقطیر در خلاء دوار تغلیظ شدند [۲۹].

تهیه محلول‌ها

غلظت‌های ۱۰،۱۵ و ۲۰ درصد از عصاره‌ی دانه و پوست انار به‌طور جداگانه توسط حلال DMSO تهیه شد [١٤]. با اضافه کردن ۱۰ میلی لیتر از هر یک از این ٦ محلول به ۱۰ میلی لیتر از محلول‌های ۱۰۰ mg/ml مترونیدازول و کلاریترومایسین، محلول-های کلاریترومایسین-عصاره انار (در ۳ غلظت برای عصاره دانه انار و ۳ غلظت برای عصاره پوست انار) و مترونیدازول-عصاره انار (در ۳ غلظت برای عصاره‌ی دانه‌ی انار و ۳ غلظت برای عصاره‌ی پوست انار) تهیه شد.

تهیه دیسک

دیسک‌های بلانک به‌مدت یک ساعت در هر یک از ۲۰ محلول مورد نظر - محلول ۱۰۰ mg/ml از مترونیدازول، محلول ۱۰۰ mg/ml از کلاریترومایسین، عصاره‌های ۱۵،۱۰ و ۲۰ درصد پوست و دانه‌ی انار، محلول‌های کلاریترومایسین-عصاره انار (در ۳ غلظت برای عصاره‌ی دانه‌ی انار و ۳ غلظت برای عصاره پوست انار) و مترونیدازول-عصاره انار (در ۳ غلظت برای عصاره‌ی دانه‌ی انار و ۳ غلظت برای عصاره پوست انار)- قرار داده شد تا محلول‌ها، جذب دیسک بلانک شوند. سپس دیسک‌ها در محیط استریل خشک شده، جهت بررسی اثر ضد میکروبی در داخل ویال‌های استریل نگهداری شدند [۳۰]. از دیسک حاوی DSMO (ماده‌ی حامل مواد موجود در دیسک‌ها) به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد و از دیسک استاندارد وانکومایسین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

بررسی اثرات ضد هلیکوباکتر پیلوری محلول‌ها

اثرات ضدمیکروبی محلول‌ها به روش دیسک دیفیوژن بررسی شده و نتایج پس از مشاهده هاله عدم رشد، ثبت گردیدند [۲۹].

آنالیز آماری

اطلاعات جمع‌آوری شده وارد نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۱/۵ شد و با استفاده از آمار توصیفی و با به‌کارگیری از آزمون آماری مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از آزمون اوره‌آز، ۵۷/۱ درصد از نمونه‌ها (۲۰ نمونه) در پاسخ به آلودگی هلیکوباکتر پیلوری، مثبت ارزیابی شدند. نتایج حاصله از این مطالعه نشان داد که حساسیت این سه روش در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری تقریباً یکسان است؛ یعنی تقریبا در تمامی موارد واکنش اوره‌آز مثبت با مشاهده باکتری در گسترش لام و کشت ارگانیسم همراه بود. حساسیت میکروبی هلیکوباکتر پیلوری و قطر هاله مهار رشد با دیسک‌های تهیه شده بررسی شد. با توجه به قطر هاله عدم رشد و مقایسه آنها با جداول استاندارد NCCLS، ۱۰۰ درصد موارد به وانکومایسین، ۲۵ درصد موارد به مترونیدازول و ۱۰ درصد موارد به کلاریترومایسین حساس بودند. دیسک‌های حاوی عصاره دانه انار (به تنهایی) در تمام غلظت‌ها و دیسک‌های حاوی عصاره پوست انار (به تنهایی) ۱۰۰ درصد مقاومت داشتند. حساسیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی کلاریترومایسین و مترونیدازول به همراه عصاره پوست انار در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (به تنهایی) به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (جدول شماره ۱) ولی حساسیت دیسک‌های آنتی-بیوتیکی کلاریترومایسین و مترونیدازول به همراه عصاره دانه انار در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (به تنهایی) افزایش معنی‌داری نداشت. هم‌چنین، نتایج جدول شماره ۱ نشان می‌دهد حساسیت عصاره دانه انار در تمام غلظت‌ها به همراه مترونیدازول به ۲۵ و به همراه کلاریترومایسین به ۱۰ درصد رسیده است، در حالی‌که در عصاره پوست انار در غلظت ۲۰ درصد این اعداد به‌ترتیب ۹۵ و ۱۰۰ درصد می‌باشد.

جدول شماره ۱- میزان حساسیت هلیکوباکتر پیلوری به دیسک‌های مختلف

جزء	وضعیت حساسیت	مترونیدازول		کلاریترومایسین	
	غلظت	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
دانه	٪۱۰	۵(٪۲۵)	۱۵(٪۷۵)	۲(٪۱۰)	۱۸(٪۹۰)
	٪۱۵	۵ (٪۲۵)	۱۵(٪۷۵)	۲(٪۱۰)	۱۸(٪۹۰)
	٪۲۰	۵(٪۲۵)	۱۵(٪۷۵)	۲(٪۱۰)	۱۸(٪۹۰)
پوست	٪۱۰	۱٤(٪۷۰)	٦(٪۳۰)	۱٤(٪۷۰)	٦(٪۳۰)
	٪۱۵	۱۵(٪۷۵)	۵(٪۲۵)	۱٦(٪۸۰)	٤(٪۲۰)
	٪۲۰	۱۹(٪۹۵)	۱(٪۵)	۲۰(٪۱۰۰)	۰

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

نتایج قطر هاله عدم رشد نشان می‌دهد عصاره پوست انار و دانه انار در تمام غلظت برابر صفر است و برای آنتی‌بیوتیک وانکو-مایسین (کنترل مثبت) ۱۱/۳۲±۲/۶۳ گزارش گردید. از طرف دیگر میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و میانگین قطر هاله‌های عدم رشد در اطراف دیسک‌های حاوی مترونیدازول و کلاریترومایسین و اطراف دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک‌ها به همراه عصاره پوست انار متفاوت بوده و در صورت استفاده همزمان آنتی‌بیوتیک‌ها و عصاره پوست میانگین قطر هاله عدم رشد افزایش یافته و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی کاهش یافته است. در مورد استفاده همزمان از عصاره دانه انار و آنتی‌بیوتیک‌ها چنین تفاوتی مشاهده نمی‌گردد (جدول شماره ۲). این یافته‌ها نشان می‌دهد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری نسبت به مترونیدازول و کلاریترومایسین در صورت استفاده همزمان با عصاره پوست انار به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره دانه و پوست انار با غلظت‌های مختلف و آنتی‌بیوتیک‌های رایج

جزء	قطر هاله عدم رشد غلظت	مترونیدازول $\overline{X} \pm SD$	P	کلاریترومایسین $\overline{X} \pm SD$	P
دانه	٪۰	۷/۹۳±۲/۳٤	۰/۰۳۲	۷/۱۰±۵/٤	۰/۰۲٤
	٪۱۰	۸/۲۳±۳/۳٤		۸/۵۳±۵/٦۸	
	٪۱۵	۸/۸۵±٤/۵۲		۸/۱٤±۵/۱۰	
	٪۲۰	۹/۲۰±۵/۲۷		۹/۲۳±۵/٤۰	
پوست	٪۱۰	۱۷/۳۱±۸/۱۰	۰/٦٤	۱۷/۲۳±٤/۱۸	۰/۷۱
	٪۱۵	۲۰/۵۲±۷/۸۱		۲۲/۵۳±٦/۸۸	
	٪۲۰	۲٤/۸٤±٤/۲۰		۲۳/۹۰±۷/۵۲	

بحث

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه عصاره دانه و پوست انار هیچ‌گونه اثر مهارکننده‌ای نسبت به هلیکوباکتر پیلوری نداشتند. این موضوع را از عدم وجود هاله عدم رشد اطراف دیسک حاوی این مواد می‌توان دریافت. در مطالعه‌ای که توسط Kamel و Seddik [۳۰] انجام شد، مقاومت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به مترونیدازول و کلاریترومایسین به ترتیب ۵۳ و ۸٤ درصد اعلام شد. در این مطالعه با بررسی اثر سینرژیسمی عصاره اتانولی پوست گیاه انار، درصد سوش‌های مقاوم به ٤۰ و ٤۷ درصد کاهش یافت. بنابراین، اثر سینرژیسمی عصاره‌ی پوست انار توام با آنتی‌بیوتیک‌های یاد شده به اثبات رسیده است [۳۰].. در مطالعه ما، وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به مترونیدازول (۷۵ درصد) و کلاریترومایسین (۹۰ درصد) این حقیقت را نشان می‌دهد که این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان هلیکوباکتر پیلوری جایگاه خود را از دست داده‌اند. وجود این میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مترونیدازول و کلاریترومایسین پزشکان را به سمت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های خط آخر درمان مثل وانکومایسین (با ۱۰۰ درصد حساسیت) سوق می‌دهد. در مطالعه‌ی Siddaraju و Dharmesh [۳۱]، میزان هاله عدم رشد عصاره اتانولی ۳۰ درصد پوست انار نسبت به عصاره اتانولی ۱۰ و ۱۵ درصد بیشتر بود و با افزایش غلظت عصاره، میزان هاله عدم رشد افزایش یافت، ولی در این مطالعه هاله عدم رشد عصاره اتانولی در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ درصد به میزانی نبود که خاصیت ضد میکروبی را برای عصاره قائل شویم. از سویی دیگر در این پژوهش سوش استاندارد هلیکوباکتر پیلوری انتخاب شده نسبت به غلظت ۳۰ درصد عصاره اتانولی حساسیت نشان داد و پس از ۷۲ ساعت، سوش استاندارد هاله عدم رشد ۱۰۰ درصد نشان داد که این بر خلاف نتایج حاصل از مطالعه ما بود. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع سوش‌های انتخابی، تفاوت در غلظت عصاره اتانولی و یا تاثیرات ناشی از شرایط آزمایشگاهی و محیطی باشد. بر اساس مدلی که Shanmugam و همکاران در سال ۲۰۰۸ ارائه دادند، کاهش مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط متابولیت‌های گیاهی مختلف و طی مکانیسم‌های خاص انجام می‌پذیرد. نظر به این‌که انار غنی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی پلی فنولیک، تانن، پونیکالاگین، آنتوسیانین، الاژیک اسید، فلاونوئیدها و گالیک اسید می‌باشد [۳۲]، احتمال می‌رود اسید گالیک موجود در عصاره پوست انار، می‌تواند از طریق مکانیسم کاهش نفوذ، اثر افزایش دهندگی حساسیت آنتی‌بیوتیکی پوست انار را توجیه کند. در این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره‌های دانه و پوست انار از روش دیسک دیفیوژن استفاده شده است. در مطالعاتی که صرفا به‌منظور مطالعه اثرات سینرژیسم عصاره‌های گیاهی طراحی می‌گردد، توصیه می‌شود از روش‌های به مراتب دقیق‌تری نظیر checkerboard و time-kill curve و یا E-test استفاده شود [۳۳] که با دقت بیشتری از دیسک دیفیوژن میزان سینرژیسم را

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

محاسبه می‌کنند. از آنجایی که این روش‌ها زمان‌بر و مستلزم هزینه‌های بیشتری هستند، در این طرح از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. در مطالعات قبلی به اثرات کاهش دهندگی مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آمپی-سیلین، تتراسایکلین و اگزاسیلین اشاراتی شده است [۳۲]. توصیه می‌گردد مطالعات ضد میکروبی بیشتری روی آنتی‌بیوتیک‌های کلاریترومایسین و مترونیدازول وسلیر آنتی‌بیوتیک‌های رایج و به-ویژه اثر سینرژیسمی عصاره‌های گیاهی دیگر صورت پذیرد.

نتیجه‌گیری

یافتن راه حلی برای کاهش دادن مقاومت آنتی‌بیوتیکی داروهای خط اول درمان، نیاز به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های خط پایان درمان (مثل وانکومایسین) را کاهش می‌دهد. عصاره‌ی پوست و دانه انار هر چند به تنهایی بر روی هاله عدم رشد هلیکوباکتر پیلوری اثری ندارند، ولی می‌توانند به‌عنوان کاهنده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مترونیدازول و کلاریترومایسین، دو دارویی که می‌روند تا به‌تدریج به‌خاطر مقاومت آنتی‌بیوتیکی غیرقابل استفاده شوند، در ریشه کنی هلیکوباکترپیلوری مورد استفاده قرار بگیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمام عزیزان ذیل که در اجرای این طرح تحقیقاتی (شماره ۸۷٤۷) ما را یاری نمودند کمال قدردانی و امتنان را دارند؛ حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کارمندان و کارشناسان آزمایشگاه گروه میکرو-بیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کارکنان و کارشناسان پژوهشکده اسانس دانشگاه کاشان، کارکنان و پرسنل بخش آندوسکوپی بیمارستان شهید بهشتی و میلاد کاشان و آقای احمد قاسمی کارشناس ارشد میکروبیولوژی که در گردآوری و تهیه نمونه‌ها کمال همکاری را داشتند.

References:

[1] Oz AT. Effects of harvest date and conditions of storage of Hayward kiwifruits on contents of L-ascorbic acid. ***J Food Agric Environ*** 2010; 8(2): 132–4.

[2] Al-Bakri AG, Afifi FU. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. ***J Microbiol Methods*** 2007; 68(1): 19-25.

[3] Ulukanli Z, Akkaya A. Antibacterial activities of Marrubium catariifolium and Phlomis pungens var. hirta grown wild in Eastern Anatolia, Turkey. ***Int J Agric Biol*** 2011; 13(1): 105–9.

[4] Meléndez PA, Capriles VA. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. ***Phytomedicine*** 2006; 13(4): 272-6.

[5] Aine chi Y ,Ahmadi K. Details of medicine and medicinal plants of Iran. 3th ed. Tehran: Tehran University Press; 2006. p. 134-7.

[6] Rathbone BJ, Healthy Rv. Campylobacter pylori and gastroduodenal disease. ***Nat Rev Mol Cell Biol*** 1998; 2: 457-66.

[7] Stamatis G, Kyriazopoulos P, Golegou S, Basayiannis A, Skaltsas S, Skaltsa H. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of Greek herbal medicines. ***J Ethnopharmacol*** 2003; 88(2-3): 175-9

[8] Nachamkin I., Skirrow M.B, Campilobacter aerobacter and helicobacter. Toeply and wilson's Microbiology and microbial infection. 9th ed. London,Oxford Univercity press; 1998. p. 1248.

[9] Zargari A.Rahmani. Medicinal plants. 7th ed. Tehran: Tehran university Press; 1981.p.312-19

[10] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Bailey WR. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. St. Louis: Elsevier Mosby; 2007. p. 423.

[11] O'Mahony R, Al-Khtheeri H, Weerasekera D, Fernando N, Vaira D, Holton J, et al. Bactericidal and anti-adhesive properties of culinary and medicinal plants against Helicobacter pylori. ***World J Gastroenterol*** 2005; 11(47): 7499-507.

[12] Alborzi A, Soltani J, Pourabbas B, Oboodi B, Haghighat M, Hayati M, et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection in children (south of Iran). ***Diagn Microbiol Infect Dis*** 2006; 54(4): 259-61.

[13] Ulmer HJ, Beckerling A, Gatz G. Recent use of proton pump inhibitor-based triple therapies for the eradication of H pylori: a broad data review. ***Helicobacter*** 2003; 8(2): 95-104.

[14] Perez Aldana L, Kato M, Nakagawa S, Kawarasaki M, Nagasako T, Mizushima T, et al. The relationship between consumption of antimicrobial agents and the prevalence of primary Helicobacter pylori resistance. ***Helicobacter*** 2002; 7(5): 306-9.

[15] Wermeille J, Cunningham M, Dederding JP, Girard L, Baumann R, Zelger G, et al. Failure of Helicobacter pylori eradication: is poor compliance the main cause? ***Gastroenterol Clin Biol*** 2002; 26(3): 216-9.

[16] Gracious Ross R, Selvasubramanian S, Jayasundar S. Immunomodulatory activity of Punica granatum in rabbits--a preliminary study. ***J Ethnopharmacol*** 2001; 78(1): 85-7.

[17] Kim ND, Mehta R, Yu W, Neeman I, Livney T, Amichay A, et al. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (Punica granatum) for human breast cancer. ***Breast Cancer Res Treat*** 2002; 71(3): 203-17.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

[18] Murthy KN, Reddy VK, Veigas JM, Murthy UD. Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. ***J Med Food*** 2004; 7(2): 256-9.
[19] Sánchez-Lamar A, Fonseca G, Fuentes JL, Cozzi R, Cundari E, Fiore M, et al. Assessment of the genotoxic risk of Punica granatum L. (Punicaceae) whole fruit extracts. ***J Ethnopharmacol*** 2008; 115(3): 416-22.
[20] Fuentes VR, Exposito A. Las encuestas etnobotanicas sobre plantas medicinales en Cuba. ***Rev Jard Bot Nacion Univ Habana*** 1995(16): 77-144.
[21] Zhang J, Zhan B, Yao X, Gao Y, Shong J. Antiviral activity of tannin from the pericarp of *Punica granatum* L. against genital Herpes virus in vitro. ***Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*** 1995; 20(9): 556-8, 576.
[22] Caballero O, Pena, BR, Zurcher J, Ortin J, Martinez T. Actividad inhibitory de extractos del fruto de *Punica granatum* sobre cepas del virus de la gripe. ***Rev Cubana Quim*** 2001(8): 106-9.
[23] Pena BR, Martinez MT. Inhibicion de la hemaaglutinacion de cepas de influenza A por un extracto liofilizado de granada BLBU. ***Rev Cubana Quim*** 2001(8): 395.
[24] Melgarejo P, Salazar, D, Artes F. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. ***Eur Food Res Technol*** 2000; 211: 185–90.
[25] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. ***Anal Biochem*** 1999; 269(2): 337-41.
[26] Ozkan M, Kırca A, Cemeroglu B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. ***Food Chemistry*** 2004; 88(4): 591-7.
[27] Pradeep BV, Manojbabu MK, Palaniswamy M. Antibacterial Activity of Punica granatum L. against Gastro Intestinal Tract Infection Causing Organisms. ***Ethnobotanical Leaflets*** 2008; 2008(1): 1085-89.
[28] Fakhri S. Evaluation of anti bacterial activities of some medicinal plants on nocardia. Tehran: Azad University. 1983.
[29] Andy I. Eja M. Mboto, C. An Evaluation of the antimicrobial potency of Lasianthera africana (BEAUV) and Heinsia crinata (G. Taylor) on Escherichia coli, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus and Candida albicans. ***Malaysian J Microbiol*** 4(1) 2008: 25-9.
[30] Kamel G, Seddik K. Effects of aqueous extracts from Punica granatum on the antibiotic therapy of helicobacter pylori.
Available at: www.interscience.com
[31] Siddaraju MN, Dharmesh SM. Inhibition of gastric H, K-ATPase and Helicobacter pilori grouthh by phenolic antioxidants of Zingiber officinale. ***Mol Nutr Food Res*** 2007, 51(3): 324-32.
[32] Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. ***Phytomedicine*** 2008; 15(8): 639–52.
[33] White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. ***Antimicrob Agents Chemother*** 1996; 40(8): 1914-8.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]