Archive of SID

دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی – پژوهشی

بررسی آثار ضدباکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن بر هلیکوباکتر پیلوری

نویسندگان: عزت نوری‌زاده[1]، طوبا میرزاپور[1]، دکتر کریم‌اله قاسمی[2]، سیدمهدی رضوی[3] و سعید لطیفی نوید[4]

۱. مربی گروه زیست‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی
۲. استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی
۳. دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تبریز
۴. مربی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد واحد اردبیل

چکیده

هلیکوباکتر پیلوری، یک عامل مهم در ایجاد گاستریت مزمن، زخم معده و اثنی‌عشر محسوب می‌شود و همچنین احتمال میرود که در ایجاد آدنوکارسینومای دیستال معده نیز نقش داشته باشد. عفونت ایجاد شده توسط هلیکوباکترپیلوری می‌تواند به زخم‌های مزمن معده و اثنیعشر منجر شود که عواقب وخیم‌تر آن به شکل آتروفی و متاپلازی معدهای در بافت‌ها ظاهر می‌گردد. افزایش روزافزون مقاومت دارویی هلیکوباکترپیلوری به آنتیبیوتیک‌های رایج، هدف این مطالعه بود و در جریان مطالعه، تأثیر پنج گونه از گیاهان افزودنی در موادغذایی از نظر خاصیت ضدباکتریایی علیه هشت سویه هلیکوباکترپیلوری مورد بررسی قرار گرفت.

گیاهانی که علیه هشت سویه هلیکوباکتر پیلوری انتخاب شدند عبارت بودند از: نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویش. عصاره‌های الکلی و آبی با روش انتشار در آگار بر روی هلیکوباکتر پیلوری‌های جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران مورد بررسی قرار گرفت.

از بین عصاره‌های آبی حاصل از گیاهان مورد مطالعه از نظر اثر ضدباکتریایی، عصاره نعناع بیش‌ترین اثر ضدهلیکوباکترپیلوری را داشت (میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۴ میلی‌متر) و بعد از آن به‌ترتیب شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن قرار داشتند. در میان عصاره‌های الکلی، عصاره نعناع با میانگین ۱۰ میلی‌متر اثربخش بود و پس از آن، شیرین‌بیان، پونه و آویشن دارای فعالیت ضدباکتریایی بودند.

با توجه به این‌که عصاره‌های آبی، الکلی مربوط به نعناع و شیرین‌بیان دارای فعالیت ضدباکتریایی بالاتر هستند، شناسایی ماده مؤثر این گیاهان به‌عنوان یک ترکیب مؤثر ضدمیکروبی گام بعدی در این راستا محسوب می‌شود و شناسایی آثار ضدمیکروبی دیگر گیاهان افزودنی در موادغذایی امری ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، ضدباکتریایی، نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در اواخر سال ۱۹۸۰ وارن (Warren) و مارشال (Marshal) رابطه بین گاستریت مزمن و حضور هلیکوباکتر پیلوری را به اثبات رساندند. این باکتری در قشر موکوس مخاط معده و همچنین در مخاط تغییر یافته و شبیه به مخاط معده که در اثنی‌عشر مشهود است، می‌تواند حضور داشته باشد. همچنین این باکتری توانایی کلونیزه شدن در مری بارت را دارد و ممکن است در ایجاد زخم یا التهاب بارت نقش داشته باشد [۵-۱].

یکی از ویژگی‌های مهم این باکتری، تولید مقدار فراوان آنزیم اوره‌آز (Urease) است. مشخص شده که اوره‌آز یک عامل ویرولانس مهم در باکتری است که می‌تواند در کلونیزه شدن باکتری در موکوس معده و صدمه و ایجاد زخم معده نقش داشته باشد. آمونیاک تولید شده توسط اوره آز باکتری قادر است چسبندگی باکتری را به سلول‌های مخاط آنتر معده افزایش دهد و موجب تضعیف اتصالات بین سلولی گردد [۶،۷،۸و۹].

یکی دیگر از ویژگی‌های مهم باکتری، یعنی تولید توکسین VacA، به خاطر نقش مهمی که در بروز بیماری‌های مرتبط با هلیکوباکترپیلوری دارد، بسیار مورد توجه قرار گرفته و نقش آن در ایجاد زخم معده و آدنوکارسینومای دیستال معده مهم ارزیابی می‌شود. امپرازول میکرونایزد (Omprazole Micronized) یک ممانعت‌کننده پمپ پروتونی است که توان مهار واکوئولاسیون ایجاد شده توسط توکسین VacA روی سلول‌های Vero دارد [۱۰و۱۱].

برای ریشه‌کن کردن هلیکوباکترپیلوری، از رژیم‌های درمانی دو دارویی، سه دارویی و یا چهار دارویی استفاده می‌شود. موفق نبودن درمان‌ها در حذف کامل عفونت در همه بیماران و عود بیماری در بیماران درمان شده، همراه با مقاومت دارویی روزافزون این باکتری، موجب گشته تا تحقیقات در زمینه یافتن داروهای جدید ادامه یابد. مهم‌ترین مطالعاتی که در این زمینه باید صورت گیرد بررسی آثار ضدهلیکوباکترپیلوری گیاهان و مواد افزودنی غذایی است که به علت کمبود آثار سوء بر روی بافت‌ها مورد توجه خاص قرار گرفته‌اند. عصاره آبی آویشن و عصاره الکلی دارچین دارای اثر ضدهلیکوباکترپیلوری است به‌طوری که حتی نشان داده شده اثر ضدهلیکوباکتر پیلوری آویشن به‌دلیل جلوگیری از فعالیت اوره‌آز بیش‌تر از دارچین است [۱۲]. همچنین سیر از جمله گیاهانی به‌شمار می‌رود که فعالیت ضدهلیکوباکترپیلوری آن – به‌ویژه پودر و روغن سیر – مورد مطالعات زیادی قرار گرفته و پتانسیل فعالیت ترکیبات مختلف موجود در این گیاه نشان داده شده است [۱۳].

فعالیت ضدمیکروبی افزودنی‌های موادغذایی مانند زردچوبه و دارچین که به وفور مورد استفاده مردم جهان بخصوص شرقی‌ها قرار می‌گیرد، همواره مورد توجه بوده است. فعالیت ضدباکتریایی روغن زردچوبه بر خیلی از باکتری‌ها از جمله اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفته است [۱۴]. همچنین توانایی مهار میکروکوکوس لوتئوس توسط زنجبیل مطالعه شده است [۱۵]. با توجه به این نکته مهم که می‌توان از مواد غذایی که بر روی هلیکوباکترپیلوری اثر ضدباکتریایی دارند در جهت درمان و کاهش آلودگی و انتقال این باکتری استفاده کرد، مطالعه عصاره‌های مختلف گیاهان و افزودنی‌های غذایی و همچنین تعیین ماده مؤثر آن‌ها از جمله مواردی هستند که باید مورد توجه قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

الف) سویه‌ها و شرایط رشد: ۶۰ نمونه بیوپسی از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران گرفته شد. این نمونه‌ها از بیماران مبتلا به زخم معده و اثنیعشر، گاستریت و سرطان معده جدا شده بودند. نمونه‌ها در داخل محیط ترانسپورت به آزمایشگاه منتقل شدند و در روی محیط پایه

www.SID.ir

Archive of SID

کمپیلوباکتربلادآگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، وانکومایسین ۱۰میلی‌گرم در لیتر، پلی میکسین B ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر، تری‌متوپریم ۵ میلی‌گرم در لیتر و آمفوتریسین B ۲ میلی‌گرم در لیتر کشت داده شدند. پلیت‌ها در درون جار بیهوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gaspack درب جار محکم بسته شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ـ۳ روز گرمخانه‌گذاری گردید. تعیین هویت کلونی‌های هلیکوباکترپیلوری، توسط رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های اوره‌آز، اکسیداز و کاتالاز انجام شد [۱۶و۱۷].

ب) تهیه عصاره‌های گیاهی: پودر آسیاب شده و خشک شده نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن تهیه شد و برای آماده‌سازی عصاره‌های الکلی و آبی به کار رفت. ۱۰ گرم از پودر مورد آزمایش، در آب و ۱۰ گرم در اتانول ریخته شد و محلول‌های حاصل به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از ۲۴ساعت، مایع رویی استخراج و فیلتر شد و توسط دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ گردید. نمونه‌های تغلیظ شده، روی شیشه ساعت قرار داده شدند و در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد با تبخیر حلال رسوب خشک شده هر یک از حلال‌ها به‌دست آمد [۱۸].

ج) تست حساسیت به عصاره آبی نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن به روش انتشار در آگار (Agar Dilution) : ۸ نمونه هلیکوباکترپیلوری (۳ نمونه جدا شده از زخم، ۳ نمونه جدا شده از گاستریت و ۲ نمونه جدا شده از سرطان معده) برای بررسی آثار ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌های آبی نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن در داخل بروسلاآگار حاوی ۵ درصد خون، در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۳۵۰ میگروگرم در میلی‌لیتر ریخته شد. سپس از باکتری‌هایی که در محیط کشت رشد کرده بودند، سوسپانسیونی در بروسلابراث به مقدار ۳×۱۰ باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد.

۵ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی روی بروسلاآگار حاوی عصاره‌های گیاهی ریخته شد و پلیت‌ها در درون جار بی‌هوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gaspack درب جار بسته شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن گرمخانه‌گذاری گردید. بعد از ۵ روز، کم‌ترین غلظت عصاره‌های گیاهی که رشد قابل رؤیت را پس از مدت کافی گرمخانه‌گذاری بازمی‌داشت، به‌عنوان (Minimum Inhibitory Concentration) MIC در نظر گرفته شد [۱۸].

د) بررسی حساسیت سویه‌های مختلف هلیکوباکترپیلوری به عصاره‌های آبی، الکلی نعناع، شیرین‌بیان، بابونه، پونه و آویشن به روش Disk Diffusion : در این روش، از باکتری‌های رشد کرده در روی پلیت‌های حاوی کمپیلوباکتر بلادآگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، سوسپانسیون در سرم فیزیولوژیک به تعداد ۳×۱۰^{۸} باکتری در میلی‌گرم 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 شد و عصاره‌های آبی، الکلی نعناع، شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن در غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به میزان ۱۰ میکرولیتر روی دیسک بلانک تلقیح شد. بعد از ۲ روز گرمخانه‌گذاری، پلیت‌ها از لحاظ وجود هاله عدم رشد بررسی شدند [۱۸].

یافته‌ها

از ۶۰ نمونه بیوپسی جمع‌آوری شده، ۴۰ نمونه کشت از لحاظ خواص بیوشیمیایی بررسی شد. همه نمونه‌های حاصل از لحاظ اکسیداز، کاتالاز و اوره آز مثبت بودند. همچنین نسبت به سفالوتین حساس و نسبت به نالید یکسیک اسید مقاوم بودند. بررسی باکتری در لام‌های مستقیم و پاتولوژی انجام شد در ۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

درصد لام‌های مستقیم و در ۹۰ درصد لام‌های پاتولوژی هلیکوباکترپیلوری مشاهده گردید.

دامنه MIC عصاره نعناع، شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن برای سویه‌های مختلف به ترتیب ۳۵۰-۲۰۰، ۳۵۰-۳۰۰، ۴۰۰، ۴۰۰-۳۵۰ و ۴۵۰-۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید.

در جدول‌های ۱ و ۲ نتایج حاصل از اثر عصاره‌های مختلف گیاهی ارائه شده است. عصاره آبی نعناع (دامنه قطر هاله عدم رشد ۱۲ تا ۱۷ میلی‌متر) نسبت به عصاره‌های الکلی این گیاه اثر ضدمیکروبی بیش‌تری را نشان داد. در میان عصاره‌های آبی و الکلی، بیش‌ترین اثر مربوط به نعناع بود که از نظر آماری با بقیه عصاره‌های این مطالعه اختلاف معناداری داشت. پس از آن به ترتیب شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن در رده‌های بعدی قرار داشتند. همچنین اثر عصاره آبی (شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن) بیش از اثر عصاره الکلی آنان بودند که این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود.

جدول ۱ اثر ضدباکتریایی عصاره آبی گیاهان مورد مطالعه بر روی ۸ سویه هلیکوباکترپیلوری جداشده از بیماران

عصاره‌های گیاهی	هاله‌های عدم رشد برحسب میلی‌لیتر درسویه‌های هشتگانه								میانگین
	۱	۲	۳	٤	۵	۶	۷	۸	شاهد
نعناع	۱۴	۱۵	۱۷	۱۶	۱۷	۱۴	۱۲	۱۶	بدون‌هاله	۱۴
شیرین‌بیان	۱۲	۱۰	۹	۷	۶	۱۰	۱۲	۱۱	بدون‌هاله	۹/۵
پونه	۹	۶	۸	۶	۶	۹	۸	۱۲	بدون‌هاله	۸
بابونه	۸	۶	۶	۶	۶	۹	۸	۸	بدون‌هاله	۷
آویشن	۶	۶	۶	۶	۶	۱۷	۸	۹	بدون‌هاله	۸

جدول ۲ اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاهان مورد مطالعه بر روی ۸ سویه هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران

عصاره‌های گیاهی	هاله‌های عدم رشد برحسب میلی‌لیتر درسویه‌های هشتگانه								میانگین
	۱	۲	۳	٤	۵	۶	۷	۸	شاهد
نعناع	۱۳	۱۲	۶	۶	۶	۱۲	۱۲	۱۲	بدون‌هاله	۱۰
شیرین‌بیان	۱۲	۱۲	۸	۶	۶	۹	۹	۹	بدون‌هاله	۹
پونه	۹	۱۰	۸	۷	۶	۷	۷	۸	بدون‌هاله	۷/۵
بابونه	۷	۹	۸	۶	۶	۶	۷	۷	بدون‌هاله	۶/۵
آویشن	۷	۹	۸	۶	۶	۸	۶	۸	بدون‌هاله	۷/۲

بحث

هلیکوباکترپیلوری یک عامل مهم در ایجاد کاستریت مزمن و زخم معده و اثنیعشر محسوب می‌شود. همچنین نقش آن را در ایجاد آدنوکارسینومای دیستال معده مهم ارزیابی می‌کنند. به‌دلیل افزایش شیوع عفونت در جوامع مختلف و با توجه به روند افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، یافتن منابع جدید دارویی برای مقابله با این عامل اهمیت زیادی دارد.

هیل و همکارانش اثر ضدهلیکوباکترپیلوری پودر سیر و روغن سیر را طی تحقیقات خود مشخص کردند [۱۹].

ساتو و همکارانش ترکیب اسید کالیک را از هلیله سیاه شناسایی کردند و نشان دادند که عصاره اتانولی

www.SID.ir

Archive of SID

هلیله سیاه دارای اثر ضدباکتریایی بوده، برای استافیلوکوکوس، مقاوم به متی‌سیلین مؤثر است [۱۳].

چن و همکارانش نیز اثر زنجبیل را بر روی اشریشیاکلی، سالمونلاتیفی موریوم، ویبریو پاراهمولیتیکوس، سودوموناس آئروجینوزا، پروتئوس ولگاریس، استافیلوکوکوس اورئوس، مایکوباکتریوم فلئی، استرپتوکوکوس فکالیس، باسیلوس سرئوس و میکروکوکوس لوتئوس بررسی کردند. نتایج بررسی آن‌ها مشخص کرد که زنجبیل فقط توانایی مهار میکروکوکوس لوتئوس را دارد [۱۵].

ساکاریا و همکارانش نیز فعالیت ضدباکتریایی روغن زردچوبه را بر روی باسیلوس سرئوس، باسیلوس کوآگولانس، باسیلوس سابتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا بررسی کردند. آن‌ها پس از جداسازی پیگمان زردرنگ زردچوبه از اولئورزین زردچوبه، مایع باقیمانده را که تقریباً حاوی ۴۰ درصد روغن بود، برای بررسی آثار ضدمیکروبی استفاده کردند. بررسی آن‌ها نشان داد که روغن حاصل دارای سه جزء است که دومین جزء بیش‌ترین تأثیر را داشت. بررسی‌های بیش‌تر وجود دو ترکیب کورلون و تورمرون را به همراه ترکیبات اکسیژن‌دار دیگر، در این اجزا مشخص کرد [۱۴].

ما نیز در تحقیقات دیگری اثر ضدهلیکوباکترپیلوری عصاره‌های الکلی و آبی و اتری زردچوبه را نشان دادیم [۲۰].

تاباک و همکارانش نشان دادند که عصاره آبی آویشن و عصاره الکلی دارچین دارای اثر ضدهلیکوباکترپیلوری هستند. آن‌ها همچنین مشخص کردند که اثر ضدهلیکوباکترپیلوری آویشن بیش‌تر است، زیرا عصاره این گیاه از فعالیت اوره آز و همچنین رشد باکتری جلوگیری می‌کند [۱۲].

احسانی‌فر فعالیت ضدمیکروبی تعدادی از گیاهان، از جمله نعناع کوهی و پونه را بر هلیکوباکترپیلوری بررسی کرد. او نشان داد که پونه تأثیر قابل ملاحظه‌ای در مهار رشد این میکروارگانیسم ندارد، ولی نعناع کوهی در مقایسه با پونه تأخیر چشمگیری در رشد هلیکوباکتر پیلوری ایجاد می‌کند [۲۱].

نتایج بررسی‌های ما نیز نشان داد که فعالیت ضدهلیکوباکترپیلوری مربوط به عصاره آبی نعناع بود که یک افزودنی مهم به موادغذایی، به‌ویژه در کشورهای آسیای جنوب شرقی محسوب می‌شود و بعد از آن عصاره‌های شیرین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن قرار داشتند. با توجه به یافته‌های این تحقیق، مطالعهٔ اثر این افزودنی‌ها در رژیم غذایی بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری حائز اهمیت است. همچنین ارزیابی دوام بقای هلیکوباکترپیلوری در مواد غذایی حاوی غلظت‌های مختلف نعناع بسیار مهم است.

منابع

1. Blaser MJ. Hypothese on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylor*. Induced inflammation. Gastrocntero 1992 Feb; 102(2): 720-7.
2. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastrodeodenal inflammation. J Infect. Dis 1990 Apr, 161(4): 626-33.
3. Sipponen P, Sippon P, Kosunen TV, Valle J, Riihela M, Seppala K. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. J Clin Pathol 1992 Apr; 45(4): 319-23.
4. Smoot DT, Hamieton FA, Summary of the National Institutes of Health Consensus Development Conference on *Helicobacter pylori* Gastrointestinal Diseases Today 1995; 4:1-10.
5. Latifi Navid S, Siavoshi F, Malekzadeh R., Sohrabi M, Mokhtari-Azad T, Safar-Alizadeh R, Massarrat S. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in distal esophagus and its etiologic role in esophageal injury. Gut 2002; 51:A68.
6. Reyes VE, Fan X, Gunasena H, Cheng Z, Espejo R, Crowe SE, Ernest PB. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. The J of Immunol 2000; 165:1918-24.
7. Krishnamurthy PM, Parlow JB, Zitzer NB, Vakil HI. *Helicobacter pylori* Containing only cytoplasmic urease is susceptible to acid. Immun 1998, 66:5060-5066.
۸. نوری‌زاده، عزت. بررسی آثار سایتوتوکسیک فعال‌ترین فاکتور ویرولانس هلیکوباکترپیلوری، چهارمین کنگره میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم‌پزشکی شاهد، ۱۳۸۰، تهران.
۹. نوری‌زاده، عزت. بررسی فعالیت فاکتورهای ویرولانس در هلیکوباکترپیلوری، مجله علوم پزشکی اسرار، شماره سوم، سال نهم، ۱۳۸۱.
10. Latifi Navid S, Siavoshi F, Mokhtari-Azad T, Malekzadeh R, Sohrabi M, Massarrt S. Neutralization of *Helicobacter pylori* cytotoxicity on vero cells by omeprazole micronized. Gut 2002; 51:A16.
11. Tombola F, Oregana F, Brutsche S, Zabo IS, Giudice GD, Rappuoli R, Montecucco C, Papini E, Zoratti M. Inhibition of the Vacuolating and aninon channel activities of the VacA toxin of *Helicobacter pylori.* FEBS Lett 1999; 460:221-5.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Tabak M, Armon R, Potasman I, Neeman I. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. J appl Bacteriol 1996; 80(6): 667-72.
13. Sato Y, Oketani H, Singyouchi k, Ohtesuro T, Kihara M, shibata H, Higuti I. Extraction and purification of effective antimicrobial constituents of Terminalia chebula Retz against methicillin-resistance *Staphylococcus* aureus. Biol Pharm Bull 1997; 20(4):401-4.
14. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Antibacterial activity of termuric oil: A by-product from curcumin manifacture. J agric Food Chem 1999; 47(10):4297-300.
15. Chen HC, Cheg MD, Chang TJ. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi 1985; 18(3): 190-5.
16. Goodwin CS, Armstrong JA. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* EurJ Clin-Microbiol. Infect Dis 1990; 9:1-13.
17. Mobley HLT, Cortesia MJ, Roseuthal LE, Jones BD. Characteization of urease from Campylobacter pylori J clin Microbiol 1998; 26:831-6.
18. Malekzadeh F, Ehsanifar H, Shahamat M, Levin M, Colwell RR. Antibacterial activity of black myrobalan against *Helicobacter pylori.* Intern J of Antimicrobiol agents 2001; 18: 85-8.
19. Hill DJ, O'gara EA, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori.* Appl Environ Microbiol 2000; 66(5):2269-73
۲۰. نوری‌زاده، عزت، شفقی‌اصل، لطیفی نوید، بررسی آثار ضدمیکروبی افزودنی‌های زردچوبه، زنجبیل، میخک و هل در مواد غذایی علیه سویه بومی هلیکوباکترپیلوری در شرایط invitro، هفتمین کنگره تغذیه ایران، شهریور ماه ۱۳۸۱، دانشگاه گیلان.
۲۱. احسانی‌فر، حسین. بررسی خواص ضدمیکروبی افزودنی‌های طبیعی در مواد غذایی و اسیدهای آلی علیه هلیکوباکتر پیلوری، پایان‌نامه تحصیلی، دانشگاه تهران، ۱۳۷۷.

www.SID.ir