مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۲۷/هفته سوم اردیبهشت ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۵

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه

اعظم علی اصغری[۱]، دکتر محمد ربانی[۲]، دکتر مریم خروشی[۳]، حمید امامی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پوسیدگی دندان از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی می‌باشد که تمامی اقشار، سنین و طبقات جامعه را درگیر می‌کند. درمان پوسیدگی‌های دندانی مخارج سنگینی را در همه‌ی کشورها تحمیل می‌کند. با توجه به این‌که گیاهان از منابع طبیعی فراوان و سالم می‌باشند، همیشه به عنوان یکی از منابع مهم دارویی مطرح بوده‌اند. این مطالعه، با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه، اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی مهم‌ترین استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان شامل استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوبرینوس، استرپتوکوکوس سالیواریوس و استرپتوکوکوس سنگوئیس به روش میکروتیتر پلیت برای تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (Minimum inhibitory concentration یا MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC یا Minimum bactericidal concentration) انجام گرفت. همچنین، تأثیر این عصاره روی اتصال این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه، تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میزان حداقل غلظت ممانعت از رشد برای استرپتوکوک‌های موتانس، سوبرینوس، سالیواریوس و سنگوئیس به ترتیب ۷/۵، ۷/۵، ۱۵/۰ و ۱۵/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها به ترتیب ۱۵/۰، ۷/۵، ۱۵/۰ و ۳۰/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین، نشان داده شد که رقت‌های مختلف این عصاره، باعث کاهش ۴۳ تا ۹۳ درصدی تشکیل بیوفیلم در این باکتری‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر ضد باکتریایی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر روی هر چهار سویه‌ی باکتری عامل پوسیدگی دندان، این عصاره می‌تواند در پیشگیری و کنترل پوسیدگی دندان مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پوسیدگی دندان، استرپتوکوک‌های دهانی، گل محمدی، اثر ضد میکروبی

ارجاع: علی اصغری اعظم، ربانی محمد، خروشی مریم، امامی حمید. **بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر استرپتوکوک‌های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۷): ۳۳۵-۳۲۶

مقدمه

پوسیدگی دندان از بیماری‌های رایج دهان و دندان و در ارتباط با میکروارگانیسم‌های موجود در سطح پلاک دندان است. یکی از راهکارهای اولیه برای پیشگیری از پوسیدگی دندان، حذف باکتری های عامل پوسیدگی از حفره ی دهان با استفاده از عوامل

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استاد، مرکز تحقیقات مواد دندانی و گروه دندان‌پزشکی ترمیمی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- مربی، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد ربانی
Email: m.rabbani@biol.ui.ac.i

ضد میکروبی است (۱). بیوفیلم‌ها اجتماعاتی از میکروارگانیسم‌ها هستند که به همدیگر و یا به سطوح متصل شده، در مواد پلیمری خارج سلولی (Extracellular polysaccharide یا EPS)که توسط خودشان تولید می شود، احاطه می شوند. ترکیبات یک بیوفیلم بالغ شامل ۲۵-۵ درصد سلول های باکتریایی و ۹۵-۷۵ درصد ماتریکس گلیکوکالیکس می‌باشد. بین انواع مختلف بیوفیلم، بیوفیلم دهانی منحصر به فرد است و برای اتصال، به گلیکوپروتئین های بزاق میزبان نیاز دارد (۲). مهار اتصال باکتری‌ها به بافت های دهانی می تواند رویکرد نویدبخشی در پیشگیری از کلونیزاسیون آن ها و پیشرفت بیماری باشد (۳).

از آن‌جایی که تحقیقات نشان داده‌اند عوامل ضد باکتریایی مانند ستیل پیریدینیوم کلراید (Cetylpyridinium chloride)، کلروهگزیدین، آمین فلوراید‌ها و محصولاتی از این قبیل که برای پیشگیری و درمان بیماری‌های دهان استفاده می شوند، دارای عوارضی همچون سمیت و تغییر رنگ دندان ها می‌باشند و الکل موجود در دهان‌شویه‌ها با ایجاد سرطان دهان ارتباط دارد، تحقیقات در مورد جایگزینی این ترکیبات با گیاهان و مواد فیتوشیمیایی طبیعی جدا شده از گیاهان که در طب سنتی استفاده می شود، به عنوان جایگزین خوبی برای مواد شیمیایی سنتتیک افزایش یافته است. محصولات طبیعی مشتق از گیاهان دارویی منبع بزرگی از ترکیبات فعال از نظر بیولوژیک هستند و پایه‌ای برای ارتقای مواد شیمیایی جدید در داروسازی محسوب می‌شوند. حدود ۵۰۰ هزار گونه‌ی گیاهی در سراسر جهان وجود دارد که تنها ۱ درصد مواد فیتوشیمیایی آن ها بررسی شده است، بنابراین پتانسیل زیادی برای کشف ترکیبات زیست فعال جدید وجود دارد (۴).

اعضای خانواده‌ی رزاسه (Rosaceae) و جنس رز به عنوان یکی از مشهورترین گیاهان به دلیل زیبایی و بوی خوش در نظر گرفته می شود. اگرچه بیش از ۱۰۰ گونه رز وجود دارد، اما گل محمدی (Rosa damascena Mill) به دلیل زیبایی، عطر خوب و استفاده در صنعت عطرسازی، به عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های این گیاه به شمار می‌رود (۵). گل محمدی گیاهی کوچک با گل های صورتی روشن و معطر است. مهم‌ترین محصولات به دست آمده از این گل، گلاب و روغن‌های اساسی است که از تقطیر گل‌های آن به دست می‌آید (۶). چندین ترکیب از گل ها، گلبرگ و نهنج این گیاه جداسازی شده است که شامل ترپن‌ها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین می باشد. این گیاه حاوی کربوکسیلیک اسید، Myrcene، ویتامین C، کامفرول (Kaempferol) و کوئرستین (Quercetin) است (۷).

با توجه به این‌که کشور ایران یکی از کشورهای تولید کننده‌ی اصلی گل محمدی در جهان می‌باشد و همچنین با توجه به شیوع پوسیدگی دندان در کشور، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی بیشتر تأثیر ضد میکروبی این گیاه علیه باکتری های عامل پوسیدگی دندان، به خصوص سنجش اثر عصاره‌ی آن بر تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک های دخیل در پوسیدگی دندان انجام شد. این مطالعه می تواند اولین پژوهش منتشر شده درباره این موضوع باشد و در صورت دستیابی به نتایج مطلوب، می توان از این گیاه برای کنترل پوسیدگی دندان به نحو مطلوب استفاده نمود.

روش‌ها

چهار سویه‌ی استاندارد استرپتوکوکوس موتانس (ATCC 35668)، استرپتوکوکوس سوبرینوس (ATCC 27607)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (PTCC 1448) و استرپتوکوکوس سنگوئیس (PTCC 1449) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه خریداری شد. برای تأیید این سویه‌ها، چند آزمایش تأییدی مانند رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط Mitis salivarius agar، کاتالاز، همولیز، تخمیر قند و... انجام گرفت.

برای تحقیق حاضر، گلبرگ‌های خشک شده‌ی گل محمدی از شهرستان قمصر کاشان واقع در استان اصفهان تهیه شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (Maceration) انجام گرفت. بدین صورت که ۱۰ گرم از گل محمدی توسط ترازوی دیجیتال توزین و پودر شد و درون ارلن قرار گرفت و روی هر نمونه، حلال اتانول ۵۰ درصد ریخته شد تا پودر به طور کامل پوشیده شود. بعد از پوشاندن سر ارلن‌ها با ورقه‌ی آلومینیومی، به مدت ۷۲-۴۸ ساعت و سرعت ۹۰ دور دقیقه روی دستگاه لرزاننده قرار گرفت. پس از همگن شدن حلال و گیاه، محلول توسط کاغذ صافی صاف شد. سپس عصاره در دستگاه روتاری (Rotary) (شرکت Heidolph آلمان) قرار داده شد تا حلال از عصاره جدا گردد. عصاره ی خالص به دست آمده جهت انجام آزمایش‌های میکروبی در ویال های استریل درون یخچال نگهداری شد (۸).

جهت تعیین وزن خشک عصاره، ابتدا وزن یک لوله‌ی آزمایش تعیین گردید و پس از آن ۱ میلی‌لیتر از عصاره ی الکلی گل محمدی در آن ریخته شد. سپس محتوای لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله ی آزمایش دوباره تعیین شد. اختلاف وزن لوله، معادل با وزن ۱ میلی‌لیتر از عصاره است. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره محاسبه شد (۹).

تعیین (Minimum inhibitor concentration) MIC و (Minimum bactericidal concentration) MBC: از کشت تازه‌ی استرپتوکوک‌ها در محیط Broth media کدورتی معادل ۰/۵ McFarland تهیه و به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شد تا کدورتی معادل ۱×۱۰^{۶} به دست آید. از عصاره‌ی گل محمدی استریل شده با فیلتر سر سرنگی قطر منفذ ۰/۴۵، رقت‌های مختلف (Serial dilutions) در محیط براث تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از این رقت‌ها که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری بود، در پلیت ۹۶ خانه‌ای پلی‌استایرن ریخته شد (۱). چاهک‌هایی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط براث به عنوان کنترل منفی، چاهک‌هایی حاوی محیط کشت و باکتری به عنوان کنترل مثبت و چاهک‌هایی نیز به عنوان شاهد کدورت، حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در نظر گرفته شد. برای هر باکتری سه بار تکرار انجام گرفت. سپس سطح پلیت‌ها پوشیده شد و در انکوباتور دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و درون جار بی‌هوازی انکوبه گردید. در نهایت، کدورت در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط Elisa reader (Awareness Technilogy Inc, Stat Fax 2100) خوانده شد. برای تعیین MBC قبل از خواندن جذب در Elisa reader از چاهک‌هایی که رشد در آن‌ها مشاهده نمی شد، یک لوپ برداشته و در محیط دارای

آگار کشت داده شد و آخرین رقتی که قادر به رشد در این محیط نبود، به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

بررسی تأثیر عصاره‌ی گل محمدی روی بیوفیلم باکتری‌های مورد استفاده: به منظور بررسی تأثیر عصاره‌ی گل محمدی بر روی استرپتوکوک های مورد بررسی، از روش استفاده شده توسط Kai-Larsen و همکاران (۱۰) و با برخی تغییرات استفاده شد. چند کلنی تک از استرپتوکوک های ۱۸ تا ۲۴ ساعته در سرم فیزیولوژی حل شد و در سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. جذب مایع رویی در طول موج ۶۳۰ نانومتر بین ۰/۱۲ تا ۰/۱۲۵ تنظیم و این سوسپانسیون به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق گردید. سپس به هر ۱ میلی لیتر از این سوسپانسیون باکتری، ۱۰ میکرولیتر عصاره ی گل محمدی تهیه شده در رقت‌های مختلف (Serial dilution) و به یکی از لوله‌ها ۱۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به عنوان کنترل مثبت اضافه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای پلی‌استایرن ریخته شد. برای هر رقت از ماده‌ی ضد میکروبی، سه بار تکرار انجام گرفت و در نهایت در جار بی‌هوازی و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد.

چاهک ها بعد از ۲۴ ساعت با ۲۰۰ میکرولیتر PBS (Phosphate buffered saline) و یا سرم فیزیولوژی برای خارج شدن سلول‌های غیر متصل، شستشو داده شد و به مدت ۵ دقیقه با کریستال ویوله ۲ درصد رنگ‌آمیزی گردید. بعد از شستشو با آب شهری، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳ درصد، اضافه و پس از گذشت ۱۵ دقیقه، جذب در طول موج ۴۹۲ نانومتر در دستگاه Elisa reader خوانده شد. درصد حذف بیوفیلم در مقایسه با گروه شاهد و طبق فرمول زیر محاسبه شد که در آن C میانگین جذب نوری چاهک‌های کنترل، B میانگین جذب نوری چاهک‌های شاهد و T میانگین جذب نوری چاهک‌های تیمار شده می‌باشد.

درصد کاهش اتصال = [(C-B)-(T-B)] / (C-B) × ۱۰۰

داده‌ها به وسیله‌ی آزمون‌های One Way ANOVA (One way analysis of variance)، Dunnett و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارها در نرم‌افزار Graphpad Prism 5 رسم گردید. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

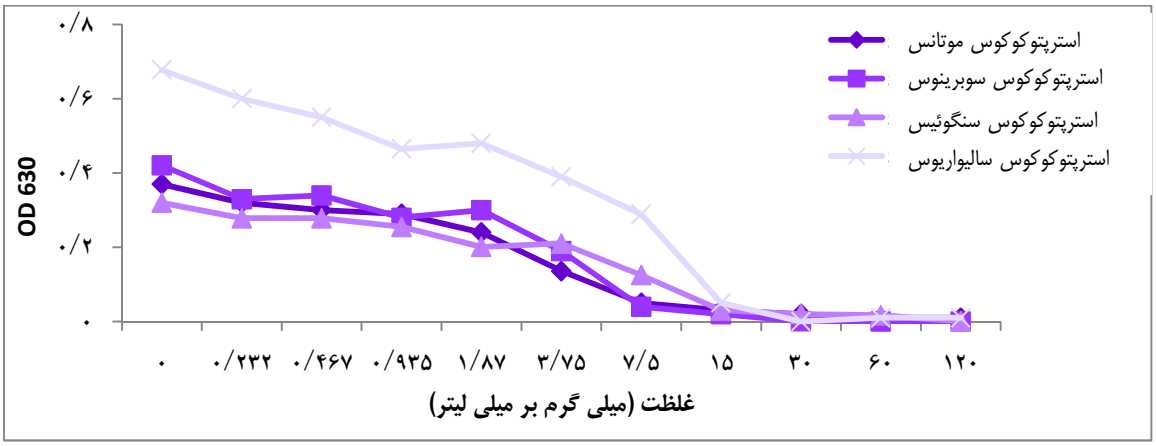
یافته‌ها

تأثیر غلظت های مختلف عصاره ی الکلی گل محمدی بر میزان رشد چهار سویه ی استرپتوکوک رایج در پوسیدگی دندان ارزیابی شد و میزان MIC و MBC آن ها تعیین گردید. همان طور که در شکل ۱ مشاهده می شود، غلظت های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی باعث کاهش معنی‌دار رشد سویه‌های مورد آزمایش شد. میزان MIC برای استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سوبرینوس ۷/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر و برای استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس ۱۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. این میزان در دو باکتری استرپتوکوکوس سوبرینوس و استرپتوکوکوس موتانس به طور معنی‌داری از دو باکتری دیگر کمتر بود ($P < ۰/۰۵۰$). مقدار MBC برای این عصاره در استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سالیواریوس ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در استرپتوکوکوس سوبرینوس و استرپتوکوکوس

سنگوئیس به ترتیب ۷/۵ و ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. کاهش معنی‌داری در میزان MBC سویه‌ی استرپتوکوکوس سوبرینوس نسبت به سه باکتری دیگر مشاهده شد ($P < ۰/۰۵۰$).

تأثیر رقت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی برتشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد بررسی: سنجش تأثیر عصاره‌ی گل محمدی بر تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک‌های مورد آزمایش حاکی از کاهش معنی‌دار تشکیل بیوفیلم نسبت به گروه شاهد (فاقد عصاره) در رقت‌های مختلف این عصاره بود ($P < ۰/۰۵۰$). عصاره‌ی گل محمدی در غلظت ۷۰ میلی گرم بر میلی لیتر باعث کاهش ۹۳/۹۳، ۷۴/۹۰، ۸۴/۵۹ و ۷۹/۰۹ درصدی اتصال به ترتیب در استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوبرینوس، استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس شد. با کاهش غلظت تا ۸/۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر، درصد کاهش اتصال به طور معنی داری کاهش یافت ($P < ۰/۰۵۰$) (جدول ۱).

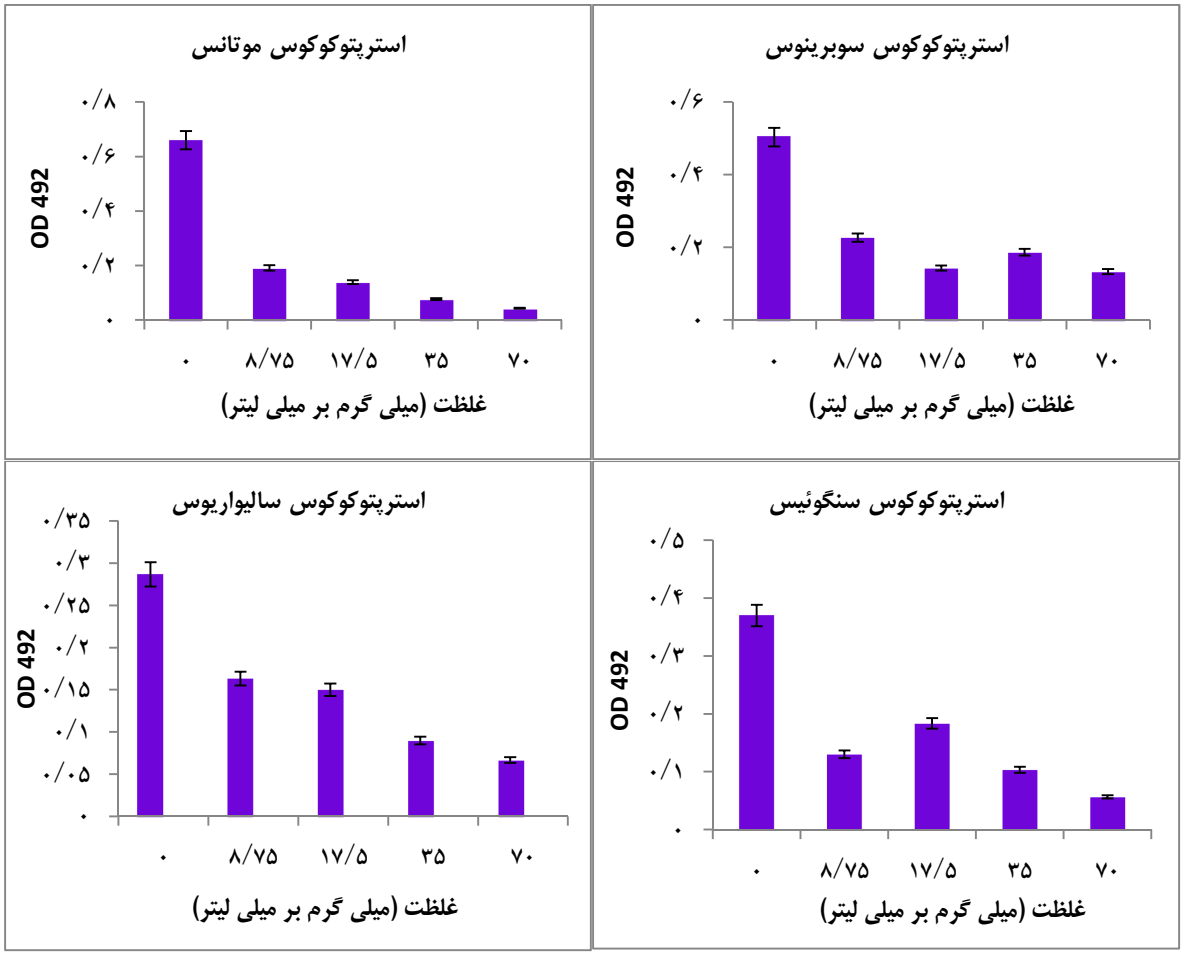
درصد کاهش اتصال استرپتوکوکوس موتانس در غلظت های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی به طور معنی‌داری نسبت به استرپتوکوکوس سوبرینوس، استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس بیشتر بود. همچنین، درصد کاهش اتصال استرپتوکوکوس سوبرینوس نسبت به استرپتوکوکوس سنگوئیس و استرپتوکوکوس سالیواریوس افزایش معنی داری داشت. استرپتوکوکوس سنگوئیس نسبت به استرپتوکوکوس سالیواریوس درصد کاهش اتصال بیشتری را نشان داد ($P < ۰/۰۵۰$) (شکل ۲).



شکل ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر رشد استرپتوکوک‌های دهانی

جدول ۱. میزان کاهش اتصال استرپتوکوک‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی

غلظت‌های مختلف (میلی گرم بر میلی‌لیتر)	کاهش اتصال (درصد)			
	استرپتوکوکوس موتانس	استرپتوکوکوس سوبرینوس	استرپوکوکوس سنگوئیس	استرپتوکوکوس سالیواریوس
۷۰	۹۳/۹۳	۷۴/۹۰	۸۴/۵۹	۷۹/۰۹
۳۵	۸۹/۳۹	۶۴/۷۱	۷۲/۹۷	۶۸/۶۴
۱۷/۵	۷۸/۹۳	۷۳/۰۱	۵۰/۵۴	۴۷/۷۳
۸/۷۵	۷۱/۰۶	۵۷/۱۶	۶۴/۸۶	۴۳/۲۰



شکل ۲. روند کاهش تشکیل بیوفیلم در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی

بحث

پوسیدگی دندان یک بیماری میکروبی غیر قابل برگشت بافت های کلسیفیه دندان است که منجر به دمینرالیزاسیون بخش غیر آلی و تخریب مواد آلی دندان و در نهایت تشکیل حفره می گردد. این بیماری یک فرایند پیچیده و دینامیک دارد که عوامل زیادی روی آن تأثیر می گذارد و باعث پیشرفت بیماری می‌شود (۱۱). باکتری‌های اولیه‌ی مقاوم به اسید مرتبط با پلاک دندانی شامل استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس آنژینوسوس، استرپتوکوکوس گوردونی، استرپتوکوکوس اورالیس، استرپتوکوکوس میتیس، استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس سنگوئیس، استرپتوکوکوس اینترمدیوس و استرپتوکوکوس کانستلاتوس می باشد (۱۲). عفونت هم‌زمان استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سوبرینوس موجب افزایش شیوع پوسیدگی دندان می‌شود (۱۳).

با وجود این‌که مواد ضد میکروبی زیادی مانند آمپی‌سیلین، کلرهگزیدین، مترونیدازول و مواد ضد عفونی کننده‌ی آمونیوم چهار ظرفیتی و فنولی در پیشگیری از پوسیدگی دندان بسیار مؤثر هستند، اما در اثر مصرف این مواد، اثرات جانبی مختلفی مانند تغییر رنگ دندان‌ها، تغییر فلور دهان و روده و اسهال گزارش شده است (۱۴). بنابراین، در عرصه‌ی

دندان‌پزشکی نیز تمایل به استفاده از محصولات مشتق از گیاهان افزایش یافته است. شواهد نشان می دهد، جمعیت هایی که به طور منظم غذاها یا نوشیدنی های محتوی مواد فیتوشیمیایی در رژیم خود دارند، دارای سلامت دهانی بهتری هستند (۱۵).

گل محمدی در طب سنتی برای درمان درد سینه و شکم، مشکلات گوارشی، افسردگی، استرس‌های عصبی، مشکلات پوستی و سردرد توصیه شده است (۵). رخشنده و همکاران با بررسی اثرات ضد درد و ضد التهابی گل محمدی در موش و رت نشان دادند که عصاره ی الکلی، زمان تحمل درد را به میزان معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد که قابل مقایسه با مرفین (۹ میلی گرم بر کیلوگرم) می باشد ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، عصاره ی الکلی اثر ضد التهابی قابل توجهی را (در حد دیکلوفناک سدیم) نشان داده است ($P < ۰/۰۰۱$) (۱۶).

حسین‌پور و همکاران در مطالعه ی خود به ارزیابی اثر بالینی دهان شویه ی گل محمدی در درمان آفت عود کننده پرداختند و به این نتیجه رسیدندکه این دهان شویه بیشتر از داروهای مسکن در درمان آفت دهان عود کننده مؤثر است (۱۷). شکوهی‌نژاد و همکاران با بررسی تأثیر عصاره ی الکلی ۲ درصد گل محمدی در مقایسه با ۵/۲۵ درصد سدیم هیپوکلریت (NaOCl) و ۲ درصد کلرهگزیدین روی باکتری های عامل اندودونتیت شامل انتروکوکوس فکالیس، کاندیدا آلبیکنس، پورفیرومونـاس جینجیوالیس، اکتینومایسس نیوزلندی و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم نشان دادند که هر سه‌ی این مواد اثر ضد میکروبی علیه میکروارگانیسم‌های ذکر شده دارند و بعد از ۱ دقیقه قادر به کشتن این میکروارگانیسم‌ها هستند (۱۸).

Ozkan و همکاران با بررسی تأثیر عصاره‌ی الکلی گل محمدی بر ۱۵ نوع باکتری (باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس، مایکوباکتریوم سمگماتیس، اشرشیاکلی، اشرشیاکلی O157:H7، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس ولگاریس، یرسینیا انتروکولیتیکا، انتروباکتر ائروژنز، سودوموناس آئروژنوزا، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا انتریتیدیس، سودوموناس فلورسنس، آئروموناس هیدروفیلا و استافیلوکوکوس اورئوس) نشان دادند که عصاره ی این گیاه به جز اشرشیاکلی سایر عوامل بیماری‌زای فوق را مهار می‌کند (۱۹). تحقیق Shohayeb و همکاران به بررسی تأثیر عصاره های مختلف گل محمدی بر روی سه قارچ پنی‌سیلیوم نوتاتوم، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس و همچنین، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، استرپتوکوکوس پیوژنز، آسینتوباکتر بومانی، کلبسیلا پنومونیه و مایکوباکتریوم فلئی پرداخت. نتایج حاکی از آن بود که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساس تر هستند و میزان MIC و MBC آن ها به ترتیب ۲-۰/۱۲۵ و ۲-۰/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر بود (۵).

Tsai و همکاران در مطالعه‌ی خود با بررسی تأثیر ضد میکروبی عصاره ی متانولی ۱۲ گیاه مختلف بر روی سویه‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سوبرینوس و استرپتوکوکوس سنگوئیس، میزان MIC عصاره‌ی متانولی گل محمدی را در مورد هر سه سویه بیشتر از ۸ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند (۱). در تحقیق حاضر اثر ضد میکروبی عصاره‌ی گل محمدی بر چهار سویه‌ی استرپتوکوک عامل پوسیدگی دندان به روش

Broth Microdilution بررسی گردید و نتایج نشان داد که عصاره‌ی این گیاه دارای اثر بازدارندگی رشد (در حداقل غلظت ۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداکثر غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی هر چهار سویه‌ی باکتری مورد مطالعه می‌باشد. این یافته‌ها با پژوهش Tsai و همکاران (۱) مطابقت دارد و اولین گزارش در مورد سویه‌ی استرپتوکوکوس سالیواریوس است. همچنین مشخص شد، عصاره‌ی گل محمدی تأثیر باکتری سیدال بر استرپتوکوک های عامل پوسیدگی دندان دارد که مطالعه‌ی مشابهی در این مورد یافت نشد.

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل محمدی باعث کاهش تشکیل بیوفیلم برخی سویه‌های باکتری می‌شود. طبق جستجوی انجام شده، گزارشی در مورد تأثیر گل محمدی بر روی قدرت اتصال استرپتوکوک های عامل پوسیدگی یافت نشد. با توجه به تأثیر مثبت این گیاه بر روی مهم‌ترین باکتری های عامل پوسیدگی دندان، این ترکیب می تواند در فرمولاسیون دارویی مختلف برای پیشگیری وکنترل پوسیدگی دندان مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در گروه زیست شناسی دانشکده‌ی علوم و با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اصفهان انجام گردید. بدین‌وسیله از این معاونت تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Tsai TH, Tsai TH, Chien YC, Lee CW, Tsai PJ. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. Food Chem 2008; 110(4): 859-64.
2. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence 2011; 2(5): 435-44.
3. Sano H, Shibasaki K, Matsukubo T, Takaesu Y. Effect of chitosan rinsing on reduction of dental plaque formation. Bull Tokyo Dent Coll 2003; 44(1): 9-16.
4. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. Evid Based Complement Alternat Med 2011; 2011: 680354.
5. Shohayeb M, Abdel-Hameed ES, Bazaid ShA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of Rosa damascena MILL.essential oil, different extracts of rose petals. Global Journal of Pharmacology 2014; 8(1): 1-7.
6. Jafari M, Zarban A, Pham S, Wang T. Rosa damascena decreased mortality in adult Drosophila. J Med Food 2008; 11(1): 9-13.
7. Boskabady MH, Shafei MN, Saberi Z, Amini S. Pharmacological effects of Rosa damascena. Iran J Basic Med Sci 2011; 14(4): 295-307.
8. Kermanshah H, Hashemi Kamangar S, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M, et al. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of Salvia officinalis and Pimpinella anisum against cariogenic bacteria. J Dent Med 2009; 22(2): 149-54. [In Persian].
9. Sattari M, Shahbazi N, Najar Peeryeh Sh. An assessment of antibacterial effect of alcoholic and aquatic extracts of Eucalyptus leaves on Pseudomonas aeruginosa. Modares J Med Sci Pathol 2006; 8(1): 19-23. [In Persian].
10. Kai-Larsen Y, Luthje P, Chromek M, Peters V, Wang X, Holm A, et al. Uropathogenic Escherichia coli modulates immune responses and its curli fimbriae interact with the antimicrobial peptide LL-37. PLoS Pathog 2010; 6(7): e1001010.
11. Gawri Sh, Shukla P, Chandrakar A. A survey of micro flora present in dental caries and it's relation to enviornmental factors. Recent Research in Science and Technology 2012; 4(3): 9-12.

12. Islam B, Khan SN, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. Med Sci Monit 2007; 13(11): RA196-RA203.
13. Cura F, Palmieri A, Girardi A, Martinelli M, Scapoli L, Carinci F. Lab-Test((R)) 4: Dental caries and bacteriological analysis. Dent Res J (Isfahan) 2012; 9(Suppl 2): S139-S141.
14. Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Souza MG, Silva ML, Filho AA, et al. Antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. Chem Biodivers 2010; 7(7): 1835-40.
15. Gupta DA, Bhaskar DJ, Gupta RK, Karim B, Jain A, Dalai DR. Green tea: A review on its natural anti-oxidant therapy and cariostatic benefits. Issues Biol Sci Pharm Res 2014; 2(1): 8-12.
16. Rakhshandeh H, Doulati K, Hosseini M, Ismailzadeh, M. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effects of Rosa demascena in mice and rats. Iran J Basic Med Sci 2004; 7(3): 151-6. [In Persian].
17. Hoseinpour H, Peel SA, Rakhshandeh H, Forouzanfar A, Taheri M, Rajabi O, et al. Evaluation of Rosa damascena mouthwash in the treatment of recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. Quintessence Int 2011; 42(6): 483-91.
18. Shokouhinejad N, Emaneini M, Aligholi M, Jabalameli F. Antimicrobial effect of Rosa damascena extract on selected endodontic pathogens. J Calif Dent Assoc 2010; 38(2): 123-6.
19. Ozkan G, Sagdic O, Baydar NG, Baydar H. Note: antioxidant and antibacterial activities of Rosa damascena flower extracts. Food Science and Technology International 2004; 10(4): 277-81.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 23.12.2014
Vol. 33, No. 327, 3rd Week, May 2015
Accepted: 16.03.2015

In-Vitro Effect of Alcoholic Extract of Rosa Damascene Extract on Cariogenic Streptococci

Azam Aliasghari[1], Mohammad Rabbani PhD[2], Maryam Khoroushi DDS[3], Hamid Emami MSc[4]

Original Article

Abstract

Background: Tooth decay is the most common infectious disease that involves all groups, ages and classes of the society. Treatment of dental caries imposes high costs in all countries. Since the plants are safe and abundant natural resources, they have always been one of the major sources of pharmaceuticals. This study aimed to evaluate the antibacterial effect of alcoholic extract of Damask rose on cariogenic streptococci.

Methods: In this study, the antimicrobial effect of ethanol extract of Rosa damascena on the cariogenic streptococci, including Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus salivarius and Streptococcus sanguis was assessed via microtitre plate method for minimum inhibitor concentration (MIC) and minimum bactricidal concentration (MBC). The effect of the extract on attachment of these bacteria was surveyed. Results were analyzed using one-way analysis of variances.

Findings: The minimum inhibitor concentrations for the Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus salivarius and Streptococcus sanguis were 7.5, 7.5, 15.0, and 15.0 mg/ml, respectively; and minimum bactricidal concentration for these bacteria were 15.0, 7.5, 15.0, 30.0 mg/ml, respectively. In addition, it was shown that different dilutions of Rosa damascena extract decreased the biofilm formation in these bacteria between 43 to 93 percent.

Conclusion: Due to the antibacterial effect of Rosa damascena on all four strains of cariogenic bacteria, the extract can be used for prevention and control of dental caries.

Keywords: Dental caries, Oral streptococci, Rosa damascena, Antimicrobial effect

Citation: Aliasghari A, Rabbani M, Khoroushi M, Emami H. **In-Vitro Effect of Alcoholic Extract of Rosa Damascene Extract on Cariogenic Streptococci.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(327): 326-35

1- MSc Student, Department of Biology, School of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Biology, School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
3- Professor, Dental Material Research Center AND Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Lecture, Department of Biology, School of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Rabbani PhD, Email: m.rabbani@biol.ui.ac.ir