

## مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۲۲، اردیبهشت ۱۴۰۲، ۱۶۰-۱۴۷

# اثرات ضد باکتری عصاره‌های الکلی گیاهان میخک، رزماری، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی بر تعدادی از باکتری‌های حفره دهان: یک مطالعه آزمایشگاهی

نسرين بهمنی<sup>۱</sup>

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۰۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۲/۰۲/۱۹ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** یکی از علتهای اصلی پوسیدگی دندان و بیماری‌های پریدنتال باکتری‌های موجود در حفره دهان می‌باشد. هدف این تحقیق تعیین فعالیت ضد باکتری چند عصاره گیاهی بر تعدادی از باکتری‌های حفره دهان بود.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه آزمایشگاهی در دانشگاه علوم پزشکی کردستان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. عصاره الکلی گیاهان میخک، رزماری، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی با روش ماسراسیون تهیه شد و خاصیت ضد باکتری عصاره‌ها بر روی ۵ سویه از باکتری‌های حفره دهان با دو روش چاهک‌گذاری و تعیین حداقل غلظت مهاری انجام شد. میانگین قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد در میان عصاره‌ها بیشترین اثر ضد باکتری مربوط به عصاره میخک بر استرپتوکوک موتانس و سالیواریوس به ترتیب با میانگین و انحراف معیار  $20/0 \pm 19/06$  میلی‌متر بود. بر اساس مقایسه میانگین‌ها تأثیر عصاره‌ها و جنتامایسین بر قطر هاله عدم رشد دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ ) که این تفاوت در عصاره میخک بر استرپتوکوک موتانس مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). حداقل غلظت بازدارندگی از رشد، مربوط به عصاره میخک و رزماری به ترتیب علیه استرپتوکوک موتانس و استافیلوکوک‌اوریوس با غلظت  $6/25$  میلی گرم بر میلی لیتر بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره‌های این مطالعه به ویژه عصاره میخک می‌توانند به عنوان مواد ضد باکتری مؤثر در درمان عفونت‌های باکتریایی حفره دهان مؤثر باشند.

**واژه‌های کلیدی:** ضد باکتری، حفره دهان، گیاهان دارویی، استافیلوکوک‌ها، استرپتوکوک‌ها

۱- (نویسنده مسئول) استادیار مرکز تحقیقات زئونوزوانستیتو تحقیقاتی توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تلفن: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۶۵۹، دورنگار: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۶۴۵، پست الکترونیکی: nasrinbahmani3@gmail.com

## مقدمه

استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان بیماری‌ها یک روش قدیمی است و تا قبل از قرن ۱۹ میلادی استفاده از منابع طبیعی و عمدتاً گیاهان از راه‌های اصلی درمان بیماری‌ها بوده است. گسترش شاخه‌های مختلف علوم مانند داروهای فیتوشیمی و فارماکولوژی، استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروهای ضد باکتری را فراهم نمود، اما به دلیل استفاده بی‌رویه و نادرست، دانشمندان مجدداً مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیمارهای عفونی شده‌اند [۱-۲].

علاقه به مطالعه گیاهان دارویی به عنوان بخشی از تحقیقات فارماکولوژی در سراسر جهان در حال افزایش است. در محدوده درمان‌های دندان‌پزشکی و به‌ویژه علم پرپودنتولوژی نیز مواد ضد میکروبی گیاهی چه به صورت خوراکی و چه به شکل موضعی (دهان شویه) در جهت کاهش فلور میکروبی و کنترل پلاک باکتری در دهان استفاده فراوان دارد. پلاک دندانی عامل اتیولوژیک اولیه و اصلی در ایجاد و پیشرفت پوسیدگی دندان می‌باشد و امروزه به عنوان یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در کودکان و بزرگسالان به شمار می‌رود و موجب حل شدن و تخریب بافت‌های آهکی دندان می‌شود که در صورت عدم درمان ممکن است منجر به کشیده شدن دندان مبتلا گردد که این می‌تواند بر روی زندگی بیمار اثر منفی داشته باشد [۳-۴].

باکتری‌ها به عنوان یک عامل اتیولوژیک اصلی در شروع بیماری‌های لثه و پوسیدگی دندان‌ها مطرح می‌باشند. از مهم‌ترین باکتری‌های مؤثر بر فرآیند پوسیدگی می‌توان به

استرپتوکوکوس موتانس اشاره کرد که با تشکیل یک لایه بیوفیلم بر روی سطح دندان و تشکیل پلاک میکروبی آغازگر فرآیند پوسیدگی دندان است و در نهایت باعث تحمیل هزینه‌های درمانی و یا از دست رفتن دندان‌ها می‌شود. استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و انتروکوک فکالیس هم از گروه‌های بسیار مهم ایجاد کننده عفونت‌ها از جمله عفونت‌های دهانی به شمار می‌روند. سویه‌های مقاوم به درمان این باکتری‌ها تهدید جدی در عفونت‌ها می‌باشند که روند درمان را با مشکل مواجه می‌سازند [۵].

از آن‌جا که دهان حاوی گونه‌های متعددی از باکتری‌ها می‌باشد و استفاده از داروهای شیمیایی دارای عوارض گوناگون از جمله تغییر در فلور طبیعی دهان می‌باشد، لذا یافتن ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان که با مکانیسم‌هایی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها توانایی حذف و یا به حداقل رساندن این گونه‌های میکربی را دارند از هر نظر حائز اهمیت می‌باشد [۶] و این موضوع می‌تواند استراتژی جدیدی را برای کنترل پیشرفت بیماری‌های مرتبط با پلاک (بیماری‌های پرپودنتال و پوسیدگی دندان) به وسیله منابع طبیعی با اثرات مشابه با داروهای شیمیایی با عوارض کمتر فراهم کند [۳].

گیاه میخک با نام علمی *Eugenia caryophyllata* یک گیاه بومی جزایر اسپایس در اندونزی، چین و هند می‌باشد که حاوی ماده اوزنول و B-caryophyllene می‌باشد که دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد التهابی است و در درمان زخم‌های دهان و لثه کاربرد دارد [۷]. گیاه رزماری، رومارن یا اکلیل کوهی نیز گیاهی چند ساله و معطر با نام علمی

این مطالعه آزمایشگاهی توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان با کد اخلاق IR.MUK.REC.1397/5033 در سال ۱۴۰۰ به تصویب رسید. سویه‌های باکتری‌های استفاده شده در این تحقیق شامل استرپتوکوکوس سالیواریس با PTCC= ۱۴۴۸ (Persian type culture collection) استرپتوکوکوس موتانس با ۱۶۸۳ = PTCC، انتروکوک فکالیس با ۱۷۷۸ = PTCC، استافیلوکوکوس ساورئوس با PTCC = ۱۴۳۱ و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با PTCC = ۱۴۳۶ بود.

گیاهان استفاده شده در این تحقیق از بازار شهرستان سنندج در استان کردستان خریداری گردید و با توجه به مشخصات ظاهری هر گیاه و تأیید آن توسط محققین مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان سنندج، با روش ماسراسیون عصاره‌های آن‌ها استخراج شد. برای تهیه عصاره‌های میخک (گل)، رزماری (اندام‌های هوایی)، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی (برگ) از هر گیاه به میزان صد گرم را آسیاب (Spain, Moulinex) نموده و در اتانول ۷۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر (Germany, Heidolph unimax) در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس محلول را صاف کرده و حلال (اتانول) را به کمک دستگاه تبخیر در خلاء (Heidolph WD 2000, Germany) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد از محلول جدا کرده و عصاره باقی‌مانده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید. عصاره‌ها در شیشه‌های دربسته اتوکلاو (Iran, Famco) و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۵]. برای تهیه محلول مورد استفاده در انجام آزمایش

*Rosmarinus officinalis* می‌باشد [۸]. این گیاه دارای ترکیبات فراوانی شامل *B.caryophyllene*, *myrcene* و *B.camphor* می‌باشد که خاصیت ضد باکتری و ضد التهابی دارند [۹]. چای ترش با نام علمی *Sabdariffa Hibiscus* که با نام *Roselle* هم شناخته می‌شود [۱۰]، در ابتدا در غرب آفریقا یافت شد و امروزه در سطح وسیعی در آسیا، آمریکا، استرالیا و در بسیاری از کشورهای جهان کشت داده می‌شود. در ایران با نام چای قرمز یا چای ترش معروف است و نقش مهمی در پیش‌گیری از بیماری‌های مزمن و تحلیل برنده که با فشار اکسایشی مرتبط است، دارد [۱۱]. گیاه پونه کوهی با نام علمی *Pulegium mentha* در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می‌کند. خاصیت ضد باکتریایی آن به دلیل مقادیر بالای پولگون، ایزومنتون، منتون و پی‌پریتون می‌باشد [۱۲]. چای سبز با نام علمی *Camellia sinensis* متعلق به تیره *Theaceae*، از مهم‌ترین ترکیبات موجود در این گیاه می‌توان به فلاونوئیدها به ویژه کاتچین‌ها اشاره کرد که اثرات مفید آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارد [۱۳-۱۴].

از آن جایی که یکی از مشکلات اصلی در رابطه با میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا، افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها است [۶]، لذا هدف از انجام این تحقیق تعیین تأثیر ضد میکروبی عصاره گیاهان میخک، رزماری، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی با غلظت‌های مختلف بر روی تعدادی از باکتری‌های دهانی است.

## مواد و روش‌ها

Microdilution Broth: این آزمایش برای تعیین غلظت مهار کنندگی از رشد باکتری یا MIC (Minimum inhibitory concentration) انجام گرفت. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون  $5 \times 10^5$  cfu/ml باکتری به چاهک‌های استریل در پلیت‌های ۹۶ خانه الیزا با غلظت‌های مختلف عصاره از ۰/۱ تا ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد. OD (Optical Density) در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد و سپس نمونه‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و دوباره OD قرائت شد. در نهایت غلظتی از عصاره که کاهش OD در آن مشاهده شد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. کنترل مثبت شامل سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت مولر هینتون برات و کنترل منفی شامل سوسپانسیون میکروبی و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بود [۱۶].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نتایج به صورت "خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین" گزارش شد. به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون ناپارامتریک Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد و تخطی از این پیش فرض مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). همگنی واریانس گروه‌ها نیز با آزمون Levene ارزیابی و تساوی واریانس گروه‌ها پذیرفته شد ( $P > 0/05$ ). سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

حساسیت ضد میکروبی، هر یک از عصاره‌ها را با پروپیلن گلیکول رقیق کرده و غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ماده خشک تهیه گردید [۱۶]. اثرات ضدباکتریایی پنج عصاره گیاهی میخک، رزماری، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی با روش چاهک‌گذاری [۱۵] و Microdilution broth [۱۶] بررسی گردید.

روش چاهک‌گذاری: در این روش طبق پروتکل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) سوسپانسیون استاندارد نیم مک فارلند با غلظت  $10^8 \times 1/5$  cfu/ml (واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) از سویه باکتری‌های موجود تهیه کرده و سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی سطح پلیت‌های محیط مولر هینتون آگار (Himedia Co, India) به صورت یکنواخت کشت داده شدند و نهایتاً با پی‌پت پاستور استریل بر روی سطح آگار چاهک‌ها ایجاد شد. سپس به میزان ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های ۳/۱، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم از عصاره‌ها نیز به وسیله سمپلر درون چاهک‌ها تزریق گردید و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۲۴ ساعت انکوبه (SLI 220, Japan) گردید. دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت و دیسک بلانک آغشته به حلال به عنوان کنترل منفی در این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. برای حصول اطمینان، این آزمایش برای هرسویه باکتری سه بار تکرار شد. میانگین قطر هاله عدم رشد توسط کولیس (IRAN, P150) به میلی‌متر ارزیابی و در سه بار تکرار در اطراف چاهک‌ها ثبت گردید [۱۵].

## نتایج

بر اساس نتایج آزمون انتشار در چاهک، عصاره گیاهان نام برده در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر را بر باکتری‌های مورد مطالعه داشتند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، عصاره گیاه میخک بیشترین اثربخشی را بر باکتری‌های مورد مطالعه داشته است و حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره میخک در بین استرپتوکوک‌ها مربوط به استرپتوکوک موتانس ( $20/00 \pm 0/45$  میلی متر) و در بین استافیلوکوک‌ها مربوط به استافیلوکوک اورئوس ( $18/00 \pm 1/00$  میلی متر) بوده است.

مقایسه میانگین گروه‌ها نشان داد بیشترین اثربخشی عصاره چای سبز بر استرپتوکوک موتانس و سالیواریوس به ترتیب با میانگین قطر هاله عدم رشد  $18/06 \pm 0/90$  و  $17/06 \pm 0/70$  میلی متر و بیشترین اثربخشی عصاره گیاه رزماری بر استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به ترتیب با میانگین قطر هاله عدم رشد  $19/00 \pm 0/20$  و

$17/01 \pm 0/11$  میلی متر ارزیابی گردید. در بین تمام عصاره‌ها، کمترین اثربخشی مربوط به عصاره پونه کوهی بوده است و در بین تمام باکتری‌های مورد مطالعه، باکتری انتروکوک فکالینس نسبت به عصاره گیاهان مورد بررسی مقاومت بیشتری از خود نشان داد.

مقایسه میانگین زوج گروه‌ها بر اساس آزمون Duncan در سطح ۵ درصد نشان داد هاله ممانعت از رشد باکتری‌های مورد نظر در همه عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین دارای اختلاف معنی‌داری بودند ( $P < 0/05$ )، اما در استرپتوکوک موتانس بین عصاره میخک و جنتامایسین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ )، که نشان دهنده تأثیر مشابه این دو عامل بر باکتری استرپتوکوک موتانس است.

مقایسه میانگین هاله ممانعت از رشد عصاره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس آزمون مقایسات چندگانه Duncan، حروف انگلیسی متفاوت در هر باکتری، نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در میانگین قطر هاله عدم رشد می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۱- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) عصاره‌های الکلی گیاهان مورد بررسی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر علیه باکتری‌های مورد مطالعه در شهرستان سنندج در سال ۱۴۰۰

عصاره	جنتامایسین	پونه کوهی	چای سبز	چای ترش	رزماری	میخک	باکتری
استافیلوکوک اورئوس	$26/00 \pm 0/20^a$	$12/00 \pm 0/50^c$	$14/00 \pm 0/50^c$	$13/06 \pm 0/40^c$	$19/00 \pm 0/20^b$	$18/00 \pm 1/00^b$	
استافیلوکوک اپیدرمیدیس	$25/00 \pm 0/20^a$	$10/03 \pm 0/45^d$	$16/30 \pm 0/30^{bc}$	$14/06 \pm 0/40^c$	$17/01 \pm 0/11^b$	$16/00 \pm 0/00^{bc}$	
انتروکوک فکالینس	$22/03 \pm 0/25^a$	$13/16 \pm 0/12^{bc}$	$15/03 \pm 0/55^b$	$14/20 \pm 0/34^{bc}$	$12/10 \pm 0/28^c$	$14/16 \pm 0/28^{bc}$	
استرپتوکوک موتانس	$21/03 \pm 0/15^a$	$15/00 \pm 0/40^c$	$18/06 \pm 0/90^b$	$15/06 \pm 0/30^c$	$13/16 \pm 0/28^d$	$20/03 \pm 0/45^a$	
استرپتوکوک سالیواریوس	$22/06 \pm 0/20^a$	$11/06 \pm 0/20^d$	$17/06 \pm 0/70^{bc}$	$16/06 \pm 0/30^c$	$11/23 \pm 0/40^d$	$19/00 \pm 0/00^b$	

آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Duncan، حروف انگلیسی متفاوت در هر باکتری، نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در میانگین قطر هاله عدم رشد ( $P < 0/05$ ).

بررسی نتایج نشان داد که عصاره اتانولی این گیاهان حتی در غلظت‌های پایین دارای اثرات ممانعت از رشد باکتری‌های مورد مطالعه بودند، به طوری که کمترین غلظت ممانعت کننده از رشد مربوط به گیاه میخک (۶/۲۵ میلی گرم بر

میلی لیتر) بر استرپتوکوک موتانس و گیاه رزماری بر استافیلوکوک اورئوس (۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) بوده است. عصاره اتانولی سایر گیاهان نیز تأثیر خوبی بر باکتری‌های مورد نظر در غلظت‌های پایین داشتند (جدول ۲).

جدول ۲- مقدار حداقل غلظت مهاری (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره‌های الکلی گیاهان مورد بررسی بر علیه باکتری‌های مورد مطالعه در شهرستان سمنان در سال ۱۴۰۰

نام گیاه	میخک	چای ترش	چای سبز	رزماری	پونه کوهی
نام میکروارگانیسم					
استافیلوکوک اورئوس	۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۱۰۰
استافیلوکوک اپیدرمیدیس	۲۵	۲۵	۲۵	۱۲/۵	۵۰
استرپتوکوک موتانس	۶/۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۵۰	۵۰
استرپتوکوک سالیواریوس	۱۲/۵	۲۵	۱۲/۵	۲۵	۲۵
انتروکوک فکالیس	۲۵	۵۰	۵۰	۱۰۰	-

## بحث

امروزه، یکی از مشکلات اصلی در رابطه با میکروارگانیسم های بیماری‌زا، افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها است. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی با اثرات ضد میکروبی بر روی طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها و همچنین کمتر بودن اثرات جانبی آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌توانند در نهایت جایگزین مناسبی برای آن‌ها باشند. به دلیل همین فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی، شرکت‌های داروسازی در حال حاضر به دنبال داروهای جایگزین از سایر منابع از جمله گیاهان هستند [۱۷].

در این مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان میخک، رزماری، چای ترش، چای سبز و پونه کوهی بر روی باکتری های موجود در حفره دهان شامل استرپتوکوک موتانس،

استرپتوکوک سالیواریوس، انتروکوک فکالیس، استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس با دوروش چاهک‌گذاری و Microdilution broth انجام شد. بر اساس مطالعه Cimanga و همکاران در صورتی که قطر هاله عدم رشد در باکتری‌ها برابر یا بیشتر از ۱۵ میلی‌متر باشد نشان دهنده فعالیت بالا، ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر نشان دهنده فعالیت متوسط و اگر کمتر از ۱۰ میلی‌متر باشد نشان دهنده غیر فعال بودن عصاره است [۱۸].

در مطالعه حاضر مشخص شد که عصاره گیاه میخک بیشترین اثر ضدباکتریایی خود را علیه تمام باکتری‌های مورد مطالعه داشته است و بیشترین اثر آن بر استرپتوکوک موتانس و سالیواریوس بوده است. در مطالعه Abrishami و همکاران [۱۹] اثر عصاره گیاه میخک بر دو گونه استرپتوکوک

موتانس و سانگویس بررسی شد که بیشترین اثر عصاره بر استرپتوکوک موتانس بود که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. همچنین، در مطالعه Zainol و همکاران اثر سینرژیستی اسانس‌های دو گیاه میخک و دارچین را بر روی ۴ باکتری حفره دهان انجام دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که اسانس‌های میخک و دارچین به تنهایی و در ترکیب با هم دارای خاصیت ضد میکروبی در مقابل هر چهار باکتری می باشند و می‌توانند جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های رایج مانند آموکسی سیلین گردند [۲۰].

در مطالعه حاضر، میانگین هاله عدم رشد در اثر عصاره میخک در برابر استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به ترتیب ۱۸ و ۱۶ میلی‌متر با حداقل غلظت ممانعت از رشد ۱۲/۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که مشابه با مطالعه Hoseini و همکاران بود [۲۱]. همچنین، Abdullah و همکاران، فعالیت ضد باکتریایی اسانس دو گیاه رزماری و میخک را به صورت جداگانه با روش چاهک پلیت در مقابل چهار گونه باکتری مقاوم به دارو شامل: اسینتوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک اورئوس و آنتروکوکوس فکالیز ارزایی کردند. اسانس هر دو گیاه اثر مهارکنندگی در مقابل تمام ارگانیسم‌های تست شده را دارا بودند ولی اسانس میخک فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به رزماری از خود نشان داد. آن‌ها پیشنهاد کردند که اسانس میخک و رزماری می‌تواند به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی برای درمان عفونت‌های ایجاد شده با باکتری‌های مقاوم به دارو به کار رود [۲۲].

در مطالعه حاضر همچنین اثر میخک بر باکتری‌های استرپ موتانس و استرپتوکوک سالیواریوس نزدیک به اثر جنتامایسین بر این باکتری‌ها بوده است که این نشان دهنده اثر قوی این عصاره بر این باکتری‌ها می‌باشد و تأییدی بر کاربرد سنتی این گیاه در درمان دندان درد می‌باشد. در مطالعه حاضر، بر اساس نتایج به دست آمده میانگین هاله عدم رشد عصاره رزماری برای استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به ترتیب ۱۹ و ۱۷/۰۱ میلی‌متر با حداقل غلظت ممانعت از رشد ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است که با نتایج مطالعه Ahmady و همکاران مطابقت دارد [۲۳].

همچنین، در مطالعه‌ای که Golshani و Dawoodi انجام دادند، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر روی باکتری‌های مختلف بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره متانولی رزماری می‌تواند از رشد استافیلوکوک اورئوس، اشیشیاکولی و سودوموناس آروژینوزا ممانعت کند، اما بر رشد باسیلوس سرئوس مؤثر نبود [۲۴]. در مطالعه حاضر، عصاره رزماری بر استرپتوکوک‌ها اثر ضعیفی داشته است که با مطالعه Bernardes و همکاران [۲۵] هم‌پوشانی داشت، اما در مطالعه Haghghati و همکاران عصاره گیاه رزماری بر این گروه از باکتری‌ها بی‌تأثیر بوده است [۲۶].

در مطالعه حاضر، اثر عصاره چای سبز بر باکتری‌های مورد مطالعه بررسی شد و بیشترین اثر آن بر استرپتوکوک موتانس با میانگین هاله ممانعت از رشد ۱۸/۰۶ میلی‌متر و با غلظت بازدارندگی ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. در مطالعه

Golmohammadi و همکاران اثر عصاره اتانولی چای سبز در غلظت‌های مختلف بر استرپتوکوک موتانس را بررسی و گزارش کردند که در غلظت ۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین اثر بازدارندگی را بر این باکتری داشته است [۲۷]. هم‌چنین، در مطالعه‌ای دیگر، شاخص MIC در چای سبز برای استرپتوکوک موتانس ۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید [۲۸]. در مطالعه حاضر، اثر چای ترش بر باکتری‌های مورد مطالعه بررسی گردید و نشان داده شد که استرپتوکوک سالیواریوس و استرپتوکوک موتانس به ترتیب بیشترین حساسیت را نسبت به آن دارند، اما کمترین حساسیت را استافیلوکوک اورئوس از خود نشان داد.

در تحقیقی که توسط Tabatabaei و همکاران انجام گرفت نشان دادند عصاره چای ترش توانایی مهار باکتری‌هایی مانند استافیلوکوک‌اورئوس را دارد [۲۹]. در مطالعه حاضر بیشترین اثر پونه کوهی بر استرپتوکوک سالیواریوس با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۱/۶۰ میلی‌متر بوده و بر باکتری‌های دیگر اثر ضعیفی داشته است. در مطالعه Kermanshah و همکاران اثر چهار عصاره گیاهی شامل مریم گلی، بومادران، پونه کوهی و انیسون بر استرپتوکوک موتانس بررسی شد که پونه کوهی بعد از مریم گلی بیشترین اثر بازدارندگی را داشته است [۳۰]. هم‌چنین، مطالعه Rahmani و همکاران نشان داد مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس پونه کوهی سودوموناس آئروژینوزا و حساس‌ترین باکتری‌ها به ترتیب استافیلوکوک ساپروفیتیکوس، اشریشیاکولی و استافیلوکوک‌اورئوس بوده

است که در مقایسه با یافته‌های مطالعه حاضر، این عصاره بر استافیلوکوک‌اورئوس اثر ضعیفی داشته است [۳۱].

در مطالعه حاضر، بیشترین اثر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بر باکتری استافیلوکوک‌اورئوس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به ترتیب با میانگین قطر هاله ممانعت از رشد ۲۶ و ۲۵ میلی‌متر بوده است و فعالیت ضد باکتری عصاره‌های میخک و رزماری بر این باکتری‌ها نزدیک به فعالیت ضد باکتری‌ای این آنتی‌بیوتیک بوده است. مطالعه Jafari و همکاران نشان داد که بیشترین اثر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و سیپروفلوکساسین در میان باکتری‌های مورد مطالعه بر باکتری استافیلوکوک‌اورئوس بوده است که هم‌سو با مطالعه حاضر می‌باشد [۳۲]. این‌گونه اختلافات در اثرات ضد میکروبی گیاهان در مطالعات مختلف نشان دهنده تفاوت‌های موجود در ترکیبات اسانس‌ها و عصاره‌ها، نوع روش عصاره‌گیری و یا نوع سویه باکتری استاندارد می‌باشد. هم‌چنین، در مطالعه حاضر از عصاره الکلی گیاهان استفاده شد و مزیت عصاره‌های الکلی در مقایسه با عصاره‌های آبی در این است که عصاره‌های الکلی میزان بالاتری از مواد مؤثره گیاه را استخراج می‌کنند [۳۳].

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به این نکته اشاره کرد که مواد مؤثره با خاصیت ضد باکتریایی از هر گیاه استخراج نشد و عصاره‌های استفاده شده از گل و برگ گیاهان بود. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات بعدی در صورت امکان مواد مؤثره فعال با خواص ضد میکروبی موجود در عصاره‌ها استخراج گردیده و اثرات ضدباکتری تک تک آن‌ها مورد بررسی قرار گیرند.



## نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کلیه عصاره‌ها با هر دو روش چاهک‌گذاری و Microdilution broth دارای خاصیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های حفره دهانی هستند و بالاترین اثر بازدارندگی رشد مربوط به عصاره گیاهان میخک و رزماری بود و با توجه به نتایج مطلوب ضد باکتریایی این گیاهان می‌توان در آینده از این گیاهان به عنوان یک پایه دارویی و یا همراه با

سایر عوامل ضد میکروبی برای مبارزه با میکروارگانیسم‌ها استفاده نمود.

## تشکر و قدردانی

به این وسیله از همکاری آزمایشگاه میکروپزشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کردستان که در انجام این تحقیق همکاری لازم را داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

- [1] Mercy R, David Udo E. Natural products as lead bases for drug discovery and development. *Res Rep Med Sci* 2018; 2(1): 1-2.
- [2] Al -Rifai A, Aqel A, Al -Warhi T. Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some Convolvulus species and their DART -ToF -MS profiling. *Evid Based Complementary Altern Med* 2017; 2017: 1-9.
- [3] Kouidhi B, Al Qurashi YM, Chaieb K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microb Pathog* 2015; 80: 39-49.
- [4] Ashrafi B, Ramak P, Ezatpour B, Talei GR. Investigation on chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic properties of essential oil from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2017; 14(3): 209-17.
- [5] Ashrafi B, Ramak P, Ezatpour B, Talei GR. Investigation on chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic properties of essential oil from

- DracocephalumkotschyBoiss. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2017; 14(3): 209-17.
- [6] Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol* 2012; 7(8): 979-90.
- [7] Nunez L, Aquino MD. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Braz J Microbiol* 2012; 43(4): 1255-60.
- [8] De Faria LR, Lima CS, Perazzo FF, Carvalho JC. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae). *Int J Pharm Sci Rev Res* 2011; 7(2): 1-8.
- [9] De Oliveira JR, De Jesus D, Figueira LW, De Oliveira FE, Pacheco Soares C, Camargo SE, et al. Biological activities of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract as analyzed in microorganisms and cells. *Exp Biol Med* (Maywood) 2017; 242(6): 625-34
- [10] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee AR, Mortazavi SA, Moradi S. Investigation of the extracts antibacterial effect of Hibiscus Sabdariffa against strains of antibiotic resistance on pathogenic bacteria “in vitro”. *JFST* 2016; 55(13): 23-31.
- [11] Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine & Pharmacother* 2018; 102: 575-86.
- [12] Elhoussine D, Zineb B, Abdellatif B. Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res J Agric Biol Sci* 2010; 6(3): 191-8.
- [13] Barroso H, Ramalhete R, Domingues A, Maci S. Inhibitory activity of a green and black tea blend on *Streptococcus mutans*. *J oral Microbiol* 2018; 10(1): 1481322.
- [14] Mashhadi M, Fakhri J, Saeedi S, Hassanshahian M, Abkhoo A. Antimicrobial Effects of Medicinal Plants Collected in Zabol, Iran, on Pathogenic Food Pathogenic. *J Med Bacteriol* 2016; 5(3): 18-28.

- [15] Safari M, Ahmady-Asbchin S, Soltani N. In Vitro Assessment of Antimicrobial Activity from Aqueous and Methanolic Extracts of Some Species of Cyanobacteria. *Biol J of Microorg* 2015; 4(14): 111-30.
- [16] Jafari S, Mobasher M, Najafipour S, Ghasemi Y, Mobasher N, Naghizadeh M, et al. Evaluation of inhibitory effects of *Chlorella vulgaris* extract on growth, proliferation and biofilm formation by *Streptococcus mutans* and evaluation of its toxicity. *J Fasa Univ Med Sci* 2015; 5(3): 387-96.
- [17] Rood sari MR, Zamanian-Azodi M, Salimpour F. Herbal remedies and medicine; introducing some Iranian plants. *J Paramed Sci* 2013; 4(2): 116-22.
- [18] Cimanga K, Kambu K, Tona L, Apers S, De Bruyne T, Hermans N, et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the democratic Republic of Congo. *J Ethnopharmacol* 2002; 9(2): 213-20.
- [19] Abrishami MR, Alesheikh P, Gharaei S, NKhalili M, Saadat Khaje M, Zarghami Moghaddam P. Synergistic Effect of Methanolic Extracts of *Rosmarinus Officinalis* and *Eugenia caryophyllata* on Biofilm of Oral Pathogenic Bacteria. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2020; 12(3): 1-9.
- [20] Zainol SN, Said SM, Abidin ZZ, Azizan N, Majid FA, Jantan I. Synergistic benefit of *Eugenia caryophyllata* L. and *cinnamomumzeylanicumblume* essential oils against oral pathogenic bacteria. *Chem Eng Trans* 2017; 56: 1429-34.
- [21] Hoseini SE, Shabani SH, Delfan Azari F. Antimicrobial properties of clove essential oil on raw hamburger during storage in freezer. *J Food Hyg* 2015; 17(5): 67-76. [Farsi]
- [22] Abdullah BH, Hatem SF, Jumaa W. A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant bacteria. *UK J Pharmaceutical Biosci* 2015; 3(1): 18-22.
- [23] Ahmady A, Mostafapor rami M, Rajaei maleki S. The in Vitro Inhibitory Effects of the Rosemary

- Essential Oil on Some Gram Positive and Negative Bacteria. *Scientific J Ilam Univ Med Sci* 2015; 24(2): 80-9. [Farsi]
- [24] Golshani Z, Dawoodi, V. In vitro study of antimicrobial effects of rosemary leaf extract against some pathogens. *J Arak Univ Med Sci* 2013; 16(77): 82-9.
- [25] Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Flauzino LG, Souza MG, Turatti IC, et al. Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. *Z Naturforsch C J Biosci* 2010; 65(9-10): 588-93.
- [26] Haghighati F, Jafari S, Bitalahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten plant extracts with chlorhexidine mouthwash on three types Harmful oral microorganisms in vitro. *Hakim Res J* 2002; 6(3): 1-76. [Farsi]
- [27] Golmohammadi A, Kazemi Yazdi H, Nasoohi N. The study on antimicrobial effect of three ethanolic, methanolic and aqueous extracts of green tea in comparison to chlorhexidine mouthwash on Iranian strain of bacteria *Streptococcus mutans* PTCC 1683. *J Res Med Dental Sci* 2020; 17(1): 17-24. [Farsi]
- [28] Golmohammadi A. A Comparative Study on Antimicrobial Effect of Iranian Green Tea and Hibiscus Tea on Growth of Oral Cariogenic Bacteria *Streptococcus mutans* PTCC 1683. *J Res Med Dent Sci* 2018; 6(5): 361-4.
- [29] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee AR, Mortazavi SA, Moradi S. Investigation of the extracts antibacterial effect of *Hibiscus Sabdariffa* against strains of antibiotic resistance on pathogenic bacteria "in vitro. *J Food Sci Technol* 2016; 55(13): 23-31.
- [30] Kermanshah H, Kamangar S, Arami S, Salehian A, Kamalinejad M, Karimi M, et al. Comparison of antibacterial effect of hydroalcoholic extract of 4 plants on microorganisms causing tooth decay in two laboratory methods. *J Babol Univ Med Sci* 2012; 13(6): 21-9.
- [31] Rahmani F, Rezaeian-Doloei R, Alimoradi L. Evaluation of phytochemical composition of

- mentha pulegium l.* essential oil and its antibacterial activity against several pathogenic bacteria. *Iranina J Med Microbiol* 2018; 6(11): 167-77.
- [32] Jafari M, Mahdavi Ortakand M, Honarmand Jahormi S. Investigating the antimicrobial effect of peppermint essential oil against methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*. *Sci Res Q J Biol Sci Iran* 2018; 12(3): 29-38. [Farsi]
- [33] Wagner H, Ulrich merzenich G. Synergy research approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 2009; 16: 97-110.

## Antibacterial Effect of Alcoholic Extracts of the *Eugenia Caryophyllata*, *Rosmarinus Officinalis*, *Hibiscus sabdariffa*, *Camellia sinensis*, and *Mentha Pulegium* Plants on Some of Bacteria in the Oral Cavity: A Laboratory Study

**Nasrin Bahmani<sup>1</sup>**

Received: 22/01/23 Sent for Revision: 06/02/23 Received Revised Manuscript: 09/05/23 Accepted: 10/05/23

**Background and Objectives:** One of the main causes of tooth decay and periodontal diseases in the oral cavity is bacteria. The aim of this research was to evaluate the antibacterial activity of several plant extracts on some of bacteria in the oral cavity.

**Materials and Methods:** This laboratory study was conducted in Kurdistan University of Medical Sciences in 2021. Alcoholic extracts of *Eugenia caryophyllata*, *Rosmarinus officinalis*, *Hibiscus sabdariffa*, *Mentha pulegium*, and *Camellia sinensis* plants were prepared by a maceration method. Then the antibacterial properties of the extracts were determined on 5 strains of oral cavity bacteria by agar well diffusion and minimum inhibitory concentration methods. The mean diameter of the growth inhibition zone was measured and the data was analyzed using one-way analysis of variance followed by Duncan's post hoc test.

**Results:** The results showed that the most antibacterial effect was related to *Eugenia caryophyllata* extract and on *Streptococcus mutans* and *Salivarius* with mean and standard deviation of  $20.03 \pm 0.45$  and  $19.06 \pm 0.20$  mm, respectively. Based on the comparison of the means, the effect of extracts and gentamicin on diameter of the zone of inhibition was significantly different ( $p < 0.05$ ), but this difference was not observed for *Eugenia caryophyllata* extract on *Streptococcus mutans* ( $p > 0.05$ ). The minimum inhibitory concentration of *Eugenia caryophyllata* and *rosemarinus* extracts against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* was 6.25 mg/ml.

**Conclusion:** The results of this research showed that the plant extracts, especially *Eugenia caryophyllata*, can be effective as antibacterial substances in treating bacterial infections of the oral cavity.

**Key words:** Antibacterial, Oral cavity, Medicinal plants, Staphylococci, Streptococci

**Funding:** This study did not have any funds.

**Conflict of interest:** None declared.

**Ethical approval:** The Ethics Committee of Kurdistan University of Medical Sciences approved the study (IR.MUK.REC.1397/5033).

**How to cite this article:** Bahmani Nasrin. Antibacterial Effect of Alcoholic Extracts of the *Eugenia caryophyllata*, *Rosmarinus officinalis*, *Hibiscus sabdariffa*, *Camellia sinensis*, and *Mentha pulegium* Plants on Some of Bacteria in the Oral Cavity: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2023; 22 (2): 147-60. [Farsi]

<sup>1</sup>- Assistant Prof., Zoonoses Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID: 0000-0002-2867-0853  
(Corresponding Author) Tel: (087) 33664645, Fax: (087) 33664659, E-mail: nasrinbahmani3@gmail.com