



Original Article

In Vitro Comparison of the Combined Effects of Different Concentrations of Extracts of the Nettle (*Urtica Diocia*) and Sage (*Salvina Officinalis*) with Chlorhexidine Mouthwash on the Oral Pathogen from Dental Plaque (*Streptococcus Mutans*)

Aynaz Alidadiani^{1*}, Peyman Alesheikh², Parstoo Zarghami Moghaddam³, Hassan Saadati⁴, Alireza Babaii Vastani⁵

¹ Esthetic and Restorative Specialist, Assistant Professor, Faculty of Dentistry, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

² PhD in Chinese Medicine, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³ PhD in Microbiology, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁵ Doctor of General Dentistry, Faculty of Dentistry, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

***Corresponding author:** Aynaz Alidadiani, Faculty of Dentistry, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. Email: i_alidad@yahoo.com

DOI: [10.32592/nkums.17.2.56](https://doi.org/10.32592/nkums.17.2.56)

How to Cite this Article:

Alidadiani A, Alesheikh P, Zarghami Moghaddam P, Saadati H, Babaii Vastani A. In Vitro Comparison of the Combined Effects of Different Concentrations of Extracts of the Nettle (*Urtica Diocia*) and Sage (*Salvina Officinalis*) with Chlorhexidine Mouthwash on the Oral Pathogen from Dental Plaque (*Streptococcus Mutans*). J North Khorasan Univ Med Sci. 2025;17(2): 56-62. DOI: [10.32592/nkums.17.2.56](https://doi.org/10.32592/nkums.17.2.56)

Received: 07 September 2024

Accepted: 30 December 2024

Keywords:

Biofilm
Dental Caries
Salvina officinalis
Urtica dioica

Abstract

Introduction: Dental caries is an infectious disease caused by bacterial colonization. *Streptococcus mutans*, which is the main cause of human dental caries, is mainly found in biofilms that form on tooth surfaces, also known as dental plaque. Chlorhexidine is the most commonly used standard mouthwash; however, due to its side effects, researchers are looking for alternatives. This study aimed to evaluate the combined effect of different concentrations of extracts of the Nettle (*Urtica Diocia*) and Sage (*Salvina Officinalis*) with chlorhexidine mouthwash on the oral pathogen from dental plaque (*Streptococcus Mutans*).

Method: A mixture was prepared from different concentrations of ethanolic extracts of the Nettle (*Urtica dioica*) and Sage (*Salvina officinalis*). Following that its effect at different dilutions against *Streptococcus mutans* bacteria was investigated using disk diffusion, well plate, and biofilm inhibition methods.

Results: In all methods (disk diffusion, well plate, and biofilm formation), the highest effectiveness observed after chlorhexidine and ciprofloxacin was related to Sage (*Salvina Officinalis*) extract (100%). According to the results of biofilm formation, only Sage (*Salvina Officinalis*) extract (100%) showed appropriate effectiveness against *Streptococcus Mutans* bacteria.

Conclusion: The results of the present study showed that the effectiveness of chlorhexidine and ciprofloxacin is greater than that of herbal extracts; however, among the extracts tested, the highest effectiveness is related to Sage (*Salvina Officinalis*) (100%).



مقایسه آزمایشگاهی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف عصاره دو گیاه گزنه (*Urtica dioica*) و مریم‌گلی (*Salvina officinalis*) با دهان‌شویه کلرهگزیدین روی پاتوژن موجود در پلاک دندانی (استرپتوکوکوس موتانس)

آی‌ناز علی‌دادیانی^{۱*}، پیمان آل‌شیخ^۲، پرستو ضرغامی‌مقدم^۳، حسن سعادت^۴، علیرضا بابایی واستانی^۵

^۱ دکتری تخصصی ترمیمی و زیبایی دانشکده دندان‌پزشکی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۲ دکتری تخصصی طب چینی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۳ دکتری تخصصی میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۴ استادیار گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۵ دکتری عمومی دندان‌پزشکی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

*نویسنده مسئول: آی‌ناز علی‌دادیانی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران. ایمیل: i_alidad@yahoo.com

DOI: 10.32592/nkums.17.2.56

چکیده مقدمه: پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌ها است. استرپتوکوکوس موتانس به‌عنوان عامل اصلی پوسیدگی دندان انسان، عمدتاً در بیوفیلم‌هایی که روی سطوح دندان تشکیل می‌شوند قرار می‌گیرد، که به‌عنوان پلاک دندانی نیز شناخته می‌شود. کلرهگزیدین رایج‌ترین دهان‌شویه استاندارد شناخته‌شده است؛ اما به دلیل عوارض مصرف آن، محققان به دنبال موارد جای‌گزین هستند. از این رو، در این مطالعه به مقایسه آزمایشگاهی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف عصاره دو گیاه گزنه (<i>Urtica dioica</i>) و مریم‌گلی (<i>Salvia officinalis</i>) با دهان‌شویه کلرهگزیدین روی پاتوژن موجود در پلاک دندانی (استرپتوکوکوس موتانس) پرداخته شد.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰
روش کار: ترکیبی از غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاهان دارویی مریم‌گلی و گزنه تهیه، و اثر آن در رقت‌های مختلف علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس به روش‌های انتشار دیسک، چاهک پلیت و ممانعت از تشکیل بیوفیلم بررسی شد. یافته‌ها: در تمام روش‌ها (انتشار دیسک، چاهک پلیت و تشکیل بیوفیلم) بیشترین اثربخشی مشاهده‌شده بعد از کلرهگزیدین و سیپروفلوکساسین، مربوط به عصاره صددرصدی گیاه مریم‌گلی بود. با توجه به نتایج تشکیل بیوفیلم نیز تنها عصاره صددرصدی مریم‌گلی اثربخشی مناسبی علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس داشت. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که اثربخشی کلرهگزیدین و سیپروفلوکساسین از عصاره‌های گیاهی بیشتر است، اما از بین عصاره‌های آزمایش‌شده بیشترین اثربخشی مربوط به مریم‌گلی با صد درصد غلظت بود.	واژگان کلیدی: مریم‌گلی گزنه اتانول پلاک دندانی پوسیدگی

مقدمه

سه عامل باکتری، مواد غذایی و دندان است. سطح دندان را لایه‌ای پروتئینی پوشانده است که با چشم غیرمسلح دیده نمی‌شود و می‌تواند محلی برای اتصال و تجمع دو باکتری اصلی استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیلوس باشد. باکتری‌ها توانایی تولید اسیدهای متفاوتی را در محیط دهان دارند؛ اما یکی از اسیدهای مهم در روند ایجاد پوسیدگی، لاکتیک‌اسید است [۱]. ترمیم پوسیدگی بدون از بین بردن عامل اصلی

پوسیدگی یک بیماری چندعاملی است که تحت تأثیر باکتری‌ها، جریان بزاق، رژیم غذایی و روش‌های مراقبتی فرد است [۱]. پوسیدگی از لحاظ اپیدمیولوژی جزو شایع‌ترین بیماری عفونی جهان است. در مطالعه‌ای مروری، که به بررسی پوسیدگی‌های دندان کودکان ایرانی پرداخته بود، شیوع کلی پوسیدگی دندان‌های شیری و دائمی در کودکان ایرانی به ترتیب ۶۲/۸ و ۷۸/۶ درصد به دست آمد [۲]. پوسیدگی حاصل تعامل

بیماری و روش‌های پیشگیرانه تأثیر چندانی در موفقیت درمان ندارد؛ چراکه احتمال عود مجدد پوسیدگی در این دندان‌ها بیشتر است. براساس ارزیابی خطر پوسیدگی دندان بیمار، راهبردهای مختلفی برای پیشگیری وجود دارد؛ از جمله استفاده از فلوراید، سیلانت‌های دندان و مواد ضد میکروبی که از مواد پرکاربرد می‌توان به دهان‌شویه کلرهگزیدین اشاره کرد [۴]. باین‌حال، استفاده از مواد شیمیایی معمول به‌صورت منظم به‌دلیل محدودیت‌هایی که این عوامل از خود نشان داده‌اند، برای پیشگیری از پوسیدگی توصیه نمی‌شود [۵]. بنابراین، باینکه مواد ضدپوسیدگی متعددی از نظر تجاری وجود دارند، به‌دلیل آثار جانبی ناخواسته و قیمت‌های بالای این مواد و با توجه به مقاومت‌های میکروبی ایجادشده، چالش برای یافتن مواد ضد میکروبی جدید همچنان ادامه دارد [۵-۷].

اخیراً مطالعه درباره استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان منبعی از عوامل ضد میکروبی و ضدقارچی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. طیف گسترده‌ای از عصاره گیاهان معرفی شده است که فعالیت ضد میکروبی و ضدقارچی دارند [۸]. از آنجاکه کشور ایران موقعیت مناسبی برای پرورش گیاهان دارویی دارد و همچنین گیاهان از دیرباز به‌دلیل در دسترس بودن و عوارض کمتر مورد توجه مردم و جامعه بوده‌اند و برای درمان بیماری‌های متعددی استفاده می‌شدند، به‌تازگی استفاده از ترکیبات گیاهی مختلف در ترکیب داروها و محصولات مراقبت از دهان و دندان مورد توجه قرار گرفته است [۹]. به همین دلیل، چندین مورد از دهان‌شویه‌ها و عصاره‌های گیاهی، در جست‌وجوی یک ماده کمکی مناسب به‌عنوان جای‌گزین کلرهگزیدین و برای امکان استفاده طولانی‌مدت آزمایش و بررسی شدند که از این موارد می‌توان به گیاه گزنه با نام علمی *Urtica dioica* اشاره کرد که یک سرده از گیاهان گل‌دار و از تیره گزنه‌ایان است. این گیاه از جمله گیاهان بومی ایران و یکی از جنس‌های مهم است که دارای سی‌گونه است و گزنه *Urtica dioica* در این جزء قرار دارد. گزنه دوپایه، بومی مناطق معتدل اروپا و آسیا است. این گیاه عموماً علفی، چندساله، منحصربه‌فرد و با کرک‌های گزنده است و در مناطق مرطوب و نواحی سایه‌دار به حالت خودرو می‌روید. عصاره برگ گزنه یکی از داروهای گیاهی است [۱۰]. منطقه رویش گزنه در ایران، در اطراف تهران، شمیرانات، کرج، جنگل‌های شمال ارسباران و در دامنه سهند در آذربایجان است. گزنه بیشتر در نواحی مرطوب مخصوصاً مناطق شمالی ایران به حد فراوان می‌روید [۱۱]. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که عصاره گیاه گزنه خاصیت ضدباکتریایی دارد و به میزان چندبرابر بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی از توان کنترل باکتری‌های گرم مثبت و منفی برخوردار است. گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvina officinalis*، گیاهی است چندساله و علفی، با ارتفاع ۵۰ تا ۸۰ سانتی‌متر که ساقه‌هایی به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرک‌های انبوه و خاکستری‌رنگ دارد. با افزایش عمر گیاه، ساقه آن چوبی، و رنگ آن قهوه‌ای می‌شود. این گیاه از راسته لب‌گلی‌ها (*Lamiales*) و تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) است. اخیراً اثر ضد میکروبی عصاره مریم‌گلی به‌صورت تجربی نشان داده شده است [۴، ۱۲]. تحقیقات نشان داده که دهان‌شویه مریم‌گلی به‌طور مؤثری تعداد استرپتوکوکوس موتانس را در پلاک دندان کاهش داده است [۱۳]. در مطالعه اقبال و همکاران، که در سال ۲۰۲۱ با هدف بررسی تأثیر ضدباکتریایی اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی و مقایسه آن با تأثیر داروی کلرهگزیدین بر عوامل باکتریایی

حفره دهانی انجام شد، نشان داده شد که این گیاه آثار مهارکنندگی چشمگیری بر انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت دارد و مشخص شد که اسانس این گیاه دارویی، نتایج بهتری بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس نسبت به دهان‌شویه کلرهگزیدین ایجاد می‌کند [۱۴]. نتایج مطالعه الفهدوی و همکاران، که در سال ۲۰۲۱ با هدف بررسی اثر مهارکنندگی عصاره‌های مختلف گیاه دارویی مریم‌گلی و دهان‌شویه کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های دهانی انجام شد، نشان داد که روغن گیاه مریم‌گلی خالص بیشترین بازدارندگی را در برابر باکتری‌ها در مقایسه با دهان‌شویه کلرهگزیدین دارد [۱۵]. هدف از این مطالعه، دستیابی به کاهش پاتوژن موجود در پلاک دندان با اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف عصاره دو گیاه گزنه (*Urtica dioica*) و مریم‌گلی (*Salvina officinalis*) با حداکثر کارایی و حداقل عوارض جانبی است که بتواند جای‌گزین مناسبی برای دهان‌شویه کلرهگزیدین شود. اطلاعات حاصل از این تحقیق، پایه‌گذار پژوهش‌های لازم برای آماده‌سازی فرمولاسیون‌های ضد میکروبی نوآور در درمان پوسیدگی دندان خواهد بود.

روش کار

در این مطالعه اثر ضدباکتریایی و ممانعت از تشکیل بیوفیلم عصاره اتانولی دو گیاه گزنه و مریم‌گلی و ترکیب غلظت‌های مختلف (۸۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۶۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) دو گیاه روی میکروارگانیزم دهانی (استرپتوکوکوس موتانس) با استفاده از ۳ روش (انتشار دیسک، چاهک پلیت و ممانعت از تشکیل بیوفیلم) بررسی شد. همچنین، هر مرحله از آزمایش، به‌منظور کاهش خطا، سه مرتبه تکرار و میانگین این سه مرتبه به‌عنوان نتیجه نهایی اعلام شد. بنابراین، با در نظر گرفتن حاصل ضرب تعداد نمونه‌ها (۷ غلظت گیاه، کنترل مثبت و منفی)، تست‌های آزمایش‌شده (دیسک، چاهک و بیوفیلم)، میکروارگانیزم‌های مطالعه‌شده (استرپتوکوکوس موتانس) و تکرار آن‌ها (سه بار تکرار)، مطالعه روی ۸۱ مورد برآورد شد [۱۶].

مراحل تحقیق

عصاره‌گیری

بعد از جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه از منطقه جنوبی ساری (استان مازندران)، کارشناس آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی آن‌ها را شناسایی و با کد هر بارיום گزنه (Herbarium No: 10029) و مریم‌گلی (Herbarium No: 1471) ثبت کرد. سپس این گیاهان خشک و پودر شدند و عصاره‌گیری به روش خیساندن در حلال اتانول به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. عصاره‌ها با استفاده از تبخیرکننده چرخان (روتاری، هایدولف آلمان) تغلیظ شدند. پودر عصاره تا زمان آزمایش، در دمای +۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگه‌داری شد.

روش چاهک پلیت

در این روش، از پلیت‌های حاوی محیط کشت مربوطه (سویبین کازئین آگار) استفاده شد که آغشته به استرپتوکوکوس موتانس بودند. با یک پیپت پاستور استریل، که مخصوص ایجاد چاهک است، یک حفره در محیط کشت ایجاد شد و داخل هر چاهک، ۵۰ لانداز

شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. همه چاهک‌ها سه بار با سرم فیزیولوژی استریل شست‌وشو شدند و در مرحله بعد، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول افزوده شد. به منظور رنگ‌آمیزی، از ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد استفاده شد. سپس به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر استیک اسید ۳۳ درصد اضافه، و چند بار با سمپلر به‌خوبی هم زده شد تا رنگ‌های متصل به چاهک، که بیانگر میزان تشکیل بیوفیلم هستند، به‌خوبی حل شوند. پس از یکنواخت شدن محلول هر چاهک، میزان جذب در ۶۳۰ نانومتر با دستگاه خوانشگر الایزا (Biotek، آمریکا) خوانده شد [۱۶].

آنالیز آماری

اطلاعات توصیفی مطالعه از طریق گزارش فراوانی (درصد) برای متغیرهای کیفی، میانگین (انحراف معیار) برای متغیرهای کمی نرمال، و میانه (دامنه میان‌چارکی) برای متغیرهای کمی غیرنرمال انجام شد. مقایسه اثر ضد میکروبی بین گروه‌ها و غلظت‌های مختلف، از طریق آزمون آنالیز واریانس (در صورت نیاز کروسکال-والیس) به انجام رسید. مقایسات دوبه‌دوی گروه، از طریق آزمون‌های تعقیبی (post hoc analysis) انجام شد. در تمام آزمون‌ها سطح معناداری ۵ درصد در نظر گرفته شد. همه تجزیه و تحلیل‌ها در نرم‌افزار اسپاس اس نسخه ۲۲ به انجام رسید.

یافته‌ها

نتایج آزمون کروسکال-والیس به منظور ارزیابی اثر ضدباکتریایی غلظت‌های عصاره اتانولی گیاهان دارویی گزنه و مریم‌گلی و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در روش انتشار دیسک نشان داد تفاوت آماری معناداری میان غلظت‌های مختلف و آنتی‌بیوتیک وجود دارد ($P \leq 0.05$). طبق نتایج به‌دست‌آمده، که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است، ابتدا آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و سپس دهان شویه کلرهگزیدین بیشترین تأثیر ضدباکتریایی علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس را دارند. از بین ترکیبات گیاهی نیز مریم‌گلی صددرصدی بیشترین اثربخشی را در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس داشت (نمودار ۱).

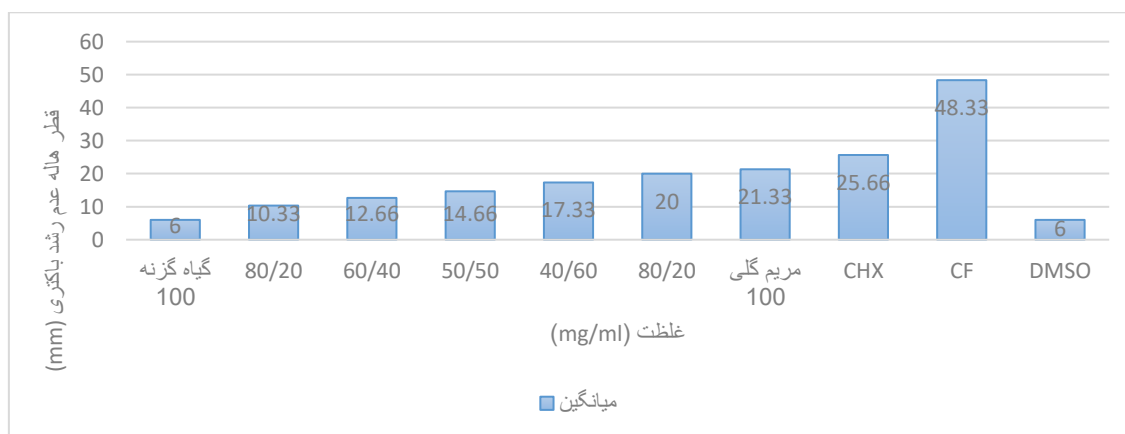
عصاره‌های خالص و ترکیبی (۲۰-۸۰، ۴۰-۶۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۴۰، ۶۰-۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌طور جداگانه ریخته شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از آن، میزان مناطق مهاری ارزیابی، و براساس میلی‌متر محاسبه شد. چاهک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (البرز، ایران) به‌عنوان کنترل مثبت، و مایع دی‌متیل سولفوکساید (مرک، آلمان) به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد [۱۶].

روش انتشار از دیسک

در این روش، دیسک بلانک آغشته به ۵۰ لانداز عصاره‌های خالص و ترکیبی دو گیاه (۲۰-۸۰، ۴۰-۶۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۴۰، ۶۰-۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به‌عنوان کنترل مثبت، و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل منفی، به مدت بیست دقیقه در انکوباتور (به‌داد، ایران) قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس روی محیط کشت مناسب، که پیش‌تر با تلقیح میکروبی آغشته شده بود، در فواصل مناسب قرار داده شدند. بعد پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. در ادامه، اثر ضدباکتریایی ترکیب حاوی عصاره‌های مختلف دو گیاه با دیسک آنتی‌بیوتیک مقایسه شد [۱۶].

ممانعت از تشکیل بیوفیلم

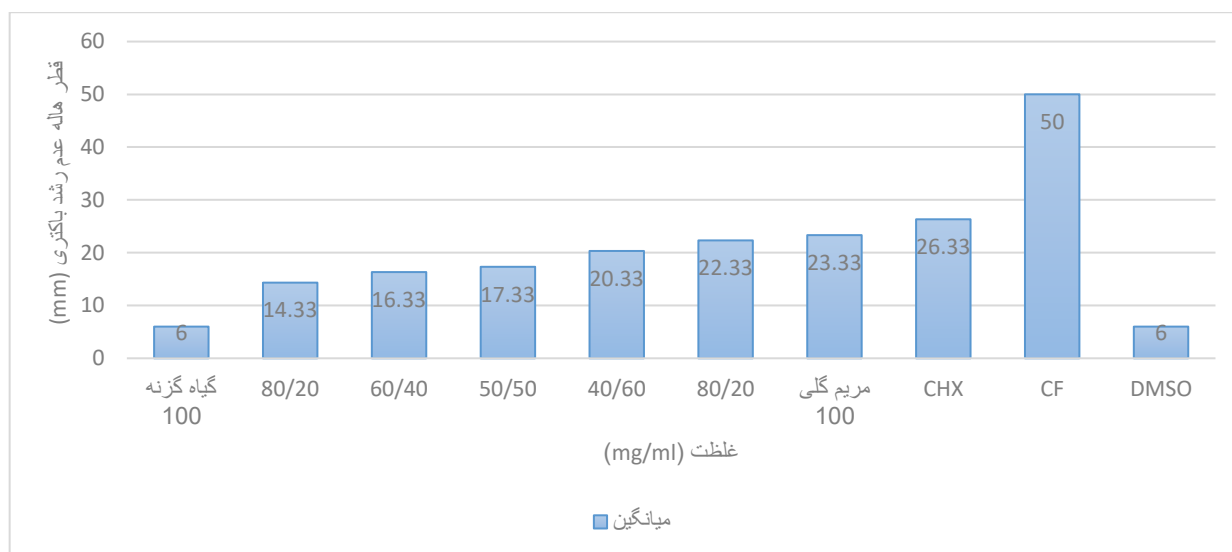
بررسی تأثیر ضدبیوفیلمی عصاره با غلظت‌های مختلف دو گیاه گزنه و مریم‌گلی با روش میکروتیتر پلیت و رنگ‌سنجی با کریستال ویوله انجام شد. روش اندازه‌گیری میزان تأثیر ضدبیوفیلمی عصاره دو گیاه با غلظت‌های مختلف به این صورت است که ابتدا ۱۵۰ میکرولیتر از محیط کشت سویبین کازئین براث اختصاصی داخل چاهک‌های میکروتیتر پلیت ۹۶خانه ریخته، و چاهک اول محیط کشت بدون عصاره به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. در چاهک‌های بعدی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف به‌دست‌آمده به محیط کشت اضافه شد. یک چاهک هم به‌عنوان شاهد منفی بدون عصاره و باکتری در نظر گرفته شد. ۲۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون نیم مک‌فارلند ($10^8 \pm 1/5$) به همه چاهک‌ها (به‌جز شاهد منفی) اضافه



نمودار ۱: توزیع اثر ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاهان گزنه و مریم‌گلی و گروه کنترل در باکتری استرپتوکوکوس موتانس در روش انتشار دیسک کلرهگزیدین (CHX)، سیپروفلوکساسین (CF)، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)

به گیاه مریم‌گلی با ترکیب صددرصدی، و کمترین نیز متعلق به گیاه گزنه صددرصدی بود (نمودار ۲).

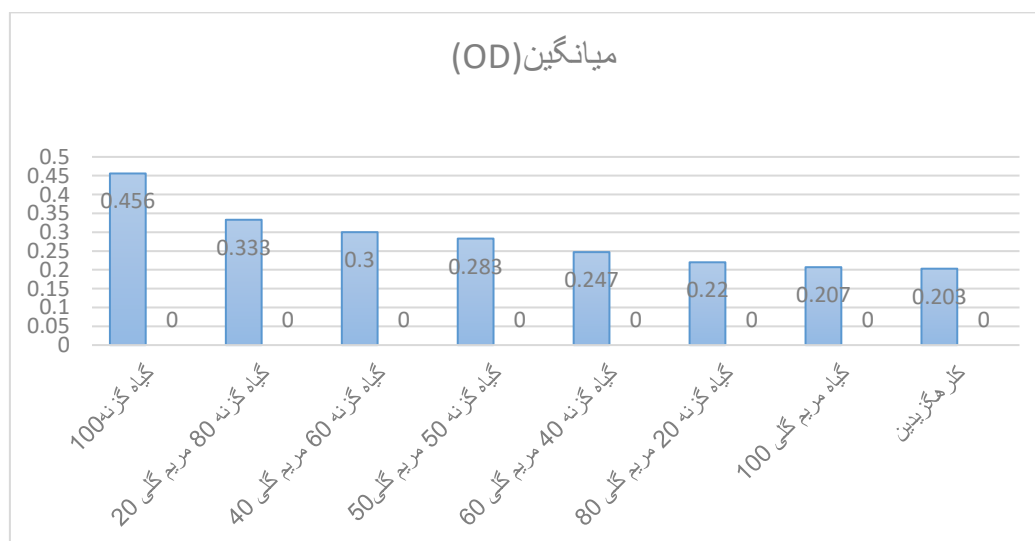
همچنین، نتایج استفاده از روش چاهک پلیت بیشترین هاله‌های عدم رشد را متعلق به کلرهگزیدین و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین نشان داد؛ اما در بین ترکیبات گیاهی، بیشترین هاله عدم رشد متعلق



نمودار ۲: توزیع اثر ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاهان گزنه و مریم‌گلی و گروه کنترل در باکتری استرپتوکوکوس موتانس با روش چاهک پلیت کلرهگزیدین (CHX)، سیپروفلوکساسین (CF)، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)

درصد گزنه و ۶۰ درصد مریم‌گلی و ۲۰ درصد گزنه و ۸۰ درصد مریم‌گلی با سیپروفلوکساسین برابر ۴۳/۶۶ واحد بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار است ($P < 0.001$). همچنین، بررسی و مقایسه دوده‌دوی غلظت‌های مختلف با کلرهگزیدین و سیپروفلوکساسین در برابر رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس در روش چاهک پلیت نیز نشان داد که اختلاف تمام غلظت‌های گیاهی با کلرهگزیدین و سیپروفلوکساسین معنادار بود ($P < 0.001$). نتایج به‌دست‌آمده درباره اثر ممانعت از تشکیل بیوفیلم در نمودار ۳ مشاهده می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که از بین ترکیبات گیاهی، تنها در مریم‌گلی صددرصدی بیوفیلم تشکیل نمی‌شود.

مقایسه دوده‌دوی غلظت‌های مختلف در برابر کلرهگزیدین و سیپروفلوکساسین نشان می‌دهد که در همه غلظت‌ها بیشترین اختلاف متعلق به سیپروفلوکساسین است. اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد بین غلظت‌های ۸۰ درصد گزنه و ۲۰ درصد مریم‌گلی، ۶۰ درصد گزنه و ۴۰ درصد مریم‌گلی، ۵۰ درصد گزنه و ۵۰ درصد مریم‌گلی، ۴۰ درصد گزنه و ۶۰ درصد مریم‌گلی، و ۲۰ درصد گزنه و ۸۰ درصد مریم‌گلی با کلرهگزیدین برابر ۲۰/۶۶ واحد بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار است ($P < 0.001$). همچنین، اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد بین غلظت‌های ۸۰ درصد گزنه و ۲۰ درصد مریم‌گلی، ۶۰ درصد گزنه و ۴۰ درصد مریم‌گلی، ۵۰ درصد گزنه و ۵۰ درصد مریم‌گلی، ۴۰



نمودار ۳: بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم باکتری استرپتوکوکوس موتانس در برابر ترکیبات مورد مطالعه

بحث

در این مطالعه، به بررسی عصاره‌های خالص و ترکیبی دو گیاه گزنه و مریم‌گلی پرداخته شد. در تمام سه روش آزمایش شده (انتشار دیسک، چاهک پلیت و تشکیل بیوفیلم)، بیشترین اثربخشی مشاهده شده مربوط به عصاره صددردی گیاه مریم‌گلی علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود.

عصاره‌ها با غشای میکروب‌ها برهم‌کنش دارند و موجب تغییرات فیزیولوژیکی شدیدی در آن‌ها می‌شوند. مکانیسم فعالیت بیولوژیکی عصاره، به ویژگی آب‌گریز بودن اجزای شیمیایی سازنده آن، به‌ویژه مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترین‌ها مربوط می‌شود. مولکول‌های عصاره، به دلیل جری دوست بودن، به سادگی به غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها نفوذ می‌کنند و با اثر بر سیالیت، نفوذپذیری و یکپارچگی غشای سلول و اندامک‌ها و همچنین تغییر در مسیرهای متابولیکی، منجر به مرگ سلول می‌شوند [۱۷]. چهار ترکیب اساسی گیاه مریم‌گلی بتا-پینن، آلفا-مورولول، آلفا-پینن و ۸-ا-سینئول هستند. بتا-پینن و آلفا-پینن متعلق به گروه مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۸-ا-سینئول از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، و آلفا-مورولول از گروه سزکویی‌ترین‌های اکسیژن‌دار هستند [۱۸]. خاصیت ضدباکتریایی برخی از این ترکیبات نظیر ۸-ا-سینئول، توجون، کامفور، آلفا-پینن، بتا-پینن، سابینن و آلفا-ترپینئول، که در اسانس بخش هوایی گیاه مریم‌گلی مشهودی نیز وجود دارند، تأیید شده است [۱۹]. سنبل و همکاران، برهم‌کنش بین برخی از اجزای سازنده اسانس نظیر لینالول، ۸-ا-سینئول، آلفا-پینن، بتا-پینن، بتا-کاروفیلین و لیمونن را عامل مهمی در ایجاد خاصیت ضد میکروبی اسانس برخی از گونه‌های مریم‌گلی دانسته‌اند [۲۰]. با توجه به یافته‌های محققان در مطالعات گذشته درباره عملکرد ضد میکروبی مواد مؤثر گیاه مریم‌گلی، می‌توان تا حدودی نتیجه گرفت که تأثیر بازدارندگی گیاه مریم‌گلی بر استرپتوکوکوس موتانس در این بررسی، احتمالاً به حضور چشمگیر مونوترپن‌هایی نظیر بتا-پینن، آلفا-پینن، ۸-ا-سینئول و سزکویی‌ترین آلفا-مورولول در آن مربوط است. در مطالعه اقبال و همکاران [۱۴] اثر مهارکنندگی گیاه مریم‌گلی و پنیرک بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که آثار مهارکنندگی رشد این دهان‌شویه از کلرهگزیدین بیشتر است. در بررسی هاز و همکاران [۲۱] مشاهده شد که اسانس مریم‌گلی روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی آثار مهار رشد قابل ملاحظه‌ای دارد. در مطالعه ابریشم‌چی و همکاران [۱۸] به بررسی اثربخشی اسانس گیاه مریم‌گلی بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان پرداخته شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که عصاره گیاه مریم‌گلی اثربخشی چشمگیری بر رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارد، که مشابه نتایج این مطالعه است. در مطالعه بهشتی رویی و همکاران [۲۲] به بررسی اثربخشی دهان‌شویه حاوی عصاره مریم‌گلی بر پلاک دندانی پرداخته و مشخص شد در

گروهی که از دهان‌شویه حاوی عصاره مریم‌گلی استفاده کرده بودند، شمار کلنی در آن‌ها به‌طور معناداری کاهش یافته بود، که در این مطالعه نیز عصاره خالص مریم‌گلی بیشترین اثر ضدباکتریایی را روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس داشت.

تاکنون در مطالعات مشابه به بررسی اثربخشی گیاه گزنه بر میکروارگانیسم‌های دهانی پرداخته نشده است؛ اما عمده مطالعات تمرکز خود را روی میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده‌اند. در مطالعه حمزه زاده و امام جمعه [۲۳] مشاهده شد که افزودن عصاره گزنه منجر به ایجاد نواحی شفاف بازدارندگی در اطراف بیوفیلم‌ها شد و با افزایش غلظت عصاره، مساحت بازدارندگی افزایش یافت. در مطالعه نیک‌نژاد و اصغریان [۲۴] نیز مشاهده شد که گیاه گزنه اثربخشی مناسبی در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس دارد و مانع تشکیل بیوفیلم در این باکتری می‌شود، که تشابه این تحقیق با مطالعه ما فقط در نوع گرم مثبت بودن باکتری‌های مورد مطالعه بود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، با بررسی غلظت‌های خالص عصاره‌های دو گیاه مریم‌گلی و گزنه و غلظت‌های ترکیبی این دو گیاه در مقایسه با دهان‌شویه کلرهگزیدین و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مشخص شد که در هر سه روش بررسی شده (انتشار دیسک، چاهک پلیت و تشکیل بیوفیلم) اثربخشی سیپروفلوکساسین و کلرهگزیدین بیشتر از ترکیبات گیاهی است و در بین ترکیبات گیاهی نیز تنها عصاره صددردی مریم‌گلی اثربخشی مناسبی علیه استرپتوکوکوس موتانس دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از پرسنل محترم مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، که در این راه هدایتگر بنده بودند، کمال تشکر را دارم.

تضاد منافع

بنا بر اظهار نویسندگان، در این مقاله، تعارض منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

طرح تحقیقاتی این مطالعه، پس از تصویب در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و اخذ کد اخلاق (IR.NKUMS.REC.1402.108) در سال ۱۴۰۲، در شرایط آزمایشگاهی مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی اجرا شد.

References

- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray C, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. J Dent Res. 2015;94(5):650-8. [DOI:10.1177/0022034515573272] [PMID:25740856]
- Benjamin RM. Oral health: the silent epidemic. Public Health Rep. 2010;125(2):158-9. [DOI:10.1177/003335491012500202] [PMID:20297740]
- Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. Int Congress Series. 2005;1284:103-12. [DOI:10.1016/j.ics.2005.06.071]
- Fontana M, Gonzalez-Cabezas C. Evidence-based dentistry caries risk assessment and disease management. Dent Clin North Am. 2019;63(1):119-28. [DOI:10.1016/j.cden.2018.08.007]

- [PMID: 30447787]
5. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. *J Dent*. 2014;42(8):1010-8. [DOI: 10.1016/j.jdent.2014.05.006] [PMID: 24863939]
 6. Eladawi H. Inhibitory effect of grape seed extract (GSE) on cariogenic bacteria. *J Med Plant Res*. 2012;6(34):4883-91. [DOI: 10.5897/JMPR12.1011]
 7. Kshitiz P, Shipra Z, Rani S, Jayanti S. Anti-cariogenic effects of polyphenol plant products-a review. *Int J Res Ayurveda Pharm*. 2011;2(3):736-42. [Link]
 8. Casaroto AR, Lara VS. Phytomedicines for candida-associated denture stomatitis. *Fitoterapia*. 2010;81(5):323-8. [DOI: 10.1016/j.fitote.2009.12.003] [PMID: 20026192]
 9. Mohammadi IA, Esfahani MN, Hakimaneh SMR, Talei D, Bafandeh MA, Shayegh SS. Comparison of the effect of herbal mouthwashes and Chlorhexidine on gingival healing after crown lengthening surgery (A clinical trial). *J Mashhad Dent Sch*. 2020;44(3):248-58. [DOI: 10.22038/jmds.2020.45802.1871]
 10. Tusi SK, Jafari A, Marashi SMA, Niknam SF, Farid M. Effect of teucricum polium-containing chewing gum on reducing salivary *Streptococcus mutans* counts. *J Mashhad Dent Sch*. 2018;42:141-50. [DOI: 10.22038/jmds.2018.10889]
 11. Anil S, Anand PS. Early childhood caries: prevalence, risk factors, and prevention. *Front Pediatr*. 2017;5:157. [DOI: 10.3389/fped.2017.00157] [PMID: 28770188]
 12. Fontana M, Cabezas CG, Fitzgerald M. Cariology for the 21st Century. *J Mich Dent Assoc*. 2013;4:32-40.
 13. Iheozor-Ejiofor Z, Worthington HV, Walsh T, O'Malley L, Clarkson JE, Macey R, et al. Water fluoridation for the prevention of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015; 2015(6): CD010856.. [DOI: 10.1002/14651858.CD010856.pub2] [PMID: 26092033]
 14. Eghbal H, Mohammadi A, Mohammad Nejad Khiavi N, Ahmadi Sabegh M, Jahani N. Comparison of the antibacterial properties of essential oils of *malva sylvestris* and *salvia officinalis* on common bacteria of oral infection with chlorhexidine mouthwash. *J Mashhad Dent Sch*. 2021;45(3):217-29. [DOI: 10.22038/jmds.2021.54124.1983]
 15. Alfahdawi IH, Alsewidi WM, Jaber SA. Comparing the inhibitory effectiveness of *salvia officinalis* extracts and chlorhexidine (CHX) mouthwash on some oral bacterial species. *Lat Am J Pharm*. 2021;40:210-5. [Link]
 16. Ranaei M, Shakeri F, Pourabbas MR, Baqeri M, Moghaddam PZ. Evaluation of the combination of different concentrations of ethanolic extracts of mint (*menta iongifolia*) and licorice (*glycyrrhiza glabra*) on oral pathogens. *J Ilam Univ Med Sci*. 2024;32(4):87-98. [Link]
 17. Crevelin EJ, Caixeta SC, Dias HJ, Groppo M, Cunha WR, Martins CHG, et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Plectranthus neochilus* against cariogenic bacteria. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015(1):102317. [DOI: 10.1155/2015/102317] [PMID: 26161115]
 18. Mirza M, Bahernik Z, Jamzad Z. The extraction and identification of the essential oil constituents of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand. *Iran J Med Aromatic Plant*. 2003;19(2):117-24. [Link]
 19. Monfared A, Ghorbanli M. Composition of the essential oils of *Salvia leriifolia* Benth. growing wild in around of two mine in Iran. *Res J Phytochemistry*. 2010;4:13-7. [DOI: 10.3923/rjphyto.2010.13.17]
 20. Sonboli A, Babakhani B, Mehrabian AR. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *salvia*. *Z Naturforsch C J Biosci*. 2006;61(3-4):160-4. [DOI: 10.1515/znc-2006-3-401] [PMID: 16729570]
 21. Haznedaroglu MZ, Karabay NU, Zeybek U. Antibacterial activity of *salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia*. 2001;72(7):829-31. [DOI: 10.1016/S0367-326X(01)00335-5] [PMID: 11677025]
 22. Beheshti-Rouy M, Azarsina M, Rezaie-Soufi L, Alikhani MY, Roshanaie G, Komaki S. The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: a randomized clinical trial. *Iran J Microbiol*. 2015;7(3):173-7. [PMID: 26668706]
 23. Hamzeade Nakhjavani P, Emam-Djomeh Z. Evaluation of antimicrobial and physicochemical properties of the edible film based on sodium caseinate containing nettle extract. *Innovative Food Technol*. 2023;10(3):215-28. [DOI: 10.22104/ift.2022.5675.2109]
 24. Niknejad H, Asgharian A. Determination of antibacterial and antioxidant activity and identifying chemical compounds of *Urtica dioica* L. leaf essence as a potent antibacterial agent. *Pajoohande*. 2015; 20 (4) :234-9. [Link]