مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۴، فروردین ۱۳۹۵، صفحه ۲۰-۱۴

اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا(Aloe vera) و شیرین بیان (Glycyrrhiza glabra) بر روی باکتری های عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاهی

سیف اله برجیان بروجنی (MSc)[۱]، الهام کاوه باباحیدری(MSc)[۱]، سیف اله مرتضایی (MSc)[۲]، مسلم کریمیان(BSc)[۲]، مهسا شیرزاد (DDS)[۳]، مجید ولیدی (MSc)[۲*]

۱-گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲-مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۳-دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دریافت: ۹۴/۳/۱۱، اصلاح:۹۴/۴/۱۶، پذیرش:۹۴/۷/۶

خلاصه

سابقه و هدف: درمان دارویی پوسیدگی دندان احتمال واکنش‌های آلرژیک را تسهیل و مقاومت میکروبها به آنتی‌بیوتیکها را افزایش می دهد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی و تعیین ترکیبات فنلی موجود در عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا و شیرین بیان بر روی چهار باکتری عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه تجربی، عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه ورا و ریشه شیرین بیان به روش پرکولاسیون تهیه و پس ازتهیه سویه های استاندارد استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس سانگوئیس، اکتینومایسس ویسکوزوس و اثر ضد باکتریایی عصاره ها به روش میکروبراث دایلوشن تعیین گردید. همچنین غلظت ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فلاونولی موجود در عصاره این دو گیاه به روش OD متری تعیین گردید.

یافته ها: غلظت فنل تام، فلاونول و فلاونوئیدها عصاره آلوئه ورا بترتیب ۳۷،۳ و۱۰ میلیگرم/گرم و در عصاره شیرین بیان بترتیب ۳۶، ۷۸ و ۱۴ میلیگرم/گرم بود. میزان MIC و MBC عصاره شیرین بیان برای استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۰/۵ و۱، استرپتوکوکوس سالیواریوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵، استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۰/۱۲۵ و ۰/۵و اکتینومایس ویسکوزوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml محاسبه شد. میزان MIC وMBC عصاره آلوئه ورا استرپتوکوکوس موتانس بترتیب ۴ و۱۶، استرپتوکوکوس سالیواریوس بترتیب ۰/۵ و ۲، استرپتوکوکوس سانگوئیس بترتیب ۱ و۴و اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب۱و۲ mg/ml محاسبه گردید. MIC وMBC عصاره آلوئه ورا (۴و۱۶mg/ml) به طور معنی داری بیشتر از عصاره شیرین بیان (۰/۵و۱mg/ml) بود (p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره شیرین بیان با دارا بودن ترکیبات فنلی بیشتر نسبت به عصاره آلوئه ورا اثر ضد میکروبی روی باکتریهای مورد مطالعه داشته و مقاومت استرپتوکوکوس موتانس در مقابل عصاره های این دو گیاه بیش از ۳ باکتری دیگر بوده است.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی دندان، شیرین بیان، آلوئه ورا، استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس سانگوئیس.

مقدمه

پوسیدگی دندان ماهیتاً یک بیماری عفونی-میکروبی است که موجب حل شدن و تخریب بافتهای آهکی دندان میشود. درمان علامتی و ترمیمی بدون توجه به علت زمینه ساز بیماری، با شکست مواجه خواهد شد (۱). در این بیماری بافت سخت دندان(مینا و سپس عاج) در اثر ترشح اسید حاصل از باکتری‌های پوسیدگی‌زا، مواد معدنی کلسیم و فسفر را از دست داده و به تدریج از بین می‌روند (۲). درمان و پیشگیری از پوسیدگی دندان با آنتی‌بیوتیکها و استروئیدها پتانسیل اکسیداسیون -احیا بزاق را تغییر داده، فعالیت لیزوزیم را ضعیف و شرایط ایجاد واکنش های آلرژیک را تسهیل نموده و باعث کاهش مقاومت بدن نسبت به عوامل پاتوژنیک می گردند. طب سنتی ایران از پایه های قدیمی علم طب و اطلاعات حاوی گرانبها در بکارگیری گیاهان در درمان بیماریها میباشد، حفظ سلامت دهان و دندان درطب سنتی ایران مطرح بوده و در کتب معالجات، فصلی به بیماری های دهان و دندان اختصاص داده شده است. لذا با توجه به روش های درمان دارویی طب سنتی ایران، یافتن منابع نوین دارویی از مراجع این دانش در درمان بیماریهای دهان و دندان ضروری به نظر می رسد (۳). در سالهای اخیر انجام تحقیقات بر روی مواد موثره داروئی گیاهان و تاثیر آنها بر عوامل بیماریزای میکروبی، در مراکز تحقیقات گیاهان داروئی در سراسر جهان و بویژه کشورما ایران رو به افزایش میباشد (۴). در بین گیاهان دارویی سنتی، ریشه و ساقه شیرین بیان (Glycyrrhiza glabra) و برگ آلوئه ورا (Aloe vera) اغلب بعنوان گیاهان دارای خواص ضد میکروبی معرفی شده و مورد تحقیق و کاربرد درمانی قرار گرفته اند. شیرین‌بیان در اکثر نقاط ایران خصوصاً در شهرستان اقلید و نواحی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۰۴ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.

*مسئول مقاله: مجید ولیدی
آدرس: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی. تلفن: ۳۳۳۴۶۶۹۲-۰۳۸
E-mail:validi543@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

شرقی و شمال شرقی و همچنین آذربایجان به فراوانی می‌روید. قسمت مورد استفاده شیرین بیان ساقه‌های زیرزمینی و ریشه‌های گیاه است که دارای ترکیبات مختلفی است. درطب سنتی از این گیاه برای درمان اسپاسم عضلات، تورم، برونشیت، روماتیسم و ورم مفاصل استفاده می‌شود. امروزه نیز عصاره شیرین بیان یکی از اجزاء ترکیبی شربت سرفه به شمار می‌رود. شکل طبیعی این ماده، در درمان زخمهای دهان ودستگاه گوارشی مفیداست. شیرین بیان همچنین مدر (ادرارآور) و ملیّن است و می‌توان از آن به عنوان عامل ضد ویروس موضعی برای زخم و التهاب زونا، چشم، دهان و دستگاه تناسلی استفاده کرد. مهم‌ترین خاصیت شیرین بیان، تاثیر بر دستگاه گوارش است. این گیاه درمان‌کننده ورم و زخم معده و اثنی‌عشر است و بر روی سرطان معده تأثیر مطلوب دارد. همچنین برای درمان سوء هاضمه و از بین بردن نفخ شکم مفید است (۶و۵). آلوئه ورا (Aloe vera) یک گیاه بادوام با گلهای زرد است که تنها برگهای این گیاه ارزش دارویی دارند. این گیاه دارویی در درمان آرتریت، آسم، سندرم خستگی مزمن، سوء هاضمه و اختلالات روده ای، بیماری های پوستی، صرع، میگرن و غیره مفید است. ژل گیاه صبر زرد به صورت موضعی برای درمان سوختگی های خفیف، جراحات پوستی، آکنه و التهاب مخاط دهان نیز کاربرد دارد(۸و۷). استرپتوکوکوس‌های ویریدانس بویژه استرپتوکوکوس‌های موتانس، سانگوئیس و سالیواریوس و اکتینومایسس ویسکوزوس جزء عوامل ایجادکننده پوسیدگی دندان و عفونتهای لثه و متعاقب عفونتهای قلبی و عروقی نیز معرفی شده اند و با توجه به اینکه رعایت بهداشت دهان و دندان در سلامت بدن انسان از اهمیت ویژه ای برخوردار است و از طرفی با توجه به رویکرد سالهای اخیر مسئولین و سیاستگزاران بهداشت و درمان اغلب کشورهای جهان و بویژه کشور عزیزمان ایران، به تولید و استفاده از مواد دهان شویه، خمیر دندانها و داروهای گیاهی در حفظ سلامت دهان و دندانها و پیشگیری از پوسیدگی دندان و عفونتهای لثه و عوارض سیستمیک بویژه عفونتهای قلبی و عروقی ناشی از آن و همچنین فراوانی، ارزان بودن و امکان تهیه این دو گیاه در کشور ما و از آنجائیکه استفاده از عصاره های این گیاهان در ترکیب خمیر دندانها و داروها می‌تواند در حفظ سلامت دهان و دندانها و پیشگیری از عوارض ناشی از عفونتهای مربوطه مفید و موثر واقع شود. لذا از این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه ورا (Aloe vera) و ریشه شیرین بیان(Glycyrrhiza glabra) برروی باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان شامل استرپتوکوکوس موتانس (*Streptococcus mutans*)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (*Streptococcus salivarious*)، استرپتوکوکوس سانگوئیس (*Streptococcus sanguis*) و اکتینومایسس ویسکوزوس (*Actinomyces viscosus*) در شرایط آزمایشگاهی و تعیین میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فلاونولی موجود در عصاره این دو گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

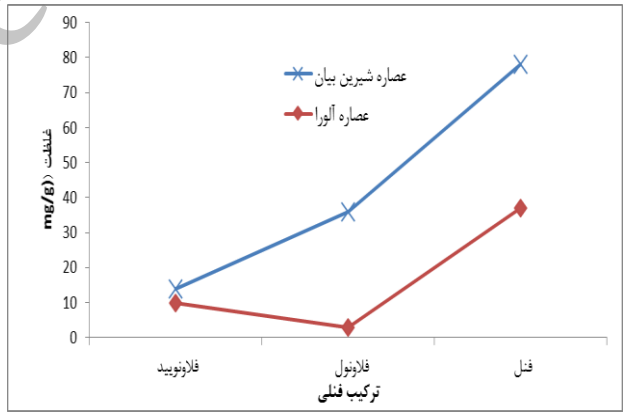
این مطالعه تجربی پس از تهیه برگ آلوئه‌ورا و ریشه شیرین بیان و تائید توسط کارشناس کشاورزی انجام شد. عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام شد. ۱۰۰ گرم از هر گیاه جداگانه خشک، آسیاب و پودر گردید. ۱۰۰ گرم پودر خشک شده را با ۵۰۰سی سی اتانول ۷۰ درصد مخلوط و ۲۴ ساعت در دمای اتاق انکوبه کرده، سپس عصاره بدست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده و به دستگاه روتاری وارد شده و عصاره بدست آمده در دمای ۵۰درجه سانتی گراد خشک شد. سپس از هرکدام از عصارهای تهیه شده بطور جداگانه، محلول ذخیره با غلظت ۳۲ میلیگرم/میلی لیتر در حلال ۲۰درصد دی متیل سولفاکساید (DMSO) مخلوط در آب مقطر تهیه و پس از استریل نمودن آن با استفاده از فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرومتری، برای انجام مراحل تحقیق بکار گرفته شد. برای تعیین غلظت ترکیبات فنلی تام بر اساس روش sherafati و همکاران (۱۰)، به ۰/۱ میلی لیتر از عصاره رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درجه)، مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو افزوده و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۰/۴ میلی لیتر از کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اطاق جذب نمونه ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف اسید گالیک تهیه و مانند روش فوق منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل تام هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۱۲و۱۱). غلظت ترکیبات فلاونوئید نیز بر اساس روش Asadi و همکاران با کمی تغییرات انجام شد. همزمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونوئید هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۱۳). جهت اندازه گیری ترکیبات فلاونولی ۰/۵ میلی لیتر از محلول هر عصاره (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درجه) با ۰/۵ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۲٪ مخلوط و مقدار ۳ میلی لیتر استات سدیم ۵٪ به آنها اضافه گردید. پس از ۲/۵ ساعت جذب نمونه ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونول هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۱۴). باکتریهای استرپتوکوک موتانس PTCC1683، استرپتوکوک سانگوئیس PTCC1449، استرپتوکوکوس سالیواریس PTCC 1448 و اکتینومایسس ویسکوزوسوس PTCC 1202 از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. سری کاهنده ۱۲ تائی میکروپلیت و لوله آزمایش از غلظت ۱۶ mg/ml تا غلظت ۸ میکرو گرم/میلی لیتر مخلوط عصاره در محیط کشت مولر هینتون براث (Muller Hinton broth, Merck) همراه با دو محلول نیز برای کنترل مثبت و منفی در هر سری فراهم گردید و پس از کشت اولیه باکتری های مورد مطالعه در محیطهای کشت Sheep Blood Agar و BHI Agar ، و طبق استانداردهای(Clinical Laboratory Standards Institute, 2006, M7-A4.USA) (۱۵)، هر یک از عصارهای فوق برروی هرکدام از باکتریهای مورد تحقیق در دو نوبت با روش میکروبراث دایلوشن (micro broth dilution) و در یک نوبت در یک سری ۱۲ تائی لوله های آزمایش کشت داده شد و نتایج آن تعیین و ثبت گردید. در این خصوص به طور جداگانه از کلنی باکتریهای مذکور سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه نموده سپس به هر یک از چاهک های پلیت الیزا ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده اضافه گردید و بعد از انکوبه کردن پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در شرایط Candle jar، از طریق تهیه سری رقتهای هریک از عصاره ها همراه با محیط کشت مایع MHB و افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هرباکتری و

Archive of SID
www.SID.ir

انکوباسیون در حرارت ۳۷درجه سانتی گراد بمدت ۴۸ ساعت دیگر و در شرایط Candle jar، میزان جذب نوری (OD) هریک از چاهک‌های میکرو پلیت یا لوله آزمایش توسط دستگاه ELISA reader (مدلUSAstatfax2100) در طول موج ۶۳۰ نانومتر بررسی و غلظت اولین چاهکی که رشد در آن مشاهده نگردید بعنوان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری Minimal Concentration(MIC) Inhibitory توسط عصاره ها ثبت شد.سپس از محتویات هریک از چاهک ها و برای هر باکتری و عصاره ها بطور جداگانه کشت و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون ، اولین غلظتی از عصاره که در پلیت رشدی از باکتری نداشت، به عنوان حداقل کشندگی Minimal Bactericidal Concentration (MBC) عصاره برای آن باکتری منظور گردید. توسط آزمون آماری کروسکال-والیس اختلاف MBCوMIC بین گروههای باکتریها ارزیابی و اندازه گیری شد.

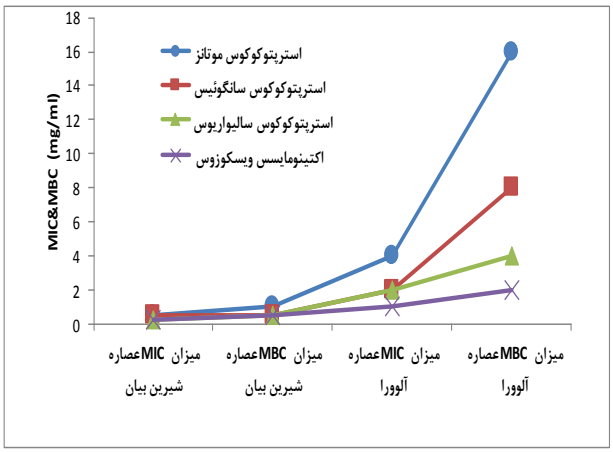
یافته ها

نتایج حاصل از این تحقیق نشان میدهد که غلظت فنل تام و فلاونول در عصاره ریشه و ساقه گیاه شیرین بیان بطور چشمگیری بیش از عصاره برگ گیاه آلوئه ورا بوده است و در مورد غلظت فلاونوئیدها نیز عصاره شیرین بیان غنی تر می باشد. بطوری که، میزان غلظت فنل تام، فلاونول و فلاونوئیدها در هر گرم از عصاره خشک آلوئه ورا بترتیب ۳۷، ۳ و ۱۰ میلیگرم و در هر گرم از عصاره خشک شیرین بیان بترتیب ۷۸، ۳۶ و ۱۴ میلی گرم بوده است (نمودار ۱).



نمودار ۱. میزان غلظت ترکیبات فنلی(فنل تام،فلاونوئیدها و فلاونول) عصاره های ریشه و ساقه شیرین بیان و برگ آلوئه ورا (برحسب میلیگرم/گرم از عصاره خشک)

در ضمن میزان MIC و MBC عصاره شیرین بیان برای استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۰/۵ و ۱ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سالیواریوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۰/۱۲۵ و۰/۵ mg/ml و برای اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml مشاهده شد. همچنین میزان MIC و MBC عصاره آلوئه ورا نیز برای استرپتوکوکوس موتانس بترتیب ۴ و ۱۶، برای استرپتوکوکوس سالیواریوس بترتیب ۰/۵و ۲ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سانگوئیس بترتیب ۱ و ۴ mg/ml وبرای اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۱ و ۲ mg/mlمشاهده شد (نمودار ۲). MIC و MBC عصاره آلوئه ورا (۴و۱۶mg/ml) به طور معنی داری بیشتر از MIC وMBC عصاره شیرین بیان (۰/۵ و۱ mg/ml) بود (p<۰/۰۵). کمترین میزان MIC عصاره شیرین بیان (۴ mg/ml) درمورد استرپتوکوک موتانس وکمترین میزان MICعصاره آلوئه ورا(۰/۵ mg/ml) درمورد استرپتوکوکوس سالیواریوس بود.



نمودار ۲. میزان حداقل غلظتهای مهار کنندکی رشد (MIC) و کشندگی(MBC) عصاره ریشه و ساقه شیرین بیانو برگ آلوئه ورا بر روی باکتریهای مورد تحقیق برحسب میلیگرم/میلی لیتر

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که غلظت فنل تام و فلاونول در عصاره ریشه و ساقه گیاه شیرین بیان بطور چشمگیری بیش از عصاره برگ گیاه آلوئه ورا بوده است. همچنین در رابطه با بررسی حداقل غلظتهای مهار کنندگی رشد(MIC) و حداقل غلظتهای کشندگی (MBC) این دو عصاره بر روی چهار باکتری عامل پوسیدگی دندان مورد مطالعه نیز حاکی از این موضوع است که هر دو عصاره دارای اثرات باز دارندگی رشد و اثر کشندگی بر باکتریهای این تحقیق بوده اند . مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره شیرین بیان و آلوئه ورا نشان می دهد که اثر ضد باکتریایی عصاره شیرین بیان برروی این باکتریها بویژه بر روی استرپتوکوکوس موتانس بسیار بیشتر از اثر آلوئه ورا بوده که ارتباط مستقیم با میزان غلظت مواد ضد باکتریایی موجود در این دو عصاره داشته است.

در بین باکتریهای مورد مطالعه مقاومت استرپتوکوکوس موتانس در مقابل اثرضد باکتریایی عصاره شیرین بیان و آلوئه ورا بیش از باکتریهای استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس گزارش شد. در تحقیق مشابهی نتایج نشان داد که با غلظت ۲۵ میکروگرم در دیسک بر روی اشریشیاکلای و با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر دیسک برروی استافیلوکوکوس اورئوس و با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر دیسک بر روی دوباکتری باسیلوس سوبتیلیس و سودوموناس آئروژینوزا موثر بوده است (۱۶). Jothi در مطالعه خود گزارش نمود که عصاره های ۱تا ۵ گرم در لیتر برگ آلوئه‌ورا بترتیب بین ۹۷ تا ۹۹/۱ درصد اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری گرم مثبت داشته است (۱۷). همچنین در تحقیق دیگری که توسط Etusim و همکاران انجام شده عصاره آبی و الکلی برگ، ساقه و ریشه آلوئه‌ورا با ۱۴/۵ میلیمتر ناحیه عدم رشد بر روی پسودو موناس و با ۱۶ میلیمتر بر روی سالمونلا و با ۱۷/۵ میلیمتر بر روی

Archive of SID
www.SID.ir

پروتئوس موثر بوده است (۱۸). در مطالعه ای که توسط Keithwas و همکاران انجام شد عصاره آلوئه ورا بر روی باکتری‌های اشرشیاکلای، استافیلوکوک اپیدرمیس، سالونلا تیفی موریوم، اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، انتروکوک فکالیس، پروتئوس ولگاریس و سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر مهاری بوده(۱۵). نتایج مطالعه Jebashree و همکاران نیز نشان داد که عصاره های اتانولی، متانولی، هگزانی و اتیل استاتی گواوا، هلیله، Mimusopselengi و Achyrantheaaspera بر روی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکنس دارای خاصیت ضد باکتریایی می باشند (۱۹).

در تحقیق Shirazi و همکاران نیز اثر ضد باکتریایی عصاره شیرین بیان بر روی سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفی B، شیگلا سونئی، شیگلا فلکسنری و اشریشیاکلای انتروتوکسیژن گزارش شد (۲۰). در مطالعه Sedighiniya و همکارانش میزان MIC و MBC عصاره ریشه شیرین بیان بر روی استرپتوکوکوس موتانز، استرپتوکوکوس سانگوئیس، اکتینو ماسس ویسکوزوس، به ترتیب ۱۲/۵و۱۲/۵، ۵۰و۵۰، ۱۲/۵و۱۲/۵ میلی گرم/میلی لیترگزارش شد (۲۱). در مطالعه Dilip George و همکارانش با مطالعه اثر ضدمیکروبی خمیر دندانهای تجارتی و خمیر دندان حاوی عصاره آلوئه ورا برروی استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، انتروکوکوس فکالیس، پروتلا اینترمدیا و کاندیدا آلبیکنس به روش دیسک دیفیوژن نشان دادندکه عصاره آلوئه ورا باعث افزایش اثرضدباکتریایی برروی باکتریهای مذکور میگردد.در مطالعه Bertolini و همکارانش اثر ضد میکروبی مسواک حاوی عصاره آلوئه بروی استرپتوکوکوس موتانز نشان داد که عصاره این گیاه باعث کاهش آلودگی مسواکها با این باکتری میگردد (۲۲). نتایج تحقیق حاضرنشان دهنده خواص ضد باکتریایی غلظتهای مختلف عصاره این دو گیاه بر روی انواع مختلف باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد که این تفاوت غلظت تاثیر، می‌تواند ناشی از تفاوت خواص فیزیولوژیک انواع مختلف باکتریها با یکدیگر باشد اینکه این گیاهان با چه مکانیسمی اثر ضد باکتری اعمال می کنند مشخص نیست ولی اثر ضد باکتری و ضد انگل بسیاری از گیاهان به ترکیبات فنلی ارتباط داده شده است (۲۶-۲۳). میزان ترکیبات فنلی در این دو گیاه مورد آزمایش نسبتا بالا بود، لذا ممکن است اثر آنها ناشی از ترکیبات فنلی گیاه باشد. اگر قبول کنیم که ترکیبات فنلی خاصیت ضد میکربی دارند پس بسیاری گیاهان دیگر که محتوی این ترکیبات هستند (۳۰-۲۷) بایستی خاصیت ضد میکروبی داشته باشند که لازم است مورد بررسی قرار گیرند.

با توجه به در دسترس بودن گیاهان فوق بویژه شیرین بیان در کشور ما و بخصوص در دامنه‌های زاگرس و امکان تهیه آن با هزینه های کمتر نسبت به داروهای دیگر و همچنین توجه به خواص پودر و عصاره‌های مربوطه، ممکن است نتایج این گونه تحقیقات مورد توجه محققین و متخصصین و تولید کنندگان داروها قرار گیرد تا در صورت تهیه آن به شکل دارو یا خمیر دندان، بتواند در زمینه مقابله با عفونتهای ناشی از این باکتریها مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به دلیل حمایت مالی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهت همکاری در انجام تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

The Antibacterial Effects of the Hydroalcoholic Extracts of Aloe Vera and Glycyrrhiza Glabra against Cariogenic Bacteria InVitro

S. Borjian Brojeni (MSc)[1], E. Kaveh Babaheydari (MSc)[1], S. Mortezaei (MSc)[2], M. Karimian (BSc)[2], M. Shirzad (DDS)[3], M. Validi (MSc)*[2]

1.Department of Microbiology and Immunology, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
2.Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
3.Faculty of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(4); Apr 2016; PP:14-20
Received: Jun 1th 2015, Revised: Jul 7th 2015, Accepted: Sep 28th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Medical treatment of tooth decay is associated with the possibility of allergic reactions and increased bacterial resistance to antibiotics. This study aimed to evaluate the phenolic compounds and antimicrobial effects of the hydroalcoholic extracts of Aloe vera and *Glycyrrhiza glabra* against four cariogenic bacteria in vitro.

METHODS: In this empirical study, hydroalcoholic extracts of *Aloe vera* and *Glycyrrhiza glabra* were obtained using the percolation method. Then preparing standard strains of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*. Antibacterial activity of extracts were determined by micro broth dilution method. Concentration of phenolic compounds, flavonols and flavonoid were determined using the optical density (OD) method.

FINDINGS: In this study, total phenolic content and concentrations of flavonols and flavonoids were 3, 37 and 10 mg/g in the Aloe vera extract, respectively, while they were 36, 78 and 14 mg/g, respectively in the extract of *Glycyrrhiza glabra*. Regarding the frequency of cariogenic bacteria, MIC and MBC of the *Glycyrrhiza glabra* extract for *Streptococcus mutans* were 0.5 and 1 mg/ml, respectively, while they were 0.25 and 0.5 mg/ml for *Streptococcus salivarius*, 0.125 and 0.5 mg/ml for *Streptococcus sanguinis*, and 0.25 and 0.5 mg/ml for *Actinomyces viscosus*, respectively. Moreover, MIC and MBC of the Aloe vera extract were 4 and 16 mg/ml for *Streptococcus mutans*, 0.5 and 2 mg/ml for *Streptococcus salivarius*, 1 and 4 mg/ml for *Streptococcus sanguinis*, and 1 and 2 mg/ml for *Actinomyces viscosus*, respectively. MIC and MBC of *Aloe Vera* extract (4 and 16 mg/ml) was significantly higher than the *Glycyrrhiza glabra* extract (0.5 and 1 mg / ml) ($p<0.05$).

CONCLUSION: According to the results of this study, the hydroalcoholic extract of *Glycyrrhiza glabra* exerted greater antibacterial effects against the studied bacteria compared to the Aloe vera extract due to the higher concentration of phenolic compounds. In addition, *Streptococcus mutans* showed higher resistance against the herbal extracts compared to the other bacteria.

KEY WORDS: *Tooth decay, Glycyrrhiza glabra, Aloe vera, Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguinis.*

Please cite this article as follows:

Borjian Brojeni S, Kaveh Babaheydari E, Mortezaei S, Karimian M, Shirzad M, Validi M. The Antibacterial Effects of the Hydroalcoholic Extracts of Aloe Vera and Glycyrrhiza Glabra against Cariogenic Bacteria InVitro. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(4):14-20.

***Corresponding Author: M. Validi (MSc)**
Address: Medical Plants Research Center, Faculty of Medicin, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
Tel: +98 38 33346692
E-mail: Validi543@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Theondor MR, Harold OH, Ward J, Swift JR. Art and science of operativedentistry. 5th ed. St. Louis , Missouri: Mosby Elsevier;2006:67-70.

2.Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. Critical Rev in Oral Biology & Medicine. 2002;13(2):108-25.

3.Walsh LJ: The current status of low leve laser therapy in dentistry. Aust Dent J;1997; 42(4):247-54.

4.Bahmani M, Shirzad H, Majlesi M, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2014;7:S43-53.

5.Akhondzadeh S. Encyclopedia of Iranian Medicinal Plants. Institute of Medicinal Plants Jahade-Daneshgahi. Arjmand publication; Iran;2000: 82. .

6.Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Jeloudari M, Eftekhari Z, Delfan B, Zargaran A, et al. A review of the health effects and uses of drugs of plant licorice (Glycyrrhiza glabra L.) in Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2014;4:847-9.

7.Baradaran A, Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe Vera on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. La Clinica terapeutica. 2013;165(1):7-11.

8.Zargari A. Pharmaceutical plants. Volume 1. Tehran university Press;1997: 637-42.

9.Kermanshah H, Hashemi Kamangar S, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinegad M, Karimi M. Comparison of Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of Four Plants against Cariogenic Microorganisms by two in Vitro Methods. J Babol Univ Med Sci. 2011;13(6):21-9.

10.Sharafati-Chaleshtori R, Sharafati-Chaleshtori F, Rafieian M. Biological characterization of Iranian walnut (Juglans regia) leaves. Turk J Biol. 2011;35(5):635-9.

11.Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. Journal of medicinal food. 2011;14(9):969-74.

12.Rabiei Z, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. Neurochemical research. 2014;39(2):353-60.

13.Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Ezzati S, Zamiri A, Mohammadizadeh F, et al. Effect of green tea (Camellia sinensis) extract on healing process of surgical wounds in rat. International Journal of Surgery. 2013;11(4):332-7.

14.Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (Camellia sinensis) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. International Journal of Surgery. 2013;11(9):811-5.

15.Keithwas G, Kumar A, Himanshum P, Kumar A, A., Singh M. .Investigation of comparative antimicrobial activity of Aloe vera and Juice. Pharmacologyonline. 2008;1:239-43.

16.Dilip G, Sham S, Bhat., n B, Antony. . Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of aloe vera tooth gel and two popular commercial toothpastes: An in vitro study. . Dental Materials. 2009:238-41.

17.Jothi D. Experimental study on antimicrobial activity of cotton fabric treated with aloe gel extract from Aloe vera plant for controlling the Staphylococcus aureus (bacterium). African Journal of Microbiology Research. 2009;3(5):228-32.

18.Etusim P, Okafor E, Nwachukwu N, Melariri P, Ogbonnaya C. A Study on Antibacterial activities of Aloe vera Leaves, Stems and Roots on some selected organisms. Asian Journal of Research In Chemistry. 2013;6(6):570-2.

Archive of SID

www.SID.ir

19.Jebashree HS, Kingsley SJ, Sathish ES, Devapriya D. Antimicrobial activity of few medicinal plants against clinically isolated human cariogenic pathogens—An in vitro study. ISRN dentistry. 2011;2011.
20.Shirazi M, Ranjbar R, Eshraghi S, Sadeghi G, Jonaidi N, Bazzaz N, et al. An evaluation of antibacterial activity of Glycyrrhiza glabra extract on the growth of Salmonella, Shigella and ETEC E. coli. Journal of Biological Sciences. 2007;7(5):827-9.
21.Sedighinia F, Afshar AS. Antibacterial activity of Glycyrrhiza glabra against oral pathogens: an in vitro study. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2012;2(3):118.
22.Bertolini PFR, Biondi Filho O, Pomilio A, Pinheiro SL, Carvalho MSd. Antimicrobial capacity of Aloe vera and propolis dentifrice against Streptococcus mutans strains in toothbrushes: an in vitro study. Journal of Applied Oral Science. 2012;20(1):32-7.
23.Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Hassanzadazar H, Saki K, Karamati SA, Delfan B. A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2014;7:29-33.
24.Amirmohammadi M, Khajoenia S, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Eftekhari Z, Qorbani M. In vivo evaluation of antiparasitic effects of Artemisia abrotanum and Salvia officinalis extracts on Syphacia obvelata, Aspiculoris tetrapetra and Hymenolepis nana parasites. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2014;4:S250-S4.
25.Karamati SA, Hassanzadazar H, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. Herbal and chemical drugs effective on malaria. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2014;4:S599-S601.
26.Bahmani M, Saki K, Rafieian-Kopaei M, Karamati SA, Eftekhari Z, Jelodari M. The most common herbal medicines affecting Sarcomastigophora branches: a review study. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2014;7:14-21.
27.Shirzad H, Kiani M, Shirzad M. Impacts of tomato extract on the mice fibrosarcoma cells. J HerbMed Pharmacol. 2013;2(1):13-6.
28.Madihi Y, Merrikhi A, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Ansari R, et al. Impact of Sumac on postprandialhigh-fat oxidative stress. 2013.
29.Shirzad H, Shahrani M, Rafieian-Kopaei M. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo. Int Immunopharmacol. 2009;9(7-8):968-70.
30.Sahinfard N, Namjoo A, Arami R, Rafieian M, Baradaran A, Nasri H, et al. Remedial effect of boswellia serrataon thermal burn injuries. Shiraz E-Med J. 2015;16(1):e26239.

Archive of SID

www.SID.ir