Archive of SID

بررسی اثرضدمیکروبی سه عصاره اتانولی، متانولی و آبی گیاه چای سبز در مقایسه با دهان شویه کلرهگزیدین بر سوش ایرانی باکتری استرپتوکوکوس میوتانس PTCC1683

امیرسینا گل محمدی[۱]، دکتر هاله کاظمی یزدی[#۲]، دکتر نگین نصوحی[۲]

۱- دانشجوی دندان پزشکی، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران
۲-استادیار بخش گروه ترمیمی، دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

وصول مقاله: ۹۸/۹/۱۸ اصلاح نهایی : ۹۸/۱۱/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۸/۱۱/۱۲

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

AmirSina Golmohammadi[1], Haleh Kazemi Yazdi*[2], Negin Nasoohi[2]

[1]Ph.D. Student of Dentistry, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Assistant professor, Restorative Dentistry Dept, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received:Dec 2019 ; Accepted: Jan 2020

Abstract

Background and aim: Dental caries is a major health problem nowadays. polyphenolic compounds of tea can exert its anti-cariogenic effects by affecting the cariogenic Streptococcus Mutans bacteria. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of ethanolic, methanolic and aqueous extracts of green tea in comparison with chlorhexidine on Iranian strain of this bacteria.

Materials and Methods: 10 g of green tea powder was dissolved in 100 mg of ethanol, methanol and aqueous solvents separately. After one week, the obtained solutions were filtered and 100mg / ml solution was extracted. to evaluate the diameter of inhibition, zone The Swabs impregnated with suspension scrubbed on culture medium. the extracts were injected onto special paper discs and the impregnated disks were placed on the bacterial culture media, plates were kept in the incubator for 24 hours at 37 °C and then the diameter of inhibition zones was calculated. Using Muller Hinton Broth, herbal extracts were made at concentrations 1:2 (50 mg/ml) and 1:4 (25 mg/ml) and 1:8 (12.5 mg/ml) and 1:16 (6.25 mg/ml) and 1:32 (3.125 mg/ml). Then, 100 µl microbial suspensions made by standard McFarland 0.5 were transferred to all test tube. The test tubes were placed in an incubator at 37°C for 24 hours. After 1 day, contents of all test tubes were separately cultured on Muller Hinton Broth medium. The culture media were incubated at 37°C for 1 day. The results were evaluated in the form of growth or non-growth of bacterial colonies on culture media and MBC and MIC were determined. ANOVA and Post hoc test was used for statistical analyze with SPSS Software.

Results: Experimental results after three iterations showed mean values of 16.16, 16.66, 12.5 and 17.5 mm for diameter of the inhibition zone of ethanolic, methanolic and aqueous extracts and chlorhexidine 0.2%, as control. Also, at the significant level of 0.05, there was no significant difference between the diameter of the inhibition zone of ethanol, methanol and chlorhexidine extracts. ($p>0.05$)The Aqueous Extract Showed Significant difference with other Extracts. MBC Reported 12.5mg/ml for Ethanolic and 50mg/ml for two other extracts. MIC Reported 6.25mg/ml for ethanolic and 25mg/ml for two other extracts.

Conclusion: The results showed that the antimicrobial effects of ethanolic and methanolic extract of Iranian green tea are higher than aqueous extract and there is no significant difference between these two extracts with Chlorohexidine.

Keywords: green tea, Streptococcus Mutans, zone of inhibition, MIC, MBC

***Corresponding Author:** HMSCRES.ky@gmail.com

J Res Dent Sci. 2020; 17(1): 17-24

www.SID.ir

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر هاله کاظمی تلفن: ۲۲۵۶۴۵۷۱ داخلی ۱۴۵ پست الکترونیک: HMSCRES.ky@gmail.com

Archive of SID

خلاصه:

سابقه وهدف: امروزه پوسیدگی دندانی به عنوان یک مشکل بزرگ بهداشتی مطرح است. ترکیبات پلی فنولی چای اثرات ضد پوسیدگی خود را با تاثیر بر باکتری پوسیدگی زای استرپتوکوکوس موتانس نشان میدهد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز در مقایسه با کلر هگزیدین، برسوش ایرانی این باکتری میباشد.

مواد و روش ها: ۱۰ گرم از پودر چای سبز در ۱۰۰ میلی گرم حلال های سه گانه حل گردید. پس از گذشت ۷ روز محلول ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ها تهیه گردید. جهت بررسی قطر هاله عدم رشد ابتدا سواپ آغشته به سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط کشت باکتری اسکراب شده و سپس دیسک های کاغذی مخصوص توسط عصاره ها آغشته شده و بر روی محیط کشت باکتری قرار گرفته ، پلیت های محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و سپس قطر هاله های عدم رشد محاسبه گردید. با استفاده از محیط کشتBroth Muller Hinton رقت های ۱:۲ (۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و ۱:۴ (۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و ۱:۸ (۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و ۱:۱۶ (۶,۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و ۱:۳۲ (۳/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره ها تهیه گردید . میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که به روش استاندارد۰/۵ McFarland تهیه شده بود به تمام لوله های ازمایش منتقل گردید. و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند . محتوای تمام لوله های ازمایش به صورت جداگانه روی محیط کشت Muller Hinton Broth کشت داده شدند. محیط های کشت به مدت ۱ روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و نتایج حاصل به شکل رشد یا عدم رشد کلونی باکتری ها روی محیط های کشت مورد بررسی قرار گرفتند و شاخص های MBC و MIC عصاره ها تعیین گردید. آزمون های آماری ANOVA و Post hocجهت بررسی آماری طول هاله های عدم رشد توسط نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته ها: قطر هاله عدم رشد برای عصاره اتانولی برابر ۱۶/۱۶ میلی متر ، برای عصاره متانولی برابر ۱۶/۶۶ میلی متر، برای عصاره آبی برابر ۱۲/۵ میلی متر وبرای کلروهگزیدین ۰/۲٪ برابر ۱۷/۵میلی متر نشان داد. همچنین در سطح معنی داری ۰/۰۵ ، بین قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی، متانولی و کلرهگزیدین تفاوت معنی دار مشاهده نگردید.(P>۰/۰۵) تفاوت معنی داری بین هاله عدم رشد عصاره آبی با سایر عصاره ها رویت گردید. شاخص MBC برای عصاره اتانولی برابر ۱۲/۵ mg/ml و برای دوعصاره دیگر برابر ۵۰ mg/ml و شاخص MIC برای عصاره اتانولی برابر ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای دوعصاره دیگر ۲۵ mg/ml برابر رویت گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد اثرات میکروب کشی و مهارکنندگی رشد باکتری عصاره های اتانولی و متانولی چای سبز ایرانی نسبت به عصاره آبی بیشتر بوده و طول هاله های عدم رشد این دو عصاره تفاوت معنی داری با کلروهگزیدین ندارند.

کلید واژه ها: چای سبز، استرپتوکوکوس موتانس، هاله عدم رشد، MIC، MBC

مقدمه:

پوسیدگی دندانی امروزه به عنوان یکی از بزرگترین و مهم ترین مشکلات بهداشتی در کودکان و بزرگسالان به شمار می رود . در میان عوامل مختلف ایجاد پوسیدگی، باکتری های پوسیدگی زا دارای نقش بارزی می باشد. از مهم ترین باکتری های موثر بر فرایند پوسیدگی می توان به استرپتوکوکوس موتانس اشاره کرد. این باکتری به عنوان عامل اولیه مسبب پوسیدگی دندانی شناخته می شود. [۱]

پوسیدگی دندانی به عنوان یک مشکل بهداشتی می تواند در نهایت سبب درگیری پالپ دندان و عفونی شدن آن شود که در صورت عدم درمان به موقع حتی ممکن است دندان مبتلا نیاز به کشیده شدن داشته باشد که این مشکل مستقیما روی کیفیت زندگی بیماری (Quality Of Life) بیمار اثر منفی خواهد داشت.[۲]

مطالعات در ایران بیانگر سطوح بالای شاخص DMFT هستند. در مطالعه ای درسال ۲۰۰۶ بر روی ۸۳۰۱ مرد و زن در ایران

www.SID.ir

Archive of SID

این افراد به طور میانگین دارای ۲/۶±۲/۷ دندان پوسیده بوده اند که این امار نیز بیانگر نیاز توجه بیشتر به امر بهداشت دهان و دندان و استفاده از روش های پیشگیری از پوسیدگی دندان می باشد.[۳]

باکتری استرپتوکوکوس موتانس با تشکیل یک لایه بیوفیلم بر روی سطح دندان و تشکیل پلاک میکروبی آغازگر فرایند پوسیدگی دندان است.[۴]

باکتری استرپتوکوکوس موتانس با اتصال به سطح مینای دندان و ترشح ذرات پلی ساکاریدی خارج سلولی با استفاده از کربوهیدرات های قابل تخمیر مانند ساکارز طی فرایند گلیکوزیل ترانسفراز باعث اتصال به سطح مینای دندان و تولید اسید می شود، که در نهایت منجر به انحلال سطح مینای دندان و فرایند پوسیدگی می گردد.[۵]

با توجه به نقش بارز این باکتری تلاش برای کاهش سطح آن در حفره دهان همچنان ادامه دارد. استفاده از ترکیبات گیاهی به این منظور در تحقیقات مختلف مورد نظر بوده است و چای به عنوان یک ترکیب موثر شناخته شده است.[۶]

استفاده از گیاهان دارویی از گذشته های دور برای درمان انواع بیماری ها مورد نظر بوده است و از این میان بیماری های عفونی اهمیت قابل ملاحظه ای داشته اند.[۷] هرچند با گسترش شاخه های مختلف علوم مانند داروهای فیتوشیمی و فارماکولوژی، استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروهای ضد باکتریایی توجه محققین را به خود معطوف کرد، اما به دلیل استفاده بی رویه و نادرست، دانشمندان مجددا مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیمار های عفونی شده اند[۸]. علاقه به مطالعه گیاهان دارویی به عنوان بخشی از تحقیقات فارماکولوژی در سراسر جهان در حال افزایش است. توان عصاره های گیاهی در متوقف و مهار کردن رشد استرپتوکوکوس موتانس مورد بررسی قرار گرفته است. این موضوع می تواند استراتژی نویی را برای کنترل پیشرفت بیماری های مرتبط با پلاک (بیماری های پریودنتال و پوسیدگی دندان) به وسیله منابع طبیعی فراهم کند.[۹]

محققان اثرات چای سبز به شکل آزمایشگاهی و کلینیکی را به انجام رسانده اند و از حلال های مختلف و در غلظت های متفاوت بر سوش های مختلف باکتری استرپتوکوکوس موتانس استفاده کرده اند. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۲ نقش میکروب کشی انواع چای بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس بررسی شد. [۱۰]. در ایران نیز مطالعه ای در این خصوص به انجام رسیده است. نادری و همکاران در سال ۲۰۱۱ نقش چای سبز و سیاه را بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس نشان دادند[۱۱]. لیکن در هیچ یک از این آزمایشگاه ها بر روی باکتری بومی ایران که به صورت فلور میکروبی در دهان جامعه ایرانی موجود بوده و با سایر جوامع متفاوت بوده بررسی صورت نگرفته است. در این مطالعه با علم به این موضوع بررسی می کنیم آیا بین غلظت یکسانی از عصاره های مختلف اتانولی و متانولی و آبی چای سبز تفاوت بر روی میزان خاصیت ضد میکروبی علیه تایپ بومی باکتری استرپتوکوکوس موتانس در مقایسه با شاهد کلرهگزیدینی وجود دارد یا خیر. در نهایت نیز بررسی می کنیم عصاره های الکلی و آبی این ترکیب گیاهی در چه غلظتی حداقل خاصیت میکروب کشی (MBC) و حداقل خاصیت مهار کنندگی باکتری (MIC) خود را القا میکنند.

مواد و روش ها:

این مطالعه یک مطالعه تجربی – آزمایشگاهی با محتوای کاربردی بوده است. به این منظور برگ چای سبز تازه لاهیجان (Camellia Sinensis) از بازار محلی تهیه شده و با کتب مرجع علمی مورد شناسایی و تایید قرار گرفت و پس از خشک شدن در جای خنک و تاریک، توسط دستگاه آسیاب برقی خرد شدند. با استفاده از تکنیک Maceration ، ۱۰ گرم از پودر گیاه چای سبز در ۱۰۰ میلی گرم حلال اتانولی ، متانولی و آبی جداگانه حل گردید و یک هفته در دمای اتاق باقی ماند[۷]. محلول های بدست آمده با استفاده از فیلترکاغذی Whatman شماره ۱ و قیف بوخنر فیلتر شده و در نهایت از پودر حاصل، ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره با استفاده از حلال DMSO

www.SID.ir

Archive of SID

(دی متیل سولفواکساید) تهیه گردید و تحت اشعه UV استریل شد.[۱۲]

بررسی قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره های اتانولی متانولی و آبی گیاه چای سبز:

جهت بررسی قطر هاله عدم رشد از محیط کشت مولر هینتون آگار و سوسپانسیون نیم مک فارلند از باکتری مورد مطالعه استفاده گردید. سوسپانسیون باکتریایی نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی استریل تهیه می شود.[۱۲] سوش باکتری استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران تهیه شد. جهت فعال سازی، باکتری ابتدا در محیطBlood Agar کشت داده شد و پلیت مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تحت دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. سپس پلیت مورد نظر از انکوباتور خارج شده و به وسیله آن سوسپانسیون نیم مک فارلند در زیر هود تهیه گردید. پس از آن سواپ آغشته به سوسپانسیون در محیط استریل و در زیر هود آزمایشگاه بر روی محیط کشت اسکراب گردید. سپس عصاره های به دست آمده و همچنین کلرهگزیدین به عنوان شاهد بر روی دیسک های کاغذی استریل در ابعاد ۴/۶ میلیمتر تزریق شد.[۶] به ازای هر عصاره و شاهد، ۳ دیسک (در مجموع ۱۲ دیسک) مورد آزمایش قرار گرفت. دیسک آغشته به هر عصاره بر روی محیط کشت باکتری گذاشته شد. در زیر هر دیسک، عددی به عنوان کد نمونه نوشته شد. پلیت های محیط کشت به مدت بیست و چهار ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه نگهداری شدند و پس از این مدت قطر هاله های عدم رشد توسط کولیس به میلی متر ارزیابی گردید.[۱۳]. نتایج حاصل از قطر هاله های عدم رشد از طریق آزمون ANOVA و Post hoc مورد بررسی آماری قرار گرفت.

بررسی شاخص MBC :

در مرحله بعد شاخصMBC (Minimum Bactericidal Concentration با استفاده از محیط کشت Broth Muller Hintonرقت های ۱:۲ ،۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱:۴ ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱:۸ ،۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱:۱۶ ، ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و ۱:۳۲ ، ۳/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز جداگانه تهیه گردید . میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که به روش استاندارد McFarland 0.5 تهیه شده بود به تمام لوله های ازمایش منتقل گردید . یک لوله ازمایش شامل شاهد گیاه چای سبز بدون اضافه شدن باکتری و یک لوله آزمایش برای شاهد سوسپانسیون میکروبی و یک لوله ازمایش خالی (Blank) تهیه شده و تمام لوله های ازمایش به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند [۸].

بعد از ۲۴ ساعت محتوای تمام لوله های ازمایش به صورت جداگانه روی محیط کشتMuller Hinton Broth کشت داده شدند. محیط های کشت به مدت ۱ روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و نتایج حاصل به شکل رشد یا عدم رشد کلونی باکتری ها روی محیط های کشت مورد بررسی قرار گرفتند و شاخص MIC برای تمام عصاره های اتانولی متانولی و آبی و همچنین شاهد تعیین گردید [۷]. بدین منظور پلیتی با حداقل رقت که فاقد هر گونه میکروارگانیسم بوده و هیچ رشد باکتری در آن صورت نگرفته بود به عنوان پلیت MBC در نظر گرفته شد.

بررسی شاخص MIC :

به منظور بررسی MIC(Minimum Inhibitory Concentration) پلیتی با حداقل رقت که فاقد کمترین رشد باکتری بوده و رشد باکتری در آن متوقف شده بود به عنوان پلیت MIC در نظر گرفته شد.

یافته ها:

در این تحقیق با هدف بررسی هاله عدم رشد ناشی از عصاره های چای سبز بر سوش ایرانی باکتری استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 و همچنین خاصیت میکروب کشی و مهارکنندگی رشد باکتری، قطر هاله های عدم رشد ناشی از

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز در مقایسه با دهان شویه کلرهگزیدین محاسبه گردید و از طریق آزمون ANOVA و Post hoc به وسیله نرم افزار SPSS مورد بررسی آماری قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش طول هاله عدم رشد نشان داد پس از ۳ بار تکرار آزمایش میانگین طول هاله عدم رشد ناشی از عصاره متانولی برابر ۱۶/۶۶ میلی متر ،میانگین طول هاله عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی برابر ۱۶/۱۶ میلی متر ، میانگین طول هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی برابر ۱۲/۵ میلی متر و میانگین طول هاله عدم رشد ناشی از کلروهگزیدین ۰/۲٪ برابر ۱۷/۵ میلی متر میباشد.

جدول ۱- قطر هاله های عدم رشد ناشی از عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز در مقایسه با دهان شویه کلرهگزیدین بر حسب میلی متر

	عصاره آبی	عصاره متانولی	عصاره اتانولی	کلروهگزیدین ۰/۲٪
طول هاله عدم رشد ازمایش (mm)۱	۱۳	۱۶	۱۶/۵	۱۷
طول هاله عدم رشد ازمایش (mm)۲	۱۲	۱۷/۵	۱۶/۵	۱۸
طول هاله عدم رشد آزمایش ۳ (mm)	۱۲/۵	۱۶/۵	۱۵/۵	۱۷/۵
میانگین	۱۲/۵	۱۶/۶۶	۱۶/۱۶	۱۷/۵

همچنین پس از آزمایش رقیق سازی ، حداقل غلظت مهارکننده رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) مطابق جدول زیر حاصل گردید:

جدول ۲ - حداقل غلظت مهارکننده رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز

گیاه	MIC Mg/ml	MBC Mg/ml
عصاره آبی	۲۵	۵۰
عصاره متانولی	۲۵	۵۰
عصاره اتانولی	۶/۲۵	۱۲/۵

آنالیز آماری نشان داد تفاوت طول هاله های عدم رشد ناشی از عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی، متانولی و کلرهگزیدین چای سبز ۵ معنی دار است.($P=۰/۰۰۱$) اما بین نتایج حاصل از طول هاله های عدم رشد عصاره های اتانولی چای سبز و کلرهگزیدین و همچنین بین هاله های عدم رشد عصاره متانولی چای سبز و کلرهگزیدین تفاوت معنی داری وجود نداشت . ($P>۰/۵$)

همچنین بین نتایج حاصل از هاله عدم رشد عصاره اتانولی و متانولی نیز تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

بحث:

این تحقیق با هدف بررسی هاله عدم رشد ناشی از عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی چای سبز بر سوش ایرانی باکتری استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 و همچنین خاصیت میکروب کشی و مهارکنندگی رشد باکتری، قطره هاله های عدم رشد ناشی از عصاره های اتانولی ، متانولی و آبی گیاه چای سبز در مقایسه با دهان شویه کلرهگزیدین انجام گرفت.

بررسی های آماری نشان داد تفاوت طول هاله های عدم رشد ناشی از عصاره آبی نسبت به عصاره اتانولی ، متانولی و کلرهگزیدین معنی دار است. اما بین نتایج حاصل از طول هاله های عدم رشد عصاره های اتانولی چای سبز و کلرهگزیدین و همچنین بین هاله های عدم رشد عصاره متانولی چای سبز و کلرهگزیدین تفاوت معنی داری وجود ندارد.

همچنین بین نتایج حاصل از هاله عدم رشد عصاره اتانولی و متانولی نیز تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

شاخص های MIC و MBC برای عصاره های آبی و متانولی برابر بود و به ترتیب ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر ثبت گردید در حالی که این شاخص ها برای عصاره اتانولی به ترتیب برابر ۶/۲۵ و ۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر ثبت شد. میتوان نتیجه گرفت عصاره های متانولی و اتانولی گیاه چای

www.SID.ir

Archive of SID

سبز تفاوت معنی داری در ارتشاح ماده موثره به محیط اطراف دیسک از خود نشان ندادند در حالی که عصاره آبی در این مقایسه نسبت به سه گروه دیگر ضعیف تر بود. این می تواند به دلیل آن باشد که عصاره های الکلی مقدار بیشتری از ماده موثره گیاه را استخراج می کنند[۱۸-۱۴]. با این وجود نتایج حاصل از ازمایش MBC و MIC نشان میدهد عصاره آبی گرچه از توان ارتشاح کمتری در محیط اطراف دیسک برخوردار است اما خواص ضدمیکروبی خود را در رقت هایی کمتر، برابر با عصاره متانولی نشان می دهد و رقیق سازی این عصاره اثر مشابهی بر خاصیت ضد میکروبی آن نسبت به عصاره متانولی دارد. عصاره اتانولی بر خلاف دو عصاره دیگر در آزمون رقیق سازی تا غلظت های کمتری خاصیت ضد میکروبی خود را حفظ کرد و می توان نتیجه گرفت نسبت به دو عصاره دیگر در غلظتی برابر قوی تر است. نتایج حاصل از این تحقیقات را می توان ناشی از ترکیبات پلی فنولی چای سبز دانست. پلی فنولها ترکیبات اصلی ضد میکروبی چای سبز هستند. در این میان Epigallocatechinو Epigallocatechin-3-Gallateبه عنوان فعال ترین نوع پلی فنول های چای سبز شناخته میشود. Epigallocatechin-3-Gallate با اتصال به پپتیدوگلیکان دیواره باکتری اثر ضدباکتریایی خود را اعمال میکند.[۱۴] از انجایی که دیواره سلولی استرپتوکوکوس موتانس سرشار از پپتیدوگلیکان می باشد[۱]، اثر ضدمیکروبی چای سبز بر این باکتری به این شکل قابل توجیه می باشد. از طرفی مطالعات دیگر اثر پلی فنول چای سبز بر غشا باکتری را نیز نشان داده اند.[۱۵] مشاهده شده است که پلی فنول موجود در چای سبز با ایجاد تغییرات در بیان ژن قادر به آسیب به غشا سلولی باکتری E.Coli بوده است [۱۴،۷].

نتایج این تحقیقات با تحقیق مشابهی که در سال ۲۰۱۸ صورت گرفته است ، هم سو می باشد. در مقاله مشابه با مطالعه حاضر قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی گیاه چای سبز تفاوتی با دهان شویه کلرهگزیدین نشان نداده بود و شاخص های MICو MBC به ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید که برابر مطالعه فوق می باشد. علت این مشابهت می تواند اجرای یکسان و موازی دو آزمایش باشد. در هردو آزمایش غلظت برابری از حلال جهت استخراج ماده موثره چای استفاده شده بود همچنین نوع گیاه چای و باکتری مورد استفاده یکسان بود. در آزمایش قبل بر خلاف آزمایش فعلی تنها از حلال اتانول استفاده شده بود که به منظور بررسی اثر حلال های مختلف بر خاصیت میکروب کشی عصاره چای سبز، این موضوع برای این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.[۱۷]

در مطالعه ای دیگر در کشور پرتغال بر روی سوش امریکایی باکتری استرپتوکوکوس موتانس اثر ضدمیکروبی ترکیب عصاره آبی دو چای سبز و سیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد شاخص MBC برابر ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است که با تحقیق فعلی برابری می کند. اما میزان شاخص MIC نیز برخلاف تحقیق فعلی به همین میزان گزارش شده است نتایج حاصل از آزمون های این پژوهشگر با این نتایج حاصل از آزمایش فعلی متفاوت است که می توان علت این پدیده در شرایط آزمایش بررسی کرد. در آزمون این پژوهشگر پرتغالی از ترکیب دو چای استفاده شده است که ممکن است نتایج حاصل از آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین سوش باکتری مورد استفاده کاملا متفاوت می باشد. ممکن است سوش ایرانی باکتری استرپتوکوکوس موتانس PTCC 1683 نسبت به سوش ATCC 35688 مقاومت متفاوتی به عصاره چای داشته باشد که این خود مطالعات بیشتری را می طلبد. حتی نوع چای مورد استفاده در دو آزمایش ممکن است نتایج آزمایش را تحت تاثیر قرار دهد. ممکن است میزان ماده موثر پلی فنول در انواع مختلف چای در کشور های مختلف متفاوت باشد.[۱۸]

در مطالعه‌ای جدیدی در سال ۲۰۱۹ توسط Rathinavelu و همکاران صورت گرفت عصاره های اتانولی و متانولی چای سبز و چای سیاه استخراج شده و خاصیت ضد میکروبی آن مورد

www.SID.ir

Archive of SID

سنجش قرار گرفته است. در مطالعه فوق نتایج حاصل از طول هاله عدم رشد کلرهگزیدین نسبت به ترکیبات دیگر بیشتر بود . طول هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی گیاه چای سبز برابر ۲۰ میلی متر و طول هاله عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی تنها ۶ میلی متر گزارش گردید. نکته قابل توجه در این مقاله عصاره متانولی گیاه چای سبز بوده که به کلی فاقد هاله عدم رشد بوده و مقدار آن صفر میلی متر گزارش شده است که در تضاد با مطالعه فعلی و بسیاری از مطالعات قبلی میباشد[۱۹]. در این پژوهش تست های MBC و MIC جهت بررسی قدرت عصاره میکروبی صورت نگرفته است . معرفی دقیقی از باکتری مورد استفاده نشده است. نتایج این تحقیق گویای این مطلب است که ممکن است توان حلال های مختلف برای استخراج ماده موثر چای به نژاد و محل پرورش این گیاه بستگی داشته باشد و همه نژاد های چای سبز واکنش یکسانی در برابر یک حلال مشخص نداشته باشند که این خود نیازمند مطالعات بیشتر است.

نتیجه گیری:

نتایج مطالعه حاضر بیان می دارد که عصاره های اتانولی و متانولی و آبی گیاه چای سبز دارای خاصیت ضدمیکروبی می باشند که این خاصیت در رقت های پایین تری توسط عصاره اتانولی اعمال می گردد و عصاره های آبی و متانولی نیاز به رقت هایی بالاتر جهت اعمال خاصیت ضدمیکروبی خود دارند. همچنین هاله عدم رشد عصاره متانولی و اتانولی گیاه چای سبز تفاوت قطر معنی داری نسبت به کلرهگزیدین نداشتند که این مطلب نشان دهنده توان ارتشاح این ترکیبات در محیط رشد باکتری می باشد. در حالی که عصاره آبی تفاوت معنی داری را نسبت به سه گروه دیگر نشان داد و از خاصیت ارتشاح کمتری برخوردار بود.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از شرکت وارنا پایا پژوه مهام به سبب همکاری های صورت گرفته ابرازمیدارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References:

1.Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans. Microbiological reviews .1980;44(2):331

2.Saintrain MV, de Souza EH. Impact of tooth loss on the quality of life.Gerodontology. 2012;29(2): 632-6.

3.Hessari H, Vehkalahti MM, Eghbal MJ, Murtomaa HT. Oral health among 35-to 44-year-old Iranians. Medical Principles and Practice. 2007;16(4):280-5. [Persian]

4.Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A.The virulence of Streptococcus mutans and the ability to form biofilms. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2014;33(4):499-515.

5.Ashrafi B, Ramak P, Ezatpour B, Talei GR. Investigation on chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic properties of essential oil from DracocephalumkotschyiBoiss. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 2017;14(3):209-17.

6.Haghighati F, Jafari S, BEYT EJ. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. Hakim Research Journal.2003 ;6(3):71-7. [Persian]

7.Ahmadi E, Abdollahi A, Najafipour S, Meshkibaf MH, Fasihi-Ramandi M, Namdar N, Abdollahi S, Mousavi S, SamiZadeh B, Allahverdi GH. Surveying the Effect of the Phenol Compounds on Antibacterial Activity of Herbal Extracts: In vitro Assessment of Herbal Extracts in Fasa-Fars Province. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2016;6(2):210-220. [Persian]

8.Eid HA, Alshahrani MA, Abo-Alazm EA, Musleh MM, Taha TH, El-Deeb NM. Assessing the Effects of Different Plant Extracts on Primary Dental Plaque Colonizer and Human Fibroblast Cells. Austin J Dent. 2015; 2(3): 1025. Austin J Dent.;2(3-2015)

9.Koech KR, Wachira FN, Ngure RM, Wanyoko JK, Bii CC, Karori SM, et al. Antimicrobial, synergistic and antioxidant activities of tea polyphenols. Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education, Formatex Research Center, Badajoz. 2013:971-81.

10.Subramaniam P, Eswara U, Reddy KM. Effect of different types of tea on Streptococcus mutans: An in vitro study. Indian journal of dental research. 2012;23(1):43.

11.Naderi NJ, Niakan M, Fard MK, Zardi S. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on streptococcus mutans: an in vitro study. Journal of Dentistry (Tehran, Iran). 2011;8(2):55. [Persian]

12.Mirpour M, Siahmazgi ZG, Kiasaraie MS. Antibacterial activity of clove, gall nut methanolic and ethanolic extracts on Streptococcus mutans PTCC 1683 and Streptococcus salivarius PTCC 1448. Journal of oral biology and craniofacial research. 2015;5(1):7-10.

13.Borjianbrojeni S, Kaveh baba heydari E, Mortezaei S, Karimian M, Shirzad M, Validi M. The antibacterial effects of the hydroalcoholic extracts of aloevera and glycyrrhizaglabra against cariogenic bacteria in vitro. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(4):14-20. [Persian]

14.Bansal S, Choudhary S, Sharma M, Kumar SS, Lohan S, Bhardwaj V, Syan N, Jyoti S. Tea: a native source of antimicrobial agents. Food research international. 2013;53(2):568-84.

15.Melok A, Lee L, Mohamed Yussof S, Chu T. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate-Stearate Inhibits the Growth of Streptococcus mutans: A promising new approach in caries prevention. Dentistry journal. 2018;6(3):38.

16.Sheikhinejad S, Babaeekhou L, Barzin U, Zingiber Officinate an anti-streptococcus mutans herbal drug: which is more suitable? J Res Dent Sci.2017;14(3):162-69.

17.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. Journal of Research in Medical and Dental Science. 2018;6(5):361-4.

18.Barroso H, Ramalhete R, Domingues A, Maci S. Inhibitory activity of a green and black tea blend on Streptococcus mutans. Journal of oral microbiology. 2018;10(1):1481322.

19.Rathinavelu PK, Thangavelu L. Comparison of antibacterial activity of green tea and black tea: An in vitro study. Drug Invention Today. 2019;12(4): 836-8

www.SID.ir