

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی مریم گلی (Saliva Officinalis) و پونه (Menta Longifolia) بر سه باکتری عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاهی

دکتر حمید کرمانشاه*، دکتر صدیقه السادات هاشمی کمانگر**، دکتر سکینه آرامی***، دکتر اکبر میرصالحیان****،

مهندس محمد کمالی نژاد****، دکتر مهرداد کریمی*****، فرشته جبل عاملی*****

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به ابتلای درصد بالایی از جمعیت به پوسیدگی دندان با ماهیت عفونی-میکروبی و اعمال هزینه‌های هنگفت درمانی بویژه در گروه‌های پرخطر مانند افراد دچار خشکی دهان، پیشگیری و کنترل آن بسیار حیاتی است. از طرفی به دلیل اقبال جامعه جهانی و کشورمان به درمان‌های سنتی و لزوم استخراج دارو از مواد طبیعی و گیاهان دارویی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره دو گیاه مریم گلی و پونه که در متون طب سنتی از موارد پرکاربرد در درمان بیماری‌های دهان و دندان هستند، بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان به صورت *in vitro* صورت پذیرفت.

مواد و روشها: در مطالعه تجربی حاضر از دو گیاه مریم گلی و پونه به روش *maceration* عصاره هیدروالکلی تهیه و اثر آنتی‌باکتریال آنها به روش *broth macrodilution* بر روی باکتری‌های استریتوکوک موتان، لاکتوباسیل رامنوز و اکتینومیسس ویسکوز ارزیابی شد. نتایج توسط آزمون *Mann whitney* آنالیز و مقایسه شدند ($P < 0/05$).

یافته‌ها: میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره مریم گلی و پونه برای استریتوکوک موتان به ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ برای لاکتوباسیل به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۱۲ $\mu\text{g/ml}$ و برای اکتینومیسس ویسکوز به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. نتیجه‌گیری: روش *broth macrodilution* نشان داد هر دو عصاره مریم گلی و پونه بر هر سه گونه باکتری اثر بازدارندگی رشد داشتند که این اثر برای مریم گلی به طرز معنی‌داری ($P < 0/05$) بیشتر از پونه بود و در محدوده غلظت مورد بررسی هر دو عصاره بر هر سه باکتری اثر باکتری‌سیدال نیز داشتند.

کلید واژگان: فعالیت ضدباکتریایی، باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان، عصاره گیاهی، مریم گلی، پونه

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۱۹ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۴/۲۹ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۹/۸/۲۴

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ۲۳۷-۲۳۲

مقدمه

است (۱) تا به حال هیچگاه برنامه‌ای برای ریشه‌کنی این بیماری میکروبی همانند آنچه در برابر آبله و فلج اطفال صورت پذیرفته انجام نشده است. هزینه‌های پرداختی برای مراقبت‌های دندانپزشکی تنها در ایالات متحده آمریکا در سال ۲۰۰۳، ۷۰/۳ بیلیون دلار بوده

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 زمینه‌ساز بیماری با شکست مواجه خواهد شد (۱). علیرغم اینکه پوسیدگی دندان احتمالاً شایع‌ترین بیماری مزمن در جهان

* استادیار گروه دندانپزشکی ترمیمی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

** استادیار گروه دندانپزشکی ترمیمی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل.

*** نویسنده مسئول: استادیار گروه دندانپزشکی ترمیمی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

**** دانشیار گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

***** پژوهشگر، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

***** دستیار دکترای تخصصی طب سنتی، دانشکده طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

***** دستیار دکترای تخصصی گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

و مقالات اخیر نیز به بررسی اثرات ضد میکروبی این گیاهان پرداخته شده است (۱۵-۱۰).

مریم گلی گیاه شناخته شده تری است که مطالعات ضد میکروبی بیشتری در مورد آن انجام شده اند. این گیاه به عنوان کنترل مثبت گیاهی در این پژوهش در نظر گرفته شد (۱۵-۱۳).

با توجه به اینکه این گیاهان بومی ایران بوده، تهیه عصاره از آنها امکان پذیر است و تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثر آنتی باکتریال آنها بر پاتوژن‌های عامل پوسیدگی دندان صورت نگرفته است (جزء در یک مورد که به مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره مریم گلی بر استرپتوکوک موتان پرداخته است) (۱۶). بنابراین، تحقیق حاضر با هدف آنتی باکتریال عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌هایی که پوسیدگی‌زایی آنها اثبات شده است، یعنی استرپتوکوک موتان، لاکتوباسیل رامنوز و اکتینومیسس ویسکوز (۱) را صورت گرفت.

مواد و روشها

در مطالعه invitro حاضر مراحل به ترتیب زیر صورت پذیرفت.

۱- عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش maceration انجام شد. ابتدا، توسط ترازوی دیجیتالی (Lib ROR AEU-210, Shimatosuzo, Japan, Kayato) ۵۰ گرم از اندام هوایی گیاهان به صورت خشک تهیه و پودر گردیدند. در ادامه، این پودر در ارلن ریخته شد. روی هر نمونه ۱۵۰۰ CC از حلال [۵۰٪ اتانول (۹۶٪) و ۵۰٪ آب] اضافه گردید، به طوری که روی پودر کاملاً پوشانده شود. سپس، سر ارلن‌ها به وسیله ورقه آلومینیومی پوشانده شد. ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه (Heidolph unimax 2010, Rotor, Keif, shaker) صاف شدند. Germany, Chwabach) با سرعت ۹۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. بعد از اینکه حلال و گیاه همگن شدند محلول‌ها توسط کاغذ صافی (Watmann 0.5 mm, USA, SAMFORD) صاف شدند. سپس، محلول‌های صاف شده در دستگاهی به نام rotary (Heidolph WD 2000, Brinkmann, Canada) evaporator قرار گرفتند تا حلال از عصاره جدا شود. عصاره خالص بدست آمده جهت انجام آزمایشات میکروبی در یخچال نگهداری شدند.

۲- تست تعیین فعالیت بازدارندگی عصاره‌ها

است (۱). از عوارض تداوم این بیماری از دست رفتن دندان‌ها، درد و عیوب زیبایی است. عامل اتیولوژیک اصلی شناخته شده برای پوسیدگی دندان استرپتوکوک‌های موتان و لاکتوباسیل‌ها هستند (۱). درمان و پیشگیری از پوسیدگی با آنتی بیوتیک‌ها و استروئیدها پتانسیل اکسیداسیون-احیا بزاق را تغییر داده، فعالیت لیزوزیم را ضعیف و شرایط ایجاد واکنش‌های آلرژیک را تسهیل می‌کنند و باعث کاهش مقاومت بدن نسبت به عوامل پاتوژنیک می‌گردند (۲).

از طرفی استقبال گسترده‌ای از طب سنتی و داروهای گیاهی در زمینه‌های مختلف علوم پزشکی صورت گرفته است که علت آن کاربرد گیاهان به عنوان دارو از قرن‌های پیش می‌باشد (۳). بهره‌گیری از طب سنتی یکی از راه‌های دستیابی به داروهای جدید است. در حال حاضر ۱۱۹ دارو با منشأ گیاهی وجود دارد که تنها از ۹۰ گونه از ۲۵۰/۰۰۰ گونه شناخته شده، بدست آمده‌اند (۴). اما جستجوی سیستماتیک بر روی مواد موثره این گیاهان و تمامی بیماری‌ها امری بسیار طولانی، هزینه‌بر و محال می‌باشد (۴). بنابراین، تکیه بر آموزه‌های بومی یکی از استراتژی‌های مقبول در دنیا در کشف، کاربرد و تحقیق در مورد گیاهان دارویی است. طب سنتی ایران از پایه‌های قدیمی علم طب و حاوی اطلاعات گرانبها در بکارگیری گیاهان در درمان می‌باشد؛ حفظ سلامت دهان و دندان در طب سنتی ایران مطرح بوده، در کتب "معالجات" (درمانی) فصلی به بیماری‌های دهان و دندان اختصاص داده شده است. درمان بیماری‌های دهان و دندان در سه بخش کلی "تدبیر و تغذیه"، "بکارگیری دارو" و "استفاده از ابزار (اعمال یدای)" تقسیم‌بندی می‌شود. از ترکیبات دارویی جهت "تدبیر و تغذیه" در متون طب سنتی ایران تحت عنوان "سنون" نام برده شده است (۵).

بنابراین، با توجه به روش‌های درمان دارویی طب سنتی ایران، یافتن منابع نوین دارویی از مراجع این دانش در درمان بیماری‌های دهان و دندان ضروری به نظر می‌رسد. به همین دلیل، در مطالعه حاضر دو گیاه مریم گلی (Salvia officinalis) و پونه (Menta longifolia) که از جمله گیاهان پرکاربرد در سنون بوده‌اند (۹-۶) انتخاب شدند تا با بررسی اثر ضد میکروبی آنها بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان راهکاری با کمترین میزان عارضه جهت کنترل پوسیدگی بویژه در افرادی که دچار خشکی دهان بوده، یا به دنبال درمان‌هایی از جمله رادیوتراپی به پوسیدگی‌های وسیع و غیرقابل کنترل مبتلا شده‌اند، ارائه شود. در ضمن در متون

سپس، گرماگذاری به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷°C انجام شد. بعد از وقوع رشد، با بررسی کدورت در لوله‌ها رشد و یا عدم رشد باکتری‌ها ارزیابی شد. غلظت اولین لوله‌ای که رشد در آن مشاهده نگردید، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC: Minimum Inhibitory concentration) رشد باکتری توسط آن عصاره منظور گردید. سپس، محتویات لوله‌هایی که فاقد رشد بودند در محیط کشت جامد آگاردار در پلیت کشت داده شدند. اولین پلیتی که در آن رشد مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal concentration) عصاره برای آن باکتری منظور گردید. کنترل‌ها به شرح زیر بودند:

- محیط کشت و عصاره بدون باکتری ← عدم رشد
- محیط کشت و آب مقطر با باکتری ← رشد
- محیط کشت و کلرگزیدین (شاهد مثبت) با باکتری ← عدم رشد

در ضمن، گرماگذاری در مورد استرپتوکوک موتان و اکتینومیسس ویسکوز در جار بیهوازی و در مجاورت CO₂ صورت گرفت.

این مراحل برای هر دو عصاره و برای هر سه نوع باکتری سه بار تکرار شد. نتایج توسط آماره Mann-whitney ($p < 0.05$) آنالیز و مقایسه شدند.

یافته‌ها

در نتایج broth macrodilution، میزان (Minimum Inhibitory concentration) MIC و (Minimum Bactericidal concentration) MBC برحسب $\mu\text{g/ml}$ و سطح معنی‌دار بودن آنها ($P < 0.05$) برای هر کدام از عصاره‌ها بر روی هر سه گونه باکتری در جدول ۱ نشان داده شده است (کوچک‌تر بودن میزان MIC و MBC به معنی بالاتر بودن اثر آنتی باکتریال است).

در مورد استرپتوکوک موتان، میزان MIC و MBC برای مریم گلی به ترتیب ۶/۲۵ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد که به طرز معنی‌داری از میزان MIC و MBC برای پونه که به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ بود، کمتر است. در مورد لاکتوباسیل، میزان MIC و MBC برای مریم گلی به ترتیب ۱/۵۶ و ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ و برای پونه به ترتیب ۳/۱۲ و ۶/۲۵ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. میزان MIC مریم گلی به طرز

سویه‌های استاندارد به صورت لیوفیلیزه

Streptococcus mutans (ATCC: 35668)
Lactobacillus rhamnosus (ATCC: 7469, PTCC: 1637)
Actinomyces viscosus (ATCC: 15987)
 از مراکز رفرنس [American type of culture collection] و ATCC: [PTCC: Persian type of culture collection] تهیه شدند.

به منظور تهیه باکتری از نمونه‌های لیوفیلیزه، ابتدا نمونه‌ها در محیط کشت مایع به صورت Overnight (یک شبانه‌روز در دمای ۳۵-۳۰°C) کشت داده شدند.

بعد از ایجاد کدورت در محیط مایع، نمونه‌ها بر روی محیط کشت جامد (برای اکتینومیسس ویسکوز و اسپکوز (Spain, BHI agar (Barcelona, CONDA) برای استرپتوکوک موتان (sheep 5%+BHI agar (Spain, Barcelona, CONDA) (MRS Agar, Germany: Ramnoz (Darmstadt, Merck) به منظور اطمینان از خلوص آنها ایزوله شدند.

سپس به روش borth macrodilution طبق پروتکل CLSI (Clinical Laboratory standards institute, 2006, M7-A4. USA) اثر آنتی‌باکتریال هر کدام از عصاره‌ها بر این سه گونه باکتری بررسی شدند.

ابتدا از هر کدام از عصاره‌ها ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ (Stock) محلول ذخیره تهیه و توسط فیلتر (۰/۲۲ μm Millipore filters) استریل شدند. سپس، رقیق‌سازی عصاره‌ها در ۱۱ لوله حاوی محیط کشت مایع (برای اکتینومیسس ویسکوز (USA, New Jersey, Bisco) Thioglycollate Medium (Spain, Barcelona, CONDA) برای استرپتوکوک موتان BHI broth برای لاکتوباسیل رامنوز (Germany, Darmstadt, Merck) به روش Serial dilution (رقیق‌سازی ۱/۲) انجام شد. در نهایت ۵۰۰ μl از محیط کشت و عصاره در هر لوله وجود داشت. پس از تهیه سوسپانسیون باکتری مطابق لوله ۰/۵ مک‌فارلند (مک‌فارلند یک سوسپانسیون شیمیایی است که میزان کدورت حاصل از آن با سوسپانسیون میکروبی قابل مقایسه می‌باشد) (۱۷). از این طریق، تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون قابل تخمین است (۱۶)، به تعداد $10^8 \times 1/5 \text{ CFU/ml}$ (Colony forming unit) و رقیق‌سازی آن توسط محیط کشت به میزان $\frac{1}{100}$ جهت بدست آوردن تعداد $10^6 \times 1/5 \text{ CFU/ml}$ ، به هر لوله ۵۰۰ μl از سوسپانسیون باکتری بدست آمده اضافه شد. در نهایت، محدوده غلظتی لوله‌ها $10^8 - 10^6 \mu\text{g/ml}$ بود.

میزان MIC و MBC برای پونه که به ترتیب ۱۰۰ و ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ می باشد، کمتر است.

معنی داری از پونه کمتر است ولی MBC پونه به طور معنی داری از مریم گلی کمتر می باشد. در مورد اکتینومیسس ویسکوز میزان MIC و MBC برای مریم گلی ۱۲/۵ و ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ بود که به طرز معنی داری از

جدول ۱- میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برحسب $\mu\text{g/ml}$ برای عصاره ها و گونه های میکروبی

اثر آنتی باکتریال		نتیجه تست آماری *		
		عصاره $\mu\text{g/ml}$	پونه	مریم گلی
گونه باکتری				
لاکتوباسیل رامنوز	MIC	۱/۵۶	۳/۱۲	S
	MBC	۱۲/۵	۶/۲۵	NS
استرپتوکوک موتان	MIC	۶/۲۵	۱۲/۵	S
	MBC	۵۰	۱۰۰	S
اکتینومیسس ویسکوز	MIC	۱۲/۵	۱۰۰	S
	MBC	۱۲/۵	۱۰۰	S

*S: Significant ($P < 0.05$)

NS: Non Significant ($P > 0.05$)

بحث

عصاره های هیدروالکلی گیاهان پونه و مریم گلی به روش broth macrodilution بر سه باکتری اصلی عامل پوسیدگی دندان بررسی گردید.

همانگونه که در جدول ۱ آورده شده است، هر دو عصاره مورد تحقیق بر سه باکتری مزبور اثر ضد باکتریایی داشته اند که اثر مهاری مریم گلی بیشتر بوده است. مریم گلی (*Saliva officinalis*) گیاه شناخته شده تری است که مطالعات ضد میکروبی بیشتری در مورد آن انجام شده اند (۱۳-۱۵). کاربرد آن در بی اشتهایی، التهاب دهان و حلق و افزایش تعریق مورد تایید مراجع طب گیاهی است (۱۰). شواهدی از اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضد ویروسی آن وجود دارد (۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۵). در مریم گلی ترکیبات آلفا و بتاتوزون (۶۰-۲۰٪) و ۱ و ۸ سینئول (۱۶-۶٪) و نیز فلاونوئیدهای مانند اپی ژنین موجود است. علاوه بر آن ترکیبات لینالول، بورنتول و آلفا و بتاکاریوفیلین نیز در اسانس فرار مریم گلی موجود است (۱۰).

در پژوهش های قبلی اثر عصاره هیدروالکلی برگ مریم گلی بر فعالیت کلاژنولیتیک پورفیروموناس ژنژیوالیس نشان داده شده بود (۱۱) و اثر وسیع آنتی باکتریال و ضد قارچ

پوسیدگی دندان بیماری تخریبی نسج سخت دندان است که در عین اینکه اتیولوژی آن چندعاملی است، ثابت شده که یک بیماری وابسته به پلاک میکروبی است (۱۸). پوسیدگی در حضور باکتری های اسیدوژنیک مثل استرپتوکوک موتان به شدت افزایش می یابد (۱۸). استرپتوکوک موتان اولین و مهمترین میکروارگانیزم موجود در پلاک می باشد که پوسیدگی زائی آن به اثبات رسیده است (۱۹، ۱). این میکروارگانیزم در شروع پوسیدگی نقش اساسی دارد (۲۰) و در کلیه ضایعات پوسیدگی عاج و مینا و در همه سطوح دندانی دیده می شود (۱). لاکتوباسیل ها در پیشرفت پوسیدگی نقش دارند و اکتینومیسس ویسکوز علاوه بر دو باکتری ذکر شده در ضایعات پوسیدگی سطح ریشه نقش ایفا می کند (۲۰، ۱۹). بنابراین، از بین بردن پایه باکتریایی پوسیدگی دندان یکی از عوامل کمک به رفع این عفونت فراگیر می باشد. در سال های اخیر، با توجه به گسترش روز افزون مقاومت میکروارگانیزم های بیماری زا نسبت به داروهای موجود و نیز اثرات جانبی آنتی بیوتیک ها جستجوی مواد ضد میکروبی جدید از گیاهان مدنظر قرار گرفته است. در این پژوهش اثرات ضد باکتریایی

دانه‌های زرد به نام Sulfure Granule تولید می‌کند و شاید یکی از دلایل مقاومت بیشتر این باکتری قرار گرفتن در این دانه‌ها باشد (۲۲).

در ضمن، این باکتری برای رشد کافی و بهتر به محیط‌های حاوی خون و سرم نیاز دارد و در محیط‌های ساده رشد چندان مناسبی ندارد (۲۲). از طرفی می‌توان احتمال داد که اثر هم‌افزایی مواد مؤثره گیاه پونه بر لاکتوباسیل و استرپتوکوک موتان بیشتر از اکتینومیسس ویسکوز باشد. علاوه بر آن، اثر فلاونوئیدهای موجود در گیاه را نیز نمی‌توان نادیده گرفت خصوصاً اثر هیسپیریدين که اثرات ضدباکتریایی آن به صورت مجزا نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۲۳). بنابراین، با توجه به اینکه در نتایج مطالعه حاضر عصاره هیدروالکی گیاهان مریم گلی و پونه اثر بازدارندگی رشد و کشندگی بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان داشته‌اند، بررسی اثر ضدباکتریایی مواد مؤثره مشترک آنها از جمله ۱ و ۸ سینئول و کاربوفیلین در تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود. از طرفی، به دلیل اقبال جامعه جهانی به درمان‌های سنتی و لزوم استخراج دارو از گیاهان و مقاومت میکروبی به داروهای شیمیایی تهیه فرآورده از جمله دهانشویه ضد میکروبی از این گیاهان مفید و ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

- هر دو عصاره مریم‌گلی و پونه بر هر سه گونه باکتری اثر بازدارندگی رشد داشتند.
- اثر بازدارندگی مریم‌گلی به طرز معنی‌داری بیشتر از پونه بود.
- در محدوده غلظتی مورد بررسی، هر دو عصاره بر سه باکتری اثر باکتری‌سیدال هم داشت.

مریم گلی بر طیف وسیعی از باکتری‌ها مانند سودوموناس و آسپرژیلوس و کاندیدا گزارش گردیده بود (۱۱) که یافته‌های این پژوهش در مورد اثر باکتری‌سیدال مریم گلی با تحقیقات فوق همخوانی دارد. ولی نکته قابل توجه اثر عصاره هیدروالکی پونه در حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر لاکتوباسیل است که با MBC مریم‌گلی به طرز معنی‌داری متفاوت می‌باشد. این امر نشان‌دهنده وجود مواد مؤثره مناسب‌تر در ترکیبات مریم‌گلی جهت رفع باکتری لاکتوباسیلوس می‌باشد.

گیاه پونه (*Menta longifolia*) از جمله گیاهان دارویی با کاربرد خوراکی است. در بررسی‌های انجام شده اسانس انواع *Mentha* اثرات ضدباکتریایی قوی از خود بروز داده‌اند (۲۱). عصاره متانولی نیز اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی خود را بر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌ها از خود بروز داده است (۱۲).

در عصاره هیدروالکی گیاه پونه، به طور عمده پیپریتون (۶۰-۸۰٪) و بتاکاریوفیلین (۵-۱۵٪)، ۱ و ۸ سینئول (۷-۲٪) و فلاونوئیدهای هیسپیریدين و کوئرسیتین وجود دارند (۱۰). در روش *brothmacrodilution*، اثر عصاره هیدروالکی پونه بر باکتری لاکتوباسیل به طور معنی‌داری دارای اثر کشندگی بهتری نسبت به گیاه شناخته شده مریم‌گلی می‌باشد که نشان‌دهنده اثر احتمالی ماده مؤثره اصلی پیپریتون بر لاکتوباسیل است. اثر گیاه پونه بر استرپتوکوک موتان نیز مناسب بوده، بعد از مریم‌گلی قرار می‌گیرد که با توجه به گزارش عدم وجود اثر مهاری بر استرپتوکوک‌هایی مانند استرپتوکوک پیوژن (۲۱) این اثر حائز اهمیت بوده، قابل بررسی بیشتری می‌باشد. اثرات پونه بر اکتینومیسس ویسکوز همانند اثر پونه بر دو نوع باکتری دیگر نیست که این امر احتمالاً از اختصاصات اکتینومیسس ویسکوز ناشی می‌گردد. اکتینومیسس ویسکوز یک باکتری بی‌هوازی است که چه در بافت و چه در محیط مایع پرگنه‌هایی شبیه

References

1. Theodor MR, Harold OH, Ward J, Swift JR: Art and science of operative dentistry. 5th Ed. St. Louis, Missouri: The CV Mosby Co 2006; Chap3:67-70.
2. Walsh LJ: The current status of low level laser therapy in dentistry. Aust Dent J 1997;42:302-306.
3. Fabrican DS, Farnsworth NR: The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environ Health Perspect (EHP). 2001;109(Suppl 1):69-75.
4. Farnsworth NR: The role of ethnopharmacology in drug development. Ciba Found Symp 1990;154:2-11.

5. Nazem Jahan Mohammad AK: Eksire Azam, Dehli: Nami Monshi Nolkshur;1315:38-70.
6. Nazem Jahan Mohammad AK: Gharabadin Azam, Dehli: Nami Monshi Nolkshur; 1315:80-82,150-152,167-171.
7. Aghili Khorasani MH: Makhzanol Adviye. 2nd Ed. Tehran: Entesharate Elmi va Farhangi 1367:719-772.
8. Zakariyaye Razi AM: Alhavi fe Teb. 1st Ed. Bambaee: Matbae Osmaniye 1886:270-273.
9. Akhvini Bokhari A: Hedayatol Motealemin fe Teb. 1st Ed. Mashhad: Entesharate Daneshgahe Ferdosi 1371;Chap???:40-45.
10. La Gow B: PDR for herbal medicine. 3rd Ed. USA: Thamson 2005:698-779,899-901.
11. Kemper FH: ESCOP monographs. 2nd Ed. Stuttgart: Theime 2003:452-456.
12. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozaer H, Daferera D, Sokmen A, et al: Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil and methanol extract from *Mentha longifolia*. ssp. *Longifolia*. Food Chem 2007;103:1449-1456.
13. Weckesser S, Engel E, Simon – Haarhaus B, Wittmer A, Pelz K, Schmepp CM: Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. Phytomedicine 2007;14:508-509.
14. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Emilija J. Antimicrobial and Antioxidant properties of Rosmary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L, Lamiaceae) Essential oils. J Agric Food Chem 2007;55:7879-7885.
15. Hayouni A, Chraiaf I, Abedrabba M, Bovix M, Leveau J, Mohammed H, et al: Tunisian *Salvia officinalis* L. and *schinus mollel*. Essential oil: their chemical compositions and their preservative effects against salmonella inoculated in minced beef meat. Int J Food Microb 2008;125:242-251.
16. Sanei AS, Pour Esmaeel HR, Ebadifar A, Madahi A, Saboor B, Mogab F, et al: Antimicrobial effect of 7 plants extraction on a few of pathogen microorganism of oral cavity. Pajuhande J 2009;76:22-25.
17. Jean F: Mac Faddin Biochemical Tests for identification of medical bacteria. 3rd Ed. St. Louis, Missouri: The CV Mosby Co. 2000;Chap5:805.
18. Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S: Guaijaverin a plant flavonoid as potential antiplaque agent against streptococcus mutans. J Appl Microb 2006;101:487-495.
19. Fejerskov O, Kidd E: Dental Caries: The disease and its clinical management. 2nd Ed. Singapore: Blackwell 2008;Chaps 10,16,17:164-185,280-285,266-269.
20. Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS: Fundamentals of operative dentistry. 3rd Ed. China: Quintessence 2006;Chaps1,4,12:16,82,395-396.
21. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Mihajlovic B, Matavul JM: Antimicrobial and antioxidant of three *Mentha* species Essential oils. J Agric Food Chem 2007;19;55:7879-7885.
22. Collier L, Balows A, Sussman M: Topley & Wilson's microbiology and microbial infections. 9th Ed. Oxford: Hodder Arnold 1998;Chap28:539-565.
23. Oio M, Uyeda M, Iwanami T, Nakagawa Y: Flovonoids as a possible preventive of dental caries. Agric Biol Chem 1984;28:2143-2145.