تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸، ۲۱۵-۲۲۰

بررسی آزمایشگاهی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی مریم گلی و بومادران بر میکروارگانیسم‌های پوسیدگی زا

دکتر حمید کرمانشاه[۱]- دکتر صدیقه السادات هاشمی کمانگر[۲] - دکتر سکینه آرامی[۱] - دکتر اکبر میرصالحیان[۳] - مهندس محمد کمالی نژاد[۴] - دکتر مهرداد کریمی[۵] - فرشته جبل عاملی[۶]

۱- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دستیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- پژوهشگر دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵- دستیار گروه آموزشی طب سنتی دانشکده طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۶- دستیار گروه آموزشی میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: *اقبال جامعه جهانی به درمانهای سنتی و لزوم استخراج دارو از مواد طبیعی و گیاهان داروئی هر روز در مقایسه با گذشته گسترش بیشتری می‌یابد. به همین دلیل هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره دو گیاه مریم گلی (Salvia officinalis) و بومادران (Achillea millefolium) برمیکرو ارگانیسم‌های پوسیدگی‌زا به صورت آزمایشگاهی می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی از دو گیاه مریم گلی و بومادران به روش ماسراسیون (خیساندن) عصاره هیدروالکلی تهیه شد و اثر آنتی باکتریال آنها به روش Broth macrodilution (روشی که در آن مقادیری از مواد ضدمیکروبی در محیط مایع (Broth) به صورت سریال رقیق می‌شود) بر روی میکروارگانیسم‌های استرپتوکوک موتان، لاکتوباسیل رامنوز و اکتینومیسس ویسکوز ارزیابی شد. نتایج توسط آماره Mann whitney آنالیز و مقایسه شدند.*

یافته‌ها: *میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC:Minimum Inhibitory Concentration) عصاره مریم گلی و بومادران برای استرپتوکوک موتان به ترتیب ۶/۲۵ و پنجاه میکروگرم در میلی‌لیتر و برای لاکتوباسیل رامنوز به ترتیب ۱/۵۶ و ۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای اکتینومیسس ویسکوز به ترتیب ۱۲/۵و پنجاه میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد.*

نتیجه‌گیری: *روش Broth macrodilution نشان داد هر دو عصاره مریم گلی و بومادران بر هر سه گونه باکتری اثر بازدارندگی رشد داشتند که این اثر برای مریم گلی به طرز معنی‌داری بیشتر از بومادران بود و در محدوده غلظتی مورد بررسی هر دو عصاره بر هر سه باکتری اثر باکتریسیدال هم داشتند.*

کلید واژه‌ها: *میکروارگانیسم‌های پوسیدگی‌زا- عصاره گیاهی- فعالیت ضدباکتریایی- مریم‌گلی- بومادران- استرپتوکوک موتان- لاکتوباسیل رامنوز- اکتینومیسس ویسکوز.*

وصول مقاله: ۱۳۸۸/۱/۱۸ اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۵/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۷/۹

نویسنده مسئول: دکتر حمید کرمانشاه، گروه آموزشی ترمیمی دانشکده و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

e.mail:kermanshahhamid@yahoo.com

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)، علی‌رغم اینکه پوسیدگی دندان احتمالاً شایعترین بیماری مزمن در جهان است(۱) تا به حال برنامه‌ای برای ریشه کنی 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

Archive of SID

www.SID.ir

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 – احیای 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 می شوند.(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 پیشین می‌باشد.(۳)، بهره‌گیری از طب سنتی یکی از راههای دستیابی به داروهای جدید می‌باشد در حال حاضر ۱۱۹ دارو با منشا گیاهی وجود دارد که تنها نود گونه از بین دویست و پنجاه هزار گونه شناخته شده، به دست آمده است.(۴)، اما جستجوی سیستماتیک بر روی مواد مؤثره این گیاهان و تمامی بیماریها امری بسیار طولانی، هزینه بر و محال می‌باشد.(۴)، بنابراین تکیه بر آموزه‌های بومی یکی از استراتژی‌های مقبول در دنیا در کشف و کاربرد و تحقیق در مورد گیاهان دارویی است. طب سنتی ایران از پایه‌های قدیمی علم طب و حاوی اطلاعات گرانبها در به کارگیری گیاهان در درمان می‌باشد، حفظ سلامت دهان و دندان در طب سنتی ایران مطرح بوده و 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»، «به کارگیری دارو» و «استفاده از ابزار (اعمال یداوی)» تقسیم بندی می‌شود. ترکیبات داروئی جهت «تدبیر و تغذیه» در متون طب سنتی ایران تحت عنوان «سنون» نام برده شده است.(۵)

لذا 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 بنابراین در این مطالعه دو گیاه مریم گلی و بومادران که از جمله گیاهان پُر کاربرد در سنون بوده‌اند(۶– ۹) انتخاب شدند تا با بررسی اثر ضدمیکروبی آنها بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان راهکاری با کمترین میزان عارضه جهت کنترل پوسیدگی به ویژه در افرادی که دچار خشکی دهان هستند یا به دنبال درمانهایی از جمله رادیوتراپی مبتلا به پوسیدگیهای وسیع و غیرقابل کنترل شده اند، ارائه شود. ضمناً در متون و مقالات اخیر نیز به بررسی اثرات ضدمیکروبی این گیاهان پرداخته شده است.(۱۰– ۱۵)

مریم گلی گیاه شناخته شده تری است که مطالعات ضد میکروبی بیشتری در مورد آن انجام شده و به عنوان کنترل مثبت گیاهی در این بررسی در نظر گرفته شده است. (۱۳– ۱۵)، در مورد دو گیاه مریم گلی و بومادران، در مورد اثر ضدمیکروبی آنها بر باکتری‌های پوسیدگی‌زا مطالعه‌ای انجام نشده است به جز یک مطالعه که اثر ضدمیکروبی عصاره مریم گلی را فقط بر استرپتوکوک موتان بررسی کرده است.(۱۶)

با توجه به اینکه این گیاهان بومی ایران هستند و تهیه عصاره از آنها امکان‌پذیر است، این مطالعه اثر آنتی باکتریال آنها را اختصاصاً بر روی باکتری‌هایی که پوسیدگی‌زایی آنها اثبات شده است یعنی استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس راموسوس و آکتینومایس ویسکوسوس بررسی کرده است.

روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی طی دو مرحله انجام شد:

۱-عصاره‌گیری:

به روش خیساندن انجام شد. ابتدا اندام هوایی گیاهان به صورت خشک توسط ترازوی دیجیتال (Lib ROR AEU-210) به میزان پنجاه گرم وزن شدند و پس از پودر کردن آنها درون ارلن قرار گرفته و روی هر نمونه هزار و پانصد سی سی از حلال [۵۰ ٪ اتانول (۹۶٪) و ۵۰٪ آب] ریخته شد تا کاملاً پودر را بپوشاند. بعد از پوشاندن سر ارلن‌ها با ورقه آلومینیومی به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه Shaker (Heidolph unimax 2010) با نود دور در دقیقه قرار گرفتند. بعد از اینکه حلال و گیاه همگن شدند محلولها توسط کاغذ صافی (Watmann 0.5 mm USA) صاف شدند. سپس محلولها در دستگاهی به نام rotary evaporator (Heidolph WD 2000) قرار گرفتند تا حلال از عصاره جدا شود. عصاره خالص به دست آمده در ویال‌های استریل جهت انجام آزمایشات میکروبی در یخچال نگهداری شدند.

Archive of SID
www.SID.ir

۲-تست تعیین فعالیت بازدارندگی عصاره‌ها:

سویه‌های استاندارد به صورت لیوفیلیزه Lactobacillus Streptococcus mutan (ATCC: 35668) 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 شبانه روز در دمای ۳۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند.

بعد از ایجاد کدورت در محیط مایع، نمونه‌ها بر روی محیط کشت جامد [برای اکتینومیسس ویسکوز BHI agar (Spain, CONDA)، برای استرپتوکوک موتان blood sheep 5 % + BHI agar (Spain, CONDA)، برای لاکتوباسیل رامنوز MRS Agar [(Germany, Merck)] به منظور اطمینان از خلوص آنها ایزوله شدند.

سپس به روش Borth macrodilution طبق پروتکل CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, 2006, M_7-A_4.USA) اثر آنتی باکتریال هر کدام از عصاره‌ها بر این سه گونه باکتری بررسی شدند.

ابتدا از هر کدام از عصاره‌ها محلول ذخیره (Stock) هشتصد میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و توسط فیلتر (۰/۲۲µm Millipore filters) استریل شدند. سپس رقیق سازی عصاره‌ها در ۱۱ لوله حاوی محیط کشت مایع [برای اکتینومیسس ویسکوز Thyioglycollate (USA, Difco) Medium برای استرپتوکوک موتان BHI (Spain, CONDA) broth برای لاکتوباسیل رامنوز MRS broth (Germany, Merck) به روش Serial dilution (رقیق سازی $\frac{1}{2}$) انجام شد (که در نهایت پانصد میکرولیتر از محیط کشت و عصاره در هر لوله وجود داشت). پس از تهیه سوسپانسیون باکتری مطابق لوله ۰/۵ مک فارلند (مک فارلند یک سوسپانسیون شیمیایی است که میزان کدورت حاصل از آن قابل مقایسه با سوسپانسیون میکروبی می‌باشد از این طریق تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون قابل تخمین است(۱۷)) به تعداد $1/5 \times 10^8$ CFU (Colony forming unit) در میلی‌لیتر و رقیق سازی آن توسط محیط کشت به میزان $\frac{1}{100}$ جهت به دست آوردن تعداد $1/5 \times 10^6$ CFU در میلی‌لیتر، به هر لوله پانصد میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به دست آمده اضافه شد. که نهایتاً محدوده غلظتی لوله‌ها ۰/۱۸ - ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مرحله بعد گرماگذاری به مدت بیست ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نجام شد. بعد از وقوع رشد، با بررسی کدورت در لوله‌ها رشد و یا عدم رشد باکتری‌ها ارزیابی گردید.

غلظت اولین لوله‌ای که رشد در آن مشاهده نگردید حداقل غلظت بازدارندگی MIC: Minimum Inhibitory Concentration رشد باکتری توسط آن عصاره منظور گردید. سپس از لوله‌هایی که فاقد رشد بودند در محیط کشت جامد آگاردار در پلیت کشت داده شد. اولین پلیتی که رشد مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) عصاره برای آن باکتری منظور شد. کنترل‌ها به شرح زیر بودند:

محیط کشت و عصاره بدون باکتری ← عدم رشد، محیط کشت و آب مقطر با باکتری ← رشد،محیط کشت و کلرهگزیدین (شاهد مثبت) با باکتری ← عدم رشد.

ضمناً گرماگذاری در مورد آکتینومایسیس ویسکوزوس و استرپتوکوکوس موتانس در جار بی‌هوازی و در مجاورت Co_2 صورت گرفت. این مراحل برای هر دو عصاره و برای هر سه نوع باکتری سه بار تکرار شد. نتایج توسط آماره Mann-whitney ($p< ۰/۰۵$) آنالیز و مقایسه شدند.

یافته‌ها

در نتایج Broth macrodilution میزان MIC و MBC بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر و سطح معنی‌دار بودن آنها ($P< ۰/۰۵$) 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 موتانس میزان MIC و MBC برای مریم گلی به ترتیب ۶/۲۵ و پنجاه میکروگرم بر میلی‌لیتر است که به طرز معنی‌داری از میزان MIC و MBC برای بومادران که به ترتیب پانصد و دویست میکروگرم بر میلی‌لیتر است، کمتر است. در مورد لاکتوباسیل میزان MIC وMBC برای مریم گلی به ترتیب ۱/۵۶ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای بومادران به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. میزان MIC مریم گلی به طرز معنی‌داری

Archive of SID
www.SID.ir

از بومادران کمتر است ولی MBC تفاوت معنی‌داری ندارد. در مورد اکتینومیسس ویسکوز میزان MIC و MBC برای مریم گلی ۱۲/۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است که به طرز معنی‌داری از میزان MIC و MBC برای بومادران که به ترتیب پنجاه و صد میکروگرم بر میلی‌لیتر است، کمتر می‌باشد.

جدول ۱: میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر برای عصاره‌ها و گونه های میکروبی

عصاره (میکروگرم بر میلی‌لیتر) / گونه باکتری	مریم گلی		بومادران	
	حداقل غلظت بازدارندگی	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت بازدارندگی	حداقل غلظت کشندگی
لاکتوباسیل رامنوز	۱/۵۶	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵
استرپتوکوک موتانس	۶/۲۵	۵۰	۵۰	۲۰۰
اکتینومیسس ویسکوز	۱۲/۵	۱۲/۵	۵۰	۱۰۰

بحث

پوسیدگی دندان بیماری تخریبی نسج سخت دندان است که در عین اینکه اتیولوژی آن چند عاملی است، ثابت شده که یک بیماری وابسته به پلاک میکروبی است.(۱۸)، پوسیدگی در حضور باکتری‌های اسیدوژنیک مثل استرپتوکوک موتان به شدت افزایش می‌یابد.(۱۸)، استرپتوکوک موتانس اولین و مهمترین میکروارگانیسم موجود در پلاک است که پوسیدگی‌زائی آن به اثبات رسیده است.(۱، ۱۹)، این میکروارگانیسم در شروع پوسیدگی نقش اساسی دارد (۲۰) و در کلیه ضایعات پوسیدگی عاج و مینا و در همه سطوح دندانی دیده می‌شود.(۱)، لاکتوباسیل‌ها در پیشرفت پوسیدگی نقش دارند و اکتینومیسس ویسکوز علاوه بر دو باکتری ذکر شده در ضایعات پوسیدگی سطح ریشه نقش ایفا می‌کنند.(۱۹– ۲۰)، بنابراین از بین بردن پایه باکتریایی پوسیدگی دندان یکی از عوامل کمک به رفع این عفونت فراگیر می‌باشد. در سالهای اخیر باتوجه به گسترش روز افزون مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای موجود و نیز اثرات جانبی آنتی بیوتیک‌ها جستجوی مواد ضدمیکروبی جدید از گیاهان مدنظر قرار گرفته است. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره های هیدروالکلی گیاهان بومادران 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 مطالعه بر سه باکتری مزبور اثر ضد باکتریایی داشته‌اند که اثر مهاری مریم گلی به طرز معنی‌داری بیشتر از بومادران برای هر سه باکتری بوده است. مریم گلی گیاه شناخته شده‌تری است که مطالعات ضدمیکروبی بیشتری در مورد آن انجام شده است.(۱۳– ۱۵)، کاربرد آن در بی اشتهایی، التهاب دهان و حلق و افزایش تعریق مورد تأیید مراجع طب گیاهی است.(۱۰)، شواهدی از اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی آن وجود دارد(۱۰– ۱۱ و ۱۴– ۱۵) در مریم گلی ترکیبات آلفا و بتاتوژون (Alpha, beta-thujone) (۲۰٪ – ۶۰٪) و یک و هشت سینئول (Cineol ۸ و ۱) (۶٪– ۱۶٪) و نیز فلاونوئیدهایی مانند اپی ژنین (Epigenin) موجود است. علاوه بر آن ترکیبات لینالول (Linalool)، بورنئول (Borneol) و آلفا و بتا کاریوفیلین (α,β-Caryophyllene) نیز در اسانس فرار مریم گلی موجود است.(۱۰)

در پژوهشهای قبلی اثر عصاره هیدروالکلی برگ مریم گلی بر فعالیت کلاژنولیتیک پورفیرومونـاس ژنژیوالیس نشان داده شده بود (۱۱) و اثر وسیع آنتی باکتریال و ضد قارچ مریم گلی بر طیف وسیعی از باکتری‌ها مانند سودوموناس و آسپرژیلوس و کاندیدا گزارش شده بود.(۱۱، ۲۱) که یافته‌های این مطالعه در مورد اثر باکتریسیدال مریم گلی با تحقیقهای فوق همخوانی دارد.

در مطالعه صانعی و همکاران (۱۶)، اثر عصاره گیاهانی از جمله مریم گلی بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای حفره دهان از جمله استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک سالیواریس و استرپتوکوک موتانس بررسی شده است، که

Archive of SID

www.SID.ir

مریم گلی با غلظتهای ۴/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان شصت ثانیه و نود ثانیه بر این میکروارگانیسم اثر مهار رشد داشته است، که نتایج مطالعه حاضر با آن هماهنگ است. در عین حال در مطالعه حاضر اثر بومادران و مریم گلی بر کلیه میکروارگانیسم‌های پوسیدگی‌زا، که هر کدام نقش ویژه‌ای در ایجاد پوسیدگی دارند، بررسی شده است، که از این لحاظ نسبت به مطالعه صانعی و همکاران جامعیت بیشتری دارد.

گیاه بومادران از جمله گیاهانی است که از دیرباز در درمان زخمها، مشکلات گوارشی و عفونی مورد استفاده می‌باشد و حتی در کاهش چربی خون هم مؤثر است.(۸، ۱۰)، از جمله موادی که در بومادران یافت می‌شود می‌توان به کامازولن (Chamazulen)، کاریوفیلین (Caryophyllene)، یک و هشت سینئول و فلاونوئیدهایی مانند اپی ژنین و روتین (Rutin) اشاره کرد.(۱۰)

بومادران دارای اثر مهاری و کشندگی بر سوش‌های مورد نظر در این مطالعه داشته است که با نتایج تحقیق Candan و همکاران (۱۲) در مورد اثر آنتی باکتریال اسانس بومادران هماهنگ است. وجود ترکیبات گیاهی کاریوفیلین و یک و هشت سینئول در بومادران و مریم گلی حائز اهمیت بوده و احتمال اثر این ترکیبات بر باکتری‌ها را مطرح می‌سازد. بنابراین با توجه به اینکه در نتایج این مطالعه عصاره هیدروالکلی گیاهان مریم گلی و بومادران اثر بازدارندگی رشد و کشندگی بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان داشته‌اند بررسی اثر ضد باکتریایی مواد موثره مشترک آنها از جمله یک و هشت سینئول و کاریوفیلین در مطالعه 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

۱-هر دو عصاره مریم گلی و بومادران بر هر سه گونه باکتری اثر بازدارندگی رشد داشتند.

۲- اثر بازدارندگی مریم گلی به طرز معنی‌داری بیشتر از بومادران بود.

۳- در محدوده غلظتی مورد بررسی، هر دو عصاره بر هر سه باکتری اثر باکتریسیدال هم داشت.

REFERENCES

1. Theondor MR, Harold OH, Ward J, Swift JR. Art and science of operative dentistry. 5th ed. St. Louis Missouri: Mosby, Elsevier; 2006, Chapter 3.
2. Walsb LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Aust Dent J. 1997 Oct; 42 (5): 302-6.
3. Fabrican DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environ Health perspect. 2001 Mar; 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 Azam Khan. Eksire Azam, Dehli: Nami Monshi Nolkshur; 1315, 38-70.
6. Nazem Jahan Mohammad Azam Khan. Gharabadin Azam, Dehli: Nami Monshi Nolkshur; 1315, 80-82, 150-152, 167-171.
7. Aghili Khorasani MH. Makhzanol Adviye. 1th ed. Tehran: Entesharate Elmi va Farhangi; 1367, 719-772.
8. Zakariyaye Razi Abubakr Mohammad. Alhavi fe Teb. 1th ed. Bambaee: Matbae osmaniye; 1886, 270-273.
9. Akhvini Bokhari Abubakr. Hedayatol Motealemin fe Teb. 1th ed. Mashad: Entesharate Daneshgahe Ferdosi; 1371, 40-45.
10. La Gow B. PDR for herbal medicine. 3rd ed. USA: Thamson; 2005, 698 – 79, 899-901.
11. Kemper FH. ESCOP monographs. 2nd ed. Stuttgart: Theime; 2003, 452-6.

Archive of SID
www.SID.ir

12. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A and et al. Antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of achillea millefolium subsp. Millefolium Afan. (Asteraceae). J Ethnopharmacol. 2003 Aug; 87(2-3): 215-20.
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 Aug; 14(7-8): 508-9.
14. Bozin B, Mimica – Dukic N, Samojlik I, Emilija J. Antimcrobial and antioxidant properties of rosmary and sage (rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) Essential oils. J Agric Food Chem. 2007 Sep; 55 (19): 7879-85.
15. Hayouni A, Chraiaf I, Abedrabba M, Bovix M, Leveau J, Mohammed H and 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 Jul; 125 (3): 242-51.
16. Sanei AS, Pour Esmaeeli HR, Ebadifar A, Madahi A, Saboor B, Mojab F, et al. Antimicrobial effect of 7 plants extraction on a few of pathogen microorganism of oral cavity. Pajuhande J, Fall 76, No 6; 22-25.
17. Jean F. Mac Faddin Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. St. Louis Missouri: Mosby; 2000,825.
18. Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. Guaijaverin a plant flavonoid as potential antiplaque agent against streptococcus mutans. J Appl Microb. 2006 Aug; 101 (2): 487-95.
19. Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries: The disease and its clinical management. 2nd ed. Singapore: Black well; 2008, Chapter 10, 16, 17.
20. Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS. Fundamentals of operative dentistry. 3rd ed. China: Quintessence; 2006, Chapter 1, 4, 12.
21. Ray AB, Sarma BK Singh UP. Medicinalis properties of plants; Anti fungal, Antibacterial and Antivival Activities. India: 1st ed. Inter Book Distrib Co; 2004, 8, 9,488.

Archive of SID

www.SID.ir