

مجله 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)^۲، مجید ولیدی (MSc)^{۲*}

۱- گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، 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 واکنش های آلرژیک را تسهیل و مقاومت میکروبیها به آنتی بیوتیکها را افزایش می دهد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی و تعیین ترکیبات فنلی موجود در عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا و شیرین بیان بر روی چهار باکتری عامل پوسیدگی دندان در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. **مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی، عصاره هیدروالکلی برگ آلوئه ورا و ریشه شیرین بیان به روش پرکولاسیون تهیه و پس از تهیه سوبه های استاندارد استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سالیواریوس، استرپتوکوکوس سانگوئیس، اکتینومایسس ویسکوزوس و اثر ضد باکتریایی عصاره ها به روش میکروبراث دایلوژن 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 و ۱۰ 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 و ۱، استرپتوکوکوس سالیواریوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵، استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۰/۱۲۵ و ۰/۵ و اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml محاسبه شد. میزان MIC و MBC عصاره آلوئه ورا استرپتوکوکوس موتانس بترتیب ۴ و ۱۶، استرپتوکوکوس سالیواریوس بترتیب ۰/۵ و ۲، استرپتوکوکوس سانگوئیس بترتیب ۱ و ۴ و اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۱ و ۲ mg/ml محاسبه گردید. MIC و MBC عصاره آلوئه ورا (۴ و ۱۶ mg/ml) به طور معنی داری بیشتر از عصاره شیرین بیان (۵ و ۱ mg/ml) بود ($p < 0.05$).

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.

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

مقدمه

سلامت دهان و دندان در طب 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 داروئی 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. شیرین بیان در اکثر نقاط ایران خصوصاً در شهرستان اقلید و نواحی

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 باکتری های پوسیدگی زا، مواد معدنی کلسیم و فسفر را از دست داده و به تدریج از بین می روند (۲). درمان و پیشگیری از پوسیدگی دندان با آنتی بیوتیکها 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

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: ۰۳۸-۳۳۳۴۶۶۹۲

E-mail: validi543@gmail.com

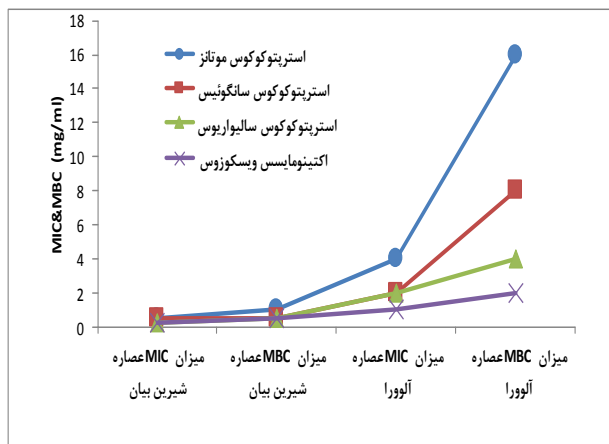
روتاری وارد شده و عصاره بدست آمده در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شد. سپس از هر کدام از عصاره‌های تهیه شده بطور جداگانه، محلول ذخیره با غلظت ۳۲ میلیگرم/میلی لیتر در حلال ۲۰ درصد دی متیل سولفاکساید (DMSO) مخلوط در آب مقطر تهیه و پس از استریل نمودن آن با استفاده از فیلتر میلی پور ۰/۴۵ میکرومتری، برای انجام 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 آنکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف اسید گالیک تهیه و مانند روش فوق منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل تام هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۱۱ و ۱۲). 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 نمونه‌ها 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 نمونه‌ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها 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 تایی 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 باکتری‌های مورد مطالعه در محیط‌های کشت BHI Agar و Sheep Blood Agar، و طبق استانداردهای (Clinical Laboratory Standards Institute, 2006, M7-A4.USA) (۱۵)، هر یک از عصاره‌های فوق بر روی هر کدام از باکتریهای مورد تحقیق در دو نوبت با روش میکروبراث دایلوژن (micro broth dilution) و در یک نوبت در یک سری ۱۲ تایی لوله‌های آزمایش کشت داده شد و نتایج آن تعیین و ثبت گردید. در این خصوص به طور جداگانه از کلتی باکتریهای مذکور سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه نموده سپس به هر یک از چاهک‌های پلیت الیزا ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده اضافه گردید و بعد از آنکوبه کردن پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در شرایط Candle jar، از طریق تهیه سری رقت‌های هریک از عصاره‌ها همراه با محیط کشت مایع MHB و افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هرباکتری و

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. در طب 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 و دستگاه گوارشی مفید است. شیرین بیان همچنین مدر (ادرارآور) و ملین 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، تأثیر بر دستگاه گوارش است. این گیاه درمان‌کننده ورم و زخم معده و اثنی عشر است و بر روی سرطان معده تأثیر مطلوب دارد. همچنین برای درمان سوء هاضمه و از بین بردن نفخ شکم مفید است (۵۶). آلوئه ورا (Aloe vera) یک گیاه بادوام با گل‌های زرد است که تنها برگ‌های این گیاه ارزش دارویی دارند. این گیاه دارویی در درمان آرتрит، آسم، سندرم خستگی مزمن، سوء هاضمه و اختلالات روده ای، بیماری‌های پوستی، صرع، میگرن و غیره مفید است. ژل گیاه صبر زرد به صورت موضعی برای درمان سوختگی‌های خفیف، جراحات پوستی، آکنه و التهاب مخاط دهان نیز کاربرد دارد (۷۸). استرپتوکوکوس‌های ویریدانس بویژه استرپتوکوکوس‌های موتانس، سانگوئیس و سالیواریس 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 ویژه‌ای برخوردار است و از طرفی با توجه به رویکرد سال‌های اخیر مسئولین و سیاست‌گذاران 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 عصاره‌های 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) بر روی باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان شامل استرپتوکوکوس موتانس (*Streptococcus mutans*)، استرپتوکوکوس سالیواریس (*Streptococcus salivarius*)، 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 تأیید 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 ۵۰۰ سی سی اتانول ۷۰ درصد مخلوط و ۲۴ ساعت در دمای اتاق آنکوبه کرده، سپس عصاره بدست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده و به دستگاه

(نمودار ۲). MIC و MBC عصاره آلوئه ورا (۱۶ و ۴ mg/ml) به طور معنی داری بیشتر از MIC و MBC عصاره شیرین بیان (۱ و ۰/۵ mg/ml) بود ($p < ۰/۰۵$). کمترین میزان MIC عصاره شیرین بیان (۴ mg/ml) در مورد استرپتوکوک موتانس و کمترین میزان MIC عصاره آلوئه ورا (۰/۵ mg/ml) در مورد استرپتوکوکوس سالیاریوس بود.



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

بحث و نتیجه گیری

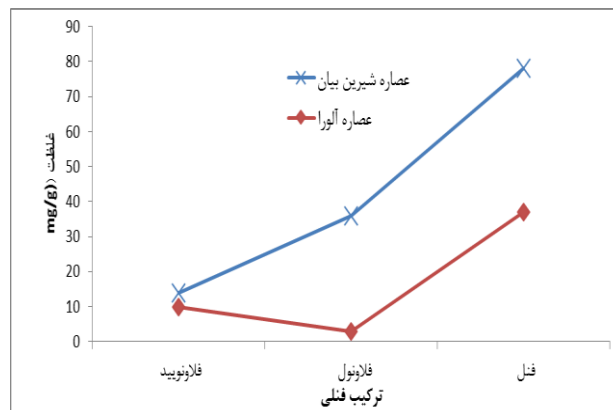
نتایج مطالعه نشان داد که غلظت فنل تام و فلاونول در عصاره ریشه و ساقه گیاه شیرین بیان بطور چشمگیری بیش از عصاره برگ گیاه آلوئه ورا بوده است. همچنین در رابطه با بررسی حداقل غلظتهای مهار کننده (MIC) و حداقل غلظتهای کشندگی (MBC) این دو عصاره بر روی چهار باکتری عامل پوسیدگی دندان مورد مطالعه نیز حاکی از این 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 بر روی 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 اثر ضد باکتریایی عصاره شیرین بیان و آلوئه ورا بیش از باکتریهای استرپتوکوکوس سالیاریوس، استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس گزارش شد. در تحقیق مشابهی نتایج نشان داد که با غلظت ۲۵ میکروگرم در دیسک بر روی اشیشیاکالای و با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر دیسک بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر دیسک بر روی دوباکتری باسیلوس سوبیلیس و سودوموناس آئروژینوزا موثر بوده است (۱۶). Jothi در مطالعه خود گزارش نمود که عصاره های ۵ تا ۱۰ گرم در لیتر برگ آلوئه ورا 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 آلوئه ورا 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

انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه 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 (مدل USAtatfax2100) 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 Inhibitory Concentration (MIC) 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 MIC و MBC 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 ۳، ۳۷ و ۱۰ میلیگرم و در هر گرم از عصاره خشک شیرین بیان بترتیب ۲۶، ۷۸ 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 (بر حسب میلیگرم/گرم از عصاره خشک)

در ضمن میزان MIC و MBC عصاره شیرین بیان برای استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۱ و ۰/۵ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سالیاریوس به ترتیب ۰/۵ و ۰/۲۵ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۰/۱۲۵ و ۰/۵ 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 سالیاریوس بترتیب ۰/۵ و ۲ mg/ml، برای استرپتوکوکوس سانگوئیس بترتیب ۱ و ۴ mg/ml و برای اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۱ و ۲ mg/ml مشاهده شد

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 می‌کنند 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 میکروبی 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 هزینه‌های 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 می‌گردد.

پروتئوس موثر بوده است (۱۸). در مطالعه ای که توسط Keithwas و همکاران انجام شد عصاره آلوئه ورا بر روی باکتری‌های اشریشیاکلا، 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، Mimuspelengi و Achyrantheaaspera بر روی استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکنس دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشند (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 اشریشیاکلا انتروتوکسیژن گزارش شد (۲۰). در مطالعه Sedighiniya و همکارانش میزان MIC و MBC عصاره ریشه شیرین بیان بر روی استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگوئیس، اکتینو ماسس ویسکوزوس، به ترتیب ۱۲/۵ و ۱۲/۵، ۵۰ و ۵۰، ۱۲/۵ و ۱۲/۵ میلی گرم/میلی لیتر گزارش شد (۲۱). در مطالعه Dilip George و همکارانش با مطالعه اثر ضد میکروبی خمیر دندانهای تجارتي و خمیر دندان حاوی عصاره آلوئه ورا بر روی استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، انتروکوکوس فکالیس، پروتلا اینترمدیا و کاندیدا آلبیکنس به روش دیسک دیفیوژن نشان دادند که عصاره آلوئه ورا باعث افزایش اثر ضد باکتریایی بر روی باکتریهای مذکور میگردد. در مطالعه Bertolini و همکارانش اثر ضد میکروبی مسواک حاوی عصاره آلوئه بروی استرپتوکوکوس موتانس نشان داد که عصاره این گیاه باعث کاهش آلودگی مسواکها با این باکتری میگردد (۲۲). نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده خواص ضد باکتریایی غلظتهای

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

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 In Vitro. 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

References

1. Theodor 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, Zargarani 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, Mohammadzadeh 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, Ogonnaya 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.

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 postprandial high-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 serrata* on thermal burn injuries. *Shiraz E-Med J*. 2015;16(1):e26239.