

## Antibacterial activity of *Oliveria decumbens* extract on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*

Yasamin Barkian<sup>1</sup>, Roohollah Fateh<sup>2</sup>, Hoda Abolhasani<sup>3</sup>, Ghazal Alavi<sup>4</sup>, Azin Reiszadeh<sup>5</sup>, Zahra Amouzad<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor of Pharmaceutical Chemistry, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

<sup>4</sup> Dentistry Student, School of Dentistry, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

<sup>5</sup> Dentist, School of Dentistry, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

### Abstract

**Background:** This study investigated the antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extracts of *Oliveria decumbens* on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, which are key contributors to dental caries. Considering the relative resistance of these bacteria to antibiotics and the traditional use of medicinal plants, this study was conducted to evaluate these effects.

**Materials and methods:** The plant extracts were prepared using the maceration method and serial dilutions. Standard bacterial strains were obtained from reliable sources and cultured in appropriate media. Aqueous and ethanolic extracts were added to bacterial suspensions in microplate wells and incubated anaerobically at 37°C for 48 hours. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined through visual observation.

**Results:** The aqueous extract inhibited the growth of both bacterial species at concentrations of 2048, 1024, and 512 µg/ml, with an MIC of 512 µg/ml. Additionally, the aqueous extract exhibited bactericidal activity at concentrations of 2048 and 1024 µg/ml, with an MBC of 1024 µg/ml. On the other hand, the ethanolic extract showed no antimicrobial activity at any concentration.

**Conclusion:** This study demonstrates that the aqueous extract of the plant has moderate antimicrobial effects, whereas the ethanolic extract exhibited no activity.

**Keywords:** *Oliveria decumbens*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans*.

**Cited as:** Barkian Y, Fateh R, Abolhasani H, Alavi Gh, Reiszadeh A, Amouzad Z. Antibacterial activity of *Oliveria decumbens* extract on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2025; 35(3): 286-293.

**Correspondence to:** Ghazal Alavi

**Tel:** +98 991277218

**E-mail:** alavighazal77@gmail.com

**ORCID ID:** 0009-0007-2547-5634

**Received:** 31 Aug 2024; **Accepted:** 26 Nov 2024

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۴، صفحات ۲۸۶ تا ۲۹۳

## بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره گیاه الوریادکومبنز بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

باسمین برکیان<sup>۱</sup>، روح‌الله فاتح<sup>۲</sup>، هدی ابوالحسنی<sup>۳</sup>، غزل علوی<sup>۴</sup>، آذین رئیس زاده<sup>۵</sup>، زهرا عموزاد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

<sup>۳</sup> استادیار شیمی دارویی، گروه فیزیولوژی-فارماکولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

<sup>۴</sup> دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

<sup>۵</sup> دندانپزشک عمومی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** این پژوهش به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه الوریادکومبنز بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، که از عوامل اصلی پوسیدگی دندان هستند، پرداخت. با توجه به مقاومت نسبی این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده‌های سنتی از گیاهان دارویی، این مطالعه برای بررسی این اثرات انجام شد.

**روش بررسی:** ابتدا عصاره‌های گیاه به روش خیساندن و در رقت‌های سریالی مختلف تهیه شدند. سپس باکتری‌های استاندارد از منابع معتبر تهیه و در محیط‌های مناسب کشت داده شدند. عصاره‌های آبی و الکلی در چاهک‌های میکروپلیت به سوسپانسیون باکتری‌ها اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی نگهداری شدند. میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) از طریق مشاهده چشمی تعیین شد.

**یافته‌ها:** عصاره آبی در غلظت‌های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر رشد هر دو گونه باکتری را مهار کرده و MIC آن ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین، عصاره آبی خاصیت باکتری‌کشی در غلظت‌های ۲۰۴۸ و ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشت و MBC آن ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از سوی دیگر، عصاره الکلی در هیچ‌یک از غلظت‌ها اثر ضد میکروبی نداشت.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره آبی گیاه اثر ضد میکروبی متوسطی دارد، در حالی که عصاره الکلی هیچ تأثیری ندارد. **واژگان کلیدی:** الوریادکومبنز، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، استرپتوکوکوس موتانس.

### مقدمه

موتانس، اصلی‌ترین عامل ایجادکننده این عارضه محسوب می‌شوند. همچنین مطالعات متعدد نشان داده‌اند که لاکتوباسیل‌ها در نواحی پیشروی ضایعات پوسیده قرار داشته و احتمالاً این باکتری‌ها با پوسیدگی عاج در ارتباط هستند (۲،۳). استفاده از گیاهان دارویی برای اهداف درمانی قرن‌هاست که انجام می‌پذیرد. در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی به سبب عوارض جانبی کمتر و قابلیت درمانی زیاد برای حفظ بهداشت دهان رایج شده است (۴، ۵).

پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن و قابل پیشگیری در سراسر جهان است (۱). با وجود اثرگذاری عوامل مختلف در ایجاد و پیشرفت پوسیدگی دندان، فعالیت باکتری‌های تولیدکننده اسید به‌ویژه گونه استرپتوکوکوس

آدرس نویسنده مسئول: قم، دانشگاه علوم پزشکی قم، دانشکده دندانپزشکی، غزل علوی

(email: alavighazal77@gmail.com)

ORCID ID: 0009-0007-2547-5634

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۶/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۱۶

این گیاه اثرات دارویی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی قوی دارد و در طول سال‌های گذشته برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده شده است (۶). خصوصیات ضد میکروبی این گیاه در برابر باکتری‌های مختلف مانند سودوموناس اثر و ژنوز، اشیرشیا کلی، استافیلوکوک اپیدرمیس و استرپتوکوک پایوژنز و ... مورد بررسی قرار گرفته است و اثرات آنتی‌باکتریال خوبی از خود نشان داده است (۸). از آنجایی که گیاه الوریادکومبیز یک گیاه بومی، مقاوم به تشنگی، قابل دستیابی و قابل تهیه در ایران است، می‌تواند منبع باارزش آنتی‌اکسیدان و آنتی‌میکروبیال قابل توجه برای استفاده دارویی برای بهبود سلامت مردم باشد (۷).

در این مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه الوریادکومبیز علیه دو باکتری استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس به عنوان دو میکروارگانیسم شایع دهانی که از علل اصلی پوسیدگی‌های دندانی هستند، بررسی شد تا در صورت اثربخشی این گیاه بتوانیم در مطالعات بعدی با ساخت دهان‌شویه‌های متشکل از این گیاه و مقایسه اثر آن با دهان‌شویه‌های آنتی‌باکتریال استاندارد، گامی در جهت تولید دهان‌شویه‌های گیاهی و کم‌ضرر برداریم.

## مواد و روشها

در این پژوهش آزمایشگاهی experimental، ابتدا دو گروه اصلی انتخاب شدند. در یک گروه باکتری Streptococcus Mutans (ATCC:35668) و در گروه دیگر باکتری Lactobacillus Acidophilus (PTCC:1643) قرار گرفتند. سپس باکتری هر یک از دو گروه در چهار غلظت آبی و الکی قرار گرفتند. با این توضیح که ابتدا عصاره‌های آبی و الکلی الوریادکومبیز به روش خیساندن در رقت‌های سریالی ۱ به ۲ از عصاره‌ها از ۲۰۴۸ تا ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شدند. پس از کشت مجدد باکتری‌ها در محیط کشت، سوسپانسیون باکتری مطابق لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس در هریک از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرو لیتر از رقت‌های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی، ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت (۲x) و ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند اضافه گردید. در آخر میکروپلیت‌ها در جار بی‌هوازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد و بعد از گرم‌گذاری، میزان MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) عصاره و محلول آنتی‌باکتریال مورد استفاده به طریق چشمی تعیین و گزارش شد.

**تهیه سوسپانسیون باکتری:** سوسپانسیون باکتری‌های Lactobacillus mutans (ATCC ۳۵۶۶۸) و Acidophilus (PTCC ۱۶۴۳) مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. از باکتری‌هایی که در پلیت کاشت داده شده بود (کشت تازه ۲۴-۴۸ ساعته) در محیط برات تلقیح شد. برای استرپتوکوکوس موتانس محیط کشت مولر هینتون برات استفاده شد و برای لاکتوباسیل اسیدوفیلوس محیط BHI برات (Brain Heart Infusion) استفاده شد و پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در جار بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس سوسپانسیون باکتری مطابق لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه شد.

دهان‌شویه آنتی‌باکتریال کلروهگزیدین (۹) ۰/۲٪ نیز در رقت‌های ۱ به ۲ از ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۰/۰۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان Gold standard مورد استفاده قرار گرفت.

**تهیه عصاره گیاه الوریادکومبیز:** اندام هوایی گیاه که شامل گل و برگ و ساقه بود در سال ۲۰۲۲ از شهرستان کازرون استان فارس تهیه شد. برای تهیه عصاره آبی و الکلی الوریادکومبیز اندام هوایی جمع‌آوری شده گیاه با آسیاب پودر شد. سپس پودر گیاه توسط ترازوی دیجیتال مدل kem و دقت ۰/۰۱ گرم به میزان ۱۵ گرم توزین شد. پس از قرار گرفتن پودر مورد نظر در ارلن، با نسبت ۱ به ۲۰، ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر و اتانول ۹۶٪ به عنوان حلال روی پودر ریخته شد تا کاملاً روی پودر را بپوشاند. سپس در ارلن با پارافین به دقت پوشانده و محلول‌ها برای ۴۸ ساعت روی دستگاه استیرر (stirrer) در دمای اتاق قرار گرفت. این روش عصاره‌گیری خیساندن (ماسراسیون) نام دارد (۱۰).

پس از ۴۸ ساعت محلول‌های مورد نظر با استفاده از کاغذ صافی، صاف شده و محلول همگن حاصل جهت تبخیر حلال در دستگاه روتاری قرار گرفت. بعد از تبخیر قسمت اعظم حلال، جهت خشک‌شدن کامل و به‌دست‌آوردن عصاره پودری از دستگاه فریز درایر به مدت ۲ ساعت استفاده شد و مواد باقیمانده در ظرف، عصاره آبی و الکلی گیاه الوریادکومبیز است که با اسپاتول تراشیده شد. با استفاده از این روش ۱/۶۵ گرم عصاره خشک آبی و ۱ گرم عصاره خشک الکلی به دست آمد.

**تهیه رقت‌های سریال از عصاره گیاه الوریادکومبیز:** برای تهیه رقت‌های سریال از عصاره گیاه الوریادکومبیز که حالت خشک و پودری دارد از حلال DMSO محصول شرکت مرک آلمان استفاده شد (۱۱). برای حفظ خاصیت عصاره‌ها و استریل کردن آن‌ها از وجود هرگونه آلاینده (از قبیل باکتری‌ها و ویروس‌ها) از فیلتر سر سرنگی ۲۲ میکرونی محصول شرکت jet biofil استفاده شد. پس از آن عصاره گیاه الوریادکومبیز با رقت‌های سریالی ۱ به ۲ از ۲۰۴۸ تا ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شده و در چاهک‌های

میکروپلیت‌های حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جار بی‌هوازی و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. بعد از گرماگذاری، میزان MIC عصاره گیاه الوریادکومبیز و داروی مورد استفاده به طریق چشمی تعیین و گزارش شد. کمترین غلظتی از عصاره یا دارو که در آن رشد باکتری مشاهده نشود، به عنوان MIC آن ترکیب گزارش می‌شود (۱۳).

#### تعیین **MBC (minimum bacterial concentration)**

ترکیبات مورد استفاده برای هرگونه باکتریایی: برای اندازه‌گیری حداقل غلظت کشنده رشد از لوله‌های فاقد نشانه رشد در قسمت MIC توسط یک آنس استریل و در نزدیکی شعله برداشته و بر روی محیط جامد مولر هینتون کشت گسترش داده می‌شود. پس از آنکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از لحاظ رشد و تشکیل کلونی بررسی شده و آخرین رقتی که توانسته ۹۹/۹٪ باکتری‌ها را بکشد به عنوان MBC در نظر گرفته می‌شود (۱۴).

**کنترل مثبت و منفی محیط کشت:** کنترل مثبت حاوی محیط کشت و باکتری بود که نشان دهنده این بود که محیط کشت استفاده شده سالم بود و باکتری نیز زنده است که رشد کرده و کدر شده است. کنترل منفی محیط کشت حاوی محیط کشت به همراه سرم فیزیولوژی استریل است که نباید رشد داشته باشد و نشان دهنده صحیح استریل شدن محیط کشت است.

برای اطمینان از زنده و سالم بودن باکتری‌ها و سالم بودن محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند که ۱۰۰ مرتبه با سرم فیزیولوژی رقیق شده بود، به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون برات اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی نگهداری شد. پس از ۴۸ ساعت، محیط کشت کاملاً آثار کدورت و رشد باکتری‌ها را در خود نشان داد که این امر نشان‌دهنده سالم و زنده بودن باکتری‌ها و همچنین سالم بودن محیط کشت است.

#### یافته‌ها

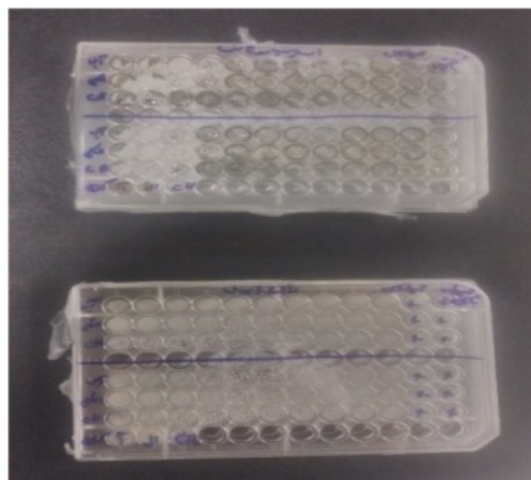
مطالعه حاضر به بررسی اثر آنتی‌باکتریال دو گروه عصاره آبی و الکلی گیاه الوریادکومبیز بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس پرداخته است. برای این منظور محیط‌های کشت به صورت چشمی از نظر کدورت در رقت‌های مختلف بررسی شدند که نتایج آن به تفکیک برای

میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای از هر رقت، میزان ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد (۱۲). همچنین از دهان‌شویه آنتی‌باکتریال کلروهگزیدین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. زیرا در همه مطالعات انجام شده، دهان‌شویه کلروهگزیدین روی تمام باکتری‌های گرم مثبت و منفی اثر باکتریواستاتیک دارد و در اکثر مطالعات مرتبط با بررسی اثر یک دهان‌شویه گیاهی بر باکتری‌های دهان به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته می‌شود (۹).

**تهیه محیط کشت مولر هینتون برات ۲×:** محیط کشت ۲× دارای غلظت دو برابر محیط کشت ساده است. برای این منظور باید نسبت آب مقطر اضافه شده به محیط کشت نصف میزان توصیه شده برای تهیه محیط کشت ساده باشد. سپس محیط کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد خنک شد.

#### تعیین **MIC (minimal inhibitory concentration)**

ترکیبات مورد استفاده برای هرگونه باکتریایی: ابتدا به همه خانه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت ۲× اضافه شد و به ترتیب در خانه‌های ۱ تا ۱۲، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱ به ۲ تهیه شده در مرحله قبل اضافه شد. سپس درون تمام چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک فارلند اضافه شد که در مجموع با توجه به دو مرتبه تکرار برای هر یک از عصاره‌ها و کلروهگزیدین و همچنین دو گونه مختلف باکتری و ۱۰ رقت عصاره‌ها، ۱۲۰ چاهک استفاده شد که به همین منظور ۲ عدد میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. میکروپلیت ۹۶ خانه

در نهایت میکروپلیت‌های حاوی باکتری استرپتوکوکوس موتانس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و آنکوباتور دارای ۵ درصد دی‌اکسید کربن (CO<sub>2</sub>) و

هر یک از باکتری‌های ذکر شده به شرح زیر است. لازم به ذکر است که علامت + و - به ترتیب به معنای رشد و عدم رشد باکتری است. همچنین برای کنترل منفی، غلظت‌های مختلف دهان‌شویه آنتی‌باکتریال کلرهگزیدین بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس سنجیده شد که نتایج آن در ادامه آمده است.

طبق نتایج آورده شده در جدول ۱ عصاره آبی گیاه الوریادکومبیز بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس اثر یکسانی داشت و در غلظت‌های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مانع رشد این باکتری‌ها در محیط کشت شد. همچنین در تکرار آزمایش برای اطمینان از نتایج فوق دوباره همان غلظت‌ها مانع رشد باکتری شدند.

طبق نتایج آورده شده در جدول ۲ عصاره الکلی گیاه الوریادکومبیز در هیچ‌یک از غلظت‌ها مانع رشد باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس نشد. سپس برای اطمینان از صحت نتایج فوق آزمایش دوباره تکرار شد که همان نتایج تأیید شدند. برای کنترل محیط کشت، دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره‌های آبی و الکلی به این شیوه عمل شد:

کنترل مثبت حاوی محیط کشت و باکتری است که نشان‌دهنده این است که ۱. محیط کشت استفاده‌شده سالم است و ۲. باکتری نیز زنده است که رشد کرده و کدر شده است. کنترل منفی محیط کشت: حاوی محیط کشت به همراه سرم فیزیولوژی استریل است که نباید رشد داشته باشد و

نشان‌دهنده صحیح استریل شدن محیط کشت است. کنترل منفی عصاره و دهان‌شویه کلرهگزیدین: حاوی محیط کشت به‌علاوه عصاره یا دهان‌شویه آنتی‌باکتریال کلرهگزیدین است که نباید رشد داشته باشد که نشان‌دهنده استریل بودن آن دو است.

برای اطمینان از استریل بودن عصاره‌ها و دهان‌شویه کلرهگزیدین و اطمینان از عدم آلودگی آنها با میکروارگانیسم‌های دیگر، دهان‌شویه آنتی‌باکتریال کلرهگزیدین و عصاره‌های آبی و الکلی به محیط کشت مولر هینتون برات اضافه‌شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی نگهداری شد.

در محیط کشت بدون باکتری و عصاره‌ها پس از ۴۸ ساعت هیچ‌گونه کدورتی مبنی بر رشد باکتری مشاهده نشد. محیط کشت به همراه باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس در عدم حضور عصاره‌ها و دهان‌شویه کلرهگزیدین پس از ۴۸ ساعت رشد باکتری‌ها را نشان داد و در محیط کشت به همراه عصاره‌های آبی و الکلی و کلرهگزیدین پس از ۴۸ ساعت هیچ‌گونه باکتری رشد نکرد.

### بحث

در مطالعه حاضر عصاره آبی گیاه الوریادکومبیز در غلظت‌های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ و ۵۱۲  $\mu\text{g/ml}$  بر هر دو گونه باکتری

جدول ۱. مقایسه اثر عصاره آبی الوریادکومبیز بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس

غلظت عصاره آبی $\mu\text{g/ml}$	۲۰۴۸	۱۰۲۴	۵۱۲	۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴
آبی/موتانس	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
آبی/لاکتوباسیل	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

جدول ۲. مقایسه اثر عصاره الکلی الوریادکومبیز بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس

غلظت عصاره الکلی $\mu\text{g/ml}$	۲۰۴۸	۱۰۲۴	۵۱۲	۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴
الکلی/موتانس	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
الکلی/لاکتوباسیل	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

جدول ۳. کنترل محیط کشت، باکتری و عصاره‌ها

کنترل	مولر خالی	مولر/لاکتوباسیل	مولر/کلرهگزیدین	مولر/الکلی	مولر/آبی	مولر/موتانس
نتایج کنترل	-	+	-	-	-	+

معتمدی و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره اتانولی و متانولی گیاهان اسفرزه و الیوریا کومبیز بر ۶ نوع باکتری گرم منفی و ۸ نوع باکتری گرم مثبت پرداختند (۱۶). نتایج نشان داد که عصاره اتانولی و متانولی هر دو گیاه اثر آنتی‌باکتریال خوبی علیه هر دو گروه باکتری گرم مثبت و گرم منفی دارد. عصاره اتانولی الیوریا کومبیز فعالیت آنتی‌باکتریال علیه همه باکتری‌های تست شده دارد و باکتری *Staphylococcus aureus* که کوکسی گرم مثبت است، بیشترین حساسیت را به عصاره اتانولی دارد و عصاره متانولی این گیاه نیز فعالیت آنتی‌باکتریال علیه اکثر گونه‌های باکتریایی دارد. در این مطالعه برخلاف مطالعه حاضر، عصاره الکلی گیاه الیوریا کومبیز بر باکتری‌ها مؤثر بود، هرچند نوع باکتری متفاوت است. علت تفاوت در نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر تفاوت در نوع باکتری، نسبت گیاه به حلال، غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌ها و محل جمع‌آوری گیاه است؛ زیرا نسبت گیاه به حلال این مطالعه دو برابر نسبت گیاه به حلال استفاده شده در مطالعه حاضر بود و غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های اتانولی و متانولی، بسیار بیشتر از غلظت‌های تهیه شده از عصاره آبی و الکلی مطالعه حاضر بودند.

محبوبی و همکارانش اثر اسانس آبی الیوریا کومبیز را بر ۶ نوع باکتری گرم مثبت، ۹ نوع گرم منفی و ۳ نوع قارچ بررسی کردند (۱۷). بر اساس نتایج، اسانس الیوریا کومبیز بیشترین اثر مهاری را به ترتیب بر قارچ‌ها، باکتری‌های گرم مثبت و سپس باکتری‌های گرم منفی دارد و بر باکتری‌های تشکیل‌دهنده اسپور بی‌اثر است. در بین قارچ‌ها قارچ *Aspergillus niger* و *Bacillus amethicillin-resistant Staphylococcus aureus* بیشترین حساسیت را داشتند. از آنجا که اسانس آبی این گیاه روی کوکسی‌های گرم مثبت اثر آنتی‌باکتریال داشته است، نتایج آن با مطالعه حاضر هم سو است. گرچه غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه از غلظت‌های مطالعه حاضر کمتر است که علت اثربخشی آن را می‌توان در تفاوت اسانس و عصاره و روش استخراج مواد مؤثره گیاه و همچنین تفاوت روش ارزیابی خاصیت ضد میکروبی در دو مطالعه دانست.

بر اساس نتایج مطالعه امین و همکارانش عصاره گیاه الیوریا کومبیز اثر آنتی‌میکروبیال گسترده‌ای علیه باکتری‌های *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* و قارچ‌های *A. niger*, *C. albicans* نشان داد (۱۸). میزان حساسیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس اثر ضدباکتریایی داشته و عصاره الکلی در هیچ‌کدام از غلظت‌ها مانع رشد باکتری‌ها نشد.

علیزاده و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر عصاره گیاه الیوریا کومبیز بر ۲ نوع باکتری باسیل گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* و کوکسی گرم مثبت *Staphylococcus epidermidis* و *Streptococcus pyogenes* پرداختند (۸). طبق نتایج، عصاره آبی گیاه الیوریا کومبیز بیشترین اثر بازدارندگی رشد را به ترتیب بر باکتری‌های *Streptococcus pyogenes*، *Staphylococcus epidermidis*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* داشت. همچنین در همه غلظت‌ها بر کوکسی‌های گرم مثبت هاله عدم رشد را ایجاد کرده بود. بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که عصاره آبی الیوریا کومبیز بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری‌های گرم مثبت داشته است که با نتایج مطالعه حاضر از این جهت هم سو است؛ زیرا در مطالعه حاضر باکتری استرپتوکوک موتانس که با استرپتوکوک پایونز در یک سرده قرار می‌گیرند و باکتری لاکتوباسیل اسیدوفیلوس که باسیل گرم مثبت است، حضور دارند و علی‌رغم استفاده از غلظت‌های کمتر، عصاره آبی گیاه اثر بازدارندگی رشد بر باکتری‌ها داشته است.

حاجی مهدی‌پور و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی اثر آنتی‌باکتریال عصاره گیاه الیوریا کومبیز بر ۳ نوع باکتری گرم مثبت، ۲ نوع گرم منفی و ۲ نوع قارچ پرداختند (۱۵). طبق نتایج این پژوهش، عصاره گیاه الیوریا کومبیز اثر آنتی‌باکتریال قوی علیه باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، باکتری گرم منفی *Escherichia coli*، قارچ‌های *Aspergillus niger* و *Candida albicans* و اثر آنتی‌باکتریال ضعیفی علیه باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* داشت. نتایج این مطالعه هم سو با مطالعه حاضر است؛ زیرا باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوک موتانس در یک سرده و باسیلوس ساب تایلپس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس در یک راسته قرار دارند؛ اما علت داشتن اثر آنتی‌باکتریال در این غلظت‌های بسیار اندک می‌تواند مرتبط به محل جمع‌آوری گیاه و نحوه عصاره‌گیری و روش بررسی اثر آنتی‌باکتریال باشد که از این جهت با مطالعه حاضر متفاوت است.

متفاوت باشد، همچنان که روش ارزیابی خاصیت ضد میکروبی که دیسک دیفیوژن است، با مطالعه حاضر که میکروبراث دایلوژن است تفاوت دارد.

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر نتیجه‌گیری می‌شود، عصاره الکلی گیاه الوریادکومبیز در هیچ یک از غلظت‌ها بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس اثر مهاری ندارد؛ ولی عصاره آبی در غلظت‌های ۲۰۴۸، ۱۰۲۴ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مانع از رشد هر دو باکتری می‌شود که می‌توان این گونه نتیجه گرفت که حلال آب از استخراج مواد مؤثره الوریادکومبیز نسبت به اتانول بهتر عمل می‌کند. از آنجا که عصاره آبی این گیاه تنها در ۳ غلظت اول اثر مهارکنندگی رشد از خود نشان داد، می‌توان این گونه نتیجه گرفت که گیاه الوریادکومبیز در مقایسه با دهان‌شویه کلرهگزیدین دارای اثر آنتی‌باکتریال ضعیف‌تری است.

نسبت به عصاره حاصل از گل‌های گیاه در این مطالعه برابر بود که می‌تواند به دلیل میزان بسیار بالای کارواکرول در گل‌های این گیاه باشد. باتوجه به اثرگذاری عصاره گیاه بر کوکسی‌های گرم مثبت استافیلوکوک اپیدرمیدیس و استافیلوکوک اورئوس و باسیل گرم مثبت باسیلوس سرنوس و مشابهت این باکتری‌ها با باکتری‌های مطالعه حاضر، نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر هم سو است.

بر اساس مطالعه فہیم و همکارانش رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی با میزان قطر هاله عدم رشد به ترتیب ۱۲/۵ میلی‌متر و ۸/۷۵ میلی‌متر به طور مؤثری توسط اسانس الوریادکومبیز محدود می‌شود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی به این اسانس است (۱۹). باتوجه به این که در این مطالعه در مورد نوع و نحوه تهیه عصاره و محل تهیه و اندام مورد استفاده گیاه توضیحی داده نشده، به نظر می‌آید با مطالعه حاضر

## REFERENCES

- Obregón-Rodríguez N, Fernández-Riveiro P, Piñeiro-Lamas M, Smyth-Chamosa E, Montes-Martínez A, Suárez-Cunqueiro MM. Prevalence and caries-related risk factors in schoolchildren of 12- and 15-year-old: a cross-sectional study. *BMC Oral Health* 2019;19:120.
- Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. Streptococcus mutans, caries and simulation models. *Nutrients* 2010;2:290-8.
- Matsumoto-Nakano M. Role of Streptococcus mutans surface proteins for biofilm formation. *Jpn Dent Sci Rev* 2017;54:22-29.
- Sadeghi M, Bahramabadi R, Asar S. Antibacterial Effects of Persica and Matrica Herbal Mouthwashes on Common Oral Microorganisms: An In Vitro Study. *Journal of Mashhad Dental School* 2011;35:107-14. [In Persian]
- Anyanwu MU, Okoye RC. Antimicrobial activity of Nigerian medicinal plants. *J Intercult Ethnopharmacol* 2017;6:240-59.
- Mollaei S, Mamizadeh Z, Hazrati S, Hashempour H. The effect of ultrasonic pre-treatment on the yield, chemical composition and biological activity of essential oil in *Oliveria decumbens* flowers. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 2021;24:100313.
- Esmaeili H, Karami A, Maggi F. Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) at different phenological stages. *Journal of Cleaner Production* 2018;198:91-5.
- Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Vasiee A, Mortazavi SA. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microb Pathog* 2018;114:449-52.
- Bernardes WA, Lucarini R, Tozatti MG, Souza MG, Silva ML, Filho AA, et al. Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. *CheBiodivers* 2010;7:1835-40.
- Enayati N, Ghafarzadegan R, Hajiaghaee R, Vazirian M. comparison of different extraction methods for the extraction of bioactive components of *Senna alexandrina*. *Journal of Medicinal Plants* 2017;16:160-9.
- Rezaie Keikhaie K, Ghorbani S, Hosseinzadeh Z, Hassanshahian M. Antimicrobial activity of methanol extract of *Citrullus colocynthis* against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Future Natural Products* 2018;4:64-72.
- Rahmy RA, Abdel El Hamid DH, Fahim NA. Evaluation of broth disk elution test and agar test to determine colistin in vitro activity in Enterobacteriaceae. *Ain Shams Med J* 2024;75:1-10.
- Benkova M, Soukup O, Marek J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *J Appl Microbiol* 2020;129:806-22.

- 14.Soltan Dallal M, Yazdi M, Aghaamiri S, Haghghat Khajavi S, Abedi Mohtasab T, Amin Harati F, et al. Antimicrobial Effect of *Zataria multiflora* and *Rosemarinus officinalis* on Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Food. *Journal of Medicinal Plants*. 2014;13:41-7.
- 15.Hajimehdipoor H, Samadi N, Mozaffarian V, Rahimifard N, Shoeibi S, Pirali Hamedani M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Oliveria decumbens* Volatile Oil from West of Iran. *Journal of Medicinal Plants* 2010;9:39-44.
16. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour-Shahraki M, Seyyed Nejad SM. Antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of *Plantago ovata* and *Oliveria decumbens* endemic in Iran against some pathogenic bacteria. *Int J Pharmacol* 2010;6:117–22.
- 17.Mahboubi M, Feizabadi MM, Haghi G, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Oliveria decumbens* Vent. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 2008;24:56-65. [In Persian]
- 18.Amin G, Sourmaghi MH, Zahedi M, Khanavi M, Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia* 2005;76:704-7.
- 19.Abbasi H, FAHIM H, Mahboubi M, Tahmasbi N. Antibacterial properties and stability of emulsions containing *Cuminum cyminum* and *Oliveria decumbens* Vent. essential oils prepared by ultrasound. *Journal of Food Science and Technology (FSCT)* 2019;16:41-51. [In Persian]