تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ۲۱۱-۲۱۷

مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ گردوی ایرانی با دهان‌شویه کلرهگزیدین بر روی استرپتوکک موتانس و استرپتوکک سانگوئیس

دکتر رضا شرافتی چالشتری[۱]- فرهاد شرافتی چالشتری[۲] - دکتر محمود رفیعیان کوپائی[۳]- فاطمه دریس[۴]- کوروش اشرفی[۵]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲- مربی گروه آموزشی میکروب شناسی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۳- استاد گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۴- مربی گروه آموزشی آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۵- کارشناس ارشد گروه آموزشی میکروب شناسی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

چکیده

زمینه و هدف: *استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس به عنوان عواملی در ایجاد پوسیدگی دندان محسوب می‌گردند. اخیراً تحقیق و استفاده از داروهای گیاهی رو به افزایش است. لذا این مطالعه با هدف مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ گردو با دهان‌شویه کلرهگزیدین روی این باکتری‌ها انجام گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، پس از جمع آوری برگ گردو، عصاره اتانولی گیاه تهیه و اثرات ضد میکروبی عصاره و کلر هگزیدین به روش چاهک- دیفیوژن و تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) با روش میکرودایلوشن علیه استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس انجام شد، آمیکاسین (سی میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. میزان ترکیبات فنلی کل به روش فولین – سیتوکالتیو اندازه‌گیری شد. داده‌ها بر اساس مشاهده نتایج آزمایشگاهی در چک لیست جمع آوری و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون Mann-Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.*

یافته‌ها: *مقدار MIC عصاره اتانولی برگ گردو برای استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس به ترتیب ۱۲۵ و۱۵/۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. میزان هاله عدم رشد عصاره برای استرپتوکک موتانس کمتر از کلر هگزیدین (P=۰/۰۰۰) و در مورد استرپتوکک سانگوئیس اختلاف معنی‌داری نشان داده نشد (P=۰/۰۵۸). میزان ترکیبات فنولی ۱۴/۴۳±۴۱۰ میلی‌گرم در گرم بود.*

نتیجه‌گیری: *نتایج نشان داد که عصاره برگ گردو دارای اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های مذکور بوده و می‌تواند به عنوان فرآورده‌ای آنتی سپتیک در پیشگیری و درمان پوسیدگیهای دندانی حاصل از این میکروارگانیسم‌ها جایگزین گردد.*

کلید واژه‌ها: *اثرات ضد باکتریایی – برگ گردو – استرپتوکک موتانس – استرپتوکک سانگوئیس.*

وصول مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۲۵ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۵/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۶/۲۲

نویسنده مسئول: دکتر محمود رفیعیان کوپائی، گروه آموزشی فارماکولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

e.mail:rafieian@yahoo.com

مقدمه

پوسیدگی دندان به عنوان یکی از بیماریهای پیشرونده و عفونی دندانی می‌باشد که به علت از بین رفتن تعادل واکنشهای نرمال ملکولی، بین سطح دندانی و بیوفیلم میکروبی دهان ایجاد می‌شود. اگر به موقع درمان نشود سبب ایجاد حفره در مینای دندان شده و صدمات بعدی در عاج و پالپ دندان می‌گردد. (۱- ۲)، پوسیدگی دندان مرحله غیر قابل برگشت، در فرآیند حل شدن مواد معدنی مینا (کلسیم و فسفر) توسط اسید باکتری‌های پوسیدگی‌زا محسوب شده و درمان آن تنها از راه جایگزینی بافت سخت از دست رفته دندان با مواد ترمیمی دندانپزشکی امکان پذیر

می‌باشد. (۳)، استرپتوککهای موتانس و سانگوئیس در گروه استرپتوککهای ویریدانس قرار گرفته که شایعترین اعضای فلور طبیعی سیستم تنفسی فوقانی هستند. این دو باکتری پلی‌ساکاریدهای بزرگی از قبیل دکسترانها یا لوانها را از ساکارز سنتز می‌کنند و اهمیت بسیاری در بروز پوسیدگی دندان دارند. همچنین بعد از آسیب یا جراحت مخاط می‌توانند به گردش خون برسند و عامل اصلی اندوکاردیت بر روی دریچه‌های‌قلب بشوند. (۳-۴)، پوسیدگی دندان در کشورهای متعددی، یک مشکل مهم، در سلامت دندانهاست به طوری که در طی دو دهه مطالعات در مکزیک بر روی پوسیدگی دندانی ۴۸٪- ۹۵٪ بچه‌ها قبل از سن مدرسه یعنی در سنین ۸- ۱۲ سال و ۴۲٪- ۸۸٪ بچه‌های ۱۲ ساله و ۵۳/۴٪ نوجوانان ۱۵ ساله درگیری را نشان دادند. همچنین در شیوعی از پوسیدگی دندانی نوجوانان ۱۸ ساله در نیوزلند و ایتالیا به ترتیب ۹۲٪ و ۸۷/۸٪ مبتلا به بیماری بوده‌اند. (۱- ۲)

گردو (Juglans regia) گیاهی از خانواده Juglandaceae و دارای ۲۱ گونه می‌باشد که همگی خزان دار و دارای میوه خوراکی هستند. از پوست درخت و پوست سبز گردو به عنوان ماده قابض، همچنین جهت درمان ورم مفاصل، شست و شو و التیام زخمها و درمان ترشحات زنانه و بیماری سل استفاده می‌شود. (۵)، با توجه به اشارات متعدد مبنی بر اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی بومی ایران (۶)، از جمله گردو بر روی استافیلوکک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سرئوس (۷) و همچنین اثرات دو نوع سیر قرمز و سفید، روغن درخت چای و عصاره گیاه Melaphis chinensis علیه استرپتوککهای موتانس، سالیواریوس و میکروارگانیسم‌های دهانی (۸-۱۰) و با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، در اثر مصرف داروهای ضد میکروبی جهت پیشگیری و درمان عفونتها و همچنین عوارض جانبی و اثرات سوء متفاوت آنها، بررسی و تحقیق بر روی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی علیه عفونتهای باکتریایی مورد نیاز می‌باشد. (۱۱)، قسمتهای مختلف گردو از جمله پوست سبز روی میوه گردو، پوست درخت، مغز و برگ گردو در داروسازی مورد استفاده هستند و کم و زیاد اثر ضد میکربی نیز از خود نشان داده‌اند. (۵)، ولی برگ گردو به دلیل فراوانی، در دسترس بودن و امکان تهیه ارزان آن بدون اینکه به درخت آسیب برساند، اگر مؤثر باشد می‌تواند جانشین مناسبی برای داروهای سنتتیک و غیرسنتتیک باشد. هدف از این مطالعه مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ گردوی ایرانی با دهان‌شویه کلرهگزیدین بر روی استرپتوکک موتانس و استرپتوکک سانگوئیس می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. جهت انجام این مطالعه از سویه‌های استاندارد باکتری‌های استرپتوکک‌موتانس (PTCC:1683)و استرپتوکک سانگوئیس (PTCC:1449) تهیه شده از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران استفاده گردید. برای این منظور از کشت ۲۴ ساعته باکتری بر روی محیط بلاد آگار، سوسپانسونی با کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند در نرمال سالین تهیه شد. در این شرایط تعداد باکتری‌ها حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml می‌باشد. از این سوسپانسیون در مراحل بعدی آزمایشها استفاده گردید. (۱۲)

برگهای درخت گردو از درختان گردوی ناحیه سامان (حاشیه شهر شهرکرد) در بهار سال ۱۳۸۸ جمع‌آوری و پس از شناسایی و تأیید توسط مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان چهارمحال و بختیاری، نمونه‌ای از آن در واحد هرباریوم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به شماره ۲۰۳ ضبط شد. مواد گیاهی جمع‌آوری شده پس از تمیز کردن، در سایه خشک شده و توسط آسیاب پودر گردید. برای تهیه عصاره اتانولی، صد گرم از پودر خشک شده گیاه با پانصد سی سی اتانول ۸۰٪، مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. پس از آن عصاره به دست آمده، توسط کاغذ صافی فیلتر شده و وارد دستگاه چرخشی

(برای حذف اتانول) گردید. عصاره الکلی به دست آمده در دمای چهل درجه سانتی‌گراد در انکوباتور خشک شد. سپس مقدار یک گرم از عصاره الکلی خشک حاصله را به پنج سی سی از حلال دی متیل سولفاکساید (DMSO) اضافه کرده و به وسیله سرنگ میلی پور با فیلترهای به قطر ۰/۲۲ میکرون فیلتره گردید. (۶)

برای تعیین حساسیت میکروبی، از آنتی بیوتیک آمیکاسین به عنوان کنترل مثبت و حلال خالص دی متیل سولفاکساید (DMSO) به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برای این منظور غلظتهای مختلف عصاره گیاهی (۵۰۰- ۷/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) توسط حلال DMSO و همچنین غلظتهای مختلف کلرهگزیدین ۰/۲٪ (۲۰۰۰- ۳۱/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) تهیه گردید، سپس از سوسپانسیون حاصله هر کدام از سویه‌های باکتری‌های مورد آزمایش را بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش Spreading کشت داده و بر روی هر کدام از این محیطهای حاوی باکتری چاهکهایی به قطر هفت میلی‌متر ایجاد کرده و مقدار بیست میکرولیتر ازرقتهای مختلف عصاره گیاه و کلرهگزیدین به طور مجزا به هر یک از چاهکها اضافه و در مرحله بعد پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. نتایج بر اساس اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط آنتی‌بیوتیک شاهد و عصاره‌های گیاهی و کلرهگزیدین، ثبت شد و به این صورت حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها در برابر غلظتهای مختلف عصاره برگ گردو و کلرهگزیدین مورد آزمایش قرار گرفت. (۱۳)، تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC). میزان MIC و MBC با استفاده از روش میکرودایلوشن اندازه‌گیری شد به این صورت که در هر چاهک از پلیت الایزا، ابتدا به هر کدام ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه گردید، پس از آن پنج میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند هم به همه چاهکها اضافه شد. به هر یک از چاهکها صد میکرولیتر از رقتهای متوالی (Serial two-fold dilutions) عصاره (۲۵۰-۷/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و کلرهگزیدین ۰/۲٪ (۱۰۰۰-۱۵/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر) به طور مجزا اضافه شد. نمونه کنترل منفی صرفاً ۱۹۵ میکرولیتر محیط کشت بدون عصاره و پنج میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی، همچنین غلظتهای مختلف آمیکاسین به اضافه محیط کشت مولر هینتون براث و تلقیح میکروبی به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته می‌شود (کنترل منفی و مثبت کلرهگزیدین نیز به همین ترتیب در نظر گرفته شد). حجم نهایی در تمامی چاهکها دویست میکرولیتر می‌باشد. پس از مخلوط کردن نمونه‌ها توسط شیکر (بیست ثانیه با سیصد دور در دقیقه) آنها را به مدت ۱۸- ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده و سپس میزان جذب نوری (OD) آنها را باید در طول موج چهارصد و پنجاه نانومتر با استفاده از الایزا ریدر، (Made in USA: State fax 2100) قرائت و ثبت کرد. در صورت عدم ایجاد کدورت میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC) تعیین می‌گردد. سپس از نمونه‌های چاهکهای بدون کدورت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار پاساژ داده و میزان حداقل غلظت کشندگی باکتری MBC نیز تعیین می‌شود. (۱۴) میزان ترکیبات فنولی کل بر اساس روش رنگ‌سنجی Folin-Ciocaltue و بر حسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد. (۱۵)، محلولهای استاندارد با غلظتهای ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ مگاپاسکال از اسید گالیک در محلول۶۰٪ متانول تهیه شد. آنگاه از هر یک ۰/۱ میلی‌لیتر به لوله آزمایش منتقل گردید و به آنها ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول۱۰٪ واکنش‌گر فولین- سیوکالتیو اضافه گردید و پس از سه الی هشت دقیقه به آن ۰/۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه شد، آنگاه لوله‌ها به مدت سی دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب نوری به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر این اساس نمودار استاندارد رسم گردید. سپس ۰/۰۱- ۰/۰۲ گرم از نمونه خشک شده عصاره را باید در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ده میلی‌لیتر افزایش داد تا بر اساس روش فولین- سیوکالتیو میزان فنول کل تعیین گردد، با این تفاوت که به جای محلول استاندارد،

۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره باید اضافه کرد. در مرحله بعد میزان جذب قرائت شده را در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم در گرم عصاره به دست می‌آید.

تمامی آزمایشها سه بار تکرار گردید و داده‌ها بر اساس مشاهده نتایج آزمایشگاهی در چک لیست جمع‌آوری و با استفاده از نرم‌افزارSPSS ویرایش۱۶و آزمونMann-Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

عصاره اتانولی برگ درخت گردو بر رشد استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس دارای اثر مهاری بود. آزمون Mann- Whitney نشان داد که در استرپتوکک موتانس اختلاف معنی‌داری میان میزان هاله عدم رشد در عصاره برگ گردو با کلرهگزیدین وجود دارد و میزان هاله عدم رشد در عصاره برگ گردو کمتر از کلرهگزیدین بود. (P=۰/۰۰۰) در صورتی که در مورد استرپتوکک سانگوئیس اختلاف معنی‌داری میان میزان هاله عدم رشد در عصاره برگ گردو با کلرهگزیدین وجود نداشت. (P=۰/۰۵۸) (جدول ۱)

همچنین بر اساس نتایج حاصله، مقدار MIC و MBC عصاره اتانولی برگ درخت گردو و کلرهگزیدین برای استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس در جدول ۲ بیان شده است. میزان ترکیبات فنولی کل نیز ۱۴/۴۳±۴۱۰ میلی‌گرم در گرم بود.

جدول ۱: نتایج آزمون Mann-Whitney برای باکترهای استرپتوکک موتانس و سانگوئیس در گروههای عصاره گردو و کلر هگزیدین

گروههای آزمایش	استرپتوکوک موتانس			استرپتوکک سانگوئیس		
	تعداد نمونه	میانگین رتبه	مقدار P	تعداد نمونه	میانگین رتبه	مقدار P
عصاره گردو	۲۱	۱۲/۱۹	۰/۰۰۰	۲۱	۱۸/۰۰	۰/۰۵۸
کلرهگزیدین	۲۱	۳۰/۸۱		۲۱	۲۵/۰۰	

جدول ۲: مقدار MIC و MBC عصاره اتانولی برگ گردو و کلرهگزیدین بر باکتری‌ها

باکتری	عصاره اتانولی (میلی‌گرم در میلی متر)		کلرهگزیدین (میکروگرم در میلی لیتر)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
استرپتوکوک موتانس	۱۲۵	۲۵۰	۶۲/۵	۱۲۵
استرپتوکک سانگوئیس	۱۵/۶	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۳۱/۲۵

بحث

در این مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره برگ درخت گردو بر روی باکتری‌های استرپتوکک‌های موتانس و سانگوئیس مورد بررسی قرار گرفت و همچنین با دهان‌شویه کلرهگزیدین مقایسه گردید که با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۱، اثرات ضد میکربی عصاره اتانولی برگ گردو بر رشد باکتری‌های مذکور به اثبات رسید ولی این اثرات نسبت به کلرهگزیدین در مورد میزان هاله عدم رشد استرپتوکک موتانس در سطح پایینتری قرار دارند (P=۰/۰۰۰) ولی در مورد استرپتوکک سانگوئیس اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. (P=۰/۰۵۸) بر اساس نتایج حاصله، مقدار MIC و

MBC عصاره اتانولی برگ درخت گردو و کلرهگزیدین برای باکتری‌های مذکور در جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار MIC عصاره برای باکتری‌های استرپتوککهای موتانس و سانگوئیس به ترتیب ۱۵/۶ و ۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده و نسبت به MIC کلرهگزیدین مقادیر بالاتری را نشان می‌دهد. همچنین در این مطالعه میزان ترکیبات فنولی کل برگ گردو ۱۴/۴۳±۴۱۰ میلی‌گرم در گرم به دست آمد.

در بررسی در سانفرانسیسکو و کالیفرنیا، اثر مغز گردو بر روی اشریشیا کلی مورد ارزیابی قرار گرفته که جمعیت باکتری‌های E.coli را به میزان ۹۹٪ کاهش داده است.

همچنین در این مطالعه تأثیر عصاره تانین گردو بر روی E.coli نشان دهنده از بین رفتن باکتری‌ها بوده است. (۱۶)، در این مطالعه نیز مهار و از بین بردن باکتری‌های دهانی توسط عصاره برگ گردو تأیید گردید.

در مطالعه‌ای که توسط نریمان و همکاران در ایران انجام شد فعالیت ضد باکتریایی شش گیاه بومی ایرانی از جمله گردو علیه هلیکوباکتر پیلوری بر روی هفتاد نمونه کلینیکی با استفاده از تست حساسیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن به اثبات رسیده است. (۱۱)، در این مطالعه نیز اثر ضد میکروبی عصاره برگ گردو به روش چاهک دیفیوژن علیه باکتری‌های دهانی به اثبات رسید.

در مطالعه دیگری اثر ضد میکروبی عصاره دو نوع سیر قرمز و سفید بر روی میکروارگانیسم‌های دهانی به صورت آزمایشگاهی و بالینی مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده که محلول دهان‌شویه حاوی ۲/۵٪ سیر اثر ضد میکروبی خوبی علیه استرپتوکک موتانس و میکروارگانیسم‌های دهانی دارد. (۸)، همچنین اثر ضد میکروبی روغن درخت چای، محلولهای سیر و کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های دهانی بررسی و اثر ضد میکروبی آنها بر روی استرپتوکک موتانس به اثبات رسیده و نتیجه‌گیری کرده است که سیر و روغن درخت چای می‌توانند به عنوان جایگزین کلرهگزیدین استفاده شوند. (۹)، در این مطالعه نیز اثر ضد میکروبی عصاره برگ درخت گردو و کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های دهانی مقایسه گردید و اثر ضد میکروبی عصاره بر روی استرپتوکک‌های دهانی به اثبات رسید و می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره برگ درخت گردو می‌تواند به عنوان جایگزین کلرهگزیدین در جلوگیری از ایجاد پلاک‌های دندانی استفاده شود.

ترکیبات فنلی از مواد بارز برگ گردو هستند به طوری که در تحقیقهای انجام شده ترکیبات فنولی همانند ۳- کافئوئیل کوئینیک اسید، ۵- کافئوئیل کوئینیک اسید، ۳- پی کوماروئیل کوئینیک اسید، ۴- پی کوماروئیل کوئینیک اسید از برگ این گیاه شناسایی شده است. در مجموع تا ۷۳ گرم در هر کیلو گرم برگ خشک گردو را ترکیبات فنولی تشکیل داده‌اند و حدود ۶۳٪ از این ترکیبات فلاونون‌ها هستند. ترکیبات فنولی در بسیاری از گیاهان دیگر نیز وجود دارند و اثر ضد میکروبی آنها بستگی به محل و تعداد گروههای هیدروکسیل روی حلقه فنلی دارد و ادعا شده که ارتباط مستقیمی بین تعداد گروههای هیدروکسیل و سمیّت آنها روی میکروارگانیسم‌ها وجود دارد. (۱۷)، فنل‌های اکسید شده نیز اثر شدیدتری اعمال می‌کنند. (۱۸)، همچنین ادعا شده که مکانیسم احتمالی این ترکیبات مهار آنزیمی از طریق واکنش با گروههای سولفیدریل یا واکنشهای غیراختصاصی با پروتئین‌های میکروبی است. (۱۹)، تانن‌ها نیز گروهی از ترکیبات فنلی هستند که در قسمتهای مختلف گیاه ممکن است یافت شوند و در برگ گردو نیز وجود دارند. اثر ضد میکروبی آنها را مربوط به مهار قدرت چسبندگی میکروب و همچنین مهار فعالیت آنزیمی و پروتئین‌های ترانسپورتر می‌دانند. (۲۰- ۲۱)

ترکیبات فنلی به خصوص فلاونوئیدها علاوه بر اثر ضد میکربی، به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی قوی اثرات بسیار مفید دیگری نیز دارند. این مواد با بدام انداختن رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو و همچنین مهار ماکرو ملکول‌های اکسیداسیون خطر بیماریهای دژنراتیو را کم می‌کنند. (۲۲- ۲۳)، بنابراین عصاره برگ گردو با اثر ضد میکربی روی استرپتوککهای دهانی می‌تواند باعث کاهش کلونیزاسیون آنها شده و از این طریق خوردگی اسیدی

مینای دندان کاهش می‌یابد، زیرا تشکیل گلوکان برای اتصال باکتری‌ها به سطح هیدروکسی آپاتیت مینای دندان لازم است. کاهش تعداد استرپتوکک‌های دهانی و عدم تشکیل بیوفیلم آنها بر سطح دندان، باعث تولید نشدن آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز و عدم ایجاد پلی‌مرهای گلوکان و لوان از ساکارز می‌گردد، یعنی خوردگی اسیدی مینای دندان در نتیجه فقدان فعالیت وسیع این میکروارگانیسم‌ها حاصل نمی‌شود که نتیجه آن، عدم ایجاد پلاک‌های دندانی و پوسیدگی دندان است. (۲۴)

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که برگ درخت گردوی ایرانی از ویژگی‌های ضد باکتریایی قابل توجهی در شرایط آزمایشگاهی است و این یافته‌ها می‌تواند زمینه تحقیقهای بیشتری را در آینده برای تخلیص ترکیبات موثره آن و کارآئی استفاده از مشتقات برگ گردو در شرایط بالینی فراهم و به عنوان یک ماده ضد باکتریایی برای پیشگیری از ایجادپلاک‌های دندانی جایگزین کلرهگزیدین در دهان‌شویه‌ها گردد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین هزینه و امکانات، همچنین کارکنان مرکز تحقیقات گیاهان داروئی به دلیل همکاری در اجرای این بررسی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

REFERENCES

1. Garcia-Cortes JO, Medina-Solis CE, Loyola-Rodriguez JP, Mejia-Cruz JA, Medina-Cerda E, Patino-Marin N, Pontigo-Loyola AP. Dental caries' experience, prevalence and severity in Mexican adolescents and young adults. Rev Salud Publica (Bogota). 2009 Jan-Feb;11(1):82-91.
2. Jain M, Mathur A, Sawla L, Choudhary G, Kabra K, Duraiswamy P, Kulkarni S. Oral health status of mentally disabled subjects in India. J Oral Sci. 2009 Sep;51(3):333-40.
3. 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. Crit Rev Oral Biol Med. 2002 Mar; 13 (2):108-125.
4. Eslami G, Fallah F. Medical microbiology. 5th ed. Tehran: Aeege pub; 2005, 306.
5. Emami A, Shams-Ardekani MR, Nekoei-naeini N. Valnet J. Phytotherapy, treatment of disease by plants. Tehran: Rahe-Kamal press; 2002, 358-61.
6. Sharafati chaleshtori F, Sharafati chaleshtori R, Momeni M. Comparison of the antimicrobial effects of the ethanolic and aqueous extracts of scrophularia striata on Escherishia coli O157:H7 in vitro. Shahrekord Univ of Med Sci J. 2009 Winter; 10(4): 32-8.
7. Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentão P, Andrade PB, Ferreira IC, Ferreres F, Bento A, Seabra R, Estevinho L. Juglans regia leaves. Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. Food Chem Toxicol. 2007 Nov; 45(11):2287-95.
8. Groppo Fc. Ramacciato Jc. Motta Rh. Ferraresi Pm. Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. Int J Dent Hyg. 2007 May; 5(2): 109-115.

9. Groppo Fc. Ramacciato Jc. Simoes Rp. Florio Fm. Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil and chlorhexidine against oral microorganisms. Int Dent J. 2002 Dec; 52(6): 433-437.
10. Wu-Yuan CD. Chen CY. Wu RT. Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis and aggregation of Mutans Streptococci. J Dent Res. 1988 Jan; 67(1): 51.
11. Nariman F, Eftekhar F, Habibi Z, Falsafi T. Anti-helcobacter pylori activities of six Iranian plants. Helicobacter 2004 Apr; 9(2): 146-51.
12. Baron EJ, Finegold SM. Diagnostic microbiology, 8nd ed. New York: Mosby; 1990, 171-86.
13. Baron EJ. Finegold SM. Methods for testing antimicrobial effectiveness, Baily & Scott`s diagnostic microbiology, 8th ed. [S.L]: The C.V Mosby company, 1994, 171-9.
14. Adiguzel A, Ozer H, Kilic H, Cetin B. Screening of antimicrobial activity of essential Oil and methanol extract of satureja hortensis on foodborne bacteria and fungi. Czech J Food Sci. 2007; 25(2): 81–89.
15. Singleton VL, Rossi JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagent. Am. J Enol Vitic 1965 Sep; 16(3): 144-158.
16. Kokal D. viability of esherichia coli on english walnut meats (Juglans regia). J Food Sci. 1965, 30(2): 325-32.
17. Geissman TA. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. In: Florkin M, Stotz EH, eds. Pyrrole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents. New York: Elsevier press; 1962, 265.
18. Urs NVRR, Dunleavy JM. Enhancement of the bactericidal activity of a peroxidase system by phenolic compounds (Xanthomonas phaseoli var. sojensis, soybeans). Phytopathology 1975 Jun; 65: 686-90.
19. Mason TL, Wasserman BP. Inactivation of red beet beta-glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. Phytochemistry 1987 Jul; 26(8): 2197-2202.
20. Ya C, Gaffney SH, Lilley TH, Haslam E. Carbohydrate-polyphenol complexation. In: Chemistry and significance of condensed tannins. New York: NY Plenum Press; 1988, 553.
21. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry. 1991Nov; 30(12): 3875-3883.
22. Silva BM, Andrade PB, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, Ferreira MA. Quince (Cydonia oblonga Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: Antioxidant activity. J Agric Food Chem. 2004 Jul; 52(15): 4705–4712.
23. Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. J Agric Food Chem. 2000 Aug; 48(8)**:** 3396–3402.
24. Hamdi K, Shoae Hasani AR, Ordouzadeh N, Ghasemi A. The effect of black and green-tea extracts on dental-plaque forming streptococci. J Of Shahrekork Univ Med Sci. 2008 Fall; 10(3): 1-8.