

## ارزیابی اثر دهان شویه کلپوره بر استرپتوکوک موتانس بزاق

سمیه خرمیان طوسی\*#، زهیر منظری توکلی\*\*، رضا بهرام آبادی نژاد\*\*\*، بهنام زینلی\*\*\*\*  
 \* استادیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران  
 \*\* دندانپزشک  
 \*\*\* کارشناس گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران  
 \*\*\*\* کارشناس ارشد علوم کامپیوتر  
 تاریخ ارائه مقاله: ۹۳/۴/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۴

### Evaluation of Teucrium Polium Mouthwash Effect on Salivary *Streptococcus mutans* Count

Somayeh Khoramian Tusi\*#, Zoheir Manzari Tavakoli\*\*, Reza Bahram Abadi Nejhada\*\*\*, Behnam Zeynali\*\*\*\*

\* Assistant Professor, Dept of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

\*\* Dentist

\*\*\* B.Sc in Microbiology, Dept of Microbiology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

\*\*\*\* Master of Computer Science

Received: 6 July 2014 ; Accepted: 26 October 2014

**Introduction:** Herbal extracts have been used in disease treatment for many years. Although in traditional medicine, Teucrium polium is used in treatment of inflammatory conditions, rheumatism and ulcers, there are no studies about this herb in dental field as a mouthwash. The aim of this study was to evaluate Teucrium polium mouthwash effect on salivary *Streptococcus mutans* count as the main microorganism responsible for dental caries.

**Materials & Methods:** In this crossover double-blind randomized clinical trial, 22 dental students participated and were randomly divided into two equal groups. Teucrium polium and placebo mouthwashes were prepared. The salivary *Streptococcus mutans* counts were determined in participants. The first group used Teucrium polium and the second group used placebo for two weeks and the salivary samples of both groups were collected again. After a wash out period of three weeks, the first group used placebo and the second group used Teucrium polium. In each group, the salivary counts of *Streptococcus mutans* were determined before and 2 weeks after the use of mouthwashes. Data were analyzed using paired t-test and independent two-sample t-test.  $P < 0.05$  was considered as statistically significant.

**Results:** There was no significant difference between the colony counts before the use of mouthwashes in two groups ( $P > 0.050$ ). Use of Teucrium polium mouthwash significantly decreased the number of *Streptococcus mutans* colonies in comparison with the placebo group ( $P < 0.010$ ).

**Conclusion:** Considering the limitations of this study, Teucrium polium mouthwash may decrease the number of *Streptococcus mutans* colonies in saliva.

**Key words:** *Streptococcus mutans*, mouthwash, teucrium, polium.

# Corresponding Author: So\_khoramian@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2015; 38(4): 321-30.

### چکیده

**مقدمه:** استفاده از گیاهان دارویی از گذشته‌های دور برای درمان انواع بیماری‌ها مورد نظر بوده است. اگرچه در طب سنتی از گیاه کلپوره برای درمان التهاب، روماتیسم و زخم استفاده می‌شود، اما تاکنون تحقیقی در زمینه استفاده از این گیاه در حیطه دندانپزشکی و به عنوان دهان شویه انجام نشده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر دهان شویه کلپوره بر استرپتوکوک موتانس که میکروارگانیزم اصلی مسبب پوسیدگی دندان می‌باشد انجام شد.

# مولف مسؤول، نشانی: رفسنجان، خیابان مفتوح غربی، دانشکده دندانپزشکی، گروه دندانپزشکی کودکان، تلفن: ۰۳۴۳۴۲۸۰۰۳۰

E-mail: So\_khoramian@yahoo.com

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی متقاطع دو سوکور، ۲۲ دانشجوی دندانپزشکی شرکت کردند و به طور تصادفی به دو گروه مساوی تقسیم شدند. دهان‌شویه کلپوره و دارونما تهیه گردید. سپس میزان استرپتوکوک موتانس بزاق شرکت‌کنندگان اندازه‌گیری شد. گروه اول بمدت دو هفته دهان‌شویه کلپوره و گروه دوم دهان‌شویه دارونما استفاده کرد. مجدداً از بزاق شرکت‌کنندگان نمونه‌گیری شد. پس از سه هفته دوره Washout و در مرحله دوم مطالعه، گروه اول دهان‌شویه دارونما و گروه دوم دهان‌شویه کلپوره استفاده نمود. در هر گروه، قبل و دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه میزان استرپتوکوک موتانس بزاق تعیین گردید. داده‌ها توسط آزمون‌های آماری Paired *t*-test و Independent two-sample *t*-test آنالیز شدند.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** دو گروه مورد بررسی از نظر تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس قبل از مصرف دهان‌شویه اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ( $P > 0/05$ ). مصرف دهان‌شویه کلپوره در مقایسه با مصرف دهان‌شویه دارونما به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس گردید ( $P < 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** با در نظر گرفتن محدودیت‌های این مطالعه، دهان‌شویه کلپوره ممکن است بتواند باعث کاهش تعداد استرپتوکوک موتانس بزاق شود.

**کلمات کلیدی:** استرپتوکوک موتانس، دهان‌شویه، کلپوره.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۳ دوره ۳۸ / شماره ۴ : ۳۰-۳۲۱.

## مقدمه

گرفته اند.<sup>(۴)</sup>

در چند سال اخیر گرایش به مصرف داروهای گیاهی و استفاده از این داروها در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها در سطح جهان و به خصوص ایران به طور چشم‌گیری افزایش یافته است.<sup>(۴)</sup> کلپوره یا *Teucrium polium* از تیره نعناع و گیاهی علفی و خوشه‌ای است که جزء گیاهان خوشبو و معطر می‌باشد و حاوی مقادیری تانن، ترپنوئید، ساپونین، فلاونوئید، گلیکوزید-آلفا، استرول، لوکوآتوسیانین، بتاکاریوفیلین، همولن، کاریوفیلین اکساید، دی ترپنوئید، آسپاراژین و دیتیرین است که برخی از این ترکیبات اثرات ضدالتهابی دارند.<sup>(۵-۷)</sup> در مطالعات دیگری اثرات ضدتب و ضدباکتری برای کلپوره ذکر شده است.<sup>(۸،۹)</sup>

اگرچه در طب سنتی از گیاه کلپوره برای درمان التهاب، روماتیسم یا زخم استفاده می‌شود، اما تاکنون تحقیقی در زمینه استفاده از این گیاه در حیطه دندانپزشکی و به عنوان دهان‌شویه انجام نشده است. از آن جایی که این گیاه، خواص بیولوژیک زیادی از جمله خاصیت ضد میکروبی و ضدالتهابی دارد، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره این گیاه به عنوان دهان‌شویه بر استرپتوکوک موتانس که

دو بیماری عمده محیط دهان، پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه می‌باشند که در اثر تجمع میکروارگانیسم‌ها و تشکیل پلاک میکروبی ایجاد می‌شوند. بنابراین اقدام لازم در جهت کاهش یا عدم تجمع پلاک میکروبی می‌تواند به کنترل این دو عارضه کمک نماید. دهان‌شویه‌ها، به عنوان ابزار کمکی و در کنار مهار مکانیکی پلاک، یعنی مسواک زدن و نخ دندان، در کنترل پلاک بالای لثه‌ای و ژنژیویت نقشی مهم دارند.<sup>(۱)</sup> دهان‌شویه مطلوب، افزون بر طیف ضد میکروبی، بایستی دارای مقاومت دارویی کم نیز باشد و در عین حال کمتر موجب از میان رفتن میکروفلور طبیعی دهان گردد.<sup>(۲)</sup>

دهان‌شویه‌های شیمیایی امروزه به دلیل قدرت ضدباکتریایی مناسب، دوام اثر نسبتاً طولانی و عدم سمیت، کاربرد فراوانی دارند؛ لیکن دارای عوارض گوناگونی هم چون ایجاد رنگیزه‌های دندان، تغییر حس چشایی، سوزش و خشکی دهان، متفلس شدن لثه و اثرات سیستمیک منفی در صورت بلع می‌باشند.<sup>(۳)</sup> به همین دلیل در سال‌های اخیر دهان‌شویه‌های گیاهی مورد توجه قرار

۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز خشک شد. بازده، عصاره ۱۰٪ بود. عصاره خشک شده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری گردید.

برای تهیه یک لیتر دهان‌شویه با غلظت ۲۵٪ از ترکیب مواد زیر استفاده شد:

- یک لیتر آب دیونیزه (زالال طب شیمی)

- دو گرم عصاره کلپوره

- یک گرم پودر شیرین‌کننده مصنوعی اسپاراتام ۰/۱

درصد (Merck, Darmstadt, Germany)

- پنج گرم پودر طعم قهوه ۰/۵ درصد (Nestle,

Netherland, Holland)

- ۱۰ گرم پودر دی سدیم هیدروژن فسفات

( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (Merck) و ۱۵ گرم پودر دی سدیم هیدروژن

فسفات ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) (Merck) به عنوان بافر

غلظت ۲۵٪ حداکثر غلظتی از دهان‌شویه است که در

مطالعه Pilot، طعم قابل‌قبولی داشت و از آن‌جایی که طعم

تلخ دهان‌شویه احتمال همکاری شرکت‌کنندگان در تحقیق

را کاهش می‌داد، لذا از غلظت ۲۵٪ که طعم قابل‌قبولی

دارد، استفاده شد.

جهت تهیه دارونما همه مواد به کار رفته در تهیه

دهان‌شویه به جز عصاره کلپوره استفاده شد؛ به جای

عصاره کلپوره در دارونما از آب مقطر (کالا طب البرز،

کرج، ایران) استفاده شد.

دهان‌شویه تهیه شده در ظروف پلاستیکی مات

بسته‌بندی شد و برای حفظ Blind بودن آن فقط با

برچسب کد دار که محقق آن را میدانست در اختیار

داوطلبان قرار گرفت. سعی شد هر فرمول در نزدیک‌ترین

زمان مصرف آن تهیه شود تا از بالاترین پایداری دارو و

میزان ماده مؤثره اطمینان حاصل شود.

میکروارگانیزم اصلی مسبب پوسیدگی دندان می‌باشد انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه کارآزمایی بالینی متقاطع تصادفی شده دوسوکور (Double-blind randomized clinical trial crossover) که مسائل اخلاقی آن مورد تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان با شماره تصویب ۳۱/۹/۹۳۷ قرار گرفته است بر روی ۲۲ دانشجوی دانشکده دندانپزشکی رفسنجان (۱۱ دختر و ۱۱ پسر با میانگین سنی  $23/14 \pm 1/67$  سال) انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل استفاده نکردن از آنتی‌بیوتیک در یک ماه گذشته، بهداشت مطلوب دهان (شاخص پلاک کل دندان‌ها کوچک‌تر یا مساوی ۲۰٪) و نداشتن پلاک ارتودنسی بود.

برای تهیه دهان‌شویه کلپوره سرشاخه‌های گل‌دار گیاه پس از تمیزکردن، با آب معمولی سرد و سپس با آب دیونیزه (زالال طب شیمی، تهران، ایران) به خوبی شسته شد و در محل مناسب دور از نور، خشک شد. نمونه خشک شده با آسیاب برقی مدل ۱۰۴۳ (Moulinex, Paris, France) آسیاب شد و از الک با مش ۳۰ (Haver & Boecker, Muenster, Germany) عبور داده شد.

۲۵۰ گرم از پودر حاصله به مدت ۴۸ ساعت در دو

لیتر آب خیسانده شد و سپس با پمپ خلأ مدل A-۳۵

(Eyela, Tokyo, Japan) توسط قیف بوختر (Isolab,

Hannover, Germany) با کاغذ صافی (Munktell,

Bavaria, Germany) صاف گردید. عصاره حاصله با

روش تقطیر در خلأ به وسیله دستگاه روتاری مدل EV

311-V (Lab Tech, Rome, Italy) در دمای ۵۰ درجه

سانتی‌گراد تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده توسط آون

مدل UF-55 (Memmert, Frankfurt, Germany) در دمای

خواسته شد بدون تغییر روش بهداشتی، دهان‌شویه را مشابه مرحله اول (به مدت دو هفته، دوبار در روز، هر بار ۱۵ میلی‌لیتر و به مدت ۳۰ ثانیه) استفاده کنند. در پایان مرحله دوم (دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه) نیز نمونه‌های بزاق تحت شرایط ذکر شده جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروبیولوژی فرستاده شد.

در آزمایشگاه ابتدا رقت ۰/۰۰۱ با استفاده از نرمال سالین استریل (پارس دارو، تهران، ایران)، از هر یک از نمونه‌ها تهیه شد و سپس نمونه رقیق شده توسط لوپ استاندارد (معادل ۰/۰۱ میلی‌لیتر) (لاب ترون، تهران، ایران)، به پلیت‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر Tryptone-yeast-agar (TYCSB Agar) cysteine-sucrose-bacitracin Agar انتقال داده شد.<sup>(۱۴و۱۵)</sup>

پلیت‌ها در انکوباتور (Gallenkamp, Munich, Germany) Co<sub>2</sub> با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از تهیه لام از کلونی‌های موجود بر روی محیط کشت، رنگ‌آمیزی گرم انجام شد، سپس کلونی‌های گرم مثبت (کوکسی) انتخاب شده و برای آن‌ها تست کاتالاز انجام شد. در نهایت کوکسی‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی تحت تست‌های بیوشیمیایی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و کلونی‌هایی که Monitol مثبت، Vogues-Proskauer (VP) مثبت، Argeninie منفی، Dextran مثبت، Urea منفی، Blie esculin مثبت بودند، کلونی‌های مورد نظر بودند. در نهایت کلونی‌های استرپتوکوک موتانس شمارش گردید و برای هر شرکت‌کننده در ضریب رقت تهیه شده ضرب و تعداد کلونی‌ها در یک میلی‌لیتر بزاق تعیین گردید (CFU/ml).<sup>(۱۶-۱۷)</sup>

پس از جمع‌آوری، اطلاعات توسط نرم افزار آماری

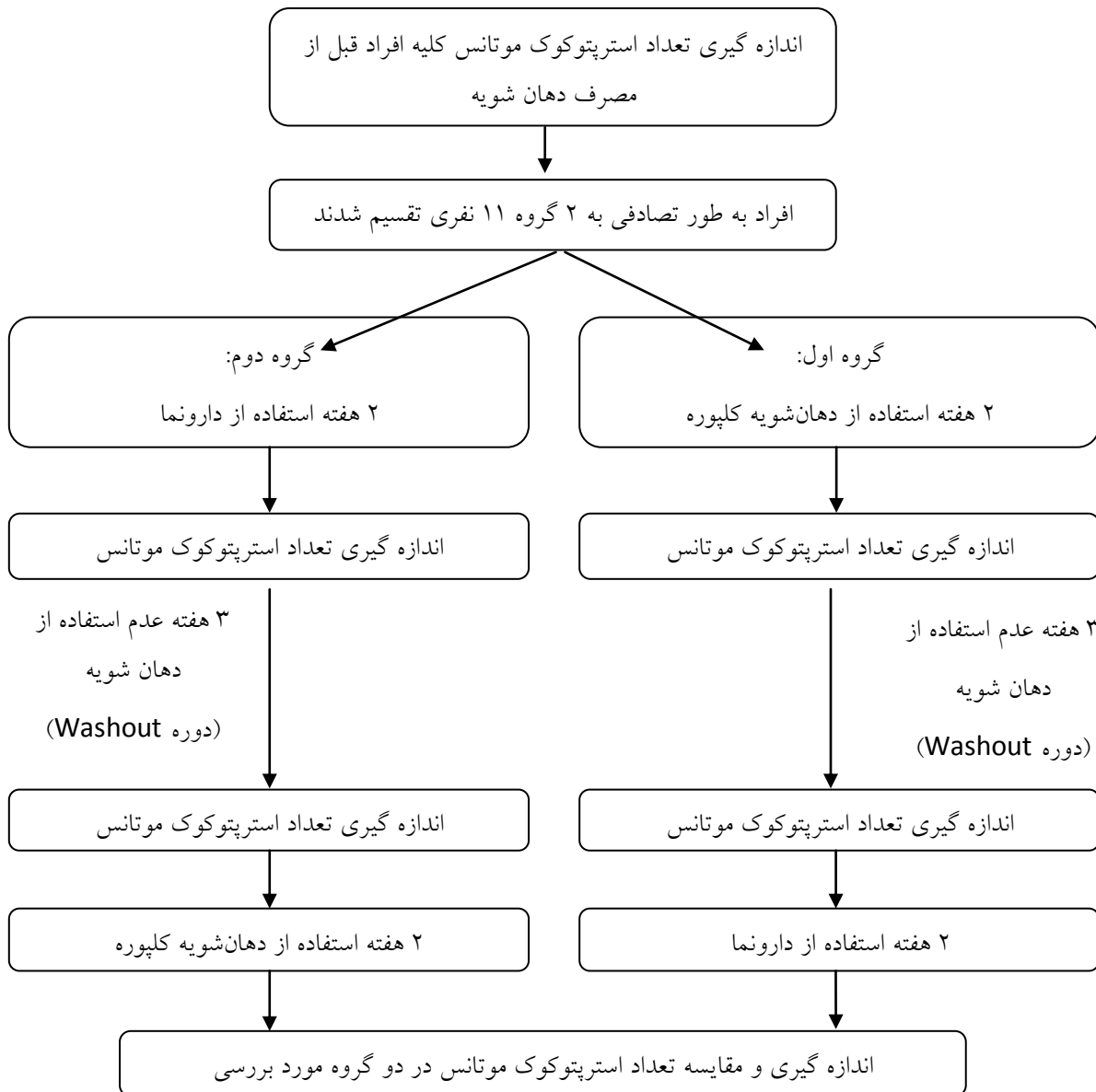
داوطلبان به صورت تصادفی به دو گروه ۱۱ نفری تقسیم شدند و در یک روز، از تمام داوطلبان قبل از مصرف دهان‌شویه نمونه بزاق گرفته شد. مطالعه در دو مرحله انجام شد. در ابتدا جهت تهیه نمونه‌های بزاق از داوطلبان خواسته شد که یک ساعت پیش از نمونه‌گیری غذا و نوشیدنی مصرف نکنند. در ساعت ۱۰ صبح، دو سی‌سی بزاق بدون هیچ تحریکی به روش Spitting (تف کردن)<sup>(۱۰)</sup> در ظرف استریل دردار جمع‌آوری گردید.

نمونه‌های بزاق در محفظه حاوی یخ نگهداری شد و جهت جلوگیری از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها حداکثر ظرف مدت یک ساعت جهت شمارش تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس به آزمایشگاه میکروبیولوژی فرستاده شد. سپس به گروه اول دهان‌شویه کلپوره و به گروه دوم دهان‌شویه دارونما داده شد. از داوطلبان خواسته شد روش بهداشتی معمول خود را که پیشتر به کار می‌بردند تغییر ندهند و دهان‌شویه را به مدت دو هفته، دو بار در روز (صبح پس از صبحانه و شب هنگام خواب)، هر بار ۱۵ میلی‌لیتر و به مدت ۳۰ ثانیه در دهان استفاده کنند و تا ۳۰ دقیقه پس از مصرف دهان‌شویه غذا و نوشیدنی مصرف نکرده و دهان خود را شستشو ندهند.<sup>(۱۱)</sup> در پایان مرحله اول (دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه) نیز بزاق داوطلبان به روش ذکر شده جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروبیولوژی فرستاده شد. سپس به مدت سه هفته داوطلبان وارد دوره Washout (بدون مصرف دهان‌شویه) شدند تا میزان استرپتوکوک موتانس بزاق به میزان پایه برگردد.<sup>(۱۲-۱۳)</sup> بعد از اتمام دوره Washout (شروع مرحله دوم) مجدداً بزاق داوطلبان مطابق روش ذکر شده در یک روز جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروبیولوژی فرستاده شد. در این مرحله به گروه اول دهان‌شویه دارونما و به گروه دوم دهان‌شویه کلپوره داده شد و از داوطلبان

موتانس بعد از مصرف دهان‌شویه‌های کلپوره و دارونما در طول دوره مطالعه از Crossover analysis استفاده شد. همچنین به منظور ارزیابی اثرات باقی‌مانده (Residual biological effects) دهان‌شویه‌ها تا مرحله پایانی، مقدار Carry-over effect محاسبه گردید.<sup>(۱۸)</sup> سطح معنی‌دار در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

پروتکل اجرای مطالعه در Flow Chart زیر نمایش داده شده است:

SPSS با ویرایش ۱۸ مورد تحلیل قرار گرفت. به منظور مقایسه میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس قبل و بعد از مصرف هر یک از دهان‌شویه‌ها، از آزمون Paired *t*-test استفاده شد. همچنین به منظور مقایسه میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس بعد از مصرف دهان‌شویه‌ها در هر یک از مراحل مورد بررسی از آزمون Independent two-sample *t*-test استفاده گردید. در پایان به منظور مقایسه میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوک



## یافته‌ها

در طول مطالعه هیچ یک از افراد مورد بررسی، مطالعه را ترک نکردند. همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق قبل از مصرف دهان‌شویه در دو گروه مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ).

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، طبق آزمون آماری  $t$  زوجی، دو هفته مصرف دهان‌شویه کلپوره در گروه اول باعث کاهش معنی‌دار در تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق شد ( $P < 0/001$ ). در حالی که در گروه دوم مصرف دو هفته دهان‌شویه دارونما کاهش معنی‌داری در تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق ایجاد نکرد ( $P = 0/340$ ). همچنین، طبق آزمون آماری  $t$  مستقل، میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه در گروه اول به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه دوم بوده است

( $P = 0/001$ ). نتایج آزمون آماری  $t$  مستقل نشان داد که میانگین تغییرات (کاهش) تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق در دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه در گروه اول به‌طور معنی‌داری بیش از گروه دوم بوده است ( $P < 0/001$ ).

همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، طبق آزمون آماری  $t$  زوجی، دو هفته مصرف دهان‌شویه دارونما در گروه اول کاهش معنی‌دار در تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق ایجاد نکرده است ( $P = 0/279$ ). در حالی که مصرف دو هفته دهان‌شویه کلپوره در گروه دوم منجر به کاهش معنی‌داری در تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق شده است ( $P < 0/001$ ). همچنین طبق آزمون آماری  $t$  مستقل، میانگین تغییرات (کاهش) تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه کلپوره به‌طور معنی‌داری بیش از دهان‌شویه دارونما بوده است ( $P = 0/001$ ).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تعداد استرپتوکوک موتانس ( $\times 10^6$  CFU/ml) و تغییرات آن در مرحله اول

تغییرات	P-value	زمان		تعداد	گروه*
		قبل از مصرف دهان‌شویه	دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه		
		انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین		
	$< 0/001$	$5/39 \pm 1/24$	$7/24 \pm 1/69$	۱۱	یک
	$0/340$	$7/68 \pm 1/40$	$7/86 \pm 1/28$	۱۱	دو
	$< 0/001$	$0/001$	$0/339$		P-value

\* در تمام جداول منظور از گروه یک، گروهی است که در مرحله اول دهان‌شویه کلپوره و در مرحله دوم دهان‌شویه دارونما استفاده کرده است و منظور از گروه دو، گروهی است که در مرحله اول دهان‌شویه دارونما و در مرحله دوم دهان‌شویه کلپوره استفاده کرده است.

دهان‌شویه دارونما با ۹۵٪ اطمینان از ۱/۶۸۰- تا ۰/۶۶۵- می‌باشد.

در مطالعه کارآزمایی بالینی حاضر (Cross-over study) به منظور ارزیابی اثر carry over مقدار  $|t|=۲/۴۴۲$  با درجه آزادی ۲۰ (Degree of freedom;  $df=۲۰$ ) به دست آمد که با  $۰/۰۵ < P < ۰/۰۲$  نشان دهنده آن است که اثر دهان‌شویه کلپوره بر روی تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق تا مرحله دوم باقی مانده است. بدین معنی که دوره Washout به مدت سه هفته برای حذف اثر دهان‌شویه کلپوره استفاده شده در مرحله اول کافی نبوده است!

همان‌گونه که یافته‌های جدول ۳ نشان می‌دهد، بر اساس آنالیز Crossover، مصرف دهان‌شویه کلپوره در مقایسه با مصرف دهان‌شویه دارونما به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق شده است ( $P < ۰/۰۱۰$ ).

یک فاصله اطمینان ۹۵٪ برای میانگین تغییرات تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در یک میلی‌لیتر بزاق دهان‌شویه کلپوره نسبت به دهان‌شویه دارونما به صورت (۰/۶۶۵- و ۱/۶۸۰-) محاسبه شد. این یافته حاکی از آن است که میانگین کاهش تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در اثر مصرف دهان‌شویه کلپوره نسبت به

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار تعداد استرپتوکوک موتانس ( $\times 10^6$  CFU/ml) و تغییرات آن در مرحله دوم

تغییرات	P-value	زمان		گروه
		پایان دوره Washout		
		دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
یک	۰/۲۷۹	۶/۶۷ $\pm$ ۱/۱۷	۶/۹۳ $\pm$ ۱/۴۱	یک
دو	<۰/۰۰۱	۶/۶۲ $\pm$ ۰/۹۸	۸/۳۴ $\pm$ ۱/۴۲	دو
	۰/۰۰۱	۰/۹۰۷	۰/۰۳۰	P-value

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار تعداد استرپتوکوک موتانس ( $\times 10^6$  CFU/ml) در طول دوره مطالعه

P-value	مقدار t	زمان		گروه
		دو هفته پس از مصرف دهان‌شویه		
		در مرحله دوم	دهان‌شویه در مرحله اول	
		انحراف معیار $\pm$ میانگین		
		۶/۶۷ $\pm$ ۱/۱۷	۵/۳۹ $\pm$ ۱/۲۴	اول
<۰/۰۰۱	-۴/۸۱۸	۶/۶۲ $\pm$ ۰/۹۸	۷/۶۸ $\pm$ ۱/۴۰	دوم

## بحث

امروزه استفاده از دهان‌شویه‌ها به علت بروز بیشتر پوسیدگی‌های دندانی و بیماری‌های پرودنتال در حال گسترش است. از دیدگاه دندانپزشکی، دهان‌شویه مطلوب بایستی خواصی همچون عدم رنگ پذیری دندان‌ها و مخاط، کمترین اثرات توکسیک و مزه مناسب را دارا باشد. با این وجود هنوز دهان‌شویه‌ای که تمام خواص مزبور را دارا باشد وارد بازار نگردیده و تلاش پژوهشگران در ارائه دهان‌شویه‌ای که دارای حداکثر این خواص باشد ادامه دارد.<sup>(۱۹)</sup> در چند سال اخیر به دلیل دارا بودن خواص طبیعی و عوارض کمتر داروهای گیاهی، گرایش به مصرف این داروها جهت درمان و پیشگیری از بیماری‌ها در سطح جهانی و به خصوص در ایران به طرز چشم‌گیری افزایش یافته است.<sup>(۲۰)</sup> در مطالعه حاضر اثر دهان‌شویه کلپوره بر استرپتوکوک موتانس بزاق که مهمترین و بیماری‌زاترین میکروارگانیسم پوسیدگی‌زا بوده و در آغاز پوسیدگی نقش اصلی را ایفا می‌کند مورد بررسی قرار گرفت. پیش از شروع هر روشی جهت کاهش تعداد باکتری‌های پوسیدگی‌زا در حفره دهان، باید تست باکتریایی برای تعیین متغیرهای میکروبیولوژیک انجام شود. نمونه‌های بزاق می‌توانند برای تعیین میزان استرپتوکوک موتانس آزمایش شوند.<sup>(۲۱)</sup>

تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثرات ضد میکروبی کلپوره به صورت دهان‌شویه انجام نشده است و مطالعه مشابهی موجود نمی‌باشد. بنابراین یافته‌های این مطالعه با یافته‌های مطالعاتی که اثر ضد میکروبی عصاره کلپوره را بر سایر میکروارگانیسم‌ها بررسی نموده‌اند مقایسه می‌گردد.

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که دهان‌شویه کلپوره در مقایسه با دهان‌شویه دارونما باعث کاهش میزان استرپتوکوک موتانس بزاق می‌شود. همچنین در هیچ یک

از بیماران عارضه خاصی مشاهده نشد. Haffajee و همکاران<sup>(۲۰)</sup> دریافتند اگرچه دهان‌شویه‌های گیاهی قدرت ضد میکروبی کمتری نسبت به کلرگزیدین دارند ولی اجزاء موجود در دهان‌شویه‌های گیاهی در ممانعت از رشد میکروب‌های دهان مؤثر هستند و می‌توانند در کنترل پلاک دندانی و التهاب لثه مفید باشند

دهان‌شویه‌های ضد میکروبی به روش‌های گوناگونی اثر خود را ایفا می‌کنند که از آن جمله می‌توان به اتصال دهان‌شویه به دیواره سلولی باکتری و تخریب دیواره اشاره نمود.<sup>(۱۹)</sup> تشخیص مکانیسم اثر دهان‌شویه کلپوره بر استرپتوکوک موتانس نیاز به مطالعات گسترده‌ای دارد. شاید بتوان علت کاهش استرپتوکوک موتانس را ترکیبات فنلی موجود در کلپوره دانست. Bravo<sup>(۲۲)</sup> مشاهده نمود که باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در برابر ترکیبات فنولیک حساس هستند. ترکیبات فنلی در بسیاری از گیاهان وجود دارد 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 سمیت آن‌ها روی میکروارگانیسم‌ها موجود می‌باشد. همچنین ادعا شده که اثر ضد میکروبی این ترکیبات، مهار آنزیمی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا واکنش‌های غیراختصاصی با پروتئین‌های میکروبی است. یکی از خواص مطلوب ترکیبات فنلی، تحریک ترشح بزاق می‌باشد که از این طریق نیز می‌تواند به کاهش پوسیدگی دندان کمک کند. یکی دیگر از ترکیبات ضد میکروبی موجود در کلپوره، تانن‌ها می‌باشند. تانن‌ها گروهی از ترکیبات فنلی هستند که اثر ضد میکروبی وسیعی دارند. اثر ضد میکروبی این ترکیبات را مربوط به مهار قدرت چسبندگی میکروب و همچنین مهار فعالیت آنزیمی می‌دانند.<sup>(۲۳)</sup>



موتانس بعد از این مدت به میزان پایه برنگشت که نشان‌دهنده اثر ضدباکتریایی قوی دهان‌شویه کلپوره می‌باشد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به طعم نامطلوب دهان‌شویه کلپوره اشاره نمود. علی‌رغم استفاده از شیرین کننده اسپارتام و طعم دهنده قهوه به منظور بهبود طعم تلخ عصاره کلپوره، طعم تلخ کلپوره کاملاً برطرف نگردید که می‌تواند بر میزان مصرف دهان‌شویه توسط داوطلبان و عدم رعایت دستورالعمل مصرف دهان‌شویه اثر بگذارد. به دلیل همکاری دانشجویان دندانپزشکی در کاربرد منظم دهان‌شویه، نتایج قابل اعتماد می‌باشد. همچنین در این مطالعه برای اولین بار از گیاه کلپوره به عنوان دهان‌شویه استفاده شد که از نقاط قوت این مطالعه می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن محدودیت‌های این مطالعه، دهان‌شویه کلپوره ممکن است بتواند باعث کاهش تعداد استرپتوکوک موتانس بزاق شود.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان جهت تأمین هزینه‌های این طرح تقدیر و تشکر می‌گردد.

Autore و همکارانش<sup>(۹)</sup> با تجزیه عصاره متانولی گیاه کلپوره نشان دادند موادی به نام پولیوموزید، ورباسکوزید، توپولیوزید و یک گلیکوزید به نام فنیل پروپانئید در این گیاه وجود دارد که دارای خاصیت ضدباکتریایی بوده و بر باکتری‌های شیگلا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر مؤثر می‌باشند. در مطالعه حاضر از عصاره آبی گیاه کلپوره استفاده شد که دارای خاصیت ضدباکتریایی بود.

برخلاف مطالعه حاضر برخی مطالعات اثر ضدباکتریایی ضعیفی برای گیاه کلپوره گزارش کرده‌اند. در مطالعه مصدق و همکاران<sup>(۲۴)</sup> اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی گیاه کلپوره بر باکتری‌های استافیلوکوک، میکروکوکوس لوتوس و اشرشیاکلی ضعیف بود. همچنین Oganesyian<sup>(۵)</sup> گزارش کرد که خاصیت ضداستافیلوکوکی گیاه کلپوره ضعیف می‌باشد. اختلاف در گزارشات احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع باکتری مورد مطالعه می‌باشد و جای آن دارد که در بررسی‌های آتی ماده یا مواد مؤثره گیاه بر هر باکتری شناسایی شود.

در مطالعاتی که اثرات ضد میکروبی دهان‌شویه‌ها را بررسی می‌کنند طول دوره Washout معمولاً دو یا سه هفته می‌باشد.<sup>(۱۲،۱۳،۱۶)</sup> در این مطالعه نیز دوره Washout سه هفته در نظر گرفته شد ولی میزان استرپتوکوک

#### منابع

1. Arweiler NB, Netuschil L, Reich E. Alcohol free mouth rinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study. J Clin Periodontol 2001; 28(2): 168-74.
2. Moran J, Addy M, Newcombe R. A 4-day plaque regrowth study comparing an essential oil mouth rinse with a triclosan mouth rinse. J Clin Periodontol 1997; 24(9): 636-9.
3. Perry DA. Plaque control for the periodontal patient. In: Newman MG, Takei HH, Klokervold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co; 2006. P. 728-48.
4. Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouth rinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouth rinse. J Am Dent Assoc 2008; 139(5): 606-11.
5. Oganesyian GB, Galstyan AM, Mnatsakanyan VA, Shashkov AS, Agababyan PV. Phenyl propanoid glycosides of teucrium polium. Chem Nat Compd 1991; 27(5): 556-9.

6. Aburjai T, Hudaib M, Cavrini V. Composition of the essential oil from Jordanian germander (*Teucrium polium* L.). *J Eessent Oil Res* 2006; 18(1): 97-9.
7. Ansari M, Alizadeh AM, Paknejhad M, Khaniki M, Naeimi M. Effect of *Teucrium Polium* honey on burn wound healing process. *JBUMS* 2009; 11(3): 1-6. (Persian)
8. Tarig M, Ageel A, Al-Yahya MA, Mossa JS, al Said MS. Anti-inflammatory activity of *teucrium polium*. *Int J Tissue React* 1989; 11(4): 185-8.
9. Autore G, Capasso F, De Fusco R. Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium*. *Pharmacol Res Commun* 1984; 16(1): 21-9.
10. Da Silva NB, Alexandria AK. *In vitro* antimicrobial activity of mouth washes and herbal products against dental biofilm-forming bacteria. *Contemp Clin Dent* 2012; 3(3): 302-5.
11. Azizi A, Fatholahzadeh B, Maleknejad P, Sahmspour A. Evaluation of effects Irsha antiseptic mouthwash on pathogen streptococcus and oral normal micro flora. *J Isfahan Dent Sch* 2009; 5(1): 24-9. (Persian)
12. Khosravanifard B, Ghasemi M, Rastegarian H, Sajadi H, Emami H, Amani M. Effect of three different mouthrinses on *Mutans streptococci* accumulation around orthodontic brackets. *J Res Dent Sci* 2008; 5(1): 38-46.
13. Mehta S, Pesapathy S, Joseph M, Tiwari PK, Chawla S. Comparative evaluation of a herbal mouthwash (Freshol) with chlorhexidine on plaque accumulation, gingival inflammation, and salivary *Streptococcus mutans* growth. *J Int Soc Prev Community Dent* 2013; 3(1): 25-8.
14. Wan AK, Seow WK, Walsh LJ, Bird PS. Comparison of five selective media for the growth and enumeration of *Streptococcus mutans*. *Aust Dent J* 2002; 47(1): 21-6.
15. Srinagesh J, Krishnappa P, Somanna SN. Antibacterial efficacy of triphala against oral streptococci: An *in vivo* study. *Indian J Dent Res* 2012; 23(5): 696-8.
16. Moeiny P, Jamei N. Effect of a probiotic yogurt produced in Iran on the salivary counts of *Streptococcus mutans*. *Res Dent Sci* 2013; 10(2): 73-82.
17. Karami M, Mazaheri R, Mesripour M. Comparing the effectiveness of two fluoride mouthrinses on *Streptococcus mutans*. *J Mash Dent Sch* 2011; 35(2): 115-22. (Persian)
18. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics*. 6<sup>th</sup> ed. USA: Thomson; 2006. P. 699-707.
19. Hashemipour M, Mosavi SA, Honarmand HM, Azizi M, Aghasi H. Comparison of antimicrobial and cytotoxicity of Irsha, Oral B, Biothene, Povidone Iodine, Benzidamine and Camomile mouthwashes with control groups *in vitro*. *J Dent Shiraz Univ Med Sci* 2012; 15(2): 456-64. (Persian)
20. Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(5): 606-11.
21. Ritter AV, Eidson RS, Donovan TE. Dental caries: Etiology, clinical characteristics, risk assessment, and management. In: Heymann HO, Swift EJ, Ritter AV. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. 6<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby Co; 2013. P. 41-88.
22. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56(11): 317-33.
23. Sharafati chaleshtori R, Sharafati chaleshtori F, Rafeian koopae M, Daris F, Ashrafi K. Comparision of the antimicrobial effects etanolic essence of leaf Iranian jipijapa chlorhexidine mouth washes in the *Streptococcus mutans* and streptococcus sanguis. *J Islamic Dent Assoc* 2010; 22(4): 211-17. (Persian)
24. Mosadegh M, Dehmoubed Sharifabadi A, Nasiri P, Esmaili S, Naghibi F. The study of phytochemical, antifungal and antibacterial effects of *Teucrium polium* and *Cichourium intybus*. *J Kurdistan Uni Med Sci* 2002; 7(5): 1-4. (Persian)