بررسی آزمایشگاهی اثر مهاری عصاره آبی سیر بر انواع استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی

دکتر محمدمهدی فانی[۱]، دکتر جمشید کهن طب[۲]، دکتر راضیه مشکی*[۳]، دکتراسماعیل شاهین قطب آبادی[۳]، دکتر فرشته صبح نمایان[۴]، دکتر مریم دیاقی[۵]

چکیده

مقدمه: عصاره سیر اثر مهاری بر روی انواع باکتری‌های پاتوژنیک، ویروس‌ها و قارچ‌ها دارد. موضوع این تحقیق، بررسی اثر مهاری عصاره سیر بر انواع استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی جدا شده از دندان‌های پوسیده انسان بود. در این مطالعه از محلول استریل و صاف شده عصاره سیر استفاده شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش شاهد- موردی و از نوع آزمایشگاهی، ۹۲ گونه استرپتوکوک موتان از ۱۰۵ دندان پوسیده کشیده شده جداسازی شد. تست Disk sensitivity و روش Broth dilution برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیک و اثر مهاری عصاره سیر بر روی استرپتوکوک موتان به کار برده شد. داده‌ها توسط آزمون Student t-test مورد ارزیابی قرار گرفت ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: از بین ۹۲ گروه استرپتوکوک موتان، ۲۸ گروه (۳۰/٤ درصد) مقاوم چند دارویی بودند، یعنی به چهار آنتی بیوتیک یا بیشتر مقاومت نشان دادند. حداکثر مقاومت در برابر تتراسایکلین (۳۰/٤ درصد) و کمترین مقاومت (صفر درصد) به تیکوپلانین و وانکومایسین مشاهده شد؛ در حالی که ۲۲/۸ و ۲۳/۹ درصد از باکتری‌ها به ترتیب به پنی‌سیلین و آموکسی‌سیلین مقاوم بودند. حداقل غلظت مهاری کلرهگزیدین برای استرپتوکوک موتان‌های مقاوم چند دارویی و حساس به دارو به ترتیب ۱۶-۲ µg/ml و ۱-۰/۲۵ µg/ml بود ($p\ value < ۰/۰۵$). همه گروه‌های استرپتوکوک موتان به عصاره سیر با حداقل غلظت مهاری در محدوده ٤-۳۲ µg/ml حساس بودند.

نتیجه‌گیری: اطلاعات به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که دهان‌شویه یا خمیر دندان حاوی غلظت مناسب عصاره سیر را می‌توان برای پیش‌گیری از پوسیدگی‌های دندانی به کار برد.

کلید واژه‌ها: پوسیدگی دندان، عصاره سیر، مقاومت چند دارویی، استرپتوکوک موتان.

* دستیار تخصصی، گروه دندان‌پزشکی کودکان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. (مؤلف مسؤول)
rmeshki60@yahoo.com

۱: استادیار، گروه تشخیص بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۲: استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۳: دستیار تخصصی، گروه تشخیص بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۴: دستیار تخصصی، گروه اندودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۵: پزشک عمومی، شیراز، ایران.

این مقاله در تاریخ ۸۹/۷/۵ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۹/۸/۱۱ اصلاح شده و در تاریخ ۸۹/۹/۱۶ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۸۹؛ ۶(۴)؛ ۳۴۸ تا ۳۵۶

www.mui.ac.ir

مقدمه

استرپتوکوک موتان یک کوکسی گرم مثبت، غیر متحرک و بی‌هوازی اختیاری است که می‌تواند کربوهیدرات‌ها را متابولیزه کند و به عنوان عامل اتیولوژیک اصلی پوسیدگی دندان شناخته می‌شود[۱]. استرپتوکوک موتان شایع‌ترین پاتوژن جدا شده از پلاک دندانی انسان می‌باشد[۳، ۲].

پوسیدگی دندانی یک بیماری قابل پیش‌گیری است؛ البته این امر مستلزم به حداقل رساندن تناوب خوردن غذا و نوشیدنی‌های حاوی کربوهیدرات‌های ساده، بهداشت دهانی منظم و وجود فلوراید موضعی در خمیر دندان‌ها است. با این حال مشخص شده است که حتی وقتی اقدامات پیش‌گیرانه مناسب هم انجام می‌شود، باز هم تعدادی از افراد به پوسیدگی دندانی مستعدتر هستند[۵، ۴].

از زمانی که استرپتوکوک موتان به عنوان عامل اتیولوژیک پوسیدگی شناخته شده، توجه زیادی به آن به عنوان هدف پیش‌گیری از پوسیدگی از طریق عوامل ضد میکروبی و واکسن‌ها مبذول شده است. بنابراین با استفاده از دهان‌شویه‌های حاوی مواد ضد میکروبی مانند کلرهگزیدین می‌توان از میزان پوسیدگی‌های دندانی کاست؛ به طور مثال، کاربرد دو بار ژل کلرهگزیدین به مدت دو هفته، به طور چشم‌گیری میزان پوسیدگی‌های دندانی را کاهش می‌دهد[۶]. امروزه در سراسر جهان، صدها گیاه در طب سنتی برای درمان عفونت‌های باکتریال مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه الزامی وجود ندارد که محصولات طبیعی سالم‌تر و ایمن‌تر از آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی باشد، اما تعدادی از مردم دید بهتری نسبت به داروهای گیاهی داشته، استفاده از آن را ترجیح می‌دهند.

سیر (Allium sativum) یکی از گیاهان دارویی است که تحقیقات وسیعی درباره آن انجام شده است. بوی شاخص و فعالیت ضد باکتریایی آن مربوط به آلیسین تولید شده توسط فعالیت آنزیمی آلیناز بر روی آلیین، بعد از خرد یا له کردن حبه های سیر می‌باشد. اعتقاد بر آن است که آلیسین و سایر تیوسولفینات‌ها مسؤول محدوده‌ای از اثرات درمانی سیر هستند. تعداد زیادی مقاله در مورد اثرات ضد باکتریایی عصاره سیر تازه وجود دارد[۸، ۷].

گزارش شده است که عصاره سیر از رشد تعداد زیادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مثل میکروکوکوس انتروباکتر، اشرشیا، کلسبیلا، سودوموناس، سالمونلا، شیگلا، پروتئوس و هلیکوباکترپیلوری جلوگیری می‌کند[۱۳-۹، ۷]. عصاره سیر همچنین علیه ارگانیسم‌های مقاوم چند دارویی (Multi Drug Resistant) مثل سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا نومونیا و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس فعال است[۱۵، ۱۴، ۹]. اثر ضد قارچ و ضد ویروس عصاره سیر هم گزارش شده است[۱۷، ۱۶]. عصاره سیر بر روی کاندیدا آلبیکانس که یک قارچ موجود در حفره دهان می‌باشد، بسیار مؤثر است[۱۸]. Elmina و همکاران نشان دادند که عصاره ۲۵ درصد سیر فعالیت ضد میکروبی خوبی علیه باکتری‌های دهان انسان دارد[۱۹].

با توجه به نقش اصلی استرپتوکوک موتان در پوسیدگی دندانی، هدف از این مطالعه تعیین اثر عصاره سیر بر روی این گونه با استفاده از روش‌های Disk diffusion و Broth dilution بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع شاهد- موردی و آزمایشگاهی بود و در سال ۱۳۸۷ در بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، بر روی ۹۲ گروه استرپتوکوک موتان به دست آمده از ۱۰۵ دندان پوسیده کشیده شده انجام شد.

آماده سازی عصاره سیر

عصاره سیر بر اساس روش انجام شده توسط Bakri و Douglas آماده شد؛ به طور خلاصه ۸۰ گرم سیر تازه پوست کنده شد و در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، هموژنیزه و سپس سانتریفیوژ گردید و از طریق کاغذ صافی شماره یک واتمن صاف و با فیلتراسیون (۰/۴۵ µm) استریل شد[۲۰]. با کسر وزن ماده غیر محلول از وزن حبه‌های اصلی، غلظت نهایی عصاره سیر در محلول w/v ۶۴ درصد (۶۴۰ mg/ml) تخمین زده شد[۲۱]. محلول صاف شده تا زمان مصرف در دمای C° ۷۰- نگهداری شد.

www.mui.ac.ir

جداسازی استرپتوکوک موتان از دندان‌های پوسیده

استرپتوکوک موتان از دندان‌های پوسیده کشیده شده جداسازی شد. دندان‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر مایع Todd-Hewit broth (Merck, Germany) در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ و در حضور ۵ CO_2 درصد برای ۴۸ ساعت نگهداری شد. از محیط مایع Tood-Hewit broth بر روی محیط آگار Mitis-Salivarius Bacitracin (MSBA) یک کشت مجدد انجام گرفت و در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ و در حضور ۵ CO_2 درصد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد.

استرپتوکوک موتان‌ها بر اساس شکل کلونی (نظیر همولیز سبز) و تست‌های بیوشیمیایی شامل Optochin، Catalase، Voges-proskauer، Arginine dihydrolase و Hippurate hydrolasis تشخیص داده شد. تشخیص استرپتوکوک موتان به وسیله تخمیر مثبت گلوکز، مانیتول، رافینوز، ملبینوز و سوربیتول مسجل شد[۲۲]. کشت خالص این کلونی‌ها بر روی MSBA آماده شد و در معرض تست‌های حساسیت به آنتی‌بیوتیک و عصاره سیر قرار گرفت. دندان‌های پوسیده افرادی که طی ۳ ماه اخیر آنتی‌بیوتیک مصرف کرده بودند، از آزمایش حذف شد.

تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک به وسیله انتشار دیسک (Disk diffusion)

حساسیت آنتی‌بیوتیکی ۹۲ کلونی استرپتوکوک موتان بر اساس روش Bauer-kirby تعیین شد[۲۳]. در این روش از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی قرار داده شده بر روی محیط MSBA دارای ارگانیسم‌های آزمایش استفاده شد. نواحی مهاری بعد از ۷۲ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ و در حضور ۵ CO_2 درصد اندازه گیری شد و نتایج بر اساس معیار NCCLS بررسی گردید.

آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده شامل پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، تتراسایکلین، سفتریاکسون، اریترومایسین، کلینداماسین، ریفامپین، وانکومایسین و تیکوپلانین بودند.

۲۸ کلونی استرپتوکوک موتان که به چهار یا بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده مقاومت داشتند، به عنوان گونه‌های مقاوم چند دارویی شناسایی شده و جهت تعیین حداقل غلظت مهاری (Minimum Inhibitory Concentration) آنتی‌بیوتیک‌ها و عصاره سیر استفاده شدند.

تعیین حداقل غلظت مهاری

پایین‌ترین غلظت دارو که از رشد ارگانیسم جلوگیری می‌کند، به عنوان حداقل غلظت مهاری شناخته می‌شود[۲۴]. از روش رقیق سازی در آگار (Plate dilution) جهت تعیین حداقل غلظت مهاری عوامل آنتی‌باکتریایی بر روی ۲۸ کلونی استرپتوکوک موتان مقاوم به آنتی‌بیوتیک استفاده شد.

غلظت‌های عوامل ضد میکروبی بر حسب µg/ml از این قرار بود: پنی‌سیلین (۱۶–۰/۰۱۵)، اریترومایسین (۶۴–۰/۰۴)، وانکومایسین (۸–۰/۵)، تتراسایکلین (۳۲–۰/۲۵)، ایمی‌پنم (۱–۰/۰۳)، سفتریاکسون (۱۶–۰/۰۱۵)، آموکسی‌سیلین (۳۲–۰/۰۳)، تیکوپلانین (۳۲–۰/۰۶)، کلینداماسین (۸–۰/۰۳) و ریفامپین (۱۲۸–۰/۲۵)[۲۵].

کشت خالص هر گونه استرپتوکوک موتان آماده شد و 10^4 CFU/spot بر روی آگار Muller-Hinton به همراه ۵ درصد خون گوسفند و غلظت دو برابر عوامل ضد میکروبی قرار داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ در حضور ۵ CO_2 درصد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و نتایج ثبت شد[۲۶]. کلرهگزیدین با غلظت µg ۳۲–۰/۵ و استرپتوکوک موتان ATCC25175 در هر زمان به عنوان گروه شاهد استفاده شد. گونه‌ها از نظر حساسیت به پنی‌سیلین به صورت زیر دسته بندی شدند: حساس (µg/ml ۰/۱۲۵ ≥ حداقل غلظت مهاری)؛ به نسبت مقاوم (µg/ml ۲–۰/۲۵ = حداقل غلظت مهاری) و مقاوم (µg/ml ۴ ≤ حداقل غلظت مهاری)[۲۴].

تست‌های آنتی‌باکتریال بر عصاره سیر

از ارزیابی انتشار دیسک (Disk diffusion assay) و روش‌های Broth dilution برای تخمین فعالیت ضد باکتریایی عصاره سیر بر ۲۸ نوع استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی و ۲۸ نوع حساس به دارو (non-Multi Drug Resistant) استفاده شد.

ارزیابی انتشار دیسک

از هر کدام از گونه های استرپتوکوک موتان سوسپانسیون باکتریایی برابر با 0.5 .McFarland NO در Mueller-Hinton broth آماده شد و به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردید؛ ۰/۱ میلی‌لیتر از این محلول بر روی محیط MSBA کشت داده شد. یک قطر ۶

www.mui.ac.ir

میلی‌متری از کاغذ فیلتر شماره ۱ واتمن در ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره سیر غوطه‌ور گردید، بر روی MSBA قرار گرفت و در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ و در حضور CO_2 ۵ درصد، به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد. قطر ناحیه مهاری اطراف دیسک بر حسب میلی‌متر اندازه گیری و ثبت گردید. آزمایش سه بار تکرار و میانگین قطر مهاری تخمین زده شد. کاغذهای فیلتر در کلرهگزیدین و سالین غوطه‌ور شد و به عنوان شاهد مثبت و منفی استفاده شد.

Broth dilution method

این روش برای اندازه گیری حداقل غلظت مهاری عصاره سیر به کار برده شد. به طور خلاصه، هر گونه استرپتوکوک موتان بر اساس دستورالعمل NCCLS تا فاز Stationary در (Cation-adjusted) Muller-Hinton broth رشد داده شد[۲۷]. هر سوسپانسیون سلولی با استفاده از اسپکتروفتومتر تا حدود CFU 10^4 تنظیم شد. غلظت عصاره سیر از ۲ mg/ml تا ۲۵۶ متغیر بود و ۲۵ µl از سوسپانسیون سلول‌های باکتری به عصاره‌های سیر رقیق شده اضافه گردید. همه موارد آماده سازی شده (Incubation) در دمای $^{\circ}C$ ۳۷، در حضور CO_2 ۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و بالاترین غلظتی در آن که هیچ گونه رشدی وجود نداشت، به عنوان حداقل غلظت مهاری عصاره سیر ثبت گردید.

یافته‌ها با استفاده از آزمون Student t-test مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه، از ۱۰۵ دندان پوسیده، ۹۲ گونه (۸۷/۶ درصد) استرپتوکوک موتان به دست آمد. بر اساس جدول شماره ۱، این گونه‌ها حداقل مقاومت را در برابر وانکومایسین و تیکوپلانین و حداکثر مقاومت را در برابر تتراسایکلین نشان دادند. ۲۸ گونه انواع مقاوم چند دارویی بودند و ۵ الگوی متفاوت مقاومت را نشان دادند. (جدول ۲) هیچ کدام از گونه‌ها به وانکومایسین و تیکوپلانین مقاومت نداشت. حداقل غلظت مهاری وانکومایسین و تیکوپلانین برای ۲۸ گونه مقاوم چند دارویی به ترتیب در محدوده ۰/۱۲۵ µg/ml تا ۱ و µg/ml ۰/۰۱۵ تا۰/۰۶ بود. ۱۰ گونه مقاوم چند دارویی (۳۵/۷ درصد) مقاومت بالا و ۱۱ گونه (۳۹/۲ درصد) مقاومت متوسط به پنی‌سیلین داشتند. حداقل غلظت مهاری کلرهگزیدین برای ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی و ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان حساس به دارو به ترتیب بین µg/ml ۱۶-۴ و µg/ml ۱-۰/۲۵ متفاوت بود.

جدول ۱. مقاومت ۹۲ گونه استرپتوکوک موتان به دست آمده از دندان‌های پوسیده در برابر عوامل آنتی باکتریال با استفاده از تست انتشار دیسک

عامل ضد باکتریال	تعداد گونه‌های‌مقاوم (٪)
پنی‌سیلین	۲۱ (۲۲/۸)
تتراسیکلین	۲۸ (۳۰/۴)
آموکسی‌سیلین	۲۲ (۲۳/۹)
اریترومایسین	۲۲ (۲۳/۹)
ریفامپین	۱۶ (۱۷/۴)
کلیندامایسین	۱۳ (۱۴/۱)
سفتریاکسون	۱ (۱/۱)
ایمی‌پنم	۱ (۱/۱)
وانکومایسین	۰ (۰)
تیکوپلانین	۰ (۰)

جدول ۲. الگوی مقاومت ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی به دست آمده از دندان‌های پوسیده در برابر عوامل آنتی میکروبیال بر اساس تست انتشار دیسک

شماره الگو	الگوهای مقاومت	تعداد گونه‌ها
۱	پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، ریفامپین و تتراسایکلین	۸
۲	پنی‌سیلین، کلیندامایسین و اریترومایسین، تتراسایکلین	۶
۳	پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفتریاکسون، تتراسایکلین، ایمی‌پنم، ریفامپین، کلیندامایسین و اریترومایسین	۱
۴	آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، ریفامپین و تتراسایکلین	۷
۵	تتراسایکلین، پنی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و کلیندامایسین	۶
	کل گونه‌های مقاوم چند دارویی	۲۸

www.mui.ac.ir

جدول ۳. اثر مهاری عصاره سیر بر ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی و ۲۸ گونه حساس به دارو با استفاده از تست انتشار دیسک

محدوده ناحیه مهاری (mm)	تعداد گونه‌های مقاوم چنددارویی (٪)	تعداد گونه‌های حساس به دارو (٪)
۲۲-۲۶	۴(۱۴/۳)	۳(۱۰/۷)
۲۷-۳۱	۱۶(۵۷/۲)	۱۷(۶۰/۷)
۳۲-۳۶	۴(۱۴/۳)	۵(۱۷/۹)
۳۷-۴۱	۲(۷/۱)	۲(۷/۱)
≥ ۴۲	۲(۷/۱)	۱(۳/۶)

بر طبق جدول شماره ۳، قطر نواحی مهار شده اطراف دیسک‌های حاوی عصاره سیر از ۲۲ تا ۴۴ میلی‌متر متفاوت بود. این موضوع نشان داد که ۲۸ گونه مقاوم چند دارویی (۱۰۰ درصد) به عصاره سیر حساس بودند. حداقل غلظت مهاری عصاره سیر برای ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان مقاوم چند دارویی و ۲۸ گونه استرپتوکوک موتان حساس به دارو µg/ml ۴-۳۲ بود که از بین آن‌ها حداقل غلظت مهاری عصاره سیر برای ۲۵ گونه (۹۰ درصد) µg/ml ۱۶ بود.

بحث

اطلاعات به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که کلرهگزیدین با حداقل غلظت مهاری µg/ml ۱۶-۴ بر گونه‌های مقاوم چند دارویی استرپتوکوک موتان مؤثر بوده است؛ در حالی که حداقل غلظت مهاری آن برای گونه‌های حساس به دارو، µg/ml ۱-۰/۲۵ بوده که نشان دهنده خاصیت کم باکتریوسیدال کلرهگزیدین در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها است (p value < ۰/۰۵). Jarvinen و همکاران حداقل غلظت مهاری کلرهگزیدین را کمتر یا مساوی µg/ml ۱ گزارش کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد[۲۸]. نکته قابل توجه در این مطالعه مقاومت بالا به پنی‌سیلین (۲۲/۸ درصد) و آموکسی‌سیلین (۲۳/۹ درصد) بود؛ که آنتی‌بیوتیک‌های رایج جهت پروفیلاکسی قبل از پروسه‌های مهاجم دندان‌پزشکی می‌باشند. سال‌ها پنی‌سیلین به عنوان داروی انتخابی جهت کاهش شیوع عفونت دندان‌پزشکی متداول بوده و همین استفاده طولانی مدت از آن باعث ظهور گونه‌های مقاوم شده است[۲۹].

در موارد حساسیت به پنی‌سیلین، اریترومایسین به عنوان داروی انتخابی مد نظر قرار می‌گیرد. در مطالعه ما ۲۳/۹ درصد از گونه‌های استرپتوکوک موتان به اریترومایسین و ۱۴/۱ درصد به کلیندامایسین مقاوم بودند؛ در حالی که هیچ گونه استرپتوکوک موتان مقاوم به این عوامل از دیگر مناطق گزارش نشده است[۳۰]. استفاده وسیع از اریترومایسین در کشور ما می‌تواند باعث افزایش میزان مقاومت شده باشد.

با توجه به بروز روزافزون گونه‌های مقاوم، نیاز به ساخت موادی با خواص ضد میکروبی مؤثرتر و سمیت کمتر مورد توجه قرار گرفته است. فعالیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی عصاره سیر در آزمایشگاه به طور وسیعی مشخص شده است[۲۰، ۱۳، ۱۲، ۹، ۷]. علاوه بر آن، مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی، فعالیت مهاری عصاره سیر بر عوامل میکروبی مثل استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی‌سیلین[۳۱]، شیگلا[۳۲] و سیتومگالوویروس[۳۳] را نشان داده است.

Cellini و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره دو گونه مختلف سیر را بر روی H. pylori مثبت ارزیابی کردند[۱۳]. در یک مطالعه حیوانی، اثر عصاره سیر بر روی رشد باکتری‌های استرپتوکوک، استافیلوکوک و باسیلوس بررسی شد که عصاره سیر توانست رشد این باکتری‌ها را متوقف کند[۳۵، ۳۴].

Groppo وهمکاران طی یک مطالعه خارج دهانی نتیجه گرفتند که سیر اثر فوق العاده‌ای علیه استرپتوکوک‌های دهانی دارد و خاصیت ضد پوسیدگی آن در مقایسه با ویژگی‌های منفی اعم از طعم و بوی بد قابل توجه می‌باشد[۱۸].

Chen و همکاران نشان دادند که عصاره سیر در حضور غذاهای حاوی گلوکز، تولید اسید را افزایش می‌دهد و برای دندان مضر است؛ ولی همین عصاره قادر به کاهش رشد استرپتوکوک موتان و در نتیجه، کاهش بروز پوسیدگی می‌باشد[۲۱].

www.mui.ac.ir

تعداد کمی مطالعه In vivo در مورد اثر درمانی عصاره سیر بر روی انسان وجود دارد. Young هفده بیمار مبتلا به سل ریوی را با تجویز داخل برونش عصاره سیر درمان کرد[۳۶]. عصاره سیر به صورت داخل وریدی نیز به عنوان یک عامل درمانی بر روی بیماران مبتلا به مننژیت ویروسی و کرپیتوکوکوس استفاده شده است[۳۷]. اثر مثبت عصاره سیر بر استرپتوکوک‌های گروه B به دست آمده از کشت مقعدی-واژینال زنان باردار، جهت جلوگیری از عفونت استرپتوکوک‌های گروه B نوزادی محرز شده است[۳۸]. Groppo و همکاران تأثیر دهان‌شویه ۲/۵ درصدی سیر را به مدت یک هفته بر روی میزان استرپتوکوک در ۳۰ بیمار مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیانگر آن بود که محلول دهان‌شویه سیر اثر فوق العاده‌ای بر استرپتوکوک موتان و سایر میکروارگانیسم‌های دهان دارد و این میکروارگانیسم‌ها به مدت دو هفته پس از استفاده از دهان‌شویه نیز همچنان در میزان کاهش یافته باقی می‌مانند[۱۸].

Saravanan و همکاران اثر عصاره سیر را بر ۵ گونه باکتریایی (از جمله استرپتوکوک موتان) بررسی کردند. در این مطالعه، ناحیه مهار شده توسط عصاره سیر بر روی این باکتری، ۶ میلی‌متر ارزیابی شد[۳۹].

Owhe-Ureghe و همکاران اثر ترکیب عصاره سیر و لیمو را بر روی ۷ گونه باکتریایی جدا شده از دندان‌های پوسیده بررسی کردند. نتیجه این مطالعه بیانگر آن بود که این ترکیب می‌تواند به عنوان دهان‌شویه برای درمان پوسیدگی‌های دندانی، زخم‌های دهانی و گلودرد مورد استفاده قرار گیرد. اضافه کردن این مخلوط به خمیر دندان‌ها جهت پیش‌گیری از پوسیدگی‌های دندانی نیز پیشنهاد شد. ناحیه مهار شده توسط عصاره سیر بر روی استرپتوکوک موتان ۰/۵ ± ۲۰ میلی‌متر بود که این میزان برای مخلوط عصاره سیر و لیمو به ۱ ± ۲۳ میلی‌متر رسید[۴۰].

در مطالعه حاضر، ناحیه مهار شده توسط عصاره سیر ۴۴-۲۲ میلی‌متر بود که دلیل این تفاوت با مطالعات قبلی می‌تواند ناشی از تفاوت در غلظت عصاره سیر به کار رفته باشد.

به نظر می‌آید که خمیر دندان یا دهان‌شویه حاوی غلظت مناسب عصاره سیر می‌تواند در جلوگیری از پوسیدگی دندانی مؤثر باشد. یک محدودیت در استفاده از سیر، بوی نامطلوب آن است که می‌توان با اضافه کردن اسانس‌های خوشبو کننده به دهان‌شویه این مشکل را برطرف کرد.

در ارتباط با نگرانی درباره عوارض جانبی سیر بر روی انسان، نشان داده شده است که بیماران می‌توانند مصرف روزانه عصاره سیر به صورت مصرف داخل وریدی را به مدت حداقل یک ماه بدون آسیب جدی به کلیه، کبد و مغز استخوان تحمل کنند. تجویز خوراکی یا داخل وریدی باعث عوارض جانبی کمی مثل استفراغ، اسهال و تهوع می‌شود. به دلیل کمبود مطالعات in vivo مصرف عصاره سیر به صورت کلینیکی در حال حاضر ممنوع می‌باشد.

تحقیق در مراکز استاندارد سازی و آماده سازی دارویی برای دهان‌شویه و خمیر دندان حاوی این عامل ضد میکروبی در جلوگیری از پوسیدگی در حال انجام است.

نتیجه‌گیری

عصاره سیر می‌تواند رشد استرپتوکوک موتان را مهار کند؛ می‌توان از آن در دهان‌شویه‌ها و خمیر دندان‌ها به منظور کاهش پوسیدگی استفاده کرد.

References

1. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. J Dent Educ 2001; 65(10):1028-37.
2. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, et al. Longitudinal study of dental caries incidence associated with Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in pre-school children. J Med Microbiol 2005; 54(Pt 7): 661-5.
3. Straetemans MM, van Loveren C, de Soet JJ, de Graaff J, ten Cate JM. Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. J Dent Res 1998; 77(10): 1851-5.
4. Bratthall D. Dental caries: intervened-interrupted-interpreted. Concluding remarks and cariography. Eur J Oral Sci 1996; 104(4(Pt 2)): 486-91.

www.mui.ac.ir

5. Ten great public health achievements--United States, 1900-1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48(12): 241-3.
6. Lindquist B, Edward S, Torell P, Krasse B. Effect of different carriers preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. Scand J Dent Res 1989; 97(4): 330-7.
7. Ross ZM, O'Gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV, Maslin DJ. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. Appl Environ Microbiol 2001; 67(1): 475-80.
8. Ellmore G, Feldberg R. Alliin lyase localization in bundle sheaths of Garlic cloves (Allium sativum Linn.). Am J Bot 1994; 81(1): 89-94.
9. Tsao SM, Yin MC. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. J Med Microbiol 2001; 50(7): 646-9.
10. Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials. J Antimicrob Chemother 2003; 51(2): 241-6.
11. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infect 1999; 1(2): 125-9.
12. Sivam GP, Lampe JW, Ulness B, Swanzy SR, Potter JD. Helicobacter pylori--in vitro susceptibility to garlic (Allium sativum) extract. Nutr Cancer 1997; 27(2): 118-21.
13. Cellini L, Di Campli E, Masulli M, Di Bartolomeo S, Allocati N. Inhibition of Helicobacter pylori by garlic extract (Allium sativum). FEMS Immunol Med Microbiol 1996; 13(4): 273-7.
14. Jonkers D, Sluimer J, Stobberingh E. Effect of garlic on vancomycin-resistant enterococci. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43(12): 3045.
15. Jain RC. Anti tubercular activity of garlic oil. Indian J Pathol Microbiol 1998; 41(1): 131.
16. Ghannoum MA. Inhibition of Candida adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of Allium sativum (garlic). J Appl Bacteriol 1990; 68(2): 163-9.
17. Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD, Hughes BG. In vitro virucidal effects of Allium sativum (garlic) extract and compounds. Planta Med 1992; 58(5): 417-23.
18. Groppo FC, Ramacciato JC, Motta RH, Ferraresi PM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. Int J Dent Hyg 2007; 5(2): 109-15.
19. Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG, Mossa JS. The Antimicrobial Activity of Garlic and Onion Extracts. Pharmazie 1983; 38(11): 747-8.
20. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Arch Oral Biol 2005; 50(7): 645-51.
21. Chen YY, Chiu HC, Wang Y. Effects of garlic extract on acid production and growth of Streptococcus mutans. Journal of Food and Drug Analysis 2009; 17(1): 59-63.
22. Beighton D, Russell RR, Whiley RA. A simple biochemical scheme for the differentiation of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus. Caries Res 1991; 25(3): 174-8.
23. Forbes BA, Forbes DF, Weissfeld AS. Laboratory methods for detection of antibacterial resistance. In: Roche J, Parker SJ, McAdam L, editors. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 11th ed. St Louis: Mosby; 2002. p. 250-72.
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 4th ed. Villanova: NCCLS; 1997.
25. Miron T, Shin I, Feigenblat G, Weiner L, Mirelman D, Witchek M, et al. A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. Analytical biochemistry 2002; 307(1): 76-83.
26. Kohanteb J, Sadeghi E. Penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae in Iran. Med Princ Pract 2007; 16(1): 29-33.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement. Wayne: NCCLS, 1999.
28. Jarvinen H, Tenovuo J, Huovinen P. In vitro susceptibility of Streptococcus mutans to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37(5): 1158-9.
29. Bochud PY, Calandra T, Francioli P. Bacteremia due to viridans streptococci in neutropenic patients: a review. Am J Med 1994; 97(3): 256-64.
30. Teng LJ, Hsueh PR, Chen YC, Ho SW, Luh KT. Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococci in Taiwan with an emphasis on the high rates of resistance to penicillin and macrolides in Streptococcus oralis. J Antimicrob Chemother 1998; 41(6): 621-7.
31. Tsao SM, Hsu CC, Yin MC. Garlic extract and two diallyl sulphides inhibit methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in BALB/cA mice. J Antimicrob Chemother 2003; 52(6): 974-80.
32. Fang F, Li H, Cui W, Dong Y. Treatment of hepatitis caused by cytomegalovirus with allitridin injection--an experimental study. J Tongji Med Univ 1999; 19(4): 271-4.

www.mui.ac.ir

33. Chowdhury AK, Ahsan M, Islam SN, Ahmed ZU. Efficacy of aqueous extract of garlic & allicin in experimental shigellosis in rabbits. Indian J Med Res 1991; 93: 33-6.
34. Perez-Giraldo C, Cruz-Villalon G, Sanchez-Silos R, Martinez-Rubio R, Blanco MT, Gomez-Garcia AC. In vitro activity of allicin against Staphylococcus epidermidis and influence of subinhibitory concentrations on biofilm formation. J Appl Microbiol 2003; 95(4): 709-11.
35. Adetumbi MA, Lau BH. Allium sativum (garlic)--a natural antibiotic. Med Hypotheses 1983; 12(3): 227-37.
36. Young K. Preliminary clinical observations on 17 cases of pulmonary tuberculosis treated by the intrabronchial administration of garlic juice. Shandong Yi Kan 1959; 21: 24-5.
37. Davis LE, Shen JK, Cai Y. Antifungal activity in human cerebrospinal fluid and plasma after intravenous administration of Allium sativum. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34(4): 651-3.
38. Cohain JS. GBS, pregnancy and garlic: be a part of the solution. Midwifery Today Int Midwife 2004;(72): 24-5.
39. Saravanan P, Ramya K, Sricllaar H, Balamumgan V, Umamaheswari S. Antibacterial activity of allium sativum L. on pathogenic bacterial strains. Global Veterinaria 2010; 4(5): 519-22.
40. Owhe-Ureghe UB, Ehwarieme DA, Eboh DO. Antibacterial activity of garlic and lime on isolates of extracted carious teeth. African Journal of Biotechnology 2010; 9(21): 13163-6.

www.mui.ac.ir

Inhibitory effect of aqueous garlic (Allium sativum) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans* species: an in vitro study

Mohammad Mehdi Fani, Jamshid Kohanteb, Razeieh Meshki*, Esmaiel Shahine, Fereshteh Sobhnamayan, Maryam Dayaghi

Abstract

Introduction: *Garlic (Allium sativum) extract has an inhibitory effect on various pathogenic bacteria, viruses and fungi. The aim of the present study was to evaluate in vitro inhibitory effect of garlic extract on multi-drug-resistant (MDR) strains of Streptococcus mutans isolated from human carious teeth. Filtered sterilized aqueous extract of garlic was used in the present study.*
Materials and Methods: *In this in vitro case-control study data was analyzed with Student's t-test ($\alpha = 0.05$). From 105 extracted human carious teeth 92 strains of S mutans were isolated. Disk sensitivity tests and broth dilution methods were used to determine antibiotic sensitivity profile and inhibitory activity of garlic extract on S mutans.*
Results: *Among 92 isolates of S mutans, 28 (30.4%) were MDR since they were resistant to four or more antibiotics. The highest and least resistance rates were observed for tetracycline (30.4%) and teichoplanin and vancomycin (0%), respectively; on the other hand, 22.8% and 23.9% of the isolates were resistant to penicillin and amoxicillin, respectively. Chlorhexidine minimum inhibitory concentration (MIC) for MDR and non-MDR S mutans varied from 2 to 16 µg/mL and from 0.25 to 1 µg/mL, respectively (p value < 0.05). All the isolates, MDR and non-MDR, were sensitive to garlic extract with the MIC ranging from 4 to 32 mg/mL.*
Conclusion: *Considering the data obtained from the present study, mouthwashes or toothpastes containing optimum concentrations of garlic extract can be used for the prevention of dental caries.*

Key words: *Dental caries, Garlic extract, Multi-drug-resistant, Streptococcus mutans.*

Received: 27 Sep, 2010 **Accepted:** 7 Dec, 2010

Address: Postgraduate Student, Department of Pediatrics, School of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
Email: rmeshki60@yahoo.com

Journal of Isfahan Dental School 2010; 6(4): 348-356.

www.mui.ac.ir