

اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو در افراد با بهداشت دهانی نامطلوب: یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی

۱. دندانپزشک، اصفهان، ایران.

۲. **نویسنده مسؤول:** گروه پریودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوارسگان)، اصفهان، ایران.
Email: mohammad_khan206@yahoo.com

۳. دکترای تخصصی، گروه پریودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوارسگان)، اصفهان، ایران.

امیر قاسمی^۱

محمد کتابی^۲

سید محمد حسین میرخانی^۳

چکیده

مقدمه: جستجو برای عوامل ضد میکروبی جدید با منشأ گیاهی به منظور کنترل بیماری‌های عفونی دهان مانند پوسیدگی دندان و بیماری پریودنتال ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو در برابر میکرووارگانیسم‌های حفره‌ی دهان انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی، عصاره‌ی اتانولی برگ آووکادو با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد تهیه شد. از پنج بیمار با بهداشت دهان و دندان نامطلوب [پلاک ایندکس اولری (O'Leary Index) < ۶۰] درصد: تغییر رنگ در بیش از ۶۰ درصد از کل سطوح دندانی پس از جویدن قرص نمایانگر، نمونه‌های فلور دهانی با سواب پنبه‌ای استریل جمع‌آوری شد و در لوله‌های حاوی آگار (nutrient broth) کشت شد. اثربخشی ضد میکروبی عصاره‌های برگ آووکادو و کنترل (کلره‌گزیدین ۱/۲ درصد و آب مقطر) با استفاده از روش انتشار دیسک (در هر گروه ۵ دیسک) بر روی پلیت‌های آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. اثربخشی ضد میکروبی بر حسب ناحیه‌ی بازدارندگی (میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۷ با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. (p value < ۰/۰۵).

یافته‌ها: ناحیه‌ی بازدارندگی برای عصاره‌های آووکادو، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد به ترتیب mm ۱۴، ۱۵ و ۱۷/۵ mm بود (p value < ۰/۰۰۱). عصاره‌های آووکادو، ناحیه‌ی بازدارندگی بزرگتری را در مقایسه با کلره‌گزیدین (p value < ۰/۰۰۱) و آب مقطر (۶ mm) نشان دادند (p value < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بر اساس این یافته‌ها، عصاره‌های برگ آووکادو اثر ضد میکروبی بر پاتوژن‌های دهانی هستند و می‌توانند به عنوان یک عامل ضد میکروبی در محصولات بهداشت دهان و دندان مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژه‌ها: امریکانا پرسپیا، میکروبیوتا، کلره‌گزیدین.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱۲

تاریخ اصلاح: ۱۳۹۷/۷/۱۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۷/۴/۱۹

استناد به مقاله: قاسمی امیر، کتابی محمد، میرخانی سید محمد حسین. اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو در افراد با بهداشت دهانی نامطلوب: یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۳۹۷:۴۱۰:۴۱۸-۴۱۸.

مقدمه

یک جایگزین مؤثر برای کلرهگریدین بسیار مطلوب است (۹). به علاوه، افزایش مقاومت باکتری‌های بیوفیلم‌های دهانی در برابر عوامل ضد میکروبی موجود، تهیه عوامل ضد میکروبی جدید را ضروری ساخته است (۱۰).

امروزه، دهانشویه‌های گیاهی مختلف به دلیل برخی مزیت‌ها از جمله عوارض جانبی اندک، هزینه‌ی پایین و سهولت دسترسی، شناسایی و به بازار ارایه شده‌اند. مطالعات مختلف اثربخشی دهانشویه‌های گیاهی از جمله پرسیکا Anacardium (۱۱)، آلوئورا (۱۲)، Triphala (۱۳)، Acacia arabica (۱۴) و Acacia occidentale (۱۵) را در کنترل پلاک و بهبود بیماری‌های پریودنتال نشان داده‌اند.

در سال‌های اخیر، خواص مهم پزشکی برای گیاه آووکادو عنوان شده است. Persea americana Mill که معمولاً با نام "آووکادو" شناخته می‌شود، گیاه متعلق به خانواده‌ی Lauraceae است. این گیاه، درخت بومی امریکای مرکزی است که در نواحی گرمسیری و معتدل سراسر دنیا کشت می‌شود و شامل سه نژاد اصلی مکزیکی، گواتمالایی و هندی است. یک درخت همیشه سبز با اندازه‌ی متوسط تا بزرگ به ارتفاع ۹-۲۰ متر است (۱۶). برگ و سایر قسمت‌های مورفولوژیکی آن دارای خواص دارویی هستند و به طور گستردگی در داروهای سنتی بسیاری از کشورها به عنوان عوامل ضد میکروبی، ضد آرثی، ضد درد، ضد التهاب، تسکین سرفه، بهبود دیابت و کاهش فشار خون استفاده می‌شود (۱۷).

مطالعات در انسان و حیوانات نشان داده‌اند که آووکادو یا فرآورده‌های آن در کاهش خطر سندروم متابولیک (۱۸)، کنترل قند خون و بهبود وضعیت لیپیدهای سرم در مبتلایان به دیابت غیر وابسته به انسولین (۱۹)، کاهش سطح کلسترول و تری-گلیسرید سرمی در مبتلایان به هایپرکلسترولمی (۲۰)، بهبود علایم کلینیکی استئوآرتیت (۲۱) و بهبود رضم‌های پوستی (۲۲) تأثیر دارد. یک مطالعه نشان داد که پالپ آووکادو با دارا بودن ترکیبات Acetogenin که یک بازدارنده‌ی تجمع پلاک است، می‌تواند در پیشگیری از

ابتلا به بیماری‌های دهان و دندان به ترکیب پیچیده‌ای از عوامل مختلف از جمله ژنتیک، عوامل سیستمیک، رژیم غذایی و بهداشت دهان و دندان بستگی دارد. اغلب این بیماری‌ها با کاهش میکروارگانیسم‌های موجود در بیوفیلم‌های سطوح دهان و دندان قابل کنترل هستند (۱). پلاک دندانی یک بیوفیلم میکروبی مشتمل بر صدھا گونه میکروارگانیسم است که محیط مقاومی را برای میکروب‌ها در برابر عوامل ضد میکروبی و سیستم دفاعی میزبان فراهم می‌آورد (۲). پلاک دندانی از عوامل اتیولوژیک مهم در شروع و پیشرفت بیماری‌های پریودنتال، پوسیدگی دندان و هالیتوزیس است (۳). بنابراین، بهداشت دهان و دندان شامل روش‌های جلوگیری از تشکیل بیوفیلم و یا کنترل و حذف آن در پیشگیری و درمان موفق این بیماری‌ها نقش عملده‌ای دارد (۴). کنترل مکانیکی (جرم‌گیری، مسواک زدن، استفاده از نخ دندان و ...) روش اصلی حذف پلاک میکروبی است (۵). با این حال، برخی محدودیت‌ها در کنترل مکانیکی بیوفیلم‌های پریودنتال از جمله مسواک زدن نادرست توسط بیشتر افراد، دسترسی دشوار به سطوح اینترپروگریمال به ویژه در دندان‌های خلفی و منحصر بودن کنترل مکانیکی به سطوح سخت سبب شده است تا عوامل ضد میکروبی شیمیایی به عنوان روش کمکی برای کنترل پلاک مطرح شوند (۶).

دهانشویه‌ها مهم‌ترین مواد برای کنترل شیمیایی پلاک میکروبی می‌باشند. از میان دهانشویه‌های موجود، کلرهگریدین استاندارد طلایی (Gold standard) محسوب می‌شود که به عنوان اولین و مؤثرترین گزینه‌ی درمانی برای کنترل پلاک تجویز می‌شود (۷) و در برابر ارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها خاصیت آنتی‌سپتیک دارد (۸). اما مصرف طولانی مدت آن به دلیل عوارض جانبی مختلف مانند تغییر رنگ دندان‌ها به قهوه‌ای، اختلال حس چشایی، ضایعات مخاطی دهان و افزایش تشکیل پلاک سوپراآنزیوال امکان‌پذیر نمی‌باشد و معرفی

و افراد با پلاک ایندکس بیش از ۶۰ درصد، وارد مطالعه شدند.

جمع‌آوری برگ آووکادو و طرز تهیه‌ی عصاره‌ی برگ
Bulacan تازه‌ی آووکادو از San Pedro Bustos از استان Bulacan در فیلیپین جمع‌آوری شد. سپس برگ‌ها شسته و با یک قطعه پارچه خشک شدند. عصاره‌ی برگ‌ها به روش فرآیند ماسراسیون تهیه شد. بدین منظور، برگ‌های تازه آووکادو به میزان ۵۰۰ گرم در یک بطری دهان‌گشاد حاوی ۵۰۰ ml الكل اتیلیک ۹۵ درصد قرار داده شد. دهانه‌ی بطری به مدت ۲۴ ساعت کاملاً بسته شد. سپس محتويات بطری توسط کاغذ صاف-کن فیلتر شد تا مواد زاید حذف گردد. مواد درون بالن ارلنمایر قرار داده شدند و به منظور حذف یا جداسازی حلال‌ها، داخل تبخیر کننده‌ی چرخان قرار داده شد. سپس، عصاره‌ی جداسازی شده، در ظرف تبخیر قرار گرفت.

آماده‌سازی محیط کشت: آب مقطر به حجم ۲۰۰ ml و nutrient broth به مقدار ۲/۶ گرم درون بالن ارلنمایر قرار داده شد. محتوای ظرف به شش لوله‌ی آزمایش استریل به حجم ۵ ml انتقال داده شد. لوله‌های آزمایش تحت فشار ۱۵ lbs و دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو قرار داده شدند. سپس لوله‌ها سرد شدند. توسط یک سوآپ پنبه‌ای استریل از حفره‌ی دهان افراد، نمونه گرفته شد. نوک سوآپ قطع شد و درون لوله‌های آزمایش حاوی nutrient broth قرار داده شد.

آماده‌سازی پلیت: یک سوسپانسیون با ریختن آگار Mueller-Hinton به مقدار g ۱۵/۲ در آب مقطر یا آب دیونیزه به حجم ml ۴۰۰ تهیه شد. سوسپانسیون تحت حرارت و تکان‌های منظم قرار گرفت تا به خوبی مخلوط شود. سپس تحت فشار lbs ۱۵ و دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. سپس تا دمای ۴۰-۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد سرد شد و درون ظرف‌های Petri ریخته شد. سپس مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت.

تشکیل ترمبوز نقش داشته باشد (۲۳).

همچنین تعدادی از تحقیقات، اثرات آووکادو را علیه پاتوژن‌های دهانی از جمله استرپتوکوک موتانس (۲۴)، استرپتوکوک ویریدانس (۲۵) و کاندیدا آلبیکانس (۲۶) نشان داده‌اند. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی آووکادو با غلظت‌های مختلف بر روی پلاک میکروبی بzac و مقایسه تأثیر آن با کلرهگزیدین ۰/۱۲ درصد بود. فرضیه‌ی صفر مورد بررسی عبارت بود از این که قطر ناحیه‌ی بازدارندگی رشد میکروبی دیسک‌های حاوی عصاره‌ی برگ آووکادو در مقایسه با دیسک‌های حاوی کلرهگزیدین یا آب مقطر متفاوت نمی‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی-آزمایشگاهی، برای ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو، نمونه‌های میکروبی از دهان پنج بیمار تهیه گردید. بیماران از هر دو جنس از میان مراجعه کنندگان به بخش تشخیص دانشکده‌ی دندان‌پزشکی دانشگاه مانیل فیلیپین در سال ۲۰۱۳ انتخاب شدند. به عنوان معیارهای ورود به مطالعه، دامنه‌ی سنی ۱۹-۴۰ سال، بهداشت نامطلوب دهان و دندان (پلاک ایندکس اولری O'Leary) < ۶۰ درصد) و به عنوان معیارهای خروج از مطالعه، بی‌دنانی کامل، ابتلا به بیماری‌های سیستمیک، مصرف دخانیات و مصرف آنتی‌بیوتیک طی سه ماه گذشته در نظر گرفته شد (O'Leary Index).

برای انتخاب بیماران با وضعیت نامطلوب بهداشت دهان و دندان، ابتدا از بیماران درخواست شد تا برای حذف بقایای غذایی، دهان را با آب شستشو دهند. سپس به هر نفر یک قرص نمایانگر (disclosing agent tablet) داده شد تا به طور کامل جویده شود. تغییر رنگ دندان در اثر قرص نمایانگر در چهار سطح مزیوباکال، میدباکال، دیستوباکال و لینگوال برای هر دندان ثبت شد و میزان پلاک دندانی طبق ایندکس اولری با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۷):

$$\frac{\text{تعداد سطوح رنگ گرفته}}{\text{تعداد کل دندانها}} \times 100 \times 4$$

تحلیل شد. برای مقایسه اندازه‌ی ناحیه بازدارندگی بین عصاره‌ی آووکادو با غلظت‌های مختلف، کلرهگزیدین و آب مقطر از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey استفاده گردید. در این مطالعه، سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اندازه‌ی ناحیه بازدارندگی برای عصاره‌ی برگ آووکادو با غلظت‌های ۲۵ درصد (۱۴ mm)، ۵۰ درصد (۱۵ mm) و ۱۰۰ درصد (۹ mm) و نیز برای کلرهگزیدین (۹ mm) و آب مقطر (۶ mm) در جدول و نمودار ۱ نشان داده شده است. مقایسات نشان داد که اندازه‌ی ناحیه بازدارندگی عصاره‌ی آووکادو در مقایسه با کلرهگزیدین و آب مقطر به طور معنی‌داری بزرگ‌تر بود ($p < 0/001$). همچنین غلظت‌های بالاتر عصاره‌ی آووکادو، ناحیه‌ی مهار میکروبی بزرگ‌تر را نشان دادند ($p < 0/001$).

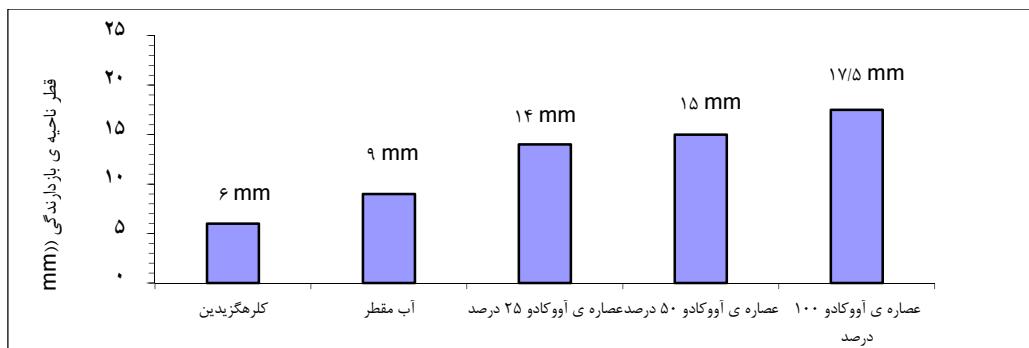
تست میکروبی به روش انتشار در آگار: محیط کشت توسط سوآپ به طور یکنواخت روی پلیت آگار قرار داده شد. عصاره‌ی آووکادو با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد روی دیسک‌های کاغذی قرار داده شد. سپس دیسک‌ها روی سطح آگار قرار گرفتند. به عنوان کنترل، یک دیسک حاوی دهانشویه کلرهگزیدین ۱/۲ درصد و یک دیسک حاوی آب مقطر روی ظرف Petri قرار داده شد. برای هر ماده، ۵ دیسک و در مجموع ۲۵ دیسک در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری ناحیه بازدارندگی (قطر ناحیه مهار رشد میکروبی): قطر ناحیه عدم رشد میکروبی بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد تا اثر ضد میکروبی هر عامل تعیین شود. در کل، سه گروه آزمودنی (عصاره‌ی آووکادو با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد و آب مقطر) با دو گروه شاهد (کلرهگزیدین ۱/۲ درصد و آب مقطر) بررسی شدند.

آنالیز آماری: داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۷ (version 17, SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و

جدول ۱: قطر ناحیه بازدارندگی بر حسب میلی‌متر (mm) در سه گروه آزمودنی (عصاره‌ی برگ آووکادو با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد و گروه‌های شاهد (کلرهگزیدین ۱/۲ درصد و آب مقطر)

تفسیر	قطر ناحیه بازدارندگی (میلی‌متر)	مواد مورد مطالعه
مؤثر	۱۴ mm	عصاره‌ی برگ آووکادو ۲۵ درصد
مؤثر	۱۵ mm	عصاره‌ی برگ آووکادو ۵۰ درصد
مؤثر	۹ mm	عصاره‌ی آووکادو ۱۰۰ درصد
مقاوم	۶ mm	آب مقطر
شاهد	۹ mm	کلرهگزیدین



نمودار ۱: قطر ناحیه بازدارندگی بر حسب میلی‌متر (mm) در سه گروه آزمودنی (عصاره‌ی برگ آووکادو با غلظت‌های مختلف) و گروه‌های شاهد (کلرهگزیدین ۱/۲ درصد و آب مقطر)

بحث

بیشتر نیاز دارد. با این حال باید توجه داشت که در مطالعه‌ی حاضر از کلرهنگزیدین با غلظت (۰/۱۲ درصد) استفاده گردید اما در مطالعات مشابه (۳۴-۲۹) عموماً از غلظت ۰/۲ درصد کلرهنگزیدن استفاده شده است.

مطالعات پیشین علاوه بر اثرات آووکادو علیه پاتوژن‌های دهانی (۲۶-۲۴)، عملکرد ضد باکتریایی این گیاه را بر روی باکتری‌های ای-کولی، استرپتوکوک Listeria اورئوس (۳۵)، لیستریا منوسایتوژنز (monocytogenes) (۳۶)، استافیلوکوک (Staphylococcus epidermidis) کاتارالیس (Moraxella cattarhalis) (۳۸)، مایکوکاتریوم (Mycobacterium tuberculosis) (۳۹)، توبرکلوزیس (۴۰) نشان داده‌اند. کلستریدیوم و اسپور کلستریدیوم (۴۰) نشان داده‌اند. همچنین، اثرات ضد قارچی این گیاه علیه کرپیتوکوکوس نئوفرمنس (Cryptococcus neoformans) گونه‌های کاندیدا و عامل قارچی نوعی درماتیت (Malassezia pachydermatis) (۴۲) و نیز اثرات ضد انگلی علیه تک‌یاخته‌ی ژیاردیا لامبیا (Giardia lamblia) (۴۳) گزارش شده است. به علاوه، نشان داده شده است که عصاره‌ی برگ آووکادو در مهار انواعی از ویروس‌ها نقش دارد (۱۶).

گیوزمن-رودرینگیوز و همکاران (۳۵) اثرات ضد باکتریایی آووکادو را به تولید گروهی از پپتیدهای ضد میکروبی به نام دیفسین (defensin) توسط این گیاه، نسبت دادند. برخی انواع دیفسین‌ها از پتانسیل درمان اختلالات پوستی با منشاء انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها برخوردار هستند (۴۴). مطالعه‌ی سالیناس-سالازار و همکاران (۳۶) نشان داد که ترکیبات acetogenin در عصاره‌ی آووکادو اثرات باکتریسیدال دارد که احتمالاً از طریق افزایش نفوذپذیری غشاء باکتری و در نتیجه‌ی لیز سلول باکتری عمل می‌کند. طبق نتایج یک مطالعه، پالپ نارس آووکادو حاوی مشتقات الكلی چرب به نام‌های avocadoin و avocadoenol و avocadenol A و avocadenol B trihydroxyheptadec-16- trihydroxynonadecane می‌باشد که از میان آنها

طب گیاهی با کاربرد انواع گیاهان و عصاره‌های مختلف آنها، به عنوان یک روش پیشگیرانه و درمانی برای حفظ سلامتی و درمان بسیاری از اختلالات مورد استفاده قرار می‌گیرد. شواهد موجود نشان می‌دهند که درمان بیماری‌های مختلف دهان مانند خون‌ریزی لثه، هالیتوز، زخم دهان و پوسیدگی دندان با استفاده از گیاهان دارویی مختلف موفق بوده است (۲۸). در مطالعه‌ی حاضر، اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو بر میکروب‌های دهان به روش اندازه‌گیری قطر مهار رشد میکروبی در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفت. به عنوان فرضیه‌ی صفر در نظر گرفته شد که اثربخشی عصاره‌ی آووکادو در مقایسه با نمونه‌های شاهد (کلرهنگزیدین و آب مقطر) متفاوت نمی‌باشد.

طبق نتایج مطالعه، فرضیه‌ی صفر به دلیل آن که قطر ناحیه‌ی بازدارندگی نمونه‌های عصاره‌ی آووکادو در مقایسه با کلرهنگزیدین و آب مقطر به طور معنی‌دار بزرگ‌تر بود ($p < 0.001$)، رد شد. این یافته نشان داد که اثربخشی ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو با غلظت‌های مختلف در مقایسه با کلرهنگزیدین و آب مقطر به طور معنی‌داری بیشتر بود.

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که خاصیت مهار رشد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو در مقایسه با کلرهنگزیدین (۰/۱۲ درصد)، به طور قابل توجهی بیشتر بود. در حالی که در سایر مطالعات، بالاتر بودن اثر ضد میکروبی کلرهنگزیدین در مقایسه با دهانشویه‌های شیمیایی از جمله تری‌کلوزان (۲۹)، زایلوتول و سدیم فلوراید (۳۰) و نیز دهانشویه‌های گیاهی مانند EndoPam (حاوی عصاره‌ی چند گیاه) (۳۱)، عصاره‌ی برگ Morus alba (۳۲)، عصاره‌ی chamomile، دهانشویه‌ی گیاهی پرسیکا (۳۳) و عصاره‌ی گیاه miswak (۳۴) گزارش شده است. در مطالعه‌ی حاضر اثربخشی بالاتر عصاره‌ی آووکادو به علت عملکرد ضد میکروبی مطلوب‌تر عصاره‌ی آن در مقایسه با کلرهنگزیدین ممکن است قابل توضیح باشد که به مطالعات

کلره‌گزیدین مورد مقایسه قرار گیرد. همچنین، در صورت اثبات اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی آووکادو توصیه می‌شود که دهانشویه‌ای از عصاره‌ی گیاه آووکادو با فرمولاسیون مطلوب تهیه و به بازار ارایه گردد. پیشنهاد دیگر، مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌ی آووکادو با کلره‌گزیدین با غلظت ۰/۲ درصد می‌باشد.

نتیجه‌گیری

طبق یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، اثر ضد میکروبی عصاره‌ی برگ آووکادو در مقایسه با کلره‌گزیدین ۰/۱۲ درصد بیشتر بود. به علاوه، اثربخشی عصاره‌ی آووکادو با بالا رفتن غلظت، افزایش نشان داد.

ene خاصیت ضد باکتریایی دارند (۳۹). در خصوص اثرات ضد ویروسی آووکادو نشان داده شده است که برخی فلاونوئیدهای جداسازی شده از برگ‌ها و دانه‌های آووکادو مانند quercetin دارای اثرات ویرو-استاتیک (virostatic) هستند (۱۶).

به عنوان محدودیت مطالعه، این پژوهش به صورت تست میکروبی به روش انتشار در آگار در محیط کشت انجام شده است و تعیین آن نیاز به مطالعات کلینیکی بیشتر دارد. از آنجایی که نتایج این پژوهش صرفاً بر مبنای مطالعه‌ی آزمایشگاهی به شیوه‌ی تست میکروبی به روش انتشار در آگار می‌باشد، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات کلینیکی، تأثیر عصاره‌ی گیاه آووکادو با دهانشویه‌ی

References

1. Gupta D, Nayan S, Tippanawar HK, Patil GI, Jain A, Momin RK, et al. Are herbal mouthwash efficacious over chlorhexidine on the dental plaque? *Pharmacognosy Res* 2015; 7(3): 277-81.
2. Saleem HG, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. *BMC Microbiol* 2016 15; 16: 214.
3. Sharma R, Hebbal M, Ankola AV, Murugaboopathy V, Shetty SJ. Effect of two herbal mouthwashes on gingival health of school children. *J Tradit Complement Med* 2014; 4(4): 272-8.
4. Arora V, Tangade P, T L R, Tirth A, Pal S, Tandon V. Efficacy of dental floss and chlorhexidine mouth rinse as an adjunct to toothbrushing in removing plaque and gingival inflammation - a three way cross over trial. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(10): ZC01-4.
5. Rode Sde M, Gimenez X, Montoya VC, Gómez M, Blanc SL, Medina M, et al. Daily biofilm control and oral health: consensus on the epidemiological challenge--Latin American Advisory Panel. *Braz Oral Res* 2012; 26(Suppl 1): 133-43.
6. Teles RP, Teles FR. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res* 2009; 23(Suppl 1): 39-48.
7. van der Weijden FA, van der Sluijs E, Ciancio SG, Slot DE. Can chemical mouthwash agents achieve plaque/gingivitis control? *Dent Clin North Am* 2015; 59(4): 799-829.
8. Talebi S, Sabokbar A, Riaziour M, Saffari M. Comparison of the in vitro effect of chemical and herbal mouthwashes on candida albicans. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(12): e12563.
9. Naiktar RS, Gaonkar P, Gurav AN, Khiste SV. A randomized clinical trial to evaluate and compare the efficacy of triphala mouthwash with 0.2% chlorhexidine in hospitalized patients with periodontal diseases. *J Periodontal Implant Sci* 2014; 44(3): 134-40.
10. Pedrazzi V, Leite MF, Tavares RC, Sato S, do Nascimento GC, Issa JP. Herbal mouthwash containing extracts of Baccharis dracunculifolia as agent for the control of biofilm: clinical evaluation in humans. *Scientific World Journal*. 2015; 2015: 712683.
11. Amooian B, Silakhori M. Efficacy of Persica mouthwash on plaque-induced gingivitis. *JBUMS* 2004; 6(5): 7-11.
12. Vangipuram S, Jha A, Bhashyam M. Comparative efficacy of aloe vera mouthwash and chlorhexidine on periodontal health: A randomized controlled trial. *J Clin Exp Dent* 2016; 8(4): e442-e447.

13. Pradeep AR, Suke DK, Martande SS, Singh SP, Nagpal K, Naik SB. Triphala, a New Herbal Mouthwash for the Treatment of Gingivitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2016; 87(11): 1352-9.
14. Gomes CE, Cavalcante DG, Filho JE, da Costa FN, da Silva Pereira SL. Clinical effect of a mouthwash containing Anacardium occidentale Linn. On plaque and gingivitis control: A randomized controlled trial. *Indian J Dent Res* 2016; 27(4): 364-9.
15. Pradeep AR, Agarwal E, Bajaj P, Naik SB, Shanbhag N, Uma SR. Clinical and microbiologic effects of commercially available gel and powder containing Acacia Arabica on gingivitis. *Aust Dent J* 2012; 57(3): 312-8.
16. Yasir M, Das S, Kharya MD. The phytochemical and pharmacological profile of *Persea Americana* Mill. *Pharmacogn Rev* 2010; 4(7): 77-84.
17. Falodun A, Imieje V, Erharuyi O, Ahomafor J, Jacob MR, Khan SI, et al. Evaluation of three medicinal plant extracts against *Plasmodium falciparum* and selected microorganisms. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2014; 11(4): 142-6.
18. Fulgoni VL 3rd, Dreher M, Davenport AJ. Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008. *Nutr J* 2013; 12: 1.
19. Lerman-Garber I, Ichazo-Cerro S, Zamora-González J, Cardoso-Saldaña G, Posadas-Romero C. Effect of a high-monounsaturated fat diet enriched with avocado in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1994; 17(4): 311-5.
20. López Ledesma R, Frati Munari AC, Hernández Domínguez BC, Cervantes Montalvo S, Hernández Luna MH, Juárez C, et al. Monounsaturated fatty acid (avocado) rich diet for mild hypercholesterolemia. *Arch Med Res* 1996; 27(4): 519-23.
21. Christiansen BA, Bhatti S, Goudarzi R, Emami S. Management of osteoarthritis with avocado/soybean unsaponifiables. *Cartilage* 2015; 6(1): 30-44.
22. de Oliveira AP, Franco Ede S, Rodrigues Barreto R, Cordeiro DP, de Melo RG, de Aquino CM, E Silva AA, et al. Effect of semisolid formulation of *persea americana* mill (avocado) oil on wound healing in rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 472382.
23. Rodriguez-Sanchez DG, Flores-García M, Silva-Platas C, Rizzo S, Torre-Amione G, de la Peña-Diaz A, et al. Isolation and chemical identification of lipid derivatives from avocado (*Persea americana*) pulp with antiplatelet and antithrombotic activities. *Food Funct* 2015; 6(1): 193-203.
24. Rosas-Piñón Y, Mejía A, Díaz-Ruiz G, Aguilar MI, Sánchez-Nieto S, Rivero-Cruz JF. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. *J Ethnopharmacol* 2012; 141(3): 860-5.
25. Prasko, Irmanita Wiradona, Suwarsono. Using avocado leaves to prevent streptococcus viridans' inhibition in growing caries in mouth. *ARC Journal of Surgery* 2017; 3(3): 5-7.
26. Jesus D, Oliveira JR, Oliveira FE, Higa KC, Junqueira JC, Jorge AO, et al. *Persea americana* glycolic extract: in vitro study of antimicrobial activity against candida albicans biofilm and cytotoxicity evaluation. *Scientific World Journal* 2015; 2015: 531972.
27. Newman MG, Carranza FA, Takei H. *Clinical periodontology*. Philadelphia, PA: Saunders; 2011. p. 512.
28. Dabholkar CS, Shah M, Kathariya R, Bajaj M, Doshi Y. Comparative evaluation of antimicrobial activity of pomegranate-containing mouthwash against oral-biofilm forming organisms: an in vitro microbial study. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(3): ZC65-9.
29. Watanabe E, Nascimento AP, Guerreiro-Tanomaru JM, Razaboni AM, de Andrade D, Tanomaru-Filho M. Antiseptic mouthwashes: in vitro antibacterial activity. *Acta Odontol Latinoam* 2015; 28(2): 180-4.
30. Lakade LS, Shah P, Shirol D. Comparison of antimicrobial efficacy of chlorhexidine and combination mouth rinse in reducing the Mutans streptococcus count in plaque. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2014; 32(2): 91-6.
31. Mathew J, Pathrose S, Kottoor J, Karaththodiyil R, Alani M, Mathew J. Evaluation of an indigenously prepared herbal extract (EndoPam) as an antimicrobial endodontic irrigant: an ex vivo study. *J Int Oral Health* 2015; 7(6): 88-91.
32. Gunjal S, Ankola AV, Bhat K. In vitro antibacterial activity of ethanolic extract of *Morus alba* leaf against periodontal pathogens. *Indian J Dent Res* 2015; 26(5): 533-6.

33. Darvishi Khezri H, Haidari Gorji MA, Morad A, Gorji H. Comparison of the antibacterial effects of matrica & Persica™ and chlorhexidine gluconate mouthwashes in mechanically ventilated ICU patients: a double blind randomized clinical trial. *Rev Chilena Infectol* 2013; 30(4): 361-73.
34. Moeintaghavi A, Arab H, Khajekaramodini M, Hosseini R, Danesteh H, Niknami H. In vitro antimicrobial comparison of chlorhexidine, persica mouthwash and miswak extract. *J Contemp Dent Pract* 2012; 13(2): 147-52.
35. Guzmán-Rodríguez JJ, López-Gómez R, Suárez-Rodríguez LM, Salgado-Garciglia R, Rodríguez-Zapata LC, Ochoa-Zarzosa A, et al. Antibacterial activity of defensin PaDef from avocado fruit (*Persea americana* var. *drymifolia*) expressed in endothelial cells against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 986273.
36. Salinas-Salazar C, Hernández-Brenes C, Rodríguez-Sánchez DG, Castillo EC, Navarro-Silva JM, Pacheco A. Inhibitory Activity of Avocado Seed Fatty Acid Derivatives (Acetogenins) Against *Listeria Monocytogenes*. *J Food Sci* 2017; 82(1): 134-44.
37. Raymond Chia TW, Dykes GA. Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea Americana*) of three cultivars. *Pharm Biol* 2010; 48(7): 753-6.
38. Rasheed MU, Thajuddin N. Effect of medicinal plants on *Moraxella cattarhalis*. *Asian Pac J Trop Med* 2011; 4(2): 133-6.
39. Lu YC, Chang HS, Peng CF, Lin CH, Chen IS. Secondary metabolites from the unripe pulp of *Persea americana* and their antimycobacterial activities. *Food Chem* 2012; 135(4): 2904-9.
40. Rodríguez-Sánchez DG, Pacheco A, García-Cruz MI, Gutiérrez-Uribe JA, Benavides-Lozano JA, Hernández-Brenes C. Isolation and structure elucidation of avocado seed (*Persea americana*) lipid derivatives that inhibit *Clostridium sporogenes* endospore germination. *J Agric Food Chem* 2013; 61(30): 7403-11.
41. Falodun A, Imieje V, Erharuyi O, Ahomafor J, Jacob MR, Khan SI, et al. Evaluation of three medicinal plant extracts against *Plasmodium falciparum* and selected microorganisms. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2014; 11(4): 142-6.
42. Leite JJ, Brito EH, Cordeiro RA, Brilhante RS, Sidrim JJ, Bertini LM, et al. Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(2): 110-3.
43. Jiménez-Arellanes A, Luna-Herrera J, Ruiz-Nicolás R, Cornejo-Garrido J, Tapia A, Yépez-Mulia L. Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea americana* seeds. *BMC Complement Altern Med*. 2013; 13: 109.
44. Paoletti I, Buommino E, Fusco A, Baudouin C, Msika P, Tufano MA, Baroni A, Donnarumma G. Patented natural avocado sugar modulates the HBD-2 and HBD-3 expression in human keratinocytes through toll-like receptor-2 and ERK/MAPK activation. *Arch Dermatol Res* 2012; 304(8): 619-25.

Antimicrobial Activity of Avocado Leaf Extract in Subjects with Poor Oral Hygiene: an in Vitro Study

Amir Ghasemi¹

Mohammad Ketabi²

Seyed Mohammad Hossein Mirkhani³

1. Dentist, Isfahan, Iran.

2. **Corresponding Author:** Department of periodontics, School of dentistry, Isfahan (Khorasan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email: mohammad_khan206@yahoo.com

3. Postgraduate, Department of Periodontics, School of Dentistry, Isfahan (Khorasan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: It is necessary to search for new antimicrobial agents of herbal origin for control of oral infectious diseases such as dental caries and periodontal diseases. This study assessed the antimicrobial activity of the extract of avocado leaves against oral cavity microorganisms.

Materials In this in vitro study, ethanol extracts of avocado leaves were prepared at 25%, 50%

& Methods: and 100% concentrations. In five patients with poor oral hygiene (O'Leary's plaque index > 60%: color changes of more than 60% of total dental surfaces after chewing disclosing agent tablets), samples of the oral flora were collected with sterile cotton swabs and cultured in tubes containing nutrient broth. The antimicrobial efficacy of avocado leaf extracts and controls (0.12% chlorhexidine and distilled water) was evaluated using disc diffusion method (5 disks for each group) on agar plates. The antimicrobial efficacy was measured in terms of zone of inhibition (mm). Data were analyzed with SPSS 17, using ANOVA and Tukey test (p value < 0.05).

Results: The inhibition zones were 14, 15 and 17.5 mm for 25%, 50% and 100% avocado extracts, respectively (p value < 0.001). The avocado extracts exhibited greater inhibition zone compared to chlorhexidine (9 mm) and distilled water (6 mm) (p value < 0.001).

Conclusion: According to the results of this study, the leaf extracts of avocado have antimicrobial activity against oral pathogens and can be used as an antimicrobial agent in oral hygiene products.

Key words: Chlorhexidine, Microbiota, *Persea Americana*.

Received: 10.7.2018

Revised: 7.10.2018

Accepted: 3.11.2018

How to cite: Ghasemi A, Ketabi M, Mirkhani SMH. Antimicrobial Activity of Avocado Leaf Extract in Subjects with Poor Oral Hygiene: an in Vitro Study. J Isfahan Dent Sch 2018; 14(4): 410-418.