

اداره آموزش و پرورش منطقه یازده شهر تهران



دبیرستان دخترانه نرگس

عنوان

بررسی تاثیر عصاره گیاه قَرْنَفُل برباکتری دهانی استرپتوکوکوس موتانس
(streptococcus mutans)

پژوهشگران پایه دهم

مریم خالوئی نائینی – حنا رجبی

دبیران راهنما

فاطمه هاشمی و مریم شریف

سال تحصیلی ۱۴۰۱-۱۴۰۲





دیرستان دخترانه نرگس

عنوان

بررسی تاثیر عصاره گیاه قَرْنَفُل برباکتری دهانی استرپتوکوکوس موتانس
(streptococcus mutans)

پژوهشگران پایه دهم

مریم خالوئی نائینی – حنا رجبی

دیران راهنما

فاطمه هاشمی و مریم شریف

سال تحصیلی ۱۴۰۱-۱۴۰۲

با عرض ادب به ساحت مقدس حضرت ولی عصر(عج)

تقدیم به:

آنان که در راه ایران از جان گذشتند.

نخست سپاس، بزرگ آفریدگار جهان را که اولین آموزگار عالم است.
با تشکر از آموزگاران عزیزمان خانم ها هاشمی و شریف که در طی
مراحل مختلف این پژوهش همواره ما را یاری نمودند.
و با سپاس از پدر و مادر گرانقدرمان که از خردسالی همواره پشتیبان و
حامی ما در راه رسیدن به اهدافمان بوده اند.

چکیده

مقدمه: پوسیدگی دندان از بیماریهایی است که شیوع بالایی در جهان دارد و بر سلامت عمومی بدن تاثیرگذار است. استفاده از مواد گیاهی برای پیشگیری و درمان این بیماری به دلایل مختلف از جمله افزایش مقاومت باکتریها به آنتی بیوتیک ها، هزینه بالا و اثرات نامطلوب بعضی از مواد شیمیایی استفاده شده در دندانپزشکی مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی تعیین اثر ضد میکروبی عصاره قرنفل بر استرپتوکوکهای موثر در پوسیدگی دندان (اختصاصاً) استرپتوکوکوس موتانس انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی، اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی قرنفل بر روی مهمترین استرپتوکوک عامل پوسیدگی دندان یعنی استرپتوکوکوس موتانس به روش کشت باکتری و امتحان عصاره قرنفل بر روی باکتری کشت شده انجام گردید.

نتیجه گیری: این پژوهش نشان داد عصاره گیاهی قرنفل، اثرات ضد میکروبی مطلوبی بر روی استرپتوکوکوس موتانس دارد.

کلید واژه ها: پوسیدگی دندان، استرپتوکوکوس موتانس، قرنفل

فهرست مطالب

مقدمه.....	۱۰
فصل اول.....	۱۲
بیان مسئله.....	۱۳
اهمیت و ضرورت انجام طرح.....	۱۳
اهداف پژوهش.....	۱۳
فصل دوم.....	۱۴
تاریخچه.....	۱۵
فصل سوم.....	۱۶
پوسیدگی دندان و عوامل موثر بر ایجاد آن.....	۱۷
استرپتوکوکوس موتانس.....	۲۰
فصل چهارم.....	۲۱
قرنفل و نحوه عصاره گیری آن.....	۲۲
فصل پنجم.....	۲۴
نحوه انجام پژوهش.....	۲۵

۲۶..... **فصل ششم**

۲۷..... روش بررسی

۲۹..... **فصل هفتم**

۳۰..... نتیجه گیری

۳۱..... **واژه نامه**

۳۲..... **منابع**

۳۴..... **پیوست**

مقدمه:

پوسیدگی دندان یکی از بیماریهای عفونی رایج در میان انسانهاست که بخصوص در بین کسانی که موقعیت اجتماعی و اقتصادی پایینی دارند بیشتر است. استرپتوکوکوس موتانس به عنوان عامل اصلی پوسیدگی دندان در انسان در نظر گرفته میشود. این باکتری رایج ترین پاتوژنی^۱ است که از پلاک دندان انسان جدا می شود.

مواد شیمیایی گوناگونی برای پیشگیری و درمان پوسیدگی دندان به صورت تجاری در دسترس هستند اما اینها میتوانند باعث تغییر میکروبیوم^۲ دهان شوند و عوارض ناخواسته ای مانند اسهال، استفراغ و تغییر رنگ دندانها را ایجاد کنند. (۸)

با توجه به مواردی که عنوان گردید استفاده از ترکیبات طبیعی به خصوص گیاهان برای پیشگیری، کنترل و درمان پوسیدگی دندان مد نظر قرار گرفته است.

گیاه درمانی از زمانهای گذشته برای درمان بیماریهای گوناگون به ویژه بیماریهای عفونی مورد توجه بسیار بوده است. درحال حاضر نیز توجه جهانی به سمت داروهای گیاهی و فاصله گرفتن از داروهای شیمیایی است. مطالعات فراوانی نیز در حوزه دندانپزشکی برای مقابله با پوسیدگی دندان با استفاده از مواد طبیعی و گیاهان دارویی مختلف و جداسازی عصاره های آنها انجام شده و در حال انجام است. (۲۵)

برخی مطالعات نشان داده اند که گیاهان حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی^۳ مانند فلاونوئیدها و دیگر پلی فنولها، ترپنها، آلکالوئیدها و قندهای الکلی مانند زایلیتول، دارای فعالیت ضد میکروبی علیه میکروبیهای دهانی میباشند و همین موضوع ما را بر آن داشت که بر روی تاثیری که عصاره گیاهان بر استرپتوکوک های موثر در پوسیدگی دندان ها دارند تحقیق نماییم و به این منظور و با توجه به پیشینه گیاه قرنفل در بهداشت دهان در گذشته های دور این پژوهش بر روی تاثیر این گیاه بر پوسیدگی دندان انجام گردید. (۶)

قرنفل گیاهی است گرم و خشک ازراسته میخکسانان که گل های کوچک، مخملی با پنج گلبرگ و به رنگ های صورتی، سفید، قرمز، بنفش و مخلوط سفید و قرمز دارد. خاستگاه این گل مناطق جنوب اروپا و

^۱ عامل بیماریزا

^۲ جامعه میکروبی

^۳ ترکیبات فعال زیستی که در گیاهان یافت می شوند و خاصیت محافظتی ضد میکروبی دارند.

روسیه و شرق آسیاست این گیاه در هندوستان بسیار معروف و مورد استفاده است و در آنجا آن را به نام گل گوش می شناسند زیرا زنان هندی آن را در سوراخ گوشواره گوش هایشان فرو می کردند تا بسته نشود. در زمان قدیم این گیاه به عنوان خوشبو کننده دهان مصرف بسیار داشته آنچنان که شاعر پرآوازه هندی بیدل دهلوی در یکی از اشعار خود این گونه می سراید:

یارم هرگاه در سخن می آید بویی عجبش از دهان می آید
این بوی قرنفل است یا نکهت گل یا رایحه مشک ختن می آید

این مقاله اختصاصاً بر تاثیر عصاره گیاه قرنفل بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس که عامل اصلی پوسیدگی دندان است می پردازد.

فصل اول

بیان مسئله

بیماری های دهان و دندان نیز مانند سایر بیماری ها از قرن ها قبل، باعث آزار بشر بوده و انسان ها همواره به دنبال راهکار هایی برای رهایی از پوسیدگی و درد دندان بوده اند. دندان های درمان شده را در مومیایی های مصری ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح نیز مشاهده گردیده است.

اهمیت و ضرورت انجام طرح

پوسیدگی دندان، یکی از شایع ترین بیماری های مزمن و عفونی است که هر شخصی می تواند به آن مبتلا شود. این بیماری علاوه بر تحمیل هزینه های سنگین درمانی بر دوش افراد می تواند عوارض بسیاری برای شخص دچار عارضه دندان به همراه داشته باشد از جمله عوارض پوسیدگی های دندان درمان نشده می توان به درد، بی خوابی، مشکلات تغذیه ای، دشواری در صحبت کردن، از دست رفتن زمان مفید برای انجام کار، تفریح یا استراحت، کاهش کیفیت زندگی، تهدید سلامت عمومی بدن و از دست دادن دندان اشاره کرد.

بنابراین پیشگیری از پوسیدگی های دندان و توقف و یا کاهش سرعت پیشرفت آن ها، از اهمیت بالایی برخوردار است.

اهداف پژوهش

اهداف انجام این پژوهش به شرح زیر می باشد:

۱- آشنایی با اصلی ترین باکتری ایجادکننده پوسیدگی دندان

۲- عوامل موثر بر بوجود آمدن پوسیدگی

۳- تاثیر قرنفل بر پیشگیری از پوسیدگی دندان

۴- عوامل کلی و موثر در پیشگیری از پوسیدگی دندان

فصل دوم

تاریخچه:

درباره تاثیرات عصاره های گیاهی بر استرپتوکوکوس موتانس تحقیقات زیادی انجام گرفته که از آنها می توان به موارد ذیل اشاره نمود:

در مطالعه ای که توسط دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شهید بهشتی در سال ۱۳۹۶ بر روی باکتری های موثر در پوسیدگی دندان انجام گرفت اثر عصاره سه گیاه میخک، دارچین و تخم کتان بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس مورد بررسی قرار گرفت که در این میان تنها اثرات ضد باکتریایی گیاه میخک تایید گردید و بر اساس نتایج دست یافته در این پژوهش مشخص شد که به ترتیب عصاره گیاه میخک بیشترین تاثیر و تخم کتان کمترین تاثیر را بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارند.

در مطالعه مشابه دیگری که توسط دانشکده دندانپزشکی دانشگاه تهران بر روی تاثیر ده گیاه آویشن، میخک، اسطوخودوس، پوست انار، مازو، بادرنبویه، رزماری، گل انار، گلپر، هلیله سیاه بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس انجام گردید نتایج حاصله نشان داد که عصاره آویشن، مازو، میخک، هلیله سیاه و پوست انار دارای اثرات قابل توجه ضد باکتری هستند.

در مطالعه مشترک انجام شده توسط دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه علوم پزشکی مشهد تاثیر عصاره گیاه مریم گلی بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس بررسی گردید و طبق گزارش محققین این دو دانشگاه گیاه مریم گلی تاثیر ضد باکتریایی خوبی بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارد.

فصل سوم

پوسیدگی دندان و عوامل موثر بر ایجاد آن:

پوسیدگی دندان یک بیماری میکروبی بافت دندان بوده که با از دست رفتن مواد معدنی و تخریب ساختار غیر معدنی دندان مشخص میشود. در عبارتی علمی تر، پوسیدگی دمنرالیزاسیون قسمتهای غیرارگانیک (معدنی) و تخریب ماده ارگانیک (آلی) دندان میباشد.

پوسیدگی های دندان به طورمستقیم با شیوه زندگی ، عاداتهای غذایی ، میزان مراقبتهای بهداشتی از دهان و دندان ،وجود فلوراید در آب وخمیر دندان و... بستگی دارد. البته به مقدار کمتری، توارث نیز در مستعد بودن دندان به پوسیدگی موثر است. در یک دهان تمیز ، بلافاصله پس از مسواک زدن یک لایه پوششی نازک میکروسکوپی که منشاء آن پروتئینهای موجود در بزاق می باشد، بر روی دندانها ایجاد می شود.

بلافاصله پس از ایجاد این لایه، میکروارگانیسمها روی آن چسبیده و بر روی دندان ایجاد پلاک می نمایند. در این مرحله، pH دهان حدود ۶٫۲ تا ۷٫۰ است . اگر pH دهان به زیر ۵٫۵ برسد ، مینای دندان قسمتی از مواد معدنی خود را از دست می دهد و آمادگی برای شکسته شدن و تخریب پیدا می کند. اگر pH خیلی پائین بیاید، حتی پالپ یا مغز دندان نیز دچار آسیب می شود. خوردن غذا های شیرین به علت وجود قندهای هیدروکربنی در داخل ساختار خود می تواند تحت تاثیر آنزیمهای موجود در بزاق تولید اسید کرده و pH دهان را پایین بیاورد که اصطلاحا به این گونه مواد قندی، کربوهیدراتهای قابل تخمیر گفته می شود.

علاوه بر تاثیر آنزیمها بر کربوهیدراتها، باکتریهای موجود در دهان نیز به مواد قندی علاقه داشته و در نتیجه فعالیت آنها نیز تولید اسید را دو چندان کرده و این تولید اسید بیشتر به معنای تخریب سریعتر دندان هاست.

طبق نوشته هایی که از سومری های در عصر باستان بدست آمده، طبیبان در آن زمان علت دندان درد را کرم هایی میدانستند که خون دندان را می آشامیدند که اصطلاح "کرم خوردگی دندان" از آنجا نشأت می گیرد.

بیماری های دهان و دندان مانند سایر بیماری ها از قرن ها قبل باعث آزار بشر بوده وانسان ها همواره به دنبال راهکارهایی برای رهایی از این بیماری ها بوده است. دندان های درمان شده در مومیایی های مصری ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح نیز مشاهده گردیده است.

پوسیدگی دندان، یکی از شایع ترین بیماریهای مزمن و عفونی است که هر شخصی می تواند به آن مبتلا شود. این بیماری علاوه بر نحلیل هزینه های سنگین درمانی بر دوش افراد میتواند عوارض

بسیاری برای شخص دچار عارضه دندانی به همراه داشته باشد از جمله عوارض پوسیدگی های دندانی درمان نشده می توان به درد، بی خوابی، مشکلات تغذیه ای، دشواری در صحبت کردن، از دست رفتن زمان مفید برای انجام کار، تفریح یا استراحت و کاهش کیفیت زندگی، تهدید سلامت عمومی بدن و از دست دادن دندان اشاره کرد.

بنابراین پیشگیری از پوسیدگی های دندانی و توقف و یا کاهش سرعت پیشرفت آن ها، از اهمیت بالایی برخوردار است.

فعالیت های سازمان یافته برای مراقبت های دندانپزشکی و پیشگیری از بیماری های دهان و دندان در سال های آخر قرن نوزدهم آغاز شد و بین سالهای ۱۹۵۰-۱۹۲۰ پیشرفت های چشمگیری در حیطه دندانپزشکی و بخصوص دندانپزشکی پیشگیری در کشورهای پیشرفته حاصل گردید و بدین ترتیب بسیاری از عوامل ایجاد کننده پوسیدگی شناسایی شدند. نقش ویتامین ها بخصوص ویتامین های C و D و سایر عوامل تغذیه ای در سلامت دهان و دندان ها تعیین گردید و اثر فلوراید در پیشگیری از بیماری های دهان و دندان به اثبات رسید.

بعد از سال ۱۹۵۰ عصر جدیدی در دندانپزشکی تحت عنوان دندانپزشکی اجتماعی آغاز شد. صاحب نظران به این نتیجه رسیدند که راه حل مشکل دهان و دندان جامعه به جای درمان در پیشگیری از آن ها است و در بسیاری از کشورها روی اضافه کردن فلوراید به آب آشامیدنی برنامه ریزی شد. در واقع دندانپزشکی اجتماعی شاخه و دیدگاه خاصی در دندانپزشکی است که بر ارائه جامع مراقبت های بهداشتی دهان و دندان به توده جامعه دلالت دارد. به طوری که این مراقبت ها سبب ارتقاء سلامت دهان و دندان در جامعه گردد.

امروزه در کشورهای پیشرفته، دیگر بحث اصلی روی پیشگیری از بیماری های عفونی دهان مثل پوسیدگی و بیماری های لثه نیست و جایگاه و اهمیت تحقیقات کاربردی مبتنی بر نیاز در این کشورها به خوبی روشن شده است. طبق گزارش NIDR^۴ تحقیقات این موسسه سبب کاهش قابل توجهی در هزینه های دندانپزشکی در آمریکا گردیده به طوری که از سال ۱۹۹۰ به بعد هر ساله ۳-۴ میلیون دلار در هزینه های دندانپزشکی صرفه جویی شده است. این مبلغ برابر با تمام هزینه هایی است که در طی ۴۸ سال (۱۹۹۴-۱۹۴۶) برای تحقیقات در NIDR صرف گردیده است.

^۴ National Institute of Dental Research

بیماری های دهان و دندان به خصوص پوسیدگی و بیماری های پریودنتال (عفونت لثه ها و بافت های محافظ دندان ها) ازجمله شایعترین بیماری های مردم دنیا هستند.

پوسیدگی دندان، بیماری باکتریایی قسمت سخت دندان است که از طریق املاح زدایی و تخریب بافت دندان ایجاد می شود. عوامل ایجاد کننده پوسیدگی دندان نیز مانند بیماری های عفونی دیگر در مثلث اپیدمیولوژیک ، قابل طبقه بندی هستند به طوری که می توان آن ها را به سه دسته عوامل مربوط به میزبان عوامل محیطی و میکروارگانیسم ها طبقه بندی نمود.

باکتری استرپتوکوکوس موتانس:

پوسیدگی دندان که به واسطه ی آن بافت های معدنی دندان حل و تجزیه می شوند یک بیماری عفونی میکروبی دندان است، بررسی باکتریایی پوسیدگی دندان تاریخچه ای طولانی دارد. در سال ۱۸۸۲ میلر تئوری معروف اسیدوژنیک را عنوان کرد که طبق این تئوری اسید ناشی از متابولیسم میکروارگانیسم های داخل پلاک میکروبی باعث تحلیل و تخریب قسمت های آهکی مینا و عاج دندان می شود و در نتیجه ی آن قسمت های آلی ساختمان دندان نیز تخریب می می گردد.

یکی از عوامل مهم تشکیل پلاک و فساد دندانی بعضی گونه های استرپتوکوک از جمله استرپتوکوک موتانس است استرپتوکوک موتانس، یک کوکسی گرم مثبت و بی هوازی اختیاری است که مقیم حفره دهانی انسان است، این باکتری، مهم ترین عامل پوسیدگی دندان است.

باکتری های گرم مثبت آن دسته از باکتری ها هستند که در برابر رنگ آمیزی واکنش مثبتی دارند؛ آن ها با جذب کریستال ویوله به رنگ آبی تیره و بنفش دیده می شوند. دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت برعکس باکتری های گرم منفی فاقد غشای خارجی است. در باکتری های گرم مثبت به سختی و با حرارت رنگ آمیزی صورت می گیرد اما پس از رنگ آمیزی رنگ خود را به سختی از دست می دهند.

تاکنون ۲۵ گونه از استرپتوکوک های دهانی کشف شده اند که هر یک از این گونه ها، جایگاه های خاصی را دهان را اشغال می کنند. اما موثرترین عامل پوسیدگی و آسیب به دندان ها استرپتوکوکوس موتانس می باشد. استرپتوکوک موتانس میتواند در سطوح مخاط دهان و در معرض جریان بزاق، با تشکیل کلونی و تکثیر بصورت یکنواخت، پایدار بماند.

میزان بالای استرپتوکوک موتانس، فرد را در گروه پرخطر قرار میدهد که این گروهها براساس میزان استرپتوکوک موتانس، در هر کشور و هر نژادی متفاوت است. استرپتوکوک موتانس مهم ترین و نخستین میکرو ارگانیسمی است که پوسیدگی زایی آن به اثبات رسیده که با تولید اسید لاکتیک موجب از بین رفتن مینای دندان می شود.

فصل چہارم

قرنفل و نحوه تهیه عصاره الکلی آن:

قرنفل گیاهی است گرم و خشک از راسته میخک‌سانان که گل‌های کوچک، مخملی با پنج گلبرگ و به رنگ‌های صورتی، سفید، قرمز، بنفش و مخلوط سفید و قرمز دارد. خاستگاه این گل مناطق جنوب اروپا و روسیه و شرق آسیاست این گیاه در هندوستان بسیار معروف و مورد استفاده است و در آنجا به نام گل گوش معروف است زیرا زنان هندی آن را در سوراخ گوش‌هایشان فرو می‌کردند تا بسته نشود. در زمان قدیم این گیاه به عنوان خوشبو کننده دهان مصرف بسیار داشته آنچنان که شاعر پرآوازه هندی بیدل دهلوی در یکی از اشعار خود این گونه می‌سراید:

یارم هرگاه در سخن می‌آید بویی عجیبش از دهان می‌آید

این بوی قرنفل است یا نکهت گل یا رایحه مشک ختن می‌آید



گل قرنفل بومی نواحی معتدل اروپا است و در ایران این گل بیشتر در لاهیجان، رشت، تهران، کرج و مناطق مرکزی کشور تحت کشت بوده و از پراکندگی مناسب تری برخوردار است امروزه کشت این گل در سایر مناطق کشور به دلیل داشتن کاربردهای متنوع زینتی و دارویی روبه افزایش است.

این گل همچنین به دلیل داشتن رنگ جذاب و عطر دلپذیر در باغهای پروانه و در جهت جذب پروانه‌ها و در مزارع محدود، جهت تولید عسل نیز کشت می‌گردد. امکان استفاده از برگها، ساقه و گل قرنفل به دلیل داشتن ترکیبات دارویی در درمان برخی بیماریها ممکن می‌باشد. تحقیقات نشان داده که گل

قرنفل خاصیت ضد درد و التهاب دارند، همچنین علاوه بر استفاده گسترده قرنفل در هند برای بیماری ها و التهابات مربوط به لثه و دندان ها، این گیاه در طب سنتی برخی کشورها همچون ترکیه نیز جهت درمان شکم درد استفاده می گردد.

عصاره بذر این گیاه خاصیت ضد ویروسی داشته و از برگ های آن پروتئینی به نام دیانتین استخراج میگردد که خاصیت بازدارندگی فعالیت در برخی باکتریها همچون اشرشیا کلای را دارد.

نحوه عصاره گیری این گیاه به اینصورت انجام گردید که پودر گیاه قرنفل از عطاری بصورت آماده تهیه و سپس در شرایط استریل آزمایشگاهی مقدار ۱ گرم از آن با ۱۰ سی سی الکل بطور کامل مخلوط گردید سپس دور ظرف با فویل آلومینیومی پوشانده شد که عصاره از نور محافظت شود و پس از آن عصاره قرنفل داخل یخچال نگهداری گردید.

فصل پنجم

نحوه انجام پژوهش:

این پژوهش پس از بررسی و تحقیق درباره پوسیدگی دندان و باکتری موثر در ایجاد آن یعنی استرپتوکوکوس موتانس و عصاره گیاه قرنفل که می توانست بر پیشگیری از پوسیدگی دندان تاثیر داشته باشند بصورت عملی انجام گردید.

برای انجام این آزمایش محیط کشت نوترینت آگار تهیه گردید و سوش باکتری استرپتوکوکوس موتانس تهیه شده (ATCC ۳۵۱۶۸ و PTCC ۱۶۸۳، مرکز پژوهش های علمی - صنعتی ایران) در آن پرورش داده شد و عصاره گیاه قرنفل بر روی آن امتحان گردید، با توجه به بررسی های به عمل آمده و خواص کم نظیر درمانی قرنفل انتظار می رفت که این گیاه تاثیر به سزایی در از بین بردن استرپتوکوکوس موتانس و در نتیجه پیشگیری از پوسیدگی دندان داشته باشند.

فصل ششم

روش بررسی:

وسائل و مواد مورد نیاز این پژوهش به شرح ذیل می باشد:

- | | |
|---|--------------------|
| (۱) محیط کشت باکتری | (۷) همزن |
| (۲) باکتری استرپتوکوکوس موتانس (ATCC ۲۵۱۷۵) | (۸) فویل |
| (۳) اتوکلاو ^۵ | (۹) ظرف پتری دردار |
| (۴) انکوباتور | (۱۰) چراغ بونزن |
| (۵) ارلن | (۱۱) سوآب |
| (۶) آب مقطر | (۱۲) الکل |
| | (۱۳) ترازو |

قبل از شروع کار، محیط آزمایشگاه را با استفاده از چراغ بونزن استریل نموده و میز کار را با الکل کامل تمیز می نمایم سپس درون یک ارلن با توجه به دستورالعمل نوشته شده روی ظرف محیط کشت به مقدار لازم محیط کشت تهیه کرده و هم زدن محلول را تا حل شدن کامل پودر در آب ادامه می دهیم. در ارلن را با فویل آلومینیومی کاملاً مسدود کرده و محیط کشت تهیه شده را در اتوکلاو سترون^۶ می کنیم.

سه عدد ظرف پتری را در اتوکلاو، سترون می کنیم، سپس آنها را تا دو سوم ارتفاع ظرف از محیط کشت آماده شده پر می کنیم و در آنها را می بندیم تا به حالت جامد درآیند. البته لازم به ذکر است که به دلیل مجهز نبودن آزمایشگاه دبیرستان به دستگاه اتوکلاو، محیط کشت نوترینت آگار در پتری دیش های یکبار مصرف بصورت آماده خریداری گردید (شکل ۶-۱).

^۵ دستگاهی برای استریل نمودن تجهیزات پزشکی و آزمایشگاهی

^۶ فرآیند استریلیزاسیون

در یکی از ظروف را برداشته و سوآپ پنبه دار را وارد ظرف محتوی باکتری کرده و با احتیاط کامل به باکتری استرپتوکوکوس موتانس (ATCC ۳۵۶۱۸ و PTCC ۱۶۸۳، مرکز پژوهش های علمی - صنعتی ایران) آغشته نموده و آرام و بصورت زیگزاگ بر روی محیط کشت کشیده و بلافاصله در ظرف را بسته و درز آن را به طور کامل با چسب نواری مسدود نمودیم. همین کار را برای بقیه ظروف باقیمانده نیز تکرار گردید (شکل ۶-۲).

پس از انجام این مراحل ظروف پتری حاوی باکتری در انکوباتور با دمای حدود ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته نگهداری شد تا باکتری ها در محیطی مناسب رشد نمایند، در طول این مدت در ظروف به هیچ عنوان نباید باز گردد. پس از مدت مورد نظر مشاهده گردید که باکتری ها به نحو قابل توجهی تکثیر یافتند (شکل ۶-۳).

پس از اتمام یک هفته و تکثیر باکتری استرپتوکوکوس موتانس، باکتری های ظروف نمونه با عصاره قرنفل آغشته گردیدند، به این ترتیب که ابتدا توسط یک سوزن استریل سوراخی روی کلونی باکتری ها ایجاد گردید و سپس عصاره قرنفل با قطره چکان داخل سوراخ ایجاد شده ریخته و در ظرف کاملاً بسته شد تا نتیجه تاثیر عصاره قرنفل بر روی باکتری مولد پوسیدگی بررسی گردد.

پس از آن به وضوح مشخص گردید گیاه قرنفل تاثیر بسزایی در متوقف کردن رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارد. (شکل ۶-۴) موضوع جالب توجه این بود که عصاره قرنفل علاوه بر توقف رشد باکتری اقدام به از بین بردن آن ها نیز نموده بود همچنین هاله عدم رشد قرنفل برای استرپتوکوکوس موتانس به قطر ۱۸ میلی متر تشکیل گردید.

بعد از مشاهده نتایج، محیط های کشت را مدتی در الکل قرار داده و در صورت یکبار مصرف بودن، آن ها با ظرف در کیسه انداخته، کیسه را گره زده و دور می ریزیم اما در صورت استفاده از پتری دیش های شیشه ای پس از قرار دادن محیط های کشت در الکل آن ها را با استفاده از دستکش و کارد از ظروف جدا کرده و در یک نایلون میگذاریم، سپس کیسه را گره زده و دور انداخته و کارد و دست هایمان را ضد عفونی می کنیم.

همچنین به منظور تکمیل تحقیقات و صحت نتیجه یافت شده و تعیین دز مناسب، تست کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC^۷) قرنفل نیز بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس انجام گردید.

^۷ Minimum Inhibitory Concentration

فصل هفتم

نتیجه گیری

با توجه به تأثیر ضد میکروبی بالای گیاه قرنفل بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس و به تبع آن بر پوسیدگی دندان و به منظور ارائه ی راهکاری کم هزینه و با کم ترین عوارض جانبی برای پیشگیری از پوسیدگی دندان پیشنهاد می گردد شرکت های دانش بنیان با مشورت دندانپزشک از این گیاه برای تولید قرص مکیدنی یا دهان شویه جهت پیشگیری از پوسیدگی دندانها و حتی توقف پوسیدگی دندان استفاده نمایند.

بدیهی است که استفاده از عصاره گیاه قرنفل به عنوان گیاهی آنتی باکتریال نیازمند انجام پژوهش های تخصصی بیشتر جهت تکمیل مطالعه ی حاضر در این زمینه می باشد.

لازم به ذکر است که استفاده از گیاه قرنفل ، نیاز به رعایت بهداشت دهان و دندان را کاهش نمی دهد و در هر صورت اساسی ترین روش پیشگیری از پوسیدگی دندان ها مسواک زدن و رعایت بهداشت کامل دهان و دندان می باشد.

واژه نامه:

- **فلاونوئید:** ترکیبات ضد میکروبی گیاهی که خاصیت ضدآنتی اکسیدانی دارند.
- **پلی فنول:** ترکیبات گیاهی آنتی اکسیدان
- **ترپن:** دسته ای از مواد آلی گیاهی
- **آلکالوئید:** گروه بزرگی از ترکیبات طبیعی و مهمترین فراورده متابولیسم ثانویه گیاه که مهمترین وظیفه آن حفاظت از گیاه است.
- **قند الکلی:** ترکیبی از مولکول های قند و الکل هستند که در واقع هیچ نوع الکلی ندارند و در میوه ها و سبزیجات یافت می شوند.

منابع:

- ۱- مقاله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، تاثیر گیاه استویا بر استرپتوکوکوس موتانس آقایی فاطمه ، بهار ۱۳۹۳
- ۲- مجله علمی زیستی و شیمی ایران، دومین کنفرانس علمی نوآوری و فناوری، ابریشم چی پروانه، ذاکر آرزو، پرسا حسن، ۱۱ تیر ۱۳۹۹، خاصیت ضد باکتری گیاه مریم گلی بر باکتری های دهانی
- ۳- مقاله دانشکده دندانپزشکی قزوین، بررسی تاثیر عصاره گل انار بر پوسیدگی دندان، دکتر اسلامی مریم ، ۱۳۹۸
- ۴- مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز، بررسی و مقایسه عوامل موثر بر پوسیدگی دندان، بصیر لایلا، تیر ۱۳۹۹
- ۵- مجله دندانپزشکی دانشگاه مشهد، بررسی تاثیر آموزش بر پیشگیری از پوسیدگی دندان، پیمان نوشین شماره ۲، ۱۳۹۴
- ۶- مقاله تحقیقاتی مجله علمی کشاورزی، رشد باکتری در محیط کشت، حسن پوراقدم، ۲۰۰۸
- ۷- مقاله پژوهشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه تهران، دکتر حقیقتی فریده، دکتر جعفری شهین، دکتر بیت الهی جلیل، پاییز ۸۲، دوره ششم، شماره سوم، تاثیر ده عصاره گیاهی بر پوسیدگی دندان
- ۸- مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان بر پوسیدگی دندان، دوره ۱۷، خالدی منصور ، ۱۳۹۴
- ۹- کتاب جامع بهداشت عمومی، تاریخچه پوسیدگی دندان، دکتر شریعتی بتول
- ۱۰- مجله دندانپزشکی دانشگاه مشهد، تاثیر چای سبز بز بیماری های دندان، طحانی بهاره – مستاجران احسان ، شماره ۲، ۱۳۹۳
- ۱۱- پایان نامه مربوط به بخش پروتز متحرک دانشکده دندانپزشکی شهید بهشتی، علی محمدی مهشاد، بررسی اثرات ضد باکتریایی میخک، دارچین، تخم کتان، ۱۳۹۶
- ۱۲- مجله علوم آزمایشگاهی، دوره چهارم (شماره ۲)، پاییز و زمستان ۱۳۸۹، فاطمی مطلق محمد، تست MIC
- ۱۳- مجله فرآیند و کارگرد گیاهی، تاثیر تنش اسمزی بر گیاه قرنفل، مشعشعی عابدین ، ۱۳۹۷
- ۱۴- مقاله فرآوری گیاهان معطر دانشگاه شهید بهشتی، نحوه کاشت گیاهان معطر، دکتر نجفی، ۲۰۱۱

- ۱۵- مقاله مجله تحقیقات دارویی، تاثیر داروهای گیاهی بر پوسیدگی دندان، نیکاور امین، ۲۰۰۳
- ۱۶- مقاله مجله سلامت دهان، تاثیر استرپتوکوکوس موتانس بر پوسیدگی دندان، هایاشی اودا، ۲۰۱۵
- ۱۷- مجله سلامت دندان در جامعه، پوسیدگی دندان در کودکان و بزرگسالان، دکتر هریس نیکول، ۲۰۰۴
- ۱۸- مجله علوم بهداشتی الزویر فیلا دلفیا، پوسیدگی دندان، ۲۰۱۹
- ۱۹- مجله انجمن گیاهان دارویی، تاریخچه استفاده از قرنفل در درمان بیماری ها، ۱۳۹۲
- ۲۰- مجله بین المللی دندانپزشکی کودکان، پوسیدگی دندان در کودکان، ۲۰۱۵
- ۲۱- مجله تحقیق در علوم دندانپزشکی، پوسیدگی دندان، دوره هجدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۰
- ۲۲- مقاله مجله پژوهشی بهداشت دندان، تاثیر استرپتوکوکوس موتانس بر پوسیدگی دندان بین سایر باکتری های دهانی، ۱۹۹۶
- ۲۳- مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، رابطه پوسیدگی دندان با عوامل اقتصادی-اجتماعی، شماره ۴، ۱۳۹۱
- ۲۴- مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه تهران، بررسی نقش استرپتوکوکوس موتانس در ایجاد پوسیدگی دندان، شماره ۶، ۱۳۹۱
- ۲۵- مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تاثیر عصاره فلفل دلمه ای قرمز و بادمجان بر پوسیدگی دندان، شماره ۱، ۱۳۹۶
- ۲۶- مجله دندانپزشکی انگلستان، پوسیدگی دندان و تاثیر باکتری ها بر آن، ۱۹۹۹
- ۲۷- مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، قرنفل و تاثیرات آن، جلد ۷، ۱۳۹۷

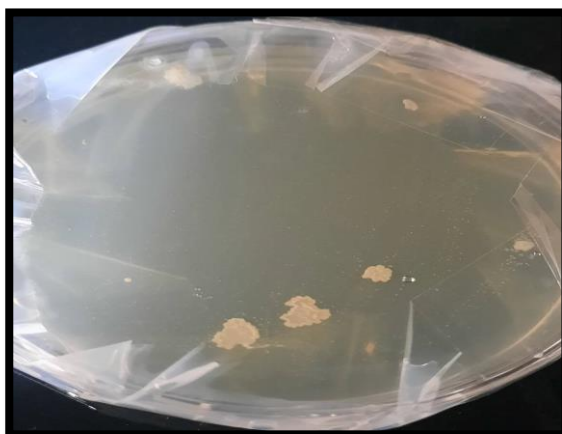
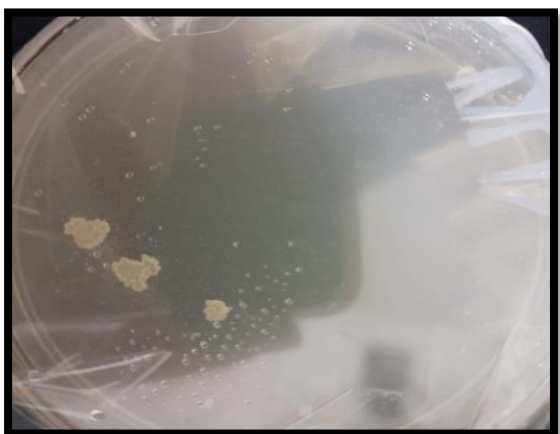
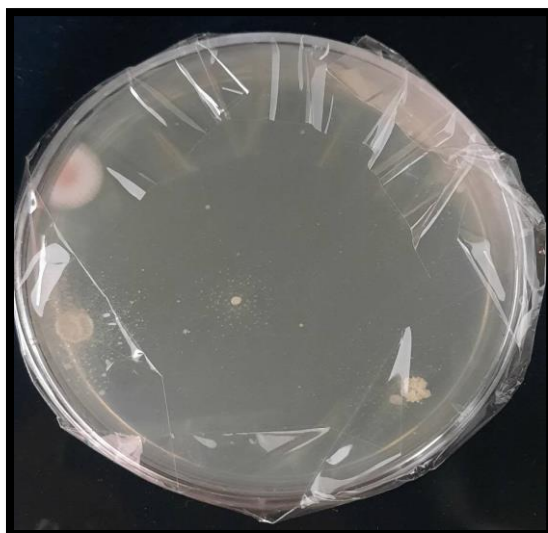
پیوست:



شکل ۶-۱ (ظروف کشت آماده)



شکل ۶-۲ (باکتری استرپتوکوکوس موتانس کشت داده شده)



شکل ۶-۳) باکتری استرپتوکوکوس موتانس کشت یافته و تکثیر شده)



شکل ۶-۴) تاثیر مثبت قرنفل بر توقف رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس)