

بررسی مقایسه اثر عصاره اتانولی سیاه دانه و کلرگزیدین بر روی استرپتوکوکوس موتانس در شرایط آزمایشگاهی

دکتر هانیه جدیدی^۱، دکتر سید عباس علینژادبریجانی^۲، دکتر پیوند معینی^۳، دکتر سپیده مجذوبی^{۴*}

۱-دستیار تخصصی کودکان، گروه کودکان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

۲-دندانپزشک عمومی

۳-متخصص دندانپزشکی کودکان

۴-استادیار، گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۹/۳ اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۱۱/۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۱۱

Comparing the Effects of black seed ethanol extract and chlorhexidine on *Streptococcus mutans* in laboratory conditions

Hanieh Jadidi¹, Seyyed abbas Alinezhadberijani², Peyvand Moeini², Sepideh Majzoubi^{4*}

1-Post Graduated Student, Pediatric Dentistry, Department of Pediatric Dentistry Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Dentist

3- Specialist in Pediatric Dentistry

4- Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: Nov 2024 ; Accepted: Feb 2025

Abstract

Background and Aim: *Streptococcus mutans* is a key contributor to dental caries. Herbal compounds are increasingly explored as alternatives to chemical drugs with fewer side effects. This study compared the effect of ethanolic black seed extract and chlorhexidine on *S. mutans* under laboratory conditions.

Materials and Methods: *Streptococcus mutans* (PTCC1687) was obtained and the ethanolic black seed extract prepared by soaking in ethanol. The disk diffusion method on Mueller-Hinton agar was used to evaluate antibacterial activity at extract concentrations ranging from 0.09% to 50%. The diameter of inhibition zones was measured, and MIC/MBC values were determined using Microdilution and Macrodilution methods. Each experiment was repeated three times. Statistical analysis was performed using the T-test in SPSS software version 25.

Results: The mean inhibition zone for the black seed extract was 16 mm, whereas chlorhexidine produced a 20 mm zone. For black seed extract, the MIC was 12.5 mg/ml and the MBC was 25 mg/ml. For chlorhexidine, these values were 0.6 mg/ml (MIC) and 1.2 mg/ml (MBC). The T-test showed a significant difference ($P < 0.05$) in inhibition zone diameters between the black seed extract and chlorhexidine.

Conclusion: Ethanolic black seed extract displayed a positive inhibitory effect on *S. mutans* but was less effective than chlorhexidine. Further research may focus on optimizing black seed extract's antimicrobial properties to provide a viable natural alternative in oral health applications.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Microbial Sensitivity Tests, *Nigella sativa*, chlorhexidine

*Corresponding Author: majzoubi@gmail.com

J Res Dent Sci. 2025; 22(1): 10-17

خلاصه:

سابقه و هدف: میکروارگانیسم‌های متعددی در تشکیل پلاک میکروبی دهان مشارکت دارند و استرپتوکوکوس موتانس یکی از عوامل مهم در پوسیدگی‌های دندانی است. از دیرباز، استفاده از ترکیبات گیاهی برای کاهش آلودگی‌های حفره دهانی مورد توجه بوده است. هدف پژوهش حاضر، ارزیابی مقایسه‌ای اثر عصاره اتانولی سیاه‌دانه و کلرهگزیدین بر استرپتوکوکوس موتانس در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه که به صورت تجربی بر روی سویه استاندارد استرپتوکوکوس موتانس (PTCC1687) انجام شد. عصاره اتانولی سیاه‌دانه به روش خیساندن در اتانول تهیه و خواص ضدباکتریایی آن با روش دیسک‌گذاری در محیط مولر هینتون آگار بررسی گردید. رقت‌های ۰.۰۹ تا ۵۰ درصد عصاره بر باکتری اعمال و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با روش‌های Microdilution broth و Macrodilution broth تعیین گردید. داده‌های به‌دست‌آمده با آزمون T و نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین قطر هاله عدم رشد برای عصاره اتانولی سیاه‌دانه و کلرهگزیدین به ترتیب ۱۶ و ۲۰ میلی‌متر گزارش شد. براساس نتایج آزمون رقیق‌سازی، عصاره سیاه‌دانه در غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر حداقل اثر مهارکنندگی و در غلظت ۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر حداقل اثر کشندگی باکتری را نشان داد. در مقابل، MIC و MBC کلرهگزیدین به ترتیب ۰/۶ و ۱/۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. آزمون T بیانگر تفاوت معنادار میان قطر هاله عدم رشد سیاه‌دانه و کلرهگزیدین بود. ($P < 0.05$)

نتیجه‌گیری: عصاره اتانولی سیاه‌دانه اثر مهاری مثبتی بر استرپتوکوکوس موتانس دارد، اگرچه فعالیت ضد میکروبی آن در مقایسه با کلرهگزیدین محدودتر است.

کلید واژه‌ها: استرپتوکوکوس موتانس، تست‌های حساسیت میکروبی، سیاه‌دانه، کلرهگزیدین

مقدمه:

پوسیدگی دندانی شایع‌ترین بیماری مزمن دوران کودکی است.^(۱) و شیوع آن ۵ برابر آسم است.^(۲) پوسیدگی یک بیماری با واسطه بیوفیلم، چند عاملی و پیش‌رونده است که با مصرف مکرر کربوهیدرات‌های تخمیر شونده و تولید اسیدهای آلی منجر به تخریب ساختارهای دندان می‌شوند.^(۳) باکتری استرپتوکوکوس موتانس (*Streptococcus mutans*) در گروه استرپتوکوک ویریدانس قرار گرفته است و در پوسیدگی نقش به‌سزایی دارد، این باکتری با تخمیر سوکروز و تولید اسید لاکتیک موجب صدمه به مینای دندان می‌شود.^(۴) شیوع موتانس در کودکان دارای ضایعات فعال پوسیدگی ۶۰ درصد و در کودکان فاقد پوسیدگی ۳۰ درصد گزارش شده است.^(۵) یکی از روش‌های پیشگیری از پوسیدگی‌های دندانی استفاده از دهان شویه‌های آنتی‌باکتریال مانند کلرهگزیدین است و با توجه به عوارض موجود در این نوع دهان شویه‌ی شیمیایی حتی در غلظت‌های کم، امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی به صورت جایگزین یا مکمل درمان در دهان شویه‌ها مورد توجه قرار گرفته است. کلرهگزیدین یک عامل آنتی‌سپتیک با بار الکتریکی مثبت است و دارای توانایی کاهش ایندکس پلاک و ژئوبیوت می‌باشد. از جمله عوارض جانبی استفاده مکرر

کلرهگزیدین می‌توان به تغییر طعم دهان، بی‌حسی در دهان و زبان، درد در دهان و زبان، خشکی دهان و تغییر رنگ دندان اشاره کرد.^(۶) داروهای گیاهی به عنوان درمان جایگزین با عوارض کمتر و خواص متعدد می‌توانند مورد توجه قرار گیرند که از جمله این گیاهان، سیاه‌دانه است که تاریخچه‌ی غنی طبی و مذهبی دارد، سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) گیاهی گلدار و بومی اروپای شرقی و کشورهای بلغارستان، قبرس، رومانی و غرب آسیا و کشورهای ایران، ترکیه و عراق است اما امروزه در مناطق دیگری از اروپا و آسیا نیز می‌روید.^(۷-۹) تیموکینون یکی از مؤثرترین روغن‌های تشکیل‌دهنده سیاه‌دانه است که خواص آنتی‌میکروبیال بر روی باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها دارد.^(۱۰) طبق نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات قبلی در رابطه با اثرات آنتی‌باکتریال عصاره سیاه‌دانه^(۷-۱۰) و بررسی‌ها از منابع اطلاعاتی موجود، مطالعات محدودی در زمینه‌ی خواص ضدباکتریایی سیاه‌دانه ایرانی بر روی باکتری‌های مهم پوسیدگی‌زای دندان از قبیل استرپتوکوکوس موتانس صورت گرفته است؛ لذا با توجه به اهمیت موضوع و خلاء اطلاعاتی موجود در بررسی حاضر به ارزیابی نقش عصاره سیاه‌دانه بر روی استرپتوکوکوس موتانس پرداخته شد.

مواد و روش ها:

تحقیق به روش تجربی و در شرایط آزمایشگاهی با کد اخلاق IR.IAU.DENTAL.REC.1399.160 انجام گرفت. در این مطالعه سویه استاندارد باکتری استرپتوکوکوس موتانس (PTCC1686) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. دانه های سیاه دانه از باغ گیاه شناسی دارویی فیروزه تهران در اواخر فصل بهار خریداری شد و سپس بر اساس روش خیساندن عصاره گیری انجام شد.

عصاره گیری :

ابتدا دانه ها با آب در دمای اتاق شستشو داده شده و پس از خشک شدن آنها در جای خنک و تاریک، توسط دستگاه آسیاب برقی پارس خزر آسیاب شدند. در ادامه ۲۰ گرم از پودر خشک شده گیاه وزن شده و داخل بطری های درپنج دار حاوی ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ اضافه شده و به مدت پنج روز در دمای اتاق خیسانده شدند. سپس عصاره حاصل، توسط فیلتر کاغذی واتمن شماره یک، صاف شد. محلول بدست آمده در دستگاه تقطیر MILLIPORE ریخته شد تا حلال (اتانول) تبخیر شود؛ سپس عصاره زیر اشعه UV شرکت آتلانتیک آمریکا با طول موج بین ۲۸۰ - ۴۰۰ نانومتر به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد تا استریل و عاری از میکروب گردد و در ظرف دردار و تیره رنگ ریخته و دور از نور در یخچال در دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای تهیه غلظت اولیه، ۱ گرم از عصاره بدست آمده در ۱۰ میلی لیتر حلال ۲٪ DMSO (Dimethyl Sulfoxide) حل شده و با غلظت ۱۰۰ میلی گرم/میلی لیتر تست های ضد میکروبی انجام شد. (۱۱-۱۲)

بررسی قطر هاله مهاری :

برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی از غلظت نیم مک فارلند استفاده شد. به این صورت که ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی در لوله آزمایش ریخته شد سپس یک کلنی از استرپتوکوک موتانس با لوپ برداشته و به لوله حاوی سرم فیزیولوژی انتقال داده شد و کاملاً کلنی در داخل سرم حل نموده شد. کدورت

آن با استاندارد ۰/۵ مک فارلند (1.5×10^8 CFU/ml)

مقایسه شد^(۱۳). جهت بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه دانه، از تکنیک دیسک گذاری درون (Potato PDA dextrose agar) استفاده شد^(۱۴). برای تهیه این محیط کشت ابتدا ۳۹ گرم از پودر PDA (۴ گرم عصاره potato + ۲۰ گرم dextrose + ۱۵ گرم آگار) را به طور جداگانه در ۲ ارلن ریخته و سپس با ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل نموده و روی شعله قرار داده تا کاملاً محیط های کشت در آب حل گردد سپس در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد با فشار ۲/۱ اتمسفر استریل گردید^(۱۵). در ادامه محیط ساخته شده در پلیت های استریل توزیع شد و پس از سرد شدن ابتدا از طریق یک سوآپ استریل مقداری از سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند را روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت یکنواخت تلقیح نموده و سپس کشت چمنی انجام شد. در ادامه بر روی دیسک های بلانک استریل (MAST Co.UK) با قطر ۴/۶ میلی لیتر با استفاده از سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره سیاه دانه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر و برای گروه کلرهگزیدین، از کلرهگزیدین ۱۲/۰ درصد با نام تجاری هگزوداین شرکت داروسازی دنیای بهداشت استفاده شد. برای کنترل منفی از بلانک دیسک فاقد هرگونه ماده استفاده شد. سپس این پلیت ها با مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند^(۱۳). در نهایت با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با گروه شاهد پتانسیل ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه دانه سنجیده شد. برای اطمینان از پاسخ، آزمایش تحت شرایط آسپتیک انجام شد و سه بار تکرار گردید^(۱۵). ارزیابی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MIB) :

جهت ارزیابی MIC و MBC از محیط کشت PDB (Potato dextrose broth) استفاده شد. برای تهیه این محیط کشت ابتدا ۲۴ گرم پودر PDA (۴ گرم عصاره potato + ۲۰ گرم dextrose) را در ارلن ریخته، سپس با ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و روی شعله قرار داده تا کاملاً پودر

یافته ها:

اثر ضد باکتری عصاره سیاه دانه قطر هاله های مهاری بر حسب نوع گروه ها در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصله نشان داد که میانگین هاله عدم رشد مربوط به کلرگزیدین 20 ± 1 میلی متر و میانگین هاله عدم رشد مربوط به عصاره اتانولی سیاه دانه با دوز 100 میلی گرم بر میلی لیتر 16 ± 1 میلی متر بود که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

آزمون T-test نشان داد که تفاوت میزان هاله عدم رشد در این دو گروه معنادار بود ($P < 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱ - قطر هاله های عدم رشد ناشی از عصاره اتانولی سیاه دانه در مقایسه با دهان شویه کلرگزیدین بر حسب میلی میلتر

هاله عدم رشد (میلی متر) برای S.mutans	سیاه دانه	کلرگزیدین
تکرار ۱	۱۷	۲۰
تکرار ۲	۱۵	۲۱
تکرار ۳	۱۶	۱۹

جدول ۲ - مقایسه میانگین قطر هاله مهاری عصاره اتانولی سیاه دانه در مقایسه با دهان شویه کلرگزیدین در استرپتوکوکوس موتانس

قطر هاله ی عدم رشد گروه ها	حداقل	حداکثر	میانگین $\pm$ انحراف معیار	P value
عصاره سیاه دانه با غلظت 100 میلی گرم/میلی لیتر کلرگزیدین	۱۵	۱۷	16 ± 1	0.05
	۱۹	۲۱	20 ± 1	0.05

محیط کشت در آب حل شود. سپس در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۲/۱ اتمسفر استریل گردید.

کنترل مثبت و منفی در هر دو آزمایش منظور شد. دو خانه و دو لوله شامل کنترل مثبت و منفی بودند. کنترل مثبت حاوی محیط کشت مایع PDB و باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود که کدر شد و کنترل منفی حاوی محیط کشت مایع PDB بود که شفاف شد سپس پلیت میکروتیتراسیون ۹۶ خانه ای و لوله های ماکروتیوب به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد درون انکوباتور گذاشته شد.

در مرحله بعد بررسی شد که در چه غلظتی استرپتوکوکوس موتانس نتوانست رشد کند. این کار ابتدا توسط چشم غیر مسلح و بررسی کدورت مایع انجام شد، به این صورت که خانه یا لوله ای که دارای کدورت بود، استرپتوکوکوس موتانس در آن خانه رشد داشت و خانه یا لوله ای که شفاف بود، در آن ممانعت از رشد صورت گرفته بود. کمترین غلظتی که در آن ممانعت از رشد داشتیم، MIC بود (۱۶-۱۷). بعد از برداشتن لوله ها از انکوباتور، محتوای هر لوله را در محیط کشت PDA آگار با لوپ، کشت خطی داده شد و پلیت ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. با تهیه پلیت ها متوجه شدیم که در کدام یک از آنها کلونی باکتری استرپتوکوکوس موتانس وجود داشته اما از رشد آن ممانعت به عمل آمده است و در کدام لوله هیچ کلونی ای رشد نکرده است. پلیتی با کمترین غلظت که میزان رشد استرپتوکوکوس موتانس را به صورت محسوسی محدود کرده است، MIC و پلیتی با کمترین غلظت که استرپتوکوکوس موتانس در آن رشد نداشت به عنوان MBC لحاظ گردید (۱۸). برای اطمینان از پاسخ، آزمایش ها تحت شرایط حفاظت شده و آسپتیک انجام گرفت و ۳ بار تکرار شد.

در این تحقیق از نرم افزار SPSS (Ver:25) برای تجزیه و تحلیل آماری و آزمون t-test استفاده شد. سطح معناداری آزمون ها کمتر از 0.05 در نظر گرفته شد.

جدول ۴- MIC و MBC باکتری استرپتوکوکوس موتانس با عصاره

MBC	MIC	استرپتوکوکوس موتانس
بر حسب میلی گرم/میلی لیتر	بر حسب میلی گرم/میلی لیتر	
۲۵	۱۲/۵	عصاره سیاه دانه
۱/۲	۰/۶	کلرگزیدین

سیاه دانه و کلرگزیدین



شکل ۱ - قطر هاله عدم رشد

با انجام این آزمایشات به این نتیجه رسیدیم که عصاره اتانولی سیاه دانه بر مهار رشد استرپتوکوکوس موتانس موثر است؛ با این وجود تاثیر ضد باکتریایی کلرگزیدین در مقایسه با عصاره اتانولی سیاه دانه بیشتر است.

جدول ۳ - میانگین قطر هاله عدم رشد در عصاره سیاه دانه و کلرگزیدین

گروه	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	کران پایین (CI %۹۵)	کران بالا (CI %۹۵)
عصاره سیاه دانه (N.S.)	۱۶	۱۳/۵	۱۸/۵
کلرگزیدین (Chx)	۲۰	۱۷/۵	۲۲/۵

بحث

این بررسی به صورت آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه ایرانی در مقایسه با کلرگزیدین بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس را بررسی کرد. بدین منظور از قطرهاله عدم رشد به روش دیسک دفیوژن و سپس حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش Broth Dilution استفاده شد. نتایج بررسی نشان داد قطر هاله ی عدم رشد عصاره ی سیاه دانه بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۱۵، ۱۶ و ۱۷ میلی متر محاسبه گردید و قطرهاله ی عدم رشد ناشی از کلرگزیدین به ترتیب ۱۹، ۲۰ و ۲۱ میلی متر ثبت شد. بررسی آزمون رقیق سازی عصاره سیاه دانه نشان داد که عصاره ی اتانولی سیاه دانه در غلظت ۱۲/۵ میلی گرم/ میلی لیتر دارای حداقل اثر مهار کنندگی رشد باکتری (MIC) می باشد و در غلظت ۲۵ میلی گرم/میلی لیتر دارای حداقل اثر کشندگی باکتری (MBC) است و حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی باکتری برای کلرگزیدین به ترتیب ۰/۶ و ۱/۲ میلی گرم/میلی لیتر گزارش گردید. نتایج کلی ارزیابی قطر

نتایج تست های MIC و MBC در باکتری

در بررسی حاضر ۳ مرتبه MIC عصاره اتانولی سیاه دانه و کلرگزیدین به هر دو روش Microdilution broth و Macrodilution broth در رقت های ۰/۰۹، ۰/۱۹، ۰/۳۹، ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ درصد انجام شد و پیرو آن ۳ مرتبه جهت ارزیابی MBC، از هریک از لوله های Macro tube بر روی محیط اختصاصی باکتری مولر هینتون آگار کشت دادیم و رشد و عدم رشد استرپتوکوکوس موتانس در غلظت های متفاوت عصاره سیاه دانه و کلرگزیدین را در محیط کشت جامد بررسی کردیم. MIC و MBC بر حسب گروه ها در جدول ۳ آمده است و در هر دو گروه در هر سه تکرار نتایج یکسان بود.

هاله عدم رشد نشان می دهد که عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه ایرانی فعالیت مهاری مثبتی علیه استرپتوکوکوس موتانس دارد. گرچه جهت دستیابی به سطح مشابه از مهار باکتری مانند کلرگزیدین به غلظت بالاتری از عصاره گیاهی مورد نیاز است اما اثر کشندگی و مهاری مطلوبی از خود نشان داده است. با توجه به مطالعات گذشته و این مطالعه به نظر می رسد غلظت سیاه دانه استفاده شده بر قطر هاله عدم رشد بسیار حائز اهمیت است. در سال ۲۰۲۱ ناظمی سلمان و همکاران به بررسی اثرات دهانشویه کلرگزیدین ۰/۲ درصد و نانوذرات سیاه دانه با رقت های مختلف بر استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سوپرینوس، استرپتوکوک سالیوریوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، مینوکوک فکالایس و انتروکوکوس فکالایس با استفاده از حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) پرداختند. آنها به این نتیجه رسیدند که نانوامولسیون سیاه دانه به طور قابل توجهی از رشد همه ی باکتری های مورد مطالعه جلوگیری می کند، اگرچه اثر آن کمتر از کلرگزیدین است. در مطالعه آنها قطر هاله ی عدم رشد نانوامولسیون سیاه دانه بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس ۸ میلی متر بود که نسبت به مطالعه حاضر کمتر می باشد و دلیل آن می تواند استفاده از نانوذرات با غلظت کمتر باشد زیرا ساختار نانوداروها در غلظت های بالا پایداری خود را از دست می دهند و نمی توان از غلظت های بالاتر استفاده کرد^(۱۹) در مطالعه Azimi و همکاران به بررسی مقایسه تاثیر غلظت های مختلف روغن سیاه دانه بر میزان رشد باکتری های دهانی شامل استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سنگویس پرداختند. این بررسی با روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد و یافته ی بدست آمده نشان داد در غلظت ۳۳۰ میلی گرم/میلی لیتر علیه باکتری های استرپتوکوکوس موتانس اثر باکتریوسید داشت و همچنین قطر هاله عدم رشد روغن سیاه دانه ۳۳/۵ میلی متر گزارش شد. در مطالعه حاضر قطر هاله عدم رشد کمتر (۱۶ میلی متر) گزارش شد که احتمالاً به علت غلظت

موثر پایین تر عصاره سیاهدانه است. نتایج این آزمایش نیز همسو با مطالعات کنونی بوده و تاثیر مطلوب سیاه دانه بر استرپتوکوکوس موتانس را تایید می کند^(۲۰). فاکتور موثر دیگری که میتوان به آن اشاره کرد، استفاده از عصاره روغنی یا اتانولی یا متانولی سیاه دانه است. در مطالعه انجام شده توسط Elgamily و همکاران اثر گیاهان دارویی مختلف از جمله سیاه دانه بر لاکتوباسیل بررسی شد. بر خلاف مطالعه حاضر هاله عدم رشد اطراف سیاه دانه تشکیل نشد که می تواند به دلیل روش متفاوت استخراج عصاره سیاه دانه یا نوع متفاوت باکتری بررسی شده و استفاده از عصاره متانولی سیاه دانه باشد که اثر ضدباکتریایی این گیاه را می پوشاند^(۲۱). این در حالی است که طبق مطالعه Besra و همکاران در سال ۲۰۱۸ که به بررسی اثر متانولی ۲۰ گونه گیاهی بر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوکوس موتانس پرداختند، عصاره متانولی بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را نشان داد^(۲۲). در تحقیقی که در سال ۲۰۱۲ توسط Najah و همکاران انجام گرفت، هدف بررسی تاثیر سیاه دانه بر روی باکتری های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس میتیس بود. در این آزمایش از دو نوع حلال متانول و دی اتیل اتر استفاده شد. نتایج بدست آمده به این گونه بود که منطقه ی مهار رشد در عصاره ی روغنی متانول بر روی استرپتوکوکوس موتانس ۱۲/۷ میلی متر و همچنین منطقه ی مهار رشد در عصاره ی روغنی اتری برای استرپتوکوکوس موتانس ۶/۳ میلی متر بوده است. بنابر این تحقیق عصاره ی متانولی سیاه دانه در مقایسه با عصاره ی اتری سیاه دانه موثرتر بوده و بالاترین منطقه ی مهار باکتری با متانول مشاهده شده است^(۲۳). قطر هاله عدم رشد در مطالعه ما ۱۶ میلی متر بود که به علت استفاده از حلال اتانول به جای متانول و دی اتیل اتر بوده است و تاثیر مطلوب حلال اتانولی را تایید می کند. در مطالعه دیگری Shafodino و همکاران به بررسی اثرات آنتی میکروبیال سیاه دانه پرداختند. آنها از عصاره اتانولی،

P. aeruginosa کشور سوریه از سایرین بیشتر بود^(۴۷)

پیشنهاد می شود باتوجه به این مطالعه بررسی جامع تری با عصاره روغنی سیاه دانه ایرانی نیز صورت گیرد. از محدودیت های این مطالعه می توان به این موضوع اشاره کرد که مطالعه در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت و سوش باکتری استفاده شده نمونه استاندارد و آزمایشگاهی بوده است. بنابراین توصیه می شود که اثر ضد باکتری عصاره اتانولی سیاه دانه به صورت کلینیکی نیز در آینده ارزیابی شود.

نتیجه گیری

به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه انجام شده، عصاره اتانولی گیاه سیاه دانه اثر مهاری مثبتی بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس از خود نشان داد.

تقدیر و تشکر

از همه کسانی که در روند انجام این تحقیق به ما یاری رساندند سپاسگزاریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچگونه تضاد منافی ندارند.

متانولی، آبی و روغنی این گیاه استفاده کردند و نتایج حاصل نشان داد، بیشترین قطر هاله عدم مهاری مربوط به گروهی بود که از عصاره روغنی استفاده شده بود و *P. aeruginosa* حساسیت بیشتری نسبت به *Coli.E* را نشان داد. همچنین گزارش شد که عصاره متانولی هم بر باکتری های گرم مثبت و هم گرم منفی موثر است و عصاره آبی تنها بر فعالیت ضد باکتریایی *B. Subtilis* موثر بود^(۴۴). با توجه به نتایج پیشین و حال حاضر پیشنهاد می شود در این راستا مطالعات بیشتری صورت گیرد اما با توجه به اینکه استخراج عصاره روغنی راحت تر است و میزان ماده موثر سیاه دانه یعنی تیموکینون در آن بیشتر است، استفاده از آن مقرون به صرفه تر است.

با توجه به خاصیت آنتی باکتریال سیاه دانه که به دلیل دارا بودن ماده ی موثر به نام تیموکینون^(۴۵) است، مطالعات دیگری اثر آن را بر باکتری های دیگری نیز بررسی کردند که نتایج حاصل نشان دهنده اثربخش بودن این گیاه دارویی بود. در سال ۲۰۲۲ مطالعه توسط Zouirech جهت بررسی اثرات آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی سیاه دانه در برابر میکروارگانیسم های بیماری زا بالینی مقاوم به دارو انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد عصاره روغنی سیاه دانه اثر ضد باکتریایی قابل توجهی با قطر هاله مهاری ۳۸/۶۷ میلی متر و حداقل غلظت مهاری ۱/۳۴ میکروگرم/میلی لیتر بر باکتری *Coli.E* داشت. در نهایت آنها به این نتیجه دست یافتند که برای به حداقل رساندن رشد باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک، عصاره روغنی سیاه دانه می تواند به عنوان یک جایگزین طبیعی برای آنتی بیوتیک های مصنوعی و آنتی اکسیدان ها برای درمان رادیکال های آزاد دخیل در واکنش های التهابی مرتبط با عفونت میکروبی باشد^(۴۶).

Dalli و همکاران به بررسی اثر روغنی عصاره سیاه دانه پرداختند. آنها به این نتیجه دست یافتند که *P. aeruginosa* و *A. baumannii* حساسیت بیشتری نشان دادند و قطر هاله عدم مهاری آنها نسبت به *E. coli* بیشتر بود. همچنین آنها اثر سیاه دانه های کشورهای مختلف را نیز مورد بررسی قرار دادند که MBC مربوط به باکتری

References:

- 1-Krol DM, Nedley MP. Dental caries: state of the science for the most common chronic disease of childhood. *Adv Pediatr*. 2007;54:215-39.
- 2-McDonald Ralph E et al. McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent. 11th ed. 2022. p 200-205.
- 3-Cabalén MB, Molina GF, Bono A, Burrow MF. Nonrestorative Caries Treatment: A Systematic Review Update. *Int Dent J*. 2022 ;72(6):746-64.
- 4-Lin Y, Chen J, Zhou X, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Crit Rev Microbiol*. 2021 Sep;47(5):667-77.
- 5-Soni H, Vasavada M (2015) Distribution of *S. mutans* and *S. sorbinus* in Caries Active and Caries Free Children by PCR Approach. *Int J Oral Craniofac Sci* 1(1): 027
- 6-Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int Dent J*. 2022 ;72(3):269-277.
- 7-Randhawa MA. Black seed, *Nigella sativa*, deserves more attention. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2008;20(2):1-2.
- 8-Heiss A, Oegg K. The oldest evidence of *Nigella damascena* L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe. *Veg. Hist. Archaeobot*. 2005;14(4):562-70.
- 9- Forouzanfar F, Bazzaz BS, Hosseinzadeh H. Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(12):929-38.
- 10-K.Yahya M, A. Altae R, Yahya M. Comparative evaluation of the effect of *Nigella sativa* extracts and nystatin as a traditional drug on *Candida albicans* in the primary school students in Mosul and Tikrit cities. *Iraqi Journal of Pharmacy*. 2013;13(2):70-8.
- 11-Nagarajan K GR. Evaluation of antimycotic activity of black cumin seed extract: In vitro study. *Drug Invention Today*. 2018;10(3):3247-50.
- 12-Gharibi D, NAJAFABADI M. GHORBANPOOR, and A. Mohabat. Study of antibacterial activity of ethanol extract from *nigella sativa* against some important veterinary bacterial pathogens. *Veterinary Research Journal*. 2012:13-21.
- 13-Klevay M, Ebinger A, Diekema D, Messer S, Hollis R, Pfaller M. Disk diffusion testing using *Candida* sp. colonies taken directly from CHROMagar *Candida* medium may decrease time required to obtain results. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3497-9.
- 14-Liu Y, Tortora G, Ryan ME, Lee HM, Golub LM. Potato dextrose agar antifungal susceptibility testing for yeasts and molds: evaluation of phosphate effect on antifungal activity of CMT-3. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(5):1455-61.
- 15-MA F. In vitro: Evaluation of inhibitory activity of some plant extracts against oral candidiasis. *NY Sci J*. 2014;7(12):66-76.
- 16- Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2016;6(2):71-9.
- 17-Hassan Minooeian Haghighi M, Khosravi A. The Effects of the Herbal Essences on the Two Important Species of *Aspergillus*. *Internal Medicine Today*. 2010;15(4):5-15.
- 18-Nouri N, Mohammadi SR, Beardsley J, Aslani P, Ghaffarifar F, Roudbary M, Rodrigues CF. Thymoquinone Antifungal Activity against *Candida glabrata* Oral Isolates from Patients in Intensive Care Units-An In Vitro Study. *Metabolites*. 2023;13(4).
- 19-Nazemi Salman B, Sallah S, Abdi F, Salahi S, Rostamizadeh K, Basir Shabestari S. The Comparison of Antimicrobial Effect of *Nigella sativa* Nanoparticle and Chlorhexidine Emulsion on the Most Common Dental Cariogenicic Bacteria. *Med J Islam Repub Iran*. 2021;35(1):1113-9.
- 20-Azimi Laysar H, Niakan M, Mohammad Taghi G, Jafarian Z, Mostafavizade M, Niakan S. Comparison of the antibacterial activity of various concentrations of *Nigella Sativa* and Nanosilver on the growth of *S. Sanguis* and *S. mutans*. *Res Dent Sci*. 2013;9(4):179- 86.
- 21-Elgamily H, Safy R, Makharita R. Influence of Medicinal Plant Extracts on the Growth of Oral Pathogens *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus Acidophilus*: An In-Vitro Study. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 Jul 27;7(14):2328-34.
- 22-Besra M, Kumar V. In vitro investigation of antimicrobial activities of ethnomedicinal plants against dental caries pathogens. *3 Biotech*. 2018;8(5):257.
- 23-Mohammed NA, "Effect of *Nigella Sativa* L. extracts against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis* in Vitro" *J Bagh College Dentistry*. 2012;24(3):154-7
- 24-Shafodino FS, Lusilao JM, Mwapagha LM. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Nigella sativa* seeds. *PLoS One*. 2022 ;17(8):e0272457.
- 25-Dizajian Fard Zanjani A, Jadidi H, Moeini P, Majzoubi S, Comparison of the effect of *Nigella sativa* ethanol extract and Nystatin on *Candida albicans* in vitro. *J Res Dent Sci*. 2024;21 (2): 133-41
- 26-Zouirech O, Alyousef AA, El Barnossi A, El Moussaoui A, Bourhia M, Salamatullah AM, Ouahmane L, Giesy JP, Aboul-Soud MAM, Lyoussi B, Derwich E. Phytochemical Analysis and Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Effects of Essential Oil of Black Caraway (*Nigella sativa* L.) Seeds against Drug-Resistant Clinically Pathogenic Microorganisms. *Biomed Res Int*. 2022 ;2022:5218950.
- 27-Dalli M, Azizi SE, Benouda H, Azghar A, Tahri M, Bouammforo B, Maleb A, Gseyra N. Molecular Composition and Antibacterial Effect of Five Essential Oils Extracted from *Nigella sativa* L. Seeds against Multidrug-Resistant Bacteria: A Comparative Study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021;2021:6643765.