مجله دنیای میکروب‌ها
سال نهم شماره سوم (پیاپی ۲۸) پاییز ۱۳۹۵
صفحات ۲۲۵-۲۱۵

Original Article

تأثیر ضد میکروبی اسانس گیاه نوروزک بر روی باکتری های بی هوازی مولد عفونت های دهانی- حلقی

پروانه ابریشم چی*[۱]، مهرانگیز خواجه کرم الدینی[۲]، ریحانه هوشیار سرجامی[۳]، آرزو ذاکر[۴]، جواد اصیلی[۵]، حسن پرسا[۶]، رضا ظریف[۷]

[۱] دانشیار، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، [۲] استاد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات میکروب شناسی و ویروس شناسی، [۳] کارشناس ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، [۴] دکتری تخصصی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، [۵] دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، [۶] کارشناس ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی، گروه پژوهشی بقولات، [۷] کارشناس ارشد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، گروه میکروب شناسی.

چکیده

سابقه و هدف: نوروزک گیاهی دارویی متعلق به تیره نعناع و بومی استان خراسان است. این گیاه دارای ویژگی‌های با ارزش دارویی مانند خاصیت ضد میکروب، ضد التهاب، ضد درد، آرام بخش و آنتی اکسیدان می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نوروزک بر برخی از باکتری‌های بی‌هوازی مولد عفونت‌های دهانی-حلقی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش بنیادی-کاربردی بخش‌های هوایی نوروزک در مرحله گل‌دهی از منطقه بجستان، واقع در استان خراسان رضوی جمع‌آوری گردید و به روش تقطیر با آب، اسانس گیری شد. اجزای اسانس با استفاده از دستگاه GC-MS شناسایی گردیدند. اثر غلظت‌های مختلف اسانس (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ mg/ml) بر باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استرپتوکوکوس سانگوئیس* و *اکتینومایسس ویسکوسوس* به روش‌های دیسک کاغذی، چاهک (انتشار در آگار)، کالیبراسیون متداول، رقت در آگار و رقت در لوله ارزیابی شد.

یافته ها: از میان ۳۵ ترکیب شناسایی شده در اسانس، به ترتیب، β-پینن (۲۳/۳۵٪)، α-مورولول (۱۷/۱۱٪)، α-پینن (۱۴/۱۳٪) و اوکالیپتول (۱ و ۸ سینئول) (۱۳/۲۵٪)، اجزای اصلی بودند. اسانس این گیاه تأثیر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر رشد باکتری‌های مورد بررسی داشت. به طوری که بیشترین اثر بازدارندگی از رشد، در غلظت ۵۰ mg/ml مشاهده گردید. *استرپتوکوکوس موتانس* (MIC=۱۳/۹۸ mg/ml، MBC=۳۱/۹۹ mg/ml) و *استرپتوکوکوس پیوژنز* (MIC=۲۵/۳۲ mg/ml، MBC=۵۱/۹۹ mg/ml) به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین باکتری در برابر اسانس گیاه نوروزک بودند.

نتیجه‌گیری: اسانس گیاه نوروزک می‌تواند به عنوان یک فرآورده طبیعی برای تهیه دهانشویه‌ها و به منظور کنترل بیماری‌های دهان و دندان مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: گیاه نوروزک، اسانس، ضد باکتری، باکتری‌های دهانی.

دریافت مقاله: فروردین ماه ۹۵ پذیرش برای چاپ: خرداد ماه ۹۵

مقدمه

گیاهان دارویی، منابع طبیعی با ارزشی هستند که به عنوان عوامل درمانی در نظر گرفته می‌شوند. عقیده بر این است که حداقل یک سوم فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی دارند (۱). از میان گیاهان معطر مختلف که خاصیت دارویی دارند، گیاهان تیره نعناع از جمله جنس *سالویا* (*Salvia*)، که بزرگترین جنس این تیره است، جایگاه برجسته و ویژه‌ای دارند (۲). با توجه به مقاومت روزافزون میکروارگانیسم‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاهان در سال‌های اخیر مورد توجه خاصی قرار گرفته است.

*) آدرس برای مکاتبه: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.
تلفن: ۰۹۱۵۱۲۴۶۷۲۶ پست الکترونیک: abrisham@um.ac.ir

داروهای سنتزی رایج مانند دهانشویه‌ها، اثرات جانبی نامطلوبی دارند و تعداد میکروارگانیسم‌های مقاوم به آن‌ها در حال افزایش می باشد.

در این میان، کشف گیاهانی با اثرات ضد باکتریایی و استفاده از آن‌ها به عنوان دهانشویه، عوارض نامطلوب ترکیبات شیمیایی را کاهش خواهد داد و مقرون به صرفه‌تر نیز خواهد بود. نوروزک (*Salvia leriifolia*)، گیاهی علفی و پایا است که در مناطق گرمسیری خراسان، سمنان و بخشی از افغانستان می‌روید (۳). برای عصاره و اسانس حاصل از بخش‌های مختلف گیاه فعالیت‌های زیستی متنوعی گزارش شده است که از جمله می‌توان اثرات ضد درد (٤)، ضد تشنج، ضد میکروب (٥)، ضد التهاب (٦)، ضد زخم معده (٧)، آرام بخش، خواب آور، شل کننده عضلات (٥) و آنتی‌اکسیدان (٨ و ٩) اشاره نمود.

اسانس‌ها ترکیبات طبیعی فرار و پیچیده‌ای هستند که توسط گیاهان برای محافظت در برابر انواع باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و سایر آفات تولید می‌شوند و نقش مهمی در گرده افشانی دارند (۱۰). عملکرد ضد میکروبی بارز اسانس‌های گیاهی از سال‌ها پیش شناخته شده و بررسی‌های مختلف، حاکی از قابلیت کاربرد آن‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی است. این امر، موضوع تحقیقات متعددی در رابطه با غربالگری انواع گونه‌های گیاهی می‌باشد (۱۱). تأثیر اسانس گونه‌های مختلف جنس *سالویا* در ممانعت از رشد باکتری‌های متعدد گزارش شده است.

از جمله می‌توان به اثر ضد باکتریایی *سالویا شریفی* (*S. sharifii*) (۱۲)، *سالویا ورتیسیلاتا* (*S. verticillata*) (۱۳)، *سالویا اتیوپیس* (*S. aethiopis*)، *سالویا الیگوفیلا* (*S. oligophylla*) (١٤)، *سالویا کلرولوکا* (*S. chloroleuca*) (١٥)، *سالویا مولتیکالیس* (*S. multicaulis*) و *سالویا اسکلارآ* (*S. sclarea*) (١٦) بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (*S. aureus*) و *اشریشیا کلی* (*E. coli*) اشاره نمود. چلبیان (Chalabian) و همکاران نیز مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (*S. saprophyticus*)، *شیگلا فلکسنری* (*Shigella flexneri*) و *اشریشیا کلی* را در اثر اسانس *سالویا فروتیکوزا* (*S. fruticosa*) نشان دادند (۱۷). فعالیت ضد باکتریایی اسانس *سالویا اتیوپیس* و *سالویا آتروپاتانا* (*S. atropatana*) بر *کلبسیلا پنومونیه* (*K. penomoniae*) مثبت ارزیابی شد (١٤).

اثر ممانعت از رشد *پروتئوس ولگاریس* (*Proteus vulgaris*) تحت تأثیر اسانس *سالویا اسکلارآ* نیز توسط بتولی (Batooli) و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش گردید (۱۸). گزارش‌های موجود در رابطه با تأثیر اسانس، عصاره برگ و ریشه گیاه نوروزک نیز بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* (*Bacillus subtilis*)، *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) حاکی از آن است که این گونه کاندیدای مناسبی برای انجام مطالعات گسترده‌تر و عمیق‌تری در زمینه خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس‌ها می‌باشد (٥). هدف از این مطالعه بررسی کمی و کیفی اسانس حاصل از برگ گیاه نوروزک و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر برخی از باکتری‌های بی‌هوازی مولد پوسیدگی و عفونت‌های دهانی- حلقی، در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری گیاه و تهیه نمونه گیاهی: برگ گیاه نوروزک در مرحله گل‌دهی از رویشگاه طبیعی خود در شهرستان بجستان در استان خراسان رضوی جمع آوری و در هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شد (شماره هرباریومی: ۱۲۸۳۵). نمونه‌های جمع‌آوری شده، در سایه و دمای آزمایشگاه خشک گردیدند.

ب) استخراج اسانس: مقدار ۲۵۰ گرم برگ تازه و پودر شده گیاه به مدت ٤ ساعت در بالن دستگاه تقطیر (مخزن دستگاه اسانس‌گیر مدل MS-E 107) قرار گرفت و اسانس آن به روش تقطیر با بخار آب استخراج شد. اسانس حاصل توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی گردید (۱۹).

ج) شناسایی ترکیبات موجود در اسانس حاصل از برگ گیاه

نوروزک به روش کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی (GC-MS) : به منظور شناسایی و تعیین درصد ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده از برگ‌های گیاه نوروزک، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی Quadropole استفاده شد. گاز کروماتوگراف مورد استفاده، مدل Varian 3400 مجهز به ستون DB-5 (Fused-silica) به طول ٦٠ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ به عنوان فاز متحرک مورد استفاده قرار گرفت. برنامه-ریزی حرارتی ستون، از دمای ٦٠ °C شروع شد و به تدریج با سرعت ۵ درجه در دقیقه، افزایش یافت تا به دمای ۲۵۰ °C رسید. دمای محفظه تزریق ۲۲۰ °C بود. دستگاه مجهز به آشکارساز اسپکتروفوتومتری Cuadripol بود که دمای آن بر روی ۲۷۰ °C تنظیم شد. اجزای اسانس با مقایسه شاخص بازداری آن‌ها و طیف‌های جرمی به دست آمده به ترتیب با اعداد استاندارد موجود در مراجع و طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک Wiley شناسایی شدند. مقدار اجزای شناسایی شده نیز با توجه به سطح زیر منحنی تعیین گردید.

د) تهیه و کشت میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه: میکروارگانیسم‌های استاندارد شامل *استرپتوکوکوس موتانس* (*S. mutans*) (PTCC 1683)، *استرپتوکوکوس پیوژنز* (*S. pyogenes*) (PTCC 1447)، *استرپتوکوکوس سانگوئیس* (*S. sanguis*) (PTCC 1449) و *اکتینومایسس ویسکوسوس* (*Actinomyces viscosus*) (PTCC 1202) به صورت آمپول منجمد شده تحت خلأ (لیوفیلیزه) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران) تهیه شدند. پس از تهیه محیط کشت‌های استریل بلاد آگار و Brain Heart Infusion Agar (BHIA) (مرک، آلمان)، به ترتیب به آن‌ها ۵ تا ۱۰ درصد خون دفیبرینه و دکستروز اضافه شد. فعال‌سازی سویه‌های میکروبی و کشت مادر، با افزودن محیط کشت Nutrient broth به ماده خشک موجود در آمپول لیوفیلیزه انجام شد. پس از آن، کشت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلیسیوس قرار گرفتند. سپس مقداری از آن به محیط کشت آگار مغذی انتقال یافت و در همان شرایط نگهداری، قرار داده شد. سوسپانسیون میکروبی با غلظت 10^8 میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر، با افزودن نرمال سالین ۰/۹ درصد به کلنی باکتریایی و مقایسه کدورت آن با محلول استاندارد نیم درصد مک فارلند، به دست آمد تا از آن برای تلقیح استفاده شود (۲۰ و ۲۱).

ه) سنجش فعالیت ضد میکروبی اسانس: با توجه به نا محلول بودن اسانس در آب، توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت برای انحلال اسانس در آب و تهیه غلظت‌های مختلف از آن مورد استفاده قرار گرفت. قبل از هر آزمایش، مخلوطی از اسانس و توئین (به نسبت ۳ به ۲) آماده و با افزودن آب مقطر به مقدار لازم، غلظت‌های ٦/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شدند. سپس اثر ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش‌های زیر، مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱- روش انتشار در دیسک (Disk diffusion method): پس از کشت میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت بلاد آگار با استفاده از سوسپانسیونی که غلظت میکروبی آن معادل ۰/۵ مک فارلند (10^8 میکروارگانیسم در هر میلی لیتر) بود، دیسک‌های استریل بر روی محیط کشت قرار گرفتند. ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (٦/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به دیسک‌های مربوطه افزوده شد. محلول آب و توئین ۸۰ به عنوان کنترل منفی و دیسک تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت برای باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس قرار گرفتند و سپس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد (۲۰).

۲- روش چاهک (Hole- plate diffusion method): پس از تهیه کشت میکروبی، ابتدا چاهک‌هایی با استفاده از سیلندر استریل درون آگار ایجاد و سپس چاهک‌ها با غلظت‌های مختلف از اسانس پر شدند (مانند آنچه در قسمت انتشار در دیسک گفته شد). پس از ۳۰ دقیقه پلیت‌ها به مدت ٤٨ ساعت در گرمخانه قرار گرفتند و سپس قطر هاله عدم رشد بررسی شد (۲۰).

۳- *روش کالیبراسیون متداول (Common calibrated method):* در این روش، پس از تهیه محیط کشت بلاد آگار استریل حاوی غلظت‌های ٦/٢٥، ١٢/٥، ٢٥ و ٥٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از اسانس، سوسپانسیون میکروبی معادل ٠/٥ مک فارلند به هر لوله تلقیح شد. پس از گذشت ١٥ دقیقه (resting time)، از هر لوله یک لوپ (معادل ٠/٠١ میلی لیتر) بر روی محیط کشت بلاد آگار به صورت کشت سفره‌ای کشت داده شد. سپس پلیت‌ها همراه با یک عدد گاز پک در جار بی‌هوازی به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلیسیوس گرماگذاری شدند. پس از این مدت، کلنی‌های باکتری بر حسب cfu/ml شمارش شدند (٢٢).

٤- *روش رقت در آگار (Agar dilution):* برای انجام این روش، محیط کشت بلاد آگار استریل تهیه و سپس حجم متناسب با غلظت‌های مورد نظر از اسانس به آن اضافه شد. پس از همگن شدن محیط کشت و اسانس، ٢٥ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 5×10^6 میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر، به روش seed to base بر روی محیط، کشت داده شد. کشتی از سوسپانسیون میکروبی حاوی 5×10^6 میکروارگانیسم بر روی محیط کشت بلاد آگار خالص (بدون اسانس و ترکیب شیمیایی) به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. پس از طی مدت زمان لازم در گرمخانه، رشد یا عدم رشد میکروب ها در غلظت‌های مختلف اسانس مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظتی که در آن باکتری رشد نداشت، معادل حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در نظر گرفته شد (٢١).

٥- *روش رقت در لوله (Broth dilution یا Microdilution):* پس از تهیه محیط کشت BHI استریل و توزیع در لوله‌های استریل، حجم مناسب از اسانس برای تهیه غلظت‌های مورد آزمایش به آن اضافه گردید. سپس در هر لوله، از سوسپانسیون میکروبی حاوی 5×10^6 میکروارگانیسم در میلی‌لیتر تلقیح شد. لوله‌ها به مدت ٢٤ ساعت در جار بی‌هوازی و دمای ٣٧ درجه سلیسیوس قرار گرفتند. سپس ٢٥ میکرولیتر از هر لوله بر روی محیط کشت بلاد آگار کشت داده شد و پس از ٤٨ ساعت، نتایج مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظتی که در آن باکتری رشد نکرده بود، معادل حداقل غلظت باکتریوسایدی (MBC) در نظر گرفته شد (٢٣).

و) آنالیز آماری داده ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با نرم افزار MSTAT-C (version 1.42) بررسی و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح اطمینان ٩٥ درصد مقایسه شدند ($P<0/05$).

یافته‌ها

بر اساس آنالیز GC-MS، درصد اسانس موجود در برگ گیاه نوروزک، در مرحله گل‌دهی، ٠/٧ درصد حجمی-وزنی بود. عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس در این مرحله از رشد و نمو، به ترتیب β-پینن (٢٣/٣٥٪)، α-مورولول (١٧/١١٪)، α-پینن (١٤/١٣٪) و اوکالیپتول (١ و ٨ سینئول) (١٣/٢٥٪) بودند. درصد مونوترپن‌های هیدروکربنه، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، سزکوئی ترپن‌های هیدروکربنه و سزکوئی ترپن های اکسیژن‌دار به ترتیب ٣٩/١٩، ١٦/٧٥، ١٣/٤٧ و ٢٧/٦٨ درصد محاسبه شد (جدول ١).

آنالیز واریانس نتایج، حاکی از معنی‌دار بودن اثر ضد میکروبی اسانس بر رشد باکتری‌های مورد مطالعه، به صورت وابسته به غلظت بود ($P<0/05$). غلظت‌های ٥٠ و ٢٥ میلی‌گرم در میلی لیتر اسانس، مناسب‌ترین غلظت‌ها جهت بازدارندگی از رشد تمامی باکتری‌ها شناخته شد (≥٥ mm قطر هاله ممانعت از رشد) (نمودار ١). به طور کلی *استرپتوکوکوس موتانس* حساس‌ترین (≥٥ mm قطر هاله ممانعت از رشد) و *استرپتوکوکوس پیوژنز* مقاوم‌ترین باکتری (<٥ mm قطر هاله ممانعت از رشد) نسبت به اسانس برگ نوروزک بودند. بررسی اثر تتراسایکلین بر باکتری‌های مورد مطالعه نیز نشان داد که *استرپتوکوکوس موتانس* و *اکتینومایسس ویسکوسوس* به ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را به این آنتی‌بیوتیک دارند. غلظت‌های ٥٠ و ٢٥ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس نوروزک، اثر ضد باکتریایی قوی‌تری نسبت به تتراسایکلین بر روی *اکتینومایسس ویسکوسوس* نشان دادند (نمودار ١).

بررسی اثربخشی دو روش دیسک و چاهک در ممانعت از رشد

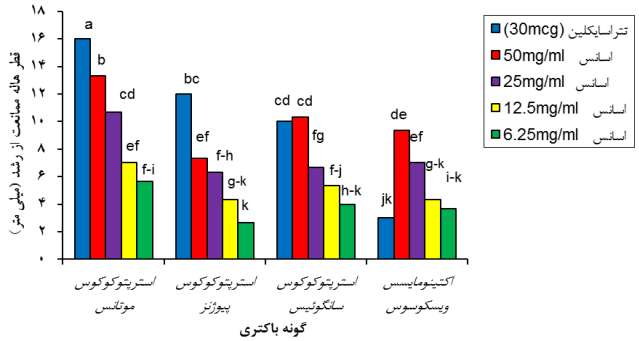
جدول ۱: درصد ترکیبات موجود در اسانس برگ گیاه نوروزک در مرحله گل دهی با دستگاه GC-MS.

شماره	ترکیب	RT*	RI**	درصد
۱	α-Thujene	۹/۵	۹۳۹	۰/۱
۲	α-Pinene	۹/۸	۹۴۹	۱۴/۱۳
۳	Camphene	۱۰/۱۷	۹۶۲	۰/۹۵
۴	Sabinene	۱۰/۷۳	۹۸۰	۰/۰۵
۵	β-Pinene	۱۰/۹۸	۹۸۲	۲۳/۳۵
۶	Myrcene	۱۱/۱۰	۹۹۰	-
۷	δ-3-Carene	۱۱/۷۳	۱۰۱۵	۰/۲۸
۸	α-Terpinene	۱۱/۸۵	۱۰۲۱	t***
۹	Paracymene	۱۲/۰۶	۱۰۲۸	۰/۱
۱۰	۱،۸-Cineole	۱۲/۳۷	۱۰۳۹	۱۳/۲۵
۱۱	γ-Terpinene	۱۳/۰۱	۱۰۶۳	۰/۱
۱۲	cis-Sabinenehydrate	۱۳/۲۴	۱۰۷۱	-
۱۳	Terpinolene	۱۳/۸۵	۱۰۹۳	t***
۱۴	Borneol	۱۶/۲۱	۱۱۷۷	۲/۶۲
۱۵	Terpinene-4-ol	۱۶/۴۶	۱۱۸۶	۰/۲۳
۱۶	α-Terpineol	۱۶/۸۱	۱۱۹۸	۰/۵۵
۱۷	bornyl acetat	۱۹/۴۷	۱۲۹۳	۰/۱
۱۸	α-Copaene	۲۱/۲۹	۱۳۶۱	t***
۱۹	β-Cubebene	۲۲/۰۸	۱۳۹۱	۰/۰۶
۲۰	α-Gurjunene	۲۳/۰۶	۱۴۲۹	۰/۸۸
۲۱	α-Funebrene	۲۲/۴	۱۴۰۳	-
۲۲	β-caryophyllene	۲۳/۳۵	۱۴۴۰	۱/۱
۲۳	α-Humulene	۲۴/۲	۱۴۷۴	۰/۲
۲۴	α-Acoradiene	۲۴/۳۸	۱۴۸۱	۰/۰۵
۲۵	γ-Murrolene	۲۴/۶۵	۱۴۹۲	۰/۲۵
۲۶	Germacrene-D	۲۴/۸۵	۱۵۰۰	۰/۱۳
۲۷	β-Selinene	۲۵/۰۲	۱۵۰۷	۰/۱۲
۲۸	α-Murrolene	۲۵/۲۲	۱۵۱۵	۰/۸۳
۲۹	γ-Cadinene	۲۵/۶۲	۱۵۳۲	۰/۸۹
۳۰	δ-Cadinene	۲۵/۸	۱۵۳۹	۸/۹۴
۳۱	Viridiflorol	۲۷/۹۱	۱۶۲۸	۰/۶۹
۳۲	Eremolignol	۲۸/۶۸	۱۶۶۲	۶/۴۸
۳۳	Epi- α-cadineol	۲۸/۸۴	۱۶۶۹	۱/۷۳
۳۴	α-Murolol	۲۹/۰۱	۱۶۷۶	۱۷/۱۱
۳۵	Farnesol	۳۰/۰۳	۱۷۲۲	۱/۶۷
	مونوترپن های هیدروکربنه			۳۹/۱۹
	مونوترپن های اکسیژن دار			۱۶/۷۵
	سزکوئی ترپن های هیدروکربنه			۱۳/۴۷
	سزکوئی ترپن های اکسیژن دار			۲۷/۶۸
	کل ترکیبات شناسایی شده			۹۷/۰۹

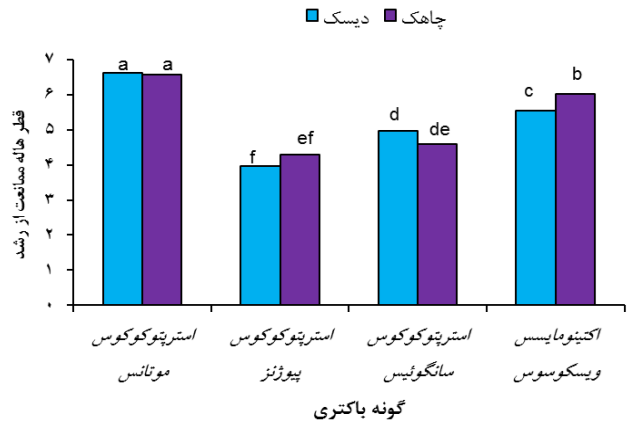
*RT- زمان نگهداری؛ **RI- شاخص بازداری؛ -***t ترکیبات کم تر از ۰/۰۵ درصد.

باکتری‌ها نشان داد که دو روش یاد شده با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵)، به استثنای باکتری *اکتینومایسس ویسکوسوس* که قطرهاله ممانعت از رشد آن در روش چاهک، به صورت معنی‌داری بیشتر از روش دیسک بود (نمودار ۲).

استفاده از روش کالیبراسیون متداول و شمارش کلنی‌های باکتریایی جهت بررسی اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف اسانس گیاه نوروزک (۵۰ و ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) نیز حاکی از کاهش معنی‌دار تعداد کلنی‌ها با افزایش غلظت اسانس بود. مناسب‌ترین غلظت جهت بازدارندگی از رشد تمام باکتری‌های مورد مطالعه، غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. حساس‌ترین و مقاوم‌ترین باکتری نسبت به این غلظت به ترتیب *استرپتوکوکوس موتانس* و

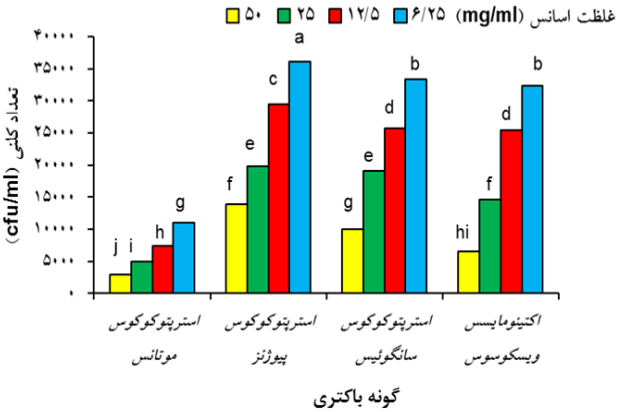


نمودار ۱: تأثیر غلظت های مختلف اسانس برگ گیاه نوروزک بر رشد برخی از باکتری های بی هوازی دهانی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ است.



نمودار ۲: مقایسه اثربخشی دو روش دیسک و چاهک برای مطالعه اثر ضد میکروبی اسانس برگ گیاه نوروزک بر برخی از باکتری های بی هوازی دهانی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ است.

استرپتوکوکوس پیوژنز بودند (نمودار ۳). نتایج حاصل از ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس به روش‌های رقت در آگار و رقت در لوله به ترتیب برای تعیین MIC و MBC در جدول ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۳: تأثیر غلظت های مختلف اسانس برگ گیاه نوروزک بر تعداد کلنی برخی از باکتری های بی هوازی دهانی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ است.

جدول ۲: مقدار MIC و MBC اسانس برگ گیاه نوروزک بر روی برخی از باکتری های مورد بررسی.

باکتری	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)
استرپتوکوکوس موتانس	۳۱/۹۹^{*bc}	۱۳/۹۸^{c}
استرپتوکوکوس پیوژنز	۵۱/۹۹^{a}	۲۵/۳۲^{a}
استرپتوکوکوس سانگوئیس	۴۳/۶۶^{ab}	۱۹/۹۴^{b}
اکتینومایسس ویسکوسوس	۳۶/۶۷^{bc}	۲۰/۰۰^{b}

* داده ها میانگین سه تکرار هستند. میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری ندارند (p>۰/۰۵).

حداقل غلظت بازدارنده از رشد برای باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* معادل ۱۳/۹۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* غلظت ۲۵/۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مشابه نتایج حاصل از بررسی قطر هاله ممانعت از رشد، شمارش تعداد کلنی و MIC، باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* حساس‌ترین باکتری (کمترین MBC) و *استرپتوکوکوس پیوژنز* مقاوم ترین باکتری (بیشترین MBC) به اسانس برگ نوروزک بودند. دو گونه دیگر یعنی *اکتینومایسس ویسکوسوس* و *استرپتوکوکوس سانگوئیس* از نظر درجه حساسیت به اسانس در موقعیت حد واسط قرار گرفتند و پاسخ آنان به اسانس، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (p>۰/۰۵).

بحث

گیاهان توانایی قابل ملاحظه‌ای برای سنتز ترکیبات آروماتیک دارند. در بسیاری موارد، این ترکیبات به عنوان مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر حشرات و میکروارگانیسم‌ها به کار گرفته می‌شوند (۱۱).

بررسی‌های متعدد، بیانگر اثر بازدارندگی بارز بسیاری از اسانس‌های روغنی و عصاره گیاهان دارویی بر میکروب‌های مختلف شامل میکروارگانیسم‌های مسموم کننده و فاسد کننده، قارچ های رشته‌ای توکسیژنیک، مخمرهای بیماری‌زا و ویروس‌های جانوری و گیاهی هستند. گزارش‌های متعدد حاکی از تأثیر مهارکننده قوی اسانس و عصاره گونه‌های مختلف جنس سالویا مانند گونه‌های *سالویا رابیفولیا* (*S. rubifolia*)، *سالویا براکتیاتا* (*S. bracteata*) (۱ و ۲٤)، *سالویا پوتنتیفولیا* (*S. potentillifolia*) (۲۵)، *سالویا هیدرانجیا* (*S. hydrangea*) (۲٦)، *سالویا اسپلندنس* (*S. splendens*) (۲۷)، *سالویا اتیوپیس* (*S. aethiopis*)، *سالویا پراتنسیس* (*S. pratensis*) (۲۸) و *سالویا اسکلارآ* (۲۹ و ۳۰) بر گستره وسیعی از باکتری‌ها به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *سودوموناس آئروژینوزا* است.

شایان یادآوری است که تاکنون در مورد تاثیر اسانس گیاه نوروزک بر رشد باکتری‌های دهانی مقاله ای چاپ نشده است. نتایج پژوهش حاضر، نشان دهنده اثر ضد میکروبی چشمگیر اسانس نوروزک و ممانعت از رشد باکتری‌های مورد مطالعه، در تمام روش‌های مورد استفاده بود. اثر بازدارندگی از رشد و باکتریوسایدی با افزایش غلظت اسانس، به صورت وابسته به غلظت، افزایش یافت و غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مناسب ترین غلظت جهت مهار رشد باکتری‌ها بود. بر اساس یافته‌های حاصل از اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت از رشد و تعداد کلنی، در تمامی روش‌های مورد بررسی، باکتری‌های مورد مطالعه از نظر حساسیت به اسانس نوروزک تفاوت معنی‌داری

نسبت به یکدیگر داشتند. به طوری که *استرپتوکوکوس موتانس* بیشترین و *استرپتوکوکوس پیوژنز* کمترین حساسیت را نسبت به اسانس نشان دادند. در حالی که دو سویه دیگر یعنی *اکتینومایسس ویسکوسوس* و *استرپتوکوکوس سانگوئیس* در موقعیت حد واسط قرار گرفتند.

اگرچه برای کوکسی‌های گرم مثبت کارایی دو روش دیسک و چاهک از نظر بررسی خواص ضد میکروبی اسانس یکسان بود، اما توجه به تفاوت معنی‌دار در قطر هاله ممانعت از رشد در دو روش یاد شده برای باکتری میله‌ای *اکتینومایسس ویسکوسوس* می‌تواند حاکی از آن باشد که اثربخشی این دو روش ممکن است تا حدی تابع گونه باکتری باشد.

باوجود آن که بررسی‌های زیادی در مورد اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی صورت گرفته است، اما گزارش‌های معدودی در رابطه با بررسی تاثیر اسانس جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های دهانی وجود دارد. به عنوان نمونه، بهشتی روی (Beheshti-Rouy) و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که دهان‌شویه حاوی عصاره مریم گلی (*S. officinalis*) به طور موثری تعداد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* را در پلاک دندانی کاهش می‌دهد (۳۱). همچنین فعالیت باکتریوسایدی و مهار کنندگی رشد باکتری های دهانی دیگری مانند *استرپتوکوکوس موتانس*، *اکتینومایسس ویسکوسوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*) تحت تأثیر عصاره مریم گلی و پونه (*Mentha longifolia*) گزارش شده است (۳۲).

خاصیت ضد میکروبی قوی اسانس گیاهان *ساتوریا خوزستانیکا* (*Satureja khuzestanica*)، *ساتوریا بختیاریکا* (*S. bachtiarica*)، *زاتاریا مولتیفلورا* (*Zataria multiflora*) و *سالویا میرزایانی* (*Salvia mirzayanii*) بر باکتری‌های دهانی مختلف مانند *استرپتوکوکوس موتانس* و *استرپتوکوکوس سانگوئیس* گزارش شده است (۳۳). بر اساس نتایج بررسی الهواری (El-havari) و همکاران در سال ۲۰۱۳ اسانس *پلکترانتوس امبوینیکوس* (*Plectranthus amboinicus*)، از تیره نعناعیان، مانع از رشد عوامل بیماری زای دهانی مانند *استرپتوکوکوس موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* گردید (۳٤). نتیجه مشابه دیگری نیز در سال ۲۰۱۵ در رابطه با باکتری‌های دهانی *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس سالیواریوس* (*S. salivarius*) و *استرپتوکوکوس میتیس* (*S. mitis*) تحت تأثیر اسانس دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*) گزارش شده است (۳۵).

مشخص شده است که خاصیت ضد باکتری اسانس‌ها مربوط به مونوترپن‌های اکسیژنه (نظیر ۱ و ۸ سینئول) و سزکوئی ترپن‌های با وزن مولکولی پایین (نظیر α-مورولول) می باشد (۳٦). همچنین ترکیباتی مانند ۱ و ۸-سینئول، کامفور، α-پینن، β-پینن، سابینن و α-ترپینئول در اسانس موجود در بخش هوایی گیاهان اثر ضد میکروبی دارند. نتایج حاصل از آنالیز GC-MS نشان داد که مونوترپن‌های هیدروکربنی فراوان‌ترین ترکیبات و β-پینن، α-مورولول، α-پینن و ۱و ۸-سینئول، چهار ترکیب عمده اسانس نوروزک می‌باشند. در بررسی انجام شده توسط روستائیان (Rustaiyan) و همکاران نیز مونوترپن‌های هیدروکربنی به عنوان فراوان‌ترین ترکیبات و β-پینن، ۱ و ۸-سینئول، α-پینن و α-کادینن به عنوان اجزای اصلی گزارش شدند (۳۷ و ۳۸).

بر اساس گزارش منفرد (Monfared) و قربانلی (Ghorbanli) در سال ۲۰۱۰، مونوترپن‌ها بیشترین میزان را در اسانس گیاه نوروزک داشتند. اما ۱ و ۸-سینئول، کامفور، α-پینن و کامفن به ترتیب فراوان‌ترین اجزای اسانس بودند (۳۹). به طور کلی تغییرات کیفی و کمی اجزای تشکیل دهنده اسانس در گیاه نوروزک می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط اقلیمی، زمان و محل جغرافیایی نمونه‌برداری باشد (۳۹). شایان یادآوری است که β-پینن و α-پینن متعلق به گروه مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۱ و ۸- سینئول از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و α-مورولول از گروه سزکوئی ترپن‌های اکسیژن‌دار هستند. با توجه به مشکلات روزافزون استفاده از عوامل ضد میکروبی شیمیایی مانند عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی، استفاده از مواد طبیعی و اسانس‌های گیاهی می‌تواند به عنوان یک راهکار جایگزین و کاربردی جهت کنترل بیماری‌ها مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و اثر ضد باکتریایی قابل ملاحظه اسانس برگ گیاه نوروزک بر روی باکتری‌های بی‌هوازی دهانی، این اسانس می‌تواند به عنوان یک فرآورده طبیعی ضد باکتری برای تهیه دهان شویه‌های طبیعی بدون عوارض نامطلوب جانبی جهت کنترل بیماری‌های دهان و دندان مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل تامین هزینه های مالی و از کارکنان محترم آزمایشگاه میکروب شناسی بیمارستان قائم، آزمایشگاه مفردات پزشکی دانشکده داروسازی و دانشگاه علوم پزشکی مشهد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Khalil A, Hassawi DS, Kharma A. Genetic relationship among *Salvia* species and antimicrobial activity of their crude extract against pathogenic bacteria. Asian J Plant Sci. 2005; 4(5): 544-549.
2. Pierozan MK, Pauletti GF, Rota L, Santos ACA, Lerin LA, Diluccio M, Mossi AJ, Atti-Serafini L, Cansian RL, Oliveira JV. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. Cienc Tecnol Aliment. 2009; 29(4): 764-770.
3. Rechinger KH. Flora Iranica. Graz. Academische Druk und Verlagsantalt; 1982; 150: 582.
4. Hosseinzadeh H, Imenshahidi M. Effects of aqueous and alcoholic extract of seeds and leaves of *Salvia leriifolia* on viability of rats exposed to hypoxia. Iran J Basic Med Sci. 1999; 2: 75-78. [In Persian]
5. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Imenshahidi M, Fazly Bazzaz BS. Review of the pharmacological and toxicological effects of *Salvia leriifolia*. Iran J Basic Med Sci. 2009; 12: 1-8.
6. Hosseinzadeh H, Yavary M. Anti-inflammatory effect of *Salvia leriifolia* Benth. leaf extract in mice and rats. Pharm Pharmacol Lett. 1999; 2: 60-61.
7. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Hosseini E. Anti-ulcer effect of *Salvia leriifolia* Benth leaf extract in mice. Pharm Pharmacol Lett. 2000; 10: 63-64.
8. Farhoosh R, Purazrang H, Haddad-Khodaparast MH, Rahimizadeh M, Seyedi SM. Extraction and separation of antioxidative compounds from *Salvia leriifolia* leaves. J Agr Sci Tech. 2004; 6: 43-50.
9. Hadad Khodaparast MH, Haghdoost A, Elhami-Rad AH, Movahhed G, Karazhiyan H. 2006. Antioxidant activity and thermal Properties of *salvia leriifolia* (Norozak) root extract. Proceedings of the 2nd International Conference on Innovations in Food and Bioprocess Technologies. 12-14 Dec, Pathumthani, Thailand. 378-383.
10. Rota MC, Herrera A, Martinez RM, Sotomayor JA, Jordan MJ. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food Control. 2008; 19: 681-687.
11. Vakili E, Amjad L, Karbasizade V. Antibacterial properties of *Anthemis gayana* leaves essential oil. Int J Agric Crop Sci. 2013; 5(13): 1464-1467.

12. Najafi S, Mousavi SM, Shafaghat M. Investigation of phytochemical properties, antioxidant and antibacterial activities of *Salvia sharifii* using microdilution method. Iran J Infect Dis Trop Med. 2016; 71: 33-39. [In Persian]

13. Mahdavi M, Jouri MH, Mahzooni-Kachapi S,Halimi-jelodar S. Study of chemical composition and antibacterial effects of essential oils of *Stachys lavandulifolia* Vahl., *Salvia verticillata* L., and *Tanacetum polycephalum* Schultz-Bip. on some microbial lineages. Int J Farm Alli Sci. 2015; 4(3): 197-206.

14. Saleempour F, Mazouji A, Mazhar SF, Barzin G. Comparison of the antibacterial properties of essential oils of four species of *Salvia*. Res in Med. 2014; 37(4): 205-20. [In Persian]

15. Yadollahi A, Firouznia A, Rajab Zadeh Gh. Chemical composition and antibacterial properties of the essential oil of *Salvia chloroleuca* in North Khorassan Province. J North Khorasan Uni Med Sci. 2012; 4: 69-76. [In Persian]

16. Paknejadi M, Foroohi F, Yousefzadi M. Antimicrobial activities of the essential oils of five *Salvia* species from Tehran Province, Iran. J Paramed Sci. 2012; 3(2): 12-18.

17. Chalabian F, Norouzi H, Mousavi S. Antimicrobial effects of seven plant species from different families on some pathogenic bacteria. J Med Plants. 2003; 7: 37-42.

18. Batooli H, Safaei-Ghomi J, Haghir-Ebrahim-Abadi A, Masoomi R. Evaluating the chemical composition of the essential oil obtained from the vegetative and reproductive organs and an antimicrobial activity of essential oil and extract of two *Salvia* species in Kashan region. Feyz J Kashan Uni Med Sci. 2013; 16(6): 536-545. [In Persian]

19. Rezaei MB, Jaymand K. editors. Essential oils, distillations apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis. Tehran, Iran. Iranian Society of Medicinal Plants; 2006. [In Persian]

20. Koneman EW, Allen SD, Janda WM. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 4th ed. New York, USA. Lippincott Williams and Wilkins; 1992.

21. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 9th ed. St. Louis, MO, USA. Mosby; 1994.

22. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. St. Louis, MO, USA. Mosby Elsevier; 2007.

23. Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Int J Antimicrob Agents. 2001; 17: 527-529.

24. Cardile V, Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Arnold NA, Piozzi F. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia Rubifolia* from Lebanon: chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. J Ethnopharmacol. 2009; 126(2): 265-272.

25. Kivrak I, Duru ME, Ozturk M, Harmandar M, Topcu G. Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. Food Chem. 2009; 116(2): 470-479.

26. Kotan R, Kordali S, Caki, A, Kesdek M, Kaya Y, Kilic H. Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. Ex Benth. Biochem Sys Ecol. 2008; 36: 360-368.

27. ZiaKhan F, Asif-Saeed M. Phytochemical and antimicrobial studies of *Salvia splendens* Sello. Pak J Pharm Sci. 1998; 11(2): 13-21.

28. Velickovic D, randjelovic NV, Ristic MS, Smelcerovic AA, velickovic AS. Chemical composition and antimicrobial action of the ethanol extracts of *Salvia pratensis* L., *Salvia glutinosa* L. and *Salvia aethiopis* L. J Serb Chem Soc. 2002; 67(10) :639-646.

29. Gulcin I, Ugoz MT, Oktay M, Beydemir V, Kufrevioglu OI. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.). Turk J Agric For. 2004; 28: 25-33.

30. Kuzma L, Kalemba D, Rozalski M, Rozalska B, Wieckowska-Szakiel M, Krajewska V, Wysokinska H. Chemical composition and biological activities of essential oil from *Salvia sclarea* plants regenerated *in vitro*. Molecules. 2009; 14(4): 1438-1447.

31. Beheshti-Rouy M, Azarsina M, Rezaie-Soufi L, Alikhani MY, Roshanaie G, Komaki S. The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: a randomized clinical trial. Iran J Microbiol. 2015; 7(3):173-177.

32. Kermanshah H, Hashemi Kamangar SS, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M, Jebel Amel F. *In vitro* evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Menta longifolia* against three cariogenic bacteria. J Dent Sch. 2011; 28(4): 232-237.

33. Zomorodian K, Ghadiri P, Saharkhiz MJ, Moen MR, Meriar P, Bahrani F, Golzar T, Pakshir K, Fani MM. Antimicrobial activity of seven essential oils from Iranian aromatic plants against common causes of oral infections. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(2): e17766.

34. El-Hawary SS, El-Sofany RH, Abdel-Monem AR, Ashour RS, Sleem AA. Seasonal variation in the composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil and its biological activities. Am J Essent Oils Nat Prod. 2013; 1(2): 11-18.

35. Zainal-Abidin Z, Mohd-Said S, Abdul Majid FA, Mustapha WAW, Jantan I. Anti-bacterial activity of *Cinnamon* oil on oral pathogens. The Open Conf Proc J. 2013; 4(Suppl-2, M4): 12-16.

36. Omid-Beigi R. Approaches to production and processing of medicinal plants. Tehran, Iran. Tarahan Nashr Press; 1997. [In Persian]

37. Rustaiyan A, Masoudi S, Yari M, Rabani M, Motiefa, HR, Larijani K. Essential oil of *Salvia leriifolia* Benth. J Essent Oil Res. 2000; 12(5): 601-602.

38. Rustaiyan A, Shafeghat A, Masoudi S, Akhlaghy H, Tabatabaei M. Essential oil of *Salvia leriifolia* Benth. J Essent Oil Bear Pl. 2007; 10: 121-126.

39. Monfared A, Ghorbanli M. Composition of the essential oils of *Salvia leriifolia* Benth. Growing wild in around of two mine in Iran. Res J Phytochem. 2010; 4(1): 13-17.

Journal of Microbial World
Volume 9, No. 3, September 2016

Original Article

Antibacterial effect of essential oils from *Salvia leriifolia* Benth. against some oral pathogens

Parvaneh Abrishamchi[1], Mehrangiz Khaje Karamadini[2], Reihaneh Houshyar-Sarjami[3] Arehzoo Zaker[4], Javad Asili[5], Hassan Porsa[6], Reza Zarif[7]

[1]Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [2]Professor, Microbiology and Virology Research Centre, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. [3]MS.c., Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [4]Ph.D., Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [5] Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. [6]MS.c., Pulses Research Group, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [7]MS.c., Department of Microbiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Abstract

Background & Objectives: *Salvia leriifolia* Benth. is a native medicinal plant species of Razavi Khorasan province, which possesses valuable pharmacological properties including antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, analgesic and sedative activities. In this study (basic/applied), antibacterial activity of essential oils from *S. leriifolia* against anaerobic bacteria cause oral-pharynx infections was investigated.

Materials & Methods: Aerial parts of *S. leriifolia* were collected at flowering stage from Bajestan in Razavi Khorasan Province. Essential oils were obtained using stem distillation methods and were analysed by GC-MS. Effects of different concentrations of essential oils (6.25, 12.5, 25 and 50 mg/ml) against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus* were evaluated by agar disk diffusion, hole-plate diffusion, common calibrated, agar dilution and broth dilution methods.

Results: Among 35 compounds identified in *S. leriifolia* essential oils, β-pinene (23.35%), α-muurolol (17.11%), α-pinene (14.13%) and 1,8 cineole (13.25%) were the main compounds, respectively. Essential oil of *S. leriifolia* had significant inhibitory effect on the growth of all bacteria in a dose- dependent manner, so that maximum inhibitory effect was observed at concentration of 50 mg/ml. *S. mutans* (MBC=31.99 mg/ml, MIC=13.98 mg/ml) was the most sensitive bacterium and *S. pyogenes* (MBC=51.99 mg/ml, MIC=25.32 mg/ml) was the most resistance one.

Conclusion: Essential oils of *Salvia leriifolia* can be used as a natural product in herbal mouthwashes to control oral pathogens.

Keywords: *Salvia leriifolia*, Essential oil, Antibacterial activity, Oral pathogen.

Correspondence to: Parvaneh Abrishamchi

Tel: +98 9151246726

E-mail: abrisham@um.ac.ir

Journal of Microbial World 2016, 9(3): 215-225.