

ارزیابی عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با کلرهگزیدین ۲/۰٪ بر شمار باکتری استرپتوکوک موتانس: یک مطالعه آزمایشگاهی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۹

چکیده

نفیسه فالاح^۱
آزاده بابائی^{۲*}
زهرامومنی^۲

زمینه و هدف: پوسیدگی دندان، به دلیل شیوع فراوان و هزینه‌های بالا به عنوان یک مشکل سلامت دهان و دندان و همچنین، سلامت عمومی شناخته می‌شود که البته با انجام مداخلات زودهنگام می‌توان از ایجاد آن پیشگیری نمود. یکی از این مداخلات در جهت پیشگیری از پوسیدگی، استفاده از دهانشویه‌های آنتی میکروبیال می‌باشد. در این راستا، دهانشویه کلرهگزیدین به عنوان یک استاندارد طلایی است که در کنار خاصیت آنتی میکروبیال، دارای عوارض جانبی مانند تغییر حس چشایی، تغییر رنگ دندان‌ها و سوزش دهان می‌باشد. بنابراین، در این پژوهش با توجه به عوارض جانبی دهانشویه‌های شیمیایی، جایگزینی عصاره‌های گیاهی با آنها جهت پیشگیری از ایجاد پوسیدگی دندان مدنظر بوده است.

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر آنتی میکروبیال عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین ۲/۰٪ بر روی شمار باکتری استرپتوکوک موتانس بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه آزمایشگاهی شامل چهار مرحله بود. در مرحله اول عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی تهیه گردید و دهانشویه کلرهگزیدین و آب مقطر به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شدند. سپس در آزمایش Well Diffusion Agar قطر هاله تشکیل شده در غلظت ۱۰۰۰۰۰ ppm برای عصاره‌های مذکور و دهانشویه کلرهگزیدین ثبت شد. در مرحله بعد، MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) عصاره‌ها و دهانشویه کلرهگزیدین تعیین گردید. در نهایت باکتری استرپتوکوک موتانس در محیط‌های کشت شمارش شدند. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS ۲۶٫۰ تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: در آزمایش Well Diffusion Agar، قطر هاله عدم رشد باکتری در دهانشویه و عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی برابر ۱۹ mm، صفر و ۱۳ mm برآورد شد. مقادیر MIC برای این گروه‌ها به ترتیب برابر ۶۲۵۰، ۵۰۰۰۰ و بالاتر از ۱۰۰۰۰۰ ppm و مقادیر MBC آنها معادل، ۱۲۵۰۰، ۱۰۰۰۰۰ و بالاتر از ۱۰۰۰۰۰ ppm برآورد شد. از نظر درصد کاهش شمار باکتری‌های زنده در گروه‌های مختلف در ۳۰ دقیقه و ۶ ساعت تفاوت‌های معنی‌داری وجود داشت ($p < ۰,۰۱$). بیشترین اثر کاهش باکتری، در ۳۰ دقیقه به ترتیب، در دهانشویه کلرهگزیدین، کرفس کوهی و شنبلیله و در ۶ ساعت به ترتیب، در کرفس کوهی، دهانشویه کلرهگزیدین و شنبلیله ثبت گردید.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، عصاره برگ و دانه شنبلیله اثر ضد باکتریایی کم و عصاره کرفس کوهی اثر ضدباکتریایی قابل مقایسه‌ای با دهانشویه کلرهگزیدین بر علیه باکتری استرپتوکوک موتانس از خود نشان دادند.

واژگان کلیدی: پوسیدگی دندان، کلرهگزیدین، باکتری استرپتوکوک موتانس، داروهای گیاهی، حداقل غلظت بازدارنده

۱ عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۲ استادیار گروه سلامت دهان و دندانپزشکی اجتماعی، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

*نویسنده مسئول:

استادیار گروه سلامت دهان و دندانپزشکی اجتماعی، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
ایمیل: azadeh.t.babaei@gmail.com
تلفن: ۰۲۶-۳۳۵۳۱۶۱۴

مقدمه

سلامت دهان، بخشی اساسی از سلامت عمومی است و دارای تأثیرات مهمی بر روی کیفیت زندگی می‌باشد.^۱ همچنین یکی از مؤلفه‌های دهان سالم، دهانی عاری از پوسیدگی دندان می‌باشد.^۲ امروزه پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مزمن در بیشتر کشورها به حساب می‌آید.^۳ با توجه به شیوع بالای پوسیدگی دندان و بالا بودن هزینه‌های درمان آن، همچنین عدم بازبانی کامل سلامت و عملکرد دندان دارای حفره پوسیدگی، حتی پس از طرح درمان‌های پیشرفته، تنها راه اصولی در جهت مقابله و جلوگیری از وقوع پوسیدگی، پیشگیری از ایجاد این بیماری می‌باشد.^۴ از جمله روش‌های پیشگیری، کاهش دریافت مواد قندی و رعایت بهداشت دهان و دندان (استفاده از مسواک، نخ دندان، واریش و دهانشویه) می‌باشد.^{۵،۶}

چهار عامل اصلی ایجاد پوسیدگی شامل فلور میکروبی، زمان، وجود کربوهیدرات و دندان می‌باشد، که از این میان، میکروب‌های اصلی دخیل در ایجاد پوسیدگی، استرپتوکوک موتانس‌ها هستند.^۸ در این راستا کلرهگزیدین، رایج‌ترین دهانشویه آنتی باکتریال به عنوان استاندارد طلایی در کنترل پلاک در نظر گرفته می‌شود.^۹ که در کنار این خاصیت، دارای عوارض جانبی از جمله تغییر رنگ دندان‌ها و نسوج سخت دندانی، تغییر حس چشایی، تشکیل جرم، آلرژی، طعم ناخوشایند دهان، سوزش و خشکی دهان، پوسته پوسته شدن لثه، گاهی اروژن مخاط و اثرات سیستمیک منفی در صورت بلع می‌باشد.^{۱۰،۹}

بنابراین، با توجه به عوارض جانبی بیان شده و از طرفی اثبات خاصیت درمانی مشابه برخی عصاره‌های گیاهی با عوارض جانبی به مراتب کمتر، در تحقیقات اخیر گیاهان و عصاره‌های گیاهی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند.^{۱۱}

گیاه شنبلیله، با نام علمی *Trigonella foenum-graceum* L. یک گیاه علفی یکساله از تیره Leguminosae است. این گیاه سرشار از متابولیت‌های متنوعی مانند تانن‌ها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و گلیکوزیدها است که به داشتن خواص ضد میکروبی معروف هستند.^{۱۲،۱۳} همچنین این گیاه دارویی، در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری برای آن ذکر شده است.^{۱۳}

گیاه کرفس کوهی، با نام علمی *Kelussia odoratissima*

Mozaff از گونه‌های شناخته شده دارویی و علوفه‌ای بومی مناطق خاصی از ایران است.^{۱۴} این گیاه نیز با داشتن ترکیباتی مانند فلاونوئیدها دارای اثرات ضدویروس، ضد دیابت و ضد مسمومیت می‌باشد.^۱ همچنین از جمله گیاهانیست که خاصیت آنتی باکتریال آن ثابت شده است.^{۱۶} بنابراین، در این پژوهش، از میان خواص ذکر شده برای عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی به بررسی خاصیت آنتی باکتریال این دو عصاره پرداخته شده و هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ روی شمار باکتری استرپتوکوک موتانس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، یک مطالعه آزمایشگاهی بود که با هدف تعیین خاصیت آنتی باکتریال عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ پس از کسب کد اخلاق (IR.ABZUMS. REC.۱۴۰۱،۰۰۴) از دانشگاه علوم پزشکی البرز، در آزمایشگاه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی دانشگاه تهران صورت پذیرفت.

مرحله اول: تهیه مواد اولیه

در این مرحله، کلیه مواد اولیه لازم جهت انجام مطالعه تهیه گردید. در این راستا، ابتدا از گیاهان شنبلیله و کرفس کوهی، عصاره‌های خالص تهیه گردید. بدین صورت که، ۳۰۰ گرم از گیاه شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graceum* L. و کد بازار دارویی T01-054-S و برگ این گیاه با کد بازار دارویی T01-055-L و همین مقدار از گیاه کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima mozaff* و کد بازار دارویی K01-018-L تهیه گردید. پس از اضافه نمودن حلال هیدروالکلی ۸۰ درصد به این گیاهان، به مدت ۴۸ ساعت در محیط خنک و تاریک نگهداری شده و پس از آن، با صاف کردن محلول، جداسازی عصاره‌ها از باقی مانده گیاه انجام شد. این عمل سه بار تکرار شد و محلول حاصل، جهت تبخیر حلال هیدروالکلی، به دستگاه روتاری منتقل شد. به این ترتیب، عصاره‌های خالص شنبلیله و کرفس کوهی تهیه شدند (شکل ۱). همچنین، باکتری استرپتوکوک موتانس از سویه ATCC 25175 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC) و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ (برند تجاری خاص) (به عنوان کنترل مثبت) و آب مقطر (به عنوان کنترل منفی) از داروخانه تهیه و خریداری شدند.



شکل ۱- عصاره برگ و دانه شنبلیله و برگ کرفس کوهی

مرحله سوم: تعیین MIC^۱ و MBC^۲

در این مرحله، میزان مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین ۰.۰۲٪ بر روی باکتری استرپتوکوک موتانس بررسی گردید.

الف) تعیین MIC

MIC، روندی است که در طی آن حداقل غلظت مواد که باعث مهار رشد باکتری می‌شود، مشخص می‌گردد. در این مطالعه، جهت تعیین MIC مواد، پلیت‌های ۴۸ خانه‌ای استریل (چاهک‌ها) انتخاب گردید. در هر کدام از چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع مولر هیتون براث افزوده شد. چاهک اول، به عنوان شاهد برای محیط کشت (Media) و چاهک دوم، به عنوان شاهد برای محیط کشت و باکتری (Media+Bacteria) در نظر گرفته شد. برای نمونه شنبلیله از ترکیب عصاره برگ و دانه با نسبت ۵۰٪ استفاده شده و نیز، نمونه عصاره شنبلیله به دلیل آلودگی میکروبی اولیه، در دمای ۱۰۰°C به مدت ۱۰ دقیقه در اتوکلاو استریل شد. در سومین چاهک، عصاره‌های مذکور و دهانشویه با غلظت ۱۰۰۰۰۰ ppm (که در آزمایش انتشار در چاهک مشخص گردید) به محیط کشت اضافه شده

مرحله دوم: آزمایش Well Diffusion Agar

پس از تهیه مواد اولیه، در مرحله بعد، آزمایش Well Diffusion Agar جهت تعیین هاله مهار رشد باکتری استرپتوکوک موتانس بر هریک از عصاره‌های مذکور و دهانشویه صورت پذیرفت. این روش، همان روش انتشار در چاهک است که روشی کیفی برای اثبات خاصیت آنتی باکتریال مواد به صورت تشکیل هاله مهار رشد باکتری در محیط کشت مخصوص خود به نام مولر هیتون آگار می‌باشد.

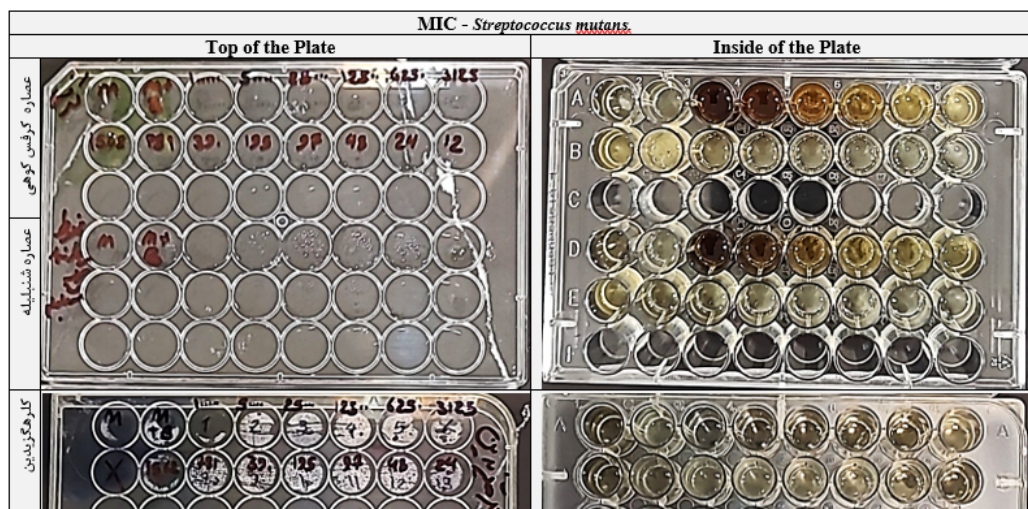
در این روش، ابتدا تعداد استاندارد ("CFU/mL" $10^6 \times 1$) باکتری استرپتوکوک موتانس، با استفاده از سوآپ پنبه‌ای به صورت سطحی در محیط کشت جامد مولر هیتون آگار کشت داده شد. در ادامه، داخل پلیت‌ها به وسیله سیلندر استریل، چاهک‌هایی با قطر ۴ میلی متر با فاصله مناسب از هم ایجاد شد. سپس، ۵۰ تا ۸۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با غلظت ۱۰۰۰۰۰ ppm به وسیله سرسمپلر استریل در داخل چاهک‌ها ریخته شد. در ادامه پلیت‌ها در دمای 37 ± 5 درجه به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در گرماخانه در جابجایی هوایی قرار داده شدند. پس از گرماخانه گذاری، قطر هاله به وسیله کولیس به میلی متر گزارش گردید.

1 Minimum Inhibitory Concentration

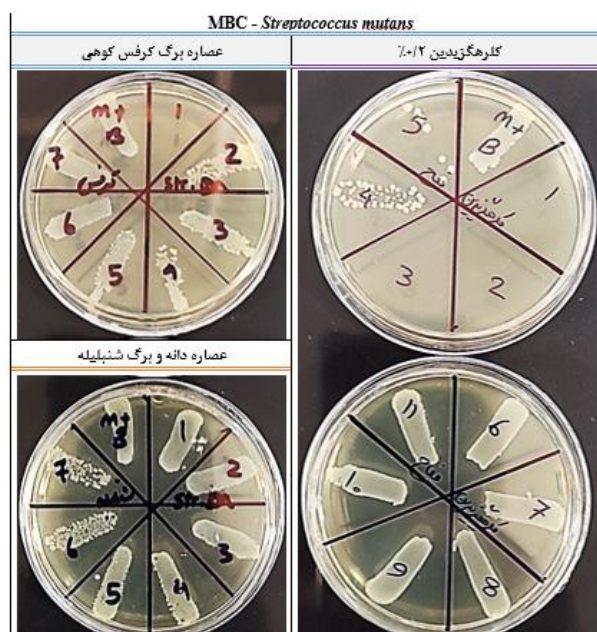
2 Minimum Bactericidal Concentration

مدت ۴۸ ساعت گرماخانه‌گذاری شدند؛ پس از گرماخانه‌گذاری، با توجه به اینکه چاهک‌های شفاف، نشانه عدم رشد باکتری و چاهک‌های کدر، نشانه رشد باکتری می‌باشند، کمترین غلظت عصاره‌ها که باعث مهار رشد باکتری و شفاف شدن چاهک گردید، به عنوان MIC نمونه‌ها در نظر گرفته شد (شکل ۲).

و در چاهک‌های بعدی تا غلظت ۱۲ ppm به نسبت ۱ به ۱ رقیق سازی گردید. بعد از رقیق کردن متوالی عصاره‌ها، به همه چاهک‌ها به جز چاهک اول میزان مساوی از باکتری استرپتوکوک موتانس 10^6 "۱۰" "۱x" اضافه شد. بعد از تلقیح باکتری، پلیت‌ها در جار بی هوازی در دمای ۳۷ درجه به



شکل ۲- تعیین MIC عصاره‌ها و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪



شکل ۳- تعیین MBC عصاره‌ها و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪

ب) تعیین MBC

بعد از تعیین MIC مواد مذکور، MBC آنها نیز مشخص گردید. MBC، روندی است که در طی آن حداقل غلظت کشندگی مواد مشخص می‌گردد. برای تعیین اولین غلظت کشندگی عصاره‌ها و دهانشویه در چاهک، از غلظت "چاهک‌هایی که MIC عصاره‌ها و دهانشویه در آن مشاهده گردید"، شروع کرده و در جهت غلظت‌های بالاتر از آن در پلیت‌های ^۸خانه‌ای، روند کار ادامه پیدا کرد. سپس باکتری به میزان مساوی به چاهک‌های حاوی عصاره و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ اضافه گردید. در ادامه، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت در جار بی هوازی قرار داده شد و کمترین غلظتی که در آن عدم رشد باکتری استرپتوکوک موتانس مشاهده شد، به عنوان MBC عصاره‌های شنبلیله، کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ در نظر گرفته شد (شکل ۳).

مرحله چهارم: روش Viable Cell Count

Viable Cell Count، روش کمی اثبات خاصیت آنتی باکتریال مواد می‌باشد. به این صورت که در این روش، باکتری‌ها شمارش شده و خاصیت آنتی باکتریال، به شکل درصد و کاهش لگاریتم گزارش می‌شود. در این مرحله، ابتدا عصاره‌های مذکور با غلظت‌های یکسان (ppm ۵۰۰۰۰) و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ در محیط کشت مایع مولر هیتون براث ریخته شد و سپس، تعداد (CFU/mL 10^6 "۱۰" "۱x") باکتری استرپتوکوک موتانس به محیط‌های کشت اضافه گردید.

در گام بعد، محیط‌های کشت حاوی عصاره و دهانشویه به همراه باکتری در شیکر (دمای ۳۷ درجه و ۱۰۰rpm) قرار داده شد. سپس در زمان‌های ۳۰ دقیقه، ۶ ساعت و ۲۴ ساعت، مقدار ۰/۱cc از محلول‌ها با میله L شکلی روی محیط کشت جامد تریپتیک سوی آگار با روش spread plate کشت داده شد. در ادامه، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در جار بی‌هوازی گرماخانه گذاری شدند. در نهایت، تعداد کلنی باکتری بر اساس تعداد سلول‌های زنده در واحد حجم (CFU/mL) به شکل درصد و لگاریتم کاهش محاسبه شدند و شمارش آنها (تعداد کلنی باکتری)، برای هر یک از عصاره‌های گیاهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲ درصد ۷ مرتبه تکرار گردید. جهت تأیید نتایج به دست آمده از این آزمایش، آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۰/۲۶ صورت گرفت. سطح معنی داری نیز، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از انجام مراحل آزمایشگاهی و مشاهده و ثبت گزارشات بدست آمده، نتایج مطالعه حاضر، در سه بخش مختلف شامل:

۱- Well Diffusion Agar

۲- MIC و MBC

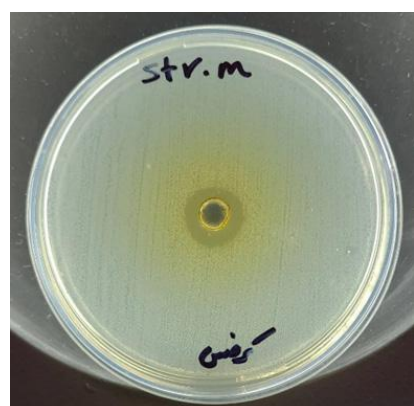
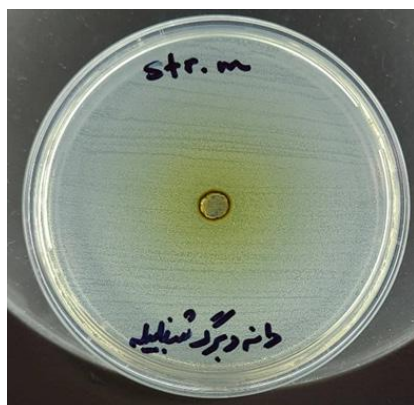
۳- Viable Cell Count

توصیف و تحلیل گردید.

نتایج آزمایش Well Diffusion Agar

در آزمایش well diffusion agar، قطر هاله عدم رشد برای گونه گرم مثبت استرپتوکوک موتانس در دهانشویه برابر ۱۹mm، برای عصاره برگ و دانه سنبله در غلظت ۱۰۰۰۰۰ppm برابر صفر و برای عصاره کرفس کوهی در همین غلظت برابر ۱۳mm گزارش شد. بدین ترتیب، قطر هاله کلرهگزیدین ۰/۲٪ از دو عصاره سنبله و کرفس کوهی بیشتر بوده

است (شکل ۴)؛ همچنین اختلاف زیادی بین قطر هاله عدم رشد عصاره سنبله با عصاره کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین دیده شده ولی قطر هاله عدم رشد عصاره کرفس کوهی قابل مقایسه با دهانشویه بوده است. براین اساس، حساسیت مناسب باکتری استرپتوکوک موتانس در برابر عصاره کرفس کوهی در این تحقیق دیده شد. برای آب مقطر هم به عنوان کنترل منفی، هاله ای تشکیل نگردید.



شکل ۴- نتایج آزمایش well diffusion agar با غلظت ۱۰۰۰۰۰ppm

نتایج آزمایشات MIC و MBC

در ادامه، همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود،

MIC به ترتیب ppm >100000 ، ۵۰۰۰۰ و ۶۲۵۰ و

MBC آنها به ترتیب ppm >100000 ، ۱۰۰۰۰۰ و ۱۲۵۰۰ گزارش

شده است. براساس نتایج بدست آمده حداقل غلظت مهار کنندگی و

کشدگی دهانشویه کمتر از عصاره‌ها بوده و این پارامتر برای عصاره کرفس کوهی کمتر از عصاره شنبلیله گزارش شده است. براساس نتایج مشاهده شده باکتری استرپتوکوک موتانس حساسیت بیشتری در برابر دهانشویه کلرهگزیدین نشان داده است و در مقایسه عصاره‌ها، این باکتری، حساسیت بیشتری در برابر کرفس کوهی داشت.



MBC (Minimum Bactericidal Concentration): حداقل غلظت باکتری کشی
MIC (Minimum Inhibitory Concentration): حداقل غلظت مهار کنندگی

نمودار ۱-مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی و کشدگی باکتری، برای عصاره شنبلیله، کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪

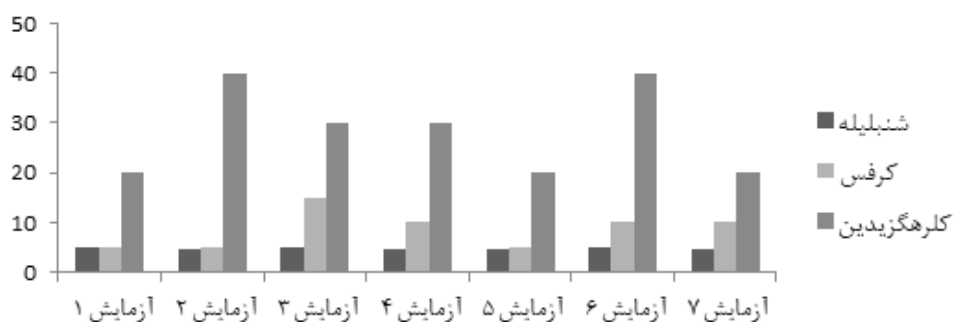
۳) نتایج آزمایش Viable Cell Count

در مرحله بعد، شمارش باکتری استرپتوکوک موتانس قبل و بعد از تأثیر عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ صورت پذیرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، میانگین درصد کاهش باکتری بعد از ۳۰ دقیقه برای عصاره شنبلیله، عصاره کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین در نمودار ۲ مشاهده می‌شود.

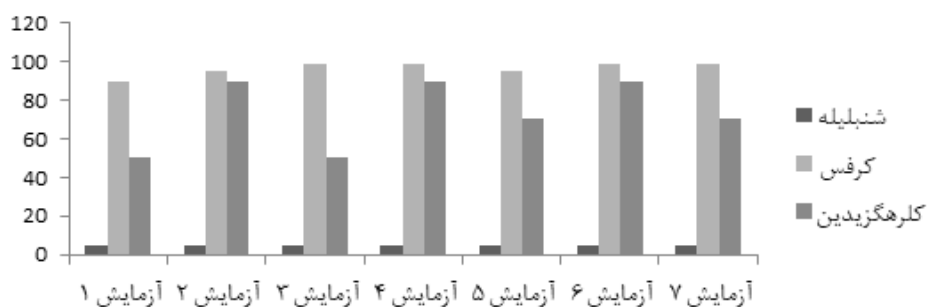
نمودار لگاریتم و درصد کاهش باکتری استرپتوکوک موتانس نیز برای هر یک از عصاره‌های گیاهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ در شکل ۸ مشاهده می‌شود.

بنابراین، بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که با گذشت زمان، میزان کاهش تعداد باکتری در عصاره کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین بیشتر شده است. همچنین، تأثیر عصاره کرفس کوهی در کاهش تعداد باکتری، بعد از گذشت ۶ ساعت، بیشتر از دهانشویه کلرهگزیدین ثبت گردیده است؛ که نشان از حساسیت بیشتر این باکتری در برابر عصاره مذکور می باشد.

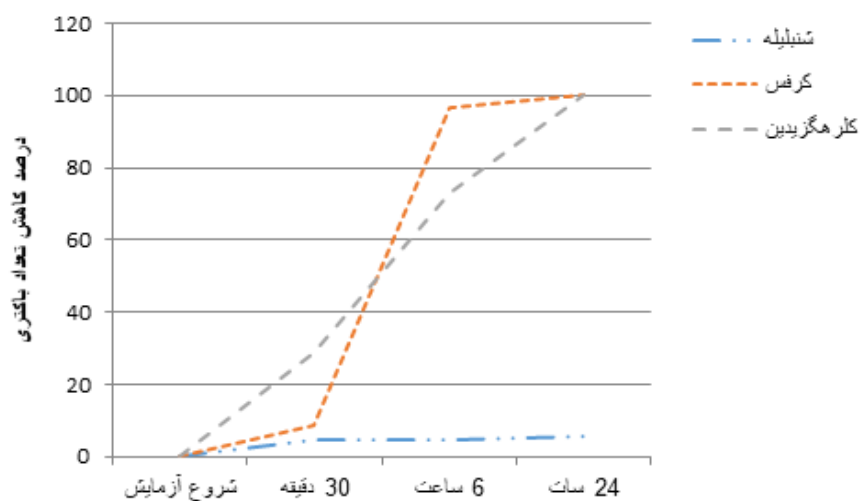
درصد کاهش تعداد باکتری استرپتوکوک موتانس پس از ۳۰ دقیقه



درصد کاهش تعداد باکتری استرپتوکوک موتانس پس از ۶ ساعت



نمودار ۲- درصد کاهش شمار باکتری استرپتوکوک موتانس، ۳۰ دقیقه و ۶ ساعت پس از تأثیر عصاره‌های برگ و دانه شنبلیله، کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین، در غلظت ۵۰۰۰۰ ppm



نمودار ۳- درصد و لگاریتم کاهش باکتری استرپتوکوک موتانس ۳۰ دقیقه و ۶ ساعت پس از شروع آزمایش برای عصاره شنبلیله کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین ۰,۲٪ در غلظت ۵۰۰۰۰ ppm

بودن واریانس‌ها هم که با استفاده از آزمون Levene انجام شد، مشخص گردید واریانس مقادیر درصد کاهش باکتری در زمان‌ها و در گروه‌های مختلف همگن نیستند ($p < 0/05$). به دلیل عدم تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال در تمام گروه‌ها، عدم برقراری فرض همگن بودن داده‌ها و نیز تعداد اندک نمونه‌ها در گروه‌ها (۷ نمونه) از آزمون‌های ناپارامتری برای مقایسات آماری استفاده شد. نتایج آزمون‌های آماری را در جدول ۲ گزارش گردیده است.

برای آنالیزهای آماری، در ابتدا تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال با آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Shapiro-will ارزیابی شده و طبق نتایج این آزمون‌ها، درصد کاهش باکتری استرپتوکوک موتانس در زمان‌های ۳۰ دقیقه و ۶ ساعت در کاربرد عصاره شنبلیله و نیز در زمان ۶ ساعت در کاربرد عصاره کرفس کوهی از توزیع نرمال تبعیت نمی‌کردند. در سایر گروه‌ها و زمان‌ها، تبعیت داده‌های کاهش باکتری از توزیع نرمال تأیید گردید (جدول ۱). از طرف دیگر، در بررسی برقراری فرض همگن

زمان	گروه	آزمون Kolmogorov-Smirnov			آزمون Shapiro-Wilk		
		آماره	درجه‌ی آزادی	P value	آماره	درجه‌ی آزادی	P value
۳۰ دقیقه	شنبلیله	۰/۳۶۰	۷	۰/۰۰۷	۰/۶۶۴	۷	۰/۰۰۱
	کرفس کوهی	۰/۲۵۶	۷	۰/۱۸۲	۰/۸۳۳	۷	۰/۰۸۶
	کلرهگزیدین	۰/۲۵۸	۷	۰/۱۷۴	۰/۸۱۸	۷	۰/۰۶۲
۶ ساعت	شنبلیله	۰/۳۶۰	۷	۰/۰۰۷	۰/۶۶۴	۷	۰/۰۰۱
	کرفس کوهی	۰/۳۳۰	۷	۰/۰۲۰	۰/۷۶۰	۷	۰/۰۱۶
	کلرهگزیدین	۰/۲۵۸	۷	۰/۱۷۴	۰/۸۱۸	۷	۰/۰۶۲

جدول ۱- نتایج آزمون‌های Shapiro-Wilk و Kolmogorov-Smirnov در بررسی وضعیت تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال

جدول ۲- نتایج آزمون های آماری

نتیجه	رد یا عدم رد فرض صفر در سطح اطمینان ۹۵٪	P value	آماره آزمون	زمان سپری شده	فرض صفر	نوع آزمون	شرح آزمون
حداقل یک متغیر اثر کاهشی بیشتر دارد.	رد فرض	۰/۰۰۰	۱۶/۹۳۷	۳۰ دقیقه	همه متغیرها اثر برابر دارند	کروسکال-والیس	آزمون برابری اثر کاهش باکتری تمامی متغیرها
حداقل یک متغیر اثر کاهشی بیشتر دارد.	رد فرض	۰/۰۰۰	۱۷/۷۱۵	۶ ساعت			
اثر کاهشی بیشتر کرفس کوهی از شنبلیله	رد فرض	۰/۰۰۷	۴/۵	۳۰ دقیقه	اثر کاهشی شنبلیله و کرفس کوهی برابر است		آزمون مقایسه اثر شنبلیله و کرفس کوهی
اثر کاهشی بیشتر کرفس کوهی از شنبلیله	رد فرض	۰/۰۰۱	۰/۰۰	۶ ساعت			
اثر کاهشی بیشتر کلرگزیدین از شنبلیله	رد فرض	۰/۰۰۱	۰/۰۰	۳۰ دقیقه	اثر کاهشی شنبلیله و کلرگزیدین برابر است	من-ویتنی	آزمون مقایسه اثر شنبلیله و کلرگزیدین
اثر کاهشی بیشتر کلرگزیدین از شنبلیله	رد فرض	۰/۰۰۱	۰/۰۰	۶ ساعت			
اثر کاهشی بیشتر کلرگزیدین از کرفس کوهی	رد فرض	۰/۰۰۱	۵/۴۲۲-	۳۰ دقیقه	اثر کاهشی دهانشویه و کرفس کوهی برابر است	تی-مستقل	آزمون مقایسه اثر دهانشویه کلرگزیدین و کرفس کوهی
اثر کاهشی بیشتر کرفس کوهی از کلرگزیدین	رد فرض	۰/۰۰۳	۱/۵	۶ ساعت		من-ویتنی	

بحث

تحقیق حاضر با هدف تعیین خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره برگ و دانه شنبلیله و عصاره گیاه کرفس کوهی بر شمار باکتری استرپتوکوک موتانس که یکی از میکروارگانیسم‌های اصلی دخیل در فرایند ایجاد پوسیدگی می باشد، انجام شد.

آزمایش well diffusion agar

طبق نتایج تحقیق حاضر، در روش well diffusion agar، قطر هاله عدم رشد برای باکتری در دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ بیشتر از عصاره‌های شنبلیله و کرفس کوهی بوده است؛ و عصاره شنبلیله فاقد هاله مهار رشد بود. این یافته‌ها نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری در برابر دهانشویه کلرهگزیدین نسبت به عصاره ها و همچنین حساسیت بیشتر نسبت به عصاره کرفس کوهی در مقایسه با عصاره شنبلیله می باشد.

مشابه این مطالعه، رئیس و همکاران در سال ۲۰۱۵، مطالعه ای تحت عنوان بررسی خاصیت آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی گیاه نعنای و نمک سدیم کلراید روی باکتری استرپتوکوک موتانس انجام داده اند. در این مطالعه مشاهده گردید، در روش های Well Diffusion Agar و Disk Diffusion Agar برای عصاره گیاه نعنای، هاله ای تشکیل نشد ۱۷. همچنین، طبق مطالعه ای که حیدری و همکاران در سال ۲۰۱۴، با هدف بررسی پتانسیل آنتی باکتریال کرفس کوهی انجام دادند، در روش دیسک دیفیوژن، تمامی غلظت‌های عصاره اتانولی، اثر بازدارندگی بر علیه باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشتند ۱۸. در بررسی عبیری و همکاران نیز، در سال ۲۰۰۹ که بر روی اثرات عصاره هیدروالکلی دانه‌ی شنبلیله بر علیه گونه‌های مختلف انجام شد، قطر هاله عدم رشد برای گونه آئروژینوزا صفر برآورد شد که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد ۱۹. این در حالی است که، در مطالعه الوان و همکاران در سال ۲۰۱۷، بیشترین اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی دانه شنبلیله، شامل بیشترین مقدار هاله عدم رشد بر علیه گونه‌های سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۷۵٪ و حداقل غلظت مهار کنندگی بر علیه گونه‌های اشیریشیا کولای و در غلظت ۲۵٪ ثبت گردید ۲۰.

دهاراجیا و همکاران نیز، در سال ۲۰۱۶؛ اثرات ضد میکروبی عصاره‌های مختلف شنبلیله را بررسی و در روش انتشار چاهک نشان دادند، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌باکتریال عصاره برگ شنبلیله بر علیه گروه‌های Serratia

marcescens بوده و بعد از آن، بیشترین خاصیت ضد باکتریایی برای گونه‌های Bacillus cereus در عصاره متانولی بوده است ۲۱. مشاهده هاله عدم رشد در مطالعه های اخیر برای عصاره شنبلیله می‌تواند به دلیل متفاوت بودن باکتری‌های مورد بررسی در آنها نسبت به تحقیق حاضر باشد. همچنین، برخی عوامل از جمله غلظت ماده ضدباکتری، تعداد میکروارگانیسم‌ها، نوع آزمون میکروارگانیسم، دما و pH در نتایج خاصیت ضد میکروبی مواد مختلف نیز تأثیرگذار هستند ۲۲، در این مطالعه نیز، استفاده از حرارت بالا به جهت آلودگی زدایی عصاره اولیه، می تواند موجب تغییر خاصیت ذاتی این عصاره شده باشد.

آزمایشات MIC و MBC

طبق نتایج تحقیق حاضر، میزان MIC (حداقل غلظت مهار کنندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) دهانشویه در مقایسه با عصاره‌ها کمتر بوده و نیز حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره کرفس کوهی حدود نصف عصاره شنبلیله بوده است. بالاتر بودن MIC عصاره شنبلیله نسبت به عصاره کرفس کوهی نشان‌دهنده حساسیت بیشتر باکتری استرپتوکوک موتانس در برابر کرفس کوهی بوده است.

در راستای نتایج مطالعه حاضر، ناظمی سلمان و همکاران در سال ۲۰۲۱، تحقیقی تحت عنوان مقایسه خاصیت آنتی باکتریال ذرات نانوپارتیکل سیاه دانه و دهانشویه کلرهگزیدین علیه پاتوژن های دهان انجام دادند، که نتایج حاکی از آن بود که MIC و MBC ذرات سیاه دانه، بر روی دو باکتری اتروکوک فوکالیس و استرپتوکوک موتانس از سایر پاتوژن ها بالاتر بوده و دو باکتری مذکور نسبت به سایر پاتوژن های مورد بررسی به ذرات سیاه دانه مقام ترند. همچنین MIC و MBC دهانشویه کلرهگزیدین از ذرات سیاه دانه کمتر بوده که نشان دهنده حساسیت بیشتر پاتوژن های مورد بررسی در برابر دهانشویه کلرهگزیدین بوده است ۲۳.

همچنین، در مطالعه ای که محمودی و همکاران در سال ۲۰۱۳ پتانسیل آنتی باکتریال اسانس کرفس کوهی علیه باکتری های ناشی از غذا و باکتری های پروبیوتیک را بررسی کردند، در میان پاتوژن ها، S. aureus حساس ترین باکتری مورد مطالعه بوده است. رنج MIC و MBC اسانس این گیاه نیز، نشان دهنده خاصیت آنتی باکتریال قابل قبول این گیاه در مقابل باکتری های مورد مطالعه بوده است ۲۴.

در راستای این مطالعه، خلیفه و همکاران در سال ۲۰۲۱، که به بررسی خاصیت آنتی میکروبیال تیموکینون علیه پاتوژن های دهان پرداخته اند، در میزان کاهش تعداد باکتری استرپتوکوک موتانس بین تیموکینون و دهانشویه کلرهگزیدین اختلاف زیادی مشاهده گردید. در واقع میزان کاهش باکتری در تیموکینون کمتر از دهانشویه کلرهگزیدین گزارش شده است.^{۳۷}

همچنین در مطالعه میلان و همکاران در سال ۲۰۱۶ به بررسی و مقایسه خاصیت آنتی باکتریال دهانشویه کلرهگزیدین و غلظت های متفاوت عصاره دانه انگور علیه باکتری استرپتوکوک موتانس پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که هرچه غلظت عصاره دانه انگور بالاتر می رود، کاهش تعداد باکتری مذکور بیشتر شده است، به گونه ای که در غلظت های پایین تر، کاهش قابل توجهی در تعداد باکتری مشاهده نشد. به طور کلی در این پژوهش حساسیت باکتری استرپتوکوک موتانس نسبت به دهانشویه کلرهگزیدین، بیشتر از غلظت های مختلف عصاره دانه انگور گزارش گردید.^{۳۸}

نتیجه گیری

این مطالعه با هدف بررسی خاصیت آنتی باکتریال عصاره شنبلیله و کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین انجام پذیرفت که در نتیجه این پژوهش، عصاره شنبلیله خاصیت ضد میکروبی کمی در مقابل این باکتری از خود نشان داد؛ از طرفی هاله مهار رشد باکتری استرپتوکوک موتانس، برای عصاره کرفس کوهی میزان قابل مقایسه ای با هاله مهار رشد برای دهانشویه کلرهگزیدین بود. همچنین، میزان کاهش بیشتر تعداد باکتری استرپتوکوک موتانس پس از گذشت ۶ ساعت در مواجهه با عصاره کرفس کوهی در مقایسه با دهانشویه کلرهگزیدین، در آزمون شمارش باکتری، می تواند نشان دهنده حساسیت قابل توجه این باکتری به عصاره مذکور باشد. لذا، عصاره کرفس کوهی اثرات ضدباکتریایی قابل مقایسه ای با دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ بر علیه گونه های استرپتوکوک موتانس داشته و در صورت تأیید اثرات آن در آزمایشات دیگر و نیز در شرایط بالینی، می توان از این عصاره طبیعی در راستای کاهش باکتری های استرپتوکوک موتانس به صورت دهانشویه استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از واحد توسعه تحقیقات بالینی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز تشکر و قدردانی به عمل می آید.

این در حالی است که، بابایی و همکاران در سال ۲۰۱۸، اثرات آنتی باکتریال و سایتوتوکسیک عصاره های مختلف دانه شنبلیله را بررسی و نشان دادند در روش انتشار آگار، این عصاره ها هاله عدم رشد بر علیه گونه های باکتری نداشته ولی در روش broth micro-dilution، حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره ها بر علیه گونه های باکتری مشاهده شد.^{۲۵}

همچنین، دهارجیا و همکاران در سال ۲۰۱۶، محدوده حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره های مختلف شنبلیله را بررسی و عناصر فیتوشیمی موجود در عصاره های برگ های شنبلیله را با خواص آنتی باکتریال آنها مرتبط دانستند.^{۲۱}

عبیری و همکاران نیز، در سال ۲۰۰۹ میزان MIC عصاره هیدروالکلی دانه های شنبلیله بر علیه گونه های پنومونی، اشریشیا کولای، آئروژینوزا و استافیلوکوک آئروس را بررسی کردند که درباره سه گونه های اول یکسان و برای گونه استافیلوکوک آئروس کمتر بوده است.^{۱۹}

آزمایش viable cell count

طبق نتایج تحقیق حاضر در روش viable cell count و در زمان های ۳۰ دقیقه و ۶ ساعت بعد از مواجهه، تفاوت های معنی داری از نظر مقادیر باکتری های زنده در عصاره ها و دهانشویه مشاهده گردید، بطوری که در ۳۰ دقیقه، بیشترین اثر کاهش باکتری به ترتیب در دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪، کرفس کوهی و شنبلیله و در زمان ۶ ساعت، بیشترین کاهش در شمار باکتری ها به ترتیب در کرفس کوهی، دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ و شنبلیله مشاهده شد. در زمان ۲۴ ساعت نیز، عصاره کرفس کوهی و دهانشویه کلرهگزیدین سبب کاهش ۱۰۰ درصدی گونه های باکتری شده بودند.

دهارجیا و همکاران، در سال ۲۰۱۶، اثرات ضد میکروبی عصاره های مختلف شنبلیله را بررسی و گزارش کردند که عصاره های برگ شنبلیله به دلیل داشتن عناصر فیتوشیمیایی، خواص آنتی باکتریال دارند.^{۲۱}

همچنین خاندرا و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند عصاره دانه ای شنبلیله، خصوصیات ضدباکتریایی علیه اشریشیا کولای، استافیلوکوک آئروس، باسیلوس سابیلوس و لاکتوباسیلوس دارد ۲۶ که این یافته ها با نتایج مطالعه حاضر مغایرت داشت. دلیل این مغایرت، می تواند استفاده از حرارت بالا به جهت آلودگی زدایی عصاره اولیه باشد که موجب تغییر خاصیت ذاتی این عصاره شده است. همچنین، مواردی مثل غلظت ماده ضدباکتری، تعداد میکروارگانیسم ها، نوع آزمون میکروارگانیسم و pH در خاصیت ضد میکروبی مواد مختلف تأثیر گذار هستند.^{۲۲}

تعارض منافع

در این مطالعه هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

حمایت مالی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری در رشته دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز است که در قالب طرح به شماره ۱۴۰۱/۵/۱۸۰/۶۰ مصوب گردیده است.

ملاحظات اخلاقی

این طرح با شناسه IR.ABZUMS.REC.۱۴۰۱،۰۰۴ در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی البرز تأیید گردید.

مشارکت نویسندگان

نفیسه فلاح: ایده پژوهش، جمع آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش مقاله

آزاده بابائی (نویسنده مسئول): ایده پژوهش، طراحی پروپوزال، جمع آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش مقاله

زهرا مومنی: ایده پژوهش، طراحی پروپوزال، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش مقاله

References

Khoshnevisan M, Ghasemianpour M, Samadzadeh H, Baez R. Oral health status and healthcare system in IR Iran. *J Contemp Med Sci*. 2018;4(3):107-8.

Ezati F, Bakhshi E, Ezati E, Salimi N. Investigate of Tooth Decay and Its Relationship with Knowledge, Attitude and Performance (Kap) in High School Students in Islamabad-E-Gharb City. *J Arak Uni Med Sci* 2023;26(2):450-463

Ryan KJ, Ray CG. *Med Microbiol*. McGraw Hill. 2004;4:370.

Nourizadeh Tehrani P. The Cost of All Types of Dental Services Presented by Farman Farmaeian Comprehensive Health Services Center at Tehran University of Medical Sciences using Activity-Based Costing Method in 1397. *Hakim Res J*. 2019;22(4):319-328.

Marthaler TM, Steiner M, Menghini G, Bandi A. Caries prevalence in Switzerland. *Int Dent J*. 1994;44(4 Suppl 1):393-401.

Babadi, F, Mohammadtaghvaei, N, Delnavaz S. Comparison of the effects of Jaflex and Persica mouthwashes on salivary pH and buffer capacity in the students and patients referred to the dentistry clinic of Sina hospital in Ahvaz. *Jundishapur Sci Me J*. 2019;18(1):13-21.

Nahvi M, Zarei E, Marzban S, Jahanmehr N. Utilization of dental services and its out-of-pocket payments: a study in dental clinics of Ramsar. *J Mashhad Dent School*

2017;41:171-182.

Neamatollahi A, Nekokah F. Comparison of the Antimicrobial Activity of ethanol Extract of Celery (*Kelussia odoratissima*) with common antibiotics used in Rainbow trout farms. *J Aquac Res Dev*. 2018;12(2):27-36.

Zajkani E, Abdi Z, Zeighami H. Evaluating the effect of 0. 05% fluoride and chlorhexidine 0. 2% mouthwashes in comparison to nanosil D1+ F mouthwash on *Streptococcus mutans*, in vitro. 2022;19(1)28-36.

Adelbergh J. *Microbiology*. 1992:238-245.

Nahvi M, Zarei E, Marzban S, Jahanmehr N. Utilization of dental services and its out-of-pocket payments: a study in dental clinics of Ramsar. *J Mashhad Dent School* 2017;41:171-182.

Dini M. Scientific name of medicinal plants used in traditional medicine. *Forest and Rangeland Research Institute Publication, Iran*. 2006:299-300.

Al-Timimi LA. Antibacterial and anticancer activities of fenugreek seed extract. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2019;20(12):3771.

Mozaffarian V. Two new genera of Iranian Umbelliferae. *Botanicheskii Zhurnal (St Petersburg)*. 2003;2:88-94.

Ghasemi Pirbalouti A, Shah Wali A, Saghaee S, Azizi S, Hamedi B, Shahgholian L. Effect of chicory extract (*cichorium intybus* L.) and cultivars of Bakhtiari essence (*Kleussia ordratassima* Mizaff) on removal

- of organophosphoric toxin poisoning in rat. *Herbal Medicine*. 2011;2:31-36.
- Salimi MA, Ebrahimi A, Asadieh ZS, Dehkordi SS. Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Iranian J Medicinal Aromatic Plants*. 2010;26(2):147-156.
- Rayesi M, Mohammadpour M, Feridouni M, Zare M, Heydari H. Investigating the bactericidal and bacteriostatic effect of hydroalcoholic extract of mint plant and sodium chloride salt on *Streptococcus mutans* bacteria. *Res Sci J Ardabil Univ Med Sci Health Serv*. 2015; 22(4)
- Heidari Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Shahidi F. Comparison of the inhibitory and antibacterial effect of aqueous and ethanolic extract of *Kelussia odoratissima* on some pathogenic bacteria. *Rafsanjan Uni Med Sci J*. 2015;13(9):775-84.
- Abiri R, Majnooni M, Malek Khattabi P, Adibi H. Study of antimicrobial effects of *Trigonella Foenum* hydroalcoholic extract on different bacterial strains. *Med Lab J*. 2009;3(1).
- Alwan AM, Jassim IM, Jasim GM. Study of antibacterial activities of seeds extract of fenugreek (*trigonella foenum-graecum*). *Diyala J Med*. 2017;13(1):62-67.
- Dharajiya D, Jasani H, Khatrani T, Kapuria M, Pachchigar K, Patel P. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) extracts. *Int J Pharmacy and Pharmaceutical Sci*. 2016;8(4):212-217.
- Khotimah H, Wahyu Indriati D, Sundari AS. Screening in vitro antimicrobial activity of celery (*Apium Graveolens*) against *Staphylococcus* sp. *Mal J Med Health Sci*. 2020;16(Supp16):72-77.
- Salman BN, Sallah S, Abdi F, Salahi S, Rostamizadeh K, Shabestari SB. 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.
- Mahmoudi R, Kosari M, Zare P, Barati S. *Kelussia odoratissima* essential oil: biochemical analysis and antibacterial properties against pathogenic and probiotic bacteria. *J. Agroaliment. Processes Technol*. 2014;20(1):109-5.
- Babaei AH, Motamedifar M, Khalifat S, Mohammadi A, Zamani KH, Motamedifar A. In vitro study of antibacterial property and cytotoxic effects of aqueous, ethanolic, methanolic, and hydroalcoholic extracts of fenugreek seed. *P J M H S* 2018;12(2):906- 910.
- Khanra R. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Tigonella Foenum-Graecum* Linn. *Int Res J Pharm*. 2010;1(1):181-183.
- Al-Khalifa KS, AlSheikh R, Al-Hariri MT, El-Sayyad H, Alqurashi MS, Ali S, Bugshan AS. Evaluation of the Antimicrobial Effect of Thymoquinone against Different Dental Pathogens: An In Vitro Study. *Molecules*. 2021;26(21):6451.
- Swadas M, Dave B, Vyas SM, Shah N. Evaluation and comparison of the antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of grape seed extract at different concentrations with chlorhexidine gluconate: An in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2016;9(3):181.

Antibacterial effects of *Trigonella foenum-graceum* L. and *Kellusia odoratissima* Mozaff versus 0.2% chlorhexidine on *Streptococcus mutans* count: An in vitro study

Received: 07 Dec 2023; Accepted: 18 Feb 2024

Nafise Fallah¹,
Azadeh Babaei^{*2}
Zahra Momeni²

¹ Student Research Committee,
Alborz University of Medical
Sciences, Karaj, Iran.

² Community Oral Health
Department, School of Dentistry,
Alborz University of Medical
Sciences, Karaj, Iran.

*Corresponding author:
Community Oral Health Dept.
School of Dentistry
Alborz University of Medical
Sciences Karaj Iran
Email: azadeh.t.babaei@gmail.com
(AB)
Tel: +98-26-3353 1614

Abstract

Introduction: Tooth decay is a prevalent chronic disease worldwide; preventive care is essential for its management. Despite some side effects, Chlorhexidine mouthwash is the gold standard for controlling plaque and preventing caries. This study evaluates the antibacterial effects of “*Trigonella foenum-graceum* L”. and “*Kellusia odoratissima* Mozaff” extracts on “*Streptococcus mutans*” compared to 0.2% chlorhexidine mouthwash.

Materials & Methods: This laboratory study involved preparing herbal extracts of “*Trigonella foenum-graceum*” L. and “*Kellusia odoratissima*” Mozaff. The Well Diffusion Agar test measured the inhibition zone diameter at a concentration of 100,000 ppm for the extracts and chlorhexidine mouthwash, with chlorhexidine and distilled water serving as positive and negative controls, respectively. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined for the extracts and mouthwash. Finally, the “*Streptococcus mutans*” count was assessed after exposure to the extracts and mouthwash. Data were analyzed using SPSS 26.0, applying the Kruskal-Wallis test for group comparisons and the Mann-Whitney U test for pairwise comparisons.

Results: The study reported three key findings. The inhibition zone diameters were 19 mm for chlorhexidine mouthwash, 0 mm for “*Trigonella foenum-graceum*” L., and 13 mm for “*Kellusia odoratissima*” Mozaff. MIC values were 6250 ppm for chlorhexidine, >100000 ppm for “*Trigonella foenum-graceum*”, and 50000 ppm for “*Kellusia odoratissima*”, with corresponding MBC values of 12500 ppm, >100000 ppm, and 100000 ppm. Significant differences in bacterial reduction percentages were noted after 30 minutes and 6 hours (both: $p < 0.001$), with chlorhexidine showing the highest efficacy at 30 minutes, while “*Kellusia odoratissima*” Mozaff had the highest efficacy at 6 hours.

Conclusion: This study demonstrated that “*Kellusia odoratissima*” Mozaff extract has antibacterial effects comparable to chlorhexidine, while “*Trigonella foenum-graceum*” L. showed limited antibacterial activity against “*Streptococcus mutans*”.

Keywords: Dental caries, Chlorhexidine, *Streptococcus mutans*, Herbal Medicine, Minimum Inhibitory Concentration