

Comparison of antibacterial effect of *Scrophularia Striata* extract, sodium hypochlorite and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* in tooth root canals

Mohammad Fazeli¹, Masoumeh Ahmadi^{2,*}, Parisa Asadollahi^{3,*}, Hossein Seidkhani⁴, Elahe Karimi⁵, Hossein Kazemian³, Nahid Mahdian⁶, Leila Gheitani⁶

1- Post-Graduate Student, Department of Endodontics, School of Dentistry, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

2- Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

4- Assistant Professor, Department of Biostatistics, School of Health, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

5- Assistant Professor, Department of Analytical Chemistry, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

6- Microbiology Laboratory Technician, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Article Info

Article type:
Original Article

Article History:
Received: 23 Agu 2023
Accepted: 24 Dec 2023
Published: 2 Jan 2024

Corresponding Authors:
Masoumeh Ahmadi
Parisa Asadollahi

Department of Endodontics, School of Dentistry, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

Department of Microbiology, School of Medicine, Ilam University of Medical sciences, Ilam, Iran

(Email: nasimahmadi1986@yahoo.com
asadollahi.p@gmail.com)

Abstract

Background and Aims: Root canal treatment failures are often attributed to incomplete removal of bacteria, particularly *Enterococcus faecalis*. While, chlorhexidine and sodium hypochlorite serve as conventional treatments. herbal medicine has been today considered as an alternative to synthetic medicine due to its safety. Therefore, the aim of the present study was to compare the antibacterial effect of *Scrophularia Striata* extract with chlorhexidine and sodium hypochlorite on *Enterococcus Faecalis* in the tooth root canal.

Materials and Methods: In this study, sixty extracted teeth were examined. Following the infection of dental canals with *Enterococcus faecalis*, materials were tested in 3 groups: 1) chlorhexidine 2% (18 teeth), 2) sodium hypochlorite 2.5% (18 teeth), and 3) *Scrophularia striata* (at the concentration obtained from MIC, 20%; 18 teeth). Additionally, the positive control and negative control were included (3 teeth in each group). Samples were then cultured on bile esculin agar. After 72 hours, black colonies were examined. Chi-squared test was used to analyze the results.

Results: *Enterococcus faecalis* bacteria grew in 6, 8, and 17 out of the 18 teeth within the sodium hypochlorite, chlorhexidine, and *Scrophularia striata* extract groups, respectively. Consequently, the bactericidal effects for sodium hypochlorite, chlorhexidine, and *Scrophularia striata* extract were 66.6%, 55.5%, and 5.55%, respectively.

Conclusion: The antibacterial effect of the *Scrophularia striata* extract was significantly lower than chlorhexidine and sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* in dental canals viewed as a suitable replacement to the already in use synthetic therapeutic irrigants.

Keywords: Antibacterial effect, Chlorhexidine, Sodium hypochlorite, *Scrophularia Striata*, *Enterococcus faecalis*

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2024;36:18

Cite this article as: Fazeli M, Ahmadi M, Asadollahi P, Seidkhani H, Karimi E, Kazemian H, et al. Comparison of antibacterial effect of *Scrophularia Striata* extract, sodium hypochlorite and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* in tooth root canals. J Dent Med-TUMS. 2024;36:18.



مقایسه اثر ضد باکتریال عصاره تشنه داری (*Scrophularia Striata*)،

هیپوکلریت سدیم و کلرگزیدین بر انتروکوکوس فکالیس

در کانال ریشه دندان

محمد فاضلی^۱، معصومه احمدی^{۲*}، پریسا اسداللهی^{۳*}، حسین صیدخانی^۴، الهه کریمی^۵، حسین کاظمیان^۲، ناهید مهدیان^۶، لیلا قیطانی^۶

۱- دستیار تخصصی گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۲- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۳- استادیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۴- استادیار گروه آموزشی بیوانفورماتیک، گروه آموزشی آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۵- استادیار گروه آموزشی شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

۶- کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی، گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۱

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۳

انتشار: ۱۴۰۲/۱۰/۱۲

نویسندگان مسؤول:

معصومه احمدی

پریسا اسداللهی

گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

(Email: nasimahmadi1986@yahoo.com

asadolahi.p@gmail.com)

زمینه و هدف: شکست درمان کانال ریشه اغلب به حذف ناقص باکتری‌ها، به ویژه انتروکوکوس فکالیس نسبت داده می‌شود. اگرچه کلرگزیدین و هیپوکلریت سدیم گزینه‌های معمول درمان ریشه هستند، اما امروزه طب گیاهی به دلیل ماهیت ایمن آن به عنوان جایگزینی برای داروهای مصنوعی مورد توجه قرار گرفته است. لذا هدف از مطالعه حاضر، مقایسه اثر عصاره تشنه داری با کلرگزیدین و هیپوکلریت سدیم بر حذف انتروکوکوس فکالیس از کانال ریشه دندان بود.

روش بررسی: در این مطالعه ۶۰ دندان کشیده شده مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از اینکه کانال‌های دندانی به باکتری انتروکوکوس فکالیس آلوده شدند، تلقیح مواد مورد آزمایش طی ۳ گروه به کانال‌های دندانی انجام شد: ۱- کلرگزیدین ۲٪ (۱۸ دندان)، ۲- هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ (۱۸ دندان)، ۳- عصاره تشنه داری (کمترین غلظت مهارکنندگی معادل ۲۰٪؛ ۱۸ دندان). گروه‌های کنترل مثبت و منفی نیز بررسی شدند (هر گروه شامل ۳ دندان). نمونه‌ها سپس بر روی بایل اسکولین آگار کشت داده شدند. پس از ۷۲ ساعت، کلنی‌های سیاه رنگ بررسی شدند. برای تجزیه و تحلیل نتایج از آزمون کای دو استفاده شد.

یافته‌ها: انتروکوکوس فکالیس از بین ۱۸ دندان در هر یک از سه گروه هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری به ترتیب در ۶، ۸ و ۱۷ دندان رشد کرد. بدین ترتیب، درصد کشندگی مواد هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری به ترتیب ۶/۶۶، ۵/۵۵ و ۵/۵۵ درصد بود.

نتیجه گیری: اثر ضد باکتریایی عصاره تشنه داری به طور قابل توجهی کمتر از کلرگزیدین و هیپوکلریت سدیم بر روی انتروکوکوس فکالیس در کانال دندانی بود و نمی‌توان آن را جایگزین مناسبی برای شوینده‌های درمانی مصنوعی در حال استفاده در نظر گرفت.

کلید واژه‌ها: اثر ضد باکتریایی، کلرگزیدین، هیپوکلریت سدیم، عصاره تشنه داری، انتروکوکوس فکالیس

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

دوره ۳۶ مقاله ۱۸، ۱۴۰۲

مقدمه

هدف اصلی از درمان اندودنتیک، پاک سازی، شکل دهی و ضد عفونی کردن کانال ریشه و به دنبال آن پر کردن کانال ریشه می باشد تا دندان بتواند پس از ترمیم، عملکرد خود را بازیابی کند. حضور میکروبها در داخل کانال، علت اصلی عفونت های بعد از درمان اندودنتیک است، بنابراین ضد عفونی کردن کانال ریشه در طی درمان اندودنتیک امری مهم و ضروری است.

برخی مطالعات نشان داده اند که انتروکوکوس فکالیس شایع ترین باکتری در ارتباط با عفونت های کانال ریشه بعد از درمان اندودنتیک می باشد. علاوه بر این ثابت شده است که این گونه باکتریایی قادر است برای زمان طولانی در داخل توپول های عاجی زنده بماند، بنابراین حذف این میکروارگانیزم از کانال ریشه تأثیر مستقیمی بر روی پیش آگهی طولانی مدت درمان ریشه دارد (۱).

شست و شو یکی از مراحل ضروری برای حذف میکروارگانیزم های سیستم کانال ریشه می باشد.

هیپوکلیت سدیم (NaOCl) یکی از رایج ترین محلول های شست و شو دهنده در درمان اندودنتیک می باشد که از سال ۱۹۲۰ مورد استفاده قرار گرفته است. خواص ضد میکروبی این ماده به واسطه وجود اسید هیپوکلرو می باشد (۲). از مزایای آن می توان به توانایی انحلال بقایای آلی موجود در کانال، اثرات ضد میکروبی و قیمت پایین آن اشاره کرد و از معایب آن نیز می توان سمیت آن هنگام تماس با انساج پری رادیکولار، ایجاد کروژن و خوردگی در محصولات فلزی، عدم توانایی در از بین بردن لایه اسمیر و ایجاد تغییر در ساختمان فیزیکی عاج دیواره کانال را نام برد (۳). علاوه بر این، بو و مزه آن برای بیماران نامطلوب بوده و بخار آن برای چشم محرک است (۳). تزریق ناخواسته این ماده فراتر از نوک ریشه می تواند سبب واکنش شدید بافتی گردد (۴). کلرگزیدین نیز به دلیل طیف گسترده فعالیت ضد میکروبی به عنوان یکی دیگر از شستشو دهنده های داخل کانال مورد استفاده قرار می گیرد (۲). این ماده به مولکول های کاتونیک متصل شونده به جداره های سلولی باکتریایی با بار منفی متصل می شود که سبب تغییر تعادل سلول و در نهایت نشت محتویات داخل سلول به محیط و مرگ سلول می شود و بدین ترتیب اثر ضد باکتریایی خود را اعمال می کند (۵). در سال های اخیر استفاده از محصولات گیاهی برای ضد عفونی

کردن کانال ریشه به علت بهره وری، ایمنی، در دسترس بودن و توانایی کمتر میکروارگانیزمها در گسترش مقاومت علیه آن ها، به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. برای مثال، در برخی مطالعات انجام شده اثر عصاره های مورد و آویشن بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس در کانال ریشه با اثر هیپوکلیت ۲/۵٪ مشابهت داشته است، همینطور بررسی تاثیر عصاره های سیر، شبدر، چریش (Neem) (نوعی درخت استوایی) و تولسی (نوعی گیاه مقدس هندوها) بر روی انتروکوکوس فکالیس نشان داد که این عصاره ها، بجز عصاره چریش، اثرات ضد باکتریایی قوی علیه این باکتری دارند (۶،۷).

گیاه تشنه داری بانام علمی *Scrophularia striata* گیاهی خودرو و چند ساله از تیره گل میمون است که در استان ایلام و مناطقی از استان خوزستان رشد می کند (۸). ترکیبات شیمیایی این گیاه شناسایی نشده اما مردم استان ایلام سالهاست که به صورت تجربی از این گیاه به صورت های مختلف درمانی استفاده می کنند. از جمله کاربردهای درمانی این گیاه می توان به خواص ضد التهابی این گیاه، کاربرد آن در درمان عفونت های چشم، گوش و سوختگی اشاره کرد. مطالعاتی نشان دهنده خواص ضد عفونی این عصاره بر روی زخم ایجاد شده در موش می باشند (۹). همینطور خواص مفید این عصاره بر روی رفتارهای اضطرابی و افسردگی موش سوری (۱۰) و نیز اثر ضد میکروبی آن بر مخمر کاندیدا آلیکنس در مطالعاتی گزارش شده است (۱۱).

با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی و عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای ضد میکروبی جهت پیشگیری و درمان عفونت ها و همچنین طعم و بوی نامطبوع مواد شیمیایی مانند هیپوکلیت سدیم و کلرگزیدین که سبب حس ناخوشایند در بیماران می گردد، بررسی و تحقیق بر روی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی علیه عفونت های باکتریایی را حائز اهمیت نموده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره تشنه داری با کلرگزیدین و هیپوکلیت سدیم بر انتروکوکوس فکالیس در کانال ریشه دندان انجام شد تا در صورت دستیابی به نتایج مطلوب به عنوان جایگزینی برای ترکیبات ضد میکروبی مورد استفاده در کانال ریشه در نظر پیشنهاد شود.

روش بررسی

جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی که طی سال ۱۳۹۹-۱۴۰۰

(Hi-Vevor US Electric Herb Grain Grinder Power Machine, Multifunctional Mills - 350g)

۲۰ گرم از پودر هر گیاه به طور جداگانه درون کارتوش (نوعی فیلتر جهت استخراج مواد از فاز مایع یا جامد) ریخته و با دستگاه سوکسله (نوعی دستگاه عصاره گیر) با استفاده از ۶۰۰ میلی لیتر محلول اتانول ۷۰ درصد با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت جهت استخراج عصاره قرار داده شد. محلول اتانولی حاصل (۶۰۰ میلی لیتر) به مدت یک ساعت در دستگاه روتاری (IKA HB 10, Germany) (نوعی دستگاه موتور که فلاسک یا ویال تبخیر حاوی نمونه کاربر را می چرخاند) با دور ۳۰ rpm و درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد جهت تبخیر اتانول و آب قرار داده شد، سپس عصاره حاصل جهت خشک شدن به مدت ۳ روز در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. میزان عصاره به دست آمده هر گیاه محاسبه شده و سپس عصاره‌ها به طور جداگانه در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. علاوه بر این PH تشنه داری حدوداً برابر با ۵/۵ تا ۶ بود (۱۲).

تعیین MIC (Minimum inhibitory concentration) عصاره گیاه تشنه داری علیه باکتری انتروکوکوفکالیس MIC کمترین غلظتی از یک ماده ضد میکروبی است که رشد قابل مشاهده باکتری را مهار می کند.

برای تعیین MIC عصاره تشنه داری، میکروپلیت ۹۶ خانه از شرکت Biofil (چین) تهیه گردید. به تمامی چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه (شامل چاهک‌های مربوط به کنترل رشد و استریلیته)، به غیر از چاهک اول، میزان ۵۰ میکرو لیتر محیط کشت مولر هینتون برات اضافه شد. در چاهک اول، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره خالص تشنه داری (۱۰۰ در صد) ریخته شد. در مرحله بعد، با انتقال ۵۰ میکرو لیتر از محتویات چاهک اول به دوم، چاهک دوم به سوم و الی آخر و در نهایت خارج کردن ۵۰ میکرو لیتر از چاهک آخر، فرایند رقیق سازی پیاپی دو برابری انجام گرفت. بدین ترتیب، غلظت‌های عصاره تشنه داری از ۱۰۰ درصد تا ۶/۲۵ درصد تهیه گردیدند.

در مرحله بعد، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت نیم مک فارلند معادل 1×10^8 cfu/mL باکتری (از طریق مقایسه چشمی کدورت با لوله استاندارد نیم مک فارلند) تهیه گردید و سپس با استفاده از محیط کشت مولر هینتون برات به میزان ۱:۱۵۰ (حاوی 1×10^6 cfu/mL باکتری)

انجام گرفت، تعداد ۶۰ دندان تک کاناله قدامی و دائمی انسانی کشیده شده که فاقد پوسیدگی، انحنای شدید، شکستگی ریشه و کلسیفیکاسیون بودند و طول ریشه آن‌ها به‌طور متوسط ۱۳ میلی‌متر (۱۲ الی ۱۴ میلی متر) بود انتخاب شدند. این دندان‌ها توسط دندانپزشک کشیده شده بودند و جهت انجام آزمایشات بعدی به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام منتقل شدند. در این مطالعه، به‌منظور تعیین حجم نمونه مورد نیاز با در نظر گرفتن خطای آزمون ۵ درصد، توان آزمون ۹۰ درصد و اندازه اثر ۴۰ درصد، تعداد ۵۸ نمونه برآورد گردید که به منظور تقسیم تصادفی و یکسان‌سازی نمونه‌ها در سه گروه تحت مواجهه با عصاره گیاه تشنه داری، هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین، در نهایت تعداد ۶۰ نمونه برآورد گردید که به‌صورت کاملاً تصادفی در سه گروه ۱۸ تایی، به علاوه دو گروه کنترل مثبت و منفی (هر کدام شامل ۳ دندان) تقسیم‌بندی شدند.

با توجه به معیارهای ورود ذکر شده فوق، نمونه‌ها به صورت تصادفی از یک کلینیک دولتی و یک کلینیک خصوصی دندانپزشکی در شهر ایلام جمع‌آوری گردید.

دندان‌ها جهت تلقیح سوسپانسیون باکتریایی، و سپس مواجهه کردن باکتری کلونیزه شده در کانال دندان با مواد مورد تست (عصاره تشنه داری، محلول کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪) آماده سازی شدند. به این ترتیب که ابتدا جهت برداشتن بافت پرپودنتال، ریشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سرم فیزیولوژی غوطه ور شدند و سپس با استفاده از فایل‌های دستی شماره ۳۰، پالپ دندان باقیمانده از دندان خارج و باز بودن مسیر کانال دندان جهت تلقیح باکتری و مواد مورد آزمایش بررسی شد. سپس دندان‌ها در ظرف ارلن حاوی محیط کشت BHI قرار گرفته و در اتوکلاو استریل شدند. در مرحله بعد، عصاره تشنه داری با روشی که در ادامه آمده است تهیه و غلظت مناسب عصاره جهت ادامه آزمایش تعیین گردید (تعیین MIC عصاره).

روش عصاره گیری گیاه تشنه داری:

ابتدا اندام هوایی (برگ) گیاه از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام تهیه شد و سپس در سایه و در دمای محیط خشک گردید و به صورت پودر ریز شد.

- پس از پودر کردن گیاهان با آسیاب

یک لوپ پر (به میزان ۰/۰۱ میلی لیتر) از برات BHI بر روی بلاد آگار کشت داده شد و به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. برای تأیید این کلنی‌های خالص به عنوان انتروکوکوس فکالیس، تعدادی از کلنی‌ها در داخل محلول نمکی ۶/۵٪ حل شدند که بعد از ۲۴ ساعت کدورت در محلول نمکی نشان دهنده رشد و تأیید باکتری انتروکوکوس فکالیس بود.

اعمال مواد مورد آزمایش به کانال‌های دندان:

اثر هر یک از مواد مورد مطالعه بر یک گروه حاوی ۱۸ دندان مورد بررسی قرار گرفت که گروه‌ها به صورت زیر بودند:

گروه الف) کلرگزیدین ۲٪ به میزان ۰/۱ میلی لیتر داخل کانال ۱۸ دندان توسط سرنگ انسولین تلقیح شد. سپس دندان‌ها در لوله حاوی ۲ میلی لیتر کلرگزیدین ۲٪ قرار داده شده و در دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند. این زمان انکوباسیون، به دلیل شباهت به زمان شستشوی کانال دندان در شرایط بالینی، انتخاب شد. گروه ب- هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به میزان ۰/۱ میلی لیتر داخل کانال ۱۸ دندان توسط سرنگ انسولین تلقیح شد. سپس دندان‌ها در لوله حاوی ۲ میلی لیتر هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ قرار داده شده و در دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند.

گروه ج- عصاره تشنه داری (در غلظت به دست آمده از ۲۰٪ MIC) به میزان ۰/۱ میلی لیتر داخل کانال ۱۸ دندان توسط سرنگ انسولین تلقیح شد، سپس دندان‌ها در لوله حاوی ۲ میلی لیتر عصاره تشنه داری با همان غلظت MIC قرار داده شده و در دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شدند.

لازم به ذکر است که ۳ دندان به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شدند که به جای مواد فوق با سرم فیزیولوژی (سدیم ۰/۹ درصد، شرکت دارو پخش، تهران، ایران) طبق شرایط مذکور مواجه شدند (جهت بررسی رشد باکتری در کانال ریشه). به علاوه ۳ دندان نیز به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند که تلقیح باکتری در کانال ریشه آن‌ها انجام نگرفت (جهت بررسی آلودگی به باکتری حین انجام کار).

پس از ۵ دقیقه مواجهه با مواد مورد آزمایش (به جهت مشابهت زمان مواجهه دندان با شستشو دهنده‌ها در بالین) مواد مورد تست از دندان‌ها خارج گردید و دندان‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در ۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی در شرایط ورتکس شستشو شدند (خروج مواد مورد تست از دندان‌ها). سپس نمونه‌ها با استفاده از کن کاغذی استریل برداشته شدند. هر کن

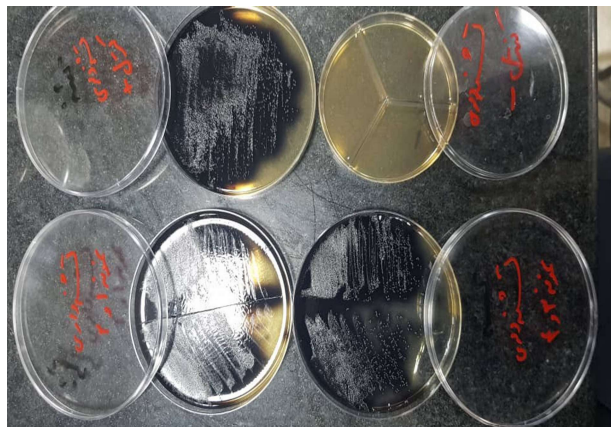
رقیق گردید. از سوسپانسیون رقیق شده، به میزان ۵۰ میکرو لیتر به تمامی چاهک‌ها (به غیر از چاهک مربوط به کنترل استریلیته) اضافه گردید. بدین ترتیب در هر چاهک، غلظت نهایی عصاره مجدداً به میزان دوبرابر رقیق شد و غلظت نهایی باکتری در هر چاهک به میزان $10^5 \times 5$ cfu/mL رسید.

در مرحله آخر، میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و بعد از اتمام زمان انکوباسیون، کمترین غلظتی از عصاره، که رشد قابل مشاهده باکتری انتروکوکوس فکالیس را مهار کرده بود به عنوان غلظت MIC جهت انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.

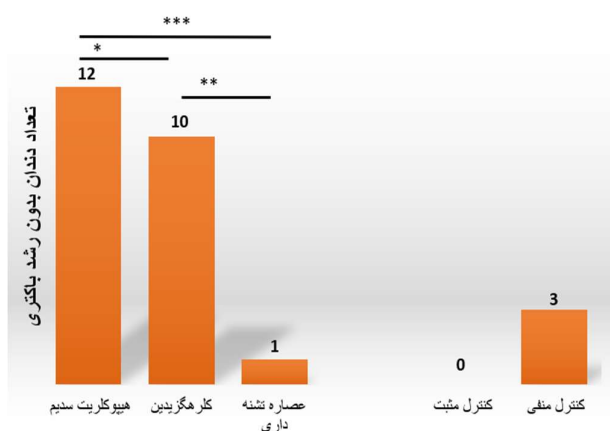
- کلونیزاسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس در داخل کانال‌های دندان

ابتدا دندان‌ها در یک ظرف در بسته BHI (Brain Heart Infusion) برات قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون خالص از باکتری انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212 معادل کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند با غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/mL در کنار شعله آماده شد و با کمک سرنگ‌های انسولین، سوسپانسیون باکتریایی استاندارد شده به میزان مساوی ۰/۱ سی سی در داخل کانال‌های ۵۷ دندان از ۶۰ دندان تزریق گردید (۳ دندان به عنوان کنترل منفی و بدون تلقیح باکتری در نظر گرفته شد). پس از تلقیح، هر کدام از دندان‌ها در ظرف جداگانه‌ای حاوی ۲ میلی لیتر BHI برات در داخل دستگاه انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی به مدت یک هفته، جهت رشد باکتری در داخل کانال‌های دندان، نگهداری شدند. پس از اتمام دوره انکوباسیون، هر دندان در ۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل در ظرف با شیکینگ برای پاکسازی باکتری از سطوح دندان انجام گرفت، بعد از ۳ بار شستشو داخل سرم فیزیولوژی، شست و شوی دندان‌ها با آب مقطر استریل برای حذف باکتری‌های سطح دندان انجام شد (۱۳، ۱۴). در این مرحله انتروکوکوس فکالیس در داخل کانال دندان‌ها کلنیزه شده بود. به جهت ارزیابی رشد باکتری، قبل از تلقیح مواد مورد آزمایش به کانال ریشه، بعد از یک هفته از زمان انکوباسیون دندان‌ها، با استفاده از فایل دستی MAF شماره ۳۰ نمونه‌هایی از کانال دندان تهیه شد. نمونه‌ها در ۳ میلی لیتر BHI برات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس،

بود. علاوه بر این اثر کشندگی در کلرگزیدین نیز به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره تشنه داری بود.



شکل ۱- کلنی‌های سیاه رنگ انتروکوکوس فکالیس بر روی محیط کشت بایل اسکولین



شکل ۲- میزان اثر ضد باکتریایی سه تیمار هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری بر روی رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس - تعداد ۱۸ دندان در هر یک از گروه‌های هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری و تعداد ۳ دندان در هر یک از گروه‌های کنترل مثبت (تیمار توسط سرم فیزیولوژی) و کنترل منفی (بدون تلقیح باکتری).

* P value کمتر از ۰/۰۵، ** P value کمتر از ۰/۰۱ و *** P value کمتر از ۰/۰۰۱

کاغذی به مدت ۱۰ دقیقه در داخل کانال‌ها قرار داده شد. نمونه‌ها سپس در ۳ میلی لیتر BHI برات، ابتدا ۲ دقیقه ورتکس شدند و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از اتمام زمان انکوباسیون، یک لوپ پر (به میزان ۰/۰۱ میلی لیتر) از محیط BHI برات برداشته شد و بر روی محیط کشت بایل اسکولین آگار کشت داده شد. بعد از ۷۲ ساعت کلنی‌های سیاه رنگ ایجاد شده (شکل ۱) از باکتری انتروکوکوس فکالیس در گروه‌های مختلف بررسی شدند و رشد یا عدم رشد باکتری در کانال‌های دندان‌های تحت تیمار گروه‌های مختلف ثبت گردید. محیط بایل اسکولین یک محیط انتخابی است که باکتری‌های جنس انتروکوکوس و استرپتوکوکوس‌های گروه D را از طریق تشکیل کلنی‌های سیاه رنگ از استرپتوکوکوس‌های ویریدنس جدا می‌کند.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها:

به منظور تجزیه و تحلیل مشاهدات (رشد یا عدم رشد باکتری بر روی پلیت‌های محیط کشت) از روش‌های آماری توصیفی و آزمون آماری نان پارامتریک Chi squared استفاده شد. کلیه آزمون‌ها در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری مشاهدات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS24 انجام شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل نشان داد که باکتری انتروکوکوس فکالیس از بین ۱۸ دندان در هر یک از سه گروه هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری به ترتیب در ۶، ۸ و ۱۷ دندان رشد کرد که در پلیت‌های کشت به صورت کلنی‌های سیاه رنگ دیده شد (شکل ۱). بدین ترتیب، درصد کشندگی مواد هیپوکلریت سدیم، کلرگزیدین و عصاره تشنه داری به ترتیب ۶۶/۶، ۵۵/۵، و ۵/۵۵ درصد بود (جدول ۱ و شکل ۲).

تحلیل آماری نتایج، اختلاف معنی‌داری را در میزان کشندگی باکتری در هر سه گروه تیمار نشان داد، به گونه‌ای که اثر کشندگی هیپوکلریت سدیم به طور معنی‌داری بیشتر از کلرگزیدین و عصاره تشنه داری داری

جدول ۱- میزان اثر ضد باکتریایی سه تیمار هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین و عصاره تشنه داری بر روی رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس

تعداد دندان بدون رشد باکتری (۱۸ دندان در هر گروه)	گروه دندانی مورد مطالعه
۱۲	هیپوکلریت سدیم
۱۰	کلرهگزیدین
۱	عصاره تشنه داری
تعداد دندان بدون رشد باکتری (۳ دندان در هر گروه)	گروه دندانی مورد مطالعه
۰	کنترل مثبت (تیمار توسط سرم فیزیولوژی)
۳	کنترل منفی (بدون تلقیح باکتری)

بحث و نتیجه گیری

طبق مطالعات، محلول‌های ۵/۲۵ و ۲/۵٪ هیپوکلریت سدیم غلظت‌های ایده آل جهت استفاده در درمان اندودنتیک هستند و غلظت‌های بالاتر که در برخی مواد تجاری استفاده می‌شوند می‌تواند باعث آسیب به بافت گردد (۱۸). لذا در این مطالعه از غلظت ۲/۵٪ این ماده جهت انجام آزمایشات استفاده گردید و به جهت تقلید و مشابهت با شرایط بالینی، مدت زمان ۵ دقیقه جهت مواجهه باکتری‌های کلنیزه شده در داخل کانال ریشه دندان با هر یک از مواد فوق لحاظ گردید.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم و عصاره تشنه داری وجود داشت به طوری که هیپوکلریت سدیم بیشترین اثر کشندگی و عصاره تشنه داری کمترین اثر کشندگی را داشتند.

Vahabi و همکاران (۱۹) در مطالعه‌ای به بررسی فعالیت ضد باکتریایی برخی از عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی علیه اکتینومیسیس ویسکوسوس، استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سوبرینوس، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس کازئی و ایکنلا کورودنز پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی تشنه داری به طور معنی‌داری کمتر از کلرهگزیدین می‌باشد که می‌توان این نتایج را با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر هم راستا دانست.

همچنین Javidi و همکاران (۲۰) نیز در مطالعه دیگری نشان دادند که هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به طور معنی‌داری مؤثرتر از کلرهگزیدین ۲/۲۵٪ و نرمال سالین در کاهش انتروکوکوس فکالیس داخل کانال ریشه بود. در این مورد نیز، غلظت کلرهگزیدین استفاده شده اندکی (۰/۲۵٪) بیشتر از آن در مطالعه حاضر بود و لکن با این حال، در هر دو

مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره تشنه داری، کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم در کانال ریشه دندان‌های آلوده به انتروکوکوس فکالیس انجام شد. شکست درمان کانال ریشه اغلب با حذف ناقص باکتری، به ویژه انتروکوکوس فکالیس، مرتبط است. انتروکوکوس فکالیس یک میکروارگانیسم گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری است که به علت دارا بودن فاکتورهای ویرولانسی گوناگون، از مقاوم‌ترین گونه‌های داخل کانال ریشه می‌باشد و به این علت، به عنوان گونه میکروبی غالب در اکثر موارد، دلیل شکست درمان ریشه محسوب می‌شود.

در این مطالعه، باکتری انتروکوکوس فکالیس به صورت مداخله‌ای و به جهت مشابهت با شرایط واقعی در بالین، در کانال دندان‌های کشیده شده از بیماران کلنیزه شد. مقالات، زمان انکوباسیون‌های متفاوتی جهت اتصال و کلنیزاسیون انتروکوکوس فکالیس به مواد دندانی گزارش کرده اند، ولیکن به صورت کلی، طبق مقالات و همینطور نتیجه مطالعه حاضر، ۱ هفته زمان کافی جهت کلنیزه شدن حجم قابل توجهی از باکتری‌ها در داخل کانال ریشه می‌باشد (۱۳، ۱۵، ۱۶).

عصاره گیاه تشنه داری در این مطالعه با غلظت ۲۰٪ مورد استفاده قرار گرفت. جهت جلوگیری از عوارض جانبی احتمالی توسط غلظت‌های بالاتر مواد، معمولاً کمترین غلظت مهارکنندگی هر ماده که در تست MIC تعیین می‌شود، جهت انجام تست‌ها انتخاب می‌گردد. کلرهگزیدین نیز در این مطالعه با غلظت ۲٪ که در بالین جهت درمان اندودنتیک استفاده می‌شود، مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های رایج این ماده که در دهانشویه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد ۰/۱۲ تا ۰/۲٪ می‌باشد (۱۷).

می‌باشد. اگر عصاره مورد استفاده در مطالعه حاضر نیز تصفیه گردد، ممکن است فعالیت بیشتر و بهتری در آن مشاهده گردد. از مزایای عمده استفاده از عصاره‌های گیاهی می‌توان در دسترس بودن، سمیت کم، افزایش ماندگاری و مقرون به صرفه بودن آن‌ها را نام برد (۲۲).

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، برخی از مطالعات تأثیر دهان‌شویه تشنه داری را بر بیماری‌های دندانی مورد بررسی قرار داده‌اند. برای مثال Dadelahi و همکاران (۲۳) در مطالعه‌ای اثر روغن‌های ضروری تشنه داری را بر روی پاتوژن‌های عامل پوسیدگی دندان از جمله استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس رامنوسوز، اکتینومایسز ویسکوسوس و کاندیدا آلبیکنز سنجیده بودند و به این نتیجه دست یافته بودند که این روغن‌ها بیشترین اثر ضد میکروبی خود را به ترتیب بر روی اکتینومایسز ویسکوسوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوز و استرپتوکوکوس موتانس و کمترین اثر ضد میکروبی را بر روی کاندیدا آلبیکنز داشتند و به صورت کلی این عروغن‌ها دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی هستند.

در یک مطالعه ی کارآزمایی بالینی که توسط Kerdar و همکاران (۲۴) بر روی ۵۰ بیمار دارای اندودونتیت مزمن در همدان انجام گرفته بود، اثر عصاره هیدروالکلی تشنه داری با یک دهان‌شویه لیسترین بر روی شاخص پلاک، عمق پاکت دندانی، خونریزی در حین پروب کردن، و تعداد کلنی‌های استرپتوکوکوس موتانس بعد از ۲ و ۴ هفته مقایسه شد. نتایج نشان داد که در کوتاه مدت، عصاره تشنه داری باعث بهبود شاخص پلاک، عمق پاکت و خونریزی در حین پروب شد، اما در دراز مدت تعداد کلنی‌های استرپتوکوک موتانس به طور قابل توجهی نسبت به دهان‌شویه مورد استفاده کمتر شده و در نتیجه عصاره تشنه داری در درمان پرودنتیت مزمن نسبت به دهان‌شویه لیسترین مورد استفاده مؤثرتر می‌باشد.

علی رغم مطالعات صورت گرفته، مطالعه کاملاً مشابهی که اثر ضد میکروبی عصاره تشنه داری، هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین را بر انتروکوکوس فکالیس در کانال ریشه دندان مقایسه کرده باشد، وجود نداشت که این موضوع را می‌توان به عنوان یکی از نقاط قوت مطالعه حاضر (جنبه تازه و بدیع بودن مطالعه) در نظر گرفت.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به این نکته اشاره کرد که اثر ضد باکتریایی مواد مورد تست می‌توانست به صورت دقیق‌تر از طریق

مطالعه هیپوکلریت سدیم نتایج ضد میکروبی بهتری را نسبت به کلرهگزیدین نشان داد.

از طرفی، Zare Jahromi و همکاران (۱۶) در مطالعه‌ای به بررسی ضد میکروبی پروپولیس با کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ علیه انتروکوکوس فکالیس پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که کلرهگزیدین نسبت به هیپوکلریت سدیم و پروپولیس فعالیت ضد باکتریایی بیشتری دارد. هر چند که غلظت هیپوکلریت سدیم در مطالعه مذکور (۵/۲۵٪) بسیار بالاتر از آن نسبت به مطالعه حاضر (۲/۵٪) بوده، ولیکن برخلاف انتظار، این غلظت بالاتر اثر ضد باکتریایی کمتری اعمال کرده و برخلاف هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ اثر ضد باکتریایی کمتری در مقایسه با کلرهگزیدین ۲٪ داشته است. این مقایسه نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی هیپوکلریت سدیم ممکن است وابسته به دوز نباشد. بعلاوه، زمان انکوباسیون مربوط به مواجهه باکتری داخل کانال با مواد مورد تست، در مورد مطالعه Zare Jahromi و همکاران (۱۶)، ۱ هفته و در مطالعه حاضر ۵ دقیقه می‌باشد که این مورد نیز می‌تواند از علل تفاوت در نتایج دو مطالعه باشد.

در مطالعه دیگری که توسط Mehmandoust و همکاران (۲۱) باهدف مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اسطوخودوس، هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و کلرهگزیدین ۲٪ به عنوان شوینده داخل کانال ریشه دندان انجام شد؛ نتایج نشان داد که میانگین تعداد باکتری‌های زنده انتروکوکوس فکالیس پس از ۵ دقیقه مواجهه با محلول‌های اسطوخودوس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مقایسه میانگین تعداد باکتری‌های زنده بین گروه‌های متفاوت در زمان‌های متفاوت، حاکی از برتری معنی‌دار محلول‌های هیپوکلریت سدیم پس از ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه نسبت به محلول اسطوخودوس در از بین بردن انتروکوکوس فکالیس در کانال ریشه بود.

به طور کلی محلول شستشو دهنده گیاهی بررسی شده در مطالعه حاضر از لحاظ خاصیت ضد میکروبی تأثیر مطلوبی نداشته و نسبت به کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم ضعیف‌تر می‌باشد. شستشو دهنده‌های استاندارد نظیر کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم در مقایسه با عصاره‌ها، فعالیت ضد باکتریایی بالاتری را علیه انتروکوکوس فکالیس نشان می‌دهند چرا که این محصولات صنعتی به خوبی تصفیه شده‌اند و بنابراین بدون شک فعالیت آن‌ها بیشتر از عصاره‌های خام گیاهی

ترکیب گیاهی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مطالعه از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام جهت فراهم آوردن شرایط مناسب جهت انجام تحقیقات این مطالعه تقدیر و تشکر می‌نمایند. کد اخلاق این مطالعه (IR.MEDILAM.REC.1401.085) از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایلام اخذ شد.

References

- 1- Khodadadnejad F, Akbari M, Abdolalian F, Daneshvar M, Ahmadi B, Zahraei Z. Comparison of Antimicrobial Activity of Sodium Hypochlorite (NaOCl) 2.5%, Microemulsion of Myrtus 10%, Microemulsion of Thyme 0.6% on the Enterococcus Faecalis After Root Canal Filling. J Arak Univ Med Sci. 2021;24(3):424-37.
- 2- Ali A, Bhosale A, Pawar S, Kakti A, Bichpuriya A, Agwan MA, et al. Current trends in root canal irrigation. Cureus. 2022;14(5):e24833.
- 3- Jafari A, Kiani M, Nikkhab M, Bakhtiari R, Nakhjavani YB, Heidari AR. Comparative evaluation of antiseptic effects of sodium hypochlorite, thyme essence and normal salins in root canal irrigation of primary teeth. J Dent Med. 2014;27(3):161-7.
- 4- Cobos JDM, Naranjo KSQ, Fuertes HAP. Sodium hypochlorite accidents in endodontics. HIV Nursing. 2023;23(3):1928-32.
- 5- Kayaoglu G, Ömürlü H, Akca G, Gürel M, Gençay Ö, Sorkun K, et al. Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against Enterococcus faecalis in infected dentinal tubules. J Endod. 2011;37(3):376-81.
- 6- Ambareen Z, Chinappa AJJDSR. Go green-keep the root canal clean. Int J Dent Sci Res. 2014;2(6B):21-5.
- 7- Hugar S, P MP, Nagmoti J, Uppin C, Mistry L, Dhariwal N. An in vitro Comparative Evaluation of Efficacy of Disinfecting Ability of Garlic Oil, Neem Oil, Clove Oil, and Tulsi Oil with autoclaving on Endodontic K Files tested against Enterococcus faecalis. Int J Clin Pediatr Dent. 2017;10(3):283-8.
- 8- Allahinejad E, Pourmajidian M, Jalilvand H, Mashayekhan A, Asgari M, Taati F. Evaluation of the Antibacterial Potential of *Scrophularia Striata* against Plant Pathogenic Bacteria. Int J For Hortic. 2016;2(2):35-9.
- 9- Azhdari-Zarmehri H, Nazemi S, Ghasemi E, Musavi Z, Tahmasebi Z, Farsad F, et al. Assessment of effect of hydro-alcoholic extract of *scrophularia striata* on burn healing in rat. J Babol Univ Med Sci. 2014;16(5):42-8.
- 10- Babri S, Doosti M, Fatehi L, Salari A. The effects of *Scrophularia striata* extract on anxiety and depression behaviors in adult male mice. Pharm Sci. 2012;18(2):133-40.
- 11- Havasian MR, Panahi J, Pakzad I, Davoudian A, Jalilian A, Azodi MZ. Study of inhibitory effect of alcoholic and aqueous

شمارش کلنی باکتری‌های رشد کرده مشخص گردد. همینطور، احتمالاً جنس متفاوت دندان‌ها و میزان چسندگی متفاوت سویه مورد استفاده باکتری به این بسترها، می‌توانسته بر روی میزان باکتری برداشت شده از هر یک از کانال‌های دندانی و رشد یا عدم رشد آن در محیط بایل اسکولین تاثیر گزار بوده باشد.

به طور کلی، با توجه به محدود بودن تعداد مطالعات انجام گرفته بر روی عصاره تشنه داری، پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعات بیشتری با حجم نمونه بالاتری بر روی خواص ضد میکروبی و سایر خواص این

extract of *Scrophularia striata* (tashne dari) on *Candida albicans* in vitro. Pejouhesh Pezeshki. 2013;36(5):19-23.

12- Rostami F, Taherpour K, Ghasemi HA, Akbari Gharraei M, Shirzadi H. Effects of hydroalcoholic extract of *Scrophularia striata* in comparison with antibiotic, probiotic and a multivitamin and mineral supplement on growth performance and blood parameters of broilers. J Anim Sci Res. 2019;28(4).

13- Adel M, Sharifi M, Hamed R, Rahmani N, Javadi A, Jahangiri F. Comparing the Antimicrobial Efficacy of Carvacrol, Chlorhexidine and Calcium Hydroxide on *Enterococcus faecalis* in root canal treatment: an in vitro study. J Mazandaran Univ Med Sci. 2016;26(143):108-19.

14- Mehrvarzfar P, Saghir MA, Asatourian A, Fekrazad R, Karamifar K, Eslami G, et al. Additive effect of a diode laser on the antibacterial activity of 2.5% NaOCl, 2% CHX and MTAD against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals: an in vitro study. J Oral Sci. 2011;53(3):355-60.

15- Saber SE-DM, El-Hady SA. Development of an intracanal mature *Enterococcus faecalis* biofilm and its susceptibility to some antimicrobial intracanal medications; an in vitro study. Eur J Dent. 2012;6(1):43-50.

16- Zare Jahromi M, Tahmoorespoor A, Hemmat N, Moghadasi BE, Ranjbarian P. The comparison of antibacterial effect of propolis, sodium hypochlorite 5.25%, and chlorhexidine 2% as intracanal irrigants against *enterococcus faecalis*: an ex vivo study. Caspian J Dent Res. 2017;6(1)29-35.

17- Thakur V, Kaur M, Jamwal P, Thakur B. 2% Chlorhexidine in root canal treatment: A review. J Curr Med Res Opin. 2020;3(12):770-4.

18- Cárdenas-Bahena Á, Sánchez-García S, Tinajero-Morales C, González-Rodríguez VM, Baires-Várguez L. Use of sodium hypochlorite in root canal irrigation. Opinion survey and concentration in commercial products. Rev Odontol Mex. 2012;16(4):252-8.

19- Vahabi S, Najafi E, Alizadeh S. In vitro antimicrobial effects of some herbal essences against oral pathogens. J Med Plant Res. 2011;5(19):4870-8.

20- Javidi M, Behravan J, Goodarzi M, Bagherpoor Z. An in vitro evaluation of antimicrobial activity of NaClO and chlorhexidine as intracanal irrigants on *streptococcus faecalis*. J

Mash Dent Sch. 2007;31(3):177-82.

21- Mehmandoust P, Farhadmollashahi N, Ghasemi A. Antibacterial efficacy of lavandula officinalis extract, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate solutions as root canal irrigations: A comparative analysis. *Casp J Dent Res.* 2016;5(1):14-20.

22- Saeidi A, Hamidi MR, Davoodabadi A, Mahmoudi E, Khafri S, NikoueeRad Z. Comparison of antibacterial effect of methanolic and hydro-alcoholic ziziphus spina-christi extract with 2.5 sodium hypochlorite on enterococcus faecalis: an in

vitro study. *Casp J Dent Res.* 2018;7(1):37-42.

23- Dadelahi S, Yousefi F, Golmarz PE, Taheri E. Evaluation of chemical composition and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* essential oil on dental caries pathogens. *J Basic Res Med Sci.* 2020;7(4):36-42.

24- Kerdar T, Rabienejad N, Alikhani Y, Moradkhani S, Dastan D. Clinical, in vitro and phytochemical, studies of *Scrophularia striata* mouthwash on chronic periodontitis disease. *J Ethnopharmacol.* 2019;239:111872.