

بررسی تأثیر استویوساید و استویا ریبودیانا بر رشد استرپتوکوکوس موتانس

فاطمه آقایی حسین آبادی^۱، مریم محمدی سیجانی^۲، وجیهه کرباسی زاده^۳، محمد رضا مفید^۴

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.
- ۲- مربی، کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.
- ۳- استادیار، دکترای باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.
- ۴- استادیار، دکترای بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

یافته / دوره شانزدهم / شماره ۱ / بهار ۹۳ / مسلسل ۵۹

چکیده

دریافت مقاله: ۹۳/۱۲/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۳/۱۲/۱۱

*** مقدمه:** استرپتوکوکوس موتانس عامل اصلی پوسیدگی دندان و تخریب آن است. هدف از این تحقیق بررسی آزمایشگاهی اثر استویوساید و عصاره های گیاه استویا ریبودیانا بر روی رشد سویه مورد نظر بود.

*** مواد و روش‌ها:** در این تحقیق عصاره آبی و استونی گیاه استویا به روش خیساندن و عصاره متانولی و اتانولی به وسیله دستگاه سوکسله تهیه گردید. گلیکوزید استویوساید از کشور مالزی خریداری شد. برای بررسی عملکرد ضد باکتریایی عصاره ها و استویوساید از روش انتشار در چاهک با استفاده از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و تعیین حداقل غلظت مهارت توسط روش میکروبراث دایلوژن استفاده شد. سپس تأثیر استویوساید و هر کدام از عصاره ها با هم و نیز با آنتی بیوتیک پنی سیلین با روش آنالیز واریانس مقایسه گردیدند.

*** یافته‌ها:** نتایج نشان دهنده اثر مهارت عصاره متانولی با $MIC=25\text{mg/ml}$ ، عصاره اتانولی با $MIC=3/13\text{mg/ml}$ و عصاره استونی با $MIC=1/56\text{mg/ml}$ بر روی رشد و تکثیر استرپتوکوکوس موتانس بود. عصاره آبی گیاه استویا و استویوساید باعث مهارت رشد سویه مذکور نگردیدند.

*** بحث و نتیجه گیری:** عصاره های الکلی و استونی گیاه استویا ریبودیانا می توانند به عنوان دارو برای پیشگیری و کنترل رشد استرپتوکوکوس موتانس استفاده شود.

*** واژه‌های کلیدی:** استویا ریبودیانا، استویوساید، استرپتوکوکوس موتانس، فعالیت ضد میکروبی.

آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی.

پست الکترونیک: aghaiefatemeh@yahoo.com

مقدمه

پوسیدگی دندان یک اپیدمی خفیف بسیار رایج در سطح جهان است و در همه اقشار جامعه و همه سنین مشاهده می شود. استرپتوکوک ها به ویژه استرپتوکوکوس موتانس به تعداد بسیار زیاد در دهان پیدا می شوند. این باکتری ها توانایی زیادی در تبدیل کربوهیدرات به اسید دارند و نقش اصلی در پوسیدگی دندان را ایفا می کنند. با توجه به گستردگی زیاد پوسیدگی دندان، مطالعات زیادی برای حذف و جلوگیری از عوارض آن در دنیا صورت گرفته است. مطالعات اخیر نشان دهنده استفاده از ترکیبات مختلفی از جمله کمپروفیلولاکتیک ها، پپتیدهای ضدباکتریایی، واکسن ها، پروبیوتیک ها، شیرین کننده های جایگزین ساکاروز، ترکیبات رمینراسیون کننده دندان مثل فلوراید، کازئین، فسفوپپتیدها به عنوان مواد ضد پلاک و پوسیدگی دندان است. با توجه به اثرات مفید گیاهان دارویی در درمان بیماری ها و با توجه به در دسترس بودن و سازگاری بیشتر آنها با سیستم ایمنی انسان، استفاده از گیاهان و مواد مؤثره آن ها در مقابله با عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی رو به افزایش است (۱).

گیاه استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni از خانواده آستریاسه است که در جنوب آمریکا، پاراگوئه و برزیل رشد می کند. مردم آمریکای جنوبی صدها سال است که از این گیاه به عنوان شیرین کننده و داروی گیاهی استفاده می نمایند. برای عصاره این گیاه خاصیت ضد قارچی، ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد ویروسی ذکر شده است (۲-۴). عصاره برگ گیاه استویا ۳۰۰ برابر شیرین تر از شکر است. برگ های این گیاه دارای گلیکوزیدهایی است که مزه شیرین دارد ولی ایجاد کالری نمی کنند (۵). استویا به دلیل شیرین بودن و خاصیت درمانی از نظر اقتصادی و علمی مورد

توجه قرار گرفته است. تاکنون حدود ۱۰ گلیکوزید از برگ های استویا استخراج شده است. استویوساید، گلیکوزید شیرین اصلی برگ های گیاه استویا است (۶،۷). استویوساید دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری های مولد فساد مواد غذایی است (۸). گلیکوزیدهای گیاه استویا به عنوان یک افزودنی غذایی شیرین و کم کالری برای انسان مزایای بسیار متنوعی دارد. پایداری، بدون کالری بودن و امکان استفاده از آن برای بیماران دیابتی و مبتلایان به فشار خون بالا و چاقی از محاسن این مواد به شمار می رود. این گلیکوزید دارای عطر و طعم مطلوب است و می تواند جایگزین بسیار مناسبی برای شکرهای مصنوعی و رژیمی نظیر ساخارین و آسپارتام باشد. همچنین به دلیل داشتن کالری کم می تواند به عنوان یک ترکیب رژیمی به کار برده شود (۹). از آنجایی که سلامت دهان و دندان در جوامع امروزی بسیار حائز اهمیت است، استفاده از ترکیبات سازگارتر با بدن به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها به دلیل مقاومت دارویی و عوارض جانبی آن ضرورت دارد.

با توجه به رویکرد متخصصان علوم صنایع غذایی در استفاده از استویوساید و پودر برگ های گیاه استویا به عنوان یک مکمل شیرین کننده در فرآورده های غذایی، در این تحقیق اثر استویوساید و عصاره های مختلف برگ های استویا ریبودیانا بر روی رشد استرپتوکوکوس موتانس، باکتری شاخص پلاک دندانی بررسی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی که در سال ۱۳۹۰ انجام شد، سویه استاندارد استرپتوکوکوس موتانس (۳۵۶۶۸ ATCC) به صورت لیوفیلیزه از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. گیاه استویا ریبودیانا از شهرک علمی تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه گردید. برگ های این گیاه در دمای محیط و دور از نور خورشید به مدت یک هفته خشک و سپس آسیاب شد. برای تهیه عصاره

۳۷ درجه سانتیگراد در مجاورت دی اکسیدکربن، قطر هاله عدم رشد اطراف هر چاهک بر روی پلیت ها مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تأیید نتایج حاصل، آزمایشات ۴ بار تکرار گردیدند.

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) به روش میکرودايلوشن صورت گرفت. به این منظور در لوله های کاملاً استریل رقت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره های آبی، استونی و الکی، همچنین رقت هایی از گلیکوزید استویوساید در محیط کشت عصاره قلب و مغز آبگوشتی تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به وسیله سمپلر، به ترتیب غلظت بیشتر تا کمتر از خانه های شماره ۱ تا ۱۰ چاهک های میکروتیتر پلیت ۹۶ خانه ای ته گرد استریل ریخته شد. در مرحله بعد، از سوسپانسیون ۲۴ ساعته استرپتوکوکوس موتانس با کدورت معادل کدورت ۰/۵ استاندارد مک فارلند به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک های حاوی عصاره ها اضافه شد.

در چاهک شماره ۱۱، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون استرپتوکوکوس موتانس با کدورت معادل کدورت ۰/۵ استاندارد مک فارلند همراه با ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت عصاره ی قلب و مغز (شرکت مرک آلمان) به عنوان کنترل مثبت و در چاهک شماره ۱۲، ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت استریل عصاره ی قلب و مغز آبگوشتی به عنوان کنترل منفی تلقیح گردید. میزان جذب نوری چاهک های میکرو پلیت در دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس میکروپلیت در مجاورت دی اکسید کربن در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، مجدداً میزان جذب نوری ایجاد شده توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۶۳۰ نانومتر بررسی گردید. از مقایسه میزان جذب نوری قبل و بعد از انکوباسیون

اتانولی ۲۵ گرم از پودر برگ استویا با ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول (شرکت مرک آلمان) در دستگاه سوکسله به مدت ۶ ساعت عصاره گیری شد. عصاره متانولی نیز به روشی مشابه تهیه گردید (۲). برای تهیه عصاره آبی ۲۵ گرم از پودر برگ استویا با ۲۰۰ میلی لیتر از آب در ارلن مخلوط شد. این ارلن در کاغذ آلومینیومی پوشانده شد و به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت (۸). عصاره استونی نیز همانند عصاره آبی به روش خیساندن تهیه گردید. پس از صاف کردن و خشک شدن عصاره ها در مجاورت هوا، عصاره های آبی، استونی و الکی تا زمان انجام آزمایش، در ظروف دربسته و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

به منظور اجرای روش انتشار در چاهک از کشت میکروبی ۲۴ ساعته استرپتوکوکوس موتانس سوسپانسیونی با کدورت معادل کدورت ۰/۵ استاندارد مک فارلند تهیه گردید. کدورت این سوسپانسیون برای دستیابی به دقت بالاتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر روی میزان جذب ۰/۸ تنظیم شد. ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی آماده شده بر روی محیط کشت عصاره قلب و مغز آگاردار (شرکت مرک آلمان) تلقیح گردید و به وسیله سواپ استریل در سطح محیط کشت به طور یکنواخت کشت داده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، چاهک هایی بر روی محیط کشت ایجاد گردید. با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر محیط عصاره قلب و مغز آگاردار استریل مذاب ته چاهک ها بسته شد. ۵۰ میکرولیتر از غلظت های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شده از استویوساید، عصاره های آبی، استونی و الکی به طور جداگانه به هر چاهک اضافه شد (۳). محلول DMSO پنج درصد (شرکت مرک آلمان) به عنوان کنترل منفی و دیسک آنتی بیوتیک پنی سیلین ۱۰ میکروگرمی (ساخت شرکت پادتن طب) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی، متانولی، اتانولی برگ استویا بر روی رشد استرپتوکوکوس موتانس

قطر هاله عدم رشد عصاره (mm)						
غلظت عصاره (mg/ml)	عصاره استونی	انحراف معیار	عصاره متانولی	انحراف معیار	عصاره اتانولی	انحراف معیار
۵۰	۲۰/۵۰	۱/۷۰	۱۶/۷۵	۰/۹۵	۱۹/۱۳	۲/۷۸
۲۵	۱۶/۷۵	۲/۷۰	۱۳/۲۵	۰/۹۵	۱۶/۶۳	۳/۴۴
۱۲/۵	۱۵/۰۰	۲/۶۰	۹/۲۵	۱/۲۵	۱۵/۵۰	۳/۱۸
۶/۲۵	۱۳/۷۵	۳/۲۰	۰	۰	۱۱/۱۷	۲/۷۵
کنترل مثبت	۱۴/۶۳	۱/۱۰	۱۴/۸۸	۰/۶۲	۱۴/۳۸	۱/۱۰
کنترل منفی	۰	۰	۰	۰	۰	۰

کنترل مثبت: دیسک ۱۰ میکروگرمی پنی سیلین

کنترل منفی: DMSO خالص

آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه نشان داد که در عصاره‌های استونی، متانولی و اتانولی میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف یکسان نیست ($P < 0.001$). نتایج مربوط به میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های استونی، اتانولی و متانولی بر روی استرپتوکوکوس موتانس در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های استونی، اتانولی و متانولی برگ استویا بر روی استرپتوکوکوس موتانس

نوع عصاره	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
متانولی	۲۵/۰۰	۵۰/۰۰
استونی	۱/۵۶	۳/۱۳
اتانولی	۳/۱۳	۶/۲۵

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نتایج بدست آمده از بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های گیاه استویا به روش چاهک مشخص گردید که عصاره استونی و اتانولی به ترتیب با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۰/۵۰ و ۱۹/۱۳ میلی متر دارای اثرات مهاری بیشتری نسبت به عصاره متانولی با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۶/۷۵ میلی متر بر روی استرپتوکوکوس موتانس در غلظت ۵۰ میلی

هر یک از چاهک‌ها و همچنین بررسی چشمی میزان کدورت ایجاد شده در چاهک‌ها، کمترین رقت از ماده مورد آزمون که در چاهک مربوط به آن غلظت کدورتی مشاهده نمی شد به عنوان میزان MIC در نظر گرفته شد.

به منظور تعیین حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) ماده مورد آزمایش، ۵۰ میکرولیتر از چاهک‌های مربوط به MIC و سه چاهک مربوط به غلظت‌های بیشتر از ماده مورد آزمایش که کدورت قابل تشخیصی نداشتند، بر روی محیط کشت عصاره قلب و مغز آگاردار به صورت خطی کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در مجاورت دی اکسید کربن، از نظر رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت. غلظتی از ماده مورد آزمایش که بر روی محیط کشت جامد مربوط به آن هیچ گونه رشدی از استرپتوکوکوس موتانس مشاهده نمی شد به عنوان MBC در نظر گرفته شد. به منظور تأیید نتایج آزمایش هر نمونه ۴ بار تکرار گردید (۲).

یافته‌ها

میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی، اتانولی و متانولی برگ گیاه استویا بر روی استرپتوکوکوس موتانس در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس روش انتشار در چاهک بزرگترین قطر هاله عدم رشد بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس مربوط به عصاره استونی، و پس از آن عصاره‌های اتانولی و متانولی بود. نتایج بدست آمده از MIC و MBC نیز مؤید همین مطلب بود. غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه استویا و استویوساید باعث مهار رشد سویه مورد نظر نگردیدند.

استافیلوکوکوس آرتوس و سالمونلا تیفی موریوم نداشت ولی عصاره استونی بیشترین اثر مهاری را بر روی گونه های مذکور در مقایسه با سایر عصاره ها نشان داد. نتایج حاصل از مطالعه جایارامان با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۱۱).

مطابق با جدول ۱ عصاره استونی مورد آزمایش ما با حداقل غلظت مهارکننده ۱/۵۶ میلی گرم در میلی لیتر بهترین غلظت بازدارنده را در مقایسه با سایر عصاره ها نشان می دهد. فاضال و همکاران اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی و متانولی برگ گیاه استویا را بر روی رشد باکتری های مولد عامل فساد باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس آرتوس، اشرشیا کلی، سودوموناس آروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه بررسی نمودند. نتایج تحقیقات آن ها نشان دهنده اثر ضد میکروبی این عصاره ها بر روی این گونه ها بود (۱۲). در این تحقیق اثر عصاره اتانولی گیاه استویا بسیار بیشتر از اثر عصاره متانولی بود که نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین نتایج هر دو تحقیق نشان دهنده اثر بیشتر عصاره اتانولی بر روی باکتری های گرم مثبت است.

پیریتی و همکاران طی مطالعه ای اثر ضد باکتریایی عصاره های متانولی، اتانولی، اتیل استاتی و هگزانی برگ گیاه استویا ریبودیانا را بر روی سوش های سودوموناس فلئورسنس، پروتئوس ولگاریس، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس آرتوس، کلبسیلا پنومونیه، استرپتوکوکوس پنومونیه بررسی و MIC آن را محاسبه نمودند (۱۳). در این تحقیق اثر عصاره متانولی با MIC تقریباً ۳/۱۲۵ تا ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر بیشتر از اثر عصاره اتانولی با MIC تقریباً ۶/۲۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی سوش های مذکور است. به نظر می رسد که اختلاف در اثر ضد میکروبی این عصاره ها نسبت به مطالعه حاضر به دلیل روش متفاوت عصاره گیری بوده است. پیریتی همچنین مواد موجود در عصاره های مختلف گیاه استویا را شناسایی کرد و مشخص شد که در این گیاه

گرم بر میلی لیتر می باشند ($P < 0.001$). مطابق با تجزیه و تحلیل آماری بدست آمده در تمامی موارد بین قطر هاله عدم رشد و غلظت عصاره گیاهی رابطه مستقیم وجود دارد. این روند اثرگذاری بر روی این سویه نشان دهنده این است که عصاره این گیاه اثر ضد باکتری مشخصی دارد که با افزایش غلظت یا به عبارت دیگر با افزایش ماده مؤثره این اثر نیز بیشتر می شود. در مقایسه بین عصاره متانولی با دیسک ۱۰ میکروگرمی استاندارد آنتی بیوتیک پنی سیلین قطر هاله ایجاد شده توسط عصاره های استونی و اتانولی بیشتر از این آنتی بیوتیک است (جدول ۱).

دینت اثر عصاره متانولی و کلروفومی برگ گیاه استویا را بر روی رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس بررسی نمود. در این تحقیق اثر عصاره متانولی بیشتر از عصاره کلروفومی بود و عصاره گیری به وسیله سانتریفیوژ صورت گرفته بود. در مطالعه دینت قطر هاله عدم رشد، بدون درج غلظت گزارش گردیده بود (۱۰). نتایج دینت در مورد عصاره متانولی با نتایج ما هماهنگ است. هیچ تحقیق دیگری بر روی اثر عصاره متانولی گیاه استویا بر روی استرپتوکوکوس موتانس گزارش نشده است.

تاکنون هیچ گونه مطالعه ای بر روی اثر عصاره های اتانولی، استونی و آبی گیاه استویا ریبودیانا بر روی رشد استرپتوکوکوس موتانس گزارش نشده است.

تحقیق حاضر نشان داد که عصاره آبی گیاه استویا بر روی استرپتوکوکوس موتانس هیچ گونه اثری ندارد. در این رابطه می توان به مطالعه صورت گرفته توسط جایارامان و همکاران اشاره کرد. آن ها اثر عصاره های اتیل استاتی، آبی، استونی و کلروفومی برگ گیاه استویا را بر روی باکتری های مختلف گرم مثبت و گرم منفی را بررسی نمودند. در مطالعه جایارامان عصاره آبی برگ گیاه استویا هیچ گونه اثر مهاری بر روی رشد باکتری های ویبریو کلرا، اشرشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس،

(۸). در مطالعات فوق استویوساید استخراج شده توسط خود محققین باعث ایجاد اثر ضد میکروبی گردید. احتمالاً علت عدم مطابقت نتایج آن ها با این تحقیق مربوط به نوع استویوساید مورد استفاده است. لین و همکاران اثر ضد باکتریایی استویوساید را بر روی باکتری های استفیلوکوکوس آرتوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس بررسی نمودند و نتایج نشان دهنده اثر مهاري استویوساید بر روی سویه های مذکور بود (۱۵). با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق بررسی اثرات ضد میکروبی استویوساید تجاری احتیاج به بررسی بیشتری دارد.

در آینده با توجه به اثرات ضد میکروبی استویا می توان از طریق شیوه های مختلف آنالیز شیمیایی، ترکیبات ضد باکتریایی موجود در این گیاه را مشخص نمود. همچنین پس از بررسی اثرات فارماکولوژی ماده خالص شده در شرایط آزمایشگاهی و داخل بدن، مقدمات معرفی آن برای درمان و جلوگیری از پوسیدگی دندان فراهم خواهد شد. به علاوه با توجه به نتایج اثرات ضد باکتریایی استویا ریبودیانا، استخراج ترکیبات قوی ضد میکروبی عصاره های این گیاه و تهیه فرمولاسیون جدید دارویی برای بیماری ها و عفونت های دندانی دور از انتظار نیست.

تشکر و قدردانی

از شرکت اصفهان شکلات که هزینه مالی این تحقیق را بر عهده گرفتند به ویژه سرکار خانم مهندس نرگس نادیان مدیر فنی شرکت اصفهان شکلات تشکر و قدردانی می نمائیم.

انواع فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، استریوئیدها، تانن ها و ترپن ها وجود دارد. در این مطالعه پیریتی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه استویا را مربوط به وجود این ترکیبات دانسته است. در ارتباط با تأثیر عصاره های گیاهی بر روی رشد استرپتوکوکوس موتانس می توان به مطالعه ساتو و همکاران اشاره کرد (۱۴). این محققین اثر آنتی باکتریال فلاونوئیدهای جدا شده از عصاره متانولی گیاه آرتوکارپوس هتروفیلوس که حاوی ماده ایزوپرنیلو آرتوکارپین می باشد را بر روی رشد استرپتوکوکوس موتانس و سایر باکتری های فلور دهانی بررسی نمودند و نتایج نشان دهنده اثر مهارکنندگی بالای این مواد بر روی باکتری های مولد پوسیدگی دندان از قبیل لاکتوباسیلوس ها، اکتینومایسس ها و استرپتوکوک ها با MIC در حدود $\mu\text{g/mL}$ ۳/۱۳-۱۲/۵۰ بود. ساتو و همکاران اثر ضد باکتریایی فلاونون فیتوالکسین جدا شده از ساپورا اگریگوا را بر روی باکتری های مولد پوسیدگی دندان بررسی نمودند. نتایج نشان دهنده اثر ضد باکتریایی قوی این ماده بر روی رشد باکتری های مولد پوسیدگی بود (۱۴). با توجه به نتایج فوق می توان فرض نمود که اثر مهارکنندگی عصاره های اتانولی، متانولی و استونی گیاه استویا بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس، مربوط به وجود انواع فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، استریوئیدها، تانن ها و ترپن های جدا شده در این عصاره ها است که مسلماً این نتیجه گیری به تحقیق بیشتری نیازمند است.

تاکنون هیچ گونه مطالعه ای در مورد اثر استویوساید بر روی رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر مشخص شد که استویوساید فاقد قدرت مهارکنندگی بر روی رشد سویه مذکور است.

پوری و شارما اثر ضد باکتریایی استویوساید جدا شده از گیاه استویا به روش کروماتوگرافی را بر روی باکتری های مولد فساد غذایی بررسی نمودند و نتایج نشان دهنده اثر مهاري این گلیکوزید بر روی بعضی از سوش های مولد فساد غذایی بود

References

۱. Chen F, Wang D. Novel technologies for the prevention and treatment of dental caries: a patent. *Expert Opin Ther Pat.* ۲۰۱۰; ۲۰(۵):۶۸۱-۶۹۴.
۲. Ghosh S, Subudhi E, Nayak S. Antimicrobial assay of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaf extracts against ۱۰ pathogens. *Int J Integ Biol.* ۲۰۰۸; ۲(۱):۲۷-۳۱.
۳. Kedik SA, Yartsev EI, Stanishevskaya IE. Antiviral activity of dried extract of *Stevia*. *Pharm Chem J.* ۲۰۰۹; ۴۳(۴):۱۹۸-۱۹۹.
۴. Ojha A, Sharma VN, Sharma V. An efficient protocol for in vitro clonal propagation of natural sweetener plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Afr J Plant Sci.* ۲۰۱۰; ۴(۸):۳۱۹-۳۲۱.
۵. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* ۲۰۱۲; ۱۳۲:۱۱۲۱-۱۱۳۲.
۶. Geuns JMC. Stevioside. *Phytochemistry.* ۲۰۰۳; ۶۴(۵):۹۱۳-۹۲۱.
۷. Michalik A, Hollinshead J, Jones L, Fleet GWJ, Yu C-Y, Hu X-G, et al. Steviamine, a new indolizidine alkaloid from *Stevia rebaudiana*. *Phytochem Lett.* ۲۰۱۰; ۳(۳):۱۳۶-۱۳۸.
۸. Puri M, Sharma D. Antibacterial activity of stevioside towards food-borne pathogenic bacteria. *Eng Life Sci.* ۲۰۱۱; ۱۱(۳):۳۲۶-۳۲۹.
۹. Chatsudhipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Therapeut.* ۲۰۰۹; ۱۲۱(۱):۴۱-۵۴.
۱۰. Debnath M. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *J Med Plants Res.* ۲۰۰۸; ۲(۲):۰۴۵-۰۵۱.
۱۱. Jayaraman S, Manoharan M, Illanchezian S. In-vitro Antimicrobial and Antitumor Activities of *Stevia Rebaudiana* (Asteraceae) Leaf Extracts. *Trop J Pharm Res.* ۲۰۰۸; ۷(۴):۱۱۴۳-۱۱۴۹.
۱۲. Fazal H, Ahmad N, Ullah I, Inayat H, Khan L, Haider Abbasi B. Antibacterial potential in *Parthenium hysterophorus*, *Stevia rebaudiana* and *Ginkgo biloba*. *Pak J Bot.* ۲۰۱۱; ۴۳(۲):۱۳۰۷-۱۳۱۳.
۱۳. Preethi D, Sridhar T, Josthna P, Naidu C. Studies on Antibacterial Activity, Phytochemical Analysis of *Stevia rebaudiana* (Bert.) An Important Calorie Free Biosweetner. *J Ecobiotech.* ۲۰۱۱; ۳(۷):۵-۱۰.
۱۴. Sato M, Fujiwara S, Tsuchiya H, Fujii T, Iinuma M, Tosa H, et al. Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *J Ethnopharmacol.* ۱۹۹۶; ۵۴:۱۷۱-۱۷۶.
۱۵. Lin L, Lee L, Sheu S, Lin P. Study on the stevioside analogues of steviolbioside, steviol, and isosteviol. *Chem Pharm Bull.* ۲۰۰۴; ۵۲(۹):۱۱۱۷-۱۱۲۲.

