

## گزارش یکی از تله‌های (Pitfalls) بزرگ تحقیق: بررسی تأثیر عسل طبیعی بر

### میزان استرپتوکوک موتانس بزاق

دکتر آرزو علانی<sup>۱\*</sup>، دکتر آرش عزیزی<sup>۲</sup>، دکتر محمد رهبری<sup>۳</sup>، مهندس ناصر ولانی<sup>۴</sup>، عباس سالاری تلمادره<sup>۵</sup>

۱. استادیار بخش بیماری‌های دهان و دندان، واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران

۲. دانشیار بخش بیماری‌های دهان و دندان، واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران

۳. میکروبیولوژیست، دانشیار دانشگاه تهران

۴. عضو مرکز تحقیقات تالاسمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۵. دندانپزشک

#### چکیده

**سابقه و هدف:** این تحقیق، جهت تعیین تأثیر مصرف عسل بر تغییرات میزان استرپتوکوکوس موتانس انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی متقاطع، روی ۲۴ نفر از دانشجویان دندانپزشکی انجام پذیرفت. در ابتدا از دو گروه سی‌سی بزاق تهیه شد. سپس عسل در اختیار گروه مورد قرار گرفت و از آنها خواسته شد که آن را به مدت یک هفته، روزانه به میزان ۵ میلی‌لیتر در دهان خود به مدت ۵ دقیقه بچرخانند و سپس ببلعند. پس از ۲ هفته Wash Out، جابجایی بین گروه‌ها انجام گرفت و تغییرات استرپتوکوک موتانس بزاق، با آزمون آماری Mann-U-Whitney بررسی شد.

**یافته‌ها:** میزان اولیه‌ی استرپتوکوک موتانس بزاق افراد در گروه شاهد برابر با  $54250 \pm 30482$  CFU/ml بود که پس از مداخله، به میزان  $37042 \pm 27900$  CFU/ml کاهش یافت. همچنین در گروه مورد، قبل از مداخله، برابر با  $26000 \pm 34667$  CFU/ml بود که پس از مداخله، به میزان  $54167 \pm 35129$  CFU/ml افزایش یافت. جهت بررسی پایایی اندازه‌گیری استرپتوکوک موتانس بزاق، از تعداد ۴ نفر دانشجو، ۴ سی‌سی بزاق تهیه و به دو قسمت مساوی تقسیم و نمونه‌ی بزاق به عنوان ۸ نفر به همان آزمایشگاه ارسال گردید. تفاوت میزان کلنی‌ها به میزان  $17500 \pm 9574$  CFU/ml بود ( $P < 0.04$ ).

**نتیجه‌گیری:** پیشنهاد می‌شود قبل از شروع تحقیق، یک مطالعه‌ی آزمایشی انجام گیرد تا محقق به امتیازات آن جهت ارتقای پژوهش نایل شود.

#### واژگان کلیدی: عسل، استرپتوکوک موتانس، بزاق، پلاک دندانی، تله‌های تحقیق

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Alaee A, Azizi A, Rahbari M, Valai N, Salari Talmadareh A. A factor that may result in erroneous: The effect of honey on *Streptococcus mutans* (a report of study pitfalls). *Pejouhandeh* 2015;20(2):112-117.

#### سردبیر محترم،

گزارش پایایی، برای کلیت آن مقاله مطرح است. در اینجا، مقاله‌ای به صورت اصیل ارائه شده بود و اتفاقاً محور عمده‌ی آن، عدم گزارش پایایی آن تحقیق بود که پژوهشگران را با شک و تردید نسبت به یافته‌ی تحقیق مجبور به انجام یک مطالعه‌ی آزمایشی شد که آزمایشگاه آنها پایایی نداشت. روی این دو مسأله‌ی عدم گزارش مطالعه‌ی آزمایشی و سپس عدم گزارش پایایی ابزار اندازه‌گیری موضوعی بود که این مقاله بر مبنای آن شکل گرفته است و به این خاطر در تحریریه‌ی مجله، مطرح و مقرر شد که به صورت Editorial چاپ شود.

یکی از چالش‌های مقالات اصیل، عدم گزارش پایایی (reliability) ابزار اندازه‌گیری تحقیق است که در واقع اساس و پایه مواد و روش‌ها و تأییدکننده‌ی یافته‌ها و طبعاً بحث و نتیجه‌گیری خواهد بود. قبلاً گزارش شده بود که مقالات، این پایایی را گزارش نکردند و طبعاً عوارض عدم نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر آرزو علانی؛ متخصص بیماری‌های دهان و فک و صورت، استادیار بخش بیماری‌های دهان و دندان واحد دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران، کوی نصر، نیش خیابان ۳۲ (شهید محمدی)، پلاک ۲۲۷، طبقه همکف؛ تلفن: ۸۸۲۶۳۴۱۴ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: ngl2006@yahoo.com

## مقدمه

یکی از بیماری‌های شایع محیط دهان، پوسیدگی دندان است که در اثر تجمع میکروارگانیسم‌های دهانی موجود در بزاق، رژیم غذایی و عادات بهداشتی نامناسب، روی سطوح دندان ایجاد می‌شود. از مهمترین اعضای این مجموعه استرپتوکوکوس موتانس است که نقش مهمی در پوسیدگی دندان دارد (۳-۱). تاکنون روش‌های مختلفی جهت پیشگیری از پوسیدگی دندان از طریق کاهش این میکروارگانیسم ارایه گردیده است که از آن جمله می‌توان به کاربرد مواد آنتی‌باکتریال مانند کلرهگزیدین، مداخله‌ی زایلیتول با متابولیسم میکروب‌ها، بلوکه کردن چسبندگی این میکروارگانیسم به سطوح دندان توسط آنالوگ‌های رسپتور و واکسن‌های پوسیدگی اشاره کرد (۴). عدم توجه به پوسیدگی دندان علاوه بر تحمیل هزینه‌های بالا، منجر به از دست رفتن دندان‌ها، عیوب زیبایی، کاهش قابلیت جویدن، درد و ناراحتی دهانی و سیستم گوارشی، کمبود تغذیه‌ای و ... می‌گردد که در مقایسه با زیان مالی، قابل برآورد نیست (۵).

استفاده از عسل طبیعی در رژیم غذایی با توجه به مفید بودن این ماده‌ی اصیل و خواص ضدباکتریایی اثبات شده‌ی آن در طب سنتی، به عنوان روشی برای کاهش میزان استرپتوکوک موتانس بزاق دهان و پلاک دندان (به عنوان آغازگر روند پوسیدگی) در دندانپزشکی به عنوان موضوعی نوین در دست تحقیق می‌باشد (۱۰-۶). همچنین، اثر بازدارندگی این ماده بر رشد باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی، مخمرها، قارچ‌ها و ویروس‌ها گزارش شده است (۱۴-۱۱). طیف اثرات ضد میکروبی عسل، به نوع و غلظت عسل و شهد گل منبع، بستگی دارد (۲۱-۱۵).

با توجه به خصوصیات ضد میکروبی عسل طبیعی در تحقیقات انجام شده (۱۰-۶) و با توجه به کاستی‌های روش تحقیقات قبلی در این زمینه که بیشتر به صورت مطالعات آزمایشگاهی (*in vitro*) روی سوش‌های خاصی از باکتری‌ها و یا روی عصاره‌ی عسل (پروپولیس) صورت گرفته بود (۱۴-۱۱)، تحقیقی با هدف بررسی تأثیر عسل طبیعی بر میزان استرپتوکوک موتانس بزاق در دانشجویان دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت کارآزمایی بالینی از نوع متقاطع انجام پذیرفت. تعداد نمونه بر اساس نتایج حاصل از مطالعه‌ی مشابه (۲۳)، ۲۴ نفر (هر نفر در یک دوره‌ی مطالعه، به عنوان شاهد و در دوره‌ی دیگر به عنوان مورد است) برآورد گردید و در مجموع، این تحقیق روی ۴۸ نمونه انجام گرفت. دانشجویان، به ترتیب مراجعه و برای ورود به مطالعه، از چگونگی و روند طرح مطلع گشته و رضایت‌نامه‌ی کتبی مبنی بر رضایت آگاهانه و اختیاری برای شرکت در پژوهش از افراد کسب شد. دانشجویان واجد شرایط برحسب ترتیب مراجعه، به صورت تصادفی به گروه‌های مورد و شاهد تقسیم شدند.

افرادی انتخاب شدند که سه هفته قبل از شروع مطالعه، تحت فلونوراید تراپی موضعی قرار نگرفته بودند و دو هفته قبل از مطالعه، آنتی‌بیوتیک، زایلیتول، پروبیوتیک و دهان‌شویه‌ی آنتی‌باکتریال و دارو مصرف نکرده بودند و یک هفته قبل از مطالعه، به طور مکرر از عسل در وعده‌های غذایی خود استفاده نکرده بودند و نیز در صبح روز نمونه‌گیری از مسواک و نخ دندان و واترجت استفاده نکرده بودند. همچنین می‌بایست در طول مطالعه، از مصرف آدامس یا سایر محصولات حاوی زایلیتول، دهان‌شویه یا خمیردندان حاوی فلونوراید خودداری می‌نمودند (۲۲). افراد الکلی و مبتلا به بیماری سیستمیک، از مطالعه حذف شدند. همچنین، تعداد ۶ نفر از نمونه‌ها به دلیل عدم همکاری مناسب، از مطالعه خارج شدند. ضمناً شرایط دهانی و سیستمیک افراد در طول مدت مطالعه، ثابت بود. شاخص DMFT (تعداد دندان‌های پوسیده، از دست رفته و ترمیم شده) در نمونه‌ها توسط معاینه‌ی کلینیکی (با سوند و پنس و آینه و در نور کافی) در فرم اطلاعاتی ثبت شد.

عسل طبیعی مورد استفاده در این پژوهش، در فصل بهار ۱۳۹۱، از یک زنبورداری محلی در ارتفاعات شهرستان سوادکوه واقع در شمال ایران تهیه شد. قبل از شروع پژوهش از داوطلبین واجد شرایط مقدار ۲ سی‌سی بزاق غیر تحریکی به روش Spitting در ساعت ۹ تا ۱۱ صبح تهیه شد (داوطلبین یک ساعت قبل از تهیه‌ی بزاق، چیزی نخورده و نیاشامیده بودند) تا میزان استرپتوکوک موتانس اولیه‌ی بزاق آنها، تعیین گردد (۲۳). نمونه‌هایی که بزاق آنها فاقد استرپتوکوک موتانس بود، از مطالعه حذف شدند.

از هر کدام از نمونه‌ها حداقل ۲ سی‌سی بزاق به روش غیرتحریکی (Spitting) در ظرف استریل جمع‌آوری شد (۲۵) و در مدت زمان کمتر از ۲ ساعت به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه، یک سی‌سی از بزاق در محیط کشت میتیس سالیواریس آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه

می‌کشیدند،  $5 \pm 1/4$  سال بود. هیچ‌کدام از نمونه‌ها اعتیاد نداشتند و هیچ‌یک الکل مصرف نمی‌کردند. هیچ‌کدام از افراد، سابقه‌ی رادیوتراپی نداشتند.  $4/2\%$  از افراد، خشکی دهان داشتند. تعداد دفعات مسواک زدن آنها برابر  $1/9 \pm 0/6$  بار در روز بوده و هیچ‌کدام از نمونه‌ها پلاک ارتودنسی یا اپلاینس دهانی نداشتند. همچنین، سابقه‌ی بیماری سیستمیک در هیچ‌یک از نمونه‌ها وجود نداشت.

میزان استرپتوکوک موتانس (بر حسب CFU/ml) بزاق در افراد گروه شاهد ( $N_1=24$ ) در ابتدای مطالعه برابر با  $5425.0 \pm 30482$  بود که پس از یک هفته مداخله طبق طراحی مطالعه، به میزان  $37042 \pm 27900$  رسید که این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ). میزان استرپتوکوک موتانس بزاق افراد در جدول شماره‌ی ۱ ارایه گردیده است و نشان می‌دهد در گروه مورد ( $N_2=24$ ) در ابتدای مطالعه برابر با  $34667 \pm 26000$  CFU/ml بود که پس از مداخله، به میزان  $54167 \pm 35129$  CFU/ml افزایش یافت که این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ).

تفاوت میزان اولیه‌ی استرپتوکوک موتانس بزاق بین افراد گروه مورد و شاهد با آزمون آماری Mann-U-Whitney، معنی‌دار بود ( $P < 0/02$ ). همچنین تفاوت میزان استرپتوکوک موتانس بزاق بین افراد گروه مورد و شاهد بعد از مداخله، با آزمون آماری Mann-U-Whitney، معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). همچنین، تفاوت میزان تغییرات استرپتوکوک موتانس بزاق افراد گروه مورد و شاهد، قبل و بعد از مداخله، با آزمون آماری Mann-U-Whitney، معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ).

با مشاهده‌ی یافته‌های فوق، روی نتایج حاصل از اندازه‌گیری استرپتوکوک موتانس توسط آزمایشگاه شک حاصل شد. به‌همین دلیل به‌طور آزمایشی و جهت اطمینان از دقت آزمایش‌گر لابراتوار، از ۴ نفر از نمونه‌ها بزاق تهیه شد و نمونه‌های بزاق هر فرد به دو قسمت تقسیم شد و کلاً از این ۴ نفر، ۸ ظرف نمونه‌ی بزاق با ۸ اسم متفاوت به آزمایشگاه ارسال گردید. مقادیر قسمت اول و دوم این ۴ نمونه، در جدول ۲ ارایه شده است. این اعداد نشان می‌دهد میزان تفاوت تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس بزاق افراد برابر با  $17500 \pm 9574$  CFU/ml بوده است و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ( $P < 0/001$ ).

## بحث

سانتی‌گراد و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در انکوباسیون قرار گرفت تا کلونی‌های مشکوک به استرپتوکوک موتانس را رنگ‌آمیزی گرم انجام داده و در صورت مشاهده‌ی کوکسی‌های گرم مثبت، تست کاتالاز انجام گردد. سپس در نمونه‌های کاتالاز منفی، جهت تعیین دقیق تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس، از تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد (۲۶). در نهایت، تعداد کلونی استرپتوکوک موتانس شمارش و به صورت CFU/ml گزارش گردید.

از ۲۴ نفر داوطلب شرکت‌کننده در تحقیق خواسته شد طبق عادات بهداشتی و رژیم غذایی معمول خود، بهداشت دهانی خود را رعایت کرده و در طول مدت مداخله (یک هفته) از محصولات دارای زایلیتول (مانند آدامس)، پروبیوتیک، دهان‌شویه آنتی‌باکتریال و نیز دهان‌شویه حاوی فلوئوراید استفاده نکنند. محصول مورد آزمایش (عسل) در اختیار گروه مورد قرار گرفت و از آنها خواسته شد که این عسل را روزانه به میزان ۲ قاشق مرباخوری (۵ میلی‌لیتر) ۱۰ دقیقه پس از صرف صبحانه در داخل دهان خود به میزان ۵ دقیقه بچرخانند و سپس ببلعند و تا یک ساعت پس از مصرف عسل مسواک نزنند (۱۹) ولی به گروه شاهد چیزی داده نشد. هر دو گروه، در صبح روز نمونه‌گیری، صبحانه صرف کرده و دندان‌های خود را مسواک زده بودند. بعد از یک هفته، دوباره از افراد دو گروه مورد و شاهد، ۲ سی‌سی بزاق تهیه شد تا میزان استرپتوکوک موتانس نهایی بزاق آنها تعیین گردد. پس از ۲ هفته زمان انتظار (Wash Out)، جای دو گروه مورد و شاهد جابجا شد و تعداد کلونی استرپتوکوک موتانس مجدداً محاسبه و در فرم اطلاعاتی مخصوص، ثبت گردید (۲۴).

پس از تعیین میزان استرپتوکوک موتانس بزاق در افراد واجد شرایط قبل و بعد از آزمایش، داده‌ها در فرم اطلاعاتی، ثبت شده و میزان اولیه، ثانویه و تغییرات آن داخل گروه با آزمون ویلکاکسون و بین دو گروه با آزمون من-یو-ویتنی مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

## یافته‌ها

این تحقیق روی تعداد ۲۴ نفر با توجه به نوع مطالعه کارآزمایی بالینی متقاطع ۴۸ نمونه انجام شد. ۲۴ نفر مورد مطالعه شامل ۹ نفر ( $37/5\%$ ) مرد و تعداد ۱۵ نفر ( $62/5\%$ ) زن بودند. میانگین سن آنها  $25/6 \pm 1/6$  سال و حداقل ۲۴ سال و حداکثر ۳۱ سال بود. میزان DMFT نمونه‌ها  $4/9 \pm 2/7$  دندان بوده است. هیچ‌یک از نمونه‌ها سیگاری نبوده و  $8/3\%$  سابقه‌ی مصرف سیگار داشتند. سابقه‌ی مدت مصرف کسانی که سیگار

در تحقیق حاضر، Validity اندازه‌گیری میزان کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در محیط کشت میتیس سالیواریس

آگار با روش محققین در تحقیقات قبلی انجام گرفت که روشی

جدول ۱. توزیع میزان استرپتوکوک موتانس بزاق افراد بر حسب زمان بررسی و به تفکیک مصرف عسل.

| مصرف عسل                | میزان استرپتوکوک موتانس |                   | تغییرات            | C.V     | نتیجه آزمون داخل گروه |
|-------------------------|-------------------------|-------------------|--------------------|---------|-----------------------|
|                         | اولیه                   | بعد از مصرف       |                    |         |                       |
| نداشته (شاهد $N_1=24$ ) | $54250 \pm 30482$       | $37042 \pm 27900$ | $-17208 \pm 14268$ | $-82/9$ | $P < 0.001$           |
| داشته (مورد $N_2=24$ )  | $26000 \pm 34667$       | $54167 \pm 35129$ | $27792 \pm 43051$  | $154/9$ | $P < 0.0001$          |
| نتیجه آزمون بین گروه‌ها | $P < 0.02$              | $P < 0.01$        | $P < 0.001$        |         |                       |

جدول ۲. میزان کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در مطالعه اضافی.

| ردیف نمونه             | ۱    | ۲     | ۳     | ۴    | میزان (CFU/ml)  |
|------------------------|------|-------|-------|------|-----------------|
| تعداد کلونی نمونه اصلی | 7000 | 10000 | 10000 | 9000 | $9000 \pm 1000$ |
| تعداد کلونی نمونه کاذب | 4000 | 9000  | 8000  | 8000 | $7250 \pm 2273$ |
| تفاوت                  | 3000 | 1000  | 2000  | 1000 | $1750 \pm 9574$ |

استاندارد و قابل قبول است (۲۷). برای به دست آوردن نتیجه‌ی دقیق، طراحی قدرتمندی (کارآزمایی بالینی متقاطع) به کار برده شد تا تأثیر خصوصیات فردی بر میزان استرپتوکوک موتانس بزاق، کاهش یابد. همچنین برای تأمین اعتبار درونی، از همکاری دانشجویان دندانپزشکی استفاده شد که تقریباً مشابه هم بودند.

مطالعه، حمایت‌کننده‌ای مانند شرکت یا فرد خاصی که مواد مورد استفاده در این مطالعه را تأمین کند نداشت و کلیه‌ی مواد توسط پژوهشگر تهیه گردید. انتخاب آزمایشگاه هم با توجه به قدمت و تجهیزات، به توصیه‌ی استاد مشاور میکروبیولوژیست صورت گرفت و مسؤول آزمایشگاه هم نسبت به ظروف حاوی نمونه، Blind بود و نمی‌دانست که کدامیک از نمونه‌ها، از عسل استفاده نموده‌اند. رعایت کلیه‌ی این عوامل به سبب کاهش سوگیری در نتایج انجام گرفت. از دیگر جنبه‌های مثبت مطالعه، به کاربردن آزمون غیر پارامتری مثل Mann-U-Withney به دلیل بررسی کمی میزان میکروارگانیسم‌ها بود.

اما براساس یافته‌های آزمایشگاهی مشخص شد در افرادی که عسل مصرف نکرده‌اند، میزان کلونی‌های استرپتوکوک موتانس بزاق آنها کاهش یافته و در همان افراد پس از مصرف عسل، میزان کلونی‌های استرپتوکوک موتانس افزایش پیدا کرده است. این امر با توجه به پیشینه و منابع در دسترس، منطقی نبود و سبب بروز چالشهایی در ذهن پژوهشگر گردید

که یا عسل مورد بررسی با وجود کوشش پژوهشگر از خلوص کافی برخوردار نبوده است، یا عسل منطقه‌ی سوادکوه به دلیل ترکیبات خاص ناشی از تفاوت شهد گلها، سبب بروز این اتفاق شده است، یا نمونه‌ها در استفاده‌ی صحیح از عسل، دقت کافی نداشتند و یا در نهایت، در بررسی لابراتواری اشکالی وجود داشته است.

امروزه، تهیه‌ی عسل طبیعی با توجه به آلاینده‌های محیط زیست و وجود ترفندهای پرورش‌دهندگان زنبور برای به دست آوردن حجم بیشتر محصول و سودآوری بیشتر، بسیار دشوار است. هرچند سفارش عسل از چند ماه قبل به زنبورداری خاصی در منطقه‌ی ویژه (سوادکوه) با وسواس توسط پژوهشگر صورت گرفته بود، باز هم این احتمال را مطرود نمی‌ساخت که شاید ناخالصی در آن وجود داشته است.

درمتون علم نوپای فارماکوگنوزی که به تازگی در دنیای طب و مخصوصاً دندانپزشکی وارد شده است، در خواص گیاهی شباهت‌ها و گاه، تفاوت‌هایی دیده می‌شود و خصوصیات محصولات مختلف گیاهی در مناطق مختلف دنیا و حتی در شهرهای مختلف یک کشور، متفاوت می‌باشد. درمورد عسل نیز تفاوت‌هایی بر اساس منبع اصلی گیاهی که بیشترین شهد عسل از نباتات آن ساخته شده است مانند عسل آویشن و یا گز، نام منطقه‌ی استقرار کندوها مانند عسل خوانسار و زمان پرورده شدن عسل مانند عسل بهاره و یا پاییزه وجود دارد (۲۲).

یک فرد اعلام کرد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول شماره ۲) ( $P < 0.04$ ). به عبارت دیگر، دستاورد مبین، این حقیقت است که دقت کافی در بررسی نمونه‌ها توسط آزمایشگر وجود نداشته و اعداد اصلی اعلام شده توسط آزمایشگاه، مخدوش می‌باشد. شاید اگر این بررسی در ابتدای مطالعه جهت مشابهت و یا مغایرت با نتایج مطالعات پیشین مطالعاتی و بر طبق روش تحقیق انجام می‌گرفت و تعدادی از نمونه‌ها به صورت اولیه (pilot) بررسی می‌شدند، پیش‌فرضی از روند تحقیق به دست می‌آمد و صحت کار لابراتوار سنجیده می‌شد و مشکلات، کمتر می‌گردید.

پس از دریافت این حقیقت، به دلیل هزینه‌ی بالای آزمایشگاه و در دسترس نبودن نمونه‌ها دیگر امکان تکرار تحقیق برای پژوهشگر وجود نداشت. البته ممکن بود که نتایج را بدون در نظر گرفتن آخرین تست اعلام نمود و بیان کرد که غسل طبیعی سوادکوه میزان کلونی‌های استرپتوکوک موتانس را افزایش داد و تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باید صورت گیرد. اما این کار، امری غیراخلاقی تلقی می‌شد. لذا بر انتشار دقیق روند کار طبق کارهای مشابه اتمام شد، زیرا ارزش تحقیق بر تعیین شاخص و اندازه‌گیری آن استوار بوده و اگر ابزار سنجش، روایی (Validity) و پایایی (Reliability) نداشته باشد، طبعاً یافته‌های پژوهش مخدوش می‌باشند. به‌همین دلیل، روی یافته‌های این تحقیق، بحث و نتیجه‌گیری نمی‌توان کرد که آیا غسل بر میزان استرپتوکوک موتانس مؤثر بوده است یا خیر؟ بدین ترتیب، دستاورد این تحقیق، تجربه‌ی تلخی است برای همه‌ی محققان تا در نظر داشته باشند پروپوزال یا مقاله‌ای بدون مطالعه‌ی آزمایشی و تعیین میزان صحت نتایج اعلام شده توسط آزمایشگاه‌ها، کار و منتشر نشود.

در بررسی پیشینه، گزارشی مشابه این تحقیق نداشتیم تا شباهت‌ها و مغایرت‌های آنها را مطابق معمول، مورد بحث و بررسی و تفسیر قرار دهیم. اما به مقاله‌ای اشاره می‌شود که پژوهشگران به دلایل مختلف، یافته‌های تحقیقشان را مخدوش اعلام کردند: در تحقیقی که توسط دکتر فرحناز امینی به منظور بررسی اثر مکمل روی (Zinc) بر واژینیت قارچی انجام گرفت به دلیل محدودیت‌هایی از قبیل مصرف ناکافی مکمل روی، ضعف پیگیری بیماران، عدم اندازه‌گیری دقیق روی و عدم تشخیص دقیق واژینیت، پژوهشگر تحقیق خود را مخدوش اعلام کرد (۲۸).

در این تجربه، علاوه بر به هدر رفتن وقت و زمان محقق، آزمایشگاه نیز مبلغ هنگفتی مطالبه نمود، بدون این‌که اعداد

خاصیت ضد باکتریایی غسل به ترکیبات فیتوشیمیایی بستگی دارد که بر اساس گیاهی که شاهد غسل از آن گرفته می‌شود، متفاوت می‌باشند، به طوری که غسل روستاهای مختلف یک شهر، اثرات مختلفی بر میزان رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها در آزمایشگاه ایجاد می‌نماید. طبق تأکید تحقیقات، انتخاب نوع غسل از مناطق مختلف جهت مصارف درمانی پزشکی، بسیار مهم است (۲۳، ۲۲، ۱۵). بنابراین ممکن است که غسل سوادکوه تأثیر کاهنده‌ی زیادی بر میزان رشد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس نداشته است اما اینکه سبب افزایش میزان کلونی‌ها شود، جای تردید است.

انجام تحقیقات کارآزمایی بالینی با روش متقاطع دارای مزایایی مانند بالا بودن قدرت مطالعه و کاهش تأثیر عوامل مداخله‌گر و سوگیری‌های احتمالی بوده و از جذابیت و هیجان جهت سنجش خواص یک ماده‌ی دارویی یا غذایی بدیع برای پژوهشگر برخوردار است. از طرفی مشکلاتی نیز به همراه دارد که از آن جمله می‌توان به عدم همکاری کافی نمونه، دستکاری دارو، تخریب دارو و عدم استفاده‌ی مناسب اشاره کرد که هر پژوهشگری با انواع مختلف آن در حیطه‌ی تحقیق، دست و پنجه نرم می‌کند. لذا این تحقیق هم خالی از وجود این محدودیت‌ها نبوده است. البته دانشجویان با توجه به حس همدلی و همکاری نسبت به پژوهشگر همراهی خود را از وی دریغ نکردند اما ممکن است طبق زمان مقرر غسل را در دهان نچرخانده و یا به دلیل کثرت کار و یا مقارنت زمان امتحانات، اختلالی نیز در این امر داشته‌اند و به پژوهشگر منعکس ننموده‌اند و یا افراد غیر سیگاری سهواً سیگاری تدخین کرده و یا آدامس حاوی فلوراید را سهواً جویده‌اند. این عوامل در کنترل پژوهشگر نمی‌باشد و فرض را بر صداقت مطالعه‌شوندگان می‌گذارد، زیرا فرض شرکت در مطالعه، اختیار و صداقت بوده و هیچ اجباری وجود نداشته است. از سوی دیگر، دانشجوی دندانپزشکی توجیه است که برای آزمودن یک فرضیه و تولید علم، پا به میدان گذاشته و حتی ماده‌ی آزمایشی، ماده‌ای بی‌ضرر و مفید برای وی بوده است. لذا این عوامل مداخله‌گر ممکن است بر نتیجه‌ی مطالعه اثر سوء برجای گذارده باشد که متأسفانه قابل اندازه‌گیری نیست.

از طرف دیگر مطالعه‌گر با مشاوره‌ی متخصص آمار بر آن شد تا صحت سنجش آزمایشگر لابراتوار را به صورت یک مطالعه‌ی اضافی، با روش Test-Re-Test بسنجد. لذا ۸ ظرف حاوی بزاق ۴ نمونه با اسامی متفاوت به آزمایشگاه فرستاده شد. اما متأسفانه در اعدادی که آزمایشگاه برای تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس بزاق در دو نمونه‌ی مربوط به

بزرگترین تله‌ها گردید، زیرا آزمایشگاه پایایی نداشت و ارقام ذکر شده در قسمت دوم تحقیق، مؤکد این مطلب می‌باشد.

ارایه شده مورد قبول باشد. به همین دلیل از دانشجویان و پژوهشگران تقاضا داریم تا این امر را سرلوحه‌ی کارهای تحقیقاتی خویش قرار دهند. زیرا به دلیل عدم انجام یک مطالعه‌ی آزمایشی در این تحقیق، پژوهشگر گرفتار یکی از

## REFERENCES

1. Bowden GH, Hamilton IR. Competition between *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* in mixed continuous culture. *Oral Microbiol Immunol* 1989; 4(2): 57-64.
2. Casamassimo PS, Pinkham JR, Steinke D. Dental health needs of the adolescent. *Pediatr Dent* 1979; 1(2): 129-37.
3. Li L, Nan J, Li D, Brostromer E, Wang Z, Liu C, *et al.* Structural genomics studies of human caries pathogen *Streptococcus mutans*. *J Struct Funct Genomics* 2014; 15(3): 91-9.
4. Yamscllav J, Nunn June H, Steele James G. Prevention of oral disease. 4th ed; 2003. p. 96-100.
5. Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ Jr. Art and science of operative dentistry. 5th ed. Mosby Inc; 2006. P. 67-134.
6. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J R Soc Med* 1999; 92(6): 283-5.
7. Zaghoul AA, el-Shattawy HH, Kassem AA, Ibrahim EA, Reddy IK, Khan MA. Honey, a prospective antibiotic: extraction, formulation, and stability. *Pharmazie* 2001; 56: 643-7.
8. Molan PC. The role of honey in the management of wounds. *Wound Care* 1999; 8(8): 415-8.
9. Steinberg D, Kaine G, Gedalia I. Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria. *Am J Dent* 1996; 9(6): 236-9.
10. Al-Waili N, Salom K, Al-Ghamdi AA. Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. *Sci World J* 2011; 11: 766-87.
11. Sela M, Maroz D, Gedalia I. *Streptococcus mutans* in saliva of normal subjects and neck and head irradiated cancer subjects after consumption of honey. *J Oral Rehabil* 2000; 27(3): 269-70.
12. Shamala TR, Shri Jyothi Y, Saibaba P. Stimulatory effect of honey on multiplication of lactic acid bacteria under in vitro and in vivo conditions. *Lett Appl Microbiol* 2000; 30(6): 453-5.
13. Al-Waili NS. Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. *J Med Food* 2004 ; 7(2): 210-22.
14. Al-Jabri AA, Nzeako B, Al Mahrooqi Z, Al Naqdy A, Nsanze H. In vitro antibacterial activity of Omani and African honey. *Br J Biomed Sci* 2003; 60(1): 1-4.
15. Taormina PJ, Niemira BA, Beuchat LR. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int J Food Microbiol* 2001; 69(3): 217-25.
16. Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch Med Res* 2005; 36(5): 464-7.
17. Molan PC. The role of honey in the management of wounds. *J Wound Care* 1999; 8(8): 415-8.
18. Ceyhan N, Ugur A. Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey. *Riv Biol* 2001; 94(2): 363-71.
19. Patton T, Barrett J, Brennan J, Moran N. Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to manuka honey. *J Microbiol Methods* 2006; 64(1): 84-95.
20. Bauer L, Kohlich A, Hirschwehr R, Siemann U, Ebner H, Scheiner O, *et al.* Food allergy to honey: pollen or bee products? Characterization of allergenic proteins in honey by means of immunoblotting. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97(1 Pt 1): 65-73.
21. Al-Waili NS. Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions. *Med Sci Monit* 2004; 10(8): 94-8.
22. Duailibe SA, Gonçalves AG, Ahid FJ. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts in vivo. *J Appl Oral Sci* 2007; 15(5): 420-3.
23. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(5): 1302-9.
24. Park YK, Koo MH, Abreu JA, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr Microbiol* 1998; 36(1): 24-8.
25. Fox PC, Ship J A, Greenberg MS, Glick M, Ship JA. Salivary gland diseases in: Burkets oral medicine. 11th ed. Hamilton: BC Decker Inc.; 2008. Chapter 8 : p. 192-3.
26. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25(5): 347-51.

27. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz Medical Microbiology. 25th ed. Boston: Mosby Inc; 2008. p. 177-81.
28. Amini F, Valai N, Zangeneh M, Shayan M, Hakimi P. The assessment of zinc on vaginal candidiasis treatment. Behbood 2000; 5(9): 24-32. (Full Text in Persian)