مقایسه اثر رقت‌های مهاری دو دهان‌شویه تیمول (Orion®) و کلرهگزیدین بر رشد باکتری‌های استرپتوکوک موتانس و استرپتوکوک سانگوییس

دکتر محمدمهدی یاقوتی خراسانی*، سپیده آثار[1]، امید رضا حسینی[2]، شکراله آثار[3]

چکیده

مقدمه: دهان‌شویه مناسب می‌تواند سبب از بین رفتن و یا مهار رشد باکتری‌ها شود. همچنین کاهش غلظت دهان‌شویه‌ها از عوارض جانبی و احتمالی می‌کاهد. در این پژوهش، حداکثر رقت مهاری دو دهان‌شویه پرکاربرد بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی- آزمایشگاهی، از دو روش رقت در ژلوز و انتشار دیسک ۶۹ پلیت، جهت بررسی تأثیر دو نوع دهان‌شویه حاوی تیمول و کلرهگزیدین بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس استفاده شد. نتایج روش رقت در ژلوز به صورت رشد و عدم رشد و پخش دیسک به صورت میانگین قطر هاله عدم رشد ثبت گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و با آزمون Kruskal-Wallis در سطح معنی‌داری برابر با ۰/۹۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین قطر هاله عدم رشد، برای رقت‌های مختلف دو دهان‌شویه با افزایش رقت، کاهش یافت. در روش رقت در ژلوز، رقت کمتر از ۸۰ درصد غلظت اولیه برای تیمول و کمتر از ۷۰ درصد برای کلرهگزیدین، مانع رشد باکتری‌ها نشد. در رقت ۱۰۰ درصد دهان‌شویه تیمول (Orion)، قطر هاله عدم رشد برای باکتری استرپتوکوکوس موتانس برابر با ۰/۱ ± ۱۰/۱۵ میلی‌متر، و برای استرپتوکوکوس سانگوییس برابر با ۰/۱۶ ± ۹/۲۷ میلی‌متر بود. اختلاف میانگین رتبه‌ای دهان‌شویه‌ها در مورد هر دو باکتری مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار بود (p value < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: هر دو دهان‌شویه بر رشد باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر بودند، اما این تأثیر بر باکتری استرپتوکوکوس سانگوییس بیشتر بود. دهان‌شویه کلرهگزیدین در صورت رقیق شدن، توانایی بیشتری در حذف باکتری‌های مورد مطالعه نسبت به دهان‌شویه حاوی تیمول نشان داد.

کلید واژه‌ها: دهان‌شویه، کلرهگزیدین، تیمول، استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگوییس.

* استادیار، گروه اندودنتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، کرمان، ایران، (مؤلف مسؤول)
m.yaghooti@yahoo.com

۱: دانشجوی دندان‌پزشکی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، کرمان، ایران.

۲: دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، کرمان، ایران.

۳: مربی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، کرمان، ایران.

این مقاله در تاریخ ۸۹/۱۰/۱۹ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۰/۲/۳ اصلاح شده و در تاریخ ۹۰/۲/۷ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۰؛ ۷(۲)؛ ۱۲۲ تا ۱۲۹

www.mui.ac.ir

مقدمه

فلور میکروبی موجود در دهان از تنوع زیادی برخوردار است؛ به طوری که تعداد میکروارگانیسم‌های شناخته شده در دهان حدود ۵۰۰ گونه تخمین زده شده است[۱]. باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس دو مورد از باکتری‌های شایع حفره دهان و از عوامل تشکیل پلاک می‌باشند[۳، ۲]. امروزه مواد ضد میکروبی متفاوتی جهت کاهش میکروارگانیسم‌های دهانی به بازار عرضه شده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها دهان‌شویه‌ها هستند[۴، ۱]. کلرهگزیدین یکی از پرکاربردترین دهان‌شویه‌های موجود می‌باشد که به عنوان یک استاندارد طلایی جهت مقایسه سایر عوامل ضد پلاک معرفی شده است[۵]. کلرهگزیدین، یک کلروفنیل بیس بایگوانید با فعالیت ضد میکروبی گسترده است که در دندان‌پزشکی به عنوان مهارکننده پوسیدگی سطوح صاف، گندزدا کننده دست دندان مصنوعی و مهارکننده پلاک دندانی استفاده می‌شود. ولی دارای عوارض گوناگونی همچون تغییر حس چشایی، سوزش و خشکی دهان، ایجاد رنگیزه‌های دندانی، متفلس شدن لثه و اثرات سیستمیک منفی در صورت بلع است[۶]. پیدایش و ساخت کلرهگزیدین در سال ۱۹۴۰ هنگامی که محققان درحال جستجوی داروی مؤثری بر ضد ویروس‌ها بودند به طور اتفاقی به وقوع پیوست و در سال ۱۹۷۰ برای اولین بار به طور رسمی به عنوان ضد عفونی کننده موضعی مورد استفاده قرار گرفت[۱].

تیمول، یکی از مواد تشکیل دهنده اصلی Thyme oil است که از گیاه Thyme استخراج می‌شود[۷]. تیمول، یکی از پرکاربردترین دهان‌شویه‌های گیاهی موجود است[۸]. تیمول، ماده‌ای است که با داشتن ساختار فنولی، دارای اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی فراوان است[۱۰، ۹]. مکانیسم اثرات ضد باکتریایی تیمول بر روی بسیاری از باکتری‌های دهان به صورت تخریب غشای سیتوپلاسمیک شناسایی شده است[۸]. این ماده دارای خصوصیات زیستی متعددی مانند خاصیت ضد التهاب، فعالیت آنتی‌تومورال، محافظت از کبد و آنتی‌اکسیدان می‌باشد[۱۲، ۱۱]. تیمول، از اصلی‌ترین اجزای گیاه آویشن است. در بررسی‌ها، خاصیت ضد میکروبی این گیاه را به تیمول نسبت داده‌اند. همچنین این ماده دارای خصوصیاتی از جمله گیاهی بودن، قیمت به نسبت ارزان، دسترسی آسان و نیز بو و مزه خوشایند است که می‌تواند به مقبولیت عمومی آن کمک نماید[۱۳]. مصرف دهان‌شویه‌های گیاهی بنابر منابع موجود، اثرات مطلوب‌تری دارد و کاربرد آن‌ها توسط بیماران پذیرفته شده است[۶].

آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به مواد ضد میکروبی با روش دیسک (Disk diffusion) انجام می‌شود که یکی از مفیدترین و با ارزش‌ترین روش‌ها برای تعیین حساسیت نسبت به مواد ضد میکروبی است. روش‌های متعددی جهت تعیین حساسیت وجود دارد، که ساده‌ترین آن‌ها استفاده از دیسک است. از مزایای استفاده از روش دیسک، سادگی و سرعت انجام آن، آسانی حمل و نقل پلیت‌ها، امکان اندازه‌گیری دقیق هاله ایجاد شده و مقدار کم محلول ضد میکروبی برای اشباع شدن دیسک را می‌توان نام برد. یکی دیگر از روش‌های تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به مواد ضد میکروبی، روش رقت در ژلوز یا Agar dilution می‌باشد. در این روش می‌توان از هر پلیت برای تعداد زیادی میکروارگانیسم استفاده نمود[۱۴].

در پژوهش‌های انجام شده به صورت آزمایشگاهی و بالینی[۱۸-۱۵]، اثرات ضد میکروبی و غلظت‌های کاربردی کلرهگزیدین مشخص شده است، اما در رابطه با حداکثر رقت مهاری دهان‌شویه حاوی تیمول بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس، مطالعات کافی در دسترس نمی‌باشد. از آن جا که به‌کارگیری حداقل غلظت مهاری جهت کاهش عوارض جانبی داروها و مواد ضد میکروبی دارای اهمیت است و به کارگیری یک دهان‌شویه با پایه گیاهی، عوارض جانبی کمتری بر مخاط دهان و سیستم گوارشی (در صورت بلعیده شدن) دارد، هدف از این پژوهش، تعیین حداکثر رقت مهاری دهان‌شویه حاوی تیمول در مقایسه با دهان‌شویه استاندارد کلرهگزیدین بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس در شرایط آزمایشگاهی به دو روش رقت در ژلوز و انتشار دیسک بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی- آزمایشگاهی که در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی رفسنجان در سال ۱۳۸۸ انجام گرفت، دهان‌شویه کلرهگزیدین (Shahre-Daroo,Iran) (با

www.mui.ac.ir

غلظت ۰/۲ درصد) و دهان‌شویه حاوی تیمول (Orion®) (Orion, Australia) (با غلظت W/V ۱۰ درصد) تهیه شد و میکروب‌های استرپتوکوکوس موتانس با کد ۱۶۸۳ و استرپتوکوکوس سانگوییس با کد ۱۴۴۹ از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه گردید.

روش انتشار دیسک: باکتری‌ها از نظر تأثیرپذیری نسبت به دهان‌شویه‌ها به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) مورد بررسی قرارگرفتند. در این آزمایش از دیسک‌های کاغذ صافی (Padtanteb Co, Iran) استفاده شد که آغشته به مقادیر مناسب و مشخصی از دهان‌شویه‌های کلرهگزیدین و Orion® بود. میکروب‌ها بر روی محیط کشت Tryptic soy broth (Merck KGaA Darmstadt, Germany) جهت تکثیر اولیه قرار گرفتند. از محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck KGaA) برای تست تعیین حساسیت استفاده شد و سپس بر اساس روش کربی بائر، کدورتی از میکروارگانیسم خالص به میزان نیم واحد مک‌فارلند ایجاد گردید[۱۸]. از این تعلیق باکتری‌دار، برای انجام کشت سطحی استفاده شد[۱۹]. دیسک‌های کاغذی با مقادیر غلظت‌های خالص ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد به دهان‌شویه کلرهگزیدین و دهان‌شویه حاوی تیمول آغشته شدند. هر دهان‌شویه در ۶ رقت و برای هر رقت، ۹ پلیت یعنی ۵۴ پلیت، برای آزمایش به‌کار برده شد. برای اطمینان بیشتر از صحت انجام آزمایشات، محیط کشت به تنهایی (۱ پلیت)، رقت‌های تهیه شده برای هر دهان‌شویه به تنهایی (۱۲ مورد) و هر کدام از باکتری‌ها به تنهایی (۲ مورد)، بر روی محیط کشت مناسب (با اضافه نمودن خون) برده شدند تا از رشد آن‌ها در شرایط آزمایش اطمینان حاصل شود. در نهایت ۶۹ پلیت مورد بررسی قرار گرفت. حجم نمونه بر اساس مطالعات قبلی محاسبه گردید[۲۴-۲۰]. دیسک‌های آغشته با مواد ذکر شده به آرامی در سطح آگار قرار داده شد تا کاملاً در تماس با آگار باشند. در این پژوهش از دیسک‌های بلانک (کاغذ صافی بدون ماده ضد میکروبی) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

پس از انکوباتورگذاری در محفظه شمع‌دار، به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد و نتایج در چک لیست ثبت گردید.

روش رقت در ژلوز: برای بررسی اثر مقایسه‌ای دهان‌شویه‌ها، به روش رقت در ژلوز(Agar dilution)، آن‌ها به‌گونه‌ای با آب مقطر استریل رقیق شدند، تا در پلیت ۹ سانتی‌متری که ۲۰ میلی‌لیتر محتوی داشت (۲ میلی‌لیتر دهان‌شویه و ۱۸ میلی‌لیتر محیط کشت)، غلظت اولیه (استاندارد)، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد حاصل شود به این ترتیب که ۲ میلی‌لیتر از دهان‌شویه تهیه شده، با ۱۸ میلی‌لیتر ژلوزمولرهینتون خون‌دار (۵ میلی‌لیتر خون و ۹۵ میلی‌لیتر ژلوز مولر هینتون) مخلوط شد. این مخلوط تا زمان استفاده (حداکثر ۳ روز) در یخچال قابل نگهداری است. در زمان استفاده پس از رساندن دمای محیط کشت به دمای اتاق از لوپ چهار میلی‌متری (غلظتی حدود ۰/۰۱ میلی‌لیتر) استفاده گردید[۱۹، ۱۸].

پشت هر پلیت استریل با نوشتن نام باکتری و غلظت استفاده شده نشانه‌گذاری شد و سپس ۲ میلی‌لیتر از رقت مورد نظر در کف پلیت ریخته، ۱۸ میلی‌لیتر محیط کشت خنک شده تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه گردید.

با توجه به این‌که باکتری‌های مورد نظر باید غلظتی برابر با 10^5 تا 10^6 میلی‌لیتر داشته باشند، این غلظت به وسیله اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر کشت ۱۸ ساعته باکتری به ۵ میلی‌لیتر محیط آب پپتونه به‌دست آمد، سپس به وسیله لوپ ۱میلی‌لیتری از آن برداشته (غلظتی برابر با نیم واحد مک‌فارلند) و به صورت نقطه‌ای بر روی محیط کشت آماده شده قرار داده شد. پلیت‌ها در محفظه شمع‌دار قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد و سپس اثر مهاری رشد هر کدام از دهان‌شویه‌ها در هر کدام از رقت‌ها، از نظر رشد و تشکیل کلنی بررسی گردید. تعداد کشت‌های انجام شده مشابه با روش انتشار دیسک بود[۱۹، ۱۸]. در این پژوهش از آزمون آماری Kruskal-Wallis جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

در روش انتشار دیسک، در مورد هر دو دهان‌شویه مورد مطالعه با کاهش غلظت دهان‌شویه، میانگین قطر هاله عدم رشد نیز کاهش یافت. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس در مقابل دهان‌شویه کلرهگزیدین و Orion بر حسب میلی‌متر در جدول ۱ آورده شده است.

بر اساس آنالیز انجام شده، برای روش انتشار دیسک توسط

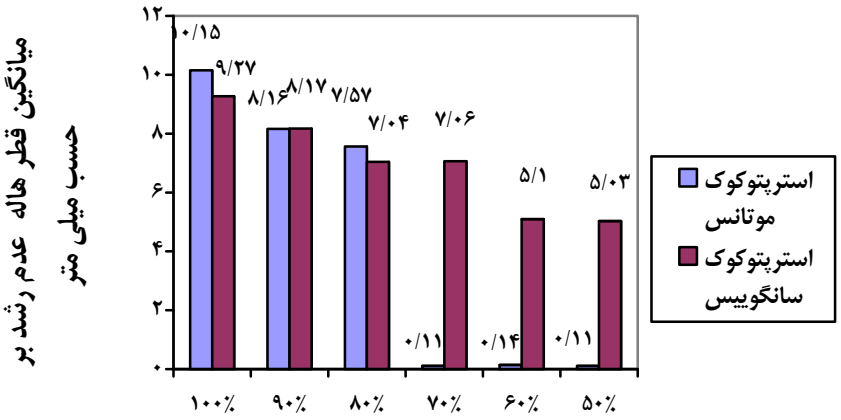
www.mui.ac.ir

نرم‌افزار SPSS$_{۱۶}$ اختلاف میانگین رتبه‌ای قطر هاله عدم رشد در مورد دهان‌شویه کلرهگزیدین و تیمول برای هر دو باکتری استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p value < ۰/۰۰۱). میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها برای هر دو دهان‌شویه در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است.

در روش رقت در ژلوز در رقت‌های اولیه، ۸۰ و ۹۰ درصد تیمول در مورد هر دو باکتری رشدی مشاهده نشد، ولی در رقت‌های ۵۰، ۶۰ و ۷۰ درصد، رشد وجود داشت. در مورد کلرهگزیدین نیز در رقت‌های اولیه، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد، رشدی مشاهده نشد، ولی در رقت‌های ۵۰ و ۶۰ درصد رشد باکتری‌ها مشاهده گردید.

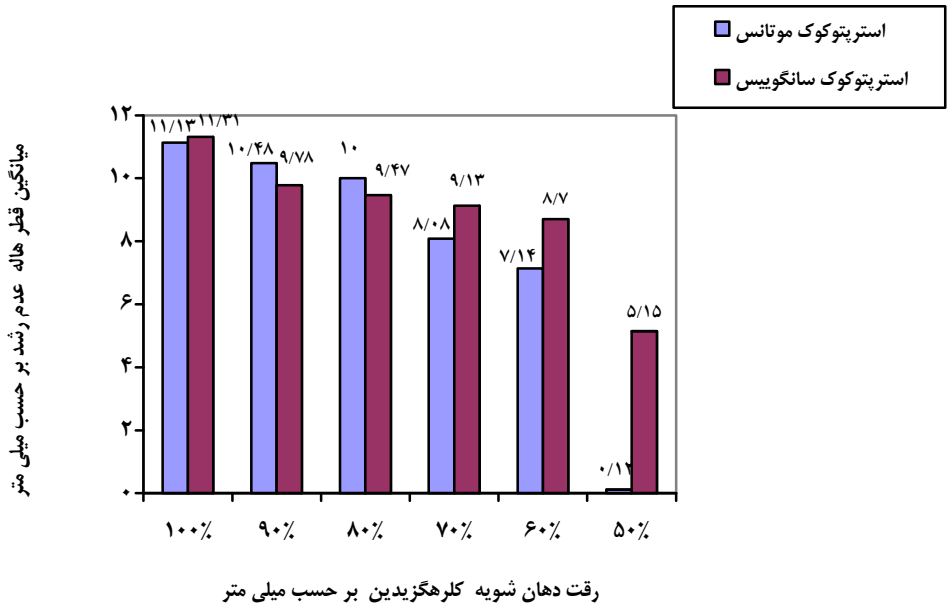
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس در مجاورت دهان‌شویه کلرهگزیدین و تیمول (Orion®) بر حسب میلی‌متر

نوع دهان‌شویه	غلظت به‌کاربرده شده (٪)	قطر هاله عدم رشد برای استرپتوکوک موتانس (میلی‌متر)	قطر هاله عدم رشد برای استرپتوکوک سانگوییس (میلی‌متر)
کلرهگزیدین	۱۰۰	۱۱/۱۳ ± ۰/۱۳	۱۱/۳۱ ± ۰/۱۶
	۹۰	۱۰/۴۸ ± ۰/۱۱	۹/۷۸ ± ۰/۱۷
	۸۰	۱۰ ± ۰/۱۲	۹/۴۷ ± ۰/۰۶
	۷۰	۸/۸ ± ۰/۱	۹/۱۳ ± ۰/۱۱
	۶۰	۷/۱۴ ± ۰/۱۴	۸/۷ ± ۰/۱
	۵۰	۰/۱۲ ± ۰/۱	۵/۱۵ ± ۰/۱۱
Orion	۱۰۰	۱۰/۱۵ ± ۰/۱	۹/۲۷ ± ۰/۱۶
	۹۰	۸/۱۶ ± ۰/۱۴	۸/۱۷ ± ۰/۱۲
	۸۰	۷/۵۷ ± ۰/۰۶	۷/۰۴ ± ۰/۰۸
	۷۰	۰/۱۱ ± ۰/۱۱	۷/۰۶ ± ۰/۱۵
	۶۰	۰/۱۴ ± ۰/۱۱	۵/۱۱ ± ۰/۱۱
	۵۰	۰/۱۱ ± ۰/۱۲	۵/۰۳ ± ۰/۰۸



نمودار ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه در مجاورت دهان‌شویه Orion بر حسب میلی‌متر

www.mui.ac.ir



نمودار ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه در مجاورت دهان‌شویه کلرهگزیدین برحسب میلی‌متر

بحث

باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس از عوامل بیماری‌زا و تشکیل دهنده پلاک دندانی و در نتیجه پوسیدگی دندان می‌باشند و استفاده از دهان‌شویه مناسب می‌تواند باعث از بین رفتن و یا مهار رشد این باکتری‌ها و سایر باکتری‌ها شود. توجه به این مسأله ضروری است که کاهش غلظت دهان‌شویه‌ها از عوارض جانبی و احتمالی آن‌ها می‌کاهد. در پژوهش حاضر غلظت‌های مختلفی از دو دهان‌شویه رایج و پرکاربرد در بازار دارویی مورد مطالعه قرار گرفتند. از نتایج حاصل از این مطالعه چنین بر می‌آید که دهان‌شویه Orion در همه رقت‌های به‌کار برده شده توانایی از بین بردن باکتری‌های استرپتوکوکوس سانگوییس و استرپتوکوکوس موتانس را دارد، اما این مقدار با مقایسه میانگین رتبه‌ای حاصل از آنالیز Kruskal-Wallis، نسبت به کلرهگزیدین در همه رقت‌ها کمتر می‌باشد. همچنین در این پژوهش با کاهش رقت هر دو دهان‌شویه از اثرات مهاری آن‌ها به طور معنی‌داری کاسته شد. با توجه به جدول ۱، دیده می‌شود که با مقایسه میانگین رتبه‌ای داده‌ها در رقت ۷۰ درصد دهان‌شویه Orion، میانگین رتبه‌ای نسبت به رقت ۸۰ درصد در مورد باکتری استرپتوکوکوس سانگوییس، اندکی بیشتر است و این عدد با ریتم کلی موجود در همه نتایج که بیانگر کاهش میانگین رتبه‌ای با کاهش رقت است هم‌خوانی ندارد. این امر ممکن است به دلیل اختلاف اندک بین خاصیت آنتی باکتریال این دهان‌شویه در این رقت‌ها و یا به علتی دیگر همچون خطای اندازه‌گیری‌کننده باشد.

در پژوهشی نشان داده شد عصاره آویشن در همه غلظت‌های به‌کار رفته به‌طور کامل باعث مهار باکتری‌های گروه استرپتوکوک می‌شود. این نتیجه با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد[۱۳]. دو مطالعه دیگر نشان دادند که اثر ضد میکروبی تیمول ۱و ۲ درصد بر رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت[۲۵، ۱۰]. در حالی که در پژوهش حاضر بین رقت‌های ۵۰ و ۱۰۰ درصد دهان‌شویه Orion تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. مطالعه Nascimento و همکاران[۲۱]، حداکثر رقت مهاری دهان‌شویه کلرهگزیدین و دهان‌شویه حاوی بایگوانید بر استافیلوکوکوس آرئوس موجود در بزاق را بررسی نمودند، نتایج نشان داد که دهان‌شویه کلرهگزیدین، حداکثر در رقت‌های ۱/۶۴۰ و ۱/۳۲۰ بر سوش‌هایی از باکتری، اثر مهاری دارد. همچنین پژوهش مظفری و همکاران[۱] نشان داد، دهان‌شویه کلرهگزیدین در رقت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۰۱و ۰/۰۲ درصد از رشد میکروارگانیسم‌های استرپتوکوکوس سانگوییس، استرپتوکوکوس

www.mui.ac.ir

موتانس و لاکتوباسیلوس کازئی در محیط کشت ممانعت می‌کند. این نتایج با یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر همخوانی دارد و بیانگر خاصیت آنتی‌میکروبیال نسبتاً قوی کلرهگزیدین در برابر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس می‌باشد. در پژوهشی که توسط سقازاده و همکاران[۲۶] انجام شد، اثر دهان‌شویه‌های پلاکس و ایرشا (حاوی تیمول) بر روی کاهش مقدار پلاک میکروبی دندان بررسی و مقایسه گردید، آن‌ها دریافتند که میزان پلاک باقیمانده پس از مصرف دهان‌شویه‌های مختلف (ایرشا، پلاکس و دارونما)، تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (p value = ۰/۷۶۱). نتایج حاصل از پژوهشی که در ایتالیا، انجام شد[۴] نشان داد، که دهان‌شویه لیسترین (حاوی تیمول) و کلرهگزیدین ۰/۲ درصد تأثیر زیادی بر جلوگیری از تشکیل بیوفیلم‌های استرپتوکوکوس موتانس در دهان دارد ولی تفاوت میان این دو دهان‌شویه از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین در پژوهش دیگری[۲۷] کاهش قابل ملاحظه استرپتوکوکوس موتانس را در هنگام استفاده همزمان از کلرهگزیدین ۱ درصد و تیمول ۱ درصد گزارش نمودند. اکثر پژوهش‌های مورد بررسی اثرات ضد باکتریایی مؤثر دهان‌شویه کلرهگزیدین و دهان‌شویه تیمول را بر باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگوییس تأیید می‌نمایند، اما نتایج به‌دست آمده به علت غلظت‌های متفاوت به‌کار رفته در مطالعات مختلف و روش‌های متفاوت انجام آزمایشات، به طور دقیق قابل مقایسه نمی‌باشند.

در پژوهش حاضر گروه شاهد که تنها حاوی آب مقطر باشد، وجود ندارد و این امر یکی از موارد محدود کننده در این پژوهش است. بنابراین بهتر بود گروهی حاوی آب مقطر، به تنهایی مورد بررسی قرار گیرد تا با نتایج حاصل از اثر مهاری دهان‌شویه‌ها مقایسه گردد. با توجه به این‌که اکثر مطالعات در این زمینه در محیط‌های آزمایشگاهی انجام شده‌اند، و محیط دهان به علت وجود بزاق و فاکتورهای موجود در آن ممکن است شرایط متفاوتی داشته باشد، انجام مطالعات بالینی برای تأیید این نتایج ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، هر دو دهان‌شویه کلرهگزیدین و Orion بر باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر بودند، اما این تأثیر به طور معنی‌داری بر باکتری استرپتوکوکوس سانگوییس بیشتر بود. همچنین دهان‌شویه کلرهگزیدین در صورت رقیق شدن توانایی بیشتری در حذف باکتری‌های مورد مطالعه نسبت به دهان‌شویه Orion دارد.

References

1. Mozaffari B, Mansouri SH, Rajabalian S, Alimardani A, Mohammadi M. In vitro study between antibacterial and cytotoxic effects of chlorhexidine and persica mouthrinses. Journal of Shahid Beheshti Dental School 2005; 23(3): 494-509.
2. Tahmourespour A, Kasra-Kermanshahi R, Salehi R, Nabi-nejad A. The effect of lactobacillus fermentum ATCC9338 as a probiotic on the adhesion of oral streptococci in vitro. Iranian Journal of Medical Microbiology 2007; 1(2): 45-50.
3. Khazaeli P, Foroumadi AR, Moshafi MH, Ehshami M. Toothpaste formulation from Miswak powder extract. Journal of Kerman University of Medical Sciences 2003; 10(1): 46-52.
4. Baffone W, Sorgente G, Campana R, Patrone V, Sisti D, Falcioni T. Comparative effect of chlorhexidine and some mouthrinses on bacterial biofilm formation on titanium surface. Curr Microbiol 2011; 62(2): 445-51.
5. Esfahanian V, Ketabi M, Farman Ara H. Efficacy of chlorhexidine and Irsha (anti-plaque) mouth-rinses on reducing dental plaques. Journal of Isfahan Dental School 2007; 3(1): 10-14.
6. Chitsazi M, Shirmohammadi A, Balayi E. Effect of herbal and chemical mouth-rinses on periodontal indices; comparison of matrica, persica and chlorhexidine. Shiraz Univ Dent J 2008; 8(4): 54-60.
7. Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol 2001; 91(3): 453-62.
8. Sa'nchez ME, Turina AV, Garcia AD, Nolan MV, Perillo MA. Surface activity of thymol: implications for an eventual pharmacological activity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2004; 34(2): 77-86.
9. Braga PC, Culici M, Alfieri M, Sasso MD. Thymol inhibits Candida albicans biofilm formation and mature biofilm. International Journal of Antimicrobial Agents 2008; 31(5): 401-506.

www.mui.ac.ir

10. Ravanshad Sh, Basiri E, Dastgheib B. Antimicrobial activity of different concentrations of essential oil of zataria multiflora on enterococcus faecalis. Journal of Dentistry of Shiraz University of Medical Sciences 2007; 8(1): 28-36.

11. Robledo S, Osorio E, Munoz D, Jaramillo LM, Restrepo A, Arango G, et al. In vitro and in vivo cytotoxicities and antileishmanial activities of thymol and hemisynthetic derivatives. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(4): 1652-5.

12. Nostro A, Roccaro AS, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti FC, et al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms. J Med Microbiol 2007; 56(4): 519-23.

13. Khayat A, Sahebi S, Moazami F. Antimicrobial effect of naocl, hydrated Ca(OH2), thyme oil and normal saline as irrigating solutions on black pigmented and strep viridance. Journal of Dentistry of Shiraz University of Medical Sciences 2004; 8(4): 28-19.

14. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiology. 5th ed. Philadelphia: McGraw-Hill; 2002. p. 809-10.

15. Addy M, Wright R. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of providone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. J Clin Periodontol 1978; 5(3): 198-205.

16. de AR, Jr., Head TW, Mian H, Rodrigo A, Muller K, Sanches K, et al. Reduction of salivary S. aureus and mutans group streptococci by a preprocedural chlorhexidine rinse and maximal inhibitory dilutions of chlorhexidine and cetylpyridinium. Quintessence Int 2004; 35(8): 635-40.

17. Azizi A, Fatholahzadeh B, Maleknejad P, Shamspour A, Lavaf Sh. Evaluation of the effects of chlorhexidine 0.12% mouthwash on mouth pathogen streptococcus and normal microflora. Journal of Dentistry of Shiraz University of Medical Sciences 2008; 9(3): 299-303.

18. Herrera D, Roldan S, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an in vitro contact test and salivary bacterial counts study. J Clin Periodontol 2003; 30(4): 307-14.

19. Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and practice of clinical bacteriology. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 2006. p. 77, 531.

20. Fallahzadeh H, Moeintaghavi A, Foruzanmehr M. Clinical comparison of Persica and Chlorhexidine mouthrinses using meta – analysis technique. The Journal of Islamic Dental Association of Iran 2006; 18(1): 62-72.

21. Nascimento AP, Tanomaru JM, Matoba-Junior F, Watanabe E, Tanomaru-Filho M, Ito IY. Maximum inhibitory dilution of mouthwashes containing chlorhexidine and polyhexamethylene biguanide against salivary Staphylococcus aureus. J Appl Oral Sci 2008; 16(5): 336-9.

22. Haghighati F, Jafari S, Momen Beitollahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. Hakim Research Journal 2002; 3(6): 71-6.

23. Al-Anbori Dalia KA, Al-Nimer Marwan SM, Al-Weheb Athraa M. Antibacterial activity of ethanolic extract of Myrtus communis. L leaves against salivary Mutans streptococci. Saudi Dental Journal 2008; 20(3): 82-7.

24. Yaghootikhorasani MM, Assar S, Rezahoseini O. Comparison of antimicrobial effects of persica® and chlorhexidine with sodium hypochlorite on enterococcus fecalis and Candida Albicans: an in vitro study. Journal of Mashhad Dentistry School 2010; 34(2): 153-60.

25. Ravanshad Sh, Basiri E, Mohammadzadeh M. Antimicrobial activity of essential oil of zataria multiflora as an irrigant on enterococcus faecalis of root canal. Journal of Dentistry of Shiraz University of Medical Sciences 2009; 10(2): 92-8.

26. Saghazadeh M, Navidi AO. Investigation and comparison of the effect of two mouthrinses, plax and Irsha on dental plaque reduction. Journal of Dental Medicine 2007; 19(4): 45-50.

27. Skold-Larsson K, Sollenius O, Petersson LG, Twetman S. Effect of topical applications of a novel chlorhexidine-thymol varnish formula on mutans streptococci and caries development in occlusal fissures of permanent molars. J Clin Dent 2009; 20(7): 223-6.

www.mui.ac.ir

Comparison of inhibitory dilutions of a thymol-based mouthwash (Orion®) with chlorhexidine on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*

Mohammadmahdi Yaghooti Khorasani*, Sepideh Assar, Omid Rezahosseini, Shokrollah Assar

Abstract

Introduction: *Applying the suitable mouthwash can kill bacteria or reduce the bacterial growth; in the same context, diluting mouthwashes can decrease their probable side effects. In this study, the maximum inhibitory concentrations of two common mouthwashes were evaluated.*
Materials and Methods: *In this in vitro study, agar dilution and disk diffusion methods were used. Sixty-nine bacterial plates were cultured to evaluate the effects of thymol and chlorhexidine mouthwashes on Streptococcus mutans and Streptococcus sanguis. The results of agar dilution method were recorded as "growth' and "no growth", and the results of disk diffusion were recorded as means of growth inhibitory halos. Data was analyzed by Kruskal-Wallis test using SPSS software. ($\alpha = 0.05$).*
Results: *Growth inhibitory halos for different concentrations of the two mouthwashes decreased with an increase in dilution rate. In agar dilution method, dilutions less than 80% of the initial concentration for thymol-based mouthwash and less than 70% for chlorhexidine could not inhibit bacterial growth. Growth inhibition halos with 100% thymol-based mouthwash (Orion®) were 10.15 ± 0.1 mm for Steptococcus mutans and 9.2 7 ± 0.16 mm for Streptococcus sanguis. Mean rank of the two mouthwashes was statistically significant for the two bacterial strains under study (p value < 0.001).*
Conclusion: *Both mouthwashes were effective on the bacteria under study; however, this efficacy was higher for Streptococcus sanguis. Chlorhexidine mouthwash was more potent to inhibit bacterial growth than thymol-based mouthwash if diluted.*

Key words: *Mouthwash, Chlorhexidine, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Thymol.*

Received: 9 Jan, 2011 **Accepted:** 27 Apr, 2011

Address: Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
Email: m.yaghooti@yahoo.com

Journal of Isfahan Dental School 2011; 7(2): 122-129.

www.mui.ac.ir