

بررسی اثر دهانشویه‌های فلوراید ۰/۵٪ و کلرگزیدین ۰/۲٪ در مقایسه با دهانشویه ترکیبی نانوسیل D_{1+F} بر روی استرپتوکوکوس مونانسی در محیط آزمایشگاهی

دکتر الهام زاجکانی^۱، زهرا عبدی^۲، دکتر حبیب ضیغمی^۳

۱- استادیار گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی زنجان، زنجان، ایران

۲- دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی زنجان، زنجان، ایران

۳- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی زنجان، زنجان، ایران

پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۲

اصلاح نهایی: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۸/۴

Evaluating the effect of 0.05% fluoride and chlorhexidine 0.2% mouthwashes in comparison to nanosil D_{1+F} mouthwash on *Streptococcus mutans*, in vitro

Elham zajkani¹, Zahra Abdi², Habib Zeighami^{3*}

¹ Assistant Professor, Operative Dentistry Dept, School of Dentistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

² Student of Dentistry, School of Dentistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

³ Associate Professor, Microbiology Dept, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Received: Octobe 2021 ; Accepted: March 2022

Abstract

Background & Aim: Oral diseases, especially dental caries, are still prevalent in the most developing countries which cost a lot for patients and the health care system. One of the most important ways to reduce costs is to prevent caries. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of chlorhexidine and fluoride mouthwashes in comparison with Nanosil D_{1+F} combined mouthwash on *Streptococcus mutans* in vitro.

Material and Methods: In this experimental study, well diffusion method was used to evaluate the diameter of the growth inhibition zone of the mouthwashes (chlorhexidine 0.2%, fluoride 0.05%, nanosil D_{1+F}). Then, MIC (minimum inhibitory concentration) and MBC (minimum bactericidal concentration) of the mouthwashes were evaluated by the standard microdilution method.

Results: Based on the results of the well diffusion method, the diameter of the growth inhibition zone for fluoride, chlorhexidine, and nanosil mouthwashes was 9, 18 and 32 mm, respectively. MIC values were 125 mg/ml for fluoride mouthwash, 3.9 mg/ml for chlorhexidine mouthwash and 1.95 mg/ml for nanosil D_{1+F} mouthwash. The MIC and MBC values were the same for each mouthwash.

Conclusion: According to the results of the present study, Nanosil D_{1+F} mouthwash had stronger antimicrobial effects on *Streptococcus mutans* than chlorhexidine 0.2% and fluoride 0.05%.

Key words : *Streptococcus mutans*, dental caries, mouthwash, fluoride.

Corresponding Author: elham.zajkanident@gmail.com

J Res Dent Sci. 2021;19(1):28-36.

خلاصه:

سابقه و هدف: بیماری‌های دهان به ویژه پوسیدگی‌های دندانی، هنوز هم در اکثر کشورهای در حال توسعه شیوع دارد که هزینه زیادی را برای بیمار و سیستم درمانی به همراه دارد. یکی از روش‌های مهم در کاهش هزینه‌ها، پیشگیری در ایجاد پوسیدگی است. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر دهانشویه کلرهگزیدین و فلوراید در مقایسه با دهانشویه ترکیبی نانوسیل D_{1+F} بر روی استرپتوکوکوس موتانس در محیط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، از روش چاهک پلیت جهت بررسی قطر هاله عدم رشد دهانشویه‌ها (کلرهگزیدین ۰/۰۲٪، فلوراید ۰/۰۵٪، نانوسیل D_{1+F}) استفاده شد. سپس MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) دهانشویه‌ها با روش میکرودايلوشن ارزیابی شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج روش چاهک پلیت، قطر هاله عدم رشد برای دهانشویه‌های فلوراید، کلرهگزیدین و نانوسیل به ترتیب ۹، ۱۸ و ۳۲ میلی‌متر بود. مقادیر MIC برای دهانشویه فلوراید ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، دهانشویه کلرهگزیدین ۳/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای دهانشویه نانوسیل D_{1+F} نیز ۱/۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقادیر MIC و MBC برای هر دهانشویه با هم برابر بود.

نتیجه‌گیری: بر طبق نتایج مطالعه حاضر، دهانشویه نانوسیل D_{1+F} نسبت به کلرهگزیدین ۰/۲ درصد و فلوراید ۰/۰۵ درصد دارای اثرات ضد میکروبی قوی‌تری بر روی استرپتوکوکوس موتانس بود.

کلیدواژه‌ها: استرپتوکوکوس موتانس، پوسیدگی دندان، دهانشویه، فلوراید

مقدمه

کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت در مینا و عاج می‌شود که موجب پوسیدگی در دندان می‌گردد.^(۵)

طبق مطالعات انجام شده، پوسیدگی دندان در جهان از جمله کشور ایران شیوع بالایی دارد که در نتیجه هزینه زیادی در جهت درمان آن توسط دولت و مردم صرف می‌گردد.^(۶) یکی از روش‌های مهم در کاهش هزینه‌ها، پیشگیری در ایجاد پوسیدگی است. از جمله روش‌های پیشگیری کاهش دریافت مواد قندی، رعایت بهداشت دهان توسط بیمار و استفاده از دهانشویه‌ها و وارنیش است. به طور کلی انواع دهان شویه‌ها را می‌توان به دو دسته درمانی و غیردرمانی تقسیم کرد: دهان شویه‌های درمانی، برای درمان بعضی بیماری‌ها از جمله بیماری‌های لثه، بوی بد دهان و ... استفاده می‌شوند برخی از دهانشویه‌ها ی درمانی حاوی مواد پیشگیری کننده مؤثر بوده و نقش مهمی در کاهش پوسیدگی دارند.^(۷)

یکی از مؤثرترین روش‌های پیشگیری از پوسیدگی دندانی استفاده از فلوراید است. در مطالعات کلینیکی نشان داده شده که دهانشویه فلوراید در کاهش پوسیدگی نقش مؤثری دارد. فلوراید باعث مهار مسیر گلیکولیز و نیز ساخت پلی ساکارید های خارج سلولی در باکتریها می‌شود. فلوراید همچنین در

پوسیدگی دندان، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن در جهان است که در اثر کلونیزاسیون باکتری‌ها و تولید اسید و دیمیرالیزاسیون بخش غیرآلی و تخریب بخش آلی دندان ایجاد می‌شود.^(۱) پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری بشر است و بیش از ۹۹ درصد افراد به این بیماری مبتلا می‌شوند.^(۲) پوسیدگی دندان نوعی بیماری عفونی قابل انتقال با عوامل متعدد در دهان است که در درجه اول به موجب واکنش‌های متقابل و پیچیده فلور پوسیدگی‌زای دهان با کربوهیدرات‌های قابل تجزیه به قندهای ساده رژیم غذایی بر روی سطح دندان در طول زمان روی می‌دهد.^(۳) استرپتوکوکوس موتانس ارگانسیم پوسیدگی‌زای اصلی است که نتیجه فعالیت آن تولید مقادیر زیادی از گلوکان و اسید است که بیش از ظرفیت بافری بزاق است و به باکتری‌های پوسیدگی‌زا این امکان را می‌دهد که در محیط‌های با pH کم بر گونه‌های غیر پوسیدگی‌زا غلبه داشته باشند.^(۴) در نهایت با فعالیت این باکتری و پایدار ساختن بیوفیلم تشکیل شده، تعادل محیط زیست تغییر می‌کند؛ در نتیجه، باکتری‌ها به بافت‌ها و حفره‌های عمیق‌تر در ناحیه لثه دسترسی پیدا می‌کنند و در نهایت منجر به انحلال

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی بود که در آن تأثیر سه دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪، فلوراید ۰/۰۵٪^(۱۲) و نانوسیل D_{1+F} بر روی سویه استاندارد استرپتوکوکوس موتانس ارزیابی شد.

انواع دهان شویه‌ها و ترکیبات سازنده

ترکیبات	شرکت سازنده	نوع دهان شویه
کلرهگزیدین گلوکونات، اتانول	ایران ناژو	کلرهگزیدین ۰/۲٪
پلی سوربات ۲۰، پتاسیم سوربات، منتول، گلیسرین، تتراسدیم پیروفسفات، سدیم فلوراید	لابراتوار داروسازی و بهداشتی شفا	فلوراید ۰/۰۵٪
منتول، پراکسید هیدروژن، نیترات نقره، اسید فسفریک، پلی سوربات ۸۰، سوکرالوز، روغن میخک، نعنای فلفلی، آب دیونیزه، سدیم فلوراید	داروسازی کیمیا فام	نانوسیل D _{1+F}

ابتدا سوش میکروبی استاندارد از مجموع میکروبی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC: Iranian Biological Resource Center) به صورت لیوفیلیزه تهیه گردید. تست‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی زنجان صورت گرفت. به منظور انجام آزمایش میکروبی از دو محیط کشت مایع و جامد استفاده گردید که محیط (BHI (Brain Heart Infusion) برای تعیین حساسیت استرپتوکوکوس موتانس استفاده شد.

برای بررسی اثرات ضد میکروبی، ابتدا غلظت نیم مک فارلند از استرپتوکوکوس موتانس تهیه شد. ابتدا، با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول باریوم کلراید ۱/۱۷۵ درصد به ۹۹/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۱ درصد محلول نیم مک فارلند تهیه شد. این محلول در تاریکی تا ۶ ماه قابل نگهداری است. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، از کلونی‌های تازه و خالص باکتری برداشته شده و در لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل حل شد. سپس با مقایسه کدورت آن با کدورت محلول استاندارد نیم مک فارلند، سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه

غلظت‌های بالا، اثر ضد باکتری خصوصاً بر استرپتوکوک موتانس دارد. از طرفی، کلرهگزیدین رایج‌ترین دهانشویه مورد استفاده است که به عنوان استاندارد طلایی در کنترل پلاک در نظر گرفته می‌شود محققین بر این عقیده هستند که مکانیسم اثر کلرهگزیدین در ارتباط با تمایل شدید این ماده برای چسبندگی و اتصال قوی به غشا باکتری‌هاست که منجر به تخریب آنها می‌شود^(۸). با این وجود، کلرهگزیدین دارای عوارض گوناگونی همچون تغییر رنگ دندان‌ها، تغییر رنگ ترمیم‌های هم‌رنگ دندان، تغییر حس چشایی، آلرژی، طعم ناخوشایند دهان، سوزش و خشکی دهان، پوسته پوسته شدن لثه و اثرات سیستمیک منفی در صورت بلع است.^(۹) استفاده وسیع از این دهانشویه منجر به افزایش مقاومت میکروبی و پیدایش گونه‌های میکروبی مقاوم به این دهانشویه شده است.^(۱۰) در برخی مطالعات مشاهده شده است عصاره‌های گیاهی (فلفل دلمه‌ای و پوست و کلاهک بادمجان، پلی فنول چای، میخک...) بر روی استرپتوکوک موثر هستند.^(۱۱،۱۲)

به تازگی دهانشویه نانوسیل D_{1+F} به عنوان یک دهانشویه ضد عفونی کننده (نانوسیل D_{1+F}، کیمیا فام، ایران) حاوی فلوراید وارد بازار ایران شده است که حاوی پراکسید هیدروژن، ذرات نقره و سدیم فلوراید و روغن‌های فرار گیاهی است. طبق ادعای کارخانه سازنده این دهانشویه دارای مزایای متعددی می‌باشد که از جمله افزایش استحکام مینای دندان، جلوگیری از پوسیدگی دندان، اثر بر روی انواع میکروارگانیسم‌ها (باکتری و ویروس‌ها از جمله ویروس کرونا)، برطرف کننده آفت و زخم‌ها دهانی، عدم ایجاد مقاومت باکتریایی و عدم ایجاد رنگ بر روی دندان می‌باشد.^(۱۳) با توجه به اینکه مطالعات اندکی در مورد مقایسه بین اثرات سینرژیک این سه عنصر (فلوراید، پراکسید و نقره) در قالب یک دهانشویه با دهانشویه‌های کلرهگزیدین و فلوراید انجام شده است، لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر دهانشویه کلرهگزیدین و فلوراید در مقایسه با دهانشویه ترکیبی نانوسیل D_{1+F} بر روی استرپتوکوکوس موتانس در محیط آزمایشگاهی انجام شد و داده‌ها در نرم افزار Excell 2019 ثبت گردید...

ساعت انکوبه شد. کمترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. همچنین چاهک‌هایی که رشدی از باکتری در آن‌ها مشاهده نشده، انتخاب شدند و مقداری از آن در محیط کشت جامد کشت داده شد. محیط کشت‌ها دوباره به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از این زمان، پلیت‌ها بررسی شده و پلیتی که بر روی آن باکتری رشد نکرده و دارای کمترین غلظت ماده میکروبی نیز بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد. به طور مشابه، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای سایر دهانشویه‌ها نیز تکرار گردید.^(۱۱،۱۴) جهت آنالیز آماری داده‌ها وارد نرم افزار Excel 2019 شدند. فهرست مواد و تجهیزات مورد استفاده در مطالعه در جدول زیر دیده می‌شود.

جدول - فهرست مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

کشور سازنده	مشخصات دستگاه / ماده	نام دستگاه / ماده
انگلستان	Quelable laboratories Ins.	BHI Broth 100 g
ایتالیا	Biolife	Mueller Hinton Agar
ایران	BEKR	پلیت ۸ استریل
آلمان	Merck	گاز یک ۸
کره	SPL	پلیت ۹۶ خانه استریل
ایران	cumsing R&D free	فالکون ۵۰ سی سی
تایوان	Extrogen	سمپلر و سرسمپلر کریستالی، زرد و آبی
ایران	داروسازی بهسا	دهان شویه کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۲ درصد
ایران	ایرشا	دهان شویه فلوراید ۰/۵ درصد
ایران	شرکت داروسازی کیمیا فام	دهان شویه نانوسیل
آلمان	Merck	جار بی هوازی
ایران	PTCC 1683	سویه استاندارد استرپتوکوکوس موتانس
ایران	سینا شیشه	پیپت پاستور
تایوان	Extrogen	میکروتیوب
انگلستان	Laminar flow II	Hood
ایران	Medical Production Co.	انکوباتور ۷۰ لیتر
ایران	شرکت سازنده	اتانول ۷۰ درصد

شد. شایان ذکر است سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند حاوی $1/5 \times 10^6$ cfu/ml باکتری می‌باشد.

ابتدا برای بررسی فعالیت ضد میکروبی دهانشویه‌ها از روش کیفی چاهک پلیت استفاده شد. بدین منظور از محیط BHI Agar برای تعیین فعالیت ضد میکروبی استفاده گردید. سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند با استفاده از سوپ استریل بر روی محیط BHI تلقیح شد، به گونه‌ای که تمام سطح پلیت پوشیده شود (کشت سفره‌ای). سپس با استفاده از پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی بر روی پلیت ایجاد شده و ۱۵۰ میکرولیتر از هر یک از دهانشویه‌های فلوراید، کلرهگزیدین، دهانشویه ترکیبی نانوسیل و کنترل منفی (سرم فیزیولوژی استریل) داخل چاهک‌ها اضافه شدند. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی حاوی گاز یک A جهت تخلیه اکسیژن محیط کشت برای استرپتوکوکوس موتانس قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد با خط کش اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارتی و کشندگی (MIC و MBC) از روش میکرودیالوشن استفاده شد. برای این کار از پلیت‌های میکروبی ۹۶ خانه‌ای استفاده گردید. ابتدا به چاهک اول ردیف اول ۳۰۰ میکرولیتر و به سایر چاهک‌ها ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت BHI اضافه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از دهانشویه کلرهگزیدین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به چاهک اول (شماره ۱) اضافه گردید. دهانشویه و محیط کشت از طریق up and down کردن به وسیله سمپلر به خوبی مخلوط شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این مخلوط برداشته شد و به چاهک کناری (شماره ۲) اضافه گردید. دوباره محیط کشت خوب مخلوط شده و از آن ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شده و به چاهک بعدی اضافه گردید. این عمل تا چاهک شماره ۹ ادامه یافت. در چاهک شماره ۱۰ مقدار ۱۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد بدون آن که به چاهک شماره ۱۱ افزوده شود. در نهایت به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل $1/5 \times 10^6$ cfu/ml اضافه گردید و پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴

جدول ۲- مقادیر MIC و MBC دهانشویه‌ها بر روی

یافته‌ها

استرپتوکوکوس موتانس		
MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	ترکیب (دهانشویه)
۳/۹	۳/۹	کلرهگزیدین ۰/۲٪
۱۲۵	۱۲۵	فلوراید ۰/۰۵٪
۱/۹۵	۱/۹۵	D1+F نانوسیل

بحث:

پوسیدگی دندان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مزمن دهان و دندان می‌باشد. این بیماری یکی از چالش‌های جدی در حوزه دندانپزشکی و بهداشت عمومی است. امروزه هزینه‌های هنگفتی برای درمان پوسیدگی‌های دندانی در سراسر کشور صرف می‌شود. هزینه‌های زیاد درمان پوسیدگی دندان و عدم تقبل هزینه‌های درمان توسط بیمه‌ها باعث شده که اهمیت پیشگیری از پوسیدگی دندان بیش از پیش آشکار شود^(۱۶). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضد میکروبی دهانشویه نانوسیل D1+F در مقایسه با دهانشویه‌های کلرهگزیدین ۰/۲ درصد و فلوراید ۰/۰۵ درصد طرح‌ریزی شد.

در مطالعه ما از روش‌های چاهک-پلیت و میکرودايلوشن برای بررسی اثرات ضد میکروبی دهانشویه‌ها استفاده گردید. روش چاهک-پلیت اگرچه حساسیت زیادی ندارد ولی به طور شایع برای غربالگری اثرات ضد میکروبی بکار می‌رود^(۱۳). از روش میکرودايلوشن نیز برای محاسبه MIC و MBC استفاده گردید که یک روش کمی بوده و به‌عنوان استاندارد طلایی برای تست‌های حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها انجام می‌گیرد^(۱۷).

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه ما، دهانشویه فلوراید کمترین اثر ضد میکروبی را داشت. بعد از آن دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ قرار داشت. بیشترین اثر ضد میکروبی نیز مربوط به دهانشویه نانوسیل D1+F بود. همسو با مطالعه ما، Jothika و همکاران طی مطالعه‌ای اثر ضد میکروبی چندین دهانشویه را بر روی استرپتوکوکوس موتانس جدا شده از بزاق

ابتدا جهت غربالگری اثرات ضد میکروبی، قطر هاله عدم رشد دهانشویه‌ها روش چاهک-پلیت اندازه‌گیری شد. نتایج در جدول ۱ ارائه شده است.

قطر هاله عدم رشد دهانشویه‌ها در هر دو محیط مولر هینتون و BHI الگوی یکسانی داشت. این قطر هاله عدم رشد توسط خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد^(۱۴،۱۵). دهانشویه فلوراید ۰/۰۵٪ قطر هاله عدم رشد ۹ میلی‌متری ایجاد کرده بود. قطر هاله عدم رشد برای دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ و نانوسیل D1+F به ترتیب ۱۸ و ۳۲ میلی‌متر بود که نشان می‌دهد دهانشویه نانوسیل اثر ضد میکروبی قوی‌تری از خود نشان داده است.

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد دهان شویه‌ها

دهان شویه	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
کلرهگزیدین ۰/۲٪	۱۸
فلوراید ۰/۰۵٪	۹
D1+F نانوسیل	۳۲

برای محاسبه MIC و MBC از روش میکرودايلوشن استفاده گردید. مقادیر MIC و MBC به دست آمده برای هر دهانشویه در جدول ۱ ارائه شده است. بر این اساس، دهانشویه فلوراید ۰/۰۵٪ کمترین اثر ضد میکروبی بر روی استرپتوکوکوس موتانس داشت به گونه‌ای که MIC آن ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین اثر ضد میکروبی نیز مربوط به دهانشویه نانوسیل D1+F به گونه‌ای که MIC آن ۱/۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. میزان MIC برای دهانشویه کلرهگزیدین ۰/۲٪ نیز ۳/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد مقادیر MIC و MBC برای هر کدام از دهانشویه‌های به کار رفته با هم برابر بوده در نتیجه دهانشویه‌ها دارای اثر باکتریوسیدال (کشندگی) و نه باکتریواستاتیک (مهارتی) - بر روی استرپتوکوکوس موتانس بوده‌اند.

پایین تر بود. علت تفاوت در نتایج می‌تواند به علت روش‌های متفاوت استفاده شده برای بررسی MIC و MBC پرداخت. در مطالعه ما از روش میکرودایلوشن به کمک چاهک ۹۶ خانه استفاده شد در حالی که در مطالعه Akhlaghi و همکاران از روش آگارد ایلوشن استفاده گردید. همچنین، تفاوت در برند مورد استفاده از دهانشویه می‌تواند عامل تفاوت در نتایج باشد^(۲۴)

دهانشویه‌های مورد استفاده در مطالعه ما دارای MIC و MBC مشابهی بر روی *استرپتوکوکوس موتانس* بودند که نشان می‌دهد این دهانشویه‌ها دارای اثر باکتریوسیدال (کشندگی) - و نه مهاری - بر روی این باکتری هستند. اثرات باکتریوسیدال دهانشویه‌های فلوراید و کلرهگزیدین در مطالعات گذشته نیز نشان داده شده است^(۲۴،۲۵).

کلرهگزیدین یک ترکیب بیس گوانید کاتیونی است که به دیواره سلولی باکتری‌ها متصل شده و باعث نشت محتویات داخل سلولی به خارج از باکتری می‌شود. در غلظت پایین، کلرهگزیدین باعث خارج کردن یون‌هایی نظیر پتاسیم و فسفر از سلول و اثر مهاری دارد ولی در غلظت بالاتر باعث تجمع و رسوب پروتئین‌های موجود در سلول باکتری شده و در نتیجه باعث از بین بردن باکتری می‌شود^(۲۶). با این حال، استفاده از کلرهگزیدین با توجه به عوارض جانبی آن برای پروفیلاکسی روزانه مناسب نیست^(۲۷).

نتایج مطالعه ما نشان داد دهانشویه نانوسیل D_{I+F} نسبت به دهانشویه‌های کلرهگزیدین و فلوراید دارای اثرات ضد میکروبی قوی‌تری بر روی *استرپتوکوکوس موتانس* است. Sajedinejad و همکاران نشان دادند دهانشویه نانوسیل (بدون فلوراید) دارای اثرات ضد میکروبی مشابه با کلرهگزیدین بر روی پاتوژن‌های پریدونتال است^(۲۸). Kariminik و همکاران نیز نشان دادند سویه‌های جدا شده *استرپتوکوکوس موتانس* از بزاق بیماران حساسیت بالایی به دهانشویه نانوسیل دارند. همسو با مطالعه ما، این مطالعه نیز نشان داد حساسیت *استرپتوکوکوس موتانس* به دهانشویه نانوسیل بیشتر از دهانشویه کلرهگزیدین است^(۲۹). Esfahanian و همکاران نشان دادند دهانشویه کلرهگزیدین

بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که دهانشویه‌ی کلرهگزیدین بیشترین اثر ضد میکروبی را در مقایسه با دهانشویه‌های فلوراید و پروبیوتیک دارد^(۱۸). نتایج مشابهی در مطالعه Malhotra و همکاران مشاهده شد^(۱۹). در مطالعه Malvania و همکاران قطر هاله عدم رشد دهانشویه‌های کلرهگزیدین و فلوراید بر روی *استرپتوکوکوس موتانس* به ترتیب ۲۳ و ۱۴ میلی‌متر گزارش شد^(۲۰). تفاوت در مقادیر قطر هاله عدم رشد نسبت به مطالعه ما نیز می‌تواند به علت تفاوت در غلظت دهانشویه فلوراید، تفاوت احتمالی در باکتری‌های استاندارد استفاده شده و تفاوت در برند تجاری دهانشویه‌ها باشد^(۱۶). در این راستا، karimi و همکاران نشان دادند برند تجاری دهانشویه در اثر ضد میکروبی آن مؤثر است. این مطالعه نشان داد دهانشویه فلوراید اورال-B نسبت به دهانشویه فلوراید ایرشا دو برابر اثر ضد میکروبی بیشتری بر روی *استرپتوکوکوس موتانس* دارد^(۲۱).

فلوراید در مقادیر کم، مقاومت ساختمان دندان را نسبت به دمنیرالیزاسیون افزایش می‌دهد و مخصوصاً در پیشگیری از پوسیدگی مهم است. فلوراید اثرات ضد پوسیدگی خود را با سه مکانیسم مختلف اعمال می‌کند: (۱) رسوب فلور و آپاتیت از یون کلسیم و فسفات موجود که باعث مقاومت بیشتر مینا در برابر اسید می‌شود. (۲) رمینرالیزه ضایعات پوسیدگی بدون تشکیل حفره، (۳) مهار میکروارگانیزم‌ها از طریق ممانعت از تولید آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز و در نتیجه کاهش قدرت چسبندگی باکتری‌ها به سطوح^(۲۲).

در مطالعه ما، میزان MIC و MBC برای دهانشویه کلرهگزیدین ۳/۹ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. Motamedifar و همکاران نیز نشان دادند که میزان MBC کلرهگزیدین ۰/۲ درصد علیه *استرپتوکوکوس موتانس* برابر با ۰/۷۸ میلی گرم بر میلی لیتر است که این مقدار کمتر از مطالعه ما بود^(۲۳). در مطالعه Akhlaghi و همکاران نیز کلرهگزیدین ۰/۲ درصد دارای اثرات ضد میکروبی قوی بوده و میزان MIC و MBC آن علیه *استرپتوکوکوس موتانس* برابر با ۰/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر است که این مقدار نیز از مطالعه ما

در غشای سیتوپلاسمی و پروتئین‌های غشایی از طریق اتصال به آنها، واکنش با آنزیم‌های غشایی و سلولی و کاهش یون‌های مورد نیاز برای میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه مرگ سلول است^(۴۰).

نتیجه گیری:

بر طبق نتایج مطالعه حاضر، دهانشویه نانوسیل D1+F نسبت به کلرهگزیدین ۰/۲ درصد و فلوراید ۰/۰۵ درصد دارای اثرات ضد میکروبی قوی‌تری بر روی استرپتوکوکوس موتانس بود به طوری که قطر هاله عدم رشد بیشتری ایجاد کرد و حداقل دوز مهاری و کشندگی آن نیز کمتر بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دکترای عمومی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان (۲۲۹) استخراج شده است. از معاونت پژوهشی دانشگاه که در اجرای طرح ما را یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

نسبت به دهانشویه نانوسیل همچنان اثرات ضد میکروبی قوی‌تری بر روی استرپتوکوکوس موتانس داراست^(۳۰). تفاوت در مطالعات می‌تواند به علت تفاوت در روش‌های بررسی اثرات ضد میکروبی، تفاوت در برند تجاری دهانشویه‌ها و همچنین تفاوت در باکتری‌های مورد بررسی باشد. علاوه بر این در تمامی این مطالعات، اثر ضد میکروبی دهانشویه بدون فلوراید نانوسیل ارزیابی شده بود. این در حالی بود که دهانشویه نانوسیل مورد استفاده در مطالعه ما حاوی فلوراید بود. به طور کلی، دهانشویه نانوسیل D1+F حاوی یون نقره، هیدروژن پراکسید، روغن‌های فرار گیاهی و فلوراید است. به نظر می‌رسد حضور این ترکیبات با هم باعث شده خاصیت سینرژیسم از خود نشان دهند و در نتیجه، اثرات ضد میکروبی قوی علیه استرپتوکوکوس موتانس مشاهده شد.

اثرات ضد میکروبی دهانشویه‌های حاوی یون نقره علیه استرپتوکوکوس موتانس در مطالعات Ahrari و همکاران^(۳۱) و Esawy و همکاران^(۳۲) نشان داده شده است. نقره دارای قدرت اتصال و نفوذ به ساختار دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها بوده و در نتیجه قادرند نفوذپذیری آنها را افزایش داده و باعث از بین بردن میکروارگانیسم‌ها شوند^(۳۳). همچنین نقره باعث تولید رادیکال‌های آزاد، توقف تولید انرژی (ATP)، غیرفعال کردن آنزیم‌های باکتریایی و جلوگیری از رونویسی مولکول‌های DNA در میکروارگانیسم‌ها می‌گردد^(۳۴،۳۵). مطالعاتی نیز هستند که اثرات ضد میکروبی هیدروژن پراکسیداز بر روی استرپتوکوکوس موتانس را نیز نشان داده‌اند. Silhacek و همکاران نشان دادند هیدروژن پراکسیداز به طور مؤثری در مهار رشد و از بین رفتن استرپتوکوکوس موتانس نقش دارد^(۳۶). نتایج مشابهی در مطالعه Feuerstein و همکاران حاصل شد^(۳۷).

اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها و روغن‌های گیاهی نیز از دیرباز شناسایی شده‌اند^(۳۸). فلاونوئیدها مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره‌ها و روغن‌های گیاهی هستند^(۳۹). مکانیسم‌هایی که به واسطه آن ترکیبات فنولی برای میکروارگانیسم‌ها سمیت ایجاد می‌کنند شامل جذب سطحی و شکستن غشای سلولی، تداخل

References:

1. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Laverty D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis—a comprehensive review. *Journal of clinical periodontology*. 2017;44(18):94-105.
2. Chin JR, Kowolik JE, Stookey GK. Dental caries in the child and adolescent. *McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent-E-Book*. 2015:155.
3. World Health Organization (WHO) (2015). Sugars intake for adults and children. Geneva: WHO (http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sugars_intake/en/, accessed 17 September 2017)
4. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. Streptococcus mutans, Candida albicans, and the human mouth: a sticky situation. *PLOS pathogens*. 2013;9(10):1-5.
5. Raja M, Hannan A, Ali K. Association of oral candidal carriage with dental caries in children. *Caries Res*. 2010;44(3):272-6.
6. Nematollahi H, Mehrabkhani M, Sheykhan MM. Assessing the relationship between diet and prevalence of early childhood caries in Birjand preschool children. *Shiraz Univ Dent J*. 2007; 8(1): 70-85.
7. Doméjean S, Muller-Bolla M, Featherstone JD. Caries preventive therapy. *Clin. Dent. Rev*. 2018;2(1):14-9.
8. Balagopal S, Arjunker R. Chlorhexidine: the gold standard antiplaque agent. *J Pharm Sci Rev Res*. 2013;5(12):270-8.
9. Kumar SB. Chlorhexidine mouthwash—a review. *J. Pharm. Sci. & Res*. 2017;9(9): 1450-2.
10. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine—is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative? *J. Hosp. Infect*. 2016;94(3):213-27.
11. Khoroushi M, Rabbani khorasgani M, Aliasghari A. Determination Of Minimum Inhibitory Concentration (Mic) Of Two Plants Extract On Cariogenic Streptococc. *J. Dent. Med*. 2017;30(1):12-7.
12. Rezaei-soufi L, Rafieian N, Jazaeri M, Abdolsamadi H, Kasraei SH, Alikhani MU, Seif-Rabiei MA, et al. Comparison of the Anti-caries Effect of Polyphenol Extract of Green Tea with 0.05% Fluoride, 0.2% Chlorhexidine and Fluoride-Chlorhexidine, An In Vitro Study. *J. Mashhad Dent*. 2013;36(4):301-8.
13. <http://www.kimiafaam.com>.
14. Zajkani E, Zeighami H, Zaeefjou A. Comparison of the effect of fluoride 0.2% and a combination mouthwash (xylitol and fluoride) on streptococcus mutans and lactobacillus acidophilus growths. *J. dent med*. 2017;30(1):57-64.
15. alayer Naderi N, Niakan M, Mohamadi Motlagh M. Determination of Antibacterial Activity of Pistacia lentiscus Methanolic Extract on Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Pseudomonas aeruginosa. *sjimu*. 2015; 22 (7) :67-74
16. Bagramian RA, Garcia-Godoy F, Volpe AR. The global increase in dental caries. A pending public health crisis. *Am J dent*. 2009;22(1):3-8.
17. Freixa B, Vila R, Vargas L, Lozano N, Adzet T, Cañigueral S. Screening for antifungal activity of nineteen Latin American plants. *Phytother Res*. 1998;12(6):427-30.
18. Jothika M, Vanajassun PP, Someshwar B. Effectiveness of probiotic, chlorhexidine and fluoride mouthwash against Streptococcus mutans - Randomized, single-blind, in vivo study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2015;5(1):S44-S8.
19. Malhotra N, Rao SP, Acharya S, Vasudev B. Comparative in vitro evaluation of efficacy of mouthrinses against Streptococcus mutans, Lactobacilli and Candida albicans. *Oral health prev. dent.*. 2011;9(3):261-6.
20. Malvania EA, Sharma AS, Sheth SA, Rathod S, Chovatia NR, Kachwala MS. In Vitro analysis of Licorice (Glycyrrhiza glabra) root extract activity on Streptococcus mutans in comparison to chlorhexidine and fluoride mouthwash. *J Contemp Dent Pract*. 2019;20(12):1389-94.
21. Karami M, Mazaheri R, Mesripour M. Comparing the Effectiveness of Two Fluoride Mouthrinses on Streptococcus Mutans. *J. Mashhad Dent*. 2011;35(2):115-22.
22. Ritter AV. *Sturdevant's art & science of operative dentistry-e-book: Elsevier Health Sciences*; 2017.
23. Motamedifar M, Khosropanah H, Dabiri S. Antimicrobial Activity of Peganum Harmala L. on Streptococcus mutans Compared to 0.2% Chlorhexidine. *J Dent (Shiraz)*. 2016;17(3):213-8.
24. Akhlaghi N, Sadeghi M, Fazeli F, Akhlaghi S, Mehnati M, Sadeghi M. The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against Streptococcus mutans and Lactobacillus plantarum: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2019;16(5):346-53.
25. Akhlaghi N, Mehnati M, Ahmadi M. In vitro antimicrobial activities against Streptococcus mutans: A comparative study of green versus black tea extracts and 0.2% chlorhexidine and fluoride. *IJMRP*. 2016;2(5):11-5.
26. Fardai O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *The Journal of the American Dental Association*. 1986;112(6):863-9.
27. Renuka S, Muralidharan N. Comparison In Benefits Of Herbal Mouthwashes With Chlorhexidine Mouthwash: A Review. *Asian J. Pharm. Clin. Res*. a 2017;10(2):1-8.
28. Sajedinejad N, Salman BN, Darvish S. Comparison of the Antibacterial Effects of Nanosil, Chlorhexidine and Probiotic Mouthwashes on Periodontal Pathogens. *J. dent. sch*. 2018;36(3):99-103.

29. Kariminik A, Motaghi M-M. Evaluation of Antimicrobial susceptibility pattern of *Streptococcus mutans* isolated from dental plaques to chlorhexidine, nanosil and common antibiotics. *Int. J. Life Sci.* 2015;9(2):18-21.
30. Esfahanian V, Mohamadi F, Amini S. An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effect of Nanosil and Chlorhexidine Mouthrinses. *J Islam Dent Assoc Iran.* 2012;24(4):187-91.
31. Ahrari F, Eslami N, Rajabi O, Ghazvini K, Barati S. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* to colloidal solutions of different nanoparticles applied as mouthwashes. *Dent Res J (Isfahan).* 2015;12(1):44-9.
32. Esawy MA, Ragab TIM, Shalaby ASG, Basha M, Emam M. Evaluated bioactive component extracted from *Punica granatum* peel and its Ag NPs forms as mouthwash against dental plaque. *Biocatal. Agric. Biotechno.* 2019;18:1-9.
33. Lok C-N, Ho C-M, Chen R, He Q-Y, Yu W-Y, Sun H, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2007;12(4):527-34.
34. Tang S, Zheng J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Adv. Healthc. Mater.* 2018;7(13):1-10.
35. Marambio-Jones C, Hoek EMV. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res.* 2010;12(5):1531-51.
36. Silhacek KJ, Taake KR. Sodium bicarbonate and hydrogen peroxide: the effect on the growth of *Streptococcus mutans*. *J Am Dent Hyg.* 2005;79(4):7-12.
37. Feuerstein O, Moreinos D, Steinberg D. Synergic antibacterial effect between visible light and hydrogen peroxide on *Streptococcus mutans*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006;57(5):872-6.
38. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines.* 2017;4(3):58.
39. Mansour RB, Jilani IBH, Bouaziz M, Gargouri B, Elloumi N, Attia H, et al. Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. *Cytotechnology.* 2016;68(1):135-42.
40. Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J Food Microbiol.* 2012;156(1):7-17.