Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 62, Volume 16, Issue 2

Check for updates

Research Article

In vitro Study of the Synergistic Effect of Different Concentrations of Chlorhexidine Mouthwash and Ethanolic Extract of *Pinus Gerardiana* on Oral Pathogens (*Streptococcus Mutans* and *Candida Albicans*)

Vahab Imani[1], Mohammad Reza Pourabbas[2], Parastoo Zarghami Moghaddam[3], Mina Baqeri[4], Farzaneh Shakeri [3,5*]

[1] Doctor of General Dentistry, Faculty of Dentistry, North Khorasan University of medical science, Bojnurd, Iran
[2] Dental Student, Faculty of Dentistry, North Khorasan University of medical sciences, Bojnurd, Iran
[3] Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[4] Faculty of Dentistry, North Khorasan University of medical sciences, Bojnurd, Iran
[5] Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

***Corresponding author:** Farzaneh Shakeri, Natural Products and Medicinal Plants Research Center and Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: f_1366_sh@yahoo.com.

DOI: **10.32592/nkums.16.2.83**

How to Cite this Article:
Imani V, Pourabbas M R, Zarghami Moghaddam P, Baqeri M, Shakeri F. In vitro Study of the Synergistic Effect of Different Concentrations of Chlorhexidine Mouthwash and Ethanolic Extract of *Pinus Gerardiana* on Oral Pathogens (*Streptococcus Mutans* and *Candida Albicans*). J North Khorasan Univ Med Sci. 2024;16(2):83-90. DOI: 10.32592/nkums.16.2.83

Received: 20 Sep 2023
Accepted: 27 Feb 2024

Keywords:
Tooth decay
Pinus gerardiana
Streptococcus mutans
Chlorhexidine
Candida albicans

Abstract

Introduction: Tooth decay is the most common chronic disease in the world. *Streptococcus mutans* is the most important bacteria that cause tooth decay. The most common chemical method to prevent tooth decay is using mouthwash. Chlorhexidine is used as a standard mouthwash. The use of herbal compounds with antibacterial effect is preferable to chlorhexidine due to less side effects. The purpose of this study was to investigate the combination of different concentrations of chlorhexidine mouthwash and ethanol extract of *Pinus gerardiana* medicinal plant on oral pathogens (*Streptococcus mutans* and *Candida albicans*).

Method: A combination of different concentrations of chlorhexidine mouthwash and ethanol extract of *Pinus gerardiana* medicinal plant was prepared and its effect in different dilution against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* was investigated by disc diffusion, well diffusion, and prevention of biofilm formation methods.

Results: The results of disc diffusion, well diffusion, and biofilm method showed that the ethanolic extract of *Pinus gerardiana* medicinal plant alone had no significant antimicrobial effect on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* and it was not comparable to chlorhexidine.

Conclusion: According to the findings of this study, the antibacterial and antifungal effects of chlorhexidine gradually increased with the increase in concentration, and 0.2% chlorhexidine had the highest inhibitory effect on bacteria and fungi under the present study.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

Copyright *© 2024 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

بررسی آزمایشگاهی اثر هم‌افزایی ترکیب غلظت‌های مختلف دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه دارویی چلغوز (Pinus gerardiana) بر پاتوژن‌های دهانی (*استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکنس*)

وهاب ایمانی[۱]، محمدرضا پورعباس[۲]، پرستو ضرغامی مقدم[۳]، مینا باقری[۴]، فرزانه شاکری[۳،۵*]

[۱] دکتری عمومی دندان‌پزشکی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۲] دانشجوی دکتری عمومی دندان‌پزشکی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۳] مرکز تحقیقات فراورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۴] دکتری تخصصی درمان ریشه (اندودانتیکس)، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۵] دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
*نویسنده مسئول: فرزانه شاکری، مرکز تحقیقات فراورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی و گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران. ایمیل: f_1366_sh@yahoo.com.

DOI: 10.32592/nkums.16.2.83

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۸

واژگان کلیدی:
پوسیدگی دندان
گیاه *چلغوز*
استرپتوکوکوس موتانس
کلرهگزیدین
کاندیدا آلبیکنس

چکیده

مقدمه: پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مزمن در جهان است. *استرپتوکوکوس موتانس* نیز مهم‌ترین باکتری عامل بروز پوسیدگی دندان است. متداول‌ترین روش شیمیایی در پیشگیری از پوسیدگی دندان استفاده از دهان‌شویه است. کلرهگزیدین رایج‌ترین دهان‌شویه استاندارد شناخته‌شده است. لذا، یافتن ترکیبات گیاهی با اثر ضدمیکروبی بالا و عوارض جانبی کمتر نسبت به کلرهگزیدین ارجحیت دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ضدمیکروبی ترکیب غلظت‌های مختلف دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه دارویی چلغوز (*Pinus gerardiana*) بر پاتوژن‌های دهانی (*استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکنس*) است.

روش کار: ترکیبی از غلظت‌های مختلف دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه دارویی چلغوز تهیه شد و اثر آن در رقت‌های مختلف علیه باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* به روش‌های انتشار دیسک، چاهک پلیت و ممانعت از تشکیل بیوفیلم بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج در روش انتشار دیسک، چاهک پلیت و بیوفیلم نشان داد که عصاره اتانولی گیاه دارویی چلغوز به‌تنهایی اثر ضدمیکروبی درخور ملاحظه‌ای بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* ندارد و قیاس‌پذیر با کلرهگزیدین نیست ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این مطالعه، با افزایش غلظت عصاره و کلرهگزیدین، اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی به‌تدریج افزایش می‌یابد و در این میان، کلرهگزیدین (۰/۲ درصد) بالاترین اثر مهاری را بر باکتری و قارچ مورد مطالعه دارد.

مقدمه

بیماری‌های دهان، شامل پوسیدگی دندانی، بیماری‌های پریودنتال و از دست دادن دندان‌ها، جمعیت بسیار زیادی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱]. در میان بیماری‌های حفره دهان، پوسیدگی دندان‌ها از شیوع بالا و اهمیت خاصی دارد و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی محسوب می‌شود [۲]. پوسیدگی دندان در ماهیت، نوعی بیماری عفونی میکروبی است که موجب حل شدن و تخریب بافت‌های آهکی دندان می‌شود [۳]. در این بیماری، بافت سخت دندان (مینا و سپس عاج) در اثر ترشح اسید حاصل از باکتری‌های پوسیدگی‌زا، مواد معدنی کلسیم و فسفر را از دست می‌دهد و به‌تدریج از بین می‌رود [۴]. *استرپتوکوکوس موتانس* عامل اصلی پوسیدگی در نظر گرفته می‌شود و نقشی اساسی در پیشرفت پوسیدگی دندان بازی می‌کند [۵]. *کاندیدا آلبیکنس* چهارمین علت عفونت دهان معرفی شده است که می‌تواند باعث عفونت‌های موضعی مانند برفک شود [۶]. مهم‌ترین بخش در جلوگیری از پوسیدگی، پیشگیری است [۷]. یکی از روش‌های پیشگیری استفاده از عوامل ضدمیکروبی مانند کلرهگزیدین یا سدیم‌فلوراید است تا تشکیل بیوفیلم و رشد میکروارگانیسم‌های مولد پوسیدگی، به‌خصوص *استرپتوکوکوس موتانس* را در حفره دهان محدود کند. بااین‌حال، استفاده از مواد شیمیایی معمول به‌صورت منظم به‌دلیل محدودیت‌هایی که این عوامل از خود نشان داده‌اند، برای پیشگیری از پوسیدگی توصیه نمی‌شود [۸]؛ بنابراین، با اینکه مواد ضدپوسیدگی متعددی از نظر تجاری وجود دارد، به‌دلیل اثرات جانبی ناخواسته و قیمت‌های بالای این مواد و با توجه به مقاومت‌های میکروبی ایجادشده، چالش برای

Copyright © 2024 *The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

یافتن مواد ضدمیکروبی جدید همچنان ادامه دارد [۲، ۵، ۷، ۸]. اخیراً مطالعات راجع به استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان منبعی از عوامل ضدمیکروبی و ضدقارچی به‌طور چشمگیر افزایش پیدا کرده است. طیف گسترده‌ای از عصاره گیاهان معرفی شده است که فعالیت ضدمیکروبی و ضدقارچی دارند [۹]. با وجود اینکه داروهای شیمیایی گسترش بسیاری داشته‌اند، هنوز گیاهان دارویی و اشکال مختلف آن‌ها به‌طور وسیع به کار می‌روند [۱۰].

ازآنجایی‌که کشور ایران موقعیت مناسبی برای پرورش گیاهان دارویی دارد و همچنین، به‌دلیل اینکه گیاهان دارویی عوارض بسیار ناچیز و کمتری از داروهای شیمیایی دارند و تهیه آن‌ها کم‌هزینه‌تر است، مطالعات مختلف به دنبال بررسی تأثیر ضدمیکروبی گیاهان دارویی مختلف هستند. به همین دلیل، چندین مورد از دهان‌شویه‌ها و عصاره‌های گیاهی در جست‌وجوی یک ماده‌ی کمکی مناسب به‌عنوان جایگزین کلرهگزیدین و برای امکان استفاده طولانی‌مدت آزمایش و بررسی شدند که از این موارد می‌توان به *Pinus gerardiana* از خانواده کاجیان (Pinaceae) اشاره کرد. این ماده با نام «کاج چلغوز» یا «نئوزا» شناخته می‌شود. پراکندگی این گیاه در جهان بسیار کم و محدود به رشته‌کوه‌های منطقه شرقی هند، پاکستان، افغانستان و همچنین، مناطق پراکنده هندوکش هیمالیا است. طبع این گیاه گرم است. این گیاه به‌دلیل داشتن منیزیم موجب از بین رفتن بی‌خوابی‌های شبانه می‌شود. همچنین، پتاسیم و منگنز موجود در چلغوز موجب تعادل فشارخون می‌شود و دردهای عضلانی، تنش، اضطراب و خستگی مفرط را از بین می‌برد و موجب رفع سنگ مثانه می‌شود. مطالعات شیمیایی درباره *Pinus gerardiana* وجود اسیدلینولئیک، اسیداولئیک، آلبومنوئیدها، نشاسته، روغن، فیتواسترول، پلی‌فنول‌ها، گزانتن‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، گالوکاتچین، کاتچین، لوتئین و... را در این ماده نشان می‌دهد.

همچنین، مطالعات مختلف وجود ویتامین‌های مختلف، از جمله ویتامین E، تیامین (B1)، بتاکاروتن، ریبوفلاوین (B2)، نیاسین (B3)، ویتامین k، اسیدپانتوتنیک (B5)، ویتامین B6، فولات (B9) و مواد معدنی از جمله منیزیم، کلسیم، منگنز، فسفر، پتاسیم، آهن و روی را در این ماده نشان داده‌اند. این گیاه همچنین، فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضدترومبوتیک و ضدپلاکتی، فعالیت ضددیابت، فعالیت ضدالتهابی، فعالیت ضدقارچی و فعالیت ضدباکتری را در ارزیابی‌های علمی نشان داده است [۱۱، ۱۲]. Aditi و همکاران، گزارش کرده‌اند که عصاره پوست ساقه *P. gerardiana* بیشترین عملکرد ضدمیکروبی را در بین قارچ‌ها و باکتری‌های مورد مطالعه علیه *P. areuginosa* و *C. albican* نشان داده‌اند [۱۲]. نتایج مطالعه رحمان و همکاران که در سال ۲۰۱۷ با هدف بررسی فعالیت ضدترومبوتیک و ضدپلاکتی گیاه چلغوز انجام شد، نشان داد که گیاه چلغوز باعث تجزیه لخته خون در شرایط آزمایشگاهی می‌شود [۱۳]. نتایج مطالعه Alfahdawi و همکاران که در سال ۲۰۲۱ با هدف بررسی اثر مهارکنندگی عصاره‌های مختلف گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و دهان‌شویه کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های دهانی انجام شد، نشان داد که روغن گیاه مریم‌گلی خالص بیشترین بازدارندگی را در برابر باکتری‌ها در مقایسه با دهان‌شویه کلرهگزیدین دارد [۱۴]. در مطالعه اقبال و همکاران که در سال ۲۰۲۱ با هدف بررسی تأثیر ضدباکتریایی اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی و مقایسه آن با تأثیر داروی کلرهگزیدین بر عوامل باکتریایی حفره دهانی انجام شد، نشان داده شد که این گیاه اثرات مهارکنندگی درخور توجهی بر انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت دارد و مشخص شد که اسانس این گیاه دارویی نتایج بهتری بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* نسبت به دهان‌شویه کلرهگزیدین ایجاد می‌کند [۱۵]. در مطالعه‌ی پاتان و همکاران که در سال ۲۰۱۷ با هدف مقایسه تأثیر دهان‌شویه گیاهی و کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های پریودنتال انجام شد، نشان داده شد که کلرهگزیدین نسبت به دهان‌شویه‌های گیاهی، علیه گونه‌های باکتریایی، اثر ضدمیکروبی بیشتری دارد [۱۶]. هدف از مطالعه حاضر دستیابی به نتایج ضدمیکروبی مثبت جهت یافتن ترکیبی از عصاره گیاهی چلغوز با دهان‌شویه کلرهگزیدین با دوز کمتر با حداکثر کارایی و حداقل عوارض جانبی در آینده بود که بتواند جایگزین مناسبی برای دهان‌شویه کلرهگزیدین شود.

روش کار

طرح تحقیقاتی این مطالعه پس از تصویب در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و اخذ کد اخلاق (IR.NKUMS.REC.1400.174) در سال ۱۴۰۱، در مرکز تحقیقات فراورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی اجرا شد.

در این مطالعه، اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی ترکیبی از غلظت‌های مختلف دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز (۸۰-۲۰، ۴۰-۶۰، ۵۰-۵۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر پاتوژن‌های دهانی (*استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکنس*) با استفاده از سه روش انتشار دیسک، چاهک پلیت و ممانعت از تشکیل بیوفیلم بررسی شد. در روش انتشار دیسک و چاهک پلیت، قطر هاله‌ی عدم رشد برحسب میلی‌متر محاسبه شد. در روش بیوفیلم نیز طول موج توسط دستگاه خوانشگر الایزا (BioTek- ژاپن) خوانده و در فرمول مرتبط قرار داده شد.

مراحل تحقیق

عصاره‌گیری

گیاه چلغوز پس از تهیه و خشک شدن، پودر شد و عصاره‌گیری به روش خیساندن توسط حلال اتانول به مدت ۴۸ ساعت انجام شد و با استفاده از تبخیرکننده چرخان (روتاری، هایدولف آلمان) تغلیظ شد. پودر عصاره حاصل تا زمان آزمایش در یخچال (+۴°c) نگهداری شد.

روش چاهک پلیت

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

توسط یک پیپت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک حفره در محیط کشت تریپتیک سوی آگار آغشته به باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* ایجاد شد و جداگانه داخل هر چاهک با سمپلر ۵۰ لاندا از غلظت‌های مختلف دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز (۸۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۶۰، ۲۰-۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) افزوده شد. سپس، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. پس از آن، میزان مناطق مهاری مدنظر بر اساس میلی‌متر محاسبه شد. چاهک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و ضدقارچ نیستاتین کنترل مثبت و چاهک‌های حاوی مایع دی‌متیل‌سولفوکساید کنترل منفی در نظر گرفته شدند [۱۷].

روش انتشار از دیسک

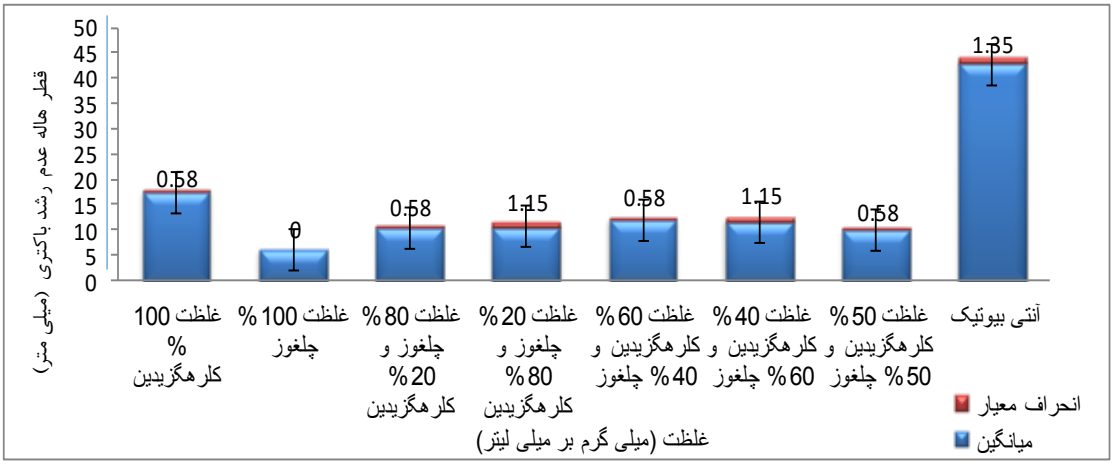
دیسک آغشته به ۵۰ لاندا از غلظت‌های مختلف دهان‌شویه و عصاره (۸۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۶۰، ۲۰-۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و ضدقارچ نیستاتین به‌عنوان کنترل مثبت و دیسک حاوی دی‌متیل‌سولفوکساید به‌عنوان کنترل منفی، به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس روی محیط کشت در فواصل مناسب قرار داده شدند و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند در فواصل مناسب قرار داده شدند. در ادامه، اثر ترکیب حاوی عصاره و دهان‌شویه با دیسک آنتی‌بیوتیک مقایسه شد [۱۷].

ممانعت از تشکیل بیوفیلم

ابتدا ۱۸۰ میکرولیتر از محیط کشت تریپتیک سوی براث داخل چاهک‌های میکروتیترپلیت ۹۶خانه‌ای ریخته شد. چاهک اول محیط کشت بدون عصاره به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. در چاهک‌های بعدی، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ترکیب به‌دست‌آمده به محیط کشت اضافه شد. یک چاهک هم به‌عنوان شاهد منفی بدون عصاره و باکتری در نظر گرفته شد. پس از کشت ۲۴ساعته میکروارگانیسم‌ها، نیم مک فارلند تهیه شد و ۲۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون به همه چاهک‌ها، به‌جز چاهکی که به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شده بود، اضافه شد. میکروپلیت در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس، محتویات داخل چاهک‌ها به‌آرامی با برگرداندن خالی شد و تمامی چاهک‌ها سه بار با سرم فیزیولوژی استریل شست‌وشو داده شدند تا تمامی باکتری‌های پلانکتونیک حذف شوند. میکروتیترپلیت در دمای اتاق خشک شد. در مرحله بعد، با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر متانول به هر چاهک، باکتری‌های متصل به سطح داخلی دیواره چاهک‌ها که همان جمعیت بیوفیلمی هستند، تثبیت شدند. بعد از ۱۵ دقیقه، محتویات چاهک‌ها دور ریخته شد و پلیت در درجه حرارت اتاق خشک شد. به‌منظور رنگ‌آمیزی، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه اضافه شد. سپس، رنگ اضافی به‌طور کامل توسط جریان ملایم آب شسته شد و میکروپلیت در دمای اتاق خشک شد. بعد از این مرحله، برای سنجش میزان رنگ متصل‌شده به دیواره که نمایانگر میزان بیوفیلم است، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر استیک‌اسید ۳۳ درصد اضافه شد. چند بار با سمپلر به‌خوبی هم زده شد تا رنگ‌های متصل به چاهک که بیانگر میزان تشکیل بیوفیلم است، به‌خوبی حل شود. پس از یکنواخت شدن محلول چاهک‌ها، میزان جذب در ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا قرائت شد [۱۸].

آنالیز آماری

برای گزارش اطلاعات توصیفی از رسم نمودار، برای گزارش متغیرهای کیفی از فراوانی (درصد) و برای گزارش متغیرهای کمی از میانگین (انحراف معیار) استفاده شد. همچنین، به‌منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم در گروه‌های مورد بررسی، از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. در تمام آزمون‌ها، سطح معناداری ۵ درصد در نظر گرفته شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 22 به انجام رسید.



نمودار ۱. توزیع اثر ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه کنترل در باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در روش انتشار دیسک

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

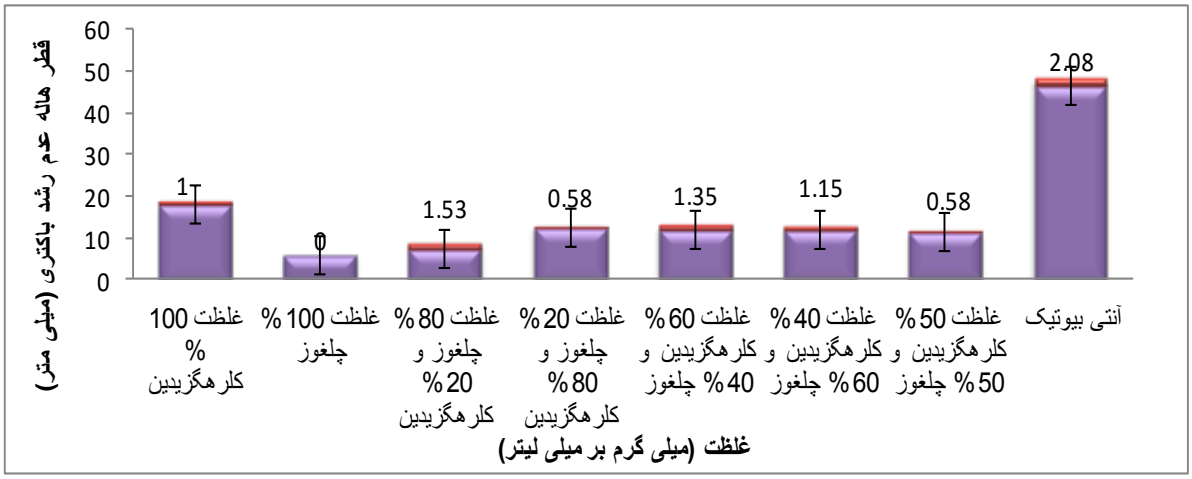
یافته‌ها

نتایج آزمون کروسکال‌والیس در استفاده از روش دیسک نشان داد که آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و غلظت ۱۰۰ درصد دهان‌شویه کلرهگزیدین بیشترین تأثیر ضدباکتریایی را با اندازه هاله عدم رشد ۴۲/۶۷ و ۱۷/۳۳ میلی‌متر علیه باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* دارند. غلظت ۱۰۰ درصد عصاره اتانولی اندام هوایی گیاه دارویی چلغوز کمترین تأثیر ضدباکتریایی را علیه این باکتری داشت (نمودار ۱).

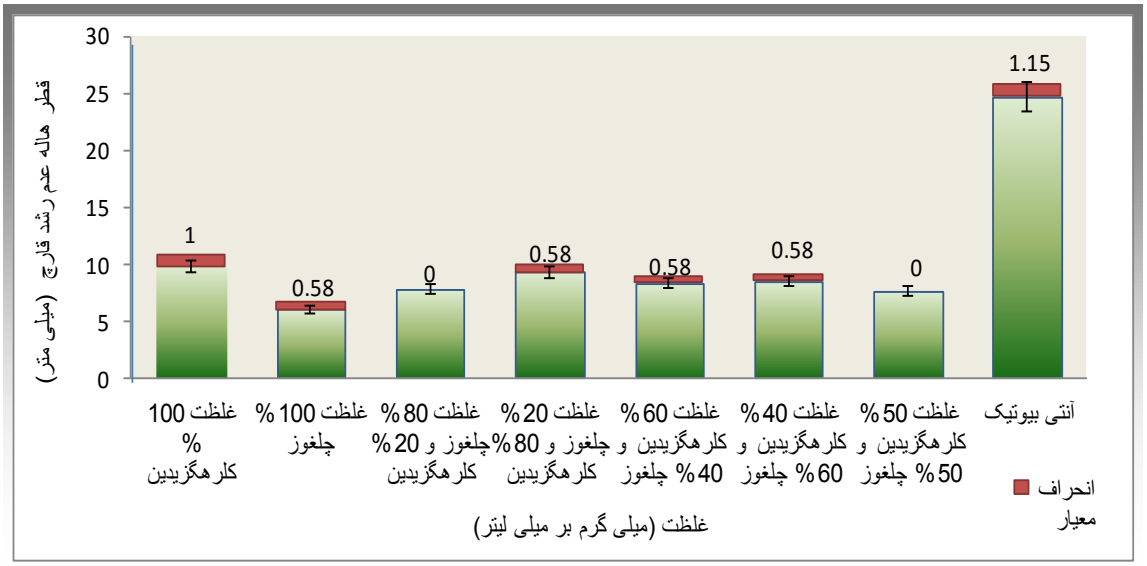
همچنین، نتایج استفاده از روش چاهک پلیت نشان داد که با کاهش غلظت کلرهگزیدین و افزایش غلظت گیاه، میزان اثر به‌تدریج کاهش پیدا می‌کند (نمودار ۲). در هر دو روش نتایج نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف ترکیب با یکدیگر و با آنتی‌بیوتیک وجود دارد ($P\leq ۰/۰۵$).

در روش انتشار از دیسک و چاهک پلیت، ضدقارچ نیستاتین و غلظت ۱۰۰ درصد دهان‌شویه کلرهگزیدین بیشترین تأثیر را علیه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (به‌ترتیب با اندازه هاله ۲۴/۶۷ و ۹/۸ میلی‌متر در روش انتشار از دیسک و ۳۲/۳۳ و ۹/۳۳ میلی‌متر در چاهک پلیت) نشان دادند که در روش دیسک، تفاوت آماری معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف با یکدیگر و با آنتی‌بیوتیک وجود داشت ($P\leq ۰/۰۵$)، ولی در روش چاهک این تفاوت معنادار مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$). در روش انتشار از دیسک و چاهک پلیت، غلظت ۱۰۰ درصد عصاره اتانولی اندام هوایی گیاه دارویی چلغوز با اندازه هاله ۶ و ۶/۰۱ میلی‌متر، کمترین تأثیر ضدقارچی را داشت (نمودار ۳ و ۴).

نتایج به‌دست‌آمده در مورد اثر ممانعت از تشکیل بیوفیلم قارچ *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی اندام هوایی گیاه دارویی چلغوز در نمودار ۵ و ۶ مشاهده می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که غلظت ۱۰۰ درصد دهان‌شویه کلرهگزیدین از تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* و *استرپتوکوکوس موتانس* جلوگیری می‌کند.

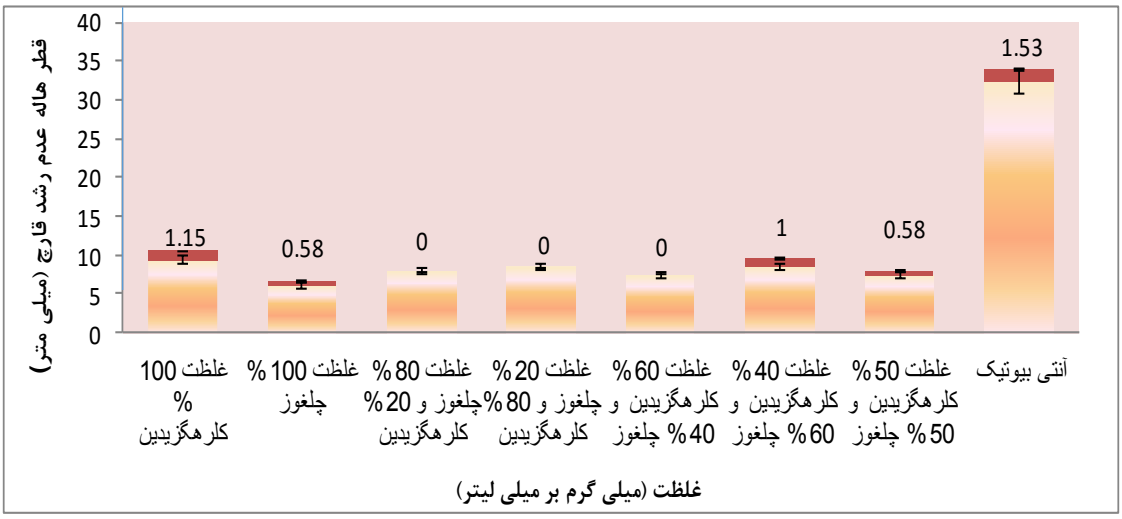


نمودار ۲. توزیع اثر ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه کنترل در باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* با روش چاهک پلیت

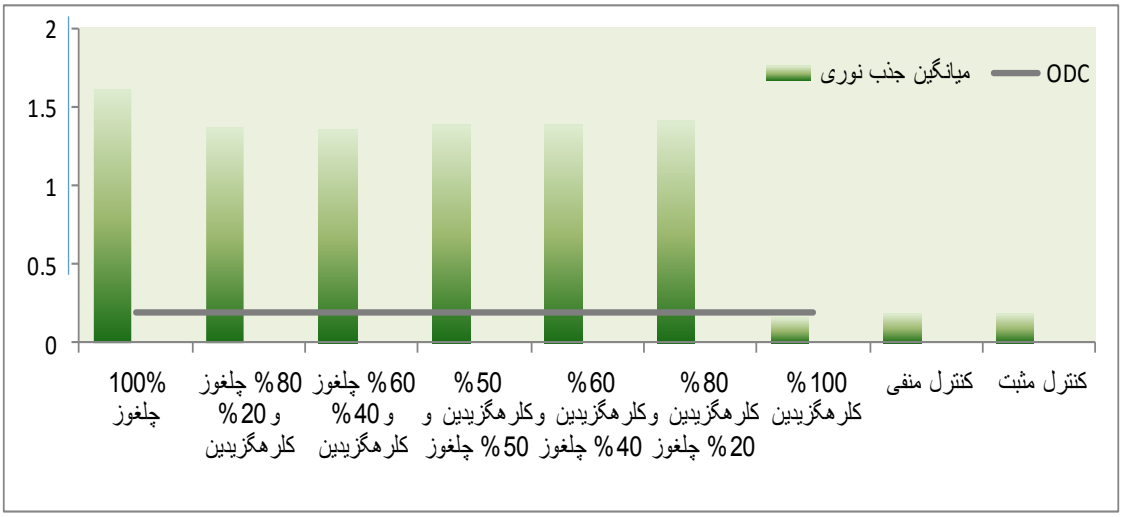


نمودار ۳. توزیع اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه کنترل در قارچ *کاندیدا آلبیکنس* با روش انتشار دیسک

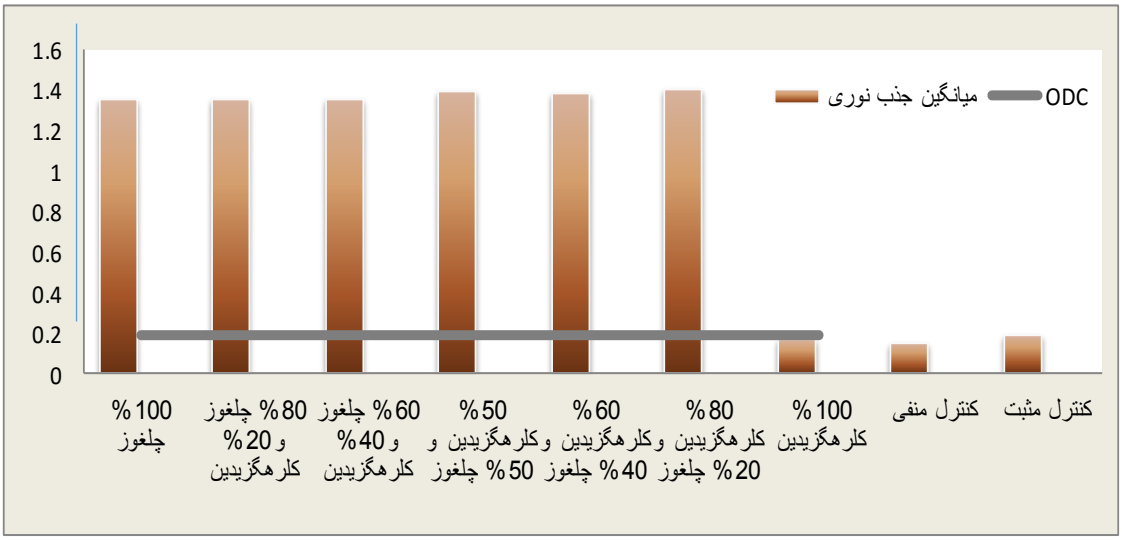
[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]



نمودار ۴. توزیع اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه کنترل در قارچ *کاندیدا آلبیکنس* با روش چاهک پلیت



نمودار ۵. توزیع اثر ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه‌های کنترل بر جذب نوری *استرپتوکوکوس موتانس* با روش بیوفیلم



نمودار ۶. توزیع اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف ترکیب دهان‌شویه کلرهگزیدین و عصاره اتانولی گیاه چلغوز و گروه‌های کنترل بر جذب نوری *کاندیدا آلبیکنس* با روش بیوفیلم

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضدباکتریایی دهان‌شویه کلرهگزیدین به‌طور چشمگیری بیشتر از عصاره گیاهی چلغوز است. سایر مطالعات نیز نظیر این مطالعه، اثر ضدباکتریایی کلرهگزیدین را بر پاتوژن‌های دهانی اثبات کرده‌اند. ریبیرو و همکاران، دریافتند که دهان‌شویه کلرهگزیدین می‌تواند باعث کاهش باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* بزاق شود [۱۹]. کولکارنی، برتری اثر کلرهگزیدین ۰/۱۲ درصد را بر کاهش باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* نسبت به دو دهان‌شویه سدیم‌فلوراید ۰/۰۵ درصد و تری‌کلوزان ۰/۳ درصد نشان داد [۲۰]. در مطالعه‌ای که طهمورث‌پور انجام داد، اثر دهان‌شویه کلرهگزیدین ۰/۲ درصد با عصاره سیب در کاهش *استرپتوکوکوس موتانس* بزاق مقایسه شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد کلونی‌های *استرپتوکوکوس موتانس* بعد از استفاده از دهان‌شویه، در هر دو گروه، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است که این کاهش در گروه کلرهگزیدین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه عصاره‌ی سیب بود [۲۱]. در مطالعه‌ای بالینی که مهدی شهریاری و غلامرضا شفیعی، به‌منظور مقایسه تأثیر دهان‌شویه گل بابونه با کلرهگزیدین بر استوماتیت ناشی از شیمی‌درمانی و پرتودرمانی انجام دادند، نشان داده شد که برای هر دو گروه بیماران، اثرات آن‌ها مشابه است و از نظر رفع بیماری، تفاوت معنی‌داری ندارند، اما کلرهگزیدین سرعت بهبود را افزایش داد [۲۲]. مطالعه‌ای که Stabholz انجام داد، نشان داد که استفاده از کلرهگزیدین، به‌خصوص به روش آزادسازی مداوم، تأثیر مهمی در کاهش باکتری‌های پریودنتال و کاهش عمق پاکت‌ها دارد [۲۳]. در مطالعه Penmetsa و همکاران که در سال ۲۰۱۹ با هدف بررسی تأثیر ترکیب ارنیدازول ۱ درصد، ژل کلرهگزیدین ۰/۲۵ درصد و ژل آلوئه‌ورا (Aloe vera) در درمان بیماران با پریودنتیت مزمن انجام شد، یافته‌های مطالعه نشان داد که میزان شاخص پلاک (PI)، شاخص لثه (GI) و سطح اتصالی لثه (CAL) بعد از ۴ هفته در هر دو گروه کاهش یافته است و بهبود خوبی در شاخص خون‌ریزی (BI) در گروه مداخله مشاهده شد [۲۴]. برتری کلرهگزیدین نسبت به دیگر دهان‌شویه‌های رایج احتمالاً به‌علت مکانیسم عمل این ترکیب کاتیونی است که قدرت تخریب غشا را دارد و به همین دلیل، می‌تواند به مهار رشد یا مرگ سلولی منجر شود. همچنین، مهار آنزیم‌های پروتئولیتیک و گلیکوزیدیک توسط این ماده از اهمیت خاصی برخوردار است. ماهیت کاتیونی این ترکیب سبب اتصال آن به سطوح دندان و مخاط دهان می‌شود و با کاهش تشکیل پلیکل همراه خواهد شد [۲۵، ۲۶]. همچنین، یون‌های مثبت کلرهگزیدین یون‌های منفی دیواره‌های سلولی استرپتوکوک‌های بیماری‌زا را جذب می‌کند و این باعث تخریب دیواره‌های سلولی میکروارگانیسم می‌شود [۲۷]. در عین اینکه کلرهگزیدین مزایای زیادی دارد، معایبی نیز دارد: رنگ‌پذیری دندان‌ها هنگام استفاده طولانی‌مدت از آن، طعم تلخ و مؤثر نبودن بر باسیل‌های مقاوم به اسید و الکل [۲۸].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی گیاه دارویی چلغوز بر باکتری پاتوژن دهانی *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* اثر مهارکنندگی رشد درخور ملاحظه‌ای در مقایسه با دهان‌شویه تجاری کلرهگزیدین ندارد؛ لذا تحقیق درباره استفاده از سایر حلال‌های قطبی و غیرقطبی به‌منظور عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثر گیاهی پیشنهاد می‌شود. همچنین، انجام بررسی‌ها و مطالعات بیشتری در خصوص بررسی اثرات گیاهان دارویی مختلف بر این باکتری‌ها توصیه می‌شود تا بتوان به ترکیب گیاهی مؤثری دست پیدا کرد که فاقد عوارض و اثرات جانبی باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از پرسنل محترم مرکز تحقیقات فراورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی که در این راه هدایتگر بنده بودند، کمال تشکر را دارم.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان، در این مقاله، تعارض منافع وجود ندارد.

References

1. Wu CD. Grape products and oral health. J Nutr. 2009; 139(9):1818S-23S. **DOI:** 10.3945/jn.109.107854 **PMID:** 19640974
2. Hala EA. Inhibitory effect of grape seed extract (GSE) on cariogenic bacteria. J Med Plants Res. 2012;6(34):4883-91. **DOI:** 10.5897/JMPR12.1011
3. Roberson T, Heymann HO, Swift Jr. Sturdevant's art and science of operative dentistry: Elsevier Health Sciences; 2006. [Link]
4. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(2):108-25. **DOI:** 10.1177/154411130201300202 **PMID:** 12097354
5. Smullen J, Finney M, Storey DM, Foster HA. Prevention of artificial dental plaque formation in vitro by plant extracts. J Appl Microbiol. 2012;113(4):964-73. **DOI:** 10.1111/j.1365-2672.2012.05380.x **PMID:** 22747830
6. Han Y. Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to Candida albicans. Phytomed. 2007;14(11):733-8. **DOI:** 10.1016/j.phymed.2007.08.004 **PMID:** 17913484
7. Kshitiz P, Shipra Z, Rani S, Jayanti S. Anti-cariogenic effects of polyphenol plant products-a review. Int J Res Ayurveda Pharm. 2011;2(3):736-42. [Link]
8. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model .J Dent. 2014;42(8):1010-8. **DOI:** 10.1016/j.jdent.2014.05.006 **PMID:** 24863939
9. Casaroto AR, Lara VS. Phytomedicines for Candida-associated denture stomatitis. Fitoterapia. 2010;81(5):323-8. **DOI:** 10.1016/j.fitote.2009.12.003 **PMID:** 20026192
10. Ghassemi Dehkordi N, Sajjadi S, Ghannadi A, Amanzadeh Y, Azadbakht M, Asghari G. Iranian Herbal Pharmacopoeia (IHP). Hakim R J. 2003;6(3):63-9. [Link]

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]

11. Singh G, Kumar D, Dash AK. Pinus gerardiana Wallichex. D. Don- .A Review. Phytomedicine Plus. 2021;1(1):1-10. **DOI:** 10.1016/j.phyplu.2021.100024
12. Sharma A, Goyal R, Sharma L. Potential biological efficacy of Pinus plant species against oxidative, inflammatory and microbial disorders. BMC Complement Altern Med. 2016;28:16-35. **DOI:** 10.1186/s12906-016-1011-6 **PMID:** 26822870
13. Rehman AU, Naz S, Zaman M, Saeed-ul-Hassan S, Iqbal J, Zaidi AA. A preliminary investigation of in vitro anti-thrombotic and anti-platelet activity of Pinus Gerardiana. Biomed Res Ther. 2017;4(1):1098-1109. **DOI:** 10.15419/bmrat.v4i1.145
14. Alfahdawi I, Alsewidi W, Jaber S. Comparing the Inhibitory effectiveness of Salvia Officinalis extracts and chlorhexidine (chx) mouthwash on some oral bacterial species. Lat Am J Pharm. 2021; 40:210-5. [Link]
15. Eghbal H, Mohammadi A, Mohammad Nejad Khiavi N, Jahani N. Study of antibacterial effect of Salvia officinalis essence and comparison with chlorhexidine on some of bacterial agents of the oral cavity. J Neyshabur Univ Med Sci. 2021; 9(1):94-104. [Link]
16. Pathan MM, Bhat KG, Joshi VM. Comparative evaluation of the efficacy of a herbal mouthwash and chlorhexidine mouthwash on select periodontal pathogens: An in vitro and ex vivo study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2017;21(4):270-5. **DOI:** 10.4103/jisp.jisp_382_16 **PMID:** 29456300
17. Zarghami Moghaddam P, Mohammadi A, Feyzi P, Alesheikh P. In vitro antioxidant and antibacterial activity of various extracts from exocarps and endocarps of walnut. Pak J Pharm Sci. 2017;30(5):1725-31. PMID: 29084695
18. Abrishami MR, Alesheikh P, Gharaei S, Norozi Khalili M, Saadat Khaje M, et al. Synergistic effect of methanolic extracts of Rosmarinus Officinalis and eugenicaryophyllataon biofilm of oral pathogenic bacteria. J North Khorasan Univ Med Sci. 2020;12(3):1-9. **DOI:** 10.52547/nkums.12.3.1
19. Ribeiro LG HL, Maltz M. The effect of different formulations of chlorhexidine in reducing levels of mutans streptococci in the oral cavity: A systematic review of the literature. J Dent. 2007;35(5):359-70. **DOI:** 10.1016/j.jdent.2007.01.007 **PMID:** 17391828

Kulkarni VV, SG D. Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, Chlorohexidine and triclosan mouth rinses in reducing the mutans streptococci count in saliva: An in vivo study. J Indian SocPedoPrev Dent. 2003;21(3):98-104. **PMID:** 14703215

21. Yassaei S, Nasr A, Zandi H, Motallaei MN. Comparison of antibacterial effects of orthodontic composites containing different nanoparticles on Streptococcus mutans at different times. Dental Press J Orthod. 2020;25(2):52-60. **DOI:** 10.1590/2177-6709.25.2.052-060.oar **PMID:** 32490920
22. Shahriari M, Shafiei G. Comparison of the effect of chamomile flower mouthwash with chlorhexidine on stomatitis caused by chemotherapy and radiation therapy. J Birjand Univ Med Sci. 2021;28(2):106-19. **DOI:** 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.2.101
23. Stabholz A, Soskolne WA, Friedman M, Sela MN. The use of sustained release delivery of chlorhexidine for the maintenance of periodontal pockets: 2-year clinical trial. J Periodontol. 1991;62(7):429-33. **DOI:** 10.1902/jop.1991.62.7.429 **PMID:** 1920009
24. Penmetsa GS, Subbareddy B, Mopidevi A, Arunbhupathi P, Baipalli V, et al. Comparing the effect of combination of 1% ornidazole and 0.25% chlorhexidine gluconate (Ornigreat™) gel and Aloe Vera gel in the treatment of chronic periodontitis: A randomized, single-blind, split-mouth study. J Contemp Dent Pract. 2019;10(2):226-31. **DOI:** 10.4103/ccd.ccd_407_18 **PMID:** 32308282
25. Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A, Pitten FA. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. J Clin Periodontol. 2002;29:392-9. **DOI:** 10.1034/j.1600-051x.2002.290503.x **PMID:** 12060421
26. Shapiro S, Giertsen E, Guggenheim B. An in vitro oral biofilm model for comparing the efficacy of antimicrobial mouthrinses. Caries Res. 2002,36(2):93-100. **DOI:** 10.1159/000057866 **PMID:** 12037365
27. Haghighati F JS, Momen Beitollahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten herbal extracts with Chlorhexidine on three different oral pathogens: An in vitro study. Hakim Res J. 2003;3:71-6. [Link]
28. Pretti H, Barbosa GL, Lages EM, Gala-García A, Magalhães CS, Moreira AN. Effect of chlorhexidine varnish on gingival growth in orthodontic patients: a randomized prospective split-mouth study. Dental Press J Orthod. 2015;20(5):66-71. **DOI:** 10.1590/2177-6709.20.5.066-071.oar **PMID:** 26560823

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-11]