DOI: 10.48305/jims.v44.i872.1367

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و چهارم/شماره‌ی ۸۷۲/هفته‌ی چهارم شهریور ۱۴۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۱ تاریخ چاپ: ۱۴۰۵/۰۶/۳۰

مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی اسانس پونه و دهانشویه‌ی کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های *استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا البیکانس* (مطالعه آزمایشگاهی)

مریم رباتی[۱]، عارف اسماعیلی[۲]، منصور امین[۳]، حجت‌اله یوسفی‌منش[۴]، رکسانا امینی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: عفونت‌های دهان و پوسیدگی دندان، یکی از مشکلات مهم بهداشتی در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. با توجه به نقش *Streptococcus mutans* و *Candida albicans* در بروز پوسیدگی‌های دندانی و عفونت‌های قارچی دهان و همچنین عوارض احتمالی کلرهگزیدین، بررسی ترکیبات گیاهی اهمیت یافته است. این مطالعه با هدف مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی اسانس پونه و کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های *استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکانس* انجام شد.

روش‌ها: این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۴۰۴ در آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی اهواز، بر روی میکروارگانیسم‌های تهیه شده از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران شامل *استرپتوکوکوس موتانس* PTCC1683 و *کاندیدا آلبیکانس* PTCC10231 انجام پذیرفت. MIC و MBC اسانس پونه و کلرهگزیدین علیه کاندیدا و *استرپتوکوکوس موتانس* بدست آورده شد. همچنین زمان مرگ این دو میکروارگانیسم در حضور این دو ماده ضد میکروبی بررسی شد.

یافته‌ها: در مورد *S. mutans* MIC کلرهگزیدین ۰/۰۳۵ و اسانس پونه ۱۰۸/۳۳ و مقادیر MBC به‌ترتیب ۰/۰۳ و ۲۲۳/۳۳ به‌دست آمد. هر دو ماده طی پنج ساعت موجب حذف کامل باکتری شدند. در مورد *C. albicans*، MIC کلرهگزیدین ۰/۵۶ و اسانس پونه ۷۲۹۰/۶۶ و مقادیر MBC به‌ترتیب ۲/۲۷ و ۱۴۵۸۳/۳۳ بود. اسانس پونه طی یک ساعت و کلرهگزیدین طی ۲۴ ساعت منجر به حذف کامل قارچ شد.

نتیجه‌گیری: کلرهگزیدین در غلظت‌های پایین‌تر دارای قدرت مهاری و کشندگی بیشتری بود، با این حال اسانس پونه نیز اثر ضد میکروبی قابل توجهی نشان داد و می‌تواند به‌عنوان گزینه مکمل در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: کلرهگزیدین؛ *استرپتوکوکوس موتانس*؛ *کاندیدا البیکانس*؛ بیماری دهان؛ دهانشویه

ارجاع: رباتی مریم، اسماعیلی عارف، امین منصور، یوسفی‌منش حجت‌اله، امینی رکسانا. **مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی اسانس پونه و دهانشویه‌ی کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های *استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا البیکانس* (مطالعه آزمایشگاهی).** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۵؛ ۴۴ (۸۷۲): ۱۳۶۷– ۱۳۷۴.

مقدمه

میکروبیوم دهان، جامعه پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و آرکی‌ها است که در محیط دهان ساکن شده و نقش حیاتی در سلامت و بیماری ایفا می‌کنند (۱). در میان این میکروارگانیسم‌ها، دو عضو برجسته که ارتباط تنگاتنگی با سلامت دهان دارند، باکتری *S. mutans* (*Streptococcus mutans*) و قارچ *C. albicans* (*Candida albicans*) هستند. *S. mutans* به عنوان عامل اصلی در ایجاد پوسیدگی دندان شناخته می‌شود و *C. albicans*، یک قارچ فرصت‌طلب است که در اکثر افراد سالم به صورت غیرپاتوژنیک در دهان حضور دارد، اما در شرایط خاص مانند نقص ایمنی، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، یا تغییرات هورمونی، می‌تواند به پاتوژن تبدیل شده و باعث برفک دهان (Oral candidiasis) شود (۲).

یکی از مکانیسم‌های کلیدی که این میکروارگانیسم‌ها برای بقا و تهاجم خود به کار می‌گیرند، تشکیل بیوفیلم است. بیوفیلم یک ساختار

۱- استادیار، گروه بیماری‌های دهان و تشخیص، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۲ – رزیدنت، گروه پریودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۳ - استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۴- استادیار، گروه پریودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

۵- دانشجوی دندانپزشکی، گروه پریودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: عارف اسماعیلی: رزیدنت، گروه پریودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

Email: arefesmaeili@gmail.com

چند سلولی و سازمان‌یافته از میکروارگانیسم‌ها است که در ماتریس پلی‌ساکاریدی خارج سلولی (Extracellular polymeric substance) EPS احاطه شده است. این ماتریس، که عمدتاً از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و DNA تشکیل شده است، باعث چسبندگی سلول‌ها به سطوح، محافظت از میکروارگانیسم‌ها در برابر عوامل محیطی (مانند آنتی‌میکروبیال‌ها و سیستم ایمنی میزبان) و تسهیل ارتباط بین سلولی (Quorum sensing) می‌شود.

مطالعات نشان داده‌اند که هم‌زیستی *S. mutans* و *C. albicans* در بیوفیلم می‌تواند منجر به افزایش چسبندگی، رشد سریع‌تر، تولید بیشتر اسید و مقاومت بیشتر در برابر عوامل ضد میکروبی نسبت به هر یک از گونه‌ها به تنهایی شود. این بیوفیلم‌های مختلط، اغلب بر روی سطوح دندانی (پلاک دندانی) و پروتزهای دندانی تجمع یافته و عوامل اصلی بسیاری از بیماری‌های دهانی هستند (۳، ۴).

برای مقابله با بیوفیلم‌های میکروبی و عفونت‌های مرتبط با آن‌ها، طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در حال حاضر، کلرهگزیدین (Chlorhexidine) CHX، یک عامل ضد میکروبی قوی با طیف اثر وسیع، به طور گسترده‌ای در محصولات بهداشت دهان، به ویژه دهانشویه‌ها، برای کنترل پلاک دندانی و التهاب لثه تجویز می‌شود. کلرهگزیدین با ایجاد اختلال در غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها و اتصال به گروه‌های منفی باردار بر روی سطح سلول، باعث مرگ سلولی می‌شود. اثربخشی بالای کلرهگزیدین در کاهش بار میکروبی و مهار تشکیل بیوفیلم به خوبی مستند شده است (۵). با این حال، استفاده طولانی مدت از کلرهگزیدین با محدودیت‌هایی نیز همراه است. این محدودیت‌ها شامل عوارض جانبی مانند تغییر رنگ دندان‌ها و سطوح ترمیمی، اختلال در حس چشایی، و تحریک مخاط دهان است. علاوه بر این، نگرانی فزاینده‌ای در مورد ایجاد مقاومت میکروبی به کلرهگزیدین وجود دارد. در حالی که مقاومت ژنتیکی کلاسیک به کلرهگزیدین کمتر رایج است، مکانیسم‌های مقاومت غیرژنتیکی، مانند تشکیل بیوفیلم که محافظت فیزیکی ایجاد می‌کند، یا تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت، می‌توانند اثربخشی آن را کاهش دهند (۶، ۷).

با توجه به محدودیت‌های کلرهگزیدین، نیاز به توسعه و استفاده از جایگزین‌های ایمن‌تر و مؤثرتر، به ویژه از منابع طبیعی، احساس می‌شود. گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال متنوع، پتانسیل قابل توجهی در جهت کشف داروهای جدید دارند. در میان گیاهان دارویی که در طب سنتی برای مشکلات دهانی استفاده می‌شوند، پونه (Mentha longifolia)، عضوی از خانواده نعناع (Lamiaceae)، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. بخش‌های مختلف این گیاه، به ویژه برگ‌ها و سر شاخه‌های آن، حاوی ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی متعددی هستند که خواص ضد میکروبی و ضد قارچی از خود نشان داده‌اند (۸).

از این‌رو پژوهش حاضر با هدف مقایسه اثر ضدمیکروبی اسانس پونه و کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم‌های *استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلبیکانس* انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش تجربی آزمایشگاهی از نوع مقایسه‌ای (In vitro Experimental Study) است که در سال ۱۴۰۴ در آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشکده پزشکی اهواز انجام شد. جامعه مطالعه شامل سویه‌های استاندارد *Streptococcus mutans* (PTCC 1683) و *Candida albicans* (PTCC 10231) بود که از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ های صنعتی و عفونی ایران تهیه شدند. تنها سویه‌هایی با شناسایی و خلوص میکروبیولوژیک تأیید شده و قابلیت رشد مناسب در شرایط آزمایشگاهی وارد مطالعه شدند. برای افزایش دقت و تکرارپذیری نتایج، کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار و در سه نوبت مستقل انجام گرفت، تا قابلیت اطمینان و تکرارپذیری نتایج تضمین شود.

. اسانس گیاه پونه (Mentha longifolia) پس از جمع‌آوری، شناسایی و تأیید گیاه شناسی، با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استخراج شد و تا زمان استفاده در شرایط مناسب نگهداری گردید. دهانشویه‌ی کلرهگزیدین ۲/۰ در صد به‌عنوان عامل مقایسه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی اثرات ضدمیکروبی اسانس پونه و کلرهگزیدین شامل تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC/MFC) علیه *S. mutans* و *C. albicans* بود که با استفاده از روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع مولر هینتون انجام شد. غلظت‌های مختلف از هر دو ماده ضد میکروبی تهیه و پس از تلقیح میکروارگانیسم‌ها با غلظت استاندارد معادل ۰/۵ مک‌فارلند، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. تعیین MIC بر اساس عدم کدورت قابل مشاهده و MBC/MFC با کشت مجدد نمونه‌ها روی محیط جامد و بررسی رشد کلنی انجام گرفت.

علاوه بر این، زمان مرگ *S. mutans* و *C. albicans* در غلظت‌های کشنده اسانس پونه و کلرهگزیدین بررسی شد. بدین منظور، نمونه‌ها در زمان‌های مشخص پس از تماس با مواد ضد میکروبی برداشت و میزان بقای میکروارگانیسم‌ها ارزیابی گردید. کلیه مراحل آزمایش تحت شرایط کنترل‌شده از نظر دما، pH محیط کشت و زمان انکوباسیون انجام شد. در نهایت، داده‌های حاصل از آزمایش‌ها جمع‌آوری و جهت مقایسه‌ی اثرات اسانس پونه و دهانشویه‌ی کلرهگزیدین بر دو میکروارگانیسم مورد مطالعه، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد. ابتدا متغیرهای مورد برر سی از نظر نرمال بودن با ا ستفاده از آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفتند. از آزمون نا پارامتری Mann-Whitney جهت تحلیل استفاده شد و $P < ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱، میزان MIC کلرهگز یدین و اسانس پو نه بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* آمده است. با سه بار تکرار آزمایش، میانگین میزان غلظت MIC کلرهگزیدین برای توقف رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس ۰/۰۳۵ (µg/ml) و میانگین میزان غلظت MIC اسانس پونه ۱۰۸/۳۳ (µg/ml) بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰/۰۴۹).

جدول ۱. مقایسه‌ی میزان MIC کلرهگزیدین و اسانس پونه بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

دفعات تکرار	اول	دوم	سوم	انحراف معیار ± میانگین
میزان MIC کلرهگزیدین (µg/ml)	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۱۵	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۲۲
میزان MIC پونه (µg/ml)	۹۰	۱۹۰	۴۵	۱۰۸/۳۳ ± ۷۴/۲۱

در جدول ۲ میزان MIC کلرهگزیدین و اسانس پونه بر قارچ *کاندیدا آلبیکانس* آمده است. با سه بار تکرار آزمایش، میانگین میزان غلظت MIC کلرهگزیدین برای توقف ر شد قارچ *کاندیدا آلبیکانس* ۰/۵۶ (µg/ml) و میانگین میزان غلظت MIC ا سانس پونه ۷۲۹۰/۶۶ (µg/ml) بود. که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰/۰۴۹).

جدول ۲: مقایسه‌ی میزان MIC کلرهگزیدین و اسانس پونه بر قارچ *کاندیدا البیکانس*

دفعات تکرار	اول	دوم	سوم	انحراف معیار± میانگین
میزان MIC کلرهگزیدین (µg/ml)	۰/۴۸	۰/۹۷	۰/۲۴	۰/۵۶ ± ۰/۳۷
میزان MIC پونه (µg/ml)	۶۲۵۰	۱۲۵۰۰	۳۱۲۰	۷۲۹۰/۶۶ ± ۴۷۷۵/۶

در جدول ۳، میزان MIC کلرهگز یدین و اسانس پو نه بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* آمده است. با سه بار تکرار آزمایش، میانگین میزان غلظت MIC کلرهگزیدین برای توقف رشد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* ۰/۰۳ (µg/ml) و میانگین میزان غلظت MIC ا سانس پونه ۲۲۳/۳۳ (µg/ml) بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰/۰۴۹).

جدول ۳. مقایسه‌ی میزان MBC کلرهگزیدین و اسانس پونه بر باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

دفعات تکرار	اول	دوم	سوم	انحراف معیار ± میانگین
میزان MBC کلرهگزیدین (µg/ml)	۰/۰۶	۰/۰۱۵	۰/۰۳	۰/۰۳ ± ۰/۰۲۲
میزان MBC پونه (µg/ml)	۱۹۰	۳۹۰	۹۰	۲۲۳/۳۳ ± ۱۵۲/۷۵

در جدول ۴، میزان MBC کلرهگز یدین و اسانس پو نه بر قارچ *کاندیدا آلبیکانس* آمده است. با سه بار تکرار آزمایش، میانگین میزان غلظت MBC کلرهگز یدین برای مرگ قارچ *کاندیدا آلبیکانس* ۲/۲۷ (µg/ml) و م یانگین میزان غلظت MBC اسانس پو نه ۲۰۸۳/۳۳ (µg/ml) بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار بود (P = ۰/۰۴۹).

جدول ۴. تعیین میزان MBC کلرهگزیدین و اسانس پونه بر قارچ *کاندیدا البیکانس*

دفعات تکرار	اول	دوم	سوم	انحراف معیار ± میانگین
میزان MBC کلرهگزیدین (µg/ml)	۱/۹۵	۰/۹۷	۳/۹	۲/۲۷ ± ۱/۴۹
میزان MBC پونه (µg/ml)	۲۵۰۰۰	۱۲۵۰۰	۶۲۵۰	۱۴۵۸۳/۳۳ ± ۹۵۴۷/۰۳

در جدول ۵، اثر دهانشویه کلرهگزیدین و اسانس پونه بر مرگ باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در ۵ زمان، مورد بررسی قرار گرفته است. میزان باکتری استرپتوکوکوس موتانس قبل از افزودن دهانشویه کلرهگزیدین ۵۰۰ و پنج ساعت بعد به صفر رسید. میزان باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* قبل از افزودن اسانس پونه ۴۰۰ و پنج ساعت بعد به صفر ر سیده ا ست. روند تغییر تعداد باکتری / *سترپتوکوکوس موتانس* در زمان‌های مختلف پس از تماس با کلرهگزیدین و اسانس پونه در شکل ۱ نشان داده شده است.

در جدول ۶، اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه بر میزان قارچ *کاندیدا آلبیکانس* در ۵ زمان، مورد بررسی قرار گرفته است. روند تغییر تعداد قارچ *کاندیدا آلبیکانس* در زمان‌های مختلف پس از

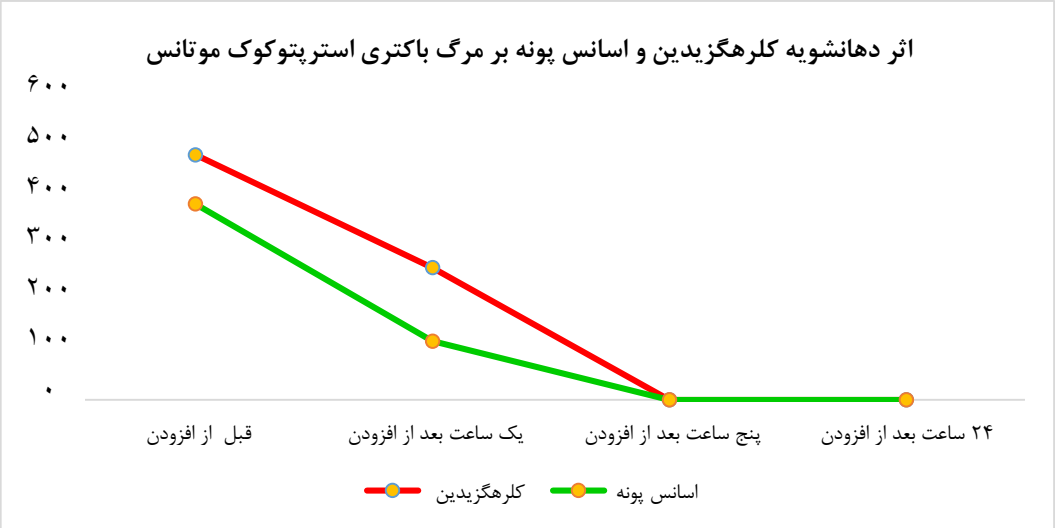
جدول ۵. اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه بر مرگ باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در زمان های مورد بررسی

زمان	کلرهگزیدین (CFU/mL)	اسانس پونه (CFU/mL)
قبل از افزودن	۵۰۰	۴۰۰
یک ساعت بعد از افزودن	۲۷۰	۱۲۰
پنج ساعت بعد از افزودن	۰	۰
۲۴ ساعت بعد از افزودن	۰	۰

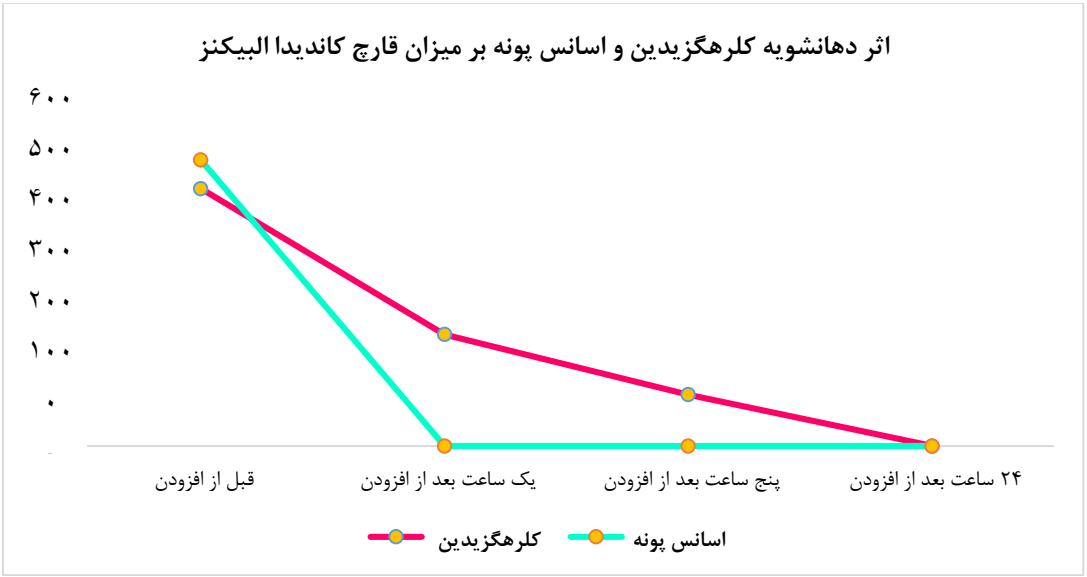
تماس با کلرهگزیدین و اسانس پونه در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان قارچ *کاندیدا آلبیکانس* قبل از افزودن دهانشویه‌ی کلرهگزیدین ۴۵۰ و ۲۴ ساعت بعد از افزودن دهانشویه به صفر رسیده است. میزان قارچ *کاندیدا آلبیکانس* قبل از افزودن اسانس پونه ۵۰۰ و یک ساعت بعد از افزودن به صفر رسیده است.

جدول ۶. اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه برمیزان قارچ *کاندیدا البیکانس* در زمان‌های مورد بررسی

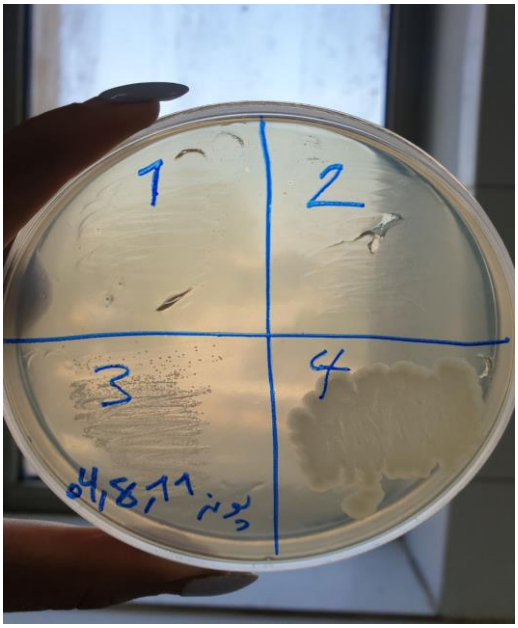
زمان	کلرهگزیدین (CFU/mL)	اسانس پونه (CFU/mL)
قبل از افزودن	۴۵۰	۵۰۰
یک ساعت بعد از افزودن	۱۹۵	۰
پنج ساعت بعد از افزودن	۹۰	۰
۲۴ ساعت بعد از افزودن	۰	۰



شکل ۱. اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه بر مرگ باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در زمان‌های مورد بررسی



شکل **۲. اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه بر میزان قارچ *کاندیدا آلبیکانس* در زمان‌های مورد بررسی**



شکل ۳. اثر اسانس پونه بر روی میکروارگانیسم *کاندیدا آلبیکانس*

شکل ۴. اثر دهانشویه‌ی کلرهگزیدین بر روی میکروارگانیسم *استرپتوکوکوس موتانس*

بحث

نتایج حاصل از بررسی *استرپتوکوکوس موتانس* نشان داد که میانگین MIC کلرهگزیدین برابر با ۰/۰۳۵ بوده، در حالی که این مقدار برای اسانس پونه ۱۰۸/۳۳ گزارش شد. این اختلاف بیانگر آن است که کلرهگزیدین در غلظت‌های بسیار پایین‌تری نسبت به اسانس پونه قادر به مهار رشد این باکتری می‌باشد. از نظر اثر کشندگی نیز میانگین MBC کلرهگزیدین ۰/۰۳ و برای اسانس پونه ۲۲۳/۳۳ به‌دست آمد که نشان‌دهنده برتری قابل توجه کلرهگزیدین در دستیابی به اثر باکتری‌کشی در غلظت‌های کمتر است. بنابراین، فاصله میان MIC و MBC در هر دو ماده نشان می‌دهد که کلرهگزیدین علاوه بر خاصیت مهارکنندگی قوی، دارای اثر کشندگی مؤثرتری نیز می‌باشد.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر با نتایج Shazdehahmadi و همکاران به طور قابل توجهی همسو بود. در مطالعه‌ی آنها، اثرات ضدباکتریایی اسانس گیاه Mentha longifolia بر باکتری‌های پوسیدگی‌زای دهان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که این اسانس دارای توان مهارکنندگی و کشندگی قابل توجهی علیه *استرپتوکوکوس موتانس* است. تعیین مقادیر MIC و MBC در آن مطالعه بیانگر اثر وابسته به غلظت اسانس بر رشد و بقای باکتری‌ها بود که این موضوع با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت (۱۰)؛ به‌طوری‌که در پژوهش حاضر نیز اسانس پونه توانست رشد *استرپتوکوکوس موتانس* را مهار کرده و در غلظت‌های بالاتر منجر به مرگ باکتری شود. همچنین در هر دو مطالعه مشاهده شد که اثر ضد میکروبی اسانس Mentha longifolia در مقایسه با کلرهگزیدین ضعیف‌تر است.

در مطالعه‌ی رضایی و همکاران، اسانس نعناع فلفلی توانست اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی علیه چندین پاتوژن مهم دهانی و پریودنتال نشان دهد و مهار رشد و کاهش تشکیل بیوفیلم در گونه‌های مورد بررسی به صورت وابسته به غلظت گزارش شد. این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر که نشان‌دهنده‌ی توانایی اسانس پونه در مهار رشد باکتری‌های دهانی از جمله *استرپتوکوکوس موتانس* است، همخوانی داشت و بر پتانسیل ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی خانواده نعناع تأکید کرد (۱۱).

در بررسی الگوی زمانی کاهش تعداد کلنی‌های *استرپتوکوکوس موتانس* مشخص شد که هر دو ماده توانستند طی پنج ساعت منجر به حذف کامل کلنی‌ها شوند. با این حال، روند کاهش در ساعات ابتدایی در گروه اسانس پونه با شیب تندتری همراه بود که می‌تواند نشان‌دهنده اثر اولیه سریع‌تر این ترکیب باشد، هرچند در نهایت برای رسیدن به مهار و کشندگی کامل نیاز به غلظت‌های بالاتری داشته است.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر از نظر برتری اثر ضد باکتریایی کلرهگزیدین نسبت به اثر ضد قارچی آن با یافته‌های Jain و همکاران همسو بود (۱۲). در مطالعه‌ی Jain و همکاران، میانگین قطر هاله مهار رشد برای *S. mutans* بزرگ‌تر از *C. albicans* گزارش شد که نشان‌دهنده‌ی حساسیت بالاتر باکتری نسبت به قارچ در برابر کلرهگزیدین است. این الگو در پژوهش حاضر نیز به وضوح دیده می‌شود. مقادیر MIC و MBC کلرهگزیدین برای *S. mutans* پایین‌تر از مقادیر مربوط به *C. albicans* بود. این اختلاف در غلظت‌های مؤثر، تأییدکننده‌ی نتایج مطالعه آنها بود.

نتایج مطالعه‌ی حاضر از نظر برتری اثر ضد میکروبی

کلرهگزیدین نسبت به یک عامل گیاهی در برخی شرایط آزمایشگاهی با بخشی از یافته‌های Pathan و همکاران (۱۳) همسو بود. در مطالعه‌ی آنها، اگرچه در روش تعیین MIC تفاوت معنی‌داری بین کلرهگزیدین و دهانشویه گیاهی گزارش نشد، اما در روش انتشار در آگار، کلرهگزیدین علیه باکتری‌های خاصی مانند *استرپتوکوکوس موتانس* اثر مهاری قوی‌تری نشان داد. این یافته با نتایج پژوهش حاضر که نشان داد مقادیر MIC و MBC کلرهگزیدین برای *S. mutans* به طور قابل توجهی پایین‌تر از اسانس پونه است، مطابقت داشت. با این حال، تفاوتی که در قسمتی از نتایج دو مطالعه وجود دارد می‌تواند ناشی از تفاوت در ماده گیاهی مورد مطالعه باشد.

در بخش ex vivo مطالعه‌ی Pathan و همکاران، که شرایط پیچیده‌تری شبیه محیط دهان را با استفاده از پلاک واقعی انسان شبیه سازی می‌کرد، تفاوت قابل توجهی بین اثربخشی کلرهگزیدین و دهانشویه گیاهی مشاهده نشد. این نتیجه با یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر که صرفاً در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی (in vitro) انجام شده، قابل مقایسه مستقیم نیست. بنابراین، در حالی که مطالعه‌ی حاضر (و بخش in vitro مطالعه‌ی Pathan و همکاران) برتری کلرهگزیدین را در مهار *S. mutans* در شرایط ایزوله نشان می‌دهند، بخش ex vivo مطالعه‌ی Pathan و همکاران این احتمال را مطرح می‌سازد که در شرایط واقعی‌تر، شکاف اثربخشی بین مواد گیاهی و شیمیایی ممکن است کمتر باشد یا حتی از بین برود.

در مورد *Candida albicans* نیز نتایج تفاوت قابل توجهی میان دو ماده نشان داد. میانگین MIC کلرهگزیدین برابر با ۰/۵۶ و برای اسانس پونه ۷۲۹۰/۶۶ بدست آمد که حاکی از نیاز به غلظت بسیار بالاتر اسانس پونه جهت مهار رشد قارچ است. همچنین مقدار MBC کلرهگزیدین ۲/۲۷ و برای اسانس پونه ۱۴۵۸۳/۳۳ گزارش شد که این اختلاف بیانگر آن است که کلرهگزیدین در مقایسه با اسانس پونه دارای قدرت کشندگی ضدقارچی به‌مراتب بالاتری در غلظت‌های پایین‌تر می‌باشد.

بررسی زمان مرگ قارچ نشان داد که اسانس پونه توانست طی یک ساعت تعداد کلنی‌های *Candida albicans* را به صفر برساند، در حالی که در گروه کلرهگزیدین روند کاهش تدریجی‌تر بوده و حذف کامل کلنی‌ها طی ۲۴ ساعت حاصل شد. این یافته نشان می‌دهد که اگرچه کلرهگزیدین در غلظت‌های پایین‌تر مؤثر است، اما ممکن است در برخی شرایط، برخی ترکیبات گیاهی بتوانند کاهش سریع‌تری در بار میکروبی ایجاد نمایند.

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که هر دو ماده‌ی مورد بررسی دارای اثرات ضد میکروبی معنی‌دار علیه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه هستند. با این حال، کلرهگزیدین در هر دو شاخص مهارکنندگی و کشندگی، در غلظت‌های بسیار پایین‌تری نسبت به اسانس پونه مؤثر بوده است. در مقابل، اسانس پونه اگرچه برای دستیابی به اثر مشابه نیازمند غلظت‌های بالاتر است، اما در برخی بازه‌های زمانی کاهش سریع‌تری در تعداد کلنی‌ها نشان داده که می‌تواند از منظر کاربردهای کوتاه‌مدت یا ترکیبی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های حاصل از این پژوهش، هر دو ماده مورد بررسی، یعنی دهانشویه‌ی کلرهگزیدین و اسانس پونه، دارای اثرات ضد میکروبی معنی‌دار علیه *Streptococcus mutans* و *Candida albicans* بودند. با این حال، شدت و الگوی اثرگذاری این دو ماده از نظر غلظت مورد نیاز برای مهار و کشندگی و نیز سرعت عملکرد، تفاوت‌های قابل توجهی نشان داد.

در مورد *Streptococcus mutans*، مقادیر MIC و MBC کلرهگزیدین به‌طور قابل توجهی پایین‌تر از اسانس پونه بود که بیانگر قدرت مهاری و کشندگی بالاتر کلرهگزیدین در غلظت‌های بسیار کمتر می‌باشد. این یافته نشان می‌دهد که کلرهگزیدین همچنان به‌عنوان استاندارد طلایی در کنترل باکتری‌های مولد پوسیدگی دندانی مطرح است. با این حال، اسانس پونه نیز توانست در غلظت‌های مشخص اثر مهاری و کشندگی قابل قبولی نشان دهد و در بررسی روند زمانی کاهش کلنی‌ها، کاهش سریع‌تری در ساعات اولیه تماس ایجاد نماید. این موضوع می‌تواند بیانگر وجود ترکیبات فعال با اثر سریع اولیه در اسانس پونه باشد (شکل ۴).

در ارتباط با *Candida albicans* نیز نتایج حاکی از آن بود که کلرهگزیدین در مقایسه با اسانس پونه، در غلظت‌های به‌مراتب پایین‌تری قادر به مهار و از بین بردن قارچ می‌باشد. اختلاف قابل توجه بین مقادیر MIC و MBC دو ماده نشان داد که برای دستیابی به اثر ضدقارچی مشابه، استفاده از اسانس پونه مستلزم غلظت‌های بسیار بالاتری است. با این حال، در بررسی زمان مرگ، اسانس پونه توانست حذف کامل کلنی‌های قارچ را در مدت زمان کوتاه‌تری نسبت به کلرهگزیدین ایجاد نماید که این یافته می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تفاوت در مکانیسم اثر یا نوع تأثیر بر غشای سلولی قارچ باشد (شکل ۳).

باتوجه به اینکه اسانس‌های گیاهی مواد طبیعی هستند و از ترکیبات مختلفی تشکیل شده‌اند و کاملاً یک ماده خالص نیستند لذا انتظار می‌رود تأثیر آنها خیلی پایین‌تر از مواد شیمیایی مانند کلرهگزیدین باشد پس اگرچه کلرهگزیدین از نظر قدرت مهاری و کشندگی در غلظت‌های پایین‌تر برتری دارد، اما اسانس پونه نیز دارای پتانسیل ضد میکروبی قابل توجهی است و می‌تواند به‌عنوان یک گزینه مکمل یا جایگزین در شرایط خاص مورد توجه قرار گیرد؛

به‌ویژه در بیمارانی که استفاده طولانی‌مدت از کلرهگزیدین برای آنان با عوارض جانبی همراه است.

از محدودیت‌های پژوهش، انجام پژوهش به‌صورت آزمایشگاهی (in vitro) که ممکن است نتایج آن به‌طور کامل قابل تعمیم به شرایط پیچیده محیط دهان در انسان نباشد. استفاده از سویه‌های محدود میکروبی که می‌تواند دامنه تعمیم نتایج به سایر گونه‌ها یا سویه‌های مقاوم را کاهش دهد، عدم بررسی اثر اسانس پونه و کلرهگزیدین بر بیوفیلم های میکروبی که نقش مهمی در پاتوژنز بیماری های دهان دارند، عدم ارزیابی سمیت سلولی و اثرات جانبی احتمالی اسانس پونه بر سلول‌های مخاط دهان، محدود بودن بررسی‌ها به شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی و عدم بررسی تأثیر بزاق، pH دهان و عوامل میزبان بر اثربخشی مواد مورد مطالعه، عدم بررسی پایداری، طعم‌پذیری و پذیرش مصرف‌کننده برای اسانس پونه در فرمولاسیون‌های دهانی و امکان تفاوت در ترکیب شیمیایی اسانس پونه به دلیل شرایط رشد گیاه، زمان برداشت و روش استخراج بوده که می‌تواند بر نتایج تأثیرگذار باشد.

پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده از اسانس پونه (*Mentha longifolia*) به‌عنوان یک عامل مکمل طبیعی در کنار دهانشویه کلرهگزیدین به‌منظور کاهش عوارض مصرف طولانی‌مدت کلرهگزیدین استفاده شود. همچنین انجام مطالعات in vivo و بالینی جهت ارزیابی اثربخشی و ایمنی اسانس پونه در شرایط واقعی دهان پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترا در رشته‌ی دندانپزشکی با کد U-04082 می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز به تصویب رسیده و با حمایت مالی دانشگاه مذکور به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات این دانشگاه تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. von Ohle C, Gieseke A, Nistico L, Decker EM, DeBeer D, Stoodley P. Real-time microsensor measurement of local metabolic activities in ex vivo dental biofilms exposed to sucrose and treated with chlorhexidine. Appl Environ Microbiol 2010; 76(7): 2326-34.
2. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. BMC Oral Health 2006; 6 Suppl 1(Suppl 1): S14.
3. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol 2010; 8(9): 623-33.
4. Kim HE, Liu Y, Dhall A, Bawazir M, Koo H, Hwang G. Synergism of Streptococcus mutans and Candida albicans Reinforces Biofilm Maturation and Acidogenicity in Saliva: An in vitro study. Front Cell Infect Microbiol 2020; 10: 623980.
5. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? Periodontol 2000 1997; 15: 55-62.
6. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. Int Dent J 2022; 72(3): 269-77.
7. Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. J Endod 2011; 37(5): 657-61.
8. Alexa E, Danciu C, Radulov I, Obistioiu D, Sumalan RM, Morar A, et al. Phytochemical Screening and Biological Activity of Mentha × piperita L. and Lavandula angustifolia Mill. Extracts. Anal Cell Pathol (Amst) 2018; 2018: 2678924.
9. Abdel-Hameed E-SS, Salman MS, Fadl MA, Elkhateeb A, Hassan MM. Chemical composition and biological activity of Mentha longifolia L. essential oil growing in Taif, KSA extracted by hydrodistillation, solvent free microwave and microwave hydrodistillation. Journal of Essential Oil Bearing Plants 2018; 21(1): 1-14.
10. Shazdehahmadi F, Pournajaf A, Kazemi S, Ghasempour M. Determining the antibacterial effect of Mentha Longifolia essential oil on cariogenic bacteria and its compounds: an in vitro study. J Dent (Shiraz) 2023; 24(1 Suppl): 146-54.
11. Rezaie E, Bayani M, Arjomandzadeganmmad M. The inhibitory and antibacterial effects of peppermint essential oil on periodontal photogenes [in Persian]. J Arak Univ Med Sci 2020; 23(2): 172-83.
12. Jain N, Varma BR, Kumar SJ, Kumaran P, Xavier AM. Antimicrobial activity of chlorhexidine on Candida albicans and Streptococcus mutans isolated in children with early childhood caries–An in vitro study. J Appl Pharm Sci 2023; 13(2): 113-6.
13. 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 Periodontol 2017; 21(4): 270-5.

DOI: *10.48305/jims.v44.i872.1367*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 44, No. 872, 4th Week, September 2026**

Received: 28.07.2026 Accepted: 02.09.2026 Published: 21.09.2026

Comparison of the Antimicrobial Effects of Mentha longifolia Essential Oil and Chlorhexidine Mouthwash against *Streptococcus Mutans* and *Candida Albicans*: An in Vitro Study

Maryam Robati[1], Aref Esmaeili[2], Mansour Amin[3], Hojatollah Yousefimanesh[4], Roksana Amini[5]

Original Article

Abstract

Background: Oral infections and dental caries are significant health concerns, especially in developing countries. *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* play key roles in dental caries and oral fungal infections, while chlorhexidine may have side effects. Plant-derived compounds such as Mentha longifolia essential oil are therefore being explored as alternative or adjunctive therapies. This study compared the antimicrobial effects of Mentha longifolia essential oil and chlorhexidine.

Methods: In 2025, an in vitro study was conducted at the Bacteriology Laboratory of Ahvaz University of Medical Sciences on *S. mutans* PTCC1683 and *C. albicans* PTCC10231 obtained from Iranian bacterial and fungal collections. Minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC), and microbial killing times were determined for both agents.

Findings: For *S. mutans*, MIC values were 0.035 µg/mL for chlorhexidine and 108.33 µg/mL for Mentha longifolia oil, with MBCs of 0.03 and 223.33 µg/mL, respectively. Both agents completely eradicated bacteria within 5 hours. For *C. albicans*, MICs were 0.56 µg/mL (chlorhexidine) and 7290.66 µg/mL (Mentha longifolia oil), with MFCs of 2.27 and 14583.33 µg/mL, respectively; Mentha longifolia oil eliminated the fungus within 1 hour, while chlorhexidine required 24 hours.

Conclusion: Chlorhexidine exhibited stronger inhibitory and bactericidal/fungicidal effects at lower concentrations. Nonetheless, Mentha longifolia essential oil demonstrated significant antimicrobial activity and may serve as a complementary option in future studies.

Keywords: Mentha longifolia; Chlorhexidine; *Streptococcus mutans*; *Candida albicans;* Antimicrobial activity; Mouthwash

Citation: Robati M, Esmaeili A, Amin M, Yousefimanesh H, Amini R. **Comparison of the Antimicrobial Effects of Mentha longifolia Essential Oil and Chlorhexidine Mouthwash against *Streptococcus Mutans* and *Candida Albicans*: An in Vitro Study.** J Isfahan Med Sch 2026; 44(872): 1367- 74.

1- Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2- Postgraduate Student, Department of Periodontics, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3- Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4- Assistant Professor, Department of Periodontics, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
5- Undergraduate Student, Department of Periodontics, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Aref Esmaeili, Postgraduate Student, Department of Periodontics, School of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran; Email: arefesmaeili@gmail.com