

# بررسی اثر دهان شویه آنتی سپتیک ایرشا بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان

دکتر آرش عزیزی\*، دکتر بهرام فتح اله زاده<sup>۱</sup>، دکتر پرویز مالک نژاد<sup>۲</sup>،

دکتر انوشیروان شمس پور<sup>۳</sup>

## چکیده

**مقدمه:** دو بیماری عمده دهان، پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه می‌باشند که در اثر تجمع میکروارگانیسم‌ها و تشکیل پلاک میکروبی ایجاد می‌شوند. دهان‌شویه‌ها در کاهش پلاک دندان و ژنزیویت نقش مهمی دارند. از آن جا که دهان‌شویه ایرشا به صورت متداول و معمول مورد استفاده قرار می‌گیرد، هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلورهای طبیعی دهان بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، ۲۸ داوطلب با معیارهای ورودی به مدت ۲ هفته، دوبار در روز، هر بار ۱۵ سی‌سی و به مدت ۳۰ ثانیه از دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا در دهان استفاده کردند. قبل و بعد از مصرف دهان‌شویه از داوطلبان خواسته شد دهان خود را با سرم فیزیولوژی شستشو داده، پس از شستشو محتویات آن را خارج نمایند؛ سپس ۱ سی‌سی بزاق بیماران بدون هیچ تحریکی در یک لوله استریل جمع‌آوری و بلافاصله جهت آزمایشات به آزمایشگاه میکروب شناسی ارسال شد. این عمل بعد از ۲ هفته استفاده از دهان‌شویه نیز تکرار شد و تعداد کلنی‌های استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان قبل و بعد از استفاده از دهان‌شویه شمارش و ثبت گردید. تغییرات بوی دهان و رنگ دندان‌ها نیز بعد از مصرف دهان‌شویه ثبت شد. داده‌های تحقیق با استفاده از آزمون‌های t و  $\chi^2$  آنالیز شد.

**یافته‌ها:** دهان‌شویه ایرشا تعداد کلنی‌های استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان را بعد از مصرف به طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین باعث از بین رفتن سه میکروفلور طبیعی دهان شد ولی بر سایر میکروفلورهای طبیعی دهان اثری نداشت. تغییر رنگ دندان‌ها و تغییر بوی دهان بعد از مصرف این دهان‌شویه در افراد مورد مطالعه دیده نشد.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا، استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان را از بین می‌برد و می‌تواند به عنوان وسیله کمکی در کنار روش‌های مکانیکی کنترل پلاک دندان استفاده شود.

**کلید واژه‌ها:** ایرشا، استرپتوکوک، میکروفلور، بوی دهان، رنگ دندان

\* متخصص بیماری‌های دهان و دانشیار دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز (مؤلف مسؤول)  
drarashazizi@yahoo.com

۱: متخصص میکروب شناسی و دانشیار دانشگاه تهران

۲: متخصص میکروب شناسی و دانشیار دانشگاه تهران

۳: دندانپزشک

این مقاله در تاریخ ۸۷/۱۰/۱ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۷/۱۱/۲۹ اصلاح شده و در تاریخ ۸۷/۱۲/۱۲ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان  
۱۳۸۸؛ (۱)۵: ۲۴ تا ۲۹

اثر دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان

دکتر آرش عزیززی و همکاران

## مقدمه

دو بیماری عمده محیط دهان، پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه می‌باشند که در اثر تجمع میکروارگانیسم‌ها و تشکیل پلاک میکروبی ایجاد می‌شوند. بنابراین اقدام لازم در جهت کاهش یا عدم تجمع پلاک میکروبی می‌تواند به کنترل این دو عارضه کمک نماید. دهان‌شویه‌ها، به عنوان ابزار کمکی و در کنار کنترل مکانیکی پلاک یعنی مسواک زدن و نخ دندان، در کنترل پلاک فوق‌لثه‌ای و ژئوبیوت نقش مهمی دارند [۱]. دهان‌شویه مطلوب علاوه بر طیف ضد میکروبی بایستی دارای مقاومت دارویی کمی نیز باشد و در عین حال کمتر موجب از بین رفتن میکروفلور طبیعی دهان گردد [۲]. ۵۶٪ باکتری‌های یافت شده در ژئوبیوت ناشی از پلاک دندان، باکتری‌های گرم مثبت هستند که در این دسته استرپتوکوک‌های موتانس، سانجیوس، میتیس، اورالیس و اینترمدیوس جزء مهمترین و شایع‌ترین میکروارگانیسم‌های پاتوژن گرم مثبت محسوب می‌شوند. میکروارگانیسم‌های فلور طبیعی دهان نیز بیشتر شامل استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، آنتروکوک، استافیلوکوک کواگولاز منفی، کاندیدا، نیسریا کاتالاریس، پیتواستریپتوکوک، اسپیروکت، فوزوباکتریوم و دیفتری مورفوس می‌باشند [۳].

Depaolo و همکاران [۴] به ارزیابی تأثیر دهان‌شویه ضد میکروبی لیسترین بر تعداد باکتری‌های دهان پرداختند. ۲۵ داوطلب انتخاب شدند. به داوطلبان به صورت تصادفی دهان‌شویه لیسترین در حجم ۲۰ میلی‌لیتر به مدت ۳۰ ثانیه تجویز و سپس در فاصله‌های زمانی متفاوت از بزاق بیمار کشت میکروبی انجام شد. نتایج این تحقیق کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های هوازی و بی‌هوازی را در اثر مصرف دهان‌شویه نشان داد.

Brecx و همکاران [۵] خاصیت ضد پلاک و ضد میکروبی دو دهان‌شویه سیتین و فلوراید را در مقایسه با گروه پلاسبو مورد بررسی قرار دادند. ۴۹ داوطلب به مدت ۴ هفته علاوه بر استفاده از مسواک و خمیردندان یکی از دهان‌شویه‌های مورد نظر را استفاده نمودند. بعد از سه هفته شاخص پلاک در هر دو گروه نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد.

Reip و همکاران [۶] نیز به بررسی اثر ضد پلاک دهان‌شویه لیسترین در مقایسه با پلاسبو پرداختند. ۲۳ بیمار جهت این امر

انتخاب شدند. در روز اول ابتدا پروفیلاکسی برای تمامی افراد انجام گرفت و سپس از آنان خواسته شد که به مدت ۴ روز فقط از این دهان‌شویه استفاده کنند. بررسی اثر ضد پلاک دهان‌شویه نشان داد که شاخص پلاک در بیماران مصرف‌کننده لیسترین به صورت معنی‌داری نسبت به قبل از درمان با دهان‌شویه کاهش یافته بود.

شیرزاد و همکاران [۷] در تحقیقی بر روی ۳۰ نفر از بیماران ۱۸ تا ۲۸ ساله به بررسی اثرات درمانی دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا روی شاخص‌های پلاک و لثه‌ای پرداختند. بدین صورت که ابتدا برای تمامی بیماران پروفیلاکسی انجام و از آنان خواسته شد تا ۳ هفته بهداشت فردی دهان خود را انجام دهند؛ پس از دو هفته استفاده از دهان‌شویه، اندازه‌گیری شاخص‌های پلاک و لثه‌ای انجام گرفت و نتایج نشان دهنده کاهش معنی‌داری در شاخص پلاکی بیماران مورد بررسی بود.

دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا ساخت شرکت داروسازی شفا بوده، طبق اظهار نظر کارخانه سازنده آن مشابه دهان‌شویه لیسترین و شامل ترکیبات تیمول، اکالیپتول، منتول، متیل سالیسیلات و اسید بنزوئیک می‌باشد که در محلول الکلی ۲۶/۹ درصد حمل می‌شوند. از آن جا که دهان‌شویه ایرشا در کشور ما مورد مصرف زیادی دارد، تا کنون مطالعات زیادی بر روی این دهان‌شویه در ایران صورت گرفته است ولی هیچ‌کدام از آنها به صورت اختصاصی بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان و میکروفلور طبیعی آن انجام نشده است؛ تحقیق حاضر به بررسی این اثر پرداخت.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه، تجربی و از نوع کارآزمایی بالینی بود. برای جمع‌آوری داده‌ها از تکنیک مصاحبه، مشاهده و معاینه کلینیکی و تکمیل فرم‌های اطلاعاتی استفاده شد. جهت این مطالعه پس از مشورت با متخصص آمار تعداد ۲۸ نفر از بین دانشجویان و کارکنان دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه اهواز در سال تحصیلی ۸۵-۸۶ انتخاب شدند. داوطلبان بایستی از معیارهای ورود به مطالعه شامل عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک در ۶ ماه گذشته، بهداشت دهان مطلوب (Periodontal Index کمتر یا مساوی ۲)،

انر دهان شویه آنتی‌سپتیک ایرشا بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان

دکتر آرش عزیزی و همکاران

دارا بودن حداقل ۲۰ دندان در دهان و عدم استفاده از پلاک ارتودنسی، پروتز ثابت یا پارسیل در دهان برخوردار می‌بودند. ابتدا از بیماران جهت شرکت در مطالعه رضایت دریافت شد، سپس اطلاعات عمومی بیمار شامل سن و جنس در فرم‌های اطلاعاتی ثبت گردید. آن گاه Periodontal Index بیماران با استفاده از شاخص PI اندازه‌گیری شد [۳]. از داوطلبان خواسته می‌شد که روش بهداشتی معمول خود را که بیشتر استفاده می‌کرده‌اند تغییر ندهد، دهان شویه آنتی‌سپتیک ایرشا را به مدت ۲ هفته، دو بار در هر روز، و هر بار ۱۵ و به مدت ۳۰ ثانیه در دهان استفاده کنند. قبل و بعد از مصرف دهان شویه از داوطلبان نمونه‌گیری شد. طریقه نمونه‌گیری بدین صورت بود که از داوطلبان خواسته می‌شد دهان خود را با سرم فیزیولوژی شستشو داده، پس از شستشو محتویات آن را خارج نمایند. سپس ۱ سی‌سی بزاق بیماران بدون هیچ تحریکی در یک لوله استریل جمع‌آوری و بلافاصله جهت آزمایشات به آزمایشگاه میکروب شناسی ارسال می‌گردید. این عمل بعد از ۲ هفته استفاده از دهان شویه نیز تکرار می‌شد. لازم به ذکر است که نمونه‌ها جهت جلوگیری از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها حداکثر ظرف مدت ۲ ساعت به آزمایشگاه ارسال می‌گردید.

در آزمایشگاه پس از تهیه لام و رنگ‌آمیزی گرم، نمونه‌ها بر روی محیط‌های Blood Agar, Chocolate Agar و McConky کشت و ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار داده می‌شد. پس از مدت ۴۸ ساعت، نمونه‌ها خارج و کلنی‌های استرپتوکوکی شناسایی و شمارش می‌شد. جهت تشخیص افتراقی انواع استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان به کمک متخصصین میکروب‌شناسی، سایر تست‌های شیمیایی بر روی نمونه‌ها انجام می‌گرفت که در جدول شماره ۱ این تست‌ها و پاسخ استرپتوکوک‌های پاتوژن به این واکنش‌های شیمیایی نشان داده

شده است. جهت شمارش کلنی‌ها متخصص میکروب‌شناسی محیط کشت را به قطعات مساوی صد یا هزار عددی تقسیم و تعداد کلنی‌ها در یک یا چند قطعه شمارش می‌نمود و به نسبت آن، تعداد کلنی‌ها در سراسر محیط کشت را محاسبه می‌کرد. برای تشخیص میکروفلور طبیعی دهان علاوه بر روش‌های ذکر شده، از محیط‌های دیگری مانند سابروز دکستروز، شکلات حاوی ویتامین K و حتی تشخیص مستقیم از روی لام استفاده شد. تعداد میکروفلورای طبیعی دهان در افراد مورد تحقیق قبل از مصرف دهان شویه ۹ گونه بود. البته همه این ۹ فلور در همه افراد تحقیق موجود نبود و از ۵ تا ۹ فلور متغیر بودند. لازم به ذکر است نوع و تعداد میکروفلورهای طبیعی در دهان افراد هیچ گونه ارتباطی به بهداشت دهان و عادات آنها نداشته، مانند رنگ مو و چشم‌ها، فردی و ژنتیکی است و تحت تأثیر سایر عوامل مانند شرایط محیط و میزبان نیز می‌باشد [۸] و هر کدام از آنها روی محیط خاص رشد می‌کنند که اسامی این میکروفلورها و محیط کشت خاص آنها در جدول ۲ آمده است.

همچنین از افراد مورد تحقیق در مورد بوی دهان قبل و بعد از مصرف دهان شویه و تغییر رنگ دندان‌ها بعد از مصرف آن پرسش گردید که در فرم اطلاعاتی آنها ثبت شد. جهت بررسی تغییر رنگ دندان‌ها علاوه بر پرسش از بیمار، دندان‌های وی به وسیله مجری طرح قبل از مصرف دهان شویه معاینه و در صورت وجود رنگریزه، دندان‌ها بر ساژ و تمیز می‌شد و بعد از مصرف دهان شویه نیز بار دیگر دندان‌ها بررسی و در صورت تغییر رنگ در پرونده فرد ثبت می‌شد. بعد از انجام آزمایشات، تعداد میکروارگانیسم‌های مورد نظر در تحقیق، قبل و بعد از استفاده از دهان شویه، شمارش و اندازه‌گیری شد. در این تحقیق، جهت تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری one sample t-test و chi-square در سطح اطمینان ۵٪ در نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

جدول ۱. خصوصیات استرپتوکوک‌های پاتوژن نسبت به عوامل شیمیایی

	Manitol	Loctose	Sucrose	Rafinose	Inulin	Esculine	litmus
<b>S. Mutans</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>S. Sangius</b>	-	+	+	+	+	+	+
<b>S. Mitis</b>	-	+	+	-	-	-	+
<b>S. Oralis</b>	+	-	-	+	+	-	-
<b>S. Intermedius</b>	-	+	+	+	-	+	+

جدول ۲. میکروفلورهای طبیعی در افراد مورد مطالعه و محیط کشت خاص هر یک

میکروفلورهای طبیعی دهان	محیط کشت
F <sub>1</sub> استرپتوکوک آلفا همولیتیک	بلاد آگار و شکلات آگار
F <sub>2</sub> انتروکوک	بلاد آگار و شکلات آگار و مک کان کی آگار
F <sub>3</sub> استافیلوکوک کواگولاز منفی	بلاد آگار و شکلات آگار
F <sub>4</sub> کاندیدا	بلاد آگار و ساپرو دکستروز آگار
F <sub>5</sub> نیسریا کاتالاریس	بلاد آگار و شکلات آگار
F <sub>6</sub> پیتواستریپتوکوک	شکلات حاوی ویتامین K
F <sub>7</sub> اسپیروکت	تشخیص از روی لام بطور مستقیم
F <sub>8</sub> فوز و باکتریوم	تشخیص از روی لام بطور مستقیم
F <sub>9</sub> دیفتتری مورفوس	بلاد آگار و شکلات آگار

### یافته‌ها

تحقیق حاضر بر روی ۲۸ نفر انجام شد که ۱۵ نفر مرد و ۱۳ نفر زن بودند. متوسط سن مردان ۲۸/۸ و زنان ۳۰/۷ سال بود.

میانگین تعداد کلنی‌های استرپتوکوک سانجیوس قبل از مصرف ایرشا در بیماران مورد تحقیق ۵۰۱۶۱ در ۱ سی‌سی بزاق بود که بعد از مصرف دهان‌شویه تعداد کلنی‌ها صفر شد و از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار بود ( $p \text{ value} < 0/001$ ).

میانگین تعداد کلنی‌های استرپتوکوک‌های میتیس قبل از مصرف دهان‌شویه ۴۶۶۱۸ در ۱ سی‌سی بزاق بود که بعد از مصرف آن تعداد کلنی‌ها صفر شد و این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p \text{ value} = 0/001$ ). همچنین میانگین تعداد کلنی‌های استرپتوکوک‌های موتانس، ارالیس و اینترمدیوس قبل از مصرف دهان‌شویه به ترتیب ۵۹۵۹۴، ۵۹۵۹۴ و ۵۶۱۶۷ در ۱ سی‌سی بزاق بود که بعد از مصرف آن میانگین تعداد کلنی‌های مزبور صفر شد و از لحاظ آماری این کاهش تعداد کلنی‌ها معنی‌دار بود ( $p \text{ value} = 0/005$ ). میانگین تعداد کلنی‌های استرپتوکوک‌های آلفا همولیتیک، انتروکوکها، استافیلوکوک کواگولاز منفی، کاندیدا، نیسریا کاتارالیس، پیتواستریپتوکوک، اسپیروکت، فوزوباکتریوم و دیفتتری مورفوس در یک میلی‌لیتر بزاق قبل از مصرف دهان‌شویه به ترتیب ۳۸۴، ۷۰۶، ۴۰۶، ۱۵۶، ۳۵۸، ۸۹۷، ۹۸۸، ۳۴۵ و ۸۹۰ بود که بعد از مصرف دهان‌شویه تعداد آنها صفر شد.

همچنین ۱۰ نفر از بیماران مورد مطالعه اظهار داشتند که بوی دهان آنها بعد از مصرف دهان‌شویه بهبود یافته است و ۱۲ نفر نیز از ابتدا از این مسأله شکایتی نداشتند؛ ۶ نفر نیز اظهار

داشتند که در بوی بد دهانشان بعد از مصرف این دهان‌شویه تغییری حاصل نشده است؛ از لحاظ آماری بهبود بوی دهان در اثر مصرف دهان‌شویه معنی‌دار نبود ( $p \text{ value} = 0/06$ ).

همچنین از لحاظ تغییر رنگ دندان‌ها بعد از مصرف دهان‌شویه، ۲۵ نفر اظهار داشتند که رنگ دندان آنها بدون تغییر مانده و ۳ نفر اعلام نمودند که رنگ دندان آنها تیره‌تر شده است؛ از لحاظ آماری، این تغییر رنگ قبل و بعد از مصرف دهان‌شویه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $p \text{ value} = 0/07$ ). تعداد میکروفلورای طبیعی دهان در افراد مورد تحقیق قبل از مصرف دهان‌شویه ۹ گونه بود. البته همه این ۹ گونه در همه افراد مطالعه موجود نبودند و از ۵ تا ۹ گونه در بزاق دهان داوطلبان یافت می‌شد که پس از مصرف دهان‌شویه ایرشا فقط میکروفلور استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، استافیلوکوک کواگولاز منفی و دیفتتری مورفوس از بین رفتند و این کاهش میکروفلورهای ذکر شده از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p \text{ value} = 0/02$ )؛ سایر میکروفلورهای طبیعی دهان در اثر مصرف دهان‌شویه دست نخورده باقی ماندند و تغییری در تعداد آنها ایجاد نشد.

### بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات متعددی در مورد دهان‌شویه‌های مختلف انجام شده است و عرضه کنندگان محصولات سعی در ارائه محصولاتی با کیفیت بالاتر و حداقل عوارض جانبی داشته‌اند. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر کلینیکی دهان‌شویه رایج در بازار ایران (ایرشا) بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان طراحی و اجرا گردید. از نتایج تحقیق ما

این باکتری‌ها در اثر مصرف آن باشد که این مسأله را می‌توان با پایه الکلی این دهان‌شویه مرتبط دانست [۱۲]. یکی دیگر از علل احتمالی خاصیت ضد باکتریایی ایرشا، به علت دارای یون مثبت است؛ دیواره سلولی استرپتوکوک‌های بیماری‌زای دهان دارای یون منفی است و در نتیجه ایرشا جذب دیواره سلولی شده، باعث تخریب دیواره سلولی ریز جانداران می‌شود [۱۲]. با توجه به نتایج تحقیق ما مشخص گردید که میزان از بین رفتن میکروفلورهای طبیعی دهان در اثر مصرف دهان‌شویه ایرشا کم است و با توجه به اهمیت تعادل و حفظ میکروفلورهای طبیعی دهان، این مسأله از خصوصیات مناسب این دهان‌شویه می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان را از بین می‌برد و می‌تواند به عنوان وسیله کمکی در کنار روش‌های مکانیکی کنترل پلاک دندان استفاده شود. همچنین این دهان‌شویه اثر کمی بر فلور طبیعی دهان دارد و باعث ایجاد رنگ‌ریزه روی دندان‌ها نمی‌شود که این مسأله از خصوصیات مطلوب آن به حساب می‌آید.

از بین رفتن استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان در اثر مصرف دهان‌شویه آنتی‌سپتیک ایرشا بود که این نتایج به نتایج مطالعه Eldrige و همکاران [۹] شباهت داشت، به طوری که ایشان نیز در مطالعه خود، از بین رفتن استرپتوکوک موتانس را در اثر مصرف لیستین مشاهده و تأیید نمودند.

همچنین Attin و همکاران [۱۰] در مطالعه خود اعلام نمودند که لاکتوباسیل‌ها و استرپتوکوک‌های موتانس در اثر مصرف دهان‌شویه لیستین در بزاق دهان افراد مورد مطالعه از بین می‌روند. در مورد خاصیت ضد میکروبی لیستین و ایرشا بر ضد میکروارگانیزم‌های پاتوژن دهان مطالعات متعدد دیگری نیز انجام شده که نتایجی کم و بیش مشابه پژوهش ما داشتند و انجام Brex [۵]، Reip و همکاران [۶] و شیرزاد و همکار [۷] در تحقیقات خود خاصیت ضد میکروبی لیستین و ایرشا را تأیید نمودند. همچنین نتایج این تحقیق مشابه تحقیقات Yang و همکار [۱۱]، Kasuga و همکار [۱۲]، Pitten و همکار [۱۳] و Shah و همکار [۱۴] در مورد اثر دهان‌شویه لیستین بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان بود.

یک علت مهم از بین رفتن استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان در اثر مصرف این دهان‌شویه می‌تواند از بین رفتن دیواره سلولی

### References

1. Arweiler NB, Netuschil L, Reich E. Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2001; 28(2): 168-74.
2. Moran J, Addy M, Newcombe R. A 4-day plaque regrowth study comparing an essential oil mouthrinse with a triclosan mouthrinse. *J Clin Periodontol* 1997; 24(9 Pt 1): 636-9.
3. Carranza F, Newman M. *Clinical periodontology*. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p. 85-7, 108-10.
4. DePaola LG, Minah GE, Overholser CD, Meiller TF, Charles CH, Harper DS, et al. Effect of an antiseptic mouthrinse on salivary microbiota. *Am J Dent* 1996; 9(3): 93-5.
5. Brex M, Brownstone E, MacDonald L, Gelskey S, Cheang M. Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses as supplements to regular tooth cleaning measures. *J Clin Periodontol* 1992; 19(3): 202-7.
6. Riep BG, Bernimoulin JP, Barnett ML. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. *J Clin Periodontol* 1999; 26(3): 164-8.
7. Shirzad S, Moghadas H. Evaluation of clinical effect Irsha mouthwash on microbial plaque and gingival inflammation in gingivitis patients after supragingival scaling. [Thesis]. Tehran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2000. p. 30-45.
8. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. *Javet's Medical Microbiology*. 23<sup>rd</sup> ed. Trans. Malek nejad P. Tehran: Nasl farada; 2004. p. 82-4, 259-60.
9. Eldridge KR, Finnie SF, Stephens JA, Mauad AM, Munoz CA, Kettering JD. Efficacy of an alcohol-free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. *J Prosthet Dent* 1998; 80(6): 685-90.
10. Attin R, Tuna A, Attin T, Brunner E, Noack MJ. Efficacy of differently concentrated chlorhexidine varnishes in decreasing Mutans streptococci and lactobacilli counts. *Arch Oral Biol* 2003; 48(7): 503-9.

11. Yang Y, Sreenivasan PK. An ex-vivo multiplexed antibacterial test on oral microflora. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20(3): 180-5.
12. Kasuga Y, Ikenoya H, Okuda K. Bactericidal effects of mouth rinses on oral bacteria. *Bull Tokyo Dent Coll* 1997; 38(4): 297-302.
13. Pitten F, Kramer A. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; 55(2): 95-100.
14. Shah HM, Shah MN, Gokani VN, Jethal BS. A comparative, qualitative and quantitative antimicrobial efficacies of mouthrinses containing chlorhexidine gluconate and essential oils. *Indian J Dent Res* 1993; 4(3-4): 103-11.