

# FARKLI AĞIZ GARGALARININ ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

## Investigation of Antibacterial Effects of Different Mouth Rinses: An In-Vitro Study

Yıldırım Hakan BAĞIŞ\*

Nilsun BAĞIŞ\*\*

### ÖZET

**Amaç:** Bu in vitro çalışmada altı farklı ağız gargarasının Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis, Lactobacillus casei, Staphylococcus aureus üzerine antibakteriyel etkileri Agar Difüzyon Testi ile incelendi.

**Gereç ve Yöntem:** Farklı özellikteki ağız gargaralarının antibakteriyel etkilerini incelemek için agar plakalarının üzerine 5 mm genişliğinde 7 yuva açıldı. Her bir ağız gargarası bu yuvalara yerleştirildi ve bir tanesi kontrol grubu olarak boş bırakıldı. 24 saat sonra test edilen mikroorganizmalara karşı oluşan inhibisyon alanları ölçülerek değerlendirmeler yapıldı. Sonuçların istatistiksel analizi için Kruskal Wallis and Mann Whitney U Testi kullanıldı.

**Sonuçlar:** Test edilen ağız gargaralarının 5 farklı mikro-organizma üzerine antibakteriyel etkilerinin olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). Oluşturdukları inhibisyon zon kalınlıkları yönüyle en etkili olan preparatın altı numaralı preparat olduğu sonucuna varıldı. ( $P<0.05$ ).

**Anahtar Sözcükler:** Antibakteriyel etki, ağız gargarası, S Mutans, E faecalis

### ABSTRACT

**Aim:** In this in vitro study six different mouth rinses were tested for their antimicrobial activity against five oral pathogens which is Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis, Lactobacillus casei, Staphylococcus aureus by well Agar Diffusion Test.

**Material and Methods:** For the evaluation of antibacterial properties of materials, 7 holes prepared by 5 mm diameter on each agar plate. Different 6 mouth rinses insert in this holes but one of them lived empty for control. Inhibition zones of against the test organism measured after 24 hours. Kruskal Wallis and Mann Whitney U Test were used for evaluate of the findings by statistically.

**Results:** According to 24 h results all tested mouth rinses have antimicrobial activity on tested 5 different organism type ( $P<0,05$ ). The most effective mouth rinse was number six according inhibition zones of against the test organism. ( $P<0,05$ ).

**Key Words:** Antibacterial effect, mouthrinses, S Mutans, E faecalis

\* Prof.Dr, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

\*\* Doç.Dr, Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

## GİRİŞ

Diş yüzeyine bakteri kolonizasyonu sık görülen ağız hastalıklarının (diş çürüğü, gingivitis, yıkıcı periodontal hastalıklar) en önemli etyolojik ajanıdır. Pit ve fissür çürüklerinde özellikle *S.mutans* başta olmak üzere pek çok mikroorganizma rol alır (1). Diş çürüğü ve periodontal hastalıkları kontrol edebilmek için ve ağız kokusunu önlemeye yönelik olarak dental bakım prosedürlerinde klinisyen tarafından ağız gargaraları önerilmektedir. Son on yıldır, ağız gargarası kullanımının endikasyonu sıklıkla “bio-film kontrolünü sağlayacak iyi bir mekanik temizliği takiben” tavsiye edilir (2).

Ağız gargaralarında kullanılan kemoteröpatikler arasında *Klorheksidin glukonat* “altın standart” olarak kabul edilir (3). Anti bakteriyel özelliği de yüksek olan %0,2’lik klorheksidin glukonat preparatının günlük kullanımı sonucu *S.mutans* kolonizasyonunu %30-50 düzeyinde azaltabildiği rapor edilmiştir (4).

Ancak ajanın plak kontrol özelliğinin yanı sıra bilinen yan etkileri (renklenme, geçici tat alma bozukluğu v.b.) nedeniyle, benzer etkinlik gösterebilecek kimyasal veya bitkisel preparat arayışı da devam etmektedir (3,4).

Bu invitro çalışmanın amacı altı farklı ağız gargarasının *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus* üzerine antibakteriyel etkilerinin incelenmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Farklı yapıdaki ağız gargaralarının *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus* üzerine antibakteriyel etkilerini inceleme amacıyla kullandığımız materyallerin içerikleri ve üretici firmaları Tablo.1’de gösterilmektedir (Tablo.1).

**Tablo 1:** Antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilen ağır gargaraları, içerikleri ve üretici firmalar

Ağız Gargarası	İçerik	Firma
1	Aqua, glycerin, sorbitol, propylene glycol, poloxamer 407, polysorbate 20, aroma, cetyl pyridinium chloride, potassium sorbate, sodium florid, menthol, sodium saccharin CI17200, CI42051	Colgate-Palmolive Tayland Son B-4041 Herstal - Belgium
2	Aqua, alcohol, sorbitol, poloxamer 407, benzoik asit, Sodyum saccharin, eucalyptol, methyl salicylate, aroma, tymol, menthol, sodium benzoate, CI 47005, CI 42053	Johnson and Johnson Istanbul - Turkey
3	Chlorhexidine gluconate %0.12, benzydamine HCL %0.15, sorbitol, etanol, patent 5 blue, yellow kinolin , peppermint essence, lemon essence	Drogsan İlaçları, Ankara - Turkey
4	Aqua, glycerin, aroma, cetyl pyridinium chloride, poloxamer 407, methyl paraben, sodium saccharin, cinnamal, propylparaben, eugenol, CL 42090	Procter gamble manufacturing, Germany
5	%0.15 benzydamine HCL- %0.12 chlorhexidine gluconate	Kim-Pa İlaç İstanbul-Turkey
6	Aqua, sorbitol, peg-40 hydrogenated castor oil, trisodium phosphate, PVMA copolymer, sodium lauryl sulfate, aroma, benzyl alcohol, phenoxy ethanol, sodium saccharin, sodium floride, lecithin, glycerin, limonene CL74160	Olgiate Comasco, Italy

Agar difüzyon yönteminin kullanıldığı çalışmada, antibakteriyel etki England National Collection of Type Cultures, Central Public Health Laboratory den Ankara Refik Saydam

Hıfzısıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonuna teslim edilen standart bakteri suşları ile incelenmiştir. Kullanılan bakteriler Tablo.2’deki gibidir (Tablo.2).

**Tablo 2:** Standart liyofilize bakteri suşları

Mikroorganizmalar (kullanım sırası ile)	
1- Steptecoccus mutans	ATCC 25175
2- Enterococcus faecalis	ATCC 29212
3- Bacillus subtilis	ATCC 196659
4- Lactobacillus casei	ATCC 11578
5- Staphylococcus aureus	ATCC 295923

Liyofilize haldeki bakteri suşları Ankara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Mikrobiyoloji laboratuvarında steril şartlarda dikkatle açılarak üretildi. Tablo.2'de belirtilen suşları Mc-Farland 0,5 standardına göre süspansiyonları hazırlandı ve buyyona ekilerek 37 °C etüvde 24 saat bekletildi. Daha sonra, %7 lik koyun kanlı Müller-Hinton agar besi yerlerine steril eküvyonlar yardımı ile her ekim iki kez tekrarlanarak sürüldü. Hazırlanan petri kutuları üzerine standart steril delicilerle 5 mm çapında 2 mm derinliğinde biri kontrol amacıyla boş bırakılan 7 yuva açıldı. On ayrı petri kutusunda yapılan çalışmada 6 farklı ağız gargarası kullanıldı. Gargaralar el değmeden bu deliklere makropipetlerle yerleştirilerek 24 saat süreyle 37 °C etüvde bekletildi. 24 saat sonunda petri kutularının içinde bulunan örneklerin

etrafındaki inhibisyon zon kalınlıkları kumpas ile milimetrik olarak ölçülerek değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

Altı farklı ağız gargarasının belirlenen beş mikroorganizma türü üzerine antibakteriyel etkisinin karşılaştırılabilmesi için Kruskal Wallis ve Mann Whitney U Testi kullanıldı.

### BULGULAR

Test edilen ağız gargaralarının Streptococcus mutans, Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis, Lactobacillus casei, Staphylococcus aureus üzerine antibakteriyel etkileri Tablo.3'de gösterilmektedir. Elde edilen verilere göre kullanılan ağız gargaralarının tamamı mikroorganizma türleri üzerinde kontrol grubuna kıyasla farklı derecede antibakteriyel etkinlik gösterdi ( $P < 0.05$ ). Gargaraların 24 saat sonunda oluşturdukları inhibisyon zon kalınlıkları karşılaştırıldığında 6 numaralı preparatın S mutans, E faecalis, L.casei, S aureus üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiği görüldü. ( $P < 0.05$ ).

**Tablo 3:** Test edilen 6 farklı ağız gargarasının 5 farklı mikro-organizma üzerine oluşturdukları inhibisyon zon kalınlıklarının Kruskal Wallis and Mann Whitney U Testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmeleri

	İnhibisyon zonlarının ortalama çapı±standart sapma						
	1.gargara A	2.gargara B	3.gargara C	4.gargara D	5.gargara E	6.gargara F	Kontrol G
S.mutans	2,0 ± 0,70 BCFG	3,7 ± 0,40 ADFG	2,6 ± 0,89 AFG	2,2 ± 0,47 BFG	2,8 ± 0,44 FG	6,6 ± 1,4 ABCDEG	0 ± 0 ABCDEF
E.faecalis	1,7 ± 0,27 BCDEFG	0,12 ± 0,04 AFG	0,54 ± 0,27 AFG	0,1 ± 0,11 AFG	0,14 ± 0,05 AFG	4,6 ± 0,54 ABCDEG	0 ± 0 ABCDEF
B.subtilis	0,9 ± 0,96 FG	0,12 ± 0,04 DEFG	1,6 ± 0,84 FG	2,1 ± 0,51 BG	1,7 ± 0,44 BFG	3,2 ± 0,44 ABCEG	0 ± 0 ABCDEF
L. casei	2,8 ± 0,83 BCF	0,28 ± 0,04 AGF	0,84 ± 0,35 AFG	1,2 ± 0,68 FG	1,12 ± 0,71 FG	5 ± 0,70 ABCDEG	0 ± 0 ABCDEF
S.aureus	2,4 ± 0,54 BFG	0,38 ± 0,37 ACDEFG	1,9 ± 0,41 BFG	2,0 ± 0,01 BFG	2,1 ± 0,20 BFG	4,2 ± 0,44 ABCDEG	0 ± 0 ABCDEF

\* Tabloda kullanılan büyük harfler yatay düzlemde gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları açıklamak için kullanılmıştır.

\*\* ( $P < 0.05$ ) (n:10).

## TARTIŞMA

Oral kavite yüzeyleri sürekli olarak mikroorganizmalar tarafından kolonize edilir. Bir mililitre tükürükte 250'den fazla türün varlığı söz konusudur ve baskın türlerin genellikle çürük yapısında da önemli rol oynayan streptokoklar olduğu gösterilmiştir (5). Oral kavitedeki mikroorganizma türlerinin kolonizasyonunu önlemenin yolu mekanik temizlik olsa da; hasta uyumu, hatalı uygulamalar, ağızdaki komplike protez ve/veya apareylerin varlığı etkili temizliğin limitasyonlarıdır. Bu nedenle oral hijyeni desteklemek, anti mikrobiyal etkinlik sağlamak amaçları ile kemoteröpatiklerin kullanımı ağız bakım önerileri arasında bulunmaktadır. Bu çalışmada kullanılan farklı gargaların, belirlenen mikroorganizma türleri üzerinde farklı düzeylerde anti mikrobiyal etkinliklerinin olduğu gösterilmiştir.

S.mutans biofilm yapısına katılan öncül mikroorganizma türlerinden olup, dental çürük oluşumunda önemli rol oynar. Çürük oluşumunun engellenmesine yönelik yaklaşımlara önem verilmesi halen dünyada popüler öneridir ve bu amaçla farmakolojik ya da kemoteröpatik yöntemler kullanılmaktadır (6). Bu çalışmada özellikle 2 ve 6 numaralı preparatın S.mutans üzerine yüksek etkisi olduğu görülmüştür ve bu farklılık anlamlıdır ( $P < 0,05$ ). İki numaralı preparat; gargara olarak 1914'de ABD'de OTC şeklinde piyasaya sunulmuş ve 1988 'de ADA tarafından onaylanmıştır. Hastalara 20 ml solusyonu 30 saniye boyunca günde iki kez gargara yapılması önerilmiştir ayrıca FDA tarafından kategori 1 'de (güvenli ve etkili) yer almaktadır (7,8). İçeriğindeki aktif ajanlar ise timol, mentol, ökaliptol, metil salisilat ve esansiyel yağlardır. Metil salisilatlar sayesinde preparat antiinflamatuvar etkiye de sahiptir (9). Altı numaralı preparat ise et-

ken madde olarak sodyum florür içermektedir. WHO 'nun çürüğün önlenmesi için florürlü gargalarla ilgili önerisi; günlük olarak %0.05 sodyum florür gargarası (230 ppmF) yada haftada bir yada 15 günde bir %0.2 sodyum florür gargarası (900ppmF) kullanılması olmak üzere iki türdür. Sistemik derlemeler ve meta analizler florürlü gargaların çürük önlemede %26 etkili olduğunu rapor ederken başlangıç çürük miktarları, florüre maruz kalma miktarı ve gargara yapma sıklığı ile olan ilişkisi araştırılmamıştır (10). Bu in-vitro çalışma, preparatın anti bakteriyel etkin olduğunu göstermiş olsa da, çalışmanın in vitro koşullarda yapılmış olması ve buna bağlı ağız ortamı, ısı, pH, tükürük akışı gibi gargara etkinliğini değiştirebilecek faktörlerin taklit edilememiş olması çalışmamızın limitasyonlarındanıdır.

Kimyasal plak eliminasyonunda altın standart olarak kabul edilen klorheksidin glukonatın geniş spektrumlu anti mikrobiyal olduğu bilinse de, uzun dönem kullanım endikasyonunun olmaması, dişlerde ve restorasyonlarda boyanmaya neden olması, tat almada bozukluk, supragingival kalkulus oluşumu gibi yan etkilerinin bulunması kullanımını sınırlamaktadır. Klorheksidini diğer antiseptiklerden ayıran en önemli özellik, oral kavitede uygulandığında dokulara tutunarak uzun süre salınım profiline (yüksek substantivite) sahip olmasıdır. Bu özelliği sayesinde diğer antiseptik ajanlara kıyasla daha etkili bir antiseptik etki gösterir (11). Çalışmamızda 3 ve 5 numaralı preparatlar klorheksidin glukonat etken maddesi içermektedir. Antibakteriyel etkinliği açısından etkinliği olsa da, tablo.3'de gösterildiği gibi inhibisyon zonu karşılaştırıldığı preparatların bazalarına göre düşük seviyede kalmıştır. Bu sonuç şaşırtıcı olmakla birlikte, klorheksidin glukonatu üstün kılan özelliğinin yüksek substantivitesi olduğu düşünülebilir. Bu bağlamda söz

konusu preparatların, antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra gerçek ağız ortamında etkin kalabildikleri sürenin araştırılmasının klinik açıdan önemli olduğunu düşünülebilir.

Ağız hijyeni açısından kemoteröpatiklerin desteği önemli olsa da, kimyasal içeriklerin uzun dönem kullanılması tartışma konusudur. Bu nedenle son dönem çalışmalar daha çok doğal ve bitkisel içerikler üzerinde yoğunlaşmıştır. Anti plak etkinliği bilinen bitkisel içeriklerden birisi de Sanguarina etken maddesidir. Bu madde, *Sanguinarina canadensis* adlı bitkiden üretilen bir alkaloiddir. Preparat formülü %0.01 sanguinarine ve %0.2 çinko klorürdür. Amerika'da Viadent ve Perigard adı altında piyasaya sürülmüştür. Gargara formu pH 4.5 'de %11.5 alkol içerir. Macun pH'sı 5.2'dir ancak her iki üründe ADA onaylı değildir. Klorheksidin glukonat etken maddeli preparatlar ile yan etkileri açısından karşılaştırıldığında, bazı hastalarda yanma yakınlaması dışında boyama, diş taşı oluşumu ya da tat duyusunda bozukluk gibi yan etkileri yoktur (12-14).

Yapılan bir çalışmada % 0.03'lük sanguinaria solusyonu kullanıldığında plasebo grubuna kıyasla plağın %40, gingivitisin ise %25 azaldığı rapor edilmiştir. Moran ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada %0.2'lik CHX ile Viadent karşılaştırılmış ve plak ve gingivitis azaltmada CHX daha etkili bulunmuştur (12). Bu çalışmada, ülkemiz piyasasında ticari formunun olmaması nedeniyle bitkisel içerikli preparat kullanılmamıştır.

## SONUÇ

Çalışmamızda kullanılan preparatların anti bakteriyel özelliğe sahip oldukları in-vitro koşullarda gösterilmiş olsa da, klinik etkinliğin sağlanmasında ağız içi koşullar önemli rol oynar. Bu anlamda, ağız içi koşulları taklit

edebilecek ortamın sağlanacağı deney protokolüne sahip araştırmalar daha faydalı olabilir. Ek olarak, tükürük akışı ve günlük rutinlerle (yeme-içme v.b.) ağız ortamından kolaylıkla uzaklaşabilen ağız gargaralarının etkinlik süresi de göz önünde bulundurulmalıdır.

Anti plak özellikli ağız gargaraları, oral hijyenin etkin şekilde sürdürülmesi açısından mekanik plak temizliğine destek olarak kullanılabilir. Bu nedenle yan etkileri minimize edilmiş preparatlar veya bitkisel içerikli ürünler hasta ağız bakım rutinine yerleştirilebilir. Klinisyen hastanın oral hijyen durumunu dikkatle analiz etmeli ve uygun ağız bakım önerilerini sunmalıdır.

Ağız gargaralarının etkinliğini değerlendirmeye yönelik ileride planlanacak klinik çalışmalar, sağlanabilecek faydayı belirlemede klinisyene yardımcı olacak ve uygun preparatların kullanımı ile hastaların oral hijyen düzeyleri arttırılabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Shah S, Bargale S, Dave BH, Deshpande A, Kariya PB, Karri A. Comparison of Antimicrobial Efficacy of (between) 0.2% Chlorhexidine and Herbal Mouthwash on Salivary Streptococcus mutans: A Randomized Controlled Pilot Study. *Contemp Clin Dent*. 2018 Jul-Sep;9(3):440-445.
2. Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res*. 1994 Dec;5(4):254-9.
3. Lakade LS, Shah P, Shirol D. Comparison of antimicrobial efficacy of chlorhexidine and combination mouth rinse in reducing the mutans streptococcus count in plaque. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2014;32:91-6.
4. Gupta N, Bhat M. Comparative evaluation of 0.2 percent chlorhexidine and magnetized water as a mouth rinse on Streptococcus mutans in children. *Int J Clin Pediatr Dent* 2011;4:190-4.
5. Nayak SS, Kumar BR, Ankola AV, Hebbal M. The efficacy of Terminalia chebula rinse on Streptococcus mutans count in saliva and

- its effect on salivary pH. *Oral Health Prev Dent* 2010;8:55-8.
6. Vinson L1, Gilbert PR, Sanders BJ, Moser E, Gregory RL. Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Disruption of In Vitro *Streptococcus mutans* Biofilm. *J Dent Child (Chic)*. 2018 Sep 15;85(3):120-124.
  7. Axelsson P, Lindhe J. Efficacy of mouthrinses in inhibiting dental plaque and gingivitis in man. *J Clin Periodontol*. 1987;14(4):205-12.
  8. Charles CH, Sharma NC, Galustians HJ, Qaqish J, McGuire JA, Vincent JW. Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial. *Journal of the American Dental Association*. 2001;132(5):670-5.
  9. Alshehri FA. The use of mouthwash containing essential oils (LISTERINE®) to improve oral health: A systematic review. *Saudi Dent J*. 2018 Jan;30(1):2-6.
  10. Sharma A, Agarwal N, Anand A, Jabin Z. To compare the effectiveness of different mouthrinses on *Streptococcus mutans* count in caries active children. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2018 May-Aug;8(2):113-117.
  11. Aktas A, Giray B. Diş Hekimliğinde Klorheksidin: Özellikleri ve Güncel Kullanım Alanları. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*. 2010;16(1):51-8
  12. Moran J, Addy M, Newcombe R. A clinical trial to assess the efficacy of sanguinarine-zinc mouthrinse (Veadent) compared with chlorhexidine mouthrinse (Corsodyl). *J Clin Periodontol*. 1988;15(10):612-6.
  13. Croaker A, King GJ, Pyne JH, Anoopkumar-Dukie S, Simanek V, Liu L. Carcinogenic potential of sanguinarine, a phytochemical used in 'therapeutic' black salve and mouthwash. *Mutat Res*. 2017 Oct;774:46-56.
  14. Croaker A, King GJ, Pyne JH, Anoopkumar-Dukie S, Liu L. *Sanguinaria canadensis*: Traditional Medicine, Phytochemical Composition, Biological Activities and Current Uses. *Int J Mol Sci*. 2016 Aug 27;17(9).
- Yazışma Adresi:**  
Prof. Dr. Yıldırım Hakan BAĞIŞ  
Mail: yhbagis@yahoo.com.tr  
TEL: 0312-2965596  
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği  
Fakültesi Restoratif Tedavi Anabilim Dalı  
06500 - Beşevler / ANKARA