

In vitro Investigation of Combinational Effects of Ethanolic Extracts of *Zingiber Officinale* and *Curcuma Longa* with Chlorhexidine on *Streptococcus Mutans* and *Candida Albicans*

Samaneh Mollazadeh^{1,2} , Parastoo Zarghami Moghaddam¹ , Amir Mohammad Mokarrami³ ,
Alireza Afshari-Safavi⁴ , Yasaman Aleyasin^{5*} 

¹ Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

² Dept of Medical Biotechnology, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

³ School of Dentistry, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁴ Dept of Epidemiology and Biostatistics, School of Health, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

⁵ Dept of Periodontics & Prosthodontics, School of Dentistry, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: Dec. 17, 2025

Received in revised form:

Feb. 11, 2026

Accepted: Apr. 18, 2026

Published Online: May. 26, 2026

* Correspondence to:

Yasaman Aleyasin

Dept of Periodontics &
Prosthodontics, School of
Dentistry, North Khorasan
University of Medical Sciences,
Bojnurd, Iran

Email:

aleyasiny99@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Given the global interest in natural therapies and the emphasis on the higher safety profile of herbal compounds, investigating the therapeutic potential of medicinal plants in managing oral infections is of paramount importance. This study was therefore designed to evaluate the combined effects of ethanolic extracts of ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) against oral pathogens – specifically, *Streptococcus mutans* (the causative agent of dental caries) and *Candida albicans* (responsible for oral candidiasis).

Materials & Methods: In this experimental-analytical (in vitro) study, ethanolic extracts of ginger and turmeric rhizomes were prepared using the maceration method. The antibacterial and antifungal effects of various combined concentrations of these extracts were evaluated against *S. mutans* and *C. albicans* using disc diffusion, well diffusion, and biofilm formation assays. Control groups included amoxicillin (100 mg/mL), nystatin (100 mg/mL), and 0.2% chlorhexidine mouthwash (100 mg/mL). The Kruskal-Wallis test was applied to compare the mean inhibition zone diameters across groups, with $p < 0.05$ as the significance threshold. Statistical analysis was performed using SPSS V.22.

Results: The combined ethanolic extracts of ginger (80 mg/mL) and turmeric (20 mg/mL) demonstrated the most significant antimicrobial effects against the tested pathogens, though their efficacy was inferior to amoxicillin, nystatin (both at 100 mg/mL), and chlorhexidine mouthwash (100 mg/mL) ($p < 0.05$). Notably, only chlorhexidine at 100 mg/mL effectively inhibited biofilm formation.

Conclusion: While the combination of ginger and turmeric extracts showed promising antimicrobial potential for oral infections, its inability to prevent biofilm formation underscores the need for further quantitative investigations (e.g., MIC/MBC determinations) and in vivo studies to comprehensively evaluate its therapeutic applications.

Keywords: Ginger, Turmeric, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*

Cite this paper: Mollazadeh S, Zarghami Moghaddam P, Mokarrami AM, Afshari-Safavi A, Aleyasin Y. In vitro investigation of combinational effects of ethanolic extracts of *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* with chlorhexidine on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2026;34(2):101-113.

Introduction

Post-surgical interventions and certain oral diseases may hinder mechanical plaque management, requiring alternate treatments such as antimicrobial mouthwashes (1). Chlorhexidine (CHX) continues to be the best antiplaque agent since it stays in the mouth for a long time and works

well contrary to a wide range of bacteria. But its tendency to discolour teeth and irritate mucous membranes shows that we need natural alternatives with similar antibacterial activity and fewer adverse effects (2). In ethnopharmacological investigations (3), *Zingiber officinale* (ginger) and *Curcuma longa* (turmeric) have shown that they may kill bacteria and fungi. Ginger rhizome contains biologically



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

Journal of Ilam University of Medical Sciences, Volume 34, Issue 2, 2026

active gingerols, while curcumin, which is the main polyphenol in turmeric, has antibacterial effects (9, 13). This research examines the synergistic effects of ethanolic extracts from these botanicals on *Streptococcus mutans* (the principal cariogenic pathogen) and *Candida albicans* (the agent of oral candidiasis), evaluating their efficiency in comparison to chlorhexidine (CHX).

Methods

Ginger rhizomes and turmeric were dried, powdered, and macerated in 70% ethanol for 48 hours. Extracts were concentrated using rotary evaporation (30°C; Heidolph, Germany) and lyophilised. Then, 50 µL of combined ginger-turmeric extracts (80:20, 60:40, 50:50, 40:60, 20:80 mg/mL) were tested against clinical strains of *S. mutans* (ATCC 35668) and *C. albicans* (ATCC 10231) with antimicrobial susceptibility testing (disc diffusion and well diffusion), and biofilm inhibition was evaluated via microtiter plate crystal violet assay. Amoxicillin (100 mg/mL), nystatin (100 mg/mL), and 0.2% CHX (100 mg/mL) were used as controls. The Kruskal-Wallis test was applied to compare the mean inhibition zone diameters across groups, with $p < 0.05$ as the significance threshold. Statistical analysis was performed using SPSS V.22.

Results

The results of disc diffusion and well diffusion assays demonstrated that the highest antibacterial and antifungal effects (largest inhibition zone diameters) were observed with amoxicillin/nystatin, chlorhexidine, and 100 mg/mL ginger ethanolic extract ($p < 0.05$). Among combination treatments, the optimal effect was achieved with 80 mg/mL ginger extract + 20 mg/mL turmeric extract ($p < 0.05$). Furthermore, the 100 mg/mL ethanolic extract of turmeric exhibited minimal antibacterial efficacy against the tested pathogens. Regarding biofilm inhibition, the findings revealed that only 100 mg/mL chlorhexidine mouthwash effectively prevented biofilm formation in both *S. mutans* and *C. albicans* ($p < 0.05$).

Conclusion

The combined ethanolic extracts of ginger (80 mg/mL) and turmeric (20 mg/mL) demonstrated the most significant antimicrobial effects against the tested pathogens, though their efficacy was inferior to amoxicillin, nystatin, and chlorhexidine mouthwash ($p < 0.05$). Notably, only chlorhexidine at 100 mg/mL effectively inhibited biofilm

formation.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Formal Analysis, Investigation: SM, PM, AM, AS, Resources, Software, Data Curation, Writing—Original Draft Preparation, Writing—Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: SM, YA.

Ethical Statement

The authors sincerely appreciate the valuable assistance and support of the Vice Chancellery for Research and Technology of North Khorasan University of Medical Sciences for approving this research project (IR.NKUMS.REC.1400.172) (Iran). Authors adhered to ethical research principles and avoided any form of data fabrication, falsification, plagiarism, or scientific misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

The authors gratefully acknowledge the financial support provided by the Vice Chancellery for Research and Technology of North Khorasan University of Medical Sciences (Iran) for this research (Reg. No. 4000152).

Acknowledgment

The authors would like to express their gratitude to the Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran for their valuable assistance in the execution of this research project.

بررسی آزمایشگاهی آثار ترکیبی عصاره‌های اتانولی زنجبیل و زردچوبه با کلرگزیدین علیه استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلبیکانس

سمانه ملازاده^{۱*}، پرستو ضرغامی مقدم^۱، امیرمحمد مکرمی^۲، علیرضا افشاری صفوی^۳، یاسمن آل یاسین^{۴*}

^۱ مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۲ گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۳ دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۴ گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۵ گروه پرودانتیکس، تشخیص بیماریهای دهان و جراحی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: با توجه به استقبال جهانی از درمان‌های طبیعی و تأکید بر ایمنی بالاتر ترکیبات گیاهی، بررسی پتانسیل درمانی گیاهان دارویی در کنترل عفونت‌های دهان و دندان حائز اهمیت است؛ بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی آثار ترکیبی عصاره اتانولی زنجبیل و زردچوبه روی پاتوژن‌های مرتبط با عفونت‌های دهانی (باکتری/استرپتوکوکوس موتانس عامل پوسیدگی دندان و قارچ کاندیدا آلبیکانس عامل کاندیدیازیس دهانی) طراحی و اجرا شد.

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۶

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۳/۰۵

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مداخله‌ای-تحلیلی (آزمایشگاهی)، گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*) و ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه (*Curcuma longa*) توسط حلال اتانول به روش خیساندن عصاره‌گیری گردیدند؛ سپس آثار ضدباکتریایی و ضدقارچی غلظت‌های ترکیبی مختلف این گیاهان دارویی روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس و قارچ کاندیدا آلبیکانس با استفاده از روش‌های انتشار دیسک، انتشار چاهک و بیوفیلم بررسی شد. گروه‌های کنترل شامل آموکسی‌سیلین (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، نیستاتین (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و کلرگزیدین (۰/۲ درصد (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) بودند. به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم در گروه‌های بررسی شده، از آزمون کروسکال والیس استفاده گردید. در همه آزمون‌ها سطح معناداری ۵ درصد در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار SPSS V.22 انجام گردید.

نویسنده مسئول:

یاسمن آل یاسین

گروه پرودانتیکس، تشخیص

بیماریهای دهان و جراحی

دهان، فک و صورت، دانشکده

دندانپزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی خراسان شمالی،

بجنورد، ایران

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد، در میان غلظت‌های ترکیبی، عصاره اتانولی زنجبیل (۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و زردچوبه (۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) بیشترین تأثیر را بر پاتوژن‌های مطالعه شده داشتند، هرچند آثار ضدباکتریایی آن در مقایسه با آموکسی‌سیلین و نیستاتین (غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و دهان‌شویه کلرگزیدین (غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) کمتر بود ($P < 0.05$). درباره اثر ممانعت از تشکیل بیوفیلم، تنها غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر دهان‌شویه کلرگزیدین از تشکیل بیوفیلم جلوگیری کرد.

Email:

aleyasiny99@gmail.com

بحث و نتیجه‌گیری: ترکیب عصاره‌های زنجبیل و زردچوبه پتانسیل ضدعفونی‌کنندگی در درمان عفونت‌های دهان نشان داد؛ اما ناتوانی آن در مهار بیوفیلم، لزوم تکمیل تحقیقات با روش‌های کمی (مانند MIC/MBC) و مطالعات *in vivo* را پررنگ می‌کند.

واژه‌های کلیدی: زنجبیل، زردچوبه، استرپتوکوکوس موتانس، کاندیدا آلبیکانس

استناد: ملازاده سمانه، ضرغامی مقدم پرستو، مکرمی امیرمحمد، افشاری صفوی علیرضا، آل یاسین یاسمن. بررسی آزمایشگاهی آثار ترکیبی عصاره‌های اتانولی زنجبیل و زردچوبه با کلرگزیدین علیه استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلبیکانس. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، خرداد ۱۴۰۵؛ ۳۴(۲): ۱۱۳-۱۰۱.

مقدمه

به دنبال انجام جراحی و یا وجود برخی از بیماری‌های دهانی به علت وجود درد و زخم، کنترل مکانیکی پلاک با مسواک زدن ممکن نیست و تنها راه درمانی استفاده از انواع دهان‌شویه‌ها است (۱). دهان‌شویه کلرهگزیدین (CHX) به‌عنوان مؤثرترین عامل مهار پلاک مطرح است و در کاهش التهاب لثه و شاخص‌های آن نقش بسزایی دارد. این خصوصیات به ویژگی‌هایی چون پایداری طولانی‌مدت این دهان‌شویه در حفره دهان، حفظ فعالیت ضد میکروبی و خشی شدن حداقل آهسته آن از محیط دهان وابسته است. عمده‌ترین عارضه این دهان‌شویه ایجاد رنگ در سطوح دندان‌ها، مخاط و بعضی مواد ترمیمی است. با وجود همه خصوصیات مطلوب، این دهان‌شویه غالباً در موارد خاص و در زمان محدودی قابل تجویز است؛ بنابراین، لزوم استفاده از یک دهان‌شویه جایگزین که به‌طور روزمره بتواند استفاده گردد و عوارض جانبی کمتری داشته باشد، احساس می‌شود (۲).

علی‌رغم وجود دهان‌شویه‌های گیاهی متنوع ساخت شرکت‌های داخلی و ادعای سازندگان آن‌ها، هنوز دهان‌شویه مناسبی وجود ندارد که بتوان جایگزین دهان‌شویه‌های شیمیایی کرد؛ بنابراین، تحقیقات برای یافتن دهان‌شویه گیاهی مناسب همچنان ادامه دارد. زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* در فهرست دارماکوپه‌های مدرن دنیا وارد شده و خواص دارماکولوژیک گسترده‌ای از آن به تأیید رسیده است (۳-۵). بخشی از گیاه که در طب سنتی از آن استفاده می‌شود، ریزوم آن است که در درمان انواع بیماری‌های گوارشی، اعصاب و بیماری‌های مفاصل استفاده می‌شود (۶-۸). در تحقیقات مختلف آزمایشگاهی که از سال ۱۹۹۰ تاکنون در کشورهای مختلف انجام شده، مشخص شده است که عصاره زنجبیل خواص آنتی‌باکتریال (۹، ۳) و ضدقارچ (۱۱، ۱۰) دارد. زردچوبه با نام علمی *Curcuma longa* شامل ۵ درصد عطرمایه، ۵ درصد ماده اصلی زردچوبه و پلی‌فنلی به نام کورکومین است (۱۲). فعالیت‌های ضد میکروبی برای کورکومین و عصاره ریزوم *C. longa* علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌های مختلف گزارش شده است

(۱۶، ۱۵). نتایج امیدوارکننده‌ای برای فعالیت ضد میکروبی کورکومین، آن را به گزینه مناسبی برای افزایش اثر مهاری عوامل ضد میکروبی موجود از طریق هم‌افزایی تبدیل کرده است (۱۳).

با توجه به آثار ضد میکروبی ذکر شده برای ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و زردچوبه، هدف اصلی این تحقیق بررسی آثار ترکیبی عصاره اتانولی این دو گیاه بر *استرپتوکوکوس موتانس* و مخمر *کاندیدا آلیکانس* و مقایسه آن با آثار ضد میکروبی کلرهگزیدین به‌عنوان یک دهان‌شویه شیمیایی است. علت انتخاب دهان‌شویه کلرهگزیدین به‌عنوان دهان‌شویه شاهد شیمیایی، این است که نخست، این دهان‌شویه در میان جوامع مختلف از جمله ایران طی چند دهه گذشته، به‌عنوان یک دهان‌شویه تأیید شده کاربرد گسترده‌ای یافته است و دوم، در اغلب منابع به‌عنوان دهان‌شویه آنتی‌سپتیک انتخابی با طیف اثر وسیع توصیه می‌شود (۱۷).

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره زنجبیل و زردچوبه از روش ماسراسیون و یا خیساندن استفاده گردید. برای انجام این روش، گیاه آسیاب شده در ظرف شیشه‌ای با حلال اتانول خیسانده و عصاره‌گیری در مکانی دور از تابش مستقیم نور خورشید انجام شد. پس از ۴۸ ساعت، عصاره به کمک دستگاه روتاری (هایدولف، ساخت کشور آلمان) تغلیظ و حلال عصاره حاصل تا حد امکان خارج گردید (۱۰)؛ سپس اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی ترکیب عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی زنجبیل و اندام هوایی گیاه دارویی زردچوبه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، در غلظت‌های مختلف (۸۰-۲۰، ۴۰-۶۰، ۵۰-۵۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) روی پاتوژن‌های دهانی (*استرپتوکوکوس موتانس* و *کاندیدا آلیکانس*) با استفاده از روش‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی (انتشار دیسک و انتشار چاهک) و ممانعت از تشکیل بیوفلم بررسی شد.

روش انتشار دیسک: آزمایش آنتی‌بیوگرام به روش Agar Disc Diffusion به این صورت است که دیسک بلانک آغشته به عصاره‌های گیاهی (زنجبیل-زردچوبه) با

داخل چاهک‌های میکروتیتر پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. چاهک اول محیط کشت بدون عصاره به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. به چاهک‌های بعدی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ترکیب به‌دست‌آمده به محیط کشت اضافه گردید. یک چاهک هم به‌عنوان شاهد منفی بدون عصاره و باکتری در نظر گرفته شد. در مرحله بعد، نیم مک‌فارلند از کشت ۲۴ ساعته میکروارگانیزم‌ها تهیه گردید و ۲۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون به همه چاهک‌ها، به‌جز چاهکی که به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شده بود، اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، محتویات داخل چاهک‌ها تخلیه شد و همه چاهک‌ها سه بار با بافر فسفات (سرم فیزیولوژی استریل) شستشو داده شدند تا همه باکتری‌های پلاتکتونیک حذف گردند. پس از خشک شدن میکروتیتر پلیت در دمای اتاق، ۲۰۰ میکرولیتر متانول به هر چاهک برای تثبیت باکتری‌های متصل به سطح داخلی دیواره چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه، محتویات چاهک‌ها دور ریخته شد و پلیت در درجه حرارت اتاق خشک گردید. به‌منظور رنگ‌آمیزی، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه اضافه و رنگ اضافی به‌طور کامل توسط جریان ملایم آب شسته شد و میکروپلیت در دمای اتاق خشک گردید. پس از این مرحله، برای سنجش میزان رنگ متصل‌شده به دیواره که نمایانگر میزان بیوفیلم است، به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر استیک اسید ۳۳ درصد اضافه شد تا رنگ‌های متصل به چاهک که بیان‌کننده میزان تشکیل بیوفیلم است، به‌خوبی حل گردد. پس از یکنواخت شدن محلول هر چاهک، میزان جذب در ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا (باپوتک، آلمان) خوانده شد.

وضعیت تشکیل بیوفیلم در چاهک‌ها نیز بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید که ODC میانگین جذب نوری چاهک‌های کنترل مثبت و OD میانگین جذب نوری چاهک‌های تیمار است (۱۱).

$$OD \geq ODC \text{ تشکیل نشدن بیوفیلم}$$

$$OD < ODC \leq 2ODC \text{ قدرت تشکیل بیوفیلم ضعیف}$$

$$2ODC < OD \leq 4ODC \text{ قدرت تشکیل بیوفیلم}$$

غلظت‌های مختلف (۲۰-۸۰، ۴۰-۶۰، ۵۰-۵۰، ۴۰-۶۰، ۶۰-۲۰-۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) به میزان ۵۰ میکرولیتر، دیسک‌های بلانک حاوی دهان‌شویه کلرهگزیدین ۰/۲ درصد (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، داروسازی آریا، ایران)، دیسک کنترل مثبت آغشته به آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، شرکت دارویی فارابی، ایران) و ضدقارچ نیستاتین (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، شرکت جابرین حیان، ایران) و دیسک حاوی دی‌متیل سولفو کساید به‌عنوان کنترل منفی، به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد تا خشک گردند؛ سپس روی محیط کشت مناسب که قبلاً توسط تلقیح میکروبی و قارچی (تهیه‌شده از سایت مرکز ذخایر ژنتیکی ایران با غلظت ۵/۱ مک‌فارلند معادل $10^8 \times 1/5$) آغشته شده بود، در فواصل مناسب قرار گرفتند. پس از آن، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (بهداد، ایران) قرار داده شدند و در ادامه، اثر دیسک حاوی ترکیب عصاره‌ها با دهان‌شویه و کنترل‌ها مقایسه گردید (۱۴).

روش انتشار چاهک: در این روش، از پلیت‌های حاوی محیط کشت اختصاصی (سویین کازین آگار) استفاده شد که آغشته به میکروارگانیزم‌های استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلیکانس بودند؛ سپس توسط یک پیت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک حفره در محیط کشت ایجاد گردید و داخل هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ها (غلظت‌های مختلف) و گروه‌های کنترل مثبت و منفی به‌طور جداگانه قرار داده شد. در ادامه، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و پس از آن، میزان مناطق مهاری بر اساس میلی‌متر ارزیابی گردید. در پایان، اثر ترکیب عصاره‌ها با دهان‌شویه و گروه کنترل مقایسه شدند (۱۴).

ممانعت از تشکیل بیوفیلم: بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و گیاه دارویی زردچوبه بر تشکیل بیوفیلم، به‌منظور اندازه‌گیری میزان اثر ضد بیوفیلم، با روش میکروتیتر پلیت و رنگ‌سنجی با کریستال ویوله انجام گردید. در این روش، ابتدا ۱۸۰ میکرولیتر از محیط کشت سویین کازین براث اختصاصی

متوسط

OD < 40DC قدرت تشکیل بیوفيلم قوی

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات توصیفی از طریق رسم نمودار و گزارش فراوانی (درصد) برای متغیرهای کیفی و میانگین (انحراف معیار) برای متغیرهای کمی انجام شد؛ همچنین به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیزم در گروه‌های بررسی شده، از آزمون کروسکال والیس استفاده گردید. برای به دست آمدن نتایج دقیق‌تر، آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار و میانگین آن در نظر گرفته شد. در همه آزمون‌ها سطح معناداری ۵ درصد در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار SPSS vol.22 انجام گردید.

این طرح با کد اخلاق IR.NKUMS.REC.1400.172 در دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی به تصویب رسیده است.

یافته‌های پژوهش

در این مطالعه، اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی غلظت‌های ترکیبی مختلف عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*) و عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه (*Curcuma longa*) با دهان‌شویه کلرهگزیدین ۰/۲ درصد، آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین (کنترل مثبت) و ضدقارچ نیستاتین (کنترل مثبت)، با استفاده از دو روش انتشار دیسک و انتشار چاهک روی استرپتوکوکوس موتانس و قارچ کاندیدا آلبیکانس بررسی شد؛ همچنین اثر ممانعت از تشکیل بیوفيلم این ترکیبات نیز با استفاده از روش بیوفيلم (میکروتیتر پلِت و رنگ‌سنجی با کریستال ویوله) ارزیابی گردید. نتایج انتشار دیسک: نتایج آزمون کروسکال والیس

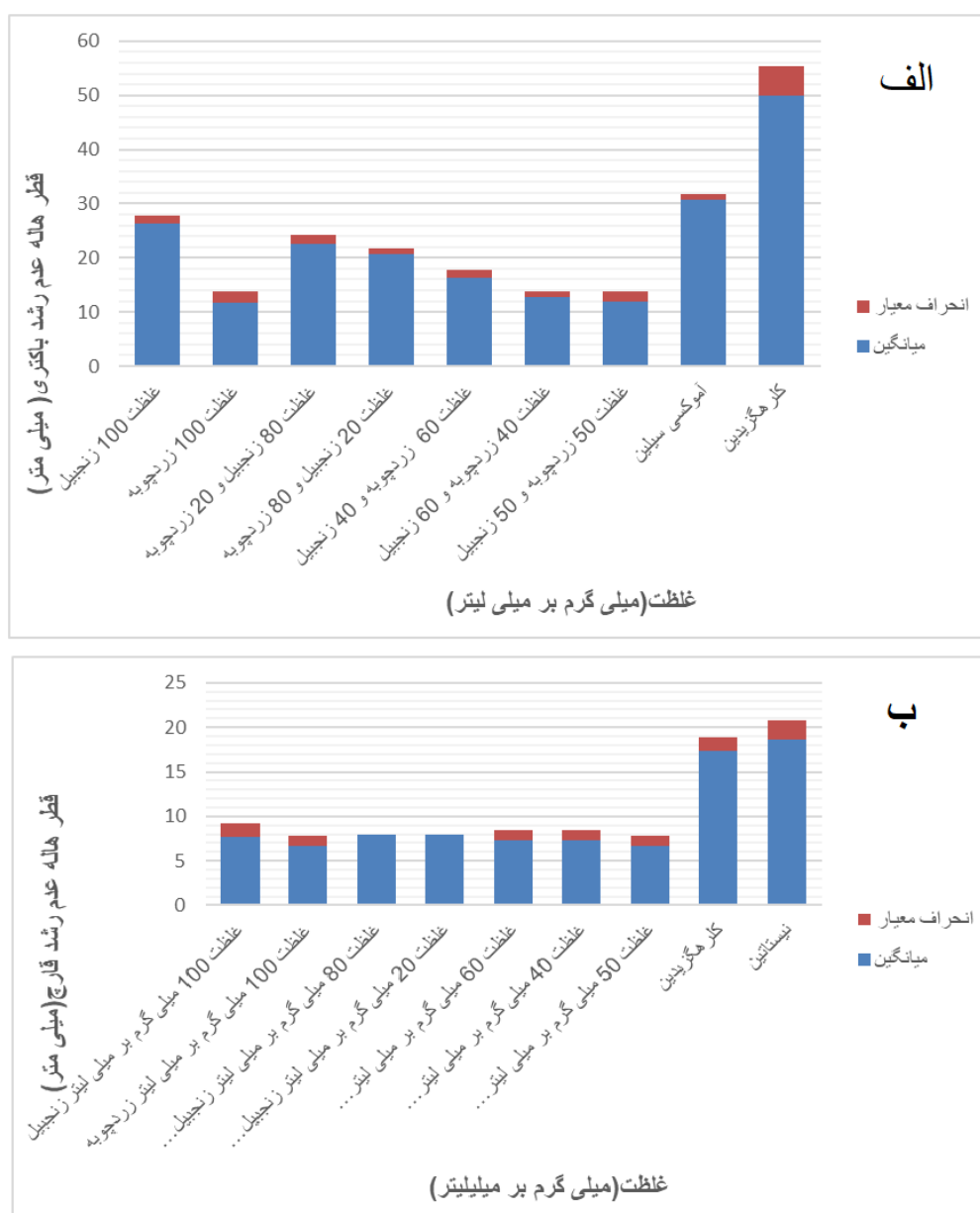
نشان داد که میان آثار ضدباکتریایی غلظت‌های ترکیبی مختلف عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه، آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین و دهان‌شویه کلرهگزیدین در روش انتشار دیسک، تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$)، به‌طوری‌که بیشترین آثار ضدباکتریایی (بیشترین قطر هاله عدم رشد) بر باکتری استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب مربوط به آموکسی‌سیلین، کلرهگزیدین و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر زنجبیل بود (با قطر هاله عدم رشد به ترتیب 52 ± 4 ، $52 \pm 2/33$ و $15 \pm 1/33$ میلی متر)؛ همچنین غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه (قطر هاله عدم رشد $58 \pm 7/11$ میلی متر) کمترین تأثیر ضدباکتریایی را علیه این باکتری داشت. در غلظت‌های ترکیبی، بهترین نتیجه ضدباکتریایی مربوط به عصاره زنجبیل با غلظت ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر و عصاره زردچوبه با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود (قطر هاله عدم رشد $53 \pm 1/33$ میلی متر) (شکل شماره ۱. الف).

با توجه شکل شماره ۱. ب مشخص شد که دهان‌شویه کلرهگزیدین، ضدقارچ نیستاتین و غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره اتانولی گیاه دارویی زنجبیل بیشترین تأثیر ضدقارچی را علیه قارچ کاندیدا آلبیکانس دارند (با قطر هاله عدم رشد به ترتیب $53 \pm 1/33$ ، $19 \pm 1/33$ و $14 \pm 7/67$ میلی گرم بر میلی لیتر)؛ همچنین غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه با قطر هاله عدم رشد $58 \pm 0/33$ میلی متر، کمترین تأثیر ضدقارچی را علیه این قارچ نشان داد ($P < 0.05$). در غلظت‌های ترکیبی، نتایج ضدقارچ مشابهی با قطر هاله عدم رشد حدود ۱۰ میلی متر مشاهده شد (شکل شماره ۱. ب).

ضدباکتریایی مربوط به عصاره زنجبیل با غلظت ۸۰ میلی گرم در میلی لیتر+عصاره زردچوبه با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود (با قطر هاله عدم رشد $1/53 \pm 22/67$ میلی متر) (شکل شماره ۲. الف).

همچنین میان اثر ضدقارچی غلظت‌های ترکیبی مختلف گیاه زنجبیل و زردچوبه، کلرگزیدین و ضدقارچ نیستاتین در روش انتشار چاهک، تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$)، به‌طوری که نیستاتین و دهان‌شویه

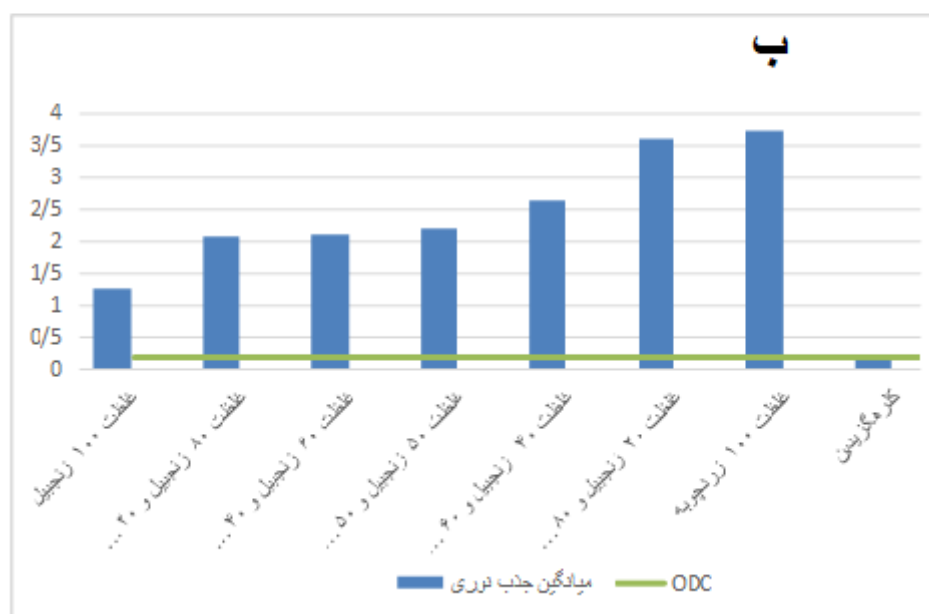
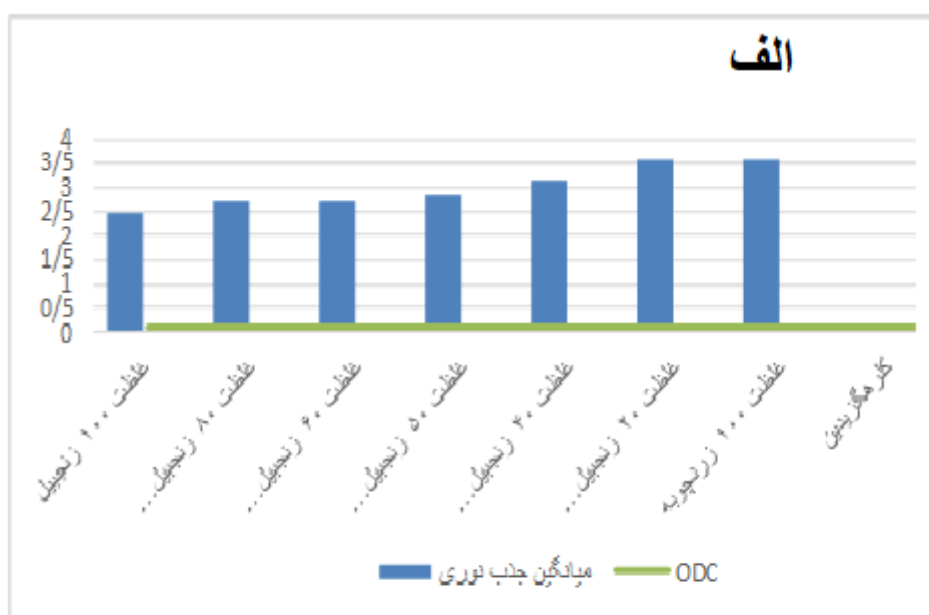
کلرگزیدین بیشترین تأثیر ضدقارچی را علیه قارچ *کاندیدا آلبیکانس* نشان دادند (با قطر هاله عدم رشد به ترتیب $1/08 \pm 67/2$ و $1/53 \pm 17/33$ میلی متر)؛ همچنین میان غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه و غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و غلظت‌های ترکیبی، نتایج ضدقارچ مشابهی با قطر هاله عدم رشد بین ۷-۸ میلی متر مشاهده شد (شکل شماره ۲. ب).



شکل شماره ۲. نتایج آثار ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه و گروه‌های کنترل بر قطر هاله عدم رشد (میلی متر) با روش چاهک پلیت. الف. روی باکتری *استریپتوکوکوس موتانس*؛ ب. روی قارچ *کاندیدا آلبیکانس* (داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است).

بر میلی‌لیتر) دهان‌شویه کلرهگزیدین قادر است که از تشکیل بیوفیلم باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* (شکل شماره ۳. الف) و قارچ *کاندیدا آلیکانس* (شکل شماره ۳. ب) جلوگیری کند. در سایر غلظت‌ها، نتایج حاکی از تشکیل بیوفیلم قوی بود.

نتایج ممانعت از تشکیل بیوفیلم: وضعیت تشکیل بیوفیلم در غلظت‌های مختلف با استفاده از فرمول مطرح‌شده در روش کار محاسبه گردید. نتایج اثر ممانعت از تشکیل بیوفیلم در غلظت‌های ترکیبی مختلف عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه نشان داد که تنها غلظت ۱۰۰ (میلی گرم



شکل شماره ۳. توزیع اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زنجبیل و عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه و گروه‌های کنترل بر جذب نوری *استرپتوکوکوس موتانس* (الف) و *کاندیدا آلیکانس* (ب) با روش بیوفیلم

است که اتیولوژی آن چندعاملی است و ثابت‌شده که یک بیماری وابسته به پلاک میکروبی است. پوسیدگی در حضور

بحث و نتیجه‌گیری

پوسیدگی دندان بیماری تخریبی نسج سخت دندان

باکتری‌های اسیدوژنیک مثل *استرپتوکوکوس موتانس* به شدت افزایش می‌یابد؛ همچنین قارچ *کاندیدا آلیکانس* قارچ فرصت‌طلبی است که علی‌رغم داشتن پروتازهای گوناگون، توانایی بسیاری در تخریب و تهاجم بافتی ندارد، مگر اینکه فرصت تکثیر و راه ورود پیدا کند؛ بنابراین، بهتر است از ورود و تکثیر آن جلوگیری شود (۱۱). با توجه به گسترش روزافزون مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به داروهای موجود و نیز آثار جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی، جستجوی ترکیبات ضد میکروبی جدید مشتق از گیاهان مدنظر قرار گرفته است (۱۱). با توجه به عوارض جانبی دهان‌شویه‌های سنتتیک، استفاده از دهان‌شویه‌های گیاهی در صورتی که کارایی مطلوب داشته باشند، بسیار مفید خواهد بود؛ بنابراین، در مطالعه حاضر، به بررسی اثر ضد میکروبی غلظت‌های ترکیبی عصاره اتانولی زنجبیل و زردچوبه روی *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلیکانس* و مقایسه آن با آثار ضد میکروبی کلرگزیدین به صورت برون‌تنی پرداخته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی زنجبیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، بیشترین اثر مهاري را بر رشد باکتری‌های پاتوژن، در مقایسه با عصاره تام زردچوبه و غلظت‌های ترکیبی، در روش‌های انتشار دیسک و انتشار چاهک دارد. با وجود این، در روش ممانعت از تشکیل بیوفلم، تنها غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر کلرگزیدین مانع از تشکیل بیوفلم شد.

همسو با مطالعه حاضر، مطالعات مختلفی خواص ضدباکتریایی قابل توجه زنجبیل را به اثبات رسانده‌اند (۹، ۱۸، ۳). در این مطالعه، آثار ضدقارچی عصاره اتانولی زنجبیل (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) در مقایسه با آثار آنتی‌باکتریال آن کمتر بود که نشان‌دهنده مقاومت *کاندیدا آلیکانس* در برابر عصاره‌ها در مقایسه با باکتری‌ها است. *کاندیدا آلیکانس* یک قارچ فرصت‌طلب است و در هر فرصت و شرایطی قادر به رشد است (۱۱)؛ بنابراین، برای مهار رشد این قارچ نیاز به یک ماده با آثار ضدقارچی بسیار قوی است. مطالعات مشابهی نیز خواص ضدقارچی عصاره زنجبیل را نشان داده‌اند (۵، ۱۱). مطالعه الیهان و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که

عصاره متانولی زردچوبه در مقایسه با عصاره آبی آن، آثار بهتری در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای مطالعه‌شده (*استرپتوکوکوس پایورنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آنروژینوزا*) داشتند؛ اما قدرت مهاري کمتری در مقایسه با کنترل مثبت کاناماسین نشان دادند (۱۹). مغایر با نتایج این مطالعه، در بررسی حاضر، کمترین اثر ضد میکروبی و ضدقارچی مربوط به عصاره اتانولی زردچوبه بود که از علل آن می‌توان به تفاوت در نوع حلال عصاره‌گیری و نوع باکتری بررسی‌شده اشاره نمود؛ همچنین نور فرزین و همکاران در سال ۲۰۱۲، آثار ضد میکروبی گیاه زردچوبه را در برابر باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی، باکتری گرم منفی (*شیگلا*، *سالمونلا*) و گرم مثبت (*لیستریا*) بررسی کردند و نشان دادند که عصاره متانولی و کلروفرمی زردچوبه آثار بالقوه ضدباکتریایی علیه هر دو باکتری دارد (۲۰)، در حالی که در مطالعه حاضر، عصاره اتانولی زردچوبه اثر ضد میکروبی چشمگیری از خود نشان نداد. در این مطالعه، از غلظت‌های مختلف عصاره زنجبیل و زردچوبه استفاده شد. بر اساس تجزیه و تحلیل‌های آماری مشخص گردید که با کاهش غلظت عصاره اتانولی زنجبیل، میزان اثر ضدباکتریایی آن کاهش می‌یابد؛ بنابراین، باید به حداقل ماده مؤثر عصاره زنجبیل، برای اثر مهارکنندگی بر رشد میکروب‌ها دقت کرد و از آنجا که بوی تند این عصاره امکان استفاده بیشتر از حد این عصاره را نمی‌دهد، لزوم انجام تحقیقات بیشتر برای تعیین دقیق مقدار ماده مؤثر زنجبیل (*gingerol*) لازم به نظر می‌رسد. مطابق با یافته‌های ما، نتایج تحقیق سیاه‌رول و همکارانش در سال ۲۰۲۳ نشان داد که عصاره‌های زردچوبه و زنجبیل قرمز با غلظت‌های ۱۵ درصد، ۳۰ درصد و ۶۰ درصد قادر به مهار *S. mutans* بودند. از سویی، آثار ضدباکتریایی هر دو عصاره ۶۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشتند و در شرایط آزمایشگاهی، اثربخشی مشابهی با کلرگزیدین داشتند؛ بنابراین، برای بهتر شدن نتایج ضد میکروبی عصاره زنجبیل شاید بتوان از ترکیب آن با عصاره‌های دیگر استفاده کرد که این خود تحقیقات گسترده‌تری را می‌طلبد (۲۱).

دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی برای تصویب این طرح با کد اخلاق IR.NKUMS.REC.1400.172 کمال تشکر و قدردانی را دارند.

حمایت مالی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی برای تأمین منابع مالی این طرح با کد ۴۰۰۰۱۵۲ تشکر می‌کنند.

مشارکت نویسندگان

سمانه ملازاده: اجرای طرح و نوشتن نسخه اولیه مقاله؛ پرستو ضرغامی مقدم و امیرمحمد مکرمی: کمک در اجرای طرح؛ علیرضا افشاری صفوی: انجام تجزیه و تحلیل آماری و یاسمن آل یاسین: پیشنهاد طرح و ویرایش نسخه اولیه.

ماده استفاده شده دیگر در مطالعه حاضر کلرگزیدین بود که خواص ضد میکروبی آن علاوه بر تأیید شدن در مطالعه ما، در تحقیقات دیگر (۲۴-۲۲، ۱۷) نیز تأیید شده است؛ بنابراین، استفاده از این دهان شویه در کاهش بار میکروبی پس از جراحی‌های پریدنتال و یا بیماری‌های میکروبی پیشنهاد می‌شود. از آنجا که آثار ضدقارچی این دهان شویه کمتر از آثار ضدباکتریایی آن است، استفاده از این دهان شویه برای درمان کاندیدوزیس نیاز به تحقیقات بیشتر و حصول نتایج بهتر و مطلوب‌تر دارد.

نتایج این مطالعه نشان داد، غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه دارویی زنجبیل بیشترین اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی را روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* و قارچ *کاندیدا آلبیکانس* داشت؛ اما در مقایسه با کلرگزیدین، در مقابله با تشکیل بیوفلم چندان مؤثر نبود. غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی ساقه زیرزمینی گیاه دارویی زردچوبه نیز کمترین اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی را از خود نشان داد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشخص شد که عصاره‌های زنجبیل و دهان شویه کلرگزیدین آثار ضدباکتریایی و ضدقارچی داشتند؛ اما برای استفاده درمانی به عنوان دهان شویه گیاهی، نیاز به تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

از محدودیت‌های مطالعه می‌توان به استفاده نکردن از MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) اشاره نمود که به تصمیم‌گیری درباره دوز مؤثر کمک می‌کند.

سپاس‌گزاری

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی که ما را در اجرای این طرح یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافی در این مقاله وجود ندارد.

کد اخلاق

نویسندگان از معاونت محترم تحقیقات و فناوری

References

1. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. *Molecules*. 2021;26:2001. doi: 10.3390/molecules26072001.
2. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int Dent J*. 2022;72:269-77. doi: 10.1016/j.identj.2022.01.005.
3. Akoachere JT, Ndip R, Chenwi E, Ndip L, Njock T, Anong D. Antibacterial effects of *Zingiber officinale* and *Garcinia kola* on respiratory tract pathogens. *East Afr Med J*. 2002;79:588-92. doi: 10.4314/eamj.v79i11.8804.
4. Borrelli F, Capasso R, Pinto A, Izzo AA. Inhibitory effect of ginger (*Zingiber officinale*) on rat ileal motility in vitro. *Life Sci*. 2004;74:2889-96. doi: 10.1016/j.lfs.2003.10.023.
5. Ficker CE, Smith ML, Susiarti S, Leaman DJ, Irawati C, Arnason JT. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J Ethnopharmacol*. 2003;85:289-93. doi: 10.1016/s0378-8741(03)00009-6.
6. Dügenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J Ethnopharmacol*. 2003;88:99-106. doi: 10.1016/s0378-8741(03)00182-x.
7. Bliddal H, Rosetzsky A, Schlichting P, Weidner M, Andersen L, Ibfelt HH, et al. A randomized, placebo-controlled, cross-over study of ginger extracts and ibuprofen in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000;8:9-12. doi: 10.1053/joca.1999.0264.
8. Mascolo N, Jain R, Jain S, Capasso F. Ethnopharmacologic investigation of ginger (*Zingiber officinale*). *J Ethnopharmacol*. 1989;27:129-40. doi: 10.1016/0378-8741(89)90085-8.
9. Mahady GB, Pendland SL, Yun GS, Lu ZZ, Stoia A. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the gingerols inhibit the growth of Cag A+ strains of *Helicobacter pylori*. *Anticancer Res*. 2003;23:3699-702.
10. Ficker C, Smith M, Akpagana K, Gbeassor M, Zhang J, Durst T, et al. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. *Phytother Res*. 2003;17:897-902. doi: 10.1002/ptr.1335.
11. Endo K, Kanno E, Oshima Y. Structures of antifungal diarylheptenones, gingerenones A, B, C and isogingerenone B, isolated from the rhizomes of *Zingiber officinale*. *Phytochemistry*. 1990;29:797-9. doi:10.1016/0031-9422(90)80021-8.
12. Jyotirmayee B, Mahalik G. A review on selected pharmacological activities of *Curcuma longa* L. *Int J Food Prop*. 2022;25:1377-98. doi: 10.1080/10942912.2022.2082464.
13. Zorofchian Moghadamtousi S, Abdul Kadir H, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *Biomed Res Int*. 2014;2014:186864. doi: 10.1155/2014/186864.
14. Mohebbi S, Motamedosanaye V, Molazadeh S, Zarghami Moghaddam P, Afshari-Safavi A. In vitro evaluation of the combined effect of different concentrations of the calcium hydroxide and ethanolic extract of *Allium hirtifolium* on the oral pathogen (*Enterococcus faecalis*). *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2024;16:86-92. doi: 10.32592/nkums.16.3.86.
15. Gardare M, Kothawade S, Padwal V, Waghmare S, Kamble H. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *World J Pharm Res*. 2021;11. doi: 10.20959/wjpr20221-22680.
16. Khan MA, Moghul NB, Butt MA, Kiyani MM, Zafar I, Bukhari AI. Assessment of antibacterial and antifungal potential of *Curcuma longa* and synthesized nanoparticles: A comparative study. *J Basic Microbiol*. 2021;61:603-11. doi: 10.1002/jobm.202100010.
17. 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;80:685-90. doi: 10.1016/s0022-3913(98)70056-3.
18. Habsah M, Amran M, Mackeen M, Lajis N, Kikuzaki H, Nakatani N, et al. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. *J Ethnopharmacol*. 2000;72:403-10. doi: 10.1016/s0378-8741(00)00223-3.
19. Al-Daihan S, Al-Faham M, Al-shawi N, Almayman R, Brnawi A, shafi Bhat R. Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. *J King Saud Univ Sci*. 2013;25:115-20. doi: 10.1016/j.jksus.2012.11.003.
20. Noor Fazreen D, Jeyalakshmi R, editors. Determination of antibacterial activity of *Curcuma longa* against selected food poisoning causing bacteria. Conference: Malaysian Science Technology Congress; 2012.
21. Syahrul D, Nasutianto H, Hutabarat GN. Comparison of turmeric extract (*Curcuma longa*) with red ginger (*Zingiber officinale* Linn. Var. rubrum) in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans* in vitro. *MDJ*. 2023;12:213-5.
22. Ataei Z, Abdollahi H, Salarzadeh M. In vitro comparison of the effect of Iranian nystatin and chlorhexidine mouthwashes with foreign samples on standard and local isolated strains of

- Candida albicans*. J Dent Med-tums. 2006; 18:69-76.
23. Barasch A, Safford MM, Dapkute-Marcus I, Fine DH. Efficacy of chlorhexidine gluconate rinse for treatment and prevention of oral candidiasis in HIV-infected children: a pilot study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;97:204-7. doi: 10.1016/j.tripleo.2003.09.005.
 24. Khaleghi Dehghan E, Navabi N, Tajrobehkar O, Agahi R, Ranjbar Hassani A. Evaluating the Efficacy of Antiseptic Mouthwashes in Inhibiting Helicobacter Pylori Growth: A Comparative In-Vitro Study. 2024.doi: 10.2139/ssrn.4882052.