

دراسة سريرية لتحديد تأثير الكلور هيكسدين 0,12 % على العقديّة الطافرة عند أطفال الفئة العمريّة 9-12 سنة

أ.د. محمد زياد سلطان* ** محمد أحمد صطيف

(الإيداع: 7 كانون الأول 2021، القبول: 16 كانون الثاني 2022)

الملخص:

المقدمة : الجراثيم موجودة بكثرة في التجويف الفموي وعندما لا حينما لا تزال تشكل و البقايا الطعامية ما يسمى اللويحة الجرثومية. هذه اللويحة الجرثومية تؤدي إلى تطور الأمراض الفموية المختلفة، لذلك لابد من استخدام طرائق عديدة لإزالة اللويحة الجرثومية مثل الكلورهيكسيدين الذي أظهر نتائج جيدة ضد الجراثيم الفمويّة.

الهدف : تحديد تأثير محلول الكلورهيكسيدين 0.12% على العقديّة الطافرة عند أطفال الفئة العمريّة 9-12 سنة.

المواد و الطرائق : أجري البحث على 50 طفل تتراوح أعمارهم بين 9-12 سنة، حيث تم انتقاؤهم (25 طفلاً و 25 طفل أنثى) وذلك بعد أخذ موافقة أهالي الأطفال، أخذت العينة في الصباح مع منع الأطفال من تنظيف الأسنان بالفرشاة و عن الأكل والشرب (باستثناء الماء) قبل ساعتين من أخذ العينة. ثم طلب من الطفل أن يمضغ شمع البارافين لمدة دقيقة و بصق اللعاب الذي تم جمعه في فمه داخل العبوة المعقمة المستخدمة لنقل العينات، بعدها استخدم 10 مل من الغسول الفموي الحاوي على 0.12% من الكلورهيكسيدين وطلب من الطفل وضعها داخل الفم و تحذيره من بلعها والقيام بتحريكها لمدة دقيقتين، ثم بصقها خارج الفم، وبعد 1 ساعة طلب من الطفل تكرار عملية مضغ شمع البارافين ثم أخذ عينة اللعاب الثانية بجعله يبصق في عبوة المعقمة غير عبوة العينة الأولى، إذ قمنا بالتخفيف التسلسلي للعينة وبعدها نجري الزرع الجرثومي على المنبت الخاص بالعقديّة الطافرة المحضر سابقاً، و ثم يتم نقلت المنابت الى المشفى الوطني بحماة لإجراء عملية التحضين. ثم أجري عملية عد الجراثيم.

النتائج : بلغ معدل انخفاض عدد المستعمرات حين استخدام مضامض الكلورهيكسيدين 87.96%، و بلغ الانخفاض في العدد الجرثومي (الجراثيم في الملي ليتر CFU/ml) 82.34%.

الاستنتاجات : نتائج هذه الدراسة أظهرت هذه الدراسة أن مضامض الكلورهيكسيدين 0.12% ذات فعالية جيدة في النقل من العقديّة الطافرة.

الكلمات المفتاحية : مضامض فموية – كلورهيكسيدين – العقديات الطافرة

* رئيس جامعة حماة-أستاذ في قسم طب أسنان الأطفال – كلية طب الأسنان – جامعة حماة

** طالب دراسات عليا – قسم طب أسنان الأطفال – كلية طب الأسنان – جامعة حماة

A Clinical Study to Determine the Effect of Chlorhexidine 0.12% on Streptococcus Mutans in Children 9–12 Years

Mohammad Ziad Sultan *

Mohammad Ahmad Stif **

(Received: 7 December 2021 ,Accepted: 16 January 2022)

Abstract:

Oral health is very important because the mouth is the main gateway for various germs to enter the human body. These germs are abundant in the oral cavity. When these germs are not removed, they form with food remains what is called bacterial plaque. This bacterial plaque leads to the development of various oral diseases. Therefore, many methods must be used to remove bacterial plaque, such as Chlorhexidine showed good results against oral bacteria. Determination of the effect of 0.12% chlorhexidine solu on on Streptococcus Mutans in 9-12-year children. The research was selected (25 male children and 25 female children), after obtaining the consent of the children's parents. The sample will be taken (in the morning, with children prohibited from brushing their teeth and from eating and drinking except for water). We ask the child to chew the paraffin wax for one minute until the piece of wax becomes soft and allows him to swallow the saliva and then chew it for another two minutes. Finally, the child is asked to keep a piece of wax in his mouth and spit the collected saliva into the sterile container used to transport the samples. Then we use 10 ml of mouthwash containing 0.12% chlorhexidine and ask the child to put it inside his mouth, warning him not to swallow it and move it for two minutes and then spit it out of the mouth. After one hour, we ask the child to repeat the process of chewing the paraffin wax and then take the second saliva sample by making him spit into the sterile container other than the sample of the first bottle. The saliva sample will be transferred to the Faculty of Veterinary Medicine at Hama University immediately. Then we do serial dilution of the sample and then we perform bacterial culture on the culture of Streptococcus Mutans previously prepared. Then the germs are transferred to the National Hama Hospital for the incubation process. After the end of the incubation time for each dish and the appearance of bacterial colonies, we start the process of bacterial colony counting .The rate of decrease in the number of colonies when using chlorhexidine rinses was 87.96, and the decrease in the number of bacteria (bacteria in CFU/ml) was 82.34%. **Conclusion:** The results of this study showed that chlorhexidine is effective in reducing Streptococcus Mutans

Key Words: Mouth Rinse - Chlorhexidine- Streptococcus Mutans.

*President of Hama University, Professor in Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry – Hama University

** D.D.S. Postgraduate Student

1-المقدمة:

إن المسبب الرئيسي لالتهاب اللثة هو اللويحة الجرثومية، ولأكثر من ألفي عام كانت المضامض الفموية هي العلاج الرئيسي لالتهاب اللثة وأمراض النسيج الداعمة لكل من المراهقين والكهول وحتى الأطفال الرضع.

(Van der Weijden F, Slot D, 2000)

إن استخدام الغسولات الفموية هي عادة قديمة جداً من أجل التقليل من الجراثيم ولتخفيف رائحة الفم الكريهة ولإنعاش النفس، وإن التنوع الجرثومي داخل الفم أدى الى تنوع وسائل العناية الفموية مثل المعاجين و المضامض الفموية المختلفة، حيث تم استخدام العديد من المواد في صناعة المضامض الفموية مثل الكلورهيكسيدين والمركبات الكحولية الأخرى. Moran JM, (2000)، حيث تستطب غسولات الفم في حالات النخر المنتشر والمعالجة التقويمية والخمود اللعابي (الناجم عن حالات مرضية أو دوائية) وتثبيت الفكين وفرط الحساسية السنية، وترتبط فعالية الغسولات الفموية بمنع النخر مع تكرار التطبيق. (سلطان، 2009)

أشكال الكلورهيكسيدين التجارية:

الغسول الفموية Mouthrinses :

المحلول المائي والكحولي لـ 0.2 % من الكلورهيكسيدين هو أول منتج ظهر في أوروبا وتوفر كمضامض فموية يستعمل مرتين يومياً، وكانت جرعة المضمضة تساوي 15 مل. كشفت الدراسات أن تأثيره مشابه لتأثير التركيز 0.2 % عند استعماله بالجرعة المطلوبة. إن الغسولات الفموية الشائعة سابقاً كانت تحتوي على كلورهيكسيدين بتركيز 0.2% مذاب في محلول كحولي مائي، ولكن فيما بعد أصبحت الغسولات الفموية بتركيز 0.1% كلورهيكسيدين هي المتوفرة. ثم ظهرت منتجات تحوي تركيز (0.12%) والتي تبين إعطائها نفس الفاعلية لدى مقارنتها بنفس الحجم لمنتجات بتركيز (0.2%)، وبالتالي هي الأفضل والأكثر انتشاراً في الوقت الحالي. (Van Strydonck DA, Slot DE, Van der Velden U.2012)

الهلام 1% Gel:

هلام الكلورهيكسيدين كان الشكل التجاري الثاني المتوفر، ويمكن استعماله بالنفريش أو بوضع طبقة منه على الأسنان. إن توزيع الجل في أنحاء الفم يبدو ضعيفاً ولا بد للمستحضر من ملامسة كل السطوح السنية حتى يكون فعالاً. حالياً يوجد جل بتركيز 0.2 % و 0.22 % . (Anauate-Netto C, Anido-Anido A.2014) وأيضاً متوفر بتركيز (0.1%) كلورهيكسيدين ، وحديثاً توافر بتركيز (0.2%) و (0.12%) كلورهيكسيدين . يطبق بالفرشاة السنية أو الطوابع . عند استخدام فرشاة الأسنان في تطبيقه فإنه من الصعب توزيعه على جميع السطوح السنية (2011). (Bajaj N, Tandon S). أما عندما نستخدم الطوابع لحمل الهلام فتكون الفعالية أكبر ضد اللويحة والتهاب اللثة وبشكل خاص عند المعاقين، إلا أن نظام الطوابع لم يتقبل بشكل كبير من قبل الأشخاص المطبق عليهم . ينقص تطبيق هلام الكلورهيكسيدين 1% (3-4 مرات في اليوم وعلى مدى يومين أو تطبيقه يومياً مرة واحدة على مدى 14 يوماً) من المستويات اللعابية للعقديات الطافرة ولمدة تراوحت من 4-26 أسبوع.

(Jose A, Butler A, Payne D.2015)

البخاخ Sprays:

يتوافر في بعض البلدان الأوروبية وأظهرت الدراسات على بخاخ الكلورهيكسيدين 0.2 % وجرعة ضئيلة منه تتراوح حوالي (1-2 ملغ) تصل لجميع السطوح السنية وتؤدي لكبح لويحة مشابه لتأثير المضامض 0.2 % . يبدو البخاخ مناسباً

للاستعمال لدى الأشخاص المعاقين عقليا وجسديا ويظهر قبولاً جيداً عندهم، ويكون متوفر بتركيز (0.1%) و (0.2%).
(Southern EN, McCombs GB.2006)

معاجين الأسنان **Toothpastes**:

من الصعب تشكيل الكلورهيكسيدين كمعجون أسنان بسبب عدم التأكد من ملاسته لكامل السطوح السنية. بالرغم من أن الدراسات السريرية أظهرت بأن هذا الشكل فعال جداً وحالياً يوجد العديد من المعاجين الحاوية على الكلورهيكسيدين والتي أظهرت فعاليتها. (Stookey GK, Beiswanger B.2005)

ولكن تم تصنيع معجون (1%) كلورهيكسيدين بدون ومع فلور حتى يكون أقوى من حيث السيطرة على منع اللويحة والتهاب اللثة وتم تجربته بدراسة لمدة 6/ أشهر وذلك بالاستخدام المنزلي وكانت النتائج أن التبقع زاد وكذلك القلح فوق اللثوي وتم إيقاف تصنيع المنتج. (Van Strydonck DA, Slot DE.2012)

الفرنيش **Varnishes** :

يستعمل فرنيش الكلورهيكسيدين بشكل رئيسي للوقاية من نخور الجذور والأعناق بدلاً من تطبيقه على كامل الفم. تعتبر فرنيشات الكلورهيكسيدين الشكل الأكثر فعالية للتطبيق المهني ضمن العيادة السنية، حيث يتميز بسهولة التطبيق وتقبله الجيد من قبل المريض رغم النكهة غير المحببة كونه لا يسبب تلوناً بالأسنان. (Moran JM.2008) تتميز الفرنيشات بالقدرة على تطبيق تراكيز عالية من الكلورهيكسيدين (1% ، 10% ، 40%)، مع المحافظة على هذا التركيز لفترة أطول من الجل لذلك استخدمت هذه الفرنيشات للوقاية من ومعالجة أمراض النسخ حول السنية، وتم تطبيقها ضمن الجيوب حول السنية بعد المعالجة السببية من تقليح وتسوية الجذور وأظهرت تناقصاً في عمق هذه الجيوب (Lorenz K, Bruhn G.2009). كما استخدمت فرنيشات الكلورهيكسيدين لتدبير نخور الجذور خصوصاً عند المرضى غير القادرين على انجاز عناية صحية فموية منتظمة في المنزل أو ضمن العيادة السنية (James, Parnell et al. 2010). أنقص تطبيق فرنيش الكلورهيكسيدين 40% من تعداد العقديات الطافرة عند المرضى الخاضعين للمعالجة التقويمية ولمدة استمرت شهراً بعد التطبيق.

(Sridhar V, Wali GG, Shyla HN.2011)

الاستعمالات السريرية **Clinical Uses**:

1- كعامل مساعد على العناية بالصحة الفموية لدى المرضى كإجراء تحضيري للجراحة. (Hita P, Torres D.2008)
2- التطبيق بعد الجراحة بما فيها الجراحة حول السنية وتسوية الجذور. و يمكن تطبيقه بعد الجراحة طالما أنه يتميز بخفض أعداد الجراثيم في الحفرة الفموية والوقاية من تشكل اللويحة في الوقت الذي يكون فيه التنظيف الميكانيكي صعباً أو غير مريح. (Torres-Lagares D.2006)

3- استبدلت الضمادات اللثوية بشكل واسع بالضمامض حول السنية في الجراحات حول السنية. لكن يجب أن يُستعمل مباشرة بعد العمل الجراحي ولمدة من الزمن إلى أن يستطيع المريض القيام بعناية فموية وحول سنية طبيعية؛ تبعاً لجدول المواعيد يمكن أن يُستعمل خلال فترة المعالجة ولمدة عدة أسابيع بعد انتهاء خطة المعالجة. (Babar A, Ibrahim MW, Baig NJ.2012)

4- إن المضمضات الفموية الحاوية على عوامل مضادة للجراثيم مثل الكلورهيكسيدين لا تمنع تشكل اللويحة الجرثومية تحت الضماد اللثوي، لذا لا يمكن استعمالها كعامل مساعد على الشفاء في حالات تطبيق الضماد. من جهة أخرى، أظهرت النتائج من الدراسات والاختبارات السريرية أن تطبيق الضماد اللثوي ليس ضرورياً أو حتى غير منصوح به بعد إجراءات الشرائح اللثوية ويمكن بشكل مفيد استبدالها بمضمضات الكلورهيكسيدين فقط.

(Oltamari-Navarro PV,2009)

5-مرضى تثبيت الفك: إن العناية الفموية صعبة جزئياً عندما يكون الفك مثبتاً بالمثبتات المختلفة وقد تبين بأن الكلورهيكسيدين أظهر انخفاضاً كبيراً في أعداد الجراثيم التي تميل للزيادة عند تثبيت الفكين.

(Seyyedi SA, Sanatkhani M, Pakfetrat A.2014)

6-العناية الفموية وصحة اللثة عند المعاقين عقلياً وجسدياً: وُجِدَ بأن الكلورهيكسيدين ذو استعمال مفيد لدى المعاقين عقلياً وجسدياً حيث حسن الصحة الفموية واللثوية لديهم، وخصوصاً عند استعمال البخاخ 0.2 %

(Delilbasi C, Saracoglu U,2002).

7-حل أو تسوية طيبة للمرضى المعرضين إلى الإلتانات الفموية: إن عدداً في الحالات الطبية والتي تتضمن نقل نقي العظام أو المعالجات الشعاعية، وأمراض الدم مثل اللوكيميا، HIV. تحتاج إلى عناية شخصية خاصة. نظراً لتعرض أصحابها للالتهابات الحادة والمزمنة والإلتانات الفطرية لذا فإن مضامض الكلورهيكسيدين هي الحل. وتشكل جزء من المعالجة في التهاب اللثة التمتوتي المقترح لدى مرضى الإيدز، والذين لا تُجدي معهم المعالجة الميكانيكية الموضعية نفعاً ولا تُبدي أي تحسن أما، في باقي الأمراض فهو يشكل عاملاً مساعداً في المعالجة الوقائية بالإضافة إلى مضادات الالتهاب المستعملة جهازياً. (Chapple. 2015)

8-المرضى المعرضين للنخر: يستطيع هلام ومضامض الكلورهيكسيدين أن تخفف بشكل معتبر في عدد جراثيم العقديّة الطافرة لدى الأشخاص المعرضين للنخور بشكل كبير كما تبين أنه يتأزر مع الفلورايد بحيث أن الخلط بينه والفلورايد في مركب واحد يظهر فوائد عظيمة لدى هؤلاء المرضى. (Berchier CE, Slot DE.2008)

9-القرحات الفموية المتكررة: أظهرت عدة دراسات أن هلام ومضامض الكلورهيكسيدين تقلل من تكرار ومدة وشدة القرحات الفموية القلاعية المتكررة وإن آلية تأثيره هنا غير واضحة لكنها قد تُعزى إلى تناقص تلوث القرحات بالجراثيم الفموية. تتراوح الجرعات بين 3 مرات استعمال يومية لعدة أسابيع، ومن المثير للاهتمام أيضاً هنا أن التريكلوسان يقلل من تكرار الآفات القلاعية الوحيدة. (Radvar M, Moeintaghavi A.2016)

10-مرضى الأجهزة التقويمية الثابتة والمتحركة: إن السيطرة على اللويحة في المراحل الباكرة من تطبيق الأجهزة التقويمية قد يكون صعباً ومعقداً. لذا يمكن وصف الكلورهيكسيدين لمدة 4 - 8 أسابيع الأولى من التطبيق بالإضافة إلى أنه يستطيع تخفيف عدد وشدة ووذمة القرحات الناشئة خلال 4 أشهر الأولى من تطبيق الأجهزة التقويمية الثابتة. (Ousehal L, LazrakL.2011)

11-في معالجة التهاب الفم تحت الأجهزة التعويضية: ذكر الكلورهيكسيدين في معالجة الآفات الفطرية المسببة لالتهاب الفم، إن تطبيق الهلام على السطح الموهوف وعلى سطح الجهاز المقابل ذو تأثير بطيء وغير كامل في كثير من الحالات، وهو ذو فائدة أكبر عند استعماله مع مضادات الفطور النوعية لعلاج والتهاب الفم الفطري تحت التعويضات مثل الأمفوتريسين B وبعدها تطبيقه كعامل وقائي. إن الجهاز التعويضي بحد ذاته يمكن أن يطهر بنقعه بمحلول الكلورهيكسيدين. (Addy M, Sharif N, Moran J.2005)

12-التطبيق قبل العمل الجراحي: إن هذا الاستعمال يمكن أن يتم مباشرة قبل الإجراء الجراحي أو قبل بدء استعمال أجهزة التقليل فوق الصوتية أو الأجهزة عالية السرعة. إن استعمال تقنية كهذه يمكن أن تقلل بشكل كبير من الاختلاطات الإنتانية في المنطقة المعالجة. (Tonetti MS.2015)

13-تأثير على رائحة الفم الصباحية: تُعتبر رائحة الفم مشكلة اجتماعية وفيزيولوجية رئيسية حيث يؤدي ذلك إلى الكثير من النفقات في الدول الصناعية. عرف للرائحة الفموية أسباب عديدة داخل وخارج فموية (التهاب اللثة - التهاب النسيج حول السنينة - الالتهابات الأنفية والجيوب - السكري - اعتلالات الكبد - تليف الكبد الأولي - القصور الكلوي -

(السرطانات الرئوية..) تُعطي المضامض المضادة للجراثيم فائدة كبيرة في المعالجة والوقاية من الرائحة الفموية.)

Tomás I, Cousido MC, Garcia–Caballero L.2010)

العقدية الطافرة *Streptococcus Mutans* :

هي جراثيم إيجابية الغرام لا هوائية إختيارية، تتواجد غالباً في التجويف الفموي للإنسان حيث اكتشفت لأول مرة من قبل Clarke سنة 1924. و تعتبر مساهم كبير في نخر الأسنان و يمكن أن تتعايش هذه البكتيريا في الفم جنباً إلى جنب مع الجراثيم التي ترتبط بها ارتباطاً وثيقاً وهي الجراثيم العقدية سوبرينوس، يمكن ان تساهم كلاهما في حدوث أمراض الفم ولذلك فإن التفريق بينهما ليس امراً ذو أهمية كبيرة، بينما يعد التفريق بينهما للأغراض السريرية غير ضروري. (Whitmore SE, Lamont RJ,2011)

تعيش هذه الجراثيم عادةً وبشكل طبيعي في فم الإنسان، جنباً إلى جنب مع ما لا يقل عن 25 نوع آخر من الجراثيم تعد العقدية الطافرة هي الأكثر انتشاراً بين الحفر والشقوق حيث تشكل 39% من الجراثيم التي تعيش في الفم، وتم العثور على عدد أقل من الجراثيم على السطح الدهليزي. (Smith EG ,Spatafora GA,2012) يمكن أن تكون العقدية الطافرة ضارة أو غير ضارة وذلك تبعاً لنوعها بنسبة 2-9%، ومع ذلك فإنه تحت ظروف معينة يمكن أن تتحول الجراثيم غير الضارة إلى إنتهازية ومسببة للأمراض. تبدأ المرض ثم تدمر الجسد المضيف ويمكن أن تؤدي إلى حدوث إصابات الفم مثل نخور الأسنان. (Banas JA , Vickerman MM. 2003).

تقوم سلالات النيسيريا *Neisseria* بصناعة المستعمرات المبكرة في الأسنان، ثم تليها المكورات العقدية ومنها العقدية الطافرة، ويؤدي نمو هذه الأنواع الرائدة إلى تغير الظروف البيئية في الأسنان (مثل درجة الحموضة، والتراكم، وتوافر المواد الغذائية)، مما يمكن الكائنات الأكثر ثباتاً من مواصلة الإستعمار بعدها لتشكل اللويحة السنية. (Perry JA, Jones MB, Peterson SN,2009)

تلعب العقدية الطافرة دوراً هاماً في نخر الأسنان وذلك جنباً إلى جنب مع العقدية *S. Sobrinus* حيث تقوموا بتحويل السكرورز إلى حمض اللبن وذلك باستخدام إنزيم جلوكان سكرورز. تتسبب البيئة الحمضية التي تطورت بسبب البكتيريا في إضعاف ميناء الأسنان وجعلها قابلة للتآكل، كما تعد العقدية الطافرة واحدة من الجراثيم القليلة التي تمتلك مستقبلات خاصة للالتصاق بسطح الأسنان. و تستخدم العقدية الطافرة السكرورز لإنتاج مادة سكرية لزجة معتمدة على الدكستران مما يسمح لها بالارتباط بالسطوح السنية وتشكيل اللويحة السنية. (Battesti A ,Bouveret E. 2009)

يعد السكرورز هو السكر الوحيد الذي تستخدمه الجراثيم لتشكيل هذه السكريات اللزجة. وعلى الرغم من ذلك فإنه يمكن هضم السكريات مثل الجلوكوز والفركتوز واللاكتوز، ولكنها تنتج حمض اللاكتيك كنتاج نهائي للهضم، فيؤدي المزيج بين الحمض واللويحة إلى حدوث النخر السني. (Smith EG, Spatafora GA,2012). تتواجد العقدية الطافرة في التجويف الفموي وتعد المساهم الرئيسي في نخور الأسنان ويمكن أن تؤثر على الصحة العامة للفرد حيث تنمو العقدية الطافرة في درجات الحرارة ما بين (18-40) درجة مئوية، وهي الأكثر شيوعاً لدى الأطفال والرضع حيث تنقل من الأمهات إلى الطفل أثناء الولادة . (Son M, Ahn SJ, GuoQ, Burne RA.2012)

2-الهدف من البحث:

تحديد تأثير محلول الكلورهيكسيدين 0.12% على العقدية الطافرة عند أطفال الفئة العمرية 9-12 سنة.

3-المواد والطرائق:

تم إجراء البحث في كلية طب الأسنان (جامعة حماة) قسم طب أسنان الأطفال، حيث تكونت عينة البحث من 50 طفل تتراوح أعمارهم بين 9-12 سنة، حيث تم انتقاؤهم (25 طفل ذكرو 25 طفلة أنثى) وذلك بعد أخذ موافقة أهالي الأطفال. سناخذ عينتين من اللعاب لكل طفل، وذلك بجعل الطفل يبصق في العبوة المعقمة قبل استخدام الغسول الفموي و بعد 1 ساعة من استخدام الغسول الفموي (10 مل كلورهيكسيدين 0.12% لمدة دقيقتين) نطلب منه البصاق في عبوة معقمة غير العبوة الأولى.

جمع العينات :

سيتم أخذ العينة (في الصباح مع منع الأطفال من تنظيف الأسنان بالفرشاة و عن الأكل والشرب (باستثناء الماء) قبل ساعتين من أخذ العينة، طلب من الطفل أن يمضغ شمع البارافين لمدة دقيقة واحدة حتى تصبح قطعة الشمع طرية، وسمح له ابتلاع اللعاب ثم تمضغ بالمثل لمدة دقيقتين إضافيتين، وأخيراً يطلب من الطفل الاحتفاظ بقطعة الشمع في فمه وبصق اللعاب الذي تم جمعه في فمه داخل العبوة المعقمة المستخدمة لنقل العينات، بعدها نستخدم 10 مل من الغسول الفموي الحاوي على 0.12% من الكلورهيكسيدين ونطلب من الطفل وضعها داخل الفم مع تحذيره من بلعها والقيام بتحريكها لمدة دقيقتين، ثم بصقها خارج الفم. وبعد 1 ساعة نطلب من الطفل تكرار عملية مضغ شمع البارافين ثم نأخذ عينة اللعاب الثانية بجعله يبصق في عبوة المعقمة غير عبوة العينة الأولى، وسيتم نقل عينة اللعاب إلى كلية الطب البيطري في جامعة حماة فوراً لإجراء الزرع الجرثومي، وبعدها نقل المنابت الى المشفى الوطني بحماة لإجراء عملية التحضين .

تخفيف العينات اللعابية Dilution of Saliva Samples :

يسمح التخفيف التسلسلي للعينات بالعد الجرثومي الدقيق والسهل، وذلك للحصول على عدد جرثومي للعينة في 1 مل، حيث يتم الوصول إلى التخفيفات التالية 1:10 و 1:100 و 1:1000 ويتم التخفيف التسلسلي الشكل على النحو التالي :

- 1- رج كل عينة من اللعاب بقوة قبل التخفيف
 - 2- لتحضير التخفيف 1:10 من عينات اللعاب يتم إضافة 1 مل من كل عينة إلى أنبوب اختبار يحتوي على 9 مل من وسط النقل وذلك باستخدام ماصة آلية.
 - 3- هز أنبوب الاختبار بقوة من أجل التوزيع المتجانس.
 - 4- لتحضير التخفيف 1:100 من عينات اللعاب يتم إضافة 1 مل من التخفيف 1:10 إلى أنبوب اختبار يحتوي على 9 مل من وسط النقل وذلك باستخدام ماصة آلية
 - 5- هز أنبوب الاختبار بقوة من أجل التوزيع المتجانس.
 - 6- لتحضير التخفيف 1:1000 من عينات اللعاب يتم إضافة 1 مل من التخفيف 1:100 إلى أنبوب اختبار يحتوي على 9 مل من وسط النقل وذلك باستخدام ماصة آلية.
 - 7- لتحضير التخفيف 1:10000 من عينات اللعاب يتم إضافة 1 مل من التخفيف 1:1000 إلى أنبوب اختبار يحتوي على 9 مل من وسط النقل وذلك باستخدام ماصة آلية
 - 8- هز أنبوب الاختبار بقوة من أجل التوزيع المتجانس
- يتم زرع العينة عادة بعد بإجراء التخفيف العشاري الشكل للعينة، في أنابيب اختبار تحتوي على ماء مقطر معقم أو سائل ملحي معقم حيث يتم زرع ثلاثة أطباق من كل تخفيف (نختار التخفيف الأفضل)، حيث تم اختيار التخفيف الأفضل 1:10000 للعينة والذي يمكن عد المستعمرات الجرثومية .

الزرع الجرثومي:

- 1- يؤخذ 10 ميكروليتر من المحلول الممدد وذلك باستخدام رأس الماص الحجمي المعايير Micropipette .
- 2- ثم تنتشر بواسطة قضيب زجاجي عقيم بشكل حرف L، لتجنب خدش سطح الآغار أو إحداث فجوة فيه
- 3- يترك الوسط لمدة 10 دقائق لكي يتم امتصاص العالق.
- 4- بعدها يتم تغطية الطبق وتسجل عليه بيانات العينة (قبل / بعد - رقم المريض - المادة المستخدمة - نوع الجراثيم) ويوضع بشكل مقلوب ضمن الحاضنة بدرجة ° 37 لمدة 24 ساعة .

تعداد المستعمرات الجرثومية Bacterial Colony Count :

بعد انتهاء زمن الحضانة الخاص بكل طبق وظهور المستعمرات الجرثومية، نقوم بتركيب العدادة و نضاء أرضية حامل الأطباق، ويوضع الطبق عليها، ويضبط البعد المحرقي للعدسة بتحريكها للأعلى أو للأسفل على الحامل لتحقيق أفضل نسبة تكبير ورؤية للمستعمرات، بعد ذلك نبدأ بعملية العد بالنظر من المكبرة ووضع علامة (نقطة) على سطح الطبق فوق كل مستعمرة، حيث تقوم الشاشة بتسجيل كل نقطة (مستعمرة) ناتجة عن ضغط القلم على سطح الطبق الموضوع على الأرضية المضادة الحساسة للضغط ، وبعد الانتهاء من إحصاء جميع المستعمرات، تعطي الشاشة النتيجة النهائية للتعداد، هذا الرقم يمثل عدد المستعمرات في 10 ميكروليتر الممددة ثم ندخل الناتج بالمعادلة التالية : العدد الجرثومي في العينة الأصلية = العدد الكلي للمستعمرات في الطبق $\times 10$ مقلوب التخفيف. ليكون الناتج هو عدد المستعمرات الجرثومية في الملي ليتر . CFU/ml.

4-النتائج والتحليل الإحصائية:

تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات المسجلة للمتغيرات المدروسة في الدراسة باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS 20 (Statistical Package for Social Science) النسخة 20.

المقاييس الإحصائية الوصفية للمتغيرات المدروسة:

يبين الجدول رقم (1) المقاييس الإحصائية الوصفية للمتغيرات المدروسة عند الأطفال البالغ عددهم 50 والذي يشمل المتوسط الحسابي لكل متغير والانحراف المعياري وأكبر قيمة وأصغر قيمة والخطأ المعياري. أما المخطط رقم (1) فيوضح قيم المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة.

الجدول رقم (1): المقاييس الإحصائية الوصفية للمتغيرات المدروسة عند الأطفال

المجموعتين	المتغيرات	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة	الخطأ المعياري	
كلورهيكسيدين	تعداد العقديات	قبل	50	194.88	53.18	100	7.52
	تعداد عام	بعد	50	23.46	7.91	11	1.12
كلورهيكسيدين	تعداد عام	قبل	50	7.29	0.19	7	0.03
	تعداد عام	بعد	50	6.35	0.15	6.04	0.02

دراسة طبيعة توزع البيانات للمتغيرات المدروسة:

يبين الجدول رقم (2) نتائج استخدام اختبار كولموغوروف سميرونوف Kolmogorov Smirnov Test المستخدم لتحديد طبيعة توزيع البيانات للمتغيرات المدروسة عند الأطفال الخاضعين للدراسة والذي يشمل حجم العينة والمتوسط الحسابي للمتغيرات المدروسة والانحراف المعياري وقيمة Z الإحصائية لغولموغوروف سميرونوف وقيمة الاحتمالية P-value

الجدول رقم (2): نتائج استخدام اختبار كولموغوروف سميرونوف Kolmogorov Samirnov المستخدم لتحديد طبيعة توزيع البيانات للمتغيرات المدروسة عند الأطفال الخاضعين للدراسة

تعداد عام		تعداد العقديات		مجموعة الكلورهيكسيدين
بعد	قبل	بعد	قبل	
50	50	50	50	العدد
6.346	7.292	23.460	194.880	المتوسط الحسابي
0.149	0.193	7.911	53.178	الانحراف المعياري
0.544	1.119	0.588	0.626	قيمة Kolmogorov-Smirnov Z
0.929	0.164	0.880	0.828	قيمة P-value

حيث يلاحظ من الجدول أعلاه بأن قيمة الاحتمالية P-value أكبر من القيمة 0.05 للمتغيرات المدروسة وبالتالي قبول فرضية عدم ومنه فإن المتغيرات تخضع للتوزيع الطبيعي مما يسمح باستخدام الاختبارات الإحصائية المعلمية لدراسة دلالة الفروق الإحصائية.

المقارنة بين المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة ما بين (قبل إجراء الدراسة وبعد إجراء الدراسة):

يبين الجدول رقم (3) نتائج استخدام اختبار T للعينات المزدوجة Paired Samples T Test عند المقارنة بين المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة في الدراسة ما بين الزمنين (قبل إجراء الدراسة و بعد إجراء الدراسة) حيث يشمل الجدول قيمة الفرق بين المتوسطين وقيمة t المحسوبة ودرجة الحرية الإحصائية وقيمة الاحتمالية P-value الناتجة عن استخدام اختبار T للعينات المزدوجة Paired Samples T Test في البرنامج الإحصائي SPSS 20.

الجدول رقم (3): نتائج استخدام اختبار T للعينات المزدوجة Paired Samples T Test عند المقارنة بين

المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة في مجموعة الدراسة

المجموعتين	المتغيرات	الفرق	قيمة t المحسوبة	درجة الحرية	قيمة الاحتمالية P-value	التفسير
كلورهيكسيدين	تعداد العقديات	171.420	24.992	49	0.000	توجد فروقات دالة إحصائياً
	التعداد العام	0.946	34.819	49	0.000	توجد فروقات دالة إحصائياً

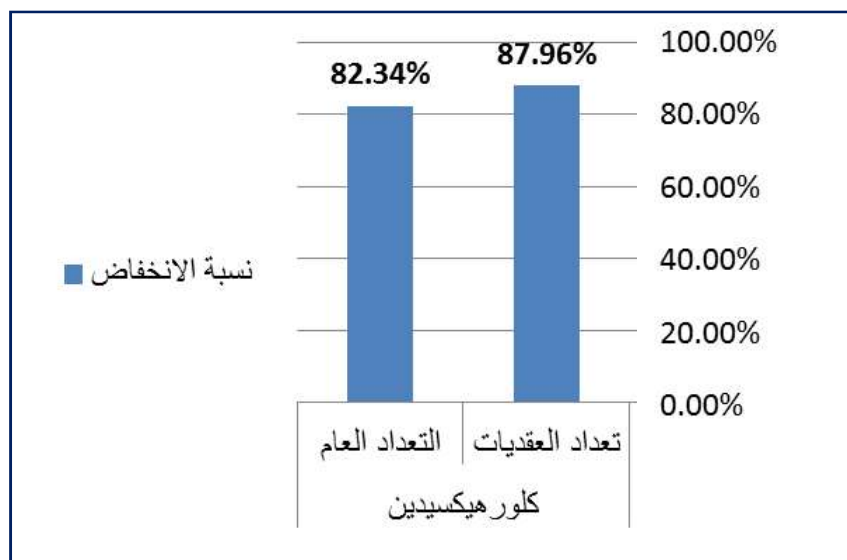
من الجدول أعلاه نلاحظ بأن إشارة قيمة الفرق بين متوسطي كل متغير من المتغيرات المدروسة في مجموعة التجربة (كلورهيكسيدين) كانت موجبة عند المقارنة بين قيم متوسطي كل متغير قبل إجراء الدراسة مع ما يقابله بعد إجراء الدراسة وبالتالي فإن متوسط قيم كل متغير قبل إجراء الدراسة أكبر مما يقابلها بعد إجراء الدراسة، كما نلاحظ بأن قيمة الاحتمالية P-value أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة بين قيم متوسطي كل متغير قبل إجراء الدراسة مع ما يقابله بعد إجراء الدراسة باستخدام اختبار T للعينات المستقلة Independent Samples T Test، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائية في قيم متوسطي كل متغير قبل إجراء الدراسة مع ما يقابله بعد إجراء الدراسة.

5-6 الدراسة الإحصائية لمقدار الانخفاض الحاصل للمتغيرات المدروسة عند المرضى في مجموعات التجربة: نلاحظ في الجدول رقم (4) مقدار الانخفاض والنسبة المئوية للانخفاض الحاصل في المتوسط الحسابي لأعداد العقديّة الطافرة بعد استخدام الكلورهيكسيدين

الجدول رقم (4): النسب المئوية لمقدار الانخفاض الحاصل في متغير تعداد العقديّة الطافرة ما بين الزمنين (قبل استخدام المادة وبعد استخدام المادة)

المجموعات	المتغيرات	العدد	المتوسط قبل استخدام المادة	المتوسط بعد استخدام المادة	مقدار الانخفاض	نسبة الانخفاض
كلورهيكسيدين	تعداد العقديات	50	194.88	23.46	171.42	87.96%
	التعداد العام	50	23016000	4065001	18950999	82.34%

أما في المخطط رقم (2) يظهر لنا النسب المئوية لمقدار الانخفاض الحاصل في متغير تعداد مستعمرات العقديّة الطافرة والتعداد العام للعقديّة الطافرة بعد استخدام الكلورهيكسيدين .



المخطط رقم (2): النسب المئوية لمقدار الانخفاض الحاصل في متغير تعداد العقديّة الطافرة

5- المناقشة:

تم استخدام الفئة العمرية 9-12 سنة لأن منعكس البلع يكون وصل الى مرحلة متطورة، وتجنب بذلك عدم قيام الطفل ببلع الكلورهيكسيدين، وبالإضافة لذلك هذه الفئة أكثر تعاوناً في إجراءات بحثنا أكثر من باقي الفئات الأصغر عمراً. يمتلك الكلورهيكسيدين فعالية تجاه الجراثيم إيجابية الغرام وسلبية الغرام والخمائر والفطور، الجراثيم اللاهوائية والهوائية المخيرة وبعض الفيروسات مثل (HBV، HIV) ويمتلك الكلورهيكسيدين فعالية مبيدة للجراثيم، لكنه يتميز بعدم ظهور مقاومة جرثومية تجاهه حتى بعد الاستعمال المتكرر والمديد، إلا أن الاستعمال الطويل له يؤدي لتبدل في تركيبة الجراثيم الفموية لكن هذا التبدل يزول مباشرة بعد إيقاف الاستعمال. (Diz P.2010)

يعد اللعاب مؤشراً معقولاً عن الحمل الجرثومي الكامل في الحفرة الفموية، وإن تعدد العقديات الطافرة أو العصيات اللبنية في عينات اللوحة السنوية الإجمالية لا يشرح التباين في حدوث النخر بشكل افضل كما هو الحال لدى تعدادها في اللعاب. (Kreth, J et al.2008)

وفي هذه الدراسة قمنا بدراسة تعداد العقديات الطافرة في اللعاب لأن هنالك ترافق بين تعداد العقديات الطافرة في اللعاب و حدوث النخر السني لدى الأطفال، وغالباً ما يكون هنالك ترابط بين مستويات العقديات الطافرة والفعالية النخرية، ولذلك اعتبرت العقديات الطافرة للعاية اختباراً ذو قيمة تنبؤية بالفعالية النخرية وفي تحديد الأشخاص ذو الخطورة النخرية العالية. (Sánchez-Pérez and Acosta-Gío, 2001)

و قد تم اعتماد طريقة البصق لجمع اللعاب من أفواه المرضى الذين تم اختيارهم للدراسة لأن طريقة البصق لا تؤدي لضياح كمية من العينة كما يحدث مع طريقة الماسحة حيث يبقى جزء من العينة عالقاً مع القطن أو الشاش الإسفنجي . (Malamud, 2011)

استخدمنا وسط Mitis-salivarius-bacitracin (MSB) لأنه وسط انتقائي شائع الاستخدام لعزل مستعمرات العقديات الطافرة فقط، وهو يتكون من أساس أغار ميتينيس mitis salivarius ، سوربيتول ، كبريتات كاناميسين kanamycin وباسيتراسين bacitracin. (Zhang, Y, Herzberg, M C et al., 2008)

مناقشة تركيز المستحضرات :

1. تم اختيار تركيز الكلورهيكسيدين 0.12 % لأن: التراكيز الأعلى لها آثار جانبية أكثر ، وتعطي نفس الفوائد . ولأن له تأثير مباشر و فوري بالقضاء على الجراثيم . (Cousido et al., 2010) .

تم استبعاد الأطفال الذين تناولوا مضادات حيوية أو مضادات التهاب أو مضامض فموية قبل أربعة أسابيع على الأقل من إجراء الدراسة بسبب تأثيرها على التعداد الجرثومي . (Ra i et al., 2008) ، كما تم استبعاد الأطفال الخاضعين لمعالجة تقويمية أو يستخدمون تعويضات داخل فموية بسبب دورها في زيادة التعداد الجرثومي و خاصة العقديات الطافرة . (Mar nez, A. R., et al., 2010)، وتم استبعاد الأطفال الذين خضعوا للعلاج الشعاعي بسبب تأثيره على الغدد اللعابية وتدفق اللعاب.

تم جمع العينة في الفترة الصباحية بين الساعة (9 - 12) ظهراً لسببين :

(1) بشكل مشابه للدراسات المنشورة المشابهة للدراسة الحالية

(2) اختلاف تراكيز و مكونات اللعاب صباحاً و مساءً (Larsson et al., 2009)

مناقشة النتائج :

بلغ معدل النقص في عدد المستعمرات عند استخدام مضامض الكلورهيكسيدين 87.96%، و بلغ النقص في العدد الجرثومي (الجراثيم في الملي ليتر CFU/ml) 82.34%.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن : الكلورهيكسيدين 0.12% له تأثير فوري ومباشر على جراثيم العقديات الطافرة. اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع :

1. نتائج الدراسة الحالية حول تأثير كلورهيكسيدين على العقديات الطافرة مع نتائج دراسة (Lundström and Krasse, 1987) التي بينت أن استخدام الكلورهيكسيدين كمضمضة أدى إلى انخفاض تعداد العقديات الطافرة عند مرضى تقويم الأسنان الثابت.
2. نتائج دراستنا حول تأثير الكلورهيكسيدين على العقدية الطافرة مع نتائج دراسة (Nidhi Gupta et al,2011) التي بينت أن استخدام الكلورهيكسيدين عند الأطفال أدى إلى انخفاض أعداد العقديات الطافرة بشكل كبير.

6-الاستنتاجات: Conclusions:

أثبتت هذه الدراسة فعالية مضامض كلورهيكسيدين 0.12% على الجراثيم اللعابية وخاصة على جراثيم العقديات الطافرة . حيث أبدى الكلورهيكسيدين الفعالية القصوى في إنقاص تعداد جراثيم العقديات الطافرة.

7-التوصيات Recommendations:

1. نوصي باستخدام مضامض كلورهيكسيدين 0.12% في تخفيض معدلات الحمل الجرثومي الفموي عند الأطفال
2. نوصي باستخدام مضامض كلورهيكسيدين 0.12% عند الحاجة إلى تأسيس عناية فموية جيدة عند الأطفال وعند الحاجة لتقليل تعداد الجراثيم المسببة للنخر مثل (العقديات الطافرة).

8-المراجع References:

1. Addy M, Sharif N, Moran J. A non-staining chlorhexidine mouthwash? Probably not: a study in vitro. *International Journal of Dental Hygiene* 2005;3(2):59–63.
2. Anauate-Netto C, Anido-Anido A, Leegoy HR, Matsumoto R, Alonso RC, Marcucci MC, et al. Randomized, doubleblind, placebo-controlled clinical trial on the effects of propolis and chlorhexidine mouthrinses on gingivitis. *Brazilian Dental Science* 2014;17(1):11–5.
3. Babar A, Ibrahim MW, Baig NJ, Shah I, Amin E. Efficacy of intraalveolar chlorhexidine gel in reducing frequency of alveolar osteitis in mandibular third molar surgery. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2012;22:91–4.
4. Banas, J. A. & Vickerman, M. M. (2003). Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med* 14, 89–99.
5. Battesti, A. & Bouveret, E ,Larsson et al. (2009). Bacteria possessing two RelA/ SpoT-like proteins have evolved a specific stringent response involving the acyl carrier protein-SpoT interaction. *J Bacteriol* 191, 616–624.
6. Berchier CE, Slot DE, Haps S, Van der Weijden GA. The efficacy of dental floss in addition to a toothbrush on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *International Journal of Dental Hygiene* 2008;6(4): 265–79.
7. Caso A, Hung LK, Beirne OR. Prevention of alveolar osteitis with chlorhexidine: a meta-analytic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod.* 2005;99:155–9.

8. Chapple IL, van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2015;42 Suppl 16:S71–6.
9. Cousido, Delilbasi C, Saracoglu U, Keskin A. Effects of 0.2% chlorhexidine gluconate and amoxicillin plus clavulanic acid on the prevention of alveolar osteitis following mandibular third molar extractions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;94:301–4.
10. Daly B, Sharif MO, Newton T, Jones K, Worthington HV. Local interventions for the management of alveolar osteitis (dry socket). *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;12:CD006968
11. Daly CG. Prescribing good oral hygiene for adults. *Aust Prescr* 2009;32:72–5.
12. Gunsolley JC. Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *Journal of Dentistry* 2010;38 Suppl 1:S6–10.
13. Haraji A, Rakhshan V, Khamverdi N, Alishahi HK. Effects of intra-alveolar placement of 0.2% chlorhexidine bioadhesive gel on dry socket incidence and postsurgical pain: a double-blind split mouth randomized controlled clinical trial. *J Orofac Pain.* 2013;27:256–62.
14. Hita P, Torres D, Flores R, Magallanes N, Basallote M, Gutierrez JL. Effectiveness of chlorhexidine gel versus chlorhexidine rinse in reducing alveolar osteitis in mandibular third molar surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66:441–5.
15. Jose A, Butler A, Payne D, Maclure R, Rimmer P, Bosma ML. A randomised clinical study to evaluate the efficacy of alcohol-free or alcohol-containing mouthrinses with chlorhexidine on gingival bleeding. *British Dental Journal* 2015;219(3):125–30, 6
16. Kajfasz, J. K., Rivera-Ramos, I., Abranches, J., Martinez, A. R., Rosalen, P. L., Derr, A. M., Quivey, R. G. & Lemos, J. A. (2010). Two Spx proteins modulate stress tolerance, survival, and virulence in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 192, 2546–2556.
17. Kreth, J., Zhang, Y. & Herzberg, M. C. , Rafii et al .(2008). Streptococcal antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 190, 4632–4640.
18. Kumar S, Patel S, Tadakamadla J, Tibdewal H, Duraiswamy P, Kulkarni S (2013) Effectiveness of a mouthrinse containing active ingredients in addition to chlorhexidine and triclosan compared with chlorhexidine and triclosan rinses on plaque, gingivitis, supragingival calculus and extrinsic staining. *Int J Dent Hyg* 11, 35–40.

19. Lorenz K, Bruhn G, Netuschil L, Heumann C, Hoffmann T. How to select study designs and parameters to investigate the effect of mouthrinses? Part I: rationale and background. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2009;60 Suppl 8: 77–83.
20. MALAMUD, D. J. D. C Branches, J., Nascimento, M. M., Zeng, L., Browngardt, C. M., Wen, Z. T., Rivera, M. F. & Burne, R. A. (2011). CcpA regulates central metabolism and virulence gene expression in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 190, 2340–2349.
21. Moran JM, Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *Journal of Dental Research* 2000 ;58(12): 2404–12.
22. OCHIENG, K. G Berchier CE, Slot DE, Haps S, Van der Weijden GA. The efficacy of dental floss in addition to a toothbrush on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*2019;6(4): 265–79.
23. Oltramari–Navarro PV, Titarelli JM, Marsicano JA, Henriques JF, Janson G, Lauris JR et al. (2009) Effectiveness of 0.50% and 0.75% chlorhexidine dentifrices in orthodontic patients: a double–blind and randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentfacial Orthop* 136, 651–656.
24. Ousehal L, Lazrak L, Es–said R, Hamdoune H, Elquars F, Khadija A. Evaluation of dental plaque control in patients wearing fixed orthodontic appliances: a clinical study. *International Orthodontics* 2011;9:140–55.
25. Palmer, R. J., Jr (2010). Supragingival and subgingival plaque: paradigm of biofilms. *Compend Contin Educ Dent* 31, 104–106, 108, 110 passim, quiz 124, 138.
26. Perry, J. A., Jones, M. B., Peterson, S. N., Cvitkovitch, D. G. & Le´vesque, C. M. (2009). Peptide alarmone signalling triggers an autoactive bacteriocin necessary for genetic competence. *Mol Microbiol* 72, 905–917.
27. Radvar M, Moeintaghavi A, Tafaghodi M, Ghanbari H, Fatemi K, Mokhtari MR, et al. Clinical efficacy of a herbal mouth wash composed of *Salix alba*, *Malva sylvestrais* and *Althaea officinalis* in chronic periodontitis patients. *Journal of Herbal Medicine* 2016;6(1):24–7.
28. Rolla G, Loe H, Schiott CR. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Archives of Oral Biology* 1971;16(9): 1109–16.
29. Salzer S, Slot DE, Van der Weijden FA, Dorfer CE. Efficacy of inter–dental mechanical plaque control in managing gingivitis – a meta–review. *Journal of Clinical Periodontology*2015;42:S92–S105.

30. SÁNCHEZ-PÉREZ, L. & ACOSTA-GÍO, A. E. J. A. O. O. B. 2001. Caries risk assessment from dental plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts on two culture media. 46, 49–55
31. Seyyedi SA, Sanatkhani M, Pakfetrat A, Olyae P (2014) The therapeutic effects of chamomilla tincture mouthwash on oral aphthae: a randomized clinical trial. *J Clin Exp Dent* 6, e535–538.
32. Son, M., Ahn, S. J., Guo, Q., Burne, R. A. & Hagen, S. J. (2012). Microfluidic study of competence regulation in *Streptococcus mutans*: environmental inputs modulate bimodal and unimodal expression of comX. *Mol Microbiol* 86, 258–272.
33. Smith, E. G. & Spatafora, G. A. (2012). Gene regulation in *S. mutans*: complex control in a complex environment. *J Dent Res* 91, 133–141.
34. Southern EN, McCombs GB, Tolle SL, Marinak K. The comparative effects of 0.12% chlorhexidine and herbal oral rinse on dental plaque-induced gingivitis. *Journal of Dental Hygiene* 2006; Vol. 80, issue 1:12
35. Sridhar V, Wali GG, Shyla HN. Evaluation of the perioperative use of 0.2% chlorhexidine gluconate for the prevention of alveolar osteitis after the extraction of impacted mandibular third molars: A clinical study. *J Maxillofac Oral Surg.* 2011;10:101–111.
36. Stookey GK, Beiswanger B, Mau M, Isaacs RL, Witt JJ, Gibb R. A 6-month clinical study assessing the safety and efficacy of two cetylpyridinium chloride mouthrinses. *American Journal of Dentistry* 2005;18(Spec No):24A–8A
37. Tomás I, Cousido MC, Garcia-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P. Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: Influence of intrinsic and extrinsic factors. *Journal of Dentistry* 2010;38(7):541–6
38. Tonetti MS, Chapple ILC, Jepsen S, Sanz M. Primary and secondary prevention of periodontal and periimplant diseases – Introduction to, and objectives of the 11th European workshop on periodontology consensus conference. *Journal of Clinical Periodontology* 2015;42(16): S1–S4.
39. Torres-Lagares D, Infante-Cossio P, Gutierrez-Perez JL, Romero- Ruiz MM, Garcia-Calderon M, Serrera-Figallo MA. Intra-alveolar chlorhexidine gel for the prevention of dry socket in mandibular third molar surgery. A pilot study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11:E179–84.
40. Van der Weijden FA, Slot DE. Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence. *Periodontol* 2000 2011;55:104–23.

41. Van Strydonck DA, Slot DE, Van der Velden U, Van der Weijden F (2012) Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. J Clin Periodontol 39, 1042–1055.
42. Whitmore, S. E. & Lamont, R. J. (2011). The pathogenic persona of community-associated oral streptococci. Mol Microbiol 81, 305–3.
- 1-أ.د. سلطان محمد زياد (2008 - 2009) : منشورات جامعة البعث – كلية طب الأسنان ، كتاب 197- طب أسنان الأطفال .