Antibacterial effects of Ga–As laser with toluiden blue on oral microorganism

A.M.Araghizadeh, DDS [1] M.M.Fani, DDS [2] Y.Kohanteb, PhD [3] L.Khojastehpour, DDS [4].

Assistant professor, Department of Community Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences [1], Assistant professor Departments of mouth diseases [2], Microbiology [3], mouth radiology [4], Shiraz University of Medical Sciences.

ABSTRACT

Introduction: Chemical antibacterial agents are increasingly being used in prophylactic therapeutic regimes for oral and plaque–related diseases. As the microorganism can be resistant to drugs so, there is a need for alternative antibacterial approaches.
Bacteria can be sensitized to killing by light from low–power laser with chemical photosensitizing agents such as TBO. The aim of this study was to investigate the bacterial effect of Ga–As laser irradiation on oral microorganism.
Methods: The microorganisms evaluated in this in vitro study were: S.mutans, Group A Beta Hemolytic streptococci, Neisseria, Bacteroides melaninogenicus. Diphteroides, Lactobacilli, Fusobacterium fusiformis, S.aureus, S.epidermis & candida albicans. The bactericidal effect was determined by the enumeration of viable bacterial colonies. Time of irradiation was 20 mibns and frequency 3000 Hz with power 5 watt. Toluidine Blue is selected as a photosentisizer.
Results: Ga–As laser irradiation with energy density 1.8j/cm^2 resulted in 31.3% mean reduction in CFU number of S.mutans, 30.2% in Diphtheroid, 36.7% in S.epiedermis, 19.2% in Neisseria, 37% in B.melaninogenicus, 32% in Fusobacterium and 44.9% in candida albicans.
Conclusion: Ga–As low power laser can be used in preventive dentistry or in treatment of oral lesions.

Correspondence:
A.M.Araghizadeh, DDS
Department of Community Medicine, Medical School,.
Hormozgan University of Medical Sciences.
Bandar Abbas, Iran
Tel: +98 761 3334275
E.mail:araghizadeh@hums.ac.ir

Key words: Lasers – Bacteria – Toluidine Blue O.

اثر باکتریسیدال لیزر کم توان Ga-As همراه با رنگ توسط دستگاه DLT-101 بر میکروارگانسیم‌های دهان به روش Invitro

دکتر عبدالمهدی عراقی زاده [1] دکتر محمد مهدی فانی [2] دکتر جمشید کهن‌طب [3] دکتر لیلا خجسته‌پور [4]

[1] استادیار گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان [2] استادیار گروه بیماریهای دهان [3] استادیار گروه میکروبیولوژی [4] استادیار گروه رادیولوژی دهان دانشگاه علوم پزشکی شیراز

مجله پزشکی هرمزگان سال نهم شماره دوم تابستان ۸۴ صفحات ۱۲۴-۱۲۹

چکیده:

مقدمه: *نور لیزر به عنوان یک عامل ضد باکتریال با مکانیزم فتوترمال می‌تواند بر علیه میکروارگانیسم‌های دخیل در پوسیدگی و التهاب دهان مؤثر باشد. از فواید این روش این است که علاوه بر صرف وقت کمتر جهت حصول نتیجه، احتمال ایجاد مقاومت باکتریایی نیز محتمل به نظر می‌رسد و از آسیب به بافت‌های مجاور پرهیز می‌گردد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات باکتریسیدال لیزر Ga-As در حضور TBO به وسیله دستگاه دیودی DLT 101 ساخت مشترک ایران و روسیه است.*

روش کار: *در این تجربه آزمایشگاهی، از میکروارگانیسم‌های استرپتوکوک موتانس، بتا همولیتیک استرپتوکوک گروه A نایسریا، باکتروئید ملانینوژنیکوس، فوزی باکتریوم، لاکتوباسیل، استافیلوکوکوس آرئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و کاندیدا آلبیکانس استفاده شده است. گروه کنترل شامل تمام میکروارگانیسم‌های فوق که بدون استفاده از رنگ TBO تحت تابش اشعه قرار گرفته بودند، می‌باشد.*

روش بررسی، شمارش کلنی‌های زنده باکتریها پس از تابش لیزر بر آن بوده است. زمان پرتوتابی ۲۰ دقیقه با فرکانس ۳۰۰۰ هرتز و توان ۵ وات بوده و از تلوئیدن بلو به عنوان ماده حساس کننده به نور استفاده شد. نتایج به صورت جدول و نمودار ارائه شد.

نتایج: *اطلاعات بدست آمده نشان داد که تابش لیزر گایم ارسینک با چگالی انرژی ۱/۸ ژول باعث نابودی ۳۱/۳ درصد استرپتوکوک موتانس، ۳۰/۲ درصد دیفتروییید، ۳۶/۷ درصد استافیلوکوکوس اپیدرمیس ۱۹/۲ درصد استافیلوکوکوس ارئوس، ۱۴/۷ درصد استرپتوکوک‌های بتاهمولتیک، ۳۹/۱ درصد در لاکتوباسیل، ۳۰/۲ درصد نایسریا، ۳۷ درصد باکتروییید ملانینوژنیکوس، ۳۲ درصد فوزوباکتریوم و ۴۴/۹ درصد کاندیدا آلبیکانس شده است.*

نتیجه گیری: *لیزر کم توان Ga-As می‌تواند هم در دندانپزشکی پیشگیری و هم در درمان برخی از ضایعات دهان که مرتبط با فعالیت میکروارگانیسم‌های مذکور هستند کارآیی داشته باشد.*

کلید واژه ها: *لیزرها – میکروب – تلوئیدن بلو*

نویسنده مسئول:
دکتر عبدالمهدی عراقی زاده
گروه پزشکی اجتماعی
دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان
بندرعباس –ایران
تلفن: ۳۳۳۴۲۷۵ – ۷۶۱ – ۹۸+
پست الکترونیکی:
araghizadeh@hums.ac.ir

دریافت مقاله: ۸۴/۲/۲۰ اصلاح نهایی: ۸۴//۴/۲۵ پذیرش مقاله: ۸۴/۶/۱۵

مقدمه:

از زمان اختراع لیزر Co_2 در سال ۱۹۶۴ تفکر استفاده از آن در جراحی‌های دقیق و ظریف مطرح گردید و هم اکنون هر روز هزاران نفر در دنیا تحت درمان لیزر درمانی قرار می‌گیرند. از آن زمان تاکنون محققین به کمک متخصصین پزشکی توانسته‌اند از انواع لیزر با طول موجهای مختلف ابزارهای دقیقی بسازند تا شرایطی فراهم شود که عملهای جراحی و درمانی که تا چند سال قبل غیرممکن و یا با مشکلات عدیده‌ای روبرو بود، به راحتی انجام شود (۱).

هم اکنون از لیزر در بسیاری از شاخه‌های دندانپزشکی استفاده می‌شود از جمله درمان Alveolitis، ایجاد بی حسی موضعی، درمان ضایعات

دهانی، درمان ریشه و پریودونشیوم، حساسیت ضدایی دنتین دندان، ایمپلانت و ... (۲).

در ۲۰ سال اخیر تحقیقات بالینی زیادی بر اثرات باکتریسیدال لیزرهای کم توان صورت گرفته است. Iwas گزارش کرده که تجمع پلاک میکروبی در هامستر متعاقب استفاده از لیزر He-Ne کاهش یافته است (۳).

Okamoto و همکاران نشان داده که باکتریهای پوسیدگی‌زای دندان نسبت به نور لیزر He-Ne فقط در حضور رنگ حساس هستند و این خصوصیت وابسته به دوز اشعه است (۴).

Macgoff و همکاران اثرات لیزر He-Ne را که به صورت امواج دایمی بوده بر روی باکتریهای Bacillus subtitis، S.aureus، P. vulgaris و P. aeraginosa با توان ۰/۵ میلی‌وات بررسی کردند ولی هیچگونه خاصیت باکتریسیدال مشاهده نکردند (۵).

Mc.Millan و همکاران گزارش نمودند که ۷ گونه از میکروارگانیسم هنگامی که با لیزر گازی He-Ne، ۲۱-۳۰ میلی‌ولت به صورت امواج دایمی با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر همراه با تلوئیدن بلو پرتوتابی شوند، به سرعت از بین می‌روند (۶).

ویلسون و همکاران نشان دادند که سلولهای باکتری S.aureus مقاوم به متی‌سیلین در صورتی که در مجاورت رنگ TBO حساس شوند با لیزر He-Ne (۳۵mv و ۰/۲-۵/۱j) از بین خواهند رفت. وی پیشنهاد کرد که از TBO به عنوان ماده تحریک کننده همراه با لیزر در پاکت‌های پریودنتال و یا درمانهای اندودنتیک استفاده شود (۷).

Gut Knecht اثرات ضد باکتریال لیزر دیودی را در دیواره عاجی کانال ریشه بررسی نمود. وی از لیزر دیودی با طول موج ۸۱۰mm و توان ۳ وات به صورت دایمی با فیبر ۴۰۰ میکرونی به صورت ۳۰ ثانیه استفاده نمود. توان اشعه در انتهای فیبر ۰/۶ وات بوده است. این تحقیق نشان می‌دهند که لیزر دیودی باکتریها را در لایه‌های عاجی دیواره کانال از بین می‌برد (۸). بررسی کلی تحقیقات ذکر شده مشخص می‌کند که لیزرهای دیودی و کم توان همراه با استفاده از Dye بعنوان یک ماده حساس کننده به نور می‌تواند در کاهش التهاب پاکت‌های پریودنتال و باکتریهای پاتوژن و پوسیدگی‌زا مؤثر باشد (۹).

در این مقاله اثر ضد باکتریالی لیزر کم توان Ga-As بر روی برخی از باکتریهای حساس شده توسط رنگ TBO مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار:

این مطالعه یک تجربه آزمایشگاهی است که به روش زیر انجام شده است:

الف- دستگاه لیزر

دستگاه استفاده شده در این تحقیق یک دستگاه مدل DLT 101 می‌باشد که در واقع یک لیزر نیمه هادی با ماده فعال گالیم آرسینه (Ga-As) از نوع انژکسیونی Injection laser semiconductor می‌باشد که اشعه را به فرم پالسی تولید می‌نماید و مجهز به تایمر واکیوم لومینانس چهار زمانه و سیستم‌های هشداردهنده نوری و صوتی در ارتباط با به پایان رسیدن سانس درمانی و نمایشگر کنترل سقف توان اشعه لیزر است. این دستگاه بر اساس تابش لیزر با طول موج معین ۰/۸۵ تا ۰/۹۵ میکرون و با کلاس استاندارد بین‌المللی II محصول مشترک ایران و روسیه می‌باشد و طراحی اولیه آن توسط انستیتو علمی- تحقیقاتی بهساز گستر بر اساس تحقیقات بنیادی صورت گرفته است.

اشعه لیزر در این دستگاه با مدت زمان هر پالس ۴۰ تا ۱۰۰ نانوثانیه و حداکثر توان پالسی ۵ وات خارج می‌شود. دستگاه در دو رژیم درمانی قابل استفاده است. رژیم I پرتوهای با فرکانس حداکثر ۱۰۰ هرتز و رژیم II پرتوهای با فرکانس حداکثر ۳۰۰۰ هرتز تولید می‌نماید. منبع تغذیه دستگاه برق ۲۲۰ ولت، فرکانس ۵۰ هرتز و توان ۱۰ وات می‌باشد. محدوده‌ی دمای کار دستگاه بین ۱۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد بالای صفر می‌باشد.

ب- باکتریها و محیط کشت

در این طرح از میکروارگانیسم‌های مختلف که بر روی محیط کشت و شرایط خاص خود تکثیر شده بودند بشرح زیر استفاده شد.

میکروب‌های‌استافیلوکوکوس‌ارئوس،استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، نایسریایی غیر بیماری‌زا، دیفتروئید بر روی

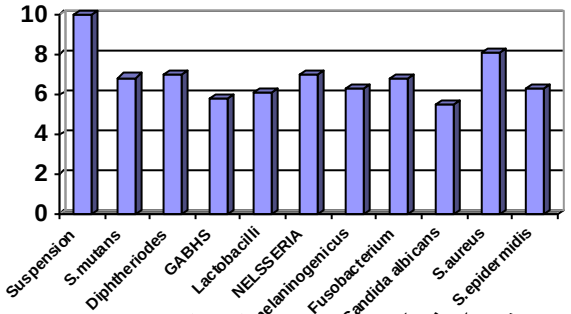
آگار خون‌دار در شرایط هوازی، باکتری استرپتوکوک همولیتیک (بتا گروه A) بر روی آگار خون‌دار تهیه شده از خون گوسفند با پایه Muller Hinton Agar و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و مجاورت ۱۰-۵ درصد گاز کربنیک به مدت ۴۸ ساعت و باکتری لاکتوباسیل بر روی محیط Tomato Juice Agar و آگار خون‌دار در شرایط بی‌هوازی با استفاده از Gas Pak، میکروب استرپتوکوکوس موتانس بر روی محیط Mitis salivarios Agar باکتری فیوزی فرم و باکتریید در شرایط بی‌هوازی بر روی آگار خون‌دار و قارچ کاندیدا آلبیکانس بر روی محیط Sabouraud dextrose Agar تکثیر شدند. از میکروارگانیسم‌های فوق‌الذکر سوسپانسیون میکروبی تهیه و سپس رنگ حساس کننده‌ی TBO به مقدار ۱۲/۵mg/ml به آن افزوده شده و با استفاده از لوله‌های استاندارد مک فارلن تعداد باکتری زنده معادل ۱۰ Colony forming unit/ml تنظیم شد. حجم ۰/۳ سانتی‌متر مکعب از این سوسپانسیون میکروبی در فضای تاریک به مدت پنج دقیقه نگهداری و به مدت بیست دقیقه در زیر اشعه لیزر با رژیم فرکانس II دستگاه (۳۰۰۰ هرتز) قرار گرفت. فاصله فیبر لیزری از سطح سوسپانسیون یک سانتی‌متر بوده است. آزمایش شمارش باکتریهای زنده با استفاده از روش رقیق نمودن باکتری، انجام و نتایج ثبت گردید. شمارش کلنی‌ها در رقت‌های مختلف سه مرتبه انجام شد و معدل سه شمارش در نتیجه‌ی نهایی منظور گردید. جهت ارائه نتایج از روشهای توصیفی آماری استفاده شد.

نتایج:

جدول شماره یک اثرات ضد باکتریال لیزر را بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش نشان می‌دهد. همانگونه که مشخص شده است لیزر بکار گرفته شده در این تحقیق با توجه به انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها بین ۱۹/۲ درصد تا ۴۴/۹ درصد خاصیت ضد باکتریال داشته است. حداکثر این خاصیت بر روی کاندیدا آلبیکانس و حداقل خاصیت ضد باکتریال بر روی استافیلوکوکوس آرئوس بوده است. نمودار شماره یک نیز میانگین شمارش زنده باکتریهای بکار گرفته شده را بعد از پرتوتابی با لیزر Ga-As نشان می‌دهد.

جدول شماره ۱- اثر ضدباکتریال لیزر بر روی میکروارگانیزمها

میکروارگانیسم	معدل سه شمارش cfu/ml	درصد میکروارگانیسمهای از بین رفته
Streptococcus mutans	۶/۸×۱۰^۶	۳۱/۳
Diphtheriodes	۶/۹۸×۱۰^۶	۳۰/۲
Staphylococcus epidermidis	۶/۳۳×۱۰^۶	۳۶/۷
Staphylococcus aureus	۸/۰۸×۱۰^۶	۱۹/۲
Group A Beta hemolytic streptococci, (G ABHS)	۵/۸۳×۱۰^۶	۴۱/۷
Lactobacilli	۶/۰۹×۱۰^۶	۳۹/۱
Neisseria (Non pathogenic)	۶/۹۸×۱۰^۶	۳۰/۲
Bacteroides melaninogenicus	۶/۳×۱۰^۶	۳۷
Fusiform bacilli	۶/۸×۱۰^۶	۳۲
Candida ablicans	۵/۵۱×۱۰^۶	۴۴/۹



نمودار شماره ۱- میانگین شمارش زنده نمونه‌های میکروبی پس از پرتوتابی در مقایسه با سوسپانسیون اولیه

بحث و نتیجه گیری:

در دهه‌های اخیر از تابش نور لیزر جهت مداوای بسیاری از ضایعات و عفونت‌های دهان و دندان استفاده شده است (۱۰، ۱۱).

خصوصیت میکروب‌کشی این اشعه بر گروههای مختلف میکروارگانیسم‌هایی که توسط رنگ‌های متیلن بلو (MB) و تلوییدن بلو (TBO) حساس شده باشند مورد مطالعه قرار گرفته است (۳،۱۲). در مطالعات انجام شده توسط Zakariasen و همکاران (۱۲) خصوصیت باکتریسیدال اشعه لیزر بر روی باکتریهایی که به طور تجربی در حیوانات آزمایشگاهی ایجاد پلاک‌ها دندانی کرده بودند نشان داده شده است.

ویلسون و همکاران مشخص نمودند که باکتریهای مؤثر در عفونت‌های لثه مانند Prophyromonas gingivalis و Fusobacterium nucleatum و Actinobacillius

actionomycete comitans در مجاورت لیزر کم توان He-Ne از بین می‌روند (۱۳،۱۴).

از این نوع لیزر برای درمان بیماران مبتلا به آکنه جهت از بین بردن باکتری Propionebacterium acnes نیز استفاده شده است (۱۵).

معمولاً باکتریها در حضور رنگ TBO حساس شده و سپس در مجاورت نور لیزر کشته می‌شوند. ویلسون مناسب‌ترین غلظت رنگ را معادل ۱۲/۵ میلی گرم در میلی لیترپیشنهاد داده است (۱۶). در تحقیق حاضر نیز از همین غلظت رنگ TBO جهت حساس نمودن باکتریها استفاده شده است. با بکارگیری لیزر کم توان حداکثر خصوصیت میکروب‌کشی در قارچ کاندیدا آلبیکانس مشاهده گردید که ۴۴/۹ درصد از سلولهای قارچی کشته شده بودند. کاندیدا آلبیکانس عامل ایجاد کاندیدایازیس دهانی بوده و در کام بسیاری از بیمارانی که دست دندان مصنوعی متحرک دارند، یافت می‌شود (۱۷).

استرپتوکوکوس موتانس نیز عمده‌ترین باکتری پوسیدگی‌زای دندانی است و از تمام دندانهای پوسیده شده قابل استخراج می‌باشد. در این تحقیق مشخص گردیده که میزان ۳۱/۳ درصد از باکتریهای استرپتوکوکوس موتانس متعاقب پرتوتابی با لیزر از بین رفته‌اند. باکتری دیفترویید ۳۰/۲ درصد، استافیلوکوک اپی‌درمیس ۳۶/۷ درصد، استرپتوکوک بتاهولیتیک (گروه A) ۱۴/۷ درصد، لاکتوباسیل ۳۹/۱ درصد، نایسریا ۳۰/۲ درصد، باکترویید ملانینوژنیکوس ۳۷ درصد، فیوزی فرم باسیل ۳۲ درصد و کمترین میزان اثر در مورد استافیلوکوک ارئوس با ۱۹/۲ درصد تخریب باکتریایی بوده است.

گروه کنترل این مطالعه نیز ارگانیسم‌هایی از باکتریهای فوق بوده است که آنها در مجاورت رنگ TBO قرار داده نشده بودند و در شرایط یکسان در زیر اشعه لیزر کم توان He-Ne به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و پس از شمارش مشخص گردید که هیچگونه تغییر عمده‌ای در تعداد باکتریهای زنده ایجاد نشده است. این یافته نشانگر تأکید بر این مطلب است که جهت از بین بردن میکروارگانیسم‌ها به وسیله لیزر، حساس نمودن آنها با رنگ TBO الزامی است. غلظت رنگ TBO در این تحقیق ۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر انتخاب شده بود و لازم به ذکر است که ترکیب و PH دهان افراد مبتلا به Mucositis قدرت TBO در نابودی باکتریها با نور لیزر را کاهش می‌دهد (۱۸).

مرگ میکروارگانیسم‌ها به وسیله لیزرهای کم توان ناشی از پدیده Photochemical است، بدین معنی که در اثر تولید Reactive oxygen components از قبیل Superoxide anions، اکسیژن نوزاد، هیدورژن پروکساید، رادیکالهای هیدروکسیل این میکروارگانیسم‌ها از بین می‌روند (۱).

در این تحقیق که به روش Invitro-Experimental انجام گرفته، خاصیت ضد باکتریال پرتوی لیزر کم توان دستگاه DLT 101 ساخت ایران و روسیه بررسی شده است.

با توجه به فرمول P average=P max x Δt xf (p معرف توان پالس، t زمان و f فرکانس لیزر می‌باشد). جهت به دست آوردن انرژی مؤثر برای نابود کردن باکتری (یعنی تابش چگالی انرژی معادل ۱/۸ j/cm^2) و با توجه به پالس ماگزیمم (۳۰۰۰ هرتز) اجباراً زمان تابش لیزر با دستگاه DLT 101 برابر ۱۲۰۰ ثانیه (۲۰ دقیقه) تعیین گردید و این مدت زمان جهت نابودی میکروارگانیسم‌ها، از نظر بالینی در اعمال دندانپزشکی زمان زیادی محسوب می‌گردد و از سوی دیگر حداقل چگالی انرژی یعنی ۱/۸ j/cm^2 برای حصول نتیجه الزامی است، لذا به کارخانه سازنده دستگاه توصیه می‌گردد که Dose یا زمان پالس‌ها را افزایش دهد و به ۴۰۰ نانوثانیه برساند تا توان دستگاه افزایش یابد (یعنی حداقل ۲۰ وات گردد) و زمان تابش به ۱/۴ زمان استفاده شده در این تحقیق رسانده شود تا جهت استفاده‌های عملی بر روی بیماران به منظور درمان ضایعات دهانی و یا پیشگیری مورد استفاده قرار گیرد.

References منابع

1. Simunovic Zlatk, Vitagraf R. Laser in medicine and dentistry, 1st ed. St Louis: Mosby; 2000.
2. Bernal G, Rowinski J, Glinko M. Helium neon laser therapy is an effective therapy for hacial. *Laser Therapy J*. 1993; 2: 74-87.
3. Iwase T, Anday R. Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters. *J Period Res*. 1989; (24): 282-283.
4. Okamoto H, Iwase T, Morika T. Dye-mediated bactericidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganism. *Laser Surg Med*. 1992;12(4):450-458.
5. Mac Goff PE, Ingle J, Stran M. The effect of laser energy radiation on bacteria. *Med Biol J*. 1966; (6): 191-194.
6. Macmillan J, Blum Y, Andy S. Lethal photo sensitication of micro organism with light from a CW gas laser. *Photo Chem Photobiol J*. 1966; (5): 555-565.
7. Willson M, Yianni C. Killing of methicillin-resistant staph Aureous by low power laser light. *J Med Microbiol*. 1995; 42: 626-631.
8. Gutkencht N, Neimalk A. Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. *J Clin Laser Med*. 2000; 18(2): 57-60.
9. Ellen JO Baron, Sydney M Finegold. Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Baron EP, Peterson LR. Bailey & Scotte diagnostic microbiology. 8th ed. Missour: Mosby; 1990:171-194.
10. Marin VTW, Corti L, Veluss C. An experimental study of the healing effect of the He-Ne laser and infra red laser. *Lader Med Sci*. 1998; 3: 151-163.
11. Iwas T, Hor N, Morioka T. Possible mechanism of the He-Ne laser effect on cell membrane characteristics. *Laser Med Surg*. 1998; 4: 166-171.
12. Zakariasen KL, Dedrich DN, Pickarol MA. Bacterial action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. *Can J Microbiol*. 1989; 32: 424-426.
13. Wilson M, Dobson J, Sarkars S. Sensitization of periodonto pathogenic bacteria to killing by light from low power laser. *Oral Microbiol Immunol*. 1993; 8: 182-187.
14. Wilson M. Photolysis of oral bacteria and its potentials use in the treatment of caries and periodontal diseases. *J Applied Bacteriol*. 1993; 75: 299-306.
15. Koning K, Mayer H. Photodynamically induced inactivation of propionebacterium access using photodynamically induced inactivation of propionebacterium access using photosensitizer methylene blue and red. *light Dermat Monts*. 1992; 178: 297-300.
16. Wilson M. Bactericidal effects of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related disease. *Int Dent J*. 1994; 44(2): 181-189.
17. Komerik N, Wilson M. Factors influencing the susceptibility of gram negative bacteria to TBO-Mediated lethal photosensitization. *J Appl Microbiology*. 1992; (4): 245-247
18. Fani MM. Effects of cholorhexidine 0.2% on oral candidiasis. *Shiraz University J Dentistry*. 2000; (2): 21-26.