جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه برون تنی اثرات ضدمیکروبی و سمیت سلولی دهان‌شویه لیسترین و ایرشا

دکتر محمد رضا زارعی[۱]، دکتر مریم راد[*]، سعید رجبعلیان[۲]، دکتر مریم خانی[۳]

چکیده

مقدمه: دهان‌شویه ایرشا نمونه داخلی دهان‌شویه ضد باکتری لیسترین است. با وجود این، تاکنون اثرات بیولوژیک آن، چه از نظر باکتریولوژی و چه از نظر سمیت سلولی، با دهان‌شویه لیسترین که اثرات مفید اثبات شده دارد، مقایسه نگردیده است. هدف از این تحقیق مقایسه اثرات ضدمیکروبی و سمیت سلولی دهان‌شویه لیسترین و ایرشا بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی برون‌تنی، اثر ضدمیکروبی ۵ رقت دهان‌شویه ایرشا و لیسترین (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد)، در زمان‌های مختلف بر روی غلظت ۰/۵ مک فارلند ۵ سوش باکتری (استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سانگوئیس، انتروکوک فکالیس، کاندیدا البیکانس و اشرشیاکلی) ارزیابی گردید. آزمایش برای هر باکتری ۳ بار تکرار شد و از آب مقطر به عنوان کنترل استفاده گردید. برای بررسی اثر سمیت سلولی، بیش از ۱۰۰۰۰۰ سلول از رده‌های KB (اپی‌تلیال)،MRF (فیبروبلاست)، J774.A1 (ماکروفاژ) و Saos-2 (استئوبلاست) در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده و به مدت ۷۲ ساعت در مجاورت ٤ رقت از دو دهان‌شویه (۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ درصد) انکوبه شد. سپس سلول‌ها شسته و به مدت ٤٥ دقیقه با MTT (Cloorimetric assays) رنگ شده و در نهایت نتایج با دستگاه الیزا ثبت شد. سپس نتایج در $SPSS_{۱۸}$ با آزمون‌های آنالیز واریانس Tukey و One Way ANOVA تفسیر شد ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: اثر سمیت سلولی دهان‌شویه‌های لیسترین و ایرشا در غلظت‌های مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (p value $> ۰/۰۵$). از لحاظ فعالیت ضد میکروبی، دهان‌شویه لیسترین در دو رقت ۱۰۰ و ۵۰ درصد مانع از رشد تمام گونه‌های باکتریایی شد؛ در حالی که در رقت‌های مشابه از دهان‌شویه ایرشا تنها ۳ نوع باکتری رشد نکرد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، احتمال می‌رود اثر ضدمیکروبی دهان‌شویه لیسترین نسبت به ایرشا بهتر باشد، اما از لحاظ سمیت سلولی تفاوت معنی‌داری بین این دو وجود ندارد.

کلید واژه‌ها: لیسترین، ایرشا، دهان‌شویه، ضد میکروبی، سمیت سلولی.

* متخصص بیماری‌های دهان، عضو مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. (مؤلف مسؤول)
Rad_1152@yahoo.com

۱: دانشیار، بخش بیماری‌های دهان، دانشکده دندان‌پزشکی و عضو مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۲: کارشناسی ارشد بیولوژی مولکولی، عضو مرکز تحقیقات علوم و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

۳: دندان‌پزشک، شیراز، ایران.

این مقاله در تاریخ ۸۹/۷/۱۴ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۸۹/۸/۸ اصلاح شده و در تاریخ ۸۹/۹/۲ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۸۹؛ ۶(۴): ۳۲۳ تا ۳۳۱

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

حفره دهان جایگاه میکروارگانیسم‌های مختلفی است که فلور طبیعی دهان را تشکیل می‌دهند[۱]. برخی از این میکروارگانیسم‌ها باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند پوسیدگی دندانی، التهاب لثه و بیماری‌های پریودنتال می‌شوند[۲] و عده‌ای دیگر، مانند قارچ کاندیدا آلبیکنس، فقط در شرایط مناسب سیستمیک و یا در صورت وجود عوامل مستعد کننده‌ی موضعی (مانند مصرف دخانیات یا دندان مصنوعی) منجر به عفونت حفره دهان می‌گردند[۱]. دهان‌شویه‌ها اغلب به منظور کاهش موقتی تراکم میکروارگانیسم‌های مؤثر در فرآیند پوسیدگی دندان و التهاب لثه[۴، ۳]، از بین بردن بوی بد و مزه بد دهان[۳]، احساس تازگی در دهان فرد و کمک به حفظ بهداشت دهان[۵] استفاده می‌شوند.

لیسترین یکی از قدیمی‌ترین دهان‌شویه‌های آنتی‌سپتیک موجود در بازار جهان می‌باشد. تحقیقات مختلف نشان داده است که لیسترین در کاهش پلاک[۳]، پیش‌گیری از ایجاد پوسیدگی و تشکیل جرم[۶] و جلوگیری از التهاب لثه[۵، ۴] مؤثر است. این دهان‌شویه بر خلاف دهان‌شویه کلرهگزیدین موجب تغییر رنگ دندان‌ها و پرکردگی‌های کامپوزیت نمی‌شود[۷] و میزان سمیت آن بر روی سلول‌های فیبروبلاست در غلظت‌های مشابه کمتر از دهان‌شویه کلرهگزیدین گزارش شده است[۸].

دهان‌شویه ایرشا نمونه داخلی دهان‌شویه ضد باکتری لیسترین است که در بازار عرضه می‌شود. طبق اظهار نظر شرکت سازنده (شرکت داروسازی شفا)، این دهان‌شویه مشابه لیسترین دارای ترکیبات ضد میکروبی منتول، اکالیپتول، تیمول، متیل سالیسیلات و اسید بنزوییک می‌باشد، که در محلول الکلی ۲۶/۹ درصد حمل می‌شود[۹]. اگر چه شرکت سازنده مدعی است که فرمولاسیون این دهان‌شویه از روی دهان‌شویه لیسترین کپی برداری شده است، اثرات بیولوژیک آن، چه از نظر باکتریولوژی و چه از نظر سمیت سلولی، تاکنون توسط هیچ منبع مستقلی با دهان‌شویه لیسترین که اثرات مفید اثبات شده دارد، مقایسه نگردیده است. با توجه به این موضوع که استفاده از دهان‌شویه لیسترین به عنوان یکی از روش‌های کنترل پلاک و بیماری پریودنتال در منابع معتبر پریودنتولوژی توصیه شده است[۱۱، ۱۰] و در ایران نیز نمونه داخلی آن (ایرشا) توسط برخی از متخصصین پریودنتولوژی با همین هدف مورد استفاده قرار می‌گیرد، بر آن شدیم تا در تحقیق حاضر به بررسی دهان‌شویه ایرشا و مقایسه اثرات ضد میکروبی و سمیت سلولی آن با نمونه خارجی (لیسترین) بپردازیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه برون‌تنی آزمایشگاهی در سال ۱۳۸۸ بر روی نمونه‌های میکروبی، قارچی و رده‌های سلولی انجام شد.

کشت و نگهداری میکروارگانیسم‌ها جهت بررسی اثرات ضد میکروبی

برای بررسی اثر ضدمیکروبی دهان‌شویه‌های لیسترین (Original Listerine 500CC, Canada) و ایرشا (Irsha, Shafa Co, Iran) ۲۵۰ سی‌سی از سوش‌های اشرشیاکلی (ptcc ۱۳۲۹)، انتروکوک فکالیس (ptcc ۱۳۹۳)، کاندیدا (ptcc ۵۰۲۷)، استرپتوکوک موتانس (ptcc ۱۴۹۹) و استرپتوکوک سانگوئیس (ptcc ۱۶۰۱) از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. سوسپانسیون میکروبی بر اساس دستورالعمل مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. برای این منظور، ابتدا با گاز آغشته به الکل ۷۰ درصد، اطراف آمپول حاوی میکروب ضد عفونی شد. سپس آمپول از محلی بالای توده پنبه خراش داده و شکسته شد. توده پنبه درون آمپول با پنس استریل خارج و با استفاده از پیپت پاستور ۰/۴-۰/۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به ماده خشک داخل آمپول اضافه گردید. محلول حاصل از یکنواخت کردن سوسپانسیون به محیط کشت مایع یا جامد مناسب انتقال داده شد. برای یکنواخت سازی قارچ از آب مقطر استریل استفاده شد و محلول حاصل قبل از انتقال به محیط کشت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید (تمام مراحل بالا در زیر هود استریل انجام گرفت). باکتری‌ها در ابتدا برای تقویت به محیط تریپتیک سوی برات انتقال داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت به محیط بلاد آگار منتقل گردیدند.

سپس جهت تهیه محلول نیم مک فارلند از باکتری‌ها (10^8-10^5 باکتری)، ۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل در لوله ریخته و ۳-۲ کلونی از باکتری‌های کشت داده شده، در سرم حل شد تا

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کدورتی مشابه استاندارد مک فارلند ایجاد شود؛ در این شرایط غلظت میکروبی ۱:۱۰۰ به دست آمد.

برای رقیق سازی دهان‌شویه‌ها[۱۳، ۱۲] از آب مقطر استریل استفاده شد؛ به این ترتیب که ۵ لوله حاوی ۱۰ سی‌سی آب مقطر تهیه و به لوله اول ۱۰ سی‌سی دهان‌شویه اضافه و مخلوط گردید تا رقت ۱:۲ به دست بیاید. سپس ۱۰ سی‌سی از محلول اخیر به لوله دوم اضافه شد، تا پس از رقیق سازی رقت ۱:۴ به دست آید. در مطالعه حاضر، از آب مقطر به عنوان بلانک استفاده گردید.

در مرحله بعد، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی ۱:۱۰۰ به ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف هر دهان‌شویه اضافه شد. بعد از گذشت ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه از محلول‌های موجود با لوپ استاندارد نمونه‌ای برداشته شد و به محیط بلاد آگار اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت، تعداد کلونی‌ها در هر پلیت شمرده شد و آزمایشات برای هر یک از زمان‌ها ۳ بار تکرار گردید.

رده‌های سلولی و کشت سلول

در روند ترمیم زخم‌های دهان، سلول‌های مهمی مانند گرانولوسیت‌ها، ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال و استئوبلاست‌ها تأثیرگذارند. رده‌های سلولی Saos-2 (سارکوم استخوان)، J744-A1 (ماکروفاژ موش) و KB (کارسینوم دهان انسان) از بانک سلولی ایران (NCBI) خریداری شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)، حاوی ۱۰ درصد FBS (Fetal Bovine Serum)، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (محیط کشت کامل) در فلاسک‌های کشت سلول در شرایط ۷ CO_2 درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جهت تهیه سلول‌های فیبروبلاست لثه، بافت لثه انسان به قطعات کوچک تقسیم و در محیط‌های کشت کامل در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع کشت سلول در شرایط ۷ CO_2 درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از رشد و گسترش سلول‌های فیبروبلاست در ۹۰ درصد از سطح فلاسک، کشت‌های سلولی به فلاسک‌های جدید پاساژ شد. از پاساژهای ۳ و ۴ سلول‌های فیبروبلاست (MRF) جهت بررسی سمیت سلولی دهان‌شویه‌ها استفاده شد.

بررسی سمیت سلولی با روش سنجش MTT

سوسپانسیون‌های سلولی معادل ۵۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر از هر رده سلولی در محیط کشت کامل تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون به هر چاهک پلیت ۹۶ حفره‌ای وارد گردید. پلیت‌ها در شرایط ۷ CO_2 درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب انکوبه شد. رقت‌های ۳۰، ۱۵، ۳ و ۱/۵ درصد از دهان‌شویه ها[۱۲و۱۳] در محیط کشت کامل تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از هر رقت به ۵ چاهک پلیت افزوده شد. بدین ترتیب رقت نهایی دهان‌شویه‌ها در ۱۰، ۵، ۱ و ۰/۵ درصد تنظیم شد. به عنوان کنترل کشت سلول، ۵۰ میکرولیتر محیط کشت کامل بدون دارو به ۵ حفره پلیت افزوده شد. پلیت‌ها به مدت ۳ روز در شرایط استاندارد انکوبه گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر کروموژن MTT (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بافر فسفات) به هر حفره پلیت افزوده و پلیت‌ها به مدت یک ساعت انکوبه شدند. پس از پایان انکوباسیون، محیط کشت چاهک‌ها به آرامی تخلیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک پلیت وارد شد. شدت جذب به وسیله دستگاه الیزا در طول موج ۴۹۲ نانومتر ثبت گردید[۱۴].

داده‌ها به وسیله نمودارهای رشد سلولی و آزمون‌های Tukey و One Way ANOVA در نرم‌افزار $SPSS_{۱۸}$ تجزیه و تحلیل شد.($\alpha = ۰/۰۵$)

یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر در مورد تأثیر غلظت‌های مختلف دهان‌شویه ایرشا بر رده‌های سلولی MRF (فیبروبلاست انسان)، KB (اپی‌تلیال)، Saos-2 (استئوبلاست) و J744-A1 (ماکروفاژ) نشان داد که در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۵ درصد این دهان‌شویه از نظر سمیت بر روی رده‌های سلولی مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با کنترل وجود ندارد؛ ولی در غلظت ۱۰ درصد تفاوت معنی‌داری بین دهان‌شویه ایرشا و کنترل (آب مقطر) مشاهده شد. میانگین رشدی رده‌های سلولی مختلف نسبت به گروه کنترل در رقت‌های مختلف دهان‌شویه ایرشا در جدول ۱ نشان داده شده است. به همین ترتیب، دهان‌شویه لیسترین در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۵ درصد از نظر سمیت بر روی هر کدام از رده‌های سلولی فوق تفاوت معنی‌داری نسبت

به کنترل نشان نداد؛ ولی در غلظت ۱۰ درصد تفاوت معنی‌داری بین دهان‌شویه لیسترین وکنترل مشاهده شد (جدول ۲). شایان ذکر است که این تفاوت، چه در مورد دهان‌شویه ایرشا و چه در مورد دهان‌شویه لیسترین در مقایسه با کنترل، از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p value > ۰/۰۵). در نمودار ۱ اثر لیسترین و ایرشا بر روی رده سلولی MRF (فیبروبلاست) مقایسه شده است.

اثر ضدمیکروبی دهان‌شویه لیسترین و ایرشا در رقتها و زمانهای متفاوت

رقت ۱۰۰ درصد: در این رقت از دهان‌شویه لیسترین در زمان‌های ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه، هیچکدام از ۵ سوش میکروبی رشد نکردند. در صورتی که در رقت ۱۰۰ درصد از دهان‌شویه ایرشا، در زمان ۲ دقیقه سوش انتروکوک فکالیس و اشرشیاکلی رشد کم، در زمان ۱۰ دقیقه اشرشیاکلی رشد کم و انتروکوک فکالیس رشد متوسط و در زمان ۳۰ دقیقه تنها انتروکوک فکالیس رشد کم داشت.

رقت ۵۰ درصد: رشد سوش‌های میکروبی در این رقت از دهان‌شویه لیسترین به این صورت بود که در زمان ۲ دقیقه کاندیدا آلبیکنس عدم رشد، استرپتوکوک سانگوئیس و انتروکوک فکالیس رشد کم و اشرشیاکلی و استرپتوکوک موتانس رشد زیاد داشتند. در زمان ۱۰ دقیقه، کاندیداآلبیکانس و استرپتوکوک سانگوئیس عدم رشد و سایر سوش‌ها رشد کم داشتند. در زمان ۳۰ دقیقه، همه سوش‌ها عدم رشد نشان دادند. در این رقت از دهان‌شویه ایرشا در زمان ۲ دقیقه، کاندیداآلبیکنس و استرپتوکوک سانگوئیس رشد کم و سایر سوش‌ها رشد متوسط داشتند. در زمان ۱۰ دقیقه، اشرشیاکلی و انتروکوک فکالیس رشد متوسط و سایر سوش‌ها رشد کم داشتند. در زمان ۳۰ دقیقه، استرپتوکوک موتانس و سانگوئیس و اشرشیاکلی عدم رشد، کاندیداآلبیکانس رشد کم و انتروکوک فکالیس رشد متوسط نشان دادند.

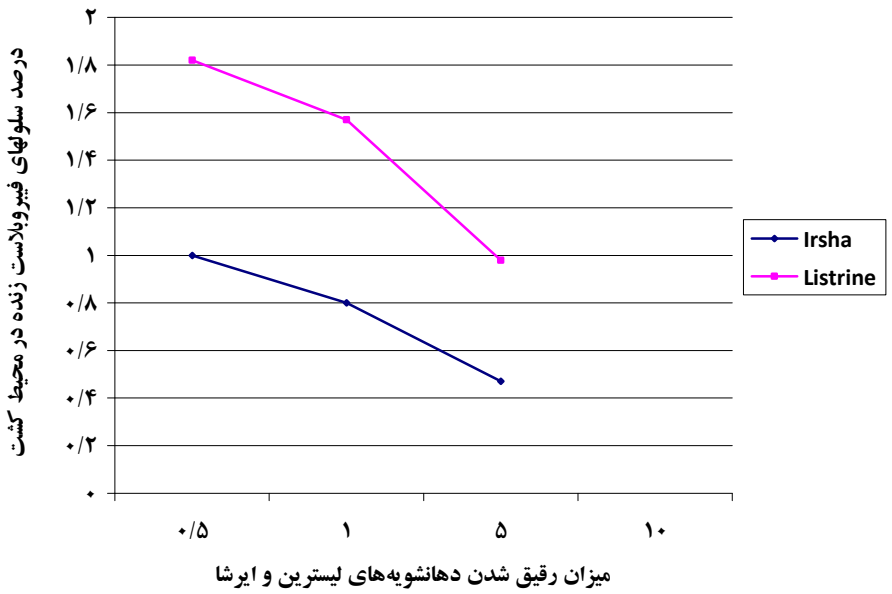
رقت ۲۵ درصد: در این رقت از دهان‌شویه لیسترین در زمان ۲ دقیقه، استرپتوکوک سانگوئیس رشد متوسط و سایر سوش‌ها رشد زیاد داشتند، ولی در زمان‌های ۱۰ و ۳۰ دقیقه تمام سوش‌ها رشد زیادی نشان دادند. در رقت ۲۵ درصد دهان‌شویه ایرشا در تمام زمان‌ها، رشد زیاد تمام سوش‌ها مشاهده شد. در رقت‌های ۱۲/۵ و ۶/۲۵ درصد از هر دو دهان‌شویه رشد زیاد تمام سوش‌ها ملاحظه گردید.

جدول ۱. میانگین رشدی رده‌های سلولی مختلف در غلظت‌های متفاوت دهان‌شویه ایرشا

غلظت / رده سلولی	۰/۵ درصد	۱ درصد	۵ درصد	۱۰ درصد
MRF	۱/۰۰۳	۰/۹	۰/۹۷	۰/۵۷
J774-A1	۰/۸۷	۰/۶۱	۰/۵	۰/۰۶
Saos-2	۰/۹۹	۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۳۱
KB	۱/۰۵	۰/۸۵	۰/۶۸	۰/۱۳

جدول ۲. میانگین رشدی رده‌های سلولی مختلف در غلظت‌های متفاوت دهان‌شویه لیسترین

غلظت / رده سلولی	۰/۵ درصد	۱درصد	۵ درصد	۱۰ درصد
MRF	۰/۸۴	۰/۷۹	۰/۷۵	۰/۳۸
J774.A1	۰/۹۳	۰/۹۹	۰/۷۸	۰/۰۶۳
Saos-2	۱/۰۳	۱/۰۷	۰/۸۷	۰/۲۶
KB	۰/۸۳	۰/۷۲	۰/۶۱	۰/۰۷



نمودار ۱. مقایسه اثر لیسترین و ایرشا بر روی درصد سلول‌های MRF (فیبروبلاست) زنده در محیط کشت

بحث

با توجه به این که در حفره دهان میکروارگانیسم‌های مختلفی وجود دارد که سبب شروع و پیشرفت پوسیدگی دندانی، التهاب لثه و بیماری پریودنتال می‌شوند و کنترل پلاک به روش مکانیکی همواره به تنهایی مؤثر نیست، استفاده از دهان‌شویه‌ها برای کنترل پلاک به روش شیمیایی در بسیاری از موارد ضروری می‌باشد. مطالعات زیادی در مورد دهان‌شویه لیسترین در طی سال‌های گذشته انجام شده است و این دهان‌شویه به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. دهان‌شویه لیسترین به علت ترکیبات مؤثری مانند تیمول، منتول، اکالیپتول، متیل سالیسیلات و اسید بنزوییک می‌تواند سبب کاهش بیشتر پلاک میکروبی نسبت به روش مکانیکی به تنهایی شود؛ به طوری که توصیه شده است از این دهان‌شویه همراه با روش‌های مکانیکی کنترل پلاک استفاده شود[۱۵]. ترکیبات موجود در این دهان‌شویه (Essential oils) با مخاط، باند لیپوفیلیک ایجاد می‌کنند و سرعت آزاد شدن متوسطی دارند[۱۶]. به طوری که مطالعات نشان داده است، پس از ۶ ساعت اثر ضد میکروبی لیسترین کاهش می‌یابد[۱۷]. Riep و همکاران تأثیر ضدمیکروبی دهان‌شویه لیسترین را روی کنترل پلاک بالای لثه و التهاب لثه نشان دادند[۱۸]. نتایج مطالعه Fine و همکاران نیز نشان داد که دهان‌شویه لیسترین سبب کاهش میزان استرپتوکوک موتانس بزاق می‌شود[۱۹]. Charles و همکاران تأثیر ضدمیکروبی و ضد پلاک لیسترین را در مقایسه با کلرهگزیدین بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که تجمع جرم و ایجاد رنگیزه خارجی روی دندان سبب محدودیت استفاده از کلرهگزیدین در مقایسه با لیسترین می‌شود[۲۰]. در بررسی انجام شده توسط Filoche و همکاران نشان داده شد که استفاده از دهان‌شویه کلرهگزیدین همراه با لیسترین و اثر ترکیبی آن‌ها می‌تواند سبب کاهش بیشتر گونه‌های میکروبی گردد[۲۱]. Jung-Koo و همکار اثرات دو دهان‌شویه کلرهگزیدین و لیسترین را بر روی فیبروبلاست‌های لثه مورد ارزیابی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که هر دو دهان‌شویه باعث ممانعت از فعالیت فیبروبلاست‌ها می‌شوند[۲۲]. Fine و همکاران در مطالعه‌ای دیگر تأثیر لیسترین را در کاهش گونه‌های میکروبی کپنوسیتوفاگا، ویلونلا و فوزوباکتریوم نشان دادند[۴]. Flemingson و همکاران تأثیر سمیت سلولی لیسترین را با کلرهگزیدین و بتادین مقایسه کرد. این مطالعه نشان داد که اگرچه اثر سمی دهان‌شویه‌ها بستگی به غلظت آن‌ها دارد، اما سمیت کلرهگزیدین بیشتر از بقیه می‌باشد[۸].

در رابطه با دهان‌شویه ایرشا تحقیقی توسط هوشمند و

همکاران به منظور مقایسه اثر بخشی دو دهان‌شویه ضد پلاک و ضد عفونی ایرشا و دهان‌شویه کلرهگزیدین انجام شد که نتایج نشان‌دهنده تأثیر قوی‌تر دهان‌شویه کلرهگزیدین بود[۲۳]. در مطالعه عزیزی و همکاران اثرات دهان‌شویه ضدعفونی ایرشا بر روی استرپتوکوک‌های پاتوژن و میکروفلور طبیعی دهان پرداخته شد. نتایج این مطالعه نشان داده که این دهان‌شویه در از بین بردن استرپتوکوک‌های پاتوژن مؤثر بوده است[۹]. در حالی که مطالعه اصفهانیان و همکاران نشان داده است که اثر ضد پلاک دهان‌شویه (ضدپلاک) ایرشا در مقایسه با کلرهگزیدین قابل توجه نمی‌باشد[۲۴].

با وجود بررسی‌های انجام شده در مورد اثرات دهان‌شویه ایرشا به تنهایی و یا در مقایسه با کلرهگزیدین، تاکنون تحقیقی در مورد مقایسه دهان‌شویه ایرشا و لیسترین انجام نشده بود. مطالعه حاضر به مقایسه اثر ضدمیکروبی و سمیت سلولی دهان‌شویه ایرشا که بر اساس اظهار نظر شرکت سازنده (شرکت داروسازی شفا)، دارای ترکیبات مشابه لیسترین می‌باشد[۹] و به عنوان نمونه داخلی لیسترین محسوب می‌شود، با دهان‌شویه لیسترین اصل در محیط برون‌تنی پرداخته است. در رابطه با تأثیرات ضدمیکروبی دو دهان‌شویه، در رقت ۱۰۰ درصد از دهان‌شویه لیسترین هیچ سوش میکروبی رشد نداشت، اما در مورد دهان‌شویه ایرشا تنها ۳ سوش میکروبی عدم رشد را نشان دادند؛ متأسفانه با توجه به پراکندگی زیاد متغیر وابسته و کم بودن حجم نمونه، از لحاظ آماری امکان آنالیز نتایج این قسمت فراهم نشد و نتوانستیم معنی‌دار بودن نتایج را بررسی کنیم.

در مورد غلظت‌های مختلف دو دهان‌شویه، در مورد دهان‌شویه ایرشا افزایش غلظت از ۵۰ به ۱۰۰ درصد، سبب کاهش رشد سوش‌های میکروبی شد، اما در مورد دهان‌شویه لیسترین افزایش غلظت از ۵۰ به ۱۰۰ درصد، منجر به عدم رشد همه سوش‌های میکروبی گردید. همچنین در این مطالعه به بررسی اثر ضد میکروبی دارو و همچنین ماندگاری اثر ضد میکروبی دارو در زمان‌های مختلف پرداخته شد. نتایج نشان داد که رشد میکروبی در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد دهان‌شویه ایرشا بعد از ۳۰ دقیقه همچنان وجود داشت، اما در مورد دهان‌شویه لیسترین در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد بعد از ۳۰ دقیقه رشد هیچیک از سوش‌های میکروبی مشاهده نشد. در حفره دهان انواعی از باکتری‌های بی هوازی، مانند لاکتوباسیل کازئی، وجود دارند که ممکن است در پوسیدگی و بیماری پریودنتال نقش داشته باشند. از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم استفاده از این سوش بود که تهیه محیط کشت آن در ایران میسر نبود.

یک دهان‌شویه علاوه بر اثرات ضد میکروبی، باید از لحاظ سمیت سلولی نیز بررسی شود. سمیت سلولی دهان‌شویه‌ها در ترمیم زخم‌ها زمانی مطرح می‌شود که دهان‌شویه در تماس مستقیم با سلول‌های مسؤول ترمیم زخم قرار بگیرد و با اعمال اثرات سمی بر روی آن‌ها سبب تأخیر در ترمیم زخم شود.

در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۵ درصد دهان‌شویه‌های ایرشا و لیسترین، اثرات سمیت سلولی در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. در مورد غلظت ۱۰ درصد هر دو دهان‌شویه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشتند، اما بین لیسترین و ایرشا در این غلظت از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

به طور خلاصه، مطالعه حاضر احتمال اثر ضدمیکروبی بیشتر دهان‌شویه لیسترین بر روی سوش‌های میکروبی مورد استفاده در این تحقیق نسبت به دهان‌شویه ایرشا را نشان داد؛ اگر چه این نتیجه به علت کمبود حجم نمونه از نظر آماری قابل اثبات نیست. با وجود این، در تحقیق حاضر تفاوت قابل ملاحظه آماری بین سمیت سلولی دو دهان‌شویه مشاهده نشد.

برخی از دندان‌پزشکان بالینی از داروهای جدید با توجه به جدید بودن آن‌ها استقبال می‌کنند و به سرعت از این ترکیبات استفاده می‌نمایند. این در حالی است که نباید تنها به تبلیغات شرکتهای دارویی اکتفا کرد و باید تحقیقات معتبر انجام شده در مورد محصول جدید در دسترس باشد تا بر اساس نتایج این تحقیقات، داروی جدید مورد استفاده قرار بگیرد. نتایج این تحقیق گام مؤثری در این زمینه است و ضرورت انجام تحقیقات بیشتر بر روی اثرات دهان‌شویه ایرشا، به ویژه اثرات ضد میکروبی آن را نشان می‌دهد.

لازم به ذکر است، در دهان باکتری‌هایی وجود دارد که فقط در شرایط بی‌هوازی رشد می‌کنند و می‌توانند در ایجاد پریودنتیت و پوسیدگی نقش داشته باشند؛ یکی از این باکتری‌ها لاکتوباسیل کازئی است. یکی از محدودیت‌های انجام این

تحقیق عدم استفاده از این باکتری بود که انجام مطالعات بعدی و بررسی آن نیز توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان که هزینه انجام این تحقیق را تأمین نمود، تشکر می‌شود. از سرکار خانم تاج الملوک رشیدی که در انجام این پژوهش ما را صمیمانه یاری نمودند نیز تقدیر می‌گردد.

Referencs

1. Schuster G. Microbiology of orofacial region. In: Topazian RG, Goldberg MH, Hupp JR, editors. Oral and maxillofacial infections. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2002. p. 30-1.
2. Simmonds RS, Tompkins GR, George RJ. Dental caries and the microbial ecology of dental plaque: a review of recent advances. N Z Dent J 2000; 96(424): 44-9.
3. Dolinska E, Stokowska W. Short time effect of elmex and Listerine mouthrinses on plaque in 12-year-old children. Adv Med Sci 2006; 51 Suppl 1: 73-6.
4. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Goldsmith D, Charles CH, Lisante TA, et al. Effect of an essential oil-containing antimicrobial mouthrinse on specific plaque bacteria in vivo. J Clin Periodontol 2007; 34(8): 652-7.
5. Tufekci E, Casagrande ZA, Lindauer SJ, Fowler CE, Williams KT. Effectiveness of an essential oil mouthrinse in improving oral health in orthodontic patients. Angle Orthod 2008; 78(2): 294-8.
6. Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. J Am Dent Assoc 2008; 139(5): 606-11.
7. Gurgan S, Yalcin CF. The effect of three different mouthrinses on the surface hardness, gloss and colour change of bleached nano composite resins. Eur J Prosthodont Restor Dent 2008; 16(3): 104-8.
8. Flemingson PE, Emmadi P, Ambalavanan N, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R. Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. Indian J Dent Res 2008; 19(1): 29-35.
9. Azizi A, Fatholahzade B, Maleknejad P, Sahmspo A. Evaluation of effects Irsha antiseptic mouthwash on pathogen streptococcus and oral normal micro flora. Journal of Isfahan Dental Schoo 2009; 5(1): 24-9.
10. Klokkevold PR, Tokei H, Carranza FA. General principles of periodontal surgery. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, Klokkevold PR, editors. Carranza's clinical periodontology. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. p. 690-2.
11. Newman MG, Carranza FA, Takei H. Carranza's clinical periodontology. Trans. Soleimani Shayesteh Y, Khorsand A. Tehran: Shayan Nemoodar; 2002. p. 66-7, 70, 85, 649.
12. Mozaffari B, Mansouri SH, Rajabalian S, Alimardani A, Mohammadi M. Comparison of antibacterial and cytotoxic effects of Persica and chlorhixidine mouthwashes in vitro. Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2006; 23(3): 494-509.
13. Rajabalian S, Mohammadi M, Mozaffari B. Cytotoxicity evaluation of Persica mouthwash on cultured human and mouse cell lines in the presence and absence of fetal calf serum. Indian J Dent Res 2009; 20(2): 169-73.
14. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. J Immunol Methods 1986; 94(1-2): 57-63.
15. Sharma N, Charles CH, Lynch MC, Qaqish J, McGuire JA, Galustians JG, et al. Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly: a six-month study. J Am Dent Assoc 2004; 135(4): 496-504.
16. Cummins D, Creeth JE. Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels, and mouthwashes. J Dent Res 1992; 71(7): 1439-49.
17. Otten MPT, Busscher HJ, van der Mei HC, Abbas F, van Hoogmoed CG. Retention of antimicrobial activity in plaque and saliva following mouthrinse use in vivo. Caries Res 2010; 44(5): 459-64.
18. Riep BG, Bernimoulin JP, Barnett ML. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. J Clin Periodontol 1999; 26(3): 164-8.
19. Fine DH, Furgang D, Barnett ML, Drew C, Steinberg L, Charles CH, et al. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary Streptococcus mutans levels. J Clin Periodontol 2000; 27(3): 157-61.
20. Charles CH, Mostler KM, Bartels LL, Mankodi SM. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. J Clin Periodontol 2004; 31(10): 878-84.

21. Filoche SK, Soma K, Sissons CH. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. Oral Microbiology and Immunology 2005; 20(4): 221-5.
22. Jung-Koo K, Du-Seok H. Effect of chlorhexidine and Listerine on cell activity of human gingival fibroblast in vitro. Journal of Wongwang Dental Research Institute 1995; 5(1): 85-6.
23. Houshmand B, Yousefi R, Khamverdi Z. Comparison of the effectiveness of three mouthwashes on oral microflora: an in vitro study. Journal of Islamic Dental association of Iran 2006; 18(4): 20-6.
24. Esfahanian V, Ketabi M, Farman Ara H. Efficacy of chlorhexidine and Irsha (Anti-plaque) mouth-rinses on reducing dental plaques. Journal of Isfahan Dental School 2007; 3(1): 10-14.

In vitro Comparison of antimicrobial activity and cytotoxic effects of Listerine and Irsha mouthwashes

Mohammad Reza Zarei, Maryam Rad*, Saeed Rajabalian, Maryam Khani

Abstract

Introduction: *Irsha is an Iranian sample of Listerine mouthwash. To date biologic effects of Irsha and Listerine have not been compared. This study compared the antimicrobial and cytotoxic effects of Listerine and Irsha mouthwashes.*
Materials and Methods: *In this in vitro study, antimicrobial effects of 5 dilutions of Irsha and Listerine, on the 0.5 MacFarlnd concentrations of five bacterial strains (Streptococcus mutans, Streptococcus Sangius, Enterococcus Fecalis, Candida albicans and Escherichia coli) were assessed at different times. Each test was repeated three times, with distilled water as control. For cytotoxic effect, more than 100000 cells of KB (epithelial cell), J774.A1 (macrophage), Saos-2 (osteoblast) and MRF (fibroblast) were cultured and incubated for 72 hours in different dilutions of the two mouthwashes (0.5, 1, 5, 10%). After incubation, the cells were washed and stained with MTT for 45 minutes. The results were recorded with ELISA READER and analyzed with SPSS 18 software, using ANOVA, Tukey test and one-way ANOVA. Statistical significance was defined at* p *value* < 0.05.
Results: *The cytotoxic effects of various dilutions of Listerine and Irsha mouthwashes were not significantly different (p value > 0.05). In terms of antimicrobial activity, in dilutions of 100% and 50% of Listerine none of the five bacterial strains grew. However, at the same dilutions (100% and 50%) of Irsha, only three strains did not grow.*
Conclusion: *According to the results, antimicrobial activity of Listerine is probably better than Irsha, but cytotoxic effects of Listerine and Irsha mouthwashes were not different.*

Key words: *Listerine, Irsha, mouthwash, Antimicrobial, Cytotoxic.*

Received: 6 Oct, 2010 **Accepted:** 23 Nov, 2010

Address: Specialist at Oral Medicine, Oral and Dental Diseases Research Center, School of Dentistry, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
Email: Rad_1152@yahoo.com

Journal of Isfahan Dental School 2010; 6(4): 323-331.