

# مقایسه برون تنی اثرات ضد میکروبی و سمیت سلولی دهان شویه لیسترین و ایرشا

دکتر محمد رضا زارعی<sup>۱</sup>، دکتر مریم راد<sup>۲\*</sup>، سعید رجبعلیان<sup>۲</sup>، دکتر مریم خانی<sup>۳</sup>

## چکیده

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

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی برون تنی، اثر ضد میکروبی ۵ رقت دهان شویه 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 (اپی تلیال)، MRF (فیبروبلاست)، J774.A1 (ماکروفاژ) و Saos-2 (استئوبلاست) در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده و به مدت ۷۲ ساعت در مجاورت ۴ رقت از دو دهان شویه (۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ درصد) انکوبه شد. سپس سلول‌ها شسته و به مدت ۴۵ دقیقه با MTT (Cloorimetric assays) رنگ شده و در نهایت نتایج با دستگاه الیزا ثبت شد. سپس نتایج در SPSS<sub>۱۸</sub> با آزمون‌های آنالیز واریانس Tukey و One Way ANOVA تفسیر شد ( $\alpha = 0/05$ ).

**یافته‌ها:** اثر سمیت سلولی دهان شویه‌های لیسترین و ایرشا در غلظت‌های مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p \text{ value} > 0/05$ ). از لحاظ فعالیت ضد میکروبی، دهان شویه لیسترین در دو رقت ۱۰۰ و ۵۰ درصد مانع از رشد تمام گونه‌های باکتریایی شد؛ در حالی که در رقت‌های مشابه از دهان شویه ایرشا تنها ۳ نوع باکتری رشد نکرد. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده، احتمال می‌رود اثر ضد میکروبی دهان شویه لیسترین نسبت به ایرشا بهتر باشد، اما از لحاظ سمیت سلولی تفاوت معنی‌داری بین این دو وجود ندارد.

**کلید واژه‌ها:** لیسترین، ایرشا، دهان شویه، ضد میکروبی، سمیت سلولی.

\* دستیار تخصصی 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 دندان پزشکی و عضو مرکز تحقیقات پروفیسور 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: دندان پزشکی، 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 دندان پزشکی اصفهان  
۱۳۸۹؛ ۶(۴): ۳۲۳ تا ۳۳۱

## مقدمه

حفره دهان جایگاه میکروارگانیسم‌های مختلفی است که فلور طبیعی دهان را تشکیل می‌دهند [۱]. برخی از این میکروارگانیسم‌ها باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند پوسیدگی دندان، 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]. دهان شویه‌ها اغلب به منظور کاهش موقت تراکم میکروارگانیسم‌های مؤثر در فرآیند پوسیدگی دندان و التهاب لثه [۳، ۴]، 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 دهان شویه‌های 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 دهان شویه بر خلاف دهان شویه کلرهگزیدین موجب تغییر رنگ دندان‌ها و پرکردگی‌های کامپوزیت نمی‌شود [۷] و میزان سمیت آن بر روی سلول‌های فیروبلاست در غلظت‌های مشابه کمتر از دهان شویه کلرهگزیدین گزارش شده است [۸].

دهان شویه ایرشا نمونه داخلی دهان شویه ضد باکتری لیسترین است که در بازار عرضه می‌شود. طبق اظهار نظر شرکت سازنده (شرکت داروسازی شفا)، این دهان شویه مشابه لیسترین دارای ترکیبات ضد میکروبی متول، اکالیپتول، تیمول، متیل سالیسیلات و اسید بنزوئیک می‌باشد، که در محلول الکلی ۲۶/۹ درصد حمل می‌شود [۹]. اگر چه شرکت سازنده مدعی است که فرمولاسیون این دهان شویه از روی دهان شویه لیسترین کپی برداری شده است، اثرات بیولوژیک آن، چه از نظر باکتریولوژی و چه از نظر سمیت سلولی، تاکنون توسط هیچ منبع مستقلی با دهان شویه لیسترین که اثرات مفید اثبات شده دارد، مقایسه نگردیده است. با توجه به این موضوع که استفاده از دهان شویه 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 دهان شویه ایرشا و مقایسه اثرات ضد میکروبی و سمیت سلولی آن با نمونه خارجی (لیسترین) بپردازیم.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه برون تنی 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 ضد میکروبی دهان شویه‌های لیسترین (Original Listerine 500CC, Canada) و ایرشا (Irsha, Shafa Co, Iran) ۲۵۰ سی‌سی از سوش‌های اشرشیاکلی (۱۳۲۹ ptcc)، انتروکوک فکالیس (۱۳۹۳ ptcc)، کاندیدا (۵۰۲۷ ptcc)، استرپتوکوک موتانس (۱۴۹۹ ptcc) و استرپتوکوک سانگوئیس (۱۶۰۱ ptcc) 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 ۰/۳-۰/۴ 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 ۲-۳ کلونی از باکتری‌های کشت داده شده، در سرم حل شد تا

### 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  $CO_2$  ۷ درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب انکوبه شد. رقت‌های ۱۵، ۳۰، ۱ و ۰/۵ درصد از دهان‌شویه‌ها [۱۲ و ۱۳] در محیط کشت کامل تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از هر رقت به ۵ چاهک پلیت افزوده شد. بدین ترتیب رقت‌نهایی 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 کروموزن 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<sub>۱۸</sub> تجزیه و تحلیل شد. ( $\alpha = 0/05$ )

### یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر در مورد تأثیر غلظت‌های مختلف دهان‌شویه ایرشا بر رده‌های سلولی MRF (فیروبلاست 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

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

برای رقیق‌سازی دهان‌شویه‌ها [۱۲، ۱۳] 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 رقیق‌سازی 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 لوب 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، فیروبلاست‌ها، 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 استریتومایسین و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (محیط کشت کامل) در فلاسک‌های کشت سلول در شرایط  $CO_2$  ۷ درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جهت تهیه سلول‌های فیروبلاست لته، بافت لته انسان به قطعات کوچک تقسیم و در محیط‌های کشت کامل در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع کشت سلول در شرایط  $CO_2$  ۷ درصد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از رشد و گسترش سلول‌های فیروبلاست در ۹۰ درصد از سطح فلاسک، کشت‌های سلولی به فلاسک‌های جدید پاساژ شد. از پاساژهای ۳ و ۴ سلول‌های فیروبلاست (MRF) جهت بررسی سمیت سلولی دهان‌شویه‌ها استفاده شد.

کاندیدا آلبیکنس عدم رشد، استرپتوکوک سانگوئیس و انتروکوک فکالیس رشد کم و اشرشیاکلی و استرپتوکوک موتانس رشد زیاد داشتند. در زمان ۱۰ دقیقه، کاندیدا آلبیکنس 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 دهان شویه ایرشا در زمان ۲ دقیقه، کاندیدا آلبیکنس 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، کاندیدا آلبیکنس رشد کم و انتروکوک فکالیس رشد متوسط نشان دادند.

**رقت ۲۵ درصد:** در این رقت از دهان شویه 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 دهان شویه ایرشا در تمام زمان‌ها، رشد زیاد تمام سوش‌ها مشاهده شد. در رقت‌های ۱۲/۵ و ۶/۲۵ درصد از هر دو دهان شویه رشد زیاد تمام سوش‌ها ملاحظه گردید.

به کنترل نشان نداد؛ ولی در غلظت ۱۰ درصد تفاوت معنی داری بین دهان شویه لیسترین و کنترل مشاهده شد (جدول ۲). شایان ذکر است که این تفاوت، چه در مورد دهان شویه ایرشا و چه در مورد دهان شویه لیسترین در مقایسه با کنترل، از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $p \text{ value} > 0/05$ ). در نمودار ۱ اثر لیسترین و ایرشا بر روی رده سلولی MRF (فیروپلاست) مقایسه شده است.

### اثر ضد میکروبی دهان شویه لیسترین و ایرشا در رقت‌ها و زمان‌های متفاوت

**رقت ۱۰۰ درصد:** در این رقت از دهان شویه لیسترین در زمان‌های ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه، هیچکدام از ۵ سوش میکروبی رشد نکردند. در صورتی که در رقت ۱۰۰ درصد از دهان شویه 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.

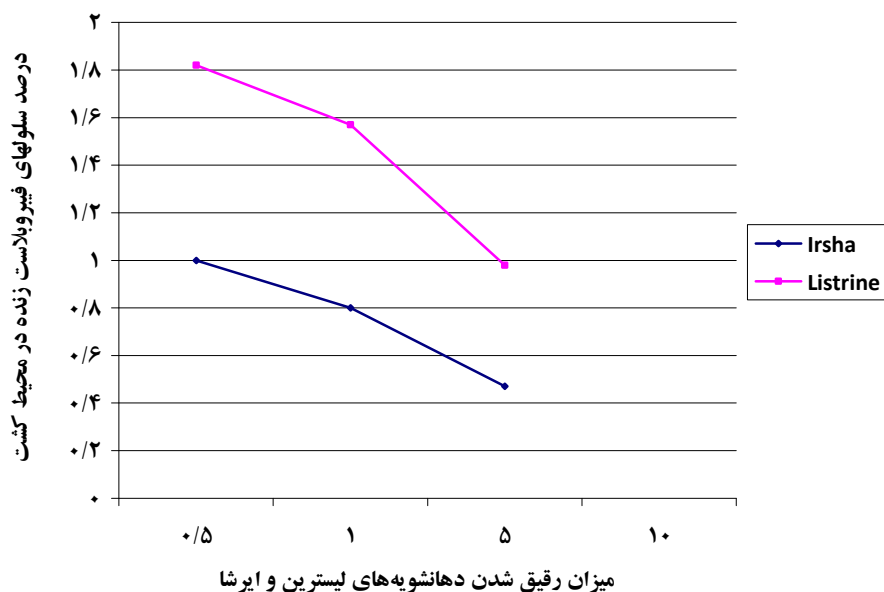
**رقت ۵۰ درصد:** رشد سوش‌های میکروبی در این رقت از دهان شویه لیسترین به این صورت بود که در زمان ۲ دقیقه

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

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

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

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



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

## بحث

با توجه به این که در حفره دهان میکروارگانیسمهای مختلفی وجود دارد که سبب شروع و پیشرفت پوسیدگی دندان، التهاب لثه و بیماری پریودنتال می شوند و کنترل پلاک به روش مکانیکی همواره به تنهایی مؤثر نیست، استفاده از دهان شویه ها برای کنترل پلاک به روش شیمیایی در بسیاری از موارد ضروری می باشد. مطالعات زیادی در مورد دهان شویه لیسترین در طی سالهای گذشته انجام شده است و این دهان شویه به طور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد. دهان شویه لیسترین به علت ترکیبات مؤثری مانند تیمول، منتول، اکالیپتول، متیل سالیسیلات و اسید بنزویک می تواند سبب کاهش بیشتر پلاک میکروبی نسبت به روش مکانیکی به تنهایی شود؛ به طوری که توصیه شده است از این دهان شویه همراه با روش های مکانیکی کنترل پلاک استفاده شود [۱۵]. ترکیبات موجود در این دهان شویه (Essential oils) با مخاط، باند لیپوفیلیک ایجاد می کنند و سرعت آزاد شدن متوسطی دارند [۱۶]. به طوری که مطالعات نشان داده است، پس از ۶ ساعت اثر ضد میکروبی لیسترین کاهش می یابد [۱۷]. Riep و همکاران تأثیر ضد میکروبی دهان شویه لیسترین را روی کنترل پلاک بالای لثه و التهاب لثه نشان دادند [۱۸]. نتایج مطالعه Fine و

همکاران نیز نشان داد که دهان شویه لیسترین سبب کاهش میزان استرپتوکوک موتانس بزاق می شود [۱۹]. Charles و همکاران تأثیر ضد میکروبی و ضد پلاک لیسترین را در مقایسه با کلرگزیدین بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که تجمع جرم و ایجاد رنگیزه خارجی روی دندان سبب محدودیت استفاده از کلرگزیدین در مقایسه با لیسترین می شود [۲۰]. در بررسی انجام شده توسط Filoche و همکاران نشان داده شد که استفاده از دهان شویه کلرگزیدین همراه با لیسترین و اثر ترکیبی آنها می تواند سبب کاهش بیشتر گونه های میکروبی گردد [۲۱]. Jung-Koo و همکار اثرات دو دهان شویه کلرگزیدین و لیسترین را بر روی فیروبلاست های لثه مورد ارزیابی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که هر دو دهان شویه باعث ممانعت از فعالیت فیروبلاست ها می شوند [۲۲]. Fine و همکاران در مطالعه ای دیگر تأثیر لیسترین را در کاهش گونه های میکروبی کپنوسیتوفاگا، ویلونا و فوزوباکتریوم نشان دادند [۴]. Flemingson و همکاران تأثیر سمیت سلولی لیسترین را با کلرگزیدین و بتادین مقایسه کرد. این مطالعه نشان داد که اگرچه اثر سمی دهان شویه ها بستگی به غلظت آنها دارد، اما سمیت کلرگزیدین بیشتر از بقیه می باشد [۸]. در رابطه با دهان شویه ایرشا تحقیقی توسط هوشمند و

انواعی از باکتری‌های بی هوازی، مانند لاکتوباسیل کازئی، وجود دارند که ممکن است در پوسیدگی و بیماری پریدنتال نقش داشته باشند. از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر عدم استفاده از این سوش بود که تهیه محیط کشت آن در ایران میسر نبود.

یک دهان شویه علاوه بر اثرات ضد میکروبی، باید از لحاظ سمیت سلولی نیز بررسی شود. سمیت سلولی دهان شویه‌ها در ترمیم زخم‌ها زمانی مطرح می‌شود که دهان شویه در تماس مستقیم با سلول‌های مسؤل 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 دهان شویه‌های ایرشا و لیسترین، اثرات سمیت سلولی در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. در مورد غلظت ۱۰ درصد هر دو دهان شویه 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 ضد میکروبی بیشتر دهان شویه لیسترین بر روی سوش‌های میکروبی مورد استفاده در این تحقیق نسبت به دهان شویه 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 دهان شویه 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 دهان شویه 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 پریدنتیت و پوسیدگی نقش داشته باشند؛ یکی از این باکتری‌ها لاکتوباسیل کازئی است. یکی از محدودیت‌های انجام این

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

با وجود بررسی‌های انجام شده در مورد اثرات دهان شویه ایرشا به تنهایی و یا در مقایسه با کلرهگزیدین، تاکنون تحقیقی در مورد مقایسه دهان شویه ایرشا و لیسترین انجام نشده بود. مطالعه حاضر به مقایسه اثر ضد میکروبی و سمیت سلولی دهان شویه 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 دهان شویه لیسترین اصل در محیط برون تنی پرداخته است. در رابطه با تأثیرات ضد میکروبی دو دهان شویه، در رقت ۱۰۰ درصد از دهان شویه لیسترین هیچ سوش میکروبی رشد نداشت، اما در مورد دهان شویه 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 دهان شویه، در مورد دهان شویه ایرشا افزایش غلظت از ۵۰ به ۱۰۰ درصد، سبب کاهش رشد سوش‌های میکروبی شد، اما در مورد دهان شویه 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 دهان شویه ایرشا بعد از ۳۰ دقیقه همچنان وجود داشت، اما در مورد دهان شویه لیسترین در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد بعد از ۳۰ دقیقه رشد هیچیک از سوش‌های میکروبی مشاهده نشد. در حفره دهان

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.

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

### References

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Mozaffari B, Mansouri SH, Rajabalian S, Alimardani A, Mohammadi M. Comparison of antibacterial and cytotoxic effects of Persica and chlorhexidine mouthwashes in vitro. Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2006; 23(3): 494-509.
- 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.
- Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. J Immunol Methods 1986; 94(1-2): 57-63.
- 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.
- Cummins D, Creeth JE. Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels, and mouthwashes. J Dent Res 1992; 71(7): 1439-49.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 MacFarland 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.