



۱۳۸۷



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده دندانپزشکی
مرکز تحقیقات بیماریهای دهان و دندان

پایان نامه :

جهت دریافت درجه دکترای دندانپزشکی

عنوان :

بررسی اثرات آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیتی دهانشویه ایرشا در مقایسه با لیسترین در محیط برون تنی

استاد راهنمای اول :

جناب آقای دکتر محمدرضا زارعی ۱۳۸۹/۳/۱۷

استاد راهنمای دوم :

سرکار خانم دکتر مریم راد

پژوهش و نگارش :

مریم خانی

شماره پایان نامه: ۶۵۹

سال تحصیلی ۸۹-۱۳۸۸

۱۳۸۰۰۶

پاس خداوندی را که سخنان از ستودن او عاجزند و حسابگران از
شمارش نعمتهای او ناتوان و تلاشگران از ادای حق او درمانده اند و
باز پاس خداوندی را که مانند همیشه من راد صفحه به صفحه زندگیم یاری
نمود و اگر حرکتی کم بود از بی برکتی او نبود.

انسان معاصر را در دست به وسعت اندیشه هایش، دستانش چشمه را و چشمانش دور دست را می پاید شاید گریه گاهی بیاید و
راه شود از بودن های تکراری و سیاهان آرایش،

در این کویر تکلم مسافرانی هستند با کوله باری سرشار از عشق که از فرا سوی نیک و بد می آیند دستان خسته شان بسوی
خدا باران و چشمه می دهد و

تو ای استاد بیار جاری کن کویر نظرانیت

با تقدیم و تشکر از:

دکتر محمد رضا زارعی

دکتر مریم راد

تقدیم به خورشیدی‌های روشنی بخش زندگیم

صبور مردی

که در سایه سارا ستوارش آسودم

و در پناه محبت‌های بی دریغش رسیدن به ساحل مقصود برایم آسان گشت

و فرشته مهربانی

که الفبای زندگیم آموخت،

سهمیل بردباری و صبوری و دلسوزی است

لقدیم به خواهرانم

ستاره های پرفروغ زندگیم و یاوران همیشه همراهم

لقدیم به برادریم

آن که وجودش سرشار از مهربانی و صمیمیت است

چکیده فارسی

هدف: این تحقیق به منظور مقایسه اثرات آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیک دهانشویه لیسترین و ایرشا صورت گرفت.

مواد و روشها: برای بررسی اثر آنتی میکروبیال باکتریهای استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سانگوئیس، انتروکوک فکالیس، کاندیدا البیکانس و اشرشیاکلی کشت داده و غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. از هر دهانشویه ۵ رقت (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵) درصد) مورد بررسی قرار گرفت. یک سی سی از هر رقت دهانشویه ها به باکتریها اضافه و پس از گذشت ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه بمدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. از آب مقطر بعنوان شاهد استفاده شد. برای هر باکتری ۳ بار آزمایشات تکرار شد. برای بررسی اثر سیتوتوکسیتی، بیش از ۱۰۰۰۰۰ سلول از رده های KB (اپی تلیال)، MRF (فیروپلاست)، J774.A1 (ماکروفاژ) و Saos-2 (استئوبلاست) در پلیت های ۹۶ خانه ای کشت داده و بمدت ۷۲ ساعت در مجاورت رقتهای مختلف دو دهانشویه (۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ درصد) انکوبه شدند. سپس سلولها شسته و بمدت ۴۵ دقیقه با MTT رنگ شدند و در نهایت نتایج با دستگاه ELISA READER تفسیر و با استفاده از (spss version 9) و با آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: اثر سیتوتوکسیتی دهانشویه لیسترین و ایرشا از لحاظ آماری تفاوت معناداری نداشت ($P > 0.05$). در رقت ۱۰۰ و ۵۰ درصد دهانشویه لیسترین هیچکدام از سوشها رشد نکردند. در رقت های مشابه از دهانشویه ایرشا تنها ۳ سوش عدم رشد داشتند. نتایج این قسمت بدلیل حجم کم نمونه ها از لحاظ آماری قابل تفسیر نبود.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده، احتمالاً اثر آنتی میکروبیال دهانشویه لیسترین نسبت به ایرشا بهتر است، اما از لحاظ سیتوتوکسیک تفاوت معناداری بین این دو وجود ندارد.

واژه های کلیدی: لیسترین، ایرشا، دهانشویه، آنتی میکروبیال، سیتوتوکسیتی

Abstract

In vitro Comparison of Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of Listrine and Irsha Mouthwashes

Aim : This study was conducted to compare the antimicrobial and cytotoxic effect of listrine and irsha mouthwashes.

Methods and Materials : In order to assess antimicrobial activity, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis, Entrococcus faecalis, Candida albicans and E coli were cultured and prepared the concentration of 0.5 MC farland. For each mouthwashes 5 dilutions were also prepared. From dilutions of mouthwashes, 1 cc was added to the bacterial culture plates and after 2,10,30 minutes, the plates were placed in an incubator at 37 degree centigrade for 24 hours. Distilled water was used as negative control. This process repeated 3 times. For cytotoxic effect, more than 100000 cells of KB(Epithelial cell), J774.A1(Macrophage), Saos-2(Osteoblast) and MRF(Fibroblast) were cultured in 96 plates and incubated for 72 hours in the different dilutions of 2 mouthwashes(0.5 , 1 , 5 , 10 %). In the end of incubation, cells were washed and coloured with MTT for 45 minutes, Then results were interpreted with ELISA READER and analysed with One way ANOVA, (Tukey HSD - Post Hoc Tests (spss version 9)).

Results: The cytotoxic effect of listrine and irsha mouthwashes was not statistically significant. Antimicrobial activity of listrine, in dilutions of 100%, 50% all sorts of bacteria did not grow but for irsha only 3 sorts of bacteria did not grow. Because of small size of the sample, the difference was not statistically significant.

Conclusion: According to results of this study, probably antimicrobial activity of listrine is better than irsha, but cytotoxic effect of listrine and irsha mouthwashes was not statistically significant.

Key words: listrine, irsha, mouthwash, antimicrobial, cytotoxic .

فهرست مطالب

فصل اول: کلیات تحقیق

۱-۱ مقدمه.....	۲
۱-۲ معرفی دهانشویه لیسترین.....	۵
۱-۳ اهداف پژوهش.....	۸
هدف اصلی.....	۸
اهداف جزئی.....	۸
اهداف کاربردی.....	۸
سئوالات یا فرضیات پژوهش.....	۹

فصل دوم: بررسی متون

مروری بر مقالات.....	۱۱
----------------------	----

فصل سوم: روش تحقیق

۳-۱ نوع پژوهش.....	۱۶
۳-۲ روش اجرا.....	۱۶
۳-۲-۱ کشت و نگهداری میکروارگانیزم برای بررسی اثرات آنتی میکروبیال.....	۱۶
۳-۲-۲ کشت و نگهداری رده های سلولی برای بررسی اثرات سیتوتوکسیک.....	۱۸
پاساژ سلول.....	۱۸

شمارش و تعیین درصد سلولهای زنده.....	۱۹
تهیه رفتهای مختلف دهانشویه.....	۱۹
آزمون های بررسی سمیت سلولی.....	۲۰
۳-۲-۳ آزمونهای آماری.....	۲۱

فصل چهارم: نتایج تحقیق

۴-۱ نتایج اثر سمیت دهانشویه ایرشا.....	۲۳
۴-۲ نتایج اثر سمیت دهانشویه لیستترین.....	۲۳
۴-۳ مقایسه سمیت دو دهانشویه.....	۲۴
۴-۴ نتایج اثرآنتی میکروبیال.....	۲۴

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات.....	۳۹
منابع.....	۴۳

فهرست جداول و نمودارها

- جدول-۱ میانگین رشدی رده های سلولی مختلف در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۲۶
- جدول-۲ میانگین رشدی رده های سلولی مختلف در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین.....۲۷
- نمودار-۱ رشد باکتری استرپتوکوک موتانس در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین۲۸
- نمودار-۲ رشد کاندیدا البیکانس در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین.....۲۸
- نمودار-۳ رشد اشرشیاکلی در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین.....۲۹
- نمودار-۴ رشد باکتری استرپتوکوک سانگوئیس در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین.....۲۹
- نمودار-۵ رشد باکتری انتروکوک فکاليس در رفتهای مختلف دهانشویه لیسترین.....۳۰
- نمودار-۶ رشد اشرشیاکلی در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۳۰
- نمودار-۷ رشد باکتری انتروکوک فکاليس در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۳۱
- نمودار-۸ رشد کاندیدا البیکانس در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۳۱
- نمودار-۹ رشد باکتری استرپتوکوک سانگوئیس در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۳۲
- نمودار-۱۰ رشد باکتری استرپتوکوک موتانس در رفتهای مختلف دهانشویه ایرشا.....۳۲
- نمودار-۱۱ مقایسه اثر لیسترین و ایرشا بر روی رده سلولی MRF۳۳

نمودار-۱۲ مقایسه اثر لیستترین و ایرشا بر روی رده سلولی KB ۳۳

نمودار-۱۳ مقایسه اثر لیستترین و ایرشا بر روی رده سلولی J774A.1 ۳۴

نمودار-۱۴ مقایسه اثر لیستترین و ایرشا بر روی رده سلولی Saos-2 ۳۴

تصاویر ۳۵

عقباتِ ہادِ مدلسہ
ص ۹ زانچا محکمہ
نیرن ؟
اگر اس سٹیروئیل ہے مقدار کیا

فصل اول :

مقدمہ

۱-۱ مقدمه

حفره دهان جایگاه میکروارگانیسم های مختلفی است که فلور طبیعی دهان را تشکیل می دهند (۱). برخی از این میکروارگانیسم ها باعث ایجاد بیماری هایی مانند پوسیدگی دندان، التهاب لثه و بیماریهای پریودنتال شوند و عده ای دیگر مانند قارچ کاندیدا آلیکنس فقط در حضور شرایط مناسب سیستمیک و یا در صورت وجود عوامل مستعدکننده موضعی (مانند مصرف دخانیات یا دندان مصنوعی) منجر به عفونت حفره دهان می شوند (۲).

استفاده از دهانشویه ها برای کاهش این میکروارگانیسم ها و جلوگیری از بیماریهای فوق (۳)، و موارد دیگر مانند کاهش تراکم میکروارگانیسم های دهان قبل از انجام درمانهای دندانپزشکی (۴)، بعد از انجام جراحی دهان (۵)، در درمان زخمهای دهان (۶)، جهت کاهش بوی بد دهان (۷)، و نیز کاهش حساسیت عاجی (۸) توصیه می شود. دهانشویه ها می توانند در موارد زیر نیز استفاده شوند:

- عفونتهای فرصت طلب به دلیل ضعف سیستم ایمنی (مانند ایدز و سرطان ها) (۹)
- در افراد سالخورده و ناتوان و افرادی که در آنها عضلات دست ضعیف می شوند، بطوریکه کنترل پلاک به روش مکانیکی ممکن نیست (۱۰)
- در دوره التیام جراحی لثه که به علت وجود درد موضعی، کنترل پلاک با مسواک زدن ممکن نمی باشد (۱۱).

اگرچه در عمل دستیابی به دهانشویه ای که از هر جهت ایده آل باشد، امکان پذیر نمی باشد، ولی اعتقاد عمومی بر این است که یک دهان شویه مناسب باید دارای ویژگیهای زیر باشد:

- واکنشهای آلرژیک موضعی یا سیستمیک ایجاد ننماید (۱۲).
 - خاصیت آنتی باکتریال و ضد پلاک مناسب داشته باشد (۱۳).
 - تعادل فلور میکروبی دهان را به نفع گونه خاصی بر هم نزند.
 - خاصیت ضد درد برای زخمهای دهان داشته باشد.
 - دارای طعم و مزه مناسب باشد و موجب تغییر رنگ دندانها و ترمیم ها نشود.
 - کمترین اثر سیتوتوکسیک ممکن را بر روی سلولهای بدن داشته باشد (۱۴).
- دهانشویه ها عموماً به منظور کاهش موقتی تراکم میکروارگانیزم های موثر در فرآیند پوسیدگی دندان، التهاب لثه، از بین بردن بوی بد و مزه بد دهان (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸)، احساس تازگی در دهان فرد و حفظ بهداشت دهان استفاده می شوند (۱۹). همچنین، دهان شویه ها به برداشتن موکوس و بقایای غذایی که در انتهای گلو هستند، کمک می کند (۲۰). سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا دهان شویه ها را به ۳ دسته طبقه بندی می کند:

۱- آرایشی بهداشتی^۱ : که بدون نسخه در دسترس می باشند (OTC). این دهانشویه ها برای

برداشتن باقی مانده مواد غذایی در دهان قبل و بعد از مسواک زدن، از بین بردن موقت بوی بد

¹ cosmetic

۳- مواد طعم دهنده مانند ساخارین و گلیسرین

۴- نمک های قابض (Astringent) که بطور موقتی از بوی بد دهان جلوگیری می کند، مانند

کلرید روی

۵- اتیل الکل ۱۸ تا ۲۶ درصد

۶- بافر یا خشی کننده PH: ضمن کاهش اسیدیته در تسکین درد بافت های نرم موثر است.

۷- فلوراید: سبب افزایش مقاومت به پوسیدگی می شود.

۸- مواد ضد جرم: از تشکیل جرم جلوگیری می کند (مانند سیترات روی) (۱۵،۱۹،۲۱).

امروزه دهانشویه های مختلفی وجود دارد که دارای الکل یا بدون الکل (گیاهی: حاوی صمغ و

عصاره گیاهان) هستند (۱۹).

۲-۱ دهان شویه لیسترین (Listrine)

لیسترین (Listrine) یکی از قدیمی ترین دهانشویه های آنتی سپتیک موجود در بازار جهانی می

باشد. فرمولاسیون اولیه آن در سال ۱۸۷۹ به عنوان آنتی سپتیک جراحی مورد استفاده قرار گرفت

و از سال ۱۸۹۵ دندانپزشکان از این دهان شویه برای مراقبتهای دهانی استفاده نمودند. با این حال،

این دهانشویه تا سال ۱۹۲۰ موفقیت چندانی نداشت. لیسترین از سال ۱۹۲۰ تا ۱۹۷۰ برای درمان

سرماخوردگی و گلودرد مورد استفاده قرار می گرفت تا اینکه این نظریه در سال ۱۹۷۶ رد شد.

با توجه به اینکه فرمولاسیون اولیه این دهان شویه مزه مناسبی نداشت، اخیراً این دهانشویه با تغییراتی که در آن صورت گرفته است با مزه مناسب تری وارد بازار شده است. لیسترتین با شعار تبلیغاتی "کشنده میکروبهایی که سبب بوی بد دهان می شوند"، در بازار عرضه می شود. در سالهای بعد، اسانس نعناع و طعم دهنده طبیعی به آن اضافه شد و امروزه بیش از ۱۰ نوع مختلف از دهانشویه **Listrine** در بازار وجود دارد که شامل انواعی مانند نوع اولیه (**Original**)، و انواع اسانس دار با طعم های نعناع، **fresh burst**، مرکبات، مخلوط وانیل و نعناع، و همچنین نوع تکامل یافته با قابلیت کنترل پلاک و جرم و نوع سفیدکننده دندان ها جهت مصرف قبل از مسواک می باشند. اثرات درمانی **Listrine** شامل کاهش پلاک، پیشگیری از ایجاد پوسیدگی و تشکیل جرم، سفید کردن دندانها، و جلوگیری از التهاب لثه می باشد (۲۲).

مهمترین عوارض و عیوبی که برای این دهان شویه ذکر شده است، عبارتند از:

- ایجاد لکه های سفید، قهوه ای، و سیاه روی دندانها.
- واکنش آلرژیک (به صورت خارش، راش پوستی، تورم، گیجی، و سختی تنفس).
- کدر شدن در معرض هوای سرد. شایان ذکر است که این تغییر فیزیکی اثر دهانشویه را کاهش نمی دهد (۲۳).

- مزه بد (۲۴)

?

تنها دهانشویه ضد میکروبی ساخت آمریکا که موفق به دریافت برچسب اطمینان انجمن دندانپزشکی آمریکا برای حذف پلاک و التهاب لثه شده است، لیسترتین می باشد. ترکیب دهان

شویه لیسترین شامل اوکالیپتول (۰/۰۹۴ درصد)، متتول (۰/۰۴۲ درصد) بعنوان بی حس کننده موضعی، متیل سالیسیلات (۰/۰۶۰ درصد) بعنوان ماده تمییز کننده، و تیمول (۰/۰۶۴ درصد) بعنوان آنتی سپتیک می باشد که همگی بعنوان ضد پلاک و ضد التهاب لثه عمل می کنند (۲۵). اتانول در نوع استاندارد آنتی سپتیک با غلظت ۲۶.۹ درصد موجود است اما در محصولات طعم دار با غلظت ۲۱.۶ درصد وجود دارد که در این غلظت سبب حل شدن سایر ترکیبات دهان شویه می شود (۲۱، ۲۲).

دهانشویه ایرشا نمونه داخلی دهانشویه آنتی باکتریال **Listrine** است که توسط شرکت داروسازی شفا (www.shafapharm.com) ساخته و در بازار عرضه می شود. اگر چه شرکت سازنده مدعی است که فرمولاسیون این دهانشویه از روی دهانشویه **Listrine** کپی برداری شده است، با وجود این، دهانشویه ایرشا تحت لیسانس کمپانی **Listrine** در ایران ساخته نمی شود و اثرات بیولوژیک آن، چه از نظر باکتریولوژی و چه از نظر سیتوتوکسیسیته، تا کنون توسط هیچ منبع مستقلی با دهانشویه **Listrine** که اثرات مفید اثبات شده دارد، مقایسه نگردیده است.

با توجه به اینکه بر اساس بررسی انجام شده به کمک موتورهای مختلف جستجو تا زمان نگارش این پایان نامه در متون و مقالات داخلی (۲۶) و خارجی (۲۷) هیچ گونه تحقیقی در مورد اثرات این دهانشویه (ایرشا) در دسترس نیست، و با علم به این موضوع که استفاده از دهانشویه لیسترین بعنوان یکی از روش های کنترل پلاک و بیماری پریدنتال در منابع معتبر پریدنتولوژی توصیه

شده است (۲۸) و در ایران نیز نمونه داخلی آن (ایرشا) توسط گروهی از متخصصین پرودنتولوژی با همین هدف مورد استفاده قرار می گیرد، بر آن شدیم که در تحقیق حاضر به بررسی دهانشویه ایرشا و مقایسه اثرات آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیسیتی آن با نمونه خارجی آن (لیستین) بپردازیم.

۳-۱ اهداف پژوهش

هدف اصلی طرح:

تعیین اثر سیتوتوکسیک و آنتی میکروبیال دهانشویه ایرشا در محیط برون تنی در مقایسه با دهان شویه لیستین

اهداف جزئی طرح :

- ۱ - تعیین اثر آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیک دهانشویه ایرشا در غلظتهای مختلف
- ۲ - تعیین اثر آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیک دهانشویه لیستین در غلظتهای مختلف
- ۳ - مقایسه اثر آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیک دهانشویه ایرشا و لیستین در غلظتهای مختلف
- ۴ - تعیین اثر آنتی میکروبیال دهانشویه ایرشا در زمانهای مختلف
- ۵ - تعیین اثر آنتی میکروبیال دهانشویه لیستین در زمانهای مختلف
- ۶ - مقایسه اثر آنتی میکروبیال و سیتوتوکسیک دهانشویه ایرشا و لیستین در زمانهای مختلف

اهداف کاربردی طرح: