

## مقایسه‌ی اثرات ضد میکروبی و سمیت سلولی دهانشویه‌های ایرشا، بنزیدامین، بیوتن، اورال بی، پویدون آیوداین، کامومیل با گروه‌های شاهد در محیط آزمایشگاهی

مریم‌السادات هاشمی پور\*، سید امین آیت‌اللهی موسوی\*\*، هدی مهرابی‌زاده هنرمند\*\*\*، مریم عزیزی\*\*\*\*، حسین آغاسی\*\*\*\*\*

\* استادیار گروه بیماری‌های دهان و عضو مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، کرمان، ایران

\*\* دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، کرمان، ایران

\*\*\* دندانپزشک

\*\*\*\* دستیار تخصصی گروه ترمیمی و زیبایی، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، کرمان، ایران

\*\*\*\*\* کارشناس میکروبیولوژی

### چکیده

**بیان مساله:** کاهش ریزجانداران دهان پیش از اقدام به جراحی ناحیه‌ی دهان و یا پیش از جراحی‌های فک و صورت می‌تواند نقشی مهم در کاهش وقوع عفونت‌های پس از جراحی بازی کند. یکی از روش‌های موثر در کاهش شمار ریزجانداران استفاده از محلول‌های آنتی‌سپتیک است که به عنوان دهانشویه استفاده می‌شوند.

**هدف:** هدف از این پژوهش، مقایسه‌ی اثرات ضد میکروبی و سمیت سلولی دهانشویه‌های ایرشا، بنزیدامین، بیوتن، اورال بی، پویدون آیوداین، کامومیل با گروه‌های شاهد در محیط آزمایشگاهی بود.

**مواد و روش:** این پژوهش به روش آزمایشگاهی انجام گردید. در این بررسی باکتری‌های استرپتوکوک و پریدنس، موتانس و سانگوئیس، لاکتوباسیلوس کازئی و کاندیدا آلبیکانس کشت داده شد و از آنها غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند فراهم گردید. با استفاده از آب مقطر سترون، رقت‌های گوناگون دهانشویه‌ها (۵، ۱، ۰/۵ و ۰/۱ درصد) تهیه و در ضمن از لوله‌ی دارای آب مقطر بدون دارو به عنوان شاهد منفی استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS۱۳ و آزمون آماری توکی (Tukey) و آنوا یک سویه (One Way ANOVA) واکاوی آماری گردید. همچنین جهت بررسی سایتوتوکسیسیته‌ی این دهانشویه از آزمون رنگ‌سنجی روش کلرومتریک (MTT، ۳، ۴ و ۵ دی متیل تیازید-۲-یل-۲ و ۵ دی فینیل تترازولیم بروماید، یک تترازول زرد رنگ) استفاده گردید.

**یافته‌ها:** این نتایج نشان داد که دهان شویه‌ی نیستاتین دارای بیشترین اثر باز دارندگی بر روی قارچ کاندیدا است. همچنین دهان‌شویه‌های ایرشا، پودوین آیوداین و بنزیدامین هیچ‌گونه اثرات ضد قارچی نداشتند. دهان‌شویه‌ی کلرگزیدین تنها در غلظت ۰/۱ درصد اثرات ضد قارچی نداشت و در دیگر غلظت‌ها دارای اثرات ضد قارچی بود. بیشترین اثرات ضد میکروبی در دهان‌شویه‌ی کلرگزیدین گزارش شد. دهان‌شویه‌های ایرشا و بنزیدامین در غلظت ۵ درصد دارای اثرات سمیت سلولی چشمگیری بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2، Saos-2 و KB بودند. دهان‌شویه‌ی پودوین آیوداین دارای اثرات سمیت سلولی بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2 و J774.A1 در غلظت ۵ درصد بوده و در غلظت ۱ درصد بر روی سلول Saos-2 اثر گذار است. دهان‌شویه‌ی کامومیل در غلظت ۵ درصد بر روی رده‌ی سلولی MRF موثر بوده و دهان‌شویه‌ی اورال بی در همین غلظت بر روی رده‌ی سلولی HEPG2 تاثیر دارد. دهان‌شویه‌ی کلرگزیدین دارای اثرات سمیت سلولی کمتر بر روی همه‌ی رده‌های سلولی بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج به دست آمده از این بررسی نشان داد که دهان‌شویه‌ی کلرگزیدین نسبت به دیگر دهان‌شویه‌ها دارای خواص ضد میکروبی بیشتر و سمیت سلولی کمتری بوده و می‌تواند به عنوان یک دهان‌شویه‌ی مناسب به بیماران پیشنهاد شود.

**واژگان کلیدی:** دهانشویه، ضد باکتری، ضد قارچی، سمیت سلولی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۳/۱۱، تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۲، J Dent Shiraz Univ Med Sci 2012; Supplement: 456-464، مقاله‌ی پژوهشی اصیل

نویسنده‌ی مسوول مکاتبات: مریم‌السادات هاشمی پور، کرمان، بلوار جمهوری اسلامی، انتهای خیابان شفا، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان، گروه بیماری‌های دهان و دندان تلفن: ۰۳۴۱-۲۱۱۹۰۷۴ دورنگار: ۰۳۴۱-۲۱۱۹۰۷۳ پست الکترونیک: m\_hashemipoor@kmu.ac.ir

## درآمد

امروزه استفاده از دهان‌شویه‌ها به علت بروز بیشتر پوسیدگی‌های دندانی و همچنین بیماری‌های پریدنتال در حال گسترش است. از سوی بیماری‌هایی همچون ایدز و شیوع زیاد سرطان‌ها، میزان بروز عفونت‌های فرصت‌طلبی همچون عفونت‌های قارچی را به علت تضعیف سیستم ایمنی بدن افزایش داده است. با توجه به نداشتن مهارت و توانایی بسیاری از افراد در پاک کردن پلاک به شیوه‌ی مکانیکی، مهار پلاک به صورت شیمیایی یا به بیانی دیگر، استفاده از دهانشویه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.<sup>(۱)</sup>

کاهش ریزجانداران دهان پیش از اقدام به جراحی ناحیه‌ی دهان و یا پیش از جراحی‌های فک و صورت که از طریق درون دهانی انجام می‌پذیرند می‌تواند نقشی مهم در کاهش وقوع عفونت‌های پس از جراحی بازی نماید.<sup>(۲)</sup> دهانشویه‌ها محلول‌های شست و شو دهنده‌ی دهانی بوده که با توجه به ساختار ساختمانی برای هدف‌های خاص در بهداشت دهان و دندان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مواد از جمله داروهایی هستند که حتی بدون تجویز از سوی پزشک می‌توانند مورد استفاده قرار بگیرند، بنابراین بایستی از نظر فارماکوکنتیک دارای خواص معین و اثبات شده‌ای باشند. اثرات درمانی این ترکیبات بسیار متنوع است، به گونه‌ای که اثرات ضد پلاک، ضدخونریزی، ضد التهاب، ضدباکتری، بی‌حس‌کنندگی و چندین اثر دیگر برای آنها گزارش گردیده است.<sup>(۳-۵)</sup>

از دیدگاه دندانپزشکی، دهان‌شویه‌ی مطلوب بایستی خواصی همچون نداشتن واکنش‌های حساسیت‌زا و توکسیک، رنگ‌پذیری نداشتن دندان‌ها و مخاط، کمترین اثرات توکسیک، خاصیت ضد درد (در مورد زخم‌های دهانی) و مزه‌ی مناسب و قابل تحمل و نیز مقرون به صرفه بودن را دارا باشد. آشکار است که تاکنون چنین دهان‌شویه‌ای به بازار وارد نگردیده و تلاش همه‌ی پژوهشگران در ارایه‌ی انواعی از دهان‌شویه است که دارای حداکثر این خواص بوده و به این جهت انواعی از دهان‌شویه‌ها به بازار معرفی شده‌اند.

بررسی پژوهش‌ها نشان‌دهنده‌ی این موضوع است که استفاده از دهان‌شویه‌ها در علم دندانپزشکی دارای پیشینه‌ی دراز مدتی می‌باشد. این مواد به عنوان محلول‌های آنتی‌سپتیک که مزه‌ی آنها در غلظت‌های درمانی قابل تحمل باشد، طی سال‌های پیاپی مورد استفاده قرار گرفته‌اند.<sup>(۶ و ۷)</sup> این داروها به دلایل گوناگون همچون ضد پلاک بودن، از میان بردن

ریزجانداران، دخیل در روند پوسیدگی دندان‌ها، و بوی بد دهان، درمان ژنژیویت و حفظ بهداشت در افرادی که به علت ناتوانی قادر به مسواک زدن نیستند، درمان زخم‌های جراحی و همچنین به عنوان جزیی از درمان زخم‌های دهانی در بیماران مبتلا به بیماری‌هایی همچون پمفیگوس، پمفیگوئید، لیکن پلان اروزیو و بیماران تحت رادیوتراپی، استئوماتیت ناشی از دست دادن دندان و کاندیدیازیس مورد استفاده‌ی بالینی قرار می‌گیرند.<sup>(۷ و ۸)</sup>

امروزه به دلیل وارد شدن انواع نشان‌های تجاری جدید دهانشویه به بازار و همچنین مشکلات ایجاد شده در این زمینه برای بیمار و پزشک (نبود هماهنگی میان دهانشویه‌ی مورد تجویز پزشک و نشان موجود در بازار) و همچنین این موضوع که این داروها خود به صورت موضعی کاربرد داشته و در صورت خوردن یا قورت دادن آنها (به ویژه در مورد کودکان و افراد سالمند) ممکن است باعث ایجاد اثرات ناخواسته و حتی در برخی غلظت‌ها سبب اثرات سمی شوند، لزوم پژوهشی که اثرات ضد قارچی، ضد میکروبی و سیتوتوکسیک دهانشویه‌های شایع در بازار را بررسی کند، ضروری به نظر می‌رسد.

بررسی کتاب‌ها و پژوهش‌های انجام شده در زمینه‌ی کاربرد دهان‌شویه‌ها در درون و بیرون از ایران گویای این مطلب است که بسیاری از پژوهش‌ها همچنان بر روی دو دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین و پرسیکا که به عنوان نخستین دسته‌ی دارویی از این مواد وارد بازار شده‌اند ادامه دارد. بررسی‌های محدودی در زمینه‌ی اثرات ضد قارچی و ضد میکروبی دیگر دهانشویه‌ها انجام شده است. همچنین بررسی‌ها بر روی دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین نیز گویای این مطلب است که با وجود خواص ضد میکروبی و ضدقارچی به نسبت خوب، این دهان‌شویه دارای اثرات جانبی مهمی همچون تغییر رنگ دندان‌ها، وقوع ایجاد حساسیت و حتی شوک انافیلاکتیک، سندرم دیسترس تنفسی حاد و اثرات تراوتونیک بر روی جنین و اثرات سیتوتوکسیک هست<sup>(۵ و ۹-۱۱)</sup>. در ضمن، چندین پژوهش بر روی پرسیکا گویای این مطلب است که این دهان‌شویه اثر چندانی بر روی میکروب‌های دهانی ندارد.<sup>(۱۱ و ۱۲)</sup> همان گونه که دیده می‌شود بررسی‌ها نشان‌دهنده‌ی این موضوع هستند که پژوهشی فراگیر بر روی اثرات مفید و یا مضر دهان‌شویه‌های موجود در بازار ایران انجام نشده است و پژوهش‌های انجام گرفته تنها به بررسی اثرات یک یا دو دهان‌شویه پرداخته و دهان‌شویه‌های موجود با یکدیگر در یک

پژوهش مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. در ضمن خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و سمیت سلولی شماری از این دهان شویه‌ها بررسی نشده است بنابراین، لزوم پژوهش بر روی دیگر دهان شویه‌های موجود در بازار ضروری به نظر می‌رسد. پژوهش در این زمینه، افزون بر کاربردهای عملی هر یک از دهان شویه‌های مورد بررسی جهت هدف‌های ویژه (پس از جراحی، درمان‌های ارتودنسی، بیماری‌های پرپودنتال و غیره) می‌تواند گامی در جهت شناخت بهتر این داروها و پیشنهادهای عملی در زمینه‌ی بهبود وضعیت درمانی هر یک باشد.

### مواد و روش

در این پژوهش تجربی اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و سمیت سلولی دهان شویه‌های ایرشا، پودوین ایوداین، بنزیدامین، کامومیل، بیوتن و اورال بی با دهان شویه‌های کلرهگزیدین، نیستاتین (به عنوان داروی موثر ضد قارچ) و آب مقطر به عنوان شاهد مثبت و منفی مقایسه گردید. این پژوهش در معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شد.

در این بررسی از دهان شویه‌ی کلرهگزیدین ۰/۲ درصد ساخت شرکت داروسازی شهر دارو به عنوان شاهد مثبت و از آب مقطر به عنوان شاهد منفی استفاده شد. همچنین از دهان شویه‌های بیوتن (ساخت شرکت لاکلده (Laclede) آمریکا)، ایرشا، کامومیل، بنزیدامین، پودوین ایوداین و اورال بی (ساخت شرکت‌های داروپخش، سینا دارو، شفا و رامین) استفاده گردید. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی و قارچی از استرپتوکوک‌های ویریدنس، موتانس، سانگوئیس، لاکتوباسیلوس کازئی و کاندیدا الیکانس استفاده شد. استرپتوکوک‌های ویریدنس و سانگوئیس جزء فلور طبیعی دهان بوده که در پلاک دندانی وجود داشته و از عوامل عمده‌ی اندوکاردیت باکتریایی هستند. همچنین استرپتوکوک‌های موتانس به عنوان مهم‌ترین عامل پوسیدگی دهانی شناخته شده است<sup>(۱۲)</sup>. لاکتوباسیل‌ها نیز به مقدار کمتر در فلور طبیعی دهان دیده شده‌اند و گر چه به ندرت در ایجاد بیماری دخیل هستند ولی به علت نقشی مهم که در ایجاد پوسیدگی دندان به همراه دیگر باکتری‌ها دارند و همچنین تولید باکتریاما، اندوکاردیت و عفونت‌های چرکی موضعی دارای اهمیت هستند. کاندیدا الیکانس نیز به عنوان فلور طبیعی دهان بوده و شایع‌ترین عفونت قارچی در ناحیه‌ی دهان است<sup>(۱۳)</sup>.

باکتری‌های استرپتوکوک موتانس (PTCC1499)، استرپتوکوک سانگوئیس (PTCC1601)، لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC1608) و کاندیدا الیکانس (PTCC5027) که جزو فلور طبیعی حفره‌ی دهان هستند از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیپوفیلیزه فراهم گردید. سپس، از خلوص سوپه‌های مورد بررسی با روش‌های Lactophenol cotton blue، (Corn meal agar) CMA و Blue de methylene اطمینان حاصل شد. جهت فعال کردن ریزجانداران برای کشت، از محیط تریپتی کیس سوی برات (Oxoid TSBI انگلستان) استفاده گردید. برای انجام آزمایش میکروبی، باکتری‌ها در آغاز به محیط کشت آگار خوندار منتقل و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دی اکسید کربن ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از آن، سوسپانسیون میکروبی توسط حل کردن یک تا دو کلونی میکروبی در محیط مایع TSB تهیه و بر پایه‌ی استاندارد ۰/۵ مک فارلند برابر با حدود تقریبی  $10^7 \times 2 - 10^8$  CFU/ml تنظیم گردید<sup>(۱)</sup> بنابراین، سوسپانسیون میکروبی به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شد. سپس کاندیدا لیپوفیلیزه را با آب مقطر سترون در کنار شعله مخلوط کرده و محلول حاصل را در لوله‌ی دارای محیط مایع S کشت داده و پس از یک هفته به درون پلیت دارای محیط جامد S تلقیح گردید (دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد). برای رقیق‌سازی دهان شویه‌ها از آب مقطر سترون استفاده شد. به این ترتیب که ۵ سی‌سی از هر دهان شویه به ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر افزوده گردید تا غلظت ۵ درصد حاصل شود و سپس با این ماده‌ی اولیه غلظت‌های ۱، ۰/۵ و ۰/۱ درصد تهیه شد. در ضمن از لوله‌ی دارای آب مقطر بدون دارو به عنوان بلانک استفاده گردید<sup>(۲ و ۵)</sup>.

در مرحله‌ی بعد، یک میلی‌لیتر از محلول رقیق شده‌ی سوسپانسیون میکروبی ۱:۱۰۰ به یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف تهیه شده از دهان شویه‌ها و همچنین به لوله‌ی شاهد اضافه گردید، به گونه‌ای که شمار تقریبی سلول‌های میکروبی در محیط برابر با  $5 \times 10^5$  ml/CFU بشود و با NCCLS3 همخوانی داشته باشد<sup>(۵)</sup>. پس از اضافه نمودن سوسپانسیون میکروبی به لوله‌های دارای دهان شویه‌ها و لوله‌ی شاهد، ۱۰ میکرولیتر از محیط در فاصله‌های زمانی ۲، ۱۰ و ۳۰ دقیقه پس از تلقیح برداشته شد و در محیط مولی- هیتون آگار (Merch) و S توسط میله‌ی شیشه‌ای سترون پخش گردید (همه‌ی مراحل آزمایش دست کم سه بار تکرار شد).

(MTT-Colorimetric assay) استفاده شد<sup>(۲)</sup>.

روش MTT روش رنگ سنجی است که برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها به کار می‌رود. این روش سبب ایجاد رنگ بنفش در رسوب تشکیل شده‌ی فورمازان (Formazan dyes) می‌شود و برای ارزیابی درصد زنده بودن (شمارش سلولی) و پرولیفراسیون سلول‌ها کاربرد دارد. همچنین، می‌تواند برای تعیین سمیت سلولی داروها و مواد سمی به کار رود.

پس از بیرون آوردن این چهار رده‌ی سلولی از ازت مایع و کشت دادن آنها شمار ۱×۱۰<sup>۶</sup> سلول / میلی‌گرم (cell/ml) از هر رده‌ی سلولی برداشته شد. ۱۰۰ میلی‌گرم از سوسپانسیون موجود (مربوط به هر رده‌ی سلولی) به هر یک از لوله‌های سانتریفیوژ (Nunck Denmark) که دارای رقت‌های گوناگون دهانشویه‌هاست، اضافه گردید. این لوله‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۰ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه و سپس لوله‌های دارای دارو و سلول سانتریفیوژ شد. پس از تخلیه‌ی لوله از دارو و دو بار شست و شوی سلول‌ها با محیط کشت RPMI۱۶۴۰ (به منظور اینکه دارو در مجاورت سلول‌ها باقی نماند)، ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت RPMI۱۶۴۰ دارای FCS ۱۰ درصد، ۲۵۰۰۰ واحد/میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر استرپتومایسین<sup>(۲)</sup> به رسوب سلولی بر جا مانده در لوله‌های سانتریفیوژ اضافه گردید.

۱۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی که دارای ۱۰۰۰ سلول است (مربوط به هر رده‌ی سلولی)، به سه چاهک از پلیت ۹۶ حفره‌ای اضافه (سه چاهک به ازای هر رقت دارو) و به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون انجام شد. پس از این مدت ۳۰ میکرولیتر کروموژن MTT به درون هر حفره اضافه گردید، به گونه‌ای که غلظت MTT درون هر حفره به یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسید و به مدت شش ساعت دیگر انکوباسیون انجام گرفت. پس از پایان انکوباسیون، محیط کشت درون حفره‌ها تخلیه و به درون هر حفره ۱۰۰ میکرولیتر DMSO که نقش حلال دارد، اضافه شد. رسوب تشکیل شده‌ی فورمازان طی شش ساعت انکوباسیون توسط DMSO حل گردیده و رنگ بنفش به محیط می‌دهد. پس از این مرحله، توسط دستگاه الیزا ریدر (ELIZA READER) شدت جذب در طول موج ۴۹۲ نانومتر و طول موج با فرکانس ۶۳۰ نانومتر ثبت گردید. همه‌ی مراحل دست کم سه بار برای هر سلول تکرار شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS۱۳ و آزمون آماری توکی و آنوا

پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۰ درصد دی‌اکسید کربن، پلیت‌ها از نظر رشد میکروبی بررسی و به ترتیب زیر درجه‌بندی شدند: ۱- نبود رشد، ۲- رشد در حد یک تا دو کلونی، ۳- رشد کم (در مقایسه با شاهد)، ۴- رشد متوسط (در مقایسه با شاهد)، ۵- رشد همانند با نمونه‌ی شاهد<sup>(۵)</sup>.

**تهیه‌ی نمونه برای بررسی سمیت سلولی: جهت بررسی**

اثرات سیتوتوکسیسیته‌ی این دهانشویه‌ها رده‌های سلولی J774A.1 (ماکروفاژ موش)، KB (کارسینوم دهان انسان)، HEPG2 کبدی، استئوسارکوما و MRF (فیبروبلاست لته انسان) استفاده گردید.

رده‌های سلولی J774A.1 (ماکروفاژ موش)، KB (کارسینوم دهان انسان)، HEPG2 کبدی و استئوسارکوما مورد بررسی در این پژوهش از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران و رده‌ی سلولی MRF (فیبروبلاست لته انسان) از بافت همبند لته‌ی کشت داده شده در مرکز علوم اعصاب کرمان فراهم شد. علت انتخاب ماکروفاژ موش به این دلیل است که این رده‌ی سلولی دارای عامل فعال‌کننده‌ی نفوسیت‌ها بوده و همچنین فعال‌کننده‌ی کمپلمان است و بنابراین در پدیده‌های التهابی نقشی مهم دارد. سلول KB و استئوسارکوم به این دلیل انتخاب شدند که نماینده‌ی دو سلول سرطانی بافت دهان بوده (در ضمن این رده‌های سلولی از بافت انسانی استخراج شده‌اند) و اثرات سمیت سلولی بر روی آنها سنجیده شود. انتخاب سلول HEPG2 کبدی به این دلیل است که سمیت دهان‌شویه‌ها بر روی بافت کبدی نیز بررسی گردید. زیرا کبد به عنوان سازمان اصلی متابولیته شدن بسیاری از داروها شناخته شده و در صورت قورت دادن دهان‌شویه‌ها این مورد نیز باید بررسی شود. رده‌ی سلولی MRF به عنوان نماینده‌ی از بافت دهان در نظر گرفته شد. در ضمن سلول‌های ماکروفاژ، فیبروبلاست، استئوبلاست و سلول‌های اپیتلیال از رده‌های مهم سلولی هستند که در ترمیم زخم‌های جراحی به ویژه جراحی‌های ناحیه‌ی دهان دخالت دارند<sup>(۱۳)</sup>. این چهار رده‌ی سلولی در ازت مایع جهت استفاده در این پژوهش ذخیره می‌شوند. دهانشویه‌ها توسط فیلتر ۰/۲۲ میلی‌متر (Millipore USA) فیلتر شد و با توجه به بررسی‌های پیشین، رقت‌های ۵، ۱، ۰/۵ و ۰/۱ درصد از دهانشویه‌ی پودون ایوداین، کامومیل، بیوتن، بنزیدامین و ایرشا و رقت‌های ۵، ۱، ۰/۵ و ۰/۱ درصد از دهانشویه‌ی کلرگزیدین و نیستاتین با استفاده از محیط کشت RPMI۱۶۴۰ فراهم گردید<sup>(۲ و ۵)</sup>. جهت بررسی سایتوتوکسیسیته‌ی این دهانشویه از آزمون رنگ‌سنجی MTT

دهان شویه و دیگر دهان شویه‌ها وجود دارد (ایرشا ( $p=0/04$ ), پودوین ایوداین ( $p=0/001$ ), بنزیدامین ( $p=0/001$ ), کامومیل ( $p=0/02$ ) و بیوتن ( $p=0/02$ ). گرچه دو دهان شویه‌ی پودوین ایوداین و بنزیدامین اثرات ضد میکروبی چندانی نداشته و اختلاف آنها در این زمینه با دیگر دهان شویه‌ها معنادار گزارش گردید ( $p=0/05$ ), اما نتایج به دست آمده از این بررسی نشان داد که دو دهان شویه‌ی کامومیل و بیوتن نیز دارای اثرات ضد میکروبی همانندی هستند و همچنین دو دهان شویه‌ی اورال بی و کلرهگزیدین نیز خواص ضد میکروبی همانند دارند.

### اثرات سمیت سلولی

نتایج بررسی کنونی در مورد تاثیر غلظت‌های گوناگون دهانشویه‌های مورد استفاده بر رده‌های سلولی MRF، KB، Saos-2 و J774A.1 و HEPG2 در جدول‌های ۳ تا ۵ نشان داده شده است. دهان شویه‌های ایرشا و بنزیدامین در غلظت ۵ درصد دارای اثرات سمیت سلولی چشمگیر بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2، Saos-2 و KB هستند. دهان شویه‌ی پودوین ایوداین دارای اثرات سمیت سلولی بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2 و J774A.1 در غلظت ۵ درصد بوده و در غلظت ۱ درصد بر روی سلول Saos-2 اثر گذار است. دهان شویه‌ی کامومیل در غلظت ۵ درصد بر روی رده‌ی سلولی MRF موثر است و دهان شویه‌ی اورال بی در همین غلظت بر روی رده‌ی سلولی HEPG2 تاثیر دارد. دهان شویه‌ی کلرهگزیدین دارای اثرات سمیت سلولی کمتر بر روی همه‌ی رده‌های سلولی بود و از نظر آماری این اثر نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش شد.

### بحث

در پژوهش کنونی، به مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی و سمیت سلولی دهانشویه‌های کلرهگزیدین، بیوتن، ایرشا، کامومیل،

یک‌سویه و در سطح معنادار  $p < 0/05$  بررسی و واکاوی آماری گردیدند.

### یافته‌ها

#### اثرات ضد میکروبی

جدول ۱، نشان دهنده‌ی تاثیر دهان شویه‌های مورد نظر بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس است. این نتایج نشان داد که دهان شویه‌ی نیستاتین دارای بیشترین اثر باز دارندگی بوده و یا به بیانی، قارچ کاندیدا در همه‌ی غلظت‌های مورد استفاده رشد نمود.

جدول ۱ نتایج توصیفی تاثیر دهان شویه‌های مورد نظر بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس

دهان شویه	رقت			
	۰/۱ درصد	۰/۵ درصد	۱ درصد	۵ درصد
ایرشا	+++	+++	+++	+++
پودوین ایوداین	+++	+++	+++	+++
بنزیدامین	+++	+++	+++	+++
کامومیل	+++	+++	+	+
بیوتن	+++	+++	+	+
اورال بی	++	++	-	-
کلرهگزیدین	+	-	-	-
نیستاتین	-	-	-	-

\*رشد (+)، نبود رشد (-)، شمار موارد مثبت (+) بیشتر نشان دهنده‌ی رشد بیشتر قارچ کاندیدا در محیط کشت است.

همچنین دهان شویه‌های ایرشا، پودوین ایوداین و بنزیدامین هیچ‌گونه اثرات ضد قارچی نداشتند. دهان شویه‌ی کلرهگزیدین تنها در غلظت ۰/۱ درصد اثرات ضد قارچی نداشته و در دیگر غلظت‌ها دارای اثرات ضد قارچی بود.

در جدول ۲، میزان MIC برای هر دهان شویه بر پایه‌ی گونه‌ی ریزجانداران گزارش گردیده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بیشترین اثرات ضد میکروبی متعلق به دهان شویه‌ی کلرهگزیدین است و در این مورد اختلاف معنادار میان اثرات این

جدول ۲ میزان MIC برای هر دهان شویه بر پایه‌ی نوع ریزجاندار

ریزجاندار	دهان شویه ایرشا (درصد)	پودوین ایوداین (درصد)	بنزیدامین (درصد)	کامومیل (درصد)	بیوتن (درصد)	اورال بی (درصد)	کلرهگزیدین (درصد)
S.Mutans	۰/۵	۵	۵	۱	۱	۰/۱	۰/۱
Lactoba. cassie	۰/۵	۵	۵	۱	۱	۰/۱	۰/۱
S.sanguis	۰/۵	۵	۵	۱	۱	۰/۱	۰/۱
S.viridance	۵	۵	۵	۱	۱	۰/۱	۰/۱
Candida Albicans	*	*	*	۱	۱	۱	۰/۵

\* در هیچ یک از غلظت‌های مورد استفاده اثر ضد قارچی گزارش نگردید. \*\* دارای اختلاف معنادار با دیگر دهان شویه‌هاست ( $p < 0/05$ ).

**جدول ۳** درصد سلول‌های از میان رفته‌ی هر رده‌ی سلولی در غلظت‌های گوناگون دهانشویه‌های ایرشا و پودون ایوداین نسبت به گروه شاهد

رده‌ی سلولی	غلظت		۵ درصد		۱ درصد		۰/۵ درصد		۰/۱ درصد	
	ایرشا	پودون ایوداین	ایرشا	پودون ایوداین	ایرشا	پودون ایوداین	ایرشا	پودون ایوداین	ایرشا	پودون ایوداین
MRF	۹۵	۱۳۰	۹۰	۷۸	۷۹	۵	۵۰	۲		
J774.A1	۷۵	۹۸	۶۷	۶۰	۵۵	۲۳	۱۰	۵		
Saos-2	۹۸	۸۹	۸۲	۹۴	۵۲	۵۵	۲۱	۳۲		
KB	۱۱۵	۸۸	۷۴	۷۵	۵۸	۴۵	۱۰	۲۳		
HEPG2	۱۰۱	۱۰۶	۸۰	۹	۵۰	۸۵	۴۷	۶۵		

\*: نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش شد ( $p=0/001$ ). \*\* نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش گردید ( $p=0/001$ ). \*\*\*نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش گردید ( $p=0/002$ ).  
 \*\*\*\* نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش گردید ( $p=0/002$ ).

دهان‌شویه‌ای به بازار وارد نگردیده و تلاش همه‌ی پژوهشگران در ارایه‌ی انواعی از دهان‌شویه است، که دارای حداکثر این خواص بوده و به این جهت انواعی از دهان‌شویه‌ها به بازار معرفی شده‌اند. این بررسی نشان داد که دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین هم از نظر اثرات ضد قارچی و هم ضد باکتریایی و سمیت سلولی دارای اثرات بهتری نسبت به دیگر دهان‌شویه‌هاست.

گرویدیانو (Grudianou) و همکاران، اثر ضد باکتریایی دهان‌شویه‌ی متروگیل دنتا (Metrogil-denta) که ترکیبی از کلروهگزیدین و مترونیدازول با غلظت ۱ و ۲۵ است را مقایسه کردند. نتایج در ۷۶ بیمار نشان داد که این دهان‌شویه با ۱ درصد مترونیدازول، در از میان بردن کامل میکروفلوهرای هوازی و بی‌هوازی موثر نبوده و اثر باکتری سیدال این دهان‌شویه تنها در غلظت ۲۵ درصد مترونیدازول دیده شد<sup>(۸)</sup>.

آلماسک (Almask) و همکاران، فعالیت ضد میکروبی هشت دهانشویه‌ی تجاری در دسترس و ۵۰ درصد عصاره‌ی گیاه سیواک را علیه هفت ریزجاندار بررسی کردند و نتیجه گرفتند که دهانشویه‌های دارای کلرهگزیدین، بیشترین فعالیت ضد میکروبی را دارند، در حالی که دهانشویه‌های سیتیل پیریمیدیوم کلراید فعالیت ضد میکروبی متوسط و عصاره‌ی گیاه سیواک فعالیت پایینی داشت<sup>(۹)</sup>.

بنزیدامین، پودون ایوداین و اورال بی در محیط بیرون دهانی پرداخته شده است. نتایج نشان داد که دهان‌شویه‌ی نیستاتین دارای بیشترین اثر باز دارندگی بر روی قارچ کاندیداست و دهان‌شویه‌های ایرشا، پودون ایوداین و بنزیدامین هیچگونه اثرات ضد قارچی نداشتند. بیشترین اثرات ضد میکروبی نیز متعلق به دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین است. دهان‌شویه‌های ایرشا و بنزیدامین در غلظت ۵ درصد دارای اثرات سمیت سلولی چشمگیری بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2، Saos-2 و KB هستند. دهان‌شویه‌ی پودون ایوداین، دارای اثرات سمیت سلولی بر روی رده‌های سلولی MRF، HEPG2 و J774.A1 در غلظت ۵ درصد بوده و در غلظت ۱ درصد بر روی سلول Saos-2 اثر گذار است. دهان‌شویه‌ی کامبویل در غلظت ۵ درصد بر روی رده‌ی سلولی MRF موثر بوده و دهان‌شویه‌ی اورال بی در همین غلظت بر روی رده‌ی سلولی HEPG2 تاثیر دارد. دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین دارای اثرات سمیت سلولی کمتر بر روی همه‌ی رده‌های سلولی بود.

از دیدگاه دندانپزشکی دهان‌شویه‌ی مطلوب بایستی خواصی همچون نداشتن واکنش‌های حساسیت‌زا و توکسیک، رنگ‌پذیری نداشتن دندان‌ها و مخاط، کمترین اثرات توکسیک، خاصیت ضد درد و مزه‌ی مناسب و قابل تحمل و نیز مقرون به صرفه بودن را دارا باشد<sup>(۳-۵)</sup>. آشکار است که تاکنون چنین

**جدول ۴** درصد سلول‌های از میان رفته‌ی هر رده‌ی سلولی در غلظت‌های گوناگون دهانشویه‌های بنزیدامین و کامومیل نسبت به گروه شاهد

رده‌ی سلولی	غلظت		۵ درصد		۱ درصد		۰/۵ درصد		۰/۱ درصد	
	بنزیدامین	کامومیل	بنزیدامین	کامومیل	بنزیدامین	کامومیل	بنزیدامین	کامومیل	بنزیدامین	کامومیل
MRF	۹۹	۱۱۰	۷۲	۹۲	۸۷	۸۴	۷۵	۵۵		
J774.A1	۷۸	۸۷	۶۵	۵۱	۴۰	۴	۱	۳		
Saos-2	۸۹	۹۰	۶۲	۷۰	۶۵	۶۱	۲۱	۴۱		
KB	۸۵	۹۵	۴۵	۷۵	۲۸	۵۸	۱	۲۳		
HEPG2	۸۹	۸۸	۷۷	۷۹	۵۴	۸۰	۴۵	۴۰		

\*: نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش گردید ( $p=0/001$ ). \*\* نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش شد ( $p=0/001$ ). \*\*\*نسبت به گروه شاهد معنادار گزارش گردید ( $p=0/001$ ).

جدول ۵ درصد سلول‌های از میان رفته هر رده‌ی سلولی در غلظت‌های گوناگون دهانشویه‌های بیوتن، اورال بی، کلرهگزیدین نسبت به گروه شاهد

رده‌ی سلولی	غلظت			۵ درصد			۱ درصد			۰/۵ درصد			۰/۱ درصد		
	بیوتن	اورال بی	کلرهگزیدین	بیوتن	اورال بی	کلرهگزیدین	بیوتن	اورال بی	کلرهگزیدین	بیوتن	اورال بی	کلرهگزیدین	بیوتن	اورال بی	کلرهگزیدین
MRF	۱۱۳	۹۹	۸۳	۹۰	۸۰	۶۰	۹۰	۸۰	۶۰	۸۷	۴۰	۶۶	۴۷	۸	
J774.A1	۸۹	۸۸	۷۰	۶۱	۵۱	۵۱	۶۱	۵۱	۵۱	۵۰	۴۵	۳۴	۵۶	۵	
Saos-2	۸۷	۸۹	۸۹	۵۲	۸۰	۶۲	۵۲	۸۰	۶۲	۴۱	۳۱	۲۱	۲۱	۰/۱	
KB	۹۶	۷۵	۸۱	۴۵	۶۷	۴۹	۴۵	۶۷	۴۹	۱۸	۲۷	۲۸	۳	۱	
HEPG2	۱۱۰	۱۰۱	۹۵	۸۹	۸۹	۸۱	۸۹	۸۹	۸۱	۷۹	۴۶	۴۹	۶۱	۱۲	

\* نسبت به گروه شاهد، معنادار گزارش گردید ( $p=0/002$ ). \*\* نسبت به گروه شاهد، معنادار گزارش شد ( $p=0/001$ ). \*\*\*نسبت به گروه شاهد، معنادار گزارش گردید ( $p=0/0000$ ). \*\*\*\*نسبت به گروه شاهد، معنادار گزارش گردید ( $p=0/003$ ). \*\*\*\*\*نسبت به گروه شاهد، معنادار گزارش گردید ( $p=0/001$ ).

ضد میکروبی حتی دارای اثراتی همانند با کلرهگزیدین بود. این دو دهان‌شویه همکنون به عنوان دهان‌شویه‌های ضد باکتریایی استفاده می‌شوند.

در رابطه با دهان‌شویه‌ی ایرشا در پژوهش کنونی هیچگونه خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی چشمگیری گزارش نگردید که این نتایج همانند با بررسی‌های انجام شده در این زمینه است<sup>(۱۹ و ۲۰)</sup>. گرچه بررسی انجام شده توسط عزیززی و همکاران نشان داد که دهان‌شویه‌ی ایرشا شمار کلنی‌های استرپتوکوک‌های پاتوژن دهان را پس از مصرف به گونه‌ی معنادار کاهش می‌دهد. همچنین این دهان‌شویه سبب از میان رفتن سه میکروفلور طبیعی دهان شد<sup>(۲۱)</sup>.

دهان‌شویه‌ی بنزیدامین به عنوان یک دهان‌شویه‌ی ضد درد و ضد التهاب کاربرد دارد و اثرات ضد باکتریایی آن تاکنون گزارش نشده است<sup>(۲۲)</sup>، که بررسی بالا نیز تاکید کننده‌ی همین موضوع است. دهان‌شویه‌ی کامومیل از عصاره‌ی گیاه بابونه فراهم شده و دارای اثرات ضد التهابی و ضد موکوزیت همچون دهان‌شویه‌ی بنزیدامین است. این پژوهش نشان داد که این دهان‌شویه دارای اثرات ضد باکتریایی بسیار ناچیزی بوده و اثرات ضد قارچی ندارد، که همانند با بررسی انجام شده توسط طلایی‌پور و همکاران است<sup>(۲۳)</sup>.

سرانجام برخی از درمانگرها از داروهای نوین به دلیل جدید بودن آنها استقبال نموده و آنها را به سرعت جایگزین ترکیبات شناخته شده می‌نمایند. این در حالی است که در هنگام معرفی یک فرآورده‌ی نوین باید خصوصیات و برتری‌های داروی جدید بر پایه‌ی بررسی‌های معتبر انجام شده، در دسترس باشد و درمانگران تنها به دلیل تبلیغات شرکت‌های دارویی، داروی مورد نظر را برای بیماران تجویز نکنند که به نظر می‌رسد که نتایج این پژوهش گام مؤثری در این زمینه به شمار می‌رود.

مظفری و همکاران، به بررسی خواص ضد میکروبی و سمیت سلولی دو دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین و پرسیکا پرداختند. این پژوهشگران نتیجه گرفتند که کلرهگزیدین در همه‌ی رقت‌های مورد بررسی دارای خواص ضد میکروبی است، در حالی که پرسیکا در غلظت خالص نیز سبب جلوگیری از رشد باکتری‌ها نمی‌شود. در ضمن دهان‌شویه‌ی پرسیکا در رقت‌های بالای ۱ درصد و کلروهگزیدین در رقت بالای ۰/۰۰۱ درصد دارای اثر سمیت سلولی بود<sup>(۲)</sup>.

بررسی انجام شده توسط صادقی و همکاران، نشان داد که قطر هاله‌ی دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین ۰/۲ درصد به گونه‌ی معنادار نسبت به دهان‌شویه‌های گیاهی پرسیکا و ماتریکا نبود رشد بزرگتری ایجاد نمود. پرسیکا به جز بر کلیسیلا نمونه نتوانست از رشد باکتری‌های مورد بررسی (استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگوس، استرپتوکوکوس سالیواریس، استرپتوکوکوس سوربینوس، اشیشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و ایکنلا کورودنس) جلوگیری کند. همچنین تفاوت آماری معنادار میان سه نمونه و سه کشت از هر دهان‌شویه وجود نداشت. بر پایه‌ی یافته‌های این پژوهشگر، دهان‌شویه‌های گیاهی دارای قدرت کمتری نسبت به کلرهگزیدین در جلوگیری از رشد باکتری‌های دهان هستند<sup>(۱۴)</sup>.

تاکیشی (Takeuchi) و همکاران، اثرات مهارتی کلرهگزیدین را روی پلاک دندانی اثبات کردند<sup>(۱۵)</sup>. فراز (Ferraz) و همکاران و لی (Lee) و همکاران، طی بررسی‌های خود کاهش رشد باکتریایی را در کانال‌های اندو شده پس از شست و شو با کلرهگزیدین نشان دادند<sup>(۱۶ و ۱۷)</sup>. دی وو (Du)، اثر ضد پوسیدگی وارنیش کلرهگزیدین را بر روی کودکان ۴ تا ۵ ساله نشان داد<sup>(۱۸)</sup>. در این پژوهش دهان‌شویه‌ی اورال بی و بیوتن دارای اثرات قارچی به نسبت مناسبی بودند. دهان‌شویه‌ی اورال بی در زمینه‌ی فعالیت

**نتیجه‌گیری**

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که دهان‌شویه‌ی کلرهگزیدین نسبت به دیگر دهان‌شویه‌ها دارای خواص ضد میکروبی بیشتر و سمیت سلولی کمتری بوده و می‌تواند به عنوان یک دهان‌شویه‌ی مناسب به بیماران پیشنهاد شود.

**سپاسگزاری**

این پژوهش با پشتیبانی مالی و معنوی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است که به این وسیله مراتب سپاسگزاری از این معاونت اعلام می‌گردد.

\*\*\*\*\*

**References**

1. Takeuchi Y, Guggenheim B, Filieri A, Baehni P. Effect of chlorhexidine/thymol and fluoride varnishes on dental biofilm formation in vitro. *Eur J Oral Sci* 2007; 115: 468-472.
2. Mozaffari B, Mansouri Sh, Rajabalian S, Mardani A, Mohammadi M. In vitro study between anti-bacterial and cytotoxic effects of Chlorhexidine and Persica mouthrinses. *J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Scien* 2005; 494: 509-522.
3. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 2006; 137: 1649-157.
4. Wikipedia A. Mouthwash. Available at: <http://en.wikipedia.org/wiki/mouthwash>.
5. 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: 169-173.
6. Lachenmeier DW, Keck-Wilhelm A, Sauermann A, Mildau G. Safety Assessment of Alcohol-Containing Mouthwashes and Oral Rinses. *SOFW J* 2008; 134: 70-78.
7. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 2006; 137: 1649-1657.
8. Grudianov AI, Ovchinnikova VV, Dmitrieva NA. Comparison of antibacterial efficacy of 1 and 25% concentration of Metrogil-denta for inflammatory periodontal disease treatment. *Stomatologiya (Mosk)* 2006; 85: 26-29.
9. Almas K, Skaug N, Ahmad I. An in vitro antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses. *Int J Dent Hyg* 2005; 3: 18-24.
10. Witt J, Ramji N, Gibb R, Dunavent J, Flood J, Barnes J. Antibacterial and antiplaque effects of a novel, alcohol-free oral rinse with cetylpyridinium chloride. *J Contemp Dent Pract* 2005; 6: 1-9.
11. Kamali A. Clinical comparison of the effect of two mouth washer, Chlorhexidine 0.2% and Persica on plaque control, after periodontal surgery. *J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Scien* 2005; 15: 29-31.
12. Kilian CJ. On the Bacterial Factor in the Aetiology of Dental Caries. *Br J Exp Pathol* 1924; 5: 141-147.
13. Hupp JR. Wound repair In: Peterson LJ, Ellise E, Hupp JR, Tucker MR. *Contemporary Oral & Maxillofacial Surgery*. 4th ed., St. Louis: The CV Mosby Co; 2003; p. 54.
14. Sadeghi M, Bahramabadi R, Assar S. Antibacterial Effects of Persica and Matrica Herbal Mouthwashes on Common Oral Microorganisms: An In Vitro Study. *J Mashhad Dent Sch* 2011; 35: 107-114.
15. Little JW, Falace DA, Miller CS, Rhodus NL. *Dental management of the medically compromised patients*. 2nd ed., Philadelphia: Wb Saunders; 2008. p. 127-156.



16. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J* 2007; 18: 294-298.
17. Lee Y, Han SH, Hong SH, Lee JK, Ji H, Kum KY. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. *J Endod* 2008; 34: 855-858.
18. Du MQ, Tai BJ, Jiang H, Lo EC, Fan MW, Bian Z. A two-year randomized clinical trial of chlorhexidine varnish on dental caries in Chinese preschool children. *J Dent Res* 2006; 85: 557-559.
19. Houshmand B, Yousefi R, Khamverdi Z. Comparison of the Effectiveness of three Mouthwashes on Oral microflora: an in vitro study. *J Islamic Dent Assoc Iran* 2006; 18: 20-26.
20. Saghzadeh M, Navidi AO. Investigation and comparison of the effect of two mouthrinses, Plax and Irsha on dental plaque reduction. *J of Dent Tehran Univ Med Scienc* 2006; 19: 40-50.
21. Azizi A, Fatholahzadeh B, Maleknejad P, Sahmspour A. Evaluation of effects Irsha antiseptic mouthwash on pathogen streptococcus and oral normal micro flora. *J Dent Sch Isfahan Univ Med Scien* 2009; 5: 24-29.
22. Kamian Sh, Kazemian A, Aghili M, Amuzegar Hashemi F, Haddad P. Benzydamine for Prophylaxis of Radiation-Induced Oral Mucositis in Head and Neck Cancers; A Double-Blind Clinical Trial. *Pajoohandeh J* 2008; 13: 183-191.
23. Talaipour AR, Hadad P, Sahba S, Bashizadeh H, Sakhdari Sh. Chamomile mouth rinse effects on mucositis reduction after radiotherapy. *J Dent Med* 2005; 23: 62-75.