

DOI: 10.58490/ctump.2024i74.2642

## ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CỦA NƯỚC SÚC MIỆNG CHỨA CHLORHEXIDINE VÀ CHLORINE DIOXIDE LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚU NGƯỜI

Trần Thị Phương Thảo<sup>1\*</sup>, Lê Nguyễn Lâm<sup>2</sup>, Phạm Anh Vũ Thụy<sup>3</sup>

1. Đại học Quốc tế Hồng Bàng

2. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

3. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

\*Email: phuongthao.tran57@gmail.com

Ngày nhận bài: 28/4/2024

Ngày phản biện: 26/5/2024

Ngày duyệt đăng: 27/5/2024

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Chlorhexidine là tiêu chuẩn vàng trong khả năng kháng khuẩn được sử dụng trong nha khoa để điều trị hôi miệng và bệnh nha chu, tuy nhiên thể hiện tác dụng phụ khi sử dụng lâu dài. Chlorine dioxide là một chất kháng khuẩn cao đã được chứng minh an toàn và sử dụng để làm sạch nguồn nước. Việc kết hợp chlorhexidine và chlorine dioxide có khả năng giảm bớt các bất lợi của chlorhexidine nhưng vẫn đảm bảo khả năng kháng khuẩn, tuy nhiên cần đánh giá độc tính của hỗn hợp với môi trường miệng. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát độc tính của dung dịch nước súc miệng chứa chlorhexidine và chlorine dioxide lên nguyên bào sợi nướu người. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Các dung dịch nước súc miệng chứa chlorhexidine và chlorine dioxide ở các nồng độ lần lượt tương ứng là dung dịch A (0,01%, 0,05%), dung dịch B (0,02%, 0,01%) và C (0,05%, 0,05%) với thời gian tiếp xúc nguyên bào sợi nướu mô phỏng thời gian súc miệng thực tế là 30 giây, 60 giây, 90 giây, 120 giây, 150 giây và 180 giây. Ảnh hưởng của các dung dịch lên tế bào được xác định bằng phương pháp MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide). Dung dịch màu tím thu được sau quy trình được hấp thụ tại bước sóng 570 nm. Mức độ độc tính của nước súc miệng được đánh giá dựa trên ISO 10933-5:2009, kết hợp quan sát tế bào và tỉ lệ tăng trưởng tương đối. **Kết quả:** Dung dịch A không độc với nguyên bào sợi nướu (mức độ độc tính cấp 1, tỉ lệ tăng trưởng tương đối là 75%-99%) ở các mốc thời gian 30 giây, 60 giây, 90 giây. Dung dịch B và C gây độc tế bào ở tất cả các mốc thời gian. **Kết luận:** Dung dịch phối trộn chlorhexidine 0,01% và chlorine dioxide 0,05% an toàn với nguyên bào sợi nướu khi tiếp xúc tới 90 giây.

**Từ khóa:** Chlorhexidine, chlorine dioxide, độc tính, nguyên bào sợi nướu người.

### ABSTRACT

#### THE TOXICITY OF MOUTHWASH CONTAINING CHLORHEXIDINE AND CHLORINE DIOXIDE ON HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST

Tran Thi Phuong Thao<sup>1\*</sup>, Le Nguyen Lam<sup>2</sup>, Pham Anh Vu Thuy<sup>3</sup>

1. Hong Bang International University

2. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

3. Vietnam National University -Ho Chi Minh City

**Background:** Although chlorhexidine is considered to date a gold standard of antimicrobial rinses that reduces biofilm and has been shown to reduce gingivitis and halitosis, its prolonged usage can have several adverse effects, including extrinsic tooth staining. Chlorine dioxide is a highly antibacterial substance for purifying water sources and has recently been used in dentistry. This agent has also been proven safe for human cells. Combining chlorhexidine and chlorine dioxide may reduce the disadvantages of chlorhexidine while still ensuring antibacterial ability. Still, the

toxicity of the mixture to the oral environment needs to be evaluated before examining its antimicrobial effect. **Objectives:** To investigate the toxicity of mouthwash that contains chlorhexidine and chlorine dioxide on human gingival fibroblast. **Materials and methods:** Human gingival fibroblasts were incubated with the mouthwash solutions containing chlorhexidine and chlorine dioxide at the corresponding concentrations: solution A (chlorhexidine 0.01%, chlorine dioxide 0.05%), solution B (chlorhexidine 0.02%, chlorine dioxide 0.01%), and C (chlorhexidine 0.05%, chlorine dioxide 0.05%), with contact times simulating actual gargling times of 30 seconds, 60 seconds, 90 seconds, 120 seconds, 150 seconds and 180 seconds. The effect of those solutions on human gingival fibroblast was determined by the MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) method. The Formosan crystals collected were dissolved in Ethanol/DMSO solution, and the formed purple solution was absorbed at a 570 nm wavelength. The cellular toxicity grades were determined according to ISO 10993 - 5: 2009; cell morphology and the relative growth rate were also observed. **Results:** In 30 to 90 seconds, solution A did not affect the survival of the human gingival fibroblast (cellular toxicity level 1 with a relative growth rate of 75-99%). Solutions B and C were toxic for the fibroblasts during the timeline. **Conclusions:** Human gingival fibroblast can be safe in a mixing solution containing 0.01% chlorhexidine and 0.05% chlorine dioxide for up to 90 seconds.

**Keywords:** Chlorhexidine, chlorine dioxide, toxicity, human gingival fibroblast.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chlorhexidine (CHX) là một loại nước súc miệng hiệu quả cao để kiểm soát mảng bám và viêm nướu, hoạt động như một bisbiguanide cation ức chế các vi sinh vật Gram dương và Gram âm, nấm và vi rút. CHX có tính thấm cao và hấp phụ trên bề mặt răng và mô mềm trong miệng, khiến nó phù hợp sử dụng ngắn hạn để súc miệng, bơm rửa, phẫu thuật nha chu, hoặc hỗ trợ trong giai đoạn lành thương sau phẫu thuật. Tuy nhiên, CHX có thể gây nhiễm màu, đổi vị giác và kích ứng mô. Nhiều nghiên cứu vẫn đang được tiến hành để tìm kiếm các tác nhân hóa học khác với ít tác dụng phụ trong khi vẫn duy trì kết quả lâm sàng tối ưu [1].

Chlorine dioxide (CDO) là một chất kháng khuẩn mới được sử dụng gần đây trong việc làm sạch nước, khử trùng dụng cụ phẫu thuật và kiểm soát lây nhiễm tại phòng khám nha khoa. Tác dụng kháng khuẩn của nó đã được chứng minh *in vitro* và *in vivo*. CDO cũng đã được báo cáo là có đặc tính giúp lành thương. Hoạt chất này cũng có vai trò ức chế sự phát triển của vi khuẩn liên quan đến sự hình thành của bệnh nha chu và hôi miệng. Ảnh hưởng nhẹ của nó đối với các tế bào nhân chuẩn cũng như các độc tính chỉ được quan sát thấy ở nồng độ cao đối với các nguyên bào sợi nướu người giúp CDO dần trở thành một chất kháng khuẩn mới được lựa chọn sử dụng trong điều trị nha khoa [2].

Nguyên bào sợi là loại tế bào chiếm chủ yếu trong thành phần tế bào của mô liên kết nướu và có vai trò trong tạo bám dính mô liên kết thông qua sự tổng hợp và duy trì các thành phần của khung ngoại bào. Các nguyên bào sợi nướu (hGF) rất nhạy cảm với môi trường xung quanh và có đáp ứng tùy thuộc vào các thông tin tiếp nhận, từ đó ảnh hưởng đến khả năng sống sót tế bào, hoạt động di cư, bám dính, tăng sinh và tổng hợp khung. hGF là đối tượng nghiên cứu tác động của nhiều tác nhân vật lý và hoá học [3]. Với mục đích thử nghiệm nước súc miệng phối hợp hai chất kháng khuẩn là CHX và CDO trong điều trị răng miệng để phát huy hiệu quả kháng khuẩn cao nhất và hạn chế các tác dụng phụ của CHX khi bệnh nhân sử dụng lâu dài, chúng tôi thực hiện nghiên cứu đánh giá độc tính của nước súc miệng chứa CHX và CDO trên nguyên bào sợi nướu người.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên bào sợi nướu người (hGF) được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm kỹ nghệ mô và vật liệu Y sinh, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Nguồn hGF ở thể hệ tế bào P3 được nuôi tăng sinh và cấy chuyển để thu nhận tế bào P4 với số lượng cần thiết cho các thí nghiệm. Các tế bào tăng sinh và hợp dòng (đạt độ bao phủ bề mặt nuôi cấy > 80%) được thu nhận để đánh giá độc tính của nước súc miệng chứa chlorhexidine và chlorine dioxide.

Chlorhexidine 20% (Bajaj Healthcare, Ấn Độ) và chlorine dioxide 5% (Shinwang, Hàn Quốc) được lọc vô trùng và pha loãng theo các nồng độ nghiên cứu. Môi trường nuôi cấy tiêu chuẩn là môi trường Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham 12 Medium - DMEM/F12 (Sigma, Mỹ) có bổ sung 10% Fetal bovine serum - FBS (Sigma, Mỹ) và kháng sinh (100 UI/ml Penicilin, 100 µg/ml Streptomycin – Sigma, Mỹ). Để có được dung dịch MTT 5 mg/ml, hòa tan 50 mg MTT trong 10 ml Phosphate Buffer Saline – PBS (Gibco, Mỹ) 1X và lọc qua màng lọc 0,22 µm vô trùng. Dung dịch MTT dùng trong thử nghiệm MTT được chuẩn bị bằng cách pha loãng trong môi trường nuôi cấy với tỉ lệ 1:9. Dung dịch DMSO 20% được chuẩn bị bằng cách pha loãng 2 ml DMSO trong 10 ml môi trường nuôi cấy, được sử dụng làm nhóm chứng dương gây độc cho tế bào [4].

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu thử nghiệm in vitro có nhóm chứng

- **Quy trình thu nhận tế bào:** Loại bỏ môi trường nuôi cấy và rửa tế bào bằng dung dịch PBS, tách tế bào bám khỏi bề mặt đĩa nuôi bằng enzym Trypsin-EDTA 0,25% và ủ ở 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> trong 3 phút. Môi trường nuôi cấy được bổ sung vào để bất hoạt Trypsin, ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút để thu nhận cận tế bào. Tế bào sau khi được thu nhận sẽ được xác định mật độ bằng cách nhuộm tế bào với trypan blue (tỉ lệ 1:1) và nạp vào buồng đếm hồng cầu được đếm dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 lần. Huyền phù dịch tế bào với mật độ 10<sup>5</sup> tế bào/ml vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và nuôi tế bào ở 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> qua đêm.

- **Quy trình ủ tế bào với dung dịch NSM thử nghiệm**

Môi trường trong đĩa 96 giếng được loại bỏ. Các dung dịch NSM chứa CHX và CDO thí nghiệm theo Bảng 1; môi trường nuôi cấy tiêu chuẩn (chứng âm) và DMSO 20% (chứng dương) được bổ sung vào các giếng tế bào và tiếp tục nuôi cấy ở 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> trong 6 mốc thời điểm minh họa thời gian súc miệng thực tế theo giây (s) (Bảng 2).

Bảng 1. Các nồng độ NSM thử nghiệm

Mẫu	A	B	C
CHX	0,01%	0,02%	0,05%
CDO	0,05%	0,05%	0,05%

Bảng 2. Các mốc thời gian thử nghiệm

Ký hiệu	1	2	3	4	5	6
Mốc thời gian	30 s	60 s	90 s	120 s	150 s	180 s

- **Quy trình thử nghiệm MTT**

Sau 24 giờ, hút hết dịch trong các giếng và thay vào đó dung dịch MTT. Sau 4 giờ, hút hết dung dịch MTT, thay vào đó dung dịch DMSO/Ethanol (tỷ lệ 1:1), huyền phù đều

trong mỗi giếng để hòa tan các tinh thể formazan tạo thành dung dịch đồng nhất và đo độ hấp thụ quang học (Optical density – OD) ở bước sóng 570 nm.

**- Đánh giá kết quả**

Hình thái tế bào sau khi cấy và sau khi ủ trong dung dịch NSM tại các thời điểm được ghi nhận bằng hình ảnh chụp dưới kính hiển vi đảo pha CKX53 (Olympus, Nhật) với vật kính 10x cùng phần mềm ghi nhận hình ảnh (CellSens) và so sánh với nhóm chứng.

Đánh giá ảnh hưởng của NSM chứa CHX và CDO sau thử nghiệm MTT dựa theo hướng dẫn ISO 10993, chúng tôi chia mức độ độc tế bào thành năm giai đoạn bằng cách phân tích tỉ lệ tăng trưởng tương đối (RGR) được xác định theo công thức:

$$RGR\% = \frac{OD_{dc}}{OD_{ca}} \times 100\%$$

Trong đó:

OD<sub>dc</sub>: Giá trị trung bình của mật độ quang của dung dịch NSM thử nghiệm được đo ở bước sóng 570 nm.

OD<sub>ca</sub>: Giá trị trung bình của mật độ quang của môi trường nuôi cấy tiêu chuẩn được đo ở bước sóng 570 nm.

RGR được tóm tắt trong Bảng 3 với mức độ 0 và 1 được xác định là không gây độc cho tế bào [5].

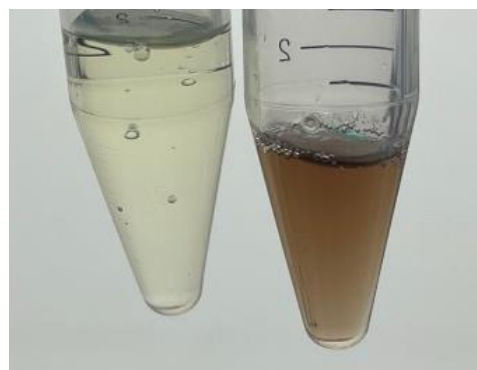
Bảng 3. Mức độ gây độc tế bào theo tiêu chuẩn ISO 10993-5:2009

RGR (%)	Gây độc tế bào
100	0
75-99	1
50-74	2
25-49	3
1-24	4
0	5

Nhận xét: Mỗi nghiệm thức được thực hiện 3 lần và các kết quả thu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn, được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel version 16.77.1 (Hoa Kỳ).

**- Đạo đức trong nghiên cứu:** Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Trường Đại học Y Dược Cần Thơ (Số 22.001.NCS/PCT-HĐĐĐ) ngày 30/11/2022.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**



Hình 1. Dung dịch CDO 5% (trái) và CHX 20% (phải) sau khi lọc vô trùng

Bảng 4. Giá trị trung bình của mật độ quang của dung dịch NSM thử nghiệm được đo ở bước sóng 570 nm

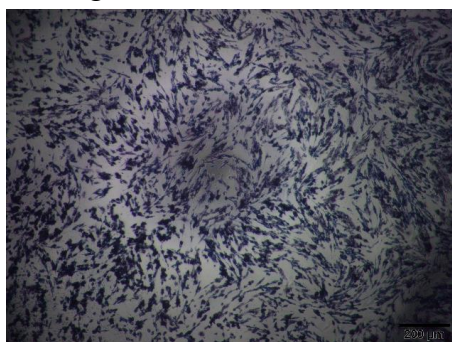
Mẫu/Mốc thời gian	1 (30 s)	2 (60 s)	3 (90 s)	4 (120 s)	5 (150 s)	6 (180 s)
A	$0,31 \pm 0,05$	$0,32 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,003$
B	$0,19 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,007$
C	$0,14 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,004$	$0,09 \pm 0,004$

Nhận xét: Giá trị trung bình mật độ quang của NSM A > NSM B > NSM C ở tất cả các mốc thời gian. Khi thời gian ủ tăng dần, giá trị mật độ quang của mỗi dung dịch NSM giảm dần.

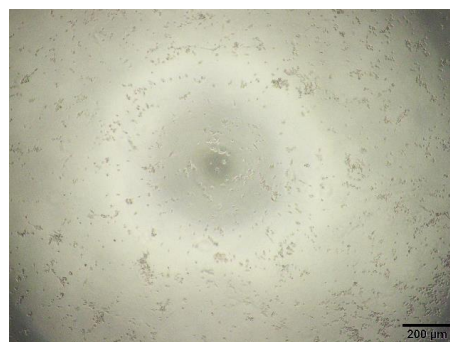
Bảng 5. Trung bình phân trăm hGF sống ở các nồng độ dung dịch NSM thử nghiệm

Mẫu/Mốc thời gian	1 (30s)	2 (60s)	3 (90s)	4 (120s)	5 (150s)	6 (180s)
A	$87,62 \pm 9,51$	$92,38 \pm 9,62$	$75,24 \pm 9,66$	$60,95 \pm 9,58$	$53,33 \pm 9,55$	$55,62 \pm 13,41$
Mức độ độc tính	1	1	1	2	2	2
B	$54,67 \pm 3,85$	$52,76 \pm 10,32$	$47,43 \pm 1,14$	$43,14 \pm 2,9$	$37,05 \pm 0,9$	$28,67 \pm 10,1$
Mức độ độc tính	2	2	3	3	3	3
C	$40,38 \pm 3,82$	$34,29 \pm 1,14$	$30,76 \pm 6,61$	$31,71 \pm 2,92$	$22,38 \pm 4,75$	$26,38 \pm 6,73$
Mức độ độc tính	3	3	3	3	4	3

Nhận xét: Ở dung dịch A (CHX 0,01%, CDO 0,05%) tại mốc thời gian 1- 3 (30 s- 90 s), mức độ độc tính là mức độ 1, tại mốc thời gian 4-6, mức độ độc tính là mức 2. Ở dung dịch B, tại mốc thời gian 1 và 2, mức độ độc tính là 2, còn lại ở mức độ 3. Ở dung dịch C, tại mốc thời gian 5, mức độ độc tính là 4, còn lại ở mức 3.

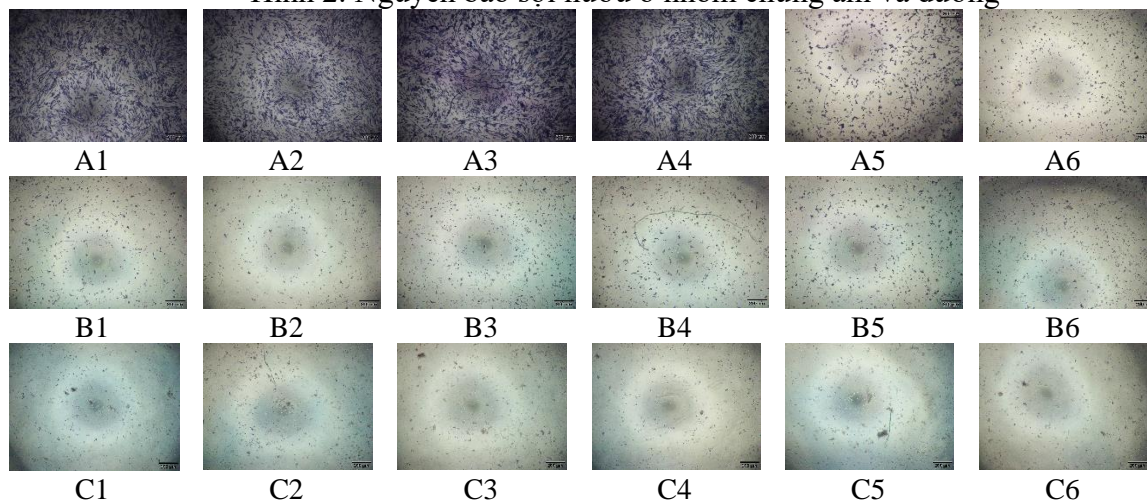


Chứng âm: Môi trường nuôi cấy tiêu chuẩn



Chứng dương: Dung dịch DMSO 20%

Hình 2. Nguyên bào sợi nước ở nhóm chứng âm và dương



Hình 3. hGF sau khi ủ ở các mốc thời gian (30 s-180 s) trong các nồng độ dung dịch chứa CHX và CDO khác nhau (A-C)

#### IV. BÀN LUẬN

Kết quả đánh giá thông qua thử nghiệm MTT theo tiêu chuẩn ISO10993 - 5:2009 về ảnh hưởng của NSM chứa CHX và CDO lên khả năng sống của hGF, có thể ghi nhận được rằng khi nồng độ CHX tăng dần thì khả năng sống của tế bào giảm dần. Hình ảnh tế bào khi ủ ở các nồng độ NSM trong 6 mốc thời gian đều cho thấy tế bào có phản ứng thay đổi khác so với ban đầu. Nghiên cứu cho thấy NSM A chứa CHX 0,01% và CDO 0,05% không gây độc cho hPGF khi thời gian ủ  $\leq 90$  s, tuy nhiên hình dạng tế bào có thay đổi một phần.

Mặc dù là chất kháng khuẩn tiêu chuẩn vàng được sử dụng rộng rãi trong nha khoa, CHX vẫn là một hoạt chất có độc tính với tế bào của cơ thể. Trên thị trường, CHX được sử dụng phổ biến ở các nồng độ 0,06%, 0,12% và 0,2% trong các sản phẩm nước súc miệng, kem đánh răng, gel điều trị v.v...trong khi đó nồng độ CHX 4% được ứng dụng trong nước rửa tay phẫu thuật nha khoa. Các tác dụng phụ của CHX khi sử dụng lâu dài như gây vết ố vàng nâu trên răng, phục hình và mô mềm, thay đổi vị giác, gây khô miệng và kích ứng mô đã được báo cáo trong y văn. Do đó, nỗ lực của nhiều nghiên cứu là tìm ra phương pháp bảo đảm tính kháng khuẩn của CHX trong khi giảm thiểu được độc tính cũng như các tác dụng phụ [6].

Sự phối trộn các chất khác với CHX đã được đề xuất và ứng dụng trên lâm sàng như CHX+CPC (cetylpyridium chloride), CHX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogen peroxide), CHX+NaF (sodium fluoride), CHX+Zn<sup>2+</sup> (ion kẽm) v.v... Các công thức nước súc miệng CHX có nồng độ thấp hơn có thể có hiệu quả trong việc ức chế mảng bám và giảm các tác dụng phụ gây khó chịu [7]. CDO có tác dụng oxy hoá và được chứng minh có tác dụng trung hoà các hợp chất lưu huỳnh dễ bay hơi gây hôi miệng, đồng thời cũng thể hiện được tính an toàn khi sử dụng lâu dài. Theo Anna H (2019), việc thiếu tương tác hóa học giữa CDO và CHX khẳng định ứng dụng an toàn của chúng khi kết hợp [8]. Đặc tính kháng khuẩn của CDO tinh khiết và ứng dụng của nó có thể là một giải pháp thay thế hấp dẫn cho tính độc hại có trong CHX, và được sử dụng phổ biến dưới hình thức nước súc miệng với các nồng độ từ 0,03% tới 0,1% [8]. Tuy nhiên, hiện vẫn chưa có nghiên cứu về sự kết hợp nước súc miệng chứa CHX và CDO trong điều trị nha khoa nói chung. Nghiên cứu của chúng tôi kết hợp CHX và CDO ở các nồng độ CHX khác nhau (0,01-0,05%) và CDO 0,05%, mô phỏng thực tế các nồng độ

đang được sử dụng trong các sản phẩm thương mại trên thị trường để khảo sát độc tính của hỗn hợp dung dịch nước súc miệng lên nguyên bào sợi nướu theo thời gian súc miệng thực tế từ 30 giây tới 3 phút.

Theo Bảng 5, chỉ có ở dung dịch A (CHX 0,01%, CDO 0,05%) tại mốc thời gian 1-3 (30 s - 90 s) có mức độ độc tính ở mức độ 1, tất cả các mốc thời gian còn lại cũng như ở hai dung dịch khác, hỗn hợp NSM đều gây độc tế bào. Điều này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Hoài Bảo và Trần Xuân Vĩnh (2022), khi kết luận ảnh hưởng của gel *in situ* chứa 0,5% CHX lên nguyên bào sợi nướu phụ thuộc nồng độ và tương đương gel đối chứng (PerioKin®), và phần trăm sống của nguyên bào sợi nướu khi tiếp xúc với gel CHX pha loãng  $1/10^3$  và  $1/10^4$  là trên 70% [9]. Nghiên cứu rất sớm từ những năm 90 về độc tính của CHX trên động vật cho thấy tất cả nồng độ CHX đều gây độc tế bào đối với nguyên bào sợi ở da ngựa. Nồng độ CHX từ 0,05% đến 1,0% có thể gây chết nguyên bào sợi. Nồng độ chlorhexidine 0,04% cho phép tồn tại 25% nguyên bào sợi ở da và nồng độ 0,005% đến 0,01% cho phép tồn tại khoảng 50% nguyên bào sợi da ngựa [10]. Nghiên cứu của Kohidai Z (2022) cho thấy nồng độ CHX thấp (0,0001%; 0,0003%) giúp tăng sinh tế bào, trong khi nồng độ cao hơn gây độc các tế bào tiền thân biểu mô nướu (HGEPp) [11]. Kết quả nghiên cứu của Lessa (2010) trên tế bào giống nguyên bào răng (MDPC23), sau khi dung dịch CHX ở các nồng độ 0,06%, 0,12%, 0,2%, 1% và 2% tiếp xúc tế bào 60 giây, 2 giờ, hoặc 60 giây với 24 giờ phục hồi, cho thấy rằng, bất kể thời gian phơi nhiễm, tất cả các nồng độ CHX đều có tác dụng gây độc trực tiếp cao đối với các tế bào MDPC-23 được nuôi cấy. Thời gian tiếp xúc 60 giây gây độc tế bào ít nhất ( $p < 0,05$ ), trong khi tiếp xúc với CHX trong 60 giây với thời gian phục hồi 24 giờ gây độc nhất đối với các tế bào ( $p < 0,05$ ) [12].

Ngược lại, Láng (2020) báo cáo rằng CDO tinh khiết ít độc hơn, tạo môi trường thuận lợi cho việc tái tạo cấu trúc răng trong quá trình can thiệp, đồng thời các thí nghiệm khả năng sống của tế bào đã chứng minh rằng việc sử dụng CDO 0,03% không làm giảm đáng kể khả năng tồn tại của tế bào gốc dây chằng nha chu (PLDSC) ở nồng độ được sử dụng để tiêu diệt vi khuẩn [13]. Tương tự, Soares (2012) khẳng định trong một nghiên cứu thử nghiệm liên quan đến những người sử dụng nước uống chứa CDO và muối clorua rằng không tìm thấy tác dụng phụ nào ở liều cao như 24 mg/l (CDO) và 5 mg/l (muối clorua) [14]. Theo Noszticzius (2013), thời gian tiêu diệt vi khuẩn là theo thứ tự mili giây trong dung dịch CDO 300 ppm. Do đó, thời gian tiếp xúc vài phút (bị giới hạn bởi sự bay hơi của CDO) là khá đủ để tiêu diệt tất cả vi khuẩn, nhưng cũng đủ ngắn để giữ cho CDO không thâm nhập vào các mô sống của sinh vật lớn hơn một cách an toàn, giảm thiểu tác dụng gây độc tế bào khi sử dụng nó như một chất khử khuẩn [15]. Nghiên cứu của Kohidai Z (2022) cho thấy đối với CDO, tác dụng tăng sinh có lợi tế bào HGEPp được quan sát thấy trên phạm vi nồng độ rộng (0,06–6 ppm) [11]. Trong nghiên cứu của Nishikiori (2008), liều gây chết đối với 50% nguyên bào sợi nướu người (LD50) của CDO là 0,16 mM và gây ra sự ngừng chu kỳ tế bào G0/G1. Tuy nhiên, CDO không gây ra hiện tượng chết tế bào theo chương trình đáng kể ở bất kỳ nồng độ nào được kiểm tra [16].

Như vậy, kết quả của nghiên cứu này tương đồng với hầu hết các nghiên cứu trong y văn khi nồng độ CHX càng thấp và thời gian tiếp xúc càng ngắn, độc tính lên tế bào càng giảm. Ưu điểm của nghiên cứu là mô phỏng các nồng độ NSM đang sử dụng trên thị trường và thời gian tiếp xúc thực tế khi súc miệng, tuy nhiên, nhược điểm của nghiên cứu này là chưa khảo sát các nồng độ khác nhau của CDO, từ đó chưa đánh giá rõ ràng vai trò của CDO lên độc tính của hỗn hợp NSM phối trộn hai hoạt chất.

## V. KẾT LUẬN

Sự phối hợp của CHX 0,01% và CDO 0,05% không gây độc cho nguyên bào sợi nước khi tiếp xúc trong khoảng thời gian 30 s, 60 s và 90 s. Các dung dịch phối trộn CHX có nồng độ cao hơn (0,02% và 0,05%) với CDO 0,05% đều gây độc nguyên bào sợi nước. Do đó, sử dụng dung dịch CHX nồng độ thấp kết hợp với CDO hứa hẹn thay thế cho việc sử dụng CHX nồng độ cao hiện có trong điều trị nha khoa nhằm giảm bớt các tác dụng phụ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kamolnarumeth K., Thussananutiyakul J., Lertchwalitanon P., Rungtanakiat P., Mathurasai W., et al. Effect of mixed chlorhexidine and hydrogen peroxide mouth rinses on developing plaque and stain in gingivitis patients: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2021. 25(4), 1697-1704, doi: 10.1007/s00784-020-03470-7.
2. Kerémi B., Márta K., Farkas K., Czumbel L.M., Tóth B., et al. Effects of chlorine dioxide on oral hygiene - A systematic review and meta-analysis. *Curr Pharm Des.* 2020. 26(25), 3015-3025, doi: 10.2174/1381612826666200515134450.
3. Diar-Bakirly S., El-Bialy T. Human gingival fibroblasts: Isolation, characterization, and evaluation of CD146 expression. *Saudi J Biol Sci.* 2021. 28(4), 2518-2526, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.01.053.
4. Nguyễn Thị Thu Suong, Nguyễn Thị Ngọc Mỹ, Phạm Anh Vũ Thụy. Ảnh hưởng của axit boric lên khả năng sống của tế bào gốc dây chằng nha chu người *in vitro*. *Y học TP.Hồ Chí Minh.* 2018. Tập 22, số 5, 161-169.
5. ISO E 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices. Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland. 2009.
6. Brookes Z.L.S, Bescos R., Belfield L.A., Ali K., Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent.* 2020. 103, 103497, doi: 10.1016/j.jdent.2020.103497.
7. Mor-Reinoso C., Pascual A., Nart J., Quirynen M. Inhibition of de novo plaque growth by a new 0.03 % chlorhexidine mouth rinse formulation applying a non-brushing model: a randomized, double-blind clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2016. 20(7), 459-467, doi: 10.1007/s00784-015-1625-y.
8. Anna H., Barnabás P., Zsolt L. and Romána Z. Tracking of the degradation process of ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine digluconate in the presence of hyper-pure chlorine dioxide in endodontic disinfection. *J Pharm Biomed Anal.* 2019. 164, 360-364, doi: 10.1016/j.jpba.2018.11.005.
9. Nguyễn Ngọc Hoài Bảo và Trần Xuân Vĩnh. Đánh giá ảnh hưởng *in vitro* của gel chlorhexidine in situ 0,5% lên sự sống và di chuyển của nguyên bào sợi nước người. *Tạp chí y học Việt Nam.* 2021. Tập 502, số 2, 175-178.
10. Redding W.R., Booth L.C. Effects of chlorhexidine gluconate and chlorous acid-chlorine dioxide on equine fibroblasts and *Staphylococcus aureus*. *Vet Surg.* 1991. 20(5), 306-310, doi: 10.1111/j.1532-950x.1991.tb01272.x.
11. Köhidai Z., Takács A., Lajkó E., Gécz Z., Pállinger É., et al. The effects of mouthwashes in human gingiva epithelial progenitor (HGEPp) cells. *Clin Oral Investig.* 2022. 26(6), 4559-4574, doi: 10.1007/s00784-022-04422-z.
12. Lessa F.C., Aranha A.M., Nogueira I., Giro E.M., Hebling J., et al. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J Appl Oral Sci.* 2010. 18(1), 50-58. doi: 10.1590/s1678-77572010000100010.
13. Láng O., Nagy K.S., Láng J., Perczel-Kovács K., Herczegh A., et al. Comparative study of hyperpure chlorine dioxide with two other irrigants regarding the viability of periodontal ligament stem cells. *Clin Oral Investig.* 2021. 25(5), 2981–2992, doi: 10.1007/s00784-020-03618-5.



14. Soares L.G., Guaitolini R.L., Weyne Sde C., Falabella M.E., Tinoco E.M., et al. The effect of a mouth rinse containing chlorine dioxide in the clinical reduction of volatile sulfur compounds. *Gen Dent.* 2012, 61(4), 46-49.
  15. Noszticzius Z., Wittmann M., Kály-Kullai K., Beregvári Z., Kiss I., et al. Chlorine dioxide is a size-selective antimicrobial agent. *PLoS One.* 2013. 8(11), e79157, doi: 10.1371/journal.pone.0079157.
  16. Nishikiori R., Nomura Y., Sawajiri M., Masuki K., Hirata I., et al. Influence of chlorine dioxide on cell death and cell cycle of human gingival fibroblasts. *J Dent.* 2008. 36(12), 993-998, doi: 10.1016/j.jdent.2008.08.006.
-