

## مقایسه تأثیر حامل‌های مختلف مورد استفاده برای آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم بر روی فعالیت ضد میکروبی آن با روش تماس مستقیم

دکتر مهدی تبریزی‌زاده\*، دکتر هنگامه زندی\*\*، دکتر زاهد محمدی\*\*\*، دکتر جلیل نظری\*\*\*\*

### چکیده

سابقه و هدف: هیدروکسید کلسیم ماده‌ای با اثر ضد میکروبی مشخص بر روی اغلب گونه‌های میکروبی موجود در کانال ریشه است که امروزه استفاده از آن به عنوان یک داروی داخل کانال رایج می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر ضد میکروبی مخلوط‌های مختلف هیدروکسید کلسیم با سالی‌ن نرمال، لیدوکائین ۲٪، کلرهگزیدین ۲٪ و ۰/۲٪، یدین پتاسیم یدید ۲٪ و گلیسرین بر روی میکروب *Enterococcus Faecalis* با روش تماس مستقیم بود.

مواد و روشها: جهت انجام این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، ابتدا تعداد ۳۷۵ عدد مخروط کاغذی استریل شماره ۵۰ به مدت ۵ دقیقه در محلول میکروبی *E-Faecalis* غوطه‌ور شدند. سپس مخروط‌های کاغذی آلوده به میکروب در ظروف استریل قرار گرفته و روی آنها با مخلوط خمیری شکل تهیه شده از هیدروکسید کلسیم با مواد مورد بررسی پوشانده شد. در زمان‌های ۱، ۳ و ۷ روز مخروط‌های کاغذی از ظروف خارج شده و به صورت جداگانه در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت میکروبی *BHI* قرار داده شدند. آثار رشد میکروبی با بررسی ایجاد کدورت (*Turbidity*) در محیط‌های کشت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: طبق نتایج بدست آمده تمامی مواد مورد بررسی پس از یک هفته اثر ضد میکروبی کامل از خود نشان دادند ولی پس از ۲۴ ساعت، تنها در مورد مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین ۲٪ و ۰/۲٪ اثر ضد میکروبی کامل و عدم رشد میکروب در تمامی نمونه‌ها دیده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که نوع ماده حامل هیدروکسید کلسیم تأثیر چندانی در فعالیت ضد میکروبی آن ندارد هر چند که برای بررسی تأثیر مواد ناقل بر روی خواص شیمیایی هیدروکسید کلسیم از قبیل قدرت انتشار آن نیاز به انجام مطالعاتی با شرایط مشابه کانال ریشه می‌باشد.

کلید واژگان: هیدروکسید کلسیم، فعالیت ضد میکروبی، تماس مستقیم

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۸/۸ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۴/۲۵ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۷/۷/۵

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۷، ۲۶۸-۲۷۳

### مقدمه

در حال حاضر هیدروکسید کلسیم به عنوان تنها داروی توصیه شده جهت استفاده در داخل کانال شناخته می‌شود (۱-۴).

نحوه آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم جهت قرار دادن در داخل کانال اهمیت زیادی دارد. مواد مورد استفاده برای آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم باید علاوه بر حفظ خاصیت قلیائی باعث تقویت اثر ضد میکروبی و توانائی انتشار آن در

پاکسازی کانال در درمان ریشه به دو صورت مکانیکی و شیمیایی انجام می‌شود. جهت کمک به پاکسازی شیمیائی کانال طی سالیان گذشته مواد مختلفی به عنوان داروی داخل کانال (*Intracanal medicament*) معرفی شده‌اند. فنل‌ها، آلدئیدها و هالیدها از جمله رایج‌ترین داروهای مورد استفاده در کانال بوده‌اند که با توجه به عوارض و مشکلات ناشی از مصرف آنها امروزه از اهمیت کاربرد آنها کاسته شده است.

باریم در لوله حاوی محلول ۰/۵ McFarland ایجاد گردد. در نهایت میکروب‌ها به محیط کشت مایع Brain Heart Infusion (BHI) منتقل شدند.

جهت تهیه خمیرهای مورد استفاده در این مطالعه پودر هیدروکسید کلسیم (شرکت پیشرو دندان-ایران) بر روی اسلپ شیشه‌ای قرار گرفته و پس از اضافه نمودن هر یک از مواد مورد بررسی سالیان نرمال (شرکت فراورده‌های تزریقی-ایران)، لیدوکائین ۲٪ (داروپخش-ایران)، کلرهگزیدین ۲٪ (Merck, Darmstadt, Germany)، کلرهگزیدین ۰/۲٪ (Merck, Darmstadt, Germany)، یدین پتاسیم یدید ۲٪ (Merck, Darmstadt, Germany) و گلیسرین (شرکت ارم، تهران-ایران) توسط اسپاتول همزن مخلوطی با قوام خامه‌ای از آنها تهیه گردید. قابل ذکر است که برای آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم وزن و حجم خاصی از مواد مورد استفاده قرار نگرفت بلکه تنها بدست آوردن قوام خامه‌ای شکل هیدروکسید کلسیم مورد نظر بود.

جهت انجام این مطالعه تعداد ۳۷۵ عدد مخروط کاغذی استریل شماره ۵۰ (سینادنت، اصفهان، ایران) به مدت ۵ دقیقه در محلول میکروبی E-Faecalis موجود در محیط BHI غوطه‌ور شدند.

نمونه‌ها پس از بیرون آوردن از محلول میکروبی توسط پنس استریل، در ۱۸ عدد petri plate قرار گرفتند (در هر ظرف ۲۰ عدد مخروط کاغذی) و روی آنها در هر یک از ظروف به ترتیب با خمیرهای هیدروکسید کلسیم که از قبل آماده شده بودند، پوشانده شد. برای انجام این کار مخلوط خامه‌ای شکل مواد از انتهای سرنگ‌های تزریق وارد شده و سپس روی مخروط‌های کاغذی خالی می‌شدند (شکل ۱). بدین ترتیب در نهایت در ۳ ظرف خمیر هیدروکسید کلسیم با سالیان نرمال، ۳ ظرف هیدروکسید کلسیم با یدین پتاسیم یدید، ۳ ظرف خمیر هیدروکسید کلسیم با گلیسرین، ۳ ظرف خمیر هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین ۲٪، ۳ ظرف خمیر هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین ۰/۲٪ و ۳ ظرف خمیر هیدروکسید کلسیم با لیدوکائین ۲٪ وجود داشت. در سه ظرف دیگر هر کدام ۵ عدد مخروط کاغذی آغشته به میکروب به عنوان کنترل مثبت با سالیان نرمال پوشانده

توبوله‌ای عاجی شوند (۵،۶). رایج‌ترین موادی که امروزه برای آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم به کار می‌روند سالیان نرمال، داروی بی‌حسی موضعی (لیدوکائین)، CMCP، یدین پتاسیم یدید (IKI) و کلرهگزیدین هستند (۷).

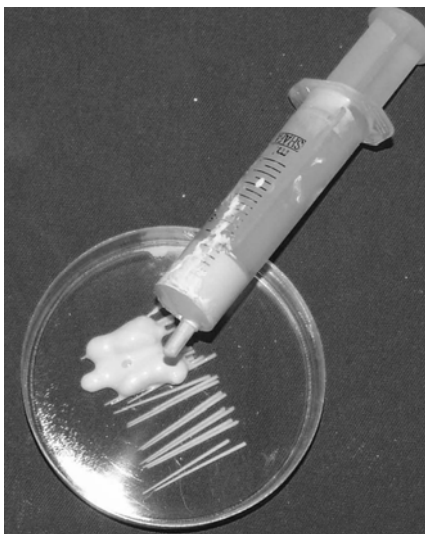
طی سالیان گذشته مطالعات مختلفی برای بررسی اثرات ضد میکروبی، میزان انتشار و pH ترکیبات هیدروکسید کلسیم با مواد مختلف انجام شده‌اند. به طور کلی در اغلب مطالعات انجام شده از اثرات ضد میکروبی مطلوبی از مخلوط هیدروکسید کلسیم با مواد مختلفی از قبیل سالیان نرمال، لیدوکائین، CMCP و یدین پتاسیم یدید مشاهده شده است ولی بسته به روش انجام مطالعه (روش انتشار در آگار، بررسی روی بلوک‌های عاجی و یا تست تماس مستقیم) نتایج مختلفی در ارتباط با برتری اثر ضد میکروبی مواد مختلف نسبت به هم بدست آمده است (۱۶-۸). هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر ضد میکروبی ترکیب هیدروکسید کلسیم با ۵ ماده حامل رایج بر روی میکروب E-Faecalis با روش تماس مستقیم بود.

## مواد و روش‌ها

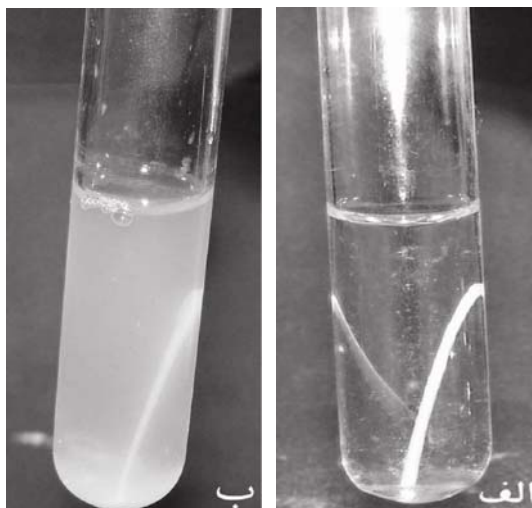
در این مطالعه که از نوع تجربی آزمایشگاهی بود فعالیت ضدباکتریایی مخلوط هیدروکسید کلسیم با شش ماده سالیان، لیدوکائین ۲٪، کلرهگزیدین ۲٪، کلرهگزیدین ۰/۲٪، IKI ۲٪ و گلیسرین که به صورت خامه‌ای شکل تهیه شده بودند بر روی باکتری Enterococcus Faecalis در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از تکنیک میکروبیولوژی تماس مستقیم (Direct Exposure Test) مورد بررسی قرار گرفت.

جهت تهیه باکتری و محیط کشت ابتدا سوش استاندارد Enterococcus Faecalis از پژوهشکده ریزتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و جهت اطمینان از خلوص آن به محیط کشت Blood Agar تلقیح گردید و پس از جداسازی با آزمایشات بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفت.

جهت انجام آزمایش، کلنی‌های باکتری از کشت ۲۴ ساعته در محیط Blood Agar به وسیله لوپ استریل به محیط کشت Tipticase Soy Broth منتقل شدند تا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت معادل کدورت محلول استاندارد سولفات



شکل ۱- پوشاندن مخروطهای کاغذی آغشته به میکروب توسط هیدروکسید کلسیم



شکل ۲- بررسی کدورت در لوله های آزمایش، الف: نمونه فاقد کدورت ب: نمونه دارای کدورت

مساله قابل توجه در مطالعات مختلف، وجود اختلاف در نتایج گزارش شده توسط محققین می باشد. به عنوان مثال بررسی مطالعات Estrela (۲۰۰۱)، Gomez و همکاران (۲۰۰۲)، Haenni و همکاران (۲۰۰۳)، Zerella و همکاران (۲۰۰۵) و Schafer و Bussmann (۲۰۰۵) نشان می دهد که در هر یک از این مطالعات نتایج نسبتاً متفاوتی در ارتباط با اثر ضد میکروبی مواد به دست آمده است (۹، ۱۱، ۱۵، ۱۶). تفاوت نتایج مطالعات ذکر شده تا حدود زیادی مربوط به روش انجام مطالعه می باشد. در مطالعاتی مانند Gomez و همکاران (۲۰۰۲) که با روش انتشار در آگار انجام

شدند. ظروف حاوی مخروطهای کاغذی و خمیرهای هیدروکسید کلسیم به داخل انکوباتور منتقل شده و در دمای ۳۷ درجه نگهداری شدند. سپس در فواصل زمانی ۲۴ ساعت، ۷۲ ساعت و یک هفته هر دفعه ۶ عدد از ظرفهای حاوی خمیرهای هیدروکسید کلسیم از انکوباتور خارج شده و مخروطهای کاغذی موجود در آنها توسط پنبه استریل و در مجاورت شعله چراغ به صورت جداگانه به لوله های آزمایش حاوی محیط کشت BHI منتقل گردیدند. لوله های آزمایش در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و سپس آثار رشد میکروبی در هر یک از لوله ها با بررسی وجود کدورت (Turbidity) مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۲).

مراحل فوق در مورد نمونه های کنترل مثبت نیز انجام شد. در نهایت جهت کنترل عدم آلودگی خارجی رنگ آمیزی گرم در مورد میکروب های رشد کرده در محیط کشت انجام شد.

### یافته ها

در این مطالعه اثر ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلرگزیدین ۲٪ و ۰/۲٪ در مورد تمامی نمونه ها پس از ۲۴ ساعت مشهود بود. در مورد مواد دیگر نیز در اکثر نمونه ها پس از ۲۴ ساعت اثر ضد میکروبی دیده شد. پس از ۷۲ ساعت تنها در مخلوط هیدروکسید کلسیم با سالین نرمال ۱ مورد رشد میکروب و کدورت دیده شد. همه نمونه ها پس از یک هفته فاقد آثار رشد میکروبی بودند (جدول ۱). در هر ۵ نمونه کنترل مثبت در زمان های مختلف بررسی آثار کدورت مشاهده گردید.

### بحث

هیدروکسید کلسیم رایج ترین ماده ای است که به عنوان دارو یا پانسمان داخل کانال به کار می رود. محققین بسیاری در صدد تعیین معیارهای مناسب برای استفاده از آن و بررسی محدودیت ها و توانایی های آن بوده اند. در این مطالعات رایج ترین مواد مورد استفاده برای آماده سازی هیدروکسید کلسیم، سالین نرمال، داروهای بی حسی موضعی، کلرگزیدین، یدین پتاسیم یدید و گلیسرین بوده اند که در مطالعه حاضر نیز مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱- فراوانی باکتری‌های رشد کرده در زمانهای مختلف

دارو	زمان		۷۲ ساعت		یک هفته	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کلرهگزیدین ۲٪	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰
کلرهگزیدین ۰/۲٪	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰
یدین پتاسیم یدید ۲٪	۲	٪۹۰	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰
محلول لیدوکائین ۲٪	۱	٪۹۵	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰
نرمال سالین	۱	٪۹۵	۱	٪۹۵	۰	٪۱۰۰
گلیسیرین	۲	٪۹۰	۰	٪۱۰۰	۰	٪۱۰۰

نیاز برای اثر ضد میکروبی بر روی میکروب‌های مختلف مؤید این نکته است که مواد حامل، نقش حمایت کننده را در این فرآیند بر عهده دارند و خواص شیمیایی خمیر هیدروکسید کلسیم از قبیل میزان تجزیه‌پذیری و انتشار آن را، که عوامل مهمی در اثر ضد میکروبی و توانایی ترمیم بافتی هستند، تحت تأثیر قرار می‌دهند. از لحاظ تغییر خواص شیمیایی هیدروکسید کلسیم پس از مخلوط کردن با کلرهگزیدین و یدین پتاسیم یدید، با توجه به اطلاعات پایه‌ای شیمی این طور به نظر می‌رسد که واکنش شیمیایی خاصی در مخلوط این مواد رخ نمی‌دهد (۱۲).

مسئله مهم و قابل توجه از لحاظ کلینیکی در مطالعه حاضر این است که پس از ۲۴ ساعت تنها مخلوط هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین ۲٪ و ۰/۲٪ اثر ضد میکروبی کامل از خود نشان داد و در مورد بقیه مواد تعدادی کشت مثبت میکروبی دیده شد، بنابراین در صورتی که فرصت کافی برای نگهداری هیدروکسید کلسیم در کانال موجود نبوده و نیاز به اثر ضد میکروبی سریعتری باشد می‌توان از کلرهگزیدین برای آماده‌سازی هیدروکسید کلسیم استفاده نمود و از اثر ضد میکروبی سریع آن بهره برد.

از لحاظ نحوه اثر ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم، آنزیم‌های موجود در غشاء سیتوپلاسمیک هدف اولیه و اصلی تغییرات pH ناشی از یونهای هیدروکسید هستند که در نهایت به غیرفعال‌سازی برگشت‌پذیر و یا برگشت‌ناپذیر انواع میکروب‌های هوازی، بی‌هوازی، گرم مثبت و یا گرم منفی منجر می‌گردد. اثر ضد میکروبی بطور مشخص به سرعت میزان آزادسازی یون‌های هیدروکسید، در دسترس

شده‌اند شرایط مشابهی از لحاظ میزان فعالیت و توانایی انتشار در محیط آگار وجود ندارد و این مسئله بر روی نتایج واقعی تأثیرگذار خواهد بود زیرا در شرایط واقعی بدن هدف از قرار دادن مواد ضد میکروبی در داخل کانال تأثیر مستقیم آنها بر روی میکروب‌های موجود در کانال یا میکروب‌های نفوذ کرده به داخل توبول‌های عاجی است، همانند مطالعات Haenni و همکاران (۲۰۰۳)، Zerella و همکاران (۲۰۰۵) و Schafer و Bussmann (۲۰۰۵) بر روی عاج دندانهای کشیده شده، که مسلماً شرایط انتشار و حلالیت متفاوتی با محیط آگار دارند.

شرایط انجام تحقیق و درست انجام دادن مراحل آن نیز می‌تواند نتایج مطالعه را تحت تأثیر قرار دهند. خشک شدن محیط کشت به مرور زمان و نگهداری نمونه‌ها بیش از زمان ایده‌آل برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از عواملی هستند که می‌توانند زمینه را برای ایجاد نتایج مشکوک فراهم کنند. نوع محیط کشت، سن و مقدار میکروب تلقیح شده و گونه باکتری مورد استفاده نیز از دیگر عوامل مؤثر در نتایج مطالعات می‌باشند.

Estrela (۲۰۰۱) نشان داد که هیدروکسید کلسیم بدون توجه به حاملی که با آن مخلوط شده پس از ۴۸ ساعت اثرات ضد میکروبی در تماس مستقیم با باکتری‌هایی از قبیل *C. albicans*، *B. subtilis*، *S. mutans*، *E. faecalis* می‌دهد (۹). در مطالعه حاضر نیز تمامی مواد مورد آزمایش در طی دوره بررسی از اثر ضد میکروبی مناسبی برخوردار بودند و تقریباً پس از ۷۲ ساعت اثر ضد میکروبی کامل پس از تماس با مواد مختلف دیده شد. عدم تفاوت در زمان مورد

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که روش تماس مستقیم روشی عملی و ساده برای بررسی اثر ضد میکروبی مواد می‌باشد که به علت عدم وابستگی به متغیرهای مختلف از مزیت زیادی برخوردار است. با توجه به اثر ضد میکروبی مطلوب تمامی مخلوط‌های هیدروکسید کلسیم مورد استفاده در این مطالعه انجام تحقیقات بیشتر برای بررسی اثرات آن در شرایط طبیعی مشابه کانال دندان توصیه می‌گردد.

بودن آنها و مدت زمان تماس مستقیم آنها با میکروبها بستگی دارد(۳).

جهت انتخاب داروی داخل کانال مناسب برای استفاده در کلینیک لازم است فلور میکروبی داخل کانال و مکانیسم عمل داروها در نظر گرفته شوند. علاوه بر این داروها باید زمان کافی برای عمل خود داشته باشند تا بتوانند در فواصل دورتر عمل کرده و بقایای میکروبی را خنثی نمایند.

### References

1. Cohen S, Hargreaves K: Pathways of the pulp. 9th Ed. St. Louis: The C.V Mosby Co. 2006;Chap9:290-357.
2. Law A, Messer H: An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. J Endod 2004;30:689-694.
3. Farhad A, Mohammadi Z: Calcium hydroxide: a review. Int Dent J 2005;55:293-301.
4. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, McPherson JC: Invitro antimicrobial activity of various medication preparations on E. faecalis in root canal dentin. J Endod 2003;29:187-190.
5. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M: Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. Int Endod J 2001;34:184-188.
6. Safavi K, Nakayama TA: Influence of mixing vehicle on dissociation of calcium hydroxide in solution. J Endod 2000;26:649-651.
7. Almyroudi A, Mackenzia D, McHugh S, Saunders WP: The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medication: an invitro study. J Endod 2002;28:163-167.
8. Behnen MJ, West LA, Liweher FR, Baxton TB, Mcpherson JC: Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. J Endod 2001;27:765-767.
9. Estrela C: Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. J Endod 2001;27:720-723.
10. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB: Invitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles on selected microorganisms. Braz Dent J 2002;13:155-161.
11. Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M: Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Int Endod J 2003;36:100-105.
12. Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Prstavik D: Invitro antimicrobial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on Entrococcus faecalis. Eur J Oral Sci 2004;112:326-331.
13. Cwika SJ, Belange M, Giguere S, Pregulske, Fox A, Vertucci FJ: Dentinal tubule disinfection using three calcium hydroxide formolation. J Endod 2005;31:50-52.
14. Basrani B, Santos JM, Tiaderhance L, Grad H, Gorduysas O, Huang J: Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine treated human root dentine. Oral surg Oral med Oral pathol Oral Radiol Endod 2002;94:240-245.
15. Schafer EL, Bussmann K: Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against Entrococcus faecalis. J Endod 2005;31:35-56.

16. Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LS: Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine gluconate mixture as disinfectoin during retreatment of failed endodontic cases. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral Radiol Endod* 2005;100:756-761.
17. Evans MD, Baumgartner JC, Khemalelakul SU, Xia T: Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine pastes as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003;26:338-339.

Archive of SID