Archive of SID

تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ۲۵۶-۲۵۹

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدقارچ محلول شست و شو دهنده کانال ریشه بر روی کاندیدا آلبیکانس

دکتر منصوره عباسی[۱]- دکتر آناهیتا نوروزی فرد[۲]-دکتر مسعود شریفی[۳]

۱- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، ایران

۲- دستیار تخصصی گروه آموزشی پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۳- استادیار گروه آموزشی میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

چکیده

زمینه و هدف: *استفاده از شست و شو دهنده‌های داخل کانال برای یک درمان ریشه موفق ضروری است. هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد قارچ محلولهای هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ و کارواکرول ۹۴٪ بر روی کاندیدا آلبیکانس در کانال ریشه دندان در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی به روش آزمایشگاهی پس از قطع تاج و آماده‌سازی کانال ۴۸ دندان خارج شده سانترال بالا، دندانها به طور تصادفی به سه گروه آزمایشی ۱۴تایی و دو گروه کنترل سه تایی تقسیم شدند. گروههای آزمایشی و کنترل مثبت با سوسپانسیون قارچ کاندیدا آلبیکانس آلوده و به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس کانال دندانهای هر گروه با یکی از محلولهای هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ و کارواکرول ۹۴٪ شست و شو داده شدند و پس از نمونه‌گیری از کانال‌ها، کشت انجام گردید. تعداد کلنی‌های رشد کرده مشخصه فعالیت قارچی در نظر گرفته شد. داده‌ها به کمک آزمون آماری Kruskal-wallis تجزیه و تحلیل شدند.*

یافته‌ها: *در نمونه‌های گروه کارواکرول ۹۴٪، هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ به ترتیب در شش، ده و یک نمونه رشد قارچی مشاهده نشد. متوسط تعداد کلنی در گروهها به ترتیب ۸۶/۳، ۵۳/۳ و ۲۷۱/۲ کلنی بود.*

نتیجه‌گیری: *کارواکرول ۹۴٪ و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ ٪ اثر ضدقارچی مشابهی بر کاندیدا آلبیکانس داشتند و این اثر به طور معنی‌داری بیشتر از کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ بود.*

کلید واژه‌ها: *کارواکرول ، کانال ریشه ، کاندیدا آلبیکانس ، کلرهگزیدین گلوکونات ، هیپوکلریت سدیم*

وصول مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۲۷ اصلاح نهایی: ۱۳۹۳/۵/۲۶ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۷/۱۷

نویسنده مسئول: دکتر آناهیتا نوروزی فرد، دستیار تخصصی گروه آموزشی پریودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

e.mail:anahita_norouzifard@yahoo.com

مقدمه

مهمترین انگیزه درمان کانال ریشه حذف میکروارگانیسم‌ها از سیستم کانال ریشه و ممانعت از عفونت مجدد می‌باشد. (۱-۲)، .گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها از عفونتهای کانال ریشه جدا شده‌اند. نقش قارچها در عفونتهای پالپی، کانال‌های ریشه و توبول‌های عاجی به خوبی نشان داده شده است. (۳)، حضور قارچها در کانال ریشه دندانهای عفونی بین ۷٪- ۵۵٪ گزارش شده است و کاندیدا آلبیکانس شایعترین قارچ دخیل در عفونتهای اندودنتیک می‌باشد. (۴)

میکروب زدایی از کانال ریشه از طریق آماده سازی مکانیکی، شست و شوی شیمیایی و قرار دادن داروها در داخل کانال بین جلسات درمان انجام می‌گیرد. (۵)، برای حذف کامل دبری‌ها و میکروارگانیسم‌ها از بی‌نظمیهای کانال ریشه استفاده از محلولهای شست وشو دهنده ضروری است. (۶)، یک شست وشو دهنده داخل کانال باید خاصیت ضد میکروبی قوی داشته باشد، بقایای بافت آلی را در خود حل کرده، فضای داخل کانال را ضد عفونی و دبری‌ها را از کانال‌های آماده شده خارج کند. همچنین عمل لغزانندگی داشته باشد و هیچ اثر سمّی بر بافتهای پری رادیکولار نشان ندهد. (۶)

در حال حاضر رایجترین محلول شست و شودهنده کانال ریشه، هیپوکلریت سدیم (NaOCl) می‌باشد، هر چند تمام خواص یک محلول ایده آل را دارا نیست. (۷)، کلرهگزیدین گلوکونات نیز محلول مناسبی برای شست و شوی کانال ریشه می‌باشد که توانایی باند شدن به هیدروکسی آپاتیت و آزادسازی آهسته را دارد. (۸)، ولی بر خلاف هیپوکلریت

www.SID.ir

Archive of SID

سدیم قادر به حل کردن بافتهای نکروتیک نمی‌باشد. (۷)، استفاده از عصاره گیاهان به علت عوارض جانبی و سمیت کمتر و اثرات ضدمیکروبی مناسب یکی از روشهای جدید درمان بعضی بیماریها می‌باشد. (۹)

کارواکرول یک ترکیب فنلی است که در اسانس گیاهانی نظیر آویشن و مرزه خوزستانی وجود دارد و اثرات شناخته شده ای در رفع التهاب، تسکین درد و حذف میکروارگانیسم‌ها دارد. کارواکرول یکی از ترکیباتی است که بررسی تأثیر آن در شست و شوی فضای کانال ریشه پیشنهاد شده است اما اثر ضد قارچی آن در داخل فضای کانال ریشه هنوز اثبات نشده است. (۹)، بنابراین هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد قارچ محلولهای هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین گلوکونات و کارواکرول بر روی کاندیدا آلبیکانس در کانال ریشه دندان در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

روش بررسی

برای انجام این مطالعه تجربی آزمایشگاهی ۴۸ دندان سانترال فک بالای انسان که به دلایل مختلفی خارج شده بودند جمع آوری و تاج دندانها برای یکسان سازی طول نمونه‌ها و حذف آناتومی متغیر تاج، با استفاده از هندپیس دور تند و فرز دیسکی الماسی بلند (Jota – Switzerland) قطع گردیدند به طوری که طول ریشه باقیمانده تمام دندانها ۱±۱۵ میلی‌متر گردید. در هر یک از نمونه‌ها طول کارکرد به میزان ۰/۵ میلی متر کوتاهتر از آپکس آناتومیک تعیین گردید. آماده سازی کانال‌ها به روش Step back با استفاده از Kفایل‌های استنلس استیل (-Mani) Japan انجام شد به صورتی که فایل اصلی اپیکال (MAF) شماره چهل باشد. بین هر فایل کانال‌ها با پنج میلی‌لیتر محلول سالین استریل شستشو داده می‌شدند. پس از پایان مراحل آماده سازی و شکل دهی به منظور حذف لایه اسمیر، شست و شوی کانال‌ها با ده میلی لیتر محلول EDTA، ۱۷٪ به مدت یک دقیقه و سپس پنج میلی‌لیتر محلول هیپو کلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت یک دقیقه انجام گرفت.

سپس تمام نمونه‌ها به طور تصادفی به سه گروه آزمایشی ۱۴ تایی و دو گروه کنترل مثبت و منفی سه تایی تقسیم شدند و به منظور مهر و موم کردن توبول های عاجی ریشه، سطح ریشه دندانها با دو لایه لاک ناخن پوشانده شد. پس از آن دندانها در اتوکلاو (Germany-Mimerk) تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. از سویه کاندیدا آلبیکانس (۱۰۲۶۱= ATCC) در محیط مایع Tryptic Soy broth (TSB) سوسپانسیون تهیه شد و کدورت آن با استاندارد McFarland، ۰/۵ تنظیم گردید. سوسپانسیون کاندیدا آلبیکانس در تمامی نمونه‌ها به جز گروه کنترل منفی تحت شرایط آسپتیک (بین دو شعله گاز) و زیر هود بیولوژیک و با استفاده از سرنگ انسولین تزریق گردید. در نمونه‌های گروه کنترل منفی به جای سوسپانسیون کاندیدا آلبیکانس، سرم استریل تزریق شد. در ادامه ظرف مذکور به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور (ریحان طب-ایران) در دمای ۳۵/۴ درجه سانتی گراد و رطوبت ۱۰۰٪ قرار گرفت. همچنین برای اطمینان از حضور فعال کاندیدا آلبیکانس در کانال به وسیله مخروط کاغذی استریل شماره ۳۵ (, VDW Germany) هر ۲۴ ساعت از داخل کانال نمونه‌گیری و بر روی محیط کشت Tryptic Soy agar(TSA) تلقیح می‌گردید.

پس از ۷۲ ساعت هر یک از کانال‌های دندانهای گروه ۱ توسط سرنگ انسولین با یک میلی‌لیتر محلول کارواکرول ۹۴٪ (۱۰-۱۱)، (داروسازی خرمان- ایران) به مدت یک دقیقه شست و شو داده شد و بلافاصله با پنج میلی‌لیتر سرم استریل به مدت یک دقیقه شست و شو داده شد تا بقایای کارواکرول از کانال خارج شود. از داخل هر کانال توسط مخروط کاغذی شماره ۳۵ نمونه تهیه و بر روی محیط TSA کشت داده شد. هر یک از دندانهای گروه ۲ و ۳ نیز با یک میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ (گلرنگ- ایران) و کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ (FGM- Brazil) به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با پنج میلی‌لیتر سرم استریل شست و شو داده شدند و مانند گروه یک توسط مخروط کاغذی نمونه تهیه و کشت داده شد. در گروه کنترل مثبت از هیچ محلول ضد عفونی کننده‌ای استفاده نشد.

نمونه‌های سه گروه آزمایشی و دو گروه کنترل مثبت و منفی به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. کلنی‌های (CFU) موجود شمارش شدند.

در این مطالعه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند و گروهها به کمک آزمون Kruskal-Wallis با یکدیگر مقایسه شدند و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

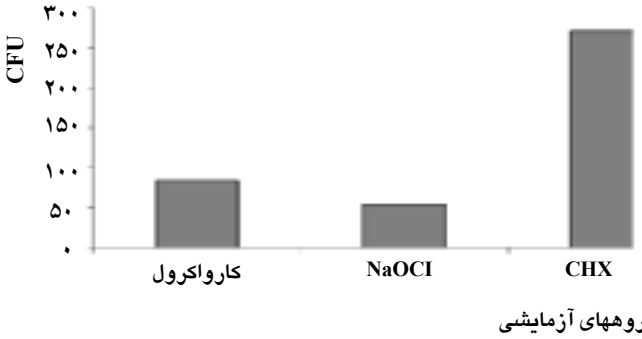
یافته‌ها

در تمام نمونه‌های کنترل مثبت رشد قارچ کاندیدا البیکانس کاملاً مشهود بود و در هیچ یک از نمونه‌های کنترل منفی رشد

www.SID.ir

Archive of SID

قارچ مشاهده نشد. هیچ کدام از محلولهای مورد آزمایش قادر به حذف کامل قارچ کاندیدا آلبیکانس نبودند. (نمودار ۱)
در گروه ۱ (کارواکرول) در شش نمونه از ۱۴ نمونه رشد قارچی مشاهده نشد (۴۳٪) و میانگین CFU در هشت نمونه‌ای که رشد قارچ در آنها دیده شد ۸۶/۳ بود. در گروه ۲ (هیپوکلریت سدیم) در ۹ نمونه از ۱۴ نمونه رشد قارچی مشاهده نشد (۶۴/۲٪) و میانگین CFU در پنج نمونه‌ای که رشد قارچ در آنها دیده شد ۵۳/۳ بود. در گروه سه (کلرهگزیدین گلوکونات) در یک نمونه از ۱۴ نمونه رشد قارچی مشاهده نشد (۷٪) و میانگین CFU در ۱۳ نمونه‌ای که رشد قارچ در آنها دیده شد ۲۷۱/۲ بود.
شست وشوی کانال با هیپوکلریت سدیم و کارواکرول اثر ضد قارچی مشابهی بر کاندیدا آلبیکانس داشت و بین این دو محلول تفاوت قابل توجهی دیده نشد. (p =۰/۹۲۳)، اما اثر ضد قارچی هیپوکلریت سدیم و کارواکرول به صورت معنی‌داری بیشتر از کلرهگزیدین گلوکونات بود (به ترتیب p =۰/۰۱۸ و p =۰/۰۴۷) (نمودار ۱)



نمودار ۱: متوسط CFU در گروههای مختلف آزمایشی

بحث

میکروارگانیسم‌های شایع موجود در سیستم کانال ریشه به خوبی پس از تماس با انواع مختلف محلولهای ضد عفونی کننده کانال ریشه از بین می‌روند. با این حال مطالعات نشان داده‌اند که قارچها نسبت به بسیاری از محلولهای ضدعفونی کننده بسیار مقاوم هستند. (۱)
در مطالعه حاضر، اثر ضد قارچی کامل (عدم رشد در تمام نمونه‌ها) در هیچ گروهی مشاهده نگردید. در مطالعه Ruff و همکاران (۱۲)، پس از کاربرد کلرهگزیدین گلوکونات ۲٪ به مدت یک دقیقه اثر ضد قارچی کامل مشاهده گردید. به نظر می‌رسد علت این تفاوت، زمان نمونه‌گیری می‌باشد. Ruff و همکاران پس از ۲۴ ساعت از زمان آلوده کردن وانکوباسیون از کانال‌های ریشه نمونه‌گیری انجام دادند. شایان ذکر است که کلرهگزیدین خاصیت ضد میکروبی طولانی مدت دارد که علت آن توانایی منحصر به فرد آن در اتصال به هیدروکسی آپاتیت عاج به مدت ۷۲ ساعت است. آزاد شدن تدریجی کلرهگزیدین گلوکونات باند شده می‌تواند سطح یکنواختی از این مولکول را حفظ کند و اثر ضد قارچی آن باقی بماند. (۵)، بنابراین به نظر می‌رسد حتی پس از شست و شوی کامل با سرم استریل، اثر ضد قارچی کلرهگزیدین گلوکونات باند شده در مطالعه Ruff و همکاران در زمان نمونه‌گیری به مدت ۲۴ ساعت باقیمانده باشد. به همین دلیل در مطالعه حاضر که نمونه‌گیری بلافاصله پس از شستشو انجام شده است، اثر ضد قارچی کامل با کلرهگزیدین مشاهده نشد.
در مطالعه Vianna و همکاران (۷) کاربرد هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و کلرهگزیدین ۰/۲٪ به مدت ۱۵ ثانیه به طور کامل سلول‌های قارچ را از بین برد. روش کار در مطالعه آنها آزمایش رقت (Broth dilution) بود که می‌تواند توجیه کننده تفاوت با مطالعه حاضر باشد. در مطالعه Sen و همکاران نیز اثر ضدقارچی کامل هیپوکلریت سدیم ۱ و ۵٪ و کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ تنها پس از کاربرد محلول به مدت یک ساعت در فقدان لایه اسمیر در دندانهای خارج شده مشاهده گردید. (۴)
در روشهای تماس مستقیم و آزمایش رقت، محلولهای ضد عفونی کننده در تماس مستقیم با سلول‌های قارچی قرار می‌گیرند. اما در مطالعه حاضر کاندیدا آلبیکانس بر روی دیواره‌های کانال ریشه رشد داده شد تا یک بیوفیلم مشابه شرایط داخل دهان تشکیل گردد. میکروارگانیسم‌های موجود در بیوفیلم نسبت به مکانیسم‌های دفاعی میزبان و داروهای ضد میکروبی مقاوم هستند. (۴)، حین شست و شوی کانال ریشه، اولین لایه میکروارگانیسم‌ها در تماس مستقیم با غلظت نسبتاً بالای محلول شست و شو دهنده قرار خواهد گرفت. اما ماتریکس خارج سلولی بیوفیلم، مانع نفوذ محلول با قدرت کامل به داخل لایه‌های عمیقتر خواهد شد. به همین دلیل، تخمین اثر ضدمیکروبی محلولهای شست و شو دهنده با روشهایی از قبیل تماس مستقیم بیش از حدّ واقع برآورد می‌شوند. همچنین خاصیت بافر کنندگی عاج می‌تواند باعث کاهش اثر ضد میکروبی محلولهای ضدعفونی کننده در کانال ریشه گردد. (۴)، درمطالعه حاضر نیز اثر ضد قارچ محلولهای به کار رفته نسبت به مطالعاتی که از روش تماس مستقیم

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده کرده بودند کمتر بود که با یافته‌های مطالعه Sen و همکاران همخوانی دارد.

با افزایش مقاومت میکروبی نسبت به مواد ضد میکروبی مرسوم توجه جامعه علمی به سمت کاربرد داروهای جدید طبیعی یا صنعتی معطوف شده است.

اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان در مقابل میکروب‌های پوسیدگی‌زا، انتروکوکوس فکالیس و قارچها نشان داده شده است. (۹، ۱۳)، مطالعات نشان داده‌اند که روغنهای مشتق از گیاهان می‌توانند جایگزین مناسبی برای غلبه بر مقاومت میکروبی محسوب شوند. (۱۱، ۱۳)

در مطالعه حاضر اثر ضد قارچی کارواکرول معادل هیپوکلریت سدیم و بیشتر از کلرهگزیدین گلوکونات بود. در مطالعه Botelho و همکاران نیز اثر میکروبی قوی با کاربرد کارواکرول مشاهده شد و حساسترین میکروارگانیسم به کارواکرول کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوکوس موتانس بود. (۱۴)، طبق مطالعه Chami و همکاران نیز کارواکرول اثر ضد قارچی قابل توجهی بر روی کاندیدیاز دهانی دارد. (۱۵)، در مطالعه Samadi و همکاران نیز اثر ضد باکتری عصاره مرزه خوزستانی که حاوی کارواکرول ۹۴٪ است مشابه هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و کلرهگزیدین ۰/۲٪ بود. (۱۱)

در مطالعه حاضر کارواکرول با غلظت ۹۴٪ مورد استفاده قرار گرفت که توسط کارخانه سازنده در بازار عرضه شده است. در مورد غلظت مناسب کارواکرول جهت از بین بردن کاندیدا آلبیکانس مطالعات زیادی انجام نشده است. اگر چه کارواکرول با غلظت ۹۴٪ اثر ضد قارچی کامل را نشان نداد به نظر می‌رسد انجام مطالعات مشابه با غلظت کمتر کارواکرول ضروری باشد تا بتوان حداکثر اثر ضد قارچی را با حداقل غلظت محلول به دست آورد.

نتیجه‌گیری

هیچ یک از محلولهای مورد استفاده در این مطالعه (کلرهگزیدین گلوکونات۲٪، کارواکرول ۹۴٪، هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪) قادر به حذف کامل قارچ کاندیدا آلبیکانس نبودند. اثر ضدقارچ هیپوکلریت سدیم و کارواکرول بالاتر از کلرهگزیدین گلوکونات بود.

REFERENCES

1. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. J Endod. 2003 Jul;29(7):450-2.
2. Basrani B. Irrigation in endodontic treatment. Alpha Omeg. 2011 Jan;104(1-2):18-25.
3. Sen BH, Akdeniz BG, Denizci AA. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on Candida albicans. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endod. 2000 Nov;90(5):651-5.
4. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. J of Endod. 1999 Apr;25(4):235-8.
5. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endod. 2003 Nov; 96(5):578-81.
6. Jolly M, Singh N, Rathore M, Tandon S, Banerjee M. Propolis and commonly used intracanal irrigants: comparative evaluation of antimicrobial potential. J Clin Pediat Dent. 2013 Spring;37(3):243-9.
7. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endod. 2004 Jan;97(1):79-84.
8. Shahani MN, Subba Reddy VV. Comparison of antimicrobial substantivity of root canal irrigants in instrumented root canals up to 72 h: An in vitro study. J Indian Soc of Pedod and Prevent Dent. 2011Apr;29(1):28-33.
9. Costa EM, Evangelista AP, Medeiros AC, Dametto FR, Carvalho RA. In vitro evaluation of the root canal cleaning ability of plant extracts and their antimicrobial action. Braz Oral Res. 2012 May-Jul;26(3):215-21.
10. Nostro A, Sudano Roccaro A, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti FC, et al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms. J Med Microb. 2007 Apr; 56(4):519-23.
11. Samadi N, Zaree R, Bakhtiar H, Salehnia A, Azimi S. Comparative antibacterial efficacy of endemic satureja khuzistanica jamzad essential oil, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate solutions as root canal irrigations. Dent Res J. 2011 Winter;8(1):28-32.
12. Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. J Endod. 2006 Apr; 32(4):331-3.
13. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral Microb and Immun. 2004 Feb;19(1):61-4.
14. Botelho MA, Nogueira NA, Bastos GM, Fonseca SG, Lemos TL, Matos FJ, et al. Antimicrobial activity of the essential oil from Lippia sidoides, carvacrol and thymol against oral pathogens. Braz J Med & Biol Res. 2007 Mar; 40(3):349-56.
15. Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. The Braz J Infect Dise. 2004 Jun;8(3):217-26.

www.SID.ir