

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره دهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۰، ۱۳-۳

مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره سیر با دو ماده شستشودهنده داخل کانال بر انتروکوکوس فکالیس

زینب کاظمی زاده^۱، مهناز تشکری^۲، محسن رضائیان^۳

دریافت مقاله: ۸۹/۱/۱۴ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۹/۳/۱۷ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۹/۵/۳۱ پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۶

چکیده

زمینه و هدف: در درمان ریشه دندان، از بین بردن میکروارگانیسم‌های موجود در کانال ریشه قبل از پر کردن آن، از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی از علل شکست درمان، از بین نرفتن و یا حذف ناکامل باکتری‌های مسئول عفونت‌های مقاوم اندودونتیک، از جمله باکتری انتروکوکوس فکالیس می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره سیر بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس با دو ماده شستشودهنده کانال ریشه بود.

مواد و روش‌ها: در این بررسی آزمایشگاهی، اثر ضد باکتری عصاره خالص سیر (۱۰۰٪)، عصاره ۸۰٪ سیر، کلرهگزیدین ۲٪، هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و ترکیب عصاره خالص سیر با کلرهگزیدین ۲٪ به روش Well Agar Diffusion مورد مقایسه قرار گرفت. بر روی ۱۸ پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار، انتروکوکوس فکالیس کشت داده شد. در هر پلیت ۶ چاهک و هر چاهک برای یک ماده آزمایشی و یکی از چاهک‌ها نیز برای آب مقطر استریل در نظر گرفته شد. پلیت‌های آماده شده در دو گروه هوازی (n=۹) و بی‌هوازی (n=۹) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک اندازه‌گیری و ثبت گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ اثر ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با دیگر مواد در هر دو گروه هوازی و بی‌هوازی دارد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/05$). بعد از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، مؤثرترین ماده به ترتیب: کلرهگزیدین ۲٪، عصاره خالص سیر، مخلوط کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر و عصاره سیر ۸۰٪ بود ($p < 0/05$). اختلاف بین اثر ضد میکروبی عصاره خالص سیر و ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر در گروه هوازی معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره سیر بر باکتری انتروکوکوس فکالیس در شرایط آزمایشگاهی در محیط هوازی و بی‌هوازی مؤثر می‌باشد، ولی در مقایسه با کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم اثربخشی کمتری دارد.

واژه‌های کلیدی: سیر، کلرهگزیدین، هیپوکلریت سدیم، انتروکوکوس فکالیس

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی اندودانتیکس، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

تلفن: ۰۳۴۱-۸۲۲۰۰۱۳، دورنگار: ۰۳۴۱-۸۲۲۰۰۰۸، پست الکترونیکی: z_kazemizadeh@rums.ac.ir

۲- استادیار گروه آموزشی علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۳- دانشیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

مقدمه

یکی از موضوعات مورد بحث در درمان ریشه دندان که از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد، از بین بردن میکروارگانیزم‌های موجود در کانال ریشه، قبل از پر کردن آن است. اثرات مضر باکتری‌ها و محصولات آنها در شروع و پیشرفت بیماری‌های پالپ و پری‌رادیکولار مشخص می‌باشد، بنابراین، کنترل عوامل میکروبی توسط روش‌های بیومکانیکال می‌تواند نقش مهمی در درمان موفق ریشه دندان ایفا نماید [۱].

شکست درمان کانال ریشه می‌تواند به علت از بین رفتن و یا حذف ناکامل باکتری‌های مسئول عفونت‌های مقاوم ریشه دندان باشد [۲] باکتری انتروکوکوس فکالیس شیوع زیادی در عفونت‌های مقاوم ریشه دندان دارد، به همین جهت، چالش‌هایی در درمان‌های اندودنتیک برای دستیابی به شیوه‌های مؤثر حذف این میکروارگانیزم وجود داشته است [۳].

اکثر باکتری‌هایی که در فلور میکروبی کانال ریشه یافت شده‌اند ممکن است به راحتی توسط اعمال مکانیکی وسایل اندودنتیک برداشته شوند. با این وجود، ماهیت پیچیده بسیاری از کانال‌های ریشه باعث می‌شود تا باکتری‌ها، بافت‌ها و باقیمانده‌های ارگانیک موجود در توبول‌های عاجی حتی بعد از آماده‌سازی مکانیکی دقیق کانال، به طور کامل پاک‌سازی نشوند، به همین دلیل تاکنون مواد مختلفی برای پاک‌سازی کانال، برداشتن دبری‌ها و بافت‌های نکروتیک پالپ و حذف میکروارگانیزم‌ها از کانال ریشه مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۴].

توصیه شده که مواد شیمیایی و شستشودهنده در درمان ریشه دندان دارای خواص ضد میکروبی، حل‌کنندگی بافت‌های ارگانیک و مؤثر در دبریدمان سیستم کانال باشند، در عین حال اثرات تخریبی برای بافت‌های پری‌اپیکال نداشته باشند [۵].

هیپوکلریت سدیم به علت توانایی در حل کردن بافت‌ها و اثرات ضد میکروبی آن، بیش از ۷۰ سال با غلظت‌های مختلف در درمان ریشه دندان استفاده شده است [۶]. خاصیت ضد میکروبی این ماده ناشی از تشکیل اسید هیپوکلریت در تماس با دبری‌های ارگانیک است. اسید هیپوکلریت اثرش را توسط اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل موجود در سیستم‌های آنزیمی باکتری‌ها اعمال می‌کند که منجر به جلوگیری از متابولیسم میکروارگانیزم می‌شود [۷]. اگر چه این ماده خاصیت ضد میکروبی و خصوصیات عالی در حل‌کنندگی بافت‌های زنده و نکروتیک را دارد اما خصوصاً در غلظت‌های بالا به شدت بافت‌های پری‌اپیکال را تحریک می‌کند. به علت آثار مضر آن، محققین به دنبال مواد شستشودهنده جایگزین هیپوکلریت سدیم می‌باشند [۸].

بعضی از محققین به فواید کلرگزیدین گلوکونات به عنوان یک محلول ضد میکروبی در درمان ریشه دندان اشاره کرده‌اند. چون کلرگزیدین گلوکونات یک ماده ضد میکروبی وسیع‌الطیف است که می‌تواند به عنوان یک ماده شستشودهنده استفاده شود. اثر ضد عفونی‌کنندگی آن در توبول‌های عاجی و جذب شدن آن به داخل عاج و سمیت کمترش نسبت به هیپوکلریت سدیم، باعث مقبولیت این ماده شده است [۹-۱۰]. این ماده با اتصال به غشاء سیتوپلاسمی باکتری‌ها، باعث از بین رفتن بالانس اسموتیک شده و منجر به ریزش مواد داخلی سلولی

با در نظر گرفتن خاصیت ضد میکروبی سیر و مشکلات استفاده از سایر مواد شیمیایی شستشو دهنده کانال ریشه، طراحی مطالعات آزمایشگاهی و بالینی برای استفاده از عصاره سیر به عنوان یک جایگزین مناسب سودمند می باشد و هدف از تحقیق حاضر، مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی عصاره سیر، هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین و ترکیب کلرهگزیدین با عصاره سیر خالص بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس بود.

مواد و روش ها

این پژوهش آزمایشگاهی، در بهار سال ۱۳۸۸ در آزمایشگاه بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) شهر رفسنجان انجام شد. در این بررسی، حجم نمونه بر اساس مطالعه Davis و همکاران [۲۱] انتخاب گردید. بر این اساس ۱۸ پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Darmstadt, Germany) آماده و برای بررسی اثر ضد میکروبی محلول های مورد آزمایش روش Well Agar diffusion به کار برده شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، از سویه استاندارد انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212 (Manassas, VA, United States) استفاده گردید؛ چند کلونی از کشت خالص باکتری برداشته و در محیط مایع Tryptic (Merck, Darmstadt, Germany) soy broth تلقیح و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس غلظتی معادل ۰/۵ واحد مک فارلند از سویه حاصل تهیه و برای تلقیح بر روی پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. جهت ایجاد چاهک، لوله شیشه ای استریل به قطر ۵ میلی متر به کار گرفته شد، که در هر پلیت ۶ چاهک به فواصل مناسب از یکدیگر پانچ گردید. در هر یک از پلیت ها، آب مقطر استریل به عنوان گروه کنترل در یکی از چاهک ها ریخته

می گردد [۱۱]. همچنین به هیدروکسی آپاتیت و بافت نرم متصل شده و میدان الکتریکی آنها را برای جلوگیری از اتصال باکتری ها تغییر می دهد [۱۲]. یکی از مشکلات کلرهگزیدین گلوکونات، وابسته بودن فعالیت آن به pH و کاهش قابل توجه این فعالیت در حضور مواد ارگانیک است [۱۳]. این ماده برخلاف هیپوکلریت سدیم، فاقد خاصیت حل کنندگی بافتی است [۱۴].

سیر (*Allium Sativum*) از زمان های قدیم به عنوان دارو استفاده شده و خاصیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد قارچی آن شناخته شده است [۱۵]. عصاره سیر خام علیه بسیاری از باکتری های پاتوژن معمول، گونه هایی که در برابر آنتی بیوتیک مقاوم گشته اند و حتی توکسین ایجاد شده توسط بعضی از گونه های پاتوژن مؤثر بوده است [۱۶]. تحقیقات نشان داده که عصاره سیر و ماده مؤثر آن، آلیسین، طیف ضد میکروبی وسیعی داشته و بر روی سالمونلا، استرپتوکوک، استافیلوکوک، کلبسیلا، پروتلا، کلاستریدیوم، مایکوباکتریوم، هلیکوباکتر مؤثر می باشد [۱۷-۱۸].

Douglas و Bakri اثر عصاره سیر را بر روی باکتری های مختلف دهان مورد بررسی قرار دادند. آنها با توجه به اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر روی این باکتری ها، بیان کردند که امکان استفاده از آلیسین برای درمان پریودنتیت و عفونت های دهان وجود دارد [۱۹].

بررسی های مختلفی وجود دارد که اثرات شستشودهنده های موجود را تحت شرایط گوناگون بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس مورد مقایسه قرار داده اند [۲۰-۲۳]، ولی تاکنون بررسی برای مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره سیر با دیگر شستشودهنده های کانال انجام نشده است.

شماره گذاری شده و ۵۰ میکرولیتر از آنها با استفاده از سمپلر استریل به صورت کور (Blind) در چاهک های مخصوص خود که از قبل شماره گذاری شده بودند در هر پلیت ریخته شد. هر محلول در کل در ۱۸ چاهک ریخته شد و در مجموع به همراه گروه کنترل (آب مقطر استریل) ۱۰۸ چاهک در ۱۸ پلیت ایجاد شد. تمام مراحل کشت باکتری و ریختن محلول ها در چاهک در زیر هود و در کنار شعله و در شرایط آسپتیک انجام شد. سپس پلیت ها به طور تصادفی به ۲ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ (۹ پلیت) به صورت هوازی و گروه ۲ (۹ پلیت) به صورت بی هوازی (در جار بی هوازی همراه با Anaerocult A) در ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. برای ایجاد شرایط بی هوازی (Gas Pak (Merck, Darmstadt, Germany) همراه کاتالیست استفاده گردید تا اکسیژن را مصرف نماید و دی اکسید کربن در محیط ایجاد کند. بعد از پایان زمان انکوباسیون، قطره هاله عدم رشد در اطراف چاهک ها با خط کش میلی متری اندازه گیری و ثبت شد.

داده های به دست آمده به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه اثربخشی مواد مورد مطالعه از آزمون ANOVA یک طرفه و جهت مقایسه دو به دویی گروه های موجود، از آزمون تعقیبی Tukey post-hoc استفاده شد. سطح معنی داری در بررسی آماری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به میانگین و انحراف معیار هاله عدم رشد میکروبی برای هر یک از ۶ محلول مورد آزمایش در شرایط هوازی و بی هوازی در جدول ۱ بیان شده است.

شد. برای حصول اطمینان از عدم آلودگی احتمالی در هر یک از شرایط هوازی و بی هوازی یک پلیت حاوی محیط کشت قرار داده شد.

در دو مطالعه راهنما، به طور جداگانه از غلظت های مختلف عصاره ۲ گونه گیاهی، سیر جنوب (جیرفت) و شمال (بابل) برای به دست آوردن غلظت مؤثر استفاده شد. در مطالعه اول، در غلظت های ۲۰٪ و ۵۰٪ سیر مربوط به شمال کشور هاله عدم رشدی مشاهده نشد. در مورد سیر جنوب از غلظت های ۷۰٪ و ۵۰٪ استفاده شد که در غلظت ۵۰٪ هاله ضعیفی و در غلظت ۷۰٪ هاله عدم رشدی به میانگین ۹/۸ میلی متر مشاهده گردید. با توجه به غلظت های بررسی شده در مطالعات راهنما و عدم مشاهده فعالیت ضدباکتری مؤثر در این غلظت ها، از غلظت های بالاتر یعنی ۸۰٪ و عصاره خالص سیر جیرفت استفاده شد.

برای تهیه عصاره سیر از روش Atkins و Moore استفاده شد [۲۴]. ابتدا ۵۰۰ گرم سیر تازه جیرفت داخل مخلوط کن و با سرعت بالا به مدت ۲ دقیقه مخلوط گردید و بعد از عبور از ۸ لایه گاز فشرده، مایع حاصل از آن سانتریفوژ شد و محلول رویی برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. برای استریل کردن، عصاره حاصل از صافی ۰/۴۵ میکرومتر (Jetbiofil, Canada) عبور داده شد و سپس برای بدست آوردن غلظت ۸۰٪، عصاره خالص سیر با نسبت مناسبی از آب مقطر استریل رقیق شد.

محلول های مورد آزمایش شامل: (۱) آب مقطر استریل، (۲) عصاره خالص سیر، (۳) مخلوط کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر، (۴) عصاره ۸۰٪ سیر، (۵) کلرهگزیدین ۲٪ (FGM, Joinville, Brazil) و (۶) محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ (دنیای آرایش، تهران، ایران) بودند که

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد میکروبی گروه‌های آزمایشی در شرایط هوازی و بی‌هوازی

محلول	گروه	هوازی*	بی‌هوازی**
		انحراف معیار \pm میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	انحراف معیار \pm میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
کنترل (آب مقطر)	.	.	.
عصاره خالص سیر	۱۷/۵۶ \pm ۱/۴۲	۱۸/۲۲ \pm ۰/۶۷	
ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر	۱۶/۲۲ \pm ۱/۰۹	۱۶/۴۴ \pm ۱/۰۱	
عصاره سیر ۸۰٪	۱۱/۱۱ \pm ۱/۰۵	۱۲/۸۹ \pm ۱/۲۷	
کلرهگزیدین ۲٪	۲۱/۲۲ \pm ۰/۶۷	۲۱/۶۷ \pm ۱/۱۲	
هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪	۲۴/۸۹ \pm ۰/۷۸	۲۴/۳۳ \pm ۰/۸۷	

ANOVA: * [F=(۴/۴۰) ۲۲۶/۴۱۲ p=۰/۰۰۰۱]

ANOVA: *** [F=(۴/۴۰) ۱۷۶/۲۰۸ p=۰/۰۰۰۱]

کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر بود که این اختلاف فقط در شرایط بی‌هوازی معنی‌دار بود (ANOVA, $p < 0.05$).

میانگین هاله عدم رشد میکروبی عصاره خالص سیر در هر یک از شرایط هوازی و بی‌هوازی به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره سیر ۸۰٪ بود (ANOVA, $p < 0.05$).

میانگین هاله عدم رشد میکروبی برای ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر در هر دو شرایط هوازی بی‌هوازی به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره سیر ۸۰٪ بود (ANOVA, $p < 0.05$).

بحث

در این مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره سیر با دو ماده شست‌شودنده داخل کانال به روش Well Agar Diffusion بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس مورد مقایسه قرار گرفت. شیوع بالای انتروکوکوس فکالیس در عفونت‌های مقاوم کانال ریشه، مهم‌ترین دلیل انتخاب این میکروارگانیسم برای مقایسه اثر ضد میکروبی گروه‌های

هاله عدم رشد میکروبی در اطراف آب مقطر استریل (کنترل) در هیچ یک از پلیت‌ها دیده نشد و هر ۵ گروه محلول مورد استفاده به طور معنی‌داری مؤثرتر از آب مقطر استریل بودند (ANOVA, $p < 0.05$). همچنین در پلیت‌هایی که جهت بررسی آلودگی احتمالی در محیط‌های هوازی و بی‌هوازی قرار گرفته بودند، هیچ‌گونه آلودگی میکروبی مشاهده نشد.

هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بالاترین میانگین هاله عدم رشد میکروبی را در مقایسه با سایر محلول‌ها در هر یک از شرایط هوازی و بی‌هوازی نشان داد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (ANOVA, $p < 0.05$). میانگین هاله عدم رشد میکروبی برای کلرهگزیدین ۲٪ در هر دو شرایط هوازی و بی‌هوازی به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره خالص سیر، عصاره سیر ۸۰٪ و ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر بود (ANOVA, $p < 0.05$).

در هر دو شرایط هوازی و بی‌هوازی میانگین هاله عدم رشد میکروبی برای عصاره خالص سیر بیشتر از ترکیب

تحت آزمایش بود [۳].

برای به دست آوردن غلظت‌های مؤثر، از دو مطالعه راهنمای جداگانه که بر روی دو گونه از سیر انجام شد، استفاده گردید. علت احتمالی مشاهده نشدن هاله عدم رشد میکروبی در مطالعه راهنمای اول می‌تواند مربوط به غلظت پایین ماده مؤثر ضد میکروبی آلیسین در عصاره سیر باشد. در این مطالعات راهنما مشخص گردید که غلظت‌های بالاتر عصاره سیر در محیط کشت مولر هینتون آگار اثر بیشتری بر روی باکتری موجود دارد. همچنین گونه‌های مختلف سیر اثرات متفاوتی دارند که احتمال دارد این تفاوت مربوط به کمیت ماده مؤثر در انواع سیر باشد. Mehrabian و همکاران در مطالعه‌ای روی اثر ضد میکروبی عصاره سیر بر میکروفلورای دهان نشان دادند که سیر جنوب نسبت به سیر شمال و سیر همدان در غلظت و شرایط یکسان، اثر ضد میکروبی قوی‌تری دارد و این اختلاف را به متفاوت بودن شرایط اقلیمی محیط کشت این سه گونه سیر نسبت دادند و خاطر نشان ساختند که حداقل غلظت مهار رشد به نوع سیر و نوع میکروب بستگی دارد [۲۵].

علت انتخاب عصاره سیر در این مطالعه، وجود تحقیقات متعددی بود که اثر این ماده را بر ضدباکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها نشان داده بودند [۲۶-۲۸، ۱۶-۱۷]. در مطالعه دیگری Elnima و همکاران نشان دادند که عصاره سیر ۲۵٪، اثر ضد میکروبی خوبی بر روی میکروب‌های دهانی انسان دارد [۲۹]. Groppo و همکاران کاهش قابل توجه استرپتوکوک‌های بزاق را در اثر استفاده از عصاره سیر ۲/۵٪ به عنوان دهانشویه به مدت ۵ هفته نشان دادند [۳۰]، همچنین Adetumbi و همکاران در تحقیقی خاطر نشان ساختند که عصاره سیر، بر روی قارچ کاندیدا

آلیکینس که معمولاً روی سطوح دهانی یافت می‌شود، اثر ضدقارچی قوی دارد [۲۶].

نتایج این بررسی آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین و عصاره سیر را بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس تأیید کرد. با این وجود، عصاره خالص سیر، عصاره سیر ۸۰٪ و مخلوط کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر، اثر ضد میکروبی کمتری نسبت به هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و کلرهگزیدین ۲٪ بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس داشتند. پژوهش حاضر از یافته‌های Bakri و همکاران [۱۹] که نشان دادند عصاره سیر بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس اثر دارد حمایت می‌نماید.

Oliveira و همکاران در مطالعه خود بیان نمودند که کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم به ترتیب در غلظت‌های ۲٪ و ۵/۲۵٪ به طور چشمگیری باعث از بین رفتن باکتری انتروکوکوس فکالیس می‌شوند [۳۱]. بر این اساس غلظت‌های مورد نیاز برای مقایسه با اثر ضد میکروبی سیر انتخاب شدند و در عین حال اثربخشی غلظت‌های مذکور توسط این پژوهش نیز تأیید شد.

Oncag و همکاران در یک مطالعه برون تنی روی دندان‌های کشیده شده، نشان دادند که اثر ضد میکروبی کلرهگزیدین ۲٪ بر روی انتروکوکوس فکالیس (ATCC 29212) مؤثرتر از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ است [۲۰]. در مطالعه Davis و همکارانش تفاوت معنی‌داری بین اثر ضد میکروبی کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس (4082) در محیط کشت آزمایشگاهی مشاهده نشد [۲۱]. برخلاف دو مطالعه فوق، در بررسی حاضر، اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بر روی باکتری انتروکوکوس

می‌باشد [۳۵] این احتمال وجود دارد که یکی از دلایل افت اثر ضد میکروبی این ترکیب، مربوط به کاهش توانایی انتشار آن در محیط کشت مولر هینتون باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره خالص سیر به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره ۸۰٪ می‌باشد، که این اختلاف به علت تراکم بیشتر ماده ضد میکروبی در غلظت‌های بالاتر عصاره است.

با توجه به این که خاصیت ضد باکتریایی سیر مربوط به تیو سولفینات‌ها از جمله آلیسین می‌باشد [۳۶] لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات دیگر با فراهم نمودن شرایط لازم برای بررسی اثر ضد میکروبی سیر، از ماده خالص مؤثر آن استفاده شود. همچنین همانند اکثر مطالعات *in vitro* نتایج به دست آمده باید با انجام بررسی‌های کلینیکی تأیید گردد.

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن نتایج حاصل، عصاره سیر بر باکتری انتروکوکوس فکالیس در شرایط آزمایشگاهی در محیط هوازی و بی‌هوازی مؤثر می‌باشد، ولی در مقایسه با کلرگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪، اثربخشی کمتری دارد. برای مقایسه دقیق‌تر اثر ضد میکروبی عصاره سیر با دیگر موادشستشودهنده داخل کانال، نیاز به استفاده از ماده مؤثر سیر به صورت خالص می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به علت تأمین هزینه‌های این پژوهش و همچنین از آقای غلامرضا کرمی جهت همراهی در امور آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

فکالیس به طور معنی‌داری بیشتر از کلرگزیدین ۲٪ بود. ممکن است تفاوت موجود مربوط به روش بررسی اثر ضد میکروبی و نوع سوش انتخاب شده باشد. مطالعه Oncag بر خلاف روش مطالعه حاضر، روی دندان‌های کشیده شده طراحی شده بود و در مطالعه Davis نوع سوش بررسی شده با سوش موجود در پژوهش حاضر تفاوت داشته است.

در پژوهشی دیگر که توسط Ayhan و همکاران انجام شد، اثرات شستشودهنده‌های مختلف اندودونتییک بررسی گردید و نتیجه بدست آمده از بررسی آنها نشان داد که اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ به طور چشمگیری مؤثرتر از کلرگزیدین ۲٪ است [۳۲]. نتیجه حاصل از تحقیق آنها با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

Gomes و همکاران نشان دادند که اثر کلرگزیدین هنگامی که با کلسیم هیدروکسید مخلوط می‌شود به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد [۳۳]. زیرا کلرگزیدین در محدوده pH ۵-۷ پایدار می‌ماند و با افزایش pH مقادیر بیشتری از مولکول‌های غیر یونیزه کلرگزیدین وجود دارد. همچنین کلرگزیدین در pH بالا رسوب می‌کند و ممکن است به صورت یک ماده ضد میکروبی عمل نکند [۳۳-۳۴]. در مطالعه حاضر نیز مخلوط کلرگزیدین ۲٪ و عصاره خالص سیر، اثر سینرژیستی نداشته و اثر ضد میکروبی هر یک از این مواد کاهش یافت که این موضوع را می‌توان با تغییرات احتمالی pH ناشی از مخلوط مورد نظر مرتبط دانست. همچنین از آنجا که خصوصیات ضد میکروبی یک ماده در محیط کشت به طور مستقیم مربوط به توانایی انتشار آن در محیط مولر هینتون آگار

References

- [1] Harrison JW. Irrigation of the root canal system. *Dent Clin North Am* 1984; 28(4): 797-808.
- [2] Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1997; 30(5): 297-306.
- [3] Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006; 32(2): 93-8.
- [4] Johnson BR, Remeikis NA. Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution. *J Endod* 1993; 19(1): 40-3.
- [5] Cheung GS, Stock CJ. In vitro cleaning ability of root canal irrigants with and without endosonics. *Int Endod J* 1993; 26(6): 334-43.
- [6] Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 31(1): 96-103.
- [7] Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *Int Endod J* 1997; 30(4): 279-82.
- [8] Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001; 27(7): 452-5.
- [9] Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. *J Endod* 2000; 26(6): 315-7.
- [10] Parsons GJ, Patterson SS, Miller CH, Katz S, Kafrawy AH, Newton CW. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 49(5): 455-9.
- [11] Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. *Int Endod J* 1998; 31(1): 8-14.
- [12] Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifacio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. *J Endod* 1999; 25(3): 167-71.
- [13] Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect* 1993; 25(4): 229-38.
- [14] Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod* 2004; 30(11): 785-7.
- [15] Block E. The chemistry of garlic and onions. *Sci Am* 1985; 252(3): 114-9.
- [16] Durairaj S, Srinivasan S, Lakshmanaperumalsamy P. In vitro Anti-bacterial Activity and Stability of

- Garlic Extract at Different pH and Temperature. *E J Bio* 2009; 5(1): 5-10.
- [17] Uchida Y, Takahashi T, Sato N. The characteristics of the antibacterial activity of garlic (authors's trns 1). *Jpn J Antibiot* 1975; 28(4): 638-42.
- [18] Cellini L, Di Campli E, Masulli M, Di Bartolomeo S, Allocati N. Inhibition of Helicobacter pylori by garlic extract (Allium sativum). *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996; 13(4): 273-7.
- [19] Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral Biol* 2005; 50(7): 645-51.
- [20] Oncag O, Hosgor M, Hilmioğlu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* 2003; 36(6): 423-32.
- [21] Davis JM, Maki J, Bahcall JK. An in vitro comparison of the antimicrobial effects of various endodontic medicaments on Enterococcus faecalis. *J Endod* 2007; 33(5): 567-9.
- [22] Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod* 2007; 33(11): 1283-9.
- [23] Siqueira JF Jr, Rocas IN, Paiva SS, Guimaraes-Pinto T, Magalhaes KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104(1): 122-30.
- [24] Moore GS, Atkins RD. The fungicidal and fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medically important yeast-like fungi. *Mycologia* 1977; 69(2): 341-8.
- [25] Mehrabian S, Molabashi Z, Majd A. Antimicrobial effect of garlic extract on normal microflora of mouth. *J Hygiene Council* 1996; 3(4): 39-44.[Farsi]
- [26] Adetumbi M, Javor GT, Lau BH. Allium sativum (garlic) inhibits lipid synthesis by Candida albicans. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30(3): 499-501.
- [27] Tsai Y, Cole LL, Davis LE, Lockwood SJ, Simmons V, Wild GC. Antiviral properties of garlic: in vitro effects on influenza B, herpes simplex and coxsackie viruses. *Planta Med* 1985; 51(5): 460-1.
- [28] Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD, Hughes BG. In vitro virucidal effects of Allium sativum (garlic) extract and compounds. *Planta Med* 1992; 58(5): 417-23.
- [29] Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG, Mossa JS. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie* 1983; 38(11): 747-8.
- [30] Groppo FC, Ramacciato JC, Motta RH, Ferraresi PM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. *Int J Dent Hyg* 2007; 5(2): 109-15.
- [31] Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against Enterococcus faecalis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103(5): 702-6.

- [32] Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J* 1999; 32(2): 99-102.
- [33] Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(4): 544-50.
- [34] Jones DS, Loftus AM, Gorman SP. Physical factors affecting the sporicidal activity of chlorhexidine gluconate. *Int J Pharm* 1995; 119(2): 247-50.
- [35] Updegraff DM, Chang RW, Joos RW. Antibacterial activity of dental restorative materials. *J Dent Res* 1971; 50(2): 382-7.
- [36] Hughes BG, Lawson DL. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. (garlic), *Allium ampeloprasum* L. (elephant garlic), and *Allium cepa* L. (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytother Res* 1991; 5(4): 154-8.

Comparison of the Antimicrobial Effect of Garlic Extract with two Intracanal Irrigants on Enterococcus Faecalis

Z. Kazemizadeh¹, M. Tashakori², M. Rezaeian³

Received: 03/04/10

Sent for Revision: 07/06/10

Received Revised Manuscript: 22/08/10

Accepted: 28/08/10

Background and Objectives: It is very important to remove the microorganisms in the root canal before obturation. One of the causes of endodontic treatment failures is the existence of the bacteria responsible for resistant infections, including Enterococcus Faecalis. The aim of this study was to compare the antibacterial effect of the garlic extract with two intracanal irrigants on Enterococcus Faecalis.

Materials and Methods: In this in-vitro study, the method of Well Agar Diffusion was used to compare the anti-bacterial effect of pure garlic extract (100%), garlic extract 80%, chlorhexidine 2%, sodium hypochlorite 5.25% and combined chlorhexidine 2% with pure garlic extract. Eighteen plates of Muller-Hinton agar were inoculated with E.faecalis. Each plate had 6 wells for test solutions and one of them was for sterile distilled water as the control. The prepared plates were distributed into aerobic (n=9) and anaerobic (n=9) groups, then incubated at 37°C for 24 hours. After that, the diameter of the zones of microbial inhibition around every well was measured and recorded.

Results: Our results demonstrated that Sodium hypochlorite 5.25% was more effective compared with the other antimicrobial materials in both aerobic and anaerobic groups. This difference was statistically significant (ANOVA, $p < 0.05$). The most effective antimicrobial agents in aerobic and anaerobic conditions were in this order sodium hypochlorite (5.25%), chlorhexidine 2%, pure garlic extract, combined chlorhexidine 2% with pure garlic extract and garlic extract 80% respectively ($p < 0.05$). However, the difference between pure garlic extract and combined chlorhexidine 2% with pure garlic extract in aerobic condition was not significant.

Conclusion: The results showed that garlic extract is effective on Enterococcus Faecalis in both aerobic and anaerobic conditions; nevertheless it has less efficacy than chlorhexidine and sodium hypochlorite.

Key words: Garlic, Chlorhexidine, Sodium hypochlorite, Enterococcus faecalis

Funding: This research was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Kazemizadeh Z, Tashakori M, Rezaeian M. Comparison of the Antimicrobial Effect of Garlic Extract with two Intracanal Irrigants on Enterococcus Faecalis. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2011; 10(1): 3-13. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Endodontics, Faculty of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
Corresponding Author, Tel: (0391) 8220013, Fax: (0391) 8220008, E-mail: z_kazemizadeh@rums.ac.ir

2- Assistant Prof., Dept. of Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

3- Associate Prof., Dept. of Social Medicine, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran