بررسی اثر مهاری عاج بر روی اثر ضدمیکروبی کارواکرول و هیپوکلریت سدیم علیه انتروکوکوس فکالیس در شرایط آزمایشگاهی

مامک عادل*، فاطمه عابدی#، نوید محمدی***، مرضیه علیقلی******

* دانشیار گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

** دستیار تخصصی گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران

*** دانشیار پزشکی اجتماعی، مرکز تحقیقات پزشکی پیشگیری، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

**** عضو هیئت علمی گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۲/۵/۱۴ – تاریخ پذیرش : ۹۳/۲/۲۰

Evaluation of Inhibitory Effect of Dentin on Antimicrobial Effect of Carvacrol and Sodium Hypochlorite on Euterococcus Faecalis: An *In Vitro* Study

Mamak Adel*, Fatemeh Abedi#, Navid Mohammadi***, Marziyeh Aligholi******

** DDS,* MSc, *Associate Professor, Dept of Endodontics, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.*

*** DDS, Postgraduate Student, Dept of Endodontics, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.*

**** PhD, MD, Associate Professor of Community Medicine, Preventive Medicine Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

***** MSc, Instructor of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

***Received: 5 August 2013 ; Accepted: 10 May* 2014**

Introduction: different effects of disinfectants *in vitro* and *in vivo* conditions have been attributed to the inhibitory effect of dentin. The purpose of this study was *in vitro* evaluation of inhibitory effect of dentin on the antimicrobial property of Carvacrol and sodium hypochlorite on euterococcus faecalis.

Materials & Methods: In this experimental study, an enterococcus faecalis suspension of 1.5×10^8 cells per militer was prepared. Fifty microliter of antimicrobial solution (sodium hypochlorite 2.5% and 1% and Carvacrol 0.6% and 0.3%) were incubated at 37°C with 28 mg dentin component (dentine powder, organic dentin component, mineral dentin component) in 50 microliter water for 1 h before adding 50 microliter of the bacterial suspension. Ten microliter samples for bacterial culturing were taken from the suspension 5min, 1 and 24 h after adding the bacteria. Serial 10-fold dilutions were made of the samples and 10 microliter of dilutions was cultured on BHI plates for 24 h at 37°C. After incubation period, colonies were counted by one person by visual observation method. Data were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Withney tests (α=0.05).

Results: Dentin components, antimicrobial solutions and time, all three affected the final results. The inhibitory effect of dentin components on antimicrobial property of Carvacrol was significantly greater than Sodium hypochlorite (P<0.001).

Conclusion: Antimicrobial effect of sodium hypochlorite is preserved at presence of dentin, but dentin inhibitory effect on Carvacrol antimicrobial property is observed after 1 h.

Key words: Dental dentin, inhibitory effect, carvacrol, sodium hypochlorite, antimicrobial effect.

 # Corresponding Author: fatemeabedi100@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2014; 38(3): 233-42 .

چکیده

مقدمه: اثر متفاوت ضدعفونی‌کننده‌ها در شرایط آزمایشگاهی و کلینیکی را به اثر مهاری عاج نسبت داده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی اثر مهاری عاج بر روی خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول و هیپوکلریت سدیم علیه انتروکوک فکالیس در شرایط آزمایشگاهی بود.

مولف مسؤول، نشانی: قزوین، دانشکده دندانپزشکی، گروه اندودانتیکس، تلفن: ۰۹۱۲۷۹۳۵۹۷۹

E-mail: **fatemeabedi100@yahoo.com**

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، سوسپانسیونی از انتروکوک فکالیس با $1/5\times10^{8}$ سلول در هر میلی‌لیتر آماده شد. ۵۰ میکرولیتر محلول ضدمیکروبی (هیپوکلریت سدیم با غلظت‌های ۲/۵٪ و ۱٪ و کارواکرول با غلظت‌های ۰/۶٪ و ۰/۳٪) با ۲۸ میلی گرم جزء عاجی (پودر عاجی، جزء آلی عاج و جزء معدنی عاج) در ۵۰ میکرولیتر آب استریل ۱ ساعت قبل از افزودن ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی آماده و در $37^{o}c$ انکوبه شدند. ۵ دقیقه، یک ساعت و ۲۴ ساعت بعد از افزودن باکتری، نمونه‌های ۱۰ میکرولیتری از سوسپانسیون برای کشت باکتریایی برداشته شد. رقت‌های ده برابر پیاپی از نمونه‌ها تهیه شد و ۱۰ میکرولیتر از رقت‌ها برروی محیط BHI برای ۲۴ ساعت در $37^{o}c$ کشت شدند. بعد از دوره رشد، کلونی‌ها توسط یک نفر به روش مشاهده چشمی شمارش شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کروسکال والیس و من ویتنی تحت بررسی قرار گرفت (α=۰/۰۵).

یافته‌ها: اجزاء عاجی، داروی ضدمیکروبی و زمان، هر سه بر نتایج نهایی تاثیر داشتند. اثر مهاری عاج و اجزاء آن بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول، به طور معنی‌داری بیشتر از هیپوکلریت سدیم بود (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: اثر ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم در حضور عاج دندانی حفظ می‌شود. اما اثر مهاری عاج بر کارواکرول پس از ۱ ساعت دیده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عاج دندانی، اثر مهاری، کارواکرول، هیپوکلریت سدیم، اثر ضدمیکروبی.
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۳ دوره ۳۸ / شماره ۳ : ۴۲-۲۳۳ .

مقدمه

حذف میکروارگانیسم‌ها و پیشگیری از عفونت مجدد فضای کانال ریشه یکی از اهداف اصلی درمان اندودنتیک موفق است.[۱] بسیاری از مواد ضدعفونی‌کننده کانال ریشه در صورت مواجهه کوتاه مدت با میکروارگانیسم‌های اندودنتیک در شرایط آزمایشگاهی موثر نمی‌باشند. همچنین این مواد حتی با مواجهه طولانی مدت با همان گونه‌ها در شرایط کلینیک نیز، در ضدعفونی کردن کانال ریشه عفونی موثر نیستند.[۲] اجزاء مختلف عاج و مواد متعدد دیگر موجود در کانال ریشه عفونی یا درمان شده می‌توانند فعالیت ضدباکتریایی داروهای کانال ریشه را مهار کنند.[۵-۳] مطالعات گذشته اثر مهاری عاج بر فعالیت ضدعفونی کننده‌های مختلف اندودنتیک را نشان داده‌اند.[۶] فاکتورهایی نظیر محل میکروب‌ها در سیستم کانال ریشه، نفوذ ضعیف ماده، غلظت پایین، مواجهه کوتاه مدت، و حجم کلی کم شست‌وشودهنده می‌توانند اثر ضدعفونی کننده‌های کانال ریشه را در شرایط کلینیک تضعیف کنند.[۱]

هیپوکلریت سدیم فعالیت ضدمیکروبی قوی در مقابل برجسته‌ترین پاتوژن‌های اندودنتیک دارد اما فقط برای مدت کوتاهی در کانال ریشه فعال است.[۷] هیپوکلریت‌سدیم قادر به حذف کامل لایه اسمیر و ضدعفونی کامل سیستم کانال ریشه نیست. به علاوه اگر از فورامن اپیکال رد شود می‌تواند باعث تحریک شود. معایب دیگر آن شامل اثرات سمی بر روی بافت‌ها، خاصیت رنگ بری، بو و طعم نامناسب و کشش سطحی نامطلوب می‌باشد.[۸]

پتانسیل درمانی عصاره‌های گیاهی به عنوان شست‌وشودهنده‌ها و داروهای داخل کانال ریشه در سال‌های اخیر مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. ترکیبات این عصاره‌های گیاهی معمولاً برای میزبان ایمن و غیرسمی هستند و بعضی تحقیقات ثابت کرده‌اند که در آزمایشگاه مواد ضدمیکروبی قوی می‌باشند.[۹]

کارواکرول مشتق از گیاه مرزه خوزستانی در بخش‌های جنوبی ایران است که برای تسکین درد دندان برای صدها سال استفاده شده است.[۱۰] اثر ضدباکتریایی کارواکرول و اثر ضدباکتری آن در کانال ریشه بر علیه

Archive of SID

www.SID.ir

شش گونه باکتری استاندارد ATCC[1] از جمله E.faecalis ثابت شده است.[۱۱] فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی و اثر ضدالتهابی و ضددردی کارواکرول گزارش شده است.[۱۲]

هدف از این مطالعه بررسی اثر مهاری عاج بر روی اثر ضدمیکروبی کارواکرول و هیپوکلریت سدیم علیه انتروکوک فکالیس در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، به منظور تهیه پودر عاجی از ۱۰۰ دندان تک ریشه سالم و بدون پوسیدگی استفاده شد. تا زمان شروع آزمایش، دندان‌ها در نرمال سالین قرار داده شدند و هنگام انجام آزمایش، حداکثر ۳ ماه از کشیدن این دندان‌ها گذشته بود. در این مرحله آزمایش، تاج دندان‌ها از CEJ قطع شد. ۱/۳ کرونال کانال‌های ریشه توسط دریل‌های گیتس گلیدن شماره‌های ۲ و ۳ و ٤ (مانی – ژاپن) به وسیله آنگل با دور پایین به طور پاسیو گشاد شدند. آماده سازی کانال‌ها با استفاده از فایل دستی (مانی –ژاپن) و به روش Step back تا شماره ٤٠ انجام شد. در طول مراحل پاک‌سازی و در فواصل کاربرد وسایل، شست‌وشو با ۲ میلی‌لیتر نرمال سالین انجام شد. به منظور حذف سمنتوم از سطح ریشه، با استفاده از یک فرز فیشور ۰۰۸ (کلتن–سوئیس) به وسیله هندپیس با دور بالا شیار راهنما در ٤ جهت ریشه ایجاد شد و سپس تمام سمنتوم با استفاده از فرز پرداخت تنگستن کارباید (کلتن–سوئیس) از سطح ریشه حذف شد. نمونه‌های به دست آمده تا این مرحله، اتوکلاو شده و توسط آسیاب نیمه صنعتی (ERZOG–آلمان) در پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی به ذرات پودر عاجی به قطر (μm ۷۵–۲۰) خرد شدند. پودر حاصل جهت مراحل تحقیق در ظرف در بسته در محیط خشک نگهداری شد.

به منظور دمینرالیزه کردن پودر عاجی، از EDTA ۱۷ درصد (Merck–آلمان) استفاده شد. به این منظور ۱/۷ گرم پودر EDTA در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و PH محلول با اضافه کردن سود نرمال به ۷ رسانیده شد. سپس پودر عاجی تهیه شده، با محلول EDTA مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس نمونه‌ها ٤ مرتبه هر بار به مدت ۲ دقیقه، به میزان ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند (Micro center-SANYO–چین) و هر بار با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. پس از طی این مراحل، رسوب حاصل استخراج شد و پس از خشک شدن و استریل کردن به عنوان عاج دمینرالیزه در مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور حذف کامل جزء آلی و تهیه جزء معدنی، پودر عاجی تهیه شده با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس نمونه‌ها ٤ بار به میزان ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ (Micro center-SANYO– چین) شدند و هر بار با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. پس از طی مراحل فوق، رسوب حاصل استخراج شد و پس از خشک شدن و استریل کردن به عنوان جزء معدنی عاج در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

محلول‌های ضدعفونی‌کننده مورد استفاده در این مطالعه هیپوکلریت سدیم و کارواکرول بودند. غلظت‌های ۱ و ۲/۵ درصد هیپوکلریت سدیم (گلرنگ– ایران) مورد استفاده قرار گرفت که با رقیق کردن محلول غلیظ ۵ درصد با آب مقطر استریل تهیه شد. محلول کارواکرول ۰/٦ و ۰/۳ مورد استفاده با رقیق کردن از محلول

1. ATCC (Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa)

Archive of SID

www.SID.ir

کارواکرول ۹۰٪ (شرکت داروسازی خرمان – ایران) به وسیله دی متیل سولفوکساید (DMSO) (Merk– آلمان) رقیق شد.

میکروارگانیسم مورد مطالعه در این تحقیق انتروکوک فکالیس ATCC 292212 بود و محل تهیه سوش میکروبی، بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. جهت تهیه سوش میکروبی، باکتری فوق بر روی محیط کشت Brain Heart Infusion agar (BHI) (canada lab – اسپانیا) کشت شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°c از کلونی‌های خالص در محیط Brain Heart Infusion Agar برداشت و در محیط BHI Broth حل کرده تا کدورتی معادل استاندارد Mcfarland 0.5 ایجاد شود. این محلول حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml باکتری می‌باشد.

در این مطالعه دو نوع ماده ضدعفونی‌کننده هر کدام با دو غلظت (هیپوکلریت‌سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ و کارواکرول ۰/٦٪ و ۰/۳٪)، سه جزء عاجی (پودر عاجی، جزء دمینرالیزه عاج و جزء مینرالیزه عاج) و سه زمان (۵ دقیقه، ۱ ساعت و ۲٤ ساعت) پس از مخلوط کردن نمونه‌ها جهت ارزیابی خاصیت ممانعت‌کنندگی مورد مطالعه قرار گرفتند. تمام مراحل فوق جهت اطمینان از نتایج به دست آمده، ۳ بار و با فاصله ۲٤ ساعت تکرار شدند.

به منظور کنترل مراحل آزمایش از ۱۱ گروه کنترل استفاده شد: ۳ گروه کنترل جزء عاجی و باکتری، ٤ گروه کنترل غلظت‌های مختلف ضدعفونی‌کننده و باکتری، ۱ گروه کنترل باکتری، ۳ گروه کنترل ماده.

با توجه به موارد فوق مجموع نمونه شامل ۱۰۸ نمونه آزمایش [۱۰۸ = (تکرار) ۳ × (زمان) ۳ × (محلول ضدعفونی‌کننده) ٤ × (جزء عاجی) ۳] و ۹۹ نمونه کنترل [۹۹ = (تکرار) ۳ × (زمان) ۳ × ۱۱] و در کل ۲۰۷ نمونه بود.

در مرحله اجرای تحقیق، در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی دانشگاه تهران از ترازوی دیجیتال (Sartorious we 2110، آلمان) با ظرفیت ۲۰۰ گرم و دقت ۰/۰۰۱، به منظور اندازه‌گیری وزن اجزای عاجی استفاده شد. از هر کدام از اجزاء عاجی مورد بررسی (پودر عاجی، عاج دمینرالیزه شده، و جزء معدنی عاج) به میزان ۲۸ میلی گرم در ویال‌های شیشه‌ای درب دار وزن شده و پس از استریل نمودن با اتوکلاو، به میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به ویال‌های اضافه شد. پس از مخلوط کردن، از هر کدام از غلظت‌های محلول‌های ضدعفونی‌کننده آماده شده به میزان ۵۰ میکرولیتر داخل ویال‌ها ریخته شد. پس از مخلوط نمودن، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه شدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به مخلوط فوق اضافه شدکه غلظت نهایی باکتری به میزان ۵×۱۰^{۷} CFU/ml بود. سپس در زمان‌های ۵ دقیقه، یک ساعت و ۲٤ ساعت، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول ویال‌ها برداشته و توسط سرم فیزیولوژی استریل، رقت‌های $۱۰^{-۱}$، $۱۰^{-۲}$، $۱۰^{-۳}$ و $۱۰^{-٤}$ تهیه شد. سپس از محلول رقیق نشده و رقت‌های مختلف فوق، مقدار ۱۰ میکرولیتر (۰/۰۱ میلی‌لیتر) بر روی محیط BHI ریخته و با میله ال شکل استریل در روی پلیت پخش شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون تعداد کلونی‌های رشد کرده بر روی ظرف کشت (Plate) توسط یک نفر و به روش مشاهده چشمی شمارش شد. جهت حصول اطمینان از خالص بودن کلنی‌ها پس از شمارش، از رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش‌های بیوشیمیایی کاتالاز، هید رولیز اسکولین و رشد در حضور ٦/۵٪ کلرور سدیم بهره گرفته شد. پس از شمارش تعداد

Archive of SID

www.SID.ir

کلنی‌ها، CFU/ml در هر رقت محاسبه و میانگین گرفته شد و برای هر بار آزمایش ثبت شد. پس از سه بار تکرار آزمایش، معدل نتایج محاسبه و به عنوان نتیجه نهایی ثبت گردید.

داده‌ها به کمک آنالیز ANOVA و Post Hoc test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه و بررسی‌های آماری انجام شده نشان داد، اجزاء عاجی، داروی ضدمیکروبی و زمان، هر سه بر نتایج نهایی تاثیرگذار بودند. در زمان‌های ۵ دقیقه و ۱ ساعت پودر عاجی، جزء معدنی عاج و جزء آلی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۶٪ و ۰/۳٪ جهت حذف انتروکوکوس فکالیس اثر مهاری داشتند و این اثر بر کارواکرول ۰/۳٪ به طور معنی‌داری بیشتر از کارواکرول ۰/۶٪ بود ($P<۰/۰۰۱$) و فقط جزء آلی عاج بر هیپوکلریت سدیم ۱٪ اثر مهاری داشت، اما این اثر مهاری مشاهده شده معنی‌دار نبود ($P=۰/۰۸۳$). هیچ کدام از این اجزا بر هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ اثر مهاری نداشتند. در زمان ۲۴ ساعت هیچ اثر مهاری از سوی اجزاء بر خاصیت ضدمیکروبی محلول‌ها مشاهده نشد. این اثر مهاری بین هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ دارای اختلاف معنی‌دار نبود. ($P=۰/۶۲۳$) اثر مهاری بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول، به طور معنی‌داری بیشتر از هیپوکلریت سدیم بود. ($P<۰/۰۰۱$) در مواردی که تعداد باکتری کمی رشد کرده و انحراف معیار بسیار کوچک بود، میانگین رشد باکتری صفر گزارش شده است. (جداول ۱ و۲)

در زمان ۵ دقیقه اثر مهاری جزء آلی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۶٪ بیشتر از پودر عاجی و کمتر از جزء معدنی بود و اثر مهاری جزء معدنی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۳٪ بیشتر از پودر عاجی و کمتر از جزء آلی بود. اثر مهاری جزء آلی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم ۱٪ بیشتر از پودر عاجی و جزء معدنی بود. و اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری سه جزء عاجی بر خاصیت ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ وجود نداشت. (جدول ۱)

جدول ۱ : میانگین رشد باکتری در گروه‌های مختلف و در زمان‌های آزمایشی (بر اساس واحدCFU/ml)

محلول	پودر عاجی			جز معدنی عاج			جز آلی عاج		
	۵ دقیقه	۱ ساعت	۲۴ ساعت	۵ دقیقه	۱ ساعت	۲۴ ساعت	۵ دقیقه	۱ ساعت	۲۴ ساعت
کارواکرول ۰/۳٪	۲۲۷±۶۲	۲۱۸±۵۳	۰	۳۵۳±۱۰۵	۱۳۸±۹۰	۰	۲۰±۹۰	۱۸۰±۲۹	۰
کارواکرول۰/۶٪	۴۶±۳۰	۷/۸±۲/۷	۰	۱۸۳±۷۵	۹۷±۵۱	۰	۹۱±۲۰	۴۵±۳۲	۰
هیپوکلریت سدیم ۱٪	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۷۳±۲۰	۰/۰۰۱±۰/۰۰۰۱	۰
هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

* مقادیر در 10^5 ضرب می شوند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲ : میانگین رشد باکتری در گروه‌های کنترل و در زمان‌های مختلف (بر اساس واحدCFU/ml

زمان	محلول									
	کارواکرول۰/۰۶٪ و باکتری	کارواکرول۰/۰۳٪ و باکتری	هیپوکلریت سدیم۲/۵٪ و باکتری	هیپوکلریت سدیم۱٪ و باکتری	پودر عاجی و باکتری	جزء معدنی عاج و باکتری	جزء آلی عاج و باکتری	پودر عاجی	جزء معدنی عاج	جزء آلی عاج	باکتری
۵ دقیقه	۱/۵۸±۰/۵	۱۷۰±۶۰	۰	۰	۳۵۳±۱۱۴	۵۱۲±۲۶۰	۵۸۰±۷۹	۰	۰	۰	۳۹۰±۳۴
۱ ساعت	۰/۰۳۴±۰/۰۱۳	۷۲±۱۸	۰	۰	۲۸۰±۷۰	۴۷۰±۱۲۲	۵۹۵±۹۵	۰	۰	۰	۲۶۲±۳۳
۲۴ ساعت	۰	۰	۰	۰	۷۶۰±۲۴۵	۴۰۰±۹۸	۴۰۸±۱۰۸	۰	۰	۰	۴۱۲±۲۹

* مقادیر در 10^5 ضرب می شوند.

در زمان ۱ ساعت اثر مهاری جزء آلی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۶٪ بیشتر از پودر عاجی و کمتر از جزء معدنی بود؛ اما اثر مهاری جزء آلی عاج بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۳٪ بیشتر از جزء معدنی و کمتر از پودر عاجی بود. اما اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری سه جزء عاجی برخاصیت ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ وجود نداشت. (جدول ۱)

پس از ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری سه جزء عاجی بر خاصیت ضدمیکروبی داروهای مورد آزمایش وجود نداشت. (جدول ۱)

بحث

در بعضی از مطالعات گذشته در مورد نحوه نگهداری دندان‌های کشیده شده تا مرحله آزمایش اشاره‌ای نشده بود و در برخی مطالعات از این نظر تفاوتی وجود داشت. در مطالعه ما دندان‌های کشیده شده همانند بعضی از مطالعات درسرم فیزیولوژی قرار گرفتند.[۸و۹و۱۳] در مطالعه رزمی و همکارانش[۱۴] دندان‌های کشیده شده در محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ نگهداری شدند. و در مطالعه Haapasalo و همکاران[۳] دندان‌ها بعد از کشیده شدن داخل هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ قرار داده شدند. ممکن است این نحوه نگهداری و همچنین اتوکلاو نمودن نمونه‌ها باعث تغییر در خواص اجزاء عاج دندانی شود که نهایتاً نتایج را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

در برخی مطالعات به منظور آماده سازی نمونه عاجی قسمت تاج دندان از ناحیه CEJ قطع شده بود و سپس قطعه ریشه باقیمانده خرد و به عنوان پودر عاجی مورد استفاده قرارگرفته بود؛ بدون این که پالپ موجود درکانال ریشه و همچنین سمنتوم سطح خارجی ریشه حذف شده باشد.[۳-۵] در بعضی از مطالعات هم به طرق مختلفی آماده‌سازی مکانیکی یا مکانیکی شیمیایی صورت گرفته بود. درضمن این که آماده سازی شیمیایی عاج قبل از کاربرد داروی داخل کانال ممکن است روی خواص اجزاء عاج دندانی تاثیرگذار باشد.[۱۳و۱۵] در مطالعه حاضر کانال هم به روش مکانیکی آماده سازی شد و هم سمنتوم

Archive of SID

www.SID.ir

سطح ریشه حذف شد. به این ترتیب سعی شد که نمونه حاصل به منظور بررسی تاثیر عاج و اجزاء آن خلوص و دقت بالاتری داشته باشد.

مدل‌های کلینیکی و آزمایشگاهی متعددی طرح‌ریزی شده‌اند تا ارتباط بین نتایج تست‌ها و عملکرد بالینی تقویت شود. مدل پودر عاجی اجازه استانداردسازی شرایط آزمایشگاهی برای تحقیقات را فراهم می‌کند. زمان انکوباسیون طولانی جهت ایجاد عفونت عاجی لازم نیست زیرا عاج پودر شده است. محدودیت‌های مدل پودری شامل، فقدان نسبی ساختار میکروآناتومیکال دندانی و سختی استفاده یا تولید بیوفیلم میکروبی می‌باشد. به طور خلاصه مدل پودر عاجی، تلاشی جهت شبیه‌سازی محیط شیمیایی دندان می‌باشد.[۱۶] استفاده از پودر عاجی به جای بلوک‌های عاجی، این امکان را فراهم می‌سازد تا از لحاظ کمی در تمام مراحل آزمایش مقادیر مساوی از نمونه‌ها مورد بررسی قرار گیرد. همچنین سطح تماس نمونه مورد بررسی با محلول‌های ضدعفونی‌کننده و باکتری مشابه‌سازی شده و به بیشترین حد افزایش می‌یابد. با این حال در کانال ریشه تنها یک سطح تحت تاثیر قرار می‌گیرد و نه پودر عاجی و به همین دلیل امکان تعمیم کلی مطالعه ما به شرایط کلینیکی را محدود می‌سازد زیرا این افزایش سطح تماس در مدل پودر عاجی ممکن است منجر به پاسخ‌های افزایش یافته و غیرواقعی در مقایسه با شرایط موجود در کانال ریشه حین درمان‌های اندودنتیک شود.

همچنین به منظور خردکردن و تهیه پودر عاجی از آسیاب نیمه صنعتی استفاده شدکه پودر عاجی با سایز ذرات ۷۵-۲۰ µm به دست آمد. همچنین دستگاه دارای قطعات استنلس استیل بوده و اثری بر خاصیت پودر عاجی نهایی نداشته است. در بعضی از مطالعات سایز ذرات ۲۰-۰/۲ µm بود،[۵-۳] کاربرد دیسک‌های آلومینیوم سیلیکات جهت تهیه پودر عاجی در این مطالعات به علت مخلوط شدن ذرات معدنی موجود در دیسک با پودر حاصل ممکن است در نتایج نهایی تاثیرگذار باشد.[٤]

انتروکوکوس فکالیس به چندین دلیل به عنوان میکروارگانیسم مورد مطالعه انتخاب شد. این باکتری به عنوان یک عامل کلیدی در عفونت‌های مقاوم اندودنتیک شناخته شده است. و شایع‌ترین نمونه‌ای است که در موارد عدم بهبود پریودنتیت اپیکال و درمان مجدد یافت شده است و در مقایسه با دیگر باکتری‌ها حداقل نسبت به برخی داروهای داخل کانال مقاوم‌تر است.[۳]

از آنجا که مهار فعالیت ضدمیکروبی کارواکرول در حضور عاج و اجزای آلی و معدنی آن قبلاً مطالعه نشده بود و نیز به منظور امکان استفاده از داروهای گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر[۹] و همچنین معرفی ماده‌ای جدید جهت ضدعفونی فضای کانال ریشه، این محلول برای بررسی انتخاب شد. هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ که به طور شایع در طول انجام درمان کانال ریشه استفاده می‌شوند نیز برای مقایسه انتخاب شدند.[۱۷] در مورد علت انتخاب غلظت‌های فعلی برای مطالعه محلول‌های ضدعفونی کننده، سعی شد تا هرچه بیشتر به شرایط کلینیک نزدیک باشند. انتخاب این غلظت‌ها بر طبق مطالعات گذشته بود که به تعیین MIC و MBC این ماده روی انتروکوکوس فکالیس پرداخته بودند و به نظر می‌رسید غلظت مناسبی جهت درمان کانال ریشه باشد.[۱۳و۹و۸] حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتریسیدال (MBC) کارواکرول برای انتروکوک فکالیس به ترتیب ۰/۳٪ و ۰/٦٪ به دست آمده است.[۱۳] محلول کارواکرول ۰/٦٪ و ۰/۳٪ از رقیق کردن کارواکرول خالص با حلال دی متیل سولفوکساید

Archive of SID

www.SID.ir

(DMSO) به دست آمد. اگرچه DMSO در مطالعات مختلف ماده‌ای بی‌اثر روی فعالیت و رشد باکتری‌ها نشان داده شده است، اما به عنوان ماده ایمنی برای سلول‌های بافت میزبان به نظر نمی‌رسد و به همین دلیل کاربرد کلینیکی آن نیاز به تحقیق بیشتری دارد.[۹]

اهمیت نسبی اجزای آلی و غیرآلی در غیرفعال کردن ضدعفونی کننده‌های کانال ریشه ناشناخته است.[٤] هیدروکسی آپاتیت که مهمترین جزء غیرآلی عاج است اثری مشابه عاج بر هیدروکسید کلسیم داشته و از کشتن انتروکوک فکالیس جلوگیری می‌کند. اگرچه این نتیجه برای بخش آلی عاج به دست نیامده است، اما بر اهمیت بخش معدنی در غیرفعال کردن هیدروکسید کلسیم تاکید می‌کند.[٦] بنابراین در انتخاب اجزای عاجی به عنوان عامل احتمالی مهارکننده اثر ضدباکتریایی محلول‌های ضدعفونی، سعی شد تا عاج دندانی به تنهایی و اجزاء تشکیل دهنده آن به طور مجزا مورد بررسی قرار گیرند.[۱٦]

در مورد انتخاب زمان‌های آزمایش هم سعی شد تا جنبه‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد. از آنجا که جلسات معالجات اندونتیک معمولاً حدود یک ساعت برنامه‌ریزی می‌شود زمان‌های ۵ دقیقه و یک ساعت با هدف بررسی اثر محلول‌های ضدعفونی‌کننده به عنوان داروی شست‌وشوی کانال ریشه انتخاب شدند و همچنین زمان ۲٤ ساعت هم به جهت ارزیابی محلول‌های ضدعفونی‌کننده به عنوان داروی داخل کانال ریشه مورد بررسی قرار گرفت.[۳] با این حال از آنجا که داروهای داخل کانال ریشه معمولاً زمان‌های طولانی‌تری درتماس با دندان قرارمی گیرند نتایج حاصل در زمان‌های بیش از ۲٤ ساعت نیاز به مطالعات بیشتردارد.

در مطالعه ما نتایج رشد مطلقاً منفی یا صفر باکتری در گروه‌های کنترل پودر عاجی، جزء معدنی عاج و جزء آلی عاج دقت استریلیزاسیون را نشان می‌دهد. نتایج رشد مثبت در تمام گروه‌های کنترل باکتری نشان‌دهنده محیط مناسب جهت رشد باکتری می‌باشد. نتایج رشد مثبت باکتری در گروه‌های کنترل اجزای عاجی و باکتری، فقدان هرگونه اثر مثبت یا منفی از سوی این اجزاء به تنهایی بر روی رشد باکتری را نشان می‌دهد. نتایج کاهش رشد باکتری یا رشد صفر در گروه‌های کنترل محلول ضدعفونی‌کننده نشان‌دهنده اثر ضدباکتری آن‌ها به تنهایی می‌باشد که امکان مقایسه بعدی آن با اثر مهاری عاج و اجزاء آلی و معدنی آن بر روی محلول ضدعفونی‌کننده را فراهم می‌آورد.

در مطالعه ما اثر مهاری از سوی عاج و اجزای آن بر کارواکرول ۰/٦٪ و ۰/۳٪ وابسته به زمان بود و با گذشت زمان (بعد ۱ ساعت و ۲٤ ساعت) اثر مهاری عاج کم شده و اثر ضدمیکروبی بیشتر می‌شد، که به نظر می‌رسد به علت غلظت پایین آنها و اثر ضدمیکروبی کم آنها در زمان‌های اولیه و همچنین تداوم خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول در طی زمان باشد. هرچند در گروه آزمایشی جزء آلی عاج در زمان‌های ۵ دقیقه و ۱ ساعت اثر مهاری بر خاصیت ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم ۱٪ مشاهده شد، اما این اثر معنی‌دار نبود. این امر احتمالاً مربوط به اثر انتقال می‌باشد و نه سطح تشخیص ضعیف چون سطح تشخیص مطالعه حاضر بالا بود و وقتی هیچ رشدی مشاهده نمی‌شد ۹۹/۹۹٪ یا بیشتر سلول‌های میکروبی کشته شده بودند. این یافته در توافق با مطالعات Haapasalo و همکارانش[۳] است که اثر ضدباکتری هیپوکلریت سدیم ۱٪ در حضور عاج کاهش یافته بود، اما به طور کامل از بین نرفته بود. در مطالعه رزمی و همکارانش[۱٤] نیز هیپوکلریت سدیم ۵٪ در تمام زمان‌های مورد بررسی باکتری را از محیط کشت حذف نمود و

Archive of SID

www.SID.ir

هیپوکلریت سدیم ۱٪ در زمان‌های ۱ ساعت و ۲۴ ساعت باکتری را حذف نموده بود اما در زمان صفر به طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد باکتری شد ولی کاملاً باکتری را حذف نکرد و بر اساس نتایج مطالعه آنها عاج دندانی و اجزای تشکیل‌دهنده آن بر محلول‌های ضدعفونی‌کننده فوق با غلظت‌های ذکر شده اثر مهاری قابل مشاهده‌ای نداشتند. آنها بیان کردند غلظت محلول ضدعفونی‌کننده عامل مهمی در حفظ خاصیت ضدباکتریایی آن به شمار می‌آید و تفاوت فعالیت هیپوکلریت سدیم را در کلینیک نسبت به آزمایشگاه نشان می‌دهد.

هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ به صورت محلول شست‌وشودهنده در طول انجام درمان کانال ریشه استفاده می‌شود. کلرین که مسئول حلالیت و خاصیت ضدباکتریال آن است ناپایدار بوده و به سرعت در طول فاز اولیه انحلال بافتی در شرایط کلینیکی مصرف می‌شود. (احتمالاً در ۲ دقیقه).[۱۷] با این حال در مطالعه حاضر بافت‌های نکروتیک به عنوان عامل مداخله‌گر حضور نداشتند که احتمال تعمیم نتایج مطالعه حاضر (اثر گذشت زمان) به شرایط کلینیکی را دشوار می‌سازد.[۱۸] مطالعات Haapasalo و همکارانش[۳] و Portenier و همکاران[۵و۴] نشان داده‌اند که محتویات ارگانیک و غیرارگانیک در محیط کانال ریشه اثر مهاری بر ضدعفونی‌کننده‌ها و داروهای موضعی که معمولاً در اندودنتیک استفاده می‌شوند دارد.

در مطالعه حاضر پودر عاجی و جزء معدنی و آلی آن هرسه بر خاصیت ضدمیکروبی کارواکرول ۰/۶٪ اثر مهاری داشتند. همچنین در زمان ۲۴ ساعت هیچ اثر مهاری از سوی اجزاء بر خاصیت ضدمیکروبی محلول‌ها مشاهده نشد. در مطالعه شریفیان و همکاران مشاهده شد کارواکرول با غلظت ۰/۳٪ اثر مهاری بر رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس داشته و در غلظت ۰/۶٪ باعث حذف کامل آن از محیط کشت می‌شود. همچنین میزان کاهش باکتری در گروه کارواکرول با غلظت ۰/۶٪ تفاوت معنی‌داری با گروه هیدروکسیدکلسیم نداشت. بنابراین آنها بیان کردند این ماده می‌تواند به عنوان داروی داخل کانال در فواصل جلسات درمان مورد استفاده قرار گیرد.[۱۳] همچنین در مطالعه Portenier همکارانش[۵] نیز پودر عاجی بر کلرهگزیدین دی گلوکونات ۰/۰۲٪ بعد ۱ ساعت اثر مهاری خود را نشان داد اما بعد ۲۴ ساعت اثر مهاری دیده نشد. همچنین در مطالعه Ajitha[۱۵] بیشترین اثر مهاری عاج بعد ۱ ساعت یافت شد و بعد ۷ روز کاهش یافته بود.

نتایج ضدونقیض مطالعات می‌تواند به علت تفاوت در طراحی مدل‌های به کار رفته، کیفی بودن و کمی بودن مطالعات، سطح حد تشخیص و حضور فاکتورهای مداخله‌گر در طول آزمایش باشد.

نتیجه گیری

براساس نتایج حاصل از این مطالعه، غلظت کارواکرول عامل مهمی در حفظ خاصیت ضدباکتریایی آن به شمار می رود و با گذشت زمان به علت افزایش یافتن اثر محلول ضدعفونی‌کننده اثر مهاری عاج کم می‌شود. اثر مهاری عاج بر روی کارواکرول پس از ۱ ساعت دیده شد، در حالی که عاج دندانی و اجزاء تشکیل‌دهنده آن بر محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و ۱٪ اثر مهاری قابل مشاهده‌ای نداشتند و این محلول می‌تواند اثرات ضدباکتریایی خود را در این غلظت‌ها در حضور عاج دندانی حفظ کند. مطالعات کلینیکی بیشتر با ضدعفونی‌کننده‌های دیگر غلظت‌های مختلف پیشنهاد می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت تامین هـزینه‌های این طرح و همچنین از زحمات جناب آقای دکتر عطایی تقدیر و تشکر می‌گردد. این مقاله منتج از پایان نامه تخصصی به شماره ۱ ت می‌باشد.

منابع

1. Geraldes F, Qian W, Aleksejuniene J. Inhibition of sodium hypochlorite antimicrobial activity in the presence of bovine serum albumin. J Endod 2010; 36(2): 268-71.
2. Law A, Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. J Endod 2004; 30(10): 689-94.
3. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TMT, Orstavik D. Inactivation of local root canal medicaments by dentin: An in vitro study. Int Endod J 2000; 33(2): 126-31.
4. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D. Inactivation of root canal medicaments by dentin,hydroxyapatites and bovine serum albomin. Int Endod J 2001; 34(3): 184-8.
5. Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Mitsuo Y, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against enterococcus faecalis by dentin, dentin matrix, type 1 collagen and heat killed microbial whole cells. J Endod 2002; 28(9): 634-7.
6. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. J Endod 2007; 33(8): 917-25.
7. Sena NT, Gomes Bp,Vianna Me, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, et al. *In vitro* antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against single-species biolfilms. Int Endod J 2006; 39(11): 878-85.
8. Nosrat A, Bolhari B, Sharifian MR. The effect of carvacrol on entroccus faecalis as a final irrigant. IEJ 2009; 4(3): 96-100.
9. Samadi N, Zaree R, Bakhtiar H. Comparative antibacterial efficacy of endemic essential oil, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate solutions as root canal irrigations. Dent Res J 2011; 8(1): 28-32.
10. Farsam H, Amanlou M, Radpour MR, Salehinia An, Shafiee A. Composition of the essential oils of wild and cultivated saturejakhuzistanicajamzad from iran. Flavour and Frangrance Journal 2004; 19(4): 308-10.
11. Eftekhar F, Raei F, Yousefzadi M, Ebrahimi Sn, Hadian J. Antibacterial activity and essential oil composition of satureja spicigera from Iran. Z Natur Forsch C 2009; 64(1-2): 20-4.
12. Amanlou M. An anti-inflamatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of saturejakhuzistanica jamzadextract. J Pharm Sci 2005; 8(1): 102-6.
13. Sharifian M, Bolhari B, Nosrat A, Aligholi M. The effect of carvacrol on Enterococcus faecalis as an intracanal medicament-Invitro study. Journal of Dentistry Tehran University of Medical Sciences 2009; 22(1): 35-40.
14. Razmi H, Aligholi M, Sadeghi SD. Evaluation of inactivation of intracanal antiseptics by dentin, demineralized dentin, dentin matrix and mineral component of dentin. Journal of Dentistry Tehran University of Medical Sciences 2006; 19(4): 17-23.
15. Ajitha P, Rao CVN, Lakshminarayanan L. Time dependent inhibitory effect of dentin on various calcium hydroxide medicaments- An *in vitro* study. Endodontology 2003; 15(2):7-11.
16. Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Endodontics. 6th ed. California: B.C.Decker Inc; 2008. P. 994-7.
17. Hargreaves KM, Cohen S. Pathways of the Pulp. 10th ed. California: Mosby; 2010. P. 245-336.
18. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms *in vitro*. J Endod 2006; 32(5): 434-7.

Archive of SID

www.SID.ir