

مقایسه اثر ضد میکروبی تری کرزول فرمالین با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بر روی انتروکوک فکالیس

دکتر فاطمه مختاری^۱ - دکتر هنگامه زندی^۲ - دکتر اصغر نافذ^{۳*}

۱- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲- استادیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

۳- دندانپزشک

Comparison of antimicrobial effect of Tricresol formalin and 5.25% Sodium Hypochlorite on the *Enterococcus faecalis*

Fatemeh Mokhtari¹, Hengameh Zandi², Asghar Nafez^{3*}

1- Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3* - Dentist (asghar.nafez.1991@gmail.com)

Background and Aims: The presence of microbes inside the canal is the main reason for post-treatment infection. Therefore, the maintenance of the disinfection obtained during the treatment is imperative. The aim of this study was to compare the antimicrobial effect of Tricresol formalin and 5.25% Sodium hypochlorite on the *Enterococcus faecalis*.

Materials and Methods: In this study 66 human single-rooted extracted teeth were used. After access cavity and root canal preparation, the teeth were sterilized in autoclave, and then contaminated with *Enterococcus faecalis* suspension and incubated at 37°C for 7 days. Then, they were randomly divided into three groups of 20: In group 1, Tricresol formalin was used as intracanal medicament. In group 2, 5.25% Sodium hypochlorite and in group 3 (control group), normal saline were used as irrigants. 7 days after incubation at 37°C, the microbiological sampling was performed. For this purpose, dentinal shaves were collected from the root canals and cultured in Tryptic Soy Broth, and the number of Colony-Forming Unit (CFU) was counted. Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: A significant reduction of CFU was observed in the Tricresol formalin and Sodium hypochlorite groups compared to the control group ($P < 0.001$). No significant difference was reported between Tricresol formalin and Sodium hypochlorite groups ($P = 0.69$).

Conclusion: The present study showed that the antimicrobial effect of Tricresol formalin was comparable with 5.25% Sodium hypochlorite on the *Enterococcus faecalis*.

Key Words: *Enterococcus faecalis*, Sodium hypochlorite, Antimicrobial

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2016;28(4):274-82

* مولف مسوول: نشانی: یزد- خیابان امام خمینی- ابتدای بلوار دهه فجر- دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی- دانشکده دندانپزشکی
تلفن: ۶۲۵۸۸۱ نشانی الکترونیک: asghar.nafez.1991@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: حضور میکروبها در داخل کانال، علت اصلی عفونت‌های بعد از درمان ریشه است. بنابراین ضد عفونی کردن کانال ریشه در طی درمان اندودنتیک امری ضروری است. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه اثر آنتی میکروبیال تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بر روی انتروکوک فکالیس بود.

روش بررسی: جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی تعداد ۶۶ دندان تک ریشه کشیده شده انسانی مورد استفاده قرار گرفت. دندان‌ها پس از تهیه حفره دسترسی و آماده سازی کانال در داخل اتوکلاو استریل شده و بعد با سوسپانسیون انتروکوک فکالیس آلوده گردیده و به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس به طور تصادفی به ۳ گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند: در گروه ۱ از تری کرزول فرمالین به عنوان داروی داخل کانال استفاده شد. در گروه ۲ از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و در گروه ۳ (گروه کنترل) از نرمال سالین به عنوان شستشودهنده کانال استفاده شد. پس از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌گیری میکروبیولوژیک به عمل آمد. بدین منظور از کانال ریشه دندان‌ها براده‌های عاجی تهیه شده و در محیط Tryptic soy broth کشت داده شدند و تعداد CFU مورد شمارش قرار گرفت. از آزمون‌های کروسکال-والیس و من-ویتنی برای ارزیابی نتایج استفاده شد.

یافته‌ها: کاهش معنی‌داری در تعداد CFU در گروه‌های تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.001$). اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه‌های تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم ملاحظه نشد ($P = 0.69$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضد میکروبی تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بر روی انتروکوک فکالیس قابل مقایسه با یکدیگر می‌باشد.

کلید واژه‌ها: انتروکوک فکالیس، هیپوکلریت سدیم، آنتی میکروبیال

وصول: ۹۴/۰۲/۱۱ اصلاح نهایی: ۹۴/۰۹/۱۸ تأیید چاپ: ۹۴/۰۹/۳۰

مقدمه

هدف از درمان اندودنتیک پاکسازی، شکل دهی و ضد عفونی کردن کانال ریشه و متعاقب آن پر کردن کانال ریشه می‌باشد تا دندان بتواند پس از ترمیم، عملکرد خود را بازیابد. حضور میکروبها در داخل کانال، علت اصلی عفونت‌های بعد از درمان ریشه است. بنابراین ضد عفونی کردن کانال ریشه در طی درمان اندودنتیک امری ضروری است.

مطالعات نشان داده‌اند که انتروکوک فکالیس شایع‌ترین باکتری در ارتباط با عفونت‌های سیستم کانال ریشه بعد از درمان اندودنتیک می‌باشد. همچنین ثابت شده است که این گونه باکتریایی قادر است به مدت طولانی در داخل توبول‌های عاجی زنده بماند (۱). بنابراین حذف این میکروارگانیسم از کانال ریشه تأثیر مستقیمی بر روی پروگنوز طولانی مدت درمان ریشه دارد.

در طی زمان، مواد شستشودهنده مختلفی حین آماده سازی کانال ریشه مورد استفاده قرار گرفته‌اند که رایج‌ترین آنها هیپوکلریت سدیم (NaOCl) می‌باشد. این ماده، یک عامل پروتولیتیک غیراختصاصی با دامنه فعالیت گسترده‌ای علیه میکروارگانیسم‌های اندودنتیک می‌باشد که توانایی حل کردن بافت و خواص هموستاتیک مطلوبی دارد (۲). علی‌رغم خواص مطلوب هیپوکلریت سدیم، این ماده معایب

کلینیکی قابل توجهی از قبیل طعم و بوی بد، سمیت سلولی (۳،۴)، اثرات مضر بر روی خواص مکانیکی - شیمیایی و ساختار عاج (۵،۶) و همچنین بر روی خواص مکانیکی و خاصیت برندگی وسایل نیکل-تیتانیوم (Ni-Ti) دارد (۷). همچنین این ماده ممکن است اثرات نامطلوبی بر روی قدرت باند در سیستم‌های باندینگ داشته باشد (۹،۸). علاوه بر این، تزریق ناخواسته این ماده فراتر از آپکس ریشه می‌تواند باعث واکنش شدید بافتی شود (۱۰).

ترکیبات حاوی فرمالدهید نیز برای درمان کانال ریشه مورد استفاده قرار می‌گیرند. در سال ۱۹۰۴ برای نخستین بار، فرموکرزول توسط Buckley (۱۱) به عنوان داروی داخل کانال مورد استفاده قرار گرفت. فرموکرزول به خاطر خواص آنتی باکتریال آن در ضد عفونی کردن کانال ریشه به طور وسیعی در دندانپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده حاوی فرمالدهید (یک عامل آلکیل‌کننده مؤثر) و کرزول (یک ترکیب فنولیک منعقدکننده پروتئین) می‌باشد. به نظر می‌رسد که خاصیت آنتی میکروبیال فرموکرزول به علت آزاد کردن بخارهای فرمالدهید می‌باشد (۱۲). مطالعات کلینیکی و رادیوگرافیک نشان داده‌اند که میزان موفقیت پالپوتومی با استفاده از فرموکرزول بین ۷۰٪ تا ۹۷٪ می‌باشد (۱۳).

انتهای آپکس دندان‌ها عبور داده شده و کانال‌های ریشه ۱ میلی‌متر کوتاه‌تر از آپکس تعیین طول و به روش Step-back آماده‌سازی شدند، بدین‌صورت که ناحیه اپیکال تا فایل شماره ۲۵ اینسترومنت شد و جهت یکسان‌سازی قطر کانال‌ها، از فایل‌های روتاری پروتپیر F₂ و F₃ (Dentsply, Switzerland) استفاده گردید. شستشوی کانال دندان‌ها با ۲ میلی لیتر محلول نرمال سالین انجام شد. سپس کانال‌های ریشه به منظور حذف لایه اسمیر، به روش Yamada و همکاران (۱۶) آماده‌سازی و در نهایت از ۵ میلی لیتر محلول نرمال سالین برای شستشوی کانال‌ها استفاده شد. حذف لایه اسمیر با روش Yamada و همکاران بدین ترتیب بود که کانال‌های دندان‌ها پس از تمیز شدن و آماده‌سازی، طی سه مرحله (هر مرحله به مدت ۳ دقیقه) با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و EDTA ۱۷٪ (آریادنت- ایران) به طور پی‌درپی شستشو داده شدند. سپس دندان‌ها و نیز تمام وسایل کار، جداگانه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ Psi به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. پس از آن سطوح دندان‌ها به غیر از حفره دسترسی و فورامن اپیکال، توسط لاک ناخن پوشانده شده و آپکس ریشه‌ها نیز توسط موم‌چسب سیل شدند. از کل نمونه‌ها تعداد سه دندان به عنوان کنترل منفی، دست‌نخورده و بدون تزریق باکتری باقی ماند تا پس از گرفتن نمونه کشت، در صورت منفی بودن صحت استریلیزاسیون تأیید شود.

انتروکوک فکالیس (ATCC 29212) از قبل در محیط Tryptic soy agar حاوی ۵٪ خون گوسفندی کشت داده شده بود و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس یک و یا دو کلنی از باکتری کشت داده شده در محیط Tryptic soy broth تلقیح گردید. جهت ایجاد سوسپانسیون دارای $1/5 \times 10^8$ CFU/mL باکتری، به کمک اسپکتروفتومتر فرابنفش لوله حاوی سوسپانسیون با کدورت لوله نیم مک فارلند مقایسه گردید.

کانال‌ها با استفاده از یک میکروپیپت اتوماتیک، با ۳۰۰ μL از سوسپانسیون حاوی انتروکوک فکالیس آلوده شد. یک گلوله پنبه استریل در سوسپانسیون حاوی میکروارگانیسم فرو برده شده و در حفره دسترسی دندان‌ها قرار داده شد. پس از آن، حفرات دسترسی توسط خمیر پانسمان موقت کاویزول (Golchai, Iran) سیل شدند. سپس دندان‌ها بر روی یک لایه گاز استریل در یک ظرف پتری استریل قرار

Valera و همکاران در سال ۲۰۰۱ (۱۳) تأثیر هیپوکلریت سدیم ۱٪ و پنج داروی داخل کانال را بر روی کاندیدا آلبیکانس داخل کانال ریشه بررسی کردند. این پنج داروی داخل کانال عبارت بودند از: خمیر کلسیم هیدروکساید، CPMC، محلول ۲٪ Iodine-iodate، تری‌کرزول فرمالین و ترکیب کلسیم هیدروکساید با CPMC. براساس نتایج، CPMC در ۱۰۰٪ موارد مؤثر بود و به دنبال آن، ترکیب کلسیم هیدروکساید با CPMC و نیز هیپوکلریت سدیم در ۷۰٪ موارد، تری‌کرزول فرمالین در ۶۰٪ موارد، محلول Iodine-iodate در ۵۰٪ موارد و خمیر کلسیم هیدروکساید در ۳۰٪ موارد مؤثر بود.

Menezes و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۱۴) تأثیر هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪، کلرهگزیدین ۲٪ و پنج داروی داخل کانال را بر روی دندان‌های آلوده شده به انتروکوک فکالیس و کاندیدا آلبیکانس بررسی کردند. این پنج داروی داخل کانال عبارت بودند از: کلسیم هیدروکساید، CPMC، تری‌کرزول فرمالین، PMC furacin و ترکیب کلسیم هیدروکساید با CPMC. براساس نتایج، ترکیب کلسیم هیدروکساید و CPMC مؤثرترین داروی داخل کانال برای حذف این دو میکروارگانیسم بود. همچنین در این مطالعه، هیپوکلریت سدیم و تری‌کرزول فرمالین به طور مشابهی قادر به حذف انتروکوک فکالیس بودند، اما تداوم اثر تری‌کرزول فرمالین بسیار بیشتر از هیپوکلریت سدیم بود (۱۵).

مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ به عنوان شستشودهنده و تری‌کرزول فرمالین به عنوان داروی داخل کانال، در کاهش باکتری انتروکوک فکالیس داخل کانال ریشه دندان انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تعداد ۶۶ دندان کشیده شده انسانی تک‌ریشه و تک‌کاناله، که از لحاظ طول تقریباً مساوی و فاقد انحنا شدید ریشه بودند، انتخاب گردید. به منظور ضد عفونی و حذف بافت آلی، دندان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ (Shamin, Iran) نگهداری شدند. پس از این اقدام، سطح دندان‌ها از هرگونه آلودگی بافتی تمیز و تا زمان استفاده، در محلول نرمال سالین (Samen, Iran) نگهداری شدند. پس از تهیه حفره دسترسی، نوک فایل ۱۵ (Mani-Japan) از

داده شده و به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در روز چهارم پانسمان موقت برداشته شده و محیط کشت Tryptic soy broth به وسیله سرنگ انسولین استریل به داخل کانال‌ها اضافه شد و دوباره دندان‌ها توسط پانسمان موقت سیل شدند تا زمانی که ۷ روز کامل شود (۱۵). برای تأیید صحت آلوده‌سازی داخل کانال و کلونیزاسیون باکتری‌ها، تعداد سه دندان بدون به‌کارگیری مواد ضد عفونی‌کننده به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شدند.

پس از آلوده‌سازی، سیل ناحیه کرونا برداشته شده و دندان‌ها به طور تصادفی براساس نوع عامل ضد عفونی‌کننده به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند که در هر گروه ۲۰ دندان قرار گرفت. اقداماتی که در هر گروه انجام شد، به شرح زیر است:

در گروه ۱ از تری کرزول فرمالین (Prevest, India) به عنوان داروی داخل کانال استفاده شد. پس از آلوده‌سازی کانال‌ها و برداشتن سیل کرونا، کانال‌ها دوباره با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شده و با ۵ میلی لیتر محلول نرمال سالین شستشو داده شدند. سپس کانال‌ها توسط کن‌های کاغذی استریل (Siadent, Iran) خشک شدند. گلوله پنبه استریل در داخل محلول تری کرزول فرمالین مرطوب شده و سپس در حفره دسترسی دندان‌ها قرار داده شده و حفرات دسترسی توسط پانسمان موقت سیل شدند. دندان‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از ۷ روز، سیل کرونا برداشته شد. پنبه آغشته به تری کرزول فرمالین از حفره دسترسی خارج و کانال‌ها با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شدند. از ۵ میلی لیتر محلول نرمال سالین برای شستشوی کانال‌ها استفاده شد و نمونه‌گیری باکتریولوژیک انجام گرفت.

در گروه ۲ از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ برای شستشوی کانال استفاده شد. پس از آلوده‌سازی کانال‌ها و برداشتن سیل کرونا، کانال‌ها دوباره با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شده و با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ شستشو داده شدند. حفرات دسترسی توسط پانسمان موقت سیل شدند. دندان‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از ۷ روز، سیل کرونا برداشته شد و کانال‌ها با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شدند. از ۵ میلی لیتر محلول نرمال سالین برای شستشوی کانال‌ها استفاده شد و نمونه‌گیری باکتریولوژیک انجام گرفت. در گروه ۳ از نرمال سالین برای شستشوی

کانال استفاده شد. پس از آلوده‌سازی کانال‌ها و برداشتن سیل کرونا، کانال‌ها دوباره با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شده و با نرمال سالین شستشو داده شدند. حفرات دسترسی توسط پانسمان موقت سیل شدند. دندان‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از ۷ روز، سیل کرونا برداشته شد و کانال‌ها با یک فایل شماره ۳۰ اینسترومنت شدند. از ۵ میلی لیتر محلول نرمال سالین برای شستشوی کانال استفاده شد و نمونه‌گیری باکتریولوژیک انجام گرفت.

برای انجام نمونه‌گیری باکتریولوژیک، توسط دیسک برش الماسی استریل (Jota, Switzerland)، یک سوم کرونا و اپیکال ریشه دندان‌ها قطع شد و از یک سوم میانی ریشه دندان‌ها برای نمونه‌گیری استفاده گردید. به وسیله دریل‌های گیتس گلیدن شماره ۳ و ۴ از هر نمونه جمعاً ۵mg براده‌های عاجی تهیه شده و در میکروتیوب‌های از قبل وزن شده ریخته شدند. سپس براده‌های جمع‌آوری شده به درون لوله‌های حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت TSB استریل منتقل شدند و بعد از مخلوط کردن توسط ورتکس و تهیه رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2} ، مقدار $100 \mu\text{L}$ از محلول به محیط کشت آگار خوندار حاوی ۵٪ خون گوسفندی تلقیح گردیده و کشت خطی داده شد. بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، تعداد کلنی‌های ایجاد شده توسط دستگاه Colony counter شمارش شده و جهت اطمینان، کلونی‌ها توسط رنگ‌آمیزی گرم و آزمایشات بیوشیمیایی مانند کاتالاز، رشد در محیط بایل - اسکولین و محیط ۶/۵٪ نمک تعیین هویت گردیدند. کلونی‌ها کاتالاز منفی بوده، اسکولین را هیدرولیز کرده و در محیط ۶/۵٪ نمک رشد کردند که به‌عنوان انتروکوک فکالیس تعیین هویت شدند. اطلاعات به دست آمده در محیط نرم‌افزار SPSS 21 به کامپیوتر داده شده و شاخص‌ها و جداول مورد نیاز تهیه شدند. در این مطالعه برای ارزیابی نتایج از آزمون کروسکال - والیس با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و همچنین برای مقایسه دوه‌دوی گروه‌ها از آزمون من-ویتنی با تصحیح بونفرونی استفاده گردید.

یافته‌ها

این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و تری کرزول فرمالین در کاهش باکتری انتروکوک فکالیس داخل کانال ریشه انجام گرفت. میانگین تعداد کلونی رشد

جدول ۱- توزیع میانگین کلونی رشد یافته بر حسب CFU در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد نمونه	Mean \pm SD	حداقل	چارک اول	میان	چارک سوم	حداکثر
تری کرزول فرمالین	۲۰	۳/۹۵ \pm ۱۱/۱۲	۰	۰	۰	۳	۵۰
هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪	۲۰	۵/۶۰ \pm ۱۲/۳۲	۰	۰	۰	۷/۵	۵۰
نرمال سالین	۲۰	۸۴/۷۰ \pm ۶۴/۶۰	۱۸	۳۱/۲۵	۶۷/۵۰	۱۰۰	۲۰۰

کمبود مواد غذایی (۱۹) و نفوذ به داخل توبول‌های عاجی، یکی از مقاوم‌ترین باکتری‌های کانال ریشه است و حذف آن از کانال ریشه مشکل می‌باشد (۲۰).

هیپوکلریت سدیم به علت فعالیت ضد میکروبی و توانایی حل کردن بافت‌های ارگانیک به عنوان شایع‌ترین ماده شستشودهنده داخل کانال مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۱). Bystrom و Sundqvist (۲۲) نشان داد که شستشوی کانال با نرمال سالین تقریباً ۵۰٪ باکتری‌ها و شستشو با هیپوکلریت سدیم تقریباً ۸۰٪ باکتری‌ها را از بین می‌برد. اما هیپوکلریت سدیم دارای معایبی نظیر سمیت در غلظت بالا، کاهش اثرات آن با رقیق شدن و مزه و بوی بد می‌باشد (۲۱). همچنین در صورتی که این ماده موقع شستشوی کانال از آپکس دندان خارج شود، باعث حادثه هیپوکلریت می‌شود (۲۳).

Bystrom و Sundqvist (۲۲) همچنین ثابت کردند که باکتری‌هایی که پس از اینسترومنتیشن و شستشوی کانال زنده می‌مانند، در بین جلسات درمان می‌توانند در داخل کانال ریشه دندان دوباره تکثیر شوند. بنابراین یک ضد عفونی کننده ایده‌آل کانال باید قادر به ضد عفونی کردن عاج و توبول‌های عاجی در اولین جلسه درمان باشد و بتواند این اثر ضد میکروبی را در طی جلسات درمان حفظ کند (۲۴). رایج‌ترین داروی داخل کانال در بین جلسات درمان ریشه کلسیم هیدروکساید می‌باشد (۲۵). با این حال مطالعات مختلفی قدرت ضد میکروبی آن را در برابر انتروکوک فکالیس زیر سؤال برده‌اند (۲۶-۲۹).

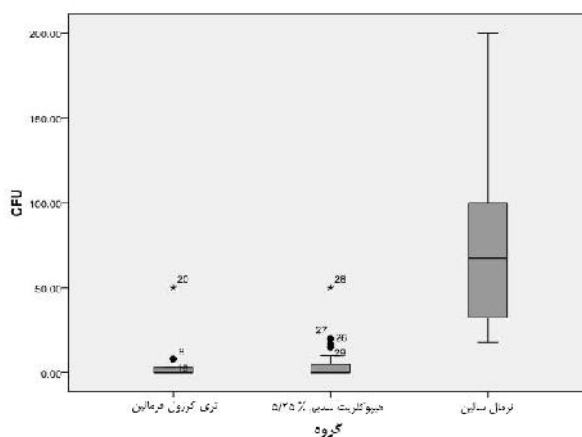
تری کرزول فرمالین از جمله عوامل ضد عفونی کننده حاوی فرمالدهید می‌باشد که دارای خواص باکتری سیدال بالا، تداوم اثر ضد میکروبی و درصد موفقیت درمان زیادی می‌باشد. مطالعات حیوانی مختلفی استفاده مستقیم از این ماده را بر روی بافت زنده زیر سؤال برده‌اند و اکثر آن‌ها بر این عقیده‌اند که این ماده در غلظت‌های بالا خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارد. با این حال هیچ‌گونه مدرک

یافته بر حسب CFU در گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

نمونه‌های کنترل مثبت رشد باکتری را نشان داده و در مقابل نمونه‌های کنترل منفی هیچ نشانه‌ای از رشد باکتری نداشتند.

آزمون کروسکال-والیس اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد ($P < 0/001$). به عبارت دیگر از نظر خاصیت ضد میکروبی با یکدیگر متفاوت بودند (نمودار ۱).

آزمون من-ویتنی اختلاف معنی‌داری بین گروه نرمال سالین با گروه‌های هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و تری کرزول فرمالین نشان داد ($P < 0/001$) ولی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ و تری کرزول فرمالین مشاهده نشد ($P = 0/69$).



نمودار ۱- مقایسه میانگین تعداد کلنی‌های رشد یافته پس از کاربرد مواد مورد مطالعه

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌ها و محصولات آن‌ها عامل اصلی بیماری‌های پالپ و پری‌رادیکولار بوده و حذف آنها نقش مهمی در موفقیت درمان ریشه دارد (۱۷). انتروکوک فکالیس یک باکتری گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری است که نقش مهمی را در شکست درمان‌های ریشه دارد (۱۸)، چرا که این باکتری به علت تشکیل بیوفیلم حتی در صورت

یکی از عواملی که بر روی نفوذ باکتری‌ها به داخل توبول‌های عاجی تأثیر می‌گذارد، لایه اسمیر است. در این مطالعه قبل از کشت باکتری در داخل کانال، لایه اسمیر را حذف کردیم. در برخی از مطالعات کانال دندان‌ها قبل از کشت میکروبی آماده‌سازی می‌شوند و لایه اسمیر حذف و سپس کشت باکتری انجام می‌گردد. در موارد دیگر اول کشت انجام می‌شود و بعداً آماده‌سازی کانال‌ها صورت می‌گیرد. در مطالعه Siqueira و همکاران (۳۳) نشان داده شد که بیش از ۹۰٪ بار میکروبی توسط آماده‌سازی و شستشوی کانال با نرمال سالین از کانال ریشه برداشته می‌شود. لذا آماده‌سازی کانال در ابتدا و بعد حذف لایه اسمیر و سپس کشت باکتری داخل کانال، قضاوت بهتری در مورد قدرت آنتی‌میکروبیال عوامل ضد عفونی‌کننده به ما می‌دهد (۳۲). لذا در مطالعه حاضر جهت نفوذ هرچه بیشتر باکتری به داخل توبول‌های عاجی، لایه اسمیر قبل از آلوده‌سازی کانال‌ها به باکتری به روش Yamada حذف شد.

نحوه نمونه‌گیری از داخل کانال ریشه نیز یکی از عوامل مهم می‌باشد. نمونه‌گیری در مطالعات مختلف به کمک فایل و گیتس گلیدن، مخروط کاغذی و یا اسپیراسیون محلول از داخل کانال انجام گرفته است (۳۲،۳۴). این نمونه‌ها بعداً جهت شمارش CFU به کار می‌روند. در این میان، روش تهیه براده‌های عاجی با استفاده از فایل و گیتس گلیدن و انتقال آن‌ها به محیط کشت نسبت به بقیه ارجح است، چرا که میزان باکتری‌های کلونیزه شده در داخل توبول‌های عاجی را نیز آشکار می‌سازد (۳۲). به همین دلیل در مطالعه حاضر جهت نمونه‌گیری باکتریولوژیک، از روش جمع‌آوری براده‌های عاجی با استفاده از گیتس گلیدن استفاده گردید.

مطالعات مختلفی اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم را در غلظت‌های مختلف و همچنین نسبت به مواد دیگر مقایسه کرده‌اند. در مطالعه Siqueira و همکاران (۳۵)، غلظت‌های ۱٪، ۲/۵٪ و ۵/۲۵٪ هیپوکلریت سدیم در روش انتشار در محیط آگار، اثر ضد میکروبی مشابهی بر روی انتروکوک فکالیس داشتند. در حالی که Berber و همکاران (۳۶) معتقدند که غلظت ۵/۲۵٪ هیپوکلریت سدیم نسبت به غلظت‌های ۲/۵٪ و ۰/۵٪ بیشترین اثر ضد میکروبی را بر روی انتروکوک فکالیس پس از آماده‌سازی کانال‌ها با وسایل دستی و روتاری دارا می‌باشد. در مقایسه بین هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین،

مستندی دال بر توزیع سیستمیک یا تغییرات پاتولوژیک بافتی در رابطه با استفاده از این ماده در داخل دندان انسان وجود ندارد (۱۳). Kahl و همکاران (۳۰) مطالعه‌ای در رابطه با وجود فرموکرزول در پلاسمای کودکانی که برای درمان پالپوتومی تحت بیهوشی عمومی قرار گرفته بودند، انجام دادند. مقادیر شناسایی شده فرمالدهید و کرزول در پلاسمای این کودکان بعد از درمان پالپوتومی، بسیار کمتر از حد مجاز توصیه شده توسط FDA بود. آنها نتیجه گرفتند که فرموکرزول در دوزهایی که برای درمان پالپوتومی استفاده می‌شود، خطری برای کودکان ندارد. این ماده در درمان پالپوتومی کودکان به صورت مستقیم بر روی بافت زنده قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر این ماده پس از آغشته شدن به پنبه در حفره دسترسی قرار داده شد که این می‌تواند احتمال عوارض استفاده از آن را کاهش دهد. تری کرزول فرمالین با این فرضیه در مطالعه حاضر استفاده شد که شاید بخارات فرمالدهید این ماده بتواند در داخل توبول‌های عاجی در بین جلسات درمان ریشه نفوذ کرده و میکروب‌هایی را که امکان دسترسی به آنها به کمک اینسترومنت وجود ندارد، از بین ببرد.

تاکنون روش‌های مختلفی جهت بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی مواد ضد عفونی‌کننده کانال به کار گرفته شده‌اند (۳۱)، ولی روش *In vivo* قطعی‌ترین و مطمئن‌ترین نتایج را به همراه دارد. با این حال این روش محدودیت‌های اخلاقی زیادی داشته و جهت هماهنگی بین عوامل مختلف، نیاز به جمعیت وسیعی از نمونه‌ها می‌باشد که از نظر اقتصادی و زمانی مقرون به صرفه نیست (۳۱،۳۲). در این بین، مطالعات *in vitro* جایگاه ارزشمندی پیدا می‌کنند. در این مطالعات هرچه شرایط آزمایشگاهی به شرایط کلینیکی نزدیکتر باشد، می‌توان با اطمینان بیشتری به نتایج آنان اتکا کرد (۳۲). لذا در این مطالعه از هیپوکلریت سدیم و تری کرزول فرمالین مشابه روش کلینیکی استفاده گردید.

اغلب در مطالعاتی که برای ارزیابی و مقایسه اثر ضد میکروبی عوامل ضد عفونی‌کننده کانال ریشه دندان انجام گرفته (۱۴،۱۵)، در ابتدا تاج دندان‌ها از ناحیه CEJ قطع شده و تنها ریشه دندان جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفته است. در این مطالعه به منظور نزدیک کردن شرایط آزمایش به شرایط کلینیکی، به جای قطع تاج، حفره دسترسی بر روی دندان‌ها تهیه شد.

هیپوکلریت سدیم در داخل کانال و تأثیر آن بر روی میکروارگانیزم باشد.

مطالعه حاضر نشان داد تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم به عنوان عوامل ضد عفونی کننده، قدرت ضد میکروبی بالایی دارند و اختلاف آن‌ها با نرمال سالین معنی دار بود، اما تری کرزول فرمالین با وجود میانگین رشد میکروبی کمتر، از نظر آماری اختلاف معنی داری با هیپوکلریت سدیم نداشت. به عبارت دیگر قدرت ضد میکروبی تری کرزول فرمالین و هیپوکلریت سدیم تقریباً قابل مقایسه با یکدیگر می باشد. با توجه به نتایج این مطالعه و تأثیر نسبتاً بهتر تری کرزول فرمالین در طول یک هفته و با در نظر گرفتن محدودیت‌های یک مطالعه آزمایشگاهی، به نظر می رسد که این ماده اثر ضد میکروبی پایدارتری با گذشت زمان دارد. بنابراین پیشنهاد می شود جهت درمان‌های یک جلسه‌ای از هیپوکلریت سدیم و به منظور درمان‌های دو یا چند جلسه‌ای از تری کرزول فرمالین استفاده گردد. همچنین در موارد حساسیت به هیپوکلریت سدیم، دندان‌های آپکس باز و یا در مواردی که نتوان از این ماده استفاده کرد، به نظر می رسد تری کرزول فرمالین بتواند جایگزین مناسبی به عنوان داروی داخل کانال در بین جلسات درمان ریشه باشد. با این حال تأکید می گردد که نتایج حاصل مربوط به شرایط مطالعه است و برای استفاده از این ماده به عنوان داروی داخل کانال در شرایط بالینی، مطالعات بیشتری برای اثبات امنیت و موفقیت آن مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دانشجویی شماره ۶۶۳ که در دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام گردیده است می باشد. لذا از همکاری این دانشکده جهت انجام این پایان نامه تشکر و قدردانی می شود.

در مطالعه White و Jeansonne (۳۷) تعداد کشت‌های مثبت و میزان CFU پس از شستشو با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بیشتر از کلرگزیدین ۲٪ بود، اما از نظر آماری اختلاف معنی داری بین این دو وجود نداشت. در حالی که در مطالعه Shahani و Subba Reddy (۳۸) تداوم اثر ضد میکروبی کلرگزیدین ۲٪ پس از ۷۲ ساعت، به طور معنی داری بیشتر از هیپوکلریت سدیم ۲٪ بود.

مطالعات انجام شده بر روی جمعیت میکروبی کانال ریشه دندان‌های دارای ضایعات پری اپیکال نشان داده اند که علاوه بر انتروکوک فکالیس، کاندیدا آلبیکانس نیز یکی از شایع ترین میکروارگانیزم‌هایی است که از کانال این دندان‌ها کشت داده می شود. در مطالعه Valera و همکاران (۱۴) اثر هیپوکلریت سدیم ۱٪ و تری کرزول فرمالین بر روی کاندیدا آلبیکانس بررسی شد. در این مطالعه هیپوکلریت سدیم در ۷۰٪ موارد و تری کرزول فرمالین در ۶۰٪ موارد در حذف این قارچ از کانال ریشه مؤثر بودند.

در مطالعه Menezes و همکاران (۱۵) اثر هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ و تری کرزول فرمالین بر روی انتروکوک فکالیس بررسی شد. در این مطالعه، پس از نمونه گیری اول، اثر ضد میکروبی دو ماده قابل توجه بوده و به طور معنی داری بالاتر از نرمال سالین بود، اما پس از نمونه گیری دوم یعنی یک هفته بعد، تری کرزول فرمالین تداوم اثر بیشتری نسبت به هیپوکلریت سدیم و نرمال سالین داشت و این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود. در حالی که در مطالعه حاضر، پس از یک هفته اختلاف معنی داری بین دو ماده دیده نشد. این مسئله می تواند ناشی از تفاوت در غلظت هیپوکلریت سدیم استفاده شده در دو مطالعه، زمان و نحوه نمونه گیری از کانال ریشه باشد. همچنین در مطالعه Menezes و همکاران برای خنثی کردن هیپوکلریت سدیم در نمونه گیری اول، از سدیم تیوسولفات ۰/۶٪ استفاده شده و در طی یک هفته، کانال فاقد این ماده بود، در حالی که در مطالعه حاضر این ماده خنثی نشد. از این رو اختلاف در نتایج می تواند به دلیل حضور

منابع:

- 1- Nabeshima CK, de Lima Machado ME, Borges Britto ML, Pallotta RC. Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones. *Aust Endod J.* 2011;37(3):118-21.
- 2- Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J.* 2008;58(6):329-41.
- 3- Hauman C, Love R. Biocompatibility of dental materials

- used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. *Intracanal drugs and substances. Int Endod J.* 2003;36(2):75-85.
- 4- Barnhart BD, Chuang A, Lucca JJ, Roberts S, Liewehr F, Joyce AP. An in vitro evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts. *J Endod.* 2005;31(8):613-5.
- 5- Marending M, Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ,

- Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine—mechanical, chemical and structural evaluation. *Int Endod J.* 2007;40(10):786-93.
- 6- Mountouris G, Silikas N, Eliades G. Effect of sodium hypochlorite treatment on the molecular composition and morphology of human coronal dentin. *J Adhes Dent.* 2004;6(3):175-82.
- 7- Busslinger A, Sener B, Barbakow F. Effects of sodium hypochlorite on nickel-titanium Lightspeed (R) instruments. *Int Endod J.* 1998;31(4):290-4.
- 8- Ishizuka T, Kataoka H, Yoshioka T, Suda H, Iwasaki N, Takahashi H, et al. Effect of NaClO treatment on bonding to root canal dentin using a new evaluation method. *Dent Mater J.* 2001;20(1):24-33.
- 9- Erdemir A, Eldeniz AU, Belli S, Pashley DH. Effect of solvents on bonding to root canal dentin. *J Endod.* 2004;30(8):589-92.
- 10- Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation—literature review and case reports. *Int Endod J.* 2000;33(3):186-93.
- 11- Buckley JP. The chemistry of pulp decomposition with a rational treatment for this condition and its sequelae. *Am Dent J.* 1904;3:764-71.
- 12- Verma P, Chandra A, Yadav R. Endodontic emergencies: Your medication may be the cause. *J Conserv Dent.* 2009;12(2):77-9.
- 13- Casamassimo PS, Fields Jr HW, McTigue DJ, Nowak A. Pediatric dentistry: infancy through adolescence. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2013:342.
- 14- Valera MC, de Moraes Rego J, Cardoso Jorge AO. Effect of Sodium Hypochlorite and Five Intracanal Medications on *Candida albicans* in Root Canals. *J Endod.* 2001;27(6):401-3.
- 15- Menezes M, Valera M, Jorge A, Koga-Ito C, Camargo C, Mancini M. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J.* 2004;37(5):311-9.
- 16- Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod.* 1983;9(4):137-42.
- 17- Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *J Endod.* 2006;32(6):527-31.
- 18- Ashofteh K, Sohrabi K, Iranparvar K, Chiniforush N. In vitro comparison of the antibacterial effect of three intracanal irrigants and diode laser on root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Iran J Microbiol.* 2014;6(1):26-30.
- 19- George S, Kishen A, Song KP. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005;31(12):867-72.
- 20- Chivatxaranukul P, Dashper S, Messer H. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2008;41(10):873-82.
- 21- Johal S, Baumgartner JC, Marshall JG. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. *J Endod.* 2007;33(2):186.
- 22- Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983;55(3):307-12.
- 23- Singhal A, Vinayak V, Ahuja T, Longani P. Sodium Hypochlorite: Complications and Management. *J Dent Sci Oral Rehabil.* 2013;4(1):7-10.
- 24- Ahangari Z, Samiee M, Yolmeh MA, Eslami G. Antimicrobial activity of three root canal irrigants on *Enterococcus Faecalis*: An in vitro study. *Iran Endod J.* 2008;3(2):33.
- 25- Kim D, Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review-Part I. In vitro studies. *Restor Dent Endod.* 2014;39(4):241-52.
- 26- Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine-and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(5):618-24.
- 27- Hegde S1, Lala PK, Dinesh RB, Shubha AB. An in vitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Primary Root Canal Filling Materials. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;37(1):59-64.
- 28- Mattigatti S, Ratnakar P, Moturi S, Varma S, Rairam S. Antimicrobial effect of conventional root canal medicaments vs propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *J Contemp Dent Pract.* 2012;13(3):305-9.
- 29- Adl A, Shojaei NS, Motamedifar M. A Comparison between the Antimicrobial Effects of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide against *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J.* 2012;7(3):149-55.
- 30- Kahl J, Easton J, Johnson G, Zuk J, Wilson S, Galinkin J. Formocresol blood levels in children receiving dental treatment under general anesthesia. *Pediatr Dent.* 2008;30(5):393-9.
- 31- Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. *Enterococcus faecalis* Biofilms Eradication by Root Canal Irrigants. *J Endod.* 2009;35(5):711-4.
- 32- Shen Y, Gao Y, Lin J, Ma J, Wang Z, Haapasalo M. Methods and models to study irrigation. *Endod Topics.* 2012;27(1):3-34.
- 33- Siqueira Jr JF, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod.* 1999;25(5):332-5.
- 34- Rahimi S, Shahi S, Gholizadeh S, Shakouie S, Rikhtegaran S, Soroush Barhaghi MH, et al. Bactericidal effects of Nd: YAG laser irradiation and sodium hypochlorite solution on *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(11):637-41.
- 35- Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000;26(6):331-4.

- 36- Berber V, Gomes B, Sena N, Vianna M, Ferraz C, Zaia A, et al. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J*. 2006;39(1):10-7.
- 37- Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*. 1994;20(6):276-8.
- 38- Shahani M, Subba Reddy V. Comparison of antimicrobial substantivity of root canal irrigants in instrumented root canals up to 72 h: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2011;29(1):28-33.