بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره Citrus aurantifolia علیه انتروکوکوس فکالیس موجود در توبول‌های عاجی در حضور لایه اسمیر

دکتر محمد رضا شریفیان[۱]- دکتر نوشین شکوهی نژاد+[۲]- دکتر حمید رضا منصف اصفهانی[۳]- مرضیه علی قلی[۴]- دکتر مهرک امجدی[۵]

۱- دانشیار گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی و عضو مرکز تحقیقات لیزر در دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

۲- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی و عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، عضو مرکز تحقیقات اندودنتیکس

۳- استادیار گروه آموزشی فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

۴- کارشناس ارشد گروه آموزشی میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

۵- دندانپزشک

Antimicrobial effect of Citrus aurantifolia extract on Enterococcus faecalis within the dentinal tubules in the presence of smear layer

Sharifian MR[1], Shokouhinejad N[2], Monsef Esfahani HR[3], Aligholi M[4], Amjadi M[5]

1- Associate Professor, Department of Endodontics/Laser Research Center in Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences

2- Assistant Professor, Department of Endodontics/Dental Research Center, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, and Iranian Center for Endodontic Research

3- Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences

4- Lecturer, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences

5- Dentist

Background and Aims: Instrumentation of the root canals results in formation of smear layer which covers the dentinal tubules. In infected teeth, it is ideal to achieve a material that has the ability to remove the smear layer besides antimicrobial activity. Therefore, this study was designed to evaluate the antimicrobial effect of Citrus aurantifolia extracts (lime juice and rind extract) on Enterococcus faecalis within dentinal tubules in the presence of smear layer.

Materials and Methods: One-hundred and forty dentin tubes were prepared from bovine incisors. After removal the smear layer, the specimens were infected with Enterococcus faecalis. Then, the smear layer was reformed. Test solutions were used as the irrigants in study roups as follows: group 1: 5.25% NaOCl; group 2: 17% EDTA; group 3: NaOCl+EDTA; group 4: Lime juice; group 5: ethanolic rind extract of C.aurantifolia; group 6: 96% ethanol. Dentin chips were collected from inner and outer layers of dentinal walls and optical density was measured. The data were analyzed using one-way ANOVA and Tamhane tests.

Results: In outer layer of dentin, the efficacy of rind extract was less than that of NaOCl+EDTA ($P<0.05$). Also Lime juice was less effective than EDTA, NaOCl and NaOCl+EDTA ($P<0.05$). In inner layer of dentin, Lime juice was significantly less effective than NaOCl and NaOCl+EDTA ($P<0.05$). The efficacy of rind extract was less than that of NaOCl+EDTA ($P<0.05$).

Conclusion: In the presence of smear layer, the antimicrobial activity of Lime juice was less than that of NaOCl but the efficacy of rind extract was similar to that of NaOCl.

Key Words: Enterococcus faecalis; Antimicrobial Citrus aurantifolia; Smear layer

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2011;24(3):148-155

+ مؤلف مسؤول: نشانی: تهران- انتهای کارگر شمالی بعد از انرژی اتمی- دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران- گروه آموزشی اندودنتیکس
تلفن: ۸۸۴۹۷۴۰۰ نشانی الکترونیک: shokouhinejad@yahoo.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

چکیده

زمینه و هدف: حین اینسترومنتیشن کانال‌های ریشه در درمان‌های اندودانتیک لایه اسمیر بر روی دیواره‌های کانال تشکیل می شود که توبول‌های عاجی را می‌پوشاند. در صورتی که محلول‌های شستشو دهنده بتوانند لایه اسمیر را حذف نمایند و در عین حال خاصیت ضد میکروبی داشته باشند، می‌توان از این مزیت در کانال‌های عفونی بهره گرفت. لذا این مطالعه به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره قسمت داخلی گوشتی میوه Citrus aurantifolia (آب لیموترش) و پوست آن علیه انتروکوکوس فکالیس موجود در توبول‌های عاجی ریشه در حضور لایه اسمیر طراحی شد.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۴۰ سیلندر عاجی از دندان‌های سانترال انسیزور گاو تهیه شد. بعد از حذف لایه اسمیر، سوسپانسیون انتروکوکوس فکالیس به داخل لوله‌ها تلقیح و لایه اسمیر مجدداً ایجاد شد. در گروه‌های مورد مطالعه از محلول‌های زیر به منظور شستشوی کانال استفاده گردید: گروه ۱: NaOCl ۵/۲۵٪، گروه ۲:EDTA ۱۷٪، گروه ۳: NaOCl +EDTA، گروه ۴: آب لیمو، گروه ۵: عصاره اتانولی پوست لیمو ترش، گروه ۶: اتانول ۹۶٪. سپس خرده‌های عاجی از لایه‌های داخلی و خارجی‌تر عاج به دست آمد و از نظر کدورت ناشی از رشد میکروبی بررسی شد. آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی Tamhan در این مطالعه استفاده شدند.

یافته‌ها: در لایه خارجی عاج، خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیمو فقط از گروه NaOCl+EDTA کمتر بود (P<۰/۰۵) و خاصیت ضد میکروبی آب لیمو از گروه‌های NaOCl+EDTA، NaOCl و EDTA کمتر بود (P<۰/۰۵). در لایه داخلی، خاصیت ضد میکروبی آب لیمو از گروه‌های NaOCl+EDTA و NaOCl کمتر بود (P<۰/۰۵) و خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست از NaOCl+EDTA کمتر بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: در حضور لایه اسمیر، خاصیت ضد میکروبی آب لیموترش از NaOCl کمتر بود، در حالی که بین خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیمو و NaOCl تفاوتی وجود نداشت.

کلید واژه‌ها: انتروکوکوس فکالیس؛ ضد میکروبی؛ لایه اسمیر؛ Citrus aurantifolia

وصول: ۹۰/۰۲/۱۵ اصلاح نهایی: ۹۰/۰۵/۳۰ تأیید چاپ: ۹۰/۰۶/۱۰

مقدمه

هدف اصلی درمان کانال ریشه، حذف میکروارگانیسم‌ها و محصولات آنها از سیستم کانال ریشه قبل از پر کردن کانال‌ها می‌باشد. گرچه آماده سازی به روش مکانیکی و شیمیایی نقش مهمی در پاکسازی کانال ریشه ایفا می‌نماید، اما قادر به حذف کامل میکروارگانیسم‌ها از سیستم پیچیده کانال ریشه نمی‌باشد. بنابراین لزوم استفاده از عوامل ضد میکروبی جهت ضد عفونی هر چه بیشتر سیستم کانال ریشه منطقی به نظر می‌رسد.

انتروکوکوس فکالیس میکروارگانیسم مقاومی است که نقش مهمی در اتیولوژی ضایعات اطراف ریشه پایدار و مقاوم به درمان کانال ریشه ایفا می‌نماید. مطالعات نشان داده‌اند که انتروکوکوس فکالیس بیشترین میکروارگانیسم تشکیل دهنده فلور میکروبی کانال‌های ریشه همراه با ضایعات مقاوم پس از درمان ریشه می‌باشد (۱).

تاکنون محلول‌های ضد عفونی کننده فراوانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که هر یک دارای مزایا و معایبی می‌باشند. هیپوکلریت سدیم (NaOCl) علی رغم دارا بودن خاصیت ضد میکروبی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله انتروکوکوس فکالیس و همچنین حلالیت نسبی، دارای معایبی از جمله سمیت سلولی و سوزانندگی بافتی، طعم و بوی بد و از بین بردن رنگ لباس‌های بیمار می‌باشد.

EDTA علیرغم توانایی در حذف اجزای معدنی لایه اسمیر، دارای اثرات سمی می‌باشد (۲،۳). بنابراین استفاده از محلول‌های سازگار با بافت‌های میزبان و سمیت نسجی کمتر می‌تواند از پاسخ‌های التهابی ناخواسته در بافت‌های اطراف ریشه جلوگیری نماید، به ویژه اگر خود از خواص ضد التهابی نیز برخوردار باشند.

مطالعات نشان داده‌اند که اینسترومنتیشن مکانیکی کانال‌های ریشه سبب ایجاد لایه اسمیر بر روی دیواره‌های کانال می‌شود (۴،۵). نشان داده شده است که لایه اسمیر به تنهایی ممکن است عفونی باشد و از باکتری‌های موجود در داخل توبول‌های عاجی حمایت کند (۶) و پتانسیل لطمه زدن به سیل پر کردگی کانال ریشه را داشته باشد (۷،۸). بنابراین ایده‌آل است که بتوان به ماده‌ای دست یافت که علاوه بر توانایی حذف لایه اسمیر، خاصیت ضد میکروبی بر علیه میکروارگانیسم‌های موجود در کانال ریشه و توبول‌های عاجی را نیز داشته باشد.

گیاهان همواره منبع رایجی از عوامل دارویی بوده‌اند و بسیاری از آنها اثرات درمانی منحصر به فردی در درمان بیماری‌ها دارند. در میان گیاهان مهم کشت شده در ایران، گونه (Citrus) از تیره نارنج

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

(Rutaceae) قرار دارند. تیره نارنج شامل گروه‌های متعددی با اختصاصات گیاه شناسی متمایز است که در بین آنها (Risso) Citrus limonum یا Citrus aurantifolia (Chrism) (۹) (لیموترش) قرار دارد. فعالیت ضد میکروبی قسمت‌های مختلف این گیاه علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین کاندیدا آلبیکانس نشان داده شده است (۱۰).

آب لیموترش دارای ۸۸٪ آب، ۶ تا ۸٪ اسید سیتریک، ۲٪ سیترات پتاسیم و کلسیم، ۰/۴۰ تا ۰/۵۰٪ و غیره است (۱۱). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که اسید سیتریک قادر است لایه اسمیر را حذف کند (۱۵-۱۲). همچنین در مطالعاتی خاصیت ضد میکروبی این ماده ثابت شده است (۱۶،۱۷).

بنابراین با توجه به آنکه لیمو ترش حاوی اسید سیتریک است و این ماده علاوه بر خصوصیات ضد میکروبی، توانایی حذف لایه اسمیر را هم دارد، به دلیل باز نمودن دهانه توبول‌های عاجی ممکن است قادر به ضد عفونی نمودن عاج آلوده نیز باشد.

لذا این مطالعه به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی دو نوع عصاره از گیاه لیمو ترش (عصاره قسمت داخلی گوشتی میوه یا همان آب لیمو و عصاره الکلی پوست) به عنوان شستشو دهنده کانال با شستشو دهنده‌های شیمیایی رایج طراحی شد.

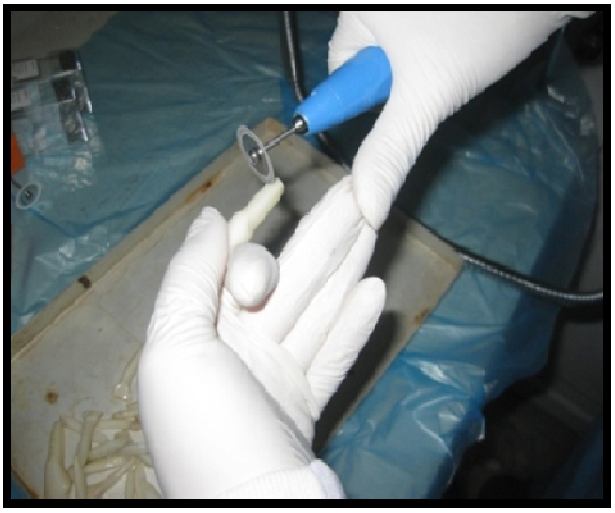
روش بررسی

آماده سازی نمونه‌ها

در این مطالعه ۱۴۰ سیلندر عاجی به ارتفاع ۴ میلی متر از ریشه دندان‌های سانترال انسیزور گاو تهیه شد (شکل ۱). پس از پوشاندن سطح خارجی سیلندرها توسط دو لایه لاک ناخن، جهت جلوگیری از خروج محلول شستشو دهنده، سطح خارجی سیلندرهای عاجی با فویل پوشانده شد و نمونه‌ها در آکریل مانت شدند (شکل ۲). سپس در تک تک سیلندرهای عاجی استاندارد شده، به منظور حذف لایه اسمیر از EDTA ۱۷٪ به مدت یک دقیقه و سپس شستشو با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ استفاده شد. پس از آن سیلندرها با استفاده از اتوکلاو استریل شدند.

تهیه سوسپانسیون انتروکوکوس فکالیس

باکتری انتروکوکوس فکالیس در محیط Brain Heart Infusion agar کشت و در شرایط هوازی در انکوباتور و حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از حصول اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها، کلونی باکتری‌ها در Brain Heart Infusion broth به طور جداگانه حل شده و سوسپانسیونی با کدورت ۱ مک فارلند تهیه شد.



شکل ۱- تهیه سیلندرهای عاجی از یک سوم میانی ریشه دندان‌های انسیزور گاو

شکل ۲- سیلندرهای عاجی مانت شده در آکریل

تلقیح سوسپانسیون میکروبی به داخل نمونه‌ها:

در مرحله بعد، هر دو روز یکبار با سرنگ انسولین از سوسپانسیون میکروبی برداشته و داخل کانال‌ها تلقیح شد. سپس دندان‌ها به وسیله

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

سرپوشی از کاغذ آلومینیومی استریل پوشانده شدند و جهت حداکثر نفوذ باکتری‌ها به داخل توبول‌های عاجی، نمونه‌ها به مدت ۴ هفته در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. در گروه کنترل منفی، محیط کشت BHI broth استریل به کانال‌ها اضافه شد.

بعد از اتمام زمان تلقیح، جهت اطمینان از نفوذ میکروارگانیسم‌ها به داخل توبول‌های عاجی، ۱۰ نمونه به صورت اتفاقی از بین نمونه‌ها انتخاب شدند و در مقاطع عاجی داخلی و خارجی با استفاده از دریل‌های گیتس گلیدن شماره ۵ و ۶ از عاج نمونه برداری شد. سپس در باقی نمونه‌ها توسط هدستروم شماره ۵۰، لایه اسمیر مجدداً ایجاد گردید، بدین صورت که ۳ بار به طور محیطی و با حرکت Push & Pull، هدستروم بر روی دیواره‌های کانال کشیده شد.

سپس در گروه‌های مورد مطالعه از محلول‌های مورد آزمایش بدین ترتیب استفاده گردید: گروه ۱: NaOCl ۵/۲۵٪، گروه ۲: EDTA ۱۷٪، گروه ۳: NaOCl+EDTA، گروه ۴: آب لیمو ترش (Lime juice)، گروه ۵: عصاره اتانولی پوست لیمو ترش (Rind Extract)، گروه ۶: اتانول ۹۶٪ گروه ۷: در این گروه سیلندرهای عاجی استریل قرار گرفت. همچنین سیلندرهای عاجی عفونی که در آنها شستشو با آب مقطر صورت گرفت کنترل مثبت (گروه ۸) در نظر گرفته شد.

به منظور تهیه عصاره‌های میوه لیمو ترش، در طی دو مرحله به صورت مجزا، یک مرحله از قسمت آبدار داخلی و در مرحله بعد از پوست میوه، عصاره گیری با روش زیر به عمل آمد:

برای تهیه آب لیمو، ابتدا پوست میوه از قسمت آبدار آن جدا شد، سپس بخش آبدار میوه با استفاده از هموژنایزر، هموژن شده و در مرحله بعد توسط کاغذ صافی و قیف بوخنر (صافی خلاء) صاف شد.

برای تهیه عصاره پوست لیمو ترش از روش خیساندن (Maceration یا Soaking Steep) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا قسمت سطحی پوست میوه از سایر قسمت‌های پوست جدا گردید. سپس به قطعات کوچکتری تقسیم شد و داخل حلال مورد نظر (اتانول ۹۶٪) با نسبت وزنی ۱ به ۱ غوطه ور شد و به مدت ۴۸ ساعت به این صورت در دمای محیط باقی ماند و سپس عصاره بدست آمده صاف گردید (۱۸).

در لومن سیلندرهای عاجی در گروه ۱ و۲ و۴ و ۵ و ۶ محلول‌های شستشو دهنده به مدت ۲۰ دقیقه داخل کانال‌ها باقی ماند. در گروه ۳ (NaOCl+EDTA)، طبق روش رایج حذف لایه اسمیر، ابتدا کانال با ۱ میلی لیتر NaOCl (۲۰ دقیقه) سپس ۱ میلی لیتر EDTA (۱ دقیقه) و در نهایت با ۱ میلی لیتر دیگر NaOCl شستشو داده شد.

سپس قبل از تهیه براده‌های عاجی، محلول‌های مورد آزمایش با استفاده از محلول خنثی کننده بی اثر گردیدند. خنثی کننده مورد استفاده حاوی۳٪ Tween 80، لسیتین ۰/۳٪ و سیستئین ۰/۱٪ بود که با آب مقطر رقیق شد وPH محلول با استفاده از NaOH به ۷±۰/۲ رسید و با فیلتراسیون استریل شد.

در مرحله بعد آکریل از زیر لومن سیلندرهای عاجی حذف گردید و خرده‌های عاجی از داخل کانال‌ها توسط گیتس گلیدن شماره ۵ (لایه داخلی تر عاج) و ۶ (لایه خارجی تر عاج) به دست آمد. براده‌های عاجی به دست آمده از تراش توسط هر کدام از دریل‌ها به طور جداگانه، بلافاصله در تیوب‌های آزمایشی مجزا حاوی ۳ میلی لیتر از آبگوشت BHI تازه جمع آوری شدند. پس از انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد، لوله‌ها از نظر وجود کدورت ناشی از رشد میکروبی بررسی شدند.

بدین صورت که ۱ میلی لیتر از قسمت فوقانی BHI موجود در تیوب‌های حاوی براده‌های عاجی برداشته شد و دانسیته نوری (Optical Density:OD) آنها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر بررسی شد. دانسیته نوری گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل مثبت با دانسیته نوری BHI حاوی براده‌های عاجی استریل (گروه کنترل منفی) مقایسه گردید.

جهت اطمینان از عدم آلودگی ناشی از محیط و تعیین نوع میکروارگانیسم باقیمانده در توبول‌های عاجی، از محیط‌های کشت کدر شده نمونه برداشته و بر روی محیط BHI-agar در شرایط هوازی کشت داده شد. پس از اتمام انکوباسیون، انجام رنگ آمیزی گرم و تست‌های تشخیصی هویت میکروارگانیسم‌ها صورت گرفت.

جهت انجام آنالیز آماری از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و تست تکمیلی Tamhane جهت مقایسه محلول‌ها استفاده شد. p=۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

جدول ۱- میانگین (± انحراف معیار) دانسیته نوری (OD) براده‌های تهیه شده از لایه داخلی و خارجی عاج

محلول‌های شستشودهنده	میانگین (± انحراف معیار) OD داخلی	میانگین (± انحراف معیار) OD خارجی
NaOCl	۰/۴۷ (± ۰/۱۹)	۰/۳۵ (± ۰/۲۲)
EDTA	۰/۴۷ (± ۰/۲۴)	۰/۳۳ (± ۰/۲۴)
NaOCl+EDTA	۰/۲۷ (± ۰/۲۴)	۰/۲۳ (± ۰/۲۱)
آب لیمو ترش	۰/۷۰ (± ۰/۱۸)	۰/۶۶ (± ۰/۱۷)
عصاره پوست لیمو	۰/۵۹ (± ۰/۲۷)	۰/۵۶ (± ۰/۲۹)
اتانول ۹۶٪	۰/۵۲ (± ۰/۲۹)	۰/۴۷ (± ۰/۱۷)
آب مقطر (کنترل مثبت)	۰/۵۸ (± ۰/۱۷)	۰/۵۷ (± ۰/۲۴)

یافته‌ها

مقایسه گروه‌های مختلف از لحاظ میزان OD داخلی

با توجه به آنالیز One-way ANOVA، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه وجود داشت. با توجه به تست Tamhane، از نظر میزان OD داخلی بعد از شستشو با محلول‌های مورد آزمایش نتایج زیر به دست آمد که در جدول ۱ و نمودار ۱ به تصویر کشیده شده است:

خاصیت ضد میکروبی NaOCl+EDTA به طور معنی‌داری از آب لیمو ترش و عصاره پوست لیمو بیشتر بود، در حالیکه بین NaOCl+EDTA و گروه‌های دیگر مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

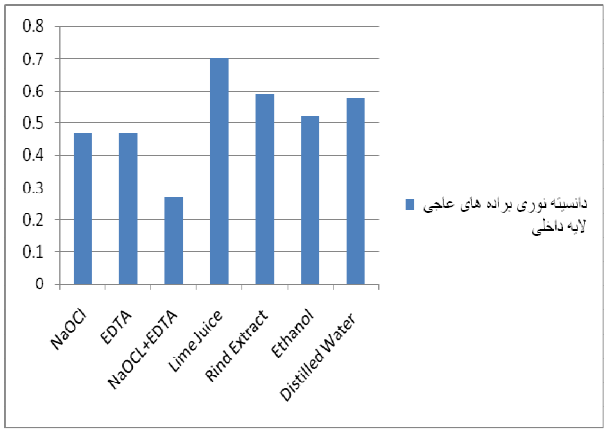
خاصیت ضد میکروبی آب لیمو ترش به طور معنی‌داری از گروه‌های NaOCl+EDTA و NaOCl کمتر بود، در حالیکه بین خاصیت ضد میکروبی آب لیمو ترش، عصاره پوست لیمو، EDTA، اتانول ۹۶٪ و آب مقطر در گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیمو به طور معنی‌داری از NaOCl+EDTA کمتر بود، در حالیکه بین عصاره پوست لیمو و گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

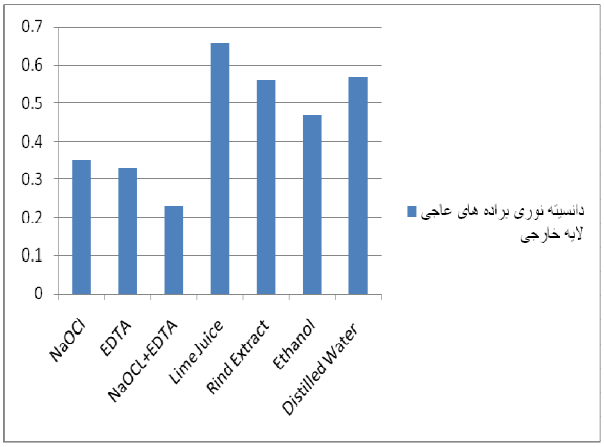
مقایسه گروه‌های مختلف از لحاظ میزان OD خارجی

با توجه به تست Tamhane، از نظر میزان OD خارجی بعد از شستشو با محلول‌های شستشو دهنده نتایج زیر به دست آمد (جدول ۱ و نمودار ۲):

خاصیت ضد میکروبی NaOCl+EDTA به طور معنی‌دار از آب لیمو ترش، عصاره پوست لیمو، اتانول ۹۶٪ و آب مقطر در گروه کنترل مثبت بیشتر بود. هر چند تفاوت معنی‌داری بین NaOCl+EDTA، NaOCl و EDTA وجود نداشت.



نمودار ۱- میانگین دانسیته نوری (OD) براده‌های عاجی تهیه شده از لایه داخلی عاج بعد از شستشو با محلول‌های مورد آزمایش



نمودار ۲- میانگین دانسیته نوری (OD) براده‌های عاجی تهیه شده از لایه خارجی عاج بعد از شستشو با محلول‌های مورد آزمایش

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیمو فقط از NaOCl+EDTA به طور معنی‌داری کمتر بود، در حالیکه بین خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیمو و سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

خاصیت ضد میکروبی آب لیمو ترش به طور معنی‌دار از NaOCl+EDTA، NaOCl و EDTA کمتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

انتروکوکوس فکالیس شایع‌ترین گونه مجزایی است که در کانال ریشه دندان‌های درمان ریشه شده دارای پریودنتیت اپیکال مقاوم یا عود کننده حضور دارد (۱۹). صرف زمان ۴ هفته برای کشت این باکتری در داخل کانال‌ها به دلیل اطمینان از ورود باکتری‌ها به داخل توبول‌های عاجی در نظر گرفته شد. زمان انتخاب شده با توجه به مطالعه قبلی انجام شده بر روی باکتری مذکور صورت گرفته است (۲۰).

در خصوص انتخاب اتانول ۹۶٪ به عنوان حلال، لازم به ذکر است که بهترین حلالی که با آن می توان عصاره خام یک گیاه را به دست آورد متانول و یا اتانول ۸۰٪ یا ۸۵٪ می باشد. زیرا محققین به این نتیجه رسیده‌اند که این حلال‌ها می‌توانند ۸۰٪ مواد متشکله گیاه را در خود حل نمایند (۱۸). با توجه به آنکه در مطالعه حاضر اتانول در معرض بافت تازه گیاه درجه الکلی آن پایین می‌آمد، اتانول ۹۶٪ انتخاب گردید.

مطالعات نشان داده‌اند که ضد عفونی کننده‌هایی که حاوی ۷۰٪ تا ۷۹٪ اتانول می‌باشند، به عنوان مؤثرترین ضد عفونی کننده‌ها در سطوح تمیز در نظر گرفته می‌شوند (۲۱). بنابراین به منظور بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌ها به تنهایی، اتانول ۹۶٪ نیز به عنوان یکی از گروه‌های مورد آزمایش در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت.

در طی این مطالعه قبل از استفاده از محلول‌های شستشو دهنده به منظور اطمینان از رشد باکتری‌ها در داخل کانال و تعیین میزان نفوذ آنها به داخل توبول‌های عاجی، ۱۰ نمونه به صورت اتفاقی از بین نمونه‌ها انتخاب شد و در مقاطع عاجی مورد نظر (۰/۱ و ۰/۲ میلی متری) از عاج نمونه برداری شد و جهت رشد میکروارگانیسم در مقاطع عاجی کشت میکروبی داده شد، چرا که ممکن بود عدم حضور میکروارگانیسم‌ها پس از استفاده از داروهای داخل کانال به علت عدم نفوذ اولیه میکروارگانیسم‌ها به داخل توبول‌های عاجی باشد. در تمامی این ۱۰ نمونه و همچنین نمونه‌های گروه کنترل مثبت، کشت براده‌های عاجی مثبت بود.

منفی بودن کشت براده‌های عاجی در گروه کنترل منفی در تمام مقاطع مورد نظر نشان دهنده صحت استریلیزاسیون به عمل آمده در ابتدای آزمایش است.

تاکنون در مطالعات مختلف اثرات آنتی میکروبیال Citrus aurantifolia (لیموترش) بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف نشان داده شده است. با توجه به آن که در هیچ یک از مطالعات انجام شده در زمینه بررسی خاصیت ضدمیکروبی لیموترش (۲۵-۲۲،۱۰)، خاصیت ضد میکروبی علیه انتروکوکوس فکالیس بررسی نشده است، نتایج آنها قابل قیاس با مطالعه حاضر نمی‌باشد. همچنین در مطالعات مختلف اثرات آنتی میکروبیال هیپوکلریت سدیم و EDTA بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف نشان داده شده است.

Heling و Chandler (۲۶) در مطالعه خود نشان دادند که اثر ضد میکروبی ۳٪H۲O۲، NaOCl ۱٪ و ۰/۲٪CHX از EDTA ۱۷٪ بیشتر است. در حالیکه اختلاف EDTA و نرمال سالین معنی‌دار نبود. همینطور Berber و همکاران (۲۷) در مطالعه خود نشان دادند که هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ بیشترین اثر را در کاهش میکروب در توبول‌های عاجی داراست و بعد از آن هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ بیشترین اثر را نشان داد. آهنگری و همکاران (۲۰) نیز در یک مطالعه in vitro نشان دادند که سه محلول شستشوی کانال ریشه (هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪، کلرهگزیدین ۲٪ و MTAD) دارای اثر ضد میکروبی قابل قبولی علیه انتروکوکوس فکالیس در توبول‌های عاجی ریشه می‌باشند. در این مطالعه، بعد از حذف لایه اسمیر و کشت باکتری در داخل توبول‌های عاجی، از محلول‌های ذکر شده برای شستشوی کانال ریشه استفاده شد. نتایج نشان داد که بین محلول‌های مورد آزمایش از لحاظ خاصیت ضد میکروبی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

لازم به ذکر است که بر اساس مطالعات فوق، هیپوکلریت سدیم در عدم حضور لایه اسمیر قادر به حذف انتروکوکوس فکالیس از توبول‌های عاجی ریشه می‌باشد ولی با توجه به آنکه مطالعات فوق در غیاب لایه اسمیر صورت گرفته است، نتایج آن‌ها قابل مقایسه با

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

مطالعه حاضر نمی‌باشد.

شیخ رضایی و همکاران (۲۸) در تحقیقی که به منظور بررسی تأثیر NaOCl ۵/۲۵٪ بر انتروکوکوس فکالیس داخل کانال دندان‌های کشیده شده انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که NaOCl ۵/۲۵٪ به مدت ۵ دقیقه قادر است در تمامی نمونه‌ها انتروکوکوس فکالیس موجود در فضای کانال ریشه را از بین ببرد.

Estrela و همکاران (۲۹) در مطالعه خود روی اثرات ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم ۲٪ و کلرهگزیدین ۲٪ علیه انتروکوکوس فکالیس و تعدادی باکتری دیگر در شرایط آزمایشگاهی، نشان دادند که هر دو محلول مورد آزمایش دارای اثر ضد میکروبی علیه انتروکوکوس فکالیس می‌باشند. Heling و همکاران (۳۰) نیز در مطالعه دیگری اثرات باکتریسیدال غلظت‌های مختلف محلول‌های هیپوکلریت سدیم را علیه انتروکوکوس فکالیس و سه باکتری دیگر، در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و نشان دادند که غلظت باکتریسیدال هیپوکلریت سدیم برای از بین بردن انتروکوکوس فکالیس، ۲/۵٪ بود. با توجه به آنکه خاصیت ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم در دو مطالعه فوق بر روی عاج دندان بررسی نشده است، نتایج آن‌ها قابل مقایسه با مطالعه حاضر نمی‌باشد.

در مطالعه حاضر در بررسی لایه خارجی و داخلی عاج بعد از تهیه براده‌های عاجی، فقط بین خاصیت ضد میکروبی NaOCl+EDTA و آب مقطر تفاوت معنی‌داری وجود داشت، در حالیکه سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت نداشتند. از آن جاییکه مطالعات مختلف نشان داده‌اند که NaOCl+EDTA قادر به حذف لایه اسمیر می‌باشد (۳،۳۱)، می‌توان انتظار داشت که NaOCl+EDTA بالاترین میزان خاصیت ضد میکروبی را در توبول‌های عاجی داشته باشد.

بنابراین طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، در حضور لایه اسمیر تنها NaOCl+EDTA قادر به حذف انتروکوکوس فکالیس از توبول‌های عاجی می باشد زیرا این محلول می‌تواند لایه اسمیر را حذف کند. در حالی که NaOCl، EDTA، عصاره پوست لیمو، آب لیمو و اتانول، خاصیت ضدمیکروبی خوبی علیه میکروارگانیسم‌های موجود در توبول‌های عاجی در حضور لایه اسمیر نداشتند.

بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعه کنونی نتجه‌گیری می‌شود که در حضور لایه اسمیر در لایه‌ها داخلی و خارجی عاج، خاصیت ضد میکروبی آب لیموترش از NaOCl به تنهایی کمتر بود. در حالیکه بین خاصیت ضد میکروبی عصاره پوست لیموترش و NaOCl تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و خاصیت ضد میکروبی آب لیمو و پوست لیمو ترش کمتر از NaOCl+EDTA بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره Citrus aurantifolia علیه انتروکوکوس فکالیس در توبول‌های عاجی ریشه در حضور لایه اسمیر (ex vivo) در مقطع دکترای حرفه‌ای در سال ۱۳۸۹ و کد ۹۱۵۳ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

همچنین از زحمات بی شائبه جناب آقای دکتر محمد جواد خرازی فرد در تجزیه و تحلیل داده‌ها تشکر می‌گردد.

منابع:

1- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002;35(3):221-8.

2- Koulaouzidou EA, Margelos J, Beltes P, Kortsaris AH. Cytotoxic effects of different concentrations of neutral and alkaline EDTA solutions used as root canal irrigants. J Endod. 1999;25(1):21-3.

3- Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. J Oral Sci. 2001;43(4):233-8.

4- McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. J Endod. 1975;1(7):238-42.

5- Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. J Endod. 1984;10(10):477-83.

6- Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94(6):658-66.

7- Economides N, Liolios E, Kolokuris I, Beltes P. Long-term evaluation of the influence of smear layer removal on the sealing ability of different sealers. J Endod. 1999;25(2):123-5.

8- Shahravan A, Haghdoost AA, Adl A, Rahimi H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. J Endod. 2007;33(2):96-105.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]

۹- مظفریان ولی الله. فرهنگ نام های گیاهان ایران. چاپ پنجم. تهران: انتشارات فرهنگ معاصر؛ ۱۳۸۶.

10- Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of Citrus aurantifolia (Lime fruit) as used locally. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2006;4(2):185-90.

۱۱- زرگری علی. گیاهان دارویی. چاپ هفتم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران؛۱۳۷۰.

12- Sousa SM, Silva TL. Demineralization effect of EDTA, EGTA, CDTA and citric acid on root dentin: a comparative study. Braz Oral Res. 2005;19(3):188-92.

13- Gotze GdaR, Cunha CB, Primo LS, Maia LC. Effect of the sodium hypochlorite and citric acid association on smear layer removal of primary molars. Braz Oral Res. 2005;19(4): 261-6.

14- Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. J Endod. 2008;34(5):599-602.

15- Scelza MF, Pierro V, Scelza P, Pereira M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004;98(4):499-503.

16- Ko KY, Mendonca AF, Ahn DU. Influence of zinc, sodium bicarbonate, and citric acid on the antibacterial activity of ovotransferrin against Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes in model systems and ham. Poult Sci. 2008;87(12):2660-70.

17- Nagoba BS, Wadher BJ, Rao AK, Kore GD, Gomashe AV, Ingle AB. A simple and effective approach for the treatment of chronic wound infections caused by multiple antibiotic resistant Escherichia coli. J Hosp Infect. 2008;69(2):177-80.

۱۸- صمصام شریعت سید هادی. عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها. چاپ اول. اصفهان: انتشارات مانی؛ ۱۳۷۱.

19- Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J. 2001;34(6):429-34.

20- Ahangari Z, Samiee M, Yolmeh MA, Eslami G. Antimicrobial activity of three root canal irrigants on Entrococcus Faecalis: an in vitro study. Iran Endod J. 2008;3(2):33-7.

21- Christensen RP, Robinson RA, Robinson DF, Ploeger BJ, Leavitt RW, Bodily HL. Antimicrobial activity of environmental surface disinfectants in the absence and presence of bioburden. J Am Dent Assoc. 1989;119(4):493-505.

22- Onyeagba RA, Ugbogu OC, Okeke CU, Iroakasi O. Studies on the antimicrobial effects of garlic (Allium sativum Linn), ginger (Zingiber officinale Roscoe) and lime (Citrus aurantifolia Linn). Afr J Biotechnol. 2004;3(10):552-4.

23- Melendez PA, Capriles VA. Antibacterial properties of tropical plants from Puetro Rico. Phytomedicine. 2006;13(4):272-6.

24- Owhe-Ureghe UB, Ehwarieme DA, Eboh DO. Antibacterial activity of garlic and lime on isolates of extracted carious teeth. Afr J Biotechnol. 2010;9(21):3163-6.

25- Ibrahim M, Homa Z. (2010). In vitro antimicrobial & cytotoxic activity of citrus aurantifolia & Dioscorea alata. Retrieved September 26, 2010, from http://www.google.com

26- Heling I, Chandler NP. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. Int Endod J. 1998;31(1):8-14.

27- Berber VB, Gomes BP, Sana NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Entrococcus faecalis within root canals and dentinal tubules. Int Endod J. 2006;39(1):10-7.

28- Sheykhrezaei MS, Aligholi M, Biglar KH. An in–vitro evaluation of the ability of 5.25% NaOCl in the elimination of Enterococcus Faecalis from root canal. J Dent TUMS. 2004:1(2):45-8.

29- Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. Braz Dent J. 2003;14(1):58-62.

30- Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-levine Y, Steinberg D. Bactericidal and Cytotoxic effects of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate solutions in vitro. J Endod. 2001;27(4):278-80.

31- Teixeira CS, Felippe MC, Felippe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. Int Endod J. 2005;38(5):285-90.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-10]