مقاله پژوهشي

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان دوره دهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۰، ۱۳–۳

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

زینب کاظمیزاده^ا، 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٪)، عیصاره 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 (۱۹۹) و بیهوازی (۱۹۹) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاهک اندازه گیری و ثبت گردید.

یافتهها: نتایج نشان داد که هیپوکلریت سدیم $^{0}/^{0}$ اثر ضدمیکروبی بیشتری در مقایسه با دیگر مواد در هر دو گروه هوازی و بیهوازی دارد که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود $^{0}/^{0}$. بعد از هیپوکلریت سدیم $^{0}/^{0}$ ، مؤثر ترین ماده به ترتیب: کلرهگزیدین $^{0}/^{0}$ عصارهٔ خالص سیر، مخلوط کلرهگزیدین $^{0}/^{0}$ با عصاره خالص سیر و عصاره سیر $^{0}/^{0}$. بود $^{0}/^{0}$. اختلاف بین اثر ضدمیکروبی عصاره خالص سیر و ترکیب کلرهگزیدین $^{0}/^{0}$ با عصاره خالص سیر در $^{0}/^{0}$ هوازی معنی دار نبود.

نتیجه گیری: 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، داتشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تلفن: ۸۲۲۰۰۱۳ ۸۲۲۰۰۱۸ دورنگار: ۰۳۴۱- ۸۲۲۰۰۸ بیست الکترونیکی: z_kazemizadeh@rums.ac.ir

۲- استادیار گروه اَموزشی علوم آزمایشگاهی، داتشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

٣- دانشيار گروه آموزشي پزشكي اجتماعي، داتشكده پزشكي، دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان

مقدمه

یکی از موضوعات مورد بحث در درمان ریشه دندان که از اهمیت بالایی برخبوردار میباشید، از بین بردن میکروارگانیسمهای 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 می تواند به علت از بین نرفتن و یا حذف ناکامل باکتری های 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 میکرو ارگانیسم 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 می شود 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 پالیپ و حذف دبریها و بافتها از کانال ریشه مورد استفاده قرار میکروارگانیسمها از کانال ریشه مورد استفاده قرار گرفتهاند [۴].

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

هیپوکلریت سدیم به علت توانایی در حل کردن بافتها و اثرات ضدمیکروبی آن، بیش از ۷۰ سال با غلظتهای مختلف در درمان ریشه دندان استفاده شده است [۶]. خاصیت ضدمیکروبی 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 میشود [۷]. اگر چه این ماده خاصیت میکروارگانیسم میشود [۷]. اگر چه این ماده خاصیت ضدمیکروبی 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 کلرهگزیدین گلوکونات به عنوان یک محلول ضدمیکروبی در درمان ریشه دندان اشاره کردهاند. چون کلرهگزیدین گلوکونات یک ماده ضدمیکروبی وسیعالطیف است که میتواند به عنوان یک ماده شستشودهنده استفاده شود. اثر ضدعفونی کنندگی آن در توبولهای عاجی و جذب شدن آن به داخل عاج و سمیت کمترش نسبت به هیپوکلریت سدیم، باعث مقبولیت این ماده شده است [۱۰-۹]. این ماده با اتصال به غشاء سیتوپلاسمی باکتریها، باعث از بین رفتن بالانس اسموتیک شده و منجر به ریز نشت مواد داخلی سلولی

می گردد [۱۱]. همچنین به هیدروکسی آپاتیت و بافت نرم متصل شده و میدان الکتریکی آنها را برای جلوگیری از اتصال باکتریها تغییر میدهد [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 هیپوکلریتسدیم، فاقد خاصیت حل کنندگی بافتی است [۱۴].

سیر (Allium Sativum) از زمانهای قدیم به عنوان دارو استفاده شده و خاصیت ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدقارچی آن شناخته شده است [۱۵]. عصاره سیر خام علیه بسیاری از باکتریهای پاتوژن معمول، گونههایی که در برابر آنتیبیوتیک مقاوم گشتهاند و حتی توکسین ایجاد شده توسط بعضی از گونههای پاتوژن مؤثر بوده است شده توسط بعضی از گونههای پاتوژن مؤثر بوده است [۱۶]. تحقیقات نشان داده که عصاره سیر و ماده مؤثر آن، آلیسین، طیف ضدمیکروبی وسیعی داشته و بر روی سالمونلا، استرپتوکوک، استافیلوکوک، کلبسیلا، پروتلا، کلستریدیوم، مایکوباکتریوم، هلیکوباکتر مؤثر میباشد

Bakri و Douglas و Douglas اثــر عــصاره ســیر را بــر روی باکتریهای مختلف دهان مورد بررسی قرار دادند. آنهـا بـا توجه به اثر ضدمیکروبی عصاره سیر بر روی این باکتریها، بیان کردند کـه امکـان اسـتفاده از آلیـسین بـرای درمـان پریودنتیت و عفونتهای دهان وجود دارد [۱۹].

بررسیهای مختلفی وجود دارد که اثرات شستشودهندههای موجود را تحت شرایط گوناگون بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس مورد مقایسه قرار دادهاند [۲۰–۲۰]، ولی تاکنون بررسی برای مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره سیر با دیگر شستشودهندههای کانال انجام نشده است.

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

مواد و روشها

ایـن پــژوهش آزمایــشگاهی، در بهــار ســال ۱۳۸۸ در آزمایشگاه بیمارستان علی ابن ابیطالب (ع) شهر رفسنجان انجام شد. در این بررسی، حجم نمونه بـر اسـاس مطالعـه Davis و همکاران [۲۱] انتخاب گردید. بر این اسـاس ۱۸ پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار ,Merck (Darmstadt, Germany آماده و برای بررسی اثر ضدمیکروبی محلولهای مورد آزمایش روش Well Agar diffusion به کار برده شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، از سویه استاندارد انتروکوکوس فکالیس (Manassas, VA, United States) ATCC 29212 گردید؛ چند کلونی از کشت خالص باکتری برداشته و در محيط مايع (Merck, Darmstadt, Germany) محيط soy broth تلقیح و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس غلظتی معادل ۰/۵ واحد مک فارلنـد از سویه حاصل تهیه و برای تلقیح بر روی پلیتهای حاوی محيط كشت مولر هينتون آگار استفاده شد. جهـت ايجـاد چاهک، لوله شیشهای استریل به قطر ۵ میلیمتر به کار گرفته شد، که در هر پلیت ۶ چاهک به فواصل مناسب از یکدیگر پانچ گردید. در هر یک از پلیتها، آب مقطر استریل به عنوان گروه کنترل در یکی از چاهکها ریخته

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

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

برای تهیه عصاره سیر از روش Moore برای تهیه عصاره سیر از روش 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 قرار گرفت. برای استریل کردن، عصاره حاصل از صافی بیس برای بردی آوردن غلظت ۸۰٪، عصاره خالص سیر سپس برای بدست آوردن غلظت ۸۰٪، عصاره خالص سیر با نسبت مناسبی از آب مقطر استریل رقیق شد.

محلولهای 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

شماره گذاری شده و ۵۰ میکرولیتر از آنها با استفاده از سمپلراسـتریل بـه صـورت کـور (Blind) در چاهـکهـای مخصوص خود که از قبل شماره گذاری شده بودند در هر پلیت ریخته شد. هر محلول در کل در ۱۸ چاهـک 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 پلیتها به طور تصادفی به ۲ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ (۹ پلیت) به صورت هوازی و گروه ۲ (۹ پلیت) به صورت بیهـوازی (در جار بی هوازی همراه بـا Anaerocult A) در ۳۷ درجـه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. برای ایجاد شرایط بیهسوازی Gas Pak (Merck, Darmstadt, شرایط بی (Germany همراه کاتالیست استفاده گردید تا اکسیژن را مصرف نماید و دیاکسیدکربن در محیط ایجاد کند. بعد از پایان زمان انکوباسیون، قطرهاله عدم رشد در اطراف چاهکها با خطکش میلیمتری اندازهگیری و ثبت شد.

دادههای به دست آمده به وسیلهٔ نرمافزار 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 گروههای موجود، از آزمون تعقیبی Tukey post- hoc استفاده شد. سطح معنیداری در بررسی آماری کمتر از ۱/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتايج

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

ط هوازی و بیهوازی	<i>وههای آزمایشی در شرای</i>	هاله عدم رشد میکرویی گر	<i>جدول ۱ - میانگین و انحراف</i> م <i>عیار قطر</i> ه	-
-------------------	------------------------------	-------------------------	--	---

بىھوازى**	هوازی [*]	گروه
انحراف معيار±ميانگين	انحراف معيار± ميانگين	محلول
قطر هاله عدم رشد (میلیمتر)	قطر هاله عدم رشد (میلیمتر)	
•	•	کنترل (آب مقطر)
1	17/68±1/47	عصاره خالص سير
18/44±1/•1	1 <i>5</i> /۲۲±1/•9	ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر
17/14 ±1/77	11/11±1/•Δ	عصاره سیر ۸۰٪
T1/8V±1/1T	71/77±•/8Y	کلرهگزیدین ۲٪
7 <i>۴</i> /٣٣±•/٨٧	74/Y4÷//Y	هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪

 $[F = (f/f \cdot) \ fff/f \ p = \cdot/ \cdots 1] \ ANOVA :*$

 $[F = (f/f \cdot) 1V f/f \cdot \lambda p = \cdot/\cdots 1] ANOVA : ***$

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 (p<٠/٠۵,ANOVA). همچنین در پلیستهایی 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 (p<٠/٠۵، ANOVA). 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 (p<٠/٠۵، ANOVA).

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

کلرهگزیدین ۲ ٪ با عصاره خالص سیر بود که این اختلاف فقط در شرایط بیه وازی معنی دار بود (ANOVA، p<-1/0).

میانگین هاله عدم رشد میکروبی عصاره خالص سیر در x هر یک از شرایط هوازی و بی هوازی به طور معنی داری بیشتر از عصاره سیر ۸۰٪ بود (p<-1/0 ANOVA).

میانگین هاله عدم رشد میکروبی برای ترکیب کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر در هر دو شرایط هوازی بی هوازی به طور معنی داری بیشتر از عصاره سیر ۸۰٪ بود (۹۲۰/۰۵ ، ANOVA).

بحث

در این مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره سیر بـا دو مـاده شستــشودهنده داخــل کانــال بــه روش Well Agar شستــشودهنده داخــل کانــال بــه روش Diffusion بر روی باکتری انتروکوکـوس فکـالیس مـورد مقایسه قرار گرفت. شیوع بالای انتروکوکـوس فکـالیس در عفونتهای مقاوم کانال ریشه، مهمترین دلیل انتخاب ایـن میکروارگانیسم برای مقایسه اثـر ضـدمیکروبی گـروههـای

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 ضدمیکروبی آلیسین در عصاره سیر باشد. در این مطالعات راهنما مشخص گردید که غلظتهای بالاتر عصاره سیر در محیط کشت مولرهینتون آگار اثر بیشتری بـر روی بـاکتری موجـود دارد. همچنـین گونههای مختلف سیر اثرات متفاوتی دارنـد کـه احتمـال دارد این تفاوت مربوط به کمیت ماده مؤثر در انواع سیر باشـد. Mehrabian و همكـاران در مطالعـهاى روى اثـر ضدمیکروبی عصاره سیر بر میکروفلورای دهان نشان دادند که سیر جنوب نسبت به سیر شمال و سیر همدان در غلظت و شرایط یکسان، اثر ضدمیکروبی قوی تری 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 [۲۸-۲۶، ۱۷-۱۶]. در مطالعه دیگری Elnima و همکاران نشان دادند که عصاره سیر ۲۵٪، اثر ضدمیکروبی خوبی بر روی میکروبهای دهانی انسان دارد [۲۹]. Groppo و همکاران کاهش قابل توجه استرپتوکوکهای براق را در اثر استفاده از عصاره سیر ۲۵٪ 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

آلبیکنس که معمولاً روی سطوح دهانی یافت می شود، اثر ضدقارچی قوی دارد [۲۶].

نتایج ایس بررسی آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم، کلرهگزیدین و عصاره سیر را بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس تأیید کرد. با ایس وجود عصاره خالص سیر، عصاره خالص سیر، اثر ضدمیکروبی کلرهگزیدین ۲٪ با عصاره خالص سیر، اثر ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی سیر انتخاب شدند و در عین حال اثربخشی غلظتهای مذکور توسط این پژوهش نیز تأیید شد.

وهمکاران در یک مطالعه برون تنی روی Oncag دندانهای کشیده شده، نشان دادند که اثر ضدمیکروبی کلرهگزیدین ۲٪ بسر روی انتروکوکسوس فکالیس (ATCC 29212) مؤثرتر از هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ است Davis مثارانش تفاوت معنیداری اثر ضدمیکروبی کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم (ATCC 4082) بین اثر ضدمیکروبی کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریت سدیم (ATCC بسر روی باکتری انتروکوکسوس فکالیس (ATCC برخلاف دو مطالعه فوق، در بررسی حاضر، اثر ضدمیکروبی برخلاف دو مطالعه فوق، در بررسی حاضر، اثر ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم (۵/۲۵٪ بر روی باکتری انتروکوکوس

فكاليس به طور معنى دارى بيشتر از كلرهگزيدين ٢٪ بود. ممكن است تفاوت موجود مربوط به روش بررسى اثر ضدميكروبى و نوع سوش انتخاب شده باشد. مطالعه Oncag بر خلاف روش مطالعه حاضر، روى دندانهاى كشيده شده طراحى شده بود و در مطالعه عاضر سوش بررسى شده با سوش موجود در پژوهش حاضر تفاوت داشته است.

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

Gomes و همکاران نشان دادند که اثر کلرهگزیدین هنگامی که با کلسیم هیدروکسید مخلوط می شود به طور معنی داری کاهش می یابد [۳۳]. زیرا کلرهگزیدین در محدوده PH و ۵–۷ پایدار می ماند و با افزایش PH مقادیر بیشتری از مولکولهای غیریونیزه کلرهگزیدین وجود دارد. همچنین کلرهگزیدین در PH بالا رسوب می کند و ممکن همچنین کلرهگزیدین در PH بالا رسوب می کند و ممکن است به صورت یک ماده ضدمیکروبی عمل نکند [۳۳-۳۳]. در مطالعه حاضر نیز مخلوط کلرهگزیدین ۲٪ و غیصاره خالص سیر، اثر سینرژیستی نداشته و اثر ضدمیکروبی هر یک از این مواد کاهش یافت که این موضوع را می توان با تغییرات احتمالی PH ناشی از مخلوط مورد نظر مرتبط دانست. همچنین از آنجا که خصوصیات ضدمیکروبی یک ماده در محیط کشت به طور مستقیم مربوط به توانایی انتشار آن در محیط مولر هینتون آگار

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

نتایج این مطالعه نشان داد که اثر ضدمیکروبی عصاره خالص سیر به طور معنیداری بیشتر از عصاره ۸۰٪ میباشد، که این اختلاف به علت تراکم بیشتر ماده ضدمیکروبی 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 می گردد در مطالعات دیگر با فراهم نمودن شرایط لازم برای بررسی اثر ضدمیکروبی 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.

نتيجهگيري

با در نظر گرفتن نتایج حاصل، عصاره سیر بـر بـاکتری انتروکوکوس فکالیس در شـرایط آزمایـشگاهی در محـیط هوازی و بـیهـوازی مـؤثر مـیباشـد، ولـی در مقایـسه بـا کلرهگزیدین ۲٪ و هیپوکلریـت سـدیم ۵/۲۵٪، اثربخـشی کمتری دارد. برای مقایسه دقیق تر اثر ضدمیکروبی عـصاره سیر بـا دیگـر موادشستـشودهنده داخـل کانـال، نیـاز بـه 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 پـژوهش و همچنـین از آقـای غلامرضـا کرمـی جهـت همراهـی در امـور آزمایشگاهی تقدیر و تشکر میشود.

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, Hilmioglu 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 Endodonties. 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