١٠٢٩٧٢

دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای تخصصی در رشته اندودنتیکس

عنوان:

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی کلسیم هیدروکساید در ترکیب با کلرهگزیدین، Camphorated paramonochlorophenol و Iodine pottasium Iodide بر روی توبولهای عاجی انسان آلوده به باکتری Enterococcus faecalis

به راهنمایی:

استاد ارجمند سرکار خانم دکتر شهره روانشاد

استادیار و مدیر گروه بخش اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی

استاد مشاور:

استاد گرامی جناب آقای دکتر عزت ا... بصیری

استادیار و مدیرگروه بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی

۱۳۸۷ /۷/ ۲۸

نگارش:

دکتر الهام خوش بین

۱۳۸۷ /۷/ ۲۸

تابستان ۱۳۸۲

پایان نامه شماره ۸۱۱

۱۰۲۹۷۳

به نام خدا

«ارزیابی پایان‌نامه»

پایان‌نامه تخصصی شماره ۸۱۱ در رشته اندودنتیکس تحت عنوان:

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی کلسیم هیدروکساید در ترکیب با کلرهگزیدین Camphorated paramonochlorophenol و Iodine pottasium Iodide بر روی توبولهای عاجی انسان آلوده به باکتری Enterococcus faecalis

با نگارش دکتر الهام خوش‌بین در تاریخ با نمره

و درجه مورد تأیید قرار گرفت.

نظر استاد محترم راهنما:

.....

.....

نظر هیئت محترم داوران:

.....

.....

.....

.....

.....

تقدیم به

برترین آفریده های هستی

پدر و مادرم

تقدیم به استاد گرانقدر

سرکار خانم دکتر شهره روانشاد

با تشکر و قدردانی از زحمات فراوان

و لطف و مهربانی بی‌شمار ایشان

با تشکر از استاد گرامی

جناب آقای دکتر عزت ا... بصیری

برای زحمات بی‌دریغ ایشان

در تهیه این پایان نامه

با قدردانی از استاد گرانقدر

جناب آقای دکتر اکبر خیاط

برای زحمات و راهنماییهای ارزشمندشان

در دوران تحصیل

با تشکر و قدردانی از اساتید محترم بخش اندودنتیکس

و

تمام اساتیدی که در آموزش من قبول زحمت فرمودند.

با تشکر از هیئت محترم داوران

چکیده

باکتریها و فرآورده های آنها، نقش مهمی را در ایجاد بیماریهای پالپ و پری اپیکال به عهده دارند. به منظور حذف باکتری از تمام نواحی کانال ریشه، خصوصاً نواحی غیرقابل دسترس نظیر توبولهای عاجی، استفاده از داروهای داخل کانال، مکمل مهمی برای آماده سازی مکانیکی-شیمیایی کانال ریشه محسوب می شود. امروزه کلسیم هیدروکساید داروی داخل کانال انتخابی است، اما در رابطه با اثر بخشی آن بر علیه باکتری E.faecalis که به طور عمده از موارد شکست درمان اندونتیک جدا می شود، تردید وجود دارد. هدف این مطالعه مقایسه اثر ضدمیکروبی کلسیم هیدروکساید در ترکیب با کلرهگزیدین۲درصد، CMCP و IKI ۲درصد بر روی توبولهای عاجی انسان آلوده شده بوسیله باکتری E.faecalis در شرایط آزمایشگاهی است.

به این منظور از یک مدل آزمایشگاهی برای ایجاد عفونت در توبولهای عاجی استفاده شد. ۷۵ نمونهٔ استوانه ای شکل از ریشه دندانهای قدامی فک بالای انسان که به تازگی کشیده شده بودند آماده شدند. (ارتفاع ٤mm، قطر ٤mm) بعد از برداشت سمنتوم، فضای کانال ریشه تمام نمونه ها به طور یکسان با استفاده از فرز round با اندازه‌ی Iso 016 آماده شدند. لایه اسمیر برداشته شده و نمونه ها به مدت ۳ هفته بوسیله باکتری E.faecalis آلوده شدند. از مجموع ۷۵ نمونه، ۵ نمونه به منظور ارزیابی نفوذ باکتری به داخل توبولهای عاجی به صورت هیستولوژیک بررسی شدند. حدود ۵۰ مقطع بافتی با ضخامت ۵μ به صورت Serial sectioning عمود بر محور طولی نمونه ها تهیه و بوسیله روش Weigert's رنگ آمیزی شدند و در نهایت با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی گردیدند. ۷۰ نمونه باقی مانده به صورت تصادفی به ٦ گروه (٤گروه آزمایش و ۲ گروه کنترل) تقسیم شدند.

کلسیم هیدروکساید در ترکیب با نرمال سالین (گروه اول) کلرهگزیدین ۲٪ (گروه دوم)، IKI ۲٪ (گروه سوم) یا CMCP (گروه چهارم) به مدت یک هفته در داخل کانال ریشه نمونه‌ها قرار داده شد. بعد از گذشت یک هفته خرده های عاجی حاصل از تراش دیواره کانال،با استفاده از فرزهای 018 ، ISO 021 به طور جداگانه در محیط E.faecalis broth به دست آمده بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در انکوباتور،از لحاظ حضور باکتریها بوسیله مشاهده چشمی کدروت محیط‌های حاوی پودرهای عاجی بررسی شدند.همچنین تعداد واحدهای سازندهٔ کلنی در هر میلی لیتر (CFU/ml) به وسیله کشت میکروارگانیسم هدف بر روی آگار خونـدار،شمارش گردیدند. نتایج این مطالعه نشان دادند که کلسیم هیدروکساید در ترکیب با سالین بیشترین میزان کشت مثبت را در بین گروههای آزمایش دارا بود. در مقایسه CFU/ml باکتری E.faecalis،تفاوت معنی داری بین گروههای آزمایش و گروه کنترل مثبت مشاهده شد. کلسیم هیدروکساید در ترکیب با IKI ۲ درصد، کلرهگزیدین ۲ درصد و CMCP به طور معنی داری مؤثرتر از کلسیم هیدروکساید در ترکیب با سالین در کاهش باکتریهای موجود در توبولهای عاجی عمل نموده بود. همچنین اثربخشی کلسیم هیدروکساید در ترکیب با کلرهگزیدین ۲ درصد یا CMCP برعلیه باکتری موجود در توبولهای عاجی به طور معنی داری بهتر از ترکیب کلسیم هیدروکساید و IKI ۲ درصد بود. در مجموع نتایج این مطالعه نشان دادند که ترکیب کلسیم هیدروکساید با عوامل ضدمیکروبی نظیر کلرهگزیدین ۲ درصد، CMCP ، IKI ۲ درصد به طور معنی داری موجب بهبود خصوصیات ضدمیکروبی آن بر علیه باکتری E.faecalis موجود در توبولهای عاجی می شود.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: کلیات

۱-۱-مقدمه و معرفی طرح ۱

۱-۲-میکروبیولوژی کانال ریشه ۲

۱-۲-۱- نقش میکروارگانیسم‌ها در ایجاد بیماریهای پالپ و پری اپیکال.. ۲

۱-۲-۲- فلورای کانالهای ریشه عفونی درمان نشده ۴

۱-۲-۳ -فلورای کانالهای ریشه ای که درمان اندونتیک آنها با شکست مواجه شده است. ۷

۱-۲-۴- Enterococcus faecalis ۹

۱-۳-عاج..... ۱۴

۱-۳-۱ -توبولهای عاجی ۱۵

۱-۳-۲- نفوذپذیری عاج..... ۱۵

۱-۳-۳- نفوذ میکروارگانیسم ها به توبولهای عاجی ۱۷

۱-۴-داروهای داخل کانال ۱۹

۱-۴-۱- اهداف استفاده از داروهای داخل کانال ۱۹

۱-۴-۲- خصوصیات ایده آل داروهای داخل کانال..... ۲۷

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۱-۴-۳- کلسیم هیدروکساید ۲۹

۱-۴-۴- ترکیبات فنلی ۳۳

۱-۴-۵ -کلرهگزیدین ۳۷

۱-۴-۶- هالوژن‌ها..... ۴۰

۱-۵- اهداف و فرضیات..... ۴۳

فصل دوم: زمینه و پیشینه تحقیق ۴۵

فصل سوم: طرح تحقیق

۳-۱-تهیه نمونه ها..... ۵۵

۳-۲-ایجاد عفونت کنترل شده در توبولهای عاجی ریشه ۵۷

۳-۲-۱ انجام تست های تشخیصی برای اطمینان از خلوص E.faecalis..... ۵۷

۳-۳ -مجاورت نمونه ها با داروهای داخل کانال ۵۹

۳-۴- ارزیابی باکتریولوژیک محیط های کشت ۶۲

۳-۵- آماده سازی نمونه های بافتی ۶۳

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل چهارم: ارائه داده‌ها، جداول و نمودارها ۶۵

فصل پنجم:بحث و نتیجه گیری

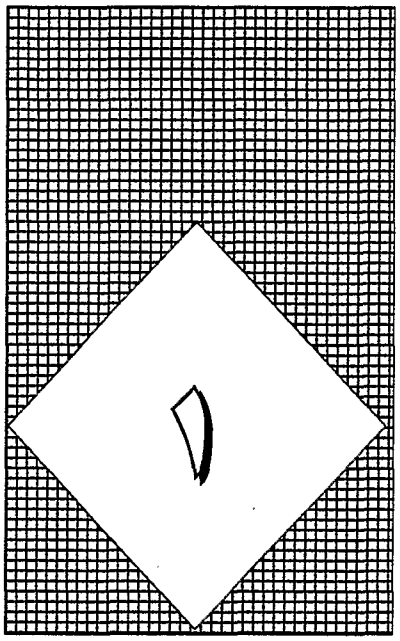
۵-۱-بحث ۸۱

۵-۲- نتیجه گیری ۹۶

۵-۳- پیشنهادات ۹۷

منابع ۹۸

فصل اول



✓ کلیات

۱-۱- مقدمه و معرفی طرح :

نقش باکتری‌ها و محصولاتشان در ایجاد و گسترش بیماری‌های پالپ و پری‌اپیکال به خوبی ثابت شده است (۱). بنابراین هدف اصلی درمان ریشه، حذف این عوامل از تمام نواحی کانال ریشه و جلوگیری از عفونت مجدد این فضا می‌باشد. عفونتهای پالپی طولانی‌مدت به باکتریها اجازه می‌دهد به تمام نواحی کانال ریشه شامل انشعابات، ایستموس، دلتا و توبولهای عاجی نفوذ کنند.

اگرچه آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی با استفاده از وسایل و محلولهای شستشودهنده، نقش مهمی را در پاکسازی کانال ریشه داراست، اما قادر به حذف باکتریها از نواحی دور از دسترس نمی‌باشد (۲، ۳) و میکروارگانیسم‌های باقی‌مانده توانایی تکثیر مجدد و اختلال در روند ترمیم بافت‌های پری‌اپیکال را خواهند داشت (٤). نشان داده شده است که حضور باکتریها در زمان پر کردن کانال ریشه موجب کاهش موفقیت طولانی‌مدت درمان نسبت به زمانی می‌شود که باکتریها به طور کامل حذف شده‌اند (٥). همچنین بررسی دندانهایی که درمان ریشه آنها با شکست مواجه شده و ضایعات پری‌اپیکال پایدار دارند، نشان می‌دهد که حضور گونه‌های باکتریایی مقاوم خصوصاً Enterococcus faecalis یکی از عوامل اصلی شکست درمان می‌باشد (٦، ۷، ۸). حذف این میکروارگانیسم‌ها حین درمان مجدد ریشه مشکل است و باعث کاهش میزان موفقیت درمان می‌شود. (٦)

بنابراین استفاده از یک داروی داخل کانال مناسب به دلیل آنکه مدت طولانی‌تری در کانال ریشه باقی می‌ماند و ممکن است بتواند به نواحی غیرقابل دسترس نفوذ نماید، می‌تواند نتایج مطلوبی را ایجاد نماید.

امروزه مادهٔ قلیایی کلسیم هیدروکساید، به دلیل اثرات بیولوژیکی‌اش داروی داخل کانال انتخابی است و قادر به از بین بردن اکثر گونه‌های باکتریال و خنثی کردن محصولات آنها می‌باشد. با این وجود در مقابل بعضی از گونه‌های باکتریال از جمله E.faecalis مؤثر نیست (۹). با توجه به این مطلب که عفونتهای اندودنتیک پلی‌میکروبیال هستند و دارویی مؤثر بر همه انواع باکتریهای داخل کانال موجود نیست، همچنین حضور گونه‌های باکتریایی مقاوم در عفونتهای کانال ریشه، ترکیب دو داروی داخل کانال ممکن است اثر افزایشی (additive) یا تقویتی (synergistic) داشته باشد، بنابراین هدف این مطالعه، بررسی آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی کلسیم هیدروکساید در ترکیب با ، Camphorated paramonochlorophenol (CMCP) ، Iodine potassiume Iodide (IKI) و کلر هگزیدین بر روی توبولهای عاجی انسان می‌باشد که بوسیله باکتری E.faecalis آلوده شده‌اند.

۱-۲- میکروبیولوژی کانال ریشه :

۱-۲-۱- نقش میکروارگانیسم‌ها در ایجاد بیماریهای پالپ و پری‌اپیکال :

مطالعات متعدد نشان می‌دهند که میکروارگانیسم‌ها و فرآورده‌های آنها اصلی‌ترین عوامل ایجادکننده بیماریهای پالپ و پری‌اپیکال می‌باشند.

در سال ۱۸۹٤ Miller اولین محققی بود که حضور باکتریها را با بیماریهای پالپی مرتبط دانست (۱۰). برای نشان دادن اهمیت باکتریها در بیماریهای اندودنتیک، Kakehashi و همکارانش در سال ۱۹٦۵، پالپ دندانهای Rat های معمولی و germ free را به محیط دهان باز کردند و نشان دادند که نکروز پالپ و ضایعه پری‌اپیکال در rat های معمولی ایجاد شد اما در rat های germ free این ضایعات بوجود نیامدند. نتایج این مطالعه ثابت کرد که حضور یا عدم حضور باکتریها تعیین‌کنندهٔ ایجاد بیماریهای پالپ و پری‌اپیکال است (۱).

در سال ۱۹۷٦ Sundquist در یک مطالعه بر روی دندانهای نکروز دست‌نخورده (intact) انسان نشان داد که Apical periodontitis فقط در دندانهایی ایجاد می‌شود که باکتریها در کانال ریشه حضور دارند در حالیکه دندانهایی که پالپ نکروتیک استریل داشتند، شواهدی مبنی بر وجود پاتولوژی پری‌اپیکال را نشان ندادند (۱۰). این نتایج بوسیلهٔ Bergenholtz تأیید شد(٤).

سایر مطالعات اهمیت باکتریها در تکامل ضایعات پری‌رادیکولار، ترکیب فلورمیکروبی و اثر ترکیب (Combination) باکتریهای دهان را بر روی بافت‌های پری‌رادیکولار در میمون‌ها، مورد بررسی قرار دادند. در سال ۱۹۸۱، Moller نشان داد که در دندانهایی که در شرایط استریل expose و بلافاصله سیل شده بودند، هیچ تغییر پاتولوژیکی در بافتهای پری‌اپیکال دیده نشد اما دندانهایی که یک هفته به محیط دهان باز مانده بودند، از نظر

کلینیکی، رادیوگرافیکی و هیستولوژیکی بعد از گذشت شش ماه دارای واکنش‌های التهابی در بافتهای پری‌اپیکال بودند (۱۱). در یک مطالعه دیگر بوسیلهٔ Fabricius در سال ۱۹۸۲، پالپ دندانهای میمون به صورت مکانیکی Devitalize و به محیط دهان اکسپوز شدند. بعد از گذشت ۳۵ ماه، بررسی باکتریولوژیک نشان داد که ۹۵-۸۵٪ جمعیت میکروبی کانالهای ریشه عفونی را بی‌هوازیها تشکیل می‌دهند. (۱۲)

تاکنون مطالعات فراوانی اتیولوژی بیماریهای پالپ و پری‌رادیکولار را بررسی کرده‌اند و عموماً نشان‌دهنده نقش اساسی میکروارگانیسم‌ها در ایجاد بیماریهای اندودنتیک بوده‌اند. درمان اندودنتیک موفق به کنترل عفونت میکروبیال در سیستم کانال ریشه بستگی دارد، بنابراین آگاهی از میکروبیولوژی کانال ریشه یک جزء ضروری در علم اندودنتیکس امروزی است. (٤)

۱-۲-۲- فلورای کانالهای ریشه عفونی درمان‌نشده :

امروزه بیش از ۵۰۰ گونه باکتریال به عنوان ساکنین طبیعی حفره دهان شناخته شده‌اند. تمام باکتریهایی که به طور طبیعی در حفره دهان حضور دارند، قادرند به فضای کانال ریشه تهاجم یافته و منجر به عفونی شدن این فضا و نهایتاً درگیری بافتهای پری‌اپیکال شوند (۱۰). راههای احتمالی ورود میکروارگانیسم‌ها به فضای پالپ شامل پوسیدگی (شایعترین مسیر)، توبولهای عاجی اکسپوز، ترکهای مینا و عاج به دنبال صدمات تروماتیک، کانالهای فرعی، فورامن اپیکالی و حتی گردش خون سیستمیک

(Anachoresis) می‌باشند (۱۳). عفونتهای اندودنتیک پلی‌میکروبیال هستند. تعداد گونه‌های میکروبی کانالهای ریشه عفونی ۱۲-۳ گونه گزارش شده است و تعداد Colony forming units (CFU) معمولاً بین 10^2 تا 10^8 است. یک رابطه مثبت بین تعداد باکتریها در کانال ریشه عفونی و اندازهٔ ضایعه پری‌اپیکال وجود دارد (۹). باکتریهای موجود در کانال ریشه عفونی در مقایسه با فلور حفره دهان گروه کوچک و محدودی هستند. این مسأله دلالت بر وجود یک روند انتخابی دارد که در طی آن باکتریهای خاصی می‌توانند در کانال ریشه بقاء داشته باشند (۱۰). این روند به وسیله، اول روابط Host-parasite که شامل : الف) پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (میزان اکسیژن موجود) ، ب) مواد غذایی در دسترس، ج) دفاع میزبان و دوم روابط متقابل باکتریها کنترل می‌شود (٤).

تا سال ۱۹۷۰، عمدهٔ مطالعات باکتریولوژیک بر روی فلور میکروبی کانال ریشه، حضور باکتریهای هوازی-بی‌هوازی اختیاری و به میزان محدود باکتریهای بی‌هوازی را در این سیستم گزارش می‌کردند. در حال حاضر روش‌های باکتریولوژیک و ایمونولوژیک پیشرفته نشان می‌دهند که عمده باکتریهای جدا شده از عفونت‌های اندودنتیک از دسته بیهوازیها هستند (۹). فلور میکروبی کانال ریشه دندانهایی که به طور کلینیکی تاج دست نخورده دارند اما پالپ آنها نکروز است و درگیری پری‌اپیکال دارند در بیش از ۹۰٪ موارد بیهوازی مطلق هستند (١٤) و معمولاً شامل جنس‌های (Genus) Fusobacterium ، Porphyromonas ، Prevotella ، Eubacterium و