مجله دندانپزشکی

دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد

دارای رتبه علمی - پژوهشی

۱۳۹۵ شماره ۲

بررسی آزمایشگاهی اثر آنتی‌میکروبیال فتوداینامیک تراپی روی استرپتوکوکوس موتانس

فرزانه احراری*، کیارش قزوینی، فاطمه مظهری***، رضا فکرآزاد****، ندا اسلامی*، نیلوفر عمرانی*****#**

* استادیار ارتودانتیکس، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

** دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*** دانشیار دندانپزشکی کودکان، مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

**** دانشیار پریودانتیکس، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

***** دستیار تخصصی گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۶/۱۰ - تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۹

Evaluation of the Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy on Streptococcus Mutans; An *In vitro* Study

Farzaneh Ahrari*, Kiarash Ghazvini, Fatemeh Mazhari***, Reza Fekrazad****, Neda Eslami*, Niloufar Emrani*****#**

** Assistant Professor of Orthodontics, Dental Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

*** Associate Professor, Dept of Microbiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

**** Associate Professor of Pediatric Dentistry, Dental Materials Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

***** Associate Professor of Periodontics, Medical Laser Research Center, School of Dentistry, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

****** Postgraduate Student, Dept of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

Received: 1 September 2015 ; Accepted: 28 February 2016

Introduction: Increased resistance of oral pathogens to conventional antimicrobial agents has led to the use of alternative methods to overcome microbial resistance. The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the effect of antimicrobial photodynamic therapy on Streptococcus mutans.

Materials & Methods: In this *in vitro* study, a diode laser emitting a wavelength of 810nm was used in association with EmunDo as a photosensitizing agent. Suspensions of Streptococcus mutans were prepared and divided into six groups by treatment: 1) EmunDo, 2) diode laser irradiation (100mW, 90 seconds), 3) diode laser irradiation (300mW, 30 seconds); 4) EmunDo+diode laser irradiation (100mW, 90seconds), 5) EmunDo+diode laser irradiation (300mW, 30 seconds), 6) control (no treatment). Immediately and 24 hours after photodynamic therapy, the bacterial suspensions were cultured. After incubation at 37°C, viable microorganisms of Streptococcus mutans were counted and the results were reported in colony-forming units (CFU). Data were analyzed by repeated measures analysis of variance at significance level of 0.05.

Results: According to the repeated measures analysis, no significant between-group differences were found in the number of Streptococcus mutans colonies, either immediately or 24 hours after photodynamic therapy ($P>0.05$). The number of Streptococcus mutans colonies increased significantly at 24 hours after photodynamic therapy compared to immediately after treatment in all groups ($P<0.001$).

Conclusion: Under the conditions used in this study, photodynamic therapy had no effect on viability of Streptococcus mutans. However, more evidence-based data are required regarding different photosensitizing agents and laser parameters for a definite conclusion.

Key words: Photodynamic therapy, streptococcus mutans, antibacterial, laser, photosensitizer.

 # Corresponding Author: Omranin941@mums.ac.ir, Niloufar.emrani69@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 105-12 .

چکیده

مقدمه: **افزایش مقاومت پاتوژن‌های دهان به مواد آنتی میکروبیال مرسوم منجر به استفاده از روش‌های جایگزین برای غلبه بر مقاومت میکروبی شده است. هدف از این مطالعه آزمایشگاهی، بررسی اثر آنتی میکروبیال فتوداینامیک تراپی روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود.**

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، دانشکده دندانپزشکی، گروه دندانپزشکی کودکان، تلفن: ۱۵-۳۸۸۲۹۵۰۱-۰۵۱

E-mail: Omranin941@mums.ac.ir, Niloufar.emrani69@yahoo.com

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی از لیزر دیود با طول موج ۸۱۰nm در حضور EmunDo به عنوان ماده فتوسنسیتایزر استفاده شد. سوسپانسیون‌های استرپتوکوکوس موتانس آماده سازی و بر مبنای نوع درمان به ٦ گروه تقسیم شدند: ۱) EmunDo، ۲) تابش لیزر دیود (۱۰۰mW، ۹۰ ثانیه)، ۳) تابش لیزر دیود (۳۰mW، ۳۰۰ ثانیه)، ٤) Emundo + تابش لیزر دیود (۱۰۰mW، ۹۰ ثانیه)، ٥) EmunDo + تابش لیزر دیود (۳۰mW، ۳۰۰ ثانیه)، ٦) گروه کنترل که تحت هیچ درمانی قرار نگرفت. یک بار بلافاصله و یک بار ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی، از سوسپانسیون‌های باکتری کشت تهیه شد. میکروارگانیسم‌های زنده استرپتوکوکوس موتانس بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷°C، شمارش و به صورت واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) گزارش شدند. تحلیل آماری داده‌ها به وسیله آزمون اندازه‌گیری داده‌های تکراری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: براساس آنالیز اندازه‌گیری داده‌های تکراری، اختلاف معنی داری در تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس چه بلافاصله و چه ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی بین گروه‌های مورد بررسی دیده نشد ($P>0/05$). در تمامی گروه‌ها تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی در مقایسه با بلافاصله بعد از درمان به صورت قابل توجهی افزایش یافت ($P<0/001$).

نتیجه گیری: تحت شرایط این مطالعه، فتوداینامیک تراپی تأثیری بر بقای استرپتوکوکوس موتانس نداشت. با وجود این، داده‌های مبتنی بر شواهد بیشتری در زمینه مواد فتوسنسیتایزر مختلف و پارامترهای لیزر جهت دستیابی به نتیجه گیری قطعی مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: فتوداینامیک تراپی، استرپتوکوکوس موتانس، آنتی‌میکروبیال، لیزر، فتوسنسیتایزر.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤٠ / شماره ۲ : ۱۲-۱۰۵ .

مقدمه

پوسیدگی دندانی شایع‌ترین بیماری مزمن جهان و یک بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌ها است که با دکلسیفیکاسیون بخش غیرآلی دندان شروع شده و با تخریب ماتریکس آلی دنبال می‌شود. با وجود آن که امروزه از میزان و شدت پوسیدگی دندانی بسیار کاسته شده است، ولی هنوز میلیون‌ها کودک و بزرگسال، پوسیدگی، از دست دادن دندان‌ها و مال اکلوژن را تجربه می‌کنند.[۱] شواهد نشان‌دهنده نقش باکتری‌ها در ایجاد پوسیدگی، روز به روز در حال افزایش است. استرپتوکوک‌های گروه موتانس احتمالاً مهمترین موجودات میکروسکوپی در آغاز پوسیدگی‌های دندانی هستند. روش‌های رایج برای کاهش میزان باکتری‌های پوسیدگی‌زای دندانی، برداشت مکانیکی، استفاده از عوامل شیمیایی آنتی‌باکتریال، فلورایدتراپی، آنتی‌بیوتیک‌تراپی و واکسیناسیون می‌باشد. یک روش جدید مطرح شده در این زمینه فتوداینامیک تراپی است.[۲]

فتوداینامیک تراپی به تمام درمان‌هایی اشاره می‌کند که توسط داینامیک نور تحت تأثیر قرار می‌گیرند. این اصطلاح به طور رایج برای توصیف یک روش یا درمان به کار می‌رود که شامل ترکیبی از نور و داروهای حساس به نور که فتوسنسیتایزر (PS)[1] نامیده می‌شوند، می‌باشد. این تکنیک نوظهور در درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی به کار رفته است و به صورت شایع فتوداینامیک تراپی ضدمیکروبی (aPDT)[2] نامیده می‌شود. در این روش (aPDT)، نور بعد از فعال کردن مولکول‌های فتوسنسیتایزر در حضور اکسیژن مولکولی، سبب تولید اکسیژن واکنشی می‌شود. اکسیژن واکنشی تولید شده با مولکول‌های اطراف واکنش می‌کند و یک اثر باکتری سیدال روی میکروارگانیسم‌ها دارد. از مزایای این روش می‌توان به غیرتهاجمی بودن، قابلیت تکرار، طیف وسیع فعالیت ضدمیکروبی، عدم ایجاد انواع گونه‌های مقاوم به نور متعاقب درمان‌های متعدد و قابلیت لوکالیزه کردن بر روی بافت هدف اشاره کرد.[۳]

1. Photosensitizer
2. Antimicrobial Photodynamic Therapy

در گذشته هنگام برداشت مکانیکی پوسیدگی‌ها دندانپزشکان نگران باکتری‌هایی بودند که بعد از تراش حفره باقی می‌مانند و ممکن است سبب ایجاد پوسیدگی ثانویه شوند. توصیه این بود که تمام عاج پوسیده حذف شود. امروزه باکتری‌های باقیمانده فاکتور مهمی در پوسیدگی ثانویه محسوب نمی‌شوند. با وجود این، عاج عفونی که قابلیت رمینرالیزه شدن ندارد باید در طی درمان ترمیمی حذف شود، چرا که می‌تواند سبب التهاب پالپ و آسیب برگشت‌ناپذیر به آن شود. از طرفی، حذف مکانیکی تمام عاج عفونی خطر اکسپوز شدن پالپ را به همراه دارد و سبب ضعیف شدن ساختار دندان می‌شود.[۲] اگرچه امکان استفاده از عوامل آنتی‌باکتریال به منظور ضدعفونی حفره وجود دارد ولی برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از عوامل شیمیایی آنتی باکتریال ممکن است سبب افزایش گونه‌های مقاوم از باکتری‌های پوسیدگی‌زا گردد.[٤]

امروزه حداقل مداخله، اصل مهمی در درمان‌های دندانپزشکی است. بنابراین به نظر می‌رسد فتوداینامیک تراپی روشی مناسب و ایمن در مقایسه با پروتکل‌های درمانی رایج باشد. برای انجام یک درمان موفق، فاکتورهای متعددی از جمله انتخاب ماده فتوسنسیتایزر مناسب و همچنین پارامترهای دقیق منبع نور اهمیت زیادی دارد. اثرات بازدارنده فتوداینامیک تراپی بر رشد استرپتوکوکوس موتانس اولین بار در سال ۱۹۹٤ توسط Burns و همکارانش[٥] نشان داده شد. در سال‌های بعد مطالعات متعددی اثر بخشی فتوداینامیک تراپی را با استفاده از فتوسنسیتایزرهای مختلف بر روی استرپتوکوکوس موتانس با استفاده از منابع نوری متفاوت مانند دیود ساطع‌کننده نور (LED)، دستگاه لایت کیور و لیزر دیود بررسی کرده‌اند.[۱۲-٦]

Emundo یا Indocyaningreen اخیراً به عنوان ماده فتوسنسیتایزر با خاصیت آنتی‌باکتریال قابل توجه معرفی شده است.[۱۳] در صورت اثربخشی EmunDo متعاقب تابش لیزر می‌توان از آن به عنوان روشی غیرتهاجمی و محافظه کارانه به همراه روش مکانیکی برداشت پوسیدگی جهت متوقف نمودن پیشرفت ضایعات پوسیدگی و بهبود نتایج درمانی استفاده کرد. با وجود این، مطالعات اندکی در زمینه کارایی EmunDo در حذف باکتری‌های پوسیدگی‌زا انجام شده است. بنابراین، هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر تابش لیزر دیود مادون قرمز به همراه EmunDo به عنوان حساس‌کننده به نور بر میزان بقای باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود.

مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده در این مطالعه استرپتوکوکوتانس (ATCC25175) بود که از سازمان علم و فناوری (IROST)[1] در تهران (ایران) تهیه شد. باکتری‌های خریداری شده به صورت لیوفیلیزه بود که می‌بایست جهت انجام آزمایش، پودر باکتری با سرم فیزیولوژی استریل رقیق و سپس کشت صورت گیرد. جهت تهیه ساب کالچر، سواپی که به سوسپانسیون باکتری استرپتوکوکوس موتانس آغشته گردیده بود در گوشه پتری محتوی محیط آگار BHI[2] تقویت شده با ۵٪ خون گوسفندی کشت شد. سپس در انکوباتور هوازی در دمای ۳۷°C و به مدت ٤۸ ساعت قرار گرفت. از استرپتوکوکوس موتانس ساب کالچر شده، مقدار ۵ تا ٦ کلونی مشابه توسط لوپ استریل برداشته شد و در محیط BHIB[3] موجود در لوله‌های آزمایش حل شد. سپس به مدت ۱ الی ۲ ساعت این لوله‌های آزمایش در داخل

1. Iranian Research Organization of Science and Technology
2. Brain Heart Infusion
3. Brain Heart Infusion Broth

انکوباتور در دمای ۳۵°C تا ۳۷°C قرار گرفتند. جهت تعیین غلظت باکتری، لوله استریل حاوی سوسپانسیون باکتری استرپتوکوکوس موتانس در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و سپس جذب نوری سوسپانسیون در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب نوری سوسپانسیون بایستی در حدود ۰/۰۸ تا ۰/۱۱ معادل کدورت استاندارد نیم مک فارلند باشد که حاوی تقریباً $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد تشکیل‌دهنده کلونی در یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون (CFU/mL) است.

در این مطالعه از دستگاه لیزر دیود مادون قرمز (A.R.C Laser GmbH, Nurnberg, Germany) با طول موج ۸۱۰ نانومتر استفاده شد. تابش لیزر با دانسیته انرژی $۱۸J/cm^2$ و توان خروجی ۱۰۰mW در مدت ۹۰ ثانیه یا با استفاده از توان ۳۰۰mW در زمان ۳۰ ثانیه صورت گرفت. توان و زمان تابش طبق دستورالعمل کارخانه سازنده انتخاب شد. در این مطالعه از پروب غیرتماسی و فتوسنسیتایزر EmunDo یا Indocyanine green(A.R.C) Laser GmbH, Nurnberg, Germany استفاده شد.

گروه‌های مورد بررسی عبارت بود از:

گروه اول: EmunDo

گروه دوم: تابش لیزر دیود ۱۰۰mW به مدت ۹۰ ثانیه

گروه سوم: تابش لیزر دیود ۳۰۰mW به مدت ۳۰ ثانیه

گروه چهارم: EmunDo + تابش لیزر دیود ۱۰۰mW به مدت ۹۰ ثانیه

گروه پنجم: EmunDo + تابش لیزر دیود ۳۰۰mW به مدت ۳۰ ثانیه

گروه ششم (کنترل مثبت): شامل سوسپانسیون باکتری که تحت هیچ درمانی قرار نگرفت.

در تمامی گروه‌های مورد مطالعه، ۱۲۵ µL سوسپانسیون باکتری به داخل میکروتیوب‌ها با قطر ۸ میلی‌متر ریخته شد. در گروه‌های اول، چهارم و پنجم، ۱۲۵µL از EmunDo به سوسپانسیون باکتری اضافه شد. در گروه‌های دوم، سوم و ششم ۱۲۵µL ازPBS[1] جهت یکسان سازی حجم، داخل میکروتیوب حاوی سوسپانسیون باکتری ریخته شد. تمامی میکروتیوب‌ها بعد از مخلوط کردن کامل، به مدت ۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شدند. سپس در گروه‌های دوم، سوم، چهارم و پنجم در محیط تاریک نوک پروب دستگاه لیزر به صورت عمود و مماس بر لبه‌ی میکروتیوب قرار داده شد و تابش لیزر در سه نقطه از میکروتیوب انجام گرفت. سطح تحت تابش میکروتیوب حدود $۰/۵cm^2$ بود. یک بار بلافاصله و یک بار ۲۴ ساعت بعد از درمان، ۵۰µL از سوسپانسیون باکتری از هر یک از گروه‌های مورد مطالعه برداشته شد و سپس بر روی محیط آگار BHI کشت داده شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور هوازی قرار داده شد تا کلونی‌های باکتریایی قابل رؤیت شوند.

میزان بقای باکتری از طریق شمارش تعداد کلونی‌های تشکیل شده (CFU) روی محیط کشت تعیین شد. هر آزمایش ۶ بار تکرار شد. به طور کلی جهت شمارش کلونی ابتدا می‌بایست نور به طور کامل پتری را فرا گیرد تا کلونی‌ها قابل رؤیت و شمارش شوند. در صورتی که تعداد کلونی‌ها در پتری کم بود تمام کلونی‌های موجود در پتری شمارش می‌شد، ولی چنانچه تعداد کلونی‌های رشدیافته زیاد بوده و به راحتی قابل شمارش نبود، پتری را به وسیله ماژیک به قسمت‌های کوچک‌تر تقسیم می‌کردیم، به نحوی که در همه قسمت‌ها تعداد کلونی‌ها به طور نسبی برابر بود. سپس تعداد کلونی‌های شمارش شده در یک قسمت را در تعداد تقسیمات انجام شده ضرب می‌کردیم.

1. Phosphate-Buffered Saline

داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس در گروه‌های مختلف و همچنین مقایسه گروه‌ها قبل و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی از آزمون اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

مقادیر میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس بر حسب گروه آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. نتیجه آزمون داده‌های تکراری نشان داد که بین دو عامل گروه و زمان اثر متقابل وجود نداشت (F=۱/۰۰۵، P=۰/۴۳۶).

مقایسه تعداد باکتری استرپتوکوکوس موتانس بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی در همه گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد به طوری که میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی نسبت به بلافاصله بعد از فتوداینامیک تراپی به صورت قابل توجهی افزایش یافته بود (F=۴۱۶/۹۶، P<۰/۰۰۱). با وجود این، بین گروه‌های آزمایشی در دو زمان مختلف تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس وجود نداشت (F=۱/۰۳۷، P=۰/۴۱).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس در ۶ گروه مورد بررسی در زمان‌های بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی

گروه	زمان	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
فتوسنسیتایزر	بلافاصله	۱۸۶۴۰۰	۵۶۷۴۷/۶۸	۱۴۷۰۰۰	۲۸۶۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۵۲۰۰۰۰	۵۷۶۱۹۴	۲۸۰۰۰۰۰	۴۲۰۰۰۰۰
فتوسنسیتایزر + لیزر ۱۰۰mW	بلافاصله	۱۶۵۵۰۰	۴۶۳۶۴/۴۹	۱۰۵۰۰۰	۲۱۴۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۴۳۷۵۰۰۰	۱۵۱۳۰۰۰	۲۳۰۰۰۰۰	۵۸۰۰۰۰۰
فتوسنسیتایزر + لیزر ۳۰۰mW	بلافاصله	۱۶۸۲۵۰	۶۰۲۵۱/۵۵	۱۱۳۰۰۰	۲۵۳۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۶۲۵۰۰۰	۱۰۷۸۱۹۰	۲۶۰۰۰۰	۴۷۰۰۰۰۰
لیزر ۱۰۰mW	بلافاصله	۲۳۱۰۰۰	۴۸۷۸۵/۲۴	۱۷۰۰۰۰	۲۹۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۴۶۴۰۰۰۰	۶۶۵۵۸۲	۴۰۰۰۰۰۰	۵۴۰۰۰۰۰
لیزر ۳۰۰mW	بلافاصله	۲۱۸۸۰۰	۸۲۴۹۶/۶۶	۱۳۰۰۰۰	۳۲۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۵۸۰۰۰۰	۹۸۳۳۶۲	۲۲۰۰۰۰۰	۶۵۰۰۰۰۰
کنترل مثبت	بلافاصله	۱۳۴۳۱۰	۲۱۸۵۵/۳۳	۱۰۷۰۰۰	۱۷۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۸۷۵۰۰۰	۱۰۳۸۸۹۰	۲۷۰۰۰۰۰	۵۲۰۰۰۰۰

اثر زمان: P<۰/۰۰۱ و F=۴۱۶/۹۶

اثر گروه: P=۰/۴۱ و F=۱/۰۳۷

بحث

کاربرد فتوداینامیک تراپی در دندانپزشکی روز به روز در حال افزایش است. با توجه به محدودیت دسترسی مواد آنتی‌میکروبیال به نواحی پوسیده و مقاومت باکتری‌ها به واکسن‌های ضدپوسیدگی، امروزه فتوداینامیک تراپی به عنوان روشی ایمن و غیرتهاجمی در بسیاری از مطالعات مورد توجه قرار گرفته است.[۱۵و۱٤] در این مطالعه از لیزر دیود مادون قرمز با طول موج ۸۱۰ نانومتر و EmunDo به عنوان فتوسنسیتایزر استفاده شد. (ICG) Indocyaninegreen یا EmunDo اخیراً به عنوان ماده فتوسنسیتایزر با خاصیت آنتی‌باکتریال قابل توجه معرفی شده است. EmunDo یک فتوسنسیتایزر کاتیونیک از گروه Phenothiazine dyes می‌باشد و حداکثر جذب را با لیزر دیود مادون قرمز با طول موج ۸۰۵ نانومتر نشان می‌دهد که منجر به عمق نفوذ بیشتری خواهد شد.[۱۳] Nagahara و همکاران[۱٦] اثر باکتریسیدال فتوداینامیک تراپی را بر روی پورفیرومونا‌س ژنژیوالیس با استفاده از ICG و لیزر دیود با طول موج ۸۰۵ nm بررسی و کاهش قابل توجهی را در تعداد کلونی‌های پورفیرومونا‌س ژنژیوالیس مشاهده کردند. EmunDo برخلاف سایر Dyeها بر اکثر باکتری‌های شناخته شده در دهان، اعم از گرم مثبت و گرم منفی مؤثر می‌باشد. با توجه به دوز مصرفی پایین و اثر موضعی EmunDo، تاکنون اثرات جانبی برای این فتوسنسیتایزر مشاهده نشده است.[۱۳] Baumler و همکاران[۱۷] از این ماده جهت نابودی سلول‌های سرطانی انسانی استفاده و بیان کردند که بخشی از انرژی لیزر جذب شده توسط ICG به گرما تبدیل شده و بخشی سبب تولید اتم اکسیژن و رادیکال آزاد و نابودی سلول‌های سرطانی می‌شود. در مطالعه Kranz و همکاران[۱۸] این ماده به همراه لیزر مادون قرمز اثر توکسیک قابل توجهی بر روی پاتوژن‌های بیماری پریودونتال داشت. با توجه به اثرات آنتی‌باکتریال Emundo و جذب بالای نور لیزر توسط این ماده، در مطالعه حاضر اثر ضدپوسیدگی فتوداینامیک تراپی به واسطه Emundo مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها چه بلافاصله و چه ۲٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با گروه کنترل نداشت. میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها، ۲٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی به صورت قابل توجهی بیشتر از بلافاصله بعد از فتوداینامیک تراپی بود. این رویداد به دلیل رشد باکتری‌ها در محیط مغذی در مدت ۲٤ ساعت پس از فتوداینامیک تراپی قابل انتظار بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تحت شرایط این مطالعه فتوداینامیک تراپی به واسطه EmunDo بر روی بقای باکتری استرپتوکوکوس موتانس موثر نمی‌باشد. برخلاف نتایج این مطالعه، در اکثر مطالعات انجام شده فتوداینامیک تراپی روشی مؤثر بر علیه استرپتوکوک موتانس بوده است. در مطالعه وهابی و همکاران[۱۹] اثر فتوداینامیک تراپی به واسطه راداکلرین و تولوئیدن بلو و تابش لیزر با دو دانسیته انرژی مختلف ($٦J/cm^2$ و$۱۲J/cm^2$) بررسی شد و نتایج نشان داد که فعال‌کنندگی تولوئیدن بلو با هر دو دانسیته انرژی به کار رفته و راداکلرین با دانسیته انرژی بالاتر منجر به کاهش قابل توجه در تشکیل کلونی‌های باکتریایی شد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که فتوداینامیک تراپی اندازه و شکل استرپتوکوکوس موتانس را تغییر می‌دهد. در مطالعه de Melo و همکاران[۲۰] فتوداینامیک‌تراپی با استفاده از تولوئیدن بلو و دیود نوری

توانست اندازه استرپتوکوکوس موتانس را کاهش دهد. استفاده از منابع نوری دیگر به جز لیزر نیز در فتوداینامیک تراپی نتایج خوبی به همراه داشته است. در مطالعه Lee و همکاران[۲۱] از دستگاه لایت کیور و اریتروزین به عنوان فتوسنسیتایزر و در مطالعه حکیمی‌ها و همکاران[۶] از دیود ساطع‌کننده نور (LED) و راداکلرین و تولوئیدن بلو به عنوان فتوسنسیتایزر استفاده شد و در هر دو مطالعه کاهش تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس قابل توجه بود. البته در تمامی این مطالعات، فتوسنسیتایزر به کار رفته متفاوت از مطالعه حاضر بوده است. در مطالعه فکرآزاد و همکاران[۱۱] کاهش قابل توجه در باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس بعد از فتوداینامیک تراپی و فتوترمال تراپی با استفاده از EmunDo مشاهده شد. برخلاف آن، در مطالعه Basso و همکاران[۲۲] مجاورت استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلبیکنس احتمالاً سبب ایجاد مقاومت باکتریایی شد و در نتیجه فتوداینامیک تراپی بر ترکیب این دو میکروب موثر واقع نشد. عدم تأثیر بر روی استرپتوکوکوس موتانس در مطالعه حاضر ممکن است به خاطر استفاده از پارامترهای لیزر مختلف یا کاربرد پروب غیرتماسی باشد، زیرا پروب غیرتماسی سطح وسیعی دارد و در نتیجه شدت انرژی در سطح پروب کاهش یافته و امکان لوکالیزه کردن دقیق ناحیه تابش وجود ندارد. در نتیجه تعداد کلونی‌ها نه تنها کاهشی نشان نداد بلکه به دلیل عدم وجود خاصیت آنتی‌میکروبیال و رشد باکتری در محیط مغذی افزایش قابل توجهی بعد از ۲۴ ساعت نشان داد. شاید، استفاده از فایبر ۳۰۰ یا ۶۰۰ میکرونی به دلیل مشخص بودن ناحیه تابش، اثربخشی بهتری نسبت به پروب غیرتماسی داشته باشد. افزایش دوز یا زمان تابش لیزر نیز ممکن است نتایج متفاوتی به دست دهد. تاکنون مطالعات بسیار کمی در رابطه با EmunDo صورت گرفته است و نیاز به بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌باشد.

آینده فتوداینامیک تراپی به تقابل بین تکنولوژی نوین و تقاضاهای کلینیکی بستگی دارد. کاربرد آنتی‌میکروبیال فتوداینامیک تراپی در دندانپزشکی به سرعت در حال افزایش است، زیراروشی غیرتهاجمی و ایمن، جهت درمان بیماری‌های مرتبط با پلاک دندانی مانند پوسیدگی Rampant به شمار می‌رود و همچنین به عنوان روشی مناسب جهت کاهش بار میکروبی در آماده سازی حفره برای ترمیم دندان مطرح است. با وجود اینکه نتایج این مطالعه می‌تواند کمک‌کننده باشد ولی پیشنهاد می‌شود که پارامترهای لیزر مانند دوز و زمان تابش تغییر یابد و خاصیت ضدمیکروبی این روش بر علیه سایر باکتری‌های شایع دهان نیز بررسی شود.

نتیجه گیری

تحت شرایط این مطالعه، فتوداینامیک تراپی در حضور لیزر دیود ۸۱۰nm و EmunDo نتوانست تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس را کاهش دهد. تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس بعد از ۲۴ ساعت از گذشت فتوداینامیک تراپی افزایش قابل توجهی را نشان داد. بنابراین با توجه به مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که شرایط تابش لیزر یا نوع ماده فتوسنسیتایزر باید تغییر یابد تا نتایج مؤثرتری به دست آید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی به شماره ۲۶۹۴ از دانشکده دندانپزشکی مشهد می‌باشد. بدین وسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که حمایت مالی را برای انجام این پژوهش فراهم نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1. Dean JA, Avery DR, Mc Donald RE. Dentistry for the Child and Adolescent. 9th ed. London: Mosby Co; 2011. P. 177.
2. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. Dent Clinics North Am 2010; 54(3): 507-25.
3. Diniz IM, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MR. Antimicrobial Photodynamic Therapy: A promise candidate for caries lesions treatment. Photodiagnosis Photodyn Therop 2015.
4. Santin GC, Oliveira DS, Galo R, Borsatto MC, Corona SA. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: A systematic review of the literature. Sci World J 2014; 2014: 824538.
5. Burns T, Wilson M, Pearson GJ. Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminium arsenide diode laser. J Dent 1994; 22(5): 273-8.
6. Hakimiha N, Khoei F, Bahador A, Fekrazad R. The susceptibility of Streptococcus mutans to antibacterial photodynamic therapy: A comparison of two different photosensitizers and light sources. J Appl Oral Sci 2014; 22(2): 80-4.
7. Tonon CC, Paschoal MA, Correia M, Spolidorio DM, Bagnato VS, Giusti JS. Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of Streptococcus mutans. J Contemp Dent Pract 2015; 16(1): 1-6.
8. Ricatto LG, Conrado LA, Turssi CP, Franca FM, Basting RT, Amaral FL. Comparative evaluation of photodynamic therapy using LASER or light emitting diode on cariogenic bacteria: An *In vitro* study. Eur J Dent 2014; 8(4): 509-14.
9. Paschoal MA, Santos-Pinto L, Lin M, Duarte S. Streptococcus mutans photoinactivation by combination of short exposure of a broad-spectrum visible light and low concentrations of photosensitizers. Photomed Laser Surg 2014; 32(3): 175-80.
10. Baptista A, Kato IT, Prates RA, Suzuki LC, Raele MP, Freitas AZ. Antimicrobial photodynamic therapy as a strategy to arrest enamel demineralization: A short-term study on incipient caries in a rat model. Photochem Photobiol 2012; 88(3): 584-9.
11. Fekrazad R, Khoei F, Hakimiha N, Bahador A. Photoelimination of Streptococcus mutans with two methods of photodynamic and photothermal therapy. Photodiagnosis Photodyn Ther 2013; 10(4): 626-31.
12. Dogandzhiyska V, Gergova R, Dimitrov S, Doychinova M. Antimicrobial activity of photodynamic therapy against microorganisms isolated from deep carious lesions. J IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers 2013; 19(4): 430-4.
13. Parker S. The use of diffuse laser photonic energy and indocyanine green photosensitiser as an adjunct to periodontal therapy. Br Dent J 2013; 215(4): 167-71.
14. Voos AC, Kranz S, Tonndorf-Martini S, Voelpel A, Sigusch H, Staudte H, et al. Photodynamic antimicrobial effect of safranine O on an ex vivo periodontal biofilm. Lasers Surg Med 2014; 46(3): 235-43.
15. Liu PF, Zhu WH, Huang CM. Vaccines and photodynamic therapies for oral microbial-related diseases. Curr Drug Metab 2009; 10(1): 90-4.
16. Nagahara A, Mitani A, Fukuda M, Yamamoto H, Tahara K, Morita I. Antimicrobial photodynamic therapy using a diode laser with a potential new photosensitizer, indocyanine green-loaded nanospheres, may be effective for the clearance of Porphyromonas gingivalis. Journal of Periodontal Research 2013; 48(5): 591-9.
17. Bäumler W, Abels C, Karrer S, Weiss T, Messmann H, Landthaler M. Photo-oxidative killing of human colonic cancer cells using indocyanine green and infrared light. Br J Cancer 1999; 80(3-4): 360.
18. Kranz S, Huebsch M, Guellmar A, Voelpel A, Tonndorf-Martini S, Sigusch BW. Antibacterial photodynamic treatment of periodontopathogenic bacteria with indocyanine green and near-infrared laser light enhanced by Trolox(TM). Lasers Surg Med 2015; 47(4): 350-60.
19. Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Lizarelli R, Kalhori K. Antimicrobial photodynamic therapy with two photosensitizers on two oral streptococci: An *In vitro* study. Laser Physics 2011; 21(12): 2132-7.
20. de Melo MA, Rolim JP, Zanin IC, Barros EB, da-Costa EF, Rodrigues LK. Characterization of antimicrobial photodynamic therapy-treated Streptococci mutans: An atomic force microscopy study. Photomed Laser Surg 2013; 31(3): 105-9.
21. Lee YH, Park HW, Lee JH, Seo HW, Lee SY. The photodynamic therapy on Streptococcus mutans biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit. Int J Oral Sci 2012; 4(4): 196-201.
22. Basso FG, Oliveira CF, Fontana A, Kurachi C, Bagnato VS, Spolidorio DMP, et al. *In vitro* effect of low-level laser therapy on typical oral microbial biofilms. Braz Dent J 2011; 22(6): 502-10.

بررسی میزان روایی پیش بین آزمون‌های جامع علوم پایه دندانپزشکی در کفایت توانمندی بالینی دانشجویان

مجید اکبری*، صالحه سکندری#**
* دانشیار گروه ترمیمی، قطب تکنولوژی آموزشی در پزشکی کشور، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
** دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۳/۱۶ -تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۱۶

Evaluation of the Predictive Validity of Comprehensive Basic Science Examination for the Adequacy of Dentistry Students' Clinical Competence

Majid Akbari*, Saleheh Sekandari#**
** Associate Professor, Center of Excellence in Medical Education Technology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*
*** Dentistry Student, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*
Received: 6 June 2015 ; Accepted: 6 March 2016

Introduction: Basic Science Examination is the exam for dental students that should have sufficient predictive validity for screening students. The aim of this study was to determine the relationship between basic science examination scores and students, clinical competence as the main expected role for dentists in health system.
Materials & Methods: Dentistry Students who had entered Mashhad Dental School in years 2007 to 2009 and participated in basic science examination in years 2009 to 2011 were selected. The students' basic science examination scores and their average in first and second semester of the fifth year in dental school were extracted from their records. The relationship between the score and the average was investigated by SPSS version 11.5 software.
Results: The calculation of correlation coefficients between the students' basic science examination scores and their average in second semester of the fifth year and total average of fifth year in dental school (P<0.001) represented a significant correlation. Also the calculation of correlation coefficients between students' basic science examination scores and their average in first semester of the fifth year in dental school for the Incoming students in 2001 & 2009 (P<0.001) and Incoming students in 2008 (P=0.003) represented a significant correlation. There was a significant correlation coefficient between each student's basic science examination score and their average in first semester of fifth year (P<0.001) and second semester of the fifth year (P=0.005) and total average of fifth year (P=0.002) in dental school for all male students. Also there was a significant correlation coefficient between the student's basic science examination score and their average in first semester of fifth year (P<0.001) and second semester of the fifth year (P<0.001) and total average of fifth year (P<0.001) in dental school for all female students.
Conclusion: The results showed that despite the structural dissimilarity of basic sciences and clinical subjects, basic science examination can be a valid instrument for screening students for the next academic courses and identification of students.
Key words: Predictive validity, basic science examination, dental student, clinical courses.
 # Corresponding Author: Sekandaris901@mums.ac.ir
J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 113-22 .

چکیده

مقدمه: **امتحان جامع علوم پایه، آزمون جامع دانشجویان دندانپزشکی است. انتظار می‌رود روایی پیش‌بین لازم را برای غربال دانشجویان داشته باشد. هدف این مطالعه تعیین ارتباط بین نمرات کسب شده در این آزمون با توانمندی بالینی دانشجویان بود که می‌تواند به عنوان نقش اصلی مورد انتظار نظام سلامت از دندانپزشکان باشد.**

مواد و روش‌ها: **دانشجویان دندانپزشکی دانشکده دندانپزشکی مشهد در سه ورودی ۱۳۸٦ تا ۱۳۸۸ که در امتحان جامع علوم پایه سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ شرکت کرده بودند، انتخاب شدند. نمرات امتحان جامع علوم پایه دانشجویان و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم آنها، به عنوان سالی که بیشترین واحد بالینی را دارد، از پرونده آنان استخراج شد. ارتباط داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۱/۵ مورد بررسی قرار گرفت.**

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، دانشکده دندانپزشکی، گروه ترمیمی و زیبایی، تلفن: ۱۵-۳۸۸۲۹۵۰۱-۰۵۱
E-mail: Sekandaris901@mums.ac.ir

یافته‌ها: محاسبه ضریب همبستگی بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم ($P<۰/۰۰۱$) و معدل نیم سال دوم ($P<۰/۰۰۱$) در هر سه دوره نشانگر همبستگی این نمرات بود. محاسبه ضریب همبستگی بین نمرات علوم پایه و معدل نیم سال اول در دانشجویان ورودی ۱۳۸۸ و ۱۳۸٦ ($P<۰/۰۰۱$) و ورودی های ۱۳۸۷ ($P=۰/۰۰۳$) نیز نشانگر همبستگی این نمرات بود. در کل دانشجویان پسر ارتباط معنی‌داری بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم ($P=۰/۰۰۲$) و معدل نیم سال اول ($P<۰/۰۰۱$) و معدل نیم سال دوم ($P=۰/۰۰۵$) وجود داشت. در کل دانشجویان دختر نیز ارتباط معنی‌داری بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم ($P<۰/۰۰۱$) و معدل نیم سال اول ($P<۰/۰۰۱$) و معدل نیم سال دوم ($P<۰/۰۰۱$) وجود داشت.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که با وجود عدم تشابه سازه دروس علوم پایه و دروس بالینی، آزمون علوم پایه می تواند ابزار معتبری برای غربالگری دانشجویان در دوره‌های بعدی تحصیلی و شناسایی دانشجویان باشد.

کلمات کلیدی: روایی پیش بین، آزمون جامع علوم پایه، دانشجوی دندانپزشکی، دروس بالینی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤۰ / شماره ۲ : ۲۲-۱۱۳ .

مقدمه

امروزه ارتقای کیفی تحصیلات عالی رشته‌های علوم پزشکی، یکی از ملزومات تربیت پزشکان حاذق به منظور بهبود سطح بهداشت جامعه است. در سال‌های اخیر، تلاش و تمرکز مسولان بر این بوده است، که با ایجاد تغییراتی در نظام آموزشی پزشکی، فارغ التحصیلان موثری را برای پاسخگویی به نیازهای پزشکی و سلامت جامعه تربیت کنند.[۱]

بررسی دقیق وضعیت تحصیلی دانشجویان با کمک ارزیابی مستمر و پیگیری روند آموزشی آنها امری است ضروری که متولیان و مسولین آموزش جامعه پزشکی بایستی به این مهم توجه زیادی مبذول دارند.[۲] البته ارزشیابی به لحاظ ماهیت و پیچیدگی‌های خاص خود، از گسترده‌ترین و جنجالی‌ترین موضوعات آموزشی است و این مقوله وقتی که به صورت یک ارزشیابی تجمعی (Summative) با انتخاب دانشجویانی تلفیق می‌گردد که از افراد تاثیرگذار در آموزش و پژوهش در حرفه خود می‌باشند، اهمیت آن دو چندان می‌گردد.[۳]

آزمون‌های پیشرفت تحصیلی جزو آزمون‌های ملاکی محسوب می‌شوند. آزمون‌های ملاکی حوزه محدودی از هدف‌هایی را که اختصاصاً مربوط به مواد تدریس است مورد اندازه‌گیری قرار می‌دهند. تمرکز این آزمون‌ها بر خود فرد است و با توصیف آنچه فرد می‌تواند و چیزهایی که نمی‌تواند انجام دهد به ارزیابی عملکرد او می پردازند و به این ترتیب در تصمیم‌گیری راجع به چگونگی تدریس مفید واقع می‌شوند.[٤] از جمله آزمون‌هایی که برای ارزشیابی پیشرفت تحصیلی در دوره دندان پزشکی عمومی بکار می‌روند آزمون‌های جامع علوم پایه است.

مبنای برگزاری این آزمون‌ها بر اساس این اعتقاد است که هرچه دانشجویان با آمادگی بیشتری از نظر علمی وارد مرحله بعد شوند به نحو بهتری خواهند توانست وظایف محوله خود را در درمان بیماران انجام دهند؛ چراکه یکی از عوامل اصلی که آموزش را به مسیر پویا و مؤثر هدایت می‌کند، ارزشیابی است.[۵]

دوره آموزشی علوم پایه پزشکی، پیش زمینه پیشرفت تحصیلی و فهم دقیق مطالب دوره‌های بعدی پزشکی عمومی است[٦] و در فهم دروس بالینی و در ارزیابی وضعیت تحصیلی در مقاطع بعدی تحصیلی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.[۷]

در حال حاضر برای آموزش دندان پزشکان نظام آموزشی مدونی بر دانشگاه‌های کشور حاکم می‌باشد، به این صورت که برنامه دوره دکتری عمومی دندانپزشکی شامل دو مرحله به شرح زیر است: مرحله اول: دروس عمومی و علوم پایه و تعدادی از دروس اختصاصی،

مرحله دوم: دروس اختصاصی دندانپزشکی.

در پایان مرحله اول، امتحان جامع علوم پایه برگزار می‌شود و قبولی در این امتحان شرط ورود به دوره بعدی می‌باشد.[۸]

تمام آزمون‌ها نیاز به شواهد روایی دارند و روایی جزء لاینفک هر آزمون است، زیرا بدون ارائه شواهد روایی برگزاری آزمون‌ها در آموزش پزشکی مفهومی ندارد. امتحان جامع علوم پایه که یکی از مهم‌ترین آزمون‌ها برای ارزیابی دانشجویان دندانپزشکی می‌باشد باید روایی قابل قبولی داشته باشد.[۹]

روایی شامل روایی محتوا، روایی ظاهری یا صوری، روایی سازه و روایی معیار یا ملاک است.[۱۰] روایی پیش‌بین نشان‌دهنده این است که آزمون برگزار شده قابلیت پیش‌بینی قابلیت‌های مورد انتظار آتی انتخاب‌شوندگان را به درستی دارد.

بخش مهمی از فرآیند آموزشی، ارزشیابی پیشرفت تحصیلی یا ارزشیابی میزان یادگیری دانشجویان است. لذا می‌بایست از تناسب و سازگاری روش‌های ارزشیابی با اهداف ویژه یادگیری اطمینان حاصل شود[۱۱] و تمام آزمون‌ها شواهد روایی کافی را داشته باشند زیرا بدون ارائه شواهد روایی برگزاری آزمون‌ها در آموزش پزشکی مفهومی ندارد.[۹]

در سراسر جهان مطالعات پیش‌بینی اعتبار برای غربالگری و انتخاب به عنوان روشی برای پذیرش بهترین دانشجویان استفاده می‌شود.[۱۲و۱۳] در ایران مطالعاتی در خصوص روایی پیش بین آزمون‌های اختصاصی ورودی دانشگاه‌ها در پیش‌بینی موفقیت آموزشی دانشجویان رشته پزشکی[۱۴] و نقش معدل دیپلم در تبیین عملکرد تحصیلی[۱۵] انجام شده است که نشان‌دهنده همبستگی بالا بین دروس اختصاصی کنکور و معدل دیپلم با نمره علوم پایه بوده است. ولی مطالعاتی که همبستگی بین نمره علوم پایه را با نمرات دانشجویان در مقاطع تحصیلی بالاتر بررسی نموده باشد، اندک است.

از جمله مطالعه محمدی و همکاران[۱۶] در خصوص اعتبار پیش‌گویی آزمون جامع علوم پایه در موفقیت تحصیلی دانشجویان در آزمون جامع پیش کارورزی در رفسنجان است که همبستگی بالایی بین آزمون جامع علوم پایه و آزمون جامع پیش‌کارورزی نشان داد؛ یا مطالعه پناهنده و همکاران[۱۷] به منظور تعیین اعتبار پیش‌بینی امتحان جامع علوم پایه در موفقیت دانشجویان پزشکی در دوره فیزیوپاتولوژی و بالینی نشان داد که امتحان جامع علوم پایه اعتبار بیش‌بینی معنی‌دار نسبتاً بالایی را در عملکرد دانشجویان در امتحان جامع پیش کارورزی داشته است.

با توجه به اینکه امتحان جامع علوم پایه از مهم‌ترین آزمون‌های دانشجویان دندانپزشکی نیز می‌باشد انتظار می‌رود روایی پیش‌بین لازم را داشته باشد و هدف از طراحی آن گذراندن دانشجویانی است که بتوانند در آینده توانایی دندانپزشکی و ارائه خدمات مناسبی داشته باشند. اما با توجه به اینکه توانایی‌های مورد انتظار نظام سلامت از دندانپزشکان با توجه به مهارتی بودن رشته؛ بیشتر مبتنی بر ارائه خدمات بالینی است، ممکن است این آزمون روایی پیش‌بینی کننده مناسبی برای این رشته نداشته باشد. با توجه به جستجوهای انجام شده؛ پژوهشی برای تعیین میزان ارتباط نتایج این امتحان با کفایت بالینی آتی دندانپزشکی دانشجویان صورت نگرفته است. لذا انجام پژوهشی برای یافتن میزان روایی پیش‌بین آزمون‌های جامع علوم پایه دندانپزشکی در کفایت توانمندی بالینی دانشجویان می‌تواند در صورت نیاز منجر به ایجاد تغییراتی در نگاه حاکم بر این آزمون گردد.

مواد و روش‌ها

دانشجویان دانشکده دندانپزشکی مشهد در سه ورودی ۱۳۸٦ تا ۱۳۸۸ که در امتحان جامع علوم پایه سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ شرکت کرده بودند انتخاب شدند. روش نمونه‌گیری به روش آسان بود و کلیه دانشجویان این سه دوره که شرایط ورود به پژوهش را داشتند و در امتحان جامع علوم پایه مربوط به خود شرکت کردند و قبل از شرکت در آزمون ترک تحصیل نکرده بودند، وارد مطالعه شدند.

با هماهنگی با مسؤول آموزش دانشکده دندانپزشکی، اطلاعات مربوط به دانشجویان شامل جنس، سال ورود به دانشگاه، سال شرکت در امتحان جامع علوم پایه و نمرات امتحان جامع علوم پایه دانشجویان و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم آنها، به عنوان سالی که بیشترین واحد بالینی دارد، از پرونده آنان استخراج شد و در چک لیستی که بر اساس اهداف مطالعه طراحی شده بود و شامل اطلاعات فوق بود وارد شد. چک لیست‌ها بدون نام و نام خانوادگی و دارای کد بود و توسط آموزش دانشکده دندانپزشکی تکمیل شده و در اختیار محقق قرار گرفت.

داده‌ها پس از ورود به نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۱/۵ با استفاده از آزمون‌های آماری تی مستقل و من ویتنی (برای مقایسه میانگین نمرات در دو جنس)، کروسکال والیس (برای مقایسه میانگین نمرات در سال‌های مختلف) و ضریب همبستگی پیرسون (جهت تعیین ارتباط نمرات آزمون‌های علوم پایه با معدل دانشجویان در سال پنجم) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

اطلاعات مربوط به ۱٤۸ دانشجو در سال‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. اکثریت دانشجویان، دختر (۸٤ نفر معادل ٥٦/۷ درصد) و بیشترین فراوانی مربوط به ورودی‌های سال ۱۳۸۸ بود. (جدول ۱)

در جدول ۲ میانگین نمرات علوم پایه و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم در سال‌های مورد مطالعه مقایسه شده‌اند. بیشترین میانگین نمره علوم پایه در سال ۱۳۸۸ بود ۱۷/۱۲±۱۳٥/٥۲ بود و در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸٦ به ترتیب ۱۹/٥٦±۱۱۷/۰۰ و ۲۲/۳۹±۱۲۸/٥۱ بود. براساس نتایج آزمون کروسکال والیس، اختلاف معنی‌داری بین نمرات نیم سال اول سال پنجم دانشجویان سه ورودی وجود نداشت، ولی بین نمرات نیم سال دوم سال پنجم و علوم پایه در سه ورودی مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. طبق نتایج آزمون کروسکال والیس اختلاف معنی‌داری بین نمرات علوم پایه دانشجویان ورودی ۸۸ و ۸۷ مشاهده شد. هم چنین بین نمرات نیم سال دوم سال پنجم دانشجویان ورودی ۸۷ و ۸٦ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. (جدول ۲)

جدول ۱ : توزیع فراوانی شرکت کنندگان بر حسب سال ورود به دانشگاه و جنس

سال ورود	دختر (درصد) تعداد	پسر (درصد) تعداد	جمع کل (درصد) تعداد
۱۳۸۸	۳۳ (٦۰/۰)	۲۲ (٤۰/۰)	٥٥ (۱۰۰/۰)
۱۳۸۷	۲۸ (٥۸/۳)	۲۰ (٤۱/٦)	٤۸ (۱۰۰/۰)
۱۳۸٦	۲۳ (٥۱/۱)	۲۲ (٤۸/۸)	٤٥ (۱۰۰/۰)
کل	۸٤ (٥٦/۷)	٦٤ (٤۳/۲)	۱٤۸ (۱۰۰/۰)

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار[a] نمرات علوم پایه و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم بر حسب سال ورود به دانشگاه

سال ورود	میانگین نمرات علوم پایه	معدل نیم سال اول سال پنجم	معدل نیم سال دوم سال پنجم
۱۳۸۸	۱۳۵/۵۲[a] ±۱۷/۱۲	۱۶/۳۵±۱/۱۶	۱۶/۴۴[a,b] ±۱/۵۰
۱۳۸۷	۱۱۷/۰۰[b] ±۱۹/۵۶	۱۶/۴۸±۰/۹۶	۱۶/۹۳[a] ±۱/۱۱
۱۳۸۶	۱۲۸/۵۱[a,b] ±۲۲/۳۹	۱۵/۷۸±۲/۳۹	۱۶/۱۵[b] ±۱/۷۳
جمع کل	۱۲۷/۳۸±۲۰/۹۹	۱۶/۲۲±۱/۶۱	۱۶/۵۱±۱/۴۹
نتایج آزمون کروسکال والیس	P=۰/۰۹۵	P=۰/۰۱۰	P<۰/۰۰۱

علامت‌های یکسان با هم مشابه هستند.

a) **مقادیر به صورت انحراف معیار+میانگین توصیف شده است.**

در جدول ۳ میانگین، میانه و دامنه نمرات علوم پایه و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم بین دانشجویان پسر و دختر در سال‌های مورد مطالعه مقایسه شده است.طبق نتایج آزمون تی مستقل نمرات علوم پایه در دانشجویان دختر مورد مطالعه به طور معنی‌داری از دانشجویان پسر بیشتر بود. همچنین نتایج آزمون من ویتنی نشان داد که نمرات نیم سال اول و دوم سال پنجم در دانشجویان دختر مورد مطالعه به طور معنی‌داری از دانشجویان پسر بیشتر بود. (جدول ۳)

محاسبه ضریب همبستگی بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم در هر سه دوره نشانگر همبستگی این نمرات بود (P<۰/۰۵). (جدول ٤)

جدول ۳ : میانگین، میانه و دامنه نمرات علوم پایه و معدل نیم سال اول و دوم سال پنجم بر حسب جنس و مقایسه متوسط آنها

سال ورود	جنسیت	تعداد	میانگین	میانه	دامنه	نتیجه آزمون
نیم سال اول سال پنجم	دانشجویان پسر	٦٤	۲/۰۸±۱۵/۷۲	۱٦/۰۱	۱/٦۰±۱۷/۷۵	z=٤/۳٦ [a]
	دانشجویان دختر	۸٤	۰/۹۹±۱٦/٦	۱٦/۹۰	۱۳/۰۷±۱۸/۰۸	P<۰/۰۰۱
نیم سال دوم سال پنجم	دانشجویان پسر	٦٤	۱/۷٤±۱۵/۹۷	۱٦/۲۹	۷/۷۱±۱۸/۱۸	Z=٤/۱٦
	دانشجویان دختر	۸٤	۱/۱۱±۱٦/۹۳	۱۷/۲۱	۱۲/۲۵±۱۸/٤۲	P<۰/۰۰۱
علوم پایه	دانشجویان پسر	٦٤	۹۱/٤۱±۱۲۰/٤۰	۱۱۹/۵۰	۸۲/۰۰±۱٦۲/۰۰	t=۳/٦۸
	دانشجویان دختر	۸٤	۲۰/٦۸±۱۳۲/۷۰	۱۳٤/۵۰	٦۵/۰۰±۱۷۲/۰۰	P<۰/۰۰۱

a) آزمون من ویتنی

ضریب همبستگی نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم برحسب سال ورود به دانشگاه و جنس هم محاسبه شد. که در دانشجویان پسر و دختر ورودی ۸۸ و ۸٦ و دانشجویان دختر ورودی ۸۷ ضریب همبستگی ارتباط معنی‌داری را بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم نشان داد ($P<۰/۰۵$). اما در دانشجویان پسر ورودی ۸۷ بین نمره علوم پایه و معدل نیم سال دوم همبستگی ضعیفی ($P=۰/٤۹$) وجود داشت ولی بین نمره علوم پایه و معدل نیم سال اول ($P=۰/۱۱۲$) و معدل کل سال پنجم ($P=۰/۲۱۰$) ارتباط معنی‌داری پیدا نشد. (جدول ۵)

همبستگی نمرات علوم پایه و و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم و معدل کل سال پنجم در کل سه ورودی برحسب جنس نیز بررسی شد که در کل دانشجویان پسر و کل دانشجویان دختر ارتباط معنی‌داری بین نمرات وجود داشت ($P<۰/۰۵$). (جدول ٦)

جدول ٤ : ضریب همبستگی نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم برحسب سال ورود به دانشگاه

سال ورود	تعداد	معدل نیمسال اول	معدل نیمسال دوم	معدل کل سال پنجم
علوم پایه ۸۸	۵۵	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۳۳	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۵۹۵	$P<۰/۰۱$ و r=۰/٦۷٦
علوم پایه ۸۷	٤۸	$P<۰/۰۱$ و r=۰/٤۲۲	$P<۰/۰۱$ و r=٦٤۰۰	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۵٤۱
علوم پایه ۸٦	٤۵	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۵٤	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۸۷	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۷۸

جدول ۵ : ضریب همبستگی نمرات علوم پایه و و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم و معدل کل سال پنجم برحسب سال ورود به دانشگاه و جنس

سال ورود	جنسیت	تعداد	معدل نیم سال اول	معدل نیم سال دوم	معدل کل سال پنجم
۸۸	دانشجویان پسر	۲۲	$P=۰/۰۱$ و r=۰/٦٦۵	$P=۰/۰۱$ و r=۰/٦۳٤	$P=۰/۰۱$ و r=۰/٦۳٤
	دانشجویان دختر	۳۳	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۲۷	$P=۰/۰۱$ و r=۰/۵۵۰	$P<۰/۰۱$ و r=۰/٦۸۰
۸۷	دانشجویان پسر	۲۰	$P=۰/۱۱۲$ و r=۰/۳٦۷	$P=۰/۰٤۹$ و r=۰/٤٤٦	$P=۰/۲۱۰$ و r=۰/۲۹۳
	دانشجویان دختر	۲۸	$P=۰/۰۱۸$ و r=۰/٤٤۵	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۲۱	$P<۰/۰۱$ و r=۰/٦۳٦
۸٦	دانشجویان پسر	۲۲	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۱۳	$P=۰/۰۰۳$ و r=۰/۵۹۵	$P=۰/۰۰۱$ و r=۰/٦٦۰
	دانشجویان دختر	۲۳	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷٦۰	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷۳۸	$P<۰/۰۱$ و r=۰/۷٤۷

جدول ٦ : ضریب همبستگی نمرات علوم پایه و و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم و معدل کل سال پنجم در سه ورودی برحسب جنس

جنسیت	تعداد	معدل نیم سال اول	معدل نیم سال دوم	معدل کل سال پنجم
دانشجویان پسر	٦٤	$P<$۰/۰۱ و r=۰/٤٤٦	$P=$۰/۰۰۵ و r=۰/۳٤۷	$P=$۰/۰۰۲ و r=۰/۳۸۵
دانشجویان دختر	۸٤	$P<$۰/۰۱ و r=۰/٦۱۳	$P<$۰/۰۱ و r=۰/۵۳۲	$P<$۰/۰۱ و r=۰/٦۰٦

بحث

این مطالعه به منظور تعیین اعتبار پیش‌بینی آزمون‌های جامع علوم پایه دندانپزشکی در کفایت توانمندی بالینی دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد،که ارتباط بین نمره علوم پایه با معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم سال پنجم بررسی شد.

محاسبه ضریب همبستگی نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم هم در هر سه دوره نشانگر همبستگی نمره علوم پایه و این نمرات بود.

نتایج اغلب مطالعات مشابه که بیشتر در رابطه با دانشجویان پزشکی است با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد و نشانگر این امر می‌باشد که آزمون جامع علوم پایه روایی پیش‌بین مناسبی در رابطه با آینده تحصیلی دانشجویان دارد.

در مطالعه امامی و همکاران[۱۸] برای دست یابی به سطح آگاهی فعلی کارورزان، از آزمون چند گزینه ای حضوری استفاده شد و نمرات آزمون جامع علوم پایه همین افراد به عنوان آگاهی قبلی در نظر گرفته شد. میزان آگاهی فعلی فرد با نمره آزمون جامع علوم پایه وی و معدل او ارتباط معنی داری را نشان داد.

نتایج مطالعه محمدی و همکاران[۱٦] در مورد دانشجویان پزشکی رفسنجان نیز با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد به طوری که اعتبار پیش گویی نمره علوم پایه برای نمره پیش کارورزی برابر ۰/۳۵۸ بود.

در مطالعه پناهنده و همکاران[۱۷] که به منظور تعیین اعتبار پیش‌بینی آزمون علوم پایه در موفقیت تحصیلی دانشجویان در مقطع فیزیوپاتولوژی و امتحان پیش کارورزی در دانشگاه علوم پزشکی رشت انجام شد ضریب همبستگی بین آزمون علوم پایه و امتحان جامع پیش کارورزی ۰/٦۵ بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که امتحان جامع علوم پایه اعتبار بیش بینی معنی‌دار نسبتاً بالائی را در عملکرد دانشجویان در امتحان جامع پیش کارورزی داشته است.

در مطالعه بیجاری و همکاران[۱۹] همبستگی متوسط تا بالای بین نمره امتحان جامع علوم پایه با نمرات مقاطع بالاتر در دوره پزشکی مشخص می کرد که می‌توان از آزمون علوم پایه به عنوان ابزار معتبری برای شناسایی دانشجویان در معرض عدم موفقیت تحصیلی در دوره‌های بعدی تحصیل استفاده کرد.

علت عدم هم خوانی بین مطالعات مختلف و وجود اختلاف در میزان همبستگی نمرات، احتمالا به دلیل تفاوت‌های فرهنگی و منطقه ای و تفاوت در شیوه درس خواندن در مناطق مختلف و وارد کردن ورودی‌های سال‌های مختلف در این مطالعات است.

علت احتمالی دیگر اختلاف اعتبار آزمون‌ها در مطالعات مختلف، تفاوت در حجم نمونه‌ها می باشد. همچنین تفاوت در روایی ظاهری و محتوایی و پایایی آزمون علوم پایه در دوره‌های مختلف نیز می تواند در نتایج تأثیرگذار باشد.

طبق بررسی انجام شده بین نمرات علوم پایه و معدل کل سال پنجم و معدل نیم سال اول و معدل نیم سال دوم در هر سه دوره همبستگی معنی‌داری وجود داشت. سال پنجم با توجه به دارا بودن بیشترین واحد عملی به نظر می‌رسد می‌تواند بهترین پیشگو برای توانمندی بالینی دانشجویان دندانپزشکی باشد. با توجه به اینکه ارزشیابی‌های انجام شده نشانگر میزان توانمندی دانشجویان است؛ به نظر می‌رسد، همبستگی بین نتایج آزمون جامع با این نمرات نشانگر این است که استفاده از آزمون جامع علوم پایه با وجود اینکه از نظر محتوایی تناسبی با دروس بالینی و هدف دوره دندانپزشکی عمومی کشور ندارد، همبستگی مناسبی بین این آزمون و نتایج سال پنجم وجود دارد که امر نشانگر این مسئله می‌باشد که می‌توان از آزمون علوم پایه به عنوان ابزار معتبری برای شناسایی دانشجویان در معرض عدم موفقیت تحصیلی در دوره‌های بعدی تحصیل استفاده کرد.

مطالعه حاضر اگرچه در سه دوره ورودی دانشجویان برگزار شد؛ نمی‌تواند تعمیم قطعی برای نتایج به دست آمده در کل سال‌ها و همچنین در کلیه کشور باشد که مطالعات دیگر در این موضوع می‌تواند مکمل نتایج به دست آمده باشد. علاوه بر آن بررسی کارآمدی دندانپزشکان در ارائه خدمت بالینی پس از فارغ التحصیلی نیز شاخص دقیق‌تری برای مقایسه است که با توجه به عدم وجود اطلاعات و همچنین شاخص‌هایی در این خصوص نتایج به دست آمده با وجود محدودیت‌ها قابل استفاده خواهد بود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که هر چند رشته دندانپزشکی رشته مهارتی بوده و نیاز به توانایی‌های عملی دارد؛ بیشتر دانشجویانی که در آزمون نظری موفق باشند می‌توانند در کسب توانمندی‌های مورد انتظار بالینی دندانپزشکی نیز موفق عمل کنند. لذا استفاده از آزمون جامع علوم پایه پیش‌بینی‌کننده مناسبی در غربال دانشجویان برای ورود به دوره بعدی خواهد بود.

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر تنها بررسی دانشجویان یک دانشگاه می‌باشد. هم چنین به علت مشکل بودن بررسی نمرات واحدهای عملی سال پنجم به صورت مجزا مجبور به استفاده از معدل کل سال پنجم دانشجویان شدیم، اگر قادر به بررسی نمرات واحدهای عملی سال پنجم به صورت مجزا بودیم دقت نتایج حاصل بسیار بیشتر بود.

تشکر و قدردانی

این طرح با پشتیبانی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گردیده است که به این وسیله، مراتب سپاس پژوهشگران ابراز می‌گردد.

منابع

1. Haghanifar S, Moghadamnia A, Moudi E, Motallebnejad M, Rezapour S, Ghorbani H. Factors related to academic achievement of dental students in Babol University of Medical Sciences: A Ten Years Trend (1993-2002). IJMS 2012; 12 (7): 480-7.

2. Matlab Nejad M, Bijani A, Isa poor R, Ghanbari M. The status of dental student of clinical stage's education in Babol Medical University in the entering classes of year 1993 to 1996. JBUMS 2003, 5(2): 7-11.
3. Falahati M, Mohamadzadeh Z, Entezari M. Improvement of quality and validity of student assemssment: Executive aspects. IJMS 2005; 5(1); 5-6.
4. Behnamfar R. Using optical mark read (OMR) scanners in marking and analyzing multiple choice questions: Some concerns. Strides Develop Med Educ 2013; 10(3): 90-2.
5. Nasri K, Kahbazi M, Nasri S. Medical students' viewpoints toward basic sciences and preinternship comprehensive exams in Arak University of Medical Sciences. IJMS 2010; 10(1): 82-91.
6. Namdari P, Ebrahimzadeh F, Mardani M. Study of effective factors on comprehensive test of basicmedical sciences of the medical students of Lorestan University of Medical Sciences]. Yafteh 2010; 12(1): 5-12.
7. Roudbari M, Dadgar F. Effective factors on the results of the basic sciences examinations at Zahedan University of Medical Sciences. Qazvin Univ Med Sci 2004; 8(1): 32-9.
8. Regulations of doctoral dental education. Available at: URL: http://www. http://www.mums.ac.ir/education/fa/dandanrules. Accessed March 04, 2014.
9. Akbari M, Mahavelati Shamsabadi R. Direct observation of procedural skills (dops) in restorative dentistry: Advantages and disadvantages in student's point of view. IJMS 2013; 13(3): 212-20.
10. Zolfaghari B, Asadollahi GH. Academic Achivement Tests in Medical Sciences. 1st ed. Isfahan: Isfahan University of Medical Sciences; 2000. P. 24-30.
11. Bahreini Toosi M H, Modabber Azizi M J, Kaveh Tabatbaie M S, Ebrahimzadeh S, Bahreini Toosi V, Bahreini Toosi K. Medical students' viewpoints about the evaluation methods at internship stage (Mashad University 2001). IJMS 2002; 2: 19.
12. Donnon T, Paolucci EO, Violato C. The predictive validity of the MCAT for medical school performance and medical board licensing examinations: A meta-analysis of the published research. Acad Med 2007; 82(1): 100-6.
13. Farrokhi-Khajeh-Pasha Y, Nedjat S, Mohammadi A, Malakan Rad E, Majdzadeh R, Monajemi F, et al. The validity of Iran's national university entrance examination (Konkoor) for predicting medical students' academic performance. BMC Med Educ 2012; 12: 60.
14. Erfan A, Yousefi AR, Mousavi SA, Rostami A. Predictive validity of specialized courses in the university entrance examination for medical students. IJMS 2011; 10(5): 1245-50.
15. Fakharian E, Tagharrobi Z, Mirhoseini F, Rasoulinejad SA, Akbari H, Ameli H. Predictive validity of high school grade average on educational progress. Educ Strategies J 2010; 2(4): 147-51.
16. Mohammadi M, Ahmadi J. Predictive validity of the comprehensive basic science examination (CBSE) for success assessment of comprehensive preintership examination (CPIE) in medical students. IJMS 2002; 2(1): 40.
17. Panahandeh Z, Behboudi F. Predictive validity of the comprehensive basic science examination means score for assessment of medical students' performance. IJMS 2002; 2(1): 44.

18. Emami S, Rasouli Nejad M, Changiz T, Afshin Nia F, Zolfaghari B, Adibi P. Interns' view about basic medical sciences: Their knowledge and attitude to national comprehensive exam and basic medical courses in isfahan university of medical sciences. IJMS 2000; 1(1): 21-5.
19. Bijari B, Abassi A. Predictive Validity of Comprehensive Basic Science Examination for Medical Students' Academic Performance in Birjand University of Medical Sciences IJMS 2014; 13(12): 1011-8.

مقایسه غلظت فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی در مایع شیار لثه‌ای افراد سالم و بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن و پریودنتیت مهاجم

سیدعلی بنی هاشم راد*#، شادی ثقفی، محمد سوختانلو***، نازنین شاهسوند*****

* دانشیار گروه پریودانتیکس، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

** دانشیار آسیب شناسی دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

*** استادیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

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

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۴/۳ – تاریخ پذیرش : ۹۵/۱/۲۵

Comparison of Vascular Endothelial Growth Factor Concentration in Gingival Crevicular Fluids among Patients with Aggressive and Chronic Periodontitis and Healthy Individuals

SayedAli Banihashemrad*#, Shadi Saghafi, Mohammad Sookhtanloo***, Nazanin Shahsavand******

** Associate Professor, Dept of Periodontics, School of Dentistry, Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

*** Associate Professor of Oral Pathology, Oral & Maxillofacial Diseases Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

**** Assistant Professor of Clinical Biochemistry, Dept of Medical Biochemistry, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

***** Postgraduate Student of Endodontics, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.*

Received: 24 June 2015 ; Accepted: 13 April 2016

Introduction: Periodontitis is an inflammatory disease which affects vascular supporting tissues of teeth. Angiogenesis is an integral component in the pathogenesis of vascular diseases and chronic inflammations, such as periodontitis. On the other hand, one of the major regulators of new vessels formation is vascular endothelial growth factor (VEGF). The aim of this study was to determine and compare VEGF levels in gingival crevicular fluids (GCF) among patients with aggressive and chronic periodontitis and healthy individuals.

Materials & Methods: In this cross-sectional clinical study, forty-five volunteers were divided into three equal groups consisting of healthy individuals, chronic periodontitis and aggressive periodontitis. In order to perform sampling, GCF was absorbed by putting number 40 endodontic paper cones in the the gingival sulci with highest degrees of clinical attachment loss and inflammation signs. Similarly, mesiobuccal sulci of left maxillary first molars were sampled in healthy individuals. After collecting all samples, VEGF levels were determined using ELISA method.

Results: The present study showed that VEGF concentration means in healthy individuals, chronic periodontitis and aggressive periodontitis were respectively 192.63±170.07, 1409.38±244.12 and 1734.33±317.13 nanograms per liter. VEGF levels in patients with aggressive periodontitis were significantly higher than chronic periodontitis (P=0.003) and VEGF levels in patients with both types of periodontitis were significantly higher than healthy individuals (P<0.001). However, there was no significant correlation between VEGF levels and age or sex of patients (P>0.05).

Conclusion: VEGF levels were significantly higher in both types of periodontitis than healthy individuals and were significantly higher in aggressive periodontitis than chronic periodontitis.

Key words: Aggressive periodontitis, chronic periodontitis, healthy gingiva, vascular endothelial growth factor, gingival crevicular fluid.

 # Corresponding Author: banihashema@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 123-32 .

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، دانشکده دندانپزشکی، گروه پریودانتیکس، تلفن: ۱۵-۳۸۸۲۹۵۰۱-۰۵۱

E-mail: banihashema@mums.ac.ir

چکیده

مقدمه: پریودنتیت یک بیماری التهابی است که بافت‌های حمایت کننده دارای عروق دندان را درگیر می‌کند. آنژیوژنز یک جزء جدایی ناپذیر در پاتوژنز بیماری‌های عروقی و التهاب‌های مزمن نظیر پریودنتیت است و یکی از تنظیم کننده‌های اصلی ایجاد عروق جدید، فاکتور رشد اندوتلیالی عروق (VEGF) محسوب می شود. هدف از این مطالعه، تعیین و مقایسه سطح VEGF مایع شیار لثه‌ای (GCF) در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم و مزمن و افراد سالم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه بالینی مقطعی، ٤٥ نفر از افراد داوطلب در سه گروه مساوی از افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم قرار گرفتند. جهت نمونه گیری از افراد، با استفاده از Paper cone شماره ٤٠ در افراد مبتلا به پریودنتیت، از سالکوس دندان با بیشترین میزان از دست رفتن چسبندگی لثه و نشانه‌های التهاب، GCF جمع گردید. به طور مشابه در افراد سالم از سالکوس مزیوباکال دندان مولر اول سمت چپ بالا نمونه گیری انجام شد. پس از جمع آوری تمام نمونه‌ها، با استفاده از تست ELISA، سطح VEGF نمونه‌ها تعیین گردید و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ١٦ و تست آماری ANOVA آنالیز شدند.

یافته‌ها: مطالعه حاضر نشان داد که میانگین غلظت VEGF در GCF افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم به ترتیب ١٩٢/٦٣، ١٤٠٩/٣٨ و ١٧٣٤/٣٣ نانوگرم بر لیتر بود. به طور معنی‌داری سطح VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم بیشتر از مزمن (P=٠/٠٠٣) و سطح VEGF در هر دو گروه پریودنتیت، بیشتر از افراد سالم بود (P<٠/٠٠١). اگرچه میان غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای با سن و جنس افراد، رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید (P>٠/٠٥).

نتیجه گیری: سطح VEGF در بیماران مبتلا به هر دو نوع پریودنتیت نسبت به افراد سالم و در پریودنتیت مهاجم نسبت به مزمن افزایش معنی‌داری داشت.

کلمات کلیدی: پریودنتیت مهاجم، پریودنتیت مزمن، فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی، مایع شیار لثه‌ای، لثه سالم.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ١٣٩٥ دوره ٤٠ / شماره ٢ : ٣٢-١٢٣ .

مقدمه

فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF)[1] یک گلیکوپروتئین همودیمریک با وزن مولکولی تقریباً ٤٥ کیلودالتون و به عنوان یک سیتوکاین مولتی فانکشنال اصلی در فرآیند التهاب و ترمیم زخم‌ها می‌باشد که به گیرنده VEGF در سطح سلول‌های اندوتلیال متصل می‌شود و یک القا کننده بالقوه آنژیوژنز می‌باشد. این فاکتور در بافت‌های پریودنتال در سلول‌های اندوتلیال، پلاسماسل‌ها، ماکروفاژها و نیز در اپی‌تلیوم جانکشنال، سالکولار و لثه‌ای یافت می‌شود. اعتقاد بر این است که VEGF نقش کلیدی را در بیماری پریودنتیت ایفا می‌کند.[١و٢] Ferrara و Henzel[٣] گزارش نمودند که یک میتوژن مختص به سلول اندوتلیال را خالص سازی نمودند و آن را فاکتور رشد اندوتلیالی عروق (VEGF) نامیدند. دست یافتن به این موضوع که VEGF یک مولکول پرقدرت، با قابلیت نفوذ و مختص به سلول‌های اندوتلیال است، این فرضیه را تولید نمود که ممکن است این مولکول نقشی منحصر به فرد در تنظیم رشد فیزیولوژیک و پاتولوژیک عروق خونی ایفا نماید.[٣] آنژیوژنز یک جزء جدایی ناپذیر در پاتوژنز بیماری‌های عروقی و التهاب‌های مزمن نظیر پریودنتیت است.[٤] VEGF به طور اولیه باعث افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیال، ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک، کموتاکسی و مهاجرت سلول‌های ایمنی می‌شود.[٥]

مطالعاتی که نقش VEGF را در پاتوژنز بیماری‌های پریودنتال مورد بررسی قرار دادند به نتایج متناقضی رسیده‌اند که در برخی از آن‌ها بیان VEGF افزایش یافته[٦-٨]، در برخی کاهش یافته[٩] و یا در طول بیماری تغییری نکرده است.

1. Vascular Endothelial Growth Factor

Suthin و همکارانش[۱۰] میزان ترشح VEGF را در محیط کشت در فیبروبلاست‌های لثه‌ای انسان سنجیدند و به این نتیجه رسیدند که وزیکول و پروتئین غشای خارجی پاتوژن‌های پریودنتال مثل Aggrigatobacter Actinomycetemcomitans و Porphyromonas Gingivalis عواملی هستند که موجب افزایش بیان VEGF در محیط کشت می‌شوند و این عوامل نسبت به حرارت و پروتئازها حساسند. همچنین، نتیجه دیگر این مطالعه این بود که VEGF می‌تواند با اتیولوژی پریودنتیت در مراحل اولیه آن مرتبط باشد، زیرا پاتوژن‌های پریودنتال محرک نئوواسکولاریزاسیون هستند که موجب تورم و ادم می‌شود. Prapulla و همکارانش[۱] در مطالعه‌ای، سطح VEGF را در GCF در سه حالت سلامت، ژنژیویت و پریودنتیت مزمن سنجیدند و دریافتند که بیشترین میزان VEGF مربوط به گروه سوم و کمترین میزان آن در گروه اول بود.

Kasprazak و همکارانش[۱۱] میزان بروز فاکتورهای محرک آنژیوژنز (VEGF, CD31 & CD105) و اندکس آنژیوژنتیک را در لثه بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بروز بیش از حد فاکتورهای مرتبط با آنژیوژنز در پریودنتیت مزمن، نشانگر اهمیت آن در طولانی کردن پروسه التهاب یا وخیم‌تر شدن دوره‌ای تخریب پریودنشیوم است. افزایش نسبت‌های CD105/CD31 و VEGF/CD301 در لثه، موید افزایش تکثیر سلول‌های اندوتلیالی در لثه افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن بود.

در مطالعه‌ای که توسط Bassiouny و همکاران[۱۲] به چاپ رسید، یک بررسی مقایسه‌ای بین افراد سالم و دیابتی مبتلا به بیماری‌های پریودنتال به لحاظ بیان VEGF انجام شد. در این مطالعه ۲۴ نفر شرکت داشتند که در سه گروه شاهد (بدون دیابت، بدون پریودنتیت)، P (بدون دیابت، مبتلا به پریودنتیت) و DP (مبتلا به دیابت و پریودنتیت) قرار داشتند. نتایج این مطالعه مشخص کرد که پارامترهای بالینی بیماری پریودنتال بین گروه‌های P و DP در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری داشته که از لحاظ بافت شناسی، بیان VEGF در گروه‌های DP و P نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر مشاهده شد. همچنین بیان VEGF در گروه DP نسبت به گروه P بیشتر گزارش گردید ولی این تفاوت به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). پژوهشگران این مطالعه از به کارگیری درمان آنتی آنژیوژنیک برای درمان پریودنتیت مزمن حمایت می‌کنند.

تحقیق حاضر با این هدف طراحی و به اجرا گذاشته شد تا سطح VEGF مایع شیار لثه‌ای را در بیماران مبتلا به پریودنتیت مهاجم و مزمن و همچنین افراد سالم بررسی و مقایسه نماید.

مواد و روش‌ها

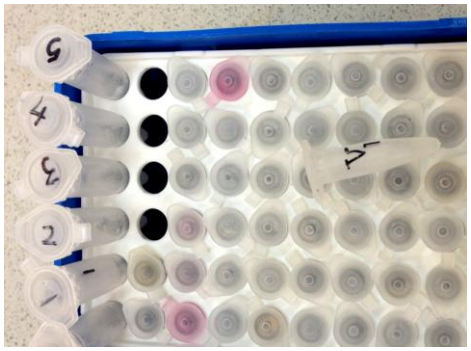
در این پژوهش، جمعیت مورد مطالعه از بین افراد مراجعه‌کننده به بخش پریو دانشکده دندانپزشکی مشهد انتخاب شدند به طوری که گروه مطالعه از میان افراد مراجعه‌کننده برای درمان پریودنتیت مزمن و مهاجم و گروه کنترل از میان مراجعه‌کنندگان با پریودنشیوم سالم جهت انجام جراحی افزایش طول تاج و نیز دانشجویان دندانپزشکی دانشکده دندانپزشکی مشهد انتخاب شدند. این افراد ایرانی و اختصاصاً خراسانی بودند. در این مطالعه نمونه‌ها در سه گروه (۱۵ نفر سالم، ۱۵ نفر مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۱۵ نفر مبتلا به پریودنتیت مهاجم) تقسیم شدند و تلاش شد که گروه‌های مطالعه از نظر سن و جنس همگن انتخاب شوند (ولی افراد در گروه سالم در ۲ دسته سالم جوان و سالم بالغ انتخاب شدند تا گروه‌های

بیمار هر کدام از لحاظ سنی با گروه کنترل مناسب خود مقایسه گردند). جهت نمونه گیری از افراد مورد مطالعه، پیش از هرگونه تحریک در دهان و پس از حذف پلاک سوپرا ژنژیوال با استفاده از پنبه استریل و ایزولاسیون با رول پنبه و پوار ملایم هوا از Paper cone شماره ٤٠ استفاده شد، به این صورت که Paper درون شیار لثه تا جایی فرو برده می‌شد که یک فشار ملایم احساس شود؛ سپس به مدت ۱ دقیقه Paper در محل نگه داشته می‌شد تا مایع شیار لثه جذب آن گردد. در افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن یا مهاجم از سالکوس دندان با بیشترین میزان از دست رفتن چسبندگی لثه و نشانه‌های التهاب نمونه‌گیری انجام شد و در افراد سالم از سالکوس مزیوباکال دندان مولر اول سمت چپ بالا (و در صورت عدم وجود آن از دندان مشابه در سمت راست) نمونه‌گیری انجام شد و نمونه‌های حاوی خون یا بزاق کنار گذاشته شدند.

تصویر ۱ : نمونه گیری مایع شیار لثه (GCF)

پس از اخذ نمونه‌ها، هر Paper در یک میکروتیوب استریل دربدار کدگذاری شده قرار داده شد که با کد روی فرم مشخصات بیمار که قبل از نمونه‌برداری تکمیل شده بود، مطابقت داشت. سپس تیوب‌ها سریع به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی منتقل گردیدند و در آنجا درون هر تیوب، میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه توسط Sampler ریخته شد و توسط پنس، Paper کاملاً درون آب فرو برده شد. سپس تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه روی یخ نگهداری شدند و در طی این مدت ۳،٤ ضربه ملایم به هر یک وارد می شد تا ماده جذب شده توسط Paper به آب دیونیزه منتقل گردد. آنگاه Paperها از تیوب خارج شده، درب تیوب‌ها بسته و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا روز آزمایش نگاه داشته شدند.

پس از جمع آوری تمام نمونه‌ها، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ١٦ و تست آماری ANOVA آنالیز شدند.



تصویر ۲ : میکروتیوب‌های حاوی محلول‌های استاندارد (چپ) و مایع شیار لثه حل شده در آب دیونیزه (راست) که کدگذاری شده‌اند

جهت اندازه گیری VEGF در نمونه ها از روش ELISA استفاده شد. این روش بر اساس دستورالعمل کیت الایزای شرکت کریستال دی (Human Vascular Endothelial cell Growth Factor, ELISA Kit - E0080Hu - Crystal Day Biotech) انجام شد. برای انجام طرح ابتدا با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد شامل ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰، ۸۰۰، ۱٦۰۰ و ۳۲۰۰ نانو گرم بر لیتر نمودار استاندارد تهیه شد. برای انجام تست الایزای

اندازه‌گیری VEGF ، ابتدا ٤٠ میکرولیتر از نمونه‌های مایع شیار لثه کف چاهک های الایزا Load شد؛ سپس ۱۰ میکرولیتر آنتی بادی VEGF که با بیوتین Lable شده و سپس ۵۰ میکرولیتر استرپتاویدین HRP اضافه گردید؛ آنگاه Plate را Shake نموده و به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه نمودیم. پس از انکوباسیون و پس از تخلیه محتویات چاهک‌ها، مرحله شستشو با استفاده از محلول شستشوی موجود در داخل کیت الایزا انجام گرفت؛ به این صورت که هر بار ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو به مدت ۰/۵ الی ۱ دقیقه درون چاهک‌ها ریخته می شد و سپس با شدت (Tapping) تخلیه می‌گردید. این عمل ۵ بار انجام شد. در مرحله بعد برای انجام پروسه ظهور رنگ (Color development) از ۵۰ میکرولیتر از هریک از محلول های A و B اضافه گردید و پس از Shake به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی، ۵۰ میکرولیتر Stop solution به منظور متوقف کردن واکنش افزوده شد (که در این مرحله تغییر رنگ از آبی به زرد صورت می گرفت) و نهایتاً جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ٤٥٠ نانومتر با استفاده از دستگاه Perkin Elmer (Victor X5) قرائت شد. پس از کاهش مقادیر جذب Blank از مقادیر جذب استاندارد و نمونه‌ها، نمودار استاندارد تهیه شد؛ به این صورت که غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ٤٠٠، ۸۰۰، ۱٦۰۰ و ۳۲۰۰ در محور x ها و جذب استاندارد ها در محور y ها قرار داده شد و با استفاده از معادله خط حاصل از نمودار استاندارد غلظت VEGF در نمونه ها محاسبه گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه بالینی، تعداد ٤٥ نفر در قالب سه گروه ۱۵ نفری (سالم، دارای پریودنتیت مزمن و پریودنتیت مهاجم) از نظر غلظت فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF) در مایع شیار لثه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا وضعیت نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید داده‌ها دارای توزیع نرمال هستند.

همگنی واریانس‌ها با استفاده از آماره لون بررسی شد و مشخص گردید واریانس‌ها نیز همگن هستند (P=۰/۲۰۳). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد توزیع جنسیت در گروه‌ها همگن هستند.

در جدول ۲ با مقایسه میانگین غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای بین سه گروه مورد مطالعه، مشاهده گردید که میانگین در گروه کنترل کمتر از گروه مزمن و در گروه مزمن کمتر از گروه مهاجم بود. همچنین آزمون آنالیزواریانس یک عاملی نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین سه گروه مذکور وجود داشت (P<۰/۰۰۱).

براساس جدول ۳ مشاهده گردید که میانگین VEGF در گروه سالم به طور معنی‌داری از دو گروه دیگر کمتر بود (P<۰/۰۰۱). هم چنین در گروه مهاجم نیز میانگین VEGF به طور معنی‌داری بیشتر از گروه مزمن بود (P<۰/۰۰۱)، اما میزان اختلاف بین این دو گروه به اندازه اختلاف بین هر یک از این دو گروه با گروه سالم نبود.

میانگین سنی دو گروه سالم جوان و پریودنتیت مهاجم و همچنین دو گروه سالم بالغ و پریودنتیت مزمن مشابه یکدیگر بود (جدول ٤). سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آماره لون بررسی شد که مشخص گردید واریانس‌ها نیز همگن هستند (P=۰/۵۸۰).

جدول ۱ : توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه بر حسب سن و جنسیت در گروه‌ها

	سالم	پریودنت مزمن	پریودنت مهاجم	نتیجه آزمون
مذکر (درصد)تعداد	۷ (٤٦/۷)	۸ (۵۳/۳)	٦ (٤۰/۰)	X^2=۰/۵۳٦ و P=۰/۷٦۵
مونث (درصد)تعداد	۸ (۵۳/۳)	۷ (٤٦/۷)	۹ (٦۰/۰)	
سن (انحراف معیار±میانگین)	۲٦/۹۳±۱۰/۲۰	۳۷/۲۰±٦/٦۷	۱۷/۸±۳/۱۷	F=۲٦/۷۳ و P<۰/۰۰۱

جدول ۲ : میانگین، انحراف معیار میزان VEGF مایع شیار لثه‌ای به تفکیک جنسیت و کل افراد مورد مطالعه با نتیجه آزمون در گروه‌های موردمطالعه

	سالم	پریودنت مزمن	پریودنت مهاجم	نتیجه آزمون
	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	
مرد	۲۰٤/۸۳±۱۹۰/٤۲	۱۷۸۲/۳۳±۳۳۲/۰٤	۱۳۹٤/۳۹±۲٦۸/۱۷	P<۰/۰۰۱
زن	۱۹٤/۵٦±۱٤۷/۹۱	۱۷۰۲/۳۳±۳۲۲/۸۲	۱٤۲٦/۵۱±۲۳۳/٤۸	P<۰/۰۰۱
کل	۱۹۲/٦۳±۱۷۰/۰۷	۱٤۰۹/۳۸±۲٤٤/۱۲	۱۷۳٤/۳۳±۳۱۷/۱۳	P<۰/۰۰۱

جدول ۳ : رگرسیون چند گانه خطی برای تاثیر متغیرهای جنسیت، سن و گروه‌های مورد مطالعه بر مقدار VEGF

متغیر		برآورد ضریب رگرسیون	خطای استاندارد ضریب رگرسیون	آماره تی	مقدار P-
جنسیت	مرد	۱۸/۰۱٤	٦۳/۲۷۳	۰/۲۳٦	۰/۸۱۵
	زن (مرجع)	-	-	-	
سن		۵/۸۷۹	۵/۳۸٦	۱/۰۹۲	۰/۲۸۱
گروه	پریودنتیت حاد	۱۵۹٦/٦۰۳	۱۰۵/۰۳٦	۱۵/۲۰۰	P<۰/۰۰۱
	پریودنتیت مزمن	۱۱۵۵/۱۸۸	۱۰۸/۰٤٤	۱۰/٦۹۲	P<۰/۰۰۱
	سالم (مرجع)	-	-	-	

جدول ٤ : میانگین، انحراف معیار، کمینه و بیشینه سن در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین (سال)	انحراف معیار	کمینه (سال)	بیشینه (سال)
سالم جوان	۸	۱۸/٦۳	۳/۱۲	۱٤	۲۳
سالم بالغ	۷	۳٦/٤۳	۵/۸٦	۲۹	٤٤
پریودنتیت مهاجم	۱۵	۱۷/۸	۳/۱۷	۱۳	۲۵
پریودنتیت مزمن	۱۵	۳۷/۲	٦/٦۷	۲۸	۵۱
مجموع	٤۵	۲۷/۳۱	۱۰/۷۱	۱۳	۵۱

جدول ۵ : میانگین، انحراف معیار، کمینه و بیشینه غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای و نتیجه آزمون در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین غلظت (ng/l) VEGF	انحراف معیار	کمینه (ng/l)	بیشینه (ng/l)	نتیجه آزمون آنالیز واریانس یک عاملی
سالم جوان	۸	۱۹۱/۹۲	۱۶۱/۵۶	۲۴/۵۶	۴۹۳/۴۴	F=۱۰۲/۲۹۵ P<۰/۰۰۱
سالم بالغ	۷	۱۹۳/۴۴	۱۹۲/۴۵	۴۷/۸۹	۶۱۱/۲۲	
پریودنتیت مهاجم	۱۵	۱۷۳۴/۳۴	۳۱۷/۱۳	۱۰۹۱/۲۲	۲۲۶۰/۱۱	
پریودنتیت مزمن	۱۵	۱۴۰۹/۳۸	۲۴۴/۱۲	۹۶۲/۳۳	۱۷۵۳/۴۴	
کل	۴۵	۱۱۱۲/۱۱	۷۱۴/۴۹	۲۴/۵۶	۲۲۶۰/۱۱	

در جدول ۵ مشاهده گردید که کمترین دامنه تغییرات در گروه سالم و بیشترین در گروه پریودنتیت مهاجم بود. همچنین آزمون آنالیز واریانس یک عاملی نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین چهار گروه مورد بررسی وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$).

در گروه سالم، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۱۲۸ بود که همبستگی مثبت اما ضعیف با یکدیگر داشتند. در گروه پریودنتیت مزمن، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۳۷۷ بود که همبستگی مثبت اما نسبتاً ضعیف با یکدیگر داشتند. در گروه پریودنتیت مهاجم، میزان همبستگی سن و فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی برابر ۰/۰۸۷ بود که همبستگی مثبت اما خیلی ضعیف با یکدیگر داشتند. مشاهده می‌گردد که ضریب همبستگی در گروه پریودنتیت مزمن از سایر گروه‌ها بیشتر است. هیچ یک از همبستگی‌های ذکر شده معنی‌دار نبودند.

بحث

فرآیندهای التهابی موجب تغییرات ساختاری و عملکردی در عروق خونی پریودنشیوم می‌گردد و تشکیل عروق جدید و تغییرات عروقی چه برای مکانیسم‌های بیماری‌زا و چه برای از بین رفتن التهاب و تنظیم بهبودی امری ضروری است. یکی از وظایف اساسی سلول‌های اندوتلیال، تنظیم انتقال مایع، محلول‌ها، ماکرومولکول‌ها و سلول‌های ایمنی از عروق به بافت‌های اطراف آن است که توسط سیستم‌های بین سلولی اختصاص یافته‌ای از وزیکول‌های انتقال‌دهنده و همچنین توسط تماس‌های سلول به سلول پایدارکننده/ ناپایدارکننده تنظیم شده انجام می‌شود که در طول التهاب، سلول‌های مونوسیت/ ماکروفاژ بارزتر می‌شوند. این سلول‌ها در کنار سلول‌های اندوتلیال می‌توانند موادی را تولید کنند که آنژیوژنز را شروع نماید.[۱۳]

در مطالعه حاضر به منظور جمع آوری مایع شیار لثه از Paper cone استفاده گردید زیرا در برخی از مطالعات بر برتری و اولویت این روش نسبت به سایر روش‌های جمع‌آوری همچون استفاده از میکروپیپت تاکید شده است. استفاده از میکروپیپت تنها زمانی کاربرد دارد که جمع‌آوری با روش‌های مبتنی بر Paper cone با شکست مواجه شوند.[۱۴]

در مطالعه حاضر میانگین غلظت VEGF در مایع شیار لثه‌ای افراد سالم، مبتلا به پریودنتیت مزمن و مبتلا به پریودنتیت مهاجم به ترتیب ۱۹۲/۶۳، ۱۴۰۹/۳۸ و ۱۷۳۴/۳۳ نانوگرم بر لیتر بود. آزمون‌های آماری بیان گر افزایش معنی‌دار VEGF در بیماران مبتلا به هر دو نوع پریودنتیت نسبت به افراد سالم بودند ($P<۰/۰۰۱$). همچنین به طور کلی میانگین غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای به طور معنی‌داری در پریودنتیت مهاجم بیشتر از مزمن گزارش گردید ($P=۰/۰۰۳$). در سایر مطالعات مشخص شده است که غلظت VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت بیشتر از افراد سالم است.[۱۵و۱۲و۱۱]

به طور مثال در مطالعه Booth و همکاران[۲] نیز، در همخوانی با مطالعه حاضر، مشاهده شد که غلظت VEGF به طور قابل توجهی در بیماران مبتلا به بیماری‌های پریودنتال بیش از افراد سالم بود. در مطالعه Suthin و همکاران[۱۰] که به بررسی میزان ترشح VEGF در محیط کشت فیبروبلاست‌های لثه‌ای انسان پرداخته شده است، بیان شده است که از آن جا که پاتوژن‌های پریودنتال محرک نئوواسکولاریزاسیون هستند، احتمالاً VEGF با اتیولوژی پریودنتیت در مراحل اولیه که موجب تورم و ادم می‌شود، در ارتباط است. این مطالعه در هم خوانی با مطالعه حاضر می‌باشد. چرا که نه تنها در بیماران پریودنتیت نسبت به افراد سالم غلظت بیشتری از VEGF مشاهده شده است، بلکه در پریودنتیت مهاجم که فرآیندهای التهابی بیشتری نسبت به پریودنتیت مزمن رخ می‌دهد، به طور معنی‌داری غلظت VEGF بیشتر است. هم چنین در برخی مطالعات[۱۶] بیان شده است که غلظت VEGF در محل‌های دچار پریودنتیت بیشتر از محل‌های سالم در بیماران مبتلا به پریودنتیت است. این یافته بیانگر این مطلب است که تولید VEGF بیش از آن که یک فرآیند عمومی در بدن باشد، ناشی از یک فرآیند موضعی است و بیشترین غلظت آن در محل تولید و ترشح آن و در محل التهاب است. در مورد نقش VEGF در بیماری‌های پریودنتال بیان شده است که VEGF می‌تواند با سه مکانیسم زیر در تنظیم التهاب پریودنتال به ایفای نقش بپردازد.[۱۰] افزایش شبکه عروقی؛ افزایش وسعت فرآیند التهابی؛ القای آنژیوژنز در فضاهای ایجاد شده به علت تخریب بافت‌های پریودنتال.

در مطالعه Lucarini و همکاران[۱۶] مشابه سایر مطالعات مشاهده شد که غلظت VEGF و همچنین CD133 و CD44 در بیماران مبتلا به پریودنتیت به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بود. در این مطالعه بیان شده است که احتمالاً بالاتر بودن غلظت VEGF در بیماری پریودنتیت نشان گر بالاتر بودن قابلیت رژنراسیون بافت لثه‌ای می‌باشد.

در مطالعه Sert و همکاران[۱۷] مشخص شد سطح سرمی VEGF، sVEGFR-2 و IL-1β در مادرانی که کودکان پره ترم با وزن کم به دنیا می‌آوردند، به طور معنی‌داری بیشتر است. همچنین همین گروه از مادران هنگامی که مبتلا به پریودنتیت نیز بودند، سطح سرمی بیشتری از VEGF، sVEGFR-2 و IL-1β داشتند. در مطالعات دیگر توجه چندانی به بررسی نقش سن و جنس در غلظت VEGF در بیماران مبتلا به پریودنتیت نشده است. معمولاً میان بیماران پریودنتیت مزمن و مهاجم تفاوت سنی دیده می‌شود به این صورت که پریودنتیت مهاجم غالباً در افراد جوان‌تر و پریودنتیت مزمن معمولاً در افراد مسن‌تر رخ می‌دهد. در مطالعه ما نیز مشخص شد که میانگین سنی در پریودنتیت مهاجم ۱۷/۸ سال و در پریودنتیت مزمن ۳۷/۲ سال بود. هرچند میان سن و غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای در هیچکدام از گروه‌های مورد

مطالعه رابطه معنی‌داری مشاهده نگردید. هم چنین در مورد ارتباط جنسیت با غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای در مطالعه ما مشخص شد که بین غلظت VEGF و یک جنس خاص در هیچ یک از گروه‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

هم چنین، در این مطالعه تمامی گروه‌ها غلظت VEGF مایع شیار لثه‌ای به تفکیک جنس نیز مورد مقایسه قرار گرفت و تمامی نتایج حاصل از گروه مردان و گروه زنان مشابه یکدیگر و مشابه با نتایج حاصل از مقایسه گروه‌ها بدون تفکیک جنسیتی بود. تنها نقطه تفاوت میان مردان و زنان شرکت‌کننده در این بود که غلظت VEGF در بیماران زن مبتلا به پریودنتیت مهاجم به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن نداشت ($P=۰/۰۹۷$)، هرچند که غلظت آن در گروه پریودنتیت مهاجم بیش از پریودنتیت مزمن بود.

نتیجه گیری

در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن و مهاجم نسبت به افراد سالم افزایش معنی‌داری در VEGF مشاهده شد. همچنین میانگین غلظت VEGF شیار لثه‌ای به طور معنی‌داری در پریودنتیت مهاجم بیشتر از نوع مزمن گزارش گردید. سن و جنس شرکت کنندگان در این مطالعه بر غلظت VEGF شیار لثه‌ای مؤثر نبود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان نامه دانشجویی به شماره ۲۶۸۱ می‌باشد که از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دندانپزشکی و دانشگاه علوم پزشکی مشهد برای مراحل تصویب و پرداخت هزینه‌های آن تشکر می‌گردد.

منابع

1. Prapulla DV, Sujatha PB, Pradeep AR. Gingival crevicular fluid VEGF levels in periodontal health and disease. J Periodontol 2007; 78(12): 2395.
2. Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular Endothelial Growth Factor in human periodontal disease. J Periodont Res 1998; 35(8): 491-9.
3. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1989; 161(2): 3801-8.
4. Risau W, Flamme I. Vasculugenesis. Ann Rev Cell Dev Biol 1995; 11: 73-91.
5. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature 1997; 386(6626): 671-4.
6. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267(16): 10931-4.
7. Banihashem A, Saghafi S. Saliva and Oral Health. 1st ed. Mashhad (IRI): Ferdowsi University of Mashhad Publications; 2008. P. 170.
8. Hamilton WJ, Boyd JD, Mossmann HW. Human Embryology. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1962. P. 1-42.
9. Sanz M, Newman MG, Quirynen M. Advanced diagnostic techniques. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2006. P. 579.
10. Suthin K, Matsushita K, Machigashira M, Tatsuyama S, Imamura T, Torii M, et al. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor by periodontal pathogens in gingival fibroblasts. J Periodontal Res 2003; 38(1): 90-6.

11. Kasprzak A, Surdacka A, Tomczak M. Expression of angiogenesis-stimulating factors (VEGF, CD31, CD105) and angiogenetic index in gingivae of patients with chronic periodontitis. Folia Histochemica et Cytobiologica 2012; 50(4): 554-64.
12. Bassiouny G, Alayed H, Alsalman T. Vascular endothelial growth factor in gingival tissues of diabetic and healthy periodontal patients. J Am Sci 2014; 10(8): 130-5.
13. Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. J Cell Sci 2008: 121; 2115-22.
14. Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, Eick S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. J Periodontol 2011; 82(7): 1051-60
15. Unlü F, Güneri PG, Hekimgil M, Yesilbek B, Boyacioglu H. Expression of vascular endothelial growth factor in human periodontal tissues: Comparison of healthy and diabetic patients. J Periodontol 2003; 74: 181-7.
16. Lucarini G, Zizzi A, Aspriello SD, Ferrante L, et al. Involvement of vascular endothelial growth factor, CD44 and CD133 in periodontal disease and diabetes: An immunohistochemical study. J Clin Periodontol 2009; 36(1): 3-10.
17. Sert T, Kırzıoğlu FY, Fentoğlu O, Aylak F, Mungan T. Serum placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 and -2 levels in periodontal disease, and adverse pregnancy outcomes. J Periodontol 2011; 82(12): 1735-48.

مقایسه اثر مهاری اسانس گیاه آویشن مرتعی (*Thymus Eriocalyx*) و آویشن کوهی (*Thymus Kotschyanus*) با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکانس

مینا جزایری*، شهربانو رعدی، حمید رضا عبدالصمدی***، آزاده مدنی پور****، لیدا سمیع*#**

*** استادیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران**

**** متخصص بیماری‌های دهان، فک و صورت**

***** استاد بیماری‌های دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران**

****** دندانپزشک**

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۹/۱۵ - تاریخ پذیرش : ۹۵/۲/۷

Comparison the Inhibitory Effects Of Essential Oil of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* with Nystatin on *Candida Albicans* Growth - *In Vitro* Study

Mina Jazayeri*, Shahrbanou Radi, Hamid Reza Abdosamadi***, Azadeh Madani Pour****, Lida Samie*#**

** Assistant Professor, Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamadan University of Medical of Sciences, Hamadan, Iran.*

*** Oral Medicine*

**** Professor of Oral Medicine, Dental Research Center, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.*

***** Dentist*

Received: 6 December 2015 ; Accepted: 26 April 2016

Introduction: Viewing to the increased incidence of candidiasis, the bitter taste of nystatin, and the need for its repeated administration, the role of medicinal plants as well as global trends in herbal medicine, the present study was performed to compare the inhibitory effect of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* with nystatin on the growth of *Candida albicans*.

Materials & Methods: In this *in vitro* study the minimum inhibitory and fungicidal concentration of essential oils of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* on the growth of *Candida albicansans* was determined and then the diameter of growth inhibition of the two plants adjacent minimum inhibitory and fungicidal concentration were compared with inhibition zone of nystatin. Data was analysed by SPSS using one-way ANOVA at the significance level of 0.05.

Results: In this study the minimum inhibitory concentration of plant *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* was 4.2 µl/ml and 3.3 µl/ml respectively and minimum fungicidal concentrations of these two plants, was 4.2µl/ ml and 4 µl/ ml, respectively. The diameter of growth inhibition zone of *Thymus eriocalyx* in MIC and MFC was 19.5 mm and 18.95 mm; respectively. These diameters were 18.4 mm and 21.05 mm for *Thymus kotschyanus* in MIC and MFC; respectively. The results of statistical analysis showed no significant difference between the diameter of growth inhibition zone of essential oils and nystatin (P>0.05).

Conclusion: Based on the results of present study, the essential oil of *Thymus eriocalyx* and *Thymus kotschyanus* have appropriate inhibitory effects on the growth of the *Candida albicans*. The inhibitory effect of these essential oils is comparable with nystatin.

Key words: Candida albicans, thymus eriocalyx, thymus kotschyanus, nystatin.

 # Corresponding Author: samie.maryam@yahoo.com, Lida.samie@umsha.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 133-42 .

مولف مسؤول، نشانی: همدان،بلوار شهید فهمیده،روبروی پارک مردم،دانشکده دندانپزشکی،گروه بیماری‌های دهان،فک و صورت،تلفن: ۰۸۱-۳۸۲۴۶۰۱۴

E-mail: samie.maryam@yahoo.com, Lida.samie@umsha.ac.ir

چکیده

مقدمه: با توجه به شیوع عفونت‌های قارچی، طعم تلخ نیستاتین و نیاز به مصرف مکرر آن، جایگاه گیاهان دارویی و گرایش جهانی به طب گیاهی مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی بر روی رشد کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با نیستاتین انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس آویشن مرتعی و آویشن کوهی بر رشد کاندیدا آلبیکانس بررسی گردید، سپس قطر هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکانس در مجاورت حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس‌ها با قطر هاله عدم رشد کاندیدا در مجاورت نیستاتین مقایسه گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک سویه در سطح معنی‌داری $P=۰/۰۵$ ارزیابی شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری گیاه آویشن مرتعی و آویشن کوهی به ترتیب ٤/۲ µl/ml و ۳/۳ µl/ml و حداقل غلظت قارچ کشی این دو گیاه هم به ترتیب ٤/۲ µl/ml و ٤ µl/ml محاسبه گردید. اندازه هاله عدم رشد گیاه آویشن مرتعی در مجاورت حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی به ترتیب ۱۹/۵ و ۱۸/۹۵ میلی‌لیتر و برای گیاه آویشن کوهی به ترتیب ۱۸/٤ و ۲۱/۰۵ میلی‌متر بود. نتایج آزمون آماری نشان داد این مقادیر تفاوت معنی‌داری با نیستاتین نداشتند. ($P>۰/۰۵$)

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، اسانس دو گیاه مورد مطالعه در حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی خود، دارای اثر مهاری مناسبی بر روی رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشد و اثر مهاری آن‌ها قابل مقایسه با نیستاتین است.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، آویشن مرتعی، آویشن کوهی، نیستاتین.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤۰ / شماره ۲ : ٤۲-۱۳۳ .

مقدمه

کاندیدا مخمر گرد و بیضی شکل با قطر ۳ تا ۳۰ میکرومتر است. تولید مثل آن غیرجنسی و از طریق فرایند جوانه زدن است.[۱] کاندیدا شامل ۱۵۰ گونه می‌باشد[۲] که تنها تعداد کمی از انوع آن از بدن انسان جدا شده است.[۳] در افراد سالم کاندیدا عمدتاً در سطوح مخاطی حفره دهان، دستگاه گوارش، دستگاه ادراری و واژن بدون ایجاد بیماری، کلونیزه می‌شود.[٤]

کاندیدا جزء فلور طبیعی دهان است و در ۲۰-۵۰ درصد از جمعیت سالم وجود دارد.[۵] این میکروارگانیسم از بسیاری از انواع قارچ‌های موجود در حفره دهان شایع‌تر است و از گونه‌های کاندیدای جدا شده در حفره دهان می‌توان به کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس، کاندیدا پاراپسیلوزیس، کاندیدا کروزئی، کاندیدا گوئیلیرموندی، کاندیدا گلابراتا، کاندیدا دابلینینسیس و کاندیدا لوزیتانیه اشاره کرد.[۱] دهان به واسطه وجود مواد غذایی، دبری‌های اپی‌تلیالی و مواد ترشحی، محیطی مطلوب برای زندگی گروه وسیعی از میکرو ارگانیسم‌ها فراهم می‌آورد.[٦] عفونت کاندیدایی در صورت وجود عوامل مستعدکننده موضعی یا سیستمیک برای رشد قارچ، به صورت یک عفونت فرصت طلب تظاهر می‌یابد.[۵] حدود ۹٦ درصد از قارچ های فرصت طلب، ناشی از گونه‌های کاندیدا هستند[٤]، به طوری که بیشترین عفونت‌های سطحی و مخاطی در انسان به وسیله کاندیدا آلبیکانس ایجاد می‌شوند.[۷] کاندیدا آلبیکنس دارای فاکتورهای پاتوژنسیتی است که باعث رشد بیشتر این گونه نسبت به سایر گونه‌های کاندیدا می‌شود.[۱] افزایش شیوع کاندیدیازیس به استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ایمونوساپرسیو نسبت داده شده است. در این میان کاندیدا آلبیکنس نقش مهمی را در کاندیدیازیس دهانی، دنچر استوماتیت و پریودنتیت شدید ایفا می‌کند.[۸]

برای درمان عفونت‌های کاندیدایی بسته به وسعت ضایعه و وضعیت بیمار از درمان‌های موضعی یا سیستمیک استفاده می شود.[۹] از جمله درمان‌های مورد استفاده در

عفونت‌های کاندیدیازیس می‌توان به آمفوتریسین B، آزول‌ها و پلی انها اشاره کرد.[۱۰] نیستاتین یک آنتی‌بیوتیک پلی ان (Polyene) است که استفاده گسترده‌ای دارد. زیرا علیه بسیاری از قارچ‌های بیماری زا مانند کاندیدا و آسپرژیلوس بسیار مؤثر است. استفاده از آن در سال‌های اخیر در نتیجه افزایش قابل توجه در عفونت‌های قارچی، افزایش یافته است. دهانشویه‌های حاوی این دارو برای پیشگیری و درمان عفونت‌های قارچی به ویژه برای بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی استفاده می‌شود. اگر چه نیستاتین در درمان کاندیدیازیس دهانی به عنوان داروی انتخابی در نظر گرفته می‌شود، اما می‌تواند سبب برخی مشکلات قابل توجه از جمله آسیب کلیه شود.[۹] هم چنین نیستاتین می‌تواند باعث تهوع، استفراغ و اسهال شود.[۱۰] طعم تلخ دهان شویه نیستاتین و هم چنین احتمال افزایش بروز پوسیدگی دندانی به علت افزودن شیرین‌کننده‌ها منجر به عدم رضایت بیماران می‌شود.[۱۱]

جنس آویشن یکی از جنس‌های مهم خانواده نعناع و از مشهورترین جنس‌های متعلق به گیاهان اسانس دار است.[۱۲] آویشن یکی از مهم ترین گیاهان دارویی ایران است، که به دلیل داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول دارای خواص دارویی ضدمیکروبی، ضدباکتریایی و ضدنفخ می باشد. جنس آویشن (Thymus L) به جهت دارا بودن اسانس‌های روغنی، کاربردهای وسیعی در صنایع دارویی و غذایی دارد.[۱۳]

اسانس گل و برگ این گیاهان دارای اثر ضداسپاسم، ضدنفخ، ضدروماتیسم و ضدعفونی‌کننده قوی می‌باشد. در داروسازی از اسانس آویشن برای تهیه محلول‌های دهان شویه و شربت‌های ضدسرفه استفاده شده است.[۱۳]

در سال‌های اخیر علاقه فزاینده‌ای به استفاده از ترکیبات طبیعی و گیاهی به وجود آمده و ابهامات مربوط به ایمن بودن داروهای سنتتیک باعث علاقه به مطالعات بیشتر در مورد منابع گیاهی شده است.[۱۴] جایگاه گیاهان دارویی در طب سنتی کشور ما و دسترسی به منابع غنی گیاهی از یک سو و مشکلات موجود در درمان کاندیدیازیس دهانی از سوی دیگر عاملی برای بررسی دقیق‌تر داروهای گیاهی بوده است.[۱۵] بنابراین کشف گیاهان دارویی که تأثیرات ضدمیکروبی داشته باشند، برای کاهش عوارض جانبی و کم کردن اثرات سمی روی بافت‌ها و همچنین از لحاظ صرفه اقتصادی بسیار مورد توجه است.[۱۶]

با توجه به گرایش جهانی به طب گیاهی در سال‌های اخیر و خواص آنتی‌بیوتیکی آویشن و از آن جایی که گونه‌های مختلف این گیاه در مناطق غربی ایران در دسترس می‌باشد[۱۳]، مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکنس انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی-آزمایشگاهی بود، که به منظور مقایسه اثر مهاری اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی با نیستاتین بر رشد کاندیدا آلبیکنس انجام شد. به جهت انجام مطالعه، گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی از باغ گیاهان دارویی بوعلی سینا در اردیبهشت سال ۹۳ تهیه گردید.

نمونه‌های گیاهی از سر شاخه‌های گیاهان (شامل گل و برگ‌ها) در مرحله گل دهی از باغ گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان جمع آوری شد، و بعد از جدا کردن خار و خاشاک، برای مدتی در محیط آزمایشگاه (در سایه) قرار داده شدند؛ تا خشک گردند. تهیه اسانس به روش تقطیر با بخار آب (Hydrodistillation) توسط دستگاه کلونجر (ایران، تهران، امیل پیرکس) انجام گرفت.

به علت فرار بودن اسانس گیاه، دقایقی قبل از شروع کار، مقدار ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک و پاک شده گیاهان جمع آوری شده، با آسیاب برقی خرد شد. گیاه پودر شده داخل بالن ژوژه دستگاه کلونجر ریخته و به آن ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جریان آب سرد برقرار و فرآیند تقطیر به مدت دو ساعت انجام شد. بعد از دو ساعت، هیتر دستگاه خاموش شده و حجم اسانس جمع شده با کمک درجات روی بورت دستگاه، مشخص و یاداشت شد. آب زدایی توسط سدیم سولفات فاقد آب انجام گرفت و سپس اسانس‌ها در ویال‌های سیل شد. جمع آوری شد و تا زمان استفاده در مکان تاریک و در دمای اتاق نگه داری شد. اسانس‌های تهیه شده جهت استریلیزاسیون برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو (ایران، اصفهان، فراز مهر) قرار داده شد.

کاندیدای مورد استفاده در مطالعه حاضر سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (ATCC5982) بود که از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی کشور) تهیه شد. کشت قارچ‌ها در محیط سابرو دکستروز آگار (Merk, Darmstadt, Germany (SDA) انجام شد. طبق دستورالعمل تهیه محیط کشت پیشنهادی کارخانه، ٦٥ گرم از پودر محیط کشت با دقت وزن گردید. نصف حجم آب مورد نیاز جهت انحلال پودر محیط کشت SDA (۵۰۰cc) داخل ظرف ریخته شد و سپس مقدار وزن شده پودر مذکور، به آن اضافه گردید. محلول مذکور ٤ دقیقه به تندی تکان داده شد و سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد.

محیط کشت تهیه شده، برای ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو قرار گرفت و بعد از استریلیزاسیون، زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید، با رعایت شرایط آسپتیک در ظروف نهایی تقسیم گردید.

جهت تهیه سوسپانسیون قارچی با غلظت استاندارد، زنجیره‌های قارچی درون سرم فیزیولوژی غوطه‌ور شدند و دانسیته سلول‌های قارچی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تنظیم شد. جهت تنظیم دانسیته مناسب از دستگاه اسپکتروفتومتری (UK، Staffordshire، JENWAY) در طول موج ۵۳۰ نانومتر استفاده شد. جهت کسب سوسپانسیون قارچی با غلظت ۰/۵ مک فارلند که حاوی $1-1/5\times10^{8}$ cell/ml است و غلظتی استاندارد جهت بررسی آثار ضدقارچی است؛ کدورت سوسپانسیون قارچی به نحوی تعیین شد، که میزان جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتری دستگاه اسپکتروفوتومتر، معادل ۰/۱- ۰/۰۸ باشد.

جهت اندازه گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) روش Broth microdilution برای رقیق‌سازی اسانس‌ها به کار برده شد. برای رقیق سازی اسانس‌ها محلول رقیق‌کننده Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) (Sigma, St.Louis, USA) بافر شده با 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS) (Sigma, St.Louis, USA) که بر قارچ مورد مطالعه هیچ اثری ندارد، استفاده شد. اسانس‌ها با حلال به نحوی رقیق شدند که رقت آن‌ها از ١٦µl/ml تا ٠/٠٦ µl/ml باشد.[۱۷]

طبق پروتکل، رقت‌های سریالی، در میکروپلیت‌های ٩٦ خانه ای (تصویر ۱) به حجم ۱۰۰ میکرولیتر برای هر چاهک تهیه شد، به طوری که چاهک اول حاوی بیشترین غلظت (١٦ µl/ml) و چاهک آخر حاوی کم‌ترین غلظت (٠/٠٦ µl/ml) اسانس بود. در ادامه ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تلقیحی نهایی به هر چاهک اضافه شد. به عنوان کنترل مثبت (Growth control) از ۰/۱ میلی‌لیتر

سوسپانسیون میکروبی درون محلول رقیق‌کننده بدون اضافه کردن اسانس و به عنوان کنترل منفی (Sterility Control) از ۲۰۰ میکرولیتر محلول تلقیح نشده استفاده شد. در ادامه میکروپلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت انکوبه شدند.

تصویر ۱ : میکروپلیت ۹٦ خانه ای

جهت خواندن نتایج MIC[1] از روش چشمی (Visual) استفاده شد. در این روش MIC یعنی پایین‌ترین غلظت دارویی که بعد از ٤٨ ساعت انکوباسیون هیچ رشد قارچ قابل مشاهده‌ای در مقایسه با رشد قارچ حفره کنترل رشد (Growth control) در آن دیده نشد و کدورت آن از لحاظ چشمی معادل حفره کنترل منفی بود، تعیین گردید.

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC)[2] از محتویات چاهک‌های مختلف که حاوی غلظت‌های کمتر اسانس بوده و رشد کاندیدا در آن مشاهده نشده بود، ۱۰ میکرولیتر به محیط SDA برده شد و کمترین غلظتی از اسانس که رشد کمتر از ٤ کلونی (نشانگر کشتن ۹۹ درصد قارچ‌های اولیه) را نشان داد، به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

برای بررسی هاله عدم رشد از روش دیسک گذاری استفاده شد. پلیت‌هایی (با قطر ۸ سانتی‌متر) با ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) پر شد. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده از کشت تازه کاندیدا آلبیکنس، ٤٨ ساعته در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر به کدورت معادل نیم مک فارلند با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل، روی سطح پلیت‌ها به طور یکنواخت تلقیح گردید. دیسک‌های بلانک در ۱۰ میکرولیتر از هر اسانس در دو غلظت MIC و MFC هر دو گیاه مورد آزمایش تعلیق شد و روی پلیت‌ها قرار داده شدند؛ همین کار برای نیستاتین با غلظت µg/ml ٤٢ که معادل MIC نیستاتین در محیط کشت کاندیدا آلبیکنس بوده است، هم انجام گرفت. نیستاتین با غلظت µg/ml ٤٢ از شرکت جابر بن حیان (ایران، تهران) تهیه گردید. یک دیسک در ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده جهت تست کنترل منفی تعلیق شد و بر روی پلیت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و پس از گذشت زمان مورد نظر، تشکیل هاله عدم رشد در پیرامون دیسک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد با خط کش بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد (تصویر۲). هاله عدم رشد MIC و MFC هر دو گیاه و هم چنین نیستاتین به وسیله ۱۰ دیسک بررسی و میانگین آن‌ها محاسبه شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک سویه در سطح معنی‌داری P=۰/۰۵ ارزیابی شد.

1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
2. Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

تصویر ۲ : قطر هاله عدم رشد

یافته‌ها

در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری برای گیاه آویشن مرتعی، ٤/٢ µl/ml و برای گیاه آویشن کوهی، ٣/٣ µl/ml به دست آمد؛ هم چنین طبق نتایج مطالعه حاضر میزان حداقل غلظت کشندگی قارچی گیاه آویشن مرتعی، ٤/٢ µl/ml و گیاه آویشن کوهی، ٤µl/ml بود.

جدول ۱، میانگین هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به اسانس گیاهی در دو غلظت MIC و MFC و نیز دیسک‌های حاوی نیستاتین را نشان می‌دهد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به داروی نیستاتین و کمترین آن مربوط به حداقل غلظت مهاری (MIC) آویشن کوهی بوده است.

نتایج آنالیز واریانس یک سویه جهت مقایسه میزان هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به داروی نیستاتین و گیاهان مورد بررسی در دو غلظت MIC، MFC نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در قطر هاله عدم رشد عصاره‌های گیاهان مورد بررسی بود (*P*=٠/٧٢٤).

جدول ۱ : میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر هاله عدم رشد کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت سابرو دکستروز آگار در مجاورت نیستاتین و اسانس‌های گیاهی بر حسب میلی‌متر

متغیر	میانگین	انحراف معیار	کمینه	بیشینه	نتیجه آزمون آنالیز واریانس
هاله عدم رشد نیستاتین	٢١/٣٥	٥/٥٤	١٥	٣٠/٥	F=٠/٥١٦
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن مرتعی در غلظت MIC	١٩/٥٠	٥/٧٧	١٢	٢٩	*P*=٠/٧٢٤
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن کوهی در غلظت MIC	١٨/٤٠	٤/٠١	١١	٢٥	
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن مرتعی در غلظت MFC	١٨/٩٥	٥/٦٣	١٠	٢٨	
هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های آغشته به گیاه آویشن کوهی در غلظت MFC	٢١/٠٥	٧/١٣	١٤	٣٥	

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، اسانس آویشن مرتعی و آویشن کوهی در غلظت‌های حداقل مهاری و قارچ کشی، اثر بازدارنده بر روی رشد کاندیدا دارند. این نتیجه هم راستا با نتایج برخی دیگر از مطالعات[۲۱-۱۸] می‌باشد که همگی اثر مهاری Thymus vulgaris بر کاندیدا آلبیکنس را تایید نموده‌اند. هدف مطالعه حاضر مقایسه اثر اسانس این دو گیاه با نیستاتین به عنوان استاندارد عفونت دهانی کاندیدا آلبیکنس بود.

در این مطالعه، حداقل غلظت مهاری و قارچ‌کشی اسانس گیاهان آویشن مرتعی و آویشن کوهی به روش Broth microdilution بر رشد کاندیدا آلبیکنس بررسی گردید. قبل از معرفی روش Broth microdilution، روش غالب Macrodilution بوده است. این دو روش از جنبه‌های مختلف از جمله محیط کشت و زمان مورد نیاز متفاوت هستند. مطالعات مختلف برتری و دقت بیشتر روش Broth microdilution را اثبات کرده‌اند. به همین دلیل در این مطالعه از روش Broth microdilution استفاده گردید.[۲۲]

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی آویشن مرتعی و آویشن کوهی به ترتیب ٤/۲ و ۳/۳ بود. در مطالعه نائینی و همکارانش[۲۳] حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت قارچ کشی آویشن کوهی بر روی سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس به روش Broth macrodilution، ۳۰۰ µg/ml محاسبه گردید. با توجه به وزن مولکولی اسانس تهیه شده و مقادیر ماده مؤثر این اسانس‌ها، مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر با مقادیر مطالعه نائینی همسو می‌باشد.

مطالعه امینی و همکارانش[۲٤] مهار رشد ۱۰۰ درصد پاتوژن‌های مورد بررسی به وسیله اسانس آویشن کوهی در غلظت ۲۰۰µl/l را نشان داد. پاتوژن‌های مورد بررسی در این مطالعه Pythium aphanidermatum، Rhizoctonia solani، Fusarium graminearum و sclerotiorum Sclerotinia بودند. رسولی و همکارانش[۲۵] حداقل غلظت مهاری و قارچ کشی اسانس آویشن مرتعی بر آسپرژیلوس نیجر را به ترتیب ۱۲۵ ppm و ۲۵۰ppm محاسبه نمودند. به نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در مقادیر گزارش شده در غلظت‌های MIC و MFC در مقالات مختلف، ناشی از تفاوت بین سوش‌های بررسی شده در تحقیقات مختلف است.

در مطالعه دیگری، نشان داده شده است که حضور مقادیر متوسط از اسانس آویشن ولگاریس کموتایپ تیمول (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ µg/ml) و آمفوتریسین B در محیط کشت، در کاهش ۸۰ درصد حداقل غلظت مهاری آمفوتریسین B نقش دارد. این مطالعه، اسانس‌های کموتایپ تیمولی یا عصاره متانولی گیاه آویشن جهت بررسی اثربخشی در مهار رشد کاندیدا استفاده شد؛ که وجود همین دو نوع ماده شیمیایی با خواص آنتی‌میکروبیال می‌تواند باعث تفاوت در نتایج مطالعات فوق با مطالعه حاضر باشد.

آویشن دارای گونه‌های متعددی است، که از میان گونه‌های آویشن ۱۸ گونه در ایران شناسایی شده است. Thymus vulgaris یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس آویشن است؛ خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی این گونه به اثبات رسیده است. تیمول و کارواکرول از اجزای اصلی آویشن (Thymus) هستند. با توجه به منابع، هر دوی این مواد جزء ترکیبات فنلی، دارای ساختمان شیمیایی یکسان و از عوامل قوی ضدمیکروبی هستند. به نظر می‌رسد تیمول نسبت به کارواکرول نقش مهمتری در افزایش خاصیت ضدمیکروبی ایفا می کند. هم چنین ثابت

شده است که واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقش مهمی در تعیین اثر ضدمیکروبی گیاه ایفا می کند. تیمول و کارواکرول دارای اثرات سینرژیستی می باشند.[۲۷]

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، اسانس دو گیاه آویشن مرتعی و آویشن کوهی در حداقل غلظت مهاری رشد کاندیدا آلبیکنس و حداقل غلظت قارچ‌کشی آن، دارای اثر مهاری مناسبی بر روی رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که اثر مهاری اسانس این دو گیاه در محیط آزمایشگاه قابل مقایسه با نیستاتین است.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه خانم آزاده مدنی پور به شماره ۷٦٤ جهت دریافت دکتری عمومی دندانپزشکی، که با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان، انجام شده است، استخراج گردیده است. بدین وسیله نویسندگان مراتب تقدیر خود را از آن معاونت محترم اعلام می‌دارند.

منابع

1. Castellote LC, Soriano YJ. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. J Clin Exp Dent 2013; 5(5): 279-86.
2. Ayatollahi Mousavi SA, Khalesi E, Shahidi Bonjar GH, Aghighi S, Sharifi F, Aram F. Rapid molecular diagnosis for Candida species using PCR-RFLP. Biotechnol 2007; 6(4): 583-7.
3. Bondaryk M, Kurzątkowski W, Staniszewska M. Antifungal agents commonly used in the superficial and mucosal candidiasis treatment: Mode of action and resistance development. Postep Derm Alergol 2013; 30(5): 293-301.
4. Jontell M, Holmstrup P. Red and White Lesions of the Oral Mucosa. In: Greenberg MS, Glick M, Ship JA. Burket's Oral Medicine. 11th ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2008. P. 77-106.
5. The Bacterial Flora of Humans. 2007; (12-16). Access June 29, 2008.Avaiable at: http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html /
6. Borges M, Degreef H, Cauwenbergh G. Fungal infections of the skin: Infection process and antimycotic therapy. Curr Drug Targets 2005; 6(8): 849-62.
7. Hirasawa M, Takada K. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against Candida albicans. J Antimicrob Chemother 2004; 53(2): 225-9.
8. Little JW, Falace DA, Miller CS. Dental management of the medically compromised patient. 6th ed. St. Louis: Mosby Co; 2002. P. 152.
9. Rosato A, Vitali C, Piarulli M, Mazzotta M, Argentieri MP, Mallamaci R. *In vitro* synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of Origanum vulgare and Pelargonium graveolens against some Candida species. Phytomedicine 2009; 16(10): 972-5.
10. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD. Guidelines for treatment of candidiasis. Clin Infect Dis 2004; 38(2): 89-161.

11. Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. *In-vitro* study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of Candida albicans. J Islamic Dent Assoc 2007; 19(2): 91-7. (Persian)
12. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. Labiateae family in folk Medicine in Iran from Ethnobotany to pharmacology. Iran J pharm Res (LIPR) 2005; 2: 63-79. (Persian)
13. Kalvandi R, Atri M, Jamzad Z, Safikhani K. Taxonomic study of Thymus eriocalyx (Ronniger) Jalas in Iran with emphasis on Floristic marker and using special station method. Taxonomy and Biosystematics 2012; 10(1): 63-76. (Persian)
14. Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of Achillea wilhelmsii against pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci 2011; 13(3): 9-14. (Persian)
15. Ghasemi Pirbalouti A, Karimi A, Yousefi M, Enteshari S, Golparvar AH. Diversity of Thymus daenensis Celak in Central and West of Iran. J Med Plants Res 2011; 5(4): 319-23.
16. Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. *In-vitro* study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of Candida albicans. JIDA 2007; 19(2): 91-7. (Persian)
17. Francesco B, Arnaldo LC, Deanna A. Comparative study of broth macrodilution and microdilution techniques for *in vitro* antifungal susceptibility testing of yeasts by using the national committee for clinical laboratory standards' proposed standard. J Clin Microbiol 1994; 32(10): 2494-500.
18. Shahidi Bonjar GH. Inhibition of clotrimazole-resistant Candida albicans by plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia 2004; 75(1): 74-6.
19. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcioni L, Cioni PL, et al. The inhibition of Candida albicans by selected essential oils and their major components. Mycopathologia 2005; 159(3): 339-45.
20. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikaïl C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential oils against Candida albicans. Potentiation of antifungal action of Amphotericin B by essential oil from Thymus vulgaris. Phytother Res 2004; 18(12): 990-5.
21. Lahooji A, Mirabolfathy M, Karami-Osboo R. Effect of Zataria multiflora and Satureja hortensis essential oils, thymol and carvacrol on growth of Fusarium gramineum isolates and deoxynivalenol production. Iran J Plant Pathol 2010; 46(1): 11-3. (Persian)
22. Kumar R, Shrivastava S, Chakraborti A. Comparison of broth dilution and disc diffusion method for the antifungal susceptibility testing of Aspergillus flavus. Am J Biomed Sci 2010, 2(3), 202-8.
23. Naeini A, Khosravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. J Mycol Med 2009; 19(3): 168-72.
24. Amini M, Safaie N, Salmani MJ, Shams-Bakhsh M. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. Trakia J Sci 2012; 10(1): 1-8.
25. Zia MA, Bayat M, Khalkhali H. *In vitro* antifungal effect of thymus vulgaris essence on Candida Albicans isolated from patient with oral candidiasis. J Shahrekord Univ Med Sci 2011; 13(3): 44-52.

26. Hoseini S, Rudbar mohammadi SH, Joshaghani, HR. Evaluation of antifungal activity of essential oil of Carvacrol on standard strains and Fluconazole-resistance Candida albicans. Med Laboratory J 2012; 5(2): 28-33. (Persian)
27. Mahbobi M, Faiz abadi MM. Antimicrobial effect of essential oils of thyme, marjoram, savory and eucalyptus on bacteria Escherichia coli, Salmonella typhimurium and Qar Chhay Aspergillus niger, Aspergillus flavus. J Med Plant 2009; 8(2): 137-44.

بررسی سیالیک اسید تام بزاق در بیما ران مبتلا به لیکن‌پلان اروزیو دهانی

لیلا فرهاد ملاشاهی*، ماریه هنرمند*#، علیرضا نخعی، عالیه چرمه*****

* دانشیار بیماری‌های دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران

** دانشیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران

*** دندانپزشک

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۷/۵ - تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۰/۳۰

Evaluation of Salivary Total Sialic Acid in Patients with Oral Erosive Lichen Planus

Leila Farhad Mollashahi*, Marieh Honarmand*#, Alireza Nakhaee, Aalieh Charmeh*****

** Associate Professor of Oral Medicine, Oral & Dental Disease Research Center, School of Dentistry, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.*

*** Associate Professor, Dept of Clinical Biochemistry, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.*

**** Dentist*

Received: 27 September 2015 ; Accepted: 20 January 2016

Introduction: Oral lichen planus is considered as on oral premalignant lesion. Moreover, cell surface glycoconjugates such as sialic acid play an important role during malignant transformation of cells. In this study, salivary total sialic acid level was compared in patients with oral erosive lichen planus and healthy persons.

Materials & Methods: Unstimulated saliva samples of 60 subjects (30 patients with oral lichen planus and 30 healthy) individuals who referred to the oral medicine department of dental school of Zahedan were collected. The level of salivary total sialic acid was measured by standard biochemical methods and the obtained data were analyzed by statistical spss-20 through *t*-test.

Results: The mean level of salivary total sialic acid was 85.63±48.89 mg/ml in patient group and 60.02±26.45 in control group. The difference was statistically significant (P=0.002).

Conclusion: The level of salivary total sialic acid was higher in patients with oral erosive lichen planus compared to the healthy group.

Key words: Oral lichen planus, saliva, total sialic acid.

 # Corresponding Author: honarmand@zaums.ac.ir, honarmand56@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 143-8.

چکیده

مقدمه: لیکن‌پلان دهانی به عنوان یکی از ضایعات پیش‌بدخیم حفره دهان محسوب می‌شود. از طرفی گلیکوکونژوگیت‌های سطح سلول از جمله سیالیک اسید در روند تغییر بدخیمی سلول‌ها نقش مهمی دارند. در این مطالعه، سطح سیالیک اسید تام بزاق در مبتلایان به لیکن‌پلان دهانی نوع اروزیو و افراد سالم مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، بزاق غیرتحریکی ۶۰ بیمار مراجعه‌کننده (۳۰ فرد مبتلا به لیکن‌پلان و ۳۰ فرد سالم) به بخش بیماری‌های دهان دانشکده دندانپزشکی زاهدان جمع‌آوری شد. سطح سیالیک اسید تام بزاق بر پایه روش استاندارد بیوشیمیایی اندازه گیری شد و اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار آماری SPSS با ویرایش ۲۰ و توسط آزمون ***t*-test** آنالیز شد.

یافته‌ها: میانگین سطح سیالیک اسید بزاق در افراد مبتلا به لیکن‌پلان ۸۵/۶۳±۴۸/۸۹ و در افراد سالم ۶۰/۰۲±۲۶/۴۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (P=۰/۰۰۲).

نتیجه گیری: سطح سیالیک اسید تام بزاق در افراد مبتلا به لیکن‌پلان دهانی نوع اروزیو از افراد سالم بالاتر بود.

کلمات کلیدی: لیکن‌پلان دهانی، بزاق، سیالیک اسید تام.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ۴۰ / شماره ۲ : ۸-۱۴۳ .

مولف مسؤول، نشانی: زاهدان، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری های دهان، فک و صورت، تلفن: ۰۹۱۵۱۴۲۳۰۱۹

E-mail: honarmand@zaums.ac.ir, honarmand56@yahoo.com

مقدمه

سرطان سلول سنگفرشی، شایع ترین تومور بدخیم حفره دهان است.[۱و۲] کشیدن سیگار، مصرف الکل، تنباکوی غیرتدخینی و عفونت پاپیلوما ویروس مهمترین عوامل خطر این بیماری محسوب می‌شوند. ضایعات پیش‌بدخیم متعددی شامل لکوپلاکیا، اریتروپلاکیا، لیکن‌پلان و فیبروز تحت مخاطی می‌توانند مقدمه ایجاد سرطان دهان باشند.[۳] طبق مطالعه Mishra و همکاران[٤] میزان تغییرات بدخیمی در این ضایعات براساس ماهیت ضایعه از صفر تا ۲۰ درصد متفاوت است. تشخیص دیرهنگام، پاسخ ضعیف تومور به شیمی درمانی و رادیوتراپی، فقدان بیومارکرهای قابل اعتماد جهت تشخیص زودهنگام و ارزیابی بعد از درمان از مشکلات مطرح در سرطان دهان می‌باشند. لذا با توجه به اینکه تشخیص زودهنگام، کلید درمان است کوشش در جهت بهره‌مندی از تست‌های بیوشیمیایی حساس و قابل اعتماد در تشخیص زودهنگام بیماری بسیار قابل توجه است. ریزش مداوم اجزای سطحی سلول‌های سرطانی در مایعات بدن می‌تواند به عنوان یک مارکر تومورال در بدخیمی‌های مختلف استفاده شود. با توجه به تماس مستقیم بزاق با ضایعات دهان و افزایش ریزش گلیکوکونژوگیت‌ها از سلول‌های تومورال به داخل بزاق، ارزیابی آن در سرطان دهان می‌تواند فواید بزرگی داشته باشد.[۳] افزایش تومورمارکرهای گلیکوپروتئینی مختلف از جمله سیالیک اسید بزاق به عنوان یک مارکر تشخیصی سرطان دهان گزارش شده است.[۵] سیالیک اسیدها، ترکیبات قندی انتهایی زنجیره اولیگوساکارید گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها هستند که به عنوان ترکیبات مهم غشاء سلول‌ها نقش مهمی در ایجاد رفتارهای نئوپلاستیک ایفا می‌نمایند.[۵و٦] نقش این ماکرومولکول‌ها در شناسایی و تاثیر سلول‌ها بر یکدیگر و ایجاد چسبندگی سلولی که در ظهور تغییرات بدخیمی اهمیت دارد، بسیار قابل توجه است. گلیکوزیلاسیون (Glycosylation) غیرعادی منجمله سیالیلاسیون (Sialylation) در غشاء سلول‌ها، حوادث مهمی در ایجاد تغییرات بدخیمی محسوب می‌شوند. به عبارت دیگر افزایش سیالی ترانسفراز منجر به افزایش مقدار سیالیک اسید روی سطح سلول‌های تومورال و افزایش غلظت پلاسمایی آن می‌گردد.[۷]

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی در خصوص ارزیابی سطح سرمی و بزاقی سیالیک اسید در مبتلایان به ضایعات پیش‌بدخیم و سرطان دهان انجام شده است. براساس نتایج حاصل از این مطالعات، سطح سرمی و بزاقی سیالیک اسید از گروه نرمال تا گروه پیش‌بدخیم و سرطان دهان افزایش تدریجی و معنی‌داری را نشان داده است.[۳و۷-۱٤]

با توجه به انجام مطالعات محدود در خصوص بررسی این تومور مارکر در بزاق مبتلایان و تفاوت در تعداد و نوع ضایعات پیش‌بدخیم مورد بررسی در مطالعات مختلف، مطالعه مورد نظر با هدف بررسی سطح این تومور مارکر در مبتلایان به لیکن‌پلان دهانی انجام شده است.

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی، تعداد ۳۰ بیمار مبتلا به لیکن‌پلان دهانی نوع اروزیو و ۳۰ داوطلب سالم که از نظر سن و جنس با گروه بیمار همسان سازی شده بودند، از بین همراهان بیماران و مراجعین به بخش بیماری‌های دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی زاهدان به روش نمونه گیری آسان انتخاب شدند. تمام افراد شرکت‌کننده در جریان مطالعه قرار گرفته و از آنها جهت شرکت در مطالعه رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. معاینه

مخاط دهان آنها بوسیله آینه یک بار مصرف زیر نور یونیت انجام شد و تشخیص ضایعات براساس معیارهای بالینی و تأیید هیستوپاتولوژیک صورت گرفت. افراد مبتلا به بیماری‌های سیستمیک و سایر بیماری‌های حفره دهان، مصرف‌کنندگان انواع دارو، محصولات تنباکو و الکل و خانم‌های باردار از مطالعه حذف شدند.

بعد از انتخاب افراد، بزاق غیرتحریکی توسط دانشجو جمع‌آوری شد. بدین ترتیب که از داوطلبان خواسته شد تا برای حذف دبری‌های غذایی، دهانشان را با آب مقطر شسته و بعد از ۵ دقیقه بزاق را به داخل لوله استریل (گاماکانتر) تخلیه نمایند. همه نمونه‌ها بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح جمع‌آوری شدند. هنگام جمع‌آوری نمونه، فرد در حالت نشسته، در حالی که کمی به جلو خم شده بود، بزاق خود را در مدت ۱۰ دقیقه و در هر دقیقه ۲-۱ بار در لوله آزمایش تخلیه می‌کرد. بعد از جمع‌آوری ۵ میلی‌لیتر بزاق، لوله‌های استریل کدگذاری و در ظرف یخ قرار داده شد تا در اسرع وقت به آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان فرستاده شود.

اسید سیالیک تام بزاق با استفاده از روش Skoza et al اندازه گیری شد.[۱۵] بدین صورت که نمونه به مدت یک ساعت در درجه حرارت ۸۰ سانتی‌گراد تحت تاثیر اسید سولفوریک نرمال قرار گرفت. سپس به نمونه معرف پریدات (۲۵mm پریدیک اسید در اسید سولفوریک ۱۲۵ نرمال) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. واکنش با اضافه کردن آرسینیت سدیم متوقف شد و تیوباربیتوریک اسید به محلول اضافه گردید و به مدت ۷/۵ دقیقه در درجه حرارت جوش قرار داده شد. پس از سرد شدن، جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biowave2 ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۵۳۲nm اندازه گیری شد و منحنی استاندارد با استفاده از N-استیل نورامینیک اسید (Sigma,St.louis,MO,USA) به عنوان استاندارد آماده شد.

داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SPSS با ویرایش ۲۰ در دو گروه محاسبه و برای توصیف داده‌ها از جداول فراوانی و آمار توصیفی شامل میانگین و شاخص‌های پراکندگی استفاده شد. در نهایت برای مقایسه سطح اسیدسیالیک تام بزاق در دو گروه با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون *t*-test استفاده شد.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۶۰ نفر از مراجعه کنندگان به بخش بیمارهای دهان و فک و صورت دانشکده دندان پزشکی زاهدان (در دو گروه ۳۰ نفر بیمار و کنترل)، با هدف تعیین سطح سیالیک اسید تام بزاق در بیماران مبتلا به لیکن‌پلان دهانی انجام گرفت. میانگین سنی افراد شرکت‌کننده در حدود ۶/۶۳±۳۵/۳۵ سال بود و ۵۵ درصد (۳۳ نفر) افراد را زنان تشکیل داده بودند. بین دو گروه از نظر سن (*P*=۰/۱۱۴) و جنس (*P*=۰/۴۴۵) اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار سن و توزیع فراوانی جنس در دو گروه تحت مطالعه

		بیمار	سالم	نتیجه آزمون
سن		۳۶/۴۳±۵/۳	۳۴/۳±۷/۳	*P*=۰/۱۱۴
جنس	زن	۱۵(٪۵۰)	۱۸(٪۶۰)	*P*=۰/۴۴۵
	مرد	۱۵(٪۵۰)	۱۲(٪۴۰)	

میزان اندازه گیری سطح سیالیک اسید تام بزاق در دو گروه مورد بررسی در جدول ۲ آورده شده است. همانطور

که مشاهده می‌شود میانگین سطح سیالیک اسید تام در گروه بیمار به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بوده و این مقدار به ترتیب برابر ۸۵/٦۳±٤۸/۸۹ mg/ml و ٦۰/۰۲±۲٦/٤۵ mg/ml اندازه گیری شد (*P*=۰/۰۰۲).

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار سطح سیالیک اسید تام بزاق (mg/ml) در دو گروه تحت مطالعه

سطح سیالیک اسیدتام	کمترین	بیشترین	میانگین	انحراف معیار	نتیجه آزمون
گروه سالم	۱۲	۱۳۵	٦۰/۰۲	۲٦/٤۵	*P*=۰/۰۰۲
بیمار	۳/٦۵	۱۹۱	۸۵/٦۳	٤۸/۸۹	*t*=۲/۵۲

بحث

در این مطالعه سطح سیالیک اسید تام بزاقی در مبتلایان به لیکن‌پلان دهانی در مقایسه با افراد سالم بررسی گردیده است. براساس نتایج حاصل از این مطالعه، سطح این بیومارکر بزاقی به طور معنی‌داری در مبتلایان به لیکن پلان دهانی نسبت به افراد سالم بیشتر بوده است.

لیکن پلان دهانی بیماری التهابی مزمن مخاط دهان است که توسط سازمان بهداشت جهانی به عنوان یک ضایعه پیش‌بدخیم طبقه بندی شده است.[۱٦] میزان تغییر شکل بدخیمی ضایعات لیکن پلان دهانی در مطالعات مختلف از ۹-۰ درصد گزارش گردیده است.[۱۷] تغییر شکل بدخیمی، اغلب در انواع اروزیو، آتروفیک و پلاک مانند رخ می‌دهد، اگرچه این احتمال در مورد انواع دیگر نیز وجود دارد.[۱۹و۱۸] مکانیسم دقیق ایجاد بدخیمی در ضایعات لیکن پلان دهانی مشخص نشده است. اما به هم ریختگی کنترل رشد سلول‌های اپی تلیال بدنبال سیگنال‌های ناشی از سلول‌های التهابی و زمینه‌ای به علت تحریک مزمن همراه با استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع محصولات اکسیداتیو و نیتراتیو، علت آسیب DNA و ایجاد تغییرات نئوپلاستیک بیان گردیده است.[۲۱و۲۰و۱۷]

با توجه به اینکه تشخیص زود هنگام، کلید درمان سرطان دهان است، کوشش در جهت بهره مندی از تست‌های بیوشیمیایی حساس و قابل اعتماد در تشخیص زود هنگام بیماری بسیار قابل توجه است.[۷] از طرفی گلیکوکونژوگیت‌ها از جمله سیالیک اسیدها به عنوان ترکیبات مهم غشاء سلول‌ها نقش مهمی در ایجاد رفتارهای نئوپلاستیک ایفا می‌نمایند.[٦] تغییر در گلیکوپروتئین‌ها در مراحل اولیه سرطان‌زایی شروع می‌شود.[۸] نقش این ماکرو مولکول‌ها در شناسایی و تأثیر سلول‌ها بر یکدیگر و ایجاد چسبندگی سلولی که در ظهور تغییرات بدخیمی اهمیت دارد، بسیار قابل توجه است. گلیکوزیلاسیون غیرعادی من جمله سیالیلاسیون در غشا سلول‌ها حوادث مهمی در ایجاد تغییرات بدخیمی محسوب می‌شوند.[۷] افزایش سیالیلاسیون به سلول‌های بدخیم در جهت مخفی کردن محل‌های ایمونوژنیک از جمله جایگاه‌های گیرنده IgM کمک می‌کند تا جایی که کشته شدن سلول‌های سرطانی با واسطه کمپلمان و لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها دچار نقص می‌گردد.[۸] افزایش مقدار سیالیک اسید روی سطح سلول‌های تومورال و ترشح آن به وسیله بعضی از این سلول‌ها، غلظت آنها را در خون یا بزاق افزایش می‌دهد.[۲۲و٦]

از سیالیک اسید تام سرمی به عنوان یک تومور مارکر در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان‌های کولورکتال، پروستات و سینه استفاده شده است.[۲۲] در مطالعات مختلف افزایش سطح سرمی و بزاقی سیالیک اسید در

مبتلایان به سرطان دهان و ضایعات پیش‌بدخیم گزارش گردیده است.[۱۲و۹و۸و۳]

در تمامی این مطالعات سطح سرمی و بزاقی سیالیک اسید در مبتلایان به ضایعات پیش‌بدخیم و سرطان دهان از گروه کنترل بیشتر بوده است که از این نظر با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد، اگرچه مطالعه حاضر فقط در بزاق مبتلایان به لیکن پلان دهانی انجام گرفته است.

Dadhich[۸] و Vajaria[۹] در دو مطالعه جداگانه سطح بزاقی TSA را در مبتلایان به ضایعات پیش‌بدخیم بررسی نمودند که نتایج مطالعه حاضر کاملاً با این مطالعات همسو است. Joshi[۱۲] و Sawney[۱۳] نیز سطح سرمی TSA را در مبتلایان به ضایعات پیش‌بدخیم و سرطان دهان بررسی کردند. اگرچه نتایج این مطالعات با مطالعه حاضر همسو است. اما این محققین این بیومارکر را در سرم مبتلایان ارزیابی نموده اند.

تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی TSA بزاقی، صرفاً در مبتلایان به لیکن پلان دهانی انجام نشده است. در مطالعه حاضر بزاق مبتلایان مورد بررسی قرار گرفته است. بزاق حاصل تراوش سرم از عروق خونی تغذیه‌کننده غدد بزاقی است و تغییرات سرمی ناشی از بیماری‌ها در بزاق انعکاس می‌یابد. بنابراین استفاده از بزاق به عنوان یک مایع تشخیصی برای ارزیابی اولیه سرطان، به دلیل جمع‌آوری و نگهداری آسان‌تر، خطر کمتر انتقال عفونت‌های HIV و هپاتیت و مقرون به صرفه تر بودن منطقی به نظر می‌رسد.[۸]

در مطالعه حاضر، بررسی هیستوپاتولوژیک ۳۰ نمونه لیکن‌پلان اروزیو تنها در ٤ نمونه دیسپلازی خفیف را نشان داد و لذا امکان بررسی ارتباط سطح سیالیک اسید بزاق و شروع روند بدخیمی میسر نگردید که این یکی از نقاط ضعف مطالعه حاضر محسوب می‌شود. پیشنهاد می‌گردد مطالعه‌ای با حجم نمونه بیشتر در مبتلایان به لیکن‌پلان دهان انجام گیرد و ارتباط سطح سیالیک اسید بزاقی و شروع روند بدخیمی بررسی گردد.

نتیجه گیری

سطح سیالیک اسید تام بزاق در افراد مبتلا به لیکن‌پلان دهان نوع اروزیو از افراد سالم بالاتر بود.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به دلیل حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تشکر می‌گردد. این مقاله حاصل پایان نامه دندانپزشکی عمومی با شماره ثبت ٦٣١٧ و مصوبه شورای پژوهشی دانشکده دندانپزشکی زاهدان می‌باشد.

منابع

1. Sharma P, Saxena S, Aggarwal P. Trends in the epidemiology of oral squamous cell carcinoma in western up: An institutional study. Indian J Dent Res 2010; 21(3): 316-9.
2. Zini A, Czerninski R, Sgan-cohen HD. Oral cancer over four decades: Epidemiology, trends, histology, and survival by anatomical sites. J Oral Pathol Med 2010; 39(4): 299-305.
3. Vajaria BN, Patel KR, Begum R, Shah F, Patel J, Shukla S, et al. Evaluation of serum and salivary total sialic acid and α-L-fucosidase in patients with oral precancerous conditions and oral cancer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2013; 115(6): 764-71.
4. Mishra M, Mohanty J, Sengupta S, Tripathy S. Epidemiological and clinicopathological study of oral leukoplakia. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2005; 71(3): 161-5.
5. Xing R, Chen R, Wang Z, Zhang Y. Serum Sialic Acid levels in patients with oral and maxillofacial malignancy. J Oral Maxillofac Surg 1991; 49(8): 843-7.

6. Kurtul N, Cil MY, Pacaci SD. Serum total sialic acid levels in smokers and users of smokeless tobacco in form of oral powder (Maras's powder). J Biomed Sci 2005; 12(3): 559-63.
7. Trivedi DJ, Hallikeri K, Udupa R. Salivary sialic acid as marker of oral cancer. Int J Sci Innn Tech 2012; 1(1): 48-50.
8. Dadhich M, Prabhu V, Pai VR, D'Souza J, Harish S, Jose M. Serum and salivary sialic acid as a biomarker in oral potentially malignant disorders and oral cancer. Indian J Cancer 2014; 51(3): 214-8.
9. Vajaria BN, Patel KR, Patel JB, Shah FD, Patel PS. Salivary glyco-sialylation changes monitors' oral carcinogenesis. Glycoconj J 2014; 31(9): 649-59.
10. Rasool M, Khan SR, Malik A, Khan KM, Zahid S, Manar A, et al. Comparative studies of salivary and blood sialic acid,lipid peroxidation and antioxidative status in oral squamous cell carcinoma. Pak J Med Sci 2014; 30(3): 466-71.
11. Dhkar N, Astekar M, Jain M, Saawarn S, Saawarn N. Total sialic acid, total protein and total sugar levels in serum and saliva of oral squamous cell carcinoma patients: A case control study. Dent Res J (Isfahan) 2013; 10(3): 343-7.
12. Joshi M, Patil R. Estimation and comparative study of serum total sialic acid levels as tumor markers in oral cancer and precancer. J Cancer Res Ther 2010; 6(3): 263-6.
13. Sawhney H, Kumar CA. Correletion of serum biomarkers (TSA & LSA) and epithelial dysplasia in early diagnosis of oral precancer and oral canser. Cancer Biomark 2011; 10(1): 43-9.
14. Sanjay PR, Hallikeri K, Shivashankara AR. Evaluation of salivary sialic acid, total protein and total sugar in oral cancer: a preliminary report. Indian J Dent Res 2008; 19(4): 288-910.
15. Skoza L, Mohos S. Stable thiobarbituric acid chromophore with dimethyl sulphoxide. Application tosialuic acid assay in analytical de-o-acetylation. Biochem J 1976; 159(3): 457-62.
16. Ismail SB, Kumar SK, Zain RB. Oral lichen planus and lichenoid reactions: Etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. J Oral Sci 2007; 49(2): 89-106.
17. Casparis S, Borm J M, Tektas S, Kamarachev J, Locher MC, Damerau G, et al. Oral lichen planus (OLP), oral lichenoid lesions (OLL), oral dysplasia, and oral cancer: Retrospective analysis of clinicopathological data from 2002–2011. Oral Maxillofac Surg 2015; 19(2): 149-56.
18. Editorial. Why shoud I follow up my patients with oral lichen planus and lichenoid reactions? Br J Oral Maxillofac Surg 2014; 52(4): 291-3.
19. Drogoszewska B, Chomik P, Polcyn A, Michcik A. Clinical diagnosis of oral erosive lichen planus by direct oral microscopy. Postep Derm Alergol 2014; 31(4): 222-8.
20. Scully C, Carrozzo M. Oral mucosal disease: Lichen planus. Br J Oral Maxillofac Surg 2008; 46(1): 15-21.
21. Chaiyarit P, Ma N, Hiraku Y. Nitrative and oxidative DNA damage in oral lichen planus in relation to human oral carcinogenesis. Cancer Sci 2005; 96(9): 553-9.
22. Kurtul N, Gokpinar E. Salivary lipid peroxidation and total sialic acid levels in smokers and smokeless tobacco users as maras powder. Mediators Inflamm 2012; 2012: 619293.

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدقارچی عصاره گیاه بومادران با میکونازول ۲ درصد بر کاندیدا آلبیکنس

عاتکه موقری پور*#، محمود شیخ فتح الهی، مریم پورخسروانی*****

* استادیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

** استادیار اپیدمیولوژی و آمار زیستی و مرکز تحقیقات محیط کار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

*** دندانپزشک

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۸/۴ –تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۹

Comparison of Antifungal Effect of Achillea Millefolium Extract with Miconazole 2% on Candida Albicans: An *In Vitro* Study

Ateke Movaghari Pour*#, Mahmood Sheikh Fathollahi, Maryam Pour Khosravani*****

** DDs, MSc, Assistant Professor, Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

*** PhD, Assistant Professor of Epidemiology and Biostatistics and Occupational Environment Research Center, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

**** Dentist*

Received: 26 October 2015 ; Accepted: 28 February 2016

Introduction: Oral infections induced by Candida species are widely increasing in frequency. One of the most common local treatments for candidiasis is miconazole which has antibacterial effect in addition to antifungal effect. Common antifungal treatments have several side effects and cause drug resistance and high recurrences rate. Thus finding a suitable solution as an alternative synthetic drugs seems logical. The aim of this study was to evaluate antifungal effect of Achillea millefolium extract on Candida Albicans growth in comparison with Miconazole.

Materials & Methods: For this laboratory study, aqueous and alcoholic extract of Achillea millefolium were produced by the method of Percolation, and six concentrations (10, 20, 30, 40, 70 and 100%) of each extract were prepared. Condida albicans was then cultured and on each plate, one plant extracts disc, one Miconazole disc, one Nystatin disc as positive control and one distilled water disc as negative controls were placed. After 48 hours, the mean diameter of non-growth halo of extract concentrations was compared with Miconazole discs by one-way ANOVA, *t*-student and Mann-whitney test (α=0.05).

Results: The mean diameter of non-growth halo around the discs containing aqueous and alcoholic Achillea millefolium extract in all concentrations was less than Miconazole with a significant difference (P<0.001).

Conclusion: The extracts of A. millefolium plant had no significant antifungal effect on Candida Albicans growth in comparison with Miconazole.

Key words: Candida albicans, miconazole, achillea, antifungal.

 # Corresponding Author: ateke.movaghari@gmail.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 149-58 .

چکیده

مقدمه: عفونت‌های دهانی ایجاد شده توسط گونه‌های کاندیدا، به طور گسترده‌ای در حال افزایش است. یکی از درمان‌های موضعی رایج ضایعات دهانی کاندیدیازیس، میکونازول است که علاوه بر خاصیت ضدقارچی، اثر ضدباکتریایی نیز دارد. درمان‌های ضدقارچی معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدیایی را موجب می‌شوند. بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب برای جایگزینی داروهای سنتزی که این مشکلات را از بین ببرد، مورد توجه بوده است. هدف این مطالعه ارزیابی اثر ضدقارچی عصاره گیاه بومادران بر علیه کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با میکونازول بود. آزمون های ANOVA، تی دانشجویی و من-ویتنی برای مقایسه ها بکار گرفته شد (α=۰/۰۵).

مولف مسؤول، نشانی: رفسنجان، ابتدای بلوار خلیج فارس، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان، تلفن: ۰۳۴-۳۴۲۸۰۰۳۱

E-mail: ateke.movaghari@gmail.com

مواد و روش‌ها: جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی، عصاره آبی و الکلی گیاه به روش پرکولاسیون در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ درصد تهیه گردید. کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و داخل هر پلیت کشت، یک عدد دیسک حاوی هر یک از غلظت‌های مورد استفاده از عصاره گیاه، یک عدد دیسک میکونازول ۲ درصد، یک عدد دیسک نیستاتین به عنوان کنترل مثبت و یک عدد دیسک حاوی آب مقطر به عنوان کنترل منفی گذاشته شد. بعد از ٤٨ ساعت، میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره با میانگین قطر هاله عدم رشد میکونازول با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) مقایسه شد.

یافته‌ها: میانگین قطر هاله عدم رشد پیرامون دیسک‌های حاوی عصاره‌های آبی و الکلی بومادران در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، به طور معنی‌داری کمتر از میکونازول بود (P>۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: اثر ضدقارچی داروی میکونازول ۲ درصد بر روی کاندیدا آلبیکنس، در مقایسه با عصاره آبی و الکلی Achillea Millefolium بیشتر بود.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، میکونازول، بومادران، ضدقارچی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤٠ / شماره ۲ : ۵۸-۱٤۹ .

مقدمه

کاندیدیازیس یکی از شایع‌ترین عفونت‌های قارچی فرصت طلب در انسان است. این بیماری توسط یک قارچ مخمر به نام کاندیدا ایجاد می‌شود. مخمرهای کاندیدا به طور معمول در انسان وجود دارند و رشد آن‌ها معمولاً توسط سیستم ایمنی بدن و میکروارگانیسم‌های دیگر محدود می‌شود.[۱] کاندیدیازیس دهانی شایع‌ترین عفونت فرصت طلب مخاط دهان است که به دنبال رشد بیش از حد قارچ کاندیدا در حفره دهان ایجاد می‌شود. شایع‌ترین گونه کاندیدا در ایجاد کاندیدیازیس دهانی کاندیدا آلبیکنس می‌باشد.[۲]

پیش‌بینی شمار ناقلین دهانی گونه‌های کاندیدا در افراد سالم امری دشوار است، اما تحقیقات مختلف آماری بین ۱۷ تا ۷۵ درصد را گزارش نموده‌اند. کاندیدیازیس سیستمیک با خطر ۷۱ تا ۷۹ درصد مرگ و میر در مبتلایان همراه است.[۳و٤]

شایع‌ترین داروهای ضدقارچی مورد استفاده متعلق به گروه‌های پلی‌ان (Polyene) و آزول‌ها (Azoles) می‌باشند.[۵] درمان عفونت‌های مخاطی با عوامل آزولی تأیید شده است و این داروها به صورت موضعی یا سیستمیک مصرف می‌شوند. اما عوارض جانبی حتی در استفاده موضعی از آزول‌ها دیده می‌شود، چرا که آن‌ها به صورت کامل یا ناقص از مسیرهای معده‌ای- روده‌ای جذب می‌شوند.[۵] در میان آزول‌ها داروی میکونازول یک ضدقارچ مناسب برای استفاده‌های موضعی دهانی است و در درمان و پیش‌گیری از بیماری‌های وابسته به کاندیدا تأثیر خوبی را نشان داده است.[٦] این دارو به دو شکل موضعی و تزریقی موجود است اما فرم سیستمیک آن به دلیل سمیت بالا و احتمال عود بیماری به ندرت استفاده می‌شود.[۷]

با وجود اثرات ضدقارچی میکونازول، یک تا ده درصد از سلول‌های کاندیدا بعد از مواجهه با غلظت‌های بالای میکونازول زنده می‌مانند. میکونازول به تنهایی اثر طولانی مدت ندارد، با داروهای ضدانعقاد مثل وارفارین تداخل داشته و در بیماری‌های کبدی منع مصرف دارد.[۵] در دوران حاملگی از نظر ایمنی تجویز در گروه B قرار دارد و در ضمن بی‌ضرر بودن آن در دوران شیردهی نشان داده نشده است.[۷] هم چنین در مطالعات اخیر ذکر شده که احتمال عوارض قلبی عروقی با مصرف میکونازول ناممکن نیست.[۸]

درمان‌های ضدقارچی با استفاده از داروهای ضدقارچ معمول دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت‌های کاندیدیایی را موجب می‌شوند.[٤] بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب برای جایگزینی داروهای سنتزی که مشکلات ذکر شده را از بین ببرد همواره مورد توجه بوده است. یکی از این راهکارها بهره‌گیری از داروهای گیاهی است.[۹]

بومادران با نام علمی Achillea Millefolium گیاه دارویی شناخته شده‌ای است که از مدت‌ها پیش در انواع گوناگونی از اختلالات و بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس روغنی (Essential oil) گیاه بومادران در محیط آزمایشگاه مورد تأیید قرار گرفته است.[۱۰]

عصاره‌های تهیه شده از گیاه بومادران دارای اثرات ضدمیکروبی بر علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بوده‌اند. اثرات ضدباکتریایی گیاه بومادران بر روی باکتری‌های زیادی مورد بررسی قرار گرفته که از جمله حساس‌ترین باکتری‌ها استافیلوکوکوس اورئوس بوده است و اثر ضدباکتریایی گیاه روی این میکروارگانیسم نشان داده شده است.[۱۱] با توجه به خاصیت ضدباکتریایی گیاه بومادران به خصوص علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اثر ضدقارچی و ضدباکتریایی داروی میکونازول، در صورت تأیید اثر ضدقارچی این گیاه می‌تواند جایگزینی برای میکونازول باشد. در این مطالعه اثر ضدقارچی گیاه بومادران بر روی کاندیدا آلبیکنس با میکونازول که یک داروی ضدقارچی می‌باشد، مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا قسمت‌های هوایی گیاه بومادران که به صورت تصادفی از اطراف شهر تبریز جمع‌آوری و با کد شناسایی شماره ۱۱٤٤۸ توسط هرباریوم مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان مورد تأیید قرار گرفته بود، در درجه حرارت اتاق خشک گردید. سپس نمونه‌های خشک شده آسیاب شدند. در این مرحله از روش عصاره‌گیری Taneja و Shukla جهت تهیه عصاره آبی بومادران استفاده گردید.[۱۲] ابتدا ۱۰۰۰ گرم از پودر مذکور در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل و سپس محلول مذکور به مدت ۲۰ دقیقه و با ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich, Berline, Germany) شد. در ادامه محلول سطحی برداشت شده و قسمت ته‌نشین شده دور ریخته شد. عصاره آبی مذکور در ظروف در بسته و به دور از نور مستقیم و در درجه حرارت ۸-٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگه‌داری شد.

عصاره‌گیری الکلی مورد استفاده در این تحقیق بر اساس تکنیک مورد توصیف Aburjai و Hudaib انجام شد.[۱۳]

به منظور تهیه عصاره الکلی، به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر از الکل متانول (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) در دمای ۸۰ درجه، ۱۰۰ گرم پودر بومادران اضافه شده و توسط دستگاه شیکر (Behdad, Tehran, Iran) تکان داده شد. پس از گذشت ۲٤ ساعت محتویات توسط قیف بوخنر (Isolate, London, England) و با استفاده از کاغذ صافی‌های معمولی (Whatman, Briston, England) صاف گردید.

عصاره‌های آبی و الکلی تهیه شده از بومادران به منظور استریل کردن با فیلتر باکتری شناسی فیلتر گردید.

از عصاره‌های نهایی، رقت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۷۰ درصد با سرم فیزیولوژیک و عصاره خالص تهیه شد. در این مطالعه آزمایشگاهی از میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس (PTCC ۵۰۲۷) استفاده شد که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه گردید.

ابتدا میکروارگانیسم به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت مایع Tryptic Soy Broth (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) برای شروع رشد قرار گرفت؛ پس از آغاز رشد، این میکروارگانیسم جهت داشتن کلنی ایزوله (تک) به محیط کشت Sabouraud (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) dextrose Agar حاوی کلرآمفنیکل (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) انتقال داده شد. پس از انکوباتورگذاری ٤۸ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پس از برداشت کلنی تک از این میکروارگانیسم به سرم فیزیولوژیک (Daroupakhsh, Tehran, Iran) انتقال داده شد. در طرح حاضر ابتدا یک سواب پنبه‌ای استریل به داخل محلول حاوی میکروارگانیسم فرو برده و مایع اضافی با فشار دادن به لبه داخلی لوله آزمایش خارج شد، سپس سواب در سطح پلیت‌های یک بار مصرف (پادتن طب، تهران، ایران) حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) به روش Spread plate کشت داده شد، به طوری که تمام سطح محیط آغشته به میکروارگانیسم شود. پلیت‌های کشت به مدت دو تا پنج دقیقه بی‌حرکت گذاشته شدند تا رطوبت آن‌ها جذب گردد.

دیسک‌های بلانک (نیک فرآیند، تهران، ایران) آغشته شده به هر یک از غلظت‌های ذکر شده از عصاره الکلی و آبی بومادران و نیز میکونازول ۲ درصد (بهوزان، تهران، ایران) و نیستاتین ۱۰۰ واحدی (جابر بن حیان، تهران، ایران) به عنوان کنترل مثبت و آب مقطر به عنوان کنترل منفی، پس از گذاشته شدن در کوره و خشک شدن با دقت روی محیط کشت داخل پلیت قرار داده شده و به آرامی در سطح آگار فشرده شدند تا تمام دیسک در تماس با آگار باشد. برای افزایش دقت، طبق مطالعات قبلی از هر یک از غلظت‌های مورد استفاده بومادران، ۱۰ نمونه تهیه و کشت داده شد؛ بنابراین در مجموع ۱۲۰ کشت انجام شد.[۱۵و۱٤]

پس از انکوباتورگذاری به مدت ٤۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و به وسیله کولیس (Asim Instruments, Sialkot, Pakistan) با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب دهم میلی‌متر اندازه‌گیری شد. (در مواردی که قطر هاله عدم رشد بیضی شکل بوده، میانگین قطر کوچک و بزرگ محاسبه گردید.)

داده‌ها پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS با ویرایش ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقادیر کمی به صورت «انحراف معیار ± میانگین» گزارش شد. به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد بومادران (با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠، ۷۰ و ۱۰۰ درصد) با میکونازول ۲ درصد از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه‌های چندگانه دانت (Dunnett's multiple comparisons test) استفاده شد. هم چنین به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره بومادران از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه توکی (Tukey's multiple comparisons test) استفاده گردید. به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی و الکلی بومادران در هر یک از غلظت‌های مورد استفاده از آزمون t دو نمونه مستقل (Independent two-sample t test) استفاده گردید. نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌های قطر

هاله عدم رشد با آزمون ناپارامتری Kolmogorov-Smirnov و تساوی واریانس داده‌های قطر هاله عدم رشد با آزمون Levene مورد تأیید قرار گرفت ($P>۰/۰۵$). سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس در غلظت‌های مختلف عصاره آبی بومادران و میکونازول ۲ درصد استفاده شده در هر گروه در جدول ۱ آمده است.

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بومادران و میکونازول ۲ درصد استفاده شده در هر گروه در جدول ۲ آمده است.

با استفاده از آزمون مقایسات چندگانه Dunnett، میانگین قطر هاله عدم رشد در هر یک از غلظت‌های مورد استفاده عصاره آبی و الکلی بومادران با میکونازول ۲ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، میانگین قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری کمتر از میکونازول ۲ درصد بود ($P<۰/۰۰۱$).

با انجام آزمون t دو نمونه مستقل، به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی و الکلی بومادران در هر یک از غلظت‌های مورد بررسی، مشاهده گردید که میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی در هر یک از غلظت‌ها بیشتر از میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره آبی در همان غلظت بود ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) غلظت‌های مختلف عصاره آبی بومادران با میکونازول ۲ درصد

ماده مورد بررسی	تعداد	حداقل	حداکثر	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P آزمون دانت
بومادران ۱۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۲۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۳۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ٤۰ درصد	۱۰	٦/۱	٦/٤	٦/۲٤±۰/۱۲	<۰/۰۰۱
بومادران ۷۰ درصد	۱۰	۸/٤	۹/۲	۸/۷٦±۰/۲٦	<۰/۰۰۱
بومادران ۱۰۰ درصد	۱۰	۹/۷	۱۰/۱	۹/۹۱±۰/۱۹	<۰/۰۰۱
میکونازول ۲ درصد[a]	۱۰	۲۳/٦	۲٤/۲	۲۳/۸٦±۰/۲۵	

a) گروه مقایسه می باشد.

جدول ۲ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بومادران با میکونازول ۲ درصد

ماده مورد بررسی	تعداد	حداقل	حداکثر	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P آزمون دانت
بومادران ۱۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۲۰ درصد	۱۰	۰	۰	۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۳۰ درصد	۱۰	٦/۳	٦/۹	٦/٦٥±۰/۲۰	<۰/۰۰۱
بومادران ٤۰ درصد	۱۰	۷/۷	۸/۳	۸/۰۳±۰/۲۰	<۰/۰۰۱
بومادران ۷۰ درصد	۱۰	۹/٤	۱۰/۱	۹/۷۲±۰/۲۲	<۰/۰۰۱
بومادران ۱۰۰ درصد	۱۰	۱۰/۷	۱۱/۷	۱۱/۲۲±۰/۳۸	<۰/۰۰۱
میکونازول ۲ درصد[a]	۱۰	۲۳/٦	۲٤/۲	۲۳/۸٦±۰/۲٥	

a) گروه مقایسه می باشد.

جدول ۳ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) عصاره‌های آبی و الکلی بومادران در غلظت‌های مختلف

غلظت	ماده مورد بررسی	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	مقدار P
۱۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	–
	عصاره الکلی	۱۰	۰	
۲۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	–
	عصاره الکلی	۱۰	۰	
۳۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۰	<۰/۰۰۱[a]
	عصاره الکلی	۱۰	٦/٦٥±۰/۲۰	
٤۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	٦/۲٤±۰/۱۲	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۸/۰۳±۰/۲۰	
۷۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۸/۷٦±۰/۲٦	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۹/۷۲±۰/۲۲	
۱۰۰ درصد	عصاره آبی	۱۰	۹/۹۱±۰/۱۹	<۰/۰۰۱[b]
	عصاره الکلی	۱۰	۱۱/۲۲±۰/۳۸	

آزمون t دو نمونه مستقل

a) آزمون من-ویتنی

b) آزمون t مستقل

در عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران، نتایج آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) نشان داد که اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۰۱$). هم چنین آزمون مقایسات چندگانه Tukey نشان داد که در عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران اثر غلظت‌ها معنی‌دار می‌باشد به طوری که از غلظت ۱۰ درصد به سمت غلظت ۱۰۰ درصد به طور معنی‌داری اثر ضدقارچی عصاره آبی و الکلی بومادران افزایش می‌یابد ($P<۰/۰۰۱$).

بحث

در این مطالعه آزمایشگاهی که به هدف بررسی تأثیر عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران (Achillea Millefolium) بر روی کاندیدا آلبیکنس و مقایسه آن با میکونازول انجام شد، نتایج نشان داد تأثیر میکونازول ۲ درصد نسبت به غلظت‌های به کار رفته عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران به صورت معنی‌داری بیشتر بود و قطر هاله عدم رشد در دیسک‌های حاوی میکونازول از تمامی غلظت‌های گیاه بومادران بیشتر بود.

در این مطالعه تأثیر ضدقارچی عصاره الکلی به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره آبی گیاه بومادران بود که این یافته با نتایج مطالعات فتحی و Candan و Sokmen که همگی به صورت جداگانه بیان نمودند فعالیت ضدقارچی قابل ذکری در قسمت‌های محلول در آب گیاه مشاهده نشده است، در یک راستا می‌باشد.[۱۷و۱۶و۱۰]

فتحی و همکارش که خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی، کلروفرمی و اتیل استاتی گیاه مورد مطالعه ما (Achillea Millefolium) را مورد بررسی قرار دادند، مشابه با مطالعه ما خاصیت ضدقارچی بر روی کاندیدا آلبیکنس را برای گیاه قابل ذکر ندانستند.[۱۶] Tuberoso نتیجه‌ای مشابه با مطالعه ما را در مورد گیاه بومادران نوع Achillea ligustica بیان نمود و فعالیت کمی را برای خاصیت ضدقارچی آن از جمله قارچ کاندیدا آلبیکنس گزارش کرد.[۱۸]

در مطالعه‌ای Aljancic فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه Achillea Atrata علیه کاندیدا آلبیکنس را ناشی از فلاونوئیدها دانست. او عصاره خام و چهار نوع فلاونوئید جدا شده از گیاه را جداگانه ضدقارچ کاندیدا آزمایش کرد و خاصیت ضدقارچی برای عصاره گیاه در نظر گرفت.[۱۹] در این مطالعه که برای نوعی از گیاه بومادران خاصیت ضدقارچی ذکر شده علت را می‌توان اثر ضدقارچی بالاتر این گونه نسبت به گونه مورد مطالعه ما (Achillea Millefolium) و استفاده از مواد خاصی که از عصاره جدا شده بود مانند فلاونوئیدها دانست که ممکن است این مواد به خاطر خالص و غلیظ شدن اثر ضدقارچی نشان دادند.

در مطالعه احمدی که بر روی گیاه Santolina Achillea انجام داد کامفور را ترکیب ضدمیکروبی اصلی گیاه دانست و ذکر کرد اثر ضدباکتری گیاه قابل توجه‌تر از اثر ضدقارچی آن است و قارچ کاندیدا آلبیکنس حساسیت کمی را نشان داده است.[۲۰]

Sokmen و همکاران[۱۷] بر خلاف نتایج این مطالعه، اثر ضدقارچی برای عصاره الکلی و اسانس روغنی گیاه Achillea Sintenisii ذکر کرد. او هم چنین بیان کرد اسانس روغنی دارای خاصیت قوی‌تری از عصاره است. عصاره آبی خاصیت قابل بیانی نداشت. او کامفور و اکالیپتول و لینالول را اجزا اصلی ضدمیکروبی گیاه دانست که بر روی ۱۲ نوع باکتری و دو نوع قارچ تأثیر داشتند.

Candan و همکاران[۱۰] که تحقیقی روی گیاه مورد مطالعه ما انجام داد در قسمت محلول در آب فعالیتی

مشاهده نکرد اما برای عصاره متانولی گیاه و اسانس روغنی آن ضدکاندیدا آلبیکنس فعالیت متوسطی ذکر کرد. هم چنین اثر اسانس روغنی بیشتر از عصاره الکلی بیان کرد. او در این تحقیق اجزاء گیاه را به وسیله GC-MS آنالیز کرد که نتیجه نشان داد کامفور که در تحقیق احمدی و Sokmen جزء اصلی ضدکاندیدا بودند، از اجزای اصلی اسانس روغنی می‌باشند. تفاوت نتیجه تحقیق Candan با مطالعه ما را می‌توان به علت‌های مختلف از جمله حساسیت بالاتر سوش قارچ مورد استفاده در مطالعه و حلالیت بالاتر ترکیبات ضدقارچی دانست.

در اکثر مطالعات خاصیت ضدمیکروبی اسانس روغنی بالاتر از عصاره‌های هیدروالکلی گیاه بوده است. از آن جایی که ترکیب اصلی موجود در اسانس روغنی طبق آنالیزهای انجام شده در مطالعات Candan، Tuberose و تاجیک لینالول و کامفور معرفی شده است، احتمالاً همین ترکیبات عامل خواص ضدقارچی موجود در ترکیبات خانواده بومادران است که درصد آن‌ها در اسانس روغنی بیشتر از عصاره‌ها می باشد. پژوهش تاجیک عنوان می‌دارد که ترکیب لینالول، ۲۵ درصد اسانس روغنی را تشکیل می‌دهد.[۱۱]

این‌ها در حالی است که Stojanovic در مطالعه‌ای که بر روی چهار نوع از گیاهان خانواده استراسه از جمله Achillea Millefolium انجام داد، بیان نمود که عصاره الکلی (متانول- اتر- هگزان) هر چهار گیاه دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه پنج نوع باکتری و دو نوع قارچ از جمله کاندیدا آلبیکنس بوده است.[۲۱]

در مطالعه ما برای تهیه عصاره الکلی گیاه، از الکل متانول استفاده شده است. طبق تحقیق آقای Mahasneh حتی نوع الکل بر روی خواص ضدقارچی اثر می‌گذارد زیرا حلالیت مواد مؤثر گیاه در حلال‌هایی مختلف متفاوت است.[۲۲]

در مطالعات انجام شده بر روی این گیاه (Achillea Millefolium) و گونه‌های مشابه (.Achillea) هیچ کدام به صورت مقایسه‌ای خاصیت ضدقارچی را با یک داروی ضدقارچ استاندارد بررسی نکرده‌اند و به همین دلیل ممکن است حتی تأثیر بر کاهش کلنی‌های کاندیدا را اثر ضدقارچی نامیده باشند. به دلیل معدود بودن مطالعات مشابه و نتایج متفاوت آن‌ها مقایسه این مطالعه با سایر مطالعات کمی دشوار بوده و نمی‌توان به طور قطع هیچ عاملی را مسبب نتایج متفاوت دانست. تنها می‌توان استدلال کرد که احتمالاً عصاره آبی و الکلی این گیاه دارای ترکیبات ضدقارچی کمتری می باشد و پیشنهاد می‌شود از اسانس روغنی گیاه در مطالعات بعدی استفاده شود.

با توجه به اختلاف زیاد قطر هاله عدم رشد عصاره-های آبی و الکلی گیاه بومادران (Achillea Millefolium) در مقایسه با میکونازول ۲ درصد اثر ضدقارچی آن در سطح آزمایشگاهی قابل ملاحظه نبوده و به نظر می‌رسد نمی‌تواند به صورت بالینی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثر ضدقارچی داروی میکونازول ۲ درصد بر روی کاندیدا آلبیکنس، در مقایسه با عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران بیشتر بوده و به نظر می‌رسد عصاره این گیاه نمی‌تواند جایگزین میکونازول برای مبارزه با کاندیدا آلبیکنس باشد. اما با توجه به افزایش روزافزون مقاومت میکروارگانیسم‌های پاتوژن قارچی از جمله کاندیدا آلبیکنس به داروهای ضدقارچی موجود و عوارض این داروها و هم چنین عدم تأثیر ضدقارچی قابل توجه عصاره آبی و الکلی بومادران،

پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری جهت بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس روغنی بومادران صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه شماره ٤٧٢ از دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به جهت حمایت مالی از این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. همچنین از زحمات جناب آقای رضا بهرام آبادی نژاد کارشناس میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Panahi J, Havasian MR, Gheitasi S, Pakzad I, Jaliliyan A, Hoshmandfar R, et al. The *in vitro* Inhibitory Effects of the Aqueous Extracts of Summer Onion on Candida Albicans. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2013; 21(1): 54-9. (Persian)
2. Fatahi M, Shokohi T, Hashemi Sooteh MB, Hedavati MT, Okhovatian A, Tamadoni A, et al. Molecular Identification of Candida Albicans Isolated From the Oncology Patients at Four University Hospitals in Mazandaran Province. J Mazandaran Univ Med Sci 2007; 17(61): 1-11. (Persian)
3. Nittayananta W, Jealae S, Winn T. Oral Candida in HIV-infected heterosexuals and intravenous drug users in Thailand. J Oral Pathol Med 2001; 30: 347–54.
4. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the orospective antifungal therapy alliance registry. J Clin Infect Dis 2009; 48: 1695-703.
5. Jontell M, Homstrup P. Red and White Lesions of the Oral Mucosa. In: Glic M, Greenberg MS, Ship JA. Burket's oral medicine. 11th ed, Ontario, BC Decker, 2008: 79-84.
6. Capistrano HM, de Assis EM, Leal RM, Alvarez Leite ME, Brener S, Bastos E.M. Brazilian Green Propolis Compared to Miconazole Gel in the Treatment of Candida-Associated Denture Stomatitis. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 10: 947-80.
7. Taschdjian CL, Kozinn PJ. Laboratory and clinical studies on candidiasis in newborn infants. J Pediatr 1957; 50: 426-33.
8. Sung DJ, Kim JG, Won KJ, Kim B, Shin HC, Park JY. Blockade of K+ and Ca2+ channels by azole antifungal agents in neonatal rat ventricular myocytes. Biol Pharm Bull 2012; 35(9): 1469-75.
9. Namdar Ahmadabad H, Roudbary M, Roudbar Mohammadi Sh, Mohammad Hassan Z, Nezafat Firizi M. Anti-fungal effect of fresh, aged and pickled garlic aqueous extract on Candida albicans; *In vitro*. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2013; 18(4): 179-83. (Persian)
10. Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polassiou M, Sokmen A, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achillea millefolium subsp. millefolium Afan. (Asteraceae). J Ethnopharmacol 2003; 87(2-3): 215-20.
11. Tajik H, Jalali F, Shokoouhi S. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of aqueous and alcoholic extracts of yarrow against pathogenic microorganisms. Urmia Medical Journal 2009; 19(4): 309-58. (Persian)
12. Shukla Y, Taneja P. Antimutagenic effects of garlic exteracts on chromosomal aberrations. Cancer Lett 2002; 31: 31-6.
13. Aburjai T, Hudaib M. Antiplatelet, antibacterial and antifungal activities of Achillea facata exteracts and evaluation of volatile oil composition. Pharmacog J 2006; 2(7): 191-8.
14. Dutta BK, Karmakar S, Naglot A, Aich JC, Begam M. Anticandidial activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. J Mycoses 2007; 50(2): 121-4.

15. Elaissi A, Rouis Z, Salem NA, Mabrouk S, Bensalem Y, Salah KB, et al. Chemical composition of 8 Eucalyptus species' Essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. BMC Complement Altern Med 2012; 12(1): 81-8.
16. Fathiazad F, Lotfipour F. Study on the *in vitro* antimicrobial activity of Achillea Millefolium and Equisetum arvense. J of Phamaceutical Sciences 2004; 10(1): 37-46.
17. Sokmen A, Vardar unlu G, Polissiou M, Daferera D, Sokmen M, Donmeze. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. Mor. (Asteraceae). Phytother Res 2003; 17(9): 1005-10.
18. Tuberose CL, Motoro P, Piacente S, Corona G, Deiana M, Dessi MA, et al. Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from Achillea ligustica All. J Pharm Biomed Anal 2009; 50(3): 440-8.
19. Aljancic I, Vajs V, Menkovic N, Karadzic I, Juranic N, Milosavljevic S, et al. Flavones and sesquiterpene lactones from Achillea atrata subsp. multifida: antimicrobial activity. J Nat Prod 1999; 62(6): 909-11.
20. Ahmadi Z, Sattari M, Tabraee B, Bigdeli M. Identification of the constituents of Achillea santolina essential oil and evaluation of the anti-microbial effects of its extract and essential oil. Scientific Journal of Arak University of Medical Sciences 2011; 14(3): 1-10. (Persian)
21. Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. *In vitro* antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L. (Asteraceae) extract. J Ethnopharmachol 2005; 101(1-3): 185-90.
22. Mahasneh A, Adel M. Antimicrobial activity of extracts of herbal used in the traditional medicine of Jordan. J Ethnopharmacol 1999; 64: 271-6.

بررسی و مقایسه میزان از دست دادن خون حین انواع مختلف جراحی ارتوگناتیک

سید جابر میرجانی*، علیرضا شریفیان عطار، فاطمه خسروی***، مجید عشق پور****#**

* دستیار تخصصی گروه جراحی دهان، فک و صورت، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

** دانشیار گروه بیهوشی، بیمارستان قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*** دندانپزشک

**** دانشیار جراحی دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۷/۶ - تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۹

Evaluation and Comparison of Blood Loss during Different Ortognathic Surgeries

Seyed Jaber Mirjani*, Alireza Sharifianatar, Fateme Khosravi***, Majid Eshghpour****#**

** Postgraduate Student of Oral & Maxillofacial Surgery, Student Research Committee, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

*** Associate Professor of Anesthesia Department, Ghaem Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

**** Dentist*

***** Associate Professor of Oral & Maxillofacial Diseases, Dental Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

Received: 28 September 2015 ; Accepted: 28 February 2016

Introduction: Accurate estimation of the amount of blood loss for predicting the need for transfusion during bimaxillary orthognathic surgery is important for maxillofacial surgeons and anesthesiologists. The aim of this study was to determine the amount of blood loss during various types of orthognathic surgery.

Materials & Methods: A total of 92 patients were selected and were separated into two groups of monomaxillary & bimaxillary. All the surgeries were performed in Ghaem Hospital of Mashhad University of Medical Sciences under anesthesia with deliberate hypotension. Blood pressure during surgery was maintained under 100 mm/hg. Surgical blood losses was measured by the amount of blood in the surgical suction unit and counting the number of gauze pads saturated with blood by the anesthesiologiste and at the end of surgery was recorded. In the end, the amount of blood loss was determined separately according to the type of surgery & was statistically analyzed.

Results: The study sample consisted of 92 subjects with a mean age of 23.6±3.64 years and all of the subjects completed the study. The average surgical blood loss was 351.63 ml. Mann-Whitney Test showed that the amount of blood loss in class II was significientlya higher than class III (monomaxillary P=0.040 and bimaxillary P=0.008). Blood loss in monoaxillary surgery was significiently less than bimaxillary surgery (P<0.001).

Conclusion: According to the present study, the amount of bleeding among different types of orthognathic surgeries is different depending on type & number of surgery and these factors are important in estimating the amount of blood loss and peredicting the necessary actions in order to replace the lost blood volume.

Key words: Bleeding, maxillofacial orthognathic surgery, hypotensive anesthesia, osteotomy.

 # Corresponding Author: Eshghpourm@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 159-66 .

چکیده

مقدمه: تخمین دقیق میزان اتلاف خون حین جراحی‌های ارتوگناتیک دوفکی جهت پیش بینی نیاز به تزریق خون یا فرآورده‌های خونی برای جراح و متخصص بیهوشی اهمیت دارد. هدف این مطالعه تعیین میزان اتلاف خون حین انواع مختلف جراحی‌های ارتوگناتیک بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۹۲ بیمار در دو گروه یک فک و دوفک وارد مطالعه شدند. جراحی‌ها در بیمارستان قائم (عج) مشهد و تحت بیهوشی با کم فشاری القایی انجام شد. فشار خون حین جراحی در حد متعادل زیر ۱۰۰ میلی‌متر حفظ شد. میزان خونریزی حین عمل با اندازه گیری ساکشن و شمارش گازها توسط تیم بیهوشی صورت پذیرفت و در پایان عمل ثبت شد. در پایان، میزان خونریزی با تفکیک نوع جراحی مشخص و داده ها با آزمون من-ویتنی مورد بررسی قرار گرفت.

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، پارک ملت، دانشکده دندانپزشکی، گروه جراحی دهان، فک و صورت، تلفن: ۰۸۱-۳۸۲۴۶۰۱۴

E-mail: Eshghpourm@mums.ac.ir

یافته‌ها: تعداد ۹۲ بیمار، با میانگین سنی ۳/٦٤±۲۳/٦ سال جامعه مورد مطالعه را تشکیل می‌داد. میانگین میزان اتلاف خون کلی ۳۵۱/٦۳ میلی‌لیتر به دست آمد. آزمون من ویتنی نشان داد که میزان خونریزی هم در یک فک و هم در دو فک درگیر در کلاس II به طور معنی‌داری بیشتر از کلاس III بود (به ترتیب برابر P=۰/۰۰۸ و P=۰/۰٤۰) میزان خونریزی در جراحی‌های تک فک به طور معنی‌داری کمتر از دو فک بود (برای هر دو P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: با توجه به مطالعه حاضر میزان خونریزی در میان انواع جراحی‌های ارتوگناتیک بسته به نوع جراحی و تعداد عمل متفاوت می‌باشد، این فاکتورها در تخمین میزان اتلاف خون و تعیین و پیش بینی اقدامات لازمه جهت جایگزینی حجم از دست رفته مؤثر است.

کلمات کلیدی: خونریزی، جراحی ارتوگناتیک، کم فشاری القایی، استئوتومی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤۰ / شماره ۲ : ٦٦-۱۵۹ .

مقدمه

در علم پزشکی، «اتلاف خون وسیع» به از دست رفتن ۲۰ درصد و یا بیشتر از کل حجم خون بدن گفته می‌شود. از علل خونریزی‌های وسیع، تروما و جراحی هستند که در این بین اتلاف خون حین جراحی سهم بزرگ‌تری را شامل می‌شود.[۱] جراحی‌های ارتوگناتیک نیز که برای تصحیح دفورمیتی‌های استخوان‌های صورت در بیماران با اختلالات دندانی- صورتی انجام می‌شوند، اتلاف خون فراوانی دارند، به طوری که گاهی نیاز به تزریق فراورده‌های خونی است. علت این خونریزی وسیع، شبکه عروقی وسیع ناحیه فک و صورت و همچنین سختی دسترسی به ناحیه جراحی جهت هموستاز می‌باشد. از طرفی امروزه با توجه به پیشرفت‌های اخیر پزشکی جراحی‌های ارتوگناتیک، بیشتر از گذشته انجام می‌شوند.[۲] بنابراین جراحی‌های ارتوگناتیک سهم زیادی در اتلاف خون جراحی‌های بیمارستانی دارند، عوامل متعددی مانند مدت جراحی، روش جراحی، تکنیک بیهوشی، هموستاز و مهارت جراح بر میزان اتلاف خون حین جراحی تأثیر گذارند.

اتلاف خون وسیع می‌تواند حیات فرد را به خطر بیاندازد به طوری که اگر این حجم از دست رفته جبران نگردد، جریان خون ناکافی سرانجام ارگان‌های بدن را دچار نقص عملکردی غیر قابل برگشت می‌کند.[۳] پس اگر بیمار در طول جراحی ارتوگناتیک با اتلاف خون وسیع مواجه شد بایستی متناسب با حجم خون از دست رفته با تزریق فراورده‌های خونی آن را جایگزین کرد، در غیر این صورت می‌تواند برای بیمار مشکل آفرین باشد.[٤] از سوی دیگر میزان اتلاف خون حین جراحی‌های ارتوگناتیک بسیار متفاوت می‌باشد، به طوری که در مطالعه Rummasak و همکاران[۵] این میزان از ۲۰۰ میلی‌لیتر تا ۳٤۰۰ میلی لیتر محاسبه شد. همچنین در مطالعه Panula و همکاران[٦] این میزان از صفر تا ٤۵۰۰ میلی‌لیتر به دست آمد.

بنابراین تخمین و پیش بینی دقیق میزان اتلاف خون حین جراحی ارتوگناتیک بسیار مهم می‌باشد. هرچه این تخمین دقیق‌تر باشد، آمادگی پرسنل جراحی برای مقابله با خطرات احتمالی حین جراحی افزایش یافته و به جراح و متخصص بیهوشی پیش آگهی لازم برای درمان‌های لازم را می‌دهد. همچنین خود بیمار نیز قبل از جراحی نسبت به احتمال تزریق خون آگاه می‌شود[۷] از آنجایی که به نظر می‌رسد تاکنون مطالعاتی در ارتباط با مقایسه میزان اتلاف خون حین انواع مختلف جراحی‌های ارتوگناتیک علی رغم اهمیت مسأله انجام نشده است، لذا در این تحقیق میزان از دست دادن خون حین انواع مختلف جراحی ارتوگناتیک در بیمارانی که از ابتدای سال ۱۳۹۳ تا خرداد

۱۳۹٤ در بیمارستان قائم مشهد تحت جراحی ارتوگناتیک قرار گرفته بودند، بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

با توجه به مطالعات مشابه و با استفاده از فرمول تعیین حجم نمونه برای مقایسه دو میانگین، با اطمینان ۵ درصد و توان ۸۰ درصد در هر گروه ۱۱ بیمار محاسبه شد که با توجه به ۵ گروه موجود، مجموعاً ۵۵ بیمار وارد مطالعه شدند. اما جهت اطمینان بیشتر و امکان ریزش نمونه‌ها، ۹۵ بیمار وارد مطالعه شدند که ۳ بیمار حین جراحی از مطالعه خارج شدند. ۹۲ بیمار نیازمند جراحی ارتوگناتیک (٥٤ زن و ۳۸ مرد) صرف نظر از نوع جراحی دریک گروه یک فک و دوفک وارد مطالعه شدند. تمامی این بیماران تحت درمان ارتودنسی قرار گرفته بودند. تمام جراحی‌ها در بیمارستان قائم و بیهوشی توسط یک نفر همکار محترم متخصص بیهوشی انجام شد. محقق برای کلیه بیماران قبل از جراحی پرونده‌ای شامل نام، سن، جنس، تاریخ جراحی، تاریخچه پزشکی، سابقه مصرف و حساسیت دارویی تکمیل نمود.

مقدار اتلاف خون که نحوه محاسبه آن در ادامه شرح داده می‌شود نیز توسط محقق وارد پرونده تهیه شده گردید. هم چنین محرمانه بودن اطلاعات بیمار به وی اطلاع داده شد. شرایط ورود به مطالعه شامل عدم سابقه بیماری خونریزی دهنده، عدم مصرف داروی موثر بر انعقاد و اتمام درمان ارتدنسی در بیماران نیازمند جراحی ارتوگناتیک بود. بیماران دارای اختلال انعقادی در ارزشیابی قبل از جراحی، وجود عوارض حین جراحی (هر مشکلی که منجر به طولانی شدن بیش از حد معمول جراحی شود) و افزایش غیرعادی و غیرمعمول فشار حین جراحی به علت احتمال تفاوت در میزان اتلاف خون حین جراحی نسبت به بیمار سالم از مطالعه حذف شدند. کلیه جراحی‌ها در بیمارانی که شرایط شرکت درمطالعه را داشتند توسط جراح دهان، فک و صورت و یک نفر همکار محترم متخصص بیهوشی با شرایط یکسان، تحت تکنیک بیهوشی با کم فشاری القایی انجام شد.

تکنیک بیهوشی با کاهش فشار خون کنترل شده بود؛ به این صورت که متخصص بیهوشی با استفاده از داروهای پروپوفول ۵۰-۲۵ µg/kg/min و ۰/۰۱ µg/kg/min رمیفنتانیل به منظور نگهداری و پایداری عمق بیهوشی، متوسط فشار خون سرخرگی بیمار در حین جراحی را در محدوده ٦٥ تا ۷۰ میلی می‌متر جیوه حفظ کرد و بیماران تحت ونتیلاسیون با اکسیژن و N2O ۵۰/۵۰ قرار گرفتند. فشار خون حین جراحی در حد متعادل زیر ۱۰۰ میلی‌متر حفظ شد. تمامی برش‌های بافت نرم با استفاده از تیغ جراحی شماره ۱۵ و بعد از تزریق لیدوکائین به همراه اپی نفرین ۱/۱۰۰۰۰۰ در ناحیه انجام شد. سپس برش‌های استخوانی و استئوتومی با تکنیک ساجیتال دوطرفه راموس انجام شد. در نهایت فیکساسیون‌های داخلی با استفاده از مینی پلیت و پیچ‌های دو میلی‌متری در ناحیه انجام شد (صرف نظر از جهت حرکت فک).

میزان اتلاف خون در این بیماران به طریق چشمی[۷] براساس میزان خونریزی بر اساس تعداد شمارش گازهای آغشته به خون و میزان خونریزی در ساکشن مطابق با روش زیر محاسبه گردید: تعداد گازهای ٤ اینچ×٤ اینچ آغشته به خون و میزان حجم خون ساکشن شده برای هر عمل جراحی بیمار به صورت جداگانه ثبت شد. هر گاز ٤×٤ آغشته به خون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر خون است، پس تعداد گازهای آغشته به خون در ۱۰ میلی‌لیتر ضرب شده و حاصل با میزان حجم خون ساکشن شده جمع می‌شد. از آن جا که این حجم به دست آمده شامل حجم مایعات

شستشودهنده محدوده جراحی هم می‌شد، حجم مایعات مصرف شده را نیز از آن کم کرده و حاصل برابر با مقدار اتلاف خون واقعی بیمار شد.

در پایان کلیه بیماران براساس میزان خونریزی با تفکیک تعداد عمل (یک فک یا دو فک)، انواع مختلف جراحی‌های فک (کلاس II و کلاس III)، سن و جنس، مشخص و مورد بررسی آماری قرار گرفت. توصیف داده‌ها با میانگین و انحراف معیار بود و مقایسه‌ها با آزمون من-ویتنی انجام شد (α=۰/۰۵).

یافته‌ها

در این مطالعه تعداد بیماران ۹۵ نفر بود که سه نفر به دلیل آسیب عروقی حین جراحی از مطالعه خارج شدند. ۹۲ نفر شامل ٥٤ زن و ۳۸ مرد با میانگین سنی ۳/٦٤±۲۳/۰٦ سال وارد مطالعه شدند که در ادامه به مقایسه میزان خونریزی بر حسب جنس، فک و نوع مشکل اسکلتال به صورت کلی و جزئی پرداخته می شود.

در جدول ۱ مشاهده می‌گردد که میانگین خونریزی در کلاس II اندکی بیشتر از کلاس III است همچنین دامنه پراکندگی و میانه در کلاس III بیشتر از کلاس II است بنابراین نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد و مشخص گردید توزیع داده‌ها در گروه‌های اسکلتی نرمال نیستند بنابراین آزمون من‌ویتنی نشان داد که میزان خونریزی در دو گروه دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد (P=۰/٤٥۹).

در جدول ۲ مشاهده می‌گردد که میانگین، دامنه پراکندگی و میانه خونریزی در افراد دارای جراحی دو فک بیشتر از افراد دارای جراحی یک فک بود. با توجه به عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها، آزمون من ویتنی نشان داد که میزان خونریزی در افراد دارای جراحی دو فک به طور معنی‌داری بیشتر از افراد دارای جراحی یک فک بود (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱ : میانگین، انحراف معیار، کمترین، بیشترین و میانه خونریزی و نتیجه آزمون آماری در دو نوع مشکل اسکلتی

کلاس اسکلتی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمترین	بیشترین	میانه	آماره آزمون	نتیجه آزمون من-وتنی
کلاس II	۱۵	۳۷۱/۳۳	۱۹٤/۰۱	۱۷۰/۰۰	٦۲۰/۰۰	۲۳۰/۰۰	Z=۰/۷٤۱	P=۰/٤٥۹
کلاس III	۷۷	۳٤۷/۷۹	۱۸۹/٥۹	۹۰/۰۰	۷٥۰/۰۰	۳۳۰/۰۰		

جدول ۲ : میانگین، انحراف معیار، کمترین، بیشترین و میانه خونریزی و نتیجه آزمون آماری در گروه‌های دارای جراحی یک فک و دو فک

نوع جراحی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمترین	بیشترین	میانه	آماره آزمون	نتیجه آزمون من-ویتنی
یک فک	۳۸	۱٦٥/۰۰	٥٦/۰۸	۹۰/۰۰	۳۰۰/۰۰	۱٥٥/۰۰	Z=۰/۰۸	P<۰/۰۰۱
دو فک	٥٤	٤۸۲/۹۸	۱۲۹/۹۰	۲۸۰/۰۰	۷٥۰/۰۰	٤۹٥/۰۰		

در جدول ۳ مشاهده می‌گردد که هم در جراحی یک فک و هم در دو فک، میانگین و میانه خونریزی در افراد کلاس II بیشتر از کلاس III بود اما دامنه پراکندگی در کلاس III بیشتر از کلاس II بود. با توجه به عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها، آزمون من ویتنی نشان داد که میزان خونریزی هم در جراحی یک فک و هم در دو فک کلاس II به طور معنی‌داری بیشتر از کلاس III بود (به ترتیب برابر P=۰/۰۰۸ و P=۰/۰۴۰).

آزمون تی مستقل نشان داد که میزان خونریزی هم در جراحی یک فک و هم در جراحی دو فک بین دو جنس معنی‌دار نبود (به ترتیب برابر P=۰/۳۳۱ و P=۰/۸۳۲).

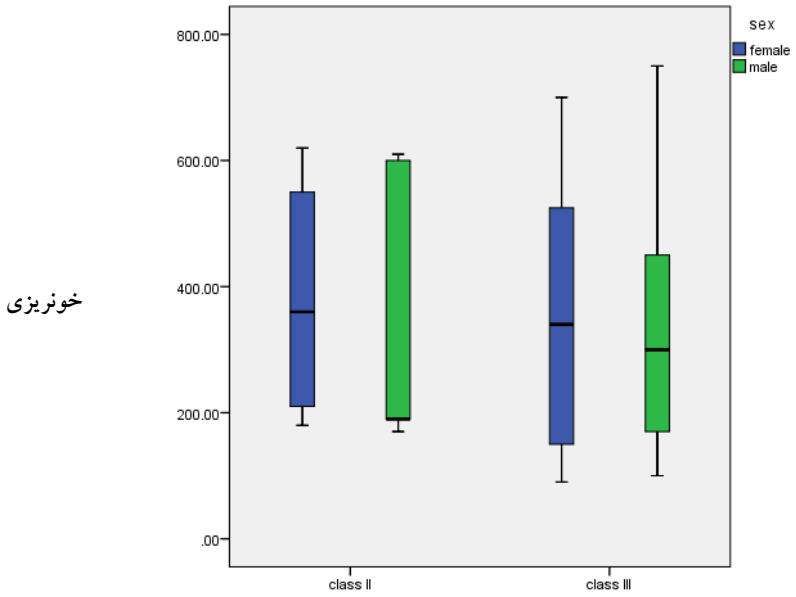
هم در کلاس II و هم در کلاس III، میانگین، میانه و دامنه پراکندگی خونریزی در دو فک بیشتر از کلاس III بود و با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در کلاس II و عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها در کلاس III، آزمون‌های تی و من ویتنی نشان داد که میزان خونریزی در هر دو کلاس در یک فک بطور معنی‌داری کمتر از دو فک بود (برای هر دو P<۰/۰۰۱).

نمودار ۱ وضعیت پراکندگی میزان خونریزی برحسب جنسیت در هر یک از کلاس‌های اسکلتی را نشان می‌دهد:

اثر سن، چه به طور کلی و چه به طور تفکیکی در کلاس‌های مختلف و جراحی یک فک یا دو فک معنی‌داری نبود.

جدول ۳ : میانگین، انحراف معیار، کمترین، بیشترین، میانه در افراد کلاس‌های II و III به تفکیک نوع جراحی فک و نتیجه آزمون آماری

نوع جراحی	کلاس اسکلتی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمترین	بیشترین	میانه	آماره آزمون	نتیجه آزمون من-ویتنی
یک فک	کلاس II	۸	۱۹۸/۷۵	۲۰/۳۱	۱۷۰/۰۰	۲۳۰/۰۰	۱۹۵/۰۰	Z=۲/۴۰	P=۰/۰۰۸
	کلاس III	۳۰	۱۵۶/۰۰	۵۹/۲۸	۹۰/۰۰	۳۰۰/۰۰	۱۳۵/۰۰		
دو فک	کلاس II	۷	۵۶۸/۵۷	۴۷/۴۱	۴۹۰/۰۰	۶۲۰/۰۰	۵۸۰/۰۰	Z=۲/۰۵	P=۰/۰۴۰
	کلاس III	۴۷	۴۷۰/۲۱	۱۳۳/۶۷	۲۸۰/۰۰	۷۵۰/۰۰	۴۵۰/۰۰		



نمودار ۱ : نمودار جعبه ای خونریزی برحسب جنس در هر یک از کلاس‌های اسکلتی

بحث

یکی از مهمترین مشکلات جراحی‌های ارتوگناتیک، اتلاف خون حین جراحی می‌باشد.[٤]

این مطالعه با هدف اندازه گیری میزان خونریزی در انواع مختلف جراحی‌های ارتوگناتیک انجام شد تا بتواند به عنوان یک منبع، جراحی‌های ارتوگناتیک با ریسک بالای خونریزی را معرفی نماید. در این مطالعه میزان خونریزی در جراحی‌های یک فک، صرف نظر از فک مورد عمل قرار گرفته و جهت حرکت فک، به طور معنی‌داری از جراحی‌های دو فک کمتر بود. این نتیجه با نتایج مطالعات دیگر، نظیر Moenning و همکاران[۸] نیز همخوانی دارد. البته ایشان شاخص با اهمیت دیگری نظیر توده بدنی را وارد مطالعه کرد و این نتیجه منطقی را به دست آورد که در مردان به دلیل وزن بیشتر میزان خونریزی بیشتر از زنان می باشد.

در مطالعه Samman و همکاران[۹] خونریزی به طور تقریبی اندازه گیری شده و شاخص آماری نیاز به جایگزینی خون حین جراحی بود. این مطالعه نشان داد که در جراحی‌های تک فک به ندرت نیاز به انتقال خون می‌باشد مگر آنکه جراحی‌های دیگری در کنار آن انجام شود. از نظر تأثیر جنس بر میزان خونریزی، این مطالعه

تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و از این حیث مشابه مطالعات Modig[۱۰] و Rassi[۱۱] بود.

بررسی تأثیر جنس در مطالعات Rummassk[۵] و Chen[۱۲] نیز انجام شده بود و علی رغم برتری جنس زن در افزایش میزان خونریزی، خود محقق، علت این افزایش را تعداد بیشتر زنان نسبت به مردان در مطالعه عنوان کرده بود.

سن نیز به عنوان یک فاکتور در مطالعه ما بررسی شد که مشخص شد تأثیری بر میزان خونریزی ندارد، از این حیث مشابه مطالعات Rummasak[۵]، Rossi[۱۱] و Chio[۱۳] می باشد.

Al-Sebaei[۱۴] در مطالعه‌ای تأثیر جراحی پیوند استخوان بر میزان خونریزی حین جراحی لفورت I را بررسی کرد و مشخص شد مشابه مطالعه Samman و همکاران [۹] پیوند استخوان به عنوان یک جراحی دیگر، احتمال جایگزینی خون را حین جراحی ارتوگناتیک افزایش می‌دهد.

مطالعه Eftekharian و همکاران[۱۵] نشان داد که هر چه زمان جراحی طولانی‌تر باشد، احتمال از دست رفتن خون بیشتر می باشد که کاملاً منطقی است و برخلاف مطالعات دیگر که تعداد فک درگیر جراحی را به عنوان معیار قرار می‌دادند، ایشان زمان جراحی را ارزیابی می‌کردند. البته با توجه به اینکه معمولاً در مطالعات، جراحی‌ها توسط یک نفر انجام می‌شود، فاکتور زمان می‌تواند یکسان در نظر گرفته شود.

در مجموع باید گفت از نظر تأثیر فاکتورهایی مثل سن، جنس و ... این مطالعه تفاوتی چه از لحاظ اجرا و چه از نظر نتایج با مطالعات دیگر نداشت. نکته برجسته این مطالعه بررسی تأثیر نوع جراحی بر میزان خونریزی بود که نشان داد جراحی در افراد کلاس II نسبت به کلاس III چه در یک فک و چه در دو فک، احتمال خونریزی بیشتری دارد.

پیشنهاد می‌شود برای تعیین نیاز به ترنسفوزیون، مطالعه‌ای با حجم نمونه بیشتر همراه با بررسی‌های لابراتواری خونی بین نمونه‌های جراحی از نظر میزان افت هموگلوبین و هماتوکریت و سایر عناصر خونی و یا تاثیر داروهای کاهنده فشار و منعقدکننده خون انجام شود.

نتیجه گیری

میزان خونریزی در میان انواع جراحی‌های ارتوگناتیک بسته به نوع جراحی و تعداد عمل (تک فک یا دو فک بودن) متفاوت می‌باشد، این فاکتورها در تخمین میزان اتلاف خون و تعیین و پیش بینی اقدامات لازمه جهت جایگزینی حجم از دست رفته مؤثر است. در جراحی‌های تک فک معمولا نیازی به ترنسفوزین خون نیست. در بیمارانی که مشکل کلاس II دارند و جهت حرکات فکی نسبت به بیماران کلاس III متفاوت است، احتمال خونریزی و نیز احتمال نیاز به جایگزینی خون بیشتر خواهد بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه شماره ۲۷۳۱ دانشکده دندانپزشکی مشهد استخراج شده است؛ بدینوسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشکده دندانپزشکی که در مراحل انجام این طرح، نهایت همکاری را داشتند، تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

1. Mannucci PM, Levi M. Prevention and treatment of major blood loss. N Engl J Med 2007; 356(22): 2301-11.
2. Piñeiro-Aguilar A, Somoza-Martin M, Gandara-Rey JM, Garcia-Garcia A. Blood loss in orthognathic surgery: A systematic review. J Oral Maxillofac Surg 2011; 69(3): 885-92.
3. Patton K, Funk DL, McErlean M, Bartfield JM. Accuracy of estimation of external lood loss by EMS personnel. J Trauma 2001; 50(5): 914-6.
4. Turnbull AC, Tindall VR, Robson G, Dawson IM, Cloake EP, Ashley JS. Report on confidential enquiries into maternal deaths in england and wales 1979-1981. Rep Health Soc Subj (Lond) 1986; 29:1-147.
5. Rummasak D, Apipan B, Kaewpradup P. Factors that determine intraoperative blood loss in bimaxillary osteotomies and the need for preoperative blood preparation. J Oral Maxillofac Surg 2011; 69(11): 456- 60.
6. Panula K, Finne K, Oikarinen K. Incidence of complications and problems related to orthognathic surgery. J Oral Maxillofac Surg 2001; 59(10): 1128-36.
7. Yu CNF, Chow TK, Kwan AS, Wong SL, Fung SC. Intra-operative blood loss and operating time in orthognathic surgery using induced hypotensive general anaesthesia. Hong Kong Med J 2000; 6(3): 307-11.
8. Moenning JE, Bussard DA, Lapp TH, Garrison BT. Average blood loss and the risk of requiring perioperative blood transfusion in 506 orthognathic surgical procedures. J Oral Maxillofac Surg 1995; 53(8): 880-3.
9. Samman N, Cheung LK, Tong A, Tideman H. Blood loss and transfusion requirements in orthognathic surgery. J Oral Maxillofac Surg 1996, 54(1): 21-4.
10. Modig M, Rosén A, Heimdahl A. Template bleeding time for preoperative screening in patients having orthognathic surgery. Br J Oral Maxillofac Surg 2008, 46(8): 645-8.
11. Rossi A, Falzetti G, Donati A. Desflurane versus sevoflurane to reduce blood loss in maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surgery 2010; 68(5): 1007-12.
12. Chen CM, Lai SS, Hsu KJ. Assessment of the related factors of blood loss and blood ingredients among patients under hypotensive anesthesia in orthognathic surgery. J Craniofac Surg 2011, 22(5): 1594-7.
13. Choi BK, Yang EJ, Oh KS. Assessment of blood loss and need for transfusion during bimaxillary surgery with or without maxillary setback. J Oral Maxillofac Surg 2013; 71(2): 358-65.
14. Al-Sebaei M. Predictors of intra-operative blood loss and blood transfusion in orthognathic surgery: A retrospective cohort study in 92 patients. Patient Saf Surg 2014; 41(8): 75-9.
15. Eftekharian H, Aliabadi E, Fakhraei ME, Dadaein Sh. The amount of blood loss during maxillofacial orthognathic surgery. J Isfahan Dent Sch 2015; 11(1): 67-75.

تعیین اثر پروپولیس تهیه شده در ایران بر پلاک دندانی در دانشجویان دانشکده دندانپزشکی قزوین

محمدرضا ناصح*، نعمت اله غیبی، حسن جهانی هاشمی***، الهه عزیزلو****#، زهرا علیزاده طبری***
* استادیار گروه پریودنتولوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
** دانشیار گروه بیو فیزیک، مرکز رشد و فناوری زیستی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
*** دانشیار آمار زیستی، مرکز تحقیقات رشد کودکان، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
**** دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، ایران
تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۶/۱۹ - تاریخ پذیرش : ۹۵/۲/۷

The Effect of Iranian Propolis on Dental Plaque on Dentistry Students of Qazvin, Dental School

Mohhamadraza Naseh*, Nematollah Gheibi, Hassan Jahanihashemi***, Ellaheh Azizlou****#, Zahra Alizadeh Tabari***
** Assistant Professor, Dept of Periodontology, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*
*** Associate Professor, Dept of Bio physic, Biotechnology and Growth Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*
**** Associate Professor of Children Growth Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.*
***** Dentistry Student, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran*
Received: 10 September June 2015 ; Accepted: 26 April 2016

Introduction: Clinically, dental plaque is a white or grayish-yellow matter and a flexible concrete with known structure. It plays a crucial role in periodontal disease. Propolis is a natural bee product which has anti-bacterial properties and has been hypothesized as a good material for removal of bacterial plaque and inhibition of gingival inflammation. The aim of this study was to evaluate the effect of propolis on dental plaque and gingival inflammation.
Materials & Methods: This cross over clinical trial study was conducted on 20 dental students. After examination, all cases received the designated toothpastes either with or without propolis for two weeks. The plaque and gingival indices were examined at baseline and after two weeks of using both types of toothpastes. Independent t test and paired t test was used to analyze the data using SPSS package.
Results: The results indicated that after two weeks there was no significant difference in the PI, but the GI between the two groups was different.
Conclusions: Propolis had no significant effect on the accumulation of bacterial plaque, but in can be used as a good compound to reduce gingival inflammation.
Key words: Propolis, dental plaque, plaque index, gingival index.
 # Corresponding Author: np_azizlou@yahoo.com, mnaseh@qums.ac.ir
J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 167-76.

چکیده

مقدمه: از نظر بالینی پلاک دندانی به عنوان یک ماده ی سفید یا زرد رنگ متمایل به خاکستری، قابل انعطاف و دارای ساختار مشخص تعریف می‌شود که نقش به سزایی در آغاز بیماری‌های پریودنتال دارد. پروپولیس ماده ای می‌باشد که خاصیت آنتی باکتریال و ضدالتهاب دارد. هدف از این مطالعه بررسی میزان اثر این ماده بر پلاک باکتریال و التهاب لثه بود.

مواد و روش‌ها: این کارآزمایی بالینی با الگوی متقاطع بر روی ۲۰ نفر دانشجوی دندانپزشکی صورت گرفت. تمامی افراد بعد از معاینه لثه از خمیردندان‌های دارای پروپولیس و بدون پروپولیس هر کدام به مدت دو هفته استفاده کردند. میزان پلاک و التهاب لثه، توسط شاخص لثه Sillness and Loe و شاخص پلاک Sillness and Loe در ابتدا (زمان صفر) و دو هفته بعد از استفاده از هر دو خمیردندان ارزیابی شد. تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون *t* مستقل و زوجی انجام شد.

مولف مسؤول، نشانی: قزوین، دانشکده دندانپزشکی، تلفن: ۰۹۱۲۸۴۱۷۰۰۹

E-mail: np_azizlou@yahoo.com, mnaseh@qums.ac.ir

یافته‌ها: با توجه به آنالیز داده‌ها، میزان پلاک ایندکس (PI) در هر دو گروه بعد از استفاده از خمیردندان‌ها یکسان بود؛ اما در میزان ایندکس لثه (GI)، خمیردندان پروپولیس و خمیردندان بدون پروپولیس متفاوت بودند.

نتیجه گیری: پروپولیس اثر چندانی روی میزان تجمع پلاک باکتریایی نداشت؛ اما ترکیب خوبی برای کاهش میزان التهاب لثه بود.

کلمات کلیدی: پروپولیس، پلاک دندانی، اندکس پلاک، اندکس لثه.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ۴۰ / شماره ۲ : ۷۶-۱۶۷ .

مقدمه

از نظر بالینی پلاک دندانی به عنوان یک ماده سفید یا زرد رنگ متمایل به خاکستری، قابل انعطاف و دارای ساختار مشخص تعریف می‌شود که اتصال قوی به سطوح سخت داخل دهانی، از جمله ترمیم‌های ثابت و متحرک دارد.[۱] پلاک دندانی، یک بیوفیلم از میکروارگانیسم‌ها روی سطح دندان است که نقش مهمی در گسترش پوسیدگی و بیماری پریودنتال دارد.[۲] باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت که در سطح پلاک دندانی حضور دارند می‌توانند سبب بروز التهاب لثه شوند که در صورت عدم درمان، می‌تواند منجر به Periodontitis شود.[۳] پریودونتیت شرایطی است که درآن لثه و بافت‌های نگهدارنده دندان تخریب می‌شوند. شکل مزمن ژنژیویت در بیش از ۹۰ درصد از مردم مشاهده می‌شود، که با قرمزی، تورم، خونریزی و گاه بوی بد دهان همراه است. پریودنتیت به صورت التهاب، خونریزی و قرمزی لثه بروز می‌کند که اغلب با پاکت پریودنتال همراه می‌باشد و حتی ممکن است سبب از دست رفتن دندان گردد. شدت این عارضه بستگی به میزان تجمع پلاک دندانی، نوع میکروارگانیسم و ویژگی‌های سیستم ایمنی میزبان دارد.[۴] کنترل پلاک راهی مؤثر در درمان و پیشگیری از ژنژیویت و بخش اساسی تمام روش‌های درمان و پیشگیری از بیماری‌های پریودنتال است.[۵] با وجودی که کنترل مکانیکی پلاک مطمئن‌ترین روش رعایت بهداشت دهان می‌باشد با این حال برای کنترل بیماری‌های پریودنتال، کنترل پلاک با مسواک زدن تنها کافی نیست.[۶] استفاده از مواد شیمیائی از قبیل دهان شویه‌ها، ژل و خمیردندان از اهمیت خاصی برخوردار است.[۷] از این بین استفاده از خمیردندان وسیع‌ترین روش به کار رفته در میان جوامع غربی است و در جلوگیری از تشکیل پلاک میکروبی و کاهش ژنژیویت بسیار مؤثر است.[۸] از آنجایی که پلاک دندانی عمدتاً از میکروارگانیسم‌ها تشکیل شده است وجود مواد آنتی‌میکروبیال در خمیردندان‌ها می تواند نقش مهمی در کنترل و کاهش پلاک میکروبی داشته باشد.[۶و۹]

بره موم زنبورعسل یا پروپولیس ماده‌ای مرکب از صمغ انواع درختان و گیاهان مختلف، موم، روغن‌های فرار و گرده گل است که کارگران زنبورعسل آن را در سبد گرده‌های خود جمع‌آوری می‌کنند. با استفاده از آنالیز بیوشیمیائی مشخص شده که پروپولیس از ترکیبات متنوعی نظیر الکل‌ها، آلدئیدها، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، کالکون‌ها، استرها، استون‌ها، اسیدهای چرب و ... تشکیل گردیده است، که هر کدام از این ترکیبات در صنایع داروئی ارزش بالایی دارند. بره موم ماده‌ای است که ابتدا توسط مصریان باستان شناخته شد و آن را پروپولیس نامیدند و با ایجاد تغییراتی در آن، از آن به عنوان ماده‌ای درزگیر، صیقل‌دهنده، ضدعفونی‌کننده داخل کندوها و سلول‌های مومی و مومیائی نمودن لاشه حیوانات تلف شده در داخل کندوها استفاده نمودند.[۱۰] در چند دهه اخیر تحقیقات زیادی روی خواص درمانی و داروئی بره موم انجام شده است و اثر آن به عنوان یک

ماده ضدباکتری روی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در انسان و دام نشان داده شده است و حتی در برخی موارد از آنتی بیوتیک‌های صناعی هم مؤثرتر بوده است. بره موم مصارف فراوانی داشته و به عنوان تقویت‌کننده سیستم ایمنی، بی‌حس‌کننده موضعی، ضدالتهاب، کاهش‌دهنده فشارخون و ضدالتهاب برای درمان التهاب‌های موجود در دهان، گلو و یا سر و هم چنین جهت درمان سوختگی‌ها، جوش صورت، خراش‌ها، آماس، خارش پوست، تبخال، دمل، زگیل، ضرب دیدگی و دردهایی از این قبیل می‌توان از این ماده استفاده کرد.[۱۵-۱۱]

Santo و همکارانش[۱۶] در پژوهشی، فعالیت آنتی‌باکتریال پروپولیس بر روی پریودنتوپاتوژن‌ها را بررسی کردند. نتایج حاصل بیانگر این بودند که رشد باکتری‌های مورد بررسی در غلظت ۰/۱-۰/۰۲۵ درصد پروپولیس مهار شده بود. Simone و همکاران[۱۷] نیز در مطالعه‌ای تأثیر پروپولیس در بیوفیلم استرپتوکوک موتانس و نیز پیشرفت پوسیدگی در موش نر را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که پروپولیس، میزان و شدت پوسیدگی را کاهش می‌دهد. با توجه به این که مطالعات کلینیکی کمی در خصوص کارایی این ماده در کاهش پلاک دندانی به انجام رسیده است، اهمیت مسئله موجب شد تا مطالعه‌ای در این مورد انجام شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان اثر پروپولیس بر میزان پلاک میکروبی و التهاب لثه بود که بر روی تعدادی از دانشجویان دانشکده دندانپزشکی قزوین در سال ۱۳۹۲-۱۳۹۱ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع کارآزمایی بالینی دوسوکور متقاطع، ۲×۲ (دو تیمار در دو دوره) یا AB/BA است. در این مطالعه افراد به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول در دوره اول تیمار A و در دوره دوم تیمار B را دریافت کردند. ترتیب دریافت تیمار در گروه دوم برعکس بود. بین دو دوره یک زمان استراحت یا شستشو (Washout) برای از بین رفتن اثر تیمار مربوط به دوره اول، به نام «اثر منتقل شونده» (Carryover effect)، در نظر گرفته شد. مطالعه متقاطع یک مطالعه از نوع درون عنصری (Within subject) می‌باشد که در آن اثر متغیرهای مخدوش‌گر از بین می‌رود و لذا برای مطالعات با حجم نمونه کم، بسیار مناسب است. جزئیات بیشتر و همچنین نحوه آنالیز داده‌ها (به صورت دستی و با استفاده از ماشین حساب)، توسط جهانی هاشمی[۱۸] ارایه شده است.

در این مطالعه ۲۰ نفر دانشجوی دندانپزشکی شرکت داده شد. در ابتدا تمامی دانشجویان مورد معاینه لثه قرار گرفتند و برای هر کدام در حالت Base line شاخص‌های لثه‌ای و پلاک تهیه گردید، و جرم دندان‌ها با استفاده از پیزوالکتریک (Ultrasonic scaler) برداشته شد و سپس دندان‌ها با آنگل (NSK EX-203)، رابرکپ و خمیر پروفیلاکسی (Kemdent prophylaxis paste) پالیش شدند؛ به طوری که دهان افراد به طور کامل عاری از جرم و پلاک میکروبی شد. دو نوع خمیردندان تهیه گردید که یکی از آن‌ها دارای پروپولیس ودیگری فاقد پروپولیس بود. و نحوه تهیه خمیردندان‌ها به شرح زیر می‌باشد: ابتدا پروپولیس گرفته شده از کلنی زنبورها در دمای ۴°c- نگهداری شد. ۳۰ گرم از پروپولیس قبل از شروع عصاره‌گیری با قرار دادن در شرایط خلا آب گیری و هموژنیزه شده، بدین نحو که ۳۰ گرم از پروپولیس خالص خشک به ۱۰۰cc از هر کدام از محلول‌های زیر اضافه شد. الکل خالص ۹۶ درصد و نیز مخلوطی از الکل خالص و آب مقطر که به ترتیب حاوی ۳۰ درصد، ۵۰ درصد و ۷۰ درصد اتانول بود. محلول‌ها در دمای اتاق برای ۱۰ روز

نگهداری و یک بار در روز تکان داده می‌شد. سپس عصاره اتانولی توسط فیلترهای واتمن ٤٢ فیلتر شد و محلول‌ها در دستگاه روتاری اواپریتور انتقال و پس از تبخیر الکل، ترکیب مورد نظر خالص عصاره اتانولی پروپولیس به دست آمد. مواد موجود در خمیردندان ترکیباتی نظیر کربنات کلسیم، سوربیتول، سدیم لاریل سولفات، نعناع، سدیم ساخارین، تیتانیوم اکساید را شامل می‌شوند. هر دو خمیردندان حاوی تمامی مواد فوق بودند و تنها تفاوت خمیردندان مؤثر با خمیردندان کنترل، وجود ترکیب بیولوژیک پروپولیس در خمیردندان مؤثر بود که با درصد مشخص (۱ درصد) در آن لحاظ شده بود.

به هر کدام از دانشجویان یک تیوب داده شد، و از آن‌ها خواسته شد که طبق آموزش داده شده (تکنیک Bass) مسواک بزنند. بعد از مدت ۲ هفته استفاده از خمیردندان‌ها شاخص‌های لثه و پلاک برای تمامی افراد مورد مطالعه تهیه گردید. بعد از مدت یک هفته Wash out، که در آن دانشجویان از روش‌های معمول بهداشت دهان بدون استفاده از خمیردندان مورد مطالعه استفاده می‌کردند، دوباره تمامی دانشجویان مورد معاینه لثه قرار گرفتند و شاخص‌های لثه و پلاک برای هر فرد تهیه شد و اگر نیاز بود برای افرادی که جرم داشتند جرم گیری و تسطیح ریشه انجام گرفت تا شرایط استفاده از هر دو نوع خمیر دندان یکسان باشد بعد خمیردندان‌های نوع دیگر به آن‌ها داده شدند و دوباره بعد از ۲ هفته استفاده از خمیردندان‌های نوع دوم، برای تمامی افراد اندکس‌های لثه‌ای و پلاک تهیه گردید. برای ارزیابی میزان پلاک دندانی و التهاب لثه از شاخص لثه Loe and Sillness و شاخص پلاک Sillness and Loe استفاده شد که به شرح زیر انجام شد.

در Plaque Index (PI) میزان تجمع پلاک میکروبیال در مجاورت شیار لثه با اعداد زیر مشخص گردید، در این شاخص از یک پروب پریودنتال و آینه برای معاینه استفاده شد.

شاخص صفر: زمانی که هیچ گونه پلاک میکروبی در مجاورت شیار لثه وجود نداشت و با پروب پریودنتال هم پلاک برداشته نمی‌شد.

شاخص یک: زمانی که با چشم غیرمسلح، پلاک میکروبیال مشاهده نمی‌شد، اما با کشیدن پروب در مجاورت شیار لثه پلاک جمع آوری شد.

شاخص دو: با چشم غیرمسلح پلاک در مجاورت لثه دیده شد.

شاخص سه: با چشم غیرمسلح پلاک میکروبیال در ۱/۳ سطح سرویکال دندان مشخص می‌باشد.

Gingival Index (GI): در این شاخص میزان التهاب، تغییر رنگ لثه و خونریزی از لثه با اعداد ۳-۰ مشخص گردید. برای مشخص نمودن میزان خونریزی، پروب پریودنتال در چهار نقطه از سطح دندان (مزیوفاسیال، میدفاسیال، دیستوفاسیال و لینگوال) کشیده شد. شاخص‌های بررسی لثه به شرح زیر بود.[۱۸]

شاخص صفر: لثه نرمال

شاخص یک: التهاب اندک، تغییر رنگ اندک لثه، ادم اندک، عدم خونریزی از لثه حین پروب کردن

شاخص دو: التهاب متوسط، قرمزی و ادم لثه، خونریزی از لثه حین پروب کردن

شاخص سه: التهاب شدید، قرمزی و ادم، وجود زخم، خونریزی خود به خود لثه

تمامی معاینات لثه‌ای توسط یک نفر دانشجوی دندانپزشکی که برای این کار آموزش کافی دیده بود با نظارت متخصص جراحی لثه (عضو هیئت علمی دانشگاه)

به انجام رسید. خمیردندان‌های همانندسازی شده توسط فرد دیگری در اختیار بیماران قرار داده می‌شد و بنابراین بیمار و فرد درمان گرنسبت به نوع خمیردندان مورد استفاده ناآگاه بود (Double blind).

داده‌های به دست آمده در مورد هر فرد از روی دندان‌های مختلف جمع زده شد و بر تعداد سطوح دندان‌ها تقسیم گردید تا شاخص مورد نظر به دست آمد. سپس تمامی اطلاعات به دست آمده از افراد جهت آنالیزهای آماری مورد استفاده قرار گرفتند.

برای ارزیابی نرمالیتی داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنف (Kolmogorov-Smirnov)، استفاده شد. برای مقایسه نتایج قبل (Baseline) و بعد از تیمار، در هر «گروه-دوره»، از آزمون تی زوجی (Paired *t*-test) استفاده شد. $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. تحلیل داده‌ها در این بخش توسط نرم افزار SPSS انجام شد.

در آنالیز نهایی داده‌های متقاطع AB/BA سه فرضیه «عدم وجود اثر منتقل شونده»، «یکسان بودن اثر دو تیمار» و «یکسان بودن اثر دو دوره» آزمون شدند. تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS انجام شده است. یادآور می‌شود برای استفاده از این نرم افزار داده‌ها به صورتی که برای تحلیل مطالعات متقاطع مناسب باشد طراحی گردید.

آزمون های مورد نیاز توسط آزمون *t* انجام شد. در همه آزمون ها سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰ نفر شرکت داشتند که به دو گروه ۱۰ نفره تقسیم شدند. گروه اول (AB) و گروه دوم (BA)، که تیمار A و B به ترتیب عبارت بودند از خمیر دندان دارای پروپولیس و خمیردندان بدون پروپولیس بود. یک نفر از گروه دوم به دلیل عدم استفاده از خمیردندان و مراجعه در زمان مقرر، از مطالعه خارج شد.

نتایج آزمون مربوط به تبعیت مقادیر قبل از تیمار (Baseline) و داده‌ها، در چهار «گروه- دوره»، از توزیع نرمال در جداول ۱ و ۲ ارایه شده‌اند که بیانگر پذیرش فرض نرمالیتی در تمامی موارد می‌باشد. نتایج مربوط به آزمون *t* زوجی برای PI در جدول ۳ و برای GI در جدول ٤ ارایه شده‌اند. نتایج مربوط به آنالیز نهایی در جدول ۵ ارایه شده‌اند. با توجه به اینکه فرضیه اول، در آنالیز نهایی، در هر دو مورد PI و GI رد نمی‌شود، می‌توان از نتایج دو آزمون دیگر استفاده کرد. فرضیه یکسان بودن اثر دو دوره مربوط به PI رد می‌شود، یعنی اینکه در کدام دوره، چه تیماری داده شده حائز اهمیت می‌باشد. در واقع مقادیر (۰/۲٤۷ و ۰/۲۲۱)، مربوط به دوره اول، اختلاف معنی‌داری با مقادیر (۰/۰۷۸ و ۰/۱۲۹)، مربوط به دوره دوم، دارند. ولی نوع خمیردندان روی PI و GI اثر معنی‌داری نداشت.

جدول ۱ : نتایج آزمون نرمالیتی مقادیر قبل از تیمار*

گروه- دوره	شاخص	*P*-value
گروه اول- دوره اول	PI	۰/۹۸۳
تیمار A (خمیردندان پروپولیس)	GI	۰/۹۹۸
گروه اول- دوره دوم	PI	۰/۹۷۹
تیمار B (خمیردندان بدون پروپولیس)	GI	۰/۹۸۷
گروه دوم- دوره اول	PI	۰/۹۸۳
تیمار B (خمیردندان بدون پروپولیس)	GI	۰/۹۷۸
گروه دوم- دوره دوم	PI	۰/۹٤٥
تیمار A (خمیردندان پروپولیس)	GI	۰/۵۷۷

*: Baseline

جدول ۲ : نتایج آزمون نرمالیتی داده‌ها

گروه- دوره	شاخص	*P*-value
گروه اول- دوره اول	PI	۰/۹۰۸
تیمار A	GI	۰/۹٦٦
گروه اول- دوره دوم	PI	۰/۷۰۸
تیمار B	GI	۰/۹۲۷
گروه دوم- دوره اول	PI	۰/۹٤۱
تیمار B	GI	۰/۹۱٥
گروه دوم- دوره دوم	PI	۰/۸۲۰
تیمار A	GI	۰/۹٦۰

تیمار A: خمیردندان پروپولیس – تیمار B: خمیردندان بدون پروپولیس

جدول ۳ : میانگین و انحراف معیار شاخص پلاک (PI)، قبل و بعد از تیمار، در چهار "دوره- گروه"

گروه اول (AB)(پروپولیس-بدون پروپولیس)		گروه دوم (BA)(بدون پروپولیس- پروپولیس)	
دوره اول A		دوره دومB	
قبل از تیمار*	بعد از تیمار	قبل از تیمار	بعد از تیمار
۰/٦٦۲±۰/۳۳	۰/۲٤۷±۰/۱٤	۰/٤۳۹±۰/۱۸	۰/۰۷۸±۰/۰۸
P-value=۰/۰۱		*P*-value<۰/۰۰۱	
دوره اول B		دوره دوم A	
قبل از تیمار	بعد از تیمار	قبل از تیمار	بعد از تیمار
۰/۵۲۱±۰/۲۱	۰/۲۲۱±۰/۱٤	۰/٤٥۹±۰/۲۱	۰/۱۲۹±۰/۱۲
P-value=۰/۰۰۳		*P*-value=۰/۰۰٦	

جدول ٤ : میانگین و انحراف معیار شاخص لثه (GI) قبل و بعد از تیمار، در چهار "دوره- گروه"

گروه اول (AB)(پروپولیس-بدون پروپولیس)				گروه دوم (BA)(بدون پروپولیس- پروپولیس)			
دوره اول A		دوره دومB		دوره اول B		دوره دوم A	
قبل از تیمار*	بعد از تیمار	قبل از تیمار	بعد از تیمار	قبل از تیمار	بعد از تیمار	قبل از تیمار	بعد از تیمار
۰/۵۱٤±۰/۲	۰/۱۱۲±۰/۰۸	۰/۵۵۱±۰/۲۵	۰/۱۸۷±۰/۱۵	۰/۳۹۷±۰/۱۹	۰/۱۹۰±۰/۲	۰/۳۹۳±۰/۲	۰/۱۱٦±۰/۱
P-value=۰/۰۰۰		*P*-value=۰/۰۰۲		*P*-value=۰/۰۸۳		*P*-value=۰/۰۰٤	

*: Baseline

جدول ۵ : نتایج سه آزمون فرضیه مربوط به داده‌های متقاطع در آنالیز نهایی

فرضیه مورد آزمون	شاخص	t محاسباتی	درجه آزادی	*P*-value
عدم وجود اثر منتقل شونده	PI	-۰/۲۹٦	۱۷	۰/۷۷۱
	GI	-۰/۰۵۸	۱۷	۰/۹۵٤
یکسان بودن اثر دو تیمار	PI	۱/۰۹۸	۱۷	۰/۲۸۸
	GI	-۲/۰۳٦	۱۷	۰/۰۵۸*
یکسان بودن اثر دو دوره	PI	۳/۷۱۰	۱۷	۰/۰۰۲
	GI	-۰/۰۰۳	۱۷	۰/۹۹۸

P<۰/۰۵

بحث

مشابه این مطالعه محصولات طبیعی مثل پروپولیس با توجه به طیف وسیع خواص بیولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. نتایج تحقیق‌ها روی این عصاره طبیعی می‌تواند به شناسایی اثرات بیولوژیکی جدید و مؤثر منجر شود. عصاره پروپولیس به خاطر خواص فارماکولوژیکی وسیع مثل ممانعت از پیشرفت بیماری‌های دهان مورد بررسی قرار گرفته است. فلاونوئیدها به عنوان ترکیب اصلی ومؤثر این عصاره شناخته شده‌اند. این مطالعه به منظور بررسی میزان اثر پروپولیس بر روی تجمع پلاک باکتریایی و میزان التهاب لثه صورت گرفت که نتایج حاکی از آن بود: که اثر هر دو خمیردندان بر میزان PI یکسان بوده است و خمیردندان پروپولیس بر خمیردندان بدون پروپولیس برتری نداشته است علت می‌تواند حضور عوامل مداخله گر در حفره دهان باشد، و یک تیمار برای موثر بودن در حفره دهان باید تا چندین برابر غلظت آن افزایش یابد.

اما در میزان GI خمیردندان دارای پروپولیس نسبت به خمیردندان بدون پروپولیس موثر بود.

در مورد اثر دوره هم در هر دو گروه در دوره دوم شرایط بهتر شده بود، با توجه به اینکه نشان داده شد که دوره Wash out به طور موثر اثر تیمار اول را حذف کرده است، علت این تفاوت می‌تواند به دلیل این باشد که بیماران در دوره دوم با دقت بیشتری مسواک می‌زدند.

در این مطالعه به دلیل حضور عوامل مداخله گر بسیاری که در محیط دهان حضور دارند تصمیم گرفته شد

تا هر فرد کنترل خود باشد تا خطای فردی در استفاده از خمیردندان‌ها به حداقل برسد؛ به این ترتیب نتایج حاصل از اندازگیری شاخص‌ها معتبر بودند.

تحقیقات بسیار زیادی در خصوص اثرات آنتی‌باکتریال پروپولیس صورت گرفته است؛ اما این مطالعات بیشتر به صورت *in vitro* می باشند و مطالعات *in vivo* بسیار اندک می‌باشند.

Santos و همکارانش[۲۰] در یک مطالعه آزمایشگاهی حساسیت پورفیرومونas ژنژیوالیس، پروتلانیگرسنس و پروتلا اینترمدیا را نسبت به پروپولیس و آنتی بیوتیک‌های دیگر بررسی کردند. این تحقیق نشان داد که تمام باکتری‌های مورد بررسی به غلظت ٦٤-۲٥٦mg/ml پروپولیس حساس بودند. Kooa و همکارانش[۲۱] در یک کار آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی پروپولیس و Arnica montana را علیه پاتوژن‌های دهان مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها اثر این دو ماده را روی تعدادی از باکتری‌های پاتوژن دهان ارزیابی کردند، بر اساس مطالعه آن‌ها پروپولیس دارای اثرات آنتی باکتریال قوی می‌باشد در حالی که Arnica Montana اثرات آنتی باکتریال چندانی ندارد.

Koru و همکاران[۲۲] تحقیقی را انجام دادند که در آن اثرات ضدمیکروبی نمونه‌های مختلف پروپولیس از چهار ناحیه جغرافیایی مختلف ترکیه و نیز پروپولیس برزیلی بر پاتوژن‌های دهان به صورت آزمایشگاهی بررسی کردند. این محققان نشان دادند که تمامی ۹ نمونه باکتری بی‌هوازی به پروپولیس حساس بودند، در عین حال پروپولیس ناحیه Kazan در آنکارا نسبت به بقیه موارد، MIC بالاتری را نشان داد.

در مطالعه دیگری که روی ۳۱ خمیردندان گیاهی موجود در بازار چین صورت گرفت، بهترین عملکرد در کاهش پلاک و حفاظت از دندان در فراورده‌های حاوی جین سینگ و عصاره گیاه Pinus tabulae formis مشاهده گردید.[۲۳] نتایج حاصل از این مطالعات با مطالعه ما مغایر بوده است، درست است که باکتری‌های فوق از جمله مهم‌ترین باکتری‌های مؤثر در بیماری‌های پریودنتال می‌باشند، اما زمانی که این باکتری‌ها در بیوفیلم و در محیط دهان حضور دارند میزان غلظت ماده آنتی میکروبیال مؤثر بر روی آن‌ها ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ برابر هم نسبت به زمانی که به تنهایی مورد آزمایش قرار می‌گیرند می‌تواند افزایش یابد. علاوه بر این در محیط دهان عوامل مداخله گر بسیار زیادی وجود دارند.[۲٤] Susan و همکارانش[۲٥] در پژوهشی اثر ماده ضدالتهابی پروپولیس را بر روی ترمیم زخم در جوندگانی که دیابت داشتند را بررسی کردند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها نشان داد که پروپولیس بهبود زخم در دیابت را تسریع می‌کند.

Machado و همکارانش[۲٦] اثرات ضدالتهابی پروپولیس سبز برزیلی را بررسی کردند. نتایج حاصل بیانگر این بود که عصاره پروپولیس دارای خاصیت ضدالتهابی می‌باشد و فعالیت پیش التهابی سایتوکین‌ها را کاهش می‌دهد.

Mossalayi و همکارانش[۲۷] نقش ترکیبات فنولی و پروپولیس، بر آزادسازی مدیاتورهای التهابی و نقش آن‌ها بر آرتریت را در مدل‌های مختلف *in vivo* و *in vitro* بررسی کردند. نتایج بیانگر آن بود که این ترکیبات آزادسازی مدیاتورهای التهابی از لکوسیت‌های انسانی را کاهش می‌دهد و نتایج داده‌های *in vitro* بیانگر کاهش آرتریت بودند. نتایج مطالعات فوق با نتایج این مطالعه در توافق بود چرا که در گروه استفاده کننده از پروپولیس التهاب و خونریزی لثه کم شده بود که این بیانگر اثرات ضدالتهابی پروپولیس می‌باشد. در توافق با نتایج فوق، این مطالعه نیز نشان داد که پروپولیس میزان التهاب و

خونریزی از لثه را کاهش می‌دهد.

Sonmez و همکاران[۲۸] در مطالعه‌ای اثر آنتی باکتریال پروپولیس روی میکروارگانیسم‌های پاتوژن دهان و سمیت آن روی فیبروبلاست‌های لثه را بررسی کردند. آنها با ارزیابی ترکیبات مختلف پروپولیس به این نتیجه رسیدند که پروپولیس دارای اثرات ضدمیکروبی قوی است و هیچ گونه سمیتی بر روی فیبروبلاست‌های لثه ندارد.

نتیجه گیری

پروپولیس اثر چندانی روی میزان تجمع پلاک باکتریایی ندارد اما ترکیب خوبی برای کاهش میزان التهاب لثه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی مرکز رشد و فناوری زیستی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام گرفته است که از همکاران این مرکز تقدیر می‌گردد همچنین بدینوسیله از خانم باجلان، پرستار بخش پریو دانشکده دندانپزشکی قزوین قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Bowen CM.Nature of plaque, Oral Sci Rev 1976; 9: 3-21.
2. Marsh PD. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. J Dent Res1992; 71(7): 1431-8.
3. Fischman S L. The history of oral hygiene products: How far have we come in 6000 years?" Periodontol 2000; 15: 7-14.
4. Simon H. Periodontal Disease. USA Cynthiachevins Pub 2002; 5(3): 1-5.
5. Sheen S, Pontefrant H, Moran J. The benefits of toothpaste- real or imagined? The effectiveness of toothpaste in the control of plaque, gingivitis, periodontitis, calculus and oral malodur. Dent Update 2001; 28(3): 144-7.
6. Dorothy A. Plaque control for the periodontal patient. In: Caranza F, Newman M, Takei H. Clinical Peridontology. 10th ed. Elsevier Philadelphia; 2006. P. 732-3.
7. Mengel R, Wising E, Schmit- Habben A. Comparative study of plaque and gingivitis prevention by AmF/SnF2 and NaF. A clinical and microbiological 9- month study. J Clin Periodontol 1996; 23(4): 372-8.
8. Lacono VJ, Aldredge WA, Lucks H. Modern supragingival plaque control. Int Dent 1998; 48(3): 290-7.
9. Binney A, Addy M, Mckeown S. The effect of commercially available triclosan-containing toothpaste compared to a sodium- fluoride-containing toothpaste and a chlorhexidine rinse on 4-day plaque regrowth. J Clin Periodontol 1995; 22(11): 830-4.
10. Santos FA, Bastos EM, Uzeda M, Carvalho MA, Farias LM, Moreria ES, et al. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fraction against oral anaerobic bacteria. J Ethnopharm 2002; 80(1): 1-7.
11. Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F, Cormier M. Comparison of the anti-Herpes simplex virus activities of propolis. 3-methyl-but-2-enyl caffeat J Prod 1994; 57(5): 644-50.
12. Dimov V, Ivanovska N, Manolova N, Bankova V, Nikolov N, Popov S. Immunomodulatory action of propolis and influence on anti-infectious protection and macrophage function. J Apidologie 1991; 22(5): 155-62.
13. Miyatak H, Nishiki M, Matsumoto H , Fujimoto T, Matsuka M, Satoh T. Evaluation of propolis.1. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. J Biol Pharm Bull 1997; 20(5): 496-501.
14. Murad JM, Calvi SA, Soares AM, Bankova V, Sforcin JM. Effect of propolis from Brazil and Bulgari on fungucidal activity of macrophage against Paracoccidioides brasiliensis. J Ethnopharm 2002; 79(3): 331-4.
15. Velikova M, Bankova V, Tsvetkova I , Kujumgiev A, Marcucci MC. Antibacterial entkaurene from Brazilian propolis of native stingless bees. J Fitotrapia 2000; 71(6): 690.
16. Santo FA, Bastos E, Carvalho MAR, Farias LM, Moreira ESA. Antibacterial activity of propolis produced in Brazil against actinobacillus actinomycetemcomitans, fusobacterium spp, and Bacteria from the Bacteroides fragilis group isolated from human and marmoset hosts. Anaerobe 1999; 5(3): 479-81.

17. Simone D, Pedrol R, Mitsue F. The influence of a novel propolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. Arch Oral Biol 2006; 51(1): 15-2.
18. Hassan JH, Anoshirvan KN. Use of cross over plans 2×2 in clinical trial. Andisheh Amari 2001; 6(2): 13-20.
19. James D, Samuel J. Epidemiology of gingival and periodontal diseases. In: Caranza F, Newman M, Takei H. Clinical Periodontology. 10th ed. Elsevier Philadelphia; 2006. P. 115-20.
20. Santos F, Margarida A, Paulo R, Milton U, Maria A, Luiz F, et al. Susceptibility of Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens and Porphyromonas gingivalis to Propolis (Bee Glue) and other antimicrobial agents. Anaerobe 2002; 8(1): 9-15.
21. Kooa H, Gomesa BP, Rosalena PL, Ambrosanoa GMB, Parkb YK, Curya JA. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and Arnica Montana against oral pathogens. Arch Oral Biol 2000; 45(2): 141-8.
22. Koru O, Toksoy F, Acikel Ch, Tunka Ym, Baysallar M. *In vitro* antimicrobial activity of Propolis samples from different geographical origin against certain oral pathogens. Anaerobe 2007; 13(3): 140-5.
23. Wu-Yuan CD, Green L, Birch Wx. *In vitro* screening of Chinese medical toothpaste: Their effect on growth and plaque formation of mutans streptococci. Caries Res 1990; 24(4): 198-202.
24. David L, Sebastian C. Chemotherapeutic agents. In: Caranza F, Newman M, Takei H. Clinical Period ontology, 10th ed. Elsevier Philadelphia; 2006. P. 768-805.
25. Susan V, James Bonner, Stephen Milne, BMedSci2, Lisa Lo, Ana Charlton, Savita Kurup, Junhong Jia, Dennis K Yue, Stephen M. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. Wound Rep Reg 2008; 16(5): 706-13.
26. Machado JL, Assunção AK, da Silva MC, Dos Reis AS, Costa GC, Arruda Dde S, Rocha BA, Vaz MM, Paes AM, Guerra RN, Berretta AA, do Nascimento FR. Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012; 70(3):10 pages.
27. Mossalayi MD, Rambert J, Renouf E, Micouleau M, Mérillon JM. Grape polyphenols and propolis mixture inhibits inflammatory mediator release from human leukocytes and reduces clinical scores in experimental arthritis. Phytomedicine. 2013; 21(3): 290-7.
28. Sule S, Levent K, Mine Y, Banu Y, Berna Y. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblast. J Ethno Pharmacol 2005; 102(3): 371-6.

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی دهانشویه ماتریکا و کلرهگزیدین با هیپوکلریت سدیم بر انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکنس

محمد مهدی یاقوتی خراسانی*#، امامداد دهنوی**

* استادیار گروه اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

** دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۷/۸ – تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۰/۳۰

A Antimicrobial Effects of Matrica® and Chlorehexidine Mouthwashes Compared with Sodium Hypochlorite on Enterococcus Faecalis and Candida Albicans: An *In Vitro* Study

Mohammadmahdi Yaghooti Khorasani*#, Emdad Dehnavi**

** Assistant Professor, Dept Of Endodontics, School of Dentistry, Rafsanjan University Of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

*** Dentist, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*

Received: 30 September 2015 ; Accepted: 20 January 2016

Introduction: Bacteria and their products have an important role in root treatment failure and their continued presence in seemingly well-filled canals, cause disturbances in healing process after the treatment. Thus the use of proper disinfectants for mechanical cleaning of canals has a great importance. Nowadays, scientists are seeking better alternatives with greater efficiency and less toxic effect for common chemical disinfectants. Therefore, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial effects of Matrica and Chlorhexidine compared to Sodium hypochlorite on Enterococcus faecalis and Candida albicans in the laboratory conditions.

Materials & Methods: In this *in vitro* study, Candida albicans and Enterococcus faecalis microorganisms were cultured with Kirby Bauer method on Mueller Hinton agar medium. Then paper disks impregnated with Matrica (pure and 50%), chlorhexidine (0.2% and 0.1%) and sodium hypochlorite 1% were placed on the medium. Forty-eight hours later, the zone of growth inhibition was measured in terms of millimeters. Data were analyzed by SPSS-18 software using ANOVA and TUKEY statistical tests.

Results: According to the findings of this study, the highest mean diameter of inhibition zone of bacteria Enterococcus faecalis and Candida albicans, was for sodium hypochlorite 1% followed by chlorhexidine 0.2%, chlorhexidine 0.1%, pure Matrica and Matrica 50%, respectively (P<0.000).

Conclusion: Considering the results of this study, it seems that the antimicrobial effect of herbal composition of Matrica is not as efficient as sodium hypochlorite and chlorhexidine.

Key words: Matrica, chlorhexidine, sodium hypochlorite, enterococcus faecalis, candida albicans.

 # Corresponding Author: m_yaghooti@rums.ac.ir, m.yaghooti@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 177-86 .

چکیده

مقدمه: باکتری‌ها و مواد تولیدی آن‌ها نقش اساسی در شکست درمان‌های ریشه دارند و حضور پایدارشان در کانال‌هایی که به ظاهر خوب پرشده‌اند، موجب اختلال در روند ترمیمی پس از درمان می‌شود. بنابراین استفاده از مواد ضدعفونی کننده مناسب جهت پاک‌سازی مکانیکی کانال از اهمیت به سزایی برخوردار است. هدف ما در این مطالعه بررسی اثرات ضدمیکروبی ماتریکا و کلرهگزیدین در مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکنس و انتروکوکوس فکالیس طبق روش کربی بائر به‌طور سطحی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس دیسک‌های کاغذی آغشته به ماتریکا (خالص و ۵۰ درصد)، کلرهگزیدین (۰/۲ درصد و ۰/۱ درصد) و هیپوکلریت سدیم ۱ درصد بر روی محیط کشت قرار گرفتند. ۴۸ ساعت بعد قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۸ و با آزمون‌های آماری ANOVA و Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

مولف مسؤول، نشانی: رفسنجان، بلوار شهید مفتح غربی، دانشکده دندانپزشکی، گروه اندودانتیکس، تلفن: ۰۹۱۳۳۹۳۳۳۵۳

E-mail: m_yaghooti@rums.ac.ir, m.yaghooti@yahoo.com

یافته‌ها: طبق یافته‌های این مطالعه، بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱ درصد، کلرهگزیدین ۰/۲ درصد، کلرهگزیدین ۰/۱ درصد، ماتریکا خالص و ماتریکا ۵۰ درصد بود. ($P<۰/۰۰۰$)

نتیجه‌گیری: باتوجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که ترکیب گیاهی ماتریکا در زمینه حذف این میکروب‌ها به میزان کافی قابل رقابت با هیپوکلریت سدیم وکلرهگزیدین نمی‌باشد.

کلمات کلیدی: ماتریکا، کلرهگزیدین، هیپوکلریت سدیم، انتروکوکوس فکالیس، کاندیدا آلبیکنس.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ۴۰ / شماره ۲ : ۸۶-۱۷۷ .

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های شگرف در حیطه اندودنتیکس، مطالعات نشان داده‌اند که حتی با انجام تکنیک‌های پاک‌سازی کانال، میزان موفقیت در حذف عوامل میکروبی کانال ریشه تنها ۵۰ درصد است. این درصد در موارد درمان‌های مجدد و دندان‌های با ضایعات پری‌رادیکولار پایدار بالاتر نیز می‌باشد. اگرچه بسیاری از این شکست‌ها به خاطر مشکلات تکنیکی حین کار بوده ولی گاهی حتی در دندان‌هایی که به نظر خوب درمان شده‌اند نیز با عدم موفقیت روبه‌رو هستیم. باکتری‌ها نقش اساسی در شروع و پیشرفت بیماری‌های پری‌رادیکولار دارند، بنابراین حضور آن‌ها به همراه محصولاتشان در کانال‌های ریشه‌ای که به ظاهر خوب درمان شده‌اند، می‌تواند موجب اختلال در روندهای ترمیمی پس از درمان شود.[۱]

هدف اصلی درمان‌های اندودنتیک، حذف کامل یا به حداقل رساندن تحریکات میکروبی که یکی از مهم‌ترین عوامل آسیب‌رسان به بافت پالپ دندان هستند، می‌باشد.[۲] شایع‌ترین علت ایجاد ضایعات پری آپیکال مقاوم به درمان، عفونت‌های داخل کانالی است،[۳و۴] که اغلب به دلیل وجود باکتری‌های مقاوم به فعالیت‌های ضدباکتریایی داخل کانالی همانند انتروکوکوس فکالیس رخ می‌دهند.[۳-۵]

انتروکوک‌ها گونه‌ای از کوکسی‌های گرم مثبت هوازی-بی‌هوازی اختیاری هستند.[۳] انتروکوکوس‌فکالیس یکی از شایع‌ترین گونه‌هایی است که پس از درمان ریشه جدا شده است.[۳-۵] این باکتری به‌دلیل داشتن توانایی تهاجم به توبول‌های عاجی، می‌تواند از فعالیت ابزارها و مواد شستشودهنده‌ی اندودنتیکس فرار کند.[۵و۶] برخلاف گونه‌های مولد بیماری‌های اولیه کانال ریشه، انتروکوکوس‌فکالیس می‌تواند در عفونت‌های تک‌گونه‌ای نیز کلونیزه شود، بنابراین به مواد غذایی تولیدی سایر گونه‌های باکتریایی نیاز ندارد.[۴و۵]

کاندیدیازیس شایع‌ترین عفونت قارچی دهان است که توسط قارچ کاندیدا ایجاد می‌شود. از طرفی در دو دهه اخیر گونه‌های کاندیدا به عنوان عوامل موثر در عفونت‌های اندودنتیکس مورد توجه قرار گرفته و قارچ‌ها در عفونت‌های اندودنتیکس اولیه و مقاوم به درمان مشاهده شده‌اند.[۷و۸] در عفونت‌های پایدار کانال ریشه حضور قارچ‌ها در ۷ درصد موارد گزارش شده که در بین آنها کاندیدا آلبیکنس شایع‌ترین نمونه قارچی جداشده بوده است.[۲] دهانشویه‌های معمول از جمله پرسیکا قادر به از بین بردن این قارچ نیستند. همچنین شرایط خاص هر فرد همانند سن، جنسیت، نحوه و نوع مصرف مواد غذایی و بهداشت دهان و دندان بر میزان تجمع و رشد قارچ تاثیر می‌گذارد.[۷و۹]

هیپوکلریت سدیم به دلیل خاصیت آنتی‌باکتریال بالا و قدرت حل‌کنندگی بافت پالپ یکی از موثرترین مواد مورد استفاده جهت شستشوی کانال دندان می‌باشد.[۱۰و۱۱]

در دو مطالعه درون تنی نشان داده شد محلول ۲/۵ درصد هیپوکلریت سدیم در کاهش تعداد باکتری‌های کانال ریشه بسیار موثر می‌باشد.[۱۲و۱۳] البته این ماده معایبی نیز دارد از جمله بوی بد، خوردگی و تغییر رنگ وسایل و سمیت بافتی، ماندگاری کم در کانال ریشه، همچنین تنفس بخار هیپوکلریت سدیم و کلر آزاد شده از آن باعث سرفه و تحریک شدید دستگاه تنفس می گردد.[٤] از سوی دیگر این ماده توانایی نفوذ به عاج را ندارد و کانال‌های کوچک و بی نظمی‌های کانال توسط آن به خوبی شسته نمی‌شوند.[١٤] درنتیجه سال‌هاست که محققین در تلاش برای پیدا کردن جایگزین بهتری برای آن هستند.

کلرهگزیدین یکی از پرمصرف‌ترین محلول‌های ضدمیکروبی دهانی می‌باشد و به علت قدرت ضدمیکروبی مناسب، دوام اثر نسبتاً طولانی و نداشتن سمیت، به عنوان یک استاندارد طلایی کنترل پلاک جهت مقایسه با سایر مواد ضدپلاک معرفی شده است. البته کلرهگزیدین دارای عوارض گوناگونی همچون تغییر رنگ دندان‌ها، تغییر رنگ ترمیم‌های هم‌رنگ دندان، تغییر حس چشایی، سوزش و خشکی دهان، پوسته پوسته شدن لثه و اثرات سیستمیک منفی در صورت بلع است.[۱۵-۱۷]

دهانشویه گیاهی ماتریکا با نام تجاری کامی سل، یکی از دهانشویه‌های گیاهی ساخت داخل کشور و محصول شرکت دارویی باریج اسانس است که در کشور آلمان استفاده از آن در بیماری‌های پوستی و دهان به رسمیت شناخته شده است. ماده اصلی این دهانشویه شیره گیاه بابونه است که رشد میکروب‌ها را دچار وقفه می‌سازد.[۱۸] ترکیبات Azulen اسانس حاصل از کاپیتول‌های گیاه بابونه حاوی ماده فلاونوئیدی شامل آپیزنین، لوتئولین وکوئرستین است.[۱۹و۲۰]

اگرچه چندین تحقیق در رابطه با اثرات ضدمیکروبی دهانشویه گیاهی ماتریکا انجام شده است، ولی به علت وجود نتایج متفاوت و متناقض لزوم انجام مطالعات بیشتر به صورت درون‌تنی و برون‌تنی محسوس می‌باشد. از طرفی به دلیل اینکه در استفاده بالینی از داروهای شستشودهنده کانال، ماده‌ای که دارای سمیّت کمتر و کارآیی بیشتر باشد مطلوب‌تر است، لذا هدف ما در این مطالعه بررسی اثرات ضدمیکروبی ماتریکا و کلرهگزیدین در مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی، از میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلبیکنس (با کد شناسایی ۵۰۲۷) (PTCC) و انتروکوکوس فکالیس (با کد شناسایی ۱۳۹۳) (PTCC) استفاده شد که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC) تهیه گردید. ویال‌های این میکروب‌های لیوفلیزه که به صورت پودرهای فشرده شده هستند، ابتدا در کنار شعله همراه با ماسک و دستکش با قلم الماس بریده شد. در شرایط کاملاً استریل از محیط کشت Tryptic Soy Broth (MerkKGaA, Darmstadt, Germany) توسط سرنگ استریل برداشته شد و به داخل ویال شکسته شده تزریق گردید و بعد از مخلوط کردن کامل با میکروارگانیسم پودر مانند به صورت کاملاً هموژن درآمد و جهت تکثیر اولیه داخل لوله حاوی محیط Tryptic Soy Broth (MerkKGaA)، کشت داده شد. سپس به مدت ٤٨ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و از محیط مایع Tryptic Soy Broth (MerkKGaA) توسط لوپ برداشته و بر روی محیط کشت Muler Hinton Agar (MerkKGaA) برای داشتن کلنی ایزوله (تک) کشت داده شد. محیط کشت‌ها به مدت ٤٨

ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید تا کاملاً کلنی‌ها مشخص و واضح گردد. این کلنی‌ها توسط لوپ برداشته شده و به داخل لوله حاوی ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل منتقل و کاملاً هم زده شد و سپس براساس روش کربی بائر کدورتی از میکروارگانیسم خالص به میزان نیم واحد مک فارلند (مخلوطی از اسید سولفوریک و کلروربااریوم که کدورتی برابر با $۱/۵\times۱۰^{۸}$ میکروارگانیسم در میلی لیتر ایجاد کرده و برای به کار بردن تعداد معینی باکتری در آزمایش استفاده می‌شود.) ایجاد شد. از این تعلیق میکروبی توسط سوآپ استریل برداشته شد. سپس سوآپ در سطح پلیت Muler Hinton Agar (MerkKGaA) به روش Spread plate کشت داده شد به طوری که تمام سطح محیط آغشته به باکتری شود. یک ساعت در دمای اتاق گذاشته تا مایع جذب محیط جامد شود. مقادیری با غلظت‌های مشخص از کلرهگزیدین ۰/۲ درصد (شرکت داروسازی شهر دارو، تهران، ایران)، کلرهگزیدین ۰/۱ درصد، هیپوکلریت سدیم ۱ درصد (شرکت کیمیا، تهران، ایران) و ماتریکا (شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان، ایران) با غلظت کارخانه (خالص) و ماتریکا رقیق شده به میزان ۵۰ درصد، تهیه گردید. دیسک‌های کاغذی (بلانک) (پادتن طب، تهران، ایران) با ٤۰ میکروگرم از هرکدام از داروها آغشته شده و به مدت دو ساعت در فور با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد تا کاملا خشک گردید. سپس هرکدام از دیسک‌ها با پنس استریل بر سطح محیط جامد حاوی باکتری قرار داده شد و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردید تا میکروب‌ها به رشد کامل برسند. در نهایت قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر به وسیله کولیس (Mitoyo, Kioto, Japan) با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شده و سپس نتایج در چک لیست پیوست ثبت گردید. در مجموع برای انتروکوکوس فکالیس ۵ پلیت و در هر پلیت ۵ دیسک و برای کاندیدا آلبیکنس نیز ۵ پلیت و در هر پلیت ۵ دیسک قرار داده شد. علاوه بر این یک دیسک آغشته به تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت برای انتروکوکوس فکالیس و یک دیسک آغشته به نیستاتین به عنوان کنترل مثبت برای کاندیدا آلبیکنس و دو دیسک بلانک به عنوان کنترل منفی برای هر دو نوع میکروارگانیسم استفاده شد.

قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به مواد که شامل غلظت‌های مختلف ماتریکا (غلظت کارخانه و ۵۰ درصد)، کلرهگزیدین (۰/۲ درصد، ۰/۱ درصد) و هیپوکلریت سدیم ۱ درصد بودند به دقت بوسیله کولیس و در زیر نور چراغ مطالعه اندازه‌گیری شد.

داده‌ها پس از جمع‌آوری توسط نرم‌افزار SPSS با ویرایش ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین قطر منطقه مهار رشد باکتری از آزمون آماری ANOVA استفاده شد. از آزمون آماری Tukey نیز به منظور تعیین اختلاف میانگین قطر منطقه مهار رشد باکتری در غلظت‌های مختلف گروه‌های تحت مطالعه استفاده گردید. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و کمترین میانگین مربوط به ماتریکا ۵۰ درصد بود. آزمون ANOVA اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های مختلف و محلول‌های مورد بررسی با منطقه مهار رشد باکتری نشان داد. (P=۰/۰۰۱)

در مقایسه دو به دوی گروه‌ها، طبق آزمون آماری Tukey بیشترین اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد

باکتری انتروکوکوس فکالیس بین ماتریکا ۵۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۱٪ و به میزان ۱۸/۱۸۰۰۰ میلی‌متر بود، یعنی قطر هاله عدم رشد باکتری در حضور دیسک آغشته به محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به میزان ۱۸/۱۸۰۰۰ میلی‌متر بیشتر از قطر هاله عدم رشد باکتری در حضور دیسک آغشته به محلول ماتریکا ۵۰٪ بوده است. کمترین میزان اختلاف میانگین نیز مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱٪، کلرهگزیدین ۰/۲٪ و به میزان ۳/۱۰۰۰ میلی‌متر بود. آزمون Tukey نشان داد کلیه گروه‌ها به طور دو به دو با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۰۱$).

جدول ۲ نیز نشان می‌دهد که بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری کاندیدا آلبیکنس مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و کمترین میانگین مربوط به ماتریکا ۵۰ درصد است. آزمون ANOVA اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های مختلف و محلول‌های مورد بررسی با منطقه مهار رشد باکتری نشان داد ($P=۰/۰۰۱$).

در مورد کاندیداآلبیکنس در مقایسه دو به دوی گروه‌ها، طبق آزمون آماری Tukey، بیشترین اختلاف میانگین قطر هاله عدم رشد کاندیداآلبیکنس بین ماتریکا ۵۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۱٪ و به میزان ۱۹/۷۶۰۰ میلی‌متر بود، یعنی قطر هاله عدم رشد باکتری در حضور دیسک آغشته به محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به میزان ۱۹/۷۶۰۰۰ میلی‌متر بیشتر از قطر هاله عدم رشد باکتری در حضور دیسک آغشته به محلول ماتریکا ۵۰٪ بوده است. کمترین میزان اختلاف میانگین نیز مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱٪ و کلرهگزیدین ۰/۲٪ و به میزان ۲/۳۶۰۰۰ میلی‌متر بود. با توجه به آزمون توکی همه گروه‌ها دو به دو با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۰۱$).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد در تاثیر خاصیت ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف ماتریکا، کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم بر انتروکوکوس فکالیس

موارد بررسی غلظت	تعداد	انحراف معیار	میانگین (میلیمتر)	حداقل	حداکثر
هیپوکلریت سدیم ۱٪/۰	۵	۰/۳۵۶۳۷	۱۸/۱۸۰۰	۱۷/۸۰	۱۸/۶۰
کلرهگزیدین ۰/۲٪	۵	۰/۶۳۰۰۸	۱۵/۰۸۰۰	۱۴/۲۰	۱۵/۷۰
کلرهگزیدین ۰/۱٪	۵	۰/۴۵۰۵۶	۱۱/۵۶۰۰	۱۰/۹۰	۱۲/۱۰
ماتریکا خالص	۵	۰/۰۵۴۷۷	۶/۰۴۰۰	۶/۰۰	۶/۱۰
ماتریکا۵۰٪	۵	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

جدول ۲ : مقایسه اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف ماتریکا، کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم بر کاندیدا آلبیکنس

موارد بررسی غلظت	تعداد	انحراف معیار	میانگین (میلیمتر)	حداقل	حداکثر
هیپوکلریت سدیم ۱٪/۰	۵	۰/۶۵۸۰۳	۱۹/۷۶۰۰	۱۹/۰۰	۲۰/۸۰
کلرهگزیدین ۰/۲٪	۵	۰/۴۶۳۶۸	۱۷/۴۰۰۰	۱۶/۸۰	۱۸/۰۰
کلرهگزیدین ۰/۱٪	۵	۰/۵۸۹۰۷	۱۳/۲۲۰۰	۱۲/۹۵۰	۱۳/۸۰
ماتریکا خالص	۵	۰/۰۵۴۷۷	۶/۱۴۰۰	۶/۱۰	۶/۲۰
ماتریکا۵۰٪	۵	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

بحث

باکتری‌ها، آنزیم‌ها و مواد تولیدی توسط آن‌ها نقش اساسی در شروع و پیشرفت بیماری‌های پری‌رادیکولار و بنابراین شکست درمان‌های ریشه دارند و حضور پایدارشان در کانال‌های ریشه‌ای به ظاهر خوب پرشده موجب اختلال در روندهای ترمیمی پس از درمان می‌شوند.[۲۱] انتروکوکوس‌فکالیس یکی از باکتری‌های مقاوم به درمان بوده و مطالعات متعدد نشان داده‌اند که این باکتری یکی از شایع‌ترین گونه‌هایی است که پس از درمان ریشه جدا شده است.[۵] در میان عفونت‌های قارچی نیز کاندیدا آلبیکنس یکی از شایع‌ترین گونه‌های یافت شده در حفره دهان بوده است.[۷]

اگرچه محلول هیپوکلریت سدیم دارای محاسنی از جمله خاصیت حل‌کنندگی بافت‌های نکروزان، قیمت ارزان و در دسترس بودن می‌باشد؛ ولی به دلیل سمیت بالا و خاصیت بی‌رنگ‌کنندگی آن، همواره محققین در جستجوی یافتن شوینده‌های مطمئن‌تر و در عین حال موثرتر بوده‌اند. بررسی‌ها نشان داده که کلرهگزیدین دارای طیف وسیع و گسترده ضدمیکربی بوده و حداقل سمیت را نیز دارا می‌باشد. اما باید این نکته را هم در نظر گرفت که این ماده قدرت حل کردن بافت‌های نکروز شده و حذف اسمیرلایر را نداشته و از این نظر کارآیی کمتری دارد.[۲۲]

به‌طور کلی یک ماده شستشودهنده و ضدعفونی‌کننده کانال باید دارای خصوصیاتی از قبیل سمیت و کشش سطحی کم، لغزندگی، دوام اثر ضدمیکروبی، دسترسی آسان، بوی قابل قبول و قیمت مناسب باشد. به همین دلیل اخیراً مواد ضدعفونی‌کننده گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند.[۲۳]

در مطالعه ای که توسط Clegg و همکارانش[۲۴] انجام شد با قرار دادن محیط کشت عفونت داخل کانال دندان، روی بخش‌هایی از آپکس، معلوم شدکه محلول هیپوکلریت سدیم نسبت به کلرهگزیدین در غیرفعال کردن باکتری‌ها ارجح بوده است. در مطالعه White[۲۵] نیز تفاوت معنی‌داری بین خاصیت آنتی‌باکتریال هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد و کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۲ درصد به دست نیامد. اگرچه نتایج مطالعه‌ای که توسط جاویدی[۲۶] انجام شد بیانگر این مطلب بود که اختلاف معنی‌داری بین محلول‌های شوینده‌ی هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد و ۵/۲۵ درصد با نرمال سالین و کلرهگزیدین در کاهش میکروارگانیسم‌های داخل کانال وجود داشت، به طوری که آنها جهت حذف بهتر میکروارگانیسم‌ها در دندان‌های نکروزه، محلول هیپوکلریت سدیم با رقت ۲/۵ درصد را توصیه کردند. در مطالعه حاضر نیز اختلاف معنی‌داری بین خاصیت آنتی‌باکتریال هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۲ درصد وجود داشت و در واقع هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به طور معنی‌داری عملکرد بهتری نسبت به سایر شستشودهنده‌های مورد استفاده در این مطالعه داشت.

مطالعات Mcpherson[۲۷] و صادقی[۲۸] نشان داد ماتریکا به‌طور معنی‌داری اثرات ضدباکتری بیشتری نسبت به پرسیکا دارد، ولی ماتریکا و پرسیکا در مقایسه با کلرهگزیدین به‌طور معنی‌داری دارای اثرات کمتری هستند. در مطالعه ما نیز خاصیت آنتی‌باکتریال ماتریکا به‌طور معنی‌داری از کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم کمتر بود. البته در مطالعه حاضر هیچ اثر آنتی‌باکتریالی برای ماتریکا با غلظت ۵۰ درصد یافت نشد.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که هنوز ترکیب گیاهی ماتریکا از نظر اثر ضدمیکروبی آن بر روی

میکروارگانیسم‌هایی همچون انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلبیکنس قابل رقابت با کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم نمی‌باشد. این یافته با مطالعات متعددی همخوانی دارد.[۳۰و۲۹]

خیاط و همکاران[۳۱] نیز به بررسی بیرون دهانی اثر ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم، اکسید کلسیم هیدراته، عصاره آویشن و نرمال سالین، به عنوان محلول شستشو دهنده‌ی کانال بر روی میکرارگانیسم‌های انتخابی کانال پرداختند. یافته‌های این بررسی، نمایانگر اثرات ضدمیکروبی قوی دو ماده‌ی پیشنهادی عصاره آویشن و آب آهک بود. آن‌ها همچنین عنوان کردند که اگر دیگر خواص این دو ماده مانند سم زدایی، قابلیت تحمل بافتی و جز آن نیز، در بررسی‌های بعدی مطلوب باشد، می‌توان از این مواد، برای شستشوی کانال در درمان‌های اندودنتیکس بهره جست.

اثرات ضدمیکروبی دهاشویه‌های گیاهی پرسیکا، ماتریکا و دهانشویه‌ی کلرهگزیدین در بیماران ارتودنسی نیز طی مطالعه‌ای توسط صالحی و همکاران[۳۲] بررسی شد. طی این مطالعه استفاده از دهانشویه‌های گیاهی پرسیکا و ماتریکا در بیماران ارتودنسی باعث کاهش معنی‌دار سطح میکروارگانیسم‌های پیرامون قاعده براکت‌ها بدون ایجاد عوارض جانبی، مانند تغییر رنگ دندان‌ها (برخلاف کلرهگزیدین) می‌گردد. بنابراین، می‌توان استفاده از آن‌ها را برای مهار باکتری‌ها در بیماران ارتودنسی پیشنهاد کرد.

در این مطالعه آزمایش تعیین حساسیت باکتری‌ها توسط روش Disk Diffusion انجام شد. مزایای این روش همانند سادگی و سرعت انجام، آسانی حمل و نقل پلیت‌ها، امکان اندازه‌گیری دقیق قطر هاله ایجاد شده و اینکه مقدار کمی محلول ضدمیکروبی برای اشباع شدن دیسک لازم است، آن را تبدیل به یکی از موثرترین و متداول‌ترین روش‌ها برای تعیین حساسیت نسبت به مواد ضدمیکروبی کرده است.[۳۳] با وجودی که این روش به دلیل سهولت کاربرد شایع‌ترین تکنیک کاربردی می‌باشد، جهت تعمیم نتایج آن به شرایط کلینیکی باید محدودیت‌های این تکنیک را مدنظر قرار داد. به طور مثال در این تکنیک نمی‌توان باکتریسید یا باکتریوستاتیک بودن مواد را تعیین نمود. قابلیت زیست و حیات میکروارگانیسم‌ها در این تکنیک قابل بررسی و مقایسه نمی‌باشد.[۳٤] همچنین جهت بدست آوردن نتایج دقیق، نیاز به استاندارد کردن و کنترل فاکتورهای بسیاری است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه، در مورد هر دو میکروارگانیسم بیشترین قدرت مهاری مربوط به هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و کمترین قدرت مربوط به ماتریکا ۵۰ درصد بود. به نظر می‌رسد که ترکیب گیاهی ماتریکا در زمینه تغییر فلور میکروبی به میزان کافی قابل رقابت با هیپوکلریت سدیم وکلرهگزیدین نمی‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از اعضای محترم شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و نیز جناب آقای رضا بهرام آبادی و جناب آقای دکتر رضا وزیری نژاد که صمیمانه در انجام این تحقیق زحمات زیادی متقبل شدند، کمال قدردانی و تشکر را داریم.

منابع

1. Sundquist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservation treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 86(1): 86-93.
2. Saberi EA, Ebrahimzadeh A, Ghanbari Firoozabadi M. The antifungal effect of sodium hypochlorite in infected root canals with Candida albicans. Tabib-e-Shargh 2004; 6(2): 115-21. (Persian)
3. Baumgartner JC, Squeira JF, Sedgley CM, Kishen A. Microbiology of endodontic disease. In: Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's Endodontics. 6th ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2008. P. 221-308.
4. Siqueira JF, Racos IN. Microbiology and treatment of endodontic infections. In: Hargreaves KM, Cohen S. Pathways of the Pulp. 10th ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2011; P. 559-600.
5. Ozbek SM, Ozbek A, Erdogan A. analysis of Enterococcus faecalis in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic treatment by real-time PCR SYBR green method. J Appl Oral Sci 2009; 17(5): 370-4.
6. Love RM. Microbiology of caries and dental tubule infection. In: Fohad AF. Endodontic Microbiology. 1st ed. Lowa: 2009. P. 22-39.
7. Vargas KG, Joly S. Carriage frequency, intensity of carriage and strains of oral yeast species vary in progression to oral candidiasis in human immunodeficiency virus positive individuals. J Clin Microbial 2002; 18(2): 133-35.
8. Fani MM. Evaluation of treating effect of chlorhexidine 0.2% mouthrinse on Candida. J Dent Shiraz Univ Med Sci 2000; 2(2): 21-5. (Persian)
9. Yaghooti Khorasani MM, Assar S, Hosseini OR. Comparision of antimicrobial effects of Persica and Chlorhexidine with sodium hypochlorite on Enterococcus faecalis and Candida albicans: An *in vitro* study. J Mash Dent Sci 2010; 34(2): 153-60. (Persian)
10. Farhad AR, Havai A, Farhad SZ, Poursina F. The bacteriologic evaluation of antibacterial effect: Normal salin 5.25% and 0.5%, Sodium hypochlorite and Calcium hydroxide. J Res Med Sci 2000; 5(3): 245-9. (Persian)
11. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silverira 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.
12. Ringel AM, Petterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. *In vivo* evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. J Endod 1982; 8(5): 200-4.
13. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Philips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects stablished and potential root canal irrigants. J Endod 1995; 21(10): 513-3.
14. Hasheminiya SM, Havaee SA, Rajabi M. Antibacterial and substantivity evaluation of 2.5% sodium hypochlorite, 0.25 chlorhexidine and distilled water as root canal irrigants (*in vitro*). J Islamic Dent Assoc Iran 2005; 17(55): 38-45. (Persian)

15. Schafer E, Bossmann K. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulation against Enterococcus faecalis. J Endod 2005; 31(1): 35-56.
16. Lin S, Zuckerman O, Weuss EI, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. J Endod 2003; 29(6): 416-8.
17. Estrela C, Ribeiror A, 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.
18. Matricaria chamomilla. Available at: http://www.barijessence.com/?culture=en-US&page=article&itemid=76. Accessed Januar\19, 2010.
19. Ghanadi A. The use of Matrica herbal mouthwash in dentistry. Barijessence Quarterly Research and Development Center 2004; 5(2): 6-8. (Persian)
20. Berry M. The chamomiles. Pharm J. 1995; 245: 191-3.
21. Ingle JI, Slavkin HC. Modern endodontics therapy past, present and future. In: Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's Endodontics. 6th ed. Hamilton: B.C. Decker Inc; 2008. P. 559-600.
22. Zareh Jahromi M, Mousavi Zahed Sh, Haghighi M, Moghaddas O. Comparing the antimicrobial efficacy of MTAD, Chlorhexidine and Sodium hypochlorite on Aerobic micro-organisms in necrotic root canals: An *in vivo* study. J Res Dent Sci 2014; 11(2): 78-82. (Persian)
23. Mozaffari B, Mansouri SH. Comparison of antibacterial and cytotoxic effects of Persica and chlorhaxidine mouthwashes *in vitro*. J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Sci 2006; 23(3): 494-509. (Persian)
24. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solution on apical dentin biofilm *in vitro*. J Endod 2006; 32(5): 434-7.
25. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 0.2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochloride as antimicrobial endodontic irrigants J Endod 1994; 20(6): 276-8.
26. Javidi M, Behravan J, Goudarzi M, Bagherpour Z. An *in vitro* evaluation of antimicrobial activity of NaCl and chlorhexidine as intracanal irrigants on streptococcus faecalis. J Mash Dent Sch 2007; 31(3): 177-82. (Persian)
27. Mcpherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co; 2007. P. 1049-50.
28. Sadeghi M, Bahramabadi R, Assar S. Antibacterial effect of Persica and matrica herbal mouthwashes on common oral microorganisms: An *in vitro* study. J Mash Dent Sch2011; 35(2): 107-14. (Persian)
29. Paknejad M, Jafarzadeh TS, Shamloo AM. Comparision of the efficacy of Matrica and 0.2% chlorhexidine mouthwashes in patients with chronic periodontitis. J Islamic Dent Assoc 2006; 18(3): 92-7. (Persian)
30. Ataei Z, Abdelahi H, Naderipour S, Mohamadi S. Comparison of antifungal and antibacterial effects of Persica, Matrica and Iralwex with chlorhexidine mouthwashes (an *in vitro* study). J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Sci 2007; 25(1): 58-65. (Persian)
31. Khayat A, Sahebi S, Moazemi F. Antimicrobial effect of Naocl, Hydrated Ca(OH2), thyme oil and normal saline as irrigating solutions on black pigmented and strep viridance. Shiraz Univ Dent J 2003; 4(3): 19-28. (Persian)

32. Salehi P, Kohanteb G, Momeni Danaei SH, Vahedi R. Comparision of the antimicrobial effects of persica and Matrica, two herbal mouthwashes with chlorhexidine mouthwashes, Shiraz Univ Dent J 2005; 6(1,2): 63-72. (Persian)
33. De AR Jr, Head TW, Mian H, Rodrigo A, Muller K, Sanches K. Reduction of salivary S.aureus and mutans group streptococci by a preprocedural chlorhexidine rinse and maximal inhibitory dilutions of chlorhexidine and cetylpyridinium. Quintessence Int 2004; 35(8): 635-40.
34. Al-shwaimi E. Evaluation of antimicrobial effect of root canal sealers. Pakistan Oral Dent J 2011; 31(2): 432-5.

گزارش مورد درمان ریشه دندان‌های پره‌مولر اول و دوم مندیبل با سه کانال مجزا

سید مهدی انارکی فیروز*، حمید جعفرزاده باکویی، محمدحسن ضرابی***، مسعود یعقوبی****#**

* دستیار تخصصی گروه درمان ریشه، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

** دانشیار گروه درمان ریشه، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

*** استاد گروه درمان ریشه، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران.

**** استادیار گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران.

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۱/۲۰ - تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۰/۲

Root Canal Therapy of First and Second Mandibular Premolars with Three Root Canals; Report of a Case

Seyed Mahdi Anaraki Firooz*, Hamid Jafarzadeh Bakouee, Mohammad Hasan Zarrabi***, Masood Yaghoobi****#**

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

*** Associate Professor, Dept of Endodontics, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

**** Professor, Dept of Endodontics, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.*

***** Assistant Professor, Dept of Endodontics, School of Dentistry, Bojnurd University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.*

Received: 9 April 2015 ; Accepted: 23 December 2015

To achieve successful endodontic treatment, the clinician should be aware of root canal anatomy and its variations. Finding mandibular premolars with three canals is rare and its prequency has been reported to be 0.46%. Undetected extra roots and canals are a major reason for failed root canal treatment. This report describes diagnosis and endodontic treatment of a mandibular second premolar with three canals, two orifices in buccal and one in lingual, and a mandibular first premolar with two orifices in lingual and one in buccal. Different studies report low prevalence of mandibular premolars with three canals, so careful evaluation by radiographic and clinical examinations, use of magnification devices, fiber optics and dyes is required for successful detection and access to extra root canals.

Key words: Case report, root canal therapy, mandibular premolar.

 # Corresponding Author: m.yaghoobi@nkums.ac.ir ,dr.yaghoobi.m@gmail.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 187-92 .

چکیده

مقدمه: برای حصول یک درمان ریشه موفق، کلینیسین بایستی از آناتومی کانال و تنوعات آن آگاه باشد. مشاهده پره‌مولرهای مندیبل با سه کانال نادر است و شیوع آن ۰/٤٦ درصد گزارش شده است. کانال‌های اضافی یافت نشده یکی از دلایل اصلی شکست درمان ریشه می‌باشد.

گزارش مورد: این گزارش، تشخیص و درمان اندودنتیک یک پره‌مولر دوم مندیبل سه کاناله با دو اوریفیس در باکال و یکی در لینگوال و همچنین یک پره‌مولر اول مندیبل سه کاناله با دو اوریفیس در لینگوآل و یکی در باکال را شرح می‌دهد.

نتیجه گیری: مطالعات مختلف شیوع کم پره‌مولرهای مندیبل با سه کانال را گزارش می‌دهند، لذا ارزیابی دقیق هر دندان به وسیله معاینات رادیوگرافیک و بالینی، استفاده از ابزارهای بزرگنمایی، فایبر اپتیک و رنگ آمیزی جهت شناسایی و دسترسی به کانال‌های اضافه، مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: گزارش مورد، درمان ریشه، پره‌مولر مندیبل.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤۰ / شماره ۲ : ۹۲-۱۸۷ .

مولف مسؤول، نشانی: خراسان جنوبی، بجنورد، دانشکده دندانپزشکی، گروه ارتودانتیکس، تلفن: ۰۹۱۵۵۰۱۵۱۶۱

E-mail: m.yaghoobi@nkums.ac.ir ,dr.yaghoobi.m@gmail.com

مقدمه

درمان موفق اندودنتیک نیازمند شناخت دقیق آناتومی و مورفولوژی کانال ریشه می‌باشد[۱] که این امر با یافتن کانال‌ها، شکل دهی و پاکسازی آن‌ها و در نهایت پر کردن سیستم کانال ریشه به صورت سه بعدی، تکمیل می‌گردد.[۲و۳] عدم موفقیت در پیدا نمودن کانال‌های اضافه ممکن است باعث شکست درمان و احتمالاً بروز درد و تورم بعد از درمان گردد.[٤]

Bhardwaj و همکاران[٥] مشاهده کردند ۲۲/۳ درصد پره‌مولرهای اول مندیبل دارای دو کانال و دو فورامن جدا و ۵/۱۲ درصد دارای دو کانال و یک فورامن بودند. همچنین مشاهده شد که ۵/۳ درصد پره‌مولرهای دوم مندیبل دارای دو کانال و دو فورامن جدا و ٤/٤ درصد نیز دارای دو کانال و یک فورامن بودند. و تنها ۰/٤٦ درصد پره‌مولرهای اول و دوم مندیبل دارای ۳ کانال و ۳ فورامن جدا بودند. رحیمی و همکاران[٦] گزارش کردند که در پره‌مولر دوم مندیبل، شیوع کانال‌های جانبی ۳۸/۷ درصد و دلتای اپیکال ٤/۳۸ درصد می‌باشد.

اگرچه این تنوعات نادر هستند ولی کلینیسین باید از این تنوعات، آناتومی کلینیکی و رادیوگرافیک و همچنین محل اوریفیس کانال‌ها مطلع باشد.[۱] هدف این گزارش موارد، بحث در مورد تشخیص و توصیه‌های درمانی دندان‌های پره‌مولر اول و دوم مندیبل با سه کانال می‌باشد.

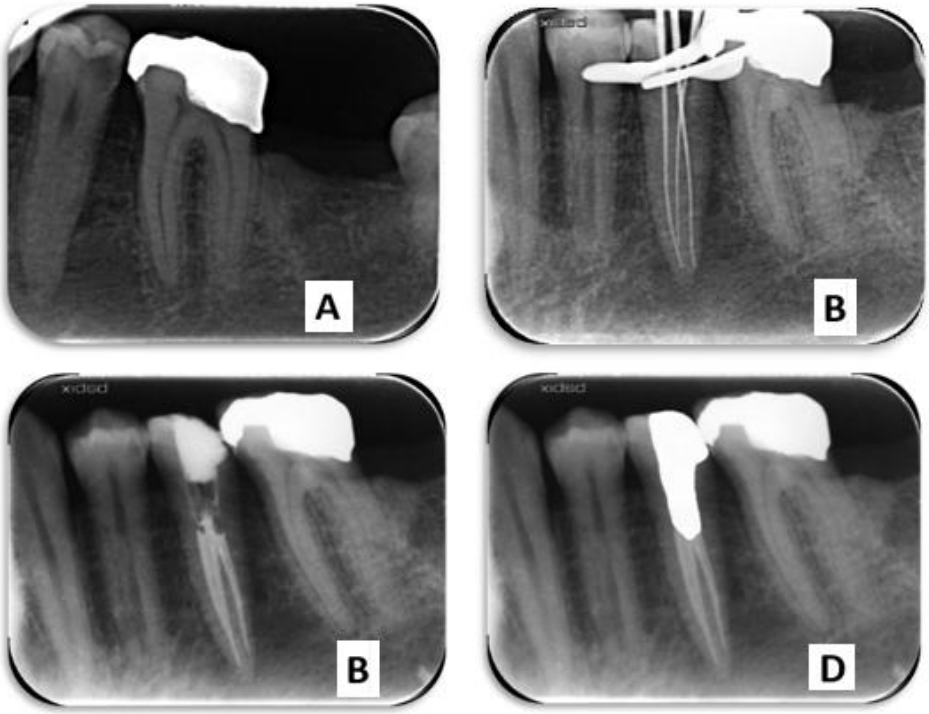
گزارش موارد

مورد ۱:

آقای ۳٦ ساله‌ای بدون سابقه بیماری سیستمیک به بخش درمان ریشه دانشکده دندانپزشکی مشهد ارجاع داده شد. شکایت اصلی بیمار درد در دندان‌های خلفی فک پایین سمت چپ بود. معاینه کلینیکی وجود پوسیدگی در دندان ۲۰# را نشان می‌داد و دندان ۱۹# نیز ترمیم آمالگام عمیقی داشت. تست‌های وایتالیتی پالپ بر روی هر دو دندان انجام گرفت و دندان ۲۰# پاسخ دردناک به تست سرما و گرما نشان می‌داد، همچنین به پالپ تستر الکتریکی نیز روی عدد ۵ پاسخ داده و به دق نیز حساس نبود. دندان ۱۹# نیز به تمام تست‌ها به صورت نرمال پاسخ داد. بررسی رادیوگرافی پوسیدگی عمیق در دیستال دندان ۲۰# و وجود بیش از یک کانال را نشان می‌داد. همچنین پریودنشیوم اطراف دندان نرمال بود (شکل A-۱).

تشخیص پالپی برای این دندان پالپیت برگشت‌ناپذیر و تشخیص بافت پری‌اپیکال، نرمال بود. و طرح درمان اندودنتیک غیرجراحی برای این دندان در نظر گرفته شد.

پس از تزریق یک کارپول بی حسی حاوی لیدوکائین ۲ درصد و اپی نفرین ۱/۱۰۰،۰۰۰ ناحیه منتال سمت چپ، دندان مورد نظر با رابردم ایزوله و حفره دسترسی تهیه شد. کانال اصلی در قسمت لینگوآل و پس از جستجوی مجدد، دو کانال دیگر در سمت باکال یافت شد (شکل B-۱). پس از اندازه گیری طول کانال‌ها به وسیله اپکس لوکیتور (NSK, Tochigi, Japan) و تایید با رادیوگرافی، هر سه کانال تا فایل ۲۰# دستی (Mailefer dentsply, Baillaigues, Switzerland) و سپس با فایل روتاری M-two (VDW, Munich, Germany) به روش Step-back تا فایل ۳۰/۰،۰٦ آماده سازی شدند. کانال‌ها حین کار با هیپوکلریت ۵/۲۵ درصد شستشو داده شدند، شستشوی نهایی با آب مقطر استریل انجام گرفت و در نهایت پس از خشک کردن کانال‌ها، گوتاهای اصلی در کانال‌ها به طول کارکرد قرار داده شدند و رادیوگرافی جهت تایید قرار گیری و طول صحیح گوتاها به عمل آمد. سرانجام کانال‌ها به وسیله گوتا پرکا و سیلر (Dentsply, De Trey Konstanz, Germany)AH26 به روش تراکم جانبی سرد پر گردید (شکل C-۱). در فالوآپ ٦ ماهه دندان بدون علامت کلینیکی و رادیوگرافیک بود.

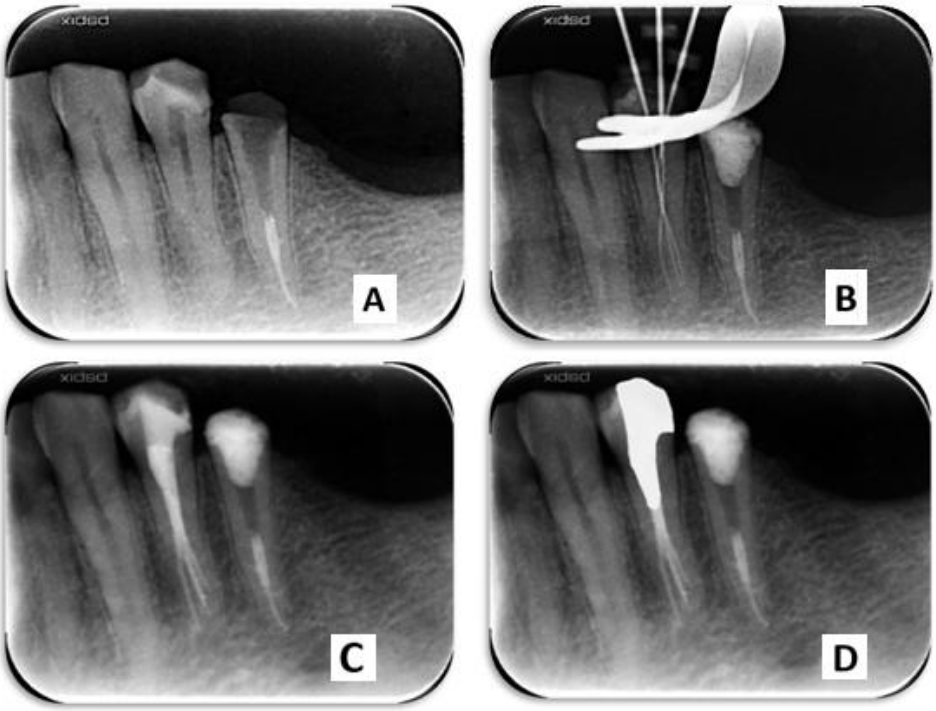


شکل ۱ :A رادیوگرافی قبل از کار نشان دهنده پوسیدگی ناحیه دیستال دندان ۲۰# و تعدد کانال‌ها B: رادیوگرافی فایل‌های اندازه گیری C:رادیوگرافی بعد از کار. هر سه کانال پر شده اند D: رادیوگرافی بعد از پرکردگی دائم تاج با آمالگام

مورد ۲:

آقای ٤٥ ساله بدون بیماری سیستمیک جهت انجام درمان ریشه دندان پره‌مولر اول پایین سمت راست به بخش درمان ریشه دانشکده دندانپزشکی مشهد مراجعه نمودند. دندان ۲۱# دارای سابقه پالپوتومی به دلیل درد خود به خود بود. دندان مورد نظر به تست‌های دق و لمس حساس نبود و در رادیوگرافی وجود دو ریشه، بیش از دو کانال و همچنین وجود پله به دلیل تراش ناصحیح حفره دسترسی مشهود بود (شکل A-۲). ابتدا با تزریق یک کارپول لیدوکایِن ۲ درصد و اپی نفرین ۱/۱۰۰،۰۰۰ در ناحیه منتال، دندان مورد نظر بی حس گردید.

پس از ایزوله کردن دندان به وسیله رابردم، پانسمان موقت به وسیله فرز فیشور توربین برداشته شد، در ابتدا قسمت بالای کانال جهت حذف پله و دسترسی راحت‌تر به کانال به وسیله گیتس گلیدن ۲# و ۳# (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland**) گشاد گردید. پس از جستجو جهت یافتن کانال‌ها، دو کانال در لینگوآل و یک کانال در باکال پیدا شد (شکل B-۲). طول کانال‌ها به وسیله اپکس لوکیتور اندازه گیری و با رادیوگرافی تایید گردید. آماده سازی کانال‌ها تا فایل ۲۵# با روش** Step-back **انجام شد. شستشو حین کار با هیپوکلریت ۵/۲۵ درصد و در نهایت با آب مقطر انجام گرفت. پس از خشک کردن، کانال‌ها، گوتاهای اصلی به سیلر** AH26 **آغشته گردید و در کانال‌ها به طول اندازه گیری قرار داده شدند و پرکردن کانال‌ها با روش تراکم جانبی انجام شد. پس از تهیه رادیوگرافی جهت اطمینان از قرار گرفتن صحیح گوتاها، هر سه کانال به روش تراکم جانبی سرد به صورت همزمان پر شدند (شکل C-۲).**



شکل ۲ :A رادیوگرافی قبل از کار نشان دهنده پله در درمان قبلی و دو ریشه بودن دندان ۲۱# B: رادیوگرافی فایل‌های اندازه گیری C: رادیوگرافی بعد از کار. هر سه کانال پر شده اند D: رادیوگرافی بعد از پرکردگی دائم تاج با آمالگام

بحث

پره‌مولرهای مندیبل به دلیل تنوع در آناتومی داخلی، کانال‌های اضافه، کانال‌های جانبی و دلتاهای اپیکال جزو مشکل‌ترین دندان‌ها جهت درمان اندودنتیک می‌باشد.[۹-۷] رادیوگرافی‌های مستقیم و زاویه دار قبل از کار، راهنمای خوبی در تعیین تعداد کانال‌ها می‌باشند.[۱۰]

به صورت کلی در دندان‌های مندیبل با سه کانال، نیمه سرویکالی ریشه نسبت به حالت معمول عریض‌تر است و بدون تقارب یا دارای تقارب اندکی می‌باشد.[۹] ممکن است کانال‌ها در رادیوگرافی واضح نباشند. تغییر ناگهانی در دانسیته رادیوگرافی و باریک شدن ناگهانی کانال می‌تواند دلالت بر وجود کانال‌های اضافه داشته باشد.(۳)

استفاده از بزرگنمایی، فایبر اپتیک، حباب هیپوکلریت و رنگ آمیزی پالپ چمبر به کلینیسن در یافتن کانال‌های اضافه کمک می‌کنند.[۱۲و۱۱] بسیاری از نویسندگان در کف پالپ چمبر دندان‌های پره‌مولر مندیبل دارای سه کانال، یک اوریفیس در لینگوآل و دو اوریفیس در باکال را گزارش نموده اند.[۱۴و۱۳و۹] محل اوریفیس‌های مورد اول گزارش شده در این مقاله به همین صورت بود ولی در مورد دوم برعکس در باکال یک اوریفیس و در لینگوآل دو اوریفیس داشت.

در مورد اول به دلیل جدا شدن کانال‌ها از یک سوم کرونالی ریشه و دسترسی راحت‌تر به آن‌ها، هر کانال به صورت جداگانه پر شد ولی در مورد دوم به دلیل جدا شدن کانال‌ها در یک سوم اپیکال ریشه دسترسی به آنها بسیار دشوار بود که پس از تایید جایگذاری مناسب گوتاهای اصلی توسط رادیوگرافی، هر سه کانال به صورت همزمان پر شدند.

جهت حصول دقت بیشتر در اندازه گیری طول کارکرد، از ترکیب اپکس لوکیتور و رادیوگرافی استفاده شد. در مورد اول کانال‌های مزیوباکال و لینگوآل در انتها به هم متصل می‌شدند و کانال دیستوباکال فورامن جداگانه داشت که تایپ XV طبقه‌بندی Sert محسوب می‌شود. در مورد دوم کانال‌های باکال و دیستولینگوآل در یک ریشه قرار داشتند و تایپ IV طبقه‌بندی Vertucci محسوب می‌شود.[۱۵]

امروزه استفاده از میکروسکوپ اندودنتیک بسیار مرسوم شده و می‌تواند از ابتدای تراش حفره دسترسی تا هنگام پرکردن کانال‌های ریشه، دید و تسلط بسیار خوبی به کلینیسن بدهد. همچنین استفاده از فایبر اپتیک نیز می‌تواند به دید مستقیم داخل کانال ریشه کمک کند.[۱۶]

هنگام درمان کیس‌های با آناتومی کانال پیچیده استفاده از CBCT در شناخت مورفولوژی کانال بسیار تاثیرگذار است و در موفقیت درمان می‌تواند کمک‌کننده باشد. با توجه به دوز بسیار کم دریافتی بیمار می‌توان بدون نگرانی در مورد اکسپوز بیمار به دوز اضافی اشعه X، از آن استفاده کرد.[۱۷]

در نهایت اگرچه شیوع پره‌مولرهای مندیبل با سه کانال بسیار کم است ولی هر دندان باید به تنهایی با معاینات کلینیکی و رادیوگرافیک دقیق جهت بررسی وجود تنوعات اناتومیک و یا کانال‌های اضافه مورد ارزیابی قرار گیرد.[۱۸-۲۰]

نتیجه گیری

درمان موفق و قابل پیش بینی اندودنتیک نیازمند شناخت آناتومی نرمال و تنوعات آن می‌باشد. در مواردی که رادیوگرافی در تشخیص کانال‌های اضافه کمک چندانی نمی‌کند، استفاده از بزرگنمایی پیشنهاد می‌شود. همچنین افزایش کنتراست رنگ به وسیله رنگ آمیزی پالپ چمبر می‌تواند در یافتن اوریفیس کانال‌ها کمک کننده باشد.

تشکر و قدردانی

با تشکر از استاد ارجمند خانم دکتر جاویدی که در نگارش این مقاله سخاوتمندانه ما را یاری نمودند.

منابع

1. Borna Z, Shahi SH, Zand V. Mandibular second premolars with three root canals: A review and 3 case reports. Iranian Endod J 2011; 6(4): 179-82.
2. Ingle Jl. Endodontics. 5th ed. New York. Elsevier; 2003, P. 199.
3. Slowey RR. Root canal anatomy. Road map to successful endodontics. Dent Clin North Am 1979; 23(4): 555-73.
4. Weine FS. Endodontic Therapy. 6th ed. Boston: Mosby Co; 2004, P. 231.
5. Bhardwaj A, Kottoor J, Albequerque DV, Velmurugan N. Morphologic variations in mandibular premolars: A report of three cases. J Contemp Dent Pract 2015; 16(3): 243-7.
6. Rahimi S, Shahi S, Yavari HR, Reyhani MF, Ebrahimi ME, Rajabi E. A stereomicroscopy study of root apices of human maxillary central incisors and mandibular second premolars in an Iranian population. J Oral Sci 2009; 51(3): 411-5.
7. Fathi Z, Rahimi S, Tavakoli R, Amini M. A three-rooted mandibular second premolar: A case report. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects 2014; 8(3): 184-6.
8. De Moor RJ, Calberson FL. Root canal treatment in a mandibular second premolar with three root canals. J Endod 2005; 31(4): 310-3.
9. Baroudi K, Kazkaz M, Sakka S, Tarakji B. Morphology of root canals in lower human premolars. Niger Med J 2012; 53(4): 206-9.
10. Silha RE. Paralleling long cone techic. Dent Radiograph Photograph 1968; 41(1): 3-19.
11. Carr GB. Microscopes in endodontics. J Calif Dent Assoc 1992; 20(11): 55-61.
12. Nallapatis Sg. Ophtalmic dyes for root canal location. Endod Pract 2004; 7(21): 6.

13. Paul B, Dube K. Endodontic treatment of a mandibular second premolar with three roots and three canals. Case Rep Dent 2014; 2014: 973410.
14. Rodig T, Hulsmann M. Diagnosis and root canal treatment of a mandibular second premolar with three root canals. Int Endod J 2003; 36(12): 912-9.
15. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology 1984; 58(5): 589-99.
16. Bonsor SJ. The use of the operating microscope in general dental practice. Part 2: If you can see it, you can treat it. Dent Update 2015; 42(1): 60-2, 65-6.
17. Mota de Almeida FJ, Knutsson K, Flygare L. The effect of cone beam CT (CBCT) on therapeutic decision-making in endodontics. Dentomaxillofac Radiol 2014; 43(4): 20130137.
18. Al-Fouzan KS. The microscopic diagnosis and treatment of a mandibular second premolar with four canals. Int Endod J 2001; 34(5): 406-10.
19. Cleghorn BM, Christie WH, Dong CC. Anomalous mandibular premolars: A mandibular first premolar with three roots and a mandibular second premolar with a C-shaped canal system. Int Endod J 2008; 41(11): 1005-14.
20. Macri E, Zmener O. Five canals in a mandibular second premolar. J Endod 2000; 26(5): 304-5.

SPECIAL OFFER
High quality

آزاد تجارت پارس
AZAD TEJARAT PARS.LTD

krafit saeyang
THE BEST CREATION OF MICRO MOTOR

- قدرتمند ترین موتور جراحی ایمپلنت با موتور سوییسی
- دارای ۹ حافظه برنامه ریزی ترک و سرعت
- موتور و آنگل فایبر اپتیک
- پمپ آب قوی
- یکسال گارانتی ، ده سال خدمات پس از فروش

محصولات شرکت سایانگ (برند کرافیت) کره جنوبی
را تنها با کارت گارانتی طلایی و برگه اصالت واردات وزارت بهداشت دریافت نمایید .

آزاد تجارت پارس نماینده انحصاری شرکت سایانگ کره جنوبی در ایران

Tel: +98 21 88 98 80 63 - 6
www.befrest.com

HIGH QUALITY 100% HIGH QUALITY
BEST QUALITY 100% SATISFACTION BEST QUALITY