



## بررسی اثر روش های مختلف آماده سازی هیدروکسید کلسیم روی ریزنشست میکروبی کانال های دندان

سید صالح صباغی<sup>۱</sup>، محمدرضا یعقوبی<sup>۲</sup>، مهدی تبریزی زاده<sup>۳</sup>، هنگامه زندی<sup>۴</sup>، فروغ زمانی<sup>۵\*</sup>

### چکیده

مقدمه: قراردادن هیدروکسید کلسیم در داخل کانال ریشه از روش های مطرح برای جلوگیری از ریزنشست میکروب ها می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی چهار ترکیب هیدروکسید کلسیم در جلوگیری از ریزنشست کرونو اپیکالی میکروب ها به داخل کانال بود. روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی ۷۰ عدد دندان تک کانال کشیده شده انسان جمع آوری گردید. دندان ها پس از آماده سازی کانال به ۴ گروه آزمایشی (هر گروه ۱۵ نمونه) و دو گروه کنترل مثبت و منفی (هر گروه ۵ نمونه) تقسیم شدند. کانال های دندان ها در گروه های مختلف توسط مخلوط خامه ای هیدروکسید کلسیم با سالیین نرمال، لیدوکائین، کلرهگزیدین ۲٪ و گلسیرین پر شد. ۵ دندان به عنوان کنترل مثبت خالی گذاشته شد و ۵ دندان به عنوان کنترل منفی با گوتاپرکا و سیلر پر شده و مدخل کانال آنها با موم چسب پوشانده شد. نمونه ها برای بررسی ریزنشست میکروبی در دستگاه قرار گرفته و پس از قرار دادن در معرض سوسپانسیون باکتری انتروکوک فکالیس (*Enterococcus faecalis*) از لحاظ بروز ریزنشست و کدورت در اطراف تحتانی مورد بررسی قرار گرفتند. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون های ANOVA و T-test آنالیز شد.

نتایج: بر اساس نتایج به دست آمده میزان ریزنشست در گروه هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین ۲٪ به نحو معنی داری کمتر از گروه های دیگر بود ( $P < 0.001$ ). بین گروه های دیگر اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان ریزنشست دیده نشد ( $P > 0.05$ ). نتیجه گیری: با توجه به میزان ریزنشست در گروه هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین می توان قراردادن مخلوط خامه ای این دو را برای کاهش ریزنشست در فاصله جلسات درمان اندودانتیک توصیه نمود. انجام مطالعات بیشتر با ترکیبات دیگر هیدروکسید کلسیم پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: ریزنشست میکروبی، کلسیم هیدروکساید، حامل ها

- ۱-استادیار، گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
  - ۲-دندانپزشک عمومی
  - ۳-استاد، گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
  - ۴-استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
  - ۵- دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
- \* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۳۰۱۱۸۰۰، پست الکترونیکی: foroughzamani65@yahoo.com
- تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۵

## مقدمه

باکتری‌ها عوامل اصلی التهاب پالپ و پری‌اپیکال هستند و درمان موفق اندودنتیک به کاهش یا حذف آنها بستگی دارد. بعضی از مطالعات نیز موفقیت بیشتر درمان‌های اندودنتیک انجام شده در کانال‌های حاوی میکروب را نشان داده‌اند (۱). تاکنون مواد مختلفی جهت ضد عفونی کردن فضای کانال ریشه استفاده شده است (۵-۲). امروزه هیدروکسید کلسیم رایج‌ترین داروی مورد استفاده در درمان ریشه است که سودمندی آن در مطالعات بسیاری ثابت شده است (۶). هیدروکسید کلسیم علاوه بر نابود کردن باکتری‌های باقیمانده در کانال می‌تواند با جلوگیری از ریزش و نفوذ مجدد میکروب‌ها به داخل کانال در فاصله بین جلسات درمان ریشه مانع از آلودگی مجدد کانال گردد، از جمله خصوصیات هیدروکسید کلسیم، اثر ضد میکروبی (۷)، تحریک و معدنی شدن بافت (۸،۹) و تجزیه کنندگی بافتی (۷) را می‌توان نام برد. این ماده سازگاری بافتی قابل قبولی دارد (۱۰) و با فعال کردن آنزیم آلکالین فسفاتاز باعث القای بافت مینرالیزه شده و در فرایند ترمیم شرکت می‌کند (۱۱). هیدروکسید کلسیم بدلیل داشتن pH قلیایی (pH=12.4) دارای خاصیت ضدالتهابی و ضد میکروبی می‌باشد (۱۱،۱۲). یون هیدروکسید از طریق عاج بطور پیوسته منتشر می‌شود و pH روی سطح خارجی ریشه را برای مدت ۱۲۰ روز بالا نگه می‌دارد (۱۳) و مانع فعالیت استئوکلاستیک می‌شود. بدین ترتیب محیط اسیدی مستعد به تحلیل را به محیط قلیایی مناسب برای استخوان‌سازی تبدیل می‌کند (۱۴). با تجزیه هیدروکسید کلسیم، یون کلسیم از طریق توپول‌های عاجی دیواره کانال منتشر شده (۱۵) و باعث پاکسازی دی اکسید کربنی می‌شود که توسط باکتری‌های بی‌هوازی استفاده می‌شود (۱۶). همچنین نقش اساسی در مینرالیزاسیون بافت و تحریک بیان ژن فیبرونکتین دارد (۱۷). یون‌های کلسیم باعث بهبود چرخش خون در مویرگ‌ها شده و اثر مهارکنندگی بر ترشح چرک دارند (۱۸).

برای قراردادن هیدروکسید کلسیم در کانال لازم است ابتدا پودر آن با ماده‌ای مخلوط شده و پس از بدست آوردن قوام

خامه‌ای در داخل کانال قرار گیرد. در طی سالیان گذشته مواد مختلفی جهت مخلوط کردن با هیدروکسید کلسیم مثل سرم فیزیولوژی، گلیسرین، داروهای بی‌حسی، کلرهگزیدین IKI و CMCP پیشنهاد شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۹). حامل هیدروکسید کلسیم نقش مهمی در اثر ضد عفونی کنندگی آن دارد زیرا سرعت تجزیه یونی آن را تعیین کرده و باعث حل شدن خمیر می‌شود و به میزان متفاوتی توسط بافت‌های پری‌اپیکال و کانال ریشه جذب می‌شود (۲۰). بررسی اثرات ضد میکروبی مخلوط هیدروکسید کلسیم با مواد مختلف می‌تواند دندانپزشکان را در انتخاب ترکیب مناسب برای استفاده در کلینیک یاری کند.

در مطالعاتی نشان داده شده است که گذاشتن هیدروکسید کلسیم در داخل کانال می‌تواند با عملکرد به عنوان یک سد مکانیکی و همچنین کشتن میکروب‌ها، به نحو مؤثری مانع ریزش میکروب به داخل کانال شود (۲۱،۲۲). از طرفی بر اساس مطالعات Javidi و همکاران و Athenassiadis و همکاران گذاشتن هیدروکسید کلسیم داخل کانال، تأثیری روی ریزش میکروبی ندارد (۲۳،۲۴). با توجه به محدود بودن مطالعات انجام شده (۲۴-۲۱) مطالعات زیادی وجود دارد که نشان داده که ترکیب هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین نسبت به بقیه ترکیبات خاصیت ضد میکروبی بیشتری دارد (۲۸-۲۵، ۲۳، ۲۲، ۱۹، ۱۲، ۷، ۶، ۴). هدف از مطالعه حاضر مقایسه تأثیر نوع ماده حامل مورد استفاده برای مخلوط کردن با هیدروکسید کلسیم روی توانایی آن در جلوگیری از ریزش میکروبی است.

## روش بررسی

جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی ۷۰ دندان تک‌کانال کشیده شده انسان بدون خمیدگی و کلسیفیکاسیون کانال، بدون ترک و با آپکس بسته انتخاب شدند. دندان‌ها بعد از جمع‌آوری به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ (merck-Germany) به منظور ضد عفونی کردن و جلوگیری از احتمال انتقال عفونت قرار گرفتند. جهت تسهیل

گروه ۴) مخلوط خامه‌ای کلسیم هیدروکسید با کلرهگزیدین ۲٪ (Merck-Germany) جهت تهیه مخلوط خامه‌ای مواد مورد نظر، پس از قراردادن پودر هیدروکسید کلسیم بر روی اسلب شیشه‌ای استریل، مواد مورد بررسی به آن اضافه و با اسپاتول فلزی استریل به هم زده شد تا قوام خامه‌ای ایجاد شود. مخلوط خامه‌ای ایجاد شده توسط آنگل و به کمک لنتولو (تیزکاوان-ایران) در داخل کانال ریشه‌ها قرار گرفت.

۵ دندان به عنوان کنترل منفی با گوتا‌پرکا و سیلر پر شده و مدخل کانال آن‌ها با موم چسب پوشانده شد. ۵ دندان نیز به عنوان کنترل مثبت خالی گذاشته شدند.

جهت بررسی ریزنشست میکروبی ابتدا از سوش باکتری *Enterococcus faecalis* موجود در بخش میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد سوسپانسیونی با غلظت معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه گردید.

برای ساخت دستگاه مورد نظر برای انجام آزمایش که در تصویر ۱- قسمت انتهایی لوله‌های سانتریفوژ ۱۵ میلی‌لیتری سوراخ شد. دندان با فشار داخل سوراخ انتهایی قرار گرفته و با موم چسب، مهر و موم گردید. این مجموعه به وسیله اکسیداتیلن استریل گردید. ویال‌های شیشه‌ای مورد استفاده برای محیط کشت میکروبی نیز بعد از پرکردن با محیط TSB استریل شدند.

در شکل‌دهی و تمیزکردن کانال‌ها و یکسان سازی طول آنها تاج تمام دندان‌ها از ناحیه اتصال بین مینا و سمان (CEJ) توسط فرز و توربین و با آماده سازی کانال با روش استاندارد Step-back و به کمک K-file (Mani-Japan) انجام شد. فایل شماره ۳۵ به عنوان فایل اصلی در نظر گرفته شد. کانال‌ها تا فایل شماره ۶۰ گشاد شدند. پس از هر بار استفاده از هر فایل کانال با ۲ ml نرمال سالین شستشو داده شد. باز نگه‌داشتن انتهای ریشه با خروج فایل شماره ۱۰ از ته ریشه انجام گردید. این کار تا پایان شکل دهی و پاکسازی کانال ادامه یافت. از آن جایی که لازم است قبل از قرار دادن دارو داخل کانال، کانال استریل شود تا فلور میکروبی داخل کانال در کدورت نهایی اثر نداشته باشد در حالی که استریل کردن کامل داخل کانال تقریباً غیرممکن است، سعی شده تا حد امکان کانال پاکسازی شود. سپس نمونه‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه ۱۵ تایی جهت قرار دادن مواد مورد نظر در کانال ریشه تقسیم شدند.

گروه ۱) مخلوط خامه ای کلسیم هیدروکسید (گلچای-ایران) با گلسیرین

گروه ۲) مخلوط خامه ای کلسیم هیدروکسید (گلچای-ایران) با سالین نرمال (شهید قاضی تبریز-ایران)

گروه ۳) مخلوط خامه ای کلسیم هیدروکسید (گلچای-ایران) با لیدوکائین (دارو پخش- ایران)



تصویر ۱- تصویر دستگاه استفاده شده در آزمایش

خارج و میکروب جدید اضافه گردید. در صورت ایجاد کدورت در محیط کشت، شیشه از بقیه قسمت‌ها جدا شده و در محیط Blood Agar کشت داده می‌شد تا خالص بودن *E. faecalis* اطمینان حاصل گردد.

نهایتاً نتایج به دست آمده با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون‌های آماری ANOVA و t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### نتایج

طبق نتایج به دست آمده اولین علائم ریزش و بروز کدورت در محیط کشت در گروه‌های کلسیم هیدروکسید با گلسیرین و لیدوکائین در روز اول، در گروه نرمال سالین روز دوم و گروه کلرهگزیدین در روز چهارم مشاهده گردید. در پایان روز نهم ریزش در تمامی نمونه‌ها در هر چهار گروه دیده شد (جدول شماره ۱).

یک نمونه کلسیم هیدروکساید و کلروهگزیدین به علت آلودگی از مطالعه حذف گردید.

جدول ۱: چگونگی ریزش باکتری در گروه‌های مختلف طی دوره بررسی

محدوده روزهای ریزش (روز)	مدت زمان بروز کدورت (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	تعداد نمونه‌ها	گروه‌ها
۱-۸	۲/۶ $\pm$ ۳/۱	۱۵	کلسیم هیدروکسید+گلسیرین
۲-۹	۴/۹ $\pm$ ۲/۵	۱۵	کلسیم هیدروکسید+نرمال سالین
۱-۹	۴/۲ $\pm$ ۳/۰	۱۵	کلسیم هیدروکسید+لیدوکائین
۴-۹	۶/۸ $\pm$ ۱/۷	۱۴	کلسیم هیدروکسید+کلرهگزیدین

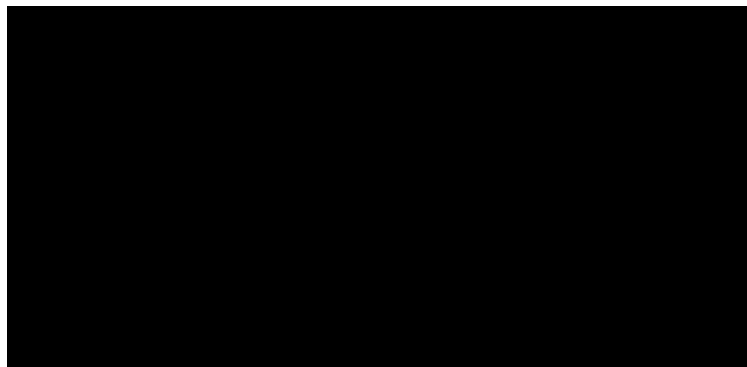
گروه‌های دیگر اختلاف معنی دار آماری از لحاظ میزان ریزش دیده نشد. تعداد نمونه‌های ریزش داده در هر گروه در نمودار شماره ۱ دیده می‌شود.

لوله سانتی‌فیوژ ۱۵ میلی‌متری که دندان قطع شده داخل سوراخ انتهائی آن جاسازی شده و در ویال‌های حاوی محیط کشت TSB قرار می‌گیرد، با موم چسب، مهر و موم شده است. بطوری که ۳mm از انتهای دندان‌ها در محیط TSB قرار گیرد و سوسپانسیون باکتری تهیه شده درون لوله سانتی‌فیوژ ریخته می‌شود.

در مرحله بعد لوله‌های سانتی‌فیوژی که دندان‌ها در آن جاسازی شده بود در ویال‌های حاوی محیط کشت قرار داده شد بطوری که ۳mm از انتهای دندان‌ها در محیط TSB قرار گیرد. درزهای بین ویال و لوله با موم چسب، مهر و موم شد. سپس سوسپانسیون باکتری تهیه شده درون لوله سانتی‌فیوژ ریخته شد.

نمونه‌های تهیه شده در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور (Behdad-Iran) قرار داده شده و هر روز از لحاظ بروز کدورت (Turbidity) در محیط کشت TSB بررسی شدند تا کدورت در تمامی لوله‌ها دیده شود. هر سه روز یکبار ۲ml از محیط بالایی

بر اساس آزمون آماری ANOVA و  $p\text{-value} < 0/001$  گروه هیدروکسید کلسیم با کلرهگزیدین به نحو معنی‌داری ریزش کمتری نسبت به گروه‌های دیگر داشت  $p < 0/001$  بین



نمودار ۱: وجود یا عدم وجود کدورت در هر روز طی مدت بررسی

## بحث

پاکسازی کانال ریشه هدف اصلی درمان‌های اندودنتیک است و باکتری‌های باقیمانده در توبول‌های عاجی می‌توانند یکی از عوامل عدم موفقیت درمان‌های ریشه باشند. پاکسازی توبول‌های عاجی از طریق عمل مکانیکی فایل‌ها به تنهایی قابل حصول نیست. بنابراین استفاده از داروهای داخل کانال برای این کار توصیه شده است و هیدروکساید کلسیم رایج‌ترین ماده مورد استفاده برای این کار می‌باشد (۶).

تعیین محدوده فعالیت هر ماده ضد میکروبی برای بهبود روش‌های کنترل عفونت مفید است. با توجه به اهمیت میزان فعالیت ضد میکروبی کلسیم‌هیدروکساید مطالعات متعددی در مورد تأثیر روش‌های مختلف آماده سازی روی میزان اثر ضد میکروبی آن انجام شده است که بسته به عوامل مختلفی از جمله نوع روش انجام مطالعه نتایج مختلفی به دست آمده است (۶، ۲۵).

رایج‌ترین روش‌های بررسی اثر ضد میکروبی مواد، روش‌های تماس، مستقیم هستند که در آنها ماده ضد میکروبی در تماس مستقیم با میکروب مورد نظر قرار می‌گیرد. مطالعات مختلف نشان داده اند که باکتری‌ها معمولاً در اثر تماس با داروهای مختلف، حتی در مقادیر رقیق شده، به سرعت کشته می‌شوند ولی اطلاعات موجود در مورد تأثیر داروهای اندودنتیک روی گونه های خاص باکتری‌ها در محیط بدن محدود می‌باشد (۲۶).

تجویز داروهای داخل کانال به چند دلیل توصیه می‌شوند (۲۹). این موارد شامل: اپکسیفیکیشن، ترشح‌های مقاوم یا در مواردی که با کمبود زمان برای به پایان رساندن درمان ریشه مواجه می‌باشند. پانسمان داخل کانال می‌تواند باعث جلوگیری نفوذ باکتری از بزاق به کانال ریشه شود (۲۹).

این داروها می‌تواند همانند سدی فیزیکی و شیمیایی عمل کنند. بگونه ای که میکروارگانیسم‌های باقیمانده در کانال را کشته و یا مانند سدی فیزیکی از نفوذ باکتری‌های جدید خودداری کنند (۷، ۳۰).

برای بررسی اثر ضد میکروبی بصورت *In vitro* از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود (۷).

آزمایش انتشار دیسک (کربی-باوئر) (Agar diffusion method) برای شناسایی یک ارگانیسم مقاوم یا حساس به یک آنتی‌بیوتیک اختصاصی استفاده می‌شود. پلیت با آگار مولر- هینتون به عمق ۴ میلی‌متر پر می‌شود. پس از سرد شدن و سفت شدن آگار، به روش کشت سفراهی کشت داده می‌شود. ماده تلقیحی برای کشت باید از یک کشت مایع در لوله که قبلاً با نمک استریل به مقدار ۰/۵ واحد استاندارد کدورت فارلند رقیق شده، استفاده می‌شود. بعد از تلقیح نمونه روی پلیت چند گونه متفاوت از دیسک‌های کاغذی روی پلیت اضافه می‌کنیم. این دیسک‌ها با مقدار مشخصی از یک عامل میکروبی واکنش می‌دهند. پلیت‌ها را انکوبه کرده و نواحی خالی از باکتری، مناطق مهاری یا عدم رشد مشاهده می‌شوند که میزان آن، نشان دهنده حساسیت یا عدم حساسیت میکروارگانیسم به عامل ضد میکروبی است. هاله بزرگتر نشان‌دهنده حساسیت بیشتر میکروارگانیسم است. قطر این هاله‌ها اندازه‌گیری شده و اگر به اندازه قابل‌قبولی بزرگ باشد بر علیه آن میکروارگانیسم می‌توان از عامل ضد میکروبی استفاده کرد (۳۱).

استفاده از دندان‌های کشیده شده و قرار دادن خمیر کلسیم هیدروکساید در کانال ریشه‌ای که قبلاً به میکروب آلوده شده است از دیگر روش‌های *in vitro* می‌باشد (۷).

میکروبراث دایلوژن (Dilution Broth Susceptibility Test) این روش شامل آماده کردن دو غلظت مختلف از یک آنتی‌بیوتیک می‌باشد مثلاً (16 μg/mL, 1,2,4,8) در یک محیط کشت مایع که در لوله‌های آزمایش توزیع می‌شوند. لوله‌های حاوی آنتی‌بیوتیک با سوسپانسیون استاندارد شده باکتریایی  $1.5 \times 10^5$  CFU/mL آلوده می‌شوند. بعد از یک روز انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتی‌گراد لوله‌های آزمایش برای مشاهده ایجاد رشد باکتریایی مشخصاً کدرتست می‌شوند. کمترین غلظت آنتی‌بیوتیک که باعث مهار رشد می‌شود به عنوان حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) بیان می‌شود (۳۱).

روش انتشار دیسک Agar diffusion method با تشکیل هاله عدم رشد میکروبی در اطراف ماده در محیط کشت میکروبی عمل می کند.

سنجش حساسیت به روش براث دایلوژن Dilution Broth Susceptibility Test در مواردی که تماس مستقیم بین ماده ضد میکروبی و سلول های باکتریایی لازم باشد روش مناسبی خواهد بود.

کلسیم هیدروکسید به علت برخورداری از PH قلیایی و خواص ضد میکروبی مناسب رایج ترین ماده مورد استفاده و مورد بحث در مطالعات مربوط به پانسمان (dressing) کانال است و تحقیقات مختلف سعی دارند معیارهای مناسبی برای استفاده از آن شامل محدودیت ها و توانایی ها تعیین کنند (۲۰).

مطالعات نشان داده اند که کلسیم هیدروکسید یک داروی داخل کانال مؤثر است که استفاده از آن برای درمان کانال های عفونی بیش از همه توصیه می شود (۶).

طی چندسال اخیر با توجه به کاربرد روز افزون کلسیم هیدروکسید مطالعات مختلفی در مورد ترکیب های مختلف کلسیم هیدروکسید و اثرات آن ها روی میکروب های مختلف موجود در کانال صورت پذیرفته است. Enterococcus faecalis میکروارگانیسمی است که در اغلب موارد شکست معالجات ریشه، در کانال ریشه دیده می شود و همچنین نقش مهمی در پاتوژنز پریودنتیت های مقاوم بازی می کند. این میکروارگانیسم نسبت به بسیاری از مواد ضد میکروبی رایج از جمله کلسیم هیدروکسید مقاوم است. بدین دلیل تقریباً در اغلب مطالعات انجام شده روی کلسیم هیدروکسید میکروارگانیسم مورد استفاده E. faecalis بوده است. در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعات مشابه از این میکروب استفاده گردید (۲۷، ۳۲).

با توجه به اینکه پودر کلسیم هیدروکسید جهت قرارگرفتن داخل کانال باید ابتدا در ماده حامل حل شود. هدف بسیاری از مطالعات انجام شده بررسی تأثیر این مواد روی میزان آزادسازی یون های هیدروکسید و چگونگی انتشار آنها در محیط بوده است. مکانیسم تأثیر مخلوط های مختلف کلسیم هیدروکسید از طریق یون هیدروکسید می باشد، PH مخلوط های تهیه شده

قبل از ورود به مطالعه تعیین نشده بود. از آن جایی که تأثیر ضدباکتری ترکیب های تهیه شده می تواند تنها ناشی از اثر ضدباکتری حامل یا تأثیر تجمعی هیدروکسید کلسیم و حامل باشد، پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی PH آنها تعیین شوند. در مطالعه حاضر جهت آماده سازی کلسیم هیدروکسید از چند حامل مختلف که در چندسال اخیر مورد توجه بیشتری بوده اند، استفاده گردید. با توجه به اینکه قوام مخلوط به دست آمده می تواند در خواص آن تأثیرگذار باشد در این مطالعه همانند بسیاری از تحقیقات دیگر از مخلوطی با قوام خامه ای استفاده گردید (۲۷، ۲۸، ۳۲).

کلسیم هیدروکسید را می توان به دو صورت سفت (Thick) و شل (Thin) تهیه نمود. بعضی از محققین از جمله Frank استفاده از ترکیب سفت کلسیم هیدروکسید در مواردی مثل اپکسیفیکیشن که نیاز به آزادسازی تدریجی یون ها در طول زمان می باشد را توصیه نموده اند (۳۳) ایراد مخلوط سفت این است که باعث کاهش سیلان (flow) مخلوط حاصله و در نتیجه دشواری نفوذ آن به داخل نامنظمی های کانال از قبیل Isthmus، Fins و توپول های عاجی که محل های احتمالی لانه گزینی میکروب ها هستند، می شود همچنین امکان قراردادن آن تا طول مناسب با تراکم خوب بخصوص در نواحی اپیکالی کانال های باریک دشوار می باشد. با توجه به این موارد محققینی مانند Behen و همکاران برای استفاده از کلسیم هیدروکسید به عنوان داروی داخل کانال در فواصل بین درمان، به علت نیاز به آزادسازی یون های هیدروکسید و انتشار آن به داخل توپول های عاجی و بقایای پالپی، مخلوط سفت را مناسب نمی دانند (۲۸). مطالعه Behen و همکاران نیز با مقایسه اثر ضد میکروبی مخلوط سفت و شل کلسیم هیدروکسید، نشان داد که مخلوط شل اثر ضد میکروبی بهتر در عاج ایجاد می کند (۲۸).

مطالعات قبلی انجام شده روی مواد فوق نشان دهنده نتایج مختلفی بوده است که می تواند به علت تفاوت متدولوژی، نوع محیط کشت، سن و مقدار میکروب تلقیح شده و گونه باکتری متفاوت باشد. ولی به طور کلی در تمامی مطالعات اثر

این است که به علت خاصیت کاتیونیک به هیدروکسی آپاتیت عاج متصل شده و با آزادسازی تدریجی باعث حفاظت کانال در مقابل رشد مجدد میکروبها تا چند روز می‌گردد (۳۲).

در مطالعه Siqueira و همکاران نشان داده شد که گذاشتن پانسمان به مدت ۷ روز با خمیر  $\text{Ca(OH)}_2$  و cmcp بطور قابل توجهی تعداد موارد کشت منفی را افزایش می‌دهد (۳۴).

Roach و همکاران گزارش دادند که مخلوط کلسیم هیدروکساید با cmcp اثر ضد میکروبی طولانی‌تری نسبت به مخلوط کلسیم هیدروکساید با کلرهگزیدین بدست آوردن سیل بهتر در مقابل ریز نشت باکتریایی دارد (۳۰).

Sukawat و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که کلسیم هیدروکساید مخلوط شده با cmcp مؤثرترین دارو داخل کانال در مقابل E.faecalis می‌باشد. هر چند Siqueira و همکاران با استفاده از مدل ریز نشت پلی میکروبیال مشخص نمود که مخلوط کلسیم هیدروکساید با آب مقطر دارای توانایی مساوی در جلوگیری آلودگی مجدد سیستم در مقایسه با کلسیم هیدروکساید و cmcp می‌باشد (۳۵).

### نتیجه گیری

با توجه به محدودیت مطالعه حاضر می‌توان به این نتیجه رسید که در گروه مخلوط که کلسیم هیدروکسید و کلرهگزیدین سد بهتری در مقابل ریز نشت باکتری‌ها ایجاد می‌شود. انجام مطالعات بیشتر با روش‌های دیگر و مخلوط‌های متفاوت کلسیم هیدروکساید توصیه می‌شود.

با توجه به نتایج این مطالعه و تحقیقات دیگر که با روش‌های مختلفی صورت گرفته‌اند می‌توان کلرهگزیدین ۲٪ را بعنوان یک ماده حامل مناسب برای انتقال هیدروکسید کلسیم به داخل کانال ریشه معرفی نمود. با این کار می‌توان ریز نشت را در فاصله جلسات درمان اندودنتیک کاهش داد. انجام مطالعات In vitro بر تأیید بیشتر کاربرد کلینیکی این مواد توصیه می‌شود.

### سپاسگزاری

این مقاله حاصل از پایان نامه دانشجویی مصوبه شورای پژوهشی دانشکده دندانپزشکی یزد به شماره ۵۱۳ می‌باشد، که بدینوسیله تشکر می‌گردد.

ضد میکروبی مناسب کلسیم هیدروکساید روی اکثر گونه‌های باکتریایی نشان داده شده است.

مطالعه حاضر به منظور مقایسه توانایی داروهای داخل کانال در جلوگیری از نشت باکتری به داخل کانال طراحی گردید. در این مطالعه کلسیم هیدروکساید در داخل کانال ریشه قرار گرفته و کشت باکتری به آن اضافه شد. پس از گذشت زمان مورد نظر انتقال به لحاظ کدورت (turbidity) بررسی گردید.

موارد مورد استفاده در مطالعه حاضر شامل سالین، لیدوکائین، کلرهگزیدین ۲٪ و گلیسرین بودند که مواد رایجی هستند که طی چندسال اخیر به صورت جداگانه در مطالعات مختلفی (۲۲، ۲۷، ۳۲) مورد بررسی قرار گرفته‌اند و در مطالعه Farhad و همکاران همگی آنها با یکدیگر مقایسه شده‌اند (۳۳). طبق نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مخلوط کلسیم هیدروکساید با کلرهگزیدین ۲٪ تأثیر بهتری از سایر مواد داشت که این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار بود. کلرهگزیدین از موادی است که امروزه در مطالعات مورد توجه بوده و در مطالعه حاضر نیز مخلوط کلسیم هیدروکساید با کلرهگزیدین ۲٪ بهترین تأثیر را از خود نشان داد. در مطالعات قبلی انجام شده غلظت‌های مختلف کلرهگزیدین (۰.۲ تا ۲٪) بررسی شده است که بر اساس آن‌ها غلظت ۲٪ مؤثرترین غلظتی بوده که در کوتاه‌ترین دوره زمانی مؤثرتر از بقیه غلظت‌ها بوده است (۲۷).

در مطالعه Schafer و همکاران با مقایسه اثر ضد میکروبی خمیر کلسیم هیدروکساید با آب استریل، کلسیم هیدروکساید با کلرهگزیدین ۲٪ و کلرهگزیدین ۲٪ به تنهایی، در نمونه‌های تهیه شده از ریشه دندان انسان، مشاهده گردید که مخلوط کلسیم هیدروکساید با کلرهگزیدین به صورت معنی‌داری تأثیر بیشتری داشت (۲۷).

تعدادی از مطالعات انجام شده در مورد تأثیر کلرهگزیدین این مسئله را تأیید نموده و تعدادی نیز برخلاف آن بوده‌اند. متفاوت بودن روش‌های انجام مطالعات می‌تواند دلیل این مسئله باشد. علاوه بر فعالیت ضد میکروبی مناسب کلرهگزیدین، مطالعات نشان داده‌اند که غلظت‌های ۲٪ تا ۲۰٪ این ماده از لحاظ ایجاد سمیت ایمن می‌باشد به نحوی که مصرف محلول ۲٪ این ماده به عنوان شستشودهنده زیر لثه‌ای بدون تولید عوارض ناخواسته توصیه می‌گردد. از دیگر مزایای کلرهگزیدین

## References:

- 1- Pappen FG, Qian W, Aleksejuniene J, Leonardo Rde T, Leonardo MR, Haapasalo M. *Inhibition of sodium hypochlorite antimicrobial activity in the presence of bovine serum albumin*. J Endod 2010;36(2):268-71.
- 2- Tang G, Samaranayake LP, Yip HK. *Molecular evaluation of residual endodontic micro-organisms after instrumentation, irrigation and medication with either calcium hydroxide or Septomixine*. Oral Dis 2004; 10(6): 389-97.
- 3- Dammaschke T. *The history of direct pulp capping*. J Hist Dent 2008 ;56(1):9-23.
- 4- SilveiraCF, Cunha RS, Fontana CE, De Martin AS, Gomes BP, Motta R, et al *Assessment of the antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine paste and other intra-canal medications against bacterial pathogens*. Eur J Dent 2011 Jan; 5(1):1-7.
- 5- Canoglu E, Turgut MD, Tekcicek M. *Healing of external inflammatory root resorptions and periapical lesions without surgical treatment in an operated oblique facial cleft case*. Eur J Dent 2010 ;4(2):208-14.
- 6- Farhad A, Barekatian B, Sadeghi H, Khazaeizadeh A. *Evaluation of pH and calcium ion concentration changes with the use of different calcium hydroxide pastes on external root surface*. J Isfahan Dent Sch 2015; 11(1): 1-13.[Persian]
- 7- Estrela C, Pecora JD ,Souza –Neto MD, Esrela CR, Bammann I. *Effect of vehicle on antimicrobial Properties of calcium hydroxide pastes*. Baraz Dent J 1999; 10(2):63-72.
- 8- Ozan U, *kursat Er Endodontic treatment of teeth associated with a large periapical lesion*. Int Endod J 2002; 35(1):73-80.
- 9- Kim M, Kim B, Yoon S. *Effects on the healing of periapical perforations in dogs of the addition of growth factors to calcium hydroxide*. Int Endod J 2001; 27(12):734-7.
- 10- Mori GG, Ferreira FC, Batista FR, Godoy AM, Nunes DC. *Evaluation of the diffusion capacity of calcium hydroxide pastes through the dentinal tubules*. Braz Oral Res 2009; 23(2): 113-8.
- 11- Velikova M, Bankova V, Marcucci MC, Tsvetkova I, Kujumgiev A. *Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae*. Z Naturforsch C 2000; 55(9-10):785-9.
- 12- Pacios MG, de la Casa ML, de Bulacio MI, Lopez ME. *Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes*. J Oral Sci 2004; 46(2):107-11.
- 13- Esberard RM, Carnes DL Jr, Del Rio CE. *pH changes at the surface of root dentin when using root canal sealers containing calcium hydroxide*. J Endod 1996; 22(8):399-401.
- 14- Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. *pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide*. J Endod 1981; 7(1):17-21.
- 15- Komabayashi T, D'Souza R N, Dechow PC, Safavi KE, Spangberg LS. *Particle size and shape of calcium hydroxide*. J Endod 2009; 35(2):284-7.

- 16- Saif S, Carey CM, Tordik PA, McClanahan SB. *Effect of irrigants and cementum injury on diffusion of hydroxyl ions through the dentinal tubules*. J Endod 2008; 34(1):50-2.
- 17- Mizuno M, Banzai Y. *Calcium ion release from calcium hydroxide stimulated fibronectin gene expression in dental pulp cells and the differentiation of dental pulp cells to mineralized tissue forming cells by fibronectin*. Int Endod J 2008;41(11): 933-8.
- 18- Hosoya N, Takahashi G, Arai T, Nakamura J. *Calcium concentration and pH of the periapical environment after applying calcium hydroxide into root canals in vitro*. J Endod 2001; 27(5):343-6.
- 19- Tabrizizadeh M, Kazemipour M, Dastani M, Hakimian R. *Effect of calcium hydroxide paste in combination with different vehicles on the pH of the root surface dentin*. Res Dent 2013; 10(3):1-35.[Persian]
- 20- Fava LR, Saunders WP. *Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications*. Int Endod J 1999; 32(4):257-82.
- 21- Zehnder M, Baumgartner G, Marquardt K, Paque F. *Prevention of the antimicrobial leakage through instrumented root canals by bioactive glassS53P4 and calcium hydroxide suspensions in vitro*. Oral Surg Oral Pathol Oral RadiolEndod 2007; 103(3):423-28.
- 22- Murad C, Farinjuk LF, Fidel S, Fidel RA, SassoneLM. *Bacterial leakage in root canals filled with calcium hydroxidpaste associated with different vehicles*. Braz Dent 2008;19(3): 232-7.
- 23- Javidi M, Mesgarani A, Sedighshams M, Talati A *Evaluation and comparison of apical leakage following root canal dressing with different calcium hydroxide*. Shiraz Univ Dent J 2010; 11(1):35-40.[Persian]
- 24- Athanassiadis B, Abbott Pv, George N, Walsh LJ. *An in vitro study of the antimicrobial activity of some endodontic medicaments against E. Faecalis biofilms*. Aust Dent J 2010;55(2):150-5.
- 25- Dibaj M, Khalilak Z, Rastgarian H, Akhavan H, Kalantari D. *Comparison the effect of the combination of different materials with Calcium hydroxide on its antimicrobial property in vitro*. J Res Dent Sci 2009; 6(1):14-18.[ Persian]
- 26- Gomes A, Ferraz R, Vianna E, Zaia A, Texeira B ,Souza-Filho F. *In Vitro Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide Pastes and their Vehicles Against Selected Microorganisms*. J Braz Dent 2002; 13(3):155-61.
- 27- Schafer EL, Bussmann K. *Antimicrobial efficacy of chlorhexidine and two calcium hydroxide formulations against EntrococcusFaecalis*. J Endod 2005;31(1):35-56.
- 28- Behen MJ, West LA, Liweher FR, Baxton TB, Meperson JC. *Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentine*. J Endod 2001; 27(12):765-67.
- 29- Barthel CR, Zaritki F, Raab WH, Zimmer S. *Bacterial leakage in roots filled with different medicaments and sealed with Cavit*. J Endod 2006; 32(2):127-9.
- 30- Roach RP, Hatton JF, Gillespie MJ. *Prevention of the ingress of a known virulent bacterium into the root canal system by intracanal medications*. J Endod 2001; 27(11):657-60.

- 31- Jorgensen JH, Ferraro MY *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices* Clin Infec Dis 2009; 49(11):1749-55.
- 32- Cwika SJ, Belang M, Giguere S, Pregulsk E, Fox A, Vertucci FJ. *Dentinal tubule disinfection using three calcium hydroxide formulations.* J Endod 2005; 31(1): 50-52.
- 33- Farhad A, Mohammadi Z. *Calcium hydroxide: a review.* Int Dent J 2005; 55(5):293-301.
- 34- Siqueira JF, Magalheas KM, Rocas JN. *Bacterial reduction in infected root canals treated with 2.5% NaOCl as an irrigant and calcium hydroxide /camphorated paramonochlorophenol paste as an intracanal dressing.* J Endod 2007; 33(6):667-72.
- 35- Siqueira JF, Lopes H P. *Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review.* Int Endod J 1999; 32(5): 361-369.

## ***Evaluating the Effect of Different Methods of Preparing Calcium Hydroxide on Microbial Leakage in the Teeth Root Canals***

**Sabbaghi SS(DDS, MSc)<sup>1</sup>, Yaghoubi MR(DDS)<sup>2</sup>, Tabrizzade M(DDS, MSc)<sup>3</sup>  
Zandi H(PhD)<sup>4</sup>, Zamani F<sup>5\*</sup>**

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Endodontic, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

<sup>2</sup> Dentist

<sup>3</sup> Full Professor, Department of Endodontic, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

<sup>4</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

<sup>5</sup> Dental Student, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

**Received:** 4 July 2015

**Accepted:** 16 August 2015

### ***Abstract***

**Introduction:** Intracanal usage of calcium hydroxide is considered as a common method for preventing microleakage. Hence, this study aimed to evaluate the efficacy of four different calcium hydroxide preparations in preventing coronal-apical microleakage.

**Methods:** In this experimental study, 70 extracted human single root canal teeth were collected. After root canal instrumentation, the teeth were divided into four experimental groups (n=15) and two groups of positive control and negative control (n=5). The root canals were filled with creamy mixture of Calcium hydroxide via different vehicles (Normal saline, Lidocaine, Glycerin, Chlorhexidine). Five teeth were left empty to serve as the positive control group, whereas the negative control group comprised of five teeth filled with guttapercha and sealer, which their canal orifice was sealed with wax. In order to evaluate the microleakage, the samples were placed inside the designed apparatus. After being exposed to *Enterococcus faecalis* suspension, the samples were evaluated in regard with leakage and turbidity in the lower compartment. The statistical analysis of the recorded data was performed using SPSS16 via ANOVA and t-test.

**Results:** The results of the present study revealed that microleakage reduced significantly in the calcium hydroxide group via chlorhexidine ( $P < 0.001$ ). Moreover, no significant differences were observed between the other groups.

**Conclusion:** Considering the amount of microleakage found in the calcium hydroxide group via chlorhexidine compared to other groups, its usage could be recommended for reducing leakage as an interappointment temporary filling material. Furthermore, conducting more studies with different calcium hydroxide preparations is suggested.

**Keywords:** Bacterial leakage; Calcium hydroxide; Vehicles

### ***This paper should be cited as:***

Sabbaghi SS, Yaghoubi M, Tabrizzadeh M, Zandi H, Zamani F. *Evaluating the Effect of Different Methods of Preparing Calcium Hydroxide on Microbial Leakage in the Teeth Root Canals*. Yazd Journal of Dental Research 2015; 4(2): 547-557.

**\*Corresponding Author: Tel: 09173011800, Email: foroughzamani65@yahoo.com**