

Antimicrobial Effect of Carvacrol and Calcium Hydroxide against *Enterococcus Faecalis* in Different Layers of Dentin and Different Time Intervals

Mamak Adel¹,
Pardis Pourrousta¹,
Masoud Sharifi²,
Amir Javadi³,
Pouria Falah-Abed⁴,
Nafiseh Rahmani⁵

¹ Assistant Professor, Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

² Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³ PhD Student in Bioinformatics, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁴ Dentist, Qazvin, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Orthodontics, Dental Caries Prevention Research Center, Faculty of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

(Received February 24, 2015 ; Accepted June 5, 2016)

Abstract

Background and purpose: Mechanical and chemical canal preparations are not capable of eliminating all microorganisms from dentinal tubules, so using medical intervention is necessary to fulfill this task. The aim of this study was to compare the antimicrobial effect of Carvacrol and Calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in different layers of dentin and different time intervals.

Materials and methods: An experimental study was performed in which 70 upper anterior single-rooted teeth were extracted and after separating middle of roots, the inner diameter of canals was equalized. After sterilization the specimens were subjected to *Enterococcus faecalis* suspension and then randomly divided into four groups of 15 each and one control group including 10 samples. Carvacrol was placed in canals for 5 minutes, 48 hours and one week and Calcium hydroxide was placed in canals for one week. Finally, dentinal debris obtained from canal preparation were incubated in culture medium and presence of *Enterococcus faecalis* was assessed. Statistical analysis was performed using Chi-square test in SPSS.

Results: In the inner layer of dentin, success rate of *Enterococcus faecalis* elimination was 100% for Carvacrol at all time intervals and 80% for Calcium hydroxide after one week. In the middle layer of dentin, the success rate of Carvacrol was 93% after 5 minutes and 87% after 48 hours and one week, but success rate of Calcium hydroxide after one week was 73%. There were no significant differences in antimicrobial effect between the groups ($P>0.05$).

Conclusion: Carvacrol can eliminate *Enterococcus faecalis* in shorter time intervals compared with Calcium hydroxide.

Keywords: Carvacrol, Calcium hydroxide, dentinal tubules, *Enterococcus faecalis*

مقایسه ی اثر ضد میکروبی کارواکرول و هیدروکسید کلسیم روی انتروکوکوس فکالیس در عمق های مختلف توبول های عاجی در زمان های مختلف

مامک عادل^۱پردیس پورروستا^۱مسعود شریفی^۲امیر جوادی^۳پوریا فلاح عابد^۴نفیسه رحمانی^۵

چکیده

سابقه و هدف: آماده سازی مکانیکی و شیمیایی کانال قادر به حذف کامل میکروارگانیسم ها از توبول های عاجی نمی باشد لذا استفاده از دارویی که بتواند این نیاز را برآورده سازد ضروری است. هدف این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی کارواکرول و هیدروکسید کلسیم روی انتروکوکوس فکالیس در عمق های مختلف توبول های عاجی در زمان های مختلف می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه ی تجربی ۷۰ دندان تک ریشه قدامی بالا کشیده شده و پس از جدا سازی بخش میانی ریشه ها قطر داخلی کانال ها یکسان سازی شد. نمونه ها پس از استریل شدن در سوسپانسیون انتروکوکوس فکالیس آلوده شدند و سپس به طور تصادفی به چهار گروه ۱۵ تایی و یک گروه کنترل ۱۰ تایی تقسیم گردیدند. کارواکرول برای مدت ۵ دقیقه، ۴۸ ساعت و یک هفته و هیدروکسید کلسیم برای مدت یک هفته داخل کانال قرار گرفت. در نهایت تراشه های عاجی حاصل از تراش داخل کانال در محیط کشت اختصاصی انکوبه و از نظر حضور انتروکوکوس فکالیس بررسی شد. آنالیز آماری توسط آزمون مجذور کای و نرم افزار SPSS انجام شد.

یافته ها: در داخلی ترین لایه ی عاج کارواکرول در همه زمان ها به میزان ۱۰۰ درصد و هیدروکسید کلسیم پس از یک هفته ۸۰ درصد در حذف انتروکوکوس فکالیس موثر بوده است. در لایه ی میانی عاج کارواکرول در زمان ۵ دقیقه ۹۳ درصد و در زمان های ۴۸ ساعت و یک هفته ۸۷ درصد و هیدروکسید کلسیم پس از یک هفته ۷۳ درصد موثر بوده است. اثر ضد میکروبی گروه ها تفاوت آماری معنی داری بایکدیگر نداشت ($p > 0/05$).

استنتاج: کارواکرول در مقایسه با هیدروکسید کلسیم در زمان های کوتاه تری می تواند اثرات ضد میکروبی مناسب خود را اعمال نماید.

واژه های کلیدی: کارواکرول، هیدروکسید کلسیم، توبول های عاجی، انتروکوکوس فکالیس

مقدمه

شده است. هدف اصلی از درمان ریشه، حذف این عوامل از تمام نواحی کانال ریشه و جلوگیری از عفونت

نقش باکتری ها و محصولات آن ها در ایجاد و گسترش بیماری های پالپ و پری آپیکال به خوبی ثابت

E-mail: Nafiseh_rah91@yahoo.com

مؤلف مسئول: نفیسه رحمانی - قزوین: بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات پیشگیری از پوسیدگی دندان

۱. استادیار، گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۳. دانشجوی دکتری بیوفورماتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴. دندانپزشک، قزوین، ایران

۵. استادیار، گروه ارتودانتیکس، مرکز تحقیقات پیشگیری از پوسیدگی دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۲/۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۳/۱۶

مجدد می‌باشد (۱). آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی با استفاده از وسایل و محلول‌های شست و شو دهنده به تنهایی قادر به حذف باکتری‌ها از نقاط دور از دسترس و توبول‌های عاجی نمی‌باشد. بعد از آماده‌سازی مکانیکی دقیق کانال ریشه و استفاده از محلول‌های شست‌وشو دهنده، باکتری‌ها در نیمی از کانال‌های ریشه حضور دارند و تعداد آن‌ها در طی ۲ تا ۴ روز به تعداد قبل از درمان افزایش می‌یابد (۲، ۳). هم‌چنین نشان داده شده است که حضور باکتری‌ها در زمان پر کردن کانال ریشه موجب کاهش موفقیت طولانی مدت درمان نسبت به زمانی می‌شود که باکتری‌ها به طور کامل حذف شده‌اند (۴). در بررسی دندان‌هایی که درمان ریشه آن‌ها با شکست مواجه شده است و ضایعات پری آپیکال پایدار دارند، حضور انتروکوکوس فکالیز گزارش شده است (۵). حضور این میکروارگانیسم باعث کاهش میزان موفقیت درمان مجدد کانال ریشه نیز می‌شود. به همین دلیل پس از آماده‌سازی مکانیکی و شیمیایی، استفاده از داروهای داخل کانال مناسب جهت حذف کامل میکروارگانیسم‌ها از کانال ریشه توصیه می‌گردد (۶، ۷). هیدروکسید کلسیم به دلیل اثرات بیولوژیکی آن به عنوان داروی رایج داخل کانال مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). فعالیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم به رهاسازی و انتشار یون‌های هیدروکسیل و ایجاد محیط آلكالینی نسبت داده می‌شود. یون‌های هیدروکسیل باعث تخریب غشای سیتوپلاسمی میکروب‌ها، مهار همانندسازی DNA از طریق ایجاد شکاف در این مولکول و اختلال در فعالیت آنزیمی و متابولیسم سلولی می‌گردند (۹). یکی از محدودیت‌های مهم هیدروکسید کلسیم به عنوان داروی داخل کانال این است که در محیط کانال ریشه خاصیت بافرکنندگی بالقوه موجود در عاج، باعث کاهش انتشار یون‌های هیدروکسیل در محیط و کاهش تاثیر ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم می‌شود (۱۰). هم‌چنین هیدروکسید کلسیم برای اعمال اثرات ضد میکروبی مناسب خود در کانال ریشه به یک هفته زمان نیاز دارد (۱۱). از

گذشته‌های دور اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی و بعضی از ترکیبات موجود در عصاره آن‌ها از جمله تیمول، کارواکرول و اوژنول مورد توجه بوده است (۱۲). اثر ضد باکتری بعضی از این ترکیبات از جمله کارواکرول بر میکروارگانیسم‌های شایع عفونت‌های اندودانتیک گزارش شده است (۱۳). کارواکرول از گیاه مرزه خوزستانی در جنوب ایران مشتق می‌شود و سال‌ها برای تسکین درد دندان مورد استفاده قرار گرفته است (۱۴). هم‌چنین طبق تحقیقات، کارواکرول می‌تواند به‌طور موثری باکتری انتروکوکوس فکالیز را از داخل کانال حذف نماید. با این حال مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی اثر ضد میکروبی کارواکرول روی میکروارگانیسم‌های موجود در توبول‌های عاجی یافت نگردیده است (۱۵). هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی کارواکرول و هیدروکسید کلسیم بر روی انتروکوکوس فکالیز در عمق‌های مختلف توبول‌های عاجی در زمان‌های مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، تعداد ۷۰ دندان تک ریشه قدامی فک بالای انسان که دارای ریشه مستقیم و یک کانال با سطح مقطع گرد و فاقد هر گونه پوسیدگی، تحلیل و کلسیفیکاسیون بودند، انتخاب شد. ابتدا به منظور ضد عفونی کردن سطحی، دندان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد قرار داده شدند. تاج دندان‌ها از محل CEJ و بخش اپیکالی ریشه آن‌ها در محل اتصال ۱/۳ میلی و ۱/۳ اپیکالی ریشه با استفاده از دیسک الماسی به صورت عمود بر محور طولی دندان به گونه‌ای قطع گردید که ارتفاع باقی مانده ریشه ۹ میلی‌متر باشد. با استفاده از فرز الماسی و هندپیس با دور بالا، سمتوم سطح ریشه‌ها برداشته شد و سطح خارجی هر ریشه به گونه‌ای تراشیده شد که قطعه باقیمانده، استوانه‌ای به قطر خارجی ۴ تا ۵ میلی‌متر باشد. قطر داخلی کانال ریشه‌ها به منظور مشابه‌سازی نمونه‌ها به ترتیب با پی‌زوریم‌های شماره ۱ تا ۳ (Mani- ژاپن) از

جنس تنگستن کارباید و قطر تقریبی ۱/۱ میلی متر و هندپیس با دور پایین به طور یکسان گشاد گردید.

پس از این مرحله، لایه اسمیر به روش Yamada توسط شستشو با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد و EDTA ۱۷ درصد و مجدداً هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد حذف گردید. هر کدام از این مواد به مدت ۴ دقیقه در کانال استفاده شدند و نهایتاً کانال‌ها توسط آب مقطر استریل به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند. سپس هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر از محیط کشت Tryptic Soy Broth (TSB) قرار داده شدند. سپس لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌ها در اتوکلاو (ادیب-ایران) تحت دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردیدند. بعد از استریل شدن، لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، از محیط کشت TSB حاوی نمونه‌ها، بر روی Blood agar کشت تهیه شد تا از درستی استریلیزاسیون اطمینان حاصل شود. این مرحله ۳ بار تکرار گردید. از این مرحله به بعد، کلیه دستکاری‌ها و جابه‌جایی نمونه‌ها تحت شرایط آسپتیک و با استفاده از وسایل استریل صورت گرفت. برای ایجاد آلودگی از سویه‌ی انتروکوکوس فکالیس (ATCC:33186) استفاده شد.

به همین منظور بر محیط Brain heart infusion agar کشت ۲۴ ساعته تهیه شد و از کشت مذکور سوسپانسیون تهیه و کدورت آن با استاندارد Mac Farland ۰/۵ تنظیم گردید. نمونه‌ها در لوله آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون قرار داده شدند. در طی این دوره، هر دو روز یک بار، این محیط مجدداً تعویض می‌گردید. هم‌چنین یک نمونه از این محیط بر روی محیط Blood agar کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا از خالص بودن نمونه‌ها اطمینان حاصل شود. بعد از گذشت سه هفته، هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه در یک لوله آزمایش حاوی ۵

میلی‌لیتر سالین استریل قرار داده شدند و به مدت ۳۰ ثانیه شستشو داده شدند. این کار ۳ بار تکرار شد تا اضافات محیط کشت به طور کامل از نمونه‌ها پاک شود و نمونه‌ها برای قرار دادن داروهای داخل کانال آماده شوند. سپس سطح خارجی نمونه‌ها توسط یک لایه لاک شفاف پوشانیده شد. نمونه‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه آزمایشی ۱۵ تایی و یک گروه کنترل ۱۰ تایی تقسیم گردیدند. جهت قرار دادن کارواکرول ۹۴ درصد (خرمان-ایران) طبق دستور کارخانه سازنده از مخروط کاغذی شماره ۶۰ (آریادنت-ایران) استفاده شد. هیدروکسید کلسیم (گلچای-ایران) هم با سالین استریل به گونه‌ای مخلوط شد که قوام خامه‌ای به دست آید (با نسبت ۱ گرم پودر به ۱ میلی‌لیتر مایع). هیدروکسید کلسیم در کانال با استفاده از پلاگر پک گردید. برای گروه کنترل هم از هیچ داروی داخل کانالی استفاده نشد. به منظور حصول رطوبت، تمامی نمونه‌ها در ظروف دردار استریل جداگانه به صورت ایستاده در محل قرار داده شدند و آب مقطر نیز در کف ظرف قرار داده شد. در زمان انکوباسیون، درپوش ظرف کاملاً بسته و با چسب مسدود شد. سپس نمونه‌ها در انکوباتور (WF binder-آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای گروه‌هایی که کارواکرول به عنوان داروی داخل کانال انتخاب شده بود، مدت زمان‌های ۵ دقیقه و ۴۸ ساعت و یک هفته در نظر گرفته شد، ولی برای هیدروکسید کلسیم فقط زمان یک هفته مد نظر قرار گرفت و نیمی از تعداد نمونه‌های گروه کنترل نیز بعد از ۳ هفته از انکوباتور خارج شدند تا اطمینان حاصل شود که باکتری‌ها تا لایه‌ی خارجی عاج نفوذ داشته‌اند و مابقی جهت حصول زنده ماندن باکتری‌ها تا انتهای تحقیق در محیط کشت نگهداری شدند.

به طور کلی گروه‌های آزمایش به شرح زیر بودند:
گروه ۱: ۱۵ دندان که کارواکرول ۵ دقیقه در کانال آن‌ها قرار داشت.

گروه ۲: ۱۵ دندان که کارواکرو ۴۸ ساعت در کانال آن ها قرار داشت.

گروه ۳: ۱۵ دندان که کارواکرو یک هفته در کانال آن ها قرار داشت.

گروه ۴: ۱۵ دندان که هیدروکسید کلسیم یک هفته در کانال آن ها قرار داشت.

گروه کنترل: ۱۰ دندان که هیچ دارویی در کانال نمونه‌ها قرار نگرفت. پس از گذشت زمان مورد نظر، تمام نمونه‌های هر گروه از انکوباتور خارج شدند. سپس داروهای داخل کانال خارج شدند و به منظور اطمینان از پاک شدن کانال‌ها از بقایای دارو، کانال‌ها با ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین شستشو داده شدند. در مرحله بعد هر یک از نمونه‌ها به لوله آزمایش استریل انتقال داده شدند و جهت تراش لایه داخلی عاج به ضخامت تقریبی ۲۰۰ میکرون، پیروزیمر استریل شماره ۴ (Mani-ژاپن) توسط هندپیس با دور پایین یک بار از داخل کانال عبور داده شد. مشابه این مرحله توسط پیروزیمرهای استریل شماره ۵ و ۶ (Mani-ژاپن) جهت بررسی وضعیت عاج قسمت میانی (ضخامت ۴۰۰ میکرون) و خارجی (ضخامت حدود ۶۰۰ میکرون) تکرار گردید. لازم به ذکر است که جهت تهیه براده‌های عاجی، هر بار فقط از یک پیروزیمر استفاده شد و براده‌های عاجی حاصل از تراش هر لایه در پتری دیش که هنگام تراش در زیر نمونه قرار داشت، جداگانه جمع‌آوری شدند.

سپس به براده‌های حاصل از تراش هر یک از لایه‌های عاجی، ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت TSB اضافه شد. بعد از ۴۸ ساعت، انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، محیط کشت لوله‌ها از نظر وجود کدورت بررسی شد. نمونه‌ای از هر لوله در سطح محیط Blood agar مجدداً کشت داده شد و موارد رشد مثبت ثبت گردید. به علاوه از کلنی‌های رشد کرده در سطح محیط Blood agar نمونه‌برداری شد و سپس رنگ‌آمیزی Gram انجام شد تا از عدم وجود کوکسی‌های مثبت با مورفولوژی و آرایش شبیه به انتروکوک اطمینان حاصل

گردد. داده‌ها توسط آزمون آماری مجذور کای و سطح معنی‌داری $p < 0.05$ مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

بررسی‌ها نشان داد که در گروه کنترل، باکتری تا خارجی ترین لایه‌های عاج در تمامی موارد نفوذ کرده و زنده مانده بود. نتایج مربوط به توزیع فراوانی حذف انتروکوکوس فکالیز در لایه‌های مختلف عاج پس از زمان‌های مختلف به کارگیری داروها در جدول شماره ۱ آورده شده است. محاسبات آماری نشان داد که اثر ضدمیکروبی کارواکرو و هیدروکسید کلسیم روی انتروکوکوس فکالیز در لایه‌های مختلف عاج و زمان‌های آزمایش شده تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارد ($p > 0.05$). نتایج توسط نرم‌افزار SPSS و آنالیز مجذور کای مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی حذف انتروکوکوس فکالیز در لایه‌های مختلف عاجی در زمان‌های مختلف به کارگیری دارو

زمان	۵ دقیقه	۴۸ ساعت	یک هفته	یک هفته
(کارواکرو)	(کارواکرو)	(کارواکرو)	(هیدروکسید کلسیم)	(هیدروکسید کلسیم)
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
لایه داخلی (۲۰۰ میکرون)	۱۵ (۱۰۰)	۱۵ (۱۰۰)	۱۵ (۱۰۰)	۱۲ (۸۰)
لایه میانی (۴۰۰ میکرون)	۱۴ (۹۳)	۱۳ (۸۷)	۱۳ (۸۷)	۱۱ (۷۳)
لایه خارجی (۶۰۰ میکرون)	۱۱ (۷۳)	۱۳ (۸۷)	۱۳ (۸۷)	۸ (۵۳)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر ضد میکروبی کارواکرو روی انتروکوکوس فکالیز در لایه‌های مختلف عاج و زمان‌های آزمایش شده مختلف (۵ دقیقه، ۴۸ ساعت و ۱ هفته) تفاوت معنی‌داری با اثر ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم پس از ۱ هفته ندارد؛ بنابراین کارواکرو در مقایسه با هیدروکسید کلسیم در زمان‌های کوتاه‌تری می‌تواند اثرات ضدمیکروبی مناسب خود را اعمال نماید. در تحقیقی در سال ۲۰۰۱، Estrela

و همکارانش بیان نمودند هیدروکسید کلسیم به عنوان داروی داخل کانال تا زمان ۷۲ ساعت قادر به حذف انتروکوکوس فکالایس نمی‌باشد (۱۶). هم‌چنین Siqueira و همکاران گزارش کردند که هیدروکسید کلسیم ظرف مدت یک هفته قادر نخواهد بود انتروکوکوس فکالایس را از توبول‌های عاجی حذف نماید (۱۷). در سال ۲۰۰۲ نیز در تحقیقی که توسط Srisuwan و Sukawat صورت پذیرفت، نشان داده شد که هیدروکسید کلسیم به همراه آب و یا کلر هگزیدین ۰/۲ درصد قادر به حذف انتروکوکوس فکالایس از توبول‌های عاجی در زمان ۷ روز نمی‌باشد (۱۸).

Akpata و Blechman عنوان کردند که در زمان ۲۴ ساعت، هیدروکسید کلسیم با غلظت ۱ gr/ml قادر است فقط در ۲۶-۱۳ درصد موارد انتروکوکوس فکالایس را از توبول‌های عاجی حذف نماید، در حالی که در همین زمان، غلظت ۰/۱ gr/ml هیدروکسید کلسیم می‌توانست در ۸۶-۷۳ درصد موارد انتروکوکوس فکالایس را از توبول‌های عاجی حذف نماید. بنابراین به نظر می‌رسد می‌توان با کاهش غلظت هیدروکسید کلسیم، امکان نفوذ آن در توبول‌های عاجی و اثر ضد میکروبی آن را افزایش داد (۱۹). با توجه به نتایج مطالعه حاضر و مقایسه اثر ضد میکروبی کارواکرول و هیدروکسید کلسیم در زمان یک هفته، همواره کارواکرول در حذف انتروکوکوس فکالایس از لایه‌های مختلف عاجی بهتر عمل کرده است، ولی این تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

در مطالعه Pereira و همکاران در سال ۲۰۰۵، فاز هگزان عصاره برگ Arctium Lappa به دلیل وجود جزء کارواکرول در ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های شایع حفره دهان و عفونت‌های کانال ریشه از جمله انتروکوکوس فکالایس در محیط آزمایشگاه بسیار موثر بوده است (۲۰).

Bassole و همکارانش در سال ۲۰۰۵ به بررسی اثر ضد باکتری گل‌های خشک شده Lippia chevalieri و Ocimum canum پرداختند و با توجه به این که یکی از

اجزا عصاره گیاهان فوق کارواکرول بود، بیان کردند بیش‌ترین اثر مربوط به گیاه Chevalieri بر روی انتروکوکوس فکالایس بوده است (۲۱). نتایج تحقیق فعلی نیز نشان داد که کارواکرول ۹۴ درصد، به نحو موثری قادر به حذف انتروکوکوس فکالایس از توبول‌های عاجی و به خصوص لایه داخلی عاج می‌باشد.

در مطالعه حاضر اثر ضد میکروبی کارواکرول در زمان‌های ۵ دقیقه و ۴۸ ساعت و یک هفته مورد بررسی قرار گرفت. در صورت در دسترس بودن داروی داخل کانال با اثر ضد میکروبی مناسب در زمان ۵ دقیقه، تعداد جلسات درمان ریشه را می‌توان به یک جلسه تقلیل داد تا از مراجعات مکرر بیمار جلوگیری گردد. مدت زمان یک هفته نیز امکان مقایسه اثر ضد میکروبی کارواکرول با هیدروکسید کلسیم را میسر می‌سازد، زیرا با توجه به مطالعات قبلی، حداقل زمان جهت اثر ضد میکروبی مناسب هیدروکسید کلسیم، یک هفته گزارش گردیده است (۲۲). زمان ۴۸ ساعت حد فاصل زمان ۵ دقیقه و یک هفته می‌باشد و در این زمان می‌توان روند تغییرات اثر ضد میکروبی کارواکرول را بررسی نمود (۲۳).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، کارواکرول در زمان ۵ دقیقه در لایه داخلی عاج در ۱۰۰ درصد موارد قادر به حذف انتروکوکوس فکالایس بوده است. این اثر به علت کاهش قابلیت نفوذ دارو در عمق توبول‌های عاجی، در لایه میانی به ۹۳/۳ درصد و در لایه خارجی به ۷۳/۳ درصد تقلیل یافته بود. در زمان‌های ۴۸ ساعت و یک هفته نیز اثر ضد میکروبی کارواکرول در لایه‌های میانی و خارجی به ترتیب کاهش یافته بود. علت این امر را می‌توان به کشش سطحی داروی کارواکرول نسبت داد که امکان نفوذ دارو به قسمت‌های عمقی‌تر را کاهش می‌دهد. ترکیبات فنلی دارای کشش سطحی نسبتاً پایینی بوده و بنابراین قادرند به راحتی به داخل توبول‌های عاجی نفوذ نمایند (۱۴). با این حال جهت افزایش عمق نفوذ داروهای داخل کانال می‌توان کشش سطحی آن‌ها را نسبت به حد معمول کاهش داد. جهت کاهش کشش

سطحی می‌توان از حرارت یا افزودن سورفاکتانت استفاده کرد. Patonai و Abou-Rass با افزودن Polysorbate 80 به عنوان سورفاکتانت به محلول‌های شستشو دهنده کانال، کشش سطحی این محلول‌ها را ۲۰ - ۱۵ درصد کاهش دادند (۲۴). Cunningham و همکاران نیز نشان دادند که اضافه کردن الکل سبب کاهش کشش سطحی و افزایش قابلیت نفوذ محلول‌های شستشو دهنده کانال می‌شود (۲۵).

حداقل زمان لازم برای تاثیر هیدروکسید کلسیم در این مطالعه یک هفته در نظر گرفته شده است. با مقایسه نتایج زمان‌های ۵ دقیقه و ۴۸ ساعت برای کارواکرول با نتایجی که هیدروکسید کلسیم در یک هفته به دست آورده است، می‌توان بیان نمود کارواکرول در مقایسه با هیدروکسید کلسیم در زمان‌های کوتاه‌تری می‌تواند اثرات ضد میکروبی مناسب خود را اعمال نماید. با این حال تفاوت آماری معنی‌داری در مورد اثر ضد میکروبی این مواد در زمان‌های مختلف آزمایش و لایه‌های مختلف عاج نشان داده نشد. در مطالعه جهانگیری نیز نشان داده شد که کارواکرول ۹۴ درصد در حذف کامل باکتری انتروکوکوس فکالیز از فضای کانال ریشه در زمان ۴۸ ساعت موثر است (۲۳). در مطالعه حاضر از کارواکرول با همان غلظت ۹۴ درصد کارخانه سازنده استفاده شد.

براساس نتایج تحقیق Safavi و همکاران در شرایط بدن انسان، حداکثر عمق نفوذ انتروکوکوس فکالیز به داخل توبول‌های عاجی ۳۰۰ میکرون (به طور معمول ۵۰-۱۰۰ میکرون) بود (۲۶). در مطالعه فعلی، کارواکرول

در لایه داخلی عاج (تا عمق ۲۰۰ میکرون) در همه زمان‌های آزمایش شده در ۱۰۰ درصد موارد قادر به حذف انتروکوکوس فکالیز بود، ولی در لایه میانی عاج (تا عمق ۴۰۰ میکرون) درصد حذف انتروکوکوس فکالیز کاهش پیدا کرده بود. می‌توان نتیجه گرفت که کارواکرول تا عمق ۲۰۰ میکرونی عاج قادر به نفوذ کامل می‌باشد و تا عمق ۴۰۰ میکرونی کمی از قدرت نفوذ آن کاهش می‌یابد. شاید بتوان با کاهش کشش سطحی بر این مشکل نیز فائق آمد.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان بیان نمود:

- کارواکرول و هیدروکسید کلسیم را به عنوان داروی داخل کانال مناسب طی درمان ریشه می‌توان پیشنهاد نمود.

- کارواکرول در مقایسه با هیدروکسید کلسیم در زمان‌های کوتاه‌تری می‌تواند اثرات ضد میکروبی مناسب خود را اعمال نماید.

- اثر ضد میکروبی کارواکرول و هیدروکسید کلسیم روی انتروکوکوس فکالیز در لایه‌های مختلف عاج و زمان‌های مختلف آزمایش شده از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت تامین هزینه‌های این طرح تقدیر و تشکر می‌گردد. این مقاله منتج از پایان‌نامه دکترای دندانپزشکی به شماره ۴۱۸ می‌باشد.

References

1. Samadi N, Zaree R, Bakhtiar H, Salehnia A, Azimi S. Comparative antibacterial efficacy of endemic satureja khuzistanica jamzad essential oil, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate solutions as root canal irrigations. Dent Res J (Isfahan) 2011; 8(1): 28-32.
2. Ferreira NS, Martinho FC, Cardoso FG, Nascimento GG, Carvalho CA, Valera MC. Microbiological profile resistant to different intracanal medications in primary endodontic infections. J Endod 2015; 41(6): 824-830.
3. Marickar RF, Geetha RV, Neelakantan P. Efficacy of contemporary and novel Intracanal

- medicaments against enterococcus faecalis. J Clin Pediatr Dent 2014; 39(1): 47-50.
4. Afkhami F, Pourhashemi SJ, Sadegh M, Salehi Y, Fard MJ. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles as a vehicle for calcium hydroxide medicament against Enterococcus faecalis. J Dent 2015; 43(12): 1573-1579.
 5. Dianat O, Saedi S, Kazem M, Alam M. Antimicrobial Activity of Nanoparticle Calcium Hydroxide against Enterococcus Faecalis: An In Vitro Study. Iran Endod J 2015; 10(1): 39-43.
 6. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. Int Endod J 2003; 36(4): 267-275.
 7. Stojanović N, Krunić J, Popović B, Stojičić S, Zivković S. Prevalence of Enterococcus faecalis and Porphyromonas gingivalis in infected root canals and their susceptibility to endodontic treatment procedures: a molecular study. Srp Arh Celok Lek 2014; 142(9-10): 535-541.
 8. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. Aust Dent J 2007; 52(2): 118-121.
 9. Aguiar AS, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G, Leonardo RT, Tanomaru-Filho M. Antimicrobial Activity and pH of Calcium Hydroxide and Zinc Oxide Nanoparticles Intracanal Medication and Association with Chlorhexidine. J Contemp Dent Pract 2015; 16(8): 624-629.
 10. Jorge KM, de Carvalho RF, Vieira VL, Gabardo MC, Gonçalves LM, Deonizio MD. Calcium Hydroxide Dressing Influences the Obturation of Simulated Lateral Canals. J Contemp Dent Pract 2015; 16(6): 468-473.
 11. Rödiger T, Hirschleib M, Zapf A, Hülsmann M. Comparison of ultrasonic irrigation and RinsEndo for the removal of calcium hydroxide and Ledermix paste from root canals. Int Endod J 2011; 44(12): 1155-1161.
 12. Sahrarou A, Mirjalili MH, Corchete P, Babalar M, Fattahi Moghadam MR. Establishment and characterization of a Satureja khuzistanica Jamzad (Lamiaceae) cell suspension culture: a new in vitro source of rosmarinic acid. Cytotechnology 2015. [Epub ahead of print]
 13. Nosrat A, Bolhari B, Sharifian MR, Aligholi M, Mortazavi MS. The effect of Carvacrol on Enterococcus faecalis as a final irrigant. Iran Endod J 2009; 4(3): 96-100.
 14. Honório VG, Bezerra J, Souza GT, Carvalho RJ, Gomes-Neto NJ, Figueiredo RC, et al. Inhibition of Staphylococcus aureus cocktail using the synergies of oregano and rosemary essential oils or carvacrol and 1,8-cineole. Front Microbiol 2015; 6: 1223.
 15. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A, Farsam H, Dehpour AR. An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of Satureja khuzistanica Jamzad extract. J Pharm Pharm Sci 2005; 8(1): 102-106.
 16. Estrela C, Rodrigues de Araújo Estrela C, Bammann LL, Pecora JD. Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. J Endod 2001; 27(12): 720-723.
 17. Siqueira JF Jr, De Uzeda M, Fonseca ME. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. J Endod 1996; 22(6): 308-310.
 18. Sukawat C, Srisuwan T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin

- infected with *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2002; 28(2): 102-104.
19. Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res* 1982; 61(2): 435-438.
 20. Pereira JV, Bergamo DC, Pereira JO, França Sde C, Pietro RC, Silva-Sousa YT. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. *Braz Dent J* 2005; 16(3): 192-196.
 21. Bassole IHN, Nebie R, Savadogo A, Ouattara CT, Barro N, Traore SA. Composition and antimicrobial activities of the leaf and flower essential oils of *Lippia chevalieri* and *Ocimum canum* from Burkina Faso. *African J of Biotech* 2005; 4(10): 1156-1160.
 22. Basrani B, Tjäderhane L, Santos JM, Pascon E, Grad H, Lawrence HP, et al. Efficacy of chlorhexidine- and calcium hydroxide-containing medicaments against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96(5): 618-624.
 23. Jahangiri F. An in vitro comparison of antimicrobial efficacy of Carvacrol, Chlorhexidine and Calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in root canals of teeth. [Thesis] Qazvin: Faculty of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences; 2007.
 24. Abou-Rass M, Patonai FJ Jr. The effects of decreasing surface tension on the flow of irrigating solutions in narrow root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53(5): 524-526.
 25. Cunningham WT, Cole JS 3rd, Balekjian AY. Effect of alcohol on the spreading ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 54(3): 333-335.
 26. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 1990; 16(5): 207-210.