مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
سال سوم- شماره‌ی سوم و چهارم- پاییز و زمستان ۱۳۸۱
صفحه های ۶۱ تا ۶۹

مقایسه‌ی اثر سه تمیز کننده بر روی میکروارگانیزم‌های دست دندان

دکتر مهرو وجدانی *
آقای جمشید کهن طب **
دکتر ندا نجابت حقیقی ***

چکیده

پلاک دست دندان عاملی مهم در ایجاد بیماری استوماتیت دست دندانی است. برای جلوگیری از اثرات ویرانگر ناشی از انباشت پلاک بر روی مخاط دهان، تمیز نگاه داشتن پروتز بایسته است. دندانپزشک باید با تأکید بر آموزش بیمار و دندانپزشکی پیشگیری، بتواند تمیز کننده‌ای را به فرد معرفی کند، که در عین حال که سلامت او را تهدید نمی کند، بر مواد سازنده‌ی پروتز اثر ویرانگر نداشته باشد. در این بررسی، اثر سه تمیز کننده‌ی شیمیایی (پلی دنت، هیپوکلریت سدیم و سرکه)، در دو مرحله، بر روی باکتری‌های هوازی، بی هوازی و قارچ‌ها مقایسه گردید. برای این منظور، شمار ۱۰ عدد دست دندان فک بالای افراد ۵۳ تا ۷۵ سال بررسی گردید. در مرحله‌ی اول، روش‌های گند زدایی کننده‌ی گوناگون در شرایط بالینی آزمایش شد. در مرحله‌ی دوم ، اثر تمیزکننده‌ها بر روی محیط کشت خالص قارچ کاندیدا آلبیکنس ارزیابی گردید. یافته‌های این بررسی به شرح زیراست: ۱- پلی دنت مؤثرترین ماده برای گند زدایی دست دندان است. ۲- هیپوکلریت سدیم و سرکه، در از میان بردن باکتری‌ها مؤثر هستند؛ اما توانایی حذف کاندیدا آلبیکنس دست دندان را ندارند. ۳- گرچه سرکه در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند قارچ‌ها را از میان ببرد، اما در شرایط بالینی اثری همانند را نشان نمی دهد.

واژگان کلیدی: تمیزکننده‌ی دست دندان، میکروارگانیزم، کاندیدا آلبیکنس

*** استادیار گروه پروتزهای دندانی دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز**
**** استادیار گروه باکتری و ویروس شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز**
***** استادیار گروه پروتزهای دندانی دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز**

مقدمه

قرار دادن دست دندان متحرک تغییراتی زیاد را در محیط دهان ایجاد می‌کند، که ممکن است اثراتی ویرانگر بر سلامت دهان داشته باشد[1]. در بررسی‌هایی که بر روی شماری زیاد از بیماران انجام گرفته، مشاهده شده است که علت تحلیل استخوان را نمی توان به گونه‌ای رضایت بخش با توضیحاتی، چون آتروفی عدم استعمال (Disuse Atrophy)، افزایش سن و فشارهای متناوب توجیه کرد. گرچه بیماری‌های ارگانیک و سوء تغذیه ممکن است سرعت ویرانی را بیشتر کند، اما امروزه پنداشته می‌شود که تغییر در محیط زیست باکتری‌های دهان بی‌دندان که در اثر بهداشت ضعیف ایجاد می‌گردد، عامل بسیار مهم در تحلیل استخوان باشد. مطلبی که همه‌ی پژوهشگران دربارهٔ آن دارای دیدگاهی همسان هستند، این است که بیمارانی که به دلیل مهار پلاک ضعیف، دندان‌های خود را ازدست داده اند، در وضعیت بی دندانی، در برابر خطر بیشتر تحلیل استخوان قرار دارند. برخی پژوهشگران این حالت را بیماری پریودنتال بیماران بی دندان می‌نامند. به راستی باکتری‌ها تمایل دارند تا بر روی سطح دست دندان گرد آیند و دست دندان نقش دندانی طبیعی را به عنوان حامل پلاک بازی می‌کند و در نتیجه باعث تحلیل استخوان و تغییرات بافت نرم می‌شود [2]. افزون بر آن، پلاک و رنگ‌های ناشی از تجزیه‌ی مواد غذایی و استعمال دخانیات باعث بوی بد دهان و معمولاً چهره‌ای نازیبا می‌شود[3]. بنابراین رعایت بهداشت دست دندان برای برطرف کردن پلاک و جلوگیری از تشکیل دربارهٔ آن الزامی است.

مواد و روش پژوهش

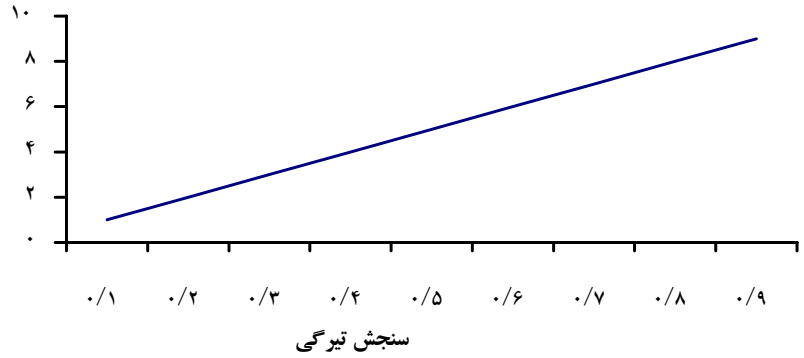
شمار ۱۰ نفر از افرادی که از دست دندان کامل فک بالا و پایین استفاده می‌کردند، با میانگین سنی ۶۶ سال برگزیده شدند. این افراد به بیماری‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی و بیماری‌های ناتوان کننده (Debilitating) مبتلا نبوده و تحت درمان با پادزیست با طیف گسترده، شیمی درمانی و پرتو درمانی قرار نداشتند. دست دندان فک بالای این افراد، در چهار مرحله، در آب مقطر و سه تمیز کننده‌ی دست دندان گذاشته می‌شد. علت برگزیدن دست دندان فک بالا، سطح تماس زیاد با بافت دهان، تجمع بزاق و وجود خلاء بود که امکان رشد باکتری‌های بی‌هوازی را افزایش می‌دهد. تمیز کننده‌ها شامل سرکه (اسید استیک ۲/۵ درصد)، سفید کننده‌ی خانگی (هیپوکلریت سدیم ۱/۶ درصد) و قرص پلی دنت بود. برای این منظور، از ظرف‌های زنگ نزن در بسته‌ی استریل استفاده می‌شد. انتقال دست دندان با دستکش استریل انجام می‌گرفت.

در مرحله‌ی نخست از ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل، به عنوان گروه کنترل استفاده می‌شد. دست دندان فک بالا، پس از شستن با آب و مسواک، در ظرف دارای آب مقطر استریل گذاشته می‌شد. پس از ۱۲ ساعت، دندان بیرون آمده و آب مقطر مورد آزمایش‌های باکتری شناسی قرار می‌گرفت. در بخش دوم پژوهش، دست دندان در ظرف دارای ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل همراه با یک قرص پلی دنت، به مدت پنج دقیقه (بر پایه‌ی سفارش کارخانه‌ی سازنده) گذاشته می‌شد. پس از این مدت، دندان بیرون آورده شده و همانند مرحله‌ی نخست انجام می‌شد. در بخش سوم، دست دندان در ظرف دارای ۱۰۰ میلی

لیتر اسید استیک ۲/۵ درصد استریل به مدت ۲۰ دقیقه گذاشته می‌شد و سپس آزمایش‌های باکتری شناسی بر روی آن تکرار می‌شد. در بخش چهارم، همانند دو مرحله‌ی پیشین انجام می‌گرفت؛ با این تفاوت که از هیپوکلریت سدیم پنج درصد که به نسبت ۱:۳ با آب مقطر رقیق شده بود به مدت ۲۰ دقیقه استفاده می‌شد. در آزمایشگاه هر ظرف دارای آب مقطر و مواد کشنده‌ی باکتری به دو منظور بررسی می‌گردید:

۱- تعیین کل جمعیت میکروبی موجود در یک میلی لیتر مایع مورد آزمایش (Colony Forming Unit (CFU))

۲- تعیین گونه‌های مختلف باکتری‌ها برای مشخص کردن شمار باکتری‌ها (CFU) ، از روش تعیین سنجش تیرگی ((Optical Density (O.D.) و مقایسه‌ی آن با یک استاندارد مشخص، استفاده شد. استاندارد استفاده شده لوله‌های مک فارلند بودند، که بر پایه‌ی جدول شماره‌ی ۱ با استفاده از اندازه‌های گوناگون از سولفات باریم و اسید سولفوریک فراهم شدند. این لوله‌ها از ۰/۵ تا ۱۰ شماره گذاری شدند. تیرگی هر لوله برابر شماری معین باکتری است[۴]. از لوله‌ی شماره‌ی ۰/۵، رقت‌هایی گوناگون فراهم و سنجش تیرگی (OD) آن در طول موج ۴۲۰ نانومتر تعیین شد و منحنی مربوطه رسم گردید. از آب مقطر دارای مواد ضد میکربی، که دست دندان به مدت ۱۲ ساعت در آن گذاشته شده بود، نیز OD خوانده شد و با منحنی استاندارد مقایسه و میزان شماره‌ی باکتری‌ها تعیین گردید (نمودار شماره‌ی ۱).



نمودار شماره‌ی ۱: *منحنی استاندارد برای تعیین جمعیت کل میکربی به وسیله‌ی دستگاه Spectornic 20 با طول موج ۴۲۰ نانومتر*

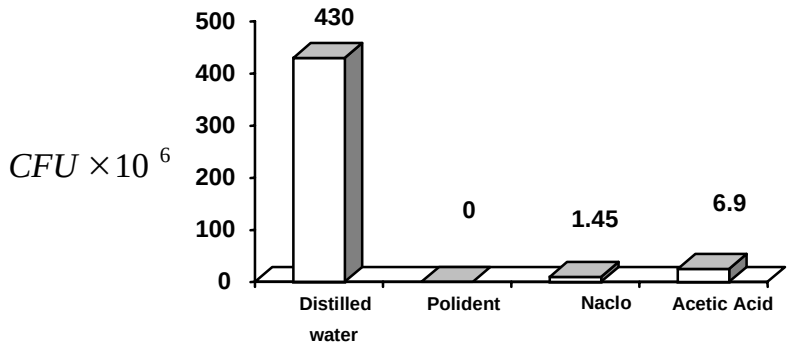
جدول شماره‌ی ۱: *استانداردهای کدورت سنج مک فارلند*

شماره‌ی لوله	۰/۵	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
کلرید باریم (میلی لیتر)	۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	۰/۳	۰/۴	۰/۵	۰/۶	۰/۷	۰/۸	۰/۹	۱
اسید سولفوریک (میلی لیتر)	۹/۹۵	۹/۹	۹/۸	۹/۷	۹/۶	۹/۵	۹/۴	۹/۳	۹/۲	۹/۱	۹
تخمین تراکم سلولی (میلی لیتر / $10^8\times$)	۱/۵	۳	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۸	۲۱	۲۴	۲۷	۳۰

۲- برای جداسازی و شناسایی باکتری‌ها، از مایعی که دست دندان در آن گذاشته شده بود بر روی محیط‌های Blood Agar Plate، Muller Hinton Agar و Thioglycolate کشت داده و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد، به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. برای شناسایی قارچ کاندیدا، از محیط کشت Saboroud Dextrose Agar استفاده شد. برای تشخیص باکتری‌ها، افزون بر شکل شناسی (Morphology) کولونی‌ها، فراهم آوردن اسمیر آزمایش‌های تخمیر قندها و آزمایش‌های آنزیمی، مانند Catalase، Coagulase، Dnase (در مورد استفیلو کوک‌ها)، Oxidase (در مورد Neisseria)، Optochin test (درمورد S.pneumonia) بر پایه‌ی روش‌های استاندارد شده انجام گرفت. برای جداسازی باکتری‌های بی‌هوازی از Anaerobicjar و Gas pack استفاده شد. برای تعیین توانایی هر تمیز کننده در از میان بردن قارچ کاندیدا آلبیکنس، آزمایش Disk diffusion انجام گرفت. به این ترتیب که دیسک‌های کاغذی فراهم شده از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی یک (Wattman # 1) آغشته به آب مقطر و سه تمیز کننده به مدت ۷۲ ساعت بر روی محیط کشت قارچ کاندیدا قرار داده شد و پس از این مدت منطقه‌ی رشد نکرده‌ی (zone of inhibition) پیرامون دیسک‌ها اندازه گیری می‌شد.

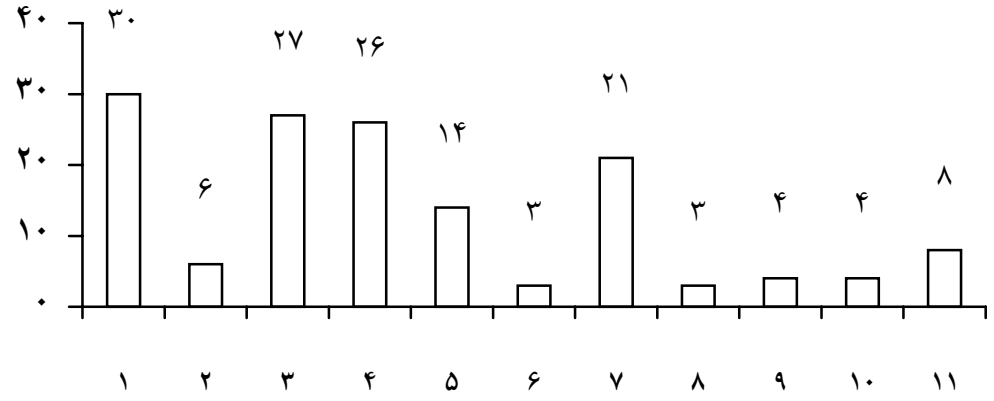
یافته‌ها

پس از شمارش میکروارگانیزم‌های موجود در هر میلی‌لیتر آب‌مقطر، استفاده‌نکردن از تمیزکننده با میانگین CFU $۴/۳\times۱۰^{۸}$ بیشترین میزان را تشکیل می‌داد. پس از استفاده از هر تمیز کننده، شمار کل میکروارگانیزم‌ها به میزانی چشمگیر کاهش نشان می‌داد، به‌گونه‌ای که میانگین کل پس از استفاده از اسیداستیک و هیپوکلریت‌سدیم، به‌ترتیب CFU $۰/۰۶۹\times۱۰^{۸}$ و CFU $۰/۰۱۴۵\times۱۰^{۸}$ را نشان می‌داد. شمار باکتری‌ها پس از استفاده از پلی‌دنت به صفر رسیده‌بود. برای مقایسه‌ی اثر هر یک از مواد از آزمون آماری Analysis of Variance و Wilcoxon-Matched-Pairs (Single Rankes) استفاده شد، که با P-value کمتر از ۰/۰۱ معنی‌دار بود. به‌این ترتیب ماده‌ی پلی‌دنت بیشترین اثر را درازمیان بردن میکروارگانیزم‌ها نشان می‌داد و هیپوکلریت‌سدیم و سرکه به‌ترتیب در رده‌های بعدی جا می‌گرفتند.



نمودار شماره‌ی ۱: *مقایسه‌ی میانگین میکروارگانیزم های شمارش شده پس از استفاده سه تمیز کننده*

پس از کشت میکروارگانیزم‌ها و انجام آزمایش‌های مورفولوژیک، آنزیمی و بیوشیمیایی تشخیص پایانی داده شد. گونه‌های میکروارگانیزم مشاهده شده در آب مقطر عبارت بودند از: Veillonella Spp ، Streptococcus Viridance، Neisseria Spp،Diphtheroides Spp، Staphylococcuspidermidis،CandidaAlbicans و Lactobacilli Spp،Streptococcus Pneumonia، Fusifrom Bacilli، که از این میان Streptococci viridance در همه‌ی موارد مشاهده شده بود و کاندیدا در ۱۰ درصدموارد دیده شده بود. پس‌ازاستفاده از تمیزکننده‌ی سرکه، Streptococcusviridance در ۳۰ درصد موارد Staphylococcus Epidermidis در ۱۶درصد، کاندیدا در ۱۰ درصد و دیفتروئید در ۶ درصد موارد مشاهده شد (نمودار شماره‌ی ۲). باکتری‌هایی که پس از استفاده از هیپوکلریت سدیم توانایی رشد داشتند عبارت بودند از Streptococcus viridance و ارگانیزم‌هایی که هر یک، ۱۰ درصد موارد مشاهده شده را در بر می‌گرفتند. کشت آب مقطر، پس از استفاده از تمیز کننده‌ی پلی‌دنت، هیچگونه رشدی را نشان نداده بود. در آزمایش Disk diffusion، پس از گذشت زمان مورد نظر، منطقه‌ی رشد نیافته‌ی پیرامون ماده‌ی پلی دنت از همه بیشتر و پس از آن، به ترتیب سرکه، هیپوکلریت سدیم و آب مقطر جا می‌گرفتند. پیرامون آب مقطر جا می‌گرفتند. پیرامون آب مقطر، منطقه‌ی رشد نیافته مشاهده نگردید. قطر منظم رشد نیافتگی، رابطه‌ای مستقیم با حساسیت ضد میکروبی نشان می‌داد.



1. Streptococcus Viridance
2. Veilonella Spp
3. Diphtheroides Spp
4. Neisseria Spp
5. Bacteroides Spp
6. Candida albicans
7. Staphylococcus Epidermidis
8. Staphylococcus Pneumonia
9. Peptostreptococci
10. Lactobacill Spp
11. Fusiform bacilli

نمودار شماره‌ی ۲: *فراوانی گونه‌های میکروارگانیزم مشاهده شده در آب مقطر*

نتیجه‌گیری

با توجه به آزمایش‌های انجام گرفته در این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که: ۱- ماده‌ی تمیز کننده‌ی پلی دنت دارای توان بسنده برای توقف رشد باکتری‌ها و کاندیدا آلبیکنس موجود در سطح دست دندان است. به گونه‌ای که می‌توان آن را برای افرادی پیشنهاد کرد که به استوماتیت دست دندان همراه با قارچ کاندیدا دچار هستند. در ضمن، به دلیل اثری چشمگیر که در از میان بردن باکتری‌ها دارد، می‌تواند در افراد مبتلا به نقص دستگاه ایمنی که احتمال بروز عفونت‌های خطرناک وجود دارد بسیار مؤثر باشد. ۲- ماده‌ی هیپوکلریت سدیم (۱/۶ درصد)، با وجود کاهش چشمگیر رشد باکتری، رشد قارچ کاندیدا را نمی تواند متوقف کند. بنابراین در یک فرد سالم که به عفونت کاندیدا دچار نباشد، می‌تواند به عنوان ماده‌ی گند زدایی مناسب به کار رود. ۳- سرکه (۲/۵ درصد) رشد باکتری‌ها را در میزانی پذیرفتنی متوقف می‌کند، اما در بررسی بالینی بر روی رشد قارچ کاندیدا اثری نشان نداده است. البته در بررسی‌های آزمایشگاهی به میزانی چشمگیر در محیط کشت قارچ منطقه رشد نیافته ایجاد می‌کند. این ماده را می‌توان در یک فرد سالم، به عنوان ماده‌ی گندزدا با اثرکمتر به کار برد.

بحث

در این بررسی، سه تمیز کننده‌ی دست دندان شامل پلی دنت، هیپو کلریت سدیم و سرکه از نظر اثر بر روی میکرو ارگانیسم‌های گوناگون دست دندان مقایسه شدند. این بررسی نشان داد که هر سه به میزانی رضایت بخش جمعیت میکروبی را کاهش دادند. این کاهش، در باره‌ی ماده‌ی پلی دنت، ۱۰۰ درصد، هیپو کلریت سدیم ، ۹۹/۶ درصد و سرکه، ۹۸/۳ درصد بود. T.C. Moor [۴] و همکاران در سال ۱۹۸۴، در مقایسه‌ی اثر چند تمیز کننده‌ی دست دندان تجاری، مانند پودر پلی دنت (Miller) میلر را با میزان کاهش ۹۹/۳ درصد جمعیت باکتری‌های هوازی و بی هوازی، مؤثرترین تمیز کننده معرفی کردند و به همین ترتیب کلورکس (Clorex) با ۹۸ درصد کاهش و پلی دنت با ۹۶/۸ درصد، در رده‌های بعدی جا گرفتند. در این بررسی، علت اثر بیشتر میلر وجود Sodium lauryle sulfate بیان شده بود، که در نمونه‌های جدید پلی دنت نیز از این ماده استفاده می شود. یکی از مسایلی که به ویژه در بررسی‌های سه دهه‌ی اخیر به آن توجه شده است، استفاده از آنزیم‌ها در فرمول شیمیایی تمیزکننده‌هاست . شماری از پژوهشگران [۶،۷و۸]، در بررسی‌های خود نشان دادند که تمیز کننده‌های دارای آنزیم کیفیتی بالاتر از نظر حذف پلاک دارند. در نمونه‌ی جدید پلی دنت، از آنزیم پروتئناز بهره برداری شده است. همان گونه که بیان شد Moor و همکاران، توان کاهش جمعیت میکروبی به وسیله‌ی Clorex (هیپو کلریت سدیم) را ۹۸ درصد بیان کردند، که با نتیجه‌ی ۹۹/۶ درصد که در این پژوهش به دست آمده، نزدیک است. مطالعات گوناگونی درباره‌ی اثر هیپوکلریت سدیم و انواع تمیز کننده‌های تجاری انجام گرفته است [۹،۱۰و۱۱] ، که هیپوکلریت سدیم را بهترین ماده برای حل کردن پلاک معرفی کردند. به دلیل این که ماده‌ی هیپوکلریت سدیم خاصیت رنگ زدایی و سفید کنندگی بر روی رزین آکریلی دارد، در این طرح کوشش شده است تاکمترین درصد هیپوکلریت سدیم پیشنهادی در بررسی‌های پیشین که اثر کافی دارد

انتخاب شود. بنابراین، علت اثر بیشتر این ماده نسبت به تمیز کننده‌های تجاری، که در بررسی‌های پیشین عنوان شده است، بالاتر بودن درصد این ماده است. در بیشتر پژوهش‌ها این میزان ۵ درصد در نظر گرفته شده است. در بررسی‌های کنونی، غلظت ۱:۳ این میزان بود. در مورد اثر سرکه بر روی میکروارگانیزم‌های دست دندان گزارشی مشاهده نشده است. البته در برخی بررسی‌ها این ماده به عنوان اسید، در از میان بردن جرم‌های دست دندان معرفی می‌شود. باکتری‌هایی که پس از استفاده از هیپو کلریت سدیم توانایی رشد داشتند عبارت بودند از Streptococcus viridance و Candida albicans که هریک، ۱۰ درصد موارد مشاهده شده را در بر میگرفتند. کشت آب مقطر، پس از استفاده از تمیز کننده‌ی پلی دنت هیچگونه رشدی را نشان نداده بود. در آزمایش Disk diffusion ، پس از گذشت زمان مورد نظر، منطقه رشد نیافته‌ی اطراف ماده‌ی پلی دنت از همه بیشتر و پس از آن، به ترتیب سرکه، هیپو کلریت سدیم و آب مقطر جا می‌گرفتند. پیرامون آب مقطر، منطقه‌ی رشد نیافته مشاهده نگردید. قطر منظم رشد نیافتگی رابطه‌ای مستقیم با حساسیت ضد میکروبی نشان می‌داد.

سپاسگزاری

هزینه‌ی اجرای این طرح از سوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی فراهم گردیده، که به این وسیله از آن معاونت محترم سپاسگزاری می‌نماید. به این وسیله از زحمات آقای محسن حسینی فرزاد، کارشناس میکروب شناسی، که در اجرای بخشی از این طرح همکاری کرده‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Zarb G.A Bolender C.L, and Carlsson G. E :Boucher's prosthodontic treatment for edentulous patient 11ed. 1997; 30-35.
2. Penhall B. Preventive measures to Control further bone loss and soft tissue damage in denture wearing, Austral. Dent J.25, 1980; 319-324.
3. Altman M.D, and pitts G: A spectrofluoro metric protein assay of plaque on dentures and of denture cleaning efficacy J. prosthet. Dent. 1979; 42.502-566.
4. Baily and scott: Diagnostic Microbiology 8ed, 1986;158-171.
5. Moor. T.C Smith D.E, and Kenny G.E. Sanitization of dentures by several denture hygien methods. J. prosthet Dent 52, 1984;150-63.
6. Minagi S, Tsunoda. T, Yoshida. K and Tsuro. H: Objective testing of the efficacy of denture-cleansing agents. J prosthet. Dent.58, 1987; 595-598.
7. Connor. J.N.E , Schoenfeld.C.M, and Taylor R.L :An evaluation of an enzyme denture cleanser, J. Prosthet. Dent. 37, 1977;147-157
8. Ghalichebals. M, Grasen. G.N. and Zaneler. H.A: The efficacy of denture-cleaning agent, J prosthet Dent. 48; 515-520. 1982
9. Nicholson. R. J. Stark M.M, and scott. H. E: calculus and stain removal from acrylic resin dentures, J. prosthet Dent. 20, 1968; 326-329.
10. Jappr D.C, and Harrison. A: Denture cleansing-the best approach. Br. Dent. J. 178,1995;413-417.

Abstract

Comparision of the Effect of Three Denture Cleansers on Prosthetic Microorganisms.

M. Vojdani, DMD, MScD
Assistant Professor of Prosthodontic Department, School of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences.
J. Kohanteb, PhD
Assistant Professor of Macrobiolojy Department, Shiraz University of Medical Sciences.
N. Negabat, DMD, MScD
Assistant Professor of Prosthodontic Department, School of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences.

Denture plaque is an important factor in the pathogenesis of denture stomatitis. Denture cleanliness is essential to prevent accumulation of plaque with its deleterious effects on the mucosa. With emphasis on patient education and preventive dentistry, a dentist must be able to recommend a denture cleanser that is effective, non deleterious to denture materials, and safe for patient use. A two part study was designed to compare the efficacy of three chemical denture cleansers (Polident, Sodium hypochlorite and vinegar) in removing and/or killing aerobic, anaerobic and yeasts cells on the dentures. In the present investigation, ten upper complete dentures worn by 53-75 years of age patients were used. The dentures were placed in the mixture of strile D.W. and antibacterial agents (Polident, Naclo, Vinegar) for certain period of time and then examed for the presence of bacteria and candida albicans. The following conclusions were obtained in this study:

1. Polident was the most effective sanitizing agent.
2. Sodium hypochlorite and Vinegar were effective in killing bacterial but less effective on candida albicans.

Key words: Denture cleanser ،Microorganism ،Candida albicans