

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۹ شماره ۴ زمستان ۱۳۸۶ صفحات ۱۱۲-۱۰۹

تعیین غلظت بهینه محلول شستشوی کانال دندان تهیه شده از اسید سیتریک ، داکسی سایکلین و دترژانت جهت مهار رشد انتروکوک فکالیس

دکتر حمید رضا یآوری: استاد اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: yavarihamid@yahoo.com

دکتر شهریار شاهی: دانشیار اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر مهرداد لطفی: دانشیار اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر سعید رحیمی: دانشیار اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر سحر شکوئی: استادیار اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۸/۱۴، پذیرش: ۸۶/۴/۲۷

چکیده

زمینه و اهداف: یکی از مراحل مهم درمان ریشه، شستشوی داخل کانال می باشد. شستشوی داخل کانال یکی از راههای کم کردن جمعیت میکروبی است. از خصوصیات ایده آل یک محلول شستشوی داخل کانال، خاصیت ضد میکروبی آن است. هدف از این مطالعه تعیین غلظتهای مختلف ضد میکروبی اسید سیتریک و داکسی سایکلین در ترکیب با یک دترژانت به نام توین ۸۰ (Tween 80) علیه انتروکوک فکالیس برای بدست آوردن محلول شستشوی مناسب با خاصیت ضد میکروبی و حداقل عوارض جانبی می باشد.

روش بررسی: در مرحله اول اثر ضد میکروبی اسید سیتریک با غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درصد علیه انتروکوک فکالیس از طریق مجاورت اسید سیتریک و سوسپانسیون میکروبی تعیین شد. در مرحله بعد، از دیسک آنتی بیوگرام داکسی سایکلین به منظور تعیین اثر ضد میکروبی آن روی انتروکوک فکالیس استفاده شد. نهایتاً میزان اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف داکسی سایکلین و اسید سیتریک از طریق اندازه گیری ناحیه مهار میکروبی بر حسب میلی متر تعیین و با محلولهای رایج شستشوی کانال اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید و هیپوکلریت سدیم مقایسه گردید. ۱۲ گروه مورد آزمایش قرار گرفتند که عبارت بودند از: گروههای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ شامل اسیدسیتریک ۵ درصد و توین ۸۰ بعلاوه داکسی سایکلین به ترتیب ۱/۵، ۲/۵، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر، گروههای ۱۰، ۱۱، ۱۲ شامل اسیدسیتریک ۱۰ درصد و توین ۸۰ بعلاوه داکسی سایکلین به ترتیب ۱/۵، ۲/۵ و ۵ میلی گرم در میلی لیتر، گروه ۱۰ هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد، گروه ۱۱ EDTA ۱۷ درصد و گروه ۱۲ اسیدسیتریک ۵ درصد. برای آنالیز آماری داده ها از آزمون من ویتنی یو، کروسکال والیس استفاده شد.

یافته ها: نتایج آزمون نشان داد که اختلاف بین گروه (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹) معنی دار نبود ($P > 0.05$). بین گروه های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0.001$).

نتیجه گیری: از این مطالعه چنین بر می آید که محلولی با ترکیب ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر داکسی سایکلین هنگامی که از اسید سیتریک ۵ درصد و توین ۸۰ استفاده شود. دارای حداکثر اثر ضد میکروبی روی انتروکوک فکالیس می باشد.

کلید واژه ها: محلول ضد عفونی داخل کانال، انتروکوکوس فکالیس، داکسی سایکلین، اسید سیتریک

مقدمه

درمان موفق امری لازم می باشد. از جمله روشهای ضد عفونی کردن شستشوی کانال است. یک محلول شستشوی ایده آل باید قادر به حذف کامل لایه اسمیر با حداقل تغییرات سایشی روی عاج بوده، قدرت ضد عفونی کردن عاج و توبول های عاجی را در یک جلسه داشته باشد و اجازه نفوذ مواد آنتی باکتریال موجود در محلول را به داخل توبول های عاجی بدهد. کشش سطحی پائین، سهولت کاربرد، قدرت حلالیت بافتی و عدم تغییر رنگ دندان از دیگر ویژگی های مطلوب یک محلول شستشو دهنده است (۲). در حال حاضر روش

هدف اصلی درمان ریشه، حذف بافت بیمار و حذف میکروارگانیسم های موجود در کانال و توبول های عاجی و پیشگیری از آلودگی مجدد بعد از تکمیل درمان از طریق مهر و موم کردن سه بعدی کانال می باشد. یکی از مهمترین مراحل درمان ریشه ضد عفونی کردن کانال پیش از پر کردن آن می باشد. از جمله میکروارگانیسم های بارز در دندان هایی که درمان ریشه در آنها با شکست مواجه شده است انتروکوک فکالیس می باشد (۱). بنابراین ضد عفونی کردن و از بین بردن این میکروب برای دستیابی به یک

- ۳- اسید سیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۵ mg/ml
- ۴- اسید سیتریک ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml
- ۵- اسید سیتریک ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۲/۵ mg/ml
- ۶- اسید سیتریک ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۵ mg/ml
- ۷- اسیدسیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۱۵ mg/ml (اشباع)
- ۸- اسیدسیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۲۵ mg/ml
- ۹- اسیدسیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۵۰ mg/ml
- ۱۰- EDTA
- ۱۱- هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد
- ۱۲- اسیدسیتریک ۵ درصد.

میزان اثر ضد میکروبی این ۱۲ محلول از طریق اندازه گیری ناحیه مهار شده میکروبی روی پلیت ها تعیین شد. پلیت های حاوی بلاداگار توسط سوسپانسیون میکروبی تلقیح شدند. روی هر پلیت ۲ دیسک از کاغذ صافی Beckman (Merck/Germany) با قطر ۶ میلی متر قرار داده شد. در هر پلیت دیسک اول برای محلول آزمون و دیسک دوم به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. به این ترتیب که توسط میکروبیوت روی دیسک اول ۲۰ میکرو لیتر از محلول آزمون و روی دیسک دوم ۲۰ میکرو لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شد. برای هر محلول آزمون این کار ۱۰ بار تکرار شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت ناحیه مهار شده میکروبی توسط خط کش شفاف بر حسب میلی متر اندازه گیری و ثبت شد. داده ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند و محلول های فوق از نظر میزان اثر باهم مقایسه شدند. از آزمون Mann - Kruskal- U برای مقایسه دو بدوی محلول ها و آزمون Wallis برای مقایسه چندگانه محلول ها استفاده شد.

یافته ها

در مرحله اول، در هیچ کدام از لوله های حاوی اسید سیتریک رشد میکروبی مشاهده نشد. در پلیتی که روی آن دیسک آنتی بیوگرام داکسی سایکلین استفاده شده بود هاله ای به قطر ۲۵ mm اطراف دیسک تشکیل شد این هاله نشان دهنده منطقه مهار میکروبی است. مرحله بعدی میزان اثر ضد میکروبی در گروه های مورد مطالعه از طریق اندازه گیری ناحیه مهار میکروبی بر حسب میلی متر تعیین شد که در جدول گروه های مطالعه، میانگین ناحیه مهار میکروبی، انحراف استاندارد و تعداد نمونه ها در هر گروه آمده است. برای مقایسه دو به دوی محلولها از آزمون Mann Whitney U استفاده

رایج برای شستشو و حذف لایه اسمیر کانال استفاده متناوب از هیپوکلریت سدیم و اتیلین دی آمین ترا استیک اسید می باشد (۳). از جمله محلولهای شستشو که اثرات برداشت لایه اسمیر و ضد میکروبی را توأمآ دارا بوده و خوردگی کمتری در عاج ایجاد می کند مخلوطی از یک ایزومر تتراسایکلین - داکسی سایکلین - اسید سیتریک و یک دترژانت بنام Poly oxethylene sorbitan monooleate (توپین ۸۰) می باشد که توسط ترابی نژاد معرفی شده است (۴). نظر به اینکه تا کنون مطالعه ای در مورد اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف اسید سیتریک در این ترکیب انجام نگرفته است، هدف از این مطالعه تعیین اثر ضد میکروبی ترکیب اسید سیتریک و داکسی سایکلین در غلظت های مختلف با توپین ۸۰ و مقایسه آن با میزان اثر ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم و EDTA ، رایجترین محلول ها جهت شستشو و حذف لایه اسمیر، می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه در چند مرحله انجام گرفت. ابتدا اثر ضد میکروبی اسید سیتریک با غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درصد تعیین شد. بعد از تهیه محلولهای اسید سیتریک با غلظتهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درصد با استفاده از پودر خالص اسید سیتریک (Merck/Germany) و آب مقطر در ۱۰ لوله آزمایش که هر کدام حاوی ۱ میلی لیتر مایع محیط کشت تری پیتکاز سوی برات (Merck/Germany) بود ۱ میلی لیتر از اسید سیتریک ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درصد اضافه شد. از رشد ۲۴ ساعته انتروکوک فکالیس (۱۲۳۷ PTCC - مؤسسه پژوهش های علمی صنعتی - تهران - ایران) سوسپانسیونی به رقت لوله ۰/۵ مک فارلند (۴) با سرم فیزیولوژی تهیه شده و به هر کدام از ۱۰ لوله آزمایش ۱۰۰ میکرو لیتر اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. بعد از ۲۴ ساعت لوله ها از لحاظ داشتن کدورت بررسی شدند. در این مرحله بعنوان کنترل مثبت در یک لوله آزمایش حاوی ۲ میلی لیتر TSB ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون میکروبی اضافه کرده و انکوبه کردیم. برای تعیین اثر ضد میکروبی داکسی سایکلین روی محیط کشت بلاداگار Merck (64271 Darmstadt, Germany) سوسپانسیون میکروبی تلقیح شد و یک عدد دیسک آنتی بیوگرام داکسی سایکلین (۳۰ میکرو گرم) روی آن قرار گرفت پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. نهایتاً میزان اثر ضد میکروبی چندین نوع ترکیب با غلظتهای مختلف اسید سیتریک و داکسی سایکلین تعیین شده و با میزان اثر ضد میکروبی EDTA و هیپوکلریت سدیم مقایسه گردید گروههای مورد مطالعه به ترتیب:

- ۱- اسید سیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml
- ۲- اسید سیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توپین ۸۰ و داکسی سایکلین ۲/۵ mg/ml

۱۱ (هیپوکلریت سدیم) می باشد. در مقایسه ای که بین گروه ۷ (اسید سیتریک ۵ درصد، داکسی سایکلین ۱۵ mg/ml) و گروه ۱۰ (VEDTA ۱۷ درصد) و گروه ۷ (اسید سیتریک ۵ درصد، داکسی سایکلین ۱۵ mg/ml) و ۱۱ (هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد) از نظر میزان ناحیه مهار میکروبی انجام گرفت اختلاف بین این دو گروه معنی دار بود ($P < 0/001$). گروه ۷ میزان ناحیه مهار میکروبی بالاتری نسبت به گروه ۱۰ و ۱۱ داشت.

بحث

مطالعه ای که انجام گرفت به منظور تعیین غلظت مطلوب داکسی سایکلین و اسید سیتریک در ترکیب با توین ۸۰ می باشد. مطالعات مختلفی روی این محلول انجام گرفته و همگی نشان دادند که این محلول دارای توانایی حذف لایه اسمیر از کانال و نیز ضد عفونی کردن کانال و اثرات سمی، خوردگی عاج و اثرات نامطلوب دیگر آن حداقل می باشد (۵، ۶، ۷). به نظر می رسد این محلول اکثریت ویژگیهای مورد نیاز برای یک محلول ایده آل را داشته باشد. تمام غلظت های کاربردی اسید سیتریک در این مطالعه دارای اثر ضد میکروبی علیه انتروکوک فکالیس بودند. نتایج مطالعه برخلاف نتایج Smith و Wayman می باشد (۸). در مطالعه Wayman اسید سیتریک در غلظت ۵۰ درصد و در عرض ۱۵ دقیقه تماس باعث از بین بردن ۸۰ درصد انتروکوک فکالیس های مورد آزمایش شده آنها بیان کردند خاصیت آنتی باکتریال اسید سیتریک با کاهش غلظت و زمان تماس کاسته می شود، (اسید سیتریک ۲۵ درصد در زمان ۵ دقیقه اثری روی میکروب نداشت). در مطالعه ما با وجود استفاده از غلظت های پائین تر اسید سیتریک، اثر ضد میکروبی علیه انتروکوک فکالیس مشاهده شد. نتایج متضاد احتمالاً ناشی از تفاوت در روش مطالعه باشد، ما در مطالعه خود بدون در نظر گرفتن فاکتور زمان، اسید سیتریک را در تماس مستقیم با میکروب قرار دادیم در حالی که در مطالعه Smith و Wayman فاکتور زمان دخیل می باشد. نتایج Yamaguchi که اسید سیتریک را به عنوان محلول شستشوی داخل کانال مورد ارزیابی قرار داده بود در توافق با مطالعه ما است (۹). مطالعه وی نشان داد که اسید سیتریک در غلظتهای ۱۵، ۲۵ و ۴۰ درصد خاصیت باکتریسیدال دارد. در مطالعه وی از ۱۲ نوع باکتری ایزوله شده از کانال ریشه عفونی استفاده شده بود ولی انتروکوک فکالیس در این مجموعه قرار نداشت. روش مطالعه وی دقیقاً مشابه مطالعه حاضر می باشد در هر دو این روش ها از پلیت های حاوی تریپتیکاز سوی آگار و اندازه گیری ناحیه مهار شده میکروبی استفاده شده است. همچنین Siqueira در مطالعه ای که اثرات آنتی باکتریال محلولهای شستشوی داخل کانال را بررسی نمود نشان داد که اسید سیتریک ۱۰ درصد عملکرد باکتریسیدال دارد (۱۰). در مطالعه وی نیز انتروکوک فکالیس بررسی نشده بود. داکسی سایکلین اولین بار برای حذف لایه اسمیر توسط برخوردار به کار گرفته شد (۱۱) ولی اثرات ضد میکروبی این ماده به تنهایی به عنوان محلول شستشوی داخل کانال علیه انتروکوک فکالیس تا به حال

شد. در مقایسه ای که بین گروه ۱ (اسید سیتریک ۵ درصد، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml) و گروه ۴ (اسید سیتریک ۱۰ درصد، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml) از نظر میزان ناحیه مهار میکروبی انجام گرفت اختلاف بین این دو گروه معنی دار نبود ($P = 0/436$). در مقایسه ای که بین گروه ۲ (اسید سیتریک ۵ درصد، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml) و گروه ۵ (اسید سیتریک ۱۰ درصد، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml) از نظر میزان ناحیه مهار میکروبی انجام گرفت اختلاف بین این دو گروه معنی دار نبود ($P = 0/796$). در مقایسه ای که بین گروه ۳ (اسید سیتریک ۵ درصد، داکسی سایکلین ۵ mg/ml) و گروه ۶ (اسید سیتریک ۱۰ درصد، داکسی سایکلین ۵ mg/ml) از نظر میزان ناحیه مهار میکروبی انجام گرفت اختلاف بین این دو گروه معنی دار نبود ($P = 0/436$). جدول: میانگین مناطق مهار میکروبی بر حسب میلی متر توسط محلول های مختلف در گروه های ۱ تا ۱۲

میانگین وانحراف	گروه
استاندارد ناحیه مهار میکروبی بر حسب mm	
۳۲/۴۰ ± ۲/۰۶	۱- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml
۳۷/۱۰ ± ۲/۳۳	۲- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۲/۵ mg/ml
۲۸/۴۰ ± ۱/۴۲	۳- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۵ mg/ml
۳۳/۲۰ ± ۱/۸۱	۴- اسید سیتریک ۱۰، داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml
۳۷/۳۰ ± ۲/۳۵	۵- اسید سیتریک ۱۰، داکسی سایکلین ۲/۵ mg/ml
۳۷/۹۰ ± ۱/۳۷	۶- اسید سیتریک ۱۰، داکسی سایکلین ۵ mg/ml
۴۰/۲۰ ± ۰/۶۳	۷- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۱۵ mg/ml
۴۰/۳۰ ± ۱/۴۱	۸- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۲۵ mg/ml
۴۰/۳۰ ± ۱/۳۳	۹- اسید سیتریک ۵/۵، داکسی سایکلین ۵۰ mg/ml
۲۵/۸۰ ± ۱/۲۲	۱۰- EDTA ۱۷/۱۷
۸/۹۰ ± ۱/۳۷	۱۱- هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ %
۱۱/۷۰ ± ۰/۹۴	۱۲- اسید سیتریک ۵ %

میزان اثر ضد میکروبی غلظت های مختلف داکسی سایکلین در اسید سیتریک ۵ درصد از طریق آزمون Kruskal Wallis مورد مقایسه قرار گرفت. با انجام آزمون Kruskal wallis مشخص گردید که بین گروه های مورد مطالعه (۳-۱ و ۹-۷) از نظر شاخص میزان میکروب مهار شده بر حسب میلیمتر اختلاف معنی داری وجود دارد. ($P < 0/001$). بالاترین اثر ضد میکروبی مربوط به داکسی سایکلین ۲۵ mg/ml و داکسی سایکلین ۵۰ mg/ml و کمترین اثر مربوط به داکسی سایکلین ۱/۵ mg/ml بود. در مقایسه ای که بین گروه ۷ و گروه ۸، گروه ۷ و ۹ انجام گرفت بین گروه ها از نظر شاخص میزان ناحیه مهار میکروبی بر حسب میلیمتر اختلاف معنی دار وجود نداشت ($P > 0/05$). مقایسه ای بین گروه های ۱ تا ۱۲ از نظر میزان ناحیه مهار میکروبی انجام شد که شرح آن در جدول آمده است. همانطور که از جدول بر می آید بالاترین اثر ضد میکروبی مربوط به گروه (اسید سیتریک ۵ درصد و داکسی سایکلین ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و گروه ۹ (اسید سیتریک ۵ درصد و داکسی سایکلین ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و کمترین اثر مربوط به گروه

و عملاً بی تأثیر می باشند. بدین ترتیب می توان نتیجه گرفت که غلظت مطلوب داکسی سایکلین، غلظت اشباع آن می باشد که در این غلظت حداکثر اثر ضد میکروبی به چشم می خورد و از آنجائیکه اسید سیتریک با غلظت ۵ درصد، غلظت مطلوب با اثر ضد میکروبی می باشد، غلظت پیشنهادی ما، ۱۵ mg/ml داکسی سایکلین در اسید سیتریک ۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر توین ۸۰ می باشد. در مقایسه ای که بین محلول شماره ۷ (محلول پیشنهادی) و EDTA و هیپوکلریت سدیم انجام شد نتایج نشان می دهد که این ماده به طور قابل ملاحظه ای از هر دوی این محلولها که در حال حاضر رایجترین محلولهای شستشو می باشند در از بین بردن انتروکوک فکالیس مؤثرتر می باشد و این یافته در تایید مطالعات قبلی می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به یافته ها در این مطالعه میتوان به این نتیجه رسید که محلول پیشنهادی با ترکیب: ۱۵ mg/ml داکسی سایکلین، اسید سیتریک ۵ درصد و توین ۸۰ دارای اثر ضد میکروبی علیه یک رده باکتریایی مقاوم به اکثر مواد ضد عفونی کننده داخل کانال می باشد. با توجه به محدودیت موجود در این مطالعه آزمایشگاهی که توانایی نفوذ این محلول به داخل توبولهای عاجی و عملکرد آن قابل بررسی نبود مطالعات بیشتر در این زمینه، و بررسی اثرات این محلول در داخل کانالهای عفونی ریشه باید انجام گیرد.

تقدیر و تشکر

از زحمات بی دریغ استاد ارجمند جناب آقای دکتر احمد رحمتی به جهت همکاری و مشاوره در موارد آزمایشگاهی کمال تشکر را داریم.

بررسی نشده است. در این مطالعه اثر ضد میکروبی داکسی سایکلین روی انتروکوک فکالیس به اثبات رسید. در پلیتی که روی آن از دیسک آنتی بیوگرام داکسی سایکلین استفاده شد هاله ای به قطر ۲۵^{mm} اطراف دیسک تشکیل شد که این ناحیه نشان دهنده ناحیه مهار شده میکروبی می باشد. بدین ترتیب می توان گفت که انتروکوک فکالیس نسبت به داکسی سایکلین حساس بوده و توسط این آنتی بیوتیک مهار می شود. مرحله بعد به منظور تعیین غلظت مطلوب داکسی سایکلین و اسید سیتریک در ترکیب با هم و توین ۸۰ علیه انتروکوک فکالیس انجام گرفت. با توجه به نتیجه مرحله اول که تمام غلظتهای مورد آزمایش اسید سیتریک دارای اثر ضد میکروبی بودند و نظر به اینکه غلظتهای پائین تر اسید سیتریک سمیت کمتری دارا می باشند اسید سیتریک با غلظت ۵ و ۱۰ درصد به منظور ترکیب با ۱/۵، ۲/۵ و ۵ mg داکسی سایکلین در نظر گرفته شد. نتایج مطالعه نشان داد که بین گروه ۱ و ۲، ۴ و ۵ و ۳ و ۶ تفاوت آماری معنی داری وجود ندارد. بدین ترتیب می توان نتیجه گرفت که غلظت ۵ و ۱۰ درصد (افزایش غلظت اسید) تأثیری در میزان اثر ضد میکروبی محلول ندارد. طبق نتایج مطالعه بین گروه ۱ و ۲ و نیز گروه ۱ و ۳ تفاوت معنی دار بود. یعنی با افزایش داکسی سایکلین اثر ضد میکروبی بیشتر می شود. لذا در این مرحله از ترکیب حداقل غلظت اسید سیتریک یعنی اسید سیتریک ۵ درصد با غلظتهای ۱۵ mg (غلظت اشباع)، ۲۵ mg، ۵۰ mg به منظور تعیین اثر ضد میکروبی استفاده شد. بر طبق نتایج بین گروه ۳ و ۷ تفاوت معنی دار آماری به چشم می خورد در حالیکه بین گروه ۷، ۸ و ۹، تفاوت قابل ملاحظه نمی باشد. به نظر می رسد که با افزایش غلظت داکسی سایکلین تا حد غلظت اشباع اثر ضد میکروبی محلول افزایش یافته ولی از غلظت اشباع به بعد افزایش اثر قابل ملاحظه نمی باشد. زیرا غلظتهای بالاتر از حد اشباع در محلول رسوب نموده

References

1. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; **85**: 86-93.
2. Torabinejad M, Handysides R, Khademi A, Bakland LK. Clinical implication of the smear layer in endodontic. *Oral Radiol Endod.* 2002; **94**: 658-66.
3. Spangberg L. Instrument, Materials, and Devices, Cohen S, Burns RC, *pathways of the pulp*. 8th ed. USA, Mosby, 2000; 521.
4. Torabinejad M, khademi AA, Babageli J, Cho Y, Ben Johnson w. A new Solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003; **29**: 170-5.
5. Macfaddin JF. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. 3th ed. Lippincott Williams & wilkins, 2000; 825.
6. Torabinejad M, Cho Y, khademi A, Bakland LK, shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod* 2003; **29**: 233-9.
7. Shabahang Sh, Torabinejad M. Effect of MTAD on Enterococcus faecalis contaminated root canals of extracted human teeth. *J Endod* 2003; **29**: 576-9.
8. Smith J, Wayman B. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. *J Endod* 1986; **12**: 54-8.
9. Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod* 1996; **22**: 27-9.
10. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000; **26**: 331-4.
11. Barkhordar RA, Watanabe LG, Marshall GW, Hussan MZ. Removal of intracanal smear by doxycycline invitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997; **84**: 420-3.