تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸، ۲۰۹-۲۱۴

# مقایسه پایداری میکروارگانیسم‌های فلور دهان در دو نوع ماده قالب‌گیری هیدروکلوئید غیر قابل برگشت و سیلیکون تراکمی

دکتر مریم معماریان [۱]- دکتر بهزاد ویسی [۲]

۱- استادیار گروه آموزشی پروتزهای دندانی دانشکده و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دندانپزشک

Downloaded from jida.ir at 2:06 +0430 on Friday April 27th 2018

## چکیده

***زمینه و هدف:*** *آلودگی قالبهای گرفته شده به خون و بزاق یافته‌ای شایع می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی میزان حمل و پایداری برخی از میکروارگانیسم‌های فلور میکروبی دهان بر روی قالبهای هیدروکلوئید غیر قابل برگشت و الاستومر می‌باشد.*

***روش بررسی:*** *در این مطالعه‌تجربی یک تایپودنت استریل فک‌بالا در پی غوطه‌وری در محلولی شامل $10^8$ میکروارگانیسم، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلبیکانس آلوده گشت. از تایپودنت‌های آلوده با هیدروکلوئید غیر قابل برگشت (بایر-ایرالژین) و همچنین سیلیکون تراکمی (اسپیدکس) قالب تهیه شده و بعد از شستشو با آب استریل در محیط کشت اختصاصی قرار گرفته و تعداد میکروارگانیسم‌های حمل شده شمارش شدند. در مرحله‌ای دیگر در زمانهای سی و شصت دقیقه و همچنین سه و پنج ساعت بعد از قالب‌گیری از قالبهای آلوده نمونه برداشته شد تا میزان پایداری میکروارگانیسم‌ها بررسی گردد. در مرحله سوم بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی اثر ضد میکروبی دو غلظت هیپوکلریت سدیم در چهار زمان متفاوت بررسی گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS و آزمونهای Kolmogorov-Smirnov و 3way Anova و Tukey HSD انجام شد.*

***یافته‌ها:*** *نوع مواد قالب‌گیری، مدت زمانی که قالب بر روی مانکن آلوده به میکروارگانیسم باقی می‌ماند و نوع میکروارگانیسم، بر تعداد کلونی‌های انتقال یافته تأثیر دارند (P.v =۰/۰۰۰۱). همچنین اثر متقابل دو به دو و نیز هر سه این عوامل در کنار یکدیگر از نظر آماری معنی‌دار است (P.v =۰/۰۰۰۱). میکروارگانیسم‌های مورد نظر در غلظت ۰/۵٪ هیپوکلریت سدیم در زمان یک دقیقه چه در قالبهای آلژیناتی و چه اسپیدکس رشد کردند درحالی‌که در زمانهای سه و پنج و ده دقیقه غوطه‌وری در ماده ضد عفونی کننده هیچ یک از میکروارگانیسم‌ها رشد نکردند. این آزمایش در غلظت ۰/۶٪ هیپوکلریت سدیم نیز انجام شد و میکروارگانیسم‌ها تنها در آلژینات‌های بایر و ایرالژین بعد از یک دقیقه غوطه‌وری رشدکردند.*

***نتیجه‌گیری:*** *هیدروکلوئیدها خصوصاً ایرالژین میزان میکروارگانیسم بیشتری را حمل کرده و هر چه زمان قالب‌گیری طولانیتر باشد میزان میکروارگانیسم حمل شده بیشتر است.*

***کلید واژه‌ها:*** *کنترل عفونت – فلور دهانی –آلژینات –سیلیکون –استافیلوکوکوس اورئوس –استرپتوکوکوس موتانس –کاندیدا آلبیکانس.*

وصول مقاله: ۱۳۸۷/۱۰/۹ اصلاح نهایی: ۱۳۸۸/۵/۱۱ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۷/۹

**نویسنده مسئول:** دکتر مریم معماریان، گروه آموزشی پروتزهای دندانی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران e.mail:memarian@sina.tums.ac.ir

## مقدمه

بنابر ویژگیهای خاص در حرفه دندانپزشکی این حرفه می‌تواند نقش بسیار مهمی در انتقال عفونت داشته باشد. در یک روز کاری، بیماران بسیاری مراجعه می‌کنند. حجم زیاد کار و ارتباط با خون و بزاق که از اجزای تفکیک ناپذیر در دندانپزشکی هستند احتمال برخورد با میکروارگانیسم‌های پاتوژن را در پرسنل دندانپزشکی افزایش می‌دهد.(۱)

کنترل عفونت یک روش تیمی است، هر یک از اعضای تیم می‌بایست روشهای کنترل عفونت را به نحو صحیح به کار گیرند. روشهای مؤثر کنترل عفونت شامل شست و شوی صحیح دستها، استفاده از وسایل محافظ شخصی، ایمن سازی، کاربرد صحیح و ایمن وسایل تیز و برنده، استفاده‌صحیح از روشهای استریلیزاسیون و ضدعفونی

Downloaded from jida.ir at 2:06 +0430 on Friday April 27th 2018

قالبهای گرفته شده و پروتزها در اعمال دندانپزشکی است. (۲و ۳)

مواد قالب‌گیری در تماس با بافت دهان، بزاق و خون ممکن است به صورت دستگاهی جهت حمل میکروارگانیسم‌ها از بیمار به پرسنل دندانپزشکی عمل کنند. اگر چه تعدادی از ارگان‌ها مثل American Dental Association و انجمن دندانپزشکی بریتانیا دستوراتی جهت پیش‌گیری از عفونت متقاطع دارند، اما اطلاعات کمی درباره میزان حمل میکروارگانیسم‌ها به وسیله مواد قالب‌گیری و از بین رفتن آنها بعد از ضد عفونی کردن قالبها وجود دارد.(۴)

هدف از این مطالعه مقایسه پایداری میکروب‌های فلور دهان (استرپتوکوکوس موتانس–استافیلوکوکوس اورئوس–کاندیدا آلبیکانس) در دو نوع ماده قالب‌گیری آلژینات (ایرآلژین و بایر) و یک نوع سیلیکون تراکمی (اسپیدکس) است.

## روش بررسی

در این‌مطالعه آزمایشگاهی‌میکروارگانیسم‌های مورد استفاده Staphylococcus aureus PTCC 1112 (ATCC 6538) و Candidia Albicans ATCC: (10231) از سازمان پژوهشهای علمی صنعتی ایران تهیه شده و پس از انجام آزمایشهای تأییدی مورد استفاده قرار گرفتند.

استرپتوکوکوس موتانس در آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران جداسازی گردید. جهت جداسازی آن نمونه تازه جرم دندانی از بخش پریودنتولوژی دانشکده دندانپزشکی تهیه شد و در سرم فیزیولوژی به آزمایشگاه حمل گردید و بر محیط کشت Blood agar کشت‌داده‌شد. در مرحله بعد آن را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفت و بعد از ۲۴ ساعت رشد کرد. بعد از انجام آزمایشهای بیوشیمیایی خاص، کلونی باکتری از نظر جنس و گونه شناسایی شد.(۵و۶)، قابل ذکر است در این مطالعه همواره از میکروارگانیسم‌های تازه بهره گرفته شد.

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی یک لوپ از هر میکروارگانیسم در ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل کرده و سه سوسپانسیون میکروبی که حاوی $10^8$ CFU/ml میکروارگانیسم(واحدهای تشکیل دهنده کلونی در میلی‌لیتر) بوده تهیه شد.(۵و۶)، پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی در یک بشر استریل سه عدد مانکن دندان‌دار فک بالا غوطه‌ور گردید و پس از پنج دقیقه در شرایط استریل مانکن خارج شد و بعد از تهیه آلژینات طبق دستور کارخانه از مانکن قالب تهیه شد، دو نوع ماده قالب‌گیری آلژینات ایر آلژین(Iralgin Golchi, Iran) و بایر ( Alginoplast; Bayer, Germany) و یک نوع سیلیکون تراکمی اسپیدکس (Speedex; Colten/ehaledent, AriaDent) در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. قالبها بعداز سه زمان سه، پنج و ده دقیقه از مانکن خارج شدند برای هر زمان این کار سه بار تکرار گردید. آلژینات ناحیه دندان مولر اول با بیستوری استریل بریده شد و پس از قرار دهی در ارلن‌های حاوی سرم فیزیولوژی استریل خوب به هم زده شد تا باکتری‌های چسبیده به قالب در سرم فیزیولوژی جدا شوند و در نهایت از روش رقیق‌سازی متوالی استفاده گردید، بدین‌گونه که از سرم فیزیولوژی مذکور یک میلی‌لیتر به وسیله پیپت برداشته و در لوله شماره ۱ که حاوی نُه میلی‌لیتر آب مقطر استریل بود ریخته شد و توسط ورتکس زده شد تا حل شود. سپس یک میلی‌لیتر از آن برداشته و در لوله شماره دو ریخته شد و حل گردید. این کار تا ده لوله ادامه یافت، این کار برای هر سه ارلن حاوی قالبها تکرار شد و سپس محیط کشت SCDA(Soybean Casein Digest Agar-Merk-Germany) به ارلن حاوی باکتری اضافه کرده و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. محیط کشت کاربردی جهت ارلن حاوی قارچ SDA(Sabro Dextrose Agar-Merk- Germany) می‌باشد و پلیت در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. در مرحله‌ای دیگر از آزمایش بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی و آلوده کردن مانکن‌ها به مدت پنج دقیقه از مانکن‌ها توسط سه ماده قالب‌گیری مورد مطالعه قالب‌گیری به عمل آمده و در زمانهای سی و شصت دقیقه و همچنین سه و پنج ساعت بعد از قالب‌گیری به وسیله سواپ از قالبها نمونه برداشته شد و در محیطهای کشت SCDA و SDA کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت نتایج بررسی گردید.

در مرحله سوم مطالعه از سوسپانسیون میکروبی که حاوی $10^8$ CFU/ml میکروارگانیسم بود استفاده شد و اثر ضد میکروبی دو غلظت هیپوکلریت سدیم (NaClO) در چهار زمان متفاوت (یک، سه، پنج و ده دقیقه) بررسی گردید.

Downloaded from jida.ir at 2:06 +0430 on Friday April 27th 2018

در این آزمایش از هیپوکلریت به نام تجاری (سفید کننده) با مهر استاندارد و با غلظت ۵/۵٪ استفاده شد با اضافه کردن سی میلی‌لیتر NaClO به دویست و هفتاد میلی‌لیتر آب مقطر رقت ۰/۵٪ به دست آمد و با اضافه کردن ۳۳ میلی‌لیتر NaClO به ۲۶۷ میلی‌لیتر آب مقطر، رقت ۰/۶٪ به دست می‌آید.(۷)

سوسپانسیون میکروبی هر سه میکروارگانیسم را تهیه کرده و مانکن‌ها را آلوده و پس از تهیه قالبهای آلژیناتی و اسپیدکس، قالبها جهت ضد عفونی شدن در NaClO با غلظتهای۰/۶٪ و ۰/۵٪ غوطه‌ور شدند.(۱۱)، پس از سپری شدن در زمانهای مورد نظر (یک، سه، پنج و ده دقیقه) آنها را در ارلن حاوی سرم فیزیولوژی قرار داده و به هم زده شدند و پس از آن یک میلی‌لیتر از ارلن حاوی قالب ضد عفونی شده در پلیت ریخته و سپس به آنها SCDA و SDA به ترتیب برای باکتری‌ها و قارچ اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت نتیجه بررسی شد. پلیت‌ها بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون بر اساس رقتهای تهیه شده چیده شدند، پس از آن پلیتی که بین ۳۰- ۳۰۰ کلنی دارد انتخاب و شمارش شده، عدد به دست آمده ضربدر عکس رقت شده و سپس تعداد کل کلنی به دست آمده با یک رقم عدد صحیح و به صورت توان‌دار با واحد CFU/ml گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS و به روشهای آزمون Kolmogorov-Smirnov و آنالیز واریانس سه طرفه انجام شد.

## یافته‌ها

CFU/ml انتقال استافیلوکوکوس اورئوس توسط قالب آلژیناتی بایر $۱۰^۴$ الی $۱۰^۵$ CFU/ml باکتری شد. انتقال استرپتوکوکوس موتانس توسط قالب آلژیناتی بایر $۱۰^۴$ تا $۱۰^۵$ $۱۰^۵$ CFU/ml باکتری به دست آمد. میزان انتقال کاندیدیا آلبیکانس توسط قالب آلژیناتی بایر $۱۰^۳$ تا $۱۰^۴$ CFU/ml قارچ به دست آمد.

میزان انتقال استافیلوکوکوس اورئوس توسط قالب آلژیناتی (ایرآلژین) $۱۰^۴$ الی $۱۰^۵$ CFU/ml باکتری شد.

انتقال استرپتوکوکوس موتانس توسط قالب آلژیناتی ایرآلژین $۱۰^۳$ تا $۱۰^۵$ CFU/ml باکتری به دست آمد. میزان انتقال کاندیدیا آلبیکانس توسط قالب آلژیناتی ایرآلژین $۱۰^۳$ تا $۱۰^۴$ CFU/ml قارچ به دست آمد. تمامی مراحل ذکر شده در مورد قالب اسپیدکس هم انجام شد و در نهایت بعد از سه بار آزمایش هیچ باکتری یا قارچی به صورت کلونی در پلیت‌های ذکر شده دیده نشد.

میانگین تعداد کلونی‌های انتقال یافته برحسب مواد قالب‌گیری در تمام مقایسه‌های دو به دو این سه ماده با یکدیگر، اختلاف معنی‌داری را از نظر آماری نشان می‌دهد.(P.v =۰/۰۰۰۱) که این نشانگر تفاوت آنها در انتقال میکروارگانیسم‌هاست. میانگین و انحراف معیار تعداد کلونی‌های انتقال یافته در سه ماده قالب‌گیری فوق به صورت زیر آمده‌اند.

(۷۹۹۵/۵۳۱±۹۸۴۰۲/۵۹، ۶۱۵۰۱/۲۷ ± ۷۵۸۹۷/۱، ۰/۰۰۰۱ ± ۰/۰۰) میانگین در گروه آلژینات ایرالژین از گروه آلژینات بایر بیشتر و اسپیدکس از همه کمتر است.(جدول ۱)، بدین ترتیب‌نوع‌میکروارگانیسم‌های انتقال‌یافته در زمانهای مختلف آزمایش تحت تأثیر نوع ماده مصرفی قرار می‌گیرد، یعنی اثر متقابل سه گانه بین آنها برقرار است.( جدول ۲)

دو میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس موتانس از لحاظ انتقال توسط قالبها مشابه هستند (P.v =۰/۶۹۱)ولی میزان انتقال میکروارگانیسم‌کاندیدا با دو نوع دیگر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.(P.v =۰/۰۰۰۱)، (جدول ۳) همچنین بررسی میزان انتقال میکروارگانیسم‌ها در زمانهای مختلف (سه، پنج و ده دقیقه) نشان داد که در تمام مقایسه‌های دو به دوی این سه زمان با یکدیگر، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد. ( جدول ۴) در مرحله دوم آزمایش یعنی نمونه‌گیری از قالبهای آلوده پس از سی و شصت دقیقه و سه و پنج ساعت مشخص شد که تمام پلیت‌ها حاوی کلونی باکتری‌ها بوده ولی کلونی‌های تشکیل شدهٔ باکتری‌ها در مورد اسپیدکس کمتر از آلژینات‌ها بودند. در پلیت‌های مربوط به رشد قارچ، در رابطه با اسپیدکس کلونی دیده نشد. در مرحله سوم آزمایش پس از غوطه‌وری قالبهای به دست آمده در غلظت ۰/۵٪ و در زمانهای یک، سه، پنج و ده دقیقه مشاهده شد.

میکروارگانیسم‌های مورد نظر در رقت ۰/۵٪ NaClO در زمان یک دقیقه چه در قالبهای آلژیناتی و چه اسپیدکس رشد کردند در حالی که در زمانهای سه، پنج و ده دقیقه غوطه‌وری در ماده ضد عفونی کننده هیچ یک از میکروارگانیسم‌هارشد نکردند. این آزمایش در غلظت ۰/۶٪ NaClO نیز انجام شد، رشد میکروارگانیسم‌ها تنها در زمان

| نوع ماده مصرفی (I) | نوع ماده مصرفی (J) | تفاضل میانگین‌ها (I-J) | انحراف معیار | P.V |
|---|---|---|---|---|
| | | | | ۰۰۰۱ |

Downloaded from jida.ir at 2:06 +0430 on Friday April 27th 2018