

بررسی اثر ضد میکروبی فتودینامیک تراپی با واسطه ایندوسیانین گرین بر استرپتوکوک سالیواریوس

چکیده

سابقه و هدف: استرپتوکوک سالیواریوس میکروارگانیزی است که مکرراً در افراد مبتلا به پوسیدگی دندان و بیماری‌های پریدنتال از حفره دهان جدا می‌شود. فتودینامیک تراپی نیز به عنوان یک روش درمانی ضد میکروبی موثر و نوین؛ مورد توجه است و آثار ضد میکروبی قوی همراه با دسترسی بهتر به مکان‌های غیر قابل دسترسی درمان‌های روتین نشان داده، به علت کم بودن تعداد مطالعات انجام شده بر روی تاثیر فتودینامیک تراپی بر استرپتوکوک سالیواریوس و نتایج متضاد، این تحقیق با هدف بررسی اثر ضد میکروبی فتودینامیک تراپی با واسطه ایندوسیانین گرین بر استرپتوکوک سالیواریوس در دانشکده دندانپزشکی آزاد اسلامی تهران انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این تحقیق Experimental بر روی پنج گروه (هر گروه شامل نه نمونه و در مجموع بر روی ۴۵ نمونه) با استفاده از لیزر دایود ۸۱۰ نانومتر و ماده واسط ایندوسیانین گرین (پریوگرین) بر روی استرپتوکوک سالیواریوس با استفاده از $7073 \text{ ATCC} =$ انجام شد. گروه‌های مورد مطالعه به شرح زیر بود:

- ۱- استرپتوکوک سالیواریوس به تنهایی (کنترل منفی) ۲- استرپتوکوک سالیواریوس با ایندوسیانین گرین
- ۳- استرپتوکوک سالیواریوس با تابش لیزر ۸۱۰ نانومتر ۴- استرپتوکوک سالیواریوس با واسط ایندوسیانین و تابش لیزر ۸۱۰ نانومتر
- ۵- استرپتوکوک سالیواریوس با کلرهگزیدین (کنترل مثبت). تابش لیزر به صورت ممتد و توان ۲۰۰ میلی‌وات در ۶۰ ثانیه با انرژی دانسیته

۲۸/۱۵ ژول بر سانتی متر مربع صورت گرفت. معیار تاثیر ضد میکروبی؛ اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد پس از کشت میکروبی بود که جهت مقایسه آن بین گروه‌ها از آزمون آماری Man-U-Whitney و نرم افزار (SPSS, version ۲۱) استفاده شد.

یافته‌ها: براساس این مطالعه تاثیر لیزر دیود ۸۱۰ نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک تراپی (لیزر + ایندوسیانین)، ایندوسیانین تنها و کلرهگزیدین به طور معنی دار بیشتر بود. تابش لیزر ۸۱۰ سبب شد رشد باکتری به صفر برسد. پس از لیزر ۸۱۰، براساس میانگین قطر هاله‌های عدم رشد به ترتیب موثرترین‌ها: کلرهگزیدین، لیزر + ایندوسیانین (فتودینامیک تراپی) و در نهایت ایندوسیانین بودند، هر چند آزمون آماری تفاوت معناداری میان این سه گروه از جهت تاثیر آنتی میکروبیال نشان نداد.

نتیجه‌گیری: تحت شرایط اجرای این تحقیق، تابش لیزر؛ لیزر + ایندوسیانین و ایندوسیانین تنها توانستند از کلونیزاسیون میکروبی بکاهند و در این میان تابش لیزر دیود با طول موج ۸۱۰ نانومتر از نوع Infrared تاثیر ضد میکروبی بیشتری بر استرپتوکوک سالیواریوس داشت.

واژه‌های کلیدی: فتودینامیک تراپی، ایندوسیانین گرین، استرپتوکوک سالیواریوس، هاله عدم رشد، لیزر دیود ۸۱۰ nm

ماندانا خطیبی^۱
افشین احمدیان^۲
سیمین لسان^۳
مریم رضایی^۴
هومن ابراهیمی^{۵*}

۱- دکتر ماندانا خطیبی دانشیار گروه بیماری‌های دهان؛ فک و صورت و عضو مرکز تحقیقات جمجمه؛ فک و صورت دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی؛ تهران؛ ایران
۲- دکتر افشین احمدیان جراح؛ دندانپزشک
۳- دکتر سیمین لسان استادیار گروه بیماری‌های دهان؛ فک و صورت و عضو مرکز تحقیقات جمجمه؛ فک و صورت دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی؛ تهران؛ ایران
۴- دکتر مریم رضایی میکروبیولوژیست؛ دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی؛ تهران؛ ایران
۵- دکتر هومن ابراهیمی؛ استادیار گروه بیماری‌های دهان؛ فک و صورت و عضو مرکز تحقیقات جمجمه؛ فک و صورت دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی؛ تهران؛ ایران

نویسنده مسئول: دکتر هومن ابراهیمی
پست الکترونیکی:
Hooman.ebrahimi@gmail.com

شماره تماس: ۰۹۱۲۳۸۹۰۱۸۹

پیشینه و هدف

استرپتوکوک سالیواریوس یک استرپتوکوک گرم مثبت اختیاری بی‌هوازی است که به‌طور عمده از حفره دهان انسان‌ها و حیوانات جدا شده و بخشی از فلور طبیعی میکروبی دهان و بزاق است (۱). این باکتری جزو اولین باکتری‌های فعالی است که در حفره دهانی نوزادان وجود دارد و در سلول‌های دستگاه تنفسی فوقانی، کولونیزه می‌گردد (۲) به‌علاوه در افراد مبتلا به پوسیدگی دندان‌ها و بیماری‌های پرپودنتال نیز، به‌صورت ویژه در حفره دهان کولونیزه می‌گردد؛ ضمناً در حضور ساکروز می‌تواند تولید کپسول نماید؛ به همین دلیل این باکتری بیماری‌زایی فرصت‌طلب پس از استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل از مهمترین باکتری‌های پاتوژن در پوسیدگی‌های دندان‌ها؛ التهاب لثه؛ عفونت‌های ناحیه گوش و گلو می‌باشد و در صورت راهیابی به جریان خون می‌تواند موجب سپتی سمی در بیماران نوتر و پنیک گردد (۳).

غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی روشی است که در ابتدای قرن بیستم کشف شده و باعث غیرفعال‌شدن سلول‌ها، میکروارگانیسم‌ها و مولکول‌ها به واسطه نور می‌شود. در این روش یک ترکیب حساس به نور و یک نور با طول موج خاص باعث تولید واسطه‌های فعال اکسیژن می‌شود؛ این واسطه‌های فعال باعث از بین بردن سلول‌های هدف از جمله میکروب‌ها و سلول‌های تومورال می‌گردند (۴-۵-۶) از سال ۱۹۲۴ به بعد تحقیقات زیادی روی نتایج فتودینامیک‌تراپی به عنوان یک روش غیرمهاجم برای درمان سرطان‌هایی از قبیل کانسر ریه، مری، مثانه و پوست انجام شد و در نهایت Daughterty در سال ۱۹۷۵ توانست با این روش بیماران مبتلا به سرطان پوست را با موفقیت درمان کند. کاربرد این روش اخیراً به‌طور چشمگیری در رشته دندانپزشکی و برای درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی (۷)، سرطان دهان و تشخیص بدخیمی‌های دهان مورد توجه قرار گرفته است. ضمناً به دلیل دسترسی نسبی و ناقص درمان‌های رایج در حفره دهان استفاده از این روش مناسب به نظر می‌رسد (۸).

تاریخچه غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی استفاده از حساسگرهای نوری به‌منظور حذف میکروب‌ها به زمان قبل از شیمی‌درمانی برمی‌گردد. Paul Ehrlich در ابتدای قرن بیستم با ارزیابی آثار رنگ‌های

Aniline روی سلول‌های میکروبی و حیوانی، توانست اصول انتخابی بودن را فرموله کرده و پایه شیمی‌درمانی جدید را ایجاد نماید. تحقیقات او، اصول غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی را پایه‌گذاری نمود (۹).

ایندوسیانین‌گرین (ICG) نیز یک فتوسنسی‌تایزر آنیونی است که در طول موج ۸۱۰ تا ۹۴۰ نانومتر فعال شده و منجر به اکسیداسیون نوری می‌گردد (۱۰). میزان جذب این ماده به محیط حلال، باند به پروتئین‌های پلاسمایی و غلظت بستگی دارد اثرات کلی شامل تاثیر فتودینامیک و فلورسانس و مقداری نیز به واسطه اثرات گرمایی آن می‌باشد. ICG در فرم نمک سدیم با سدیم آیودید به میزان ۵٪ ترکیب می‌شود تا ترکیب را برای کاربردهای پزشکی بهینه‌سازی نماید. در بسیاری از کاربردهای پزشکی، ICG در غلظت‌های مختلف در سلول‌های هدف تزریق می‌گردد. بیشتر تحقیقات انجام‌شده در دندانپزشکی در مورد ICG به صورت آزمایشگاهی انجام شده و کاربرد آن در درمان‌های پرپودنتولوژی به نظر می‌رسد با توجه به جرم‌های پاتوژن پرپودنتال از موفقیت نسبی برخوردار باشد. از طرف دیگر، استفاده از لیزرهای کم‌توان به همراه فتوسنسی‌تایزر ICG می‌تواند اثرات موثری بر باکتری‌های مختلف بیوفیلم دهان و نیز پاکت‌های پرپودنتال داشته باشد (۱۱-۱۲).

استفاده از اثرات ضدباکتریایی لیزر که مکرراً در مقالات به اثبات رسیده به تاثیرات ایجادشده بر اثر نور لیزر در سلول هدف، بافت یا ارگانیسم بستگی دارد. این تاثیرات ممکن است فتوشیمیایی، تولید رادیکال‌های آزاد و دیگر گونه‌های فعال (فتوگرمایی و مکانیسم‌های کاهش به واسطه نور)؛ شکستن باندهای شیمیایی یا واکنش‌های مکانیکی ناشی از نور، امواج شوک که به وسیله پراکندگی پالس تولید می‌شوند، باشد. عموماً لیزرهای کم‌توان تنها باعث تاثیرات فتوشیمیایی می‌شوند. تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که انواع مختلف لیزر بر میکروارگانیسم‌های متفاوت اثرات ضدباکتریایی دارند. به‌ویژه لیزر دیود و Erbium قادر به ایجاد اثرات آنتی‌باکتریال بر مینا، عاج و بافت‌های پوسیده هستند (۱۳-۱۴).

با توجه به حضور استرپتوکوک سالیواریوس در دهان و نقش آن در بروز پوسیدگی دندان‌ها و بیماری‌های پرپودنتال (۱۵-۱۶) و با توجه

بر سانتی مترمربع با توان ۲۰۰ میلی وات (۰/۲ وات) به مدت ۶۰ ثانیه به صورت ممتد با فاصله کمتر از یک سانتی متر از پلیت تابانده شد.



$$E_D = \frac{P \times t}{A} = \frac{0.2 \times 60}{0.785} = 15.28 \frac{J}{cm^2}$$

$E_D = \text{Energy Density}$
 $P(\text{Power}) = 0.2 \text{ W}$
 $T(\text{Time}) = 60 \text{ s}$
 $D(\text{Diameter}) = 1 \text{ cm} \rightarrow A(\text{Area})$
 $= 0.5^2 \times \pi = 0.785 \text{ cm}^2$

انرژی دانسیته مناسب برای حذف باکتری‌ها در غیرفعال‌سازی میکروبی توسط فتوداینامیک در محدوده ۳۰-۱۰ ژول بر سانتی مترمربع می‌باشد؛ بر این اساس انرژی دانسیته در محدوده میانی این بازه تنظیم گردید (۱۵/۲۸) که با توان به کار رفته ۰/۲ وات (جهت حذف آسیب بافتی ناشی از تاثیر گرمایی؛ توان می‌بایست کمتر از ۱ وات باشد)؛ زمان تابش در محدوده انرژی دانسیته ۳۰-۱۰ ژول بر سانتی مترمربع که در بازه بین ۱۱۷-۴۰ ثانیه قرار می‌گیرد؛ ۶۰ ثانیه تعیین گردید.

ماده حساس به نور:

ماده حساس به نور ایندوسیانین گرین (Perio Green، ساخت کشور آلمان) بود که داخل حلال دی‌متیل‌سوکساید (DMSO) به غلظت (100mg/ml) تهیه شد. این غلظت در طول موج ۸۱۰ نانومتر می‌تواند موجب فعال‌سازی اکسیداسیون نوری گردد (۶).

به اینکه امروزه فتوداینامیک تراپی به عنوان درمان ضد میکروبی موثر و نوین معرفی گردیده و آثار ضد میکروبی قوی همراه با دسترسی بهتر به مکان‌های غیر قابل دسترسی درمان‌های روتین نشان داده (۵)، به‌علاوه به علت کم‌بودن تعداد مطالعات انجام شده بر روی تاثیر فتوداینامیک تراپی بر استرپتوکوک سالیواریوس و نتایج متضاد (۳/۱)، این تحقیق با هدف بررسی اثر ضد میکروبی فتوداینامیک تراپی با واسطه ایندوسیانین گرین بر استرپتوکوک سالیواریوس در دانشکده دندانپزشکی آزاد اسلامی تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق آزمایشگاهی (Experimental) حاضر به صورت *In Vitro* و با مواد و روش‌های زیر انجام شد:

جامعه مورد بررسی شامل پلیت‌های حاوی سویه استاندارد استرپتوکوک سالیواریوس و تعداد نمونه با استفاده از نرم‌افزار SPSS version ۲۱ (one way Anova power Analysis) با در نظر گرفتن $\alpha = 0.05$ ، $\beta = 0.02$ (نمونه ۹ در هر یک از پنج گروه مورد بررسی) و روش نمونه‌گیری مبتنی بر هدف بود.

جمع‌آوری داده‌ها از طریق مشاهدات کشت میکروبی و بررسی هاله عدم‌رشد صورت گرفت.

سویه استاندارد باکتری:

استرپتوکوک سالیواریوس با کد (ATCC=۷۰۷۳) سویه استاندارد متناسب با گونه‌های جدا شده از حفره دهان بوده که از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه و در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران در محیط Blood agar کشت داده شد (پلیت‌های ساخت شرکت Merk آلمان) و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ C انکوبه گردید.

لیزر:

از لیزر دیود کم‌توان Infra red دارای پروب با قطر یک سانتی متر و مساحت ۰/۷۸۵ سانتی مترمربع در طول موج ۸۱۰ (ساخت شرکت Thor انگلستان) استفاده شد. این لیزر با انرژی دانسیته ۱۵/۲۸ ژول

گروه‌های مورد مطالعه

کنترل منفی

۱- استرپتوکوک سالیواریوس به تنهایی

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/ml در ۹ پلیت بلادآگار به روش Spread culture پخش و سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شد. پس از ۲۴-۴۸ ساعت هاله عدم رشد تشکیل نگردید. (بدون مداخله)



کلر هگزیدین :

کلر هگزیدین (CHX) یک ماده با اثرات باکتریواستاتیک و باکتریسید است که بر روی هر دو نوع باکتری‌های گرم مثبت و منفی، قارچ‌ها و برخی از ویروس‌های لیپوفیل موثر است. در سال ۱۹۷۰، CHX به‌عنوان بخشی از پیشگیری و درمان بیماری‌های پریدونتال به دلیل اثرات مهارکننده پلاک آن مورد مطالعه و توصیه پژوهشگران قرار گرفت (۱۷). از کلر هگزیدین ۰/۲ درصد (ساخت شرکت بهسا، ایران) در این آزمایش استفاده شد.

اثر ضد میکروبی:

در این بررسی قطر هاله عدم رشد استرپتوکوک سالیواریوس پس از مداخله (در کلیه گروه‌ها به جز کنترل منفی) و بدون مداخله (در گروه کنترل منفی)؛ معیار ارزیابی بود و با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر گزارش شد. هاله عدم رشد یک منطقه دایره‌ای در اطراف محل ماده واسطه یا آنتی‌بیوتیک است که در آن کلنی‌های باکتری رشد نمی‌کنند. منطقه مهار می‌تواند برای اندازه‌گیری حساسیت باکتری نیز استفاده شود (۱۸).

جهت اجرای آزمایش؛ سوسپانسیون میکروبی به غلظت استاندارد نیم مک فارلند در چاهک‌های میکروپلیت توسط سمپلر به میزان یک سی‌سی ریخته شد و برحسب گروه مورد نظر ایندوسیانین به همین میزان به سرم اضافه شد. این کار یک بار برای نمونه‌هایی که تحت تابش لیزر قرار گرفتند و یکبار برای نمونه‌هایی که تحت تابش لیزر قرار نگرفتند در محیط استریل انجام شد.

۲- استرپتوکوک سالیواریوس با ایندوسیانین گرین به تنهایی:

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/ml به صورت یکنواخت در سطح ۹ پلیت BA به روش Spread culture پخش شد، سپس حفر چهار چاهک در هر پلیت به فواصل مشخص در محل‌های حاوی باکتری و پرکردن چاهک‌ها با ایندوسیانین گرین (100mg/ml) انجام و به این ترتیب آماده‌سازی برای انکوباسیون صورت پذیرفت. پلیت حاصل به مدت پنج دقیقه در اتاق تاریک قرار داده شد تا رنگ ایندوسیانین گرین زمان کافی برای تماس با باکتری داشته باشد. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرارداد شد و سپس؛ تشکیل هاله عدم رشد بررسی گردید.

۳- استرپتوکوک سالیواریوس با لیزر دایود ۸۱۰ نانومتر:

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/ml در ۹ پلیت BA به روش Spread culture پخش شد سپس لیزر دیود با طول موج 810 نانومتر بر روی چهار ناحیه با فواصل مشخص به مدت ۶۰ ثانیه به صورت ممتد با فاصله کمتر از یک سانتی‌متر از پلیت تابانده شد. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرارداد شد و سپس تشکیل هاله عدم رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.

۴- استرپتوکوک سالیواریوس با واسطه ایندوسیانین گرین و لیزر دایود ۸۱۰ نانومتر:

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/ml به صورت یکنواخت در سطح ۹ پلیت BA به روش Spread culture



پخش شد، سپس حفر ۴ چاهک در هر پلیت به فواصل مشخص در محل‌های حاوی باکتری و پرکردن چاهک‌ها با ایندوسیائین‌گرین (100mg/ml) انجام شد. سپس در مرحله بعد لیزر دیود با طول موج 810 نانومتر بر روی چهار ناحیه با فواصل مشخص و به مدت ۶۰ ثانیه به صورت ممتد با فاصله کمتر از یک سانتی‌متر از پلیت تابانده شد. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور 37°C به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قراردادده شد. سپس تشکیل هاله عدم‌رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.

۵- استرپتوکوک سالیواریوس با کلر هگزیدین (کنترل مثبت):
سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $10^8 \times 1/5$ cfu/ml به صورت یکنواخت در سطح ۹ پلیت BA به روش Spread culture پخش شد، سپس حفر چهار چاهک در هر پلیت به فواصل مشخص در محل‌های حاوی باکتری و پرکردن چاهک‌ها با کلر هگزیدین ۰/۲ درصد محصول شرکت به‌صورت پذیرفت. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور 37°C به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قراردادده شد. سپس تشکیل هاله عدم‌رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.
مراحل کار به شرح زیر دنبال شد:

طرح شماتیک گروه‌های مطالعه

درجه حرارت محیط؛ جنس و وارپته باکتری و استریلیزاسیون محیط در این مطالعه برای تمام گروه‌ها؛ مشابه و تحت کنترل بود. در نهایت پس از بررسی تشکیل و اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم‌رشد؛ مقایسه این متغیر میان گروه‌ها از طریق نرم‌افزار آماری SPSS, version (21) و آزمون آماری Man-U-Whitney انجام شد. با توجه به سایز نمونه‌های مورد بررسی و نداشتن توزیع نرمال داده‌ها و استقلال هر گروه؛ این آزمون ناپارامتری جهت ایجاد مطابقت بین گروه‌ها به کارگرفته شد.

یافته‌ها

تعداد نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق؛ ۴۵ نمونه (۹ نمونه در هر یک از پنج گروه مورد بررسی) بود. براساس این مطالعه تاثیر لیزر دیود 810 نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک تراپی (لیزر+ ایندوسیانین)، ایندوسیانین تنها و کلر هگزیدین به طور معنی دار بیشتر بود. تابش لیزر 810 سبب شد رشد باکتری به صفر برسد. به همین دلیل قطر پلیت معادل قطر هاله عدم‌رشد گزارش گردید (۶۰ میلیمتر). پس از لیزر 810 براساس میانگین قطر هاله‌های عدم‌رشد به ترتیب موثرترین‌ها: کلر هگزیدین، لیزر + ایندوسیانین (فتودینامیک تراپی) و در نهایت ایندوسیانین بودند، هر چند آزمون آماری تفاوت معناداری میان این سه گروه از جهت تاثیر آنتی میکروبیال نشان نداد.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم‌رشد براساس گروه‌های پنج‌گانه

| گروه‌ها | میانگین قطر هاله عدم‌رشد (به تعداد تکرارها) برحسب میلیمتر |
|-------------------------------------|---|
| گروه کنترل منفی | * ۰ |
| با ماده واسط ایندوسیانین گرین | ۵۰/۰۶ ± ۰/۰۷ میلی‌متر |
| با لیزر دیود ۸۰۸ | ۶۰ میلی‌متر |
| با لیزر دیود ۸۰۸ و ایندوسیانین گرین | ۵۰/۹۷ ± ۰/۲۵ میلی‌متر |
| با کلر هگزیدین ۰/۲٪ | ۵۸ ± ۰/۱۸ میلی‌متر |
| نتیجه آزمون | P > ۰/۰۵ |

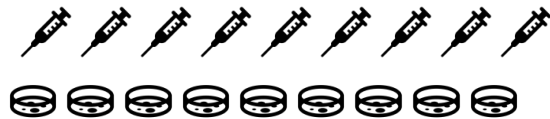
* هاله عدم‌رشدی تشکیل نشد.
(سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد)

کلر هگزیدین تابش لیزر پلیت ایندوسیانین گرین

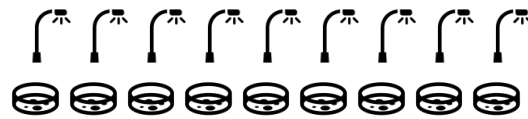
گروه یک:



گروه دو:



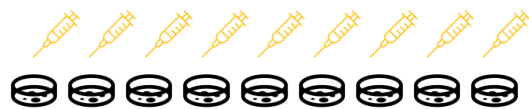
گروه سه:



گروه چهار:



گروه پنج:



بحث

انرژی مشابه؛ فتودینامیک تراپی می‌تواند آثاری مشابه سایر منابع نوری داشته باشد و در مصارف درمانی مفید واقع گردد.

با اجرای این مطالعه تایید گردید که تابش لیزر تنها، ایندوسیانین تنها و فتودینامیک تراپی نه به یک میزان ولی هر یک قادر به کاهش کولونیزاسیون استرپتوکوک سالیواریوس می‌باشند و از این بابت قابل مقایسه با کلرگزیدین هستند.

مرور سیستماتیک Santin و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱۴ بیان داشت: با توجه به پروتکل‌های استفاده و متدولوژی‌های گوناگون، غیرفعالسازی ضد میکروبی فتودینامیک در دو مورد نتایج مطلوب به همراه نداشته است و الزاماً موثر تر از تابش لیزر بدون واسطه نوری نمی‌باشد. این ادعا تا حدودی نتیجه تحقیق ما را توجیه می‌نماید، هرچند Ilizirov و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۱۸؛ با توجه به پدیده شناخته شده و به سرعت در حال رشد مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها که ناشی از مصرف بدون کنترل، بیش از حد و نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌ها را فتودینامیک تراپی ضد میکروبی عنوان می‌کند.

از مزایای بررسی حاضر می‌توان به تازگی موضوع، دقت در یکسان‌سازی شرایط مطالعه آزمایشگاهی (دما، غلظت ثابت سوسپانسیون میکروبی، تکنیک پنخش یکنواخت میکروب و...)، تعداد نمونه کافی، استفاده از گروه کنترل و ثبت و گزارش نتایج حقیقی اشاره کرد.

محدودیت این مطالعه؛ In Vitro بودن آن است که به علت تحت کنترل بودن کامل شرایط و کار در محیط ایزوله از تعمیم‌پذیری نتایج به محیط دهان تا حدودی می‌کاهد.

نتیجه‌گیری:

تحت شرایط اجرای این تحقیق، تابش لیزر؛ لیزر+ایندوسیانین و ایندوسیانین تنها توانستند از کولونیزاسیون میکروبی بکاهند و در این میان تابش لیزر دیود با طول موج ۸۱۰ نانومتر از نوع Infrared تاثیر ضد میکروبی بیشتری بر استرپتوکوک سالیواریوس داشت. هیچگونه تضاد منافع و حمایت مالی در این مطالعه وجود نداشته است. کلیه مراحل تحقیق با هزینه شخصی اجرا شده است.

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که میان پنج گروه مورد مطالعه، تاثیر لیزر دیود ۸۱۰ نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک تراپی (لیزر+ایندوسیانین)، ایندوسیانین تنها و کلرگزیدین بیشتر است. تابش لیزر ۸۱۰ سبب شد رشد باکتری به صفر برسد.

پس از لیزر ۸۱۰، براساس میانگین قطر هاله‌های عدم‌رشد به ترتیب موثرترین‌ها: کلرگزیدین، لیزر+ایندوسیانین (فتودینامیک تراپی) و در نهایت ایندوسیانین تنها بودند، هرچند آزمون آماری تفاوت معناداری میان این سه گروه از جهت تاثیر آنتی میکروبیال نشان نداد. تحقیق Panas (۱۵) نیز فقدان کامل رشد استرپتوکوک سالیواریوس پس از تابش لیزر با طول موج ۴۴۵ نانومتر و کاهش رشد بلافاصله پس از ۱۵ دقیقه را در مقایسه با تابش پنج دقیقه‌ای طول موج ۶۳۵ نانومتر گزارش کردند. اگرچه در طول موج‌ها و زمان‌های متفاوت تابش، به مراحل از جهت سرکوب کامل رشد باکتری این مطالعه In Vivo همسو با بررسی In Vitro ما می‌باشد.

این محقق و همکاران در مطالعه‌ای دیگر (۱۶) فتودینامیک تراپی را جایگزینی برای استفاده سیستمیک از داروهای ضد باکتری مورد استفاده در درمان‌های پریدونتال از جمله استرپتوکوک سالیواریوس عنوان کردند، در مطالعه ما نیز گروه لیزر ۸۱۰ + ایندوسیانین‌گرین (فتودینامیک تراپی) توانست تقریباً به اندازه گروه کلرگزیدین ممانعت رشد باکتریایی بر علیه استرپتوکوک سالیواریوس ایجاد کند. سایر نتایج فتودینامیک تراپی بر علیه ارگانسیم‌های دیگر مانند استافیلوکوک و کاندیدا نیز چنین نتایجی به همراه داشته است (۱۹).

تحقیق سنائی و همکاران (۴) در سال ۲۰۱۹ بر روی استافیلوکوک اورئوس؛ فتودینامیک تراپی با واسطه متیلن‌بلو و ایندوسیانین را بر کاهش تعداد کولونی‌های میکروبی موثر گزارش کرد اما این تاثیر کمتر از کلرگزیدین گزارش شد. در تحقیق حاضر بر روی استرپتوکوک سالیواریوس نیز چنین مشاهداتی وجود داشت. تحقیق Hill و همکاران (۲۰) در سال ۲۰۱۹ نیز از فتودینامیک تراپی با واسطه ایندوسیانین در درمان پریدونتیت مزمن حمایت نکرده است. از سوی دیگر kim و همکاران (۲۱) در سال ۲۰۱۸ اظهار داشتند تحت میزان

پیشنهاد:

- ۱- اجرای آزمون با واسطه‌های نوری متفاوت و سایر طول موج‌های ضد میکروبی لیزر بر روی استرپتوکوک سالیواریوس.
- ۲- اجرای تحقیق In Vivo

تقدیر و تشکر:

از پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران که در اجرای دقیق آزمایش صمیمانه کوشیدند سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Wescombe PA, Heng NCK, Burton JP, Chillcott Nch, Tagg RJ. Streptococcal bacteriocins and the case for streptococcus salivarius as model oral probiotics. *Journal of Future Microbiology*. 2009; 4(7): 819–835.
2. Anatin M, Potapchu K, Vasyl M, Almashi S, Igore Ya, Lomnitsky A, Vitaliy V and et.al. The use of photodynamic therapy in the treatment of dental caries in children of contaminated areas of the ecosystem of the upper Tysa region. *Wydawnic two Aluna*. 2020;(3):483–488.
3. Goetz Moro M, Franco de carvalho V, Araujo R. Efficacy of antimicrobial photo dynamic therapy (aPDT) for nonsurgical treatment of periodontal disease: a systematic review. *Lasers in Medical Sciences*. 2021,(3):14–37.
4. Sanaei Z, Azizi A, Rahimi A. The comparison of the effect of photodynamic therapy using two photosensitizer indocyanine green and methylene blue on the colony count of staphylococcus Aureus (In vitro). *International journal of Scientific Research in Dental and Medical Sciences*. 2019;1(2):7–13.
5. Fabiano Dalla Lana M, Augusto Kalife A, Pimented O, Dallalana R, Peixoto J. In vitro effect of photodynamic therapy on aggregatibacter actinomycetecomitans and streptococcus sanguinis. *Brazdent* 2011; 22(5):398–403.
6. Ak A, Kaya o, Turgut D, Gulsdy M. Indocyanine green-mediate photodynamic therapy on glioblastoma cells in vitro. *Journal of applied mathematics, electronics and computers*. 2015; 3(2):133–135.
7. Neves P.A, Lima L.A, Cristina F, Rodrigues N, LeitaO C, Ribeiro CC. Clinical effect of photodynamic therapy on primary carious dentin after partial caries removal. *Braz, Oral Res*. 2016; 30(1): 1–8.
8. Gilson D, Ash D, Feather J, W. Brown S. Therapeutic ratio of photodynamic therapy in the treatment of superficial tumors of skin and subcutaneous tissues in man. *British Journal of Cancer*. 2005 ;58: 665–667.
9. Sael G, Ng Y, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An invitro comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hypochlorite irrigation on streptococcus intermedius biofilms in root canals, *International endodontic Journal*. 2002;35(3):268–274.
10. Souza RC, Junqueira JC, Rossoni RD, Pereira CA, Munin E, Jorge AO. Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, malachite green and low-power laser irradiation alone against *Candida albicans*. *Laser Med Sci*. 2010;25(3):385–389.
11. Sitia L, Sevieri M, Bonizzi A, Allevi R, Morasso C, Foschi D and etal. Development of Tumor-targeted indocyanine Green-loaded Ferritin Nonoparticles for intraoperative detection of cancers. *Journal of ACS Omega*. 2020;(5):12035–12045.
12. Rautp CH, Sethi S K, Kohale BR, Mamajiwala A, Warang A. Indocyanine green-mediated photothermal therapy in treatment of chronic periodontitis : A clinico-microbiological study. *J Indian Soc periodontol*. 2018;22(3):221–227.
13. Mappangara S, Oktawati S, Chandha M, Hatta R. Antimicrobial properties of laser treatment in periodontal Therapy. *Journal of physics: conference series*. 2018;1073(5): 1–7
14. Ize-Iyamu IN, Saheeb BD, Edetanlen BE. Comparing the 810nm diode laser with conventional surgery in orthodontic soft tissue procedures. *Ghana Med J*. 2014;47(3):107–111.
15. Panas M. Efficiency of Applying of Low-Level Laser Radiation Against *Streptococcus Salivarius* In Case of Hard Dental Tissue Lesion. *Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine*; 2014(3):75–80.
16. Panas M, Baryliyak A, Korniychuk O. Application of low-level laser radiation with Tio, Ag/Tio and S/Tio on streptococcus salivarius isolated from the oral cavity. *Curr. Issues Pharm. Med. Scil*; 2014, 27 (3):148–150.
17. Heidari M, Bardakci AG, Prus HR, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L. Comparing Effect Of 0.06% ,0.12% And 0.2% Chlorehexidine On Plaque, Bleeding And Side Effect In An Experimental Gingivitis Model : A Parallel Group, Double Mask Randomized Clinical Trial. *BMC Oral Health*. 2017;(17):118–123.

18. MacDonald KW. The Role Of Streptococcus Salivarius As a Modulator Of Homeostasis In The Oral Cavity. Semantischolar.org. The University Of Western Ontario (Thesis for the degree in master of science). 2015;2-3.

19. Guzel T, Ayse K, Ayca U, Olkar A. The In Vitro Effect Of Antimicrobial Photodynamic Therapy on Candida and Staphyococcus Biofilms . Turk Journal Med Science. 2018;(48):873-879.

20. Hill G, Dehn C, Hinz AF, Frentzen M, Meister J. Indocyanine green-based adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for treating chronic periodontitis: A randomized clinical trial. photodiagnosis and photodynamic therapy. 2019;26:29-35.

21. Kim J, Park H, Lee J, Seo H, Lee S. Antimicrobial Effect On Streptococcus Mutans In Photodynamic Therapy Using Different Light Source. J Korean Acad Pediatric Dent. 2018;45(1):82-89.

22. Santin G.C., Oliveira D., Galo R., Brosatto M.C., Corona S. Antimicrobial Photodynamic Therapy And Dental Plaque : A Systematic Review Of Literature . Scientific World Journal, Sao Paulo, Brazil. 2014;1-9.

23. Ilizirov Y, Formanovsky A, Mikhura I, Paitan Y, Nakonechny F. Effect Of Photodynamic Antibacterial Chemotherapy Combined Antibiotics On Gram-Positive And Gram-Negative Bacteria . Molecules Journal. 2018;(23)3152:1-19.