لیزر در پزشکی ۱۴۰۰/ دوره ۱۸ / شماره (۲) / صفحات ۱۴-۱.

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضدمیکروبی فتودینامیک‌تراپی با واسطه ایندوسیانین‌گرین بر استرپتوکوک سالیواریوس

ماندانا خطیبی[۱]
افشین احمدیان[۲]
سیمین لسان[۳]
مریم رضایی[۴]
هومن ابراهیمی[۵*]

۱- دکتر ماندانا خطیبی دانشیارگروه بیماری‌های دهان؛ فک وصورت و عضو مرکز تحقیقات جمجمه؛ فک و صورت دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاداسلامی؛ 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 آزاداسلامی؛ تهران؛ ایران

۴- دکتر مریم رضایی میکروبیولوژیست؛ دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی آزاداسلامی؛ تهران؛ ایران

۵-دکترهومن ابراهیمی؛استادیار گروه بیماری‌های دهان؛ فک و صورت و عضو مرکز تحقیقات جمجمه؛ فک و صورت دانشکده دندانپزشکی؛ دانشگاه علوم‌پزشکی آزاداسلامی؛تهران؛ایران

نویسندهٔ مسئول: دکتر هومن ابراهیمی
پست الکترونیکی:
Hooman.ebrahimi @gmail.com
شماره تماس: ۰۹۱۲۳۸۹۰۱۸۹

چکیده

سابقه و هدف: استرپتوکوک سالیواریوس میکروارگانیسمی است که مکرراً در افراد مبتلا به پوسیدگی دندانی و بیماری‌های پریودنتال از حفره دهان جدا می‌شود. فتودینامیک‌تراپی نیز به عنوان یک روش درمانی ضدمیکروبی موثر و نوین؛ مورد توجه است و آثار ضدمیکروبی قوی همراه با دسترسی بهتر به مکان‌های غیرقابل دسترسی درمان‌های روتین نشان داده، به علت کم‌بودن تعداد مطالعات انجام شده بر روی تاثیر فتودینامیک‌تراپی بر استرپتوکوک سالیواریوس و نتایج متضاد، این تحقیق با هدف بررسی اثر ضدمیکروبی فتودینامیک‌تراپی 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 ATCC=۷۰۷۳ 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 باتابش لیزر ۸۱۰ نانومتر ۴- استرپتوکوک سالیواریوس با واسط ایندو سیانین وتابش 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 سانتی‌متر مربع صورت گرفت. معیارتاثیرضدمیکروبی؛ اندازه‌گیری قطر هاله عدم‌رشد پس از کشت میکروبی بود که جهت مقایسه آن بین گروه‌ها از آزمون آماری Man-U-Whitney و نرم‌افزار (SPSS, version ۲۱) استفاده شد.

یافته‌ها: براساس این مطالعه تاثیر لیزر دیود ۸۱۰ نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک‌تراپی (لیزر + ایندوسیانین)، ایندوسیانین تنها و کلرهگزیدین به طور معنی‌دار بیشتر بود. تابش لیزر ۸۱۰ سبب شد رشد باکتری به صفر برسد.

پس از لیزر ۸۱۰، براساس میانگین قطر هاله‌های عدم‌رشد 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 آنتی‌میکروبیال 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 ضدمیکروبی بیشتری بر استرپتوکوک سالیواریوس داشت.

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

پیشینه و هدف

استرپتوکوک سالیواریوس یک استرپتوکوک گرم مثبت اختیاری بی‌هوازی است که به‌طور عمده از حفره دهان انسان‌ها و حیوانات جداشده 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 دندانی و بیماری‌های پریودنتال نیز، به‌صورت ویژه در حفره دهان کلونیزه می‌گردد؛ ضمناً در حضور ساکروز می‌تواند تولید کپسول نماید؛ به همین دلیل این باکتری بیماریزای فرصت‌طلب پس از استرپتوکوک موتانس‌ولاکتوباسیل از مهمترین باکتری‌های پاتوژن در پوسیدگی‌های دندانی؛ التهاب لثه؛ عفونت‌های ناحیه گوش و گلو می‌باشد و در صورت راهیابی به جریان خون می‌تواند موجب سپتی سمی در بیماران نوتروپنیک گردد (۳).

غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی روشی است که در ابتدای قرن بیستم کشف شده و باعث غیرفعال‌شدن سلول‌ها، میکروارگانیسم‌ها و مولکول‌ها به وا سطه 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 ازبین‌بردن سلول‌های هدف ازجمله میکروب‌ها وسلول‌های تومورال می‌گردند(۶-۵-۴) از سال ۱۹۲۴ به بعد تحقیقات زیادی روی نتایج فتو دینامیک‌تراپی 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 به‌دلیل دسترسی نسبی و ناقص درمان‌های رایج در حفره دهان استفاده از این روش مناسب به نظر می‌رسد(۸).

تاریخچه غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی ستفاده از حساسگرهای نوری به‌منظور حذف میکروب‌ها به زمان قبل از شیمی‌درمانی برمی‌گردد. Paul Ehrilch در ابتدای قرن بیستم با ارزیابی آثار رنگ‌های Aniline روی سلول‌های میکروبی و حیوانی، توانست اصول انتخابی‌بودن را فرموله‌کرده و پایه شیمی‌درمانی جدید را ایجاد نماید. تحقیقات او، اصول غیرفعال‌سازی میکروبی فتودینامیکی را پایه‌گذاری نمود(۹).

ایندوسیانین‌گرین ((ICG نیز یک فتوسنسی تایزر آنیونی است که در طول موج ۸۱۰ تا ۹۴۰ نانومتر فعال‌شده 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 تاثیرفتودینامیک 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 انجام‌شده و کاربرد آن در درمان‌های پریودونتولوژی به نظر می‌رسد با توجه به جرم‌های پاتوژن پریودنتال از موفقیت نسبی برخوردار باشد. از طرف دیگر، استفاده از لیزرهای کم‌توان به همراه فتوسنسی تایزر ICG می‌تواند اثرات موثری بر باکتری‌های مختلف بیوفیلم دهان و نیز پاکت‌های پریودنتال داشته باشد(۱۲-۱۱).

استفاده از اثرات ضدباکتریایی لیزر که مکررا درمقالات 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 کاهشی 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(۱۴-۱۳).

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

به اینکه امروزه فتودینامیک‌تراپی به عنوان درمان ضدمیکروبی موثر و نوین معرفی گردیده و آثار ضدمیکروبی قوی همراه با دسترسی بهتر به مکان‌های غیرقابل دسترسی درمان‌های روتین نشان‌داده(۵)، به‌علاوه به علت کم‌بودن تعداد مطالعات انجام شده بر روی تاثیر فتودینامیک‌تراپی بر استرپتوکوک سالیواریوس و نتایج متضاد (۳٫۱)، این تحقیق با هدف بررسی اثر ضدمیکروبی فتودینامیک‌تراپی با واسطه ایندوسیانین‌گرین 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 ۲۱version (one way Anova power Analysis) با در نظر گرفتن β=۰٫۲ ، α=۴۵ ۰٫۰۵ نمونه (۹ نمونه 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 جداشده از حفره دهان بوده که از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه و در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران در محیط Blood agar کشت داده شد (پلیت‌های ساخت شرکت Merk آلمان) و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ C انکوبه گردید.

لیـــزر:

از لیزر دیود کم‌توان Infra red دارای پروب با قطر یک سانتی‌متر و مساحت ۰٫۷۸۵ سانتی‌مترمربع در طول موج ۸۱۰ (ساخت شرکت Thor انگلستان) استفاده شد. این لیزر با انرژی دانسیته ۱۵/۲۸ ژول بر سانتی‌مترمربع با توان ۲۰۰ میلی‌وات (۰/۲ وات) به مدت ۶۰ ثانیه به صورت ممتد با فاصله کمتر از یک سانتی‌متر از پلیت تابانده شد.



$$E_D = \frac{P \times t}{A} = \frac{0.2 \times 60}{0.785} = 15.28 \frac{J}{cm^2}$$
$$E_D = Energy\ Density$$
$$P(Power) = 0.2\ W$$
$$T(Time) = 60\ s$$
$$D(Diameter) = 1\ cm \rightarrow A(Area) = 0.5^2 \times \pi = 0.785\ cm^2$$

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

ماده حساس به نور:

ماده حساس به نوراندوسیانین 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).



کلر هگزیدین :

کلرهگزیدین (CHX) یک ماده با اثرات باکتریوستاتیک 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 پریودنتال به‌دلیل اثرات مهارکننده پلاك آن مورد مطالعه و توصیه پژوهشگران قرار گرفت(۱۷). از کلرهگزیدین ۰/۲ درصد (ساخت شرکت بهسا، ایران) در این آزمایش استفاده شد.

اثر ضدمیکروبی:

در این بررسی قطر هاله عدم‌رشد 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 عدم‌رشد یک منطقه دایره‌ای در اطراف محل ماده واسط 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 درچاهک‌های 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.

گروه‌های مورد مطالعه

کنترل منفی

۱- استرپتوکوک سالیواریوس به تنهایی

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $۱/۵cfu/ml \times ۱۰^{۸}$ در ۹ پلیت بلادآگار به روش Spread culture پخش و سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شد. پس از ۴۸-۲۴ ساعت هاله عدم‌رشد تشکیل نگردید. (بدون مداخله)

۲- استرپتوکوک سالیواریوس با ایندوسیانین‌گرین به تنهایی:

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $۵cfu/ml /۱ \times ۱۰^{۸}$ به‌صورت 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 ایندوسیانین‌گرین (100mg/ml) انجام و به این ترتیب آماده‌سازی برای انکوباسیون صورت پذیرفت. پلیت حاصل به مدت پنج دقیقه در اتاق تاریک قرار داده‌شد تا رنگ ایندوسیانین‌گرین زمان کافی برای تماس با باکتری داشته باشد. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۴۸- ۲۴ ساعت قرارداده 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 $۵cfu/ml /۱ \times ۱۰^{۸}$ 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 ۴۸-۲۴ ساعت قرارداده شد و سپس تشکیل هاله عدم‌رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.

۴- استرپتوکوک سالیواریوس با واسط ایندوسیانین گرین و لیزردایود۸۱۰ نانومتر:

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت $۵cfu/ml /۱ \times ۱۰^{۸}$ به صورت یکنواخت در سطح ۹ پلیتBA به روش Spread culture

پخش شد، سپس حفر ٤ چاهک در هر پلیت به فواصل مشخص در محل‌های حاوی باکتری و پرکردن چاهک‌ها با ایندوسیانین‌گرین (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 ۳۷°C به مدت ٤٨ -٢٤ ساعت قرارداده شد. سپس تشکیل هاله عدم‌رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.

۵- استرپتوکوک سالیواریوس با کلر هگزیدین (کنترل مثبت):

سوسپانسیون باکتری ۰/۵ مک فارلند به غلظت۱/ ۵ ×۱۰^۸ 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 کلرهگزیدین ۰/۲ درصد محصول شرکت بهسا صورت پذیرفت. سپس کلیه پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷°C به مدت ٤٨ -٢٤ ساعت قرارداده شد. سپس تشکیل هاله عدم‌رشد استرپتوکوک سالیواریوس بررسی گردید.

مراحل کار به شرح زیر دنبال شد:

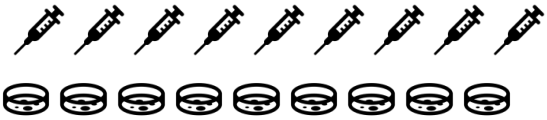




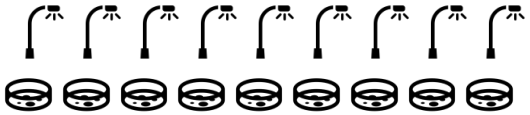
گروه یک:



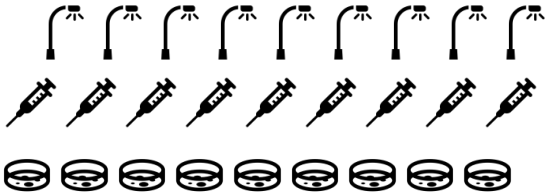
گروه دو :



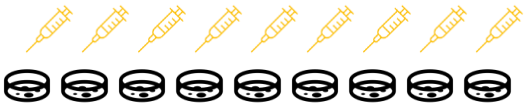
گروه سه:



گروه چهار:



گروه پنج:



طرح شماتیک گروه‌های مطالعه

درجه حرارت محیط؛ جنس و واریته 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.

یافتـه‌ها

تعداد نمونه‌های موردبررسی دراین تحقیق؛ ۴۵ نمونه (۹نمونه در هر یک از پنج گروه مورد بررسی) بود.

براساس این مطالعه تاثیر لیزر دیود 810 نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک‌تراپی (لیزر+ایندوسیانین)، ایندوسیانین تنها و کلرهگزیدین به‌طور معنی‌دار 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: کلرهگزیدین، لیزر + ایندوسیانین (فتودینامیک‌تراپی) و در نهایت ایندوسیانین بودند، هر چند آزمون آماری تفاوت معناداری میان این سه گروه از جهت تاثیر آنتی‌میکروبیال 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 لیزردایود ۸۰۸	۶۰ میلی‌متر
با لیزردایود 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 کمتراز ۰/۰۵ درنظرگرفته شد)

بحث

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که میان پنج گروه مورد مطالعه، تاثیر لیزر دیود 810 نانومتر بر استرپتوکوک سالیواریوس از تاثیر فتودینامیک‌تراپی (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: کلرهگزیدین، لیزر+ایندوسیانین (فتودینامیک‌تراپی) 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 هرحال 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) فتودینامیک‌تراپی را جایگزینی برای استفاده سیستمیک از داروهای ضدباکتری مورد استفاده در درمان‌های پریودنتال از جمله استرپتوکوک سالیواریوس عنوان کردند، در مطالعه ما نیز گروه لیزر ۸۱۰ + ایندوسیانین‌گرین (فتودینامیک‌تراپی) توانست تقریباً به اندازه گروه کلرهگزیدین ممانعت رشد باکتریایی بر علیه استرپتوک سالیواریوس ایجاد کند. سایر نتایج فتودینامیک‌تراپی بر علیه ارگانیسم‌های دیگر مانند استافیلوکوک و کاندیدیا نیز چنین نتایجی به همراه داشته است (۱۹).

تحقیق سنائی و همکاران(٤) درسال ۲۰۱۹ بر روی استافیلوکوک اورئوس؛ فتودینامیک‌تراپی با واسطه متیلن‌بلو وایندوسیانین را بر کاهش تعداد کولونی‌های میکروبی موثر گزارش کرد اما این تاثیر کمتر از کلرهگزیدین گزارش شد. در تحقیق حاضر بر روی استرپتوکوک سالیواریوس نیز چنین مشاهداتی وجودداشت. تحقیق Hill و همکاران(۲۰) در سال ۲۰۱۹ نیز از فتودینامیک‌تراپی با واسطه ایندوسیانین در درمان پریودنتیت مزمن حمایت نکرده است. ازسویی دیگر kim و همکاران(۲۱) در سال ۲۰۱۸ اظهار داشتند تحت میزان انرژی مشابه؛ فتودینامیک‌تراپی 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 فتودینامیک‌تراپی نه به یک میزان ولی هر یک قادر به کاهش کولونیزاسیون استرپتوکوک سالیواریوس می‌باشند و از این بابت قابل مقایسه با کلرهگزیدین هستند.

مرور سیستماتیک Santin و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱٤ بیان داشت: با توجه به پروتکل‌های استفاده و متدولوژی‌های گوناگون، غیرفعالسازی ضدمیکروبی 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 شناخته‌شده و به‌سرعت در حال رشد مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها که ناشی از مصرف بدون کنترل، بیش‌ازحد و نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌ها را فتودینامیک‌تراپی ضدمیکروبی عنوان می‌کند.

از مزایای بررسی حاضر می‌توان به تازگی موضوع، دقت در یکسان‌سازی شرایط مطالعه آزمایشگاهی (دما، غلظت ثابت سوسپانسیون میکروبی، تکنیک پخش 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.

نتیجه‌گیـری:

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 ضدمیکروبی بیشتری بر استرپتوکوک سالیواریوس داشت.

هیچگونه تضاد منافع وحمایت مالی در این مطالعه وجود نداشته است. کلیه مراحل تحقیق با هزینه شخصی اجراشده است.

پیشنهـاد:

۱- اجرای آزمون با واسطه‌های نوری متفاوت و سایر طول موج‌های ضدمیکروبی لیزر بر روی استرپتوکوک سالیواریوس.

۲- اجرای تحقیق In Vivo

تقـدیروتشکر:

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. Anatilin 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 echosystem 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, Agusto Kalife A, Pimented O, Dallalana R, Peixoto J. Invitro 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. Joural 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 .Developement 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-madiated photothermal therapy in treatment of chronic periodontitis : A clinico-microbiological stydy .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 ,Koldsland 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.MacDonaldKW.TheRoleOfStreptococcusSalivariusAs a Modulator Of Homeostasis In The Oral Cavity. Semantischolar.org. The University Of Western Ontario(Thesisforthedegreeinmasterofscience).2015;2-3.

19. Guzel T ,Ayse K , Ayca U ,Olkar A. The In Vitro Effect Of Antimicrobial Photodynamic Therapy on Candida and Staphyoccus 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 Antiobiotics On Gram-Positive And Gram-Negative Bacteria .Molecules Journal. 2018;(23)3152:1-19.