بررسی آزمایشگاهی اثر آنتی‌میکروبیال فتوداینامیک تراپی روی استرپتوکوکوس موتانس

فرزانه احراری*، کیارش قزوینی، فاطمه مظهری***، رضا فکرآزاد****، ندا اسلامی*، نیلوفر عمرانی*****#**

* استادیار ارتودانتیکس، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

** دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*** دانشیار دندانپزشکی کودکان، مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

**** دانشیار پریودانتیکس، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

***** دستیار تخصصی گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله : ۹۴/۶/۱۰ - تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۲/۹

Evaluation of the Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy on Streptococcus Mutans; An *In vitro* Study

Farzaneh Ahrari*, Kiarash Ghazvini, Fatemeh Mazhari***, Reza Fekrazad****, Neda Eslami*, Niloufar Emrani*****#**

** Assistant Professor of Orthodontics, Dental Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

*** Associate Professor, Dept of Microbiology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

**** Associate Professor of Pediatric Dentistry, Dental Materials Research Center, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

***** Associate Professor of Periodontics, Medical Laser Research Center, School of Dentistry, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

****** Postgraduate Student, Dept of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

Received: 1 September 2015 ; Accepted: 28 February 2016

Introduction: Increased resistance of oral pathogens to conventional antimicrobial agents has led to the use of alternative methods to overcome microbial resistance. The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the effect of antimicrobial photodynamic therapy on Streptococcus mutans.

Materials & Methods: In this *in vitro* study, a diode laser emitting a wavelength of 810nm was used in association with EmunDo as a photosensitizing agent. Suspensions of Streptococcus mutans were prepared and divided into six groups by treatment: 1) EmunDo, 2) diode laser irradiation (100mW, 90 seconds), 3) diode laser irradiation (300mW, 30 seconds); 4) EmunDo+diode laser irradiation (100mW, 90seconds), 5) EmunDo+diode laser irradiation (300mW, 30 seconds), 6) control (no treatment). Immediately and 24 hours after photodynamic therapy, the bacterial suspensions were cultured. After incubation at 37°C, viable microorganisms of Streptococcus mutans were counted and the results were reported in colony-forming units (CFU). Data were analyzed by repeated measures analysis of variance at significance level of 0.05.

Results: According to the repeated measures analysis, no significant between-group differences were found in the number of Streptococcus mutans colonies, either immediately or 24 hours after photodynamic therapy ($P>0.05$). The number of Streptococcus mutans colonies increased significantly at 24 hours after photodynamic therapy compared to immediately after treatment in all groups ($P<0.001$).

Conclusion: Under the conditions used in this study, photodynamic therapy had no effect on viability of Streptococcus mutans. However, more evidence-based data are required regarding different photosensitizing agents and laser parameters for a definite conclusion.

Key words: Photodynamic therapy, streptococcus mutans, antibacterial, laser, photosensitizer.

 # Corresponding Author: Omranin941@mums.ac.ir, Niloufar.emrani69@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2016; 40(2): 105-12 .

چکیده

مقدمه: **افزایش مقاومت پاتوژن‌های دهان به مواد آنتی میکروبیال مرسوم منجر به استفاده از روش‌های جایگزین برای غلبه بر مقاومت میکروبی شده است. هدف از این مطالعه آزمایشگاهی، بررسی اثر آنتی میکروبیال فتوداینامیک تراپی روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود.**

مولف مسؤول، نشانی: مشهد، دانشکده دندانپزشکی، گروه دندانپزشکی کودکان، تلفن: ۱۵-۳۸۸۲۹۵۰۱-۰۵۱

E-mail: Omranin941@mums.ac.ir, Niloufar.emrani69@yahoo.com

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی از لیزر دیود با طول موج ۸۱۰nm در حضور EmunDo به عنوان ماده فتوسنسیتایزر استفاده شد. سوسپانسیون‌های استرپتوکوکوس موتانس آماده سازی و بر مبنای نوع درمان به ٦ گروه تقسیم شدند: ۱) EmunDo، ۲) تابش لیزر دیود (۱۰۰mW، ۹۰ ثانیه)، ۳) تابش لیزر دیود (۳۰mW، ۳۰۰ ثانیه)، ٤) Emundo + تابش لیزر دیود (۱۰۰mW، ۹۰ ثانیه)، ٥) EmunDo + تابش لیزر دیود (۳۰mW، ۳۰۰ ثانیه)، ٦) گروه کنترل که تحت هیچ درمانی قرار نگرفت. یک بار بلافاصله و یک بار ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی، از سوسپانسیون‌های باکتری کشت تهیه شد. میکروارگانیسم‌های زنده استرپتوکوکوس موتانس بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷°C، شمارش و به صورت واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) گزارش شدند. تحلیل آماری داده‌ها به وسیله آزمون اندازه‌گیری داده‌های تکراری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: براساس آنالیز اندازه‌گیری داده‌های تکراری، اختلاف معنی داری در تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس چه بلافاصله و چه ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی بین گروه‌های مورد بررسی دیده نشد ($P>0/05$). در تمامی گروه‌ها تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس ٢٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی در مقایسه با بلافاصله بعد از درمان به صورت قابل توجهی افزایش یافت ($P<0/001$).

نتیجه گیری: تحت شرایط این مطالعه، فتوداینامیک تراپی تأثیری بر بقای استرپتوکوکوس موتانس نداشت. با وجود این، داده‌های مبتنی بر شواهد بیشتری در زمینه مواد فتوسنسیتایزر مختلف و پارامترهای لیزر جهت دستیابی به نتیجه گیری قطعی مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: فتوداینامیک تراپی، استرپتوکوکوس موتانس، آنتی‌میکروبیال، لیزر، فتوسنسیتایزر.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۵ دوره ٤٠ / شماره ۲ : ۱۲-۱۰۵ .

مقدمه

پوسیدگی دندانی شایع‌ترین بیماری مزمن جهان و یک بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌ها است که با دکلسیفیکاسیون بخش غیرآلی دندان شروع شده و با تخریب ماتریکس آلی دنبال می‌شود. با وجود آن که امروزه از میزان و شدت پوسیدگی دندانی بسیار کاسته شده است، ولی هنوز میلیون‌ها کودک و بزرگسال، پوسیدگی، از دست دادن دندان‌ها و مال اکلوژن را تجربه می‌کنند.[۱] شواهد نشان‌دهنده نقش باکتری‌ها در ایجاد پوسیدگی، روز به روز در حال افزایش است. استرپتوکوک‌های گروه موتانس احتمالاً مهمترین موجودات میکروسکوپی در آغاز پوسیدگی‌های دندانی هستند. روش‌های رایج برای کاهش میزان باکتری‌های پوسیدگی‌زای دندانی، برداشت مکانیکی، استفاده از عوامل شیمیایی آنتی‌باکتریال، فلورایدتراپی، آنتی‌بیوتیک‌تراپی و واکسیناسیون می‌باشد. یک روش جدید مطرح شده در این زمینه فتوداینامیک تراپی است.[۲]

فتوداینامیک تراپی به تمام درمان‌هایی اشاره می‌کند که توسط داینامیک نور تحت تأثیر قرار می‌گیرند. این اصطلاح به طور رایج برای توصیف یک روش یا درمان به کار می‌رود که شامل ترکیبی از نور و داروهای حساس به نور که فتوسنسیتایزر (PS)[1] نامیده می‌شوند، می‌باشد. این تکنیک نوظهور در درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی به کار رفته است و به صورت شایع فتوداینامیک تراپی ضدمیکروبی (aPDT)[2] نامیده می‌شود. در این روش (aPDT)، نور بعد از فعال کردن مولکول‌های فتوسنسیتایزر در حضور اکسیژن مولکولی، سبب تولید اکسیژن واکنشی می‌شود. اکسیژن واکنشی تولید شده با مولکول‌های اطراف واکنش می‌کند و یک اثر باکتری سیدال روی میکروارگانیسم‌ها دارد. از مزایای این روش می‌توان به غیرتهاجمی بودن، قابلیت تکرار، طیف وسیع فعالیت ضدمیکروبی، عدم ایجاد انواع گونه‌های مقاوم به نور متعاقب درمان‌های متعدد و قابلیت لوکالیزه کردن بر روی بافت هدف اشاره کرد.[۳]

1. Photosensitizer
2. Antimicrobial Photodynamic Therapy

در گذشته هنگام برداشت مکانیکی پوسیدگی‌ها دندانپزشکان نگران باکتری‌هایی بودند که بعد از تراش حفره باقی می‌مانند و ممکن است سبب ایجاد پوسیدگی ثانویه شوند. توصیه این بود که تمام عاج پوسیده حذف شود. امروزه باکتری‌های باقیمانده فاکتور مهمی در پوسیدگی ثانویه محسوب نمی‌شوند. با وجود این، عاج عفونی که قابلیت رمینرالیزه شدن ندارد باید در طی درمان ترمیمی حذف شود، چرا که می‌تواند سبب التهاب پالپ و آسیب برگشت‌ناپذیر به آن شود. از طرفی، حذف مکانیکی تمام عاج عفونی خطر اکسپوز شدن پالپ را به همراه دارد و سبب ضعیف شدن ساختار دندان می‌شود.[۲] اگرچه امکان استفاده از عوامل آنتی‌باکتریال به منظور ضدعفونی حفره وجود دارد ولی برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از عوامل شیمیایی آنتی باکتریال ممکن است سبب افزایش گونه‌های مقاوم از باکتری‌های پوسیدگی‌زا گردد.[٤]

امروزه حداقل مداخله، اصل مهمی در درمان‌های دندانپزشکی است. بنابراین به نظر می‌رسد فتوداینامیک تراپی روشی مناسب و ایمن در مقایسه با پروتکل‌های درمانی رایج باشد. برای انجام یک درمان موفق، فاکتورهای متعددی از جمله انتخاب ماده فتوسنسیتایزر مناسب و همچنین پارامترهای دقیق منبع نور اهمیت زیادی دارد. اثرات بازدارنده فتوداینامیک تراپی بر رشد استرپتوکوکوس موتانس اولین بار در سال ۱۹۹٤ توسط Burns و همکارانش[٥] نشان داده شد. در سال‌های بعد مطالعات متعددی اثر بخشی فتوداینامیک تراپی را با استفاده از فتوسنسیتایزرهای مختلف بر روی استرپتوکوکوس موتانس با استفاده از منابع نوری متفاوت مانند دیود ساطع‌کننده نور (LED)، دستگاه لایت کیور و لیزر دیود بررسی کرده‌اند.[۱۲-٦]

Emundo یا Indocyaningreen اخیراً به عنوان ماده فتوسنسیتایزر با خاصیت آنتی‌باکتریال قابل توجه معرفی شده است.[۱۳] در صورت اثربخشی EmunDo متعاقب تابش لیزر می‌توان از آن به عنوان روشی غیرتهاجمی و محافظه کارانه به همراه روش مکانیکی برداشت پوسیدگی جهت متوقف نمودن پیشرفت ضایعات پوسیدگی و بهبود نتایج درمانی استفاده کرد. با وجود این، مطالعات اندکی در زمینه کارایی EmunDo در حذف باکتری‌های پوسیدگی‌زا انجام شده است. بنابراین، هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر تابش لیزر دیود مادون قرمز به همراه EmunDo به عنوان حساس‌کننده به نور بر میزان بقای باکتری استرپتوکوکوس موتانس بود.

مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده در این مطالعه استرپتوکوکوتانس (ATCC25175) بود که از سازمان علم و فناوری (IROST)[1] در تهران (ایران) تهیه شد. باکتری‌های خریداری شده به صورت لیوفیلیزه بود که می‌بایست جهت انجام آزمایش، پودر باکتری با سرم فیزیولوژی استریل رقیق و سپس کشت صورت گیرد. جهت تهیه ساب کالچر، سواپی که به سوسپانسیون باکتری استرپتوکوکوس موتانس آغشته گردیده بود در گوشه پتری محتوی محیط آگار BHI[2] تقویت شده با ۵٪ خون گوسفندی کشت شد. سپس در انکوباتور هوازی در دمای ۳۷°C و به مدت ٤۸ ساعت قرار گرفت. از استرپتوکوکوس موتانس ساب کالچر شده، مقدار ۵ تا ٦ کلونی مشابه توسط لوپ استریل برداشته شد و در محیط BHIB[3] موجود در لوله‌های آزمایش حل شد. سپس به مدت ۱ الی ۲ ساعت این لوله‌های آزمایش در داخل

1. Iranian Research Organization of Science and Technology
2. Brain Heart Infusion
3. Brain Heart Infusion Broth

انکوباتور در دمای ۳۵°C تا ۳۷°C قرار گرفتند. جهت تعیین غلظت باکتری، لوله استریل حاوی سوسپانسیون باکتری استرپتوکوکوس موتانس در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و سپس جذب نوری سوسپانسیون در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب نوری سوسپانسیون بایستی در حدود ۰/۰۸ تا ۰/۱۱ معادل کدورت استاندارد نیم مک فارلند باشد که حاوی تقریباً $۱/۵\times۱۰^{۸}$ واحد تشکیل‌دهنده کلونی در یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون (CFU/mL) است.

در این مطالعه از دستگاه لیزر دیود مادون قرمز (A.R.C Laser GmbH, Nurnberg, Germany) با طول موج ۸۱۰ نانومتر استفاده شد. تابش لیزر با دانسیته انرژی $۱۸J/cm^2$ و توان خروجی ۱۰۰mW در مدت ۹۰ ثانیه یا با استفاده از توان ۳۰۰mW در زمان ۳۰ ثانیه صورت گرفت. توان و زمان تابش طبق دستورالعمل کارخانه سازنده انتخاب شد. در این مطالعه از پروب غیرتماسی و فتوسنسیتایزر EmunDo یا Indocyanine green(A.R.C) Laser GmbH, Nurnberg, Germany استفاده شد.

گروه‌های مورد بررسی عبارت بود از:

گروه اول: EmunDo

گروه دوم: تابش لیزر دیود ۱۰۰mW به مدت ۹۰ ثانیه

گروه سوم: تابش لیزر دیود ۳۰۰mW به مدت ۳۰ ثانیه

گروه چهارم: EmunDo + تابش لیزر دیود ۱۰۰mW به مدت ۹۰ ثانیه

گروه پنجم: EmunDo + تابش لیزر دیود ۳۰۰mW به مدت ۳۰ ثانیه

گروه ششم (کنترل مثبت): شامل سوسپانسیون باکتری که تحت هیچ درمانی قرار نگرفت.

در تمامی گروه‌های مورد مطالعه، ۱۲۵ µL سوسپانسیون باکتری به داخل میکروتیوب‌ها با قطر ۸ میلی‌متر ریخته شد. در گروه‌های اول، چهارم و پنجم، ۱۲۵µL از EmunDo به سوسپانسیون باکتری اضافه شد. در گروه‌های دوم، سوم و ششم ۱۲۵µL ازPBS[1] جهت یکسان سازی حجم، داخل میکروتیوب حاوی سوسپانسیون باکتری ریخته شد. تمامی میکروتیوب‌ها بعد از مخلوط کردن کامل، به مدت ۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شدند. سپس در گروه‌های دوم، سوم، چهارم و پنجم در محیط تاریک نوک پروب دستگاه لیزر به صورت عمود و مماس بر لبه‌ی میکروتیوب قرار داده شد و تابش لیزر در سه نقطه از میکروتیوب انجام گرفت. سطح تحت تابش میکروتیوب حدود $۰/۵cm^2$ بود. یک بار بلافاصله و یک بار ۲۴ ساعت بعد از درمان، ۵۰µL از سوسپانسیون باکتری از هر یک از گروه‌های مورد مطالعه برداشته شد و سپس بر روی محیط آگار BHI کشت داده شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور هوازی قرار داده شد تا کلونی‌های باکتریایی قابل رؤیت شوند.

میزان بقای باکتری از طریق شمارش تعداد کلونی‌های تشکیل شده (CFU) روی محیط کشت تعیین شد. هر آزمایش ۶ بار تکرار شد. به طور کلی جهت شمارش کلونی ابتدا می‌بایست نور به طور کامل پتری را فرا گیرد تا کلونی‌ها قابل رؤیت و شمارش شوند. در صورتی که تعداد کلونی‌ها در پتری کم بود تمام کلونی‌های موجود در پتری شمارش می‌شد، ولی چنانچه تعداد کلونی‌های رشدیافته زیاد بوده و به راحتی قابل شمارش نبود، پتری را به وسیله ماژیک به قسمت‌های کوچک‌تر تقسیم می‌کردیم، به نحوی که در همه قسمت‌ها تعداد کلونی‌ها به طور نسبی برابر بود. سپس تعداد کلونی‌های شمارش شده در یک قسمت را در تعداد تقسیمات انجام شده ضرب می‌کردیم.

1. Phosphate-Buffered Saline

داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. جهت مقایسه میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس در گروه‌های مختلف و همچنین مقایسه گروه‌ها قبل و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی از آزمون اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

مقادیر میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس بر حسب گروه آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. نتیجه آزمون داده‌های تکراری نشان داد که بین دو عامل گروه و زمان اثر متقابل وجود نداشت (F=۱/۰۰۵، P=۰/۴۳۶).

مقایسه تعداد باکتری استرپتوکوکوس موتانس بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی در همه گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد به طوری که میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی نسبت به بلافاصله بعد از فتوداینامیک تراپی به صورت قابل توجهی افزایش یافته بود (F=۴۱۶/۹۶، P<۰/۰۰۱). با وجود این، بین گروه‌های آزمایشی در دو زمان مختلف تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس وجود نداشت (F=۱/۰۳۷، P=۰/۴۱).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس در ۶ گروه مورد بررسی در زمان‌های بلافاصله و ۲۴ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی

گروه	زمان	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
فتوسنسیتایزر	بلافاصله	۱۸۶۴۰۰	۵۶۷۴۷/۶۸	۱۴۷۰۰۰	۲۸۶۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۵۲۰۰۰۰	۵۷۶۱۹۴	۲۸۰۰۰۰۰	۴۲۰۰۰۰۰
فتوسنسیتایزر + لیزر ۱۰۰mW	بلافاصله	۱۶۵۵۰۰	۴۶۳۶۴/۴۹	۱۰۵۰۰۰	۲۱۴۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۴۳۷۵۰۰۰	۱۵۱۳۰۰۰	۲۳۰۰۰۰۰	۵۸۰۰۰۰۰
فتوسنسیتایزر + لیزر ۳۰۰mW	بلافاصله	۱۶۸۲۵۰	۶۰۲۵۱/۵۵	۱۱۳۰۰۰	۲۵۳۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۶۲۵۰۰۰	۱۰۷۸۱۹۰	۲۶۰۰۰۰	۴۷۰۰۰۰۰
لیزر ۱۰۰mW	بلافاصله	۲۳۱۰۰۰	۴۸۷۸۵/۲۴	۱۷۰۰۰۰	۲۹۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۴۶۴۰۰۰۰	۶۶۵۵۸۲	۴۰۰۰۰۰۰	۵۴۰۰۰۰۰
لیزر ۳۰۰mW	بلافاصله	۲۱۸۸۰۰	۸۲۴۹۶/۶۶	۱۳۰۰۰۰	۳۲۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۵۸۰۰۰۰	۹۸۳۳۶۲	۲۲۰۰۰۰۰	۶۵۰۰۰۰۰
کنترل مثبت	بلافاصله	۱۳۴۳۱۰	۲۱۸۵۵/۳۳	۱۰۷۰۰۰	۱۷۰۰۰۰
	۲۴ ساعت بعد	۳۸۷۵۰۰۰	۱۰۳۸۸۹۰	۲۷۰۰۰۰۰	۵۲۰۰۰۰۰

اثر زمان: P<۰/۰۰۱ و F=۴۱۶/۹۶

اثر گروه: P=۰/۴۱ و F=۱/۰۳۷

بحث

کاربرد فتوداینامیک تراپی در دندانپزشکی روز به روز در حال افزایش است. با توجه به محدودیت دسترسی مواد آنتی‌میکروبیال به نواحی پوسیده و مقاومت باکتری‌ها به واکسن‌های ضدپوسیدگی، امروزه فتوداینامیک تراپی به عنوان روشی ایمن و غیرتهاجمی در بسیاری از مطالعات مورد توجه قرار گرفته است.[۱۵و۱٤] در این مطالعه از لیزر دیود مادون قرمز با طول موج ۸۱۰ نانومتر و EmunDo به عنوان فتوسنسیتایزر استفاده شد. (ICG) Indocyaninegreen یا EmunDo اخیراً به عنوان ماده فتوسنسیتایزر با خاصیت آنتی‌باکتریال قابل توجه معرفی شده است. EmunDo یک فتوسنسیتایزر کاتیونیک از گروه Phenothiazine dyes می‌باشد و حداکثر جذب را با لیزر دیود مادون قرمز با طول موج ۸۰۵ نانومتر نشان می‌دهد که منجر به عمق نفوذ بیشتری خواهد شد.[۱۳] Nagahara و همکاران[۱٦] اثر باکتریسیدال فتوداینامیک تراپی را بر روی پورفیرومونا‌س ژنژیوالیس با استفاده از ICG و لیزر دیود با طول موج ۸۰۵ nm بررسی و کاهش قابل توجهی را در تعداد کلونی‌های پورفیرومونا‌س ژنژیوالیس مشاهده کردند. EmunDo برخلاف سایر Dyeها بر اکثر باکتری‌های شناخته شده در دهان، اعم از گرم مثبت و گرم منفی مؤثر می‌باشد. با توجه به دوز مصرفی پایین و اثر موضعی EmunDo، تاکنون اثرات جانبی برای این فتوسنسیتایزر مشاهده نشده است.[۱۳] Baumler و همکاران[۱۷] از این ماده جهت نابودی سلول‌های سرطانی انسانی استفاده و بیان کردند که بخشی از انرژی لیزر جذب شده توسط ICG به گرما تبدیل شده و بخشی سبب تولید اتم اکسیژن و رادیکال آزاد و نابودی سلول‌های سرطانی می‌شود. در مطالعه Kranz و همکاران[۱۸] این ماده به همراه لیزر مادون قرمز اثر توکسیک قابل توجهی بر روی پاتوژن‌های بیماری پریودونتال داشت. با توجه به اثرات آنتی‌باکتریال Emundo و جذب بالای نور لیزر توسط این ماده، در مطالعه حاضر اثر ضدپوسیدگی فتوداینامیک تراپی به واسطه Emundo مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها چه بلافاصله و چه ۲٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با گروه کنترل نداشت. میانگین تعداد باکتری موتانس در تمام گروه‌ها، ۲٤ ساعت بعد از فتوداینامیک تراپی به صورت قابل توجهی بیشتر از بلافاصله بعد از فتوداینامیک تراپی بود. این رویداد به دلیل رشد باکتری‌ها در محیط مغذی در مدت ۲٤ ساعت پس از فتوداینامیک تراپی قابل انتظار بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تحت شرایط این مطالعه فتوداینامیک تراپی به واسطه EmunDo بر روی بقای باکتری استرپتوکوکوس موتانس موثر نمی‌باشد. برخلاف نتایج این مطالعه، در اکثر مطالعات انجام شده فتوداینامیک تراپی روشی مؤثر بر علیه استرپتوکوک موتانس بوده است. در مطالعه وهابی و همکاران[۱۹] اثر فتوداینامیک تراپی به واسطه راداکلرین و تولوئیدن بلو و تابش لیزر با دو دانسیته انرژی مختلف ($٦J/cm^2$ و$۱۲J/cm^2$) بررسی شد و نتایج نشان داد که فعال‌کنندگی تولوئیدن بلو با هر دو دانسیته انرژی به کار رفته و راداکلرین با دانسیته انرژی بالاتر منجر به کاهش قابل توجه در تشکیل کلونی‌های باکتریایی شد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که فتوداینامیک تراپی اندازه و شکل استرپتوکوکوس موتانس را تغییر می‌دهد. در مطالعه de Melo و همکاران[۲۰] فتوداینامیک‌تراپی با استفاده از تولوئیدن بلو و دیود نوری

توانست اندازه استرپتوکوکوس موتانس را کاهش دهد. استفاده از منابع نوری دیگر به جز لیزر نیز در فتوداینامیک تراپی نتایج خوبی به همراه داشته است. در مطالعه Lee و همکاران[۲۱] از دستگاه لایت کیور و اریتروزین به عنوان فتوسنسیتایزر و در مطالعه حکیمی‌ها و همکاران[۶] از دیود ساطع‌کننده نور (LED) و راداکلرین و تولوئیدن بلو به عنوان فتوسنسیتایزر استفاده شد و در هر دو مطالعه کاهش تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس قابل توجه بود. البته در تمامی این مطالعات، فتوسنسیتایزر به کار رفته متفاوت از مطالعه حاضر بوده است. در مطالعه فکرآزاد و همکاران[۱۱] کاهش قابل توجه در باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس بعد از فتوداینامیک تراپی و فتوترمال تراپی با استفاده از EmunDo مشاهده شد. برخلاف آن، در مطالعه Basso و همکاران[۲۲] مجاورت استرپتوکوکوس موتانس و کاندیدا آلبیکنس احتمالاً سبب ایجاد مقاومت باکتریایی شد و در نتیجه فتوداینامیک تراپی بر ترکیب این دو میکروب موثر واقع نشد. عدم تأثیر بر روی استرپتوکوکوس موتانس در مطالعه حاضر ممکن است به خاطر استفاده از پارامترهای لیزر مختلف یا کاربرد پروب غیرتماسی باشد، زیرا پروب غیرتماسی سطح وسیعی دارد و در نتیجه شدت انرژی در سطح پروب کاهش یافته و امکان لوکالیزه کردن دقیق ناحیه تابش وجود ندارد. در نتیجه تعداد کلونی‌ها نه تنها کاهشی نشان نداد بلکه به دلیل عدم وجود خاصیت آنتی‌میکروبیال و رشد باکتری در محیط مغذی افزایش قابل توجهی بعد از ۲۴ ساعت نشان داد. شاید، استفاده از فایبر ۳۰۰ یا ۶۰۰ میکرونی به دلیل مشخص بودن ناحیه تابش، اثربخشی بهتری نسبت به پروب غیرتماسی داشته باشد. افزایش دوز یا زمان تابش لیزر نیز ممکن است نتایج متفاوتی به دست دهد. تاکنون مطالعات بسیار کمی در رابطه با EmunDo صورت گرفته است و نیاز به بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌باشد.

آینده فتوداینامیک تراپی به تقابل بین تکنولوژی نوین و تقاضاهای کلینیکی بستگی دارد. کاربرد آنتی‌میکروبیال فتوداینامیک تراپی در دندانپزشکی به سرعت در حال افزایش است، زیراروشی غیرتهاجمی و ایمن، جهت درمان بیماری‌های مرتبط با پلاک دندانی مانند پوسیدگی Rampant به شمار می‌رود و همچنین به عنوان روشی مناسب جهت کاهش بار میکروبی در آماده سازی حفره برای ترمیم دندان مطرح است. با وجود اینکه نتایج این مطالعه می‌تواند کمک‌کننده باشد ولی پیشنهاد می‌شود که پارامترهای لیزر مانند دوز و زمان تابش تغییر یابد و خاصیت ضدمیکروبی این روش بر علیه سایر باکتری‌های شایع دهان نیز بررسی شود.

نتیجه گیری

تحت شرایط این مطالعه، فتوداینامیک تراپی در حضور لیزر دیود ۸۱۰nm و EmunDo نتوانست تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس را کاهش دهد. تعداد کلونی‌های استرپتوکوکوس موتانس بعد از ۲۴ ساعت از گذشت فتوداینامیک تراپی افزایش قابل توجهی را نشان داد. بنابراین با توجه به مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که شرایط تابش لیزر یا نوع ماده فتوسنسیتایزر باید تغییر یابد تا نتایج مؤثرتری به دست آید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی به شماره ۲۶۹۴ از دانشکده دندانپزشکی مشهد می‌باشد. بدین وسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که حمایت مالی را برای انجام این پژوهش فراهم نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1. Dean JA, Avery DR, Mc Donald RE. Dentistry for the Child and Adolescent. 9th ed. London: Mosby Co; 2011. P. 177.
2. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. Dent Clinics North Am 2010; 54(3): 507-25.
3. Diniz IM, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MR. Antimicrobial Photodynamic Therapy: A promise candidate for caries lesions treatment. Photodiagnosis Photodyn Therop 2015.
4. Santin GC, Oliveira DS, Galo R, Borsatto MC, Corona SA. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: A systematic review of the literature. Sci World J 2014; 2014: 824538.
5. Burns T, Wilson M, Pearson GJ. Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminium arsenide diode laser. J Dent 1994; 22(5): 273-8.
6. Hakimiha N, Khoei F, Bahador A, Fekrazad R. The susceptibility of Streptococcus mutans to antibacterial photodynamic therapy: A comparison of two different photosensitizers and light sources. J Appl Oral Sci 2014; 22(2): 80-4.
7. Tonon CC, Paschoal MA, Correia M, Spolidorio DM, Bagnato VS, Giusti JS. Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of Streptococcus mutans. J Contemp Dent Pract 2015; 16(1): 1-6.
8. Ricatto LG, Conrado LA, Turssi CP, Franca FM, Basting RT, Amaral FL. Comparative evaluation of photodynamic therapy using LASER or light emitting diode on cariogenic bacteria: An *In vitro* study. Eur J Dent 2014; 8(4): 509-14.
9. Paschoal MA, Santos-Pinto L, Lin M, Duarte S. Streptococcus mutans photoinactivation by combination of short exposure of a broad-spectrum visible light and low concentrations of photosensitizers. Photomed Laser Surg 2014; 32(3): 175-80.
10. Baptista A, Kato IT, Prates RA, Suzuki LC, Raele MP, Freitas AZ. Antimicrobial photodynamic therapy as a strategy to arrest enamel demineralization: A short-term study on incipient caries in a rat model. Photochem Photobiol 2012; 88(3): 584-9.
11. Fekrazad R, Khoei F, Hakimiha N, Bahador A. Photoelimination of Streptococcus mutans with two methods of photodynamic and photothermal therapy. Photodiagnosis Photodyn Ther 2013; 10(4): 626-31.
12. Dogandzhiyska V, Gergova R, Dimitrov S, Doychinova M. Antimicrobial activity of photodynamic therapy against microorganisms isolated from deep carious lesions. J IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers 2013; 19(4): 430-4.
13. Parker S. The use of diffuse laser photonic energy and indocyanine green photosensitiser as an adjunct to periodontal therapy. Br Dent J 2013; 215(4): 167-71.
14. Voos AC, Kranz S, Tonndorf-Martini S, Voelpel A, Sigusch H, Staudte H, et al. Photodynamic antimicrobial effect of safranine O on an ex vivo periodontal biofilm. Lasers Surg Med 2014; 46(3): 235-43.
15. Liu PF, Zhu WH, Huang CM. Vaccines and photodynamic therapies for oral microbial-related diseases. Curr Drug Metab 2009; 10(1): 90-4.
16. Nagahara A, Mitani A, Fukuda M, Yamamoto H, Tahara K, Morita I. Antimicrobial photodynamic therapy using a diode laser with a potential new photosensitizer, indocyanine green-loaded nanospheres, may be effective for the clearance of Porphyromonas gingivalis. Journal of Periodontal Research 2013; 48(5): 591-9.
17. Bäumler W, Abels C, Karrer S, Weiss T, Messmann H, Landthaler M. Photo-oxidative killing of human colonic cancer cells using indocyanine green and infrared light. Br J Cancer 1999; 80(3-4): 360.
18. Kranz S, Huebsch M, Guellmar A, Voelpel A, Tonndorf-Martini S, Sigusch BW. Antibacterial photodynamic treatment of periodontopathogenic bacteria with indocyanine green and near-infrared laser light enhanced by Trolox(TM). Lasers Surg Med 2015; 47(4): 350-60.
19. Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Lizarelli R, Kalhori K. Antimicrobial photodynamic therapy with two photosensitizers on two oral streptococci: An *In vitro* study. Laser Physics 2011; 21(12): 2132-7.
20. de Melo MA, Rolim JP, Zanin IC, Barros EB, da-Costa EF, Rodrigues LK. Characterization of antimicrobial photodynamic therapy-treated Streptococci mutans: An atomic force microscopy study. Photomed Laser Surg 2013; 31(3): 105-9.
21. Lee YH, Park HW, Lee JH, Seo HW, Lee SY. The photodynamic therapy on Streptococcus mutans biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit. Int J Oral Sci 2012; 4(4): 196-201.
22. Basso FG, Oliveira CF, Fontana A, Kurachi C, Bagnato VS, Spolidorio DMP, et al. *In vitro* effect of low-level laser therapy on typical oral microbial biofilms. Braz Dent J 2011; 22(6): 502-10.