

化學消毒劑對馬來牙膠針之滅菌效果

林伶紅 王正怡*

摘 要

探討 Zephiran, Hibitan, Cidex, Hydrogen peroxide, Savlon, Betadine, Ethanol 及 Sodium hypochlorite 等八種常用化學消毒藥物，對肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumonia*)，大腸桿菌 (*Escherichia coli*)，綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)，金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)，表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermitis*)，糞鏈球菌 (*Streptococcus faecalis*)，枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 等微生物的殺菌能力。本實驗係將表面先沾附細菌之馬來牙膠針與欲測定之化學藥物作用，經一定時間後，再將牙膠針置於培養基內，測定細菌是否被殺死。結果顯示在八種所測定之化學藥物中，以 5.25% 之次氯酸鈉殺菌作用最好。沾有細菌之牙膠針經 5.25%，2.5%，1.5% 次氯酸鈉作用 1 分鐘後，均可達到滅菌效果；作用時間只有 45 秒時，雖不能將枯草桿菌殺死，但仍能將其他不產生芽孢之細菌殺死。此實驗之結果可做為臨床上選擇化學藥物消毒馬來牙膠針時之參考。

根管封填後，若仍有微生物留在根管內就有可能侵入根尖肚圍組織，不僅會造成疼痛，還可能引起牙周的破壞⁽¹⁾。因此根管治療要能成功，不但要藉著充分的根管清創、擴創以及根管內置藥等方法，儘可能將根管內的微生物去除，更要使用無菌的器械及封填材料以免將細菌帶入根管造成治療的失敗⁽²⁾。馬來牙膠針是最常常被用來作為根管封填材料之一，由於它不耐熱，無法以高熱的方法消毒，所以必需經由人學消毒的方法，使之達到滅菌的效果。

自從 1971 年 Montgomery⁽³⁾ 實驗證明開封的牙膠針常會受到污染後，牙膠針滅菌的必要性逐漸受重視。於是 Formocresol vapor^(4,5)、Chlorohexidine⁽⁶⁾、Metaphen^(4,7)、

Ethyl alcohol^(4,8)、Zephiran^(4,8)、Hydrogen peroxide⁽⁸⁾、Glutaraldehyde^(7,8)、Pyrolidone-iodine⁽⁸⁾ 等化學消毒劑陸續被提出來作為牙膠針滅菌之用。1977 年 Senia⁽⁹⁾ 以 5.25% Sodium hypochlorite 將牙膠針浸泡 1 分鐘，可使之達到表面滅菌之效果。1983 年 Frank⁽¹⁰⁾ 建議以 5.25% Sodium hypochlorite 浸泡 1 分鐘，或以 Sporicidine 處理 5 分鐘皆能達到滅菌效果。1987 年 Stabholz⁽¹¹⁾ 提出以 2% Chlorohexidine 或 5.25% Sodium hypochlorite 將牙膠針處理 10 分鐘能達成滅菌之目的，但若換成 Ethyl alcohol 或 Isopropyl alcohol 則需 60 分鐘。

臨床上消毒牙膠針的時間愈短愈好，可以

台北醫學院附設醫院牙科

*台北醫學院微生物學科

民國七十九年三月十二日受理

縮短準備的時間，也可以應付不時之需，因此本實驗的主要目的是要從幾種臨床上經常使用的化學消毒劑中找出殺菌力強又快速的馬來牙膠針滅菌劑及其適宜濃度。

材料與方法

細菌種類、培養基和化學藥物

本實驗選用肺炎桿菌、綠膿桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、糞鏈球菌和枯草桿菌等七種細菌。所用之細菌均接種於 Brain Heart Infusion (Diffico) 培養基內，於 37°C 培養 18-24 小時。

所測定之化學藥物包括 Zephiran、Hibitan、Cidex、Hydrogen peroxide、savlion、Betadine、Ethanol 及 Sodium hypochlorite 等，依廠商所指示的使用濃度調配好備用。

實驗中所用的馬來牙膠針為西德 ANTAEOS 廠標準規格 40 號主錐。

實驗方法

初步實驗取 48 支原封的馬來牙膠針分成 4 組作以下之處理(1)以無菌方式挾取直接置於 BHI 培養基之試管內，(2)在手中轉動 30 秒，(3)置於病人唾液內 5 分鐘，(4)放在無菌紗布上暴露於空氣中 48 小時等方式處理後，投入含 BHI 試管內於 37°C 培養並觀察，至第五天仍無細菌生長，即表示沒有細菌生長。

化學藥物對馬來牙膠針滅菌作用之測定。先將細菌培養在 BHI 培養基中，經過 18-24 小時培養後，再將其作適當之稀釋，使所含細菌數，達到所需之濃度，再將無菌之馬來牙膠針分別置於細菌懸浮液內，使細菌沾附在牙膠針表面。然後取出牙膠針，分別再置於各種欲測試的化學藥物溶液中，經作用某一定時間後取出投入 5c.c.BHI 液體培養基內，置於 37°C 保溫箱中觀看細菌之生長情形至第五天，每一個

實驗皆重覆做 3 次。所有實驗皆以生理食鹽水處理過的牙膠針做為對照組。

不同濃度的次氯酸鈉殺菌率之比較。將各種細菌懸浮液分別加入裝有 5.25%、2.5% 及 1.5% 次氯酸鈉之試管中，經作用 15 秒、30 秒及 45 秒後，以菌落計數法測出溶液內所含之生菌數，依據下列公式推算出所殺死細菌之百分比。

殺死細菌之百分比 =

1-經某濃度次氯酸鈉作用某時間後存活之細菌數

經生理食鹽水作用後存活之細菌數

結 果

初步實驗，各組牙膠針受細菌污染的情形如表 1 所示。直接由無菌方式挾取，置於裝有 BHI 培養液之試管中培養的牙膠針，全部沒有細菌生長，表示未開封的牙膠針是無菌的。而拿在手中轉動 30 秒的牙膠針，經培養後，有 9 支有細菌生長；置於病人唾液中浸 5 分鐘的有 11 支有細菌生長；暴露在空氣中 48 小時的牙膠針，有 5 支有細菌生長的現象。

各種化學消毒劑對沾附細菌牙膠針之滅菌

表 I 臨床上牙膠針受細菌污染的情形

Route of Contamination	Growth	No Growth	Total Sample
Aseptically transferred	0	12	12
Open to the air for 48hr	5	7	12
Rolled between fingers for 30 sec.	9	3	12
Immersed in the saliva of the patient for 5 mins	11	1	12
Total	25	23	48

表 2 全部的化學消毒劑對馬來牙膠針的滅菌情形

Organism	min.	Saline Control			Zephiran (1:750)			Hibitane Chlorhexidine 0.5%			Cidex glutaraldehyde 2.3%			Hydrogen Peroxide (3%)			Savlon Chlorhexidine 0.05%			Betadine Povidone-Iodine Elo			Ethanol (70%)			Sodium hypochlorite (5.25%)					
		1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5			
Klebsiella pneumonia		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermidis		+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus subtilis		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

十=有細菌生長；- =沒有細菌生長
 細菌懸浮液之濃度為每毫升 10⁸細菌
 每支牙膠針上沾附之細菌數為 10⁶CFU
 所有的培養基均置於 37°C 保溫箱中培養，觀察至第五天

表 3 不同濃度的Sodium hypochlorite之殺菌情形

Organism	min	Normal saline control		Sodium hypochlorite (5.25 percent)		Sodium hypochlorite (2.5 percent)		Sodium hypochlorite (1.5 percent)	
		1	3	1	3	1	3	1	3
Klebsiella pneumonia		+	+	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa		+	+	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli		+	+	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus		+	+	-	-	-	-	-	-
Streptococcus faecalis		+	+	-	-	-	-	-	-
Bacillus subtilis		+	+	-	-	-	-	-	-

每支牙膠針上所沾附之細菌數為 10⁶CFU
 ‘+’，表有細菌生長；‘-’，表沒有細菌生長

情形列於表 II。所有消毒劑中，以次氯酸鈉效果最好，作用 1 分鐘後就能殺死全部細菌。過氧化氫效果最差，作用 1 分鐘對所有細菌皆無

效，作用 3 分鐘後只有大腸桿菌、綠膿桿菌、金黃色葡萄球菌及表皮葡萄球菌被殺死；肺炎球菌、糞鏈球菌及枯草桿菌皆不能被殺死。Ze-

表 4 比較不同濃度的細菌對不同濃度次氯酸鈉殺菌作用之影響

Concentration of Sodium hypochlorite	Exposure time (min)	Klebsiella pneumonia			Pseudomonas aeruginosa			Escherichia coli			Staphylococcus aeruginosa			Streptococcus epidermidis			Streptococcus faecalis			Bacillus subtilis					
		10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
1.5%	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5%	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.25%	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Normal	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saline	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = 有細菌生長；- = 沒有細菌生長
* 細菌數每毫升 10⁸ 細菌

表 5 不同濃度 Sodium hypochlorite 殺菌力之百分比

Organism	Killing percentage								
	15 sec*			30 sec			45 sec		
	5.25%**	2.5%	1.5%	5.25%	2.5%	1.5%	5.25%	2.5%	1.5%
Klebsiella pneumonia	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Pseudomonas aeruginosa	100%	100%	95.6%	100%	100%	96.2%	100%	100%	99.4%
Escherichia coli	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Staphylococcus aeruginosa	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Staphylococcus epidermidis	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Streptococcus faecalis	100%	100%	99.5%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

* 作用時間
** 次氯酸鈉之濃度

phiran 效果也不好，作用 1 分鐘後糞鏈球菌和枯草桿菌不能被殺死；作用 3 分鐘後枯草桿菌也是沒有被殺死。至於其他的化學消毒劑如 Hibitane, Cidex, Savlon, Betadine, Ethanol 等在作用 1 分鐘後均可將不產生芽孢之細菌殺死。由此可知 5.25% 次氯酸鈉效果最好，而過氧化氫效果最差。進一步探討較低濃度之次氯

酸鈉之殺菌效果，其結果列於表 3。結果顯示 5.25%、2.5% 及 1.5% 之次氯酸鈉均可在作用 1 分鐘後殺死全部細菌。而這三種濃度的次氯酸鈉，對更高濃度細菌的滅菌情形列見於表 4。無論沾附牙膠針所用細菌懸浮液之濃度為每毫升 10⁶、10⁷、10⁸ 或 10⁹ 細胞時，三種濃度的次氯酸鈉均可在 1 分鐘後將沾附牙膠針上的細菌全部

殺死。雖然這三種濃度次氯酸鈉在 1 分鐘時殺菌結果相同，但殺菌力並不一樣（見表 5）。對無芽孢細菌而言，作用 15 秒後 5.25% 及 2.5% 次氯酸鈉即能將之全部殺死；而 1.5% 者殺菌力顯著降低，只能將肺炎球菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌及表皮葡萄球菌殺死，對綠膿桿菌及糞鏈球菌之殺菌力分別為 95.6%、99.5%。作用時間為 30 秒時 1.5% 次氯酸鈉對綠膜桿菌仍不能全部殺死，其殺菌力為 96.2%。在 45 秒的作用時間，1.5% 次氯酸鈉仍無法完全殺死綠膿桿菌。對於枯草桿菌來說，不論 5.25%、2.5% 或 1.5% 次氯酸鈉皆不能將之殺死，即使時間延長至 30 秒或 45 秒依然無效。

討 論

由密封包裝中以無菌方式取出培養的 12 支牙膠針，置於培養基內經培養後，均無細菌生長。而其他在手中轉動、浸在唾液或暴露在空氣中的牙膠針，經培養的結果，部分有細菌生長，這表示由包裝中取出的牙膠針，原本是無菌的，但是在充填入根管前，會因為接觸到已污染的器械、操作者的手或病人的唾液等，而被污染，這結果與 Montgomery⁽³⁾、Doolittle⁴ 及 Linke⁽⁸⁾ 等人的報告一致，因此牙膠針在充填根管之前應該先經過滅菌處理。

至於牙膠針滅菌之有效方法，早在 1966 年 Buchbinder 曾提出以 paraformaldehyde 蒸汽來使牙膠針滅菌，但是一直到 1971 年 Montgomery⁽³⁾ 證明牙膠針會受到污染，並嘗試以 polyvinyl-pyrrolidone-iodine 來消毒牙膠針後，牙膠針滅菌的問題逐漸受到重視。隨後 Doolittle⁽⁴⁾ 及 Senia⁽⁵⁾ 也提出以甲醛 (formocresol) 蒸汽來消毒牙膠針，但是利用蒸汽作用消毒牙膠針的方式耗時太長，只宜於儲存牙膠針之用。於是化學消毒劑浸泡的方法，遂成大家研究的重點。本實驗除選用革蘭氏陽性與革蘭氏陰性常見的致病菌外，同時選用枯草桿菌。由於枯草桿菌能產生芽孢，而細菌芽

胞之耐受性極大，因此化學藥物若能殺死枯草桿菌，即視同具有滅菌效果。同時本實驗以經生理食鹽水處理過的牙膠針做為實驗的對照組，用以說明沒有培養出細菌的牙膠針是因消毒劑作用的結果，並非沾附在牙膠針上的細菌被洗掉。

在測試的八種化學消毒劑中，Zephiran 屬於 Benzalkonium chloride 類消毒劑，在本實驗中它對糞鏈球菌效果不好。在 Miller⁽⁷⁾ 的研究中，對枯草桿菌需要 24 小時才有滅菌作用。1978 年牙科治療學會議中，Zephiran 被評為消毒作用力弱，不宜做為環境及器械之表面消毒劑⁽¹³⁾，近年來已很少人用。Hibitan 與 Savlon 二者皆為 chlorhexidine 製劑，在本實驗中所使用的濃度分別為 0.5% 及 0.05%，均不能在 5 分鐘內將牙膠針滅菌。依 Stabholz⁽¹¹⁾ 之研究 chlorhexidine 水溶液可在 10 分鐘後殺死包括枯草桿菌之不同細菌，雖然他們使用的濃度為 2%，比本實驗所用高許多倍，但仍無法在本實驗要求的最長時間—5 分鐘內達到滅菌作用。至於 70% Ethanol, Stabholz 在同一篇報告中認為要作用 60 分鐘才有滅菌效果，本實驗內 70% Ethanol 作用 5 分鐘不能使牙膠針滅菌，此結果與 Stabholz 的研究相符合。對於同為 glutaraldehyde 系的 Cidex7 與 Sporicidine, Frank⁽¹⁰⁾ 的報告為 Cidex 與 Sporicidine 各需 15 分鐘及 5 分鐘才有滅菌效果，而 Miller⁷ 的研究以 Cidex 來使馬來牙膠針滅菌需要 30 分鐘。本實驗研究之結果，2.3% glutaraldehyde 並不能在作用 5 分鐘後使牙膠針滅菌。由此可知雖屬同系藥物，但會因所選菌種不同、廠牌不同、濃度不同，甚至添加物不同而有不同的結果。在本實驗中 Betadine 在本實驗中只對無芽孢細菌有效，而依 Linke⁽⁸⁾ 等人研究，Betadine 甚至不能在 5 分鐘的作用時間殺死變種鏈球菌 (Streptococcus mutans)。顯見其殺菌效果不佳。過氧化氫也常被用來做根管沖洗劑，它非但不能將枯草桿菌殺死，甚至不生芽孢而亢性較大的肺炎球

菌、綠膿桿菌及糞鏈球菌也不能殺死，是八種藥物中效果最差的。次氯酸鈉不論濃度為 5.25%、2.5% 甚至只有 1.5%，皆可在作用 1 分鐘後，將全部細菌殺死，甚至細菌濃度高到每毫升 10^9 細胞也不例外，這表示次氯酸鈉之效果優於其他藥物，是所有消毒劑中最好的。

根據 Montgomery⁽³⁾ 及 Linke⁽⁸⁾ 等人由已被污染的牙膠針培養出來的細菌，主要為球菌 (cocci)、桿菌 (rods) 等不產生芽孢之細菌。由表 V 可知只需以 5.25% 或 2.5% 的次氯酸鈉作用 15 秒，即可達到消毒牙膠針的目的，但若欲完全滅菌，則需浸泡 1 分鐘。次氯酸鈉具有很好的組織溶解力與殺菌力^(14,15)，臨床上常用來沖洗根管，但是 5.25% 的濃度對根尖組織刺激性大⁽¹⁴⁾，氯氣味道又很重⁽¹⁵⁾，而 1.5% 的濃度組織溶解力較弱⁽¹⁶⁾，2.5% 次氯酸鈉殺菌力與 5.25% 一樣好，因此本實驗建議以 2.5% 次氯酸鈉作為根管沖洗劑與馬來牙膠針滅菌劑，並且建議其滅菌作用時間為 1 分鐘。

綜合以上結果與討論，得到的結論如下：

1. 未開封的牙膠針原是無菌的，一旦開封後很容易受污染，所以在根管充填前需先滅菌。

2. 5.25%、2.5% 與 1.5% 之次氯酸鈉均可在作用 1 分鐘後使牙膠針達到滅菌的目的；而 5.25% 與 2.5% 之次氯酸鈉更可在 15 秒內殺死不產生芽孢之細菌。

3. 為了達到牙膠針滅菌之效果及配合臨床上根管沖洗之需要，建議以 2.5% 次氯酸鈉將牙膠針浸泡 1 分鐘後方用於根管充填。

誌 謝

本實驗承蒙陳秀津醫師與洪正芳醫師鼎力相助方得完成，特此致謝。

參考文獻

1. GROSSMAN LI, OLIET S, DEL RIO CE: En-

dodontic Practice Philadelphia, Lea & Febiger 11th edition, p 228-233, 1988.

2. SELTZER S, BENDER KB: Factors affecting successful repair after root canal therapy. JADJ 67; 651-662, 1963.
3. MONTGOMERY S: Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinyl-pyrrolidone-iodine. Oral surgery, Oral medicine and Oral Pathology 31; 258-266, 1971.
4. DOOLITTLE TP, RUBEL RL, FRIDE I: The effectiveness of common office disinfection procedures for gutta percha and silver points. NY State Dent J 41; 409-14, 1975.
5. SENIA ES, MARRARO RV, NITCHELL JL: Cold sterilization of guttapercha cones with formocresol vapors. J Am Dent Assoc 94; 867-90, 1977.
6. SUCHDE RV, TALIM ST, BILLIMORIA KF: Efficiency of cold sterilizing agent for endodontic procedure. J Dent Res 58; 670, 1979.
7. CHRIS H. MILLER, DOMINIC P. LU, JOHN E. CRIMMEL: Bactericidal efficiency of some antimicrobial chemicals. J Dent Res 52; 184, 1973.
8. LINKE HARALD AB, CHOHAYEB AIDA A: Effective surface sterilization of gutta-percha points. Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology 55; 73-77, 1983.
9. SENIA ES, MARRARO RV, MITCHELL JL: Rapid sterilization of Gutta-percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. J. Endod 1; 136-140, 1975.
10. FRAND RJ, PELLEU GB: Glutaraldehyde decontamination of gutta-percha cones, J Endod 9; 368-370, 1983.
11. STABHOLZ A, STABHOLZ AYALA, ARIEDMAN S: Efficiency of different chemical

- agents in decontamination of gutta-percha cones. *Int Endod J* 20; 211-216, 1987.
12. BUCHBINDER M: Sterilization of cotton points and gutta-percha points: Description of Technique, *N. Y. J. Dent* 36; 200-201, 1966.
 13. COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS: Quaternary ammonium compounds not acceptable for disinfection of instruments and environmental surfaces in dentistry. *JADA* 97; 855-856, 1978.
 14. SPANGBERG L, RUTBERG M, RYDINGEE: Biologic effects of endodontic antimicrobial agents. *J Endod* 5; 166-172, 1979.
 15. NAKAMURA. H: The solvent action of sodium hypochlorite on bovine tendon collagen, bovine pulp, and bovine gingiva. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 60; 322-330, 1985.
 16. S. D. Tth, Nijmegen: The solvent action of sodium hypochlorite on fixed and unfixed necrotic tissue. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 47; 558-561, 1979.
 17. INGLE JI, BEVERIDGE EE; *Endodontic Practice Philadelphia, Lea & Febiger* 2nd edition, p 177, 1976.

Effectiveness of Chemical Disinfectants in Sterilization of Gutta-percha Points

L_{ING}-H_{ONG} L_{IN} and C_{HENG}-Y_I W_{ANG}*

ABSTRACT

Gutta-percha points were contaminated by bacterial suspension than immersed into a solution of chemical disinfectant to be tested. A bacteriologic investigation was conducted to determine the effective and rapid sterilizing agent of gutta-percha points. These findings indicate that gutta-percha points can be effectively sterilized by immersed for 1 minute in 2.5% sodium hypochloride.

Key words: Gutta percha points, chemical disinfectants, sterilization, sodium hypochlorite.

Department of Dentistry, Taipei Medical College Hospital, Taipei, ROC

* Department of Microbiology, Taipei Medical College, Taipei, ROC

Received for publication: March 12, 1990.