بررسی میزان خاصیت آنتی‌باکتریال پروپولیس در مقایسه با کلسیم هیدروکساید بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس در کانال ریشه دندان(In vitro)

دکتر زهره آهنگری*، دکتر گیتا اسلامی **، دکتر ستاره قناد***

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از داروهای مختلف در داخل کانال ریشه برای کاهش تعداد میکروارگانیسم‌هایکی از مراحل اصلی درمان‌های ریشه به شمار می‌رود. امروزه، کاربرد پروپولیس (مادهٔ طبیعی تولید شده توسط زنبور عسل) به عنوان یک عامل ضدالتهابی و ضدمیکروبی مورد توجه محققان قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف تعیین خصوصیات ضدمیکروبی پروپولیس در مقایسه با کلسیم هیدروکساید برعلیه باکتری انتروکوکوس فکالیس به صورت آزمایشگاهی انجام گردید.

مواد و روشها: در تحقیق تجربی حاضر، ۴۲ دندان تک کانالهٔ انسانی انتخاب و پس از تهیهٔ حفرهٔ دسترسی، لایهٔ اسمیر کانال‌ها برداشته شد. کانال‌های آماده‌سازی شده از طریق باکتری انتروکوکوس فکالیس آلوده شدند. سپس به منظور ارزیابی مواد، فضای کانال ریشه از عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪ و هیدروکسید کلسیم پر شد.گروه کنترل منفی درمرحله استریلیزاسیون نمونه‌ها بکار برده شدند و از گروه کنترل مثبت، در مرحله آخراستفاده شد که در آن هیچ ماده‌ای داخل کانال‌های این گروه اضافه نگردید. نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت، ۱ هفته و ۱ ماه در انکوباتور CO_2دار نگهداری شدند. سپس از داخل کانال‌ها نمونه‌برداری انجام و تعداد کلنی‌های رشد یافتهٔ انتروکوکوس فکالیس شمارش گردید. تعداد کلنی‌ها در زمان‌های مختلف نگهداری به وسیله آزمون Kruskal-wallis و در استفاده از دو دارو با آزمون Mann-whitney U مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: تعداد کلنی‌های باکتری در کاربرد عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪، ۷۲ ساعت بعد از نگهداری برابر ۴۶۳۶۸/۰۹±۵۵۰۰۰ و در استفاده از کلسیم هیدروکساید معادل ۴۸۰۲۷/۰۷۷±۴۳۳۳۳/۳۳ برآورد گردید. یک هفته بعد از نگهداری، تعداد کلنی‌های شمارش شده در پروپولیس معادل ۴۰۸/۲۵±۱۶۶/۶۷ و در هیدروکسید کلسیم برابر صفر بود. هیچ کلنی از باکتری انتروکوک فکالیس ۱ ماه بعد از نگهداری نمونه‌ها در استفاده از عصارهٔ پروپولیس و هیدروکسید کلسیم مشاهده نگردید. تفاوت آماری معنی‌داری بین دو دارو در زمان‌های مختلف مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در مجموع، خصوصیات ضدباکتری پروپولیس برعلیه باکتری انتروکوکوس فکالیس در زمان‌های مختلف در حد کلسیم هیدروکساید برآورد گردید. بنابراین، در صورت تأیید تمام خصوصیات و ویژگی‌های پروپولیس، می‌توان از این مادهٔ طبیعی، در درمان‌های کانال ریشه استفاده کرد.

کلید واژگان: پروپولیس، انتروکوکوس فکالیس، خاصیت ضدمیکروبی، هیدروکسید کلسیم.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۶/۲۱ تاریخ اصلاح نهایی۱۳۹۰/۹/۲۳ تاریخ تأیید مقاله:۱۳۹۰/۹/۲۸

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۳۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، ۱۶- ۹

مقدمه

با وجود اینکه طی درمان‌های کانال ریشه، با استفاده از روش‌های مکانیکی و شیمیایی، تعداد میکروارگانیسم‌ها تا حد امکان کاهش داده می‌شوند (۲،۱)، این احتمال وجود دارد که برخی از آنها در داخل کانال باقی بمانند، از این رو، داروهای مختلفی در بین جلسات درمانی در داخل کانال مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵-۳). انتروکوکوس فکالیس، باکتری گرم مثبت غیرهوازی، جزء فلور نرمال دهانی بوده، در مقادیر اندک در کانال‌های ریشهٔ آماده‌سازی نشده یافت می‌شود. نقش آن هنوز به طور یقین در درمان‌های ریشه مشخص نشده، به نظر می‌رسد این گونه، شایع‌ترین باکتری شناسایی شده از کانال‌های ریشهٔ درمان شده می‌باشد که دچارپریودنتیت اپیکالی مزمن می‌شود(۶). توانایی این

*نویسنده مسئول: دانشیارگروه اندودانتیکس، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی E-mail:zohreahangari@sbmu.ac.ir

**دانشیار گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

***دندانپزشک.

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری در تهاجم به توبول‌های عاجی، مقاومت در برابر شرایط مختلف اکولوژیکی کانال و تطبیق با شرایط نامناسب داخل کانال جزء عواملی است که باعث گردیده این باکتری به عنوان یک عفونت پاتوژن مقاوم در برابر درمان‌های اندودنتیک معرفی گردد (۷). فعالیت داروهای مختلف داخل کانال ریشه برعلیه انتروکوکوس فکالیس در برخی تحقیقات ارزیابی و از میان آنها، هیدروکسید کلسیم به عنوان داروی استاندارد علیه آن معرفی شده است (۱۰-۸)، هرچند داروهایی مانند کلرهگزیدین و iodine potassium iodide یا ترکیب آنها نیز در این زمینه به کار رفته‌اند.

استفاده از داروی هیدروکسید کلسیم محدودیت‌هایی به همراه دارد، زیرا این دارو تمامی میکروارگانیسم‌ها را از سیستم کانال ریشه حذف نکرده (۱۱)، به مدت زمان زیادی جهت اعمال اثرات ضدمیکروبی خود نیاز دارد (۴). این ماده به دلیل pH بالا بالقوه سمی بوده، می‌تواند تخریب بافت نرم را نیز موجب گردد، این امر نیز به نوبهٔ خود می‌تواند به التهاب مزمن و نکروز سلولی در کاربرد بالینی آن منجر گردد (۱۲).

پروپولیس، رزینی است که توسط زنبور عسل از گیاهان اطراف کندو استخراج شده، جهت تقویت شانه‌ها و ضدعفونی کردن محیط کندو به کار گرفته می‌شود. پروپولیس مخلوط پیچیده‌ای از اجزای شیمیایی مختلف بوده و اثرات بیولوژیکی آن نظیر فعالیت ضدباکتری و ضدقارچی و خصوصیات ترمیمی آن شناخته شده می‌باشند (۱۳).

همزمان، مشخص شده استفاده از هیدروکسید کلسیم در برخی موارد نتوانسته است گونه‌های انتروکوکوس فکالیس را از کانال ریشه دندان حذف نماید (۱۵، ۱۴). این موضوع می‌تواند به کلونیزاسیون باکتریایی بیشتر در اپکس ریشه و بافت‌های پری‌اپیکال محیطی منجر شده، از پروسهٔ ترمیم پیشگیری نماید، فرآیندی که تأثیر منفی در پیش‌آگهی درمان خواهد داشت (۱۶).

تحقیق حاضر با هدف تعیین میزان خاصیت آنتی‌باکتریال پروپولیس در مقایسه با کلسیم هیدروکساید بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس به صورت آزمایشگاهی صورت پذیرفت.

مواد و روشها:

تحقیق به صورت آزمایشگاهی بر روی ۴۲ دندان تک ریشه و تک کانالهٔ انسانی کشیدهٔ شده انجام گرفت.

آماده‌سازی استاندارد نمونه‌های دندانی

تعداد ۴۲ نمونهٔ دندانی تک ریشه و تک کانالهٔ انسانی سالم که به دلیل درمان‌های ارتودنسی یا مشکلات پریودنتال به تازگی کشیده شده بودند، انتخاب و ارزیابی شدند. دندان‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از دهان، تمیز و دبریدمان شده، کلیهٔ بافت‌های نرم و سخت چسبیده به آنها به آهستگی توسط کورت‌های جرم‌گیری برداشته شد. به منظور ضدعفونی سطحی، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ (وایتکس، شرکت شیمیایی شمین، تهران، ایران) قرار گرفتند. سپس، دندان‌ها در داخل سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹٪ (سدیم ۰/۹٪، شرکت داروپخش، تهران، ایران) در حرارت اتاق تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. در آغاز آزمایش، حفرهٔ دسترسی استاندارد روی دندان‌ها تعبیه گردید. سپس با عبور k-file (maillefer سوئیس) شماره‌های ۱۰ و ۱۵ از تک کاناله بودن ریشه‌ها و باز بودن مسیر کانال اطمینان حاصل شد.

به منظور کاهش اثرات متغیرهای مداخله‌گر، تمامی کانال‌ها به صورت اولیه با استفاده از یک روش مشابه مکانیکی و شیمیایی آماده‌سازی شدند. برای این منظور، ابتدا، گشادسازی تاجی (coronal preflare) با استفاده از دریل‌های gates glidden شماره‌های ۲ و ۳ (maillefer سوئیس)، به ترتیب و بدون هیچ گونه فشار جانبی و با حرکت بالا و پایین به صورت passive انجام شد. سپس، کانال‌ها تا فایل شمارهٔ ۴۵ دستی (maillefer سوئیس) تا طول کارکرد پاک‌سازی شدند. بین هر ۲ شماره فایل نیز، عمل recapitulation با فایل۱۵ و شستشوی فراوان با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵٪ انجام شد.

برداشت لایهٔ اسمیر

نمونه‌ها به منظور برداشت کامل لایهٔ اسمیر در داخل یک ظرف اولتراسونیک (Ultrasonic Bath, Vector 55, Jelcraft, Jelenko) قرار گرفتند. برای این منظور، دندان‌ها ابتدا در EDTA (ethylene diaminetetraacetic acid ۱۷٪ با pH معادل ۷/۸ به مدت ۴ دقیقه و به دنبال آن، در هیپوکلریت سدیم (NaOCl) ۵/۲۵٪ به مدت ۴ دقیقه قرار گرفته، در نهایت، در آب مقطر استریل به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند.

استریلیزاسیون نمونه‌ها

تمامی نمونه‌های دندانی به طور جداگانه در داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر آبگوشت

www.SID.ir

عصارهٔ مغز و قلب BHI (Brain Heart Infusion Broth) قرار گرفته، سپس، در داخل اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت ۱۲۱°C و فشار ۱۵psi استریل شدند. به منظور اطمینان از استریلیزاسیون، نمونه‌ها، جداگانه و در شرایط آسپتیک در داخل میکروتیوب‌های حاوی BHI به مدت ۲۴ ساعت در شرایط هوازی و در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از آن، ۳ نمونه به صورت تصادفی انتخاب شده، از BHI آنها، کشت میکروبی تهیه شد. عدم مشاهدهٔ رشد باکتری به عنوان صحت استریلیزاسیون در نظر گرفته شد (کنترل منفی). پس از تأیید استریلیزاسیون، کلیهٔ مراحل آزمایش در شرایط آسپتیک و با استفاده از وسایل و دستکش استریل انجام گرفت.

تهیه باکتری انتروکوکوس فکالیس

در این تحقیق، به منظور ایجاد عفونت کنترل شده و استاندارد در تمامی نمونه‌ها، از یک باکتری مقاوم و عامل شکست درمان اندو به نام انتروکوکوس فکالیس استفاده شد. بدین منظور، این باکتری گرم مثبت بی‌هوازی اختیاری از بخش میکروبیولوژی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با شمارهٔ شناسهٔ ATCC 29212 تهیه شد.

آلوده‌سازی نمونه‌ها

باکتری مورد آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در داخل محیط BHI در انکوباتور CO_2دار کشت داده شد. سوسپانسیون خالص از باکتری انتروکوک فکالیس با غلظت ۱/۵×۱۰^۸CFU/ml با استفاده از روش اسپکتروفتومتری به میزان معادل لولهٔ استاندارد Baso4 ۰/۵ مک‌فارلند (McFarland) در کنار شعله آماده شد. با کمک سرنگ‌های انسولین استریل، سوسپانسیون باکتریایی استاندارد شده به میزان مساوی (۰/۵CC) در داخل کانال‌های دندانی تزریق گردید. سپس، تمامی میکروتیوب‌ها داخل دستگاه انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند.

میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری دیگری حاوی BHI استریل به تعداد نمونه‌ها آماده شدند. این میکروتیوب‌ها نیز در مرحلهٔ برداشت نمونه از داخل کانال مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی مواد مورد آزمایش (پروپولیس ۳۰٪ و کلسیم هیدروکساید)

برای تهیهٔ پروپولیس ۳۰٪ ۷gr اتانول ۹۶٪با ۳gr پروپولیس ترکیب شده، برای برداشت ناخالصی‌های محلول ۳۰٪ حاصل،از فیلتر chromafil CA-20/25 استفاده شد (شکل۱). کلسیم هیدروکساید نیز به صورت مخلوط با سرم فیزیولوژی و با قوام خامه‌ایی آماده گردید.

شکل ۱- پروپولیس ۳۰٪

بررسی تأثیر مواد مورد نظر بر نمونه‌ها

پس از اتمام دورهٔ انکوباسیون، نمونه‌های دندانی به ۶ گروه ۶ عددی و یک گروه کنترل مثبت ۳ عددی تقسیم شدند. نمونه‌ها با استفاده از وسایل و دستکش‌های استریل از میکروتیوب خارج شده، توسط هموستات ثابت نگه داشته شدند. سپس، مواد مورد بررسی در تحقیق (پروپولیس ۳۰٪ و کلسیم هیدروکساید) طبق گروه‌بندی زیر به آنها اضافه شدند. برای افزودن پروپولیس از سرنگ انسولین و برای افزودن کلسیم هیدروکساید نیز از فایل دستی استفاده شد.

گروه اول: اضافه نمودن پروپولیس ۳۰٪ و نگهداری نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO_2دار

گروه دوم: اضافه نمودن کلسیم هیدروکساید و نگهداری به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO_2دار

گروه سوم: اضافه نمودن پروپولیس ۳۰٪ و نگهداری نمونه‌ها به مدت ۱ هفته در انکوباتور CO_2دار

گروه چهارم: اضافه نمودن کلسیم هیدروکساید و نگهداری به مدت ۱ هفته در انکوباتور CO_2دار

گروه پنجم: اضافه نمودن پروپولیس ۳۰٪ و نگهداری نمونه‌ها به مدت ۱ ماه در انکوباتور CO_2دار

گروه ششم: اضافه نمودن کلسیم هیدروکساید و نگهداری نمونه‌ها به مدت ۱ ماه در انکوباتور CO_2دار

سه نمونهٔ موجود در گروه کنترل مثبت نیز بدون اضافه کردن ماده‌ای (پروپولیس یا کلسیم هیدروکساید) با زمان‌بندی زیر در دستگاه انکوباتور CO_2دار قرار گرفتند:

www.SID.ir

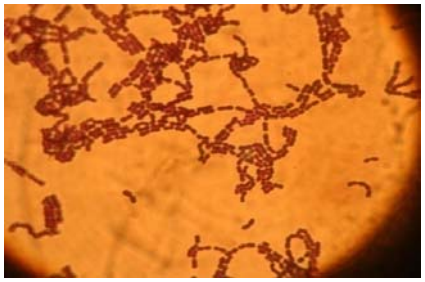
Archive of SID

۱ نمونه به مدت ۷۲ ساعت، ۱ نمونه به مدت ۱ هفته و ۱ نمونه به مدت ۱ ماه

نمونه‌گیری از داخل کانال‌ها

بلافاصله بعد از گذشت زمان مورد نظر، به منظور مشاهده و بررسی باکتری‌هایی که در عاج نفوذ کرده بودند، از پیزوریمر شمارهٔ ۲ استفاده شد، بدین صورت که پیزوریمر با یک حرکت تا انتهای اپیکال ریشه هدایت گردید تا امکان برداشت دبری از تمام قسمت‌های کانال فراهم شود. این مرحله نیز تحت همان شرایط استریل در مجاورت شعله انجام گرفت. دبری‌های روی پیزوریمر به سرعت و با استفاده از فایل دستی استریل به میکروتیوب‌های حاوی BHI استریل که از قبل آماده شده بودند، منتقل شدند. میکروتیوب به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور CO_2دار نگهداری شد. پس از گذشت این مدت، از آن خارج و در محیط بایل اسکولین آگار کشت داده شد (شکل ۲). پس از گذشت ۷۲ ساعت، کلنی‌های ایجاد شده شمارش گردیده، انتروکوک فکالیس زیرمیکروسکوپ ملاحظه شد و نوع باکتری مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۳). جهت تشخیص آلودگی‌های احتمالی حین انجام آزمایش، وجود باکتری‌های دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفتند که پاسخ بررسی‌های انجام شده منفی بود (۱۷و۲۲).

شکل ۲- انتروکوک فکالیس روی محیط بایل اسکولین



شکل ۳- تأیید باکتری انتروکوکوس فکالیس زیر میکروسکوپ

مقادیر کلنی‌های شمارش شده با استفاده از آزمون ناپارامتری Kruskal-wallis برحسب عامل زمان از نظر آماری مقایسه شدند. همچنین، مقایسهٔ مواد ضدمیکروبی پروپولیس و هیدروکسید کلسیم در هر یک از زمان‌های بررسی نتایج، با استفاده از آزمون ناپارامتری Mann-whiteny U صورت گرفت.

یافته‌ها:

تعداد کلنی‌های شمارش شده باکتری در کاربرد عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪ در ۷۲ ساعت بعد از نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور برابر ۴۶۳۶۸/۰۹±۵۵۰۰۰ CFU و در استفاده از کلسیم هیدروکساید معادل ۴۸۰۲۷/۰۷۷±۴۳۳۳۳/۳۳ CFU برآورد گردید. همچنین، ۱ هفته بعد از نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور، تعداد کلنی‌های شمارش شده در استفاده از عصارهٔ پروپولیس معادل ۴۰۸/۲۵±۱۶۶/۶۷ CFU و در استفاده از هیدروکسید کلسیم نیز برابر صفر بود. هیچ کلنی از گونه‌های انتروکوک فکالیس ۱ ماه بعد از نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور در استفاده از عصارهٔ پروپولیس و هیدروکسید کلسیم مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد کلنی‌های شمارش شده در استفاده از پروپولیس و هیدروکسید کلسیم در زمان‌های مختلف نگهداری در انکوباتور

زمان	دارو	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
۷۲ ساعت	پروپولیس	۵۵۰۰۰	۴۶۳۶۸/۰۹	۰	۱۰۰۰۰۰
	هیدروکسید کلسیم	۴۳۳۳۳/۳۳	۴۸۰۲۷/۰۷۷	۰	۱۰۰۰۰۰
۱ هفته	پروپولیس	۱۶۶/۶۷	۴۰۸/۲۵	۰	۱۰۰۰
	هیدروکسید کلسیم	۰	۰	۰	۰
۱ ماه	پروپولیس	۰	۰	۰	۰
	هیدروکسید کلسیم	۰	۰	۰	۰

نتایج آزمون Kruskal-wallis نشان داد تفاوت معنی‌داری برحسب زمان نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور در میزان کلنی‌های انتروکوک فکالیس وجود داشته ($p<۰/۰۰۱$)، بطوری که با افزایش زمان نگهداری از ۷۲ ساعت به ۱ هفته

Archive of SID
www.SID.ir

و ۱ ماه، تعداد کلنی‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافته بودند.

مقایسهٔ آماری تعداد کلنی‌های شمارش یافته در هر یک از زمان‌های نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور برحسب نوع داروی به کار رفته در داخل کانال در جدول ۲ ارائه شده است. براین اساس، در هیچ یک از زمان‌های نگهداری ۷۲ ساعت (Mann-whitney U: p>۰/۶۱۳)، ۱ هفته (Mann-whitney U: p>۰/۳۱۷) و ۱ ماه (Mann-whitney U: p=۱)، تفاوت‌های معنی‌داری میان عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪ و هیدروکسید کلسیم از نظر تعداد کلنی‌های انتروکوکوس فکالیس مشاهده نشد.

بحث:

در بررسی حاضر مشخص شد که عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪ جمع آوری شده از مناطق آذربایجان، به میزان هیدروکسید کلسیم، داروی استاندارد داخل کانال، اثرات ضدمیکروبی بر علیه گونه‌های انتروکوکوس فکالیس داشته است؛ هرچند خصوصیات ضدمیکروبی آن به میزان اندکی کمتر از آن برآورد گردید. براین اساس، در صورت تأیید تمام خصوصیات عصارهٔ پروپولیس، می‌توان از این مادهٔ طبیعی، بدون ایجاد عارضهٔ خاص، در کانال ریشه استفاده کرد. کلسیم هیدروکساید به عنوان داروی داخل کانال، کاربردهای فراوانی دارد. البته، مشخص گردیده انتروکوکوس فکالیس در برابر کلسیم هیدروکساید مقاومت نشان می‌دهد (۱۰). در تحقیق Awawdeh و همکاران (۲۰۰۹)، نیز این موضوع مورد تأیید قرار گرفته است. همچنین، گونه‌های انتروکوکوس فکالیس، می‌توانند مدت زمان طولانی در درون توبول‌های عاجی باقی بمانند (۹). انتروکوکوس فکالیس، همزمان، می‌تواند به عنوان یک میکروارگانیسم واحد بدون اینکه تحت حمایت گونه‌های دیگر قرار بگیرد، در داخل کانال ریشه زنده بماند (۲۱). این میکروارگانیسم می‌تواند به صورت زنده در داخل توبول‌های عاجی قرار گرفته، ضمن تهاجم به توبول‌ها، در حضور سرم انسانی به کلاژن متصل شود (۲۷). برداشت لایهٔ اسمیر نیز می‌تواند به نفوذ انتروکوکوس فکالیس در اعماق توبول‌های عاجی منجر گردد (۲۸).

البته، کلسیم هیدروکساید، اثرات بیولوژیک مطلوبی نیز دارد، از جمله اینکه در خنثی‌سازی لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتریال و فعالیت ضدتحلیل نقش داشته، به تشکیل بافت سخت نیز کمک می‌نماید (۲۹). از طرف دیگر، مشخص گردیده ناکارآمدی کلسیم هیدروکساید صرفاً در شرایط آزمایشگاهی روی می‌دهد و ممکن است تفاوت‌هایی نیز با شرایط بالینی داشته باشد. روش‌های بالینی و آزمایشگاهی مختلفی برای بررسی اثرات ضدمیکروبی داروهای داخل کانال ریشه مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علیرغم اینکه تعمیم کامل نتایج روش‌های لابراتواری در محیط بالینی مقدور نیست، کاربرد آنها برای مقایسهٔ نتایج رژیم‌های دارویی متفاوت و غربال‌گری مواد و تکنیک‌های کاربردی مورد توجه محققان می‌باشد. این متدولوژی، همچنین، می‌تواند یکی از دلایل مرتبط با تفاوت‌های گزارش شده در تحقیقات مختلف نیز باشد (۲۱).

به دلیل وجود تعداد بسیار زیادی از متغیرهای مداخله‌گر مرتبط با نتایج، کنترل کیفیت شدید در آزمون‌های ضدمیکروبی ضروری است. این کار از طریق استفاده از گونه‌های میکروارگانیسم مرجع شامل گونه‌های انتروکوکوس فکالیس (شناسهٔ ATCC 29212) در تحقیق حاضر صورت گرفت. گونه‌های میکروارگانیسم کنترلی در شرایط ایده‌آل، دارای نقاط انتهایی حساس در محدودهٔ میانی غلظت‌های ضدباکتری خود بوده، تمایل اندکی نیز برای تغییر الگوهای حساسیت در طول زمان از خود نشان می‌دهند(۲۶). از این رو، در تحقیق حاضر تنها از یک میکروارگانیسم با شناسهٔ مشخص استفاده شد.

در درون مادهٔ پروپولیس ترکیباتی نظیر aldehyde، aliphatic acid ester، carboxylic acids، cinnamic acid و استرهای آن، ketone، tepene، الکل، اتر، هیدروکربن و phenolic وجود دارند که هریک قابلیت ضدباکتریایی از خود بروز می‌دهند (۱۷). علاوه بر این، سینرژی بین این ترکیبات به همراه اثرات منحصر به فرد خود اجزاء، در بروز اثرات ضدباکتریایی پروپولیس مؤثر هستند. همچنین، مشخص گردیده هر یک از ترکیبات متعدد پروپولیس خود به تنهایی بر علیه میکروارگانیسم‌ها تأثیرگذار بوده، خود پروپولیس در مقایسه با ترکیبات خود، اثرات بیشتری برعلیه گونه‌های پاتوژن دارد (۲۰-۱۸).

Awawdeh و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند عصارهٔ پروپولیس۳۰٪ تجاری، اثرات بسیار مناسبی بر علیهٔ میکروارگانیسم‌های اندودنتیکس هنگام کاربرد به عنوان داروی داخل کانال داشته است (۲۱). در تحقیق اخیر، هیچ باکتری در روزهای اول و دوم پس از کاربرد پروپولیس

www.SID.ir

رشد نکرده بود. با توجه به اینکه محتوا و ترکیبات پروپولیس در تحقیق اخیر گزارش نشده است، نمی‌توان اثرات ضدمیکروبی آن را صرفاً به خود پروپولیس نسبت داد. توانایی‌های ضدباکتری پروپولیس در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است که در مجموع با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد(۲۳، ۲۲، ۱۳).

Oncag و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند پروپولیس بر ضد باکتری انتروکوکوس فکالیس مؤثر بوده است(۲۲) که این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر مشابهت دارد. در تحقیق اخیر، عصارهٔ اتانولی پروپولیس در کانال‌های ریشهٔ دندان‌های انسانی آلوده شده با انتروکوکوس فکالیس به کار گرفته شد. براساس نتایج تحقیق اخیر، پروپولیس مؤثرترین داروی کانال پس از ۱۰ روز بوده، اثرات آن معادل ژل کلرهگزیدین ۱٪ و به صورت معنی‌داری بیشتر از کلسیم هیدروکساید بود. Kayaoglu و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند فعالیت ضدمیکروبی پروپولیس برعلیه گونه‌های انتروکوکوس فکالیس کمتر از کلرهگزیدین ۲٪ و بیشتر از کلسیم هیدروکساید بوده است (۱۷). با مقایسه نتایج گزارش شده در تحقیقات اخیر، مشخص می‌گردد که اثرات ضدباکتریایی پروپولیس برعلیهٔ گونه‌های انتروکوکوس فکالیس، براساس یافته‌های تحقیق حاضر، اندکی محدود بوده است، زیرا در حالی که در تحقیقات قبلی، پروپولیس اثرات ضدمیکروبی بیشتری در مقایسه با کلسیم هیدروکساید داشته است، طبق نتایج تحقیق حاضر، پروپولیس، توانایی ضدباکتریایی مشابه کلسیم هیدروکسایدداشته، از نظر فعالیت برعلیهٔ گونه‌های انتروکوکوس فکالیس تفاوت معنی داری نداشتند. این تفاوت‌ها می‌تواند با ترکیبات پروپولیس به کار رفته و محتوای کلی بالای فلاونوئید در تحقیقات اخیر مرتبط باشد، به طوری که در تحقیق Oncag و همکاران (۲۰۰۶)، محتوای فلاونوئید به میزان ۵۲٪ برآورد شده بود (۲۲، ۱۳).

در تحقیق Awawdeh و همکاران (۲۰۰۹)، اثرات ضدباکتریایی کلسیم هیدروکساید کمتر از پروپولیس ۳۰٪ برآورد گردید که این یافته برخلاف گزارش تحقیق حاضر می‌باشد (۲۱). به نظر می‌رسد معیار مقایسه کلسیم هیدروکساید با پروپولیس در تحقیق اخیر، به دلیل اینکه زمان کاربرد آن به حدی نبوده است تا علیهٔ میکروارگانیسم‌ها عمل نماید، چندان قابل قبول نباشد. البته حداقل زمان مورد نیاز برای اینکه پوشش کلسیم هیدروکساید بتواند به حداکثر اثرات ضدمیکروبی خود برسد، هنوز مشخص نشده است (۴). Safavi و همکاران (۱۹۹۰)؛ نشان دادند گونه‌های انتروکوکوس فکالیس، ۲۴ ساعت پس از کاربرد کلسیم هیدروکساید از نمونه‌های عاجی عفونی پاکسازی شدند (۲۴). از طرف دیگر، Sjorgren و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند کلسیم هیدروکساید باید ۷ روز در داخل کانال به کار برود تا به عنوان یک عامل ضدمیکروبی نقش ایفا نماید(۴). با توجه به این موضوع، در تحقیق حاضر اثرات ضدمیکروبی داروهای کلسیم هیدروکساید و عصارهٔ پروپولیس ۳۰٪ تا ۱ ماه پس از نگهداری در انکوباتور ارزیابی گردیدند. همسو با نتایج تحقیق Sjorgren و همکاران (۱۹۹۱)، در تحقیق حاضر پس از ۱ هفته سپری شدن از کاربرد کلسیم هیدروکساید، هیچ گونهٔ کلنی انتروکوک فکالیس قابل مشاهده نبود (۴). از طرف دیگر، گزارش گردیده که پودر عاج دندانی در شرایط آزمایشگاهی اثرات پیشگیری کننده‌روی کلسیم هیدروکساید دارد(۲۵) که این موضوع در تحقیق حاضر مشاهده نشد.

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، شاید با تأیید کلیهٔ خصوصیات پروپولیس و ارزیابی منافع آن در شرایط بالینی، بتوان از آن به تنهایی یا به صورت ترکیبی با کلسیم هیدروکساید در درمان‌های کانال ریشه استفاده کرد.

نتیجه‌گیری:

خصوصیات ضدباکتری پروپولیس برعلیه گونه‌های انتروکوکوس فکالیس در زمان‌های مختلف در حد کلسیم هیدروکساید برآورد گردید. بنابراین، در صورت تأیید تمام خصوصیات و ویژگی‌های عصارهٔ پروپولیس، می‌توان از این مادهٔ طبیعی، بدون ایجاد عارضهٔ خاص، در درمان‌های کانال ریشه استفاده کرد.

تقدیر و تشکر:

مقاله حاضر منتج از پایان نامه دکترای عمومی دندانپزشکی ستاره قناد به راهنمایی خانم دکتر زهره آهنگری و مربوط به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Byström A, Sunndqvist G: Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res 1981 ;89:321-328.
2. Perez F, Calas P, de Falguerolles A, Maurette A: Migration of streptococcus sanguis strain through the root dentinal tubules. J Endod1993 ;19:297-301.
3. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonfácio KC, Ito IY: Invivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigation solution. J Endod1999 ; 25:167-171.
4. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sandqvist G: The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991 ;24:119-125.
5. Siqueira JF Jr: Effectiveness of formocresol and calcium hydroxide camphorated paramonochlorophenol paste in preventing entire root canal recontamination by bacteria from saliva. An invitro study. BrazEndod J 1997;2:23-25.
6. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M: Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001;34:429-434.
7. Kayaoglu G, Ørstavik D: Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med 2004;15:308–320.
8. Lynne RE, Liewehr FR, West LA, Patton WR, Buxton TB, McPherson JC: In vitro antimicrobial activity of various medication preparations on *E. faecalis* in root canal dentin. J Endod 2003;29:187-190.
9. Podbielski A, Spahr A, Haller B:Additive antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on common endodontic bacterial pathogens. J Endod 2003;29:340-345.
10. Ercan E, Daili M, Dulgegil CT: In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *candida albicans*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 2006;102:e27-31.
11. de Souza CA, Teles RP, Souto R, Chaves MA, Colombo AP: Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: microbiologic evaluation by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. J Endod 2005;31:79-83.
12. Ferreira CM, da Silva Rosa OP, Torres SA, Ferreira FB, Bernardinelli N:Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. Braz Dent J 2002;13:118-122.
13. Uzel A, Sorkun K, Onçağ O, Cogŭlu D, Gençay O, Salih B: Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiol Res 2005;160:189-195.
14. Orstavik D, Haapasalo M: Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol 1990;6:142-149.
15. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D: Mechanisms involved in the resistance of Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. IntEndod J 2002;35:221-228.
16. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U: Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 1998;85:86-93.
17. Kayaoglu G, Ömŭrlŭ H, Akca G, Gŭrel M, Gençay Ö, Sorkun K, Salih B: Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. J Endod 2011;37:376-381.

Archive of SID
www.SID.ir

18. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA: Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. J Food Sci 2008;73:R117–124.
19. Cushnie TP, Lamb AJ: Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents 2005;26:343–356.
20. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH: Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1302–1309.
21. Awawdeh L, Al-Beitawi M, Hammad M: Effectiveness of Propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: a laboratory study. Aust Endod J 2009;35:52-58.
22. Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K: Efficacy of Propolis as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*. Gen Dent 2006 ;54:319-322.
23. Koo H,Gomes BP, Rosalen PL, Ambrosano GM, Park YK, Cury JA: In vitro antimicrobial activity of Propolis and Arnica montana against oral pathogens. Arch Oral Biol 2000;45:141-148.
24. Safavi K, Spangberg LS, Langeland K: Root canal dentinal tubule disinfection. J Endod 1990;16:207-210.
25. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M: Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. Int Endod J 2001;34:184-188.
26. Elmer WK, Stephen DA, William MJ, Paul CS, Washington CW: Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th Ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins 1997;Chap4:47-55.
27. Love RM, Jenkinson HF: Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. Crit Rev Oral Biol Med 2002;13:171-183.
28. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR: Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. Int Endod J 2000;33:28-36.
29. Siqueira JF, Uzeda M: Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod1997;23:167-169.

Archive of SID

www.SID.ir