

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد باکتریایی عصاره دانه گیاه کهورک (جفغه) و

هیپوکلریت سدیم بر سویه انتروکوکوس فکالیس

عنوان مکرر: اثر ضد باکتریایی عصاره دانه گیاه کهورک بر سویه انتروکوکوس فکالیس

شیما دهقان¹، مریم کاظمی پور^{2*}، محبوبه میرحسینی³، فاطمه دانشمند⁴

1- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران: کدارکد: 0000-0002-2091-8620

2- دانشیار گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران کدارکد: 3543-9537-

0000-0002 پست الکترونیک: dr.kazemipoor@gmail.com تلفن: 09124682952

3- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران کدارکد: 0000-0002-2010-5200

4- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران کدارکد: 0000-0001-8811-8692

تعداد کلمات متن مقاله: 3006 کلمه

تعداد جداول: یک جدول

نوع مقاله: مقاله پژوهشی (Original paper)

چکیده

زمینه و هدف: هدف اصلی از درمان ریشه دندان، حذف محرکهای داخل کانال و جلوگیری از عفونت دوباره کانال ریشه می باشد. هدف از مطالعه حاضر مقایسه آزمایشگاهی اثرات ضد میکروبی عصاره دانه گیاه کهورک با هیپوکلریت سدیم 5/25 درصد بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی دو محلول مورد استفاده شامل هیپوکلریت سدیم 5/25 درصد و عصاره دانه گیاه کهورک پس از آماده سازی با پاتوژن دهانی انتروکوکوس فکالیس مجاور شده و اثر ضد میکروبی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی با روش رقت سازی پیاپی مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک روی محیط مولر هینتون آگار توسط خط کش میلی متری اندازه گیری و مقایسه شد. برای هر یک از محلول ها این فرایند 3 بار تکرار شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS17 و آزمون کروسکال والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: تفاوت معنی داری در میانگین قطر هاله ضد میکروبی عصاره دانه گیاه کهورک با هیپوکلریت سدیم 5/25 درصد بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس وجود داشت ($P < 0/0001$). ممانعت رشد باکتری در تست MIC بررسی شد، به علت این که باکتری ها در همه ی لوله های آزمایش رشد کرده بودند، MIC و MBC گزارش شده بالاتر از 512 mg/ml بود.

بحث و نتیجه گیری: با در نظر گرفتن محدودیت های یک مطالعه آزمایشگاهی، به نظر می رسد عصاره دانه گیاه کهورک در مقایسه با هیپوکلریت سدیم 5/25٪ دارای اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس نمی باشد.

واژه های کلیدی: هیپوکلریت سدیم، گیاه کهورک، شستشوی کانال ریشه، انتروکوکوس فکالیس

مقدمه

محلولی است که با وجود خاصیت ضدباکتریایی بالا کمترین آسیب را به بافت میزبان می‌رساند (3).

برخلاف گونه‌های مولد بیماری‌های اولیه کانال ریشه، انتروکوکوس فکالیس می‌تواند در عفونت‌های تک گونه‌ای نیز کلونیزه شود، بنابراین به مواد غذایی تولیدی سایر گونه‌های باکتریایی نیاز ندارد (7). انتروکوکوس فکالیس می‌تواند به دیواره‌های کانال ریشه اتصال یافته، تجمع یابد و جوامعی را در بیوفیلم تشکیل دهند. تشکیل بیوفیلم به این گونه کمک می‌کند تا نسبت به ارگانیسم‌های غیر بیوفیلم در برابر تخریب، فاگوسیتوز، آنتی‌بادی‌ها و مواد ضد میکروبی مقاوم شوند (8). نشان داده شده است که حضور این گونه میکروبی در زمان پر کردن کانال به میزان قابل توجهی از میزان موفقیت درمان ریشه می‌کاهد. یکی از روشهایی که خطر شکست ناشی از عفونت را کاهش می‌دهد، ضدعفونی شیمیایی کانال ریشه است که بوسیله عوامل آنتی‌باکتریال نظیر هیپوکلریت سدیم، هیدروکسید کلسیم، کلرهگزیدین و... انجام می‌شود (9). با توجه به این امر که این باکتری نسبت به داروهای داخل سیستم کانال ریشه بسیار مقاوم است، از اینرو توانایی این داروها در کنترل میزان رشد باکتری در کانال دندان، معمولاً با توجه به تأثیر آنها بر باکتری انتروکوکوس فکالیس سنجیده می‌شود (10).

یکی از رایج‌ترین مواد شستشو دهنده کانال ریشه هیپوکلریت سدیم است که دارای قابلیت حذف بیوفیلم‌ها و از بین بردن باکتریها می‌باشد (24, 102). هیپوکلریت سدیم در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها مؤثر بوده، به عنوان یک حلال آلی و چربی عمل می‌کند، اسیدهای چرب را تجزیه کرده و آنها را به نمک‌های اسید چرب (صابون) و گلیسرول (الکل) تبدیل می‌کند. این امر باعث کاهش کشش سطحی محلول باقیمانده می‌شود (11). در کنار مزایای محلول

حفره دهان به لحاظ فلور میکروبی از تنوع زیادی برخوردار است و وضعیت باکتریال کانال، یکی از فاکتورهای بیولوژیک مهم می‌باشد، که بطور پیوسته پروگنوز درمان اندو را تحت تأثیر قرار می‌دهد (1)، گزارش شده حدود پانصد نوع میکروارگانیسم در حفره دهان وجود دارد (2). انتروکوکها بخشی از فلور میکروبی دهان می‌باشند و بسیاری از عفونت‌های اولیه کانال ریشه را تشکیل می‌دهند و از تعداد زیادی از کانال‌های ریشه دندانهای درمان ریشه شده دارای پرپودنتیت آپیکال مزمن (شکست خورده) جدا شده‌اند. انتروکوکها می‌توانند در شرایط بسیار سخت محیطی مانند محیط‌های بسیار قلیایی (3, 4) و یا در محیط‌های با شوری بسیار بالا (5) به زندگی و رشد خود ادامه دهد. در واقع این میکروارگانیسم می‌تواند در مقابل ضدعفونی کننده‌ها، فلزات سنگین، اتانول، آزید و خشک کردن مقاومت کنند. همچنین این قابلیت را دارند که در دمای 10 تا 45 درجه سانتیگراد رویش پیدا کرده و در دمای 60 درجه به مدت 30 دقیقه زنده بمانند (5). یکی از مقاومترین و شایعترین باکتریهای کانال ریشه، باکتری انتروکوکوس فکالیس می‌باشد (6). این میکروب یک کوکسی بی‌هوازی اختیاری و گرم مثبت بوده و اصلی‌ترین و اغلب اوقات تنها باکتری یافت شده در داخل کانال‌های ریشه دندان با پرپودنتیت مقاوم اپیکالی می‌باشد (4). جهت پاکسازی کانال ریشه ابتدا آماده سازی مکانیکی کانال و شستشوی آن با محلول‌های شستشودهنده‌ی سازگار با مخاط دهانی امری ضروری است. این محلول‌های شستشودهنده باکتری‌ها را از میان برده و بدون صدمه رساندن به بافت میزبان باعث خنثی شدن فرآورده‌های باکتریایی می‌شود، بنابراین مناسب‌ترین محلول شستشو،

علاوه بر این، مطالعات مختلف *in vivo* و *in vitro* اثرات ضد التهابی، تب‌بر، ضد میکروب، ضد سرطان، ضد دیابت و ترمیم زخم را توسط این گیاه نشان داده‌اند (14). این گیاه سرشار از کاربامولین، آرابینوز، لکتین، آپینگین، ترکیبات پلیفنول، ساپونین، کورستین و اسید اسکوربیک (15)، 5- هیدروکسیل، آلکالوئیدها و تریپتامین می‌باشد (16). ترکیب فیتوشیمیایی گیاهان *Prosopis*، به طور فزاینده‌ای با اثرات بیولوژیکی مشاهده شده ارتباط دارد (14). از آنجا که خواص آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه کهورک در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (17, 18). از اینرو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره دانه گیاه کهورک بر روی سویه استاندارد انتروکوکوس فکالیس انجام شد.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر مطالعه ای تجربی بود که به روش آزمایشگاهی انجام گردید.

- آماده‌سازی نمونه گیاه مورد مطالعه:

میوه گیاه کهورک از منطقه شمال شهر یزد (کسنویه) تهیه گردید، سپس توسط گیاهشناس مرکز هرباریوم دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی دانشگاه یزد با کد هرباریومی 917 شناسایی و به آزمایشگاه منتقل شد و گونه شناسایی شده تأیید شد. دانه های آن استخراج گردید، شست و شو داده شده و خشک گردید. به منظور تهیه عصاره‌ی مربوطه با آسیاب آزمایشگاهی به طور کامل خرد شده و به صورت پودر در آمدند.

- تهیه عصاره هیدروالکلی:

برای استخراج عصاره هیدروالکلی دانه‌ی کهورک، مقدار 100 گرم از پودر گیاهی را داخل بشر ریخته، مقدار 200 سی سی حلال (آب و الکل) به آن اضافه گردید. با استفاده از نایلن درب بشر پوشانده شده و

هیپوکلریت سدیم در ضد عفونی کانال ریشه این ماده باعث از بین رفتن مواد آلی عاج بدون حل کردن مواد معدنی می‌شود که ممکن است منجر به شکنندگی عاج گردد. از آنجا که در غلظت‌های بالا این ماده علاوه بر بافت نکروتیک باعث از بین رفتن بافت سالم نیز می‌شود، رد شدن این محلول از اپکس ریشه به ناحیه‌ی پری اپیکال باعث بروز عوارض شدید در این ناحیه می‌گردد. از دیگر معایب هیپوکلریت سدیم می‌توان به بد بو بودن، ایجاد حساسیت برای چشم بیمار، خوردگی و تغییر رنگ وسایل نیز اشاره کرد (5).

استفاده از داروهایی که منشاء گیاهی و طبیعی دارند، می‌تواند از عوارض سوء جانبی داروهای شیمیایی داروها جلوگیری نماید (7). عوارض جانبی کمتر و قیمت مناسب ترکیبات گیاهی از دلایل اصلی گرایش روز افزون نسبت به این داروها می‌باشد (12). محصولات طبیعی یا گیاهی از هزاران سال پیش به علت خاصیت ضد میکروبی، ضد درد، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، سازگاری محیطی و ضد التهابی مورد استفاده بوده‌اند و در دندانپزشکی نیز برای مواردی از قبیل درمان آفت، التهاب لثه و ... کاربرد داشته‌اند. در رشته اندودنتیک نیز گیاهان دارویی جهت ضد عفونی کردن کانال ریشه و برداشتن لایه اسمیر مورد استفاده قرار گرفته‌اند (13).

گیاه کهورک یا جغجغه با نام علمی (*Prosopis farcta*) متعلق به خانواده لگومیناسه و زیرخانواده *Mimosoidea* است. این گیاه بومی نواحی خشک و نیمه خشک آسیا، آفریقا و آمریکا بوده و در طب سنتی. در درمان آسم، دردهای زایمان / پس از زایمان، پینه، ورم ملتحمه، دیابت، اسهال، خلط آور، تب، آنفولانزا، شیردهی، عفونت کبدی، مالاریا، اوتیت، درد، پدیکلوز، روماتیسم، گال، التهابات پوستی، اسپاسم، درد معده، مثانه و لوزالمعده مورد استفاده قرار می‌گیرد.

آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (30mg/disk) به عنوان کنترل مثبت و یک دیسک سرم فیزیولوژیک به عنوان کنترل منفی گزارش گردید. این آزمایش 3 بار تکرار شد.

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimal Inhibitory Concentration=MIC) و حداقل غلظت بازدارندگی (Minimal Bacteriocidal Concentration=MIC)

بعد از تایید اثر ضد میکروبی عصاره دانه گیاه کهورک MIC محلول با استفاده از روش میکرودايلوشن و پروتکل CLSI 2016 انجام گرفت. سوسپانسیون باکتری با غلظت $1/5 \times 10^8$ cfu/ml در محیط کشت میکروبی مولر هینتون برات تهیه گردید. رقت سازی سریالی عصاره (1 – 512 mg/ml) انجام شد و به چاهک‌های حاوی عصاره $200 \mu\text{l}$ سوسپانسیون باکتری اضافه شد. برای گروه کنترل مثبت و منفی، یک چاهک حاوی سوسپانسیون باکتری و یک چاهک حاوی مولر هینتون برات تهیه گردید. میکروپلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 18 ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت عصاره که مهار قابل مشاهده باکتری را ایجاد کرد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

در روش استاندارد (مرجع) پس از انجام تست رقیق سازی و تعیین MIC، از هر لوله‌ای که عدم رشد را نشان می‌دهد، 50 میکرولیتر برداشته و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار برده شد. کشت سطحی داده پس از قرار دادن پلیت‌ها به مدت یک شب و در دمای 97 درجه سانتیگراد در انکوباتور، تعداد کلنی‌های رشد یافته بر روی پلیت‌ها شمارش شدند. پس از یک شب گرماگذاری در دمای 97 درجه سانتیگراد، پلیتی که حاوی رقیق‌ترین محلول کلونیدال بود و تعداد کلنیها به میزان یکهزارم رسیده بود، به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

آب‌بندی شد. استیرر را روشن نموده و حرارت در دمای 40 درجه سانتی گراد تنظیم شد. بعد از گذشت 24 ساعت دستگاه را خاموش کرده، تا دستگاه خنک شود. با استفاده از پمپ خلا و قیف بوختر، محلول نهایی صاف شد. محلول نهایی را به بالن 250 سی سی انتقال داده و توسط روتاتوری حلال تبخیر شد.

- ایزولاسیون باکتری و ارزیابی حساسیت باکتری:

باکتری انتروکوکوس فکالیس (ATCC292120) از موسسه پاستور تهران گرفته شده و بعد از انکوباسیون به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد در بلاد آگار، کلونی‌های باکتری به محیط کشت تریپتیک سوی برات با استفاده از لوپ استریل منتقل شدند. تعداد باکتری‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر با کدورت 0/5 استاندارد مک فارلند تعیین شدند (ml/باکتری $1/5 \times 10^8$).

- روش دیسک دیفیوژن:

فعالیت ضدباکتری با استفاده از سوسپانسیون میکروارگانسیم‌ها انجام گردید (19). فعالیت ضد باکتری عصاره اتانولی دانه گیاه کهورک با استفاده از روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. کشت باکتری انتروکوکوس فکالیس در طول یک شب شامل $1/5 \times 10^8$ cfu/ml. بر پلیت‌های مولر هینتون آگار انجام شد. دیسک‌های فیلتر استریل با 6 میلی‌متر قطر در محلول سدیم هیپوکلریت 5/25 درصد و عصاره دانه گیاه کهورک (10 میکرولیتر) با غلظت 50 میکروگرم/ میلی لیتر آغشته شد. سپس دیسک‌ها به طور تصادفی از هر گروه انتخاب شده و در محیط کشت و دو پلیت (4 دیسک در هر پلیت) قرار داده شده و پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. هاله عدم رشد میکروبی (قطر به میلی‌متر) در اطراف هر دیسک در مقایسه با دیسک

-تحلیل آماری:

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 17) و آزمون کروسکال والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی داری آزمون 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی در گروه عصاره دانه گیاه کهورک صفر و در گروه هیپوکلریت سدیم $22/96 \pm 1/38$ میلی متر بود. در مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد در دو گروه مورد بررسی با توجه به آزمون آماری کروسکال والیس تفاوت آماری معنی داری مشاهده گردید ($P\text{-value} < 0/001$) (جدول 1). جهت تایید عدم اثر عصاره دانه گیاه کهورک بر روی باکتری آنتروکوکوس فکالیس، ممانعت رشد در تست MIC بررسی شد، به علت این که باکتری‌ها در همه ی لوله‌های آزمایش رشد کرده بودند، MIC و MBC گزارش شده بالاتر از 512 mg/ml بود.

جدول 1: میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد میکروبی (میلی متر) در دو گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار
هیپوکلریت سدیم	22/96	1/38
عصاره دانه گیاه کهورک	0	0
آمی سیلین (کنترل مثبت)	26	3/15
سرم فیزیولوژیک (کنترل منفی)	0	0

بحث و نتیجه گیری

آنتروکوکوها بخشی از فلور میکروبی دهان می‌باشند و بسیاری از عفونت‌های اولیه کانال ریشه را تشکیل می‌دهند و از تعداد زیادی از کانال‌های ریشه دندانهای درمان ریشه شده دارای پریودنتیت آپیکال مزمن (شکست خورده) جدا شده‌اند. Enter ocoous در شرایط بسیار سخت محیطی مثلاً در PH شدید آلكالینی

(20, 21) و با حضور زیاد نمک در محیط می‌تواند به زندگی و رشد خود ادامه دهد (22). در واقع این میکروارگانیسم می‌تواند در مقابل شستشودهنده‌های شیمیایی، فلزات سنگین، اتانول و ... مقاومت کند. همچنین این قابلیت را دارند که در دمای 10 تا 45 درجه سانتیگراد رویش پیدا کرده و در دمای 60 درجه تا 30 دقیقه زنده بمانند (22). باکتری آنتروکوکوس فکالیس یک باکتری بی‌هوازی اختیاری و گرم مثبت و یکی از شایع‌ترین باکتری‌های موجود در کانال ریشه می‌باشد، (4). با توجه به کاربرد وسیع گیاهان دارویی در علم دندانپزشکی و تأثیر ضد میکروبی ثابت شده عصاره هیدروالکلی دانه‌ی کهورک مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ضد میکروبی این گیاه بر روی باکتری آنتروکوکوس فکالیس مقاوم در درمان ریشه انجام شد (4).

امروزه مواد مختلفی جهت شستشوی کانال ریشه مورد استفاده قرار می‌گیرند که هیپوکلریت سدیم یکی از رایج‌ترین آنها بوده و دارای قابلیت حذف بیوفیلم‌ها و از بین بردن باکتری‌ها می‌باشد (15, 23). اثر بهتر فکالیس به اثبات رسیده است (24-27). لذا در این مطالعه نیز از این غلظت جهت مقایسه با عصاره مورد نظر استفاده شد. هر چند این ماده بافت‌های نکروزه و دبری‌ها را حل کرده و یک تمیزکننده مناسب به شمار می‌رود (24)، اما دارای معایبی نظیر سمیت بافتی، بوی بد و ایجاد آسیب بافتی می‌باشد (5).

به طور کلی ماده‌ای جهت پاکسازی کانال ریشه مناسب‌تر است که علاوه بر کارایی ضد میکروبی بالاتر دارای اثرات مخرب کمتری باشد. بدین منظور محققان در سال‌های اخیر مواد متفاوتی را برای دستیابی به نتایج بهتر و اثرات مخرب کمتر آزموده‌اند. از آنجا که در مطالعه حاضر اثر ضد میکروبی عصاره دانه کهورک در

(استرپتوکوکوساینیایی) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (آئروموناس هیدروفیال، یرسینیا راکری) داشت (29). اما در مطالعه حاضر گرچه این باکتری گرم مثبت می‌باشد اثر ضد میکروبی عصاره دانه کهورک در مقابل آنتروکوکوس فکالیس مشاهده نگردید. تحقیقات نشان داده اند که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت در مقابل ترکیبات ضد میکروبی در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی بیشتر است و این امر به خاطر وجود غشای خارجی در ساختمان دیواره سلولی می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپتید بوده، در حالی که باکتری‌های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیوپروتئین و لیوپلی ساکارید است به همین علت در مقابل مواد ضدباکتریایی مقاوم ترند. همچنین مشخص شده است که اثر بازدارندگی برخی از اسانس‌های روغنی با قابلیت تشکیل کلنی ارتباط دارد. تفاوت در حساسیت مخمرهای مختلف به اسانس‌ها علاوه بر نوع مخمر و ترکیب شیمیایی اسانس به مرحله رشد سلول وابسته است. به گونه‌ای که سلولها در مرحله تقسیم سلولی نسبت به اثر ضد میکروبی اسانس بسیار حساس تر هستند (30).

نتایج مطالعات لابراتواری را نمی‌توان به شرایط بالینی و کلینیکی نسبت داد، چرا که ممکن است اثر یک عصاره در شرایط بالینی و محیط دهان با شرایط آزمایشگاه تفاوت داشته باشد. در محیط دهان، اثر بزاق بر روی pH دهان، تفاوت حرارت دهان با حرارت انکوباتور، وجود خون در محیط و تفاوت توان اکسیداسیون و احیا در نقاط مختلف حفره دهان می‌تواند بر نتایج مطالعات تأثیر بگذارد (27). از سوی دیگر اندازه اثر ضد میکروبی محلول‌های مختلف تحت تأثیر روشهای تجربی، شاخص‌های بیولوژیکی و زمان قرار گرفتن در معرض میکروب، قرار می‌گیرد (31).

مقایسه با هیپوکلریت 5/25 درصد بر روی باکتری آنتروکوکوس فکالیس (شایع‌ترین باکتری‌های موجود در کانال ریشه) بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره دانه کهورک اثر ضد باکتریایی بر روی این باکتری ندارد. نتایج مطالعه رسولی و همکاران (28) که به بررسی "حساسیت میکروبی به روغن پونه سنبله‌ای" پرداختند، در بررسی عدم رشد میکروبی و حداقل زمان لازم برای کشتن میکروارگانیزم‌ها نشان می‌دهد که اندازه قطر هاله عدم رشد ارتباط چندانی با خاصیت میکروب کشی آن ندارد و ممکن است اسانس با ایجاد هاله بزرگ، زمان بیشتری نیز برای میکروب کشی لازم داشته باشد. بنابراین می‌توان استنباط کرد که اندازه قطر هاله‌های عدم رشد دقیقاً نمی‌تواند بیانگر MIC (Minimal bactericidal concentrations) باشد و برای تعیین میزان حساسیت هر میکروارگانیزم به هر ماده ضد میکروبی تعیین قطر هاله و MIC و MBC لازم است.

نتایج مطالعه Sharifi-Rad و همکاران، بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره دانه *Prosopis farcta* در برابر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) با استفاده از روش انتشار دیسک نشان داد که از بین اجزاء مختلف گیاه، دانه‌ی آن به دلیل داشتن غلظت زیاد آلکالوئیدها، تانن‌ها یا گلیکوزیدها اثر ضدباکتری بالاتری داشته است (19). به همین دلیل در مطالعه حاضر از دانه‌ی این گیاه استفاده شد. سنجولی و ریگی، در بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره میوه گیاه بر باکتری‌های آئروموناس هیدروفیال، یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی نشان داد که عصاره متانولی میوه کهورک بر هر سه باکتری مورد مطالعه با میزان MIC، 25 ml/mg مؤثر می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه آنها عصاره میوه گیاه کهورک خواص ضد باکتریایی قوی‌تری بر باکتری گرم مثبت

در زمینه خواص ضد میکروبی گیاه کهورک (جغجغه) از قدیم مطالعات مختلفی انجام شده است، ولی در جستجوهای انجام شده، مقاله‌ای در حوزه دندانپزشکی یافت نشد. اگرچه مصرف گیاهان دارویی با توسعه صنایع شیمیایی محدود شده است، ولی چشم انداز استفاده از گیاهان در آینده رو به افزایش است (35).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر و با در نظر گرفتن محدودیت‌های یک مطالعه آزمایشگاهی، به نظر می‌رسد عصاره دانه گیاه کهورک نسبت به هیپوکلریت سدیم 5/25٪ دارای اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس نمی‌باشد. با توجه به عدم تأثیر عصاره گیاه مورد نظر بر روی گونه انتروکوکوس فکالیس از این گیاه جهت تأثیر ضد میکروبی در درمان ریشه نمی‌توان استفاده نمود. با توجه به سودمندی گیاه کهورک در درمان بیماری‌ها و مقاوم بودن سوبه انتروکوکوس فکالیس تحقیقات بالینی بیشتری جهت بررسی اثرات بالینی دانه این گیاه بر روی گونه‌های دیگر باکتریهای بیماریزای دهانی پیشنهاد می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

این پژوهش با کد اخلاق به شماره IR.PNU.REC.1401.099 اخذ شده از کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی انجام شده است.

حمایت مالی

این پژوهش هیچگونه حمایت مالی از ارگان یا مؤسسات نداشته است

تضاد منافع

هیچگونه تضاد منافی توسط نویسندگان گزارش نشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه منتج از پایان نامه دانشجویی می‌باشد که در شورای پژوهشی دانشگاه پیام نور یزد به تصویب رسیده است.

در مطالعه حاضر مانند بیشتر مطالعات مشابه نظیر مطالعات Karkare و همکاران (24) و Kaushik و همکاران (32) از روش انتشار آگار استفاده گردید. این روش هر چند که شرایط یکسانی برای مقایسه موادی با توانایی‌های متفاوت، حلالیت و انتشار متفاوت فراهم نمی‌کند و خواصی مشابه عاج ندارد، ولی شباهت‌هایی با بافت پری اپیکال از لحاظ انتشار مواد ضد میکروبی مورد بررسی دارد. دنسیتی آگار با بافتهای انسان قابل مقایسه است و خواص acoustic بافتهای انسانی را تقلید می‌کند (33). یکی از عیوب روش انتشار آگار این است که خواص باکتریواستاتیک یا باکتروسیدی مواد مورد بررسی را متمایز نمی‌کند. علاوه بر این به علت نیاز به زمان کافی برای انتشار مواد در محیط آگار نمی‌توان اثرات فوری آن‌ها را مشخص نمود. همچنین به علت خشک شدن محیط کشت پس از گذشت 1 تا 2 روز معمولاً امکان بررسی اثرات طولانی مدت مواد نیز امکان پذیر نیست به همین دلیل در مطالعات انجام شده با این روش مانند Estrela و همکاران (28) و Gomes و همکاران (33) تنها اثر ضد میکروبی مواد پس از 24 تا 48 ساعت بررسی شده است. این نکته حائز اهمیت است که در پلیت‌های حاوی محیط کشت، ماده ضد میکروبی به طور مداوم در تماس با میکروب بوده، ولی در استفاده از مواد ضد میکروبی در داخل دهان، معمولاً پس از چند ثانیه، ماده از محیط دهان حذف شده و عوامل موجود در دهان، اثر آن را خنثی می‌کنند. همچنین محیط کانال ریشه به دلیل ساختار منحصر به فرد، تفاوت‌های آشکاری با شرایط آزمایشگاهی ایجاد می‌کند (34). وجود بافت عاجی، تأثیر آن بر مواد مختلف و پتانسیل نفوذ مواد شستشو دهنده کانال به داخل توبول‌های عاجی و اثر بخشی آن باید در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرند.

References

- 1- Chugal NM, Clive JM, Spangberg LS. A prognostic model for assessment of the outcome of endodontic treatment: Effect of biologic and diagnostic variables. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91(3):342-352.
- 2- Mozaffari B, Mansouri SH. Comparison of antibacterial and cytotoxic effects of Persica and chlorhexidine mouthwashes in vitro. *J Dent Sch Shahid Beheshti Univ Med Sci* 2006;23(3):494-509.
- 3- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* 2002;35(3):221-228.
- 4- Gilmore MS. The molecular basis of antibiotic resistance: where Newton meets Darwin. *Int J Med Microbiol* 2002;292(2):65.
- 5- Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(12):2622-2636.
- 6- Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. *J Endod* 2010;36(1):83-6.
- 7- Ozbek SM, Ozbek A, Erdogan AS. Analysis of *Enterococcus faecalis* in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic treatment by real-time PCR SYBR green method. *J Appl Oral Sci* 2009;17(5):370-4.
- 8- Mohammadi Z. Effects of root canal irrigants on the planktonic form of *enterococcus faecalis*: A review. *Niger J Med* 2015;24(3):261-7.
- 9- Jhamb S, Nikhil V, Singh V. An in vitro study of antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *Indian J Dent Res* 2010;21(4):512-4.
- 10- Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod* 2006;32(2):93-8.
- 11- Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J* 2008;58(6):329-41.
- 12- Hajinezhad MR, Shapari A, Hajian-Shahri S, Sarani F, Salehimoghadam M. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Berberis Vulgaris* Root on Serum Levels of Glucose, Malondehyde and HbA1c in Diabetic Rats. *J Neyshabur Univ Med Sci* 2015;3(3):21-28.
- 13- Hajimaghsoodi S, Zandi H, Bahrami M, Hakimian R. Laboratory Comparison of the Anti-Bacterial Effects of Spearmint Extract and Hypochlorite Sodium on *Enterococcus Faecalis* Bacteria. *J Dent Biomater* 2016;3(4):322-326.
- 14- Sharifi-Rad J, Kobarfard F, Ata A, Ayatollahi SA, Khosravi-Dehaghi N, Jugran AK, et al. Prosopis Plant Chemical Composition and Pharmacological Attributes: Targeting Clinical Studies from Preclinical Evidence. *Biomolecules* 2019;9(12).
- 15- Persia FA, Rinaldini E, Hapon MB, Gamarra-Luques C. Overview of Genus *Prosopis* Toxicity Reports and its Beneficial Biomedical Properties. *J Clin Toxicol* 2016;6:1-7.
- 16- Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 1995;2(2):137-89.
- 17- Sharma N, Garg V, Paul A. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidative potential of *Prosopis cineraria* bark. *Indian J Clin Biochem* 2010;25(2):193-200.
- 18- Malik S, Mann S, Gupta D, Gupta RK. Nutraceutical Properties of *Prosopis cineraria* (L.) Druce Pods: A Component of "Panchkuta". *J Pharmacogn Phytochem* 2013;2(2):66-73.
- 19- Sharifi-Rad J, Hoseini-Alfatemi SM, Sharifi-Rad M, Miri AH. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Prosopis farcta* different parts extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Minerva Biotec* 2014;26:287-93.
- 20- Ochsenius G, Escobar E, Godoy L, Peñafiel C. Odontogenic cysts: analysis of 2,944 cases in Chile. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12(2):E85-91.
- 21- Khosravi N, Razavi SM, Kowkabi M, Navabi AA. Demographic distribution of odontogenic cysts in Isfahan (Iran) over a 23-year period (1988-2010). *Dent Res J (Isfahan)* 2013;10(2):162-7.
- 22- Prockt AP, Schebela CR, Maito FD, Sant'Ana-Filho M, Rados PV. Odontogenic cysts: analysis of 680 cases in Brazil. *Head Neck Pathol* 2008;2(3):150-6.

- 23- Jaeger F, de Noronha MS, Silva ML, Amaral MB, Grossmann SM, Horta MC, et al. Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst. *J Craniomaxillofac Surg* 2017;45(2):267-270.
- 24- da Silva LP, Gonzaga AK, Severo ML, Barros CC, de Medeiros AM, de Souza LB, et al. Epidemiologic study of odontogenic and non-odontogenic cysts in children and adolescents of a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2018;23(1):e49-53.
- 25- Alhindi NA, Sindi AM, Binmadi NO, Elias WY. A retrospective study of oral and maxillofacial pathology lesions diagnosed at the Faculty of Dentistry, King Abdulaziz University. *Clin Cosmet Investig Dent* 2019;11:45-52.
- 26- Tamiolakis P, Thermos G, Tosios KI, Sklavounou-Andrikopoulou A. Demographic and Clinical Characteristics of 5294 Jaw Cysts: A Retrospective Study of 38 Years. *Head Neck Pathol* 2019;13(4):587-596.
- 27- Shear M, Seward GR. *Cysts of the oral regions*. 2nd ed. Ohio: Wright; 1983.
- 28- Açıkgöz A, Uzun-Bulut E, Özden B, Gündüz K. Prevalence and distribution of odontogenic and nonodontogenic cysts in a Turkish population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012;17(1):e108-e115.
- 29- Sanchooli N, Rigi M. The effect of plant extracts *Prosopis farcta*, *Datura stramonium* and *Calotropis procera* Against three species of Fish Pathogenic Bacteria. *J Vet Res* 2015;70(4):455-462.
- 30- Sloodweg PJ. Lesions of the jaws. *Histopathology* 2009;54(4):401-18.
- 31- Bhaskar SN. *Synopsis of Oral Pathology*. 7th ed. New Delhi: CBS Publishers & Distributors; 1990.
- 32- Grossmann SM, Machado VC, Xavier GM, Moura MD, Gomez RS, Aguiar MC, et al. Demographic profile of odontogenic and selected nonodontogenic cysts in a Brazilian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104(6):e35-e41.
- 33- Lo Muzio L, Mascitti M, Santarelli A, Rubini C, Bambini F, Procaccini M, et al. Cystic lesions of the jaws: a retrospective clinicopathologic study of 2030 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2017;124(2):128-138.
- 34- Giunta JL. Gingival cysts in the adult. *J Periodontol* 2002;73(7):827-31.
- 35- Baabae N, Khoshsirat A, Molania T. Frequency of Oral Mucosal Lesion in Patients Attending Babol Dental School, 2010. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2013;23(103):114-118.

Original paper

Laboratory Comparison of the Anti-Bacterial Effect of Prosopis Farcta Extract and Hypochlorite Sodium on Enterococcus Faecalis Bacteria

Running title: Anti-Bacterial Effect of Prosopis Farcta Extract on Enterococcus Faecalis Bacteria

Shima Dehghan¹, Maryam Kazemipoor^{2*}, Mahboubeh Mirhosseini³, Fatemeh Daneshmand⁴

1- Master student of biochemistry, Payam-e-Noor University, Iran

2- Associated Professor, Department of Endodontics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Associated Professor, Department of Biology, Payam-e-Noor University, Iran, email:

m.mirhosseini@pnu.ac.ir

4- Assistant Professor, Department of Biology, Payam-e-Noor University, Iran.

*Corresponding Author: Email: dr.kazemipoor@gmail.com Tel: 09124682952

Abstract

Background and Aim: The aim of root canal therapy is to eliminate intra-canal irritants and prevent the reinfection of the root canal. The purpose of this study was to compare the laboratory antimicrobial effect of Prosopis Farcta extract with 5.25% hypochlorite against E.faecalis.

Materials and methods: In this experimental laboratory study 5.25% hypochlorite solution and seeds extract of Prosopis Farcta after preparation solution were adjoined separately to oral pathogen E.faecalis. Furthermore, The antibacterial effect using disc diffusion and MIC method with serial dilution was assessed. The mean values of the inhibition zone around discs in Mueller- Hinton agar plates were measured and compared using a ruler. Each test was repeated 3 times. Data were analyzed by applying SPSS (Version 17) and Kruskal-Wallis statistical test.

Results: There were significant differences in the mean value of the inhibition zone between Prosopis fractal extract and 5.25 % hypochlorite ($P>0.0001$). Bacterial growth inhibition was assessed in the MIC and MBC test, as the reported MIC was higher than 512 mg/ml because the bacteria had grown in all test tubes.

Conclusion: Considering the limitations of a laboratory study, it seems that Prosopis fractal seeds extract in comparison to 5.25 % hypochlorite has no antibacterial effect on E.faecalis.

Keywords: Sodium Hypochlorite, Prosopis Farcta , Root Canal, E.faecalis