فعالیت ضدمیکروبی غلظت های متفاوت اسانس آویشن شیرازی بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس

شهره روانشاد* - عزت ا... بصیری **- بدرالسادات دستغیب ***

* دانشیار گروه آموزشی اندودنتیکس دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز
** استادیار گروه آموزشی میکروب شناسی دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز
*** دستیار گروه آموزشی پروتز ثابت دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

چکیده

بیان مساله: هدف اصلی درمان ریشه از میان بردن ریزجانداران (میکروارگانیزم ها) و فرآورده های آنها از کانال ریشه است. استفاده از شوینده های شیمیایی به هنگام انجام عمل مکانیکی شیمیایی و فراهم کردن کانال ریشه برای گندزدایی و پاک کردن آن دارای اهمیت است.

هدف: هدف از این بررسی، ارزیابی رشد باکتری انتروکوکوس فیکالیس پس از تماس با غلظت های گوناگون اسانس آویشن شیرازی در فاصله های زمانی متفاوت بود.

مواد و روش: در این بررسی آزمایشگاهی، اسانس آویشن شیرازی به روش پیاپی تا هشت بار رقیق گردید و سپس، اندازه ی معین از میکروب کشت داده شده به هر یک از محلول های رقیق شده در فاصله های زمانی ۱، ۵ و ۱۵ دقیقه افزوده شد. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات هر لوله ی آزمایش به محلول کشت SF Broth منتقل شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد انکوبه گردید. یافته ها پس از زمان انکوبه ثبت گردید.

یافته ها: محلول دو درصد اسانس آویشن شیرازی در همه ی فاصله های زمانی از رشد باکتری انتروکوکوس فیکالیس جلوگیری کرد. محلول یک درصد اسانس آویشن شیرازی در ۵ و ۱۵ دقیقه اثر ضد باکتریایی نشان داد. غلظت های رقیق شده ی ۰/۵ درصد و کمتر اسانس آویشن شیرازی در هیچ یک از فاصله های زمانی توان از میان بردن باکتری انتروکوکوس فیکالیس را نداشتند.

نتیجه گیری: به نظر می رسد، که اسانس آویشن شیرازی در غلظت های ۱ و ۲ درصد، در از میان بردن باکتری انتروکوکوس فیکالیس موثر است. کاربرد این اسانس گیاهی را به عنوان شوینده ی درون کانالی می توان پس از انجام بررسی های گسترده در شرایط طبیعی و آزمایشگاهی پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: اسانس آویشن شیرازی، انتروکوکوس فیکالیس، ضد باکتریای

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۹/۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۱۰

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز. سال هشتم؛ شماره یک، ۱۳۸۶ صفحه ی ۲۸ تا ۳۶

* **نویسنده ی مسوول مکاتبات**: شهره روانشاد. شیراز- خیابان قصردشت- دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز- گروه آموزشی اندودنتیکس- تلفن: ۴- ۶۲۶۳۱۹۳-۰۷۱۱ پست الکترونیک: sravanshad@sums.ac.ir

درآمد

این موضوع، که باکتری ها و فرآورده های آنها نقش اصلی در ایجاد و گسترش بیماری های پالپ و پری اپیکال دارند، در بررسی های فراوان به اثبات رسیده است [۱ و ۲]. بنابراین، هدف اصلی از درمان ریشه، از میان بردن عوامل باکتریایی از فضای پالپ و کانال‌های ریشه و جلوگیری از عفونت دوباره ی این فضاست. آماده سازی مکانیکی به تنهایی، باکتری ها، بافت پالپ و دبری‌ها را از محیط پیچیده‌ی کانال از میان نمی برد. بنابراین، به همراه از میان بردن مکانیکی دبری ها، از محلول های شستشو دهنده استفاده می شود. عمل این مواد شوینده ی کانال، بیرون آوردن دبری ها و ریزجانداران (میکروارگانیسم ها) به روش مکانیکی با جریان مایع از درون کانال است [۳، ۴ و ۵].

باکتری انتروکوکوس فیکالیس (Entercoccus faecalis) یکی‌ازمقاوم‌ترین باکتری‌هایی است،که در دندان‌های با ضایعه پری‌اپیکال وجود دارد و اغلب باعث کاهش میزان موفقیت درمان ریشه می شود [۶]. انتروکوکوس فیکالیس، بخشی از محیط طبیعی (فلور نرمال) حفره‌ی دهان است، که ممکن است به شمار ناچیز در کانال های ریشه ی عفونی درمان شده، وجود داشته باشند، اما در یک نسبت بالا از موارد شکست درمان‌های اندودنتیک جدا شده است[۷].

گومز (Gomes) و همکاران در پژوهشی آزمایشگاهی، به بررسی غلظت های متفاوت محلول هیپوکلریت سدیم و کلر هگزیدین گلوکانات (ژل و مایع) برای از میان بردن باکتری انترکوکوس فیکالیس پرداختند. آنها دریافتند، که هر چند همه‌ی محلول‌های شست‌وشوی مورد آزمایش دارای خاصیت ضدباکتریایی هستند، ولی زمان لازم برای از میان بردن این باکتری، به غلظت و گونه‌ی محلول مورد مصرف استوار است [۸].

ساسون (Sassone) و همکاران نیز، در بررسی خود محلول ۰/۱۲درصد کلرهگزیدین را در از بین بردن باکتری انتروکوکوس فیکالیس موثر ندیدند، اما محلول یک و پنج درصد هیپوکلریت سدیم در شرایط تماس مستقیم و در فاصله های زمانی صفر، ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه توانسته بود این باکتری را از میان ببرد [۹].

در بررسی رادکلیف (Radcliffe) و همکاران (۲۰۰۴)، مشاهده کردند، که محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد پس از ۱۰ دقیقه و ۲/۵ درصد آن پس از پنج دقیقه و ۵/۲۵ درصد آن پس از دو دقیقه توانست CFUانتروکوکوس فیکالیس را کاهش دهد [۱۰]. استرلا (Esterla) و همکاران در پژوهشی بهترین کارکرد اثر ضد باکتریایی محلول هیپوکلریت سدیم را در آزمایش تماس مستقیم (Direct Contact Test (DCT)) مشاهده کردند [۱۱].

اسانس آویشن، یکی از مواد طبیعی است، که خاصیت ضد عفونی کنندگی دارد. در بررسی شفیعی و همکاران، که بر روی اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی از چهار منطقه ی ایران انجام گردید، دیده شد که درصد تیمول و کارواکرول موجود در این اسانس ها در نشان دادن اثرات ضد میکروبی مهم است و اسانسی، که بیشترین درصد تیمول و کارواکرول را دارا بود، فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی مشخصی را نیز، نشان داد [۱۲]. برای تعیین اثر ضد باکتریایی اسانس آویشن بررسی‌های بی شمار انجام پذیرفته است و تقریبا در همه ی موارد، اثر ضد باکتریایی قوی آویشن مورد تایید شده است.

در بررسی شیرازی و همکاران بر روی دو گونه ی گیاهی آویشن، یکی آویشن باغی (Thymus vulgaris) و دیگری آویشن شیرازی (Zataria muliflora) انجام دادند، پس از اسانس گیری با روش بخار آب از راه اسپکتروفتومتری به این نتیجه دست یافتند، که میزان ترکیبات فنلی آویشن شیرازی سه برابر آویشن باغی است. همچنین، اثر ضد باکتریایی این اسانس نیز، بر روی استاف اپی درمیس و استاف آرئوس و استرپ ویریدانس بررسی گردید، که در مقایسه با کلرهگزیدین اسانس آویشن شیرازی اثرات ضد باکتریایی تقریبا مشابهی را از خود نشان داد [۱۳]. در بررسی دیگر، نیز نشان داده شده، که حداقل غلظت مهارکنندگی

[(MinimumInhibitoryConcentration (MIC)]اسانس آویشن علیه اشرشیاکولی (E.coli) و کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans) حدود ۰/۰۳درصد بوده است [۱۴].

رسولی ورضایی درباره ی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه آویشن شیرازی درسال ۱۳۸۰ پژوهشی انجام دادند. نتایج نشان داد، که اسانس آویشن شیرازی، حتی در غلظت های بسیار کم ۱/۶۴ دارای اثر ضد باکتریایی است. این اسانس علیه اشرشیاکولی (E.coli) و استاف آرئوس (S.aureus) قویا باکتریوسید بوده و اثر باکتریوسیدال خود را تا غلظت ۱/۸ حفظ می کرد. اثر ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی تا چهار ماه پس از فراهم کردن آن حفظ می شد [۱۵].

گرچه هیپوکلریت سدیم با اثرات شناخته شده ی ضد میکروبی به طور رایج در درمان ریشه کاربرد دارد، ولی نشان داده شده است که می تواند برای بافت های زنده محرک و سمی باشد و در صورت بیرون رفتن از فورامن اپیکال، موجب ایجاد درد شدید و ناراحتی می گردد. از معایب دیگر آن، ناپایداری، بو و مزه ی بد آن است. بنابراین تصمیم بر آن شد تا با یافتن محلولی با اثرات جانبی کمتر و ویژگی ضد میکروبی همانند یا مطلوب تری برای کاربرد درمان ریشه معرفی گردد. از آنجا که، گیاهان دارویی، همگی به صورت خوراکی استفاده می شو ند و عوارض جانبی خاصی برای آنها بیان نشده، و نیز، با توجه به اثر ضد باکتریایی گزارش شده‌ی این مواد، به نظر می‌رسد، که بتوان از این داروهای گیاهی به عنوان جایگزینی برای محلول های شست و شوی کانال بهره جست.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی غلظت های متفاوت اسانس آویشن شیرازی و هیپوکلریت سدیم به روش تماس مستقیم (DCT) بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس است.

مواد و روش

مواد و روش به کار رفته در این بررسی تجربی (Experimental) برپایه ی روند زیر انجام گردید:

الف- ریزجاندار (میکروارگانیزم) و مواد مورد آزمایش

۱- باکتری انتروکوکوس فیکالیس (ATCC29212) گونه ی استاندارد موجود در مرکز تحقیقات میکروبشناسی بالینی دکتر البرزی، به عنوان گونه ی آزمایشگاهی برپایه ی آزمایش های بیوشیمیایی تعیین هویت گردید. ارگانیزم پس از انتقال به آزمایشگاه باکتری شناسی در محیط SF Broth (آبگوشت استرپ فیکالیس) تکثیر گردید.

۲- محلول هیپوکلریت سدیم: محلول هیپوکلریت سدیم با نام تجاری مایع سفید کننده و ضد عفونی کننده ی داروگر ساخت کارخانه ی داروگر برای آزمایش، برگزیده گردید.

۳- اسانس آویشن شیرازی: محلول اسانس آویشن شیرازی ساخت کارخانه با ریج اسانس کاشان برای سنجش اثرات ضد باکتری انتخاب شد. این اسانس از شرکت باریج فراهم گردید، که برپایه ی دستور زیر ساخته شده است. اسانس آویشن خالص از اندام هوایی گیاه (Zataria multiflora)، که از اطراف جهرم در استان فارس گردآوری شده با دستگاه بریتیش فارماکولوژی (British pharmacology) به روش تقطیر با آب استخراج گردیده است.

ب- تعیین رقت های پی در پی محلول مورد آزمایش

محلول آویشن شیرازی: محلول حامل برپایه ی بررسی عادل با نسبت ۹۸/۵ و ۱/۵ درصد DMSO فراهم گردید. این حامل، دارای کمترین مقدار ممکن DMSO و بیشترین توان حل کنندگی تشخیص داده شده است [۱۶]. مقدار ۹/۸ میلی لیتر حامل و ۰/۲ میلی لیتر اسانس خالص آویشن را با کمک ویبراتور در هم آمیخته و برای مراحل دیگر آزمایش آماده گردید. از این محلول، رقت های پی در پی یک دوم در هشت لوله ی آزمایش استریل فراهم گردید، به گونه ای، که در پایان کار رقیق سازی، حجم مایع موجود در هر لوله ۶۰۰ میکرولیتر (µl) بود (جدول ۱).

محلول هیپوکلریت سدیم: که برپایه ی محاسبات

کارخانه‌ی سازنده‌ی، دارای پنج درصد هیپوکلریت است رقت های پی در پی یک دوم در هشت لوله ی استریل فراهم گردید، به گونه‌ای که در پایان کار رقت‌سازی، هر لوله دارای ۶۰۰ میکرولیتر محلول هیپوکلریت با غلظت مرتبط با همان لوله بود (جدول ۱).

پ- بررسی تاثیر غلظت های مختلف هیپوکلریت سدیم واسانس آویشن بر روی باکتری:

الف- به لوله های دارای رقت های پی در پی مواد یاد شده به اندازه ی ۳۰۰ میکرولیتر محیط کشت باکتری افزوده شد، که برپایه ی محاسبه دارای شمار میلی‌لیتر/ ^{8}۱۰×۱/۵باکتری است. یک دقیقه پس از آن، ۱۰۰میکرولیتر از هر لوله به پلیت کشت ۲۴خانه (شرکت Nunclon دانمارک) انتقال داده شد، که دارای یک میلی‌لیتر محیط SF Broth بود. پلیت ها علامت گذاری شده و در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد انکوبه شدند.

ب- پنج دقیقه پس‌ازآن، میزان ۱۰۰میکرولیتر از هر لوله به پلیت کشت ۲۴خانه‌ی دارای یک میلی لیتر محیط SF Broth انتقال داده شد. پلیت ها علامتگذاری شده و در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد انکوبه شدند.

پ- پانزده دقیقه بعد نیز، چون مراحل الف و ب، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر لوله در پلیت کشت ۲۴ خانه انتقال داده شد و پلیت ها علامتگذاری و در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد کشت شدند. همه ی مراحل به صورت دو گانه (Duplicate) برای افزایش دقت کار منظور گردیدند. تیره شدن پلیت کشت، بیانگر رشد باکتری به شمار می‌آمد. برای کمک به تفسیر یافته‌های اصلی بررسی، از گروه های شاهد نیز، استفاده شد.

۱- محیط کشت SF Broth، که به آن ۱۰۰ میکرولیتر باکتری افزوده شد، به عنوان پلیت شاهد مثبت منظور گردید.

پلیت‌های‌شاهدمنفی، شامل موارد زیر بی آن که، باکتری‌به آن افزوده شود، برای آزمایش استریلیتی واکنش گر (reagent) و محیط کشت (medium) مورد استفاده در بررسی منظور گردیدند:

۲- محیط کشت SF Broth، که به آن ۱۰۰ میکرولیتر حلال دای متیل سولفواکسید (DMSO) افزوده شد.

۳- محیط کشت SF Broth، که به آن ۱۰۰ میکرولیتر آب استریل افزوده شد.

۴- محیط کشت SF Broth، که به آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول آویشن افزوده شد.

۵- محیط کشت SF Broth، بی افزودن ماده ای دیگر و بی آن که، باکتری به آن افزوده شود.

جدول ۱: *غلظت های پیاپی دو ماده ی مورد آزمایش*

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
هیپوکلریت	٪۵	٪۲/۵	٪۱/۲۵	٪۰/۶۲	٪۰/۳۱	۰٪/۱۵	٪۰/۰۷	۰٪/۰۳
اسانس آویشن	٪۲	٪۱	٪۰/۵	٪۰/۲۵	٪۰/۱۲	٪۰/۰۶	٪۰/۰۳	٪۰/۰۱۵

یافته ها

همان‌گونه که‌گفته‌شد، نتایج اثر ضد میکروبی محلول هیپوکلریت سدیم‌واسانس‌آویشن‌شیرازی‌به روش تماس مستقیم در هشت غلظت بر روی ریزجانداران انتروکوکوس‌فیکالیس‌بررسی‌گردیدکه‌به شرح زیر است:

در پلیت های گروه شاهد منفی، در هیچ یک از فاصله های زمانی، رشد باکتری مشاهده نشد، که بیانگر استریلیتی واکنش‌گر (reagent) و محیط کشت مورد مصرف بوده و به سخنی، آلودگی وجود نداشت. در حالی که، در گروه شاهد مثبت، رشد باکتری مشاهده گردید. همان گونه که در جدول ۲ دیده می شود، لوله های دارای محلول هیپوکلریت سدیم در همه ی

غلظت‌ها جدا از زمان، رشد باکتری انترکوکوس‌فیکالیس را نشان ندادند و به سخنی، توان از میان بردن آن را در تماس مستقیم دارند. در زمینه ی کارکرد محلول اسانس آویشن بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس محلول دو درصد این ماده در زمان‌های ۱، ۵ و ۱۵دقیقه، رشد باکتری را مهار کرده است و محلول یک درصدآن، تنها در زمان‌های ۵و ۱۵دقیقه از رشد باکتری جلوگیری کرده است. لوله های دارای اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۰/۰۵ درصد و پایین تر، در هر سه زمان مورد آزمایش، بر مهار رشد باکتری بی اثر بودند (جدول ۲).

جدول ۲: *اثر ضد باکتریایی غلظت های متفاوت دو محلول مورد بررسی بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس به روش تماس مستقیم در سه زمان ۱، ۵ و ۱۵دقیقه*

محلول ها	غلظت / زمان	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
هیپوکلریت	یک دقیقه	--	--	--	--	--	--	--	--
اسانس آویشن		--	++	++	++	++	++	++	++
هیپوکلریت	پنج دقیقه	--	--	--	--	--	--	--	--
اسانس آویشن		--	--	++	++	++	++	++	++
هیپوکلریت	۱۵ دقیقه	--	--	--	--	--	--	--	--
اسانس آویشن		--	--	++	++	++	++	++	++

(رشد باکتری= ++، رشد نکردن باکتری = --)

بحث

بررسی‌های گوناگون نشان داده‌است، که ریزجانداران و فرآورده‌های سمی آنها در کانال، مهم‌ترین عوامل ایجاد بیماری‌های پالپ و پری‌اپیکال هستند. این ریزجانداران تنها به فضای اصلی کانال ریشه محدود نمی شود، بلکه می توانند خود را به بخش های عمقی توبول های عاجی، پیچیدگی های کانال و حتی به سطح بیرون ریشه و درون ضایعه ی پری اپیکال برسانند. به طور کلی، پاکسازی مکانیکی کانال، به عنوان یکی از مهم‌ترین مراحل درمان اندو به شمار می‌آید.

در بررسی ساندکویست و بیستروم (Sundqvist & Bystrom) (۱۹۸۱) مشاهده شد، که پاکسازی و شکل دهی مکانیکی کانال به همراه شست و شو با نرمال سالین، به میزانی ریزجانداران کانال را کاهش می دهد، اما در بیشتر از نیمی از موارد، نمی تواند به از میان بردن کامل این باکتری ها منجر گردد. آنها چنین نتیجه گیری کردند، که استفاده از یک محلول شست و شو با خاصیت ضد میکروبی می تواند در تکمیل اثر مکانیکی پاکسازی، در راستای از میان بردن کامل میکروب ها، موثر باشد [۱۷]. اسپنگ‌برگ (Spangberg) و همکاران، محلول های شست و شوی گوناگونی را در بررسی های در محیط طبیعی و آزمایشگاهی آزمایش کرده و نتیجه گرفتند، که محلول شست و شوی مطلوب دارای حداکثر اثر ضد میکروبی همراه با حداقل اثر سمیت است [۱۸].

به این منظور، تاکنون موادی گوناگون به عنوان محلول شست و شو دهنده ی کانال به کار گرفته شده است. از میان این مواد، سالهاست که هیپوکلریت سدیم، به عنوان یک محلول شست و شو دهنده ی موفق، مورد استفاده است. در پژوهش های گوناگون خاصیت ضد میکروبی هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های مختلف بررسی شده است و تقریبا در همه‌ی این

بررسی‌ها به‌اثرات ضد میکروبی مطلوب هیپوکلریت‌سدیم اشاره شده است [۱۹]. اما هیپوکلریت سدیم ماده‌ای با بو و مزه ی نامطبوع است و برخی بیماران در تماس با این ماده واکنش سوختگی شدید نشان می دهند. همچنین، این ماده دارای خاصیت خورندگی وسایل فلزی است. از سویی، استفاده هیپوکلریت سدیم در غلظت های بالا مطلوب نبوده و محرکی برای بافت پری اپیکال به شمار می آید [۱۸]. از آنجا که، فضای پالپ چمبر و کانال ریشه، به دهان و نیز، بافت های پیرامون ریشه مرتبط است، محلول شست‌وشودهنده‌ی کانال، افزون بر این که، بتواند باکتری ها را از میان ببرد، نباید اثرات سمی و زیانبار برای بافت پری اپیکال داشته باشد و از سوی بافت تحمل شود. با توجه به مسایل بالا، همیشه تلاش بر یافتن ماده ای تازه برای استفاده در درمان های ریشه بوده است تا افزون بر داشتن خواص مطلوب هیپوکلریت سدیم، مشکلاتی کمتر نیز داشته باشد.

اسانس آویشن، ماده ای طبیعی است، که اثرات ضد میکروبی آن در بررسی های گوناگون به اثبات رسیده است [۱۴ و ۱۵]. این اثرات را عمدتا به وجود تیمول در اسانس این گیاه نسبت می دهند. اندازه ی تیمول در اسانس آویشن، در حدود ۲۹ درصد است و اسانس آویشن دو درصد در حدود ۰/۵۸ درصد تیمول دارد. اسانس آویشن از اندام هوایی گیاه آویشن شیرازی به‌روش تقطیر با آب به دست می‌آید. استفاده‌های متعدد غذایی و دارویی برای آن بیان شده است و به صورت بسته‌بندی‌شده و تجاری در دسترس است. اثرات درمانی آن، شامل تقویت دستگاه گوارش، ضد نفخ، گندزدا و آرام بخش است، همچنین، خلط آور و ضد اسپاسم دستگاه گوارش است. وجود خاصیت ضدمیکروبی در این اسانس پژوهشگران را بر آن داشت، که در این بررسی اثر ضد میکروبی آن را بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس سنجیده و آن را به عنوان محلول شوینده ی کانال معرفی کنند.

باکتری استفاده شده در این بررسی، یک باکتری Gr^+ هوازی- بی هوازی اختیاری است. گر چه این باکتری در کانال ریشه ی درمان نشده به اندازه ای ناچیز حضور دارد، اما بررسی های گوناگون حضور فراوان این باکتری را در دندان‌هایی، که درمان‌ریشه‌ی آنها با شکست روبه‌روشده است، گزارش کرده اند، که گویای نقش آسیب زایی این باکتری در موارد شکست درمان اندودنتیک است [۷، ۲۰ و ۲۱]. همچنین، این باکتری یکی از مقاوم ترین باکتری های کانال ریشه در برابر درمان های اندودنتیک است و می تواند شرایط نامطلوب محیط را به خوبی تحمل کند و به تنهایی و بی نیاز به اثر کمکی دیگر باکتری ها، موجب عفونت کانال ریشه شود (Monoinfection) [۲۲].

روش بررسی برپایه‌ی روش ارزیابی فعالیت گندزدا کننده بوده، به این صورت که، محلول گندزدا کننده باحجم ثابت در مدت زمانی مشخص با سوسپانسیون باکتریایی آمیخته می گردد [۲۳].

روش‌بررسی، به شیوه‌ی پیاپی (Serial dilution)، به این دلیل برگزیده شد، که در این حالت، نخست محدودیتی در زمینه‌ی انتشار مواد با ماهیت‌های گوناگون در درون آگار، مانند روش انتشار دایره وار (Disk Diffusion) وجود ندارد. در این روش، اگر ماده، حتی با توان کشندگی کمترنفوذی‌بهتر در آگار داشته باشد، می‌تواند منطقه‌ی جلوگیری (zone of inhibition) بزرگ تری از خود نشان دهد. همچنین، در این روش امکان بررسی اثر زمان بر روی باکتری انتروکوکوس فیکالیس وجود نداشت، در حالی که در این بررسی، در سه نوبت پس از افزودن باکتری به غلظت های متفاوت مواد گوناگون، (زمان های ۱، ۵ و ۱۵) از نمونه ها کشت فراهم شده تا بتوان اثر زمان برخورد محلول با باکتری را در خاصیت ضد میکروبی آنها ارزیابی کرد. محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد نیز، به صورت پیاپی، هشت بار رقیق شد و اثر آن بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس در سه زمان ۱، ۵ و ۱۵ دقیقه بررسی شد. هیپوکلریت سدیم در همه‌ی زمان ها و همه ی غلظت ها توانست رشد باکتری را مهار کند و این تاکیدی بر بررسی های گومز و ساسون (Gomes و

Sassone) و همکاران است [۸ و ۹].

در این بررسی، اسانس آویشن به صورت خالص از شرکت با ریچ اسانس فراهم شد و غلظت آن با کمک حامل (۹۸/۵ سی سی آب و ۱/۵ سی سی DMSO) به دو درصد رسانده شد و هشت بار رقیق گردید و اثر ضد باکتری این محلول علیه انتروکوکوس فیکالیس در رقت یک درصد در زمان های ۵ و ۱۵ دقیقه مشاهده شد. محلول دو درصد این اسانس، باکتری انتروکوکوس فیکالیس را در زمان های ۱، ۵ و ۱۵ دقیقه مهار کرد. رسولی و رضایی نشان دادند، که اسانس آویشن تا غلظت ۱/۸ علیه استاف ارئوس(S.aureus) و اشرشیاکولی (E.coli) باکتریوسید است [۱۶]. هامر (Hammer) و همکاران هم، حداقل غلظت مهارکنندگی علیه کاندیدا و اشرشیاکولی (E.coli) را ۱/۶۴ و علیه باکتری انتروکوکوس فیکالیس را ۱/۴ یافتند [۱۴]. بررسی کنونی هم، غلظت موثر اسانس آویشن را بر انتروکوکوس فیکالیس ۱/۲ یافته و غلظت‌های کمتر از یک درصد این محلول بر باکتری اثری نداشتند. آنچه از یافته های این بررسی برداشت می شود این است، که اسانس آویشن در غلظت‌های یک و دو درصد دارای اثر ضد باکتریایی بر انتروکوکوس فیکالیس است.

نتیجه گیری

نتیجه این بررسی می تواند پیشنهاد استفاده از اسانس آویشن را در راستای شست و شوی کانال مطرح کند. اما از آنجا که، اثر ضد میکروبی یک محلول شست و شو دهنده ی مناسب باید در محیط کانال نیز، مطلوب باشد و نیز خواص محلول هم باید متناسب باشد، به نظر می‌رسد، که بهتر است در بررسی‌های دیگر اثر این اسانس بر باکتری انتروکوکوس فیکالیس در درون کانال به صورت آزمایشگاهی بررسی شود تا در صورت تایید اثر آن بر این باکتری در کانال، با توجه به قیمت مناسب و در دسترس بودن آن، بتوان از این ماده به عنوان محلول شست و شودهنده‌ی کانال بهره جست.

******

References

1. Miller WD. An introduction to the study of bacteriopathology of the dental pulp. Dent Cosmos 1894; 36: 505-528.
2. Kakehashi S. The effects of surgical exposures of dental pulp in germ free and conventional laboratory rats. Oral Surg 1965; 26: 340- 349.
3. Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. J Endod 1975; 1: 127-135.
4. Maccomb D, Smith DC. A preliminary scanning microscopic study of root canals after endodontic procedure. J Endod 1975; 1: 238-242.
5. Moodnik RM, Dorn SO, Feldman MJ, Levey M, Borden BG. Efficacy of biomechanical instrumentation: a scanning electron microscopic study. J Endod 1976; 2: 261-266.
6. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998; 31: 1-7.
7. Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moise Witsch Y. Bacteria isolated after unsuccessful Endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2001; 91: 579-587.

8. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Texeira FB, Souza-filho FJ. Invitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlohexidine gluconate in elimination of Entrococcus faecalis. Int Endod J 2001; 34: 424-428.
9. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata JR. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of Naocl and Chlorhexidine. Int Endod J 2003; 36: 848-852.
10. Radcliffe CE, Potouridiou L, Qureshi R, Habahbeh N, Qualtough A, Worthngton H, et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of Naocl on the endodontic microorganisms Actionmyces Israelii, A. naeslundii, Candida albicans and Enterococcus faecalis. Int Endod J 2004; 37: 438-446.
11. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Antimicrobail effect of 2% Naocl and 2% Chlorhexidine tested by different methods. Braz Dent J 2003; 14: 58-62.
12. Shafiee A, Javidnia k, Tabatabi M. Volatile constituents and antimicrobial activity of Zataria multiflora population. Iran J Chem & Chem Eng 1999; 18: 1-5.
۱۳. شیرازی مهدی، آزادبخت محمد، رضایی مجید. مقایسه دهان شویه آویشن و کلرهگزیدین در درمان استئوماتیت ناشی از شیمی درمانی در افراد مبتلا به لوسمی ، پایان نامه جهت اخذ دکترای داروسازی، دانشکده ی داروسازی تهران. فروردین ۱۳۷۸.
14. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts .J Appl microbiol 1999; 86: 985-990 (abstract).
15. Rasooli I, Rezaei MB. Comparison of antimicrobial effects of ampicillin and essential oils of Zataria multiflora. Hakim Res J 1380; 3: 219-225.
۱۶. عادل مامک. بررسی خارج دهانی اثر حلالیت بافتی اسانسهای اسطوخدوس ، مریم گلی ، اسانس و عصاره آویشن شیرازی و هیپوکلریت سدیم روی پالپ دندان گاو . پایان نامه تخصصی اندونتیکس دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ۱۳۸۰. صفحه ی ۸۵.
17. Bystrom A, Sundqrist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in Endodontic therapy. Scand J Dent Res 1981; 89: 321-328.
18. Spangberg L, Engstrom B, Langland K, Conn F, Biologic effect of dental materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1973; 36: 856-871.
19. Ingle JI, Backland LK. Endodontics. 5th ed. Baltimor: Williams & Willkins; 2002. p. 498.
20. Sundqvist G, Figdar D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed Endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1998; 85: 86-93.
21. Molander A, Reite C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root –filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998; 31: 1-7
22. Cohen S, Hargreaves KM. Pathways of the pulp. 9th ed. Missouri: Mosby Inc; 2006. p.922.
23. CremieuxA, Fleurette J. Methods of testing disinfectants. In; Blocks SS, Disinfection, Sterilizationand Preservation. 4th ed. Pliladelphia USA: Lea & Fabiger; 1991: p. 1009-1027.

Abstract

Antimicrobial Activity of Different Concentrations of Essential Oil of Zataria Multiflora on Enterococcus Faecalis

Ravanshad Sh.[*] **- Basiri E.**[**] **- Dastgheib B.** [***]

[*] Associate Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences
[**] Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences
[***] Postgraduate student, Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences

Statement of Problem: The main goal of endodontic treatment is eradication of microorganisms and their byproducts from the root canal system. The use of chemical irrigants during chemo-mechanical canal preparation is important for disinfection and cleaning of the canal system.

Purpose: The aim of this in vitro study was the assessment of bacterial growth after contact with several concentrations of essential oil of Zataria multiflora in varying time intervals.

Materials and method: The essential oil of Zataria multiflora were serially diluted 8 folds and a fixed volume of the stationary phase culture of E.faecalis was added to each diluted solution, for varying intervals of 1, 5 and 15 minutes. 100µl of the contents of each tube were transferred to SF broth and incubated for 48h at 37^0c. Results of bacterial growth were recorded at the end of the incubation period.

Results: 2% solution of essential oil of Zataria multiflora at all intervals inhibits growth of E.feacalis. 1% solution of it showed antibacterial effect in 5, and 15 minutes. The concentrations under 0.5% dilution of Zataria multiflora did not eliminate E.faecalis at any time intervals.

Conclusion: It seems that 1% and 2% solutions of essential oil of Zataria multiflora were effective at destroying E.faecalis. Application of this plant essential oil may be recommended for root canal irrigant following extensive ex-vivo and in-vivo experiments.

Key words: Essential oil of Zataria multiflora, Enterococcus faecalis, antimicrobial activity

Shiraz Univ. Dent. J. 2007;8(1): 28-36