دراسة مخبرية لمعرفة فعالية معجون العكبر(كمادة تغطية لبية مباشرة) على جراثيم النخر السني

إبراهيم فاعور* أ.د. مهند لفلوف** أ.د. أحمد مناديلي*** د. أشرف الصالح**

(الإيداع: 23 شباط 2021 ، القبول: 11 آيار 2021)

الملخص:

تهدف التغطية اللبية المباشرة إلى حماية سطح اللب المنكشف وضمان حيوية اللب واستمرارية وظيفته. إذ يمكن أن تتسبب العضويات الدقيقة بتضرر النسيج اللبي السني خاصة تلك التي نجحت في البقاء في عاج التجويف السني المحضر بعد تجريف النخر، لذا من أجل الحد من نشاط الجراثيم المتبقية، يجب أن تتمتع مواد التغطية اللبية المباشرة التي تطبق تحت الترميمات الدائمة بخواص مضادة للجراثيم. ومن هنا هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة لجراثيم النخر السني لمعجون العكبر وأكسيد الزنك كمادة تغطية لبية مباشرة مقارنة مع ماءات الكالسيوم باستخدام طريقة الانتشار في الآغار. أُخذت عينات نخرية من أسنان دائمة ذات نخر طاحن عميق غير نافذ ولب سني حي. وُضعت العينات في مرق نقيع القلب والدماغ BHI, وحضنت لمدة 24 ساعة على الدرجة 37م°. زرع 100ميكروليتر من السائل المزروع بعد تعديل عكارته باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند طول موجة 600 نانومتر، على منبت الآغار الدموي بعد عمل حفرتين بقطر 5ملم وبعمق 4ملم. حيث ملئت إحدى الحفرتين بمزيج العكبر وأكسيد الزنك وفي الأخرى ماءات الكالسيوم. بعد التحضين لمدة 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37م°، تمت قراءة النتائج من خلال قياس قطر دائرة منع النمو بالمليميتر. تم تحليل البيانات الاحصائية باستخدام تحليل T للعينات المستقلة عند مستوى دلالة ($P \leq 0.05$). أظهرت النتائج أنَّ الفعالية المضادة للجراثيم لمعجون العكبر وأكسيد الزنك كانت أعلى مقارنةً بمعجون ماءات الكالسيوم (P value = 0.032). خلصت الدراسة إلى إمكانية استخدام معجون العكبر وأكسيد الزنك كمادة تغطية لبية مباشرة بسبب الفعالية الواسعة المضادة لجراثيم النخر السني.

الكلمات المفتاحية: التغطية اللبية المباشرة، النخر السني، العكبر، ماءات الكالسيوم، منطقة التثبيط.

*طالب دكتوراه – قسم طب أسنان الأطفال – جامعة دمشق

** أستاذ في التشريح المرضي –كلية طب الأسنان – جامعة دمشق

***أستاذ في قسم طب أسنان الأطفال- جامعة دمشق

**** مدرس علم الأحياء الدقيقة –كلية الطب البيطري- جامعة حماه

A Laboratory Study To Knowledge The Effectiveness Of Propolis Paste (as a Direct Pulp Capping Material) Against The Germs Of Dental Caries

Ebrahim Faour* **Mohannad Laflouf**** **Ahmad Manadili***** **Ashraf ALSaleh******

(Received: 23 February 2021, Accepted: 11 May 2021)

Abstract:

The purpose of the direct pulp capping is to cover the damaged pulp surface, ensure the vitality of the pulp together with its function. Pulp damage may be caused by microorganisms, which survived in the dentin after the cavity preparation. To prevent this damage, direct pulp-capping materials placed directly over the pulp and localized under the permanent restoration must have good antimicrobial activity. The purpose of this study was to evaluation of the antibacterial efficacy of dental caries for propolis with zinc oxide paste as a direct pulp capping material in comparison with calcium hydroxide by agar diffusion test. Caries blocks were taken from permanent teeth with impermeable deep occlusal caries with vital dental pulp. Samples were placed in BHI broth and incubated for 24 hours at 37 °C. 100 μL of the liquid culture, after adjusting its turbidity by a spectrophotometer at a wavelength of 600 nm, was inoculated into the blood agar medium after making two holes 5 mm diameter and 4 mm depth. One of the holes was filled with a mixture of propolis and zinc oxide, and in the other with calcium hydroxide. After incubation at 37°C for 24 h, the results were read by measuring the diameter of the inhibition zone in millimeter. The data obtained is statistically analyzed using the independent samples T-Test ($P \leq 0.05$). Antibacterial efficacy of propolis and zinc oxide paste was higher than calcium hydroxide paste (P-value = 0.032). Propolis and zinc oxide paste can be used as a direct pulp capping material due to its broad effectiveness against the bacteria of dental caries.

Key words: Direct Pulp Capping, Dental Caries, Calcium Hydroxide, Propolis, Inhibition Zone.

*PhD. Resident, Dep. of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Damascus University, Damascus, Syria

** Prof. Dep. of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Damascus University, Damascus, Syria

***Prof. Dep. of pathology, School of Dentistry, Damascus University, Damascus, Syria

****DR. Dep. of Microbiology, School of Veterinary medicine, Hama University, Hama, Syria

1-المقدمة:Introduction

يُعد النخر السني من أكثر الأمراض انتشاراً التي تصيب الأنسجة الصلبة للأسنان، وعلى الرغم من أنّ العديد من الجراثيم المنتجة للأحماض قد تم عزلها من النبيت الفموي، إلا أنّ المكورات العقدية والعصيات اللبنية اعتُبرت من العناصر الهامة التي تسهم في بدء وتطور النخر السني العميق وانتشارها تدريجياً عبر الأقنية العاجية إلى اللب الحجروي (Neelakantan et al, 2012) .

تم عزل العقديات الطافرة من الآفات النخرية البدئية والمتقدمة، كما تم عزلها بشكل أقل شيوعاً من السطوح السنية السليمة (Marsh and Nyvad, 2003).

كما لوحظ وجود العصيات اللبنية في 85% من الآفات المتطورة، إذ توجد في الجزء الأعمق من الآفة (Balakrishnan et al, 2000)، وتؤدي دوراً مؤكداً في التطور الفعّال للنخور السنية(Tanzer et al, 2001).

في ظروف سريرية قد يؤدي إزالة العاج المتلين أثناء تجريف النخر إلى انكشاف اللب بشكل عرضي، وبالتالي من الضروري الحفاظ على حيوية اللب من خلال إجراء محافظ دقيق يعتمد على استخدام مواد تغطية فعالة بدلاً من إجراء مداخلة علاجية للأقنية الجذرية (Tziafas et al, 2000).

إنّ تطبيق مادة مبطنة مكان الانكشاف اللبي السني يمكن أن يؤمن حماية للب من المثيرات الحرارية أو من الغزو الجرثومي وربما يساعد على تشكيل جسر عاجي متكلس (Estrela et al, 1995) .

من ناحية أخرى تعد الجراثيم المتبقية داخل الحفرة السنية المحضرة أحد العوامل التي تؤدي إلى حدوث نخر ثانوي أو إصابة اللب السني بالالتهاب بعد تطبيق الترميم النهائي(Hoshino, 1985).

لذا من أجل حماية اللب من العدوى الثانوية التي تســببها الجراثيم المتبقية أو بســبب التســرب المجهري الحفافي يجب أن تتمتع مادة التغطية اللبية المثالية بالفعالية المضادة للجراثيم (Shen et al, 2010).

كانت وماتزال تُستخدم لإجراءات التغطية المباشرة مستحضرات ماءات الكالسيوم وعلى نطاق واسع بسبب خواصها المثبتة وفق الدراسات على تحريض تكون الجسر العاجي المتمعدن، وحماية اللب من المنبهات الكهروحرارية، وبعض الخواص المضادة للجراثيم (Holland et al, 1999).

بالرغم من المزايا الكبيرة التي تقدمها ماءات الكالسيوم في العلاج الحيوي للب السني، إلا أنّ لهذه المادة بعض العيوب تشمل: عدم القدرة على الارتباط بالعاج بسبب نعومة قوامها وقابليتها للانحلال، كما أنّ الجسر العاجي الذي تحرض على تشكيله مسامي، وبالتالي هناك إمكانية لاختراقه من قبل الجراثيم (Kitasako et al, 2008) ، بالإضافة إلى فاعلية ماءات الكالسيوم الضعيفة تجاه أنواع من الجراثيم كالمكورات المعوية البرازية E. faecalis والشعيات الفطرية Actinomyces (Chailertvanitkul et al, 2017)، وتأثيرها السام لخلايا اللب السني (Al-Shaher et al,2004).

بالتالي كان لابد من البحث عن مادة بديلة ذات خواص أفضل فاستخدمت مادة ثلاثي الأكاسيد المعدنية (MTA) لتغطية اللب السني، لما لها من خواص مضادة للجراثيم، وتقبل حيوي عالي، وقدرة ختم جيدة وتحرض على تشكيل الأنسجة الصلبة. ومع ذلك ، لم يتم استخدامها على نطاق واسع بسبب التكلفة العالية لثمنها وزمن التصلب الطويل وصعوبة التطبيق. (Dammaschke et al, 2005)

تزايد مؤخراً استخدام المستخلصات النباتية في الأبحاث المتعلقة بطب الأسنان، منها العكبر الذي هو مستخلص طبيعي من خلايا النحل. يتكون العكبر من مركبات كيميائية مختلفة حسب سلالة النحل والنباتات المحلية والموقع الجغرافي والموسم. أهمها مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية والعطرية (Kumazawa et al, 2004; Parolia et al, 2010).

يتمتع العكبر بخواص مضادة للجراثيم (.Ikeno et al، 1991 ؛ .Uzel et al، 2005 ؛ Mohammadzadeh et .al، 2007 ؛ .Liberio et al، 2009) ، وخواص مضاد للالتهابات (.McLennan et al، 2008) كما أنّ سميته تجاه الخلايا منخفضة (Burdock, 1998 ؛ AL-Shaher et al, 2004).

وقد أظهرت الدراسات أنّ للعكبر نشاطاً فعالاً مضاداً للجراثيم بشكل خاص الجراثيم موجبة الجرام، مثل المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus (S. aureus) وله نشاط مضاد للجراثيم سالبة الجرام مثل السالمونيلا Salmonella. كما تم تأكيد فعالية العكبر في تثبيط نشاط إنزيم ناقلة الغليكوزيل glycosyltransferase عند جراثيم المكورات العقدية الطافرة Streptococcus mutans والمكورات العقدية السوبرينوس Streptococcus sobrinus من خلال دراسات حيوية ومخبرية (Abbasi et al, 2018). أجريت العديد من الدراسات حول مستخلصات العكبر لاستخدامها كمادة تغطية لبية مباشرة (Ahangari et al. 2012 ; Parolia et al. 2010). فقد بينت دراسة Chailertvanitkul وزملاؤه عام 2017 على العكبر التايلاندي الذي استخدمه كمادة تغطية مباشرة تأثيره الفعال ضد المكورات العقدية الطافرة Streptococcus mutans والعصيات اللبنية Lactobacillus casei، ولم يجد له أي تأثيرات سمية على خلايا اللب السني البشري (Chailertvanitkulet al, 2017). كما وجد Dziedzic وزملاؤه عام 2013 فعالية وقدرة تثبيطيه عالية للعكبر البولندي ضد المكورات العقدية الطافرة والعصيات اللبنية المعزولة من اللعاب وكانت العصيات اللبنية أكثر تأثراً. استنتج الباحث أنّ الغسولات الفموية الحاوية على العكبر ذات تأثير وقائي فعال ضد تطور النخور السنية (Dziedzic et al, 2013). أجرى Jafarzadeh Kashi وزملاؤه عام 2011 دراسة مخبرية جرثومية أظهر فيها أنّ المستخلص الايتانولي للعكبر له تأثير مضاد للجراثيم ضد كل من المكورات العقدية الطافرة Streptococcus mutans والمكورات العقدية اللعابية Streptococcus salivarius والمكورات المعوية البرازية Enterococcus faecalis والمكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus والعصيات اللبنية Lactobacillus case. وكانت المكورات العقدية اللعابية الأكثر حساسية حيث أظهرت أعلى قطر تثبيط 20ملم، بينما كانت العصيات اللبنية الأكثر مقاومة حيث أظهرت أقل قطر تثبيط 12ملم. استنتج الباحث أنّ المستخلص الايتانولي للعكبر يمكن أن يكون مفيداً في الوقاية من تطور النخور السنية (Jafarzadeh Kashi et al, 2011).

2- هدف البحث:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة لجراثيم النخر السني العميق لمعجون العكبر وأكسيد الزنك (ZOP) كمادة تغطية لبية مباشرة مقارنة مع ماءات الكالسيوم (CaH) كيميائي التصلب بطريقة الانتشار في الآغار.

3- مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:

- **المواد المستخدمة في هذه الدراسة :**

- مستخلص العكبر السائل (Herb Pharm; Propolis Liquid Extract; 1 fl oz ;30 ml) وهو منتج تجاري تم الحصول عليه من موقع **iHerb** الاميركية عبر الشراء من الانترنت، وهو موقع متخصص ببيع المنتجات الصحية العضوية والطبيعية الأصلية الخالية من المواد الكيمائية والمستمدة من الأعشاب. يستخدم هذا المنتج كمكمل غذائي مدعم للمناعة ومنشط للجسم.

الشكل رقم (1): منتج العكبر السائل

- ماءات الكالسيوم ذات التصلب الكيميائي: يتألف من معجونين أحدهم أساس والآخر مسرع (Urbical, ProMedica) من شركة بروميديكا الألمانية الصنع.

الشكل رقم (2): ماءات الكالسيوم كيميائي التصلب

- مسحوق أوكسيد الزنك من شركة الفارس (Fares, Damascus, Syria)
- منب الآغار الدموي Blood Agar من شركة HiMedia الألمانية : يحضر حسب تعليمات الشركة المنتجة باذابة 40غرام / ليتر بالماء مقطر ثم يعقم بالموصدة 121 درجة مئوية وبضغط 1.5 باوند / انج^2 ولمدة 15 دقيقة، ثم يضاف له دم الانسان بنسبة 5-10% عند درجة حرارة 40-50% وبالتحريك الدائري والخلط الخفيف ينتشر الدم في كامل الآغار ثم يصب في أطباق بتري ليصبح جاهزاً للزرع الجرثومي.
- منبت مرق نقيع القلب والدماغ BHI (Brain Heart Infusion Broth) من شركة HiMedia الألمانية الذي تم تحضيره حسب تعليمات الشركة المنتجة بإضافة 37 غرام من البودرة في واحد لتر من الماء المقطر يتم مزجها بالتحريك وغليها ثم صبها في أنابيب زجاجية وتعقيمها بالموصدة 121 درجة مئوية وبضغط 1.5 باوند / انج^2 ولمدة 15 دقيقة.

العينات:Samples

تم أخذ 15 عينة نخرية مباشرة من افواه مرضى ذو حالة صحية عامة سليمة تتراوح أعمارهم بين 7-15 سنة لديهم أسنان دائمة ذات نخر طاحن عميق غير نافذ مع لب سني حي غير متموت ولم يتناولوا أي صاد حيوي منذ أكثر من أسبوعين على الأقل.

بعد إجراء التقييم السريري المناسب لمعطيات الدراسة لدى المريض المرشح لأخذ العينة النخرية، تم تخدير السن وإجراء العزل بالحاجز المطاطي وتجفيف السن، ثم جرفت الطبقة السطحية للنخر من خلال القبضة ذات السرعة البطيئة باستخدام سنابل كاربايد كروية معقمة حتى الوصول إلى منطقة عميقة قريبة من منطقة اللب السني ومن خلال مجرفة عاج معقمة ذات قياس صغير أُخذت كتلة نخرية صغيرة من عاج متلين بمقدار رأس المجرفة ليتم وضعها مباشرة في أنابيب زجاجية تحوي 5 مل من الوسط الزرعي العقيم مرق خلاصة القلب والدماغ BHI (Brain Heart Infusion Broth).

الدراسة المخبرية:

نُقلت الأنابيب الحاوية على العينات النخرية المحفوظة بدرجة حرارة الغرفة مباشرة إلى مخبر الجراثيم في كلية الطب البيطري قسم الأحياء الدقيقة في مدينة حماه خلال مدة لا تزيد عن 2 ساعة ليتم وضعها في الحاضنة فوراً لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 م° بهدف تنمية الأنواع المختلفة من جراثيم النخر السني.

بعد التحضين رجت محتويات الأنابيب المزروعة باستخدام جهاز الدوامة لمدة (1) دقيقة بهدف تجانس مكونات السائل ضمن كل الأنبوب. تم تعديل عكارة المعلق باستخدام جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer على طول موجة 600 نانومتر المقابل لمعيار التعكر 0.5 ماكفرلاند(McFarland 0.5) بهدف الحصول على عدد تقريبي للخلايا الجرثومية تقابل (1.5×10^8 CFU/ml) من أجل توحيد جميع العينات ضمن عدد ثابت للخلايا الجرثومية.

تم عمل حفيرتين بقطر 5 ملم على كامل سماكة الآغار بعمق 4 ملم في طبق الآغار الدموي باستخدام قضيب زجاجي معقم Pasteur pipettes، نُشرت (100 µ) ميكروليتر من المعلق الجرثومي المضبوط العكارة سابقاً على كامل سطح الآغار من خلال ماسحة قطنية معقمة Sterile Cotton Swab بحركة على شكل Z يميناً ويساراً مع دوران القرص بالاتجاهات الثلاثة لينتشر العالق بشكل متماثل على كامل الطبق، ثم تركت الأطباق لمدة 20- 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة بغرض السماح بامتصاص العالق الجرثومي.

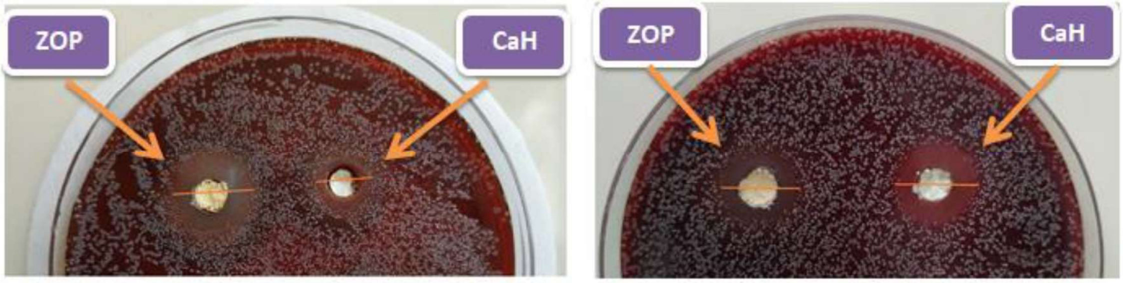
تم تحضير معاجين الدراسة وفق التالي:

- معجون العكبر: تم مزج مكيال أوكسيد الزنك مقابل أربع قطرات من مستخلص العكبر للحصول على القوام المناسب، حيث تم وزن المعجون من خلال ميزان ميكروغرام بمقدار مناسب لحجم الحفرة 0.200 غ بهدف توحيد الوزن الجزيئي للمعاجين لدى كل الأطباق .
- ماءات الكالسيوم : تم مزج نقطة أساس مع نقطة مسرع متساويتين في الحجم حسب تعليمات الشركة المنتجة.

طبقت المعاجين المختبرة بعد مزجها مباشرة ضمن الحفيرة المحددة على الطبق وضغطت داخل البئر باستخدام ماسحات قطنية معقمة للتأكد من تماسها مع سطح الآغار، ثم وضع الطبق بشكل مقلوب في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة بظروف حضن هوائي.

أجريت جميع مراحل العمل المخبري ضمن حجرة الزرع الجرثومي المطهرة مع وجود لهب الغاز وإغلاق الساتر الزجاجي ما أمكن مع مراعاة سرعة العمل.

تمت قراءة النتائج عيانياً من خلال قياس قطر دائرة منع النمو حول الحفيرة بالملميتر باستخدام مسطرة مدرجة بعد تعيين حواف دائرة التثبيط بالانخفاض المفاجئ في النمو الجرثومي نتيجة انتشار المواد الفعالة للمعجونين المستخدمين في الدراسة.



الشكل رقم (3): يوضح أقطار منع النمو عند معجون العكبر (ZOP) وماءات الكالسيوم (CaH)

في نفس الوقت تم في هذه الدراسة بهدف معرفة أهم الأنواع الجرثومية الموجودة في العينات إجراء الزرع والتنقية باستخدام عدد من المنابت: آغار دموي وبيل اسكولين وماكونكي وشابمان ستون، وتم إجراء صبغة غرام وبعض الاختبارات الكيمياحيوية السريعة (كاتلاز وأوكسيداز)، وقد وُجد أنّ المكورات العقدية المخضرة والمعوية البرازية والعصيات اللبنية هي أهم الأنواع الموجودة في عينات النخر السني المستخدمة في هذه الدراسة.

الدراسة الإحصائية: Statistical Study

تم إجراء الحسابات الإحصائية باستخدام برنامج SPSS Inc., Chicago, USA الإصدار (20) وبرنامج MS excel 2010 لإنجاز الرسوم البيانية، حيث تم إجراء اختبار T ستيودنت Student's t-Test لمقارنة نتائج الفعالية المضادة للجراثيم بين معجون العكبر وأكسيد الزنك (ZOP) وبين ماءات الكالسيوم (CaH) ، واعتمدت قيمة مستوى الدلالة P –value $p<0.05$ من أجل وجود دلالة إحصائية.

4- النتائج: Results

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنّ العينات النخرية البالغ عددها 15 عينة أنّ معجون العكبر وأكسيد الزنك ذو تأثير مثبط على جميع العينات المدروسة مع قطر منع نمو بين 15- 22 ملم . بينما كان قطر منع النمو عند جميع العينات لمعجون ماءات الكالسيوم يتراوح بين 15-20 ملم. وبحساب المتوسط الحسابي نجد أنّ معجون العكبر ذو متوسط حسابي 17.33 ملم وهو أعلى من المتوسط الحسابي لمعجون ماءات الكالسيوم 15.80 ملم، والجدول رقم (**1**) يوضح تلك النتائج مع إظهار قيمة الانحراف المعياري.

الجدول رقم (1): المقاييس الإحصائية الوصفية لقياس قطر دائرة منع النمو الجرثومي ما بين مجموعتي التجربة (معجون العكبر وأكسيد الزنك – ماءات الكالسيوم)

المجموعات المدروسة	العدد	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	أكبر قيمة	أصغر قيمة
معجون العكبر وأكسيد الزنك	15	17.33	2.32	22	15
ماءات الكالسيوم	15	15.80	1.26	20	15

من أجل المقارنة بين المتوسطات الحسابية ومعرفة هل هناك أي فروق دالة احصائياً عند درجة ثقة 95% بين متوسط قطر منع النمو لمجموعة معجون العكبر وأكسيد الزنك وبين معجون ماءات الكالسيوم تم إجراء اختبار T ستودنت للعينات المستقلة Independent Samples T Test باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS الاصدار 20 ، حيث بينت النتائج أنّ إشارة قيمة الفرق بين متوسطي المجموعتين كانت موجبة أي أن متوسط قياس قطر دائرة منع النمو الجرثومي في مجموعة معجون العكبر وأكسيد الزنك أكبر من متوسط قياس قطر دائرة منع النمو الجرثومي في مجموعة ماءات الكالسيوم، وكانت قيمة

مستوى الاحتمالية P-value (0.032) وهي أصغر من القيمة 0.05، وبالتالي توجد فروق دالة إحصائياً بين فعالية معجون العكبر وأكسيد الزنك وبين ماءات الكالسيوم. الجدول رقم (2) يبين قيمة الفرق بين متوسطي القيم وقيمة T المحسوبة ودرجة الحرية الإحصائية وقيمة الاحتمالية P-value وتفسيرها.

الجدول رقم (2): نتائج استخدام اختبار T ستودنت للعينات المستقلة عند المقارنة بين قياس قطر دائرة منع النمو الجرثومي ما بين مجموعتي التجربة (معجون العكبر وأكسيد الزنك – ماءات الكالسيوم)

المتغير المدروس	الفرق بين المتوسطين	قيمة اختبار T	درجة الحرية	قيمة الاحتمالية P-value	التفسير
قطر دائرة منع النمو الجرثومي (بالملم)	1.53	2.25	28	0.032	توجد فروق دالة إحصائياً

5-المناقشة: Discussion

تعتبر العضويات الدقيقة إحدى العوامل الاساسية المسببة لأمراض اللب السني(Al-Khatib et al, 1990). ويعتمد نجاح الإجراء المحافظ على حيوية اللب على إزالة مسبب الانتان وطريقة الإجراء المتبعة ونوع مادة التغطية والمادة المرممة التي تؤمن السد المحكم ضد جراثيم البيئة الفموية الأمر الذي يعزز إصلاح النسيج اللبي (Mejare and Cvek 1993).

أجريت الدراسة الجرثومية على مزيج الأنواع الجرثومية المأخوذة من النخر السني لمعرفة مدى فعالية المعاجين على الأنواع الجرثومية المتنوعة الموجودة، التي من المحتمل أن تكون متواجدة ضمن الأقنية العاجية السليمة بعد تجريف النخر وليس على نوع جرثومي واحد. حيث الجدير ذكره أنّ الجراثيم ذات النوع الواحد ذات فوعة منخفضة عادة بينما تزداد فوعتها وبشكل ملحوظ عندما تتضافر الأنواع الجرثومية مجتمعة ، لتقاوم ظروف البيئة القاسية التي تنمو فيها (Amorim et al, 2006).

أُجريت الدراسة على الآغار الدموي فهذا الوسط يعتبر غنياً جداً ويسمح بنمو أنواع كثيرة من الأنماط الموجودة في النخر السني وخاصة المكورات العقدية المخضرة (Hossain, 2014) والتي هي المسبب الأكبر للنخر السني، وهو أفضل من آغار مولر هينتون المستخدم عادة في إجراء اختبار الفعالية المضادة للجراثيم بطريقة الانتشار في الآغار خاصة الدراسات التي تتناول فعالية معاجين الأقنية العفنة والتي تعتبر فيها المكورات المعوية البرازية ذات التواجد الأكبر كما في دراسة (Saumya (Amorim et al, 2006) (Harini, 2010)(Navit, 2016 .

تم إجراء هذه الدراسة معتمدين على طريقة النمو الجرثومي في ظروف الحضن الهوائي حيث تنمو الجراثيم الهوائية واللاهوائية المخيرة والهوائية المجبرة (Estrela et al, 2000)، وهذ الاحتياجات الهوائية لأغلب الجراثيم في التجويف الفموي والنخور السنية خاصة.

تم في هذه الدراسة الاعتماد على طريقة الانتشار بالآغار لاختبار الفعالية المضادة للجراثيم لكل من معجون (ZOP) و ماءات الكالسيوم (CaH) ، حيث تعمل على مبدأ انتشار المادة الحاشية من الحفيرة الصغيرة إلى الوسط الآغار الحاوي على الجراثيم لتشكل حولها هالة تثبيط لنمو الجراثيم. إنّ هذه الطريقة فكرة عن قدرة انتشار المعاجين المستخدمة والانحلال في وسط الآغار وبالتالي تعطي فكرة عن بعض صفات المادة سريرياً من حيث مدى قدرة عناصرها على الوصول إلى أماكن بعيدة يصعب الوصول إليها ميكانيكياً لتؤثر على الجراثيم وتعدل ذيفاناتها.

عموماً استخدم اختبار انتشار الآغار (Agar Diffusion Test) على نطاق واسع لتقييم النشاط المضاد للجراثيم لمواد طب الأسنان(Çobankara et al, 2004) (Al-Khatib et al, 1990). يتميز هذا الاختبار بأنه يسمح بإجراء مقارنات مباشرة بين المواد ضد العضويات الحية الدقيقة المختبرة ، في حين أنّ العيب الاساسي لهذه الطريقة أنها لا تميز بين الخواص المثبطة والمبيدة للجراثيم للمواد المختبرة (Tobias, 1988).

لم يتم في هذه الدراسة استخدام الشاهد السلبي والايجابي حيث لم يكن هناك أطباق خالية من النمو الجرثومي بعد الزرع والحضن وتم ملاحظة هالة التثبيط حول المعجونين المستخدمين.

بينت نتائج مقارنة الفعالية المضادة للجراثيم في هذه الدراسة أن متوسط قطر دائرة منع النمو الجرثومي كانت 17.33 ملم حول معجون أوكسيد الزنك والعكبر(ZOP) و15.80 ملم حول معجون ماءات الكالسيوم(CaH)، وأظهرت الدراسة الإحصائية وجود فروق دالة احصائياً بين المجموعتين $P<0.05$، أي أن معجون أوكسيد الزنك والعكبر(ZOP) ذو فعالية مضادة لجراثيم النخر السني أعلى من معجون ماءات الكالسيوم(CaH)، وبهذا توافقت دراستنا حول الفعالية المضادة للجراثيم للعكبر مع العديد من الدراسات السابقة (Chailertvanitkulet al, 2017) (Dziedzic et al, 2013) (Jafarzadeh Kashi et al, 2011)

في دراستنا الحالية حصلنا على النتائج المخبرية التي تؤكد التأثيرات المضادة للجراثيم بشكل أساسي لمعجون هيدروكسيد الكالسيوم كما ورد في مقالة المراجعة لخواص ماءات الكالسيوم لـ (Mohammadi and Farhad , 2005).

يرتبط النشاط المضاد للجراثيم لماءات الكالسيوم بإطلاق شوارد الهيدروكسيل(Siqueira, 2001). وإنّ شوارد الهيدروكسيل عبارة عن جذور حرة شديدة التأكسد تظهر تفاعلًا شديدًا مع العديد من الجزيئات الحيوية (Babich and Sinensky, 2001).

كما إنّ إطلاق شوارد الهيدروكسيل يرفع من قيمة باهاء الوسط المحيط إلى حوالي 12- 12.5 بعد الانحلال، وإنّ هذه القيمة العالية للباهاء قد تقتل الجراثيم من خلال إتلاف الغشاء السيتوبلاومي والحمض النووي DNA وتحدث تغير في طبيعة بروتينات الخلية الجرثومية. (Yalcin et al, 2014)

من ناحية أخرى تعود نتائج فعالية معجون العكبر في هذه الدراسة إلى مكونات العكبر وليس أكسيد الزنك الذي يعتبر مادة خاملة ليس لها أي تأثير مضاد للجراثيم (Cox et al, 1978)

أوضحت الدراسات أنّ العكبر يعمل كمضاد للجراثيم وبآليات مختلفة فهو يمنع انقسامها، بالإضافة إلى أنه يعمل على تحطيم جدرانها وتغير السايتوبلازما الخاص بها وذلك لاحتوائه على نسبة عالية من الفلافونيد وبهذا فهو يشترك مع كثير من المضادات الحيوية (حمزة،1998؛ Velikova et al., 2000 ; Elain et al., 2002). حيث يعتبر العكبر مضاد جرثومي واسع الطيف (Özan et al, 2007)

كما يعزى التأثير المثبط للعكبر إلى وجود المركبات الفينولية التي لها فعالية تثبيطية على الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة غرام، حيث تقوم الفينولات بمسخ البروتين في الخلية الجرثومية وإيقاف فعل الأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الأساسية، وبالتالي عدم قدرة الخلية الجرثومية على الاستمرار (السلطاني ، 2013). إنّ ميكانيكية عمل مستخلص العكبر ضد الجراثيم بصورة عامة يرجع الى أنّ مادة العكبر تؤثر على الغشاء البلازمي للجراثيم، كما أنها تثبط الفاعلية الانزيمية وحركة الجراثيم (Mirzeva et al.,1997) .

بيّنت بعض الدراسات بمساعدة المجهر الالكتروني أنّ العكبر يوقف الانقسام الخلوي للجراثيم وذلك من خلال تثبيط انقسام الحمض النووي DNA للخلية الجرثومية (Takaisi-Kikuni and Schicher,1994) (Oksuz et al.,2005)

6-الاستنتاجات: Conclusions

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أنّ فعالية معجون العكبر وأكسيد الزنك أعلى من فعالية ماءات الكالسيوم. وبالتالي يمكن استخدام معجون العكبر (ZOP) كبديل عن ماءات الكالسيوم (CaH) في حالات انكشاف اللب السني كمادة تغطية لبية مباشرة.

7- التوصيات والمقترحات:

- نوصي باستخدام معجون العكبر (ZOP) كمادة تغطية لبية مباشرة بفضل الفعالية الواسعة المضادة لجراثيم النخر السني كما يعتبر اقتصادياً أكثر من ماءات الكالسيوم كيميائي التصلب.
- نوصي باستخدام منتج العكبر السائل الذي تم استخدامه في هذه الدراسة لاحتوائه على المواد الفعالة فعلياً وإمكانية الحصول عليه من مصادر موثوقة.
- نوصي باتباع نفس طريقة المزج المستخدمة في هذه الدراسة أي مكيال أكسيد الزنك مقابل أربع قطرات من العكبر السائل لحصول على القوام المناسب.
- نقترح دراسة فعالية معجون العكبر (ZOP) ضد كل أنواع الجراثيم المعزولة والمنتقاة من المادة النخرية ومقارنتها مع الصادات الحيوية كالجينتامايسين(واسع الطيف) مثلاً.
- نقترح إجراء دراسة لمعرفة فاعلية (ZOP) ضد جراثيم النخر السني الناكس تحت الحشوات.
- نقترح إجراء دراسة لمعرفة فاعلية (ZOP) ضد جراثيم النخر السني في ظروف الحضن اللاهوائي.

8-المراجع: References

1. Abbasi, A.J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S.M., Ghadirian, H., Seifi, H., Bayat, H. and Bahrami, N., 2018. Applications of propolis in dentistry: a review. *Ethiopian journal of health sciences*, *28*(4).
2. Ahangari, Z., Naseri, M., Jalili, M., Mansouri, Y., Mashhadiabbas, F., & Torkaman, A. (2012). Effect of propolis on dentin regeneration and the potential role of dental pulp stem cell in Guinea pigs. *Cell journal*, *13*(4), 223-228.
3. Al-Khatib, Z.Z., Baum, R.H., Morse, D.R., Yesilsoy, C., Bhambhani, S. and Furst, M.L., 1990. The antimicrobial effect of various endodontic sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, *70*(6), pp.784-790
4. Al-Shaher A, Wallace J, Agarwal S, et al. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. J Endod 2004; 30(5):359-361.
5. Amorim, L., Toledo, O. A., Estrela, C. R., Decurcio, D., & Estrela, C. (2006). Antimicrobial analysis of different root canal filling pastes used in pediatric dentistry by two experimental methods. *Brazilian dental journal*, *17*(4), 317-322.
6. Babich, H. and Sinensky, M.C., 2001. Indirect cytotoxicity of dental materials: a study with Transwell inserts and the neutral red uptake assay. *Alternatives to Laboratory Animals*, *29*(1), pp.9-13.
7. Balakrishnan.M, Simmond.R, Tagg.J: Dental caries is a preventable infection disease. Australian Dental Journal, 45(4):235-245,2000.

8. Banskota, A., Tezuka, Y., Adnyana, I., Midorikawa, K., Mastushige, K. and Message, D., 2000. Cytotoxic, Hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, Netherlands and China. J. Ethnopharmacol.; Vol. 72, No. (1-2): pp.239-46 .
9. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food Chem Toxicol 1998; 36(4): 347-363.
10. Chailertvanitkul P, Namsirikul T, Damrongrungruang T, Peerapattana J (2017). Phenolic and flavonoids contents and antibacterial activity of ethanolic extract of propolis. Isan Journal of Pharmaceutical Sciences,13,59-67.
11. Çobankara, F.K., Altinöz, H.C., Erganiş, O., Kav, K. and Belli, S., 2004. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *Journal of endodontics*, *30*(1), pp.57-60
12. Cox ST, Hembree JH, McKnight JP. The bactericidal potential of various endodontic materials for primary teeth. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL 1978;45:947-54.
13. Dammaschke T, Gerth HU, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. Dent Mater. 2005;21:731–8.
14. Duarte MA, Martins CS, de Oliveira Cardoso Demarchi AC, de Godoy LF, Kuga MC, Yamashita JC. Calcium and hydroxide release from different pulp-capping materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;104:e66–9.
15. Dziedzic A, Kubina R, Wojtyczka RD, Kabała-Dzik A, Tanasiewicz M, Morawiec T. The antibacterial effect of ethanol extract of polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013 Oct;2013.
16. Elain, C.E., Gebara, I,II., Luiz, A., Lima, I., Marcia and P.A., Mageri, 2002 . Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria, Braz. J. Microbial.; Vol. 33, No. 4, pp. 365-369
17. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felippe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Braz Dent J. 1995;6:85-90.
18. Farhad, A. and Mohammadi, Z., 2005. Calcium hydroxide: a review. *International dental journal*, *55*(5), pp.293-301.
19. Harini, P., Bhat, S. and Sundeep Hegde, K., 2010. Comparative evaluation of bactericidal potential of four root canal filling materials against microflora of infected non-vital primary teeth. Journal of Clinical Pediatric Dentistry, 35(1), pp.23-29.

20. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PF, Dezan E., Júnior Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. J Endod. 1999;25:161–6.
21. Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human carious dentin. J Dent Res. 1985;64:1195–8.
22. Hossain.Z, Bacteria: Streptococcus,Editor(s): Motarjemi, Y., Moy, G.G. and Todd, E.C., 2014. Encyclopedia of food safety. Pages 535-545.
23. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. Caries Res 1991; 25(5):347-351.
24. Isla, M., Nieva, M., Sampietro, A. and Vattuone, M., 2001. Antioxidant activity of Agrentine propolis extracts . J. Ethnopharmacol.; Vol. 76, No. 2, pp.165-70 .
25. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chem 2004; 84:329-339.
26. Lai, C.C., Huang, F.M., Yang, H.W., Chan, Y., Huang, M.S., Chou, M.Y. and Chang, Y.C., 2001. Antimicrobial activity of four root canal sealers against endodontic pathogens. *Clinical oral investigations*, *5*(4), pp.236-239.
27. Libério SA, Pereira AL, Araújo MJ, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. J ethnopharmacol 2009;125(1):1-9.
28. Marsh P.D, Nyvad.B: "The oral micro flora and biofilmon teeth". In Dental caries:the disease and its clinical mangment. By Fejerskove. O and Kidd.E,chap3: 27-48, Munksgard, Denmark; 2003.
29. McLennan SV, Bonner J, Milne S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. Wound Repair Regen 2008; 16(5):706-713.
30. Mejàre I, Cvek M. Partial pulpotomy in young permanent teeth with deep carious lesions. Endod Dent Traumatol. 1993 Dec;9(6):238-42.
31. Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamedi M, et al. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. Food Chem 2007; 103(4):1097-1103.
32. Navit, S., Jaiswal, N., Khan, S. A., Malhotra, S., Sharma, A., Mukesh, Jabeen, S., & Agarwal, G. (2016). Antimicrobial Efficacy of Contemporary Obturating Materials used in Primary Teeth- An In-vitro Study. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR, 10(9), ZC09–ZC12.

33. Neelakantan P, Rao CV, Indramohan J. Bacteriology of deep carious lesions underneath amalgam restorations with different pulp-capping materials--an in vivo analysis. *J Appl Oral Sci* 2012; 20(2):139-145.

34. Oksuz,H.;Duran,N.;Tamer,C.;M.Cetin.M.;and Silici ,S.(2005).Effect of propolis in the treatment of experimental Staphylococcus aureus keratitis in Rabbits. Ophthalmic Research.37:328-334.

35. Özan, F., Polat, Z.A., Er, K., Özan, Ü. and Değer, O., 2007. Effect of propolis on survival of periodontal ligament cells: new storage media for avulsed teeth. *Journal of Endodontics*, *33*(5), pp.570-573.

36. Parolia A, Kundabala M, Rao NN, et al. A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, Mineral trioxide aggregate and Dycal. Aust Dent J 2010; 55(1):59-64.

37. Santos, F.A., Bastos, E.M., Uzeda, M., Carvalho, M.A., Farias, L.M. and Moreria, E.S., 2002. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fraction against oral anaerobic bacteria . J. Ethnopharmacol.; Vol. 80, No. 1, pp.1-7 .

38. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells *in vitro* in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. Arch Oral Biol. 1991;36:117-28.

39. Shen Q, Sun J, Wu J, Liu C, Chen F. An in vitro investigation of the mechanical-chemical and biological properties of calcium phosphate/calcium silicate/bismutite cement for dental pulp capping. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010;94:141-8.

40. Siqueira, J.F., 2001. Strategies to treat infected root canals. *CDA*, *29*(12), pp.825-838.

41. Sun, F., Hayami, S., Haruna, S., Ogiri, Y., Tanaka, K. and Yamada, Y., 2000. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxidases in rats . J. Agric. Food Chem.; Vol. 48, No. 5, pp.5-1462 .

42. Takaisi-Kikuni, N.B. and Schilcher, H., 1994. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta medica*, *60*(03), pp.222-227..

43. Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. Int Endod J. 2006;39:415-22.

44. Tanzer.JM, Livingston.J, Thompson.AM: The microbiology of primary dental caries in humans,J Dent Educ; 65(10): 1028-1037; 2001.

45. Tobias, R.S., 1988. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *International Endodontic Journal*, *21*(2), pp.155-160.

46. Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent* 2000; 28(2): 77-92.

47. Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcin, S., Tsvetkova, I. and Kujumgiev, A., 2000. Propolis from the Mediterranean region : chemical composition and antimicrobial activity . Z. Naturforsch.; Vol. 55, No. (9-10), pp. 3-790.

48. Wang X, Du Y, Yang J, Tang Y, Luo J. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of quaternized chitosan/organic montmorillonite nanocomposites. J Biomed Mater Res A. 2008;84:384–90.

49. Yalcin M, Arslan U, Dundar A. Evaluation of antibacterial effects of pulp capping agents with direct contact test method. Eur J Dent. 2014;8(1):95-99.

50. Zayed M.M, Hassan R.E, Riad M.I,Evaluation of the antibacterial efficacy of different bioactive lining and pulp capping agents, Tanta Dental Journal Volume 12, Issue 2,2015, Pages 132-139.

1. السلطاني، إيمان و عبد، فريال و تاج الدين، وجدان (2013). تأثير المستخلص الكحولي لمادة العكبر على البكتريا المعزولة من الإصابات الجلدية. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية، 21(3) 837-848.

2. عارف حمزة، 1998. عكبر النحل. دار علاء الدين للنشر، دمشق.