خواص مکانیکی و ضد میکروبی سمان گلاس آیونومر حاوی پروپولیس ایرانی

سید مصطفی ابطحی [۱]، رحیمه مهربان [۲]، حسین باقری [۳]، محسن فتحی نجفی [۴]، ندا اسلامی [۵و۱]*

[۱] دانشیار گروه ارتودنسی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۲] دندانپزشک، مشهد، ایران

[۳] مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۴] مؤسسه تحقیق و توسعه، تحقیقات کشاورزی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شعبه مشهد، مشهد، ایران

[۵] مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۱۴۰۰/۶/۸ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۶

Antibacterial and Mechanical Properties of Glass Ionomer Cement Containing Iranian Propolis

Sayed Mostafa Abtahi [1], Rahime Mehraban [2], Hossein Bagheri [3], Mohsen Fathi Najafi [4], Neda Eslami [1,5]*

[1] Associate Professor, Department of Orthodontics, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

[2] Dentist, Mashhad, Iran

[3] Dental Materials Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

[4] Education and Extension Organization, Agricultural Research, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Mashhad Branch, Mashhad, Iran

[5] Dental Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 30 August 2021; Accepted: 6 June 2022

Introduction: Plaque accumulation during orthodontic treatment is commonly seen around orthodontic brackets and the cervical margin of the bands. Glass ionomer cement is generally used for cementing orthodontic bands. Although glass-ionomer can release fluoride, it cannot prevent tooth demineralization during orthodontic therapy. This experimental study aimed to determine the effect of adding propolis on mechanical and antimicrobial properties of glass ionomer luting cement used in orthodontics.

Materials and Methods: Initially, ethanolic extract of propolis (EEP) was prepared. To evaluate the antibacterial activity, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum inhibitory bactericidal concentration (MBC) of the mixture of glass ionomer with different concentrations of EEP were determined using the broth dilution method. To assess the shear bond strength, 75 sound premolar teeth were selected and randomly divided into three groups. In the first group, premolar bands were cemented with glass ionomer cement. In the second and third groups, the bands were cemented with glass ionomer cement mixed with 0.05 and 0.075 g propolis, respectively. The maximum force required for debanding was measured with an Instron machine. Mean shear bond strength was compared between the three groups using the Kruskal-Wallis test.

Results: The MIC and MBC values of the mixture of glass ionomer and propolis were determined at 0.05 mg/ml and 0.1 mg/ml propolis, respectively. There was not a significant difference between the three groups regarding their mean bond strength.

Conclusion: Adding propolis extract to glass ionomer cement increased the antibacterial propolis without adverse effects on the shear bond strength of orthodontic bands.

Key words: Glass-ionomer, Propolis, Antibacterial, Shear bond strength

Corresponding Author: islamin@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2022; 46(3): 188-98 .

چکیده

مقدمه: در حین درمان ارتودنسی، احتمال تجمع پلاک در اطراف براکت ها و در مارژین سرویکال بندها بیشتر است. گلاس آینومر معمولاً جهت سمان بندهای ارتودنسی استفاده می شود. اگرچه گلاس آینومر، فلوراید آزاد می کند ولی نمی تواند جلوی ایجاد ضایعات دمینرالیزه در طی درمان ارتودنسی را بگیرد. هدف از این مطالعه آزمایشگاهی، تعیین تأثیر افزودن پروپولیس (بره موم) بر خواص مکانیکی و ضد میکروبی سمان گلاس آیونومر لوتینگ مورد استفاده در ارتودنسی بود.

مواد و روش ها: ابتدا عصاره اتانولی پروپولیس آماده شد. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) گلاس آینومر حاوی غلظت های مختلف پودر بره موم بر روی استرپتوکوکوس موتانس از روش رقیق سازی متوالی استفاده شد. برای تعیین

---

* مؤلف مسؤول، نشانی: مشهد، میدان پارک، دانشکده دندانپزشکی، گروه ارتودانتیکس، تلفن: ۳۸۸۲۹۵۰۱

E-mail: islamin@mums.ac.ir

استحکام باند برشی، از ۷۵ دندان پره مولر سالم انسانی استفاده شد. دندان ها به سه گروه مساوی تقسیم شدند. در گروه اول، از سمان گلاس آینومر معمول جهت سمان کردن بند پره مولرها استفاده شد. در گروه دوم و سوم دندان ها با سمان گلاس آینومر حاوی مقدار ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ گرم پودر بره موم سمان گردیدند. حداکثر نیروی لازم برای دباند بندها، با استفاده از دستگاه اینسترون ثبت شد. در نهایت میانگین استحکام باند برشی بندها در سه گروه با آنالیز کروسکال والیس با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: **MIC و MBC مخلوط گلاس آینومر با پروپولیس در غلظت های ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم بدست آمد. تفاوت معناداری از نظر استحکام باند برشی بین سه گروه مورد مطالعه یافت نشد.**

نتیجه‌گیری: **افزودن عصاره پروپولیس به گلاس آینومر ضمن افزایش خاصیت آنتی باکتریال، تأثیر معناداری بر استحکام باند برشی سمان ندارد.**

کلمات کلیدی: **گلاس آینومر، پروپولیس، آنتی باکتریال، استحکام باند برشی**

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۴۰۱ دوره ۴۶ / شماره ۳ : ۹۸-۱۸۸ .

مقدمه

در حین درمان ارتودنسی، احتمال تجمع پلاک در اطراف براکت های ارتودنسی و در مارژین سرویکال بندها بیشتر است که علت آن دشواری در رعایت بهداشت دهان و تعداد زیاد نواحی در دسترس برای کلونیزاسیون میکروبی است. به همین دلیل بیشتر ارتودنتیست ها و بیماران در طی درمان ارتودنسی با ایجاد نواحی دمینرالیزه مینایی و حتی پوسیدگی و هیپرپلازی لثه در اطراف براکت ها و بندها مواجه می شوند.[۱و۲] سمان گلاس آیونومر که بیشترین ماده مورد استفاده برای سمان بندهای ارتودنسی است خاصیت آزادسازی و جذب فلوراید را دارد، اما ممکن است نتواند از تکثیر پلاک و ایجاد پوسیدگی و بیماری پریودونتال در برخی بیماران جلوگیری نماید.[۲-٤] پروپولیس یا بره موم، یک ماده رزینی طبیعی است که زنبور عسل آن را از منابع گیاهی و ترشحات گیاهان استخراج می‌کند و از آن به عنوان یک سیلانت برای پرکردن شکاف های کوچک و محافظت در برابر میکروارگانیسم ها استفاده می کند. ترکیب شیمیایی بره موم بسیار پیچیده است و آنالیز شیمیایی آن، نشان از حضور بیش از ۳۰۰ نوع ماده دارد. بره موم حاوی ۵۰٪ رزین، ۳۰٪ موم، ۱۰٪ روغن های ضروری، ۵٪ پولن و ۵٪ سایر مواد ارگانیک می باشد. مواد ارگانیک شامل ترکیبات فنولیک، استرها، فلاونوئیدها، ترپان، بتااستروئیدها، آلدئید آروماتیک، الکل، سسکوئیترپان و استیل بن ترپان است.[۲-٤]

خواص بیولوژیک متنوعی مانند خاصیت آنتی اکسیدان، آنتی تومور، ضد التهاب، ضد باکتری-ویروس، قارچ و خاصیت آنالژزیک برای پروپولیس ذکر شده است. فلاوونوئیدها از جمله گالانجین، اسیدهای آروماتیک شامل اسید فرولیک و اسید کافئیک و نیز استرهای موجود در رزین مسؤول خاصیت آنتی باکتریال پروپولیس هستند.[۲و۵و٦] این ماده خاصیت سازگاری با نسج دارد و آزمایش های سمیت سلولی نیز نشان داده است که محلول های پروپولیس برای فیبروبلاست های لثه ایمن هستند.[۷] گزارشات نشان داده اند که این ماده خاصیت باکتریسیدال در برابر باکتری های پوسیدگی زای دهان دارد.[۷-۹]

Subramanian و همکارانش[۱۰] به بررسی تأثیر پروپولیس بر خواص فیزیکومکانیکال گلاس آینومر پرداختند. آنها در مطالعه خود ۲۰ نمونه گلاس آینومر معمولی به عنوان گروه کنترل و ۲۰ نمونه گلاس آینومر همراه با پروپولیس به عنوان گروه تست را وارد مطالعه کردند و استحکام فشاری و میزان انحلال نمونه های دو

گروه را بعد از ۷ روز ارزیابی کردند. آنها مشاهده کردند که پروپولیس باعث کاهش استحکام فشاری می شود ولی میزان انحلال گروه تست به صورت معنی داری کمتر از گروه کنترل بعد از ۷ روز بود.

ساختار بره موم و سایر محصولات کندو، ممکن است با توجه به منبع ترشحات و نوع گل های منطقه، آب و هوا، نوع خاک گیاه، فصل، فاکتورهای ژنتیکی، شرایط محیط و مراحل فرآوری متفاوت باشد. هدف ما از انجام این تحقیق، بررسی خاصیت ضد میکروبی سمان گلاس آینومر پس از افزودن پروپولیس ایرانی و بررسی تأثیر آن بر استحکام باند برشی بندهای ارتودنسی بود.

مواد و روش ها

فاز اول: تهیه عصاره اتانولی بره موم

پس از استخراج پروپولیس خام از کندوهای منطقه هزار مسجد خراسان، با توجه به اینکه پروپولیس دارای ترکیبات محلول در الکل و آب می باشد و از طرفی بهترین روش برای استخراج مواد مؤثره، استخراج الکلی-آبی (۷۵:۲۵) می باشد، ابتدا بره موم خام با استفاده از حلال، عصاره گیری و سپس با حذف حلال، به پودر بره موم تبدیل گردید. بدین ترتیب طی فرآیند خاصی به شرح، زیر عصاره اتانولی پروپولیس تهیه شد:

۱۰۰ گرم پروپولیس خام به حجم ۵۰۰ سی سی اتانول ۷۰٪ افزوده شد و در شرایط دمایی اتاق تا انحلال کامل پروپولیس بطور مداوم هم زده شد. سپس مخلوط ایجاد شده برای حذف ذرات جامد و غیر محلول با دور ٤۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. بخش شفاف محلول پروپولیس جدا شده و سپس رسوب بدست آمده مجدداً در مقدار حجم مساوی از اتانول حل گردید و پس از آن دوباره سانتریفوژ گردید. بخش شفاف بدست آمده با قسمت شفاف حجم اولیه مخلوط و عصاره اتانولی بره موم به دست آمد. عصاره پروپولیس یا بره موم تهیه شده به دو فرم مایع و پودر، تهیه و تا زمان استفاده در یخچال در ظروف دربسته تیره نگهداری گردید. پودر و عصاره بره موم از شرکت سورن تک توس تهیه شد. در خصوص پودر بره موم، ابتدا عصاره بره موم تهیه و سپس با استفاده از اسپری در دمای پائین خشک کردید.

فاز دوم: تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) غلظت های مؤثر بره موم بر روی استرپتوکوکوس موتانس

جهت ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی پودر بره موم، ابتدا غلطت های مختلف بره موم در نرمال سالین به عنوان پایه حلال، تهیه و به محیط کشت افزوده گردید. باکتری استرپتوکوکوس موتانس در محیط مایع حاوی عصاره جگر، کشت فعال داده شد و پس از ٢٤ ساعت به عنوان کشت تازه و فعال مورد استفاده قرار گرفت. برای ارزیابی عملکرد ضد باکتریایی بره موم، محیط کشت غنی شده شامل پپتون ۱٪، عصاره مخمر ۰/۵٪، نمک ۰/۲۵٪ و عصاره جگر ۰/۲۵٪ تهیه گردید و در حجم مساوی در لوله آزمایش ریخته شد و اتوکلاو گردید. سپس مقادیر مختلف بره موم، بر اساس غلظت های مختلف تعیین شده شامل ۰/۰۵٪، ۰/۱٪، ۰/۲٪، ۰/۵٪ و ۱٪ به لوله ها افزوده گردید. به تمام لوله ها از محیط کشت اولیه فعال (باکتری استرپتوکوکوس موتانس رشد داده شده فعال) به میزان ۱٪ حجمی، اضافه شد و تمام لوله ها در شرایط بی هوازی برای مدت ٤۸ ساعت قرار داده شدند. پس از زمان گرمخانه‌گذاری (انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه)، ابتدا از لوله های فاقد کدورت (فاقد رشد قابل مشاهده)، بر روی محیط کشت آگار خونی به میزان ۰/۱۵ میلی لیتر، کشت چمنی داده شد و پلیت ها برای مدت ٤۸ ساعت در شرایط بی هوازی در دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. از لوله های کشت مرحله اول با استفاده از

دستگاه اسپکتروفتومتر، نمونه هایی جهت تعیین میزان کدورت باکتری در طول موج ٦٦٠ نانومتر جذب، گرفته شد. سپس میزان کدورت با تعداد باکتری کشت داده شده اولیه ۵۰۰۰۰ تا (میزان باکتری تلقیح شده در هر لوله در ابتدای گرمخانه گذاری در کلیه لوله های مورد آزمون) بر روی پلیت مقایسه گردید. نتایج MBC و MIC تعیین گردید و سپس برای میزان اختلاط با سمان مورد استفاده قرار گرفت.

فاز سوم: اضافه کردن بره موم به پودر سمان گلاس آینومر و تعیین MIC و MBC مخلوط سمان تولید شده

مقادیر پودر بره موم بر اساس جدول ۱، پس از تعیین مقدار مناسب مهارکنندگی بره موم در فاز دوم به پودر سمان گلاس آینومر (GC Gold Label, GC Corporation, Tokyo, Japan) اضافه گردید. سپس جهت یکنواخت بودن مخلوط، پودرها با هم بالمیل شدند. مخلوط پودر سمان گلاس آینومر و پودر بره موم، طبق دستور کارخانه با مایع سمان مخلوط گردید.

پس از سفت شدن، سمان داخل میکروتیوب قرار داده شد و به آن مقدار ۰/۲ میلی لیتر از کشت استرپتوکوکوس موتانس(با تعداد تقریبی ۵۰۰۰۰ سلول) اضافه گردید. حجم کشت بایستی گلوله سمان را کاملاً می پوشاند. میکروتیوب ها برای مدت ٤٠ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. پس از زمان فوق، مایع باقی مانده در داخل هر میکروتیوب به صورت کامل، برروی پلیت محیط کشت آگار خونی پخش و برای مدت ٤٨ ساعت در شرایط بی هوازی قرار گرفتند. سپس تعداد باکتری های مشاهده شده بر روی هر پلیت بر اساس مقدار اولیه شمارش و محاسبه گشت.

فاز چهارم: سنجش ضخامت لایه فیلم (Film Thickness)

بر اساس نتایج فاز سوم، مقادیر ۰/۱، ۰/۰۷۵، ۰/۰۵ گرم پودر بره موم با سمان گلاس آینومر مخلوط شد و پس از بالمیل، با مایع سمان مخلوط گردید و مخلوط روی لام قرار داده شد. سپس زیر وزنه ۱۵ کیلوگرمی قرار گرفت و بعد از زمان ٦٠ ثانیه، تغییرات ضخامت لام با کولیس دیجیتال اندازه گیری شد. برای مقادیر مختلف سمان حاوی بره موم، آزمایش سه بار تکرار گردید و میانگین مقادیر حاصل محاسبه شد.

(ضخامت اولیه لام _ ضخامت لام بعد از ستینگ سمان = میزان تغییرات ضخامت سمان)

جدول ۱ : تهیه سمان گلاس آینومر با مقادیر مختلف بره موم

ردیف	پودر سمان (گرم)	مایع سمان (گرم)	پودر بره موم (گرم)	وزن کل سمان
۱	۰/۲۵	۰/۱	۰	۰/۳۵
۲	۰/۲۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/٤
۳	۰/۲۵	۰/۱	۰/۰۷۵	۰/٤۲۵
٤	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱	۰/٤۵
۵	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱۲۵	۰/٤۷۵
٦	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۵

فاز پنجم: بندگذاری و ترموسایکلینگ و ارزیابی استحکام باند برشی بندهای ارتودنسی سمان شده با سمان فوق

تعداد ۷۵ عدد دندان پرمولر اول و دوم فک بالا که برای مقاصد ارتودنسی کشیده شده بودند، وارد مطالعه شدند. این دندان ها فاقد ترک، ترمیم، نقایص سطحی یا پوسیدگی بودند و پس از کشیده شدن دندان ها در محلول تیمول ۰/۱٪ بمدت ۱ هفته برای ضد عفونی شدن نگهداری شدند. سپس وارد محلول آب مقطر شدند و تا زمان انجام آزمایش در دمای اتاق نگهداری گردیدند. ابتدا سطح دندان ها توسط برس با آب و پودر پامیس بدون فلوراید و روغن به مدت ۲۰ ثانیه تمیز شدند و سپس با پوار آب (بدون روغن) شسته شده و با پوار هوا خشک شدند. برای کست کردن دندان ها، از بدنه سرنگ استفاده شد که ابتدا با دیسک برش خوردند. پس از چرب کردن سطح داخلی لوله ها با وازلین، لوله ها با آکریل سلف کیور با قوام شل، پر شدند و دندان ها تا حد ارتفاع CEJ در مرکز بلوک آکریلی مدفون شدند، به طوری که محور طولی هر دندان کاملا عمود بر افق بود. بدین ترتیب پس از قرار دادن نمونه ها در دستگاه اینسترون، نیروهای وارد شده در حین دباند بندها به موازات محور طولی دندان بود.

بندهای انتخابی بند پرمولر استاندارد (3M Unitek, U.S.A) دارای براکت در سمت باکال و کلیت در سمت لینگوال برای هر دندان انتخاب شد. غلظت ۰/۱ گرم بره موم به خاطر تغییرات زیاد آزمایش فیلم تیکنس و افزایش زمان ستینگ و ورکینگ، قبل از بندگذاری برای آزمایش استحکام باند حذف شد. بدین ترتیب دندان ها به سه گروه به صورت زیر تقسیم شدند.

گروه۱: دندان هایی که با سمان گلاس آینومر معمولی سمان شدند. (گروه کنترل)

گروه۲: دندان هایی که با سمان گلاس آینومر حاوی مقدار ۰/۰۵ گرم بره موم سمان گردیدند.

گروه۳: دندان هایی که با سمان گلاس آینومر حاوی مقدار ۰/۰۷۵ گرم بره موم سمان گردیدند.

پس از انتخاب بند، با اندازه مناسب و مخلوط کردن پودر و مایع سمان مربوطه طبق دستور، بند حاوی سمان، به دقت بر روی تاج دندان پوزیشن داده شد و توسط یکی از مجریان در محل فشرده شد و سمان اضافی با رول پنبه و سوند تمیز شد. به نمونه ها مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق فرصت ستینگ داده شد و سپس در آب مقطر و درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ٤٨ ساعت نگهداری گردید. پس از انجام ترموسایکلینگ به تعداد ۵۰۰۰ سیکل بین ۵-۵۵ درجه سانتیگراد (معادل ۲ سال)، از دستگاه اینسترون (DBBP-50, KOREA) برای اندازه گیری استحکام باند برشی با سرعت کراس هد mm/min ۱ استفاده شد.

حداکثر نیروی لازم برای دباند بندها، به نیوتن ثبت شد. در نهایت میانگین استحکام باند برشی بندها، در سه گروه با یکدیگر مقایسه شد. ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به غیر نرمال بودن داده ها، مقایسه استحکام باند در گروه های مورد مطالعه به کمک آزمون کروسکال والیس انجام گردید.

یافته ها

با توجه به اینکه پروپولیس دارای ترکیبات محلول در الکل و آب می باشد و از طرفی بهترین روش برای استخراج مواد مؤثره، استخراج الکلی-آبی (۷۵:۲۵) می باشد، لذا ابتدا بره موم خام با استفاده از حلال، عصاره گیری و سپس با حذف حلال، به پودر بره موم تبدیل گردید.

بعد از فرایندهای استخراج و تخلیص بره موم توسط شرکت سورن تک، آزمایشگاه غلظت های MBC و MIC

پودر بره موم را به ترتیب ۰/۰٦ mg/100ml و ۰/۰۵ mg/100ml گزارش کرد.

اثر آنتی باکتریال مخلوط سمان و بره موم

پس از فرآیند تهیه مخلوط سمان و بره موم، نتایج نشان داد که در غلظت بالای ۰/۰۵۰، اثر مهارکنندگی (MIC) شروع و در غلظت ۰/۱ شروع اثر کشندگی (MBC) دیده می شود. نتایج این بررسی در جدول ۲ آماده است.

نتایج سنجش ضخامت لایه ی فیلم (Film Thickness)

نتایج قسمت سنجش ضخامت لایه فیلم طبق فرمول زیر در جدول وارد شده است.

نتایج آنالیز ANOVA نشان داد تفاوت آماری معناداری بین سه گروه مورد مطالعه از نظر ضخامت فیلم وجود نداشت (P=0.972). درنهایت گروه سوم (گروه ۰/۱) بخاطر تغییرات زیاد آزمایش فیلم تیکنس و افزایش زمان ستینگ و ورکینگ قبل از بندگذاری برای آزمایش استحکام باند حذف شد.

مقایسه استحکام باند برشی بین سه گروه مورد مطالعه:

همانگونه که در جدول ٤ مشاهده می گردد؛ کمترین دامنه تغییرات استحکام باند (تفاوت بین کمترین و بیشترین مقدار) مربوط به گروه کنترل و بیشترین دامنه تغییرات استحکام باند مربوط به گروه غلظت ۰/۰۵۰ بره موم بود. همچنین بیشترین میانگین مربوط به گروه غلظت ۰/۰۷۵ بره موم ولی کمترین میانگین استحکام باند مربوط به گروه کنترل بود. تفاوت معنی داری بین میانگین استحکام باند گروه های مورد مطالعه وجود نداشت (P=0.090).

جدول ۲ : بررسی اثر پودر بره موم همراه با سمان اورتودنسی بر مهار و حذف باکتری استرپتوکوکوس موتانس

ردیف	پودر سمان (گرم)	مایع سمان (گرم)	پودر بره موم (گرم)	وزن کل سمان	تعداد اولیه باکتری	تعداد باکتری شمارش شده	میزان مرگ باکتری به درصد
۱	۰/۲۵	۰/۱	۰	۰/۳۵	۵۰۰۰۰	۳۵۰۰۰	۳۰/۰
۲	۰/۲۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/٤	۵۰۰۰۰	۲۵۰۰	۹۵/۰
۳	۰/۲۵	۰/۱	۰/۰۷۵	۰/٤۲۵	۵۰۰۰۰	۷۲۰	۹۸/۵٦
٤	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱	۰/٤۵	۵۰۰۰۰	۰	۱۰۰/۰
۵	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱۲۵	۰/٤۷۵	۵۰۰۰۰	۰	۱۰۰/۰
٦	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۵	۵۰۰۰۰	۰	۱۰۰/۰

جدول ۳ : تغییرات ضخامت لایه ی فیلم

ردیف	مقدار بره موم (گرم) و سمان گلاس آینومر	میانگین (mm)	انحراف معیار	P-value
۱	۰/۰۵ بره موم + پودر سمان	۰/۰۳۲	۰/۰۱٦۱۷	F=۰/۰۲۸
۲	۰/۰۷۵ بره موم + پودر سمان	۰/۰۳۲	۰/۰۱۵۰۱	P=۰/۹۷۲
۳	۰/۱ بره موم + پودر سمان	۰/۰۵۱	۰/۰۰٦٦٦	

جدول ٤ : مقایسه استحکام باند در گروههای مورد مطالعه

گروه	تعداد	میانگین MPA	انحراف معیار MPA	کمترین MPA	بیشترین MPA	میانه	نتیجه آزمون کروسکال والیس
کنترل	۲۵	۰/۵۳	۰/۳۵	۰/۰۵	۱/۳۰	۰/۵۰	X^2=٤/۸۲
غلظت ۰/۰۷۵	۲۵	۰/۷۱	۰/۳۲	۰/۲٦	۱/٦۷	۰/٦۹	P=۰/۰۹
غلظت ۰/۰۵۰	۲۵	۰/۷۰	۰/٤۰	۰/۲۲	۱/۹٤	۰/٦۲	

بحث

اخیراً پروپولیس به طور فزاینده ای موضوع مورد علاقه تحقیقات علمی شده است که به دلیل خواص بیولوژیک گسترده آن است. عصاره پروپولیس دارای اثرات متنوع فارماکولوژیک است و به عنوان جلوگیری کننده از برخی بیماری های دهانی شناخته شده است.[۱۲و۱۱و۸] محققان نشان داده اند که پروپولیس دارای فعالیت ضد ویروس، ضد باکتری و ضد قارچی است. علاوه بر این تحقیقات نشان داده که پروپولیس حفاظت مؤثری بر علیه باکتری های پوسیدگی زا و پاتوژن های دهانی هم دارد.[۱۳]

در مطالعه ما، در بررسی اثر آنتی باکتریال مخلوط سمان گلاس آینومر و بره موم بر علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس، نتایج نشان داد که در غلظت بالای ۰/۰۵ شروع اثر مهارکنندگی (MIC) و در غلظت ۰/۱ شروع اثر کشندگی (MBC) دیده شد.

در مطالعات مختلف از روش های مختلفی برای ارزیابی فعالیت آنتی باکتریال استفاده شده است. این روش ها شامل diffusion test، direct-contact test و broth-dilution method می باشند. در مطالعه حاضر از روش broth-dilution بر اساس مطالعات مشابه[۱٤و۲] استفاده شد، زیرا این روش دارای محیط کشت مایع می باشد که از این نظر مشابه محیط دهان است. به علاوه، سمان گلاس آینومر ماده جامدی است که حل کردن آن در محیط کشت جامدی مانند آگار دشوار بوده و از این نظر محیط کشت مایع ارجح است.

Sawaya و همکاران[۱۵] در مطالعه ای به بررسی روش های مختلف ارزیابی اثرات ضد میکروبی پروپولیس در آزمایشگاه پرداختند و به این نتیجه رسیدند که Dilution agar می تواند نسبت به سایر روش ها اثرات بهتری ایجاد نماید.

در مطالعه Topcuoglu و همکاران[۱٦]، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری برای پروپولیس ترکی در برابر استرپتوکوک موتانس (ATCC25175)، ۲۵µg/ml به دست آمد. کاشی و همکاران[۱۷] هم در تأیید خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولیک پروپولیس، میزان MIC را ۲۵۰ µg/mL و میزان MBC را ۵۰۰ µg/mL گزارش کردند. آنها برای عصاره آبی پروپولیس، MIC را ۵۰۰ µg/mL بر علیه استرپتوکوکوس موتانس و E. faecalis و خاصیت باکتریوسیدال را فقط در برابر استرپتوکوکوس موتانس و آن هم به میزان ۲۰ mg/mL گزارش کردند. می توان از این مطالعه نتیجه گرفت؛ استفاده از عصاره اتانولیک پروپولیس مؤثرتر به نظر می رسد.

در مطالعه Hatunoğlu و همکاران[۲] نشان داده شد که عصاره اتانولیک پروپولیس در سمان گلاس آینومر، فعالیت آنتی میکروبیال این سمان را افزایش می دهد. نتایج مطالعه آنها نشان داد که افزودن ۲۵ و ۵۰٪ عصاره اتانولی پروپولیس به سمان، از رشد استرپتوکوک موتانس جلوگیری نمود. اما این تأثیر در گروه حاوی ۱۰٪ پروپولیس یا در گروه سمان گلاس آیونومر معمولی رخ نداد. آنها، حداقل غلظت مهارکنندگی پروپولیس ترکیه ای مورد بررسی را ۱۵/۷ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش کردند. در حالی که این غلظت برای پروپولیس برزیلی و تونسی به ترتیب ۵۰ تا ٤۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ۸ تا ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است. Hatunoğlu این تغییرات ترکیبات مختلف پروپولیس را مربوط به تفاوت منطقه ای و اکولوژی آن منطقه دانسته است. بنابراین تغییرات ترکیب شیمیایی می تواند باعث تغییر فعالیت آنتی باکتریال شود اما به هر حال ترکیبات مختلف این ماده باز هم فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی قابل توجهی دارد. Hatunoğlu ذکر کرد که تمام مطالعات پیشین فعالیت ضد باکتریایی بیشتر سمان گلاس آینومر حاوی عصاره اتانولیک پروپولیس را نسبت به سمان گلاس آینومر معمولی بدون تأثیر منفی بر خواص مکانیکی تأیید کردند. پروپولیس ماده طبیعی است که خواصی مشابه دارد و در حال حاضر محققین بر این باور هستند که پروپولیس آماده شده به صورت استاندارد ایمن بوده و سمیت کمتری نسبت به بسیاری داروهای سنتتیک دیگر دارد.

Kujumgiev و همکاران[۱۸] فعالیت ضد باکتریایی ۱۱ نمونه پروپولیس از مناطق جغرافیایی مختلف را مورد بررسی قرار داد و دریافت که تمامی نمونه ها فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری های گرم مثبت را دارند. آنها در مطالعه خود برای بررسی اثر ضد باکتریایی از باکتری های گرم مثبت استاف اورئوس و اشریشیا کولی استفاده کردند.

Sawaya و همکاران[۱۵]، تأثیر عصاره پروپولیس را بر کلونیزاسیون استرپتوکوک موتانس در حفره دهان افراد جوان بررسی کردند، این مطالعه نشان داد ٤۹ درصد افراد به دنبال استفاده از دهانشویه حاوی عصاره پروپولیس کاهش کلونیزاسیون باکتری استرپتوکوکوس موتانس را نشان دادند.

Sule و همکاران[۱۹] در مطالعه ای اثر آنتی باکتریال پروپولیس روی میکروارگانیسم های پاتوژن دهان و سمیت آن روی فیبروبلاست های لثه را بررسی کردند. آنها با ارزیابی ترکیبات مختلف پروپولیس به این نتیجه رسیدند که پروپولیس دارای اثرات ضدمیکروبی قوی است و هیچ گونه سمیتی بر روی فیبروبلاست های لثه ندارد.

همانطور که قبلاً ذکر شد، تمام مطالعات خاصیت آنتی باکتریال پروپولیس را تأیید کردند و مطالعه ما هم در راستای همین نتایج بود؛ اما مقدار غلظت مؤثر این ماده در مطالعات مختلف متفاوت است، که با توجه به ترکیب شیمیایی متغیر موادی که در مطالعات مختلف استفاده شده و تفاوت های اکولوژیک و منطقه ای که بر ترکیب شیمیایی آن مؤثر است، این تفاوت ها قابل توجیه می باشد. Przybyłek و Karpi´nski[۲۰] در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تأثیر پروپولیس بر باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است. همچنین آنها دریافتند که در بعضی مناطق جغرافیایی مانند خاورمیانه تأثیر آنتی باکتریال پروپولیس بیشتر است در حالی که کمترین خواص آنتی باکتریال در آلمان، ایرلند و کره مشاهده شده است.[۲۰] علاوه بر منطقه جغرافیایی فصلی از سال که پروپولیس در آن استخراج شده است نیز برخواص آنتی باکتریال مؤثر است.[۲۱]

در مطالعه حاضر علاوه بر خواص آنتی باکتریال، ویژگی های مکانیکی پروپولیس هم مورد بررسی قرار گرفت. کمترین دامنه تغییرات استحکام باند (تفاوت بین کمترین و بیشترین مقدار) مربوط به گروه کنترل و بیشترین دامنه تغییرات مربوط به گروه غلظت ۰/۰۵۰ بره موم بود. همچنین بیشترین میانگین مربوط به گروه غلظت ۰/۰۷۵ بره موم ولی کمترین میانگین استحکام باند مربوط به گروه کنترل بود. به طور کلی تفاوت معنی داری بین میانگین استحکام باند گروههای مورد مطالعه وجود نداشت.

در مطالعه Hatunoğlu و همکاران[۲] نتایج تست های مکانیکی نشان داد که افزودن پروپولیس به گلاس آینومر باعث افزایش استحکام باند برشی شده اما از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارد. نتایج مطالعه آنها نشان داد که افزودن عصاره اتانولی پروپولیس به گلاس آینومر ممکن است خواص ضدباکتریال را افزایش دهد بدون اینکه تأثیر منفی بر خواص مکانیکی سمان گلاس آینومر معمولی بگذارد. از این نظر مطالعه ما با مطالعه Hatunoğlu همخوانی دارد.

مطالعه Prabhakar و همکارانش[۲۲] نیز نتیجه گیری کرد که هیچ تفاوت معنی داری در استحکام باند بین دو گروه گلاس آینومر معمولی و گلاس آینومر همراه با پروپولیس وجود نداشت.

با اینحال گاهی مطالعات دارای نتایج متناقض می باشند که شاید بتوان دلیل آن را نوع تست انجام شده (جهت نیرو) و عوامل مؤثر بر آن تست دانست. برای مثال، در مطالعه Troca و همکاران[٦] از تست diametral tensile strength استفاده شد و نشان داد افزودن پروپولیس اثر منفی بر سمان گلاس آینومر دارد. مطالعه آنها نشان داد که با افزودن پروپولیس جذب آب سمان افزایش می یابد. البته جذب آب، بسته به نوع ماده سمان ترمیمی متفاوت بود و در گروه حاوی فرم لئوفیلیزه پروپولیس، بیش از فرم اتانولی آن بود. در مورد تست استحکام کششی فقط در گروهی که بره موم به سمان Chemflex (گلاس آینومر محصول شرکت Dentsply) افزوده شده بود، استحکام کاهش یافت و در گروه های دیگر این پدیده رخ نداد.

مطالعه دیگری که به بررسی تأثیر پروپولیس بر خواص فیزیکی و مکانیکی گلاس آینومر پرداخت و با مطالعه ما در تضاد بود؛ مطالعه Subramanian[۱۰] بود که استحکام فشاری و میزان انحلال را بررسی کردند. نتیجه این مطالعه نشان می داد که پروپولیس باعث کاهش استحکام فشاری می شود ولی میزان انحلال را افزایش نمی دهد.

Sodagar و همکاران[۲۳] در یک مطالعه تأثیر ذرات نانوپروپولیس در کامپوزیت های ارتودنسی را بر استحکام باند کامپوزیت به مینای گاوی بررسی کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که غلظت های ۲٪ و ۵٪ ذرات نانوپروپولیس دارای خواص آنتی باکتریال قابل ملاحظه می باشند بدون اینکه استحکام باند کامپوزیت به مینا را از نظر بالینی دچار مشکل نماید.

از آنجا که طبق نتایج این مطالعه سمان گلاس آینومر حاوی پروپولیس ایرانی تأثیر ضد باکتریال مناسبی بر علیه استرپتوکوک موتانس داشته و در ضمن از استحکام باند قابل قبولی نیز برخوردار می باشد، در صورت مناسب بودن سایر خواص فیزیکی می توان آن را در کلینیک ارتودنسی بخصوص برای بندگذاری بیماران دارای ریسک پوسیدگی بالا استفاده نمود.

از آنجا که گاهی در مقالات در مورد خواص فیزیکی سمان های حاوی پروپولیس تناقض مشاهده می شود، توصیه می گردد مطالعات بیشتری در زمینه بررسی سایر خواص مکانیکی مربوط به این ماده از جمله استحکام

فشاری، کششی، میزان انحلال و جذب آب، طراحی و اجرا شود.

نتیجه گیری

شروع اثر مهارکنندگی (MIC) گلاس آینومر در ترکیب با پروپولیس ایرانی، در غلظت بالای ۰/۰۵ گرم و شروع اثر کشندگی (MBC) در غلظت ۰/۱ گرم دیده شد. افزودن عصاره پروپولیس در غلظت های ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ گرم تأثیر معناداری بر استحکام باند سمان گلاس آینومر ندارد و ضخامت فیلم سمان گلاس آینومر مورد استفاده در محدوده قابل قبول از نظر بالینی می باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه مشتق از پایان نامه به شماره ۳۰۰۰ در کتابخانه دانشکده دندانپزشکی می باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، انجام شده است.

منابع

1. Ogaard B. Prevalence of white spot lesions in 19-year-olds: a study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1989; 96:423–427.
2. Hatunoğlu E, Oztürk F, Bilenler T, Aksakallı S, Simşek N. Antibacterial and mechanical properties of propolis added to glass ionomer cement. Angle Orthod 2014; 84(2):368-73.
3. Farret MM, de Lima EM, Mota EG, Oshima HM, Barth V, de Oliveira SD. Can we add chlorhexidine into glass ionomer cements for band cementation? Angle Orthod 2011; 81:496–502.
4. Matalon S, Slutzky H, Weiss EI. Antibacterial properties of 4 orthodontic cements. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2005; 127(1):56–63.
5. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E, Mourtzinos I, and Karathanos VT. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem 2009; 116(2):452-61.
6. Troca VB, Fernandes KB, Terrile AE, Marcucci MC, de Andrade FB, Wang L. Effect of green propolis addition to physical mechanical properties of glass ionomer cements. J Appl Oral Sci 2011; 19(2):100-5.
7. Miguel MG, Antunes MD. Is propolis safe as an alternative medicine? J Pharm Bioallied Sci 2011; 3(4):479-95.
8. Topcuoglu N, Ozan F, Ozyurt M, Kulekci G. Invitro antibacterial effects of glass-ionomer cement containing ethanolic extract of propolis on Streptococcus mutans. Eur J Dent 2012; 6(4):428-33.
9. Yaghoubi M, Ghorbani GH, Soleimanian Zad S, Satari R. Antimicrobial activity of Iranian propolis and its chemical composition. Daru J Pharm Sci 2007; 15(1):45-8.
10. Subramaniam P, Girish Babu K, Neeraja G, Pillai S. Does addition of propolis to glass ionomer cement alter its physicomechanical properties? an in vitro study. J Clin Pediatr Dent 2016; 40(5):400-3.
11. Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F, Cormier M. Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate. J Natur Products 1994; 57(5):644-7.
12. Silici S, Koç NA, Ayangil D, Çankaya S. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. J Pharmacol Sci 2005; 99(1):39-44.
13. Feres M, Figueiredo LC, Quinderé Barreto IM, Coelho M, Barata Araujo M, Cortelli Sc. In vitro antimicrobial activity of plant extracts and propolis in saliva samples of healthy and periodontally-involved subjects. J Int Acad Periodontol 2005; 7(3):90-6.
14. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. J Antimicrob Chem 2001; 48(1):5-16.
15. Sawaya A, Palma AM, Caetano FM, Marcucci MC, da Silva Cunha I, Araujo C, et al. Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of Candida. Letters App Microb 2002; 35(3):203-7.
16. de Carvalho Duailibe SA, Gonçalves AG, Mendes Ahid JM. Effect of a propolis extract on Streptococcus mutans counts in vivo. J App Oral Sci 2007; 15(5):420-3.
17. Jafarzadeh Kashi TS, Kasra Kermanshahi R, Erfan M, Vahid Dastjerdi E, Rezaei Y, Tabatabaei FS. Evaluating the in-vitro antibacterial effect of iranian propolis on oral microorganisms. Iran J Pharm Res 2011; 10(2):363-8.
18. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacol 1999; 64(3):235-40.

19. Sule S, Levent K, Mine Y, Banu Y, Berna Y. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblast. J Ethno Pharmacol 2005; 102(3):371-6.
20. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules 2019; 24(11):1-17.
21. Almuhayawi MS. Propolis as a novel antibacterial agent. Saudi J Biol Sci 2020; 27(11):3079-86.
22. Prabhakar AR, Balehosur DV, Basappa N. Comparative evaluation of shear bond strength and fluoride release of conventional glass ionomer with 1% ethanolic extract of propolis incorporated glass ionomer cement–invitro study. J Clin Diagnos Res 2016; 10(5):88-91.
23. Sodagar A, Akhavan A, Arab S, Bahador A, Pourhajibagher M, Soudi A. Evaluation of the effect of propolis nanoparticles on antimicrobial properties and shear bond strength of orthodontic composite bonded to bovine enamel. Front Dent 2019; 16(2):96-104.